



HAL
open science

Conception de nouveaux monomères glycolipidiques par voie chimio-enzymatique pour la synthèse de polymères amphiphiles et leur auto-assemblage dans l'eau : vers des applications de vectorisation

Dounia Arcens

► To cite this version:

Dounia Arcens. Conception de nouveaux monomères glycolipidiques par voie chimio-enzymatique pour la synthèse de polymères amphiphiles et leur auto-assemblage dans l'eau : vers des applications de vectorisation. Polymères. Université de Bordeaux, 2017. Français. NNT : 2017BORD0838 . tel-01897626

HAL Id: tel-01897626

<https://theses.hal.science/tel-01897626>

Submitted on 17 Oct 2018

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

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

THÈSE PRÉSENTÉE

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR DE

L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES CHIMIQUES

SPÉCIALITÉ : Polymères

Par Dounia ARCENS

**Conception de nouveaux monomères glycolipidiques
par voie chimio-enzymatique pour la synthèse de polymères amphiphiles
et leur auto-assemblage dans l'eau : Vers des applications de vectorisation.**

Sous la co-direction de : Pr. Henri CRAMAIL et Dr. Frédéric PERUCH
Co-encadrants : Dr. Etienne GRAU et Pr. Stéphane GRELIER

Thèse soutenue le 08 décembre 2017

Membres du jury :

M. SIX, Jean-Luc	Professeur, Université de Lorraine	Rapporteur
M. CHASSENIEUX, Christophe	Professeur, Université du Mans	Rapporteur
MME. REMAUD-SIMEON, Magali	Professeur, INSA Toulouse	Présidente du jury
M. GRAU, Etienne	Maître de conférences, Université de Bordeaux	Examineur
M. CRAMAIL, Henri	Professeur, Université de Bordeaux	Co-directeur de thèse
M. PERUCH, Frédéric	Directeur de recherche, CNRS	Co-directeur de thèse
M. GRELIER, Stéphane	Professeur, Université de Bordeaux	Invité
M. PINTORI, Didier	Docteur, ITERG	Invité
M. LENOTRE, Jérôme	Docteur, SAS PIVERT	Invité

RÉSUMÉ

Ces travaux de thèse portent sur la conception par voie chimio-enzymatique de polymères amphiphiles issus de glycolipides, capables de s'auto-assembler en phase aqueuse et susceptibles de répondre à des applications de vectorisation de principes actifs. Après une étude préalable des paramètres influents lors de la synthèse enzymatique, huit monomères glycolipidiques porteurs de fonctions esters vinyliques, méthacrylate ou α -méthylstyrène ont été synthétisés à partir de dérivés d'huile de ricin et de glucose. Les monomères porteurs d'une fonction ester vinylique comme groupement polymérisable ont été copolymérisés en présence d'acétate de vinyle mais les copolymères ainsi formés n'ont pas montré de capacité à s'auto-assembler. Les monomères fonctionnalisés par un groupement méthacrylate, ont été copolymérisés en présence de méthacrylate de méthyle ; trois gammes de copolymères ont ainsi été synthétisées par polymérisation radicalaire, les deux premières selon un mécanisme non contrôlé en présence d'un agent de transfert thiolé ou pas et la troisième selon la méthodologie RAFT. Dans tous les cas, des nanoparticules bien définies et stables pendant plusieurs mois ont été obtenues par auto-assemblage de ces trois gammes de copolymères en phase aqueuse. Le Rouge de Nil a été piégé au sein de ces nanoparticules puis relargué par ajout de chlorure de sodium, laissant entrevoir des applications de stabilisation et de vectorisation de principes actifs pour ces nouveaux copolymères.

The aim of this thesis was the conception of amphiphilic polymers able to self-assembly in water for potential drug delivery applications, from glycolipidic monomers synthesized by a chemo-enzymatic pathway. After a preliminary study of the influent parameters on glycolipid synthesis via enzymatic catalysis, eight monomers bearing either vinyl ester, methacrylate or α -methylstyrene groups have been synthesized from glucose and castor oil derivatives. The vinyl ester-bearing monomers have been copolymerized with vinyl acetate. Unfortunately, the resulting copolymers did not show interesting self-assembly properties in water. Three families of copolymers were synthesized from the methacrylate-bearing monomers and methyl methacrylate, either by free radical polymerization in the presence or not of a transfer agent or by reversible addition-fragmentation polymerization (RAFT). Well-defined and stable nanoparticles were obtained from all those copolymers. Nile Red was successfully trapped into those nanoparticles and released by adding sodium chloride, allowing perspectives as potential drug delivery applications for those new copolymers.

À Nadim.

REMERCIEMENTS

J'avais entendu des tas de choses sur la thèse avant d'arriver au LCPO. A quel point c'était dur, horrible même, à quel point c'était déprimant, que je n'aurais plus de vie en dehors du boulot, et que je n'aurais de cesse d'en espérer la fin. Et me voici trois ans après. Alors certes, je mentirais si je disais que ça n'a pas été dur. En revanche, ça n'a pas été « horrible », j'ai même passé de très bons moments. J'étais plutôt très triste en partant. Et ma vie n'a jamais été aussi pleine qu'au cours des trois dernières années. En fait, arriver au LCPO a finalement été l'une des meilleures choses qui me soit arrivées. Ce manuscrit est l'aboutissement de trois ans de travail, qui n'auraient pas été possibles, et qui auraient été sans doute beaucoup moins faciles à vivre sans l'aide et le soutien de nombreuses personnes que je voudrais remercier ici.

Mes premiers remerciements vont à mes quatre encadrants, Henri Cramail, Frédéric Peruch, Etienne Grau et Stéphane Grelier. Pour la confiance et la grande autonomie qu'ils m'ont accordée dans mes travaux, en me laissant le plus souvent le choix des directions à prendre, mais également pour toute leur aide, leurs conseils, et leur optimisme tout au long de cette thèse qui s'est révélée particulièrement difficile, et enfin pour leur soutien dans les dernières semaines avant la soutenance. Je n'ai jamais été capable de finir quoi que ce soit en avance, et la préparation de ma soutenance n'a bien sûr pas fait exception : merci à eux pour leur patience et pour la confiance qu'ils m'ont accordée pour être prête pour le jour J.

Je n'aurais sans doute pas pu aller aussi loin dans cette thèse sans l'aide de mes deux stagiaires Sandra et Florian. Un très grand merci en particulier à Sandra qui a réalisé pendant cinq mois un travail extraordinaire sur une partie très difficile de cette thèse, et qui a amorcé les résultats de deux chapitres de ce manuscrit.

Je remercie également tous ceux du Thème 3 qui ont pris le temps de me former et qui m'ont tout appris sur la physico-chimie et l'auto-assemblage des polymères amphiphiles. Merci en particulier à Jeff pour son aide sur la DLS, à Olivier Sandre pour m'avoir formée à ImageJ, et à Gaëlle pour son aide précieuse sur l'interprétation de mes résultats.

Je voudrais aussi remercier tous les experts en caractérisation du LCPO qui ont rendu cette thèse possible : Anne-Laure pour la RMN, Amélie pour la SEC, Cédric et Gérard pour la TGA et la DSC, et Eric pour la HPLC et la chromatographie flash. Merci également à Ahmed du CRPP pour les mesures de diffusions de rayons X qu'il a gentiment effectuées pour moi. Enfin merci à toute l'équipe du BIC pour m'avoir formée et permis l'accès au TEM qui s'est révélé indispensable pendant ma troisième année de thèse.

Merci également tous les membres de la « Fatty team » que j'ai pu côtoyer au cours de ces trois ans : Blandine, Estelle, Geoffrey, Océane, Pierre-Luc, Léa, Matthieu, Enrique, Prakash, Quentin, Etienne S, Hélène, Boris, Martin, Fiona, Lauriane, Laurence, Sylwia, Amol, et Thomas, sans

oublier également les membres de la team Peruch : tout d'abord un grand merci à Elise dont j'ai partagé le bureau et le labo pendant ma première année, et qui m'a tout appris à mon arrivée au laboratoire, et merci également à Pierre et Jérémy. Je n'oublie pas non plus tous mes voisins de bureau ou de labo : Merci à Elise, Kenny, Julie, Matthieu, Quentin, Daniela, Mariana, Aravindu, Julien, Amaury, Cécile, Boris, Hélène, Sandra, Lucie, Prakash, Sylwia, et Lauriane, d'avoir supporté mon bordélisme, mes plaintes, ou encore le bruit de mon clavier pendant trois ans. ☺

Je voudrais également remercier tous les amis que j'ai eu la chance de rencontrer au LCPO, qui ont ponctué ces trois années de thèse de merveilleux moments dont je me souviens avec émotion. Merci tout d'abord à Julie, ma voisine de bureau, ma grande, très grande copine, et ma grande complice. Avec toi, peut-être plus de fous rires, certainement plus de folie, qu'avec n'importe qui, mais tu es également celle qui m'aura fait grandir plus que n'importe qui.

Ensuite un grand merci à Marie, pour ta très grande gentillesse et pour l'attention que tu portes au gens en toutes circonstances. Merci pour toutes les fois où je suis venue me réfugier chez toi quand ça n'allait pas et où tu m'accueillais toujours avec du thé et du fromage.

Egalement un grand, très grand merci, mais qui ne sera jamais assez grand, à Laura, Boris, Martin, Benjamin et Christopher. Tellement de bons moments passés tous ensemble au cours de cette dernière année que je ne pourrais plus tous les compter. Merci d'avoir été à mes côtés pendant ma troisième année de thèse et d'en avoir fait de très loin la plus belle. Merci infiniment également pour toute votre aide sur les derniers mois de ma thèse. Je mesure pleinement la chance que j'ai d'avoir des amis comme vous.

Merci enfin à toutes les autres fantastiques personnes que j'ai côtoyées au cours de ces trois ans : merci à Sofiem, pour tes conseils toujours avisés, et pour m'avoir rappelé qu'être fort, ce n'était pas ne jamais tomber mais se relever à chaque chute. Merci à Anissa, pour ton humour, et pour être revenue nous voir quelques fois en terre bordelaise après ton départ ! Que du bonheur à chaque fois ! Merci à Mariana, pour ta bonne humeur et ton sens de la fête. Merci à Mehdi, pour les bons moments passés les mercredis à la piscine avec Martin, Benji et Amaury (merci surtout de ne pas les avoir aidés à me couler à chaque fois), pour toutes les fois où tu m'as écoutée me plaindre, et pour toutes les fois où tu m'as laissée squatter le rotavap et le matos de ton labo, et même parfois ta paillasse quand la mienne est tombée en rade. Merci aussi à Gaëlle, Monika, Michelle, Coralie, Rosine, Guillaume, et Martin F, pour toutes les fois où je suis venue squatter dans votre labo et votre bureau, et c'était toujours de bons moments ! Big up à Coralie pour avoir sauvé ma soutenance en me filant son ordi quand le mien m'a lâchée trente secondes avant l'arrivée du jury ! Et merci à Julien, pour ta gentillesse et ta prévenance, et pour ta grande aide sur la RAFT. Merci également à la team du N0 : Pauline, Erwan, Cédric, Guillaume et Jérémy. On s'est rapprochés un peu sur le tard, mais c'était un vrai bonheur de vous connaître. Merci d'avoir partagé ma passion pour Game of Thrones et pour les blagues toujours très fines. Merci également à Leïla, pour nos longues conversations sur le pas de la porte de nos bureaux en fin de journée.

Enfin, mes plus sincères remerciements vont à ma famille. Merci en particulier à mes parents et à ma sœur pour leur soutien tout au long de ces huit années d'études. Je voudrais également remercier ici mon grand-oncle Nadim, le premier docteur en chimie de la famille, qui a su me transmettre sa passion dès mon plus jeune âge, et à qui je dédie aujourd'hui ce manuscrit de thèse. Enfin merci Vincent, pour ta présence à mes côtés depuis maintenant cinq ans. Tu es ma force, mon refuge, et je n'aurais jamais pu en arriver là sans toi. Merci pour tout.

*“La plus grande gloire n’est pas de ne jamais tomber,
mais de se relever à chaque chute”*

Confucius

TABLE DES MATIERES

Liste des abréviations	-9-
Introduction générale	-11-
Chapitre 1 – Différentes voies de synthèse et applications des glycopolymères : Étude bibliographique	-15-
I. Introduction	-17-
II. Modification de polymères synthétiques par un sucre	-20-
1. Présentation des différentes voies de synthèse des glycopolymères	-20-
1.1 Synthèse du polymère	-20-
1.2 Stratégies de greffage des groupements saccharidiques	-20-
1.2.1 Substitution nucléophile	-21-
1.2.2 Chimie click	-22-
2. Synthèse et auto-assemblage de glycopolymères linéaires	-23-
2.1 Cas des copolymères glycosylés à blocs	-24-
2.2 Cas des copolymères glycosylés de type statistique ou gradient	-26-
2.3 Cas des homopolymères glycosylés	-27-
3. Synthèse de glycodendrimères	-28-
4. Synthèse de nanoparticules hybrides	-30-
III. Polymérisation de glycomonomères	-31-
1. Copolymérisation directe d'un sucre avec un comonomère	-32-
1.1 Synthèse de polyuréthanes	-32-
1.2 Autres exemples de polycondensation	-34-
2. Polymérisation de monomères comportant un sucre	-35-
2.1 Polymères thermodurcissables	-35-
2.2 Glycopolymères linéaires aux motifs saccharidiques intra-chaîne	-38-
2.3 Polymères linéaires avec sucre pendant	-40-
2.3.1 Polymérisation ionique	-41-
2.3.2 Polymérisation radicalaire	-42-
3. Synthèse de polymères glycolipidiques et sophorolipidiques	-47-
2.1 Définitions	-48-
2.1.1 Glycolipides	-48-
2.1.2 Sophorolipides	-48-
2.2 Polymères glycolipidiques thermodurcissables	-49-
2.3 Polymères glycolipidiques linéaires aux motifs saccharidiques intra-chaîne	-52-
2.3.1 Synthèse de polymères glycolipidiques par polymérisation par étapes	-52-
2.3.2 Synthèse de polymères glycolipidiques par méthathèse	-54-
2.3.3 Synthèse de polymères glycolipidiques par ouverture de cycle	-55-
2.4 Polymères glycolipidiques linéaires aux motifs saccharidiques pendants	-56-
2.4.1 Polymérisation par étapes	-56-

2.4.2 Polymérisation radicalaire	-56-
IV. Conclusion et perspectives	-59-
V. Bibliographie	-61-
Chapitre 2 – Synthèse de glycolipides par catalyse enzymatique : Étude de l'influence des paramètres réactionnels et des substrats	-81-
I. Introduction	-81-
II. Synthèse de glycolipides par voie enzymatique : etat de l'art	-83-
1. Enzymes intervenant dans la synthèse de glycolipides	-84-
2. Schéma réactionnel mis en jeu	-85-
3. Les différents substrats	-87-
4. Milieu réactionnel : choix du solvant	-88-
5. Conclusion	-89-
III. Optimisation des conditions expérimentales	-89-
1. Introduction	-89-
2. Choix du solvant	-92-
3. Choix de la lipase	-98-
4. Influence de la temperature	-99-
5. Conclusion	-100-
IV. Choix du donneur d'acyle : influence de la longueur de chaîne et de la présence d'insaturations	-101-
1. Choix du type de donneur d'acyle	-101-
1.1 Différents donneurs d'acyle possibles :	-101-
1.2 Synthèse des donneurs d'acyles	-101-
1.3 Acylation du glucose : comparaison des différents donneurs d'acyles	-103-
2. Influence de la longueur de chaîne	-103-
3. Influence de la géométrie du substrat ; insaturations, ramifications	-109-
3.1 Influence des insaturations	-109-
3.2 Influence de ramifications	-111-
4. Conclusion	-112-
V. Choix du saccharide :	-112-
1. Influence du carbohydate	-113-
2. Optimisation des conditions réactionnelles pour le tréhalose	-116-
2.1 Influence du solvant, de la température, du tamis moléculaire	-116-
2.2 Augmentation de la quantité de lipase	-116-
VI. Conclusion	-117-
VII. Bibliographie	-118-

Chapitre 3 – Conception de nouveaux monomères glycolipidiques	-125-
I. Introduction, stratégie de synthèse	-127-
1. Choix des substrats : donneur d'acyle et sucre	-127-
1.1 Choix du sucre	-127-
1.2 Choix du donneur d'acyle	-127-
2. Modifications possibles	-128-
3. Conclusion	-131-
II. Conception de glycolipides à partir de dérivés d'huile de ricin	-131-
1. Synthèse de donneurs d'acyle porteurs d'un groupement méthacrylate ou méthastyrène pendant par carbamation	-131-
1.1 Synthèse d'esters de vinyle par transvinylation d'acides gras	-132-
1.1.1 Transvinylation de l'acide 12-hydroxystéarique	-132-
1.1.2 Transvinylation de l'acide ricinoléique	-133-
1.2 Carbamation	-135-
1.2.1 Carbamation par l'IEMA	-136-
1.2.2 Carbamation par l'IIPMS	-136-
2. Synthèse de donneurs d'acyle porteurs d'un groupement vinylique pendant	-138-
2.1 Insertion d'un groupement acide carboxylique supplémentaire	-139-
2.1.1 Acylation de l'acide 12-hydroxystéarique	-139-
2.1.2 Acylation de l'acide ricinoléique	-141-
2.2 Double-transvinylation des diacides	-142-
2.2.1 Transvinylation des diacides porteurs du groupement succinique	-143-
2.2.2 Transvinylation des diacides porteurs du groupement maléique	-144-
3. Insertion du carbohydrate	-147-
3.1 Application des conditions de synthèse de glycolipides mises au point	-147-
3.2 Optimisation des conditions réactionnelles	-150-
III. Conclusion	-151-
IV. Bibliographie	-153-
Chapitre 4 – Synthèse de nouveaux polymères glycolipidiques, Partie 1 : Polymérisation des monomères de la Plateforme 1	-155-
I. Introduction	-157-
II. Etude de l'homopolymérisation des monomères	-158-
1. Homopolymérisation des monomères glycolipidiques	-158-
2. Polymérisation de monomères modèles	-160-
III. Copolymérisation avec l'acétate de vinyle	-163-
1. Rapports de réactivité	-163-
2. Copolymérisation de l'AcV et du SVSG employés au ratio 90/10	-164-
3. Copolymérisation de l'acétate de vinyle et du SVSG employés à différents ratios	-166-
3.1 Conversions des monomères : influence de la composition du copolymère	-167-
3.2 Propriétés des copolymères synthétisés	-168-

3.2.1 Distributions des masses molaires	-168-
3.3.2 Propriétés thermiques	-169-
4. Application aux autres monomères synthétisés	-171-
4.1 Cas des monomères SVRG et SVEMSG, porteur de la fonction succinate de vinyle	-172-
4.2 Cas des monomères MVSG et MVRG porteurs de la fonction maléate de vinyle	-175-
4.2.1 Synthèse des copolymères	-175-
4.2.2 Caractérisation des copolymères : mise en évidence de la réticulation	-176-
4.2.3 Propriétés thermiques	-178-
4.3 Conclusion	-180-
IV. Conclusion	-181-
V. Bibliographie	-182-

Chapitre 5 - Synthèse de nouveau polymères glycolipidiques, Partie 2 : Polymérisation des monomères de la Plateforme 2

I. Introduction	-187-
II. Homopolymérisation	-187-
1. Homopolymérisation des monomères glycolipidiques	-187-
2. Homopolymérisation de monomères modèles : étude du phénomène de gélification	-189-
III. Synthèse de copolymères	-191-
1. Rapports de réactivité	-191-
2. Copolymérisation du MAM et du MASG	-192-
2.1 Synthèse de trois gammes de copolymères : NC, BM et RAFT	-192-
2.2 Comparaison des trois gammes de copolymères	-194-
2.2.1 Conversions des monomères	-194-
2.2.3 Distribution des masses molaires	-199-
2.2.3.1 SEC dans le THF	-199-
2.2.3.2 SEC dans le DMF	-201-
2.2.4 Propriétés thermiques	-202-
2.2.4.1 Analyse thermogravimétrique	-202-
2.2.4.2 Analyse par DSC	-204-
3. Application à l'homopolymérisation et la copolymérisation du MARG	-205-
IV. Conclusion	-208-
V. Bibliographie	-209-

Chapitre 6 – Auto-assemblage dans l'eau des polymères glycolipidiques

I. Introduction	-213-
II. Systèmes auto-assemblés à partir des copolymères de la plateforme 2 : morphologies et dimensions des nanoparticules obtenues	-213-
1. Présentation du procédé de nanoprécipitation	-213-
2. Influence de la composition des copolymères sur la morphologie des nanoparticules obtenues	-214-

2.1	<i>Caractérisation des suspensions obtenues</i>	-214-
2.2	<i>Analyse des glycopolymères par WAXS : mise en évidence de la cristallinité</i>	-219-
2.3	<i>Influence du solvant organique sur la morphologie des nanoparticules obtenues</i>	-220-
2.4	<i>Conclusion</i>	-221-
3.	Influence de la taille et de la dispersité des chaînes : Gammes BM et NC	-221-
4.	Influence du procédé d'injection sur la morphologie des nanoparticules	-223-
5.	Conclusion	-226-
III.	Stabilité des suspensions	-227-
1.	Influence de la température	-227-
2.	Résistance aux forces ioniques	-227-
3.	Hydrolyse par CALB	-228-
4.	Conclusion	-229-
IV.	Vers la vectorisation de principes actifs : une preuve de concept	-229-
V.	Conclusion	-233-
VI.	Bibliographie	-234-
	Conclusion générale et perspectives	-235-
	Matériel et méthodes – Partie expérimentale	-241-
I.	Matériels et méthodes	-243-
1.	Description des produits et solvants utilisés	-243-
1.1	<i>Produits chimiques</i>	-243-
1.2	<i>Solvants</i>	-243-
2.	Description des appareils	-243-
II.	Partie expérimentale	-246-
1.	Synthèses organiques	-246-
1.1	<i>Procédure générale de méthylation des acides gras</i>	-246-
1.2	<i>Procédure générale d'addition thiol-ène</i>	-247-
1.3	<i>Procédure générale d'acylation par un anhydride</i>	-247-
1.3.1	Anhydride succinique	-247-
1.3.2	Anhydride maléique	-249-
1.4	<i>Procédure générale de transvinylation des acides gras</i>	-250-
1.4.1	Transvinylation catalysée par le dimère de chlorure cyclooctène	-250-
1.4.2	Transvinylation catalysée par le diacétate de palladium	-252-
1.5	<i>Procédure générale de carbamation par un isocyanate</i>	-254-
1.5.1	Carbamation d'un alcool secondaire (procédure générale)	-254-
1.5.2	Cas particulier de la carbamation de l'éthanol	-255-
1.6	<i>Procédure générale de synthèse enzymatique de glycolipides saturés</i>	-256-
1.6.1	Synthèse de glycolipides à partir de donneurs d'acyle non fonctionnalisés	-256-
1.6.2	Synthèse des monomères glycolipidiques	-260-
2.	Polymérisations	-263-

2.1 Procédure de polymérisation des esters de vinyle (Chapitre 4)	-263-
2.1.1 Homopolymérisation	-263-
2.1.2 Copolymérisation avec l'acétate de vinyle	-264-
2.2 Procédure de polymérisation des monomères méthacrylate (Chapitre 5)	-267-
2.2.1 Polymérisation non contrôlée des monomères modèles	-267-
2.2.2 Synthèse des polymères de la gamme NC	-268-
2.2.3 Synthèse des copolymères de la gamme BM	-270-
2.2.4 Copolymérisation avec le méthacrylate de méthyle contrôlée par RAFT	-272-

Annexes -275-

Annexe 1 : Caractérisation des glycolipides par RMN : Quelques Spectres RMN 2D -277-

Annexe 2 – Méthode de calcul des conversions par RMN ¹H -281-

1. Calcul des conversions en glycolipides -281-
2. Calcul des conversions des monomères AcV, SVSG, et SVRG -283-
3. Calcul des conversions des monomères MAM, MASG et MARG -284-

Annexe 3 : Procédures de séchage des solvants -285-

Annexe 4 – Calibrations HPLC -286-

1. Mesures de solubilité du glucose dans divers solvants -286-
2. Mesures de solubilité des glycolipidiques par HPLC dans divers solvants -287-

Annexe 5 – Synthèse du SVEMSG -290-

1. Synthèse du donneur d'acyle SVEMSV -290-
2. Glycosylation du SVEMSV -291-

LISTE DES ABRÉVIATIONS

Techniques d'analyse :

ATG : Analyse thermogravimétrique
COSY : « Correlation spectroscopy »
DLS : Diffusion dynamique de la lumière
DSC : Calorimétrie différentielle
FTIR : Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier
HMBC : « Heteronuclear multiple bond correlation »
HPLC : Chromatographie liquide à haute performance
HSQC : « Heteronuclear single quantum coherence »
RMN : Résonance magnétique nucléaire
SEC : Chromatographie par exclusion stérique
TEM : Microscopie électronique à transmission
WAXS : Diffraction des rayons X aux grands angles

Paramètres caractéristiques :

D : Dispersité en SEC
DP : Degré de polymérisation
M_n : Masse molaire moyenne en nombre
PDI : Indice de dispersité en DLS
T_{d5%} : Température correspondant à une perte de 5% massiques d'un polymère
T_g : Température de transition vitreuse

Techniques de polymérisation :

ADMET : Métathèse de diènes acycliques
RAFT : polymérisation radicalaire contrôlée par transfert de chaîne réversible par addition-fragmentation
ROMP : Polymérisation par métathèse par ouverture de cycle
ROP : Polymérisation par ouverture de cycle

Produits chimiques :

12HSA : Acide 12-hydroxystéarique
2,2'DMAEM : Méthacrylate de 2,2'-diméthylaminiéthyle
2C2PB : Benzodithiate de 2-(2-cyano)-propyle
2M2B : 2-méthyl-2-butanol
ABC : Lipase de *Pseudomonas cepacia*
ACN : Acétonitrile
AcV : Acétate de vinyle
AIBN : Azobisisobutyronitrile
AP : Acide palmitique
BM : Benzyl mercaptan
BPO : Peroxyde de benzoyle
CALA : Lipase de *Candida antarctica* A
CALB : Lipase de *Candida antarctica* B
CDCl₃ : Chloroforme deutérié
DCM : Dichlorométhane
DMSO : Diméthylsulfoxyde
d6-DMSO : Diméthylsulfoxyde deutérié
DMF : Diméthylformamide
EtOH : Ethanol
GP : Palmitate de 6-O-glucose
IEMA : méthacrylate d'isocynoéthyle
IIPMS : α-méthylstyrène d'isocyanoisopropyle
KOH : Hydroxyde de potassium
L51 : Lipase de *Fusarium solani pisi*
MeOH : Méthanol
MAH : Méthacrylate d'hexyle
MAM : Méthacrylate de méthyle
RML : Lipase de *Rhizomucor miehei*
PaV : Palmitate de vinyle
PiV : Pivalate de vinyle
Pd(OAc)₂ : Diacétate de palladium
^tBuOH : *tert*-Butanol
THF : Tétrahydrofurane
TLL : Lipase de *Thermomyces lanuginosa*

INTRODUCTION GENERALE

Devenus indispensables à notre quotidien, les polymères trouvent un nombre incalculable d'applications dans un très vaste panel de domaines recouvrant à la fois les produits de commodité comme les emballages, les textiles ou les pneumatiques, et les produits de spécialité, notamment dans le domaine biomédical ou l'industrie microélectronique. La production mondiale de polymères était estimée à 322 millions de tonnes en 2015. Dans un contexte de raréfaction des ressources fossiles, le développement de voies alternatives de synthèse de polymères à base de ressources renouvelables est donc de plus en plus urgent afin de faire face de façon pérenne aux besoins croissants.

La biomasse, considérée comme la principale ressource de carbones renouvelables sur Terre, offre une alternative viable aux ressources pétrochimiques. En effet, alors que le temps de régénération des ressources fossiles se chiffre en millions d'années, un carbone issu de la biomasse peut être régénéré en seulement quelques dizaines d'années. Les trois principales familles de bio-ressources offertes par la biomasse sont les dérivés de la lignine, les dérivés polysaccharidiques et les dérivés oléagineux.

Dans ce contexte, les glycopolymères, c'est-à-dire les polymères porteurs de groupements saccharidiques intra-caténaux ou pendants, apparaissent comme une classe importante de polymères issus en partie de ressources naturelles. La découverte des propriétés biologiques des sucres a déclenché un très fort engouement du monde des chercheurs pour la synthèse de glycopolymères. Ces nouveaux matériaux sont susceptibles de répondre à des besoins dans le domaine biomédical comme produits à haute valeur ajoutée pour des applications de reconnaissance intercellulaire avec des protéines spécifiques ou de vectorisation de principes actifs, ou encore comme nouveaux 'bioplastiques', mais les sucres peuvent également se prêter à la synthèse de matériaux de commodité comme des matériaux thermodurcissables.

Les vingt dernières années ont vu émerger une nouvelle classe de glycopolymères à partir de glycolipides. Ces molécules amphiphiles, produits de condensation d'un dérivé d'acide gras et d'un sucre, résultent à la fois d'une valorisation de la biomasse saccharidique et de bio-ressources oléagineuses. De plus, pour un procédé de synthèse encore plus respectueux des douze principes de la chimie verte, il est possible de synthétiser les glycolipides par catalyse enzymatique en présence de lipases.

Cette thèse a pris place au sein du projet ENZYMOLIPID, financé par la SAS Pivert et porté par le Laboratoire de Chimie des Polymères Organiques (LCPO), le Laboratoire d'Ingénierie des Systèmes Biologiques et des Procédés (LISBP), le laboratoire de Chimie et

Biologie des Membranes et des Nano-objets (CBMN), et l'ITERG, et qui s'inscrit dans une démarche de valorisation des dérivés d'huiles triglycérides et de sucres par la synthèse enzymatique de nouveaux glycolipidiques. Dans ce contexte, les recherches effectuées au LCPO au cours de cette thèse ont résidé dans la synthèse de polymères amphiphiles capables de s'auto-assembler dans l'eau, à partir de nouveaux monomères glycolipidiques synthétisés par voie chimio-enzymatique à partir de glucose et de dérivés d'huile de ricin. (Schéma 1)

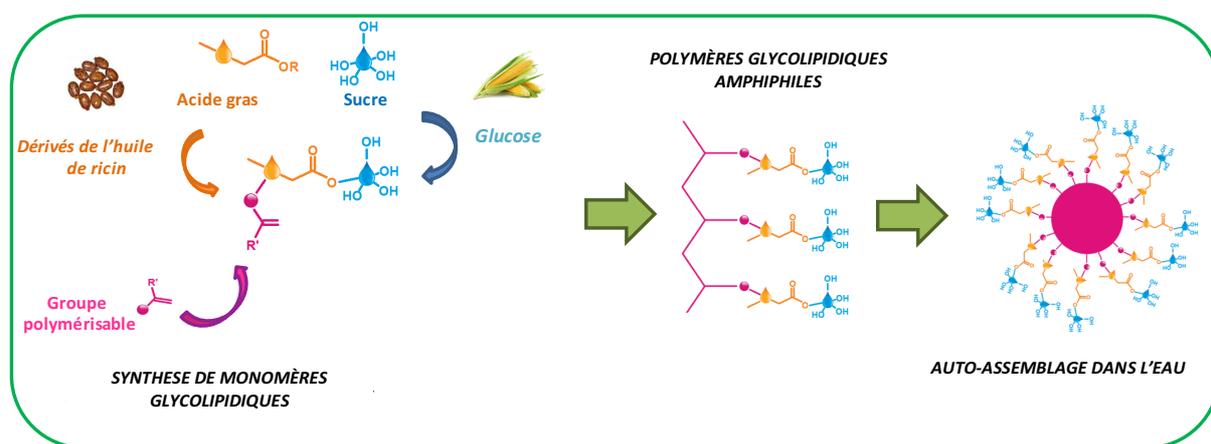


Schéma 1 - Représentation schématique de ces travaux de thèse

Ces travaux de thèse sont divisés en six chapitres. Le premier Chapitre est consacré à un état de l'art sur les différentes voies de synthèse, structures, et domaines d'applications possibles des glycopolymères. Les synthèses de glycopolymères sont généralement classées en deux stratégies. La première consiste à fonctionnaliser un polymère préalablement synthétisé en greffant des groupements saccharidiques le long des chaînes. La deuxième stratégie recouvre, quant à elle, tous les exemples de polymérisation directe de monomères glycosylés. Le premier chapitre propose au lecteur une vue d'ensemble de ces deux stratégies. Au sein de la seconde stratégie, une attention particulière sera portée à la synthèse de polymères à partir de glycolipides.

Le Chapitre 2 consiste en une étude de la synthèse de glycolipides par condensation de dérivés d'acide gras et de saccharides par catalyse enzymatique en présence de lipases. Dans un premier temps, l'influence des paramètres expérimentaux influents (le choix du solvant, de la lipase, et de la température) a été étudiée par le biais d'une réaction modèle entre le palmitate de vinyle et le glucose. Puis dans un second temps, l'influence de la structure des deux réactifs a également été rationalisée. Cette étude préalable nous a permis non seulement d'optimiser les conditions expérimentales afin de maximiser nos conversions en glycolipides pour une quantité minimale de lipase engagée, mais également de sélectionner les produits de départ (dérivés d'acide gras et sucres) les plus pertinents pour la conception de monomères glycolipidiques.

Le Chapitre 3 est consacré à la conception et la synthèse de huit monomères glycolipidiques originaux. Forts des résultats du Chapitre 2, nous avons mis au point deux stratégies de synthèse différentes conduisant à des glycolipides polymérisables par voie radicalaire, à base de dérivés d'huile de ricin et de glucose. Deux plateformes de monomères ont ainsi été synthétisées : une première plateforme, composée de quatre monomères porteurs d'esters vinyliques pendants, (Plate-forme 1) et une deuxième, comportant quatre monomères supplémentaires, porteurs de groupements méthacrylate ou α -méthylstyrène. (Plate-forme 2)

L'étude de la polymérisation de ces glycolipides est séparée en deux chapitres. Le Chapitre 4 est consacré à la polymérisation des monomères de la Plate-forme 1. Après une optimisation des conditions réactionnelles, les quatre monomères ont été copolymérisés avec l'acétate de vinyle par polymérisation radicalaire non contrôlée. L'étude de la polymérisation des monomères de la Plate-forme 2 est quant à elle détaillée dans le Chapitre 5. A partir d'un des quatre monomères synthétisés et de méthacrylate de méthyle, trois gammes de copolymères ont été synthétisées, par polymérisation radicalaire non contrôlée, en présence d'un agent de transfert, et par polymérisation contrôlée selon la méthodologie RAFT.

Enfin, le sixième et dernier Chapitre de ce manuscrit est consacré aux propriétés d'auto-assemblage par nanoprécipitation dans l'eau des copolymères synthétisés. Les morphologies des nanoparticules obtenues ont été caractérisées, et leur stabilité face à différents stimuli a été étudiée. Enfin dans un dernier temps, leur capacité à encapsuler un colorant hydrophobe a été explorée comme preuve de concept, ouvrant ainsi la porte à d'éventuelles applications de vectorisation ou de stabilisation de principes actifs.

Introduction générale

CHAPITRE 1

Différentes voies de synthèse et applications des glycopolymères : Étude bibliographique

CHAPITRE 1 : Différentes voies de synthèse et applications des glycopolymères : Étude bibliographique

I. Introduction	- 17 -
II. Modification de polymères synthétiques par un sucre	- 20 -
1. Présentation des différentes voies de synthèse des glycopolymères	- 20 -
1.1 Synthèse du polymère	- 20 -
1.2 Stratégies de greffage des groupements saccharidiques	- 20 -
1.2.1 Substitution nucléophile	- 21 -
1.2.2 Chimie click	- 22 -
2. Synthèse et auto-assemblage de glycopolymères linéaires	- 23 -
2.1 Cas des copolymères glycosylés à blocs	- 24 -
2.2 Cas des copolymères glycosylés de type statistique ou gradient	- 26 -
2.3 Cas des homopolymères glycosylés	- 27 -
3. Synthèse de glycodendrimères	- 28 -
4. Synthèse de nanoparticules hybrides	- 30 -
III. Polymérisation de glycomonomères	- 31 -
1. Copolymérisation directe d'un sucre avec un comonomère	- 32 -
1.1 Synthèse de polyuréthanes	- 32 -
1.2 Autres exemples de polycondensation	- 34 -
2. Polymérisation de monomères comportant un sucre	- 35 -
2.1 Polymères thermodurcissables	- 35 -
2.2 Glycopolymères linéaires aux motifs saccharidiques intra-chaîne	- 38 -
2.3 Polymères linéaires avec sucre pendant	- 40 -
2.3.1 Polymérisation ionique	- 41 -
2.3.2 Polymérisation radicalaire	- 42 -
3. Synthèse de polymères glycolipidiques et sophorolipidiques	- 47 -
2.1 Définitions	- 48 -
2.1.1 Glycolipides	- 48 -
2.1.2 Sophorolipides	- 48 -
2.2 Polymères glycolipidiques thermodurcissables	- 49 -
2.3 Polymères glycolipidiques linéaires aux motifs saccharidiques intra-chaîne	- 52 -
2.3.1 Synthèse de polymères glycolipidiques par polymérisation par étapes	- 52 -
2.3.2 Synthèse de polymères glycolipidiques par méthathèse	- 54 -
2.3.3 Synthèse de polymères glycolipidiques par ouverture de cycle	- 55 -
2.4 Polymères glycolipidiques linéaires aux motifs saccharidiques pendants	- 56 -
2.4.1 Polymérisation par étapes	- 56 -
2.4.2 Polymérisation radicalaire	- 56 -
IV. Conclusion et perspectives	- 59 -
V. Bibliographie	- 61 -

I. INTRODUCTION

Les glycopolymères, dont les premiers exemples apparaissent dans les années quarante, sont des polymères porteurs de groupements saccharidiques, et couvrent de nombreux domaines d'applications en chimie, biologie et médecine. C'est principalement grâce à la découverte de leur activité biologique et en particulier de leur capacité à interagir avec certaines protéines comme la lectine,¹ que cette classe de matériaux a suscité un réel engouement au sein de la communauté scientifique. Les glycopolymères rencontrent donc rapidement un important intérêt, en particulier dans le domaine biomédical.²

Les synthèses de glycopolymères sont généralement classées selon deux stratégies. La première consiste à fonctionnaliser un polymère préalablement synthétisé en greffant le long de la chaîne des groupements saccharidiques. La deuxième consiste à synthétiser un monomère porteur d'un sucre et à le polymériser. Ces deux stratégies ont été schématisées par Babiuch et Stenzel au cours d'une récente revue sur la synthèse et les applications des glycopolymères.³ (Schéma 1)

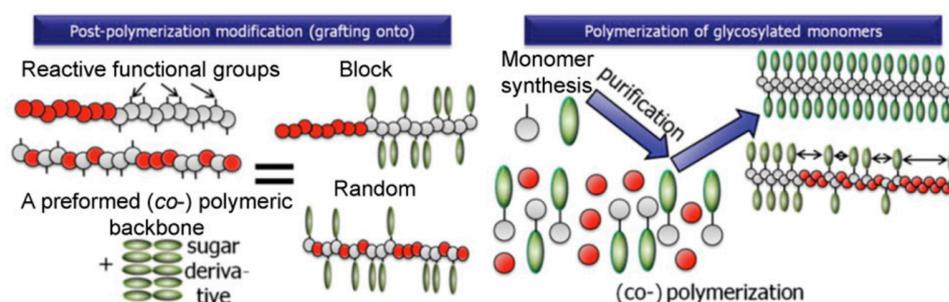


Schéma 1 - Représentation schématique des 2 stratégies de synthèse de glycopolymères selon Babiuch et Stenzel.³

La fonctionnalisation de polymères synthétiques par des sucres offre une alternative à la synthèse et la purification généralement fastidieuses de monomères saccharidiques. Elle est particulièrement adaptée à la synthèse d'une variété de glycopolymères différents à partir du même squelette synthétique. Les différentes techniques de polymérisation contrôlées existantes, comme la RAFT ou l'ATRP, permettent d'assurer un contrôle de la taille et de la dispersité des chaînes polymères. En revanche, une fonctionnalisation efficace du squelette synthétique requiert une forte réactivité des groupements portés par ce dernier ; cette fonctionnalisation doit également pouvoir s'effectuer dans des conditions douces, car des températures trop élevées peuvent détériorer le polymère. Ces contraintes limitent le spectre des réactions chimiques possibles. De plus, des étapes supplémentaires de protection et de déprotection des groupements hydroxyle des sucres avant et après fonctionnalisation sont généralement requises. Enfin, la détermination du taux de greffage de motifs saccharidiques après fonctionnalisation peut se révéler ardue.

La fonctionnalisation de polymères linéaires permet d'obtenir des glycopolymères de structure « en peigne », formés d'un squelette synthétique et de fonctions sucres pendantes, mais cette voie de synthèse a également été appliquée à la conception de glycodendrimères,⁴ ou plus récemment, de

nanoparticules hybrides inorganique/polymère de type cœur-écorce.⁵ (Schéma 2) De rares exemples de fonctionnalisation de polymères hyper-ramifiés existent également, mais de manière plus anecdotique.^{6,7} Ces matériaux trouvent principalement des applications dans le domaine biomédical. De très nombreuses études sur la synthèse de tels glycopolymères et leur capacité à interagir avec la lectine ont été publiées, mais ces polymères trouvent également des applications dans le domaine de la médecine comme agents thérapeutiques ou comme agents d'imagerie.

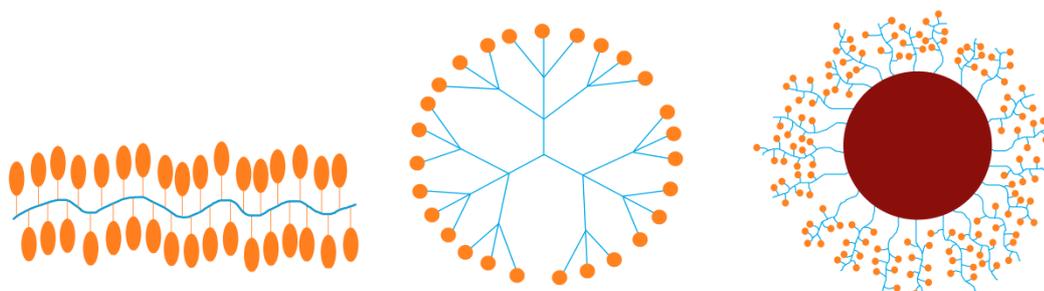


Schéma 2 - Différents glycopolymères pouvant être obtenus par greffage de groupements saccharidiques sur des squelettes polymères préalablement synthétisés
Gauche : polymères linéaires aux groupements saccharidiques pendants.
Centre : glycodendrimères. Droite : nanoparticules hybrides.
Légende : bleu : squelette polymère ; orange = groupement saccharidique ; rouge = nanoparticule inorganique

La polymérisation de monomères porteurs de groupements saccharidiques permet, quant à elle, une plus grande diversité de structures. A partir de monomères porteurs d'un sucre pendent, des glycopolymères de structure « en peigne » peuvent être obtenus.^{8,9} Les propriétés et les applications de tels polymères sont alors similaires aux glycopolymères issus de la stratégie de synthèse précédente. La conception de monomères saccharidiques porteurs de deux fonctions polymérisables ou plus permet de synthétiser des glycopolymères à sucres intra-chaîne linéaires^{10,11} ou réticulés.^{12,13} (Schéma 3) Les glycopolymères synthétisés par polymérisation de monomères saccharidiques trouvent eux aussi des applications dans le domaine biomédical, par exemple pour l'encapsulation et la vectorisation de principes actifs, mais également dans le domaine de l'ingénierie tissulaire, ou encore en tant que revêtements thermodurcissables.

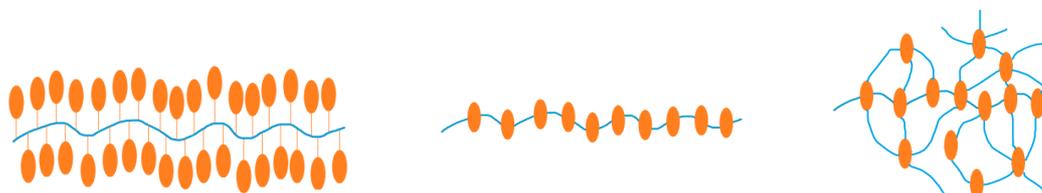


Schéma 3 - Différents glycopolymères pouvant être obtenus à partir de glycomonomères. Gauche : polymères linéaires aux groupements saccharidiques pendants. Centre : polymères linéaires aux groupements saccharidiques intra-chaîne. Droite : polymères réticulés. Légende : bleu : squelette polymère ; orange = groupement saccharidique

Cette stratégie de synthèse est la plus facile à mettre en œuvre pour la préparation de glycopolymères en grandes quantités. Aussi, la caractérisation des glycopolymères ainsi synthétisés est plus aisée puisque les taux de carbohydrates sont déjà connus. En revanche, le coût de synthèse de tels

glycopolymères peut s'avérer élevé : la conception des monomères nécessite généralement de nombreuses étapes de synthèse et de purifications et ces derniers doivent être parfaitement purs pour une polymérisation efficace. De plus, selon leur structure, les glycomonomères sont parfois susceptibles de s'auto-polymériser,³ ce qui rend leur synthèse à grande échelle difficile et complique leur stockage. Dans le cas de la synthèse de copolymères, les différences de réactivité pouvant être observées entre les monomères glycolipidiques et les co-monomères peuvent rendre la copolymérisation ardue. La distance entre deux unités saccharidiques n'est alors pas ou peu contrôlée, ce qui conduit par exemple à une moins bonne reconnaissance de ce dernier par les protéines ou les cellules.³ Enfin, la viscosité importante qu'apportent naturellement les groupements saccharidiques en solution, rend difficile le contrôle de la taille et de la dispersité des chaînes polymères.

Une dernière stratégie qui est également largement appliquée à la synthèse de glycopolymères est la fonctionnalisation de polysaccharides naturels, soit par modification chimique, soit par greffage de polymères synthétiques pour obtenir des copolymères de structure « en peigne ». (Schéma 4)

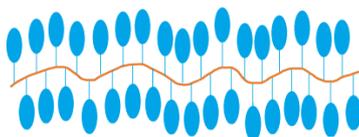


Schéma 4 - Structure des glycopolymères pouvant être obtenus par fonctionnalisation de polysaccharides
Légende : bleu : squelette polymère ; orange = groupement saccharidique

Le large champ d'applications de tels copolymères a suscité un grand intérêt pour leur conception et leur synthèse et de très nombreux exemples de fonctionnalisation de la cellulose, de l'amidon, de la pectine, ou du dextrane ont été publiés. En effet, les glycopolymères résultants peuvent être employés comme floculants,¹⁴⁻¹⁶ comme adsorbants pour le traitement d'eaux usées,¹⁷⁻¹⁸ ou encore comme agents de vectorisation pour la libération contrôlée de principes actifs.¹⁹ La fonctionnalisation de polysaccharides peut également être appliquée à la synthèse d'hydrogels.²⁰⁻²⁶ Par exemple, Nicolai *et al.* ont publié en 2015 la synthèse d'hydroxypropyl méthyl cellulose silanisée : en présence d'eau, la condensation des groupements silanol de ce polysaccharide biocompatible conduit à sa réticulation, formant ainsi un hydrogel.²⁷ Enfin, le greffage de chaînes polymères synthétiques hydrophobes sur un polysaccharide conduit à l'obtention de glycopolymères amphiphiles, capables de s'auto-assembler en systèmes organisés en milieux aqueux. Récemment, le groupe de Six a décrit l'acylation du dextrane par des polyacrylates porteurs de groupements cholestérol. L'auto-assemblage en milieux aqueux des polymères ainsi synthétisés conduit à la formation de vésicules.^{28,29} Le même groupe rapporte également, en 2016, la synthèse de systèmes polymères auto-assemblés photosensibles : des polymères amphiphiles sont synthétisés par fonctionnalisation du dextrane par différents poly(acrylate d'orthonitrobenzyle)s, (PNBA). L'irradiation sous UV de ces glycopolymères conduit à un rapide photoclivage des greffons PNBA en acide polyacrylique.³⁰

Il a été choisi de consacrer cet état de l'art uniquement aux deux premières stratégies de synthèse des glycopolymères. Une première partie de ce chapitre sera consacrée à la fonctionnalisation de polymères par des saccharides. La très grande majorité de ces glycopolymères sont destinés à des applications biomédicales, et présentent généralement une morphologie organisée, avec les groupements saccharidiques en surface. Ainsi, une meilleure interaction avec la lectine et une meilleure reconnaissance cellulaire sont observées. Les trois familles de glycopolymères répondant à cette contrainte sont les glycodendrimères, les nanoparticules hybrides, mais également les glycopolymères linéaires auto-assemblés. Aussi, après une présentation des différentes méthodes de fonctionnalisation des polymères couramment employées, cette partie sera consacrée à la description de ces trois types de glycopolymères. Puis au cours d'une deuxième partie, les différentes méthodes de synthèse de glycopolymères par polymérisation de monomères saccharidiques seront présentées. Les exemples de polymérisation directe des saccharides seront distingués des méthodes de modification préalables de ces derniers visant à introduire une ou plusieurs fonctions polymérisables. Au cours de cette partie, un intérêt particulier sera porté à la synthèse de polymères à partir d'esters gras saccharidiques, communément appelés « glycolipides ». Les différents exemples de modification, chimique ou par greffage, de polysaccharides naturels, qui sont par ailleurs présentés dans plusieurs revues, ³¹⁻³³ ne seront pas évoqués ici.

II. MODIFICATION DE POLYMERES SYNTHETIQUES PAR UN SUCRE

1. Présentation des différentes voies de synthèse des glycopolymères

1.1 Synthèse du polymère

Les matériaux obtenus par greffage de groupement saccharidiques le long d'un squelette polymère sont généralement dédiés à des applications biomédicales ou de bio-mimétisme. Un contrôle de la taille et de la dispersité des chaînes polymères, ainsi que du taux de greffage des groupements saccharidiques, sont alors requis.³ Les polymères de départ, le plus souvent de type polyacrylate ou polyméthacrylate sont synthétisés grâce à différentes techniques de polymérisation contrôlées telles que la polymérisation radicalaire contrôlée par transfert de chaîne réversible par addition-fragmentation^{6, 7, 34, 35} (RAFT), la polymérisation radicalaire par transfert d'atomes³⁶⁻³⁸ (ATRP), ou encore la polymérisation coordinative par transfert de chaîne³⁹ (CCTP). Des exemples de polymérisation par ouverture de cycle (ROP) sont également recensés.⁴⁰⁻⁴¹

1.2 Stratégies de greffage des groupements saccharidiques

L'introduction des fonctions saccharidiques est réalisée par des réactions de greffage le long des chaînes du polymère préalablement synthétisé. Pour un bon déroulement de cette étape, le polymère doit présenter des fonctions chimiques pendantes suffisamment réactives pour conduire à des conversions totales dans des conditions douces. La première stratégie, développée dans les années 1990, ⁴²⁻⁴³ consiste à greffer un aminosaccharide par substitution nucléophile le long d'un polymère

porteur de groupements carboxyliques activés. Les unités saccharidiques sont alors reliées aux chaînes polymères par des liens amide. L'introduction du concept de chimie « click »⁴⁴ par Sharpless en 2001 et l'engouement pour les réactions correspondantes qui a suivi depuis ont permis de moderniser les techniques de synthèse de glycopolymères. Ces derniers sont alors majoritairement fonctionnalisés par réaction de cyclo-addition alcyne-azoture par une catalyse au cuivre ou par couplage thiol-ène, même si quelques techniques de fonctionnalisation alternatives ont également été développées, comme le recours à d'autres réactions de substitution, d'amination réductrice ou de couplage isothiocyanate.

1.2.1 Substitution nucléophile

Les premiers glycopolymères synthétisés par post-polymérisation sont les polyacrylamides glycosylés. Ces derniers sont le produit de la réaction de substitution nucléophile entre un aminosaccharide et un polyacrylate activé. A cet effet, le poly(acrylate de 4-nitrophényle) (pNPA) est rapidement apparu comme un polymère de choix. Ce dernier est synthétisé par polymérisation directe de l'acrylate de 4-nitrophényle.⁴⁵⁻⁴⁷ Une revue exhaustive portant sur différents glycopolymères synthétisés suivant cette stratégie ainsi que leurs applications a été publiée en 1998 par Bovin.⁴⁸ La synthèse de glycopolymères par réaction d'amidation a également été appliquée à d'autres polymères porteurs de fonctions 4-nitrophényle. En particulier, c'est cette stratégie qui a été appliquée à la synthèse des copolymères de méthacrylamide N-2-hydroxypropyle (HPMA) porteurs de groupements galactose pendants. Synthétisés dans les laboratoires de Duncan et Kopecek, ces glycopolymères sont obtenus par copolymérisation de l'HMPA et de l'ester 4-nitrophényle de glycyglycine méthacryloyle. (Schéma 5)

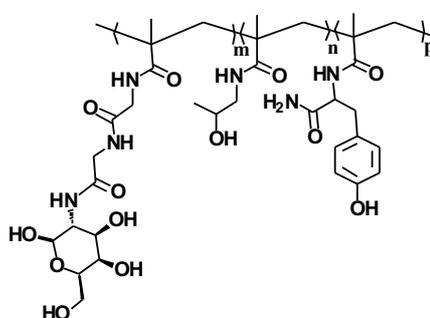


Schéma 5 – Synthèse de copolymères glycosylés d'HMPA synthétisés par les groupes de Duncan et de Kopecek

Ces glycopolymères sont les premiers à avoir atteint les tests cliniques en tant que polymères synthétiques anti-cancer, en 1994.⁴⁹⁻⁵² Des exemples de synthèse de glycopolymères par l'action d'aminosaccharides sur des groupements pendants succinimide,⁵³ chloroacétyle,⁵⁴ ou acide orthophtalique⁵⁴ sont également rapportés.

D'autres exemples de réactions de substitution nucléophile sont également décrits dans la littérature, notamment à partir de saccharides thiolés.^{55,56} Boyer *et al.* décrivent également la glycosylation en deux étapes du poly(acrylate de 2-hydroxyéthyle) : les alcools pendants sont

fonctionnalisés par un groupement paratoluène sulfoxyde, puis une substitution nucléophile est effectuée par le galactopyranose pour conduire au glycopolymère.³⁴

1.2.2 Chimie click

Introduit par Sharpless en 2001, le concept de chimie « click » rencontre rapidement un fort engouement en particulier dans le domaine de la biochimie. Cette catégorie de réactions biocompatibles consiste à lier deux molécules ensemble, sans génération de sous-produits. Les critères auxquels répondent les réactions de chimie « click », à savoir être « propres », stéréospécifiques, dotée d'une grande force motrice thermodynamique, économe en atomes et à très haut rendement, en font des candidats de choix pour la fonctionnalisation de polymères. En particulier, deux réactions de chimie « click » ont été largement adoptées pour la synthèse de glycopolymères : la cycloaddition alcyne-azoture par une catalyse au Cuivre (I) (CuAAC) et l'addition thiol-ène.⁵⁷

La CuAAC est la réaction de cycloaddition sélective entre un azoture et un alcyne terminal en présence d'un catalyseur au cuivre (I), conduisant à la formation d'un triazole 1,4-disubstitué. (Schéma 6) Il s'agit de la réaction de chimie « click » de loin la plus populaire, avec plus d'un millier d'articles publiés dans les dix ans suivant sa découverte simultanée par le groupe de Meldal⁵⁸ et par Fokin et Sharpless⁵⁹ en 2002. La CuAAC a en particulier été largement appliquée à la synthèse de glycopolymères, soit à partir d'un polymère porteur de fonctions alcyne pendantes et d'un sucre porteur d'un azoture (ce qui est le cas le plus répandu), soit à l'inverse à partir d'un polymère porteur de fonctions azoture sur lesquelles sont greffées des sucres porteurs de fonctions alcyne.

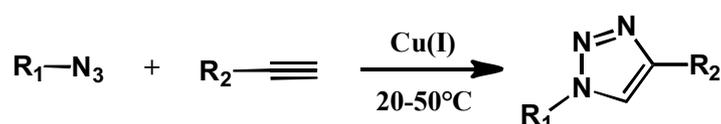


Schéma 6 - Cycloaddition sélective entre un azoture et un alcyne terminal en présence d'un catalyseur au cuivre (I) : (CuAAC)

La réaction thiol-ène consiste, quant à elle, à additionner un composé thiolé sur une double-liaison. (Schéma 7) Connue depuis plus d'un siècle,⁶⁰ l'addition thiol-ène a rencontré une nouvelle vague d'intérêt depuis le récent engouement pour le concept de « chimie click ». ⁶¹ Elle a notamment été appliquée à la synthèse de glycopolymères, par addition d'un saccharide thiolé sur un polymère présentant des doubles liaisons pendantes, comme le poly(2-(3-butenyl)-2-oxazoline)⁶² ou le 1,2-polybutadiène.⁶³ Stenzel *et al.* ont également décrit la synthèse et la fonctionnalisation par l'anhydride 4-pentenoïque du poly(méthacrylate de 2-hydroxyéthyle). Le polymère obtenu est alors fonctionnalisé par addition de gluco-thiose.³⁵ Les recours à cette méthode de fonctionnalisation pour la synthèse de glycopolymères sont beaucoup plus parcellaires que pour la CuAAC.

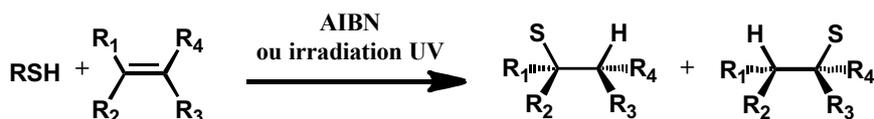


Schéma 7 – Addition thiol-ène entre un alcène et un composé thiolé

2. Synthèse et auto-assemblage de glycopolymères linéaires

La fonctionnalisation de polymères par des saccharides a d'abord et majoritairement été appliquée à la synthèse de glycopolymères linéaires et, à l'exception de quelques rares exemples, à leur auto-assemblage en milieu aqueux. Afin d'obtenir de tels glycopolymères, la stratégie communément adoptée consiste à ne fonctionnaliser qu'une partie du squelette synthétique par des groupements sucre. Dans ce cas, le squelette synthétique est en réalité un copolymère, obtenu à partir d'un monomère destiné à être fonctionnalisé par un sucre et d'un autre monomère qui lui ne sera pas fonctionnalisé. La stratégie la plus développée consiste à synthétiser des copolymères à blocs, composés après fonctionnalisation d'une partie hydrophobe et d'une partie porteuse des groupements saccharidiques, mais plusieurs exemples de copolymères à gradient ou statistiques, ainsi que des homopolymères glycolipidiques, sont également décrits dans la littérature. L'auto-assemblage des glycopolymères ainsi synthétisés peut conduire à l'obtention de nano-objets de différentes morphologies : des sphères pleines (micelles), des sphères creuses (vésicules, aussi appelées polymersomes), ou une forme tubulaire. (Schéma 8) Les dimensions des systèmes obtenus peuvent aller de quelques nanomètres à quelques micromètres.

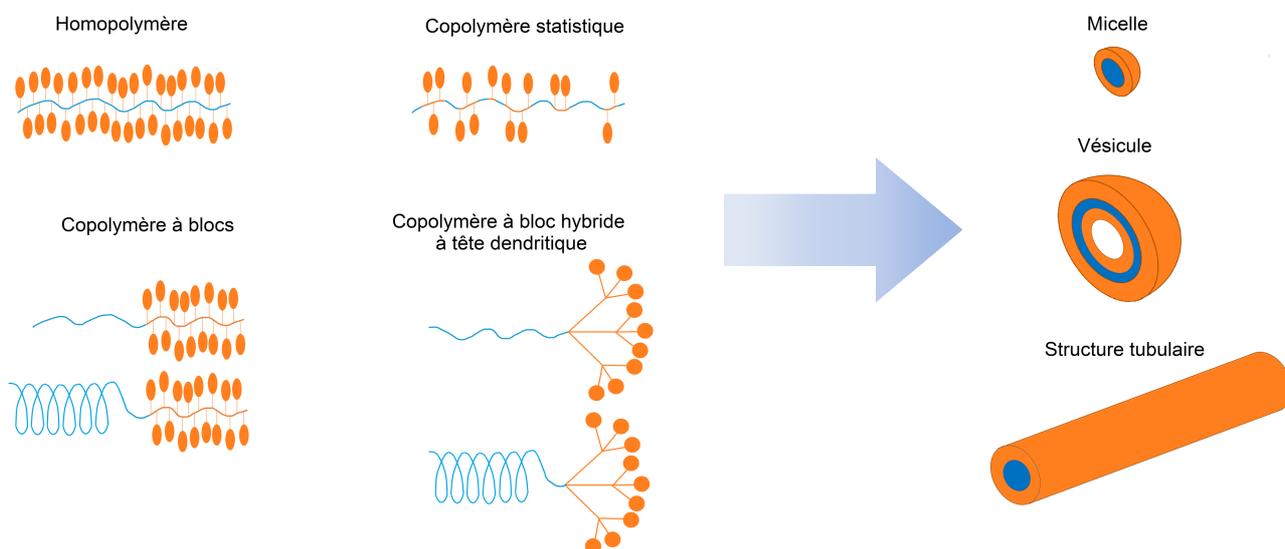


Schéma 8 – Différentes structures de glycopolymères obtenues par fonctionnalisation de polymères linéaires et différentes morphologies obtenues par leur auto-assemblage

La littérature regorge de très nombreux exemples de tels glycopolymères, répertoriés par Li *et al.* en 2015 dans une revue très complète.⁵ Cet exposé, n'ayant pas pour but d'être exhaustif, ne se concentrera que sur quelques exemples représentatifs choisis.

2.1 Cas des copolymères glycosylés à blocs

La littérature fait état de très nombreux exemples de copolymères à blocs glycosylés présentant des propriétés d'auto-assemblage. Ces derniers sont composés d'un bloc « hydrophile » porteur des groupements saccharidiques et d'un bloc « hydrophobe ». De nombreuses possibilités ont été explorées pour le bloc hydrophobe, qui peut être du polycarbonate, du polystyrène,⁶³ du poly(tert-butyl acrylate),⁶⁴ des polymères biodégradables comme le poly(D,L-lactide) ou la polycaprolactone,⁶⁵ ou encore des polypeptides⁶⁶⁻⁶⁹ qui confèrent une géométrie hélicoïdale au glycopolymère. Les groupements saccharidiques sont, quant à eux, greffés sur un bloc « hydrophile », qui peut également être linéaire^{63,70,71} ou encore dendritique, formant ainsi un copolymère hybride mi-linéaire mi-dendritique.^{64,72} Les glycopolymères à blocs s'auto-assemblent généralement sous forme sphérique (micelles ou vésicules), mais des exemples d'auto-assemblage sous formes tubulaires ont également été décrits. Ce paragraphe détaillera et comparera trois exemples choisis de synthèse de copolymères à blocs, recouvrant à la fois différentes morphologies des copolymères (linéaire ou hybride), différentes méthodes de greffage des sucres (addition CuAAC, addition thiol-ène, ou addition amine-isothiocyanate), et différentes morphologies des systèmes auto-assemblés (vésicules, micelles, ou forme tubulaire).

Schlaad *et al.*⁶³ ont décrit en 2006 la synthèse d'un copolymère glycosylé à blocs en trois étapes : dans un premier temps, un copolymère diblocs 1,2-polybutadiène-*bloc*-polystyrène est obtenu par polymérisation anionique ; puis les doubles liaisons pendantes du bloc 1,2-polybutadiène sont fonctionnalisées par addition thiol-ène du 2,3,4,6-tetra-*O*-acétyl- β -D-1-thioglucoopyranose sous activation UV en présence d'AIBN ; enfin les groupements saccharidiques sont déprotégés par déacétylation. Le glycopolymère à blocs obtenu s'organise dans l'eau sous forme de vésicules, de dimensions d'environ 20 nm. Des systèmes auto-assemblés ont également été observés dans le THF : le copolymère forme alors des vésicules inverses, beaucoup plus grandes, de l'ordre de 250 nm de diamètre, constituées d'un cœur glycosylé et d'une membrane polystyrène. (Schéma 9)

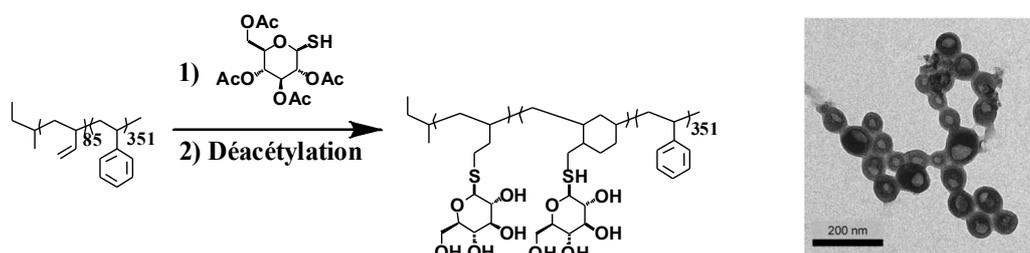


Schéma 9 – Gauche : Synthèse d'un copolymère à blocs glycosylé selon les travaux de Schlaad *et al.*⁶³
Droite : Vésicules obtenues par auto-assemblage du copolymère dans l'eau. Cliché réalisé par microscopie électronique à transmission

En 2012, Lecommandoux et Heise décrivent également la synthèse de vésicules en milieu aqueux à partir de copolymères à blocs de compositions variables, à partir d'un bloc poly(γ -benzyle-L-glutamate) (PBLG) et d'un bloc hydrophile poly(propargylglycine) (PGG) fonctionnalisé par des groupements galactose pendants. (Schéma 10) Ils publient alors une étude sur l'influence du sens de la

nanoprécipitation des copolymères PBLG-*b*-PGG synthétisés sur la géométrie des systèmes auto-assemblés (DMSO dans eau ou eau dans DMSO).⁷¹ Une nanoprécipitation dans le sens DMSO dans eau conduit à la formation d'un mélange d'objets sphériques et tubulaires. En revanche, en changeant l'ordre d'addition (eau dans DMSO), seuls des objets sphériques sont observés. La détermination du rayon de giration R_G et du rayon hydrodynamique R_H a mis en évidence un ratio R_G/R_H de 1, caractéristique de vésicules.

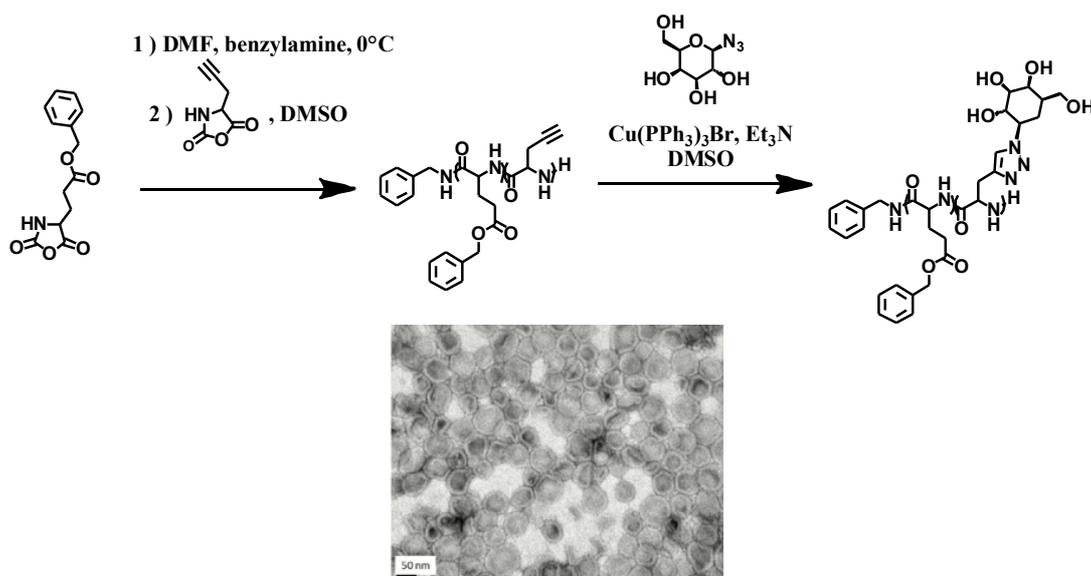


Schéma 10 – Schéma adapté des travaux de Lecommandoux et Heise⁷¹

Haut : Schéma réactionnel et représentation de la structure des polymersomes ;

Bas : Cliché du PBLG₂₀-*b*-PGG₂₅ acquis par microscopie électronique à transmission à haute résolution

Les groupes de Lecommandoux⁷³ et de Deming⁷⁴ avaient déjà identifié chacun en 2005 la capacité des polypeptides, de par leur configuration hélicoïdale, à permettre la formation de vésicules en phase aqueuse. La bioactivité des polymersomes obtenus à partir du PBLG₂₀-*b*-PGG₂₅ a été mise en évidence par leur capacité à interagir avec la lectine RCA₁₂₀.

Plus récemment, toujours dans l'objectif de synthétiser des polymersomes bioactifs, le groupe de Lecommandoux a étudié la synthèse d'un copolymère à blocs hybride, composé d'un bloc PBLG et d'un second bloc dendritique de génération 4, fonctionnalisé par des groupements galactose.⁷² (Schéma 11) Une étude du groupe de Kumar publiée en 2011 avait déjà comparé la bioactivité de copolymères à blocs à terminaison hydrophile linéaire ou dendritique et une meilleure interaction avec la lectine avait été observée pour le copolymère hybride.⁶⁴ L'analyse par diffusion dynamique de la lumière et par microscopie électronique à transmission des systèmes auto-assemblés obtenus dans l'eau à partir de ce copolymère a mis en évidence une organisation sous forme micellaire, de 20 à 40 nm de diamètre, contrairement au copolymère présenté précédemment, de composition semblable mais

linéaire, qui lui s'organisait sous forme de vésicules. L'obtention de micelles est donc causée par la géométrie dendritique du bloc hydrophile du copolymère.

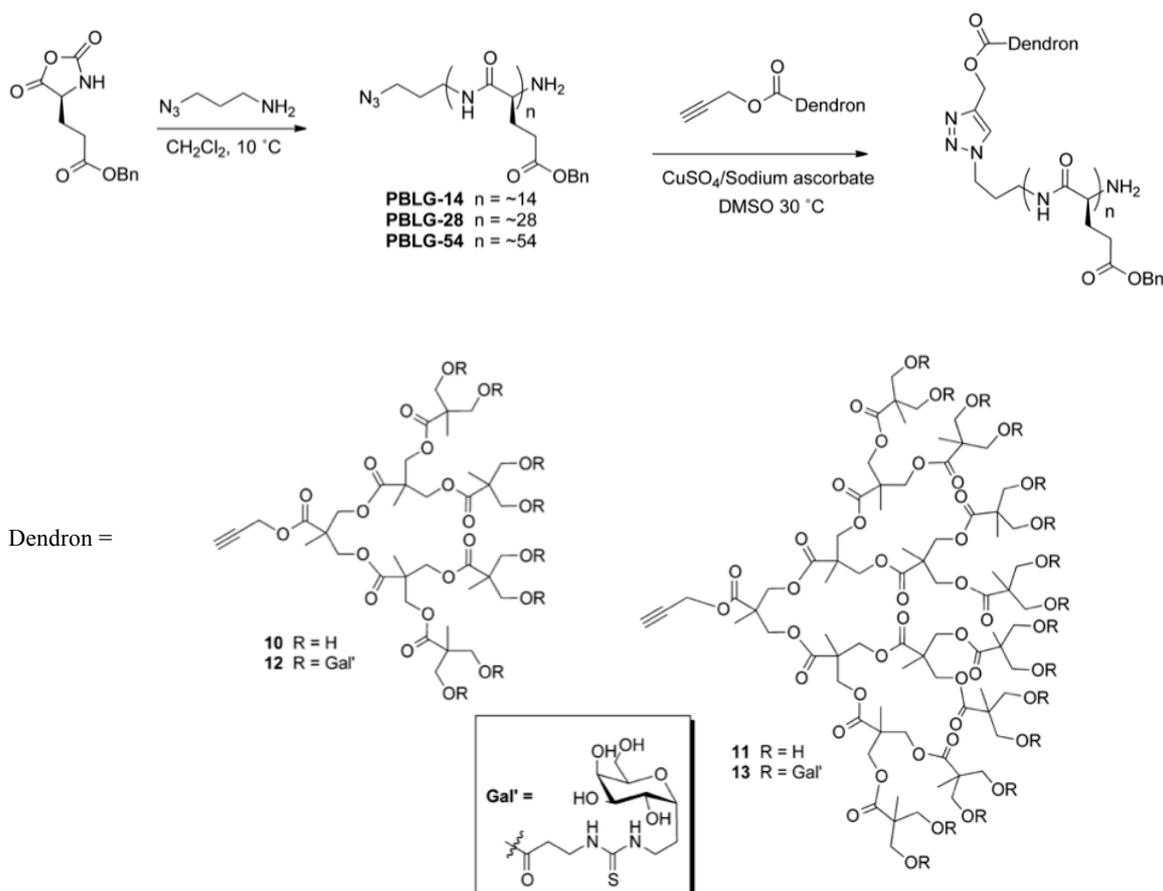


Schéma 11 – Synthèse de copolymères à blocs hybrides à tête dendritique glycosylée. (Schéma adapté d'après les travaux de Lecommandoux *et al.*⁷²)

2.2 Cas des copolymères glycosylés de type statistique ou gradient

Les exemples d'études de systèmes auto-assemblés à partir de copolymères glycosylés à gradient ou statistique sont beaucoup plus parcellaires. Contrairement aux copolymères à blocs, de tels glycopolymères ont plutôt tendance à s'organiser sous forme de micelles pleines plutôt que de vésicules. La synthèse et l'auto-assemblage en milieu aqueux d'un copolymère glycosylé de type gradient sont décrits par Lu *et al.*⁷⁵ La copolymérisation par RAFT des deux monomères et la fonctionnalisation du copolymère résultant par le galactose préalablement diacétalysé, catalysée par l'enzyme Novozyme 435, sont effectuées en « one pot ». (Schéma 12) Le copolymère à gradient fonctionnalisé ainsi obtenu s'auto-assemble dans l'eau sous forme de micelles. Les objets formés ont été comparés à ceux obtenus à partir d'un copolymère à blocs et d'un copolymère statistique de même composition et des dimensions intermédiaires, de 48,6 nm ont été mesurées pour le copolymère à gradient.

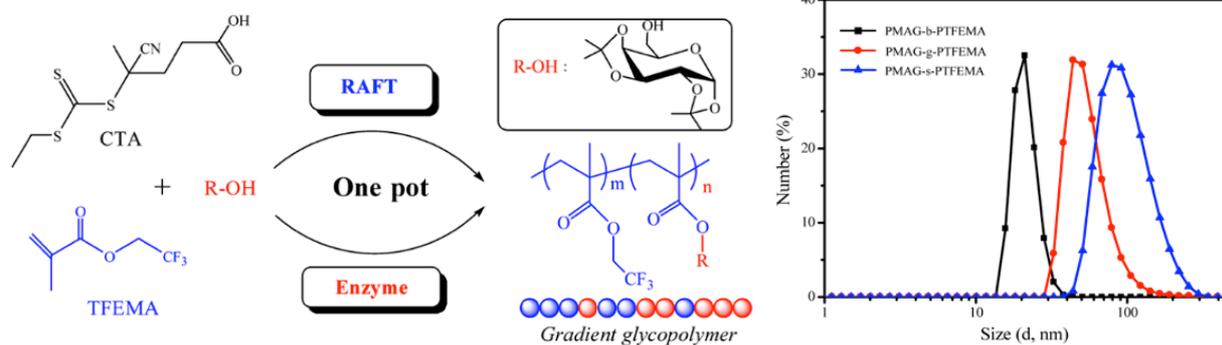


Schéma 12 – Gauche : schéma de synthèse d'un copolymère glycosylé à gradient en « one-pot »
 Droite : Distribution de tailles des particules obtenues par nanopréciipitation du copolymère obtenu
 Schéma extrait de la publication de Lu *et al.*⁷⁵

2.3 Cas des homopolymères glycosylés

Les homopolymères glycosylés sont le plus souvent synthétisés à partir de monomères porteurs d'un sucre⁷⁶ plutôt que par fonctionnalisation de polymères pré-synthétisés. Hotha et Gupta ont publié en 2013 la synthèse d'un glycopolypeptide en fonctionnalisant par addition CuAAC un squelette poly(γ -propargyl-L-glutamate) avec l'amide glucuronique de (2-azidoethyl)-hexyle.⁷⁷ (Schéma 13) L'auto-assemblage dans l'eau du glycopolymère a conduit à la formation d'aggrégats micellaires de 260 à 275 nm de diamètre résultant d'un phénomène d'agglomération de plusieurs micelles entre elles.

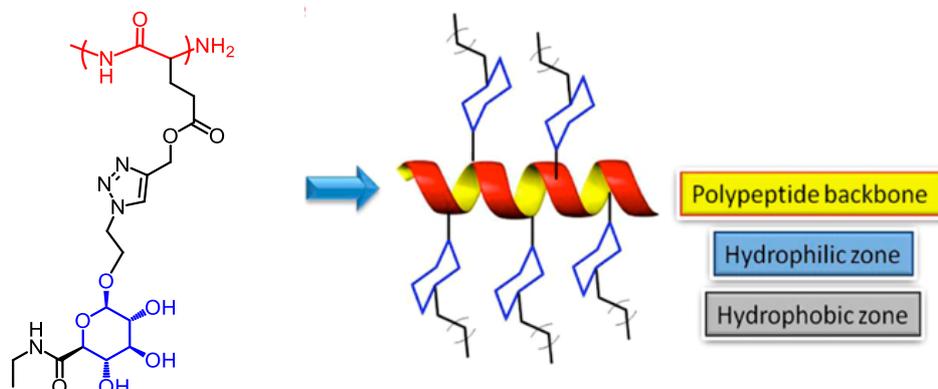


Schéma 13 – Structure d'un homopolymère glycosylé synthétisé par addition d'un groupement saccharidique par CuAAC sur un polymère polypeptidique. Schéma extrait de la publication d'Hotha et Gupta⁷⁷

A notre connaissance à ce jour, la littérature fait état de quelques autres exemples de tels glycopolymères,⁷⁸⁻⁷⁹ mais aucune mention d'éventuelles propriétés d'auto-assemblage n'est mentionnée dans les articles correspondants.

3. Synthèse de glycodendrimères

Une catégorie particulière de glycopolymères sont les glycodendrimères,⁴ c'est-à-dire des dendrimères fonctionnalisés par des groupements saccharidiques à leurs extrémités. Ces macromolécules présentent une forme sphérique avec les groupements saccharidiques en surface, comparables à des structures auto-assemblées. Au cours d'une étude publiée en 2009, Gillies *et al.* ont montré que l'interaction des glycodendrimères avec la lectine donnait de meilleurs résultats que les glycopolymères linéaires.⁸⁰

Le premier dendrimère, synthétisé par Tomalia en 1985,⁸¹ est le dendrimère polyamidoamine (PAMAM). Ce dernier est rapidement appliqué à la synthèse de glycodendrimères par réaction directe entre ses fonctions amine terminales et différents saccharides. Les premiers glycodendrimères sont synthétisés en 1995 par Aoi *et al.*, qui fonctionnalisent le PAMAM de génération 3 avec le lactose et le maltose.⁸² (Schéma 14) Ces glycodendrimères sont baptisés « sugar balls » en référence à leur forme sphérique présentant leurs fonctions saccharidiques en surface.

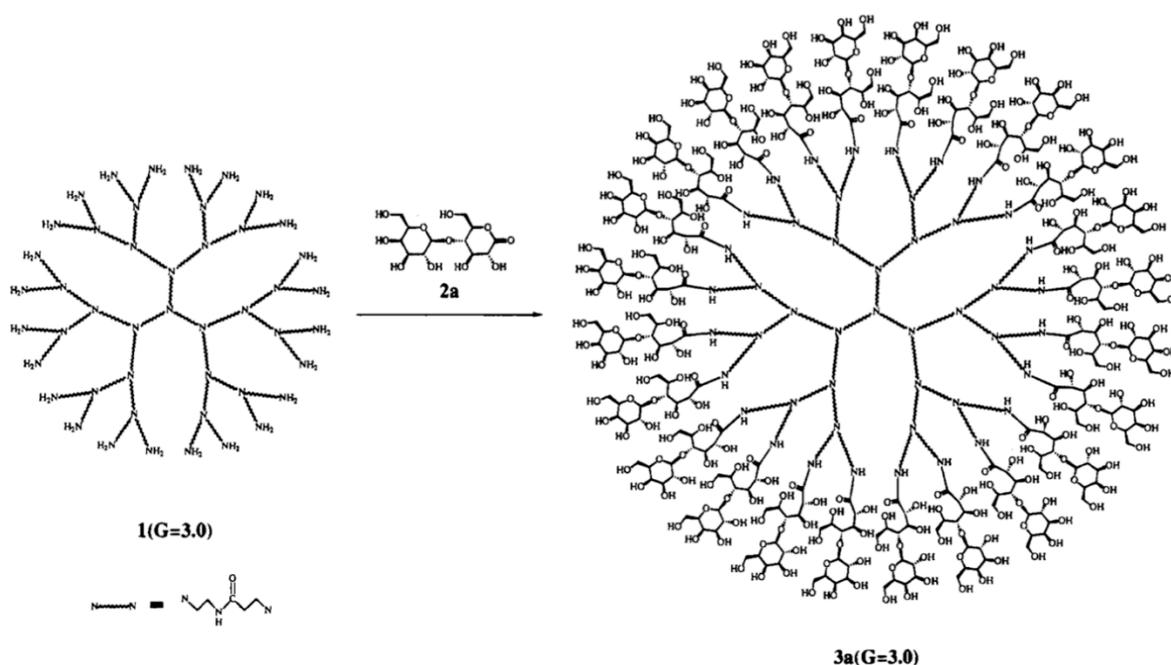


Schéma 14 – Synthèse du premier « sugar ball » à partir de PAMAM de génération 3 et de lactose
Schéma extrait de la publication d'Aoi *et al.*⁸¹

Le groupe d'Aoi développe par la suite une autre stratégie de fonctionnalisation du PAMAM, en greffant sur ce dernier des monosaccharides activés par un groupement succinimide. En fonction des conditions réactionnelles, cette stratégie de synthèse permet de fonctionnaliser les amines terminales du PAMAM soit avec une unité glycoside,^{83,84} soit d'amorcer une polymérisation par ouverture de cycle des groupements succinimide et ainsi d'obtenir un dendrimère fonctionnalisé par des chaînes polymères porteuses de sucres pendants.⁸⁵

A la même époque, Lindhorst et Kieburg travaillent sur la fonctionnalisation du PAMAM à partir d'isothiocyanoaccharides.⁸⁶⁻⁸⁷ Enfin, en 2002, Woller *et al.* synthétisent différents dendrimères à partir de PAMAM de génération 1 à 6 qu'ils fonctionnalisent avec du mannose à différents taux de greffage afin d'étudier l'effet du taux de mannose des glycodendrimères sur leur bioactivité.⁸⁸⁻⁸⁹ Les dendrimères poly(imide de propylène) ont également constitué des composés de choix pour la synthèse de glycodendrimères. En 1997, Ashton *et al.* fonctionnalisent du poly(propylène imine) par différents sucres.⁹⁰ Plus tard, en 2009, Appelhans *et al.* fonctionnalisent le même dendrimère avec le maltose et le maltotriose.⁹¹ Enfin, suite aux récents développement de la chimie « click », Astruc *et al.* greffent en 2009 des groupements 2'-azidoethyl 2,3,4-tri-O-acetyl-β-D-xylopyranoside par addition CuAAC sur un dendrimère polyalkynyle de génération 3.⁹² (Schéma 15)

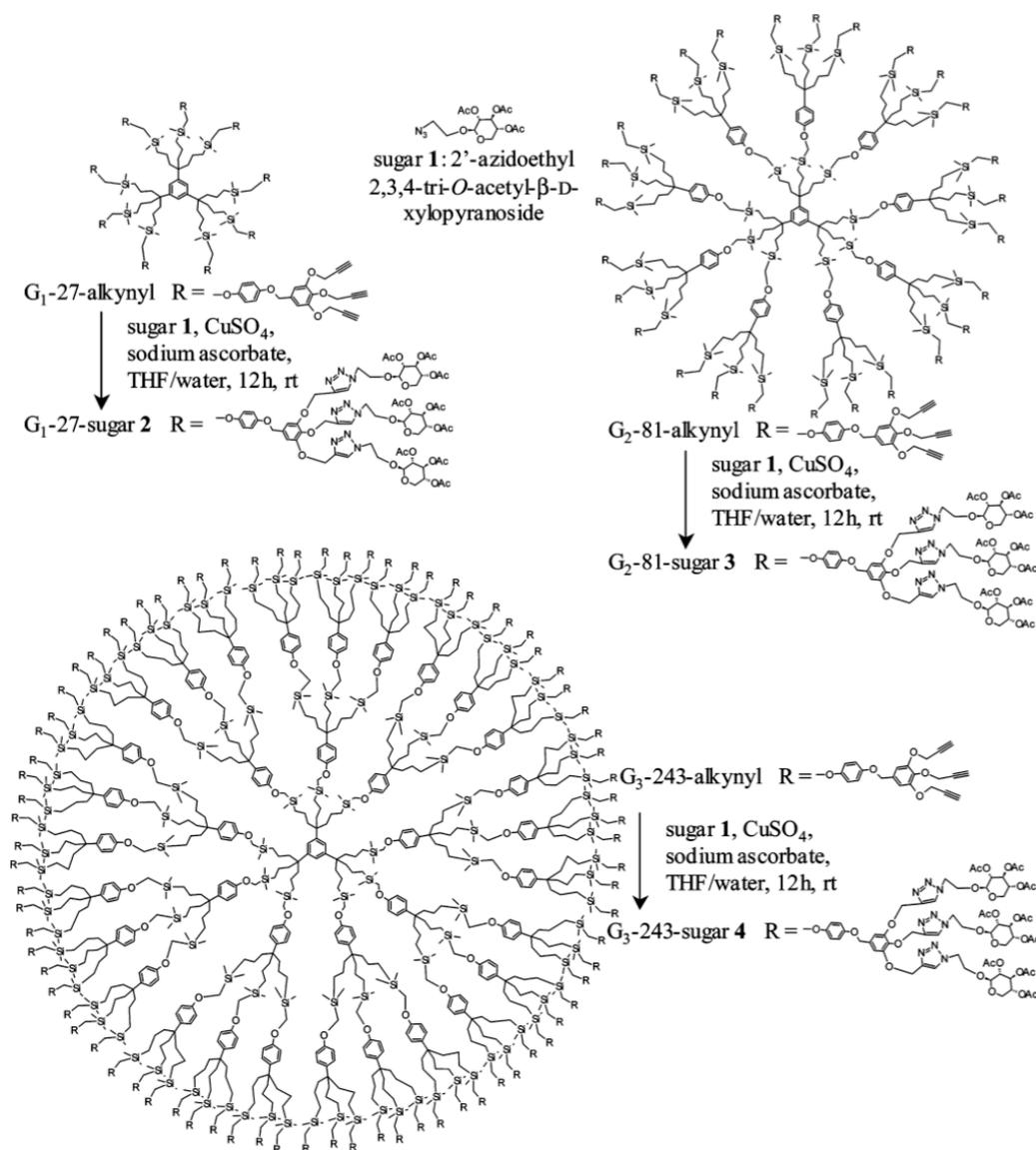


Schéma 15 – Synthèse d'un glycodendrimère par chimie « click ». Schéma extrait de la publication d'Astruc *et al.*⁹²

4. Synthèse de nanoparticules hybrides

Une dernière classe de polymères fonctionnalisés par des sucres, plus récente, concerne les nanoparticules hybrides. Composés de chaînes glycopolymères greffées de manière covalentes à la surface de nanoparticules métalliques, généralement or ou oxyde de fer, ces nano-objets attirent l'attention des chercheurs depuis les années 2010. Les procédés de greffage varient selon la nature des nanoparticules choisies : dans le cas de nanoparticules en or, les glycopolymères sont synthétisés par polymérisation RAFT, puis la partie de l'agent de transfert située à l'extrémité des chaînes est alors convertie en thiol terminal, lequel se greffe aisément sur les nanoparticules ; les nanoparticules en oxyde de fer sont, quant à elles, fonctionnalisées *via* l'addition d'un groupement acide phosphonique terminal situé à l'extrémité des chaînes polymères. Quelques exemples de nanoparticules hybrides glycopolymères à puits quantique sont aussi répertoriés. Les nanoparticules hybrides à base de glycopolymères trouvent des applications principalement dans le domaine biomédical comme agents d'imagerie par fluorescence, agents de contraste pour les analyses IRM, ou agents thérapeutiques anticancer. L'intégration de fonctions peptidiques en plus des chaînes glycosylées peut également permettre la synthèse de glycocalyx artificiels. Enfin, selon leurs géométries et leurs dimensions, il est également possible de synthétiser des nanoparticules hybrides semi-conductrices ou magnétiques. L'état de l'art sur ces objets est décrit de manière exhaustive dans une revue publiée par le groupe de Chen en 2015,⁵ aussi nous ne détaillerons ici que deux exemples de nanoparticules hybrides, l'une à partir d'or et l'autre à partir d'oxyde de fer.

Chen *et al.* publient en 2014 la synthèse « one-pot » d'un homopolymère glycosylé à partir de 1-azidogalactose et de méthacrylate de propargyle par une combinaison de polymérisation RAFT et d'addition CuAAC.⁹³ Un glycopolymère de masse molaire moyenne de 26100 g/mol avec une dispersité de 1,2 est obtenu. L'extrémité dithioester de ce glycopolymère est alors réduite en thiol, puis ce dernier est dissous dans une solution de nanotubes d'or. Après une nuit d'agitation, les nanotubes sont recouverts d'une couche de chaînes glycopolymères greffées à leur surface. (Schéma 16) Ces particules ont fait preuve d'une forte reconnaissance moléculaire envers la lectine.

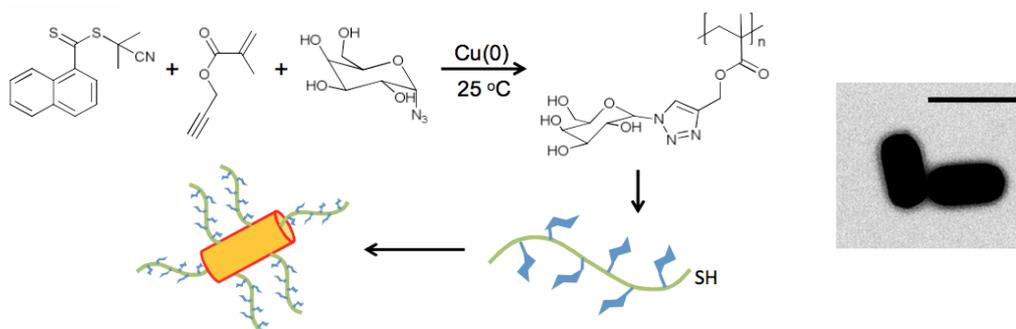


Schéma 16 – Gauche : Synthèse de nanoparticules d'or fonctionnalisées par des chaînes polymères glycolipidiques
Droite : Cliché des nanotubes hybrides obtenu par microscopie électronique à transmission. Echelle = 50 nm
(Schéma extrait de la publication de Chen *et al.*⁹³)

La même année, le groupe d'Haddleton synthétise par polymérisation vivante catalysée au cuivre un copolymère à blocs à partir d'oligoéthylène glycol et d'acrylate glycidique, porteur d'une extrémité acide phosphonique.⁹⁴ Des unités glucose ou mannose sont ensuite introduites par fonctionnalisation des époxydes pendants, soit par addition thiol-époxyde à partir de thiosaccharides, soit par addition CuAAC à partir d'azidosaccharides. Les chaînes glycopolymères sont finalement greffées à la surface de nanoparticules d'oxyde de fer par le biais des extrémités acide phosphonique.

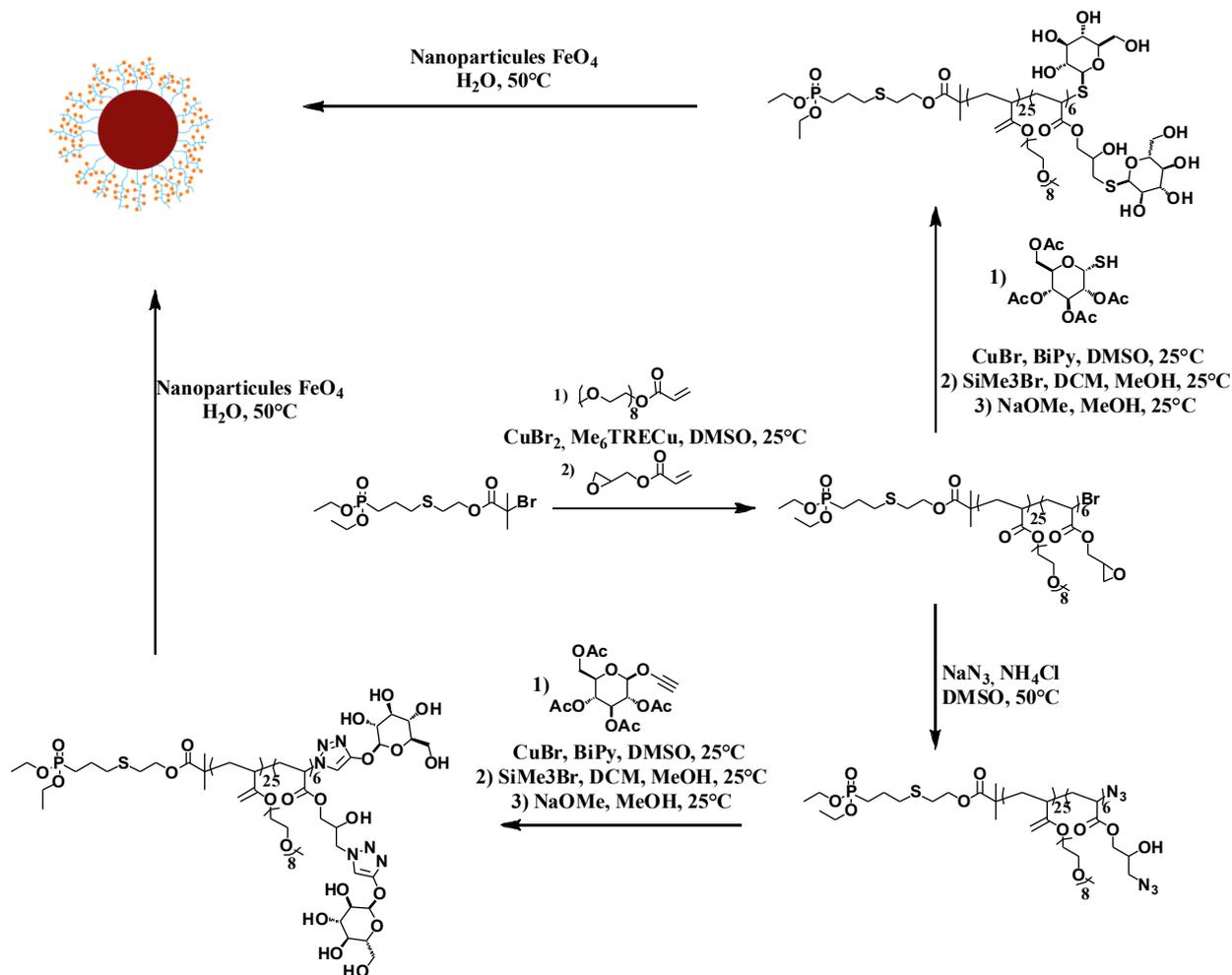


Schéma 17 – Synthèse de nanoparticules hybrides oxyde de fer/glycopolymère.
(Schéma adapté d'après les travaux de Haddleton *et al.*⁹⁴)

III. POLYMERISATION DE GLYCOMONOMERES

La deuxième stratégie de synthèse de glycopolymères consiste à polymériser directement des monomères porteurs d'une fonction saccharidique. Contrairement à la fonctionnalisation d'un squelette polymère par des sucres, qui conduit systématiquement à des polymères linéaires, aux motifs sucres pendants, ou éventuellement à des structures dendritiques, la polymérisation de monomères glycosylés offre une plus grande diversité de topologie des glycopolymères. Deux cas sont à distinguer : le premier consiste à copolymériser directement un saccharide par polycondensation de ses groupements

hydroxyle avec un comonomère ; cette voie conduit à la formation de polymères linéaires aux motifs sucres intra-chaînes, ou ramifiés et le second consiste à fonctionnaliser préalablement le saccharide, afin d'introduire une ou plusieurs fonctions polymérisables. L'insertion d'un unique groupement polymérisable permet la synthèse de polymères linéaires aux motifs saccharidiques pendants, de même morphologie que les glycopolymères obtenus par greffage de sucres le long des chaînes. Cette voie de synthèse est principalement appliquée aux monosaccharides. L'insertion de deux groupements polymérisables, généralement réalisée par fonctionnalisation sélective de deux alcools primaires sur un disaccharide, conduit à des polymères linéaires aux motifs sucres intra-chaîne. Enfin, la fonctionnalisation de tous les groupements hydroxyle du sucre permet la synthèse de polymères réticulés. Dans la majorité des cas, les fonctions polymérisables sont directement reliées au sucre par le biais des hydroxyles. Cette voie de synthèse, utilisée depuis les années quarante, offre peu de renouveau tant dans la conception des monomères que dans les structures des polymères obtenus. Une nouvelle tendance émergeant depuis les années 2000 consiste à utiliser comme monomères des esters gras de sucres, préalablement synthétisés par condensation d'un sucre et d'un dérivé d'acide gras. Cette stratégie présente l'avantage d'une grande diversité dans la conception des monomères, d'abord par le choix de la chaîne grasse et ensuite car l'insertion de la fonction polymérisable peut s'effectuer également sur la chaîne grasse et pas obligatoirement sur le sucre, offrant un plus grand choix de structures des polymères. Par ailleurs, les dérivés d'acides gras étant issus des ressources naturelles que sont les triglycérides, cette stratégie permet également d'augmenter le pourcentage de carbones bio-sourcés des glycopolymères obtenus.

1. Copolymérisation directe d'un sucre avec un comonomère

En raison de leurs nombreuses fonctions hydroxyle, les saccharides sont de bons candidats pour des réactions de polycondensation. Sélectives ou non, ces dernières conduisent à l'obtention de polymères linéaires ou de réseaux tridimensionnels hyper-ramifiés. Cette stratégie présente l'avantage d'éviter un nombre important d'étapes de synthèse puisque le sucre est directement polymérisé. La polycondensation de saccharides pour la synthèse de polyuréthanes, polyesters, poly(amine ester)s ou poly(urée uréthane)s permet d'augmenter la dégradabilité et de réduire l'éventuelle toxicité de ces matériaux, par rapport à l'emploi de diols synthétiques.

1.1 Synthèse de polyuréthanes

Les polyuréthanes trouvent de très nombreuses applications dans la vie de tous les jours, par exemple en entrant dans la composition des colles ou des peintures ; sous forme de mousses, ils sont utilisés notamment comme isolants thermiques pour les habitations. Cependant, ces polymères se dégradent généralement difficilement, ce qui limite certaines de leurs applications, en particulier dans le domaine biomédical. Le recours aux saccharides comme diols d'origine naturelle lors de la synthèse de polyuréthanes permet d'en améliorer la dégradabilité et d'en réduire la toxicité.⁹⁵

Dans les années 1970, Kurita *et al* ont synthétisé une plate-forme de polyuréthanes à partir de diisocyanates commerciaux et de tréhalose.⁹⁶ (Schéma 18) Les polymères obtenus se sont révélés solubles dans les solvants organiques polaires tels que le DMSO et leur analyse par spectroscopie infrarouge a mis en évidence la présence de groupements hydroxyle. Aussi la formation de polymères majoritairement linéaires peut être supposée, les alcools et amines primaires étant plus réactifs que les alcools secondaires ; néanmoins il s'est révélé impossible d'exclure totalement la possibilité de formation de quelques points de ramification le long des chaînes.

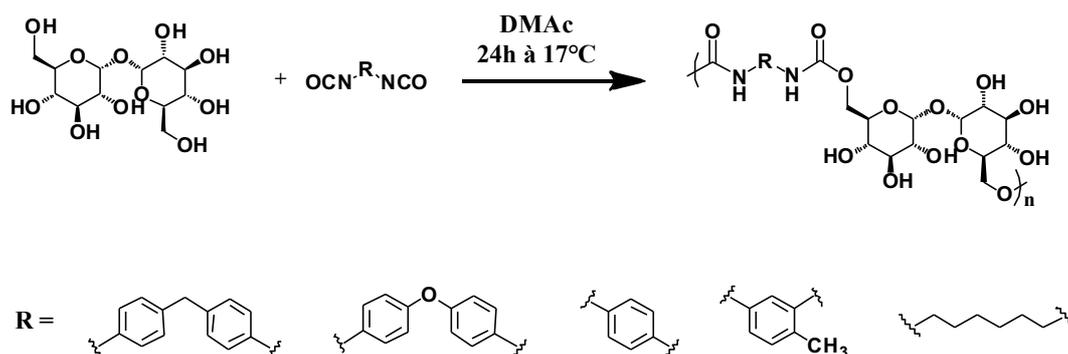


Schéma 18 – Synthèse de polyuréthanes à partir de tréhalose et de différents diisocyanates (Schéma adapté à partir de la publication de Kurita *et al.* ⁹⁶)

En 1997, Jhurry et Deffieux étudient la polycondensation du sucrose avec deux diisocyanates différents : le diisocyanate de 1,4-phénylène et le diisocyanate d'hexaméthylène.⁹⁷ Contrairement au tréhalose, le sucrose possède non pas deux mais trois alcools primaires. Aussi, un phénomène de réticulation est observé en partant d'un ratio équimolaire de sucrose et de diisocyanate de 1,4-phénylène. En revanche, Jhurry *et al* décrivent l'obtention d'un polymère soluble à partir du diisocyanate d'hexaméthylène; ils expliquent cette différence par une réactivité plus faible du diisocyanate aliphatique.

Plus récemment, en 2016, des élastomères polyuréthanes ont été synthétisés par Kizuka *et al.* à partir de diisocyanate de 4,4'-diphénylméthane, d'un polymère dihydroxytélechélique (polyoxytétraméthylène glycol, polycaprolactone diol ou polycarbonate diol et de tréhalose.⁹⁸

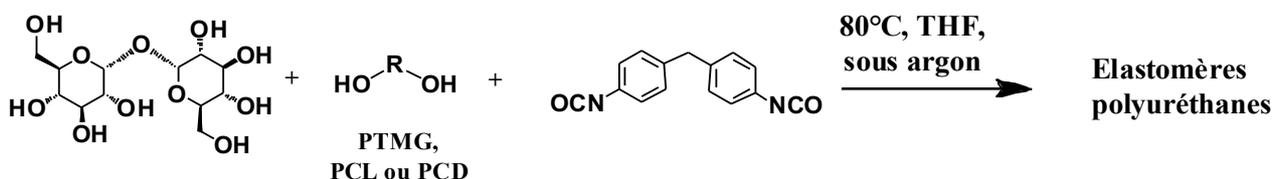


Schéma 19 – Synthèse d'élastomères polyuréthane à base de tréhalose, de diols et de diisocyanate de 4,4'-diphénylméthane (Schéma adapté à partir de la publication de Kizuka *et al.* ⁹⁸)

La même année, Savelyev *et al.* décrivent la synthèse de mousses polyuréthanes dégradables à partir de diisocyanate de toluène et de polyols en présence de lactose, de maltose ou de saccharose.⁹⁵ La

dégradabilité des systèmes obtenus a été étudiée. 40 à 53% des mousses contenant des dissaccharides ont été dégradées en 12 mois contre seulement 2,5% des mousses synthétisées sans disaccharide.

De par leur (bio)dégradabilité et leur non-toxicité, les polyuréthanes à base de sucres trouvent des applications dans le domaine biomédical. En 2000, Zhang *et al.* se basent sur les travaux du groupe de Nowick⁹⁹ pour synthétiser le diisocyanate de lysine à partir du dihydrochlorure d'ester d'éthyle de lysine.¹⁰⁰ Deux ans plus tard, ils synthétisent une matrice polyuréthane spongieuse, biodégradable en milieu aqueux et non toxique à partir du diisocyanate de lysine et de glucose.¹⁰¹ Afin de mettre en évidence la biocompatibilité de ce polyuréthane, des implantations intra-cutanées ont été effectuées sur des lapins pendant huit semaines sans qu'aucune réaction à un corps étranger ne soit observée, ouvrant la porte à des applications dans le domaine de l'ingénierie tissulaire.

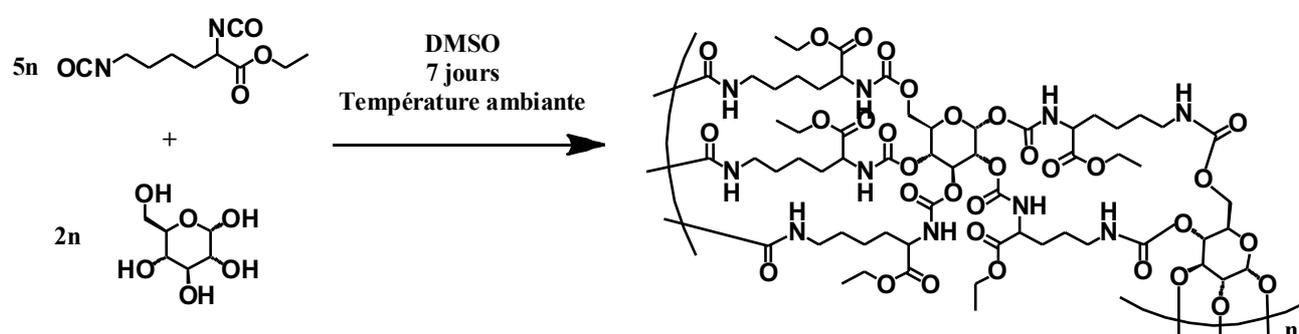


Schéma 20 – Synthèse d'un polyuréthane hyper-ramifié à base d'un diisocyanate peptidique et de glucose (Schéma adapté à partir de la publication de Zhang *et al.*¹⁰¹)

En 2012, Pasahan *et al.* décrivent la fabrication d'une électrode polymère destinée à la détection de l'épinéphrine, à base de films synthétisés à partir de diisocyanate de diphenylméthane, d'éthylène glycol et de taux variables de glucose. Les électrodes polymères ont ensuite été testées pour détecter l'épinéphrine en présence d'une concentration élevée d'acide ascorbique par voltammétrie impulsionnelle différentielle. Les meilleurs résultats ont été obtenus pour un taux de glucose de 5% molaire.¹⁰²

1.2 Autres exemples de polycondensation

Si la synthèse de polyuréthanes est la stratégie de polymérisation des saccharides la plus répandue, quelques exemples d'autres réactions de polycondensation sont décrits dans la littérature. Le groupe de Kurita s'est intéressé à la synthèse de poly(urée-uréthane)s à partir de D-glucosamine et de diisocyanates.¹⁰³ Les conditions réactionnelles utilisées sont les mêmes que celles publiées lors de la synthèse de polyuréthanes à base de tréhalose.⁹⁶ Kurita *et al.* publient également la synthèse de poly(amide-ester)s¹⁰⁴ et de polyesters¹⁰⁵ linéaires par polycondensation de la D-glucosamine et de la D-cellobiose avec différents di-chlorure d'acide. Tous ces polymères, majoritairement linéaires, se sont révélés solubles en milieu polaire.

En 1995, Rethwisch *et al.* décrivent la synthèse de polyesters à partir de sucrose et d'adipate de di-trifluoroéthyle par catalyse enzymatique en présence d'une protéase alcaline de *Bacillus sp.*¹⁰⁶

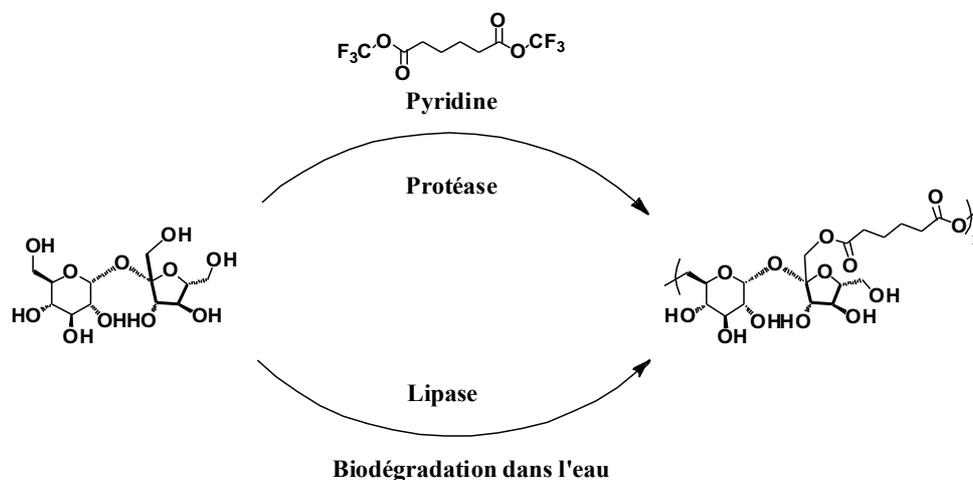


Schéma 21 – Synthèse et biodégradation du poly(sucrose adipate) par catalyse enzymatique (Schéma adapté à partir de la publication de Rethwisch *et al.*¹⁰⁶)

Seuls les hydroxyles en position 6 et 1' sont estérifiés et un polyester linéaire est isolé. Le poly(sucrose adipate) ainsi synthétisé s'est révélé être soluble dans l'eau. Il peut être complètement dégradé en milieu aqueux en présence de lipases : il est alors hydrolysé et dégradé sous forme d'acide adipique et de sucrose.

2. Polymérisation de monomères comportant un sucre

Contrairement aux stratégies de polymérisation directe des saccharides, qui se limitent à la polymérisation par étapes, la fonctionnalisation préalable de ces derniers permet plus de diversité dans le choix des méthodes de polymérisation : par étapes, radicalaire, cationique, anionique, par ouverture de cycle, par métathèse... Il est également possible de synthétiser des homopolymères, des copolymères statistiques, ou encore des copolymères à blocs. La fonctionnalisation des saccharides peut s'effectuer selon les conditions choisies sur un, deux, ou la totalité des hydroxyles, le degré de fonctionnalisation des saccharides déterminant la topologie du glycopolymère correspondant : réticulé, ou linéaire, avec les sucres intra-chaîne ou inter-chaîne.

2.1 Polymères thermodurcissables

Les thermodurcissables sont des polymères réticulés, formant un réseau chimique. De par leur réticulation, ils sont plus résistants que des polymères linéaires : on leur reconnaît une très bonne résistance électrique, mécanique, aux produits chimiques, ainsi qu'à la chaleur. En revanche, ils sont difficilement dégradables et donc difficilement recyclables. L'incorporation de motifs issus de ressources naturelles au sein d'un thermodurcissable permettrait, en plus de présenter une alternative aux ressources pétrochimiques, d'améliorer sa dégradabilité. Les saccharides, qui présentent de nombreux groupements hydroxyle, sont donc à cet effet des composés de choix. La fonctionnalisation

non sélective des groupements hydroxyle par des groupements polymérisables conduit à des monomères glycosylés capables de réticuler pour former des thermodurcissables. Les saccharides majoritairement employés à cet effet sont le saccharose et le tréhalose.

Dans les années 1990, Sachinvala *et al.* décrivent la synthèse de trois monomères à partir de sucrose. En 1991, ils publient une stratégie de synthèse en quatre étapes du 1',6,6'-triméthacryloyl-2,3,3',4,4'-penta-O-méthylsucrose : les trois alcools primaires du sucrose sont alors fonctionnalisés par des groupements méthacrylates.¹⁰⁷ Quatre ans plus tard,¹⁰⁸ ils synthétisent le 1',2,3,3',4,4',6,6'-octa-O-allylsucrose et le 1',2,3,3',4,4',6,6'-octa-O-crotylsucrose, dont tous les hydroxyles sont fonctionnalisés.

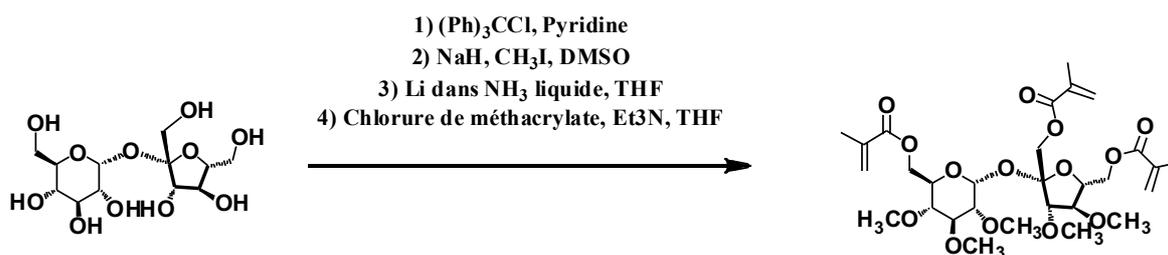


Schéma 22 – Synthèse du 1',6,6'-triméthacryloyl-2,3,3',4,4'-penta-O-méthylsucrose (Schéma adapté à partir des travaux de Sachinvala *et al.*¹⁰⁷)

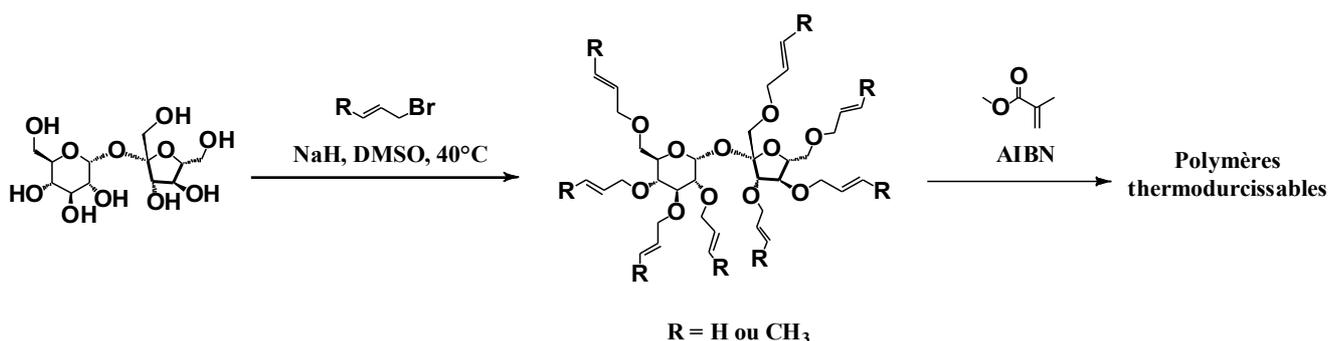


Schéma 23 – Copolymérisation du méthacrylate de méthyle et de monomères réticulants synthétisés à partir de sucrose (Schéma adapté à partir des travaux de Sachinvala *et al.*¹⁰⁸)

La polymérisation du méthacrylate de méthyle en présence de ces agents réticulants conduit à l'obtention de réseaux; la stabilité thermique de ces glycopolymères a été étudiée par analyse thermogravimétrique (ATG) en comparaison avec un poly(méthacrylate de méthyle) réticulé à partir de triméthacrylate de triméthylolpropane comme témoin. Les polymères contenant les agents à base de saccharose se sont révélés stables jusqu'à des températures allant de 309 à 354°C, alors qu'une température de début de dégradation de 284°C a été mesurée pour le polymère réticulé témoin. Sachinvala *et al.* en ont alors conclu que les motifs saccharoses permettaient d'augmenter la stabilité du poly(méthacrylate de méthyle) réticulé.¹⁰⁸⁻¹⁰⁹

En 2003, le groupe de Teramoto fonctionnalise le tréhalose à partir de p-chlorométhylstyrène. Les éthers de vinylbenzyle de tréhalose sont obtenus avec des degrés de substitution entre 2,4 et 3,2.¹¹⁰ Les monomères sont réticulés à chaud sous une presse. La

biodégradabilité des films obtenus a été testée en milieu aérobie ; une perte de masse de seulement 5% des polymères est constatée après 90 jours.

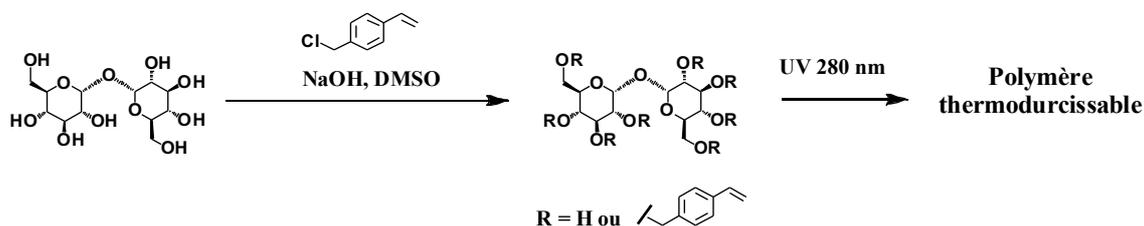


Schéma 24 – Synthèse d'éthers de vinylbenzyle de tréhalose et leur photodurcissement sous irradiation UV (Schéma adapté à partir des travaux de Teramoto *et al.*¹¹⁰)

En 2007, le même groupe fonctionnalise le tréhalose avec le chlorure de cinnamoyl pour synthétiser des esters de tréhalose aux degrés de substitution de 4 et 8. Le photodurcissement de ces monomères sous irradiation UV conduit à la formation de films thermodurs transparents.¹² Encore une fois, ces polymères se sont révélés non-biodégradables, avec seulement 4% de dégradation en 60 jours en milieu aérobie dans un terreau.

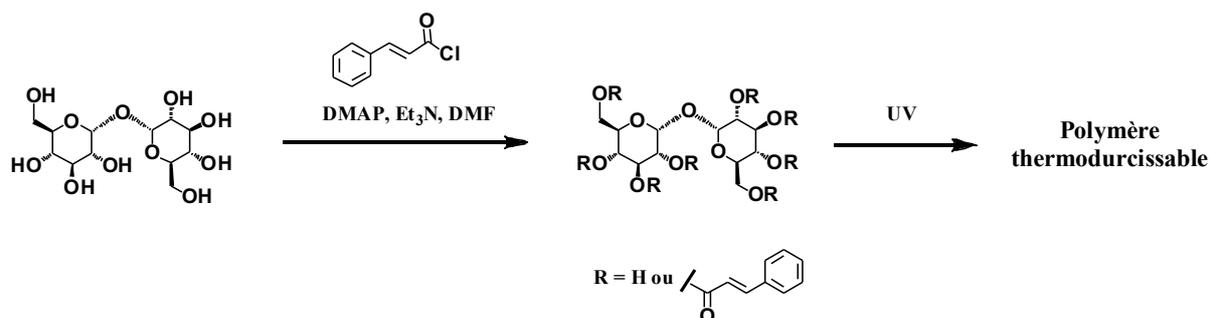


Schéma 25 - Synthèse d'esters de cinnamoyl de tréhalose et leur photodurcissement sous irradiation UV (Schéma adapté à partir des travaux de Teramoto *et al.*¹²)

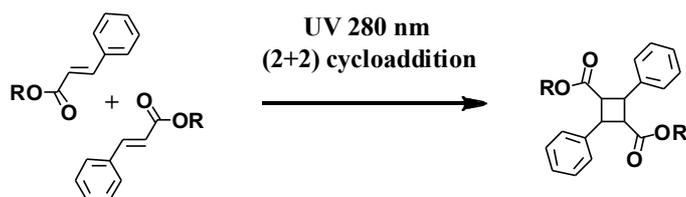


Schéma 26 – Mécanisme de cycloaddition (2+2) des groupements cinnamoyles sous irradiation UV

Plus récemment, le même groupe a fonctionnalisé le tréhalose à partir de chlorure de cinnamoyl et d'acide 4-(4-hexyloxybenzoyloxy)phénoxy-6-oxohexanoïque, pour obtenir un monomère cristal liquide, ouvrant un nouveau champ d'applications pour les glycopolymères réticulés.¹¹¹ Des tests de culture de cellules fibroblastes ont été effectués sur les films obtenus par thermodurcissement de ce nouveau monomère, attestant de la non-toxicité de ce matériau.

Le groupe de Teramoto a également eu recours à l'addition thiol-ène pour la synthèse de films polymères réticulés transparents à partir de tréhalose allylé et d'agents réticulants thiolés.¹¹²

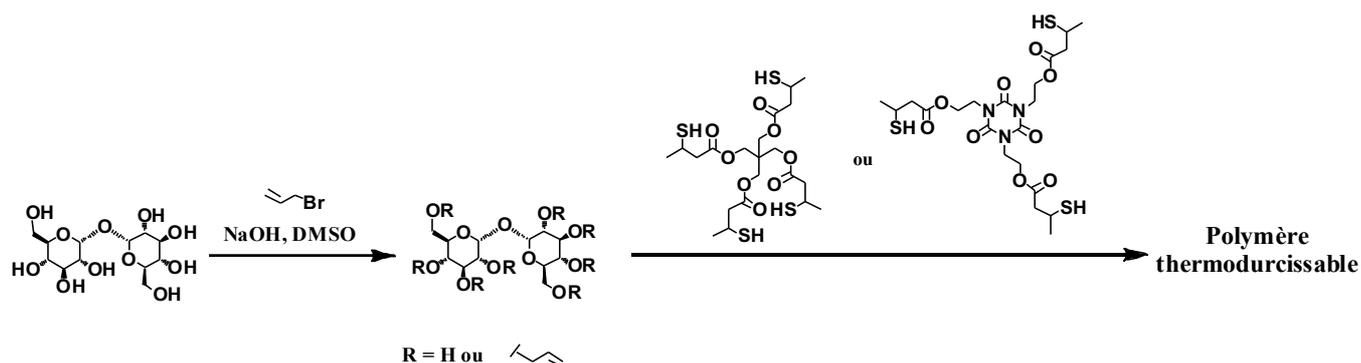


Schéma 27 – Synthèse de polymères thermodurcissables par addition thiol-ène (Schéma adapté à partir des travaux de Teramoto *et al.*¹¹²)

En 2015, Langer *et al.* ont eux aussi eu recours à l'addition thiol-ène pour synthétiser un hydrogel à base de tréhalose destiné à l'encapsulation de protéines.¹¹³ En effet, le tréhalose est reconnu pour ses excellentes propriétés de stabilisation des protéines.^{114,115} L'hydrogel est synthétisé à partir de 6,6'-diacrylate de tréhalose, de poly(éthylène glycol) diacrylate et de triméthylolpropane éthoxylate thiolactate comme agent de réticulation par addition thiol-ène. De l'ovalbumine a pu être encapsulée au sein des mailles du réseau tridimensionnel du polymère.

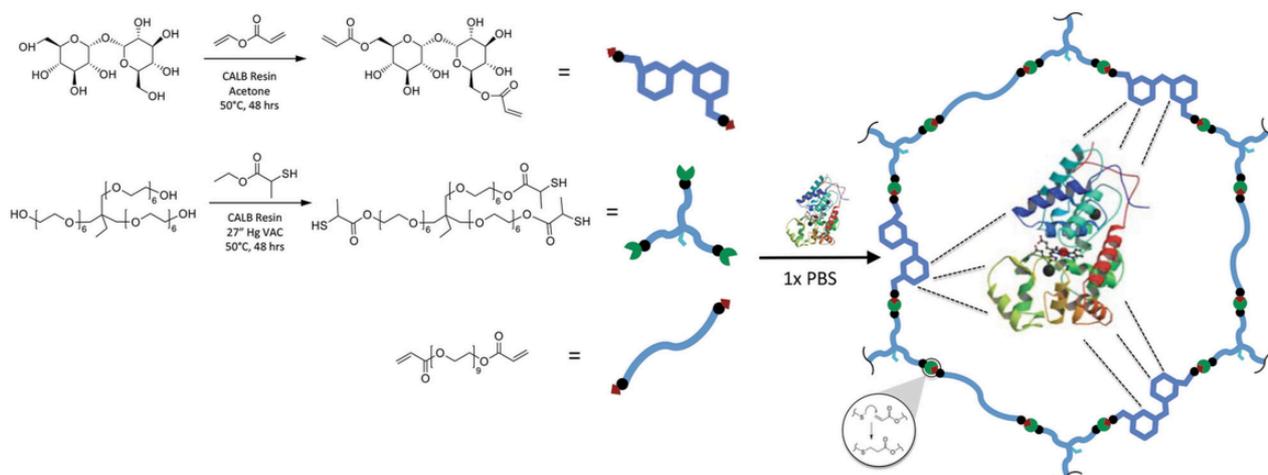


Schéma 28 – Synthèse d'un hydrogel réticulé à partir de tréhalose, de poly(éthylène glycol) diacrylate, et de triméthylolpropane éthoxylate thiolactate (Schéma adapté à partir des travaux de Langer *et al.*¹¹³)

2.2 Glycopolymères linéaires aux motifs saccharidiques intra-chaîne

La polymérisation par étapes de sucres préalablement bi-fonctionnalisés permet l'obtention de polymères linéaires aux motifs saccharidiques intra-chaîne. A cet effet, les disaccharides présentant deux alcools primaires pouvant être fonctionnalisés préférentiellement de par leur meilleure réactivité, s'imposent comme des candidats de choix. Le tréhalose, le maltose, ou le cellobiose répondent tous à ces critères ; pourtant le peu d'exemples de tels glycopolymères sont, à notre connaissance à ce jour, uniquement à base de tréhalose.

Teramoto décrit en 2010 la synthèse de monomères par la formation de deux groupements acétal en positions 4,6 et 4',6' du tréhalose à partir d'aldéhydes porteurs de groupements polymérisables. Ils synthétisent ainsi le 4,6,4',6'-O-difurfurylidène de tréhalose et étudient sa polymérisation avec le bismaléimido-diphénylméthane (BMIDP) et le bismaléimidohexane (BMIH) par réaction de Diels-Alder entre les deux monomères.¹⁰ Suivant la même stratégie, ils synthétisent également le 4,6,4',6'-O-di-(4-allyloxybenzène) de tréhalose. La copolymérisation de ce monomère avec différents siloxanes par hydrosilylation conduit à la formation de films thermoplastiques flexibles transparents.¹¹⁶

Le groupe de Reineke publie pour la première fois en 2006 la synthèse d'une nouvelle famille de polymère linéaire à base de tréhalose par cyclo-addition CuAAC entre un diazido-tréhalose et différentes diacylamines.^{11,117,118} Les polymères ainsi synthétisés se sont révélés capables de complexer efficacement avec de l'ADN plasmidique à partir d'un ratio « amines du polymère »/ « phosphates de l'ADN » (N/P) de 1,5 alors que les exemples jusque-là rapportés dans la littérature nécessitaient l'emploi d'un ratio N/P de 30 pour obtenir des polyplexes suffisamment stables.¹¹ Les glycopolymères se sont également montrés capables de délivrer l'ADN plasmidique au sein de cellules d'adénocarcinome humaines.

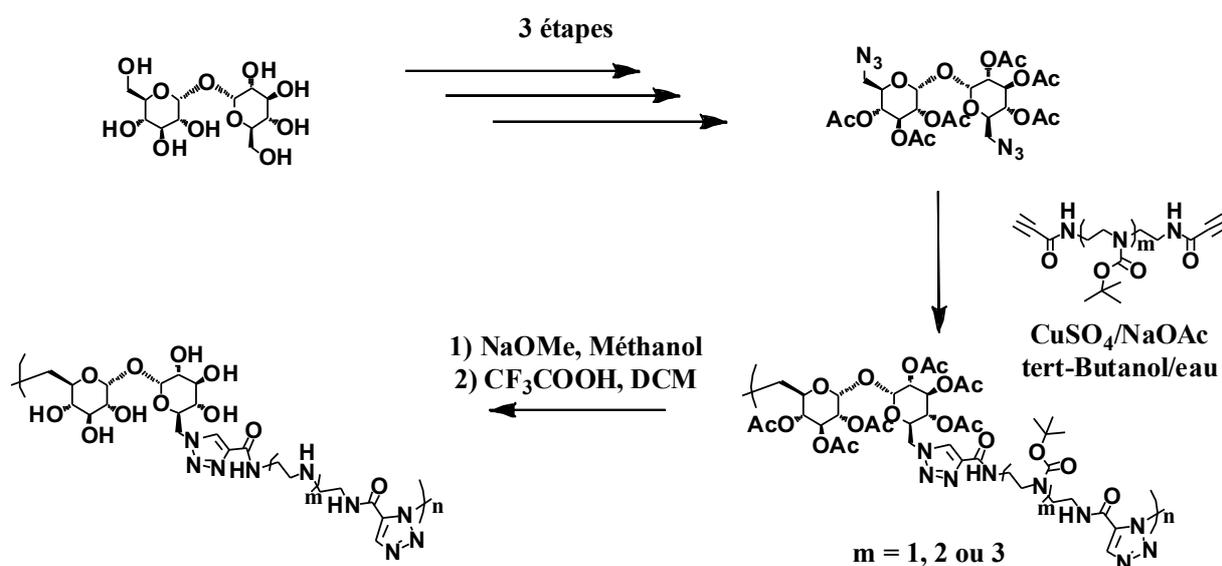


Schéma 29 – Synthèse de glycopolymères par CuAAC (Schéma adapté à partir des travaux de Reineke *et al.* ^{11,117,118})

En 2015, le même groupe¹¹⁹ décrit la synthèse d'une famille de polymères thérasnotiques complexant des cations lanthanides, toujours à base de tréhalose et de polyamines. Le diazido-tréhalose est cette fois fonctionnalisé par chimie « click » par différentes monoacylamines. Le monomère diaminé obtenu est polymérisé avec le dianhydride d'acide diéthylènetrimanopentaacétique (DTPA-BA). Jusqu'à 72% des motifs DTPA ont pu être complexé avec des cations lanthanides. Ces glycopolymères ont été utilisés pour complexer de petits ARN interférents (siRNA) et le délivrer au sein de cellules de glioblastomes.

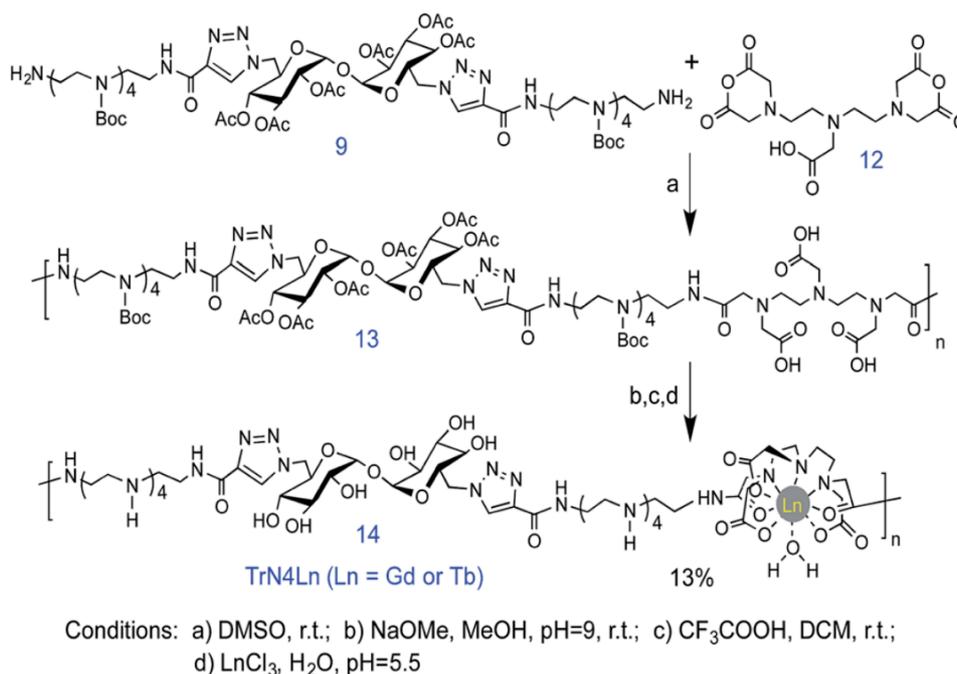


Schéma 30 – Synthèse d'un glycopolymère théransotique par CuAAC
(Schéma extrait de la publication de Reineke *et al.* 119)

2.3 Polymères linéaires avec sucre pendent

La dernière stratégie de synthèse de glycopolymères, qui est également de loin la plus utilisée, consiste à fonctionnaliser un seul hydroxyle d'un saccharide avec un groupement polymérisable ; la polymérisation en chaîne des monomères ainsi obtenus conduit à des glycopolymères linéaires aux sucres pendants. Ces polymères, de même géométrie que ceux obtenus par la fonctionnalisation de polymères synthétiques par des saccharides, sont généralement dédiés aux mêmes applications, comme le biomimétisme ou l'encapsulation de principes actifs. Ces glycopolymères sont le plus souvent synthétisés par voie radicalaire, qui reste la méthode de polymérisation en chaîne la plus facile à mettre en œuvre en présence de groupements saccharidiques, mais des exemples de polymérisation ionique après une protection préalable des groupements hydroxyle des monomères glycosides sont également répertoriés.

Wulff *et al.* donnent en 1996 aux glycomonomères synthétisés à cet effet le nom de « sucres vinyliques » et les décrivent comme étant composés de trois groupements : la partie saccharidique, l'unité de séparation et l'unité de liaison.¹²⁰ L'unité de liaison est en réalité la fonction porteuse d'une double liaison polymérisable. Ce peut être une fonction acrylate, acrylamide, styrénique, éther de vinyle, ester de vinyle, alcool de vinyle, ou un alcène terminal.

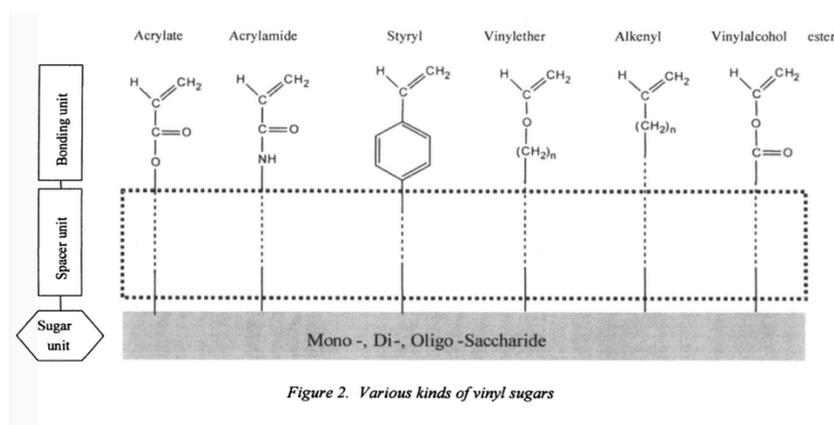
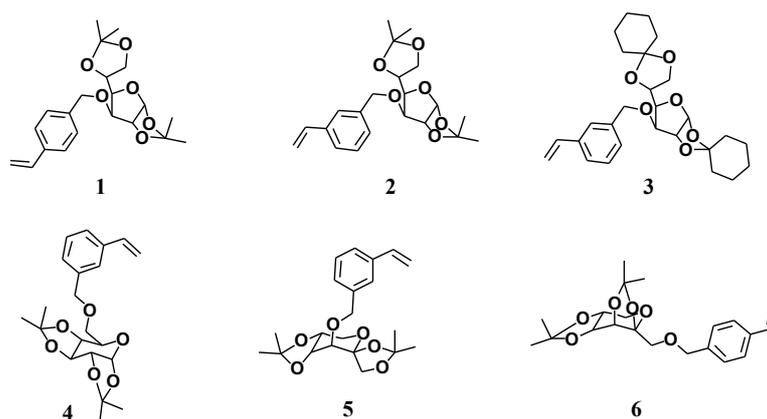


Schéma 31 – Différents types de saccharides vinyliques selon Wulff *et al.*¹²⁰
Schéma extrait de la revue de Tokiwa et Kitagawa.¹²¹

2.3.1 Polymérisation ionique

Les exemples de polymérisation ionique (cationique, anionique ou par ouverture de cycle) de glycomonomères sont assez parcellaires. La polymérisation ionique requiert une protection de tous les groupements hydroxyle de la partie saccharidique du monomère, ce qui augmente le nombre d'étapes de synthèse. Hirao *et al.* sont les premiers à décrire, en 1998, la polymérisation ionique de glycomonomères.¹²² Ils synthétisent une famille de six monomères styryliques par réaction de Williamson entre le styrène de m-chlorométhyle ou le styrène de p-chlorométhyle et six glucofuranose préalablement protégés par acétalisation. (Schéma 32) Ces monomères sont polymérisés en présence de *s*-BuLi à -78°C dans du THF. Si des chaînes polymères de tailles bien contrôlées sont obtenues à partir des monomères 1, 2, 3, 4, et 5, avec des dispersités inférieures à 1,13, la polymérisation du monomère 6 n'a pas pu être réalisée dans les conditions étudiées.



Le groupe de Minoda décrit en 1999 la synthèse d'un copolymère à blocs par polymérisation cationique d'un glycomonomère dérivé du 2-aminoglucose et d'isobutyléther de vinyle.¹²³ Le glycopolymère s'auto-assemble sous forme de micelles en milieu aqueux et sa capacité à se lier à la lectine a été étudiée.

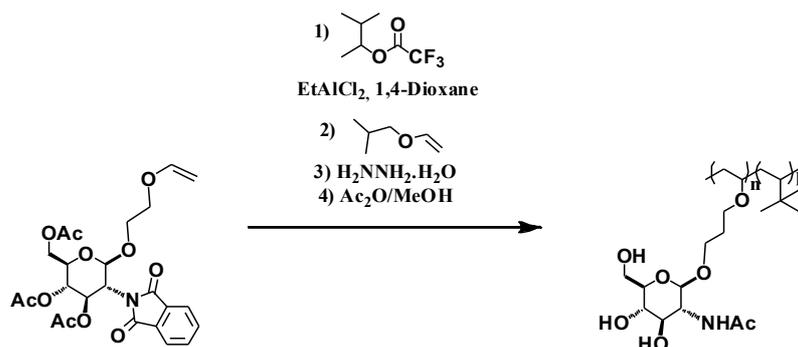


Schéma 33 – Polymérisation cationique d'un glycomonomère dérivé du 2-aminoglucose (Schéma adapté d'après les travaux de Minoda *et al.* ¹²³)

Okada *et al.* publient en 1997 la synthèse de glycopolypeptides linéaires par polymérisation par ouverture de cycle de monomères saccharidiques préalablement fonctionnalisés par un aminoanhydride cyclique. ¹²⁴ Les polymérisations, amorcées par différentes amines primaires, s'effectuent sans réaction secondaire même sans protection préalable du groupement saccharidique. Par la suite, ils appliquent cette méthode de polymérisation à la fonctionnalisation de dendrimères PAMAM.

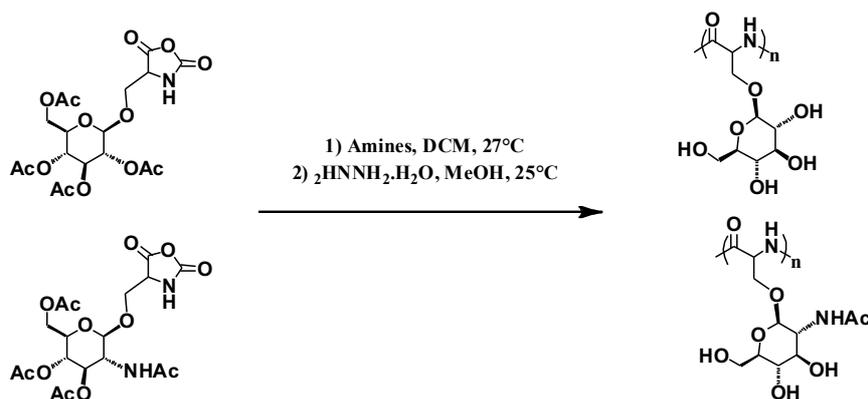


Schéma 34 – Synthèse de glycopolypeptides par polymérisation par ouverture de cycle de monomères glycosylés. (Schéma adapté des travaux d'Okada *et al.* ¹²⁴)

2.3.2 Polymérisation radicalaire

La synthèse de glycopolymères par voie radicalaire est le plus souvent réalisée sur des glycomonomères de type (méth)acrylate et (méth)acrylamide. C'est également la méthode de synthèse de glycopolymères la plus ancienne. Si les premiers glycopolymères répondant à ces critères, synthétisés dans les années 1960, ¹²¹ sont synthétisés par polymérisation non contrôlée, ^{8, 125-133} à partir des années 2000, le développement des différentes méthodes de polymérisation radicalaire contrôlée, comme la RAFT, ¹³⁴⁻¹⁴³ la polymérisation contrôlée par des radicaux nitroxyde (NMP) ^{144,145} ou cyanoxyle, ^{146,147} ou la polymérisation radicalaire par transfert d'atomes (ATRP), ¹⁴⁸ est rapidement appliqué à la synthèse de glycomonomères.

Les nombreux exemples de synthèse de glycopolymères aux sucres pendants par voie radicalaire ont été détaillés dans plusieurs revues.^{121,149,150} Le Schéma 35 illustre plusieurs monomères glycosylés polymérisés par voie radicalaire, mais afin de ne pas alourdir inutilement ce paragraphe, seulement quelques exemples choisis seront comparés ici.

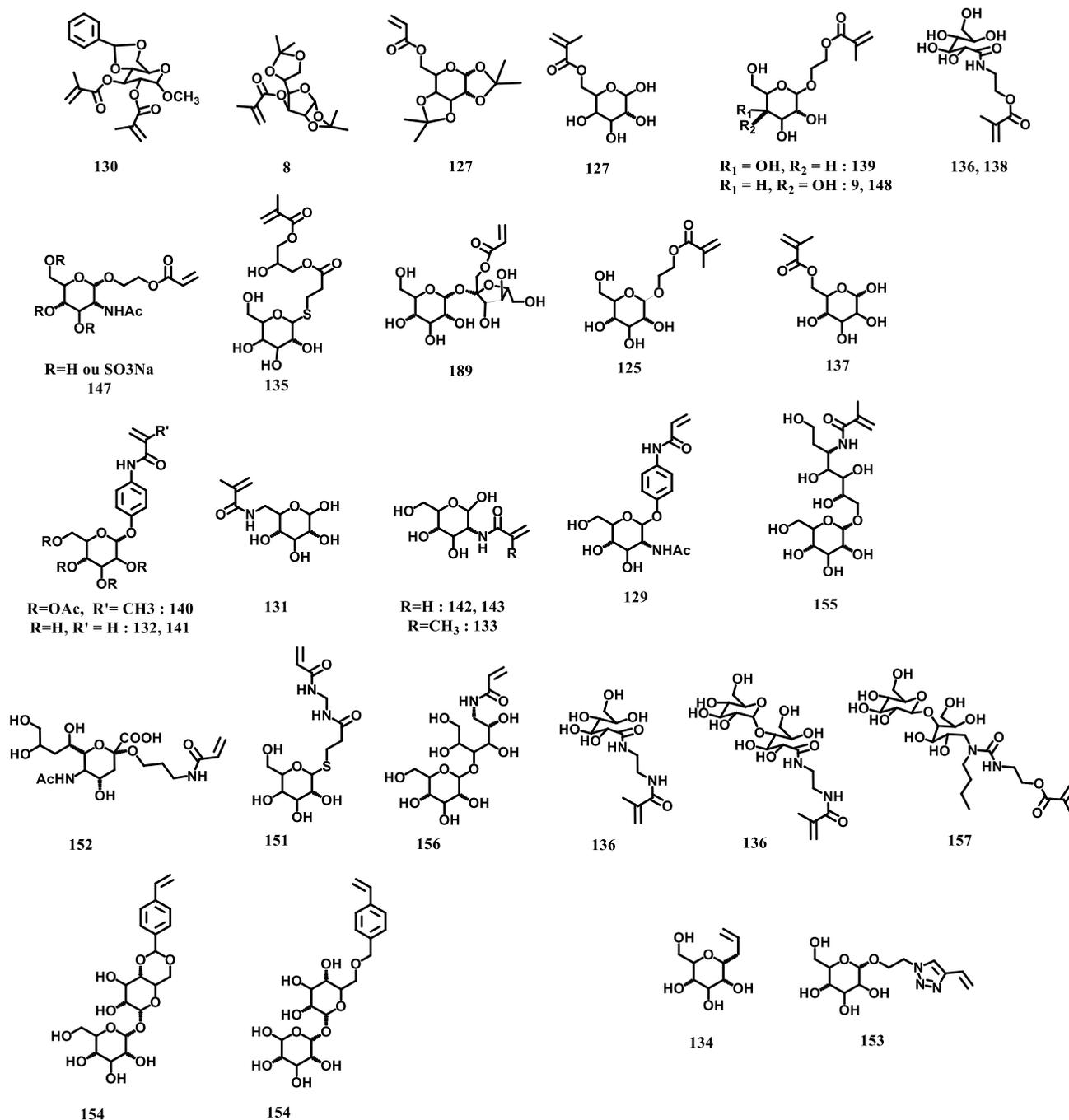


Schéma 35 – Exemples de monomères glycosylés polymérisés par voie radicalaire

Les premiers exemples de glycomonomères recensés sont constitués d'un groupement acryloyle directement relié à l'une des fonctions hydroxyle d'un saccharide. C'est le groupe de Kimura qui publie en 1961 la polymérisation du premier glycomonomère ainsi synthétisé.⁸

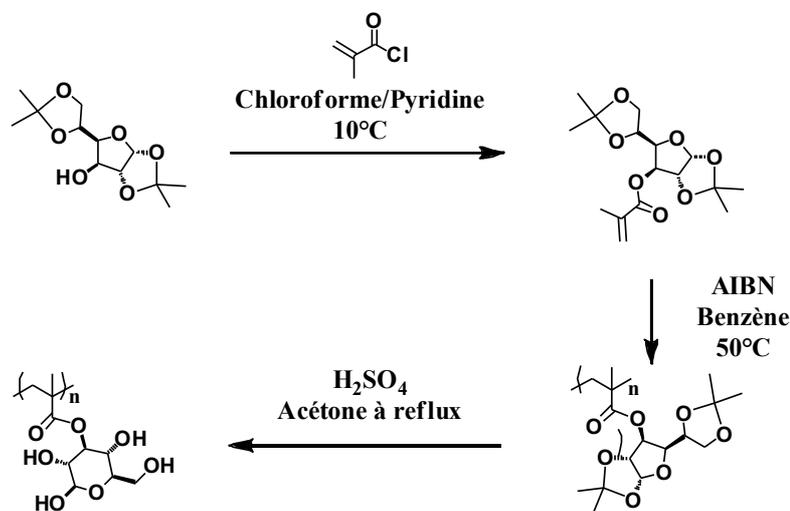


Schéma 36 – Synthèse d'un glycopolymère par polymérisation radicalaire d'un méthacryloyle de glucose. Schéma adapté d'après les travaux de Kimura *et al.*⁸

Le glucose est diacétalisé afin de protéger quatre de ses hydroxydes, et le cinquième est acylé par le chlorure de méthacryloyle. Le monomère obtenu est alors homopolymérisé ou copolymérisé en présence d'acrylonitrile. Enfin, le glycopolymère obtenu est hydrolysé afin de déprotéger les unités glucose pendantes. De nombreux autres exemples de synthèse de glycomonomères, majoritairement à partir de glucose et de galactose, mais également à partir d'aminosucres sont publiés par la suite par d'autres groupes de recherche.

En 2002, Götz *et al.* décrivent la synthèse de glyco-lipopolymères par NMP à partir du 2-propénoate de 1,2,5,6-di(iso-propylidène)-D-glucose et de la N,N-dioctadécylamine à différents taux comme mimes du glycocalyx.¹⁴⁵ Des conversions entre 70 et 80% des monomères sont observées. Des copolymères de masses molaires moyennes de 13500 à 16000 g/mol, avec des dispersités comprises entre 1,10 et 1,20 sont obtenus en fonction de leurs compositions. Ces polymères se sont montrés bien adaptés à la formation de biomembranes.

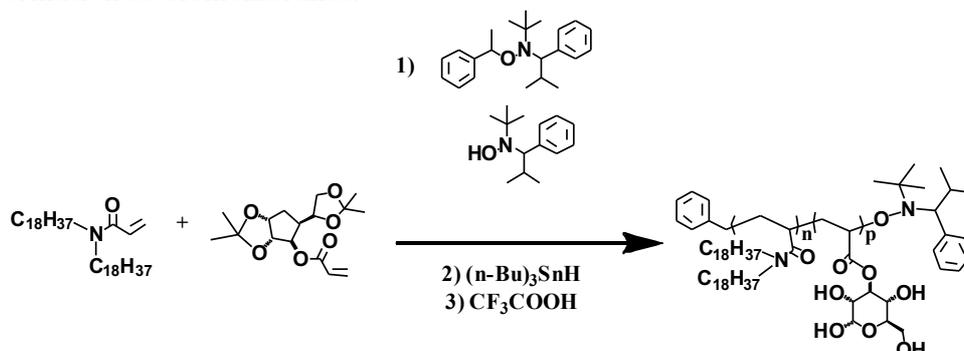


Schéma 37 – Synthèse d'un glyco-lipopolymère par NMP (Schéma adapté à partir des travaux de Götz *et al.*¹⁴⁵)

Le premier exemple de polymérisation par RAFT d'un glycomonomère est publié par le groupe de Lowe⁹ en 2003. Le glucoside de 2-méthacryloxyéthyle est homopolymérisé dans l'eau en présence d'acide 4-cyano-4-méthyl-4-thiobenzoylsulfanyl butyrique (CTP), sans nécessiter d'étapes de protection/déprotection du groupement saccharidique. Un polymère de masse molaire moyenne de 14200 g/mol est obtenu, ce qui correspond à un degré de polymérisation d'environ 48, avec une dispersité de 1,07 attestant d'un excellent contrôle des tailles de chaînes. Lowe *et al.* ont également synthétisé dans les mêmes conditions un copolymère à blocs à partir du glucoside de 2-méthacryloxyéthyle et de méthacrylate de 3-sulfopropyle ; le copolymère obtenu présente une masse molaire moyenne beaucoup plus élevée, égale à 37100 g/mol. En revanche, le contrôle de la polymérisation s'est révélé moindre, avec une dispersité de 1,63.

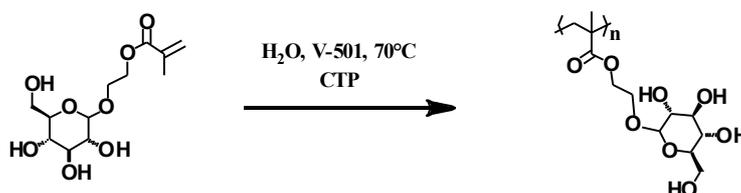


Schéma 38 - Polymérisation du glucoside de 2-méthacryloxyéthyle par RAFT en milieu aqueux (Schéma adapté des travaux de Lowe *et al.*⁹)

En 2005, l'équipe de Sen Gupta décrit la polymérisation du même monomère, cette fois par ATRP, et son greffage effectif par chimie « click » à la surface d'une protéine virale, la CPMV.¹⁴⁸

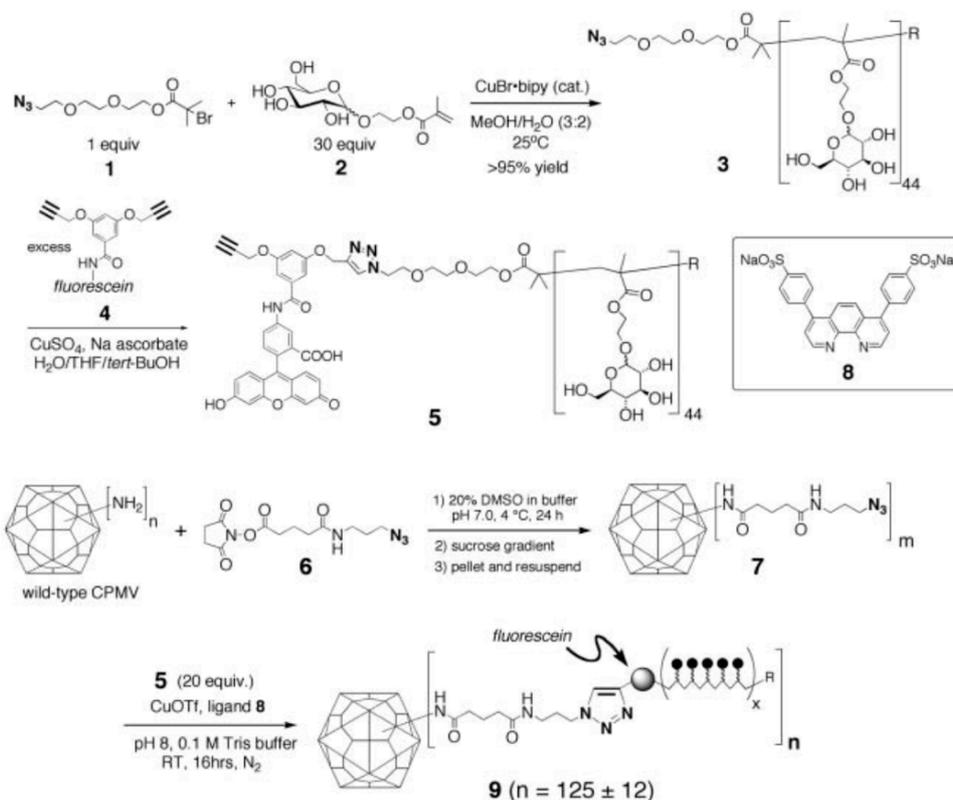


Schéma 39 - Polymérisation par ATRP et greffage sur une protéine virale du glucoside de 2-méthacryloxyéthyle (Schéma extrait de la publication de Sen Gupta *et al.*¹⁴⁸)

Un glycopolymère de masse molaire moyenne de 13000 g/mol est obtenu, avec une dispersité de 1,3. Une des extrémités du glycopolymère, porteuse d'une fonction azido, est fonctionnalisée par cycloaddition CuAAC à un agent fluorescent dialcynique. Le groupement alcyne terminal resté vacant est additionné à la protéine, préalablement fonctionnalisée par des groupements azide à sa surface, suivant la même réaction. Le nombre de chaînes polymères ainsi greffées à la surface de la CPMV a été estimé à 125 +/- 12. Ces glycoparticules ont montré une forte interaction avec la Concaviline A.

En 2010, le groupe de Stenzel¹⁵³ publie une voie de synthèse de glycomonomère originale, par addition d'un groupement acrylate sur un azidomannose par CuAAC. Le glycomonomère est alors homopolymérisé par RAFT. Des masses molaires d'environ 52000 g/mol sont obtenues, avec une dispersité de 1,16. Le glycomonomère est également copolymérisé avec l'acrylamide, toujours par RAFT, pour conduire à l'obtention d'un copolymère à blocs. Ce dernier, soluble dans l'eau à température ambiante, s'organise sous forme de micelles de 22 nm de diamètre aux températures supérieures à 40°C. Des interactions fortes entre les micelles obtenues et la Concaviline A ont été observées.

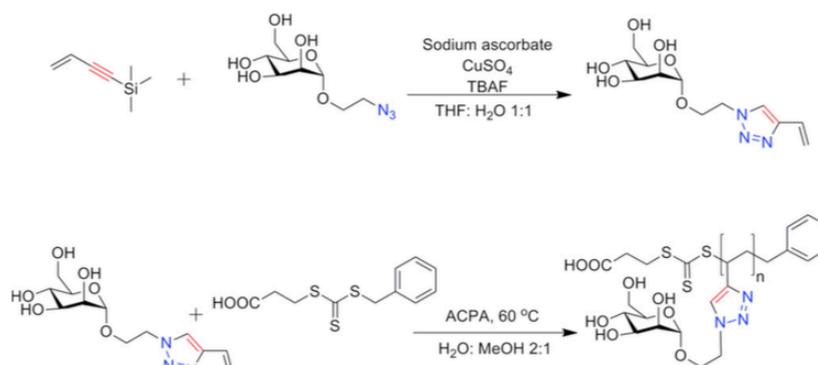


Schéma 40 – Synthèse par CuAAC et polymérisation par RAFT d'un glycopolymère à base de mannose. (Schéma extrait de la publication de Stenzel *et al.* ¹⁵³)

Enfin, un dernier exemple que nous avons choisi de présenter est celui de la synthèse de polymères stabilisants de protéines à partir de glycolipides polymérisables à base de tréhalose,^{154,158,159} décrite pour la première fois par le groupe de Maynard en 2012 : le tréhalose est fonctionnalisé de façon à n'introduire qu'un unique groupement styrénique. (Schéma 41)

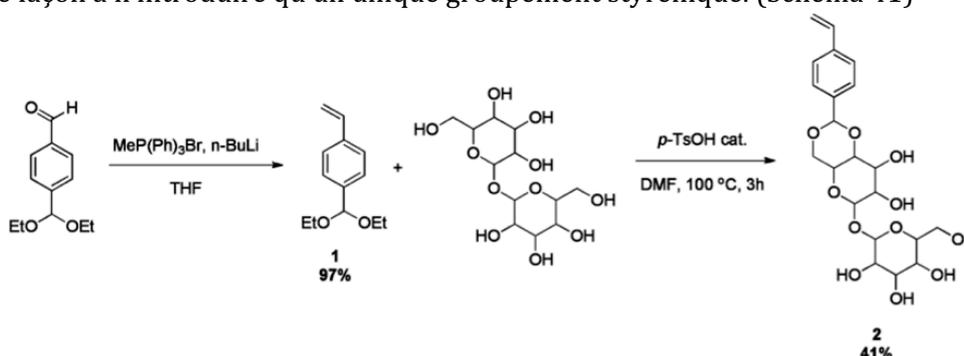


Schéma 41 – Synthèse de glycomonomères porteurs d'une unité tréhalose pendante. Schéma extrait de la publication de Maynard *et al.* ¹⁵⁸

Les glycomonomères sont ensuite polymérisés par RAFT pour conduire à des polymères linéaires aux groupements disaccharides pendants. (Schéma 42)

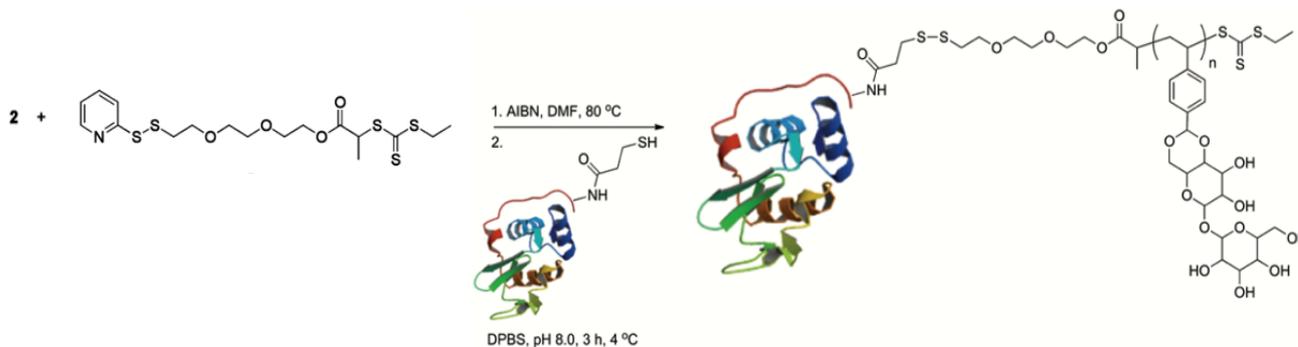


Schéma 42 – Synthèse et greffage sur une protéine d'un glycopolymère à base de tréhalose
Schéma extrait des travaux de Maynard *et al.* ¹⁵⁸

Les polymères obtenus ont alors été liés de façon covalente à de la lysozyme, une protéine présente dans le blanc d'œufs de poules. Des tests de stabilité sur la protéine ont montré qu'elle résistait mieux à la lyophilisation et à la chaleur suite au greffage du glycopolymère. Le Schéma 43 ci-dessous présente les différents glycopolymères aux groupements tréhalose pendants synthétisés par le groupe de Maynard.¹⁵⁴ Par la suite, le groupe de Reineke a également décrit la synthèse de glycopolymères composés de groupements tréhalose pendants.¹⁶⁰⁻¹⁶²

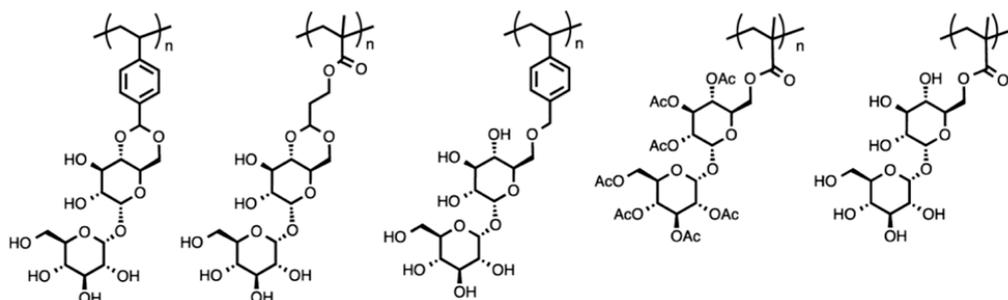


Schéma 43 – Différents glycopolymères aux groupements tréhalose pendants synthétisés par le groupe de Maynard comme stabilisants de protéines¹⁵⁴

3. Synthèse de polymères glycolipidiques et sophorolipidiques

Enfin, dans un dernier temps, nous nous sommes intéressés à l'état de l'art sur une stratégie de synthèse de glycopolymères plus récente, à savoir la polymérisation d'esters gras de sucres : les glycolipides et les sophorolipides. Si ces familles de molécules sont généralement utilisées pour leurs propriétés tensio-actives et émulsifiantes, plusieurs exemples de synthèse et de modification de glycolipides ou de sophorolipides en tant que nouveaux monomères pour la synthèse de glycopolymères originaux se développent depuis les années 2000. L'introduction de fonctions polymérisables le long des chaînes grasses permet l'obtention de polymères de mêmes géométries que

présentées précédemment, à savoir des polymères réticulés et linéaires, aux motifs saccharidiques intra-chaîne ou pendants. Après une brève définition de ces deux familles de molécules, cette dernière partie sera consacrée aux exemples de polymères glycolipidiques publiés au cours des quinze dernières années.

2.1 Définitions

2.1.1 Glycolipides

Les glycolipides sont des esters composés d'un saccharide et d'une chaîne grasse ou, par extension, de dérivés d'acides gras. Ils sont synthétisés par estérification d'un acide gras ou transestérification d'un dérivé d'acide gras par un sucre. Par extension, seront également considérés par la suite comme des glycolipides les produits de mono-estérification par un sucre de diacides gras ou de leurs dérivés. La synthèse de glycolipides est réalisée en présence d'un catalyseur, chimique (carbonate de potassium, lactate de potassium, ou sodium métallique) ou enzymatique (une lipase ou une protéase). Ces molécules à caractère amphiphile, constituées d'une tête polaire, hydrophile et d'une queue apolaire hydrophobe possèdent des propriétés tensio-actives. De plus, ils sont généralement biodégradables et biocompatibles.^{163,164} Ils trouvent donc de fait de nombreuses applications dans les domaines des détergents,¹⁶⁵⁻¹⁶⁷ des cosmétiques^{168,169} et de l'agro-alimentaire^{165,166,170,171} en tant bien sûr qu'émulsifiants, mais également comme émollients, ou encore comme conservateurs. Par exemple, les esters de sucrose à faibles degrés de substitution sont présents comme additifs dans l'industrie agroalimentaire sous la dénomination « E473 ». Les esters de sucrose aux plus hauts degrés de substitutions sont quant à eux commercialisés par Procter et Gamble sous la dénomination Sefose® en tant que substituants des résines dans la formulation des peintures. Par ailleurs, une fonctionnalisation adéquate des chaînes grasses des glycolipides permet de les utiliser, comme anti-oxidants,¹⁷² antimicrobiens,^{173,174} antibactériens,^{175,176} pesticides,¹⁷⁷ ou encore, plus récemment, dans le domaine biomédical comme agents thérapeutiques anticancer.^{178,179} Certains glycolipides présentent également des propriétés gélifiantes en milieu organique¹⁸⁰ et trouvent donc des applications en tant qu'organogels.

2.1.2 Sophorolipides

Les sophorolipides sont des glycolipides composés d'un acide gras constitué de 16 à 18 carbones lié à un sophorose. Ces derniers sont produits naturellement par des levures. Les sophorolipides peuvent être synthétisés par différentes levures, comme *Candida apicola*,¹⁸¹ *Candida bogoriensis*,¹⁸² *Wickerhamiella domericqiae*,¹⁸³ et *Candida bombicola*,¹⁸⁴ qui est la plus connue et la plus utilisée à cet effet de par sa très bonne productivité, jusqu'à 400 grammes par litre de sophorolipides.¹⁸⁵ Van Borgaert propose en 2007 un mécanisme de synthèse des sophorolipides à partir de glucose et d'acides gras.¹⁸⁶

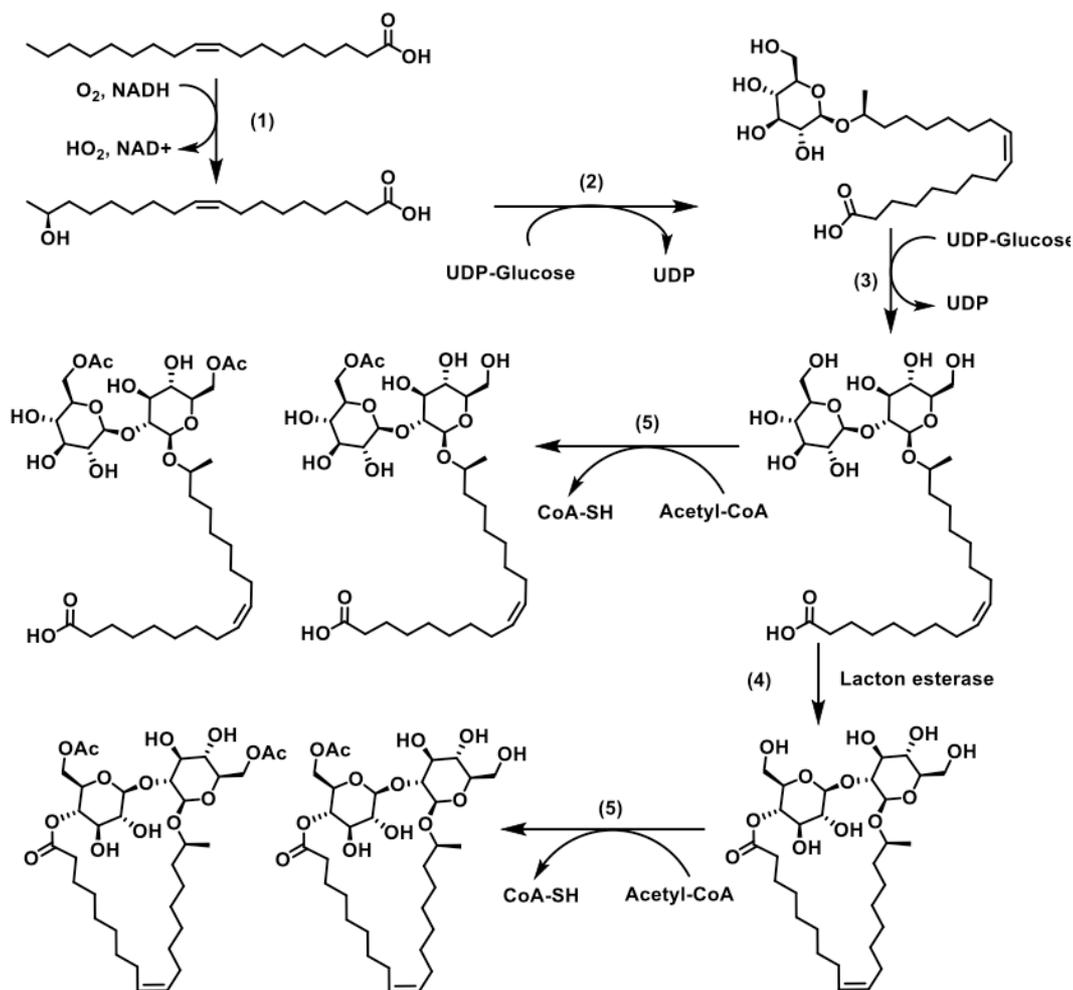


Schéma 44 – Schéma de synthèse des sophorolipides d'après Van Bogaert.¹⁸⁶

2.2 Polymères glycolipidiques thermodurcissables

Plusieurs exemples de synthèses de thermodurcissables à partir de glycolipides sont décrits dans la littérature. Comme pour les sucres ou les esters non-gras de sucres, des stratégies de synthèses de polyuréthanes et de résines époxy ont été publiées, mais des thermodurcissables glycolipidiques peuvent également être synthétisés par polymérisation radicalaire.

En 2013, notre groupe a publié la synthèse d'un glycolipide à partir de l' α -D-glucopyranoside de méthyle et d'oléate de méthyle époxydé. Après une ouverture acide d'époxyde, le glycolipide est copolymérisé avec le diisocyanate isophorone (IPDI) dans le DMF pour conduire à la formation de gels insolubles, résultant de l'obtention d'un polymère réticulé. Ce phénomène de réticulation a été attribué à une probable réaction d'une partie des fonctions hydroxyle des unités glucose avec l'IPDI lors de la polymérisation.¹⁸⁷

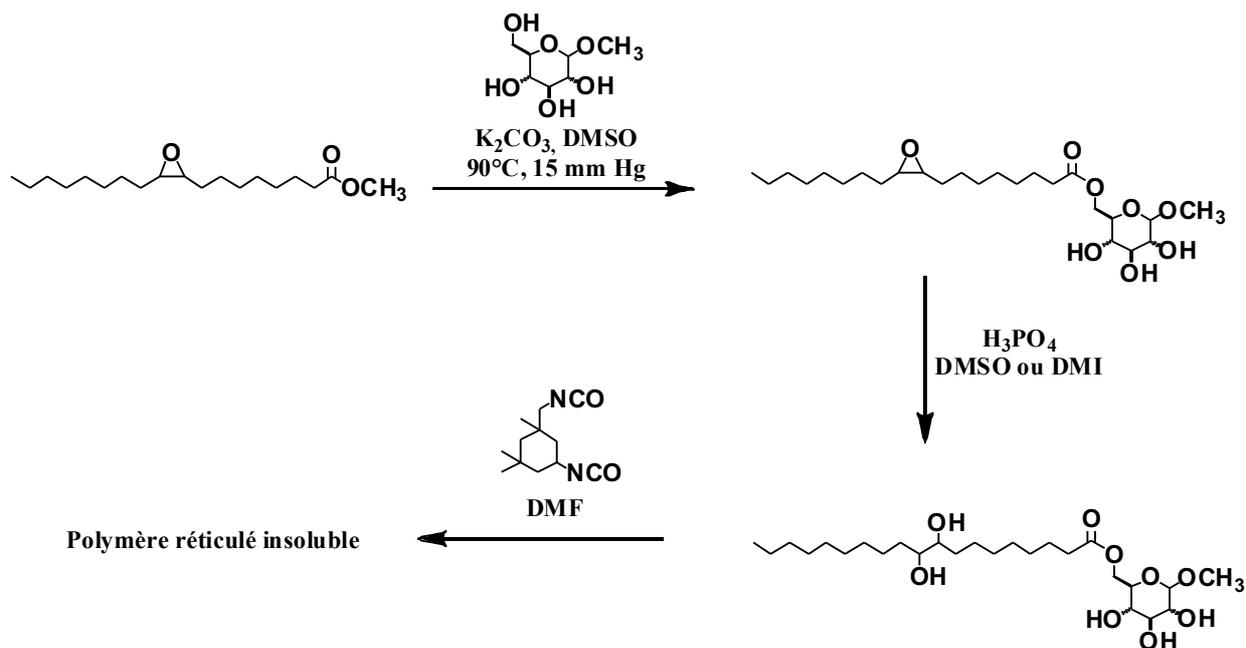


Schéma 45 – Synthèse et copolymérisation avec l'IPDI du 9,10-dihydroxystéarate d'α-D-glucopyranoside : Obtention de polymères réticulés (Schéma adapté d'après les travaux de Cramail *et al.*¹⁸⁷)

Des exemples de synthèse de résines époxy issues de glycolipides par polymérisation anionique ont également été publiés. En 2016, le groupe de Reineke rapporte la synthèse de résines époxy à partir de l'octasuccinate de tréhalose et d'éther triglycidyl triméthylolpropane.¹³ Le glycolipide est synthétisé par acylation du tréhalose à partir d'anhydride succinique catalysée par la 4-diméthylaminopyridine dans un mélange de DMF et de pyridine. Ce procédé de synthèse a également été appliqué à partir de la β-cyclodextrine à la place du tréhalose. (Schéma 46)

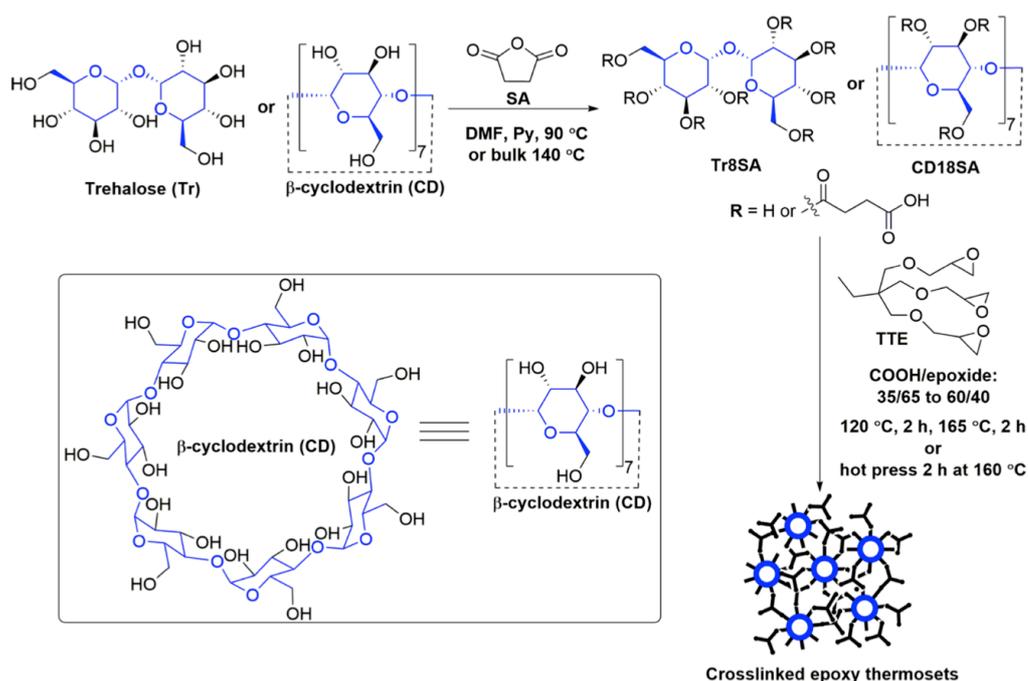


Schéma 46 – Synthèse de résines époxy à partir de tréhalose ou de β-cyclodextrine (Schéma extrait de la publication de Reineke *et al.*¹³)

Webster *et al.* décrivent également la synthèse de résines époxy à base de glycolipides de sucrose.¹⁸⁸⁻¹⁹⁰ Contrairement aux travaux du groupe de Reineke qui consistent à synthétiser des résines époxy par ouverture d'époxyde par un glycolipide porteur de groupements nucléophiles, c'est cette fois le glycolipide qui est fonctionnalisé par des groupements époxyde. Ce dernier est obtenu par époxydation du Sefose® commercialisé par Procter & Gamble.¹⁸⁸ Il est alors soit directement copolymérisé par des anhydrides cycloaliphatiques en présence de 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène comme catalyseur,¹⁸⁹ soit fonctionnalisé par l'acide méthacrylique par ouverture d'époxyde puis copolymérisé par voie radicalaire avec du styrène.¹⁹⁰ Quelques années plus tard, le même groupe décrit la synthèse de revêtements thermodurcissables poly(uréthane)s¹⁹¹ et de poly(thiouréthane)s¹⁹² dérivés du Sefose®.

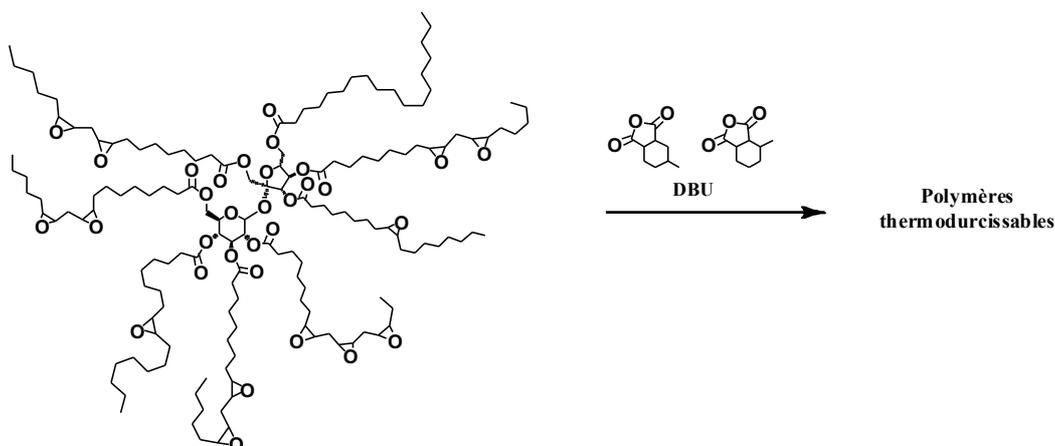


Schéma 47 – Synthèse de polymères thermodurcissables à partir de Sefose® époxydé et d'anhydrides cycloaliphatiques (Schéma adapté des travaux de Webster *et al.* 189)

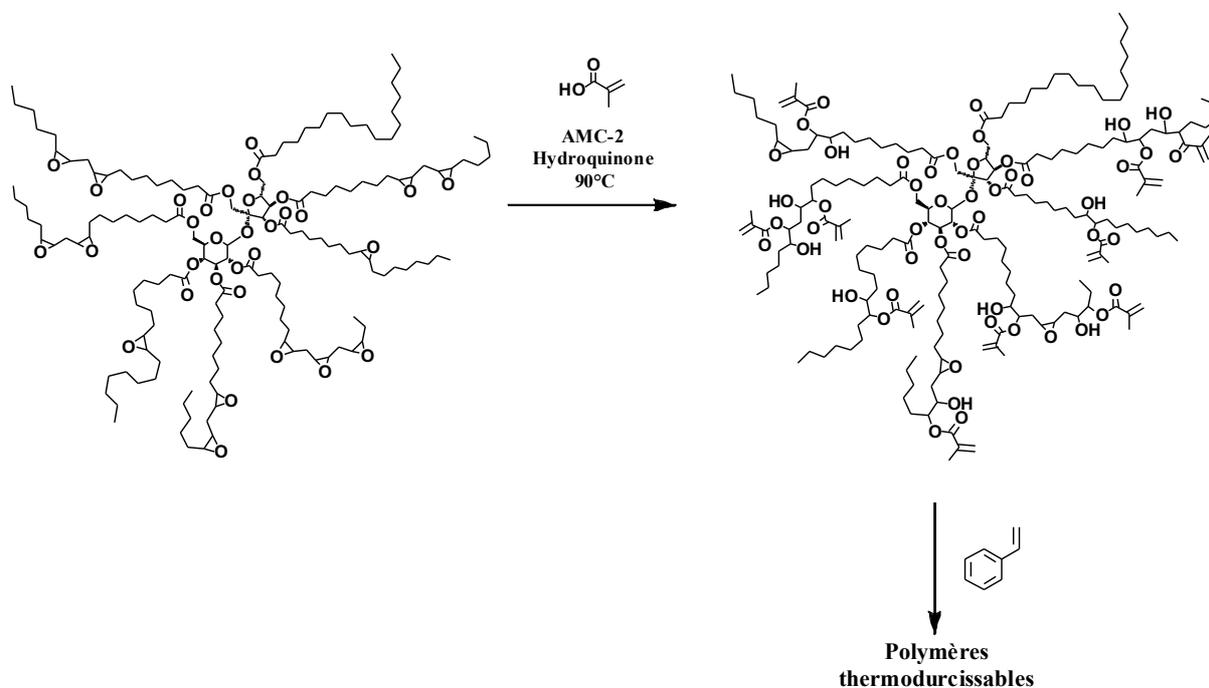


Schéma 48 – Synthèse de polymères thermodurcissables à partir de Sefose® porteur de fonctions méthacrylate et de styrène comme co-monomère (Schéma adapté des travaux de Webster *et al.* 190)

2.3 Polymères glycolipidiques linéaires aux motifs saccharidiques intra-chaîne

A notre connaissance, trois stratégies différentes de synthèse de polymères linéaires aux sucres intra-chaînes à partir de glycolipides ou de sophorolipides sont décrites dans la littérature : la polymérisation par étapes, la polymérisation par métathèse (dans le cas des glycolipides insaturés), et la polymérisation par ouverture de cycle (pour les sophorolipides).

2.3.1 Synthèse de polymères glycolipidiques par polymérisation par étapes

Comme dans le cas des exemples de synthèse de glycopolymères aux motifs saccharidiques intra-chaînes présentés plus haut, ^{10,116-119} une voie de synthèse de polymères glycolipidiques linéaires aux motifs glycolipides intra-chaînes est la polymérisation par étapes de diesters gras de sucre avec un co-monomère.

Patil *et al.* décrivent en 1991 la synthèse du di-(trifluoroéthyle)-adipate de 6,6'-saccharose par transestérification de l'adipate de bis(2,2,2-trifluoroéthyle) par catalyse enzymatique, en présence de la protéase Proleather. ^{193,194} La différence par rapport aux travaux de Dordick et Rethwitsch¹⁰⁶ présentés plus haut réside dans le ratio entre les deux réactifs : un ratio équimolaire du diester et du disaccharide conduit directement à la formation d'un polymère linéaire,¹⁰⁶ alors qu'un excès (4 équivalents) d'adipate de bis(2,2,2-trifluoroéthyle) par rapport au saccharose permet d'isoler le diadipate de 6,6'-saccharose. ^{193,194} Ce dernier est alors polymérisé par polycondensation avec l'éthylène diamine.

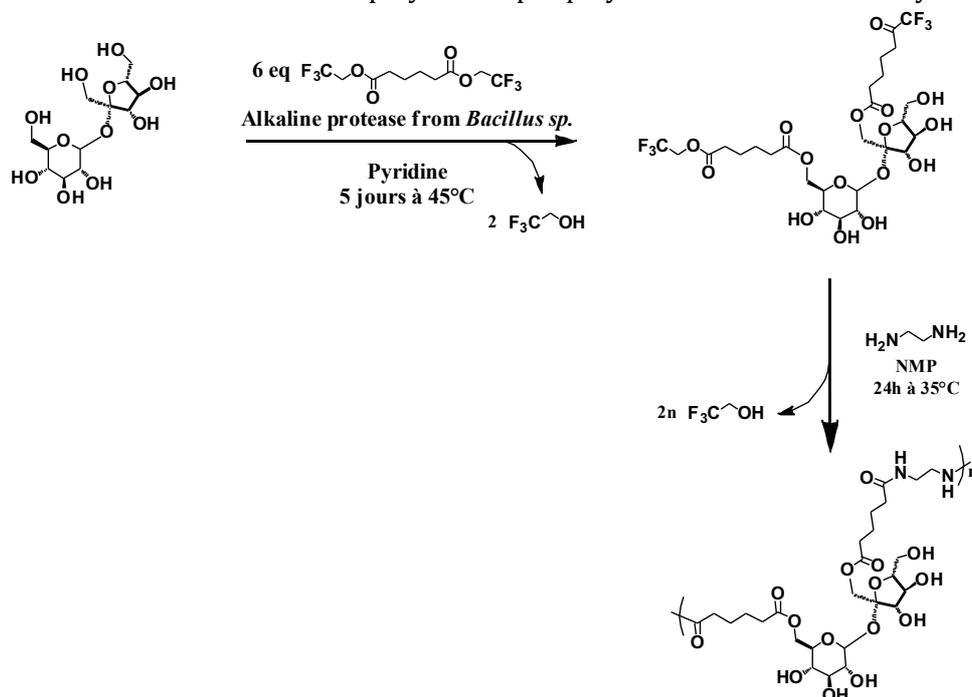


Schéma 49 – Polycondensation du di-(trifluoroéthyle)-adipate de 6,6'-saccharose et de l'éthylène diamine^{193,194}

Dix ans plus tard, le groupe de Dordick¹⁹⁵ publie un procédé de synthèse de polyesters glycolipidiques catalysé uniquement par la lipase B de *Candida antarctica* Novozyme 435 : le di-(vinyladipate) de 6,6'-tréhalose et du di-(vinyladipate) de 6,6'-saccharose sont synthétisés par

transestérification de l'adipate de divinyle catalysée par Novozyme 435 dans l'acétone. La polycondensation de ces deux monomères avec différents diols aliphatiques et aromatiques est elle aussi catalysée par la même enzyme.

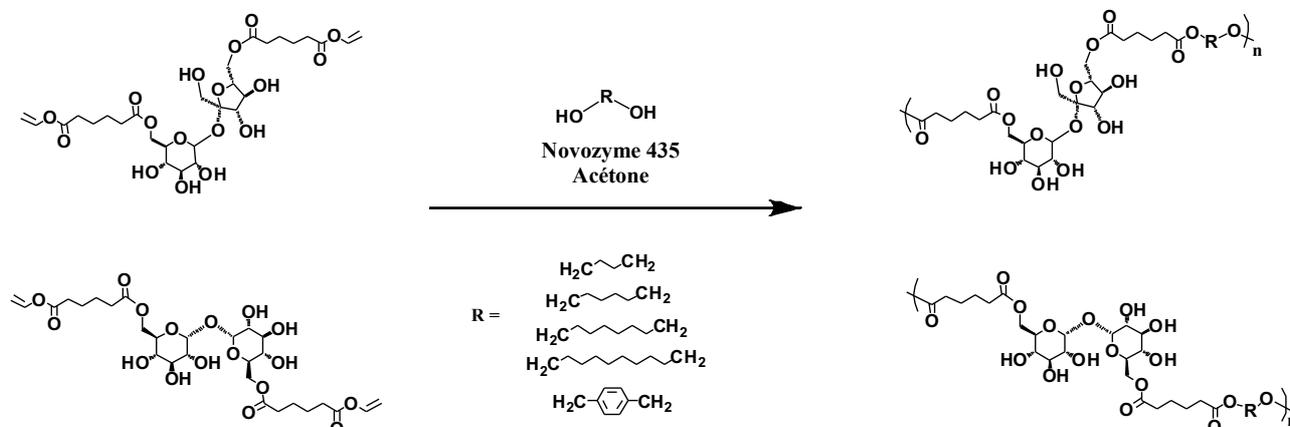


Schéma 50 – Synthèse de polyesters glycolipidiques par polycondensation avec des diols aliphatiques et aromatiques (Schéma adapté des travaux de Dordick *et al.*¹⁹⁵)

Plus récemment, notre groupe a synthétisé une large plate-forme de diesters gras de tréhalose (Schéma 51) par catalyse chimique à partir des acides undécénoïque, oléique, élaidique, eurécique, linoléique, 12-hydroxystéarique et 9,10-dihydroxystéarique, ou par catalyse enzymatique en présence de lipase B de *Candida antarctica* (CALB) par transestérification des esters de vinyle correspondants.¹⁹⁶ Ces glycolipides ont été utilisés comme monomères pour synthétiser trois familles de polymères différentes : des polyuréthanes, des polyhydroxyuréthanes et des thio-glycopolyesters

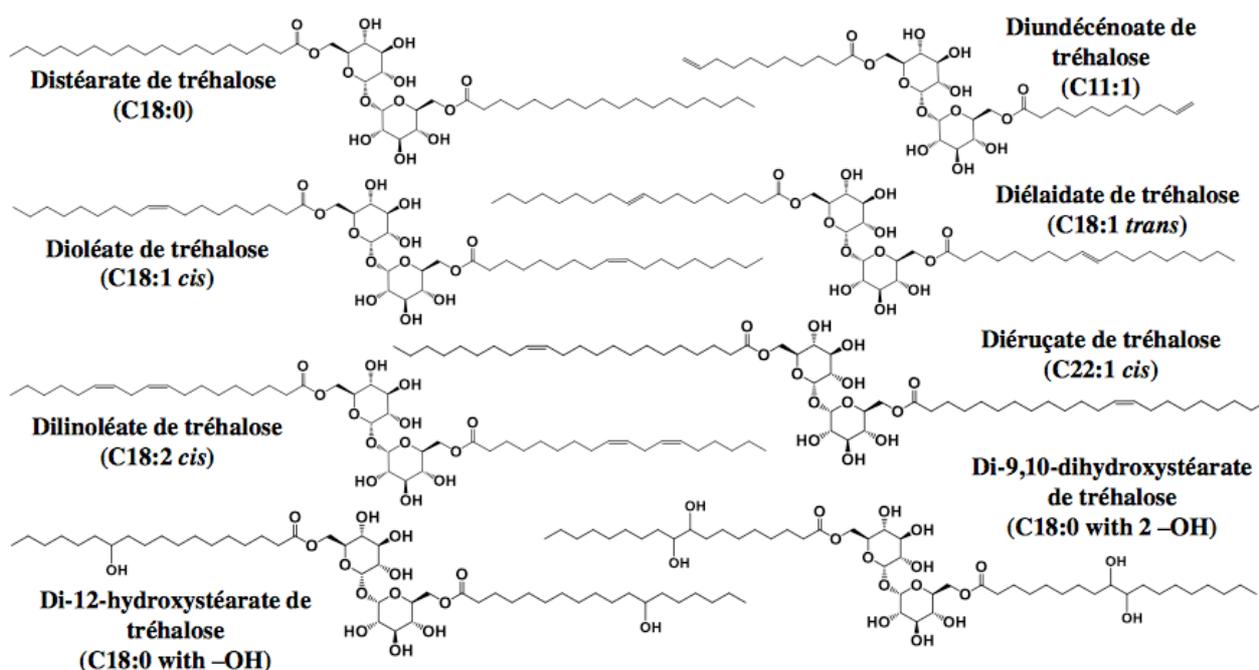


Schéma 51 – Plateforme de monomères glycolipidiques synthétisés par le groupe de Cramail à partir de tréhalose et de divers acides gras¹⁹⁶

2.3.2 Synthèse de polymères glycolipidiques par métathèse

La littérature fait état d'une poignée d'exemples de polymérisation de sophorolipides lactoniques par métathèse classique^{196,197} ou par métathèse par ouverture de cycle (ROMP).¹⁹⁸⁻²⁰¹ Notre groupe a tout récemment décrit, en 2017, la synthèse de polymères glycolipidiques par ADMET à partir de 6,6'-diundécénoate de tréhalose et d'undédécoate d'undécyle comme co-monomère à différents taux en présence de catalyseurs de Grubbs de première ou de deuxième génération.^{196,197}

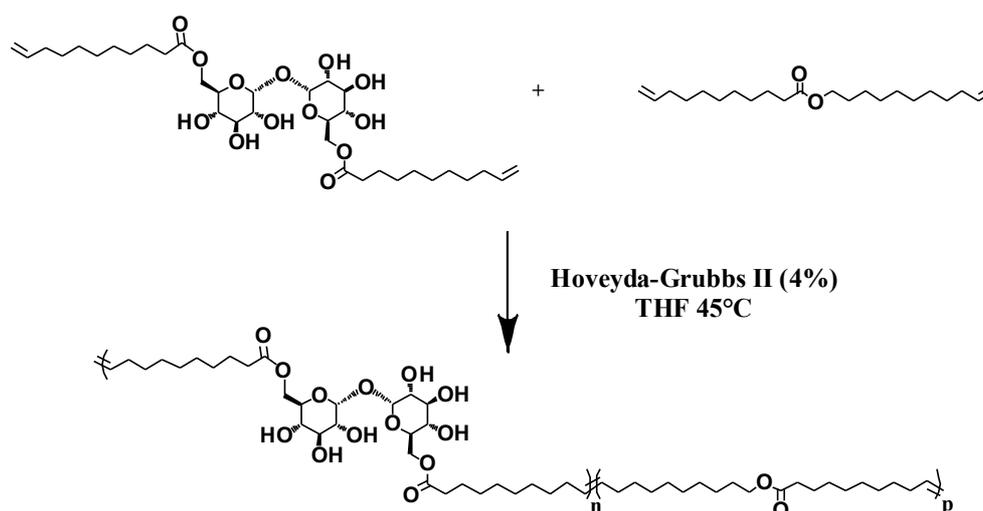


Schéma 52 – Synthèse de glyco-polyesters par ADMET (Schéma adapté d'après les travaux de Cramail *et al.* 197)

Les polymères ainsi obtenus exhibent un comportement semi-cristallin, avec deux températures de fusion distinctes, l'une autour de 35°C correspondant à la partie lipidique des polymères, et l'autre, correspondant aux groupements saccharidiques, entre 110°C et 145°C selon le pourcentage de glycolipide des polymères. Une analyse par diffraction des rayons X aux petits angles et aux grands angles a permis de mettre en évidence une organisation de type lamellaire des polymères.

Gross *et al.* ont, quant à eux, publié plusieurs articles sur la synthèse de glycopolymères par ROMP en présence de catalyseurs de Grubbs de première, deuxième ou troisième génération à partir d'un sophorolipide naturel biosynthétisé par la lipase de *Candida bombicola*.¹⁹⁸⁻²⁰⁰

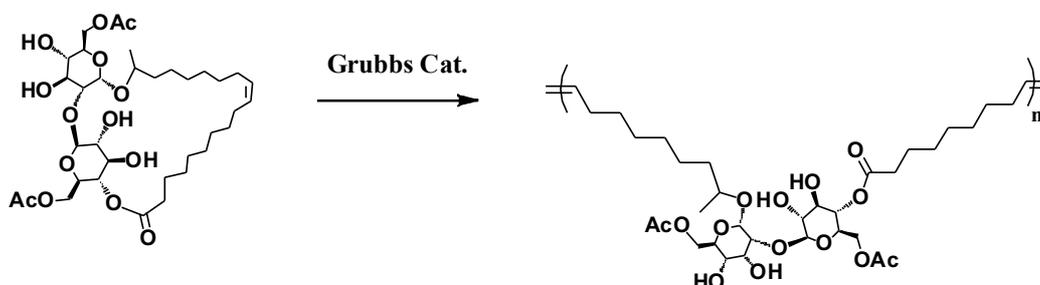


Schéma 53 – Synthèse de glycopolymères par ADMET (Schéma adapté d'après les travaux de Gross *et al.* 198-200)

Dans un autre article, ils décrivent la fonctionnalisation chimio-enzymatique de ce même sophorolipide visant à introduire des groupements méthacrylate ou azide. Les sophorolipides modifiés

obtenus sont alors copolymérisés avec le sophorolipide lactonique originel, puis les groupements méthacrylate et azide sont fonctionnalisés par chimie « click », par addition d'un thio-alcool et d'un alcynoalcool, respectivement. Les polymères glycolipidiques résultants, qui se sont révélés non-toxiques et biodégradables, sont donc de bons candidats potentiels à des applications biomédicales.²⁰¹

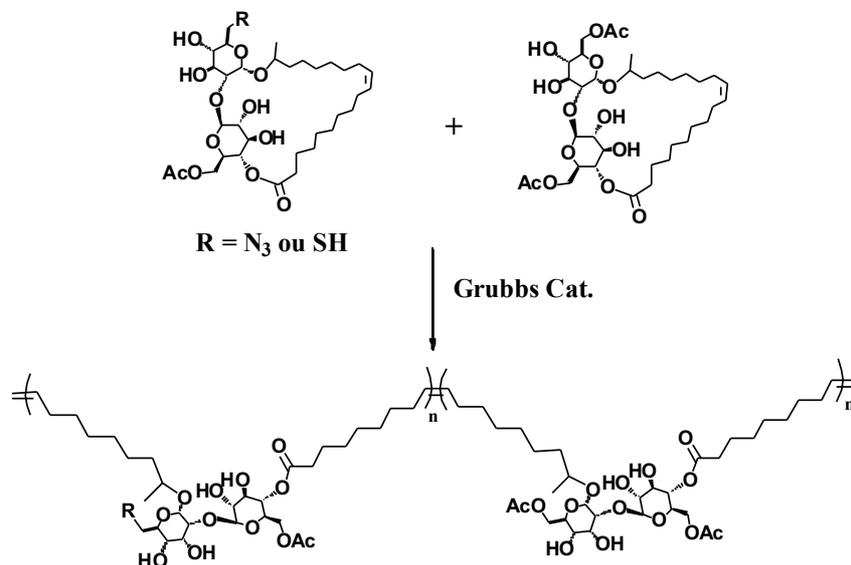


Schéma 54 – Synthèse de polymères glycolipidiques par ROMP à partir d'un sophorolipide fonctionnalisé par chimie « click » (Schéma adapté d'après les travaux de Gross *et al.*²⁰¹)

2.3.3 Synthèse de polymères glycolipidiques par ouverture de cycle

Une dernière voie de synthèse de polymères glycolipidiques aux motifs saccharidiques intra-chaînes est la polymérisation par ouverture de cycle (ROP) de sophorolipides lactoniques, qui conduit à l'obtention de polyesters glycolipidiques. Hu *et al.*²⁰² décrivent en 2003 la polymérisation par ROP de trois sophorolipides différents par catalyse enzymatique. (Schéma 55) Ils comparent l'efficacité de quatre lipases différentes (une lipase pancréatique porcine, une lipase de *Mucor miehei*, une lipase B de *Candida antarctica* et une lipase de *Pseudomonas sp*) dans différents solvants organiques. Une conversion des sophorolipides de 97% est alors atteinte en dix jours dans l'éther isopropylique à 50°C en présence de la lipase de *Mucor miehei*.

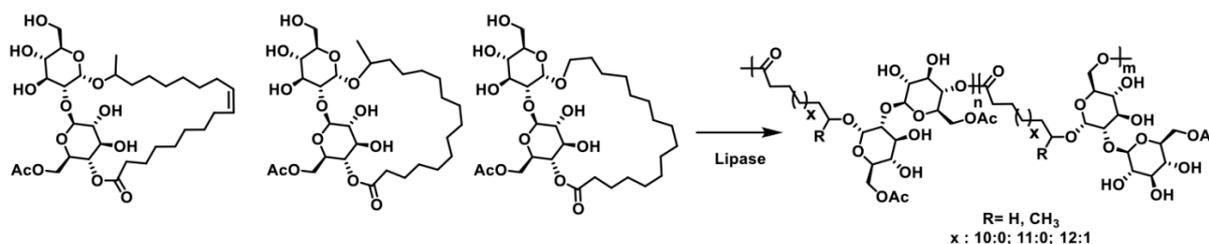


Schéma 55 – Synthèse de polymère glycolipidiques par ROP à partir d'un sophorolipide naturel (Schéma adapté d'après les travaux de Hu *et al.*²⁰²)

2.4 Polymères glycolipidiques linéaires aux motifs saccharidiques pendants

La synthèse de polymères glycolipidiques aux motifs saccharidiques pendants offre peu de diversité de stratégies. Contrairement aux polymères aux sucres intra-chaîne, de tels polymères s'obtiennent à partir de glycolipides portant une ou deux fonctions polymérisables situées sur une unique chaîne grasse. Cette stratégie de synthèse s'applique donc plutôt aux glycolipides monosaccharidiques, la chaîne grasse étant située en position 6 au niveau de l'alcool primaire. Les lipases et les protéases étant strictement sélectives vis-à-vis des alcools primaires, il est aisé de synthétiser de tels glycolipides par catalyse enzymatique à partir d'un monosaccharide et d'un dérivé d'acide gras adéquat, mais la synthèse de tels glycolipides par catalyse chimique est possible.¹⁸⁷ Enfin, une exception répertoriée dans la littérature consiste à fonctionnaliser non pas la chaîne grasse, mais l'alcool primaire d'un sophorolipide lactonique par un groupement méthacrylate.²⁰³

2.4.1 Polymérisation par étapes

La synthèse par polymérisation par étapes d'un polymère glycolipidique linéaire aux sucres pendants, contrairement aux polymères à sucres intra-chaînes, requiert la présence de deux fonctions polymérisables toutes deux situées sur la même chaîne grasse. Notre groupe a publié en 2013 la synthèse de polyuréthanes à partir d'IPDI et de deux glycolipides différents : le 9,10-dihydroxy stéarate d' α -D-méthylglucoside et le 9,10-dihydroxy stéarate de saccharose.¹⁸⁷ Nous avons vu plus haut que des polyuréthanes réticulés avaient été obtenus dans le DMF, mais en ayant recours au THF comme solvant de polymérisation, des polymères linéaires ont pu être synthétisés à partir des mêmes monomères.

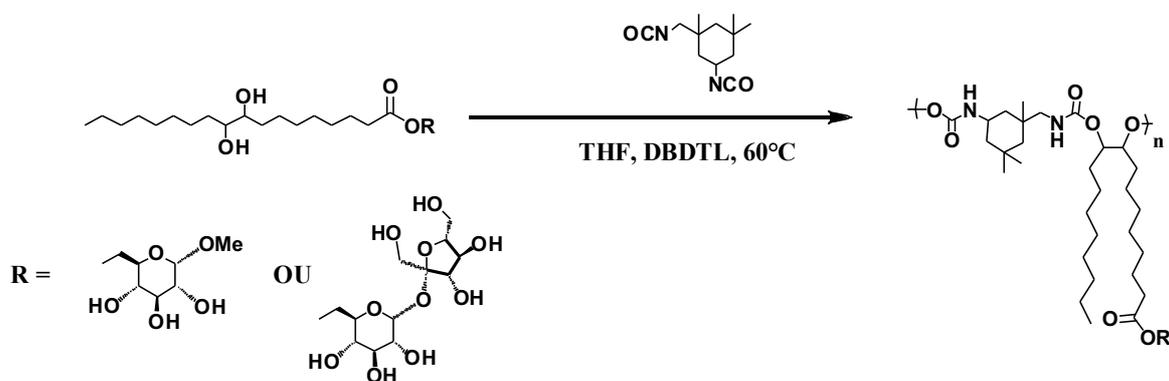


Schéma 56 – Synthèse de polymères glycolipidiques par polycondensation de l'IPDI avec le 9,10-dihydroxy stéarate d' α -D-méthylglucoside ou le 9,10-dihydroxy stéarate d' α -D-sucrose (Schéma adapté d'après les travaux de Cramail *et al.*¹⁸⁷)

2.4.2 Polymérisation radicalaire

La majorité des polymères glycolipidiques linéaires aux sucres pendants sont synthétisés par voie radicalaire. Les monomères glycolipidiques correspondants sont alors synthétisés à partir d'un sucre et d'un dérivé d'acide gras porteur d'un groupement polymérisable. Cette stratégie offre peu de diversité. En effet, il n'existe pas d'acide gras présentant naturellement de tels groupements.

Une stratégie consisterait à fonctionnaliser des groupements hydroxyle ou des insaturations pouvant être présents naturellement sur une chaîne grasse afin d'introduire un groupement polymérisable. Mais cette stratégie peut être fastidieuse, en nécessitant par exemple une protection préalable de l'acide carboxylique. A notre connaissance, il n'existe pas d'exemples de glycolipides polymérisables synthétisés suivant cette stratégie.

La seule voie de synthèse répertoriée dans la littérature consiste à synthétiser un ester gras divinyle à partir du diacide correspondant, puis à réaliser une mono-transestérification de ce diester par un saccharide, le groupement vinylique pendant laissé vacant étant alors disponible pour la polymérisation radicalaire. La synthèse de ces glycolipides est réalisée par catalyse enzymatique, en présence d'une protéase ou de la lipase B de *Candida antarctica* Novozyme 435 afin de garantir une sélectivité de l'acylation du sucre vis-à-vis des alcools primaires. (Schéma 57) Les monomères ainsi synthétisés sont d'abord polymérisés de façon non contrôlée, puis les premiers exemples de polymérisation RAFT apparaissent à partir de 2004.²⁰⁴

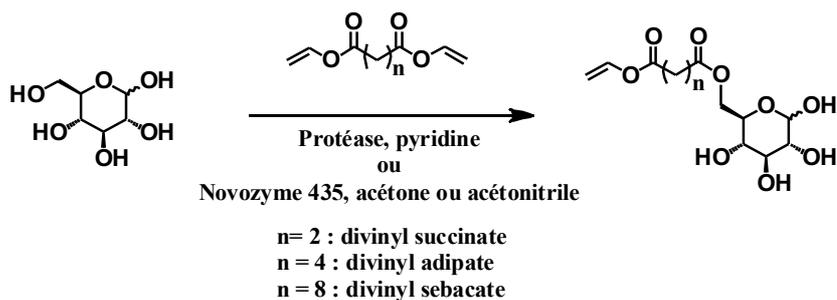


Schéma 57 – Stratégie de synthèse de monomères glycolipidiques à partir de diesters de vinyle

Cette stratégie de synthèse, décrite en premier par le groupe de Tokiwa²⁰⁵ en 2003, a par la suite été adoptée par plusieurs autres groupes de recherche et a été appliquée à la synthèse de glycolipides à partir d'un grand nombre de saccharides, comme le glucose,^{204,206-208} le galactose,²⁰⁷⁻²⁰⁹ le mannose,^{208,209} le rhamnose,²¹⁰ le maltose,²⁰⁸ le lactose,²⁰⁸ le tréhalose,²¹¹ le raffinose²¹² et le maltitol.²¹³ Les trois esters de divinyle répertoriés dans la littérature à cet effet sont le succinate de divinyle, l'adipate de divinyle, et le sébacate de divinyle. Les structures de tous les monomères glycolipidiques ainsi synthétisés sont présentées dans le Schéma 58.

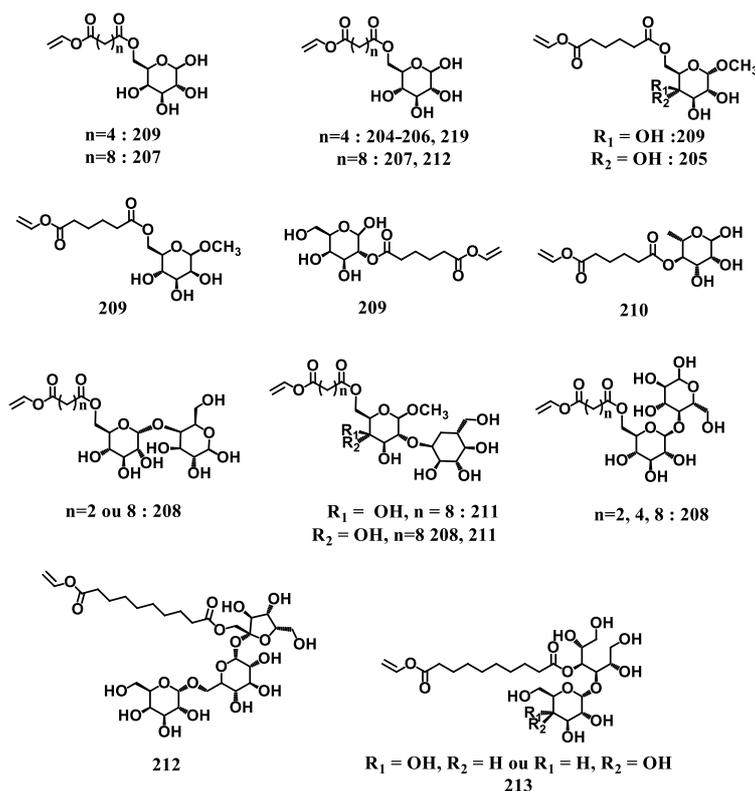


Schéma 58 – Différents monomères glycolipidiques synthétisés par acylation d'un saccharide par un diester de vinyle

Enfin, comme dernier exemple, une stratégie alternative à la fonctionnalisation de la chaîne grasse des glycolipides publiée en 2000 par Gross *et al.*²⁰³ consiste à fonctionnaliser l'alcool primaire du sophorose d'un sophorolipide lactonique grâce à l'acrylate de vinyle en présence de Novozyme 435 comme biocatalyseur. Le monomère est alors hopolymérisé ou copolymérisé en présence d'acide méthacrylique ou d'acrylamide.

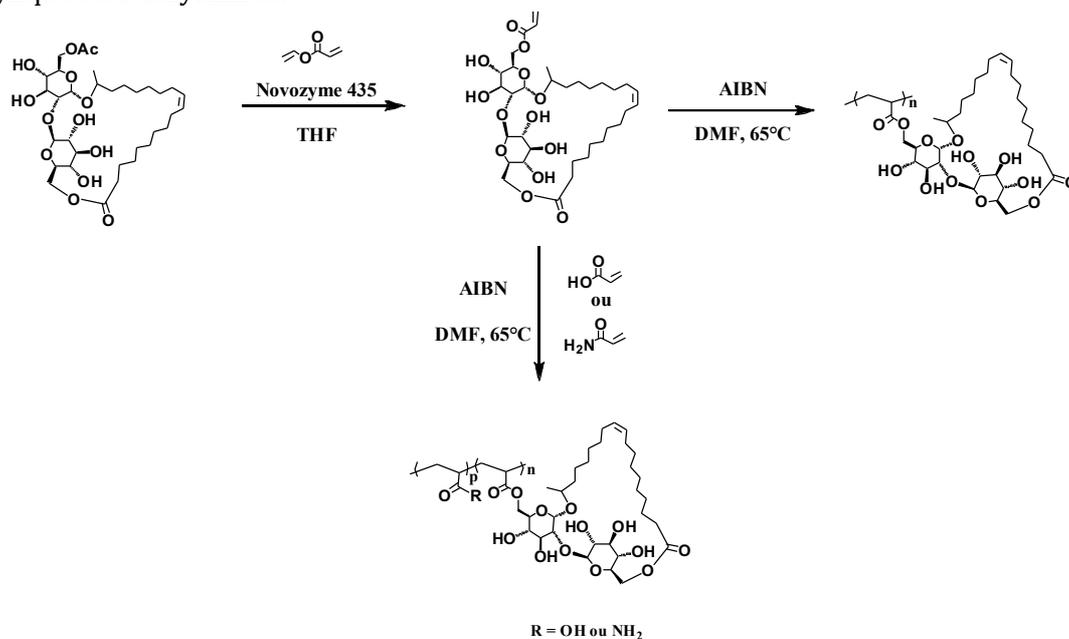


Schéma 59 – Synthèse de poly(sophorolipide)s par fonctionnalisation d'un sophorolipide cyclique naturel et sa polymérisation ou copolymérisation avec l'acide acrylique et l'acrylamide (Schéma adapté d'après les travaux de Gross *et al.*²⁰³)

IV. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Face à l'amenuisement des ressources pétrolières, les glycopolymères représentent une alternative aux polymères issus d'hydrocarbures. Les propriétés de reconnaissance intercellulaire et immunologique et d'aide à la régénération tissulaire des sucres, combinées à leur biodégradabilité, leur non-toxicité et leur biocompatibilité font des glycopolymères des matériaux de choix pour un large champ d'applications, notamment dans le domaine biomédical.

Les deux principales stratégies de synthèse des glycopolymères sont d'une part la fonctionnalisation par des groupements saccharidiques de polymères préalablement synthétisés et d'autre part la synthèse de monomères glycosylés suivie de leur polymérisation. Selon la stratégie de synthèse choisie, il est possible de synthétiser des glycopolymères linéaires, aux groupements saccharidiques pendants ou intra-chaîne, des glycopolymères réticulés, des glycodendrimères, ou encore des nanoparticules hybrides inorganique/glycopolymère.

Il semble difficile après cet état de l'art de définir une méthode de synthèse de glycopolymères meilleure que les autres : c'est l'application visée qui détermine la stratégie de synthèse à adopter. La fonctionnalisation de polymères synthétiques par greffage de sucres se destine plutôt à des applications de biomimétisme ou de vectorisation. Cette méthode demande au préalable une polymérisation contrôlée du squelette, ainsi que souvent des étapes supplémentaires de protection/déprotection. Tout ceci rend le procédé coûteux et difficile à mettre en œuvre pour la production de grandes quantités. Les glycopolymères ainsi synthétisés sont donc des produits à forte valeur ajoutée. Des glycopolymères de même topologie peuvent être synthétisés par polymérisation non contrôlée de monomères glycosylés, ce qui permet de réduire le nombre total d'étapes de synthèse. Enfin, la synthèse de bioplastiques ou de résines thermodurcissables par polycondensation de sucres ou de monomères sucrés peut plus facilement être appliquée à une production à plus grande échelle et les matériaux ainsi obtenus sont moins coûteux.

Depuis les années 2000, une nouvelle voie de synthèse de glycopolymères voit le jour : il s'agit de la polymérisation de monomères glycolipidiques. Ces derniers sont synthétisés par une réaction de condensation entre un sucre et un dérivé d'acide gras et fonctionnalisés par un groupement polymérisable. Le fort pourcentage de dérivés saccharidiques et oléagineux des polymères résultants est alors susceptible d'améliorer leur biodégradabilité et leur biocompatibilité par rapport à un glycopolymère classique. Si de nombreux exemples de synthèse de polymères glycolipidiques réticulés thermodurcissables ou linéaires aux groupements saccharidiques intra-chaînes ont déjà été publiés, les travaux de recherche sur la synthèse de tels glycopolymères aux groupements saccharidiques pendants sont beaucoup moins diversifiés. Ces derniers sont tous synthétisés selon la même stratégie, qui consiste à monoacyler un saccharide à partir d'un ester gras de divinyle. La fonction vinylique restante permet la polymérisation des monomères ainsi synthétisés.

Ces travaux de thèse sont dédiés à la conception de nouveaux monomères glycolipidiques et à l'étude de leur polymérisation. Afin de proposer une alternative à la synthèse de glycolipides à partir d'esters de divinyle déjà largement décrite dans la littérature, ces monomères seront synthétisés suivant une stratégie nouvelle, consistant à fonctionnaliser des dérivés d'acide gras de manière à introduire un groupement polymérisable par voie radicalaire pendant sur leur chaîne grasse. Les glycolipides correspondants seront alors synthétisés par acylation de saccharides à partir des dérivés d'acide gras fonctionnalisés obtenus. Dans l'esprit des douze principes de la chimie verte, l'étape d'acylation des saccharides sera réalisée par catalyse enzymatique, en présence de lipases. Dans l'optique d'une possible production à grande échelle, une étude de l'influence des différents paramètres de la réaction d'acylation des sucres en présence de lipase a été réalisée, d'un part afin de maximiser les conversions en glycolipides tout en minimisant les quantités de lipase engagées et, d'autre part, de façon à sélectionner les dérivés d'acide gras et les saccharides les plus pertinents pour une synthèse de monomères glycolipidiques à haut rendement. (Chapitre 2) Suite à cette étude préliminaire, deux familles de monomères glycolipidiques ont été synthétisées. (Chapitre 3) La polymérisation de ces deux familles de monomères a ensuite été étudiée. (Chapitres 4 et 5) Enfin, dans un dernier temps, l'auto-assemblage en milieu aqueux des différents polymères synthétisés et les propriétés physico-chimiques des systèmes obtenus ont été étudiées. (Chapitre 6)

V. BIBLIOGRAPHIE

- [1] Ambrosi M., Camerin N. R. and Davis B. G., «Lectins: tools for the molecular understanding of the glycoside», *Org. Biomol. Chem.*, vol. 3 (9), pp. 1593-1608, **2005**.
- [2] Spain S. G. and Cameron N. R., «A spoonful of sugar: the application of glycopolymers in therapeutics», *Polym. Chem.*, vol. 2 (1), pp. 60-68, **2011**.
- [3] Babiuch K. and Stenzel M. H., «Synthesis and application of glycopolymers», *Encyclopedia of Polymer Science and Technology*, **2014**.
- [4] Li Y., Cheng Y. and Xu T., «Design, synthesis and potent pharmaceutical applications of glycodendrimers: a mini review», *Curr. Drug Discov. Technol.*, vol. 4 (4), pp. 246-254, **2007**.
- [5] Li X. and Chen G., «GLycopolymer-based nanoparticles: synthesis and application», *Polym. Chem.*, vol. 6, pp. 1417-1430, **2015**.
- [6] Semsarilar M., Ladmiral V. and Perrier S., «Highly branched and hyperbranched glycopolymers via reversible addition-fragmentation chain transfer polymerization and click chemistry», *Macromolecules*, vol. 43, pp. 1438-1443, **2010**.
- [7] Thurescht K. J., Blakey I., Peng H., Squires O., Hsu S., Alexander C. and Whittaker A. K., «Functional hyperbranched polymers: toward targeted in vivo ¹⁹F magnetic resonance imaging using designed macromolecules», *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 132 (15), pp. 5336-5337, **2010**.
- [8] Kimura S. and Imoto M., «Synthesis of polymethacryloyl-D-glucose and its copolymers with acrylonitrile», *Makromol. Chem.*, vol. 50, pp. 155-160, **1961**.
- [9] Lowe A. B., Sumerlin B. S. and McCormick C. L., «The direct polymerization of 2-methacryloxyethyl glucoside via aqueous reversible addition-fragmentation chain transfer (RAFT) polymerization», *Polymer*, vol. 44, pp. 6761-6765, **2003**.
- [10] Teramoto N., Niwa M. and Shibata M., «Synthesis and properties of trehalose-based flexible polymers prepared from difurfurylidene trehalose and maleimide-terminated oligo(dimethylsiloxane) by Diels-Alder reactions», *Materials*, vol. 3 (1), pp. 369-385, **2010**.
- [11] Srinivasachari S., Liu Y., Zhang G., Pevette L. and Reineke T. M., «Trehalose click polymers inhibit nanoparticle aggregation and promote pDNA delivery in serum», *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 128 (25), pp. 8176-8184, **2006**.

- [12] Teramoto N. and Shibata M., «Synthesis and photocuring of cinnamoyl trehalose esters», *Polym. Adv. Technol.*, vol. 18 (12), pp. 971-977, **2007**.
- [13] Zhang Q., Molenda M. and Reineke T. M., «Epoxy resin thermosets derived from trehalose and b-cyclodextrin», *Macromolecules*, vol. 49 (22), pp. 8397-8406, **2016**.
- [14] Chang Q., Hao X. and Duan L., «Synthesis of cross-linked starch-graft-polyacrylamide-co-sodium xanthate and its performance in wastewater treatment», *Journal of Hazardous Materials*, vol. 159, pp. 548-553, **2008**.
- [15] Sarkar A. K., Mandre N. R., Panda A. B. and Pal S., «Amylopectin grafted with poly (acrylic acid): development and application of a high performance flocculant», *Carbohydr. Polym.*, vol. 95, pp. 753-759, **2013**.
- [16] Singh R. P., Tripathy T., Karmakar G. P., Rath S. K., Karmakar N. C., Pandey S. R., Kannan K., Jain S. K. and Lan N. T., «Novel biodegradable flocculants based on polysaccharides», *Current Science*, vol. 78 (7), pp. 798-803, **2000**.
- [17] Sarkar A. K., Pal A., Ghorai S., Mandre N. R. and Pal S., «Efficient removal of malachite green dye using biodegradable graft copolymer derived from amylopectine and poly(acrylic acid)», *Carbohydr. Polym.*, vol. 111, pp. 108-115, **2014**.
- [18] Crini G., «Recent developments in polysaccharide-based materials used as adsorbents in wastewater treatment», *Prog. Polym. Sci.*, vol. 30, pp. 38-70, **2005**.
- [19] Goni I., Ferrero M. C., Jiménez-Castellanos R. M. and Gurruchaga M., «Synthesis of hydroxypropyl methacrylate/polysaccharide graft copolymers as matrices for controlled release tablets», *Drug Dev. Ind. Pharm.*, vol. 28 (9), pp. 1101-1115, **2002**.
- [20] Kim S-H. and Chu C-C., «Synthesis and characterization of dextran-methacrylate hydrogels and structural study by SEM», *J. Biomed. Mater. Res.*, vol. 49 (4), pp. 517-527, **2000**.
- [21] Van Dijk-Wolthuis W. N. E., Franssen O., Talsma H., van Steenberghe M. J., Kettenes-van den Bosch J. J. and Hennink W. E., «Synthesis, characterization and polymerization of glycidyl methacrylate derivatized dextran», *Macromolecules*, vol. 28, pp. 6317-6322, **1995**.
- [22] Derkaoui S. M., Avramoglou T., Barbaud C. and Letourneur D., «Synthesis and characterization of a new polysaccharide-graft-polymethacrylate copolymer for three-dimensional hybrid hydrogels», *Biomacromolecules*, vol. 9, pp. 3033-3038, **2008**.
- [23] Kim S-H. and Chu C-C., «Pore structure analysis of swollen dextran-methacrylate hydrogels by SEM and mercury intrusion porosimetry», *J. Biomed. Mater. Res.*, vol. 53 (3), pp. 258-266, **2000**.

- [24] Kim S-H., Won C-Y. and Chu C-C., «Synthesis and characterization of dextran-maleic acid based hydrogel», *J. Biomed. Mater. Res.*, vol. 46 (2), pp. 160-170, **1999**.
- [25] Hennink W.E., Talsma H., Borchert J. C. H., De Smedt S. C. and Demeester J., «Controlled release of proteins from dextran hydrogels», *J. Control. Release*, vol. 39, pp. 47-55, **1996**.
- [26] Shahin A., Nicolai T., Benyahia L., Tassin J-F. and Chassenieux C., «Evidence for the coexistence of interpenetrating permanent and transient networks of hydroxypropyl methyl cellulose», *Biomacromolecules*, vol. 15 (1), pp. 311-318, **2014**.
- [27] Allahbabs S., Nicolai T., Chassenieux C., Tassin J-F., Benyahia L., Weiss P. and Rethore G., «Interplay of thermal and covalent gelation of silanized hydroxypropyl methyl cellulose gels», *Carbohydr. Polym.*, vol. 115, pp. 510-515, **2015**.
- [28] Ferji K., Nouvel C., Babin J., Albouy P-A., Li M-H. and Six J-L., «Controlled synthesis of new amphiphilic glycopolymers with liquid crystal grafts», *J Polym Sci A: Polym Chem*, vol. 51, pp. 3829-3839, **2013**.
- [29] Ferji K., Nouvel C., Babi, J., Li M-H., Gaillard C., Nicol E., Chassenieux C. and Six J-L., «Polymersomes from Amphiphilic Glycopolymers Containing Polymeric Liquid Crystal Grafts», *ACS Macro Lett.*, vol. 4, pp. 1119-1122, **2015**.
- [30] Soliman S. M. A., Colombeau L., Nouvel C., Babin J. and Six J-L., «Amphiphilic photoresponsive dextran-g-poly(o-nitrobenzyl acrylate) glycopolymers», *Carbohydr. Polym.*, vol. 136, pp. 598-608, **2016**.
- [31] Kaith B. S., Mittal H., Bhatia J. K. and Kalia S., «Polysaccharide graft copolymers - synthesis, properties and applications», *Biopolymers: Biomedical and Environmental Applications*, **2011**
- [32] Chen J., Liu W., Liu C-M., Li T., Liang R-H. et Luo S-J., «Pectin modifications: a review», *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 55 (12), pp. 1684-1698, **2015**.
- [33] Schatz C. and Lecommandoux S., «Polysaccharide-containing block copolymers: synthesis, properties and applications of an emerging family of glycoconjugates», *Macromol. Rapid Commun.*, vol. 31, pp. 1664-1684, **2010**.
- [34] Boyer C., Bousquet A., Rondolo J., Whittaker M. R., Stenzel M. H. and Davis T. P., «Glycopolymer decoration of gold nanoparticles using a LbL approach», *Macromolecules*, vol. 43 (8), pp. 3775-3784, **2009**.
- [35] Chen G., Amajjahe S. and Stenzel M. H., «Synthesis of thiol-linked neoglycopolymers and thermo-responsive glycomicelles as potential drug carrier», *Chem. Commun.*, vol. 10, pp. 1198-1200, **2009**.

- [36] Geng J., Mantovani G., Tao L., Nicolas J., Chen G., Wallis R., Mitchell D. A., Johnson R. G., Evans S. D. and Haddleton D. M., «Site-directed conjugation of "clicked" glycopolymers to form glycoprotein mimics: binding to mammalia lectin and induction of immunological function», *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 129, pp. 15156-15163, **2007**.
- [37] Ladmiral V., Mantovani G., Clarkson G. J. , Cauet S., Irwin J. L. and Haddleton D. M., «Synthesis of neoglycopolymers by a combination of "click chemistry" and living radical polymerization», *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 128, pp. 4823-4830, **2006**.
- [38] Geng J., Lindqvist J., Mantovani G., Chen G., Sayers C. T., Clarkson G. J. and Haddleton D. M., «Well-defined poly(N-glycosyl 1,2,3-triazole) multivalent ligands: design, synthesis and lectin binding studies», *QSAR Comb. Sci.*, Vol. 26 (11-12), pp. 1220-1228, **2007**.
- [39] Nurmi L., Lindqvist J., Randev R., Syrett J. and Haddleton D. M., «Glycopolymers via catalytic chain transfer polymerization (CCTP), Huisgens cycloaddition and thiol-ene double click reactions», *Chem. Commun.*, pp. 2727-2729, **2009**.
- [40] Xu N., Wang R., Du F-S. and Li Z-C., «Synthesis of amphiphilic biodegradable glycopolymers based on poly(E-caprolactone) by ring-opening polymerization and click-chemistry», *J. Polym. Sci. Part A: Polym Chem*, vol. 47 (14), pp. 3583-3594, **2009**.
- [41] Hu Z. , Fan X. and Zhang G., «Synthesis and characterization of glucose-grafted biodegradable amphiphilic glycopolymers P(AGE-glucose)-b-PLA», *Carbohydr. Polym.*, vol. 79 (1), pp. 119-124, **2010**.
- [42] Byramova N. E., Mochalova L. V., Belyanchikov I. M., Matrisivush M. N. and Bovin N. V., «Synthesis of sialic acid pseudopolysaccharides by coupling of spacer-connected Neu5Ac with activated polymer», *J. Carbohydr. Chem.*, vol. 10 (4), pp. 691-700, **1991**.
- [43] Bovin N. V., Korchagina E. Y., Zemlyanukhina T. V., Byramova N. E., Galanina O. E., Zemlyakov A. E., Ivanov A. E., Zubov V. P. and Mochalova L. V., «Synthesis of polymeric neoglycoconjugates based on N-substituted polyacrylamides», *Glycoconj. J.*, vol. 10 (2), pp. 142-151, **1993**.
- [44] Kolb H. C., Finn M. G. and Sharpless K. B., «Click chemistry: diverse chemical function from a few good reactions», *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, vol. 40 (11), pp. 2004-2021, **2001**.
- [45] Byramova N. E., Mochalova L. V., Belyanchikov I. M., Matrosovich M. N. and Bovin N. V., «Synthesis of sialic acid pseudopolysaccharides by coupling of spacer-connected Neu5Ac with activated polymers», *J. Carbohydr. Chem.*, vol. 10 (4), pp. 691-700, **1991**.

- [46] Bovin N. V., Korchagina E. Y., Zemlyanukhina T. V., Byramova N. E., Ivanov A. E., Zubov V. P. and Mochalova L. V., «Synthesis of polymeric neoglycoconjugates based on N-substituted polyacrylamides», *Glycoconj.*, vol. 10, pp. 142-151, **1993**.
- [47] Matrosovish M. N., Mochavola L. V., Marinina V. P., Byramova N. E. and Bovin N. V., « Synthetic polymeric sialoside inhibitors of influenza virus receptor-binding activity», *FEBS Lett.*, vol. 272 (1-2), pp. 209-212, **1990**.
- [48] Bovin N. V., «Polyacrylamide-based glycoconjugates as tools in glycobiology», *Glycoconj. J.*, vol. 15, pp. 431-446, **1998**.
- [49] Duncan R. and Vicent M. J., «Do HPMA copolymer conjugates have a future as clinically useful nanomedecines? A critical overview of current status and future opportunities», *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 62, pp. 272-282, **2010**.
- [50] Cartlidge S. A., Duncan R., Lloyd J. B., Kopeckova-Rejmanova P. and Kopecek J., «Soluble, crosslinked N-(2-hydroxypropyl)methacrylamide copolymers as potential drug carriers 3. Targeting by incorporation of galactosamine residues. Effect of route of administration», *J. Control. Release*, vol. 4, pp. 265-278, **1987**.
- [51] Seymour L. W., Duncan R., Kopeckova P. and Kopecek J., «potential of sugar residues attached to N-(2-hydroxypropyl)methacrylamide copolymers as targeting groups for the selective delivery of drugs», *J. Bioact. Compat. Polym.*, vol. 2 (2), pp. 97-119, **1987**.
- [52] Bridges J. F., Woodley J. F., Duncan R. and Kopecek J., «Soluble N-(2-hydroxypropyl)methacrylamide copolymers as a potential oral, controlled-release, drug delivery system. I. Bioadhesion to the rat intestine in vitro», *Int. J. Pharm.*, vol. 44, pp. 213-223, **1988**.
- [53] Mammen M., Dahmann G. et Whitesides G. M., «Effective inhibitors of hemmagglutination by influenza virus synthesized from polymers having active ester groups. Insight into mechanism of inhibition», *J. Med. Chem.*, vol. 38, pp. 4179-4190, **1995**.
- [54] Garcia-Oteiza M. C., Sanchez-Chaves M. and Arranz F., «Poly(vinyl alcohol) having amino sugar as the pendant group: synthesis, characterization and binding of Concanavalin A», *Macromol. Chem. Phys.*, vol. 198, pp. 2237-2247, **1997**.
- [55] Chen Y., Chen G. and Stenzel M. H., «Synthesis and lectin recognition of glyco star polymers prepared by "clicking" thiocarbohydrates onto a reactive scaffold», *Macromolecules*, vol. 43 (19), pp. 8109-8114, **2010**.

- [56] Becer C. R., Babiuch K., Pilz D., Hornig S., Heinze T., Gottschaldt M. and Schubert U. S., «Clicking pentafluorostyrene copolymers: synthesis, nanoprecipitation, and glycosylation», *Macromolecules*, vol. 42 (7), pp. 2387-2394, **2009**.
- [57] Slavin S., Burns J., Haddleton D. M. and Remzi Becer C., «Synthesis of glycopolymers via click reactions», *Eur. Polym. J.*, vol. 47, pp. 435-446, **2011**.
- [58] Tornøe C. W., Christensen C. and Meldal M., «Peptidotriazoles on solid phase: [1,2,3]-triazoles by regioselective copper(I)-catalyzed 1,3-dipolar cycloadditions of terminal alkynes to azides», *J. Org. Chem.*, vol. 67 (9), pp. 3057-3064, **2002**.
- [59] Rostovtsev V. V., Green L. G., Fokin V. V. and Sharpless K. B., «A stepwise Huisgen cycloaddition process: copper(I)-catalyzed regioselective "ligation" of azides and terminal alkynes», *Angew. Chem.*, vol. 41 (14), pp. 2596-2599, **2002**.
- [60] Posner T., «Beiträge zur Kenntniss der ungesättigten Verbindungen. II. Ueber die Addition von Mercaptanen an ungesättigte Kohlenwasserstoffe», *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, vol. 38 (1), pp. 646-657, **1905**.
- [61] Hoyle C. E. and Bowman C. N., «Thiol-ene click chemistry», *Angew. Chem. Int. Ed.*, vol. 49 (9), pp. 1540-1573, **2010**.
- [62] Gress A., Völkel A. and Schlaad H., «Thio-click modification of poly(2-(3-butenyl)-2-oxazoline)», *Macromolecules*, vol. 40 (22), pp. 7928-7933, **2007**.
- [63] You L. and Schlaad H., «An easy way to sugar-containing polymer vesicles or glycosomes», *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 128 (41), pp. 13336-13337, **2006**.
- [64] Kumar J., Bousquet A. and Stenzel M. H., «Thiol-alkyne chemistry for the preparation of micelles with glycopolymer corona: dendritic surfaces versus linear glycopolymer in their ability to bind to lectins», *Macromol. Rapid Commun.*, vol. 32, pp. 1620-1626, **2011**.
- [65] Peng K-Y., Hua M-Y. et Lee R-S., «Amphiphilic polyesters bearing pendant sugar moieties: Synthesis, characterization, and cellular uptake», *Carbohydr. Polym.*, vol. 99, pp. 710-719, **2014**.
- [66] Bonduelle C., Huang J., Mena-Barragan T., Ortiz Mellet C., Decroocq C., Etamé E., Heise A., Compain P. et Lecommandoux S., «Iminosugar-based glycopolypeptides: glycosidase inhibition with bioinspired glycoprotein analogue micellar self-assemblies», *Chem. Commun.*, vol. 50, pp. 3350-3352, **2014**.

- [67] Bonduelle C., Oliveira H., Gauche C., Huang J., Heise A. and Lecommandoux S., «Multivalent effect of glycopolyptide based nanoparticles for galectin binding», *Chem. Commun.*, vol. 52, pp. 11251-11254, **2016**.
- [68] Bonduelle C., Huang J., Ibarboure E., Heise A. and Lecommandoux S., «Synthesis and self-assembly of "tree-like" amphiphilic glycopolyptides», *Chem. Commun.*, vol. 48, pp. 8353-8355, **2012**.
- [69] Gauche C. and Lecommandoux S., «Versatile design of amphiphilic glycopolyptides nanoparticles for lectin recognition», *Polymer*, vol. 107, pp. 474-484, **2016**.
- [70] Xu N., Wang R., Du F-S. and Li Z-C., «Synthesis of amphiphilic biodegradable glycopolymers based on poly(ϵ -caprolactone) by ring-opening polymerization and click chemistry Authors», *J. Polym. Sci. A: Polym. Chem.*, vol. 47 (14), pp. 3583-3594, **2009**.
- [71] Huang J., Bonduelle C., Thévenot J., Lecommandoux S. and Heise A., «Biologically active polymersomes from amphiphilic glycopeptides», *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 134 (1), pp. 119-122, **2012**.
- [72] Peyret A., Trant J. F., Bonduelle C. V., Ferji K., Jain N., Lecommandoux S. and Gilies E. R., «Synthetic glycopolyptides: synthesis and self-assembly of poly(γ -benzyl-L-glutamate)-glycosylated dendron hybrids», *Polym. Chem.*, vol. 45 (6), pp. 7902-7912, **2015**.
- [73] Rodrigez-Hernandez J. and Lecommandoux S., «Reversible inside-out micellization of pH-responsive and water-soluble vesicles based on polypeptide diblock copolymers», *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 127 (7), pp. 2026-2027, **2005**.
- [74] Holowka E. P., Pochan D. J. and Deming T. J., «Charged polypeptide vesicles with controllable diameter», *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 127 (35), pp. 12423-12428, **2005**.
- [75] Lu J., Fu C., Wang S., Toa L., Yan L., Haddleton D. M., Chen G. and Wei Y., «From polymer sequence control to protein recognition: synthesis, self-assembly and lectin binding», *Macromolecules*, vol. 47 (14), pp. 4676-4683, **2014**.
- [76] Dan K. and Ghosh S., «pH-responsive aggregation of amphiphilic glyco-homopolymer», *Macromol. Rapid Commun.*, vol. 33 (2), pp. 127-132, **2012**.
- [77] Dhaware V., Shaikh A. Y., Kar M., Hotha S. and Sen Gupta S. , «Synthesis and self-assembly of amphiphilic homoglycopolyptide», *Langmuir*, vol. 29 (19), pp. 5659-5667, **2013**.
- [78] Perdih P., Cebasek S., Mozir A. and Zagar E., «Post-polymerization modification of poly(L-glutamic acid) with D-(+)-Glucosamine», *Molecules*, vol. 19 (12), pp. 19751-19768, **2014**.

- [79] Wang Y. and Kiick K. L., «Monodisperse protein-based glycopolymers via a combined biosynthetic and chemical approach», *J. AM. CHEM. SOC.*, vol. 127 (47), pp. 16392-16393, **2005**.
- [80] Martin A. L., Li B. and Gillies E. R., «Surface functionalization of nanomaterials with dendritic groups: toward enhanced binding to biological targets», *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 131, pp. 734-741, **2009**.
- [81] Tomalia D. A., Baker H., Dewald J., Hall M., Kallos G., Martin S., Roeck J., Ryder J. and Smith P., «A new class of polymers: starburst-dendritic macromolecules», *Polymer Journal*, vol. 17, pp. 117-132, 1985.
- [82] Aoi K., Itoh K. et Okada M., «Globular carbohydrate macromolecule "sugar balls". 1. Synthesis of novel sugar-persubstituted poly(amido amine) dendrimers», *Macromolecules*, vol. 28, pp. 5391-5393, **1995**.
- [83] Aoi K., Tsutsumiuchi K., Yamamoto A. and Okada M., «Globular carbohydrate macromolecule "Sugar Balls", 2. Synthesis of mono(glycopeptide)-persubstituted dendrimers by polymer reaction with sugar-substituted α -amino acid N-carboxyanhydrides (glycoNCAs)», *Macromol. Rapid Commun.*, vol. 19, pp. 5-9, **1998**.
- [84] Tsutsumiuchi K., Aoi K. and Okada M., «Globular carbohydrate macromolecule "sugar balls" IV. Synthesis of dendritic nanocapsules with molecular recognition sites on periphery», *Polymer Journal*, vol. 31, pp. 935-941, **1999**.
- [85] Aoi K., Tsutsumiuchi K., Yamamoto A. and Okada M., «Globular carbohydrate macromolecule "sugar balls" 3. "Radical-growth polymerization" of sugar-substituted α -amino acid N-carboxyanhydrides (GlycoNCAs) with a dendritic initiator», *Tetrahedron*, vol. 53 (45), pp. 15415-15427, **1997**.
- [86] Lindhorst T. K. and Kieburg C., «Glycocoating of oligovalent amines: Synthesis of thiourea-bridged cluster glycosides from glycosyl isothiocyanates», *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, vol. 35 (17), pp. 1953-1956, **1996**.
- [87] Kieburg C. and Lindhorst T. K., «Glycodendrimer synthesis without using protecting groups», *Tetrahedron Letters*, vol. 38 (22), pp. 3885-3888, **1997**.
- [88] Woller E. K. and Cloninger M. J., «The lectin-binding properties of six generations of mannose-functionalized dendrimers», *Org. Lett.*, vol. 4 (1), pp. 7-10, **2002**.
- [89] Woller E. K., Walter E. D., Morgan J. R., Singel D. J. and Cloninger M. J., «Altering the strength of lectin binding interactions and controlling the amount of lectin clustering using mannose/hydroxyl-functionalized dendrimers», *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 125, pp. 8820-8826, **2003**.

- [90] Ast, Ashton P. R., Boyd S. E., Brown C. L., Nepogodiev S. A., Meijer E. W., Peerlings H. W. I. and Stoddart J. F., «Synthesis of glycodendrimers by modification of poly(propylene imine) dendrimers», *Chem. Eur. J.*, vol. 3 (6), pp. 974-984, **1997**.
- [91] Appelhans D., Oertel U., Mazzeo R., Komber H., Hoffman J., Weidner S., Brutschy B., Voit B. and Ottaviani M. F., «Dense-shell glycodendrimers: UV/Vis and electron paramagnetic resonance study of metal ion complexation», *Proc. R. Soc. A*, vol. 466, pp. 1489-1513, **2010**.
- [92] Camponovo J., Hadad C., Ruiz J., Cloutet E., Gatard S., Muzart J., Bouquillon S. and Astruc D., «Click" glycodendrimers containing 27, 81, and 243 modified xylopyranoside termini», *J. Org. Chem.*, vol. 74, pp. 5071-5074, **2009**.
- [93] Lu J., Zhang W., Richards S-J., Gibson M. I. and Chen G., « Glycopolymer-coated gold nanorods synthesised by a one pot copper(0) catalyzed tandem RAFT/ click reaction», *Polym. Chem.*, vol. 5 (7), pp. 2326-2332, **2014**.
- [94] Basuki J. S., Esser L., Duong H. T. T., Zhang Q., Wilson P., Whittaker M. R., Haddleton D. M., Boyer C. and Davis T. P., «Magnetic nanoparticles with diblock glycopolymer shells give lectin concentration-dependent MRI signals and selective cell uptake», *Chem. Sci.*, vol. 5, pp. 715-726, **2014**.
- [95] Savelyev Y., Markovskaya L., Sevelyeva O., Akhranovich E., Parkhomenko N. and Travinskaya T., «Degradable polyurethane foams based on disaccharides», *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 132 (25), pp. 42131-42141, **2015**.
- [96] Kurita K., Hirakawa N., Morinaga H. and Iwakura Y., «Synthetic polymers containing sugar residues, 6. Novel polyurethanes by direct addition polymerization of α,α -trehalose with diisocyanates», *Makromol. Chem.*, vol. 180 (11), pp. 2769-2773, **1979**.
- [97] Jhurry D. and Deffieux A., «Sucrose-based polymers: polyurethanes with sucrose in the main chain», *Eur. Polym. J.*, vol. 33 (10-12), pp. 1577-1582, **1997**.
- [98] Kizuka K. and Inoue S-I., «Synthesis and properties of polyurethane elastomers with trehalose units», *OJOPM*, vol. 6 (2), pp. 63-75, **2016**.
- [99] Nowick J. S., Powell N. A., Nguyen T. M. and Noronha G., «An improved method for the synthesis of enantiomerically pure amino acid ester isocyanates», *J. Org. Chem.*, vol. 57 (26), pp. 7364-7366, **1992**.
- [100] Zhang J. Y., Beckman E. J., Piesco N. P. and Agarwal S., «A new peptide-based urethane polymer: synthesis, biodegradation, and potential to support cell growth in vitro», *Biomaterials*, vol. 21 (12), pp. 1247-1258, **2000**.

- [101] Zhang J-Y., Beckman E. J., Hu J., Yang G-G., Agarwal S. and Hollinger J. O., «Synthesis, biodegradability, and biocompatibility of lysine diisocyanate-glucose polymers», *J. Tissue Eng.*, vol. 8 (5), pp. 771-785, **2002**.
- [102] Pasahan A., Köytepe S., Alper Cengiz M. and Seçkin T., «Synthesis and characterization of polyurethanes containing glucose for selective determination of epinephrine in the presence of a high concentration of ascorbic acid», *Polym Int*, vol. 62, pp. 246-250, **2013**.
- [103] Kurita K., Hirakawa N. and Iwakura Y., «Synthetic polymers containing sugar residues, 1. Direct addition polymerization of D-glucosamine and diisocyanates», *Makromol. Chem.*, vol. 178 (10), pp. 2939-2941, **1977**.
- [104] Kurita K., Miyajima K., Sannan T. and Iwakura Y., «Synthetic polymers containing sugar residues 4. Synthesis of polyamide-esters by direct polycondensation of D-Glucosamine and dicarboxylic acid chlorides», *J. Polym. Sci: Polym. Chem. Edn*, vol. 18 (1), pp. 359-364, **1980**.
- [105] Kurita K., Hirakawa N. and Iwakura Y., «Synthetic polymers containing sugar residues. 5. Polyesters derived from D-cellobiose and dicarboxylic acid chlorides by direct polycondensation», *J. Polym. Sci: Polym. Chem. Edn*, vol. 18 (1), pp. 365-370, **1980**.
- [106] Chen X., Martin B. D., Neubauer T. K., Linhardt R. J., Dordick J. S. and Rethwisch D. G., «Enzymatic and chemoenzymatic approaches to the synthesis of sugar-based polymer and hydrogels», *Carbohydr. Polym.*, vol. 28 (1), pp. 15-21, **1995**.
- [107] Sachinvala N. D. , Niemczura W. P. and Litt M. H., «Monomers from sucrose», *Carbohydr. Res.*, vol. 218 , pp. 237-245, **1991**.
- [108] Sachinvala N. D., Ju R. F. , Litt M. H. and Niemczura W. P., «Preparation of poly(methyl methacrylate) and copolymers having enhanced thermal stabilities using sucrose-based comonomers and additives», *J. Polym. Sci. A: Polym. Chem.*, vol. 33 (1), pp. 15-29, **1995**.
- [109] Sachinvala N. D., Litt M. N. and Ju R. F. , «Polymers having enhanced crosslinking efficiencies, and methods for their preparation using 1',6,6'-trimethacryloyl-2,3,3',4,4'-penta-O-methylsucrose as a crosslinking agent». US Brevet 5248747 A, **1993**.
- [110] Teramoto N. and Shibata M., «Trehalose-based thermosetting resins. I. Synthesis and thermal properties of trehalose vinylbenzyl ether», *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 91 (1), pp. 46-51, **2004**.
- [111] Yano S., Teramoto N., Shimasaki T. and Shibata M., «Photocrosslinkable trehalose derivatives carrying mesogenic groups: synthesis, characterization, and in vitro evaluation for fibroblast attachment», *J. Funct. Biomater.*, vol. 7 (3), p. 24, **2016**.

- [112] Nagashima S., Shimasaki T., Teramoto N. and Shibata M., «Trehalose-incorporated polymer network by thiol-ene photopolymerization», *Polymer Journal*, vol. 46, pp. 728-735, **2014**.
- [113] O'Shea T. M. , Webber M. J., Aimetti A. A. and Langer R., «Enhanced long-term functional stability and controlled release of biomacromolecules», *Adv. Healthcare Mater.*, vol. 4 (12), pp. 1802-1812, **2015**.
- [114] Kaushik J. K. and Bhat R., «Why is trehalose an exceptional protein stabilizer? An analysis of the thermal stability of proteins in the presence of the compatible osmolyte trehalose.», *J. Biol. Chem.*, vol. 278 (29), pp. 26458-26465, **2003**.
- [115] Jain N. K. and Roy I., «Trehalose and protein stability», *Curr. Protoc. Protein Sci.*, vol. 59, p. 4.9.1., **2012**.
- [116] Teramoto N., Unosawa M., Matsushima S. and Shibata M., «Synthesis and properties of thermoplastic alternating copolymers containing trehalose and siloxane units by hydrosilylation reaction», *Polymer Journal*, vol. 39 (9), pp. 975-981, **2007**.
- [117] Srinivasachari S., Liu Y., Prevette L. E. and Reineke T. M., «Effects of trehalose click polymer length on pDNA complex stability and delivery efficacy», *Biomaterials*, vol. 28 (18), pp. 2885-2898, **2007**.
- [118] Xue L., Ingle N. P. and Reineke T. M., «Highlighting the role of polymer length, carbohydrate size, and nucleic acid type in potency of glycopolycation agents for pDNA and siRNA delivery», *Biomacromolecules*, vol. 14 (11), pp. 3903-3915, **2013**.
- [119] Xue L., Kelkar S. S., Wang X., Ma J., Madsen L. A. and Reineke T. M., «A theranostic polycation containing trehalose and lanthanide chelate domains for siRNA delivery and monitoring», *RCS Adv.*, vol. 5 (90), pp. 74102-74106, **2015**.
- [120] Wulff G., Schmid J. and Venhoff T., «The synthesis of polymerizable vinyl sugars», *Macromol. Chem. Phys.*, vol. 197 (1), pp. 259-274, **1996**.
- [121] Tokiwa Y. and Kitagawa M., *Polymer Biocatalysis and Biomaterials II*, vol. Chapter 25: Sugar based polymers: overview and recent advances of vinyl sugars, pp. 379-410.
- [122] Loykulnant S., Hayashi M. and Hirao A., «Protection and polymerization of functional monomers. 28. Anionic living polymerization of styrene derivatives containing acetal-protected monosaccharide residues», *Macromolecules*, vol. 31 (26), pp. 9121-9126, **1998**.

- [123] Yamada K., Minoda M., and Miyamoto T., «Controlled synthesis of amphiphilic block copolymers with pendant N-acetyl-D-glucosamine residues by living cationic polymerization and their interaction with WGA Lectin», *Macromolecules*, vol. 32 (11), pp. 3553-3558, **1999**.
- [124] Okada M., Aoi K. and Tsutsumiuchi K., «Synthesis of Igcopeptide-conjugates via ring-opening polymerization of sugar-substituted alpha-amino acid N-carboxyanhydrides (GlycoNCAs)», *Proc. Japan Acad.*, vol. 73, pp. 205-209, **1997**.
- [125] Kitazawa S., Okumura M., Kinomura K. and Sakakibara T., «Syntheses and properties of novel vinyl monomes bearing a glycoside residue», *Chem. Lett.*, vol. 19, pp. 1733-1736, **1990**.
- [126] Klein J., «New surfactant polymers based on carbohydrates», *Makromol. Chem.*, vol. 191, pp. 517-528, **1990**.
- [127] Black W. A. P., Colquhoun J. A. and Dewar E. T., «6-O-methacryloyl-D-galactose: a reactive water-soluble monomer», *Makromol. Chem.*, vol. 117, pp. 210-214, **1968**.
- [128] Jhurry D., Deffieux A., Fontanille M., Betremieux I., Mentech J. and Descotes G., «Sucrose-based polymers, 1: Linear polymers with sucrose side-chains», *Makromol. Chem.*, vol. 193 (12), pp. 2997-3007, **1992**.
- [129] Carpino L. A., Ringsdorf H. and Ritter H., «Preparation and polymerization of 1-O-(methacryloylamino-phenyl)-beta-D-glucopyranoside», *Makromol. Chem.*, vol. 177 (5), pp. 1631-1635, **1976**.
- [130] Haworth W. N., Gregory H. and Wiggins L. F., «Some derivatives of simple carbohydrates containing unsaturated substituents», *J. Chem. Soc.*, pp. 488-491, **1946**.
- [131] Badey B., Boullanger P., Domard A., Cros P., Delair T. and Pichot C., «Radically initiated polymerization of a methacryloylamido- terminated saccharide, 1: Monomer synthesis, homopolymerization and characterizations», *Macromol. Chem. Phys.*, vol. 197 (11), pp. 3711-3728, **1996**.
- [132] Terada Y., Hashimoto W., Endo T., Seto H., Murakami T., Hisamoto H., Hoshino Y. and Miura Y., «Signal amplified two-dimensional photonic crystal biosensor immobilized with glyco-nanoparticles», *J. Mater. Chem. B.*, vol. 2 (21), pp. 3324-3332, **2014**.
- [133] Iwakura Y., Imai Y. and Yagi K., «Preparation of polymers containing sugar residues», *J. Polym. Sci. Part A-1*, vol. 6 (6), pp. 1625-1632, **1968**.

- [134] Raju Kutcherlapati S.N., Yoele N., Gadi M. R., Perali R.S. and Jana T., «RAFT mediated one-pot synthesis of glycopolymer particles with tunable core-shell morphology», *Polym. Chem.*, vol. 8, pp. 1371-1380, **2017**.
- [135] Ladmiral V., Semsarilar M., Canton I. and Armes S. P., «Polymerization-induced self-assembly of galactose-functionalized biocompatible diblock copolymers for intracellular delivery», *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 135 (36), pp. 13574-13581, **2013**.
- [136] Bhuchar N., Deng Z., Ishihara K. and Narain R., «Detailed study of the reversible addition-fragmentation chain transfer polymerization and co-polymerization of 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine», *Polym. Chem.*, vol. 2, pp. 632-639, **2011**.
- [137] Pfaff A., Barber L., Müller A. H. E. and Granville A. M., «Surface modification of polymeric microspheres using glycopolymers for biorecognition», *Eur. Polym. J.*, vol. 47, **2011**.
- [138] Ahmed M. and Narain R., «The effect of polymer architecture, composition, and molecular weight on the properties of glycopolymer-based non-viral gene delivery system», *Biomaterials*, vol. 32, pp. 5279-5290, **2011**.
- [139] Spain S. G. and Cameron N. R., «The binding of polyvalent galactosides to the lectin Ricinus communis agglutinin 120 (RCA120): an ITC and SPR study», *Polym. Chem.*, vol. 2, pp. 1552-1560, **2011**.
- [140] Terada Y., Seto H., Hoshino Y., Murakami T., Shinohara S., Tamada K. and Miura Y., «SPR study for analysis of a water-soluble glycopolymer interface and molecular recognition properties», *Polymer Science*, vol. 49 (2), pp. 255-262, **2017**.
- [141] Takara M., Toyoshima M., Seto H., Hoshino Y. and Miura Y., «Polymer-modified gold nanoparticles via RAFT polymerization: a detailed study for a biosensing application», *Polym. Chem.*, vol. 5 (3), pp. 931-939, **2014**.
- [142] Ting S. R. S., Min E. H., Zetterlund P. B. and Stenzel M. H., «Controlled/living ab initio emulsion polymerization via a glucose RAFTstab: degradable cross-linked glyco-particles for Concanavalin A/FimH conjugations to cluster E. coli bacteria», *Macromolecules*, vol. 43 (12), pp. 5211-5221, **2010**.
- [143] Bernard J., Hao X., Davis T. P., Barner-Kowollik C. and Stenzel M. H., «Synthesis of various glycopolymer architectures via RAFT polymerization: From block copolymers to stars», *Biomacromolecules*, vol. 7 (1), pp. 232-238, **2006**.

- [144] Ohno K., Izu Y., Yamamoto S., Miyamoto T. and Fukuda T., «Nitroxide-controlled free radical polymerization of a sugar-carrying acryloyl monomer», *Macromol. Chem. Phys.*, vol. 200, pp. 1619-1625, **1999**.
- [145] Götz H., Harth E., Schiller S. M., Frank C. W., Knoll W. and Hawker C. J., «Synthesis of lipoglycopolymer amphiphiles by nitroxide-mediated living free-radical polymerization», *J. Polym. Sci. A: Polym. Chem.*, vol. 40 (20), pp. 3379-3391, **2002**.
- [146] Grande D., Baskaran S., Baskaran C., Gnanou Y. and Chaikof E. L., «Glycosaminoglycan-mimetic biomaterials. 1. Nonsulfated and sulfated glycopolymers by cyanoxyl-mediated free-radical polymerization», *Macromolecules*, vol. 33, pp. 1123-1125, **2000**.
- [147] Grande D., Baskaran S. and Chaikof E. L., «Glycosaminoglycan mimetic biomaterials. 2. Alkene- and acrylate-derivatized glycopolymers via cyanoxyl-mediated free-radical polymerization», *Macromolecules*, vol. 34 (6), pp. 1640-1646, **2001**.
- [148] Sen Gupta S., Raja K. S., Kaltgrad E., Strable E. and Finn M. G., «Virus-glycopolymer conjugates by copper(I) catalysis of atom transfer radical polymerization and azide-alkyne cycloaddition», *Chem. Commun.*, vol. 34, pp. 4315-4317, **2005**.
- [149] Okada M., «Molecular design and syntheses of glycopolymers», *Prog. Polym. Sci.*, vol. 26, pp. 67-104, **2001**.
- [150] Ghadban A. and Albertin L., «Synthesis of glycopolymer architectures by reversible-deactivation radical polymerization», vol. 5 (2), n° 1431-526, **2013**.
- [151] Lee R. T., Cascio S. and Lee Y. C., «A simple method for the preparation of polyacrylamide gels containing thioglycoside ligands», *Anal. Biochem.*, vol. 95 (1), pp. 260-269, **1979**.
- [152] Lees W. J., Spaltenstein A., Kingery-Wood J. E. and Whitesides G. M., «Polyacrylamides bearing pendant alpha-sialoside groups strongly inhibit agglutination of Erythrocytes by Influenza A Virus: Multivalency and steric stabilization of particulate biological systems», *J. Med. Chem.*, vol. 37 (20), pp. 3419-3433, **1994**.
- [153] Hetzer M., Chen G., Barner-Kowollik C. and Stenzel M. H., «Neoglycopolymers based on 4-vinyl-1,2,3-triazole monomers prepared by click chemistry», *Macromol Biosci.*, vol. 10, pp. 119-126, **2010**.
- [154] Bat E., Lee J., Lau U. Y. and Maynard H. D., «Trehalose glycopolymer resists allow direct writing of protein patterns by electron-beam lithography», *Nature Communications*, vol. 6, p. 6654, **2015**.

- [155] Hirata Y. and Nakagawa T., «Hydratation properties of an amino sugar-containing synthetic polymer by DSC and NMR spectroscopy», *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, vol. 73 (8), pp. 1905-1912, **2000**.
- [156] Klein J. and Begli A. H., «Poly(vinylsaccharide)s, 5. Synthesis and characterization of poly(vinylsaccharide)s of the amide type with disaccharides in the side chain», *Makromol. Chem.*, vol. 190 (10), pp. 2527-2534, **1989**.
- [157] Klein J., Kunz M. and Kowalczyk J., «Poly(vinylsaccharide)s, 7 New surfactant polymers based on carbohydrates», *Makromol. Chem.*, vol. 191 (3), pp. 517-528, **1990**.
- [158] Mancini R. J., Lee J. and Maynard H. D., «Trehalose glycopolymers for stabilization of protein conjugates to environmental stressors», *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 134 (20), pp. 8474-8479, **2012**.
- [159] Lee J., Lin E-W., Lau U. Y., Hedrick J. L., Bat E. and Maynard H. D., «Trehalose glycopolymers as excipients for protein stabilization», *Biomacromolecules*, vol. 14 (8), pp. 2561-2569, **2013**.
- [160] Yin L., Dalsin M. C., Sizovs A., Reineke T. M. and Hillmyer M. A., «Glucose-functionalized, serum-stable polymeric micelles from the combination of anionic and RAFT polymerizations», *Macromolecules*, vol. 45 (10), pp. 4322-4332, **2012**.
- [161] Tolstyka Z. P., Phillips H., Cortez M., Wu Y., Ingle N., Bell J. B., Hackett P. B. and Reineke T. M., «Trehalose-based block copolymerizations promote polyplex stabilization for lyophilization and in vivo pDNA delivery», *ACS Biomater. Sci. Eng.*, vol. 2 (1), pp. 43-55, **2016**.
- [162] Sizovs A., Xue L., Tolstyka Z. P., Ingle N. P., Wu Y., Cortez M. and Reineke T. M., «Poly(trehalose): sugar-coated nanocomplexes promote stabilization and effective polyplex-mediated siRNA delivery», *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 135 (41), pp. 15417-15424, **2013**.
- [163] Raku T., Kitagawa M., Shimakawa H. and Tokiwa Y., «Enzymatic synthesis of trehalose esters having lipophilicity», *J. Biotechnol.*, vol. 100, pp. 203-208, **2003**.
- [164] Raku T., Kitagawa M., Shimakawa H. and Tokiwa Y., «Enzymatic synthesis of hydrophilic undecylenic acid sugar esters and their biodegradability», *Biotechnol. Lett.*, vol. 161, pp. 161-166, **2003**.
- [165] Queneau Y., Jarosz S., Lewandowski B. and Fitremann J., «Sucrose chemistry and application of sacrochemicals», *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, vol. 61 (7), pp. 217-292, **2007**.
- [166] Banat I. M., Franzetti A., Gandolfi I., Bestetti G., Martinotti M. G., Fracchia L., Smyth T. J. and Marchant R., «Microbial biosurfactants production, applications and future potential», *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 87 (2), pp. 427-444, **2010**.

- [167] Hall P. J., Haverkamp J., Van Schmidt C. G. and Kralingen M., «Laundry detergent composition containing synergistic combination of sophorose lipid and nonionic surfactant». US Brevet 5520839, **1996**.
- [168] Khan N. R. and Rathod V. K., «Enzyme catalyzed synthesis of cosmetic esters and its intensification: A review», *Process Biochem.*, vol. 50 (11), pp. 1793-1806, **2015**.
- [169] Lourith N. and Kanlayavattanukul M., «Natural surfactants used in cosmetics: glycolipids», *Int. J. Cosmet. Sci.*, vol. 31 (4), pp. 255-261, **2009**.
- [170] Asghar A., Muhammad Anjum F. and Allen J. C., «Utilization of dairy byproduct proteins, surfactants, and enzymes in frozen dough», *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 51 (4), pp. 374-382, **2011**.
- [171] Sampaio A., Leiton J. and Oliveira S. D., «Enzymatic synthesis of sugar esters and their potential as surface-active stabilizers of coconut milk emulsions», *Food Hydrocoll.*, vol. 27 (2), pp. 324-331, **2012**.
- [172] Hsieh SW, Lee M. R., Tsai C. W., Lai L. Y., Yeh T., Hsieh C. W., Yang T. J. and Chang S. W., «Enzymatic synthesis, purification and identification of bioactive trehalose ester derivatives for health applications», *FBP*, vol. 95, pp. 163-172, **2015**.
- [173] Habulin M., Sabeder S. and Knez Z., «Enzymatic synthesis of sugar fatty acid esters in organic solvent and in supercritical carbon dioxide and their antimicrobial activity», *J. Supercrit. Fluids*, vol. 45, pp. 338-345, **2008**.
- [174] Ferrer M., Soliveri J., Plou F. J., Lopez-Cortes N., Reyes-Duartes D., Christensen M., Copa-Patino J.L. and Ballesteros A., «SYnthesis of sugar esters in solvent mixtures by lipases from *Thermomyces lanuginosus* and *Candida antarctica* B, and their antimicrobial properties», *Enzyme Microb. Technol.*, vol. 36 (4), pp. 391-398, **2005**.
- [175] Katayama T., Matsubara M., Honda Y. and Kuwahara M., «Antibacterial carbohydrate monoesters suppressing cell growth of *Streptococcus mutans* in the presence of sucrose», *Curr. Microbiol.*, vol. 41 (3), pp. 210-213, **2000**.
- [176] Watanabe T., Katayama S., Matsubara M., Honda Y. and Kuwahara M., «Antibacterial carbohydrate monoesters suppressing cell growth of *Streptococcus mutans* in the presence of sucrose», *Curr. Microbiol.*, vol. 41 (3), pp. 210-213, **2000**.
- [177] Peterson J. K., Harrison H. F. and Chortyk OT., «Effects of various synthetic sucrose esters on weed seed germination and crop growth: structure - activity and dose - response relationships», *J. Agric. Food Chem.*, vol. 45 (12), pp. 4833-4837, **1997**.

- [178] Okabe S., Suganuma M. and Tada Y., «Dissacharide esters screened for inhibition of tumor necrosis factor - alpha release are new anti-cancer agents», *Jpn J Cancer Res*, vol. 90 (6), pp. 669-676, **1999**.
- [179] Kato A., Ando K., Tamura G. and Arima K., «Effects of some fatty acid esters on the viability and transplantability on Ehrlich ascites tumor cells», *Cancer Research*, vol. 31 (5), pp. 501-504, **1971**.
- [180] John G., Zhu G., Li J. and Dordick J. S., «Enzymatically derived sugar-containing self-assembled organogels with nanostructured morphologies», *Angew. Chem. - International Edition*, vol. 45, pp. 4772-4775, **2006**.
- [181] Tulloch A. P. and Spencer J. F. T., «Fermentation of long-chain compounds by *Torulopsis apicola*. IV. Products from esters and hydrocarbons with 14 and 15 carbon atoms and from methyl palmitoleate», *Can. J. Chem.*, vol. 46 (9), pp. 1523-1528, **1968**.
- [182] Tulloch A. P., Spencer J. F. T. and Deinema M. H., «A new hydroxy fatty acid sophoroside from *Candida bogoriensis*», *Can. J. Chem.*, vol. 46 (3), pp. 345-348, **1968**.
- [183] Chen J., Song X., Zhang H. and Qu Y., «Production, structure elucidation and anticancer properties of sophorolipid from *Wickerhamiella domercqiae*», *Enzyme Microb. Technol.*, vol. 39 (3), pp. 501-506, **2006**.
- [184] Ito S. and Inoue S., «Sophorolipids from *Torulopsis bombicola*: possible relation to alkane uptake.», *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 43 (6), pp. 1278-1283, **1982**.
- [185] Pekin G., Vardar-Sukan F., and Kosaric N., «Production of sophorolipids from *Candida bombicola* ATCC 22214 using turkish corn oil and honey», *Eng. Life Sci.*, vol. 5 (4), pp. 357-362, **2005**.
- [186] Van Bogaert I. N., Saerens K., De Muynck C., Develter D., Soetaert W. and Vandamme E. J., «Microbial production and application of sophorolipids», *Appl Microbiol Biotechnol.*, vol. 76 (1), pp. 23-34, **2007**.
- [187] Boyer A., Lingome C. E., Condassamy O., Schappacher M., Moebs-Sanchez S., Queneau Y., Gadenne B., Alfos C. and Cramail H., «Glycolipids as a source of polyols for the design of original linear and cross-linked polyurethanes», *Polym. Chem.*, pp. 296-306, **2012**.
- [188] Pan X., Sengupta P. and Webster D. C., «Novel biobased epoxy compounds: epoxidized sucrose esters of fatty acids», *Green Chem.*, vol. 13, pp. 965-975, **2011**.
- [189] Pan X., Sengupta P. and Webster D. C., «High biobased content epoxy-anhydride thermosets from epoxidized sucrose esters of fatty acids», *Biomacromolecules*, vol. 12 (6), pp. 2416-2428, **2011**.

- [190] Yan J. and Webster D. C., «Thermosets from highly functional methacrylated epoxidized sucrose soyate», *Green Mater*, vol. 2 (3), pp. 132-143, **2014**.
- [191] Pan X. and Webster D. C., «New Biobased high functionality polyols and their use in polyurethane coatings», *ChemSusChem*, vol. 5 (2), pp. 419-429, **2012**.
- [192] Yan J., Ariyasivam S., Weerasinghe D., He J., Chisholm B., Chen Z. and Webster D., «Thiouethane thermoset coatings from bio-based thiols», *Polym Int*, vol. 61 (4), pp. 602-608, **2012**.
- [193] Patil D. R., Rethwisch D. G. and Dordick J. S., «Enzymatic synthesis of a sucrose-containing linear polyester in nearly anhydrous organic media», *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 37 (7), pp. 639-646, **1991**.
- [194] Patil D. R., Dordick J. S. and Rethwisch D. G., «Chemoenzymatic synthesis of novel sucrose-containing polymers», *Macromolecules*, vol. 24, pp. 3462-3463, **1991**.
- [195] Park O. J., Kim D. Y. and Dordick J. S., «Enzyme-catalyzed synthesis of sugar-containing monomers and linear polymers», *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 70, pp. 208-216, **2000**.
- [196] Hibert G., Glycolipids: from synthesis and self-assembly studies to the design of original bio-based polymers, *Thèse de doctorat en polymères, Université de Bordeaux*, **2016**.
- [197] Hibert G., Grau E., Pintori D., Lecommandoux S. and Cramail H., «ADMET polymerization of α,ω -unsaturated glycolipids: synthesis and physico-chemical properties of the resulting polymers», *Polymer Chemistry*, vol. 2017 (8), pp. 3731-3739, **2017**.
- [198] Gao W., Hagver R., Shah V., Xie W., Gross R.A., Ilker M. F., Bell C., Burke K. and Coughlin E. B., «Glycolipid polymer synthesized from natural lactonic sophorolipids by ring-opening methathesis polymerisation», *Macromolecules*, vol. 40 (2), pp. 145-147, **2007**.
- [199] Zini E., Gazzano M., Scandola M., Wallner S. R. and Gross R. A., «Glycolipid biomaterials : Solid-state properties of a poly(sophorolipid)», *Macromolecules*, vol. 41 (20), pp. 7463-7468, **2008**.
- [200] Peng Y., Decatur J., Meier M. A. R. and Gross R. A., «Ring-opening methathesis polymerization of a naturally derived macrocyclic glycolipid», *Macromolecules*, vol. 46 (9), pp. 3293-3300, **2013**.
- [201] Peng Y., Munoz-Pinto D. J., Chen M., Decatur J., Hahn M. and Gross R.A., «Poly(sophorolipid) structural variation: effects on biomaterial physical and biological properties», *Biomacromolecules*, vol. 15 (11), pp. 4214-4227, **2014**.
- [202] Hu Y. and Ju L. K., «Lipase-mediated deacetylation and oligomerization of lactonic sophorolipids», *Biotechnol. Prog.*, vol. 19 (2), pp. 303-311, **2003**.

- [203] Bisht K.S., Gao W. and Gross R. A., «Glycolipids from *Candida bombicola*: Polymerization of a 6-O-acryloyl sophorolipid derivative», *Macromolecules*, vol. 25 (17), pp. 6208-6210, **2000**.
- [204] Albertin L., Kojlert C., Stenzel M., Foster J. R. and Davis T. P., «Chemoenzymatic synthesis of narrow-polydispersity glycopolymers: Poly(6-O-vinyladipoyl-D-glucopyranose)», *Biomacromolecules*, vol. 5 (2), pp. 255-260, **2004**.
- [205] Kitagawa M., Takegami S. and Tokiwa Y., «Free-radical polymerization of a reducing vinyl sugar ester in dimethylformamide and water», *Macromol. Rapid Commun.*, vol. 19, pp. 155-158, **1998**.
- [206] Borges M. R., dos Santos J. A., Vieira M. and Balaban R., «Polymerization of a water soluble glucose vinyl ester monomer with tensioactive properties synthesized by enzymatic catalyst», *Materials Science and Engineering C*, vol. 29, pp. 519-523, **2009**.
- [207] Li X., Lu M., Zhang F. and Lin X., «Novel hepatoma-targeting micelles based on chemoenzymatic synthesis and self-assembly of galactose-functionalized ribavirin-containing amphiphilic random copolymer», *Journal of Polymer Science: Part A; Polymer Chemistry*, vol. 46 (8), pp. 2734-2744, **2008**.
- [208] Wu Q., Lu D., Xiao Y., Yao S. and Lin X., «Highly anomer- and regioselective transesterification catalyzed by alkaline protease from *Bacillus subtilis* in organic media», *Chem. Lett.*, vol. 33 (2), pp. 94-95, **2004**.
- [209] Kitagawa M., Fan H., Raku T., Shibatani S., Maekawa Y., Hiraguri Y., Kurane R. and Tokiwa Y., «Selective enzymatic preparation of vinyl sugar esters using DMSO as a denaturing co-solvent», *Biotechnol. Lett.*, vol. 21 (4), pp. 335-359, **1999**.
- [210] Raku T. and Tokiwa Y., «Chemoenzymatic synthesis of fucose- or rhamnose-branched polymer», *Macromol. Biosci.*, Vols. 3 (3-4), pp. 151-156, **2003**.
- [211] Miura Y., Wada N., Nishida Y., Mori H. and Kobayashi K., «Chemoenzymatic synthesis of glycoconjugate polymers starting from nonreducing disaccharides», *J. Polym. Sci. A: Polym. Chem.*, vol. 42, pp. 4598-4606, **2004**.
- [212] Wu Q., Chen Z-C, Lu D-S. and Lin X-F., «Chemo-enzymatic synthesis of raffinose-branched polyelectrolytes and self-assembly application in microcapsules», *Macromol. Biosci.*, vol. 6, pp. 78-83, **2006**.
- [213] Miura Y., Ikeda T. and Kobayashi K., «Chemoenzymatically synthesized glycoconjugate polymers», *Biomacromolecules*, vol. 4 (2), pp. 410-415, **2003**.

CHAPITRE 2

Synthèse de glycolipides par catalyse enzymatique : Étude de l'influence des paramètres réactionnels et des substrats

CHAPITRE 2 : Synthèse de glycolipides par catalyse enzymatique : Étude de l'influence des paramètres réactionnels et des substrats

I. Introduction	- 83 -
II. Synthèse de glycolipides par voie enzymatique : état de l'art	- 84 -
1. Enzymes intervenant dans la synthèse de glycolipides	- 84 -
2. Schéma réactionnel mis en jeu	- 85 -
3. Les différents substrats	- 87 -
4. Milieu réactionnel : choix du solvant	- 88 -
5. Conclusion	- 89 -
III. Optimisation des conditions expérimentales	- 89 -
1. Introduction	- 89 -
2. Choix du solvant	- 92 -
3. Choix de la lipase	- 98 -
4. Influence de la température	- 99 -
5. Conclusion	- 100 -
IV. Choix du donneur d'acyle : influence de la longueur de chaîne et de la présence d'insaturations	- 101 -
1. Choix du type de donneur d'acyle	- 101 -
1.1 Différents donneurs d'acyle possibles :	- 101 -
1.2 Synthèse des donneurs d'acyles	- 101 -
1.3 Acylation du glucose : comparaison des différents donneurs d'acyles	- 103 -
2. Influence de la longueur de chaîne	- 103 -
3. Influence de la géométrie du substrat ; insaturations, ramifications	- 109 -
3.1 Influence des insaturations	- 109 -
3.2 Influence de ramifications	- 111 -
4. Conclusion	- 112 -
V. Choix du saccharide :	- 112 -
1. Influence du carbohydrate	- 113 -
2. Optimisation des conditions réactionnelles pour le tréhalose	- 116 -
2.1 Influence du solvant, de la température, du tamis moléculaire	- 116 -
2.2 Augmentation de la quantité de lipase	- 116 -
VI. Conclusion	- 117 -
VII. Bibliographie	- 118 -

I. INTRODUCTION

L'objectif de ces travaux de thèse est de synthétiser une famille de monomères glycolipidiques de structures variées, et d'étudier leur polymérisation et copolymérisation avec des monomères commerciaux. Pour cela nous avons sélectionné la polymérisation radicalaire. La capacité des polymères obtenus à s'auto-assembler en milieu aqueux sera ensuite étudiée afin de viser des applications d'encapsulation. Notre première réflexion a donc été de concevoir des glycolipides polymérisables à partir de trois fragments :

- Un fragment hydrophobe, dérivé d'acide gras
- Un fragment hydrophile saccharidique
- Un fragment polymérisable par voie radicalaire.

La stratégie de synthèse que nous avons choisi d'adopter consiste à choisir un acide gras pourvu d'une fonction chimique (par exemple une double liaison ou un alcool) le long de sa chaîne carbonée, et de faire réagir cette fonction sur un fragment polymérisable. L'acide gras fonctionnalisé est ensuite couplé à un sucre par une réaction d'estérification pour conduire au glycolipide correspondant (Schéma 1).

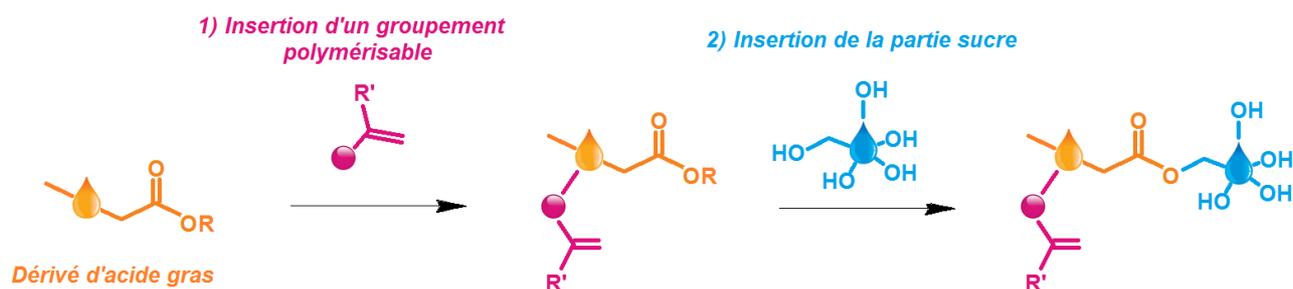


Schéma 1 - Stratégie de synthèse de monomères glycolipidiques

Par voie chimique, la synthèse de glycolipides est généralement réalisée en présence de catalyseurs alcalins¹ comme le carbonate de potassium² le lactate de potassium³ ou le sodium métallique.⁴ Cependant cette voie n'est pas sélective et conduit à des mélanges d'esters de sucres avec différents degrés d'estérification et difficiles à séparer.^{5,6} Des stratégies de protection / déprotection des alcools secondaires du sucre permettent une sélectivité vis-à-vis de l'alcool primaire, mais au prix d'une augmentation du nombre d'étapes de synthèse.^{7,8} L'estérification de Mitsunobu en présence de triphénylphosphine et de diisopropyl azodicarboxylate permet une acylation sélective des alcools primaires des sucres en une seule étape de synthèse.⁹⁻¹¹ Plus récemment, le groupe de Grindley a décrit une voie d'estérification sélective des alcools primaires *via* le recours à des agents de couplage peptidique.¹² Néanmoins, toutes ces méthodes nécessitent généralement l'emploi de solvants toxiques, comme le DMF ou la pyridine, à des températures élevées.

La catalyse enzymatique offre une alternative intéressante pour la synthèse de glycolipides. Plus douce que la catalyse chimique classique, elle rencontre un intérêt important et grandissant depuis les

années 1950. Regroupées dans le groupe EC3.1 de la classification des enzymes, les estérases permettent une synthèse de glycolipides dans des conditions plus douces et moins toxiques qu'en ayant recours à un catalyseur chimique. Certaines estérases sont strictement sélectives vis-à-vis des alcools primaires, et conduisent de fait à l'obtention de glycolipides de structure contrôlée, laissant les alcools secondaires intacts sans nécessiter d'étapes supplémentaires de protection/déprotection. En revanche, les durées des réactions sont plus longues qu'en catalyse chimique : une telle synthèse catalysée par une lipase nécessite 24 heures à 5 jours de réaction¹³ et les conversions finales en glycolipides sont généralement plus faibles. Enfin, les quantités d'enzyme mises en jeu sont souvent très élevées, de l'ordre de 20% à 30% massiques d'enzyme supportée par rapport aux substrats.

Pour une synthèse plus 'verte', nous avons choisi dans ces travaux de thèse de recourir uniquement à la catalyse enzymatique pour l'insertion de la partie sucre. Le succès de la synthèse de glycolipides par voie enzymatique dépend de nombreux paramètres que sont l'enzyme utilisée, le solvant, la température, le ratio entre les réactifs, mais également et surtout le choix des réactifs eux-mêmes. Le choix du sucre (monosaccharide ou polysaccharide), la longueur de chaîne du donneur d'acyle, sa géométrie, la présence ou non de fonctions chimiques, d'insaturations ou de ramifications le long de la chaîne sont autant de paramètres influant sur les conversions finales en glycolipide. Ce chapitre a donc pour objectif d'étudier les paramètres influents sur la synthèse de glycolipides par catalyse enzymatique, afin de déterminer d'une part les meilleures conditions réactionnelles et, d'autre part, les donneurs d'acyle et les sucres les plus pertinents pour la synthèse de glycolipides polymérisables.

Afin de sélectionner les donneurs d'acyle et les sucres les plus adaptés, une étude de l'état de l'art de la synthèse de glycolipides par catalyse enzymatique a été réalisée afin d'en faire un résumé. Mais la littérature à ce sujet se révélant particulièrement vaste et souvent contradictoire, il est apparu difficile d'en tirer des conclusions, notamment quant au choix d'un solvant et d'un donneur d'acyle préférentiels. Aussi, nous avons dans un premier temps effectué une étude complète de l'influence des paramètres réactionnels, du choix du donneur d'acyle selon sa fonction chimique et sa géométrie, et du type de sucre.

II. SYNTHÈSE DE GLYCOLIPIDES PAR VOIE ENZYMATIQUE : ÉTAT DE L'ART

1. Enzymes intervenant dans la synthèse de glycolipides

Les biocatalyseurs utilisés pour la catalyse de réactions d'estérification ou de transestérification sont les protéases¹⁴⁻¹⁸ et les lipases. Ces enzymes peuvent être utilisées sous leur forme libre, mais elles sont dans la majorité des cas supportées, c'est-à-dire greffées ou adsorbées sur un support, généralement de type acrylique.¹⁹

Les enzymes les plus étudiées pour la synthèse de glycolipides sont les lipases. Si leur fonction biologique est l'hydrolyse d'esters insolubles dans l'eau,²⁰ comme les triglycérides, elles sont capables en milieu organique, de catalyser la réaction inverse, à savoir l'estérification ou la trans-estérification. Elles peuvent reconnaître une très grande variété de substrats naturels ou non, sont stables dans la majorité des solvants organiques et jusqu'à une température de 80°C.

La littérature fait état de nombreuses synthèses de glycolipides catalysées par les lipases de *Candida antarctica B* (CALB), de *Rhizomucor miehei*,²¹ *Thermomyces lanuginosa*,²² *Pseudomonas cepacia*,²³ *Candida rugosa*,²⁴ *Aspergillus terreus*²⁵ et *Mucor circinelloides*.²⁶ De nombreuses études ont notamment été publiées sur l'emploi des lipases de *Rhizomucor miehei*²⁷⁻²⁹ et de *Thermomyces lanuginosa*³⁰⁻³³ comme biocatalyseurs pour l'estérification de dérivés d'acides gras, mais c'est la CALB qui est de loin la plus étudiée et la plus utilisée. Aussi, la suite de cet exposé se focalisera sur la CALB.

2. Schéma réactionnel mis en jeu

Les glycolipides peuvent être synthétisés directement *via* une réaction d'estérification entre un acide gras et un sucre.³⁴ (Schéma 2).

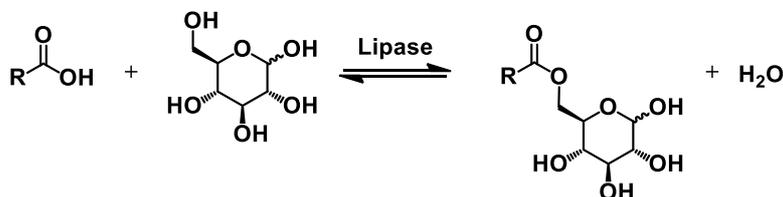


Schéma 2 – Synthèse d'un glycolipide sous catalyse enzymatique à partir de glucose et d'un acide gras

Cette voie de synthèse présente l'avantage de libérer de l'eau, non toxique, comme sous-produit. En revanche, les cinétiques de réaction sont lentes et l'obtention des conversions élevées nécessite impérativement d'éliminer l'eau formée afin d'induire un déplacement d'équilibre, par exemple en ajoutant au milieu réactionnel du tamis moléculaire activé.

Le recours à la trans-estérification d'esters d'acides gras présente une alternative intéressante pour la synthèse de glycolipides. En particulier, les esters vinyliques sont des donneurs d'acyle de choix.³⁵⁻³⁸ Ces derniers ne sont pas disponibles naturellement mais sont aisément synthétisés par transvinylation d'acides gras en présence d'acétate de vinyle.³⁹⁻⁴¹ Le sous-produit de la trans-estérification d'un ester vinylique est l'alcool vinylique, qui est immédiatement converti en acétaldéhyde par tautomérie céto-énolique, permettant un déplacement d'équilibre *in situ* (Schéma 3).

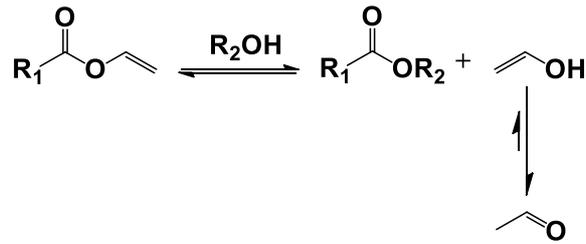


Schéma 3 – Trans-estérification d'un ester de vinyle

Les vitesses de réaction en sont largement décuplées et les conversions en glycolipides plus élevées.^{42,43}

Le groupement vinyle étant un bon groupe partant, la présence d'eau dans le milieu réactionnel même sous forme de traces conduit la CALB à catalyser également l'hydrolyse de l'ester de vinyle. Aussi, lors de la synthèse de glycolipides à partir d'un ester de vinyle, trois réactions différentes entrent en jeu :

- 1 : Une partie de l'ester de vinyle est trans-estérifié par le glucose. Cette réaction libérant de l'acétaldéhyde, est considérée comme irréversible.
- 2 : En présence de traces d'eau, le reste de l'ester de vinyle est hydrolysé. Cette réaction est également irréversible.
- 3 : L'acide gras formé lors de la réaction 2 est estérifié en glycolipide ; cette réaction est réversible et converge vers un équilibre.

Ce système réactionnel est illustré par le Schéma 4 :

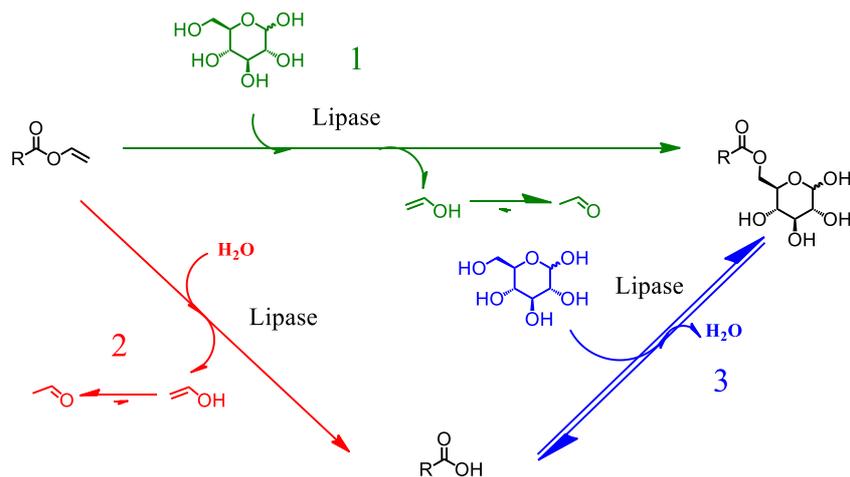


Schéma 4 – Synthèse de glycolipides à partir de glucose et d'un ester de vinyle

Des exemples d'acylation des sucres par des esters méthyliques sont également rapportés dans la littérature.⁴⁴ Le sous-produit libéré est alors le méthanol ; le schéma réactionnel est le même que pour les esters de vinyle, à la différence que dans ce cas les trois réactions sont réversibles (Schéma 5).

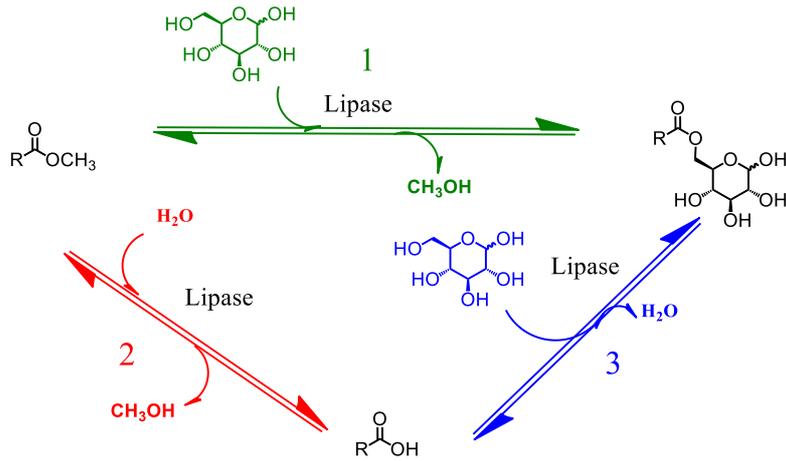


Schéma 5 - Synthèse de glycolipides à partir de glucose et d'un ester de méthyle

Enfin, plus récemment, le groupe de Legentil a mis au point une méthode de synthèse de monoacyle et de diacyle de tréhalose catalysée par la CALB à partir d'esters lipidiques de 2,2,2-trifluoroéthyl.⁴⁵

3. Les différents substrats

La synthèse de glycolipides en présence de CALB est compatible avec un très vaste panel de substrats. Parmi les sucres, on peut citer les monosaccharides comme le glucose, le fructose,^{44,46-49} le galactose⁵⁰ et le mannose,⁵¹ mais aussi les disaccharides comme le tréhalose^{37,38,52} le saccharose^{35,53} lactose et le maltose.^{52,53} La littérature fait également état d'un grand nombre d'acides gras et d'esters d'acides gras utilisés pour la synthèse de glycolipides. De nombreuses études au sujet de l'influence de la longueur de chaîne des donneurs d'acyle lors de synthèses catalysées par la CALB ont été rapportées.^{49,54-56}

La triade catalytique de la CALB se niche au fond d'un site actif en forme de tunnel de 9,5 Å x 4,5 Å aux parois hydrophobes⁵⁷ (Figure 1). Une plus grande affinité de l'enzyme pour les donneurs d'acyle à longues chaînes carbonées, plus hydrophobes, est donc attendue. Pour autant les conclusions exposées dans la littérature à ce sujet sont très contradictoires. Au cours de leurs travaux sur l'estérification d'acides gras de différentes tailles par le glucose en présence de CALB, Schmid *et al.* ont bien observé les conversions les plus élevées pour les plus longues chaînes.⁵⁴ Ghoul *et al.* ont tiré les mêmes conclusions sur l'estérification d'acides gras de tailles C8 à C18 par le fructose.⁴⁹ Mais en transestérifiant le fructose à partir d'esters de méthyle contenant 6 à 18 carbones, ils ont relevé des taux d'acylation d'abord croissants jusqu'à un maximum atteint pour le caprylate de méthyle (C10), puis décroissants jusqu'au stéarate de méthyle.⁴⁶

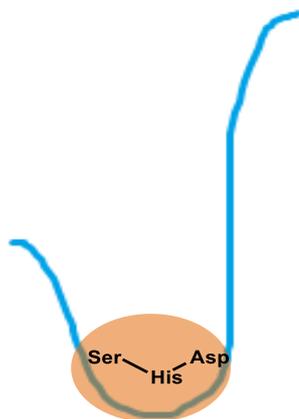


Figure 1 – Représentation du site actif de la CALB selon Pleiss et al. [57]

En revanche, plus récemment, Pedersen *et al.* ont travaillé sur l'estérification d'acides gras par des disaccharides et ont tiré les conclusions inverses : les vitesses de réaction et les conversions en glycolipides étaient les plus élevées pour les acides gras les plus courts.⁵⁵ Lin *et al.* ont, quant à eux, étudié la trans-estérification de diesters vinyliques de différentes tailles par le glucose et ont également obtenu les meilleures conversions en glycolipides pour les plus courtes chaînes.⁵⁶

Des thèses contradictoires sont également exposées au sujet de l'influence d'insaturations le long de la chaîne du donneur d'acyle. Ghoul *et al.* ont publié en 2004 une étude sur l'acylation de flavonoïdes par l'acide stéarique et l'acide oléique catalysée par la CALB dans le 2-méthyl-2-butanol (2M2B) et n'ont pas observé de différence de comportement entre ces deux donneurs d'acyle. Pourtant, ces mêmes auteurs avaient précédemment obtenu des taux d'acylation du fructose supérieurs à partir d'oléate de méthyle comparé au stéarate de méthyle.⁴⁶ Kolisis *et al.* ont travaillé sur l'acylation de la rutine et de la naringine par les acides oléique, linoléique et γ -linoléique catalysée par la CALB dans l'acétone et ont également conclu que le nombre d'insaturations n'avait pas d'influence notable sur les résultats observés.⁵⁸

4. Milieu réactionnel : choix du solvant

Le choix du solvant est un point épineux. En effet, ce dernier doit solubiliser suffisamment les substrats, en particulier le sucre, mais également permettre une activité suffisante de l'enzyme. La CALB est stable dans un large panel de solvants organiques. Le site actif de l'enzyme étant hydrophobe, cette dernière présente une plus grande affinité pour les solvants apolaires, tels que l'hexane.⁵⁹ Mais de tels solvants se révèlent inappropriés à l'acylation des sucres, qu'ils ne solubilisent pas du tout. Peu de solvants solubilisent convenablement les sucres. Parmi eux, l'eau, qui est bien évidemment à proscrire pour une estérification ; on compte également le DMF, le DMSO et la pyridine, mais ces derniers sont connus pour désactiver la plupart des lipases.⁶⁰ Les synthèses de glycolipides sont donc réalisées dans

des solvants de polarité intermédiaire. Les alcools tertiaires, comme le *tert*-butanol et le 2-méthyl-butanol (2M2B), permettent une solubilisation du glucose plus importante : Schmid *et al.* ont mesuré une solubilité maximale à 25°C du glucose de 0,34 mg/mL dans le *tert*-butanol et de 0,39 mg/mL dans le 2M2B contre 0,02 mg/mL dans le THF et 0,04 mg/mL dans l'acétone.⁵⁴ Ces solvants sont donc utilisés dans la majorité des cas.^{49,61-65} Cependant ils sont très hygroscopiques. Le THF,⁶⁶ l'acétone⁶⁶⁻⁶⁸ et l'acétonitrile^{66,69} sont également des solvants appropriés à la synthèse de glycolipides. Le recours à un mélange de deux solvants, comme le *tert*-butanol et la pyridine,⁷⁰ ou le 2M2B et le DMSO^{24,36,53} dans les proportions adéquates, permet d'accroître la solubilisation du sucre. Cette stratégie est particulièrement appropriée à l'acylation enzymatique de disaccharides, très difficilement solubles.

Plus récemment, des recours à des milieux réactionnels alternatifs aux solvants organiques classiques ont été envisagés. Par exemple, les liquides ioniques permettent une meilleure solubilisation des carbohydrates que les solvants organiques classiques.^{23,71-74} Plusieurs études sur la stabilité des enzymes dans ces derniers ont d'ailleurs été réalisées.⁷⁵⁻⁷⁶ D'autres exemples de synthèse de glycolipides dans des solvants eutectiques profonds⁷⁷ ou dans du dioxyde de carbone supercritique⁷⁸⁻⁸⁰ ont également été répertoriés.

5. Conclusion

Il apparaît difficile de définir des conditions de synthèse de glycolipides « optimales » par catalyse enzymatique. Si la CALB est de loin l'enzyme la plus étudiée et utilisée pour catalyser la synthèse de glycolipides, il semble en revanche difficile de définir un solvant organique plus approprié que les autres. Les différentes études menées sur l'influence de la taille de chaîne du donneur d'acyle conduisent à des conclusions contradictoires. Enfin, les quantités de lipase généralement mises en jeu sont très importantes, autour de 20% massique par rapport aux substrats. Aussi, afin de choisir judicieusement les substrats les plus adaptés à une synthèse de glycolipides avec de bons rendements, nous avons réalisé une étude systématique des principaux paramètres réactionnels. Tout d'abord, une optimisation des conditions expérimentales a été réalisée. Puis une attention particulière a été portée à l'influence du choix des substrats (donneur d'acyle et sucre).

III. OPTIMISATION DES CONDITIONS EXPERIMENTALES

1. Introduction

Afin de déterminer les meilleures conditions de synthèse de glycolipides par voie enzymatique, il a été nécessaire de mener une étude complète de l'influence des principaux paramètres expérimentaux, à savoir le choix de la lipase, du solvant et de la température. Ce travail a été réalisé sur la transestérification du palmitate de vinyle (PaV) par le glucose comme réaction modèle (Schéma 4, page 86).

Au cours de cette étude, afin de réaliser des économies en atome, il a été décidé de travailler sur des quantités de réactifs équimolaires. Les concentrations en donneur d'acyle et en glucose ont été fixées à 90 mM. Aussi, la quantité de lipase introduite a été fixée à seulement 110 unités par mmol de donneur d'acyle, soit quatre à six fois moins que les quantités généralement engagées pour ce type de réaction. Cette démarche assumée a deux objectifs : d'une part chercher à optimiser les conversions en glycolipides avec un coût minimal de notre procédé de synthèse et, d'autre part, s'assurer de ne pas masquer les influences potentielles des paramètres étudiés par une catalyse excessive. Trois paramètres ont été étudiés : le choix du solvant, le choix de la lipase et la température du milieu réactionnel.

Pour chaque réaction, les conversions en glycolipides ont été déterminées par résonance magnétique nucléaire (RMN) du proton, en utilisant le DMSO deutérié (*d6*-DMSO) comme solvant. Un spectre RMN ^1H type est exposé dans la Figure 3 : plusieurs pics caractéristiques du palmitate de vinyle, de l'acide palmitique et du palmitate de 6-O-glucose sont identifiables sur le spectre et leurs pourcentages relatifs peuvent ainsi être calculés. La méthode de calcul correspondante est détaillée dans l'Annexe 1. Le déplacement des signaux correspondants aux protons aliphatiques en position 5 et 6 du glucose d'une part, et la présence des pics caractéristiques des quatre protons labiles des fonctions hydroxyle secondaires d'autre part sur le spectre du glycolipide prouvent l'obtention d'un unique produit : le palmitate de 6-O-glucose. L'attribution de tous les signaux observés a été réalisée grâce à des analyses par RMN COSY, HSQC et HMBC du palmitate de 6-O-glucose. Les spectres correspondants sont présentés dans l'Annexe 2. Seule la configuration β du groupement glycoside est observée en RMN ^1H , mais le spectre RMN ne reflète que le comportement du palmitate 6-O-glucose en solution dans le *d6*-DMSO, et ne saurait être représentatif de la répartition des isomères α et β du glycolipide dans le milieu réactionnel (acétonitrile) ou isolé sous forme solide. Le chromatogramme HPLC du palmitate de 6-O-glucose (phase éluante : acétonitrile/méthanol/eau 75/20/5 v/v/v) montre d'ailleurs deux pics qui se chevauchent, révélant la présence des deux isomères α et β (Figure 2)

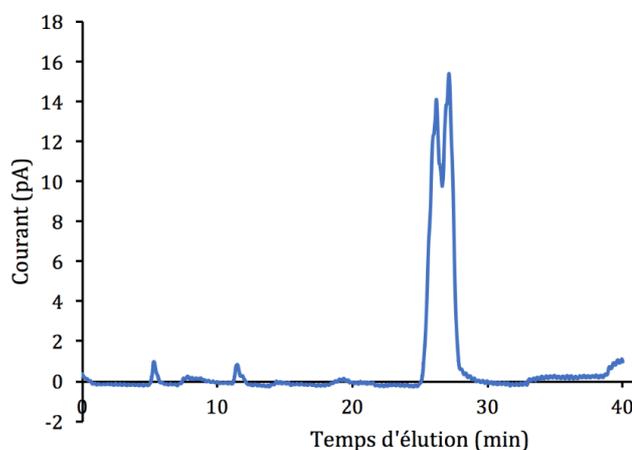


Figure 2 – Chromatogramme HPLC du palmitate de 6-O-glucose

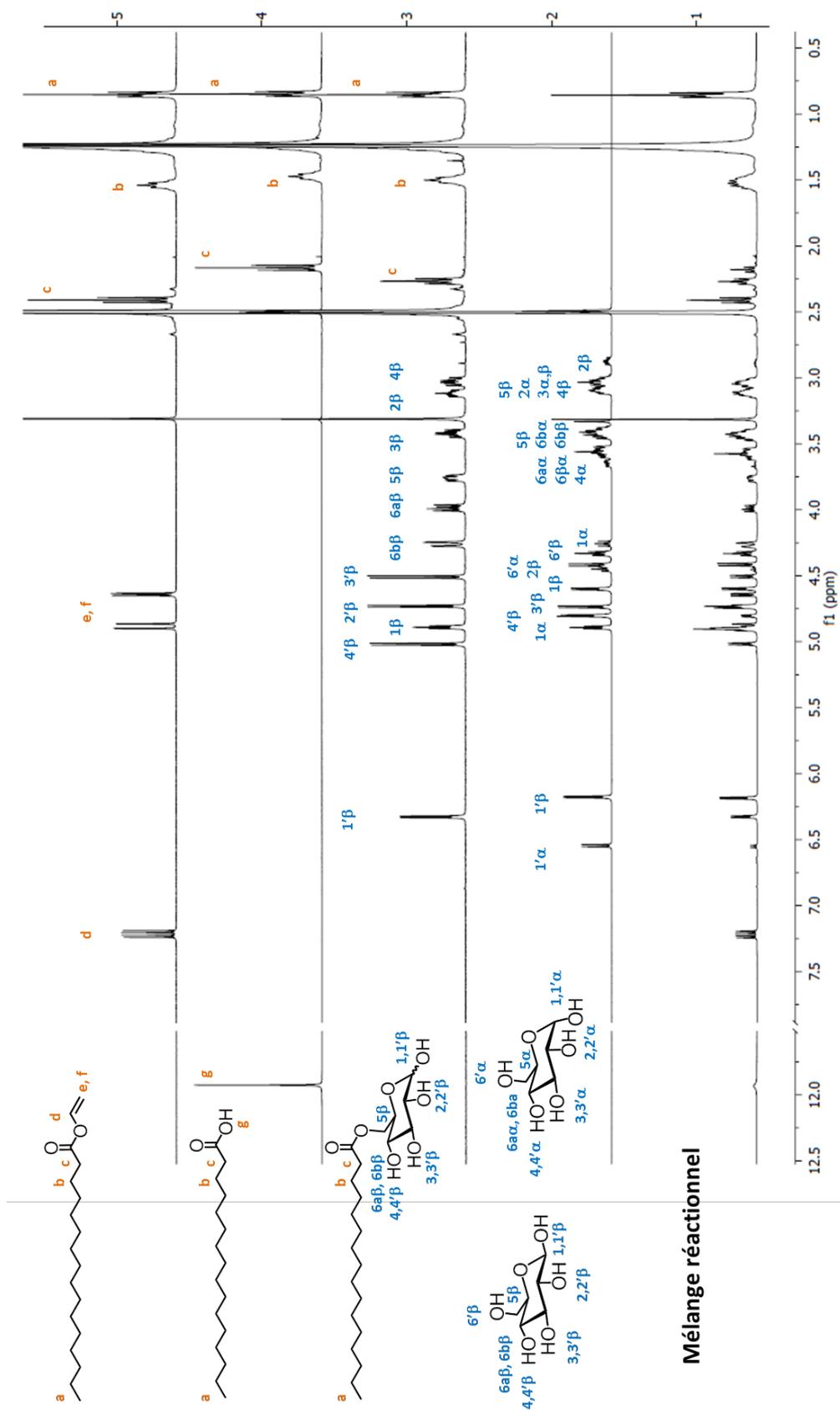


Figure 3 – Superpositions des spectres RMN dans le *d*₆-DMSO des différents composés entrant en jeu dans la réaction modèle étudiée
 De haut en bas : palmitate de vinyle, acide palmitique, palmitate de 6-O-glucose, glucose et milieu réactionnel brut

2. Choix du solvant

Afin de rendre le protocole réactionnel le plus simple possible, il a été choisi de se restreindre à l'emploi de solvants organiques comme milieu réactionnel. La trans-estérification du glucose par le palmitate de vinyle a été testée dans dix solvants organiques en présence de la lipase de *Candida antarctica* B (CALB) : l'acétone, le *tert*-butanol, le tétrahydrofurane (THF), le dioxane, l'acétonitrile (ACN), le dichlorométhane (DCM), le diméthylsulfoxyde (DMSO), le N,N-diméthylformamide (DMF), le cyclohexane et la pyridine.

La CALB, en présence d'eau, catalyse l'hydrolyse d'une partie du palmitate de vinyle. Ce phénomène nuit aux cinétiques d'acylation du glucose car l'estérification de l'acide palmitique formé est beaucoup plus lente qu'une trans-estérification. Aussi, afin de rationaliser l'influence de la présence d'eau, chaque solvant a été testé d'abord sans purification préalable (conditions A). L'acylation du glucose a ensuite été effectuée dans les mêmes solvants anhydres (conditions B). Pour chaque solvant, une procédure de séchage adaptée a été mise au point ; afin de ne pas alourdir la lecture, ces procédures sont décrites dans l'Annexe 3.

Solvant	Conditions A	Conditions B
Acétone	12% (a)	93% (a)
<i>tert</i> -Butanol	32% (a)	88% (a)
THF	52% (a)	88% (a)
Dioxane	49% (a)	80% (a)
Acétonitrile	52% (a)	100%
DCM	0% (b)	0% (b)
DMSO	0% (b)	0% (b)
DMF	0% (b)	Non testé
Cyclohexane	0% (b)	0% (b)
Pyridine	0% (b)	Non testé

Tableau 1 – Conversions en palmitate de 6-O-glucose obtenues après 72 heures de réaction à 45°C dans divers solvants organiques. Conditions A : solvants sans purification préalable ; Conditions B : solvants anhydres (a) Consommation totale du palmitate de vinyle pour former un mélange de 6-O-glucose palmitate et d'acide palmitique ; (b) Aucune consommation du palmitate de vinyle (pas d'hydrolyse)

Sur les dix solvants testés, seulement cinq permettent une acylation du glucose : l'acétone, le *tert*-butanol, le THF, le dioxane et l'ACN (Tableau 1). Aucune acylation n'est observée dans le cyclohexane. Cette absence de réaction pourrait s'expliquer facilement par une solubilité trop faible du glucose, mais aucune hydrolyse du palmitate de vinyle n'est observée non plus, évoquant une absence totale d'activité de l'enzyme. Pourtant, des exemples de transestérifications catalysées par la CALB dans l'hexane sont rapportés dans la

littérature.^{46,81} Le même résultat est obtenu dans le DMF, le DMSO, la pyridine, et le DCM. La CALB ne semble pas être active dans ces solvants.

Sans traitement de séchage préalable des solvants, les taux d'acylation du glucose obtenus dans l'ACN, le THF et le dioxane se situent autour de 50%, contre 32% dans le *tert*-butanol et seulement 12% dans l'acétone (Tableau 1, conditions A). Le recours aux solvants anhydres augmente significativement les conversions en glycolipide : 80% dans le dioxane, 88% dans le *tert*-butanol et le THF, 93% dans l'acétone, et 100% dans l'ACN (Tableau 1, conditions B). Ces résultats mettent clairement en évidence l'influence de la présence d'eau sur les conversions en glycolipide, qui sont deux à huit fois plus faibles en solvant non anhydre. L'emploi de solvants anhydres se révèle donc indispensable à l'obtention de taux d'acylation élevés.

Solvant	Conditions A	Conditions B	Conditions C
Acétone	12%	93%	100%
<i>tert</i> -Butanol	32%	88%	94%
THF	52%	88%	100%
Dioxane	49%	80%	90%
Acétonitrile	52%	100%	100%

**Tableau 2 - Conversions en palmitate de 6-O-glucose
obtenues après 72 heures de réaction à 45°C dans cinq solvants organiques**
Conditions A : solvants utilisés sans purification préalable. Conditions B : solvants anhydres
Conditions C : solvants anhydres et ajout de tamis moléculaire au milieu réactionnel

Les évolutions du taux d'acylation du glucose dans le dioxane, le *tert*-butanol, le THF, l'acétone et l'acétonitrile (ACN) anhydres sont tracées dans la Figure 4.

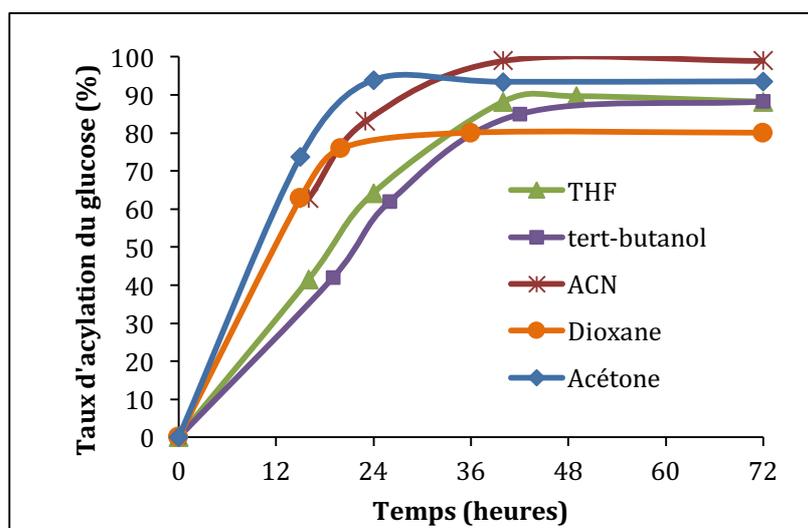


Figure 4 - Evolution de la conversion du palmitate de vinyle en palmitate de 6-O-glucose en présence de CALB dans divers solvants anhydres

Enfin, pour réduire au maximum la teneur en eau, l'efficacité de ces cinq solvants anhydres a également été testée en présence de 10 mg/mL de tamis moléculaire 3Å activé dans le milieu réactionnel (Tableau 1, conditions C). Les taux d'acylation du glucose atteignent alors 100% dans l'acétone et le THF en plus de l'acétonitrile. Les cinétiques de réaction sont exposées dans la Figure 5.

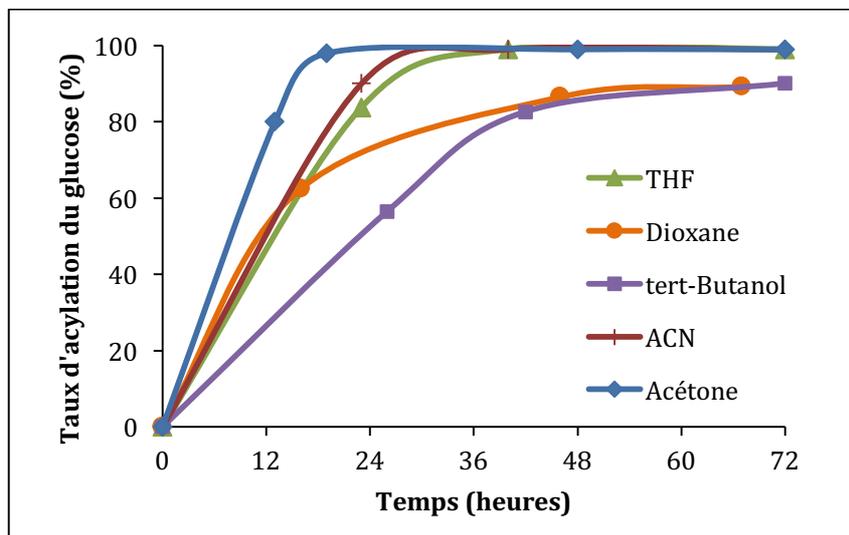


Figure 5 - Evolution de la conversion du palmitate de vinyle en palmitate de 6-O-glucose en présence de CALB et de tamis moléculaire 3Å dans divers solvants anhydres

Afin de mieux comprendre les résultats obtenus, pour chaque réaction, les évolutions simultanées des taux de palmitate de vinyle, d'acide palmitique et de palmitate de 6-O-glucose sont comparées dans la Figure 6. La cinétique des réactions se décompose en trois temps :

- Au cours des premières 24 heures de réaction, les taux d'acide gras et de glycolipide augmentent alors que le taux de palmitate de vinyle diminue : le palmitate de vinyle (en bleu sur les courbes) est converti d'une part en acide palmitique, d'autre part en glycolipide (Schéma 4, p86, réactions 1 et 2).
- Ensuite, le taux d'acide gras diminue après avoir atteint un maximum : il est estérifié par le glucose (Schéma 4, p86, réaction 3). Les taux d'acide maximaux observés ont été relevés et sont répertoriés plus loin dans le Tableau 4.
- Enfin, le système acide palmitique/glycolipide atteint un équilibre, et la réaction s'arrête.

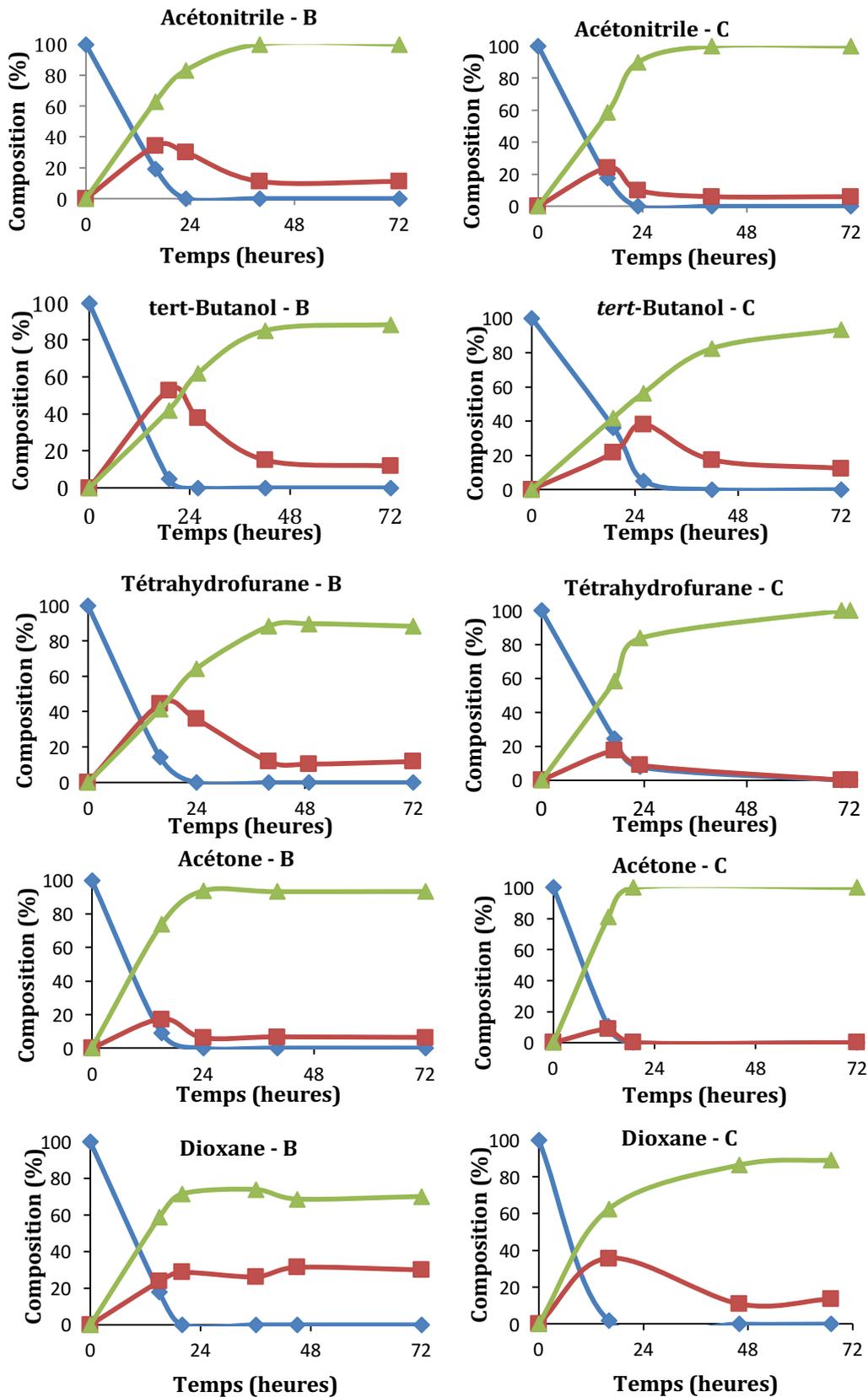


Figure 6 - Evolution des taux de PaV (bleu), d'AP (rouge) et de GP (vert) au cours de la glycosylation du PaV dans l'acétonitrile, le tert-butanol, le THF, l'acétone et le dioxane anhydres. B = sans tamis moléculaire. C = en présence de tamis moléculaire 3Å

Le dioxane est le seul solvant ne permettant pas l'estérification totale de l'acide palmitique en l'absence de tamis moléculaire (Figure 6) et un équilibre est atteint dès la disparition du palmitate de vinyle. C'est pourquoi le taux d'acylation du glucose est légèrement plus faible dans le dioxane que dans les autres solvants. En présence de tamis moléculaire, l'élimination de l'eau induite permet une estérification partielle de l'acide palmitique et la conversion finale en glycolipide atteint 90%.

L'exploitation des courbes de la Figure 6 a permis de calculer les vitesses initiales de consommation et de formation des composants du milieu réactionnel dans les conditions B et C (Tableau 3). C'est dans l'acétone que l'acylation du glucose est la plus rapide, avec une vitesse de 73,8 $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ de lipase (Tableau 3, conditions B). Le constat est encore plus flagrant en présence de tamis moléculaire, avec une vitesse de formation dans l'acétone de 93,2 $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ quand elle n'excède pas 60 $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ dans les autres solvants (Tableau 3, conditions C). Par ailleurs, le taux d'acide palmitique formé est significativement plus bas (Figure 6, Tableau 4) : au maximum 17,2% en l'absence de tamis moléculaire, contre plus de 30% dans les quatre autres solvants et moins de 10% en présence de tamis.

Solvant	V_{PaV}		V_{AP}		V_{GP}	
	B	C	B	C	B	C
Acétone	-91,0	-103,4	17,2	10,2	73,8	93,2
ACN	-68,6	-69,2	32,0	22,4	55,8	57,5
tert-butanol	-75,2	-53,2	41,7	20,3	34,9	30,7
Dioxane	-77,6	-92,0	22,3	33,4	55,4	58,6
THF	-80,5	-62,5	41,6	15,2	39,8	53,5

**Tableau 3 – Vitesses initiales (en $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ de lipase) de consommation du palmitate de vinyle (PaV) et de formation de l'acide palmitique (AP) et du palmitate de 6-O-glucose (GP).
 Conditions B = solvant anhydre ; Conditions C = solvant anhydre en présence de tamis moléculaire 3Å activé**

Solvant	Taux maximal d'acide palmitique	
	B	C
Acétone	17,2%	8,8%
ACN	34,2%	23,9%
tert-Butanol	52,8%	38,2%
Dioxane	31,4%	35,7%
THF	41,5%	17,3%

**Tableau 4 – Taux maximaux d'acide palmitique relevés lors du suivi cinétique de la réaction d'acylation du glucose à partir de palmitate de vinyle.
 Conditions B : solvants anhydres ; Conditions C : solvants anhydres et présence de tamis moléculaire 3Å**

La trans-estérification du palmitate de vinyle semble beaucoup plus favorable que son hydrolyse dans l'acétone. La réaction atteint alors un équilibre en seulement 24 heures, mais l'ajout de tamis moléculaire 3Å est nécessaire pour une acylation totale du glucose.

En raison d'une importante quantité d'eau résiduelle malgré trois procédures de séchage successives (voir Annexe 3), c'est dans le *tert*-butanol que les taux d'acide palmitique observés sont les plus élevés, jusqu'à 53%, avec une vitesse d'hydrolyse du palmitate de vinyle de 41,7 $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$. L'estérification de l'acide gras étant bien plus lente que la trans-estérification du palmitate de vinyle,⁽ⁱ⁾ les cinétiques d'acylation du glucose sont plus lentes dans le *tert*-butanol. Des vitesses d'hydrolyse du palmitate de vinyle similaires sont observées dans le THF, conduisant néanmoins à des taux d'acide palmitique moins élevés (41,5% en l'absence de tamis moléculaire). Les deux solvants conduisent finalement au même taux de 88% d'acylation du glucose. L'écart entre le THF et le *tert*-butanol se creuse en présence de tamis moléculaire : 38% d'acide palmitique est formé dans le *tert*-butanol à une vitesse de 29,3 $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ contre 17,3% dans le THF à une vitesse de 15,2 $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$. Ceci explique probablement pourquoi une acylation totale du glucose est observée dans le THF et pas dans le *tert*-butanol.

Enfin, les solubilités maximales du glucose et du palmitate de 6-O-glucose dans les cinq solvants étudiés ont été déterminées par HPLC. La méthode de détermination de ces concentrations est explicitée dans l'Annexe 4. Les valeurs obtenues sont recensées dans le Tableau 5.

Solvant	Solubilité maximale du glucose (mg/mL)	Solubilité maximale du palmitate de 6-O-glucose (mg/mL)
Acétone	0,27	1,21
Acétonitrile	0,09	0,17
<i>tert</i>-Butanol	0,95	3,93
Dioxane	0,70	2,45
THF	0,43	3,35

Tableau 5 - Solubilités maximales du glucose et du palmitate de 6-O-glucose à 25°C calculées par HPLC

L'acétonitrile solubilise extrêmement mal le palmitate de 6-O-glucose, à peine 0,17 mg/mL, soit 7 à 23 fois moins que les quatre autres solvants. Aussitôt que ce dernier est formé, il précipite instantanément pour former une croûte blanche solide à la surface du milieu réactionnel, ce qui déplace l'équilibre vers sa formation en continu. L'étude des vitesses de réaction déterminées dans le Tableau 3 montre d'ailleurs que c'est le seul solvant dans lequel de l'acide palmitique est déjà converti en palmitate de 6-O-glucose avant la disparition totale du palmitate de vinyle, justifiant pourquoi ce solvant permet une acylation totale du glucose sans ajout de tamis moléculaire.

(i) Ces résultats sont présentés plus loin, p106

L'acétonitrile anhydre se révèle donc être le solvant le plus approprié à la synthèse de glycolipide par voie enzymatique : un taux d'acylation de 100% est atteint en 40 heures à 45°C sans nécessiter de déplacement d'équilibre. Aussi par la suite, toutes les réactions seront effectuées dans l'acétonitrile anhydre, sans ajout de tamis moléculaire.

3. Choix de la lipase

L'efficacité des lipases supportées de *Candida antarctica B* (CALB), *Candida antarctica A* (CALA), *Rhizomucor miehei* (RML), *Thermomyces lanuginosa* (TLL), *Pseudomonas cepacia* (ABC) et *Fusarium solani pisi* (L51) ont été comparées dans cinq solvants organiques : l'ACN, le THF, le *tert*-butanol, l'acétone et le dioxane. Dans le cas de la CALB, l'influence des liaisons enzyme/support acrylique (par adsorption ou liens covalents) a également été étudiée. Les taux d'acylation obtenus après 72 heures de réaction sont répertoriés dans le Tableau 6.

	ACN	Acétone	^t BuOH	Dioxane	THF
Sans enzyme	0 ^(a)	0 ^(a)	0 ^(a)	0 ^(a)	0 ^(a)
<i>Candida antarctica B</i> adsorbée	100%	93%	88%	80%	88%
<i>Candida antarctica B</i> greffée	74%	60%	57%	85%	69%
<i>Candida antarctica A</i>	0 ^(b)	0 ^(a)	0 ^(b)	0 ^(b)	0 ^(b)
<i>Rhizomucor miehei</i>	18%	2%	3%	11%	8%
<i>Thermomyces lanuginosa</i>	36%	28%	32%	6%	9%
<i>Pseudomonas cepacia</i>	1%	0 ^(b)	3%	9%	4%
<i>Fusarium solani pisi</i>	0 ^(b)	0 ^(b)	0 ^(b)	4%	0 ^(b)

Tableau 6 – Conversions en GP mesurées après 72 heures pour des réactions en milieu anhydre en présence de différentes lipases supportées commerciales.

(a) présence uniquement de PaV après 72 heures : le PaV n'est ni hydrolysé ni trans-estérifié

(b) une hydrolyse partielle du PaV est observée après 72 heures

Dans les cinq solvants testés, c'est la CALB supportée (qu'elle soit adsorbée ou greffée au support) qui conduit aux meilleures conversions. Des conversions plus faibles, allant de 57% dans le *tert*-butanol à 85% dans le dioxane, sont constatées lorsque la CALB est greffée au support acrylique comparativement à la situation où celle-ci est simplement adsorbée. Selon l'acide aminé de l'enzyme qui

se retrouve lié au support, le site actif peut être plus ou moins accessible aux substrats. Il peut également se trouver partiellement déformé par le greffage, ce qui gênerait la formation du complexe enzyme-substrat.

Les enzymes RML et TLL catalysent une acylation partielle du glucose. En utilisant la TLL, des conversions jusqu'à 30% sont observées dans l'ACN, l'acétone, et le *tert*-butanol. La RML est un peu moins efficace : des taux d'acylation de 18% dans l'ACN, 11% dans le dioxane et 8% dans le THF sont obtenus ; en revanche dans l'acétone et le *tert*-butanol, les conversions sont quasi-nulles.

Les enzymes CALA, ABC et L51 sont inefficaces pour la réaction étudiée ; néanmoins une hydrolyse partielle du palmitate de vinyle est observée en leur présence : ces enzymes ne sont donc pas désactivées puisqu'elles catalysent une réaction d'hydrolyse (en l'absence d'enzyme, le palmitate de vinyle est retrouvé intact après 72 heures en solution) ; en revanche, elles s'avèrent incapables de catalyser la réaction de *trans*-estérification. Il est possible que la géométrie de leurs sites actifs ne soit pas compatible avec un substrat comme le glucose. Les sites actifs de la TLL et de la RML sont situés en surface et sont donc facilement accessibles à tout substrat. C'est probablement la raison pour laquelle ces deux enzymes sont les seules, avec la CALB, à catalyser la formation de glycolipides.

L'enzyme supportée catalysant les taux d'acylation les plus élevés est donc la lipase CALB supportée adsorbée. C'est donc elle que nous avons utilisée dans toute la suite de nos travaux.

4. Influence de la température

Dans un dernier temps, l'influence de la température sur la conversion en palmitate de 6-glucose et sur les cinétiques de réaction a été étudiée. La CALB est connue pour être stable jusqu'à des températures relativement élevées. La Figure 7 présente l'évolution du taux d'acylation du glucose aux températures de 20°C, 30°C, 45°C, 60°C et 70°C. Les vitesses initiales de réaction ont été déterminées à partir des courbes obtenues (Tableau 7).

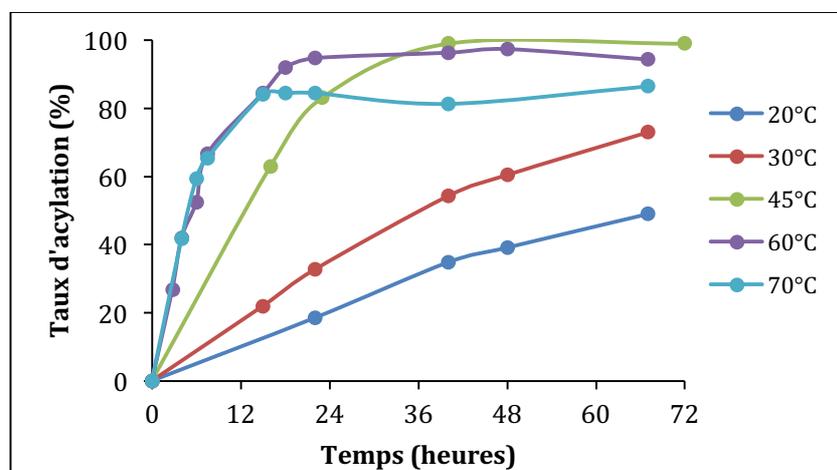


Figure 7 – Evolution de la conversion en GP pour une réaction dans l'acétonitrile anhydre en présence de CALB à différentes températures

Température (°C)	Vitesse initiale de conversion ($\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ lipase)	Conversion après 67h
20	6,5	49%
30	10,5	73%
45	27,9	100%
60	68,4	94%
70	70,3	86%

Tableau 7 – Influence de la température sur les conversions et les vitesses initiales de réaction

L'augmentation de la température de réaction accélère fortement l'acylation du glucose : la vitesse de réaction est multipliée par dix lorsque l'on passe de 20°C à 60°C. Les conversions en glycolipide relevées après 67 heures suivent la même tendance ; des conversions totale et quasi-quantitative sont obtenues à 45°C et 60°C respectivement. En revanche, une température de 70°C ne permet ni d'accélérer davantage la réaction, ni d'atteindre une conversion totale : un plateau à 86% de taux d'acylation est observé. Ce phénomène traduit probablement une désactivation de la CALB due à une température de réaction trop élevée. Afin de garantir une bonne activité de l'enzyme, la plage de température optimale est donc de 45 à 60°C.

5. Conclusion

L'influence des paramètres que sont le solvant, la nature de la lipase et la température de réaction sur la synthèse de glycolipides par catalyse enzymatique a été étudiée sur la réaction modèle entre le palmitate de vinyle et le glucose. L'étude de ces paramètres a permis une optimisation des conditions de synthèse conduisant à une conversion totale en glycolipide en partant d'un ratio équimolaire de réactifs, à partir de 4 à 6 fois moins de lipase et en moins de temps que les conditions publiées dans la littérature pour des réactions similaires, et cela, sans nécessiter l'emploi de tamis moléculaire. Les conditions fixées sont les suivantes : le donneur d'acyle et le sucre sont mis en solution dans de l'acétonitrile anhydre à des concentrations de 90 mM. Le milieu réactionnel est porté à 45°C et la réaction est déclenchée par l'ajout de 0,22 mg/mmol de CALB supportée. Une conversion totale en palmitate de 6-O-glucose est ainsi atteinte en 40 heures.

IV. CHOIX DU DONNEUR D'ACYLE : INFLUENCE DE LA LONGUEUR DE CHAÎNE ET DE LA PRESENCE D'INSATURATIONS

Dans cette partie, nous nous sommes intéressés à l'influence de la géométrie du donneur d'acyle. Cette étude a pour but d'orienter le choix des donneurs d'acyle pour la synthèse de glycolipides polymérisables. L'influence de la longueur de chaîne sur les taux d'estérification du donneur d'acyle a son importance puisqu'elle permettra de sélectionner les donneurs d'acyle de départ pour ces travaux ; mais comme ces donneurs d'acyle seront par la suite fonctionnalisés, l'influence de la présence d'insaturations et de ramifications le long de la chaîne grasse est également à prendre en considération. Toutes les réactions ont été effectuées selon les conditions opératoires mises au point précédemment : les concentrations en donneur d'acyle et en sucre ont été fixées à 90 mM dans l'acétonitrile anhydre. La quantité de CALB supportée engagée est de 0,22 mg par mmol de glucose, soit 2 mg/mL. Les conversions sont données après 72 heures de réaction à 45°C sous argon.

1. Choix du type de donneur d'acyle

1.1 Différents donneurs d'acyle possibles :

Il est possible de synthétiser un glycolipide à partir d'un acide gras, d'un ester de vinyle, ou d'un ester de méthyle. Alors que les acides gras présentent l'avantage d'être disponibles directement par saponification de triglycérides, les esters d'acides gras demandent, quant à eux, une étape de synthèse supplémentaire. Pour les mêmes conditions réactionnelles, les conversions les plus rapides et les plus élevées seront obtenues en partant des esters de vinyle ; cependant ces derniers sont synthétisés par transvinylation d'acides gras en présence d'un catalyseur métallique, à base d'iridium,⁴¹ de palladium,³⁹ de mercure⁴⁰ ou de ruthénium.⁸² Par ailleurs leur trans-estérification libère de l'acétaldéhyde, qui est toxique. L'acylation de sucres par un ester de méthyle libère du méthanol comme sous-produit, toxique également, mais la méthylation d'acides gras peut être réalisée dans des conditions plus vertes qu'une transvinylation. Enfin, une dernière alternative aux esters de vinyle que nous avons explorée fait appel aux esters d'isopropényle. A notre connaissance, ces derniers n'ont encore jamais été utilisés comme donneurs d'acyle dans la synthèse enzymatique de glycolipides. Pourtant le sous-produit de leur trans-estérification est l'acétone, non toxique et facile à éliminer. Les synthèses de ces donneurs d'acyles ont donc été comparées, avant d'étudier leur estérification ou trans-estérification par le glucose afin de rationaliser les avantages et inconvénients de chacun

1.2 Synthèse des donneurs d'acyles

Vilela *et al.*⁴¹ ont décrit une méthode efficace de trans-vinylation d'acides gras par l'acétate de vinyle catalysée par le chlorure de di-iridium cyclooctadiène en présence d'acétate de sodium. Nous nous sommes inspirés de ces travaux pour effectuer la trans-vinylation d'acides gras de longueur C6 à C18, en utilisant comme catalyseur le dimère du chlorure d'iridium cyclooctène. Les mêmes conditions

ont été appliquées au transfert d'un groupement isopropényle à l'acide stéarique et l'acide oléique (Schéma 6).

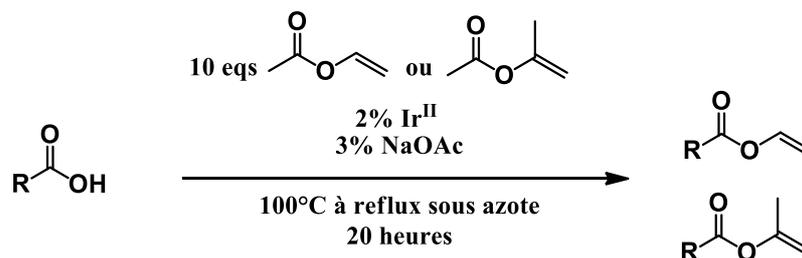


Schéma 6 – Synthèse d'esters de vinyle et d'esters de propylényle à partir d'acides gras selon les conditions publiées par Vilela *et al.* [41]

La synthèse d'esters méthyliques d'acides gras a, quant à elle, été mise au point dans le méthanol en présence de CALB : l'estérification des acides stéarique et oléique par 40 équivalents de méthanol, catalysée par 22,4 mg de CALB par mmol d'acide, est totale après 16 heures d'agitation à température ambiante (Schéma 7). Les résultats obtenus sont comparés dans le Tableau 8.

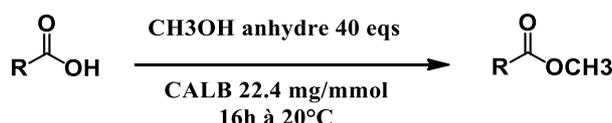


Schéma 7 – Synthèse d'esters méthyliques catalysée par la CALB à partir d'acides gras

Acide gras	Conversion en ester de vinyle	Conversion en ester d'isopropényle	Conversion en ester de méthyle
Acide hexanoïque	50%	-	-
Acide octanoïque	70%	-	-
Acide caprique	80%	-	-
Acide laurique	82%	-	-
Acide myristique	84%	-	-
Acide palmitique	-	85%	100%
Acide stéarique	87%	79%	100%
Acide oléique	87%	69%	100%

Tableau 8 – Conversions en esters de vinyle et rendements après purification pour une gamme d'acides gras de longueur C6 à C18

Des conversions en esters de vinyle entre 80% et 87% sont obtenues pour tous les acides gras testés, à l'exception de l'acide hexanoïque, pour lequel elle n'est étonnamment que de 50%. Les meilleurs résultats sont obtenus pour l'acide stéarique et l'acide oléique, tous deux de longueur C18, et les esters de vinyle correspondants sont purifiés par chromatographie flash (phase éluante :

cyclohexane: acétate d'éthyle) avec un rendement de 80%. En comparaison, les conversions en esters de propylényle sont plus faibles, entre 69 et 85%. La méthylation conduit, quant à elle, à des conversions totales en 16 heures. L'enzyme est éliminée par filtration du milieu réactionnel sur Büchner et le filtrat est concentré à l'évaporateur rotatif. Ainsi les esters de méthyle sont isolés avec un rendement de 100%.

1.3 Acylation du glucose : comparaison des différents donneurs d'acyles

Afin de comparer leur efficacité, l'acylation du glucose catalysée par la CALB a été réalisée à partir d'acide palmitique, de palmitate de vinyle, et de palmitate de méthyle dans l'acétonitrile anhydre à 45°C. Les conversions en glycolipides après 40 heures de réaction sont présentées dans le Tableau 9. Seul le palmitate de vinyle conduit à une acylation totale du glucose en 40 heures. Des taux beaucoup plus faibles sont obtenus à partir de l'acide gras et de l'ester méthylique : un déplacement de l'équilibre, par exemple en ajoutant du tamis moléculaire au milieu réactionnel semble indispensable. Aussi, suite à ces résultats, nous avons sélectionné les esters de vinyle comme donneurs d'acyle pour la suite de nos travaux.

Donneur d'acyle	Taux d'acylation du glucose après 40h
Acide palmitique	55%
Palmitate de méthyle	20%
Palmitate d'isopropylényle	90%
Palmitate de vinyle	100%

Tableau 9 – Taux d'acylation du glucose atteints après 40 heures de réaction en présence de CALB dans l'ACN anhydre à 45°C

2. Influence de la longueur de chaîne

Huit esters de vinyle de différentes tailles ont été estérifiés par le glucose sous catalyse enzymatique dans l'acétonitrile à 45°C. Les taux d'acylation obtenus après 72 heures de réaction pour les esters de vinyle testés sont recensés dans la Figure 8. Les taux d'acylation les plus élevés sont obtenus pour les plus longues chaînes : les esters de vinyle de longueur C14, C16 et C18 conduisent à une conversion totale en glycolipide. Ce constat abonderait dans le sens d'une préférence de la CALB pour les plus longues chaînes, plus hydrophobes. Mais étonnamment, des taux d'acylation supérieurs à 80% sont atteints en partant des esters de vinyloles les plus courts : C4 et C6. Les esters de vinyle C8, C10 et C12 conduisent à des conversions en glycolipides plus faibles, avec un minimum de 42% pour le C10.

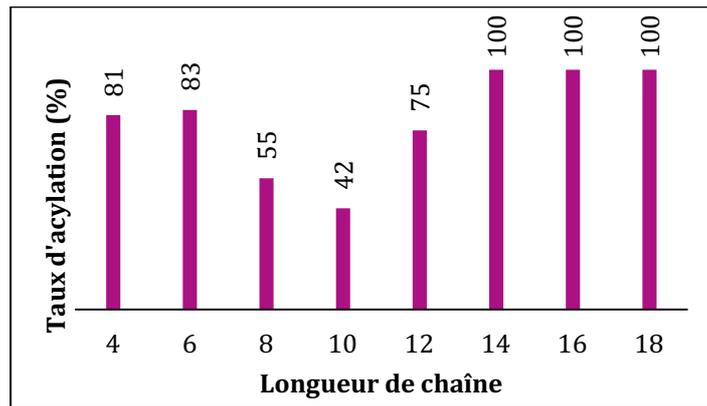


Figure 8 – Influence de la longueur de chaîne des esters vinyliques sur la conversion en glycolipide après 72 heures de réaction en présence de CALB

Dans le but d'éclaircir les tendances observées, des suivis cinétiques des réactions correspondantes ont été effectués pendant 72 heures par RMN. Les vitesses de réaction sont présentées dans la Figure 9.

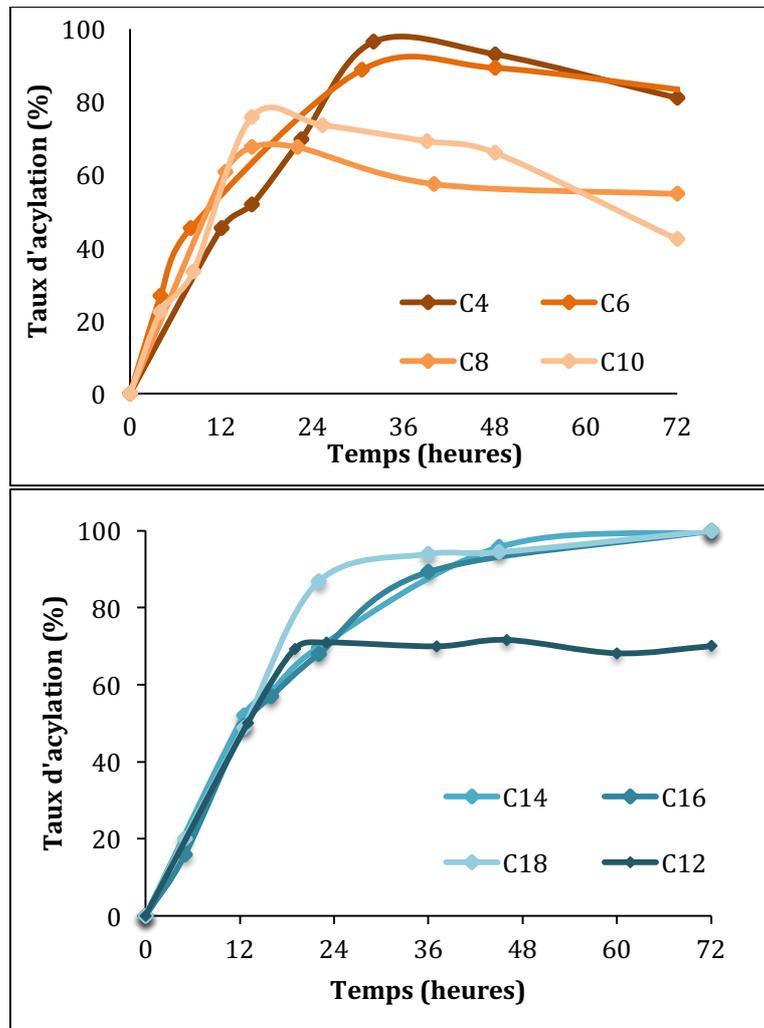


Figure 9 – Influence de la longueur de chaîne des esters vinyliques sur la cinétique de conversion des esters de vinyle en glycolipide : Haut : esters de vinyle C4, C6, C8 et C10. Bas : esters de vinyle C12, C14, C16 et C18

A partir de ces courbes, les vitesses initiales d'acylation pour chaque ester de vinyle ont été calculées à partir des données recueillies sur les seize premières heures de réaction (Tableau 10).

Ester vinylique	C4	C6	C8	C10	C12	C14	C16	C18
Conversion après 72h (%)	81	83	55	42	75	100	100	100
Vitesse initiale de conversion ($\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ lipase)	24,3	44,0	33,5	34,7	28,8	28,8	27,6	29,6

Tableau 10 – Influence de la longueur de chaîne des esters vinyliques sur la vitesse initiale de conversion en glycolipide en présence de CALB

Les taux d'acylation du glucose par les esters de vinyle de C12 à C18 augmentent d'abord avec le temps de façon linéaire, et à la même vitesse indépendamment de leur taille (Figure 9, Tableau 10). Dans le cas du C12, un plateau à 74,8% est atteint, alors que les autres courbes croissent jusqu'à un taux d'acylation de 100%. La profondeur du site actif de l'enzyme est de 9,5 Å, ce qui correspond environ à la taille d'une chaîne de 12 à 13 carbones. Tout ce qui se situe au-delà du treizième carbone reste donc à l'extérieur du site actif. C'est probablement pour cela que les glycolipides de C14 à C18 sont formés à la même vitesse et jusqu'à une même conversion de 100%. Les plus petits esters de vinyle suivent une tendance différente : la conversion en glycolipide se révèle plus rapide qu'à partir des plus longues chaînes (à l'exception du C4). En revanche, elle ne se stabilise pas, mais augmente jusqu'à un maximum avant d'entamer une décroissance avec le temps.

Pour expliquer ce phénomène, les évolutions des taux d'ester de vinyle, d'acide gras et de glycolipide au cours du temps ont été comparées pour les longueurs de chaînes de C8 à C18. (Figure 10) Une trop grande volatilité des esters de vinyle C4 et C6 empêche une exploitation rigoureuse de leur évolution, aussi ces dernières ne seront pas discutées.

Pendant les premières heures de la réaction, c'est la conversion de l'ester de vinyle en glycolipide et en acide gras, qui prévaut. Quand tout l'ester de vinyle est consommé, la réaction réversible entre l'acide gras et le glycolipide ainsi formés prend place. Trois comportements différents sont alors observés :

- Pour les longueurs de chaînes en C8 et C10 : l'équilibre est déplacé vers la formation de l'acide gras et le glycolipide est progressivement hydrolysé, expliquant le phénomène de décroissance du taux d'acylation observé Figure 9.
- Pour la chaîne en C12, au bout de 72 heures un équilibre est atteint entre l'acide laurique et le laurate de 6-O-glucose, et la réaction prend fin ; le taux d'acylation du glucose atteint donc un plateau.
- Enfin, pour les chaînes en C14, C16 et C18, l'équilibre est déplacé vers la formation du glycolipide, jusqu'à épuisement de l'acide gras.

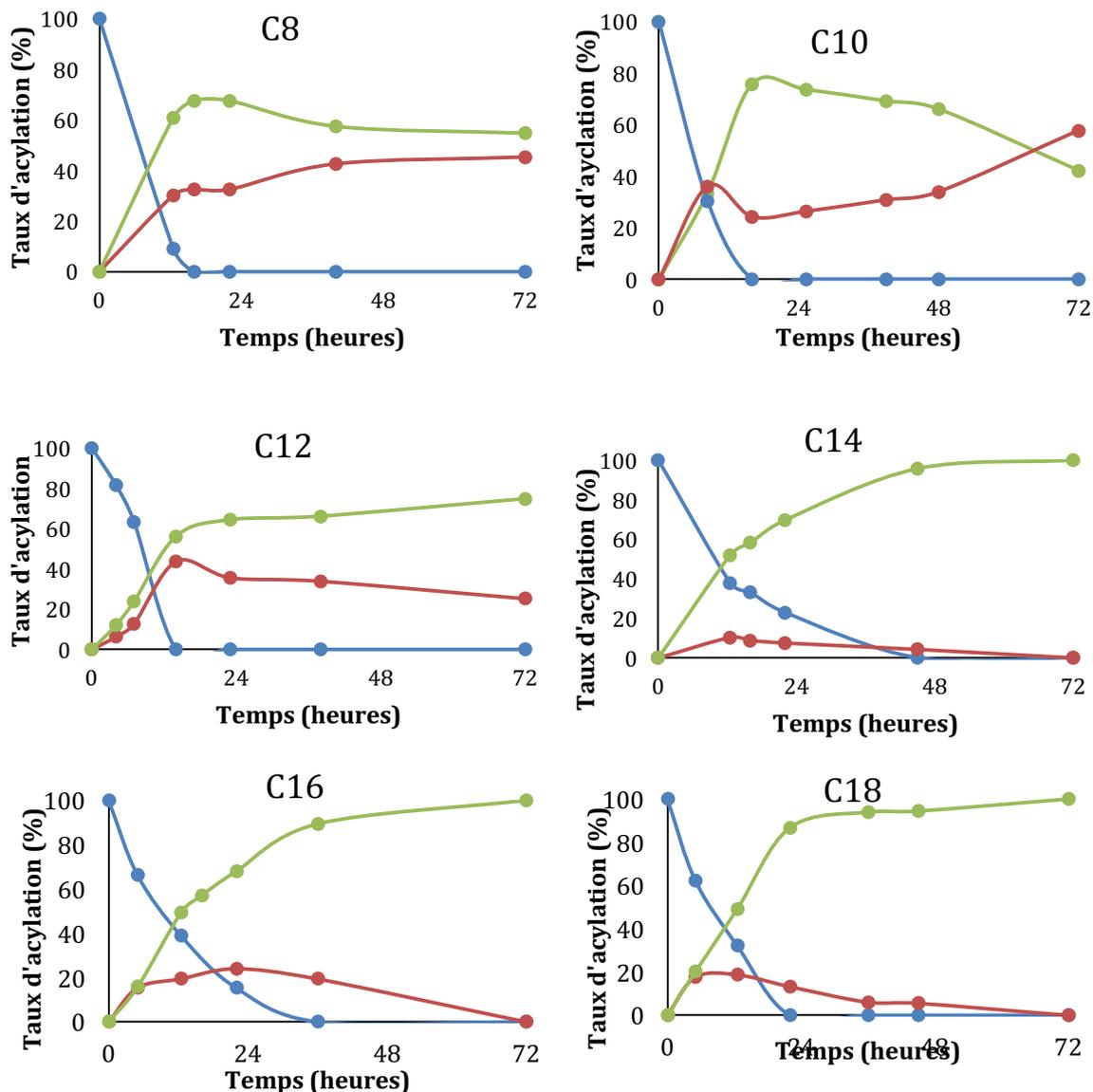


Figure 10 - Evolution des taux d'ester de vinyle (bleu), d'acide gras (rouge) et de glycolipide (vert) en fonction de la longueur de chaîne

Afin de mieux comprendre ces différences de comportement, la même réaction d'acylation du glucose a été effectuée cette fois à partir d'une gamme d'acides gras de longueurs C8 à C18, et un suivi par RMN du proton a été effectué pendant une semaine.

Figure 11 expose l'évolution de la conversion en glycolipide en fonction du temps pour les six acides gras étudiés.

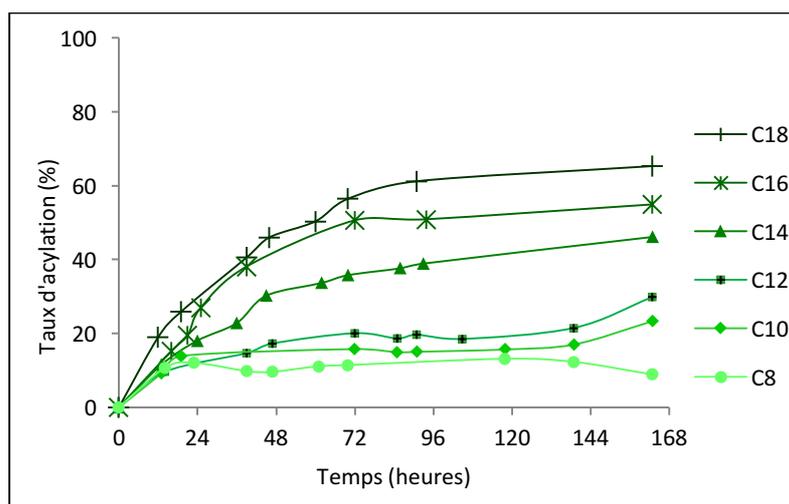


Figure 11 – Influence de la longueur de chaîne des acides gras sur la cinétique de glycosylation en présence de CALB

La formation de glycolipide est observée dans tous les cas, avec des conversions qui augmentent de façon très nette avec les tailles de chaîne des acides gras. Au bout d'une semaine, un équilibre entre l'acide gras et le glycolipide semble être atteint et la réaction s'arrête. Ces résultats corroborent l'hypothèse d'une meilleure affinité de la CALB pour les donneurs d'acyle les plus hydrophobes.

Longueur de chaîne	C8	C10	C12	C14	C16	C18
Conversion acide gras (%)	9	23	30	46	55	65
Vitesse initiale de réaction ($\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ lipase)	5,7	5,5	5,1	5,7	7,3	11,9
Conversion ester vinylique (%)	55	42	75	100	100	100
Vitesse initiale de réaction ($\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ lipase)	33,5	34,7	28,8	28,8	27,6	29,6

Tableau 11- Comparaison des conversions en glycolipides obtenues en partant d'acides gras et d'esters de vinyle de différentes tailles

Les conversions et les vitesses de réaction observées sont bien en deçà de celles obtenues en partant des esters de vinyle (Tableau 11) : la trans-estérification de l'ester de vinyle permet d'atteindre des taux de conversion en glycolipides beaucoup plus élevés et beaucoup plus rapidement qu'en partant d'un acide gras. Lorsque celui-ci est complètement consommé, le système acide gras/glycolipide se retrouve hors équilibre (l'équilibre correspondant aux taux d'acylation finaux atteints pour le système acide gras/glycolipide, recensés dans le Tableau 11) ; le phénomène d'hydrolyse des glycolipides observé pour les plus courtes chaînes correspond à une convergence du système réactionnel vers l'équilibre, c'est-à-dire des taux de glycolipides beaucoup plus faibles. Mais ce phénomène n'est pas observé pour les chaînes les plus longues, de C12 à C18. Pour expliquer cette absence d'hydrolyse attendue, nous nous sommes intéressés à la solubilité des glycolipides dans l'ACN en fonction de la taille de leur chaîne grasse. En effet, comme discuté plus haut, nous avons identifié l'acétonitrile comme un

excellent solvant pour la synthèse de glycolipides, phénomène expliqué par la faible solubilité du palmitate de 6-O-glucose (0,17 mg/mL) qui précipite instantanément dès qu'il est formé. Aussi, les solubilités maximales dans l'ACN des glycolipides de C10 à C18 ont été déterminées par HPLC. (Voir Annexe 4) Les résultats obtenus sont exposés dans le Tableau 12.

Glycolipide (Longueur de chaîne)	Solubilité maximale		Quantité de glycolipide formée par mL de solution ($\mu\text{mol} / \text{mL}$)
	mg/mL	$\mu\text{mol}/\text{mL}$	
C10	7,9	23,6	26,68
C12	1,555	6,85	26,8
C14	0,505	1,99	41,5
C16	0,17	0,60	49,3
C18	0,080	0,26	58,68

Tableau 12 – Solubilités maximales des glycolipides dans l'acétonitrile à 25°C comparées aux quantités de glycolipides formées au cours de l'estérification d'acides gras de différentes longueurs de chaîne

La solubilité des glycolipides formés chute dès que l'on augmente la taille de chaîne du donneur d'acyle. Pour les longues chaînes, la solubilité des glycolipides est tellement faible qu'ils forment aussitôt une croûte blanche en surface de la solution ; ainsi éliminés du milieu réactionnel, ils ne peuvent être hydrolysés et l'équilibre est constamment déplacé vers leur formation. A l'inverse, les glycolipides aux chaînes plus courtes sont plus solubles et la quantité restant en solution se retrouve hydrolysée. Dans le cas du glycolipide C10, la concentration de glycolipide formé est comparable à sa solubilité maximale, il reste donc très majoritairement en solution. On peut aisément supposer qu'il en est de même pour le glycolipide C8, plus petit.

En conclusion, ce sont bien les esters de vinyne aux chaînes les plus longues qui conduisent aux meilleurs résultats : les conversions finales sont plus élevées, de 75% pour le C12 à 100% à partir du C14. Ceci s'explique d'une part par une meilleure affinité de l'enzyme pour les chaînes longues et, d'autre part, par une solubilité extrêmement faible des glycolipides obtenus dans le milieu réactionnel, prévenant leur hydrolyse et déplaçant continûment l'équilibre vers leur formation. Ces résultats sont en accord avec les travaux des groupes de Schmid⁵⁴ et de Ghoul.⁴⁹ Pedersen *et al.* ont publié les conversions inverses en estérifiant des acides gras par des disaccharides en excès,⁵⁵ mais ce phénomène est probablement dû à une saturation du site actif par les disaccharides, plus encombrants que le glucose : dans ce cas précis, les donneurs d'acyle de plus courte chaîne accèdent plus facilement à la triade catalytique de la CALB que les plus longs. Le glucose étant suffisamment peu encombrant pour ne pas obstruer l'accès au site actif de l'enzyme, ce phénomène n'est pas observé dans notre cas et ce sont bien les donneurs d'acyle à longues chaînes carbonées qui donnent les meilleurs résultats.

3. Influence de la géométrie du substrat ; insaturations, ramifications

Enfin, afin de sélectionner les donneurs d'acyle les plus pertinents pour la synthèse de glycolipides polymérisables, il est capital de rationaliser l'influence de leur géométrie, à savoir la présence d'insaturations et de ramifications, sur la catalyse de trans-estérification par la CALB.

3.1 Influence des insaturations

La présence d'insaturations sur une chaîne carbonée fige une partie de sa structure et induit de fait une baisse de sa mobilité. Ces insaturations peuvent également, selon leur configuration, causer ou non une gêne stérique : une chaîne carbonée insaturée de configuration *cis* sera repliée sur elle-même, et risque d'accéder plus difficilement que son homologue de configuration *trans* et qu'une chaîne saturée au site actif tubulaire de la CALB, qui présente un diamètre de seulement 4,5 Å.⁵⁷

Regroupés dans les classifications oméga-3, oméga-6, oméga-7 et oméga-9, les acides gras insaturés de configuration *cis* sont connus pour leurs bienfaits pour l'organisme. Les oméga-3 et oméga-6 sont même classés « acides gras essentiels », car nécessaires à l'organisme qui n'est pas capable de les synthétiser lui-même. A l'inverse, il a été reconnu dans un rapport d'experts de l'Autorité Européenne de Sécurité des Aliments en 2004 que la consommation d'acides gras insaturés *trans* augmentaient le risque de maladies cardiaques. Dans le but de synthétiser des glycolipides les plus bio-compatibles, il est donc largement préférable de recourir aux acides gras insaturés *cis* plutôt que leurs homologues *trans*. Il est de fait important de rationaliser les conséquences d'une telle configuration sur la synthèse de glycolipides par voie enzymatique.

Ghoul *et al.* ont comparé l'estérification de flavonoïdes par l'acide stéarique et l'acide oléique catalysée par la CALB et n'ont constaté qu'une très faible influence de l'insaturation sur les conversions et les vitesses de réactions observées.⁸³ Plus tard, Kolisis *et al.* se sont inspirés de leurs travaux pour une estérification de flavonoïdes par les acides oléique, linoléique et γ -linoléique et ont également conclu que la présence d'insaturations n'avait qu'une très faible influence sur les taux d'acylation mesurés.⁵⁸ Cependant, il est important de noter que les concentrations de CALB employées dans ces travaux sont très élevées, supérieures à 1 gramme par mmol de flavonoïdes : l'influence des insaturations est alors probablement masquée par les quantités pléthoriques d'enzyme mises en jeu.

Afin d'aborder l'effet des deux paramètres que sont la présence d'insaturations et leur configuration (*cis* ou *trans*), cinq esters de vinyle de longueur C18 ont été trans-estérifiés par le glucose en présence de CALB : le stéarate de vinyle (C18:0), l'oléate de vinyle (C18:1), l'élaidate de vinyle (C18:1T), le linoléate de vinyle (C18:2) et le linoélaïdate de vinyle (C18:2TT). La synthèse de ces cinq esters de vinyle à partir des acides gras correspondants est décrite dans la partie expérimentale. Leurs structures sont exposées dans le Schéma 8.

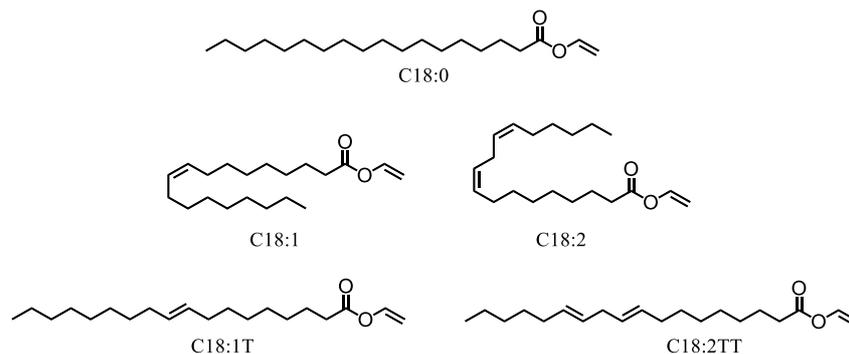


Schéma 8 : Divers esters de vinyle en C18 :
C18:0 = stéarate de vinyle ; C18:1 = oléate de vinyle ; C18:1T = élaidate de vinyle
C18:2 = linoléate de vinyle ; C18:2TT = linoélaïdate de vinyle

La Figure 12 compare l'évolution de la conversion en glycolipides en fonction du temps pour les cinq esters de vinyle étudiés. Les vitesses initiales de conversion sont rapportées dans le Tableau 13.

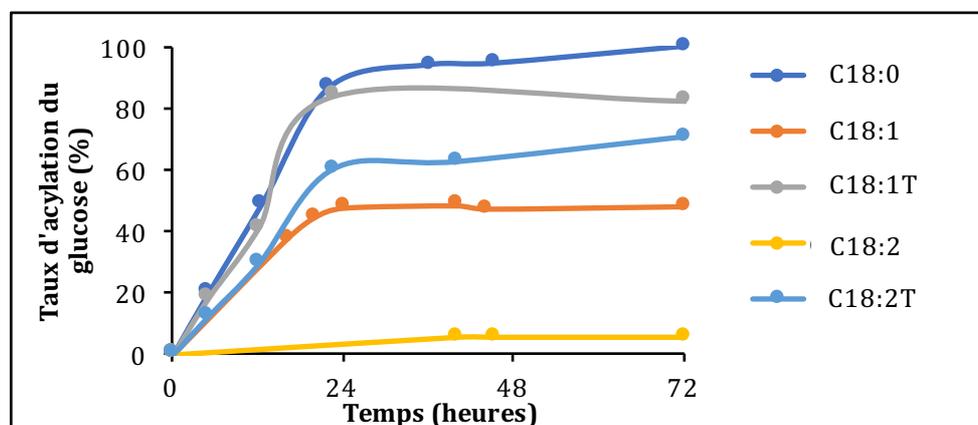


Figure 12 - Influence du nombre d'insaturations de l'ester vinylique et de leur configuration sur la cinétique de conversion en glycolipide

Les cinq réactions se soldent par une consommation totale de l'ester de vinyle et un équilibre entre l'acide gras formé et le glycolipide atteint en 24 heures. Par ailleurs, on observe une très nette diminution de la conversion finale et de la vitesse de réaction d'un côté avec l'ajout d'insaturations, et de l'autre lorsqu'on passe d'une configuration *trans* à une configuration *cis*.

Ester de vinyle	C18:0	C18:1T	C18:2TT	C18:1	C18:2
Conversion après 72h (%)	100	83	70	47	<5
Vitesse initiale de conversion (mmol.min⁻¹.g⁻¹ lipase)	29,6	26,0	18,3	17,1	-

Tableau 13 - Influence du nombre d'insaturations de l'ester vinylique et de leur configuration sur sa conversion en glycolipide

Ces résultats confirment les hypothèses émises plus haut : la présence d'insaturations cause une perte de mobilité de la chaîne carbonée, ce qui se traduit par des cinétiques de trans-estérification plus

lentes et des conversions finales abaissées même si toujours relativement hautes (70% et plus). Une configuration *cis* quant à elle fait chuter drastiquement les conversions observées : seulement 47% d'oléate de vinyle est converti en glycolipide contre 100% de stéarate de vinyle et moins de 5% de linoléate de vinyle est trans-estérifié.

Comme nous avons montré plus haut que conduire les synthèses de glycolipides à 60°C plutôt qu'à 45°C permettait d'accélérer la réaction, la synthèse d'oléate de 6-O-glucose a été réalisée à 60°C et une conversion de 95% a été obtenue. (Tableau 14), Ce résultat est particulièrement intéressant puisqu'il montre qu'il est possible de convertir quasi-totalement en glycolipides des donneurs d'acyles monoinsaturés de configuration *cis*.

Température	Conversion en oléate de 6-O- glucose
45°C	47%
60°C	95%

Tableau 14 – Influence de la température sur l'acylation du glucose par l'oléate de vinyle dans l'ACN

3.2 Influence de ramifications

Afin d'appréhender l'influence de la présence de ramifications le long de la chaîne carbonée du donneur d'acyle, deux esters de vinyle ramifiés ont été synthétisés (Schéma 9). A partir du 6-undécanol, une fonction acide carboxylique est introduite par réaction avec l'anhydride succinique. Le produit subit ensuite une transvinylation pour conduire au 6-(succinate de vinyle)-undécane (6SVU), un ester de vinyle en C11 ramifié au niveau du sixième carbone. Afin d'accroître encore plus l'encombrement stérique, la même synthèse a été réalisée à partir d'anhydride maléique, pour former le 6-(maléate de vinyle)-undécane (6MVU).

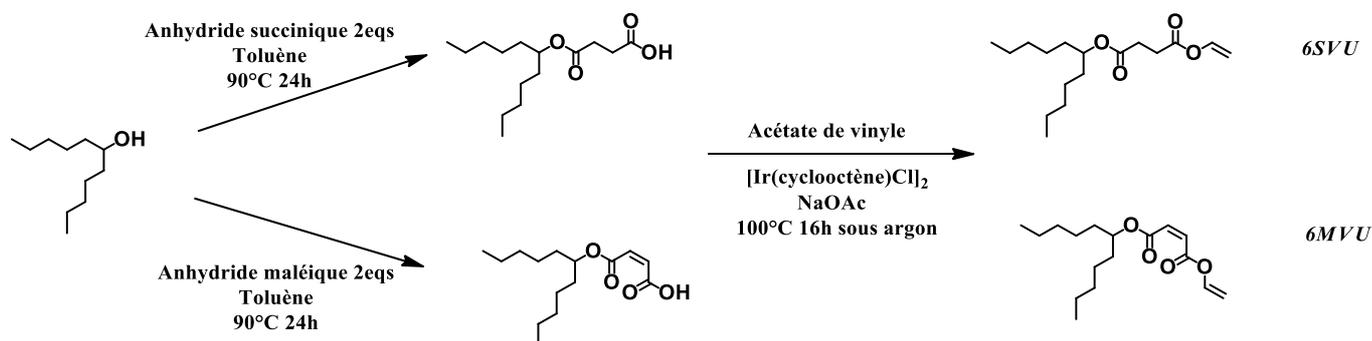


Schéma 9 – Synthèse du 6SVU et du 6MVU à partir du 6-undécanol

Les tentatives d'acylation du glucose par le 6SVU et le 6MVU catalysée par la CALB conduisent à des résultats sans appel : seulement 9% de conversion en glycolipide est observée à partir du 6SVU, et moins de 5% pour le 6MVU. Le caprylate de vinyle (C10) et le laurate de vinyle (C12), aux chaînes

carbonées de dimensions comparables mais linéaires, avaient conduit à des taux d'acylation du glucose de respectivement 42% et 75% (Tableau 15).

Donneur d'acyle	Taux d'acylation du glucose
6SVU	9%
6MVU	<5%
C10	42
C12	75

Tableau 15 – Acylation du glucose par le 6SVU et le 6MVU : conversions obtenues et comparaison avec les esters de vinyle linéaires C10 et C12

L'effet de la contrainte stérique générée par les ramifications est probablement exacerbé par leur proximité avec la fonction ester vinylique. La profondeur du site actif de la CALB correspond aux dimensions d'une chaîne de 13 carbones ; aussi il se comprend aisément qu'une ramification en C5 en position 6 de la chaîne cause une gêne stérique très importante. Afin de limiter cette gêne, il faudrait éloigner les ramifications sur la chaîne carbonée afin de dégager au maximum les 13 premiers carbones ; ainsi elles n'entreraient pas dans le site actif et gêneraient moins la catalyse de l'acylation.

4. Conclusion

L'étude de l'influence de la géométrie du donneur d'acyle, à savoir la longueur de chaîne, la présence d'insaturations *cis* ou *trans*, ainsi que la présence de ramifications, nous a permis de tirer plusieurs conclusions. La CALB montre une préférence pour les donneurs d'acyle linéaires de plus de 12 carbones. Il semble donc pertinent de sélectionner comme substrats de départ pour la synthèse de nos monomères des donneurs d'acyles à longues chaînes, par exemple à 18 carbones. Par ailleurs la présence d'insaturations et de ramifications provoque une gêne stérique pour l'accès au site actif de l'enzyme affectant les vitesses et les taux d'acylation finaux. Cependant, l'augmentation de la température de 45 à 60°C permet de pallier ce problème : une acylation de 95% du glucose est atteinte à partir de l'oléate de vinyle à 60°C ; il nous sera donc *a priori* possible de sélectionner des donneurs d'acyles de longueur C18 insaturés comme substrats de départ.

V. CHOIX DU SACCHARIDE :

Enfin, dans un dernier temps nous nous sommes intéressés à l'influence de la nature du saccharide lui-même sur son acylation par le palmitate de vinyle. Il est en particulier intéressant de se pencher sur le cas des disaccharides. L'acylation de disaccharides par voie enzymatique est connue pour être plus ardue que pour les monosaccharides, en raison de l'accès plus difficile au site actif de l'enzyme dû à leur taille plus importante, et surtout des solubilités encore plus faibles dans les solvants organiques. Pourtant les glycolipides disaccharidiques, notamment ceux issus de tréhalose ou de

saccharose, ont eux aussi des propriétés très intéressantes et trouvent un large champ d'applications. Le tréhalose se compose de deux unités glucose. Sa résistance au gel en fait un bon stabilisant de protéines.⁸⁴ Il est utilisé en cosmétiques²⁴ en tant que stabilisant et comme principe actif hydratant. Par ailleurs, le groupe de John a synthétisé une plate-forme de diesters de tréhalose possédant des propriétés gélifiantes, ouvrant ainsi un nouveau champ d'applications pour ces molécules.³⁷ Ces diesters à chaînes grasses saturées se sont révélés capables de former des organogels à partir de différents solvants organiques comme l'acétone ou l'acétate d'éthyle. Plus récemment, notre groupe a développé une plateforme de diesters insaturés de tréhalose capables de faire gélifier une large variété d'huiles alimentaires et cosmétiques.⁸⁵ Les esters de saccharose font quant à eux leur apparition sur le marché mondial des tensio-actifs non-ioniques et des émulsifiants^{86,87} à partir de 1959.⁵ Ils sont également utilisés comme plastifiants et agents antistatiques dans les 'matériaux plastiques'. En particulier, les mono-esters de saccharose suscitent l'intérêt grâce à leur capacité à inhiber la croissance de bactéries comme *Escherichia coli*. Ils trouvent donc une place de choix dans l'industrie agro-alimentaire comme émulsifiants⁸⁸ ou comme conservateurs. Les glycolipides dissaccharidiques constituent également une source de monomères originaux pour la conception de polymères bio-sourcés. Une voie de synthèse de polyuréthanes linéaires et branchés à partir de glycolipides de sucrose comme polyols,⁸⁹ et, plus récemment, la polymérisation par ADMET de glycolipides de tréhalose insaturés^{85,90} ont d'ailleurs été publiés par notre groupe.

1. Influence du carbohydate

Les conditions réactionnelles mises au point plus haut ont été appliquées à une gamme de monosaccharides comme le galactose, le mannose et le xylose ainsi qu'au tréhalose et au sucrose (Schéma 10).

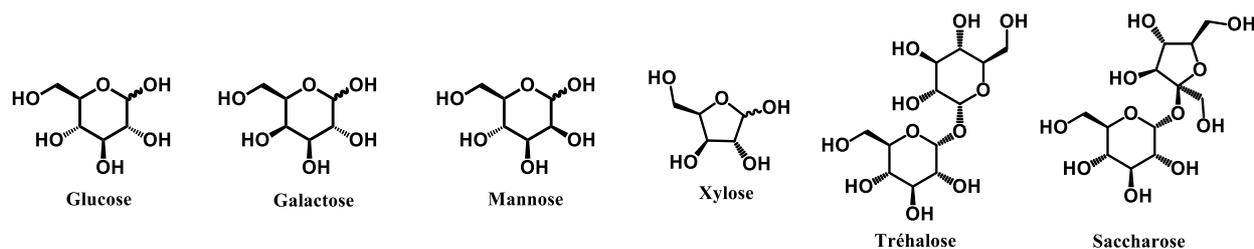


Schéma 10 – Structures de différents monosaccharides et disaccharides

Si les monosaccharides ne possèdent qu'un alcool primaire, le tréhalose, qui est un dimère de glucose, en compte deux ; le sucrose est, quant à lui, composé d'une unité glucose liée à une unité fructose. Il possède donc trois alcools primaires. Chaque alcool primaire pouvant être acylé, des mélanges de mono-esters, de di-esters voire de tri-esters sont susceptibles d'être obtenus.

L'acylation des différents saccharides étudiés par le palmitate de vinyle a été effectuée dans l'acétonitrile à 45°C. Dans le cas des disaccharides, les quantités de palmitate de vinyle employées ont été calculées sur la base du nombre d'alcools primaires, soit deux équivalents de palmitate de vinyle

pour un équivalent de tréhalose et trois pour un équivalent de saccharose. Les quantités de CALB ont été ajustées suivant la même logique. Les taux d'acylation obtenus pour chaque sucre sont rapportés dans le Tableau 16.

Sucre	Taux d'acylation (%)
Glucose	100%
Mannose	100%
Galactose	48%
Xylose	92%
Tréhalose	9%
Saccharose	Pas d'acylation

Tableau 16 – Conversions obtenues lors de l'acylation de différents sucres par le palmitate de vinyle

Le mannose est, comme le glucose, totalement acylé. En revanche, étonnamment, seulement 48% du galactose est acylé. Le groupement hydroxyle en position 4 du galactose est en position axiale, alors qu'il est en position équatoriale sur le glucose et le mannose. Il se trouve alors plus proche dans l'espace de l'alcool primaire et induit sans doute une gêne stérique supplémentaire. Pourtant 92% du xylose est acylé alors que ce même hydroxyle en position 4 est également en position axiale ; le xylose en solution étant sous forme D-xylofuranose, on peut supposer que le fait d'avoir un cycle à cinq plutôt qu'un cycle à six réduit l'encombrement et facilite son acylation. L'acylation des disaccharides se révèle beaucoup plus ardue : aucune acylation du saccharose n'est observée et seulement 9% du tréhalose est acylé. Dans le cas du tréhalose, afin d'identifier la nature des produits formés, le milieu réactionnel est filtré : le tréhalose résiduel est ainsi éliminé. Le spectre RMN de la partie soluble est donné Figure 13. La présence d'esters de tréhalose est attestée par le déblindage des pics correspondants aux protons en positions 5 et 6. La disparition complète du pic des alcools primaires (6') prouve l'absence de monoesters : seul le dipalmitate de 6,6'-O-tréhalose est formé. Ces résultats sont en accord avec les travaux décrits dans la littérature : la catalyse de l'acylation du tréhalose par la CALB ne conduit qu'à la formation de diesters.^{24,37,85,90}

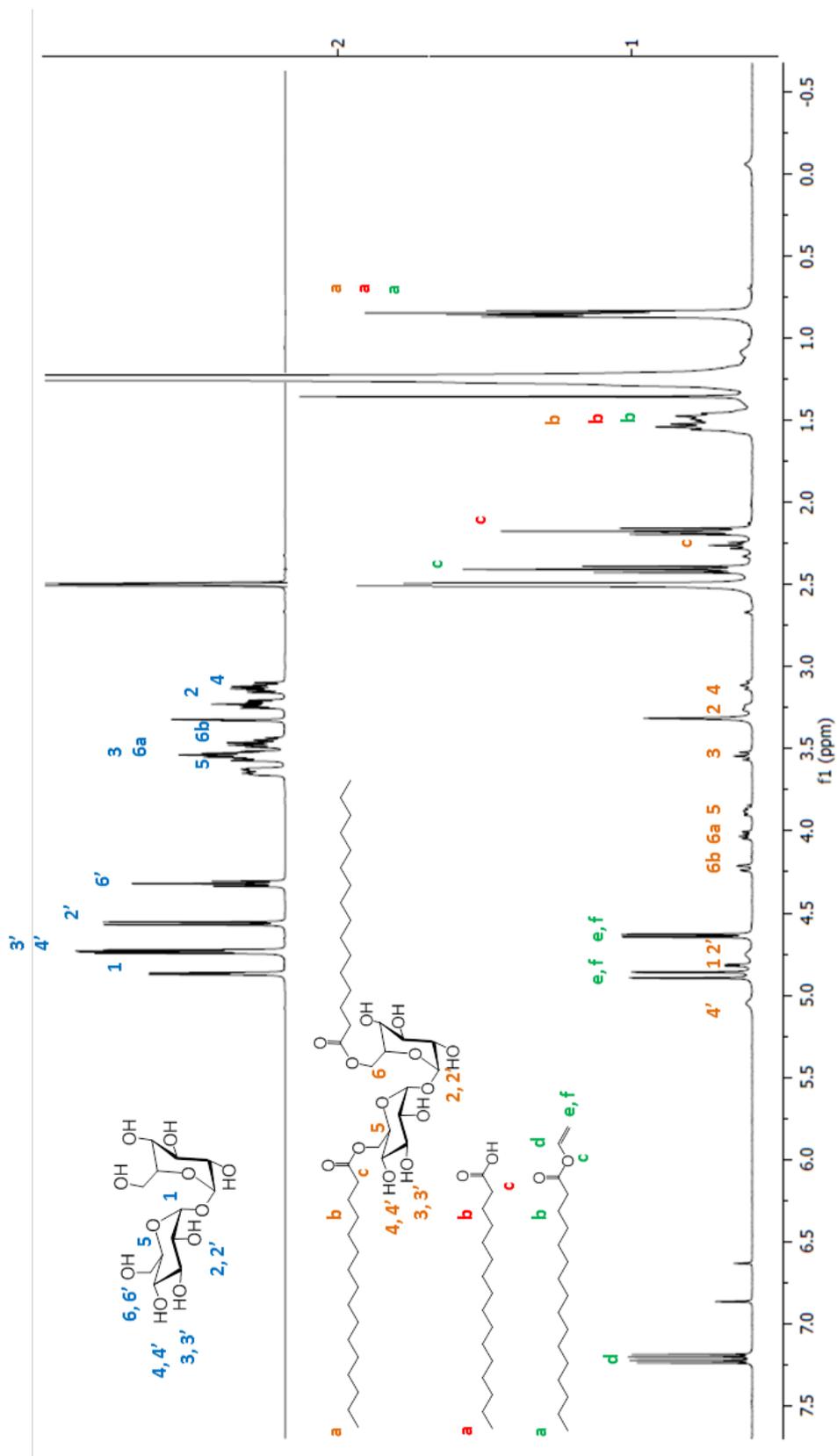


Figure 13 – Acylation du tréhalose par deux équivalents de palmitate de vinyle : Spectres RMN dans le *d*₆-DMSO du tréhalose (haut) et du milieu réactionnel après élimination du tréhalose par filtration (bas)

2. Optimisation des conditions réactionnelles pour le tréhalose

2.1 Influence du solvant, de la température, du tamis moléculaire

Afin d'augmenter la solubilisation du tréhalose dans le milieu réactionnel, deux autres solvants ont été testés : le *tert*-butanol, connu pour solubiliser un peu mieux les disaccharides, et l'acétone, utilisée et décrite comme un solvant adapté à la synthèse enzymatique de di-esters gras de tréhalose par John *et al.*³⁷ (Tableau 17).

Entrée	Solvant	Température	Tamis moléculaire	Conversion
1	ACN	45°C	-	9%
2	ACN	60°C	-	9%
3	Acétone	45°C	-	9%
4	Acétone	45°C	10mg/mL	8%
5	^t BuOH	45°C	-	13%
6	^t BuOH	45°C	10mg/mL	12%
7	^t BuOH	60°C	-	21%
8	^t BuOH	60°C	10mg/mL	20%

Tableau 17 – Taux d'acylation du tréhalose par le palmitate de vinyle dans différents solvants : influence de la température et du tamis moléculaire 3Å

Les tentatives d'acylation du tréhalose dans l'acétone et le *tert*-butanol à 45°C ont conduit à des résultats similaires à ceux obtenus dans l'acétonitrile : 9% d'acylation dans l'acétone et 13% dans le *tert*-butanol. Dans l'acétonitrile et le *tert*-butanol, dont les températures d'ébullition sont suffisamment élevées, l'acylation du tréhalose a été également réalisée à 60°C. Aucune amélioration n'est observée dans l'acétonitrile mais la conversion en diester passe ainsi de 13 à 21% dans le *tert*-butanol. L'acétonitrile est alors laissé de côté, et du tamis moléculaire est alors rajouté au milieu réactionnel dans l'acétone et le *tert*-butanol. Étonnamment, ce paramètre n'a aucune influence sur les conversions finales.

2.2 Augmentation de la quantité de lipase

Un dernier paramètre à disposition pour augmenter les taux d'acylation du tréhalose est la quantité de CALB engagée. 22 mg d'enzyme supportée par mmol d'ester de vinyle suffit à conduire à une acylation totale du glucose, mais ce dosage se révèle insuffisant pour l'acylation du tréhalose. Des quantités de CALB allant de 44 à 167 mg par mmol d'ester de vinyle (soit 2 à 15 mg par mL de solvant) ont alors été testées. Les taux d'acylation du tréhalose obtenus en fonction de la quantité de CALB engagée sont tracés dans la Figure 14.

Les taux d'acylation du tréhalose augmentent linéairement avec la quantité de CALB engagée. Dans l'acétone, le taux d'acylation ne dépasse pas 40% malgré des quantités importantes d'enzyme ; à l'inverse, une acylation de 80% du tréhalose est obtenue en présence de 80 mg de CALB,

soit 90 mg par mmol de tréhalose. Les quantités d'enzyme mises en jeu, quoique importantes, restent en deçà des quantités engagées pour des réactions similaires dans la littérature : Les groupes de John et d'Adachi ont catalysé leurs synthèses de di-esters de tréhalose par respectivement 150 mg³⁷ et 200 mg⁷⁰ de CALB par mmol de tréhalose.

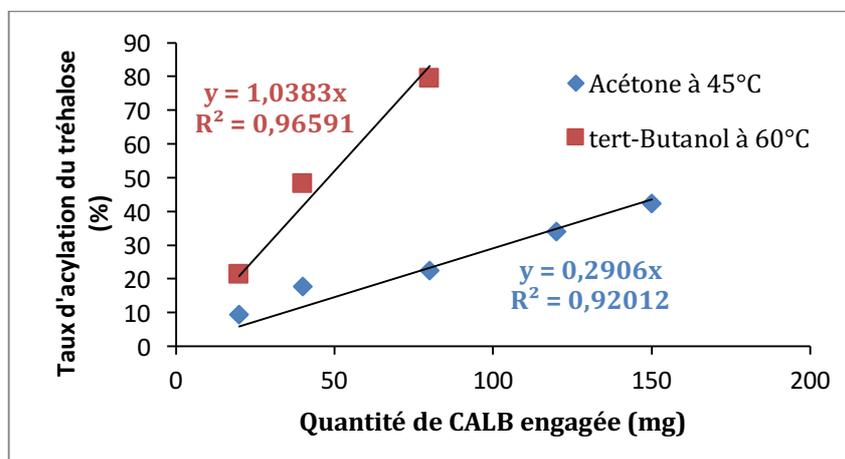


Figure 14 – Taux d'acylation du tréhalose par le palmitate de vinyle atteints après 72h de réaction en fonction de la quantité de CALB engagée. Conditions : 1,8 mmol de PaV, 0,9 mmol de tréhalose, 10 mL de solvant anhydre

VI. CONCLUSION

L'étude de l'influence des paramètres expérimentaux entrant en jeu lors de la synthèse enzymatique de glycolipides nous a permis de mettre au point des conditions réactionnelles optimisées. Ces conditions se sont révélées plus efficaces que celles que nous avons pu trouver dans la littérature, puisqu'elles conduisent à une conversion totale en glycolipide en 40 heures, sans nécessiter un quelconque déplacement d'équilibre. De plus, ces résultats ont été obtenus à partir de quantités équimolaires de réactifs ; c'est un avantage car fournir un des réactifs en excès rendrait l'isolation du glycolipide pur plus complexe et avec un moins bon rendement, en plus d'être plus coûteux. Enfin, nous avons montré que seuls 5% massiques de CALB supportée par rapports aux réactifs, soit quatre à six fois moins que les quantités habituellement mises en jeu, suffisaient à catalyser la réaction.

Une étude des substrats a ensuite été réalisée. Nous avons alors conclu que les donneurs d'acyle à longue chaîne carbonées (C14 et plus) étaient les plus appropriés à une synthèse de glycolipides avec CALB. La présence d'insaturations et de ramifications cause une gêne stérique, qui conduit à des taux d'acylation plus faibles pour une réaction à 45°C. Aussi afin de pallier ce problème, il sera plus judicieux de réaliser les synthèses de glycolipides à une température de 60°C. Enfin, si les conditions réactionnelles mises au point conduisent à des taux d'acylation de monosaccharides élevés, elles ne se sont en revanche pas appropriées à la synthèse d'esters de disaccharides : le recours à du tert-butanol comme solvant et à des quantités de CALB quatre fois plus importantes sont alors nécessaires pour obtenir des taux d'acylation du tréhalose de l'ordre de 80%.

VII. BIBLIOGRAPHIE

- [1] Akoh C and Swanson G, "One-stage Synthesis of Raffinose", vol. 52, pp. 1570-1576, 6 **1987**.
- [2] Farone W. and Serfass R. W., "Sugar-ester manufacturing process". US Patent 5756716, **1998**.
- [3] Matsumoto S., Hatakawa Y. and Kakajima A., "Method for Producing Powdery HLB Sugar Fatty Acid Ester", US5144022, **1992**.
- [4] Kuang D., Obaje O. J., Kjassim A. and Suhaimi H., "Nuclear Magnetic Resonance Characterization of Reaction Products of Interesterification of Periacetylated alpha-D-glucofuranose and Fatty Acid Methyl Esters", *J. Am. Oil Chem. Soc.*, vol. 77, pp. 43-47, **2000**.
- [5] Polat T. and Linhardt R., "Syntheses and applications of sucrose-based esters", *Journal of Surfactants and Detergents*, vol. 4 (4), pp. 415-421, **2001**.
- [6] Osipow L. I. and Rosenblatt W., "Micro-emulsion process for the preparation of sucrose esters", *J. Am. Oil Chem. Soc.*, vol. 44 (5), pp. 307-309, **1967**.
- [7] Harland C. W., Botyanszki Z., Rabuka D., Bertozzi C. R. and Parthasarathy R., "Synthetic trehalose glycolipids confer desiccation resistance to supported lipid monolayers", *Langmuir*, vol. 25 (9), pp. 5193-5198, **2009**.
- [8] Al Dulayymi J. R., Baird M. S., Maza-Iglesias M., Hameed R. T., Baols K. S., Muzael M. and Saleh A. D., "Synthetic trehalose di- and mono-esters of alpha-, methoxy- and keto-mycolic acids", *Tetrahedron*, vol. 70 (52), pp. 9836-9852, **2014**.
- [9] Jenkins I. D. and Goren M. B., "Improved synthesis of cord factor analogues via Mitsunobu reaction", *Chem. Phys. Lipids*, Vols. 41 (3-4), pp. 225-235, **1986**.
- [10] Molinier V., Fitremann, J., Bouchu A. and Queneau Y., "Sucrose esterification under Mitsunobu conditions : evidence for the formation of 6-O-acyl-3',6'-anhydrosucrose besides mono and diesters of fatty acids", *Tetrahedron: Assymetry*, vol. 15 (11), pp. 1753-1762, **2004**.
- [11] Besset C., Chambert S., Queneau Y., Kerverdo S., Rolland H. and Guilbot J., "Reactivity of melezitose and raffinose under Mitsunobu reaction conditions", *Carbohydr. Res.*, vol. 343 (5), pp. 929-935, **2008**.
- [12] Paul N. K., Twibanire J. D. and Grindley T. B., "Direct synthesis of maradolipids and other trehalose 6-monoesters and 6,6'-diesters", *J. Org. Chem.*, vol. 78 (2), pp. 363-369, **2013**.
- [13] Kennedy J. F., Kumar H., Panesar P. S., Marwaha S. S., Goyal R., Parmar A. and Kaur S., "Enzyme-catalyzed regioselective synthesis of sugar esters and related compounds", *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, vol. 81 (6), pp. 866-876, **2006**.
- [14] Pedersen N. R., Halling P. J. , Pedersen L. H. , Wimmer R., Matthiesen R. and Veltman O. R., "Efficient transesterification of sucrose catalyzed by the metalloprotease thermolysin in dimethylsulfoxide", *FEBS Lett*, vol. 519 (1), p. 181, **2002**.
- [15] Pedersen N. R., Wimmer R., Matthiesen R., Pedersen L. H. and Gessesse A., "Synthesis of sucrose laurate using a new alkaline protease", *Tetrahedron: Assymetry*, vol. 14 (6), pp. 667-673, **2003**.
- [16] Ballesteros A. , Plou F. J., Alcade M., Ferrer M., Garcia-Arellano D., Reyes-Duarte D. and Ghazi I., "Enzymatic synthesis of sugar esters and oligosaccharides from renewable resources", *Biocatalysis in the Pharmaceutical and Biotechnology Industries*, pp. 463-488, **2007**.
- [17] Raku T., Kitagawa M., Shimakawa H. and Tokiwa Y., "Enzymatic synthesis of hydrophilic undecylenic acid sugar esters and their biodegradability", *Biotechnol. Lett.*, vol. 161, pp. 161-166, **2003**.

- [18] Raku T., Kitagawa M., Shimakawa H. and Tokiwa Y., "Enzymatic synthesis of trehalose esters having lipophilicity", *J. Biotechnol.*, vol. 100, pp. 203-208, **2003**.
- [19] C. L., B. U. T. and S. R. D., "Lipase-catalyzed solid-phase synthesis of sugar esters. Influence of immobilization on productivity and stability of the enzyme", *J. Mol. Cat. B: Enzymatic*, vol. 6, pp. 279-285, **1999**.
- [20] Hayes D., "Enzyme-catalyzed modification of oilseed materials to produce eco-friendly products", *J. Am. Oil Chem. Soc.*, vol. 81 (12), pp. 1077-1103, **2004**.
- [21] Rodrigues R. and Fernandez-Lafuente R., "Lipase from *Rhizomucor miehei* as a biocatalyst in fats and oils modification", *J. Mol. Cat. B: Enzymatic*, Vols. 66 (1-2), pp. 15-32, **2010**.
- [22] Fernandez-Lafuente R., "Lipase from *Thermomyces langinosus*: Uses and prospects as an industrial biocatalyst", *J. Mol. Cat. B: Enzymatic*, Vols. 62 (3-4), pp. 197-212, **2010**.
- [23] Abdulmalek E., Salami Mohd Saupi H., Tejo B. A., Basri M., Salleh AB., Rahman R. N. and Rahman M. B. A., "Improved enzymatic galactose oleate ester synthesis in ionic liquids", *J. Mol. Cat. B: Enzymatic*, vol. 76, pp. 37-43, **2012**.
- [24] Hsieh SW, Lee MR., Tsai CW., Lai LY., Yeh T., Hsieh CW., Yang TJ and Chang SW, "Enzymatic synthesis, purification and identification of bioactive trehalose ester derivatives for health applications", *FBP*, vol. 95, pp. 163-172, **2015**.
- [25] Gulati R., Arya P., Malhotra B., Prasad AK., Saxena RK. and Kumar J., "Novel biocatalytic esterification reactions on fatty acids: synthesis of sorbitol 1(6) monostearate", *ARKIVOG*, vol. 3, pp. 159-170, **2003**.
- [26] Antczak T., Patura J., Szczesna-Antczak M., Hiler D. and Bielecki S., "Sugar ester synthesis by a mycelium-bound *Mucor circinelloides* lipase in a micro-reactor equipped with water activity sensor", *J. Mol. Cat. B: Enzymatic*, Vols. 29 (1-6), pp. 155-161, **2004**.
- [27] Ye R., Pyo SH. and Hayes D. G., "Lipase-catalyzed synthesis of saccharide-fatty acid esters using suspensions of saccharide crystals in solvent-free media", *J. Am. Oil Chem. Soc.*, vol. 87, pp. 281-293, **2010**.
- [28] Pyo SH. and Hayes D. G., "Designs of bioreactor systems for solvent-free lipase-catalyzed synthesis of fructose-oleic acid esters", *J. Am. Oil Chem. Soc.*, vol. 86 (6), pp. 521-529, **2009**.
- [29] Dang H. T., Obiri O. and Hayes D. G., "Feed batch addition of saccharides during saccharide-fatty acid esterification catalyzed by immobilized lipase : time course, water activity, and kinetic model", *J. Am. Oil Chem. Soc.*, vol. 82 (7), pp. 487-493, **2005**.
- [30] Reddy J. R. C., Vijeeta T., Karuna M. S. L., Rao B. V. S. K. and Prasad R. B. N., "Lipase-catalyzed preparation of palmitic and stearic acid-rich phosphatidylcholine", *JAACS*, vol. 82 (10), 727-730, **2005**.
- [31] Yang T., Rebsdorf M., Engelrud U. and XU X., "Monoacylglycerol synthesis via enzymatic glycerolysis using a simple and efficient reaction system", *J. Food Lipids*, vol. 12 (4), pp. 299-312, **2005**.
- [32] Hsu AF., Jones K. C., Foglia T. A. and Marmer W. N., "Transesterification activity of lipases immobilized in a phyllosilicate sol-gel matrix", *Biotechnol. Lett.*, vol. 26 (11), pp. 917-921, **2004**.
- [33] Zhong N., Xu X., Cheong L., Li B., Hu S. and Zhao X., "An efficient binary solvent mixture for monoacylglycerol synthesis by enzymatic glycerolysis", *J. Am. Oil Chem. Soc.*, vol. 86 (8), pp. 783-789, **2009**.
- [34] Kobayashi T., Adachi S. and Water E., "Reaction equilibrium for lipase-catalyzed condensation in organic solvent systems", *Biotechnol. Lett.*, vol. 26, pp. 1461-1468, **2004**.
- [35] Ferrer M., Cruces MA., Bernabé M., Ballesteros A. and Plou FJ., "Lipase-catalyzed regioselective

acylation of sucrose in a two-solvent mixture”, *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 65, pp. 10-16, **1999**.

- [36] Ferrer M., Soliveri J., Plou F. J., Lopez-Cortes N., Reyes-Duartes D., Christensen M., Copa-Patino J. L. and Ballesteros A., "SYnthesis of sugar esters in solvent mixtures by lipases from *Thermomyces lanuginosus* and *Candida antarctica* B, and their antimicrobial properties”, *Enzyme Microb. Technol.*, vol. 36 (4), pp. 391-398, **2005**.
- [37] John G., Zhu G., Li J. and Dordick J. S., "Enzymatically derived sugar-containing self-assembled organogels with nanostructured morphologies”, *Angew. Chem. - International Edition*, vol. 45, pp. 4772-4775, **2006**.
- [38] Csuk R., Schulthei A., Sommerwerk S. and Kluge R., "Synthesis of a maradolipid without using protecting groups”, *Tetrahedron Lett.*, vol. 54 (18), pp. 2274-2276, **2013**.
- [39] Barbara I., Birot M., Bismarck A. and Deleuze H., "Preparation of divinyl esters by transvinylation between vinyl acetate and dicarboxylic acids”, *Arkivoc*, pp. 22-35, **2016**.
- [40] Mondal M., Van Der Meer R., German A. and Heikens D., "A novel synthesis of vinyl esters from vinylversatate-10”, *Tetrahedron*, Vols. 30 (23-24), pp. 4205-4207, **1974**.
- [41] Vilela C., Rua R., Silvester J. D. and Gandini A., "Polymers and copolymers from fatty acid-based monomers”, *Ind. Crops Prod.*, vol. 32, pp. 97-104, **2010**.
- [42] Wang Y., Lalonde J. and Wong C., "Lipase-catalyzed irreversible transesterifications using enol A”, *J. Chem. Soc.*, vol. 100 (6), pp. 7200-7205, **1988**.
- [43] Lee SH., Ha SH., Hlep NM., Chang WJ. and Koo YM., "Lipase-catalyzed synthesis of glucose fatty acid esters using ionic liquids mixtures”, *J. Biotechnol.*, vol. 133 (4), pp. 486-489, **2008**.
- [44] Coulon D., Ismail A., Girargin M., Rovel B. and Ghoull M., "Effect of different biochemical parameters on the enzymatic synthesis of fructose oleate”, *J. Biotechnol.*, vol. 51, pp. 115-121, **1996**.
- [45] Prabhakar S., Vivès T., Ferrières V., Benvegu T., Legentil L. and Lemiègre L., "A fully enzymatic esterification/transesterification sequence for the preparation of symmetrical and unsymmetrical trehalose diacyl conjugates”, *Green Chem.*, vol. 19, p. 987, **2017**.
- [46] Coulon D., Girardin M. and Engasser J., "Investigation of key parameters of fructose oleate enzymatic synthesis catalyzed by an immobilized lipase”, *Ind. Crops Prod.*, Vols. 6 (3-4), pp. 375-381, 1997.
- [47] Sabeder S., Habulin M. and Knez Z., "Comparison of the esterification of fructose and palmitic acid in organic solvent and in supercritical carbon dioxide”, *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol. 44, pp. 9631-9635, **2005**.
- [48] Sabeder S., Habulin M. and Knez Z., "Lipase-catalyzed synthesis of fatty acid fructose esters”, *J. Food Eng.*, vol. 77, pp. 880-886, **2006**.
- [49] Sultani S., Engasser J.M. and Ghoull M., "Effect of acyl donor chain length and sugar/acyl donor molar ratio on enzymatic synthesis of fatty acid fructose esters”, *J. Mol. Cat. B: Enzymatic*, vol. 11, pp. 725-731, **2001**.
- [50] Chen J., Kimura Y. and Adachi S., "Continuous synthesis of 6-O-linoleoyl hexose using a packed-bed reactor system with immobilized lipase”, *Biochem. Eng. J.*, vol. 22, pp. 145-149, **2005**.
- [51] Cao L., Bornsheuer U.T. and Schmid R.D., "Lipase-catalyzed solid-phase synthesis of sugar esters, IV: selectivity of lipases towards and secondary hydroxyl groups in carbohydrates”, *Biocatal. Biotransfor.*, vol. 16 (4), pp. 249-257, **1998**.
- [52] Chen J., Kimura Y. and Adachi S., "Synthesis of linoleoyl disaccharides through lipase-catalyzed condensation and their surface activities”, *J. Biosci. Bioeng.*, vol. 100 (3), pp. 274-279, **2005**.
- [53] Plou F. J., Cruces M. A., Ferrer M., Fuentes G., Pastor E., Bernabé M., Christensen M., Comelles F.,

- Parra J. L. and Ballesteros A., "Enzymatic acylation of di- and trisaccharides with fatty acids: choosing the appropriate enzyme, support and solvent", *J. Biotechnol.*, vol. 96, pp. 55-66, **2002**.
- [54] Cao L., Bornscheuer UT. and Schmid RD., "Lipase-catalyzed solid phase synthesis of sugar esters", *Lipid/Fett*, vol. 98 (10), pp. 332-335, **1996**.
- [55] Pedersen NR., Wimmer R., Emmersen J., Degn P. and Pedersen LH., "Effect of fatty acid chain length on initial reaction rates and regioselectivity of lipase-catalyzed esterification of disaccharides", *Carbohydr. Res.*, vol. 337 (13), pp. 1179-1184, **2002**.
- [56] Xiao Y., Wu Q., Cai Y. and Lin X., "Ultrasound-accelerated enzymatic synthesis of sugar esters in nonaqueous solvents", *Carbohydr. Res.*, vol. 340 (13), pp. 2097-2103, **2005**.
- [57] Pleiss J. and Fisher M. SR., "Anatomy of lipase binding sites : the scissile fatty acid binding site", vol. 93, pp. 67-80, **1998**.
- [58] Mellou F., Loutrari H., Stamatis H., Roussos C. and Kolisis F.N., "Enzymatic esterification of flavonoids with unsaturated fatty acids : effect of the novel esters on vascular endothelial growth factor release from K562 cells", *Process Biochem.* vol. 41 (9), 2029-2034, **2006**.
- [59] Paggiola G., Hunt A. J., McElroy C. R., Sherwood J. and Clark J. H., "Biocatalysis in bio-derived solvents : an improved approach for medium optimisation", *Green Chem.*, vol. 16 (4), pp. 2107-2110, **2014**.
- [60] Ballesteros A., Plou F. J., Alcalde M., Ferrer M., Garcia-Arellano H., Reyes-Durarte D. and Ghazi I., "Enzymatic synthesis of sugar esters and oligosaccharides from renewable resources", *Biocatalysis in the Pharmaceutical and Biotechnology Industries*, **2006**.
- [61] Degn P., Pedersen L. H., Duus J. O. and Zimmermann W., "Lipase-catalyzed synthesis of glucose fatty acid esters in tert-butanol", *Biotechnol. Lett.*, vol. 21, pp. 275-280, **1999**.
- [62] Zhang X. and Hayes D. G., "Increased rate of lipase-catalyzed saccharide-fatty acid esterification by control of reaction medium", *J. Am. Oil Chem. Soc.*, vol. 76, pp. 1495-1500, **1999**.
- [63] Moreau B., Lognay GC., Blecker C., Brohéel JC., CHéry F., Rollin P., Paquot M. and Marlier M., "Synthesis of novel D-glucuronic acid fatty esters using *Candida antarctica* lipase in tert-butanol", *Biotechnol. Lett.*, vol. 26, pp. 419-424, **2004**.
- [64] Flores M., Naraghi K., Engasser JM. and Halling P. J., "Influence of glucose solubility and dissolution rate on kinetics of lipase catalyzed synthesis of glucose laurate in 2-methyl 2-butanol", *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 78 (7), pp. 815-821, **2002**.
- [65] Ducret A., Giroux A., Trani M. and Lortie R., "Enzymatic preparation of biosurfactants from sugars or sugar alcohols and fatty acids in organic media under reduced pressure", *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 48 (3), pp. 214-221, **1995**.
- [66] Afach G., Kawanami Y., Cheetangdee N., Fukada K. and Izumori K., "Lipase-catalyzed synthesis of D-Psicose fatty acid diesters and their emulsification activities", *J. Am. Oil Chem. Soc.*, vol. 85, pp. 755-760, **2008**.
- [67] Arcos J. A., Bernabé M. and Otero C., "Quantitative enzymatic production of 6-O-acylglucose esters", *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 57 (5), pp. 505-509, **1998**.
- [68] Jadhav S. R., Kuma Vemula P., Kumar R., Raghavan S. R. and John G., "Sugar-derived phase-selective molecular gelator as model solidifiers for oil spills", *Angewandte*, vol. 49, pp. 7695-7698, **2010**.
- [69] Ljunger G., Adlercreutz P. and Mattiasson B., "Lipase catalyzed acylation of glucose", *Biotechnol. Lett.*, vol. 16, pp. 1167-1172, **1994**.
- [70] Chen J., Kimura Y. and Adachi S., "Synthesis of linoleoyl disaccharides through lipase-catalyzed condensation and their surface activities", *J. Biosci. Bioeng.*, vol. 100, pp. 274-279, **2005**.

- [71] Ganske F. and Bornscheuer U. T., "Optimization of lipase-catalyzed glucose fatty acid ester synthesis in a two-phase system containing ionic liquid and t-BuOH", *J. Mol. Cat. B: Enzymatic*, vol. 36, pp. 40-42, **2005**.
- [72] Ganske F. and Bornscheuer U. T., "Lipase-catalyzed glucose fatty acid ester synthesis in ionic liquids", *Org. Lett.*, vol. 7 (14), pp. 3097-3098, **2005**.
- [73] Lee S. H., Ha S. H., Hiep N. M., Chang WL. and Koo YM., "Lipase-catalyzed synthesis of glucose fatty acid ester using ionic liquids mixtures", *J. Biotechnol.*, vol. 133, pp. 486-489, **2008**.
- [74] Lee S. H., Dang G. T., Ha S. H., Chang WL. and Koo YM., "Lipase-catalyzed synthesis of fatty acid sugar ester using extremely supersaturated sugar solution in ionic liquids", *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 99 (1), pp. 1-8, **2008**.
- [75] Moniruzzaman M., Nakashima K., Kamiya N. and Goto M., "Recent advances of enzymatic reactions in ionic liquids", *Biochem. Eng. J.*, vol. 48, pp. 295-314, **2010**.
- [76] Rodrigues J. V., Ruivo D., Rodriguez A., Deive F. J., Esperança J. M. S. S., Marrucho I. M., Gomes C. M. and Rebelo L. P. N., "Structural-functional evaluation of ionic liquid libraries for the design of co-solvents in lipase-catalyzed reactions", *Green Chem.*, vol. 16 (10), pp. 4520-4523, **2014**.
- [77] Durand E., Lecomte J., Baréa B., Piombo G., Dubreucq E. and Villeneuve P., "Evaluation of deep eutectic solvents as new media for *Candida antarctica* B lipase catalyzed reactions", *Process Biochem.*, vol. 47, pp. 2081-2089, **2012**.
- [78] Knez Z. and Habulin M., "Compressed gases as alternative enzymatic-reaction solvents: a short review", *The Journal of Supercritical Fluids*, vol. 23 (1), pp. 29-42, **2002**.
- [79] Habulin M., "Comparison of the esterification of fructose and palmitic acid in organic solvent and in supercritical carbon dioxide", *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol. 44, pp. 9931-9935, **2005**.
- [80] Habulin M., Sabeder S. and Knez Z., "Enzymatic synthesis of sugar fatty acid esters in organic solvent and in supercritical carbon dioxide and their antimicrobial activity", *J. Supercrit. Fluids*, vol. 45, pp. 338-345, **2008**.
- [81] Xiao Z., Hou X., Lyu X., Zhao J-Y., Li J. and Lu J. R., "Enzymatic synthesis of aroma acetoin fatty acid esters by immobilized *Candida antarctica* lipase B", *Biotechnol. Lett.*, vol. 37 (8), pp. 1671-1677, **2015**.
- [82] Ziriakus J., Zimmermann T. K., Pöthig A., Drees M., Haslinger S., Jantke D. and Kühn F. E., "Ruthenium-catalyzed transvinylolation - New insights", *Adv. Synth. Catal.*, Vols. 355 (14-15), pp. 2845-2859, **2013**.
- [83] Ardhaoui M., Falcimaigne A., Engasser J., Moussou P., Pauly G. and Ghoul M., "Acylation of natural flavonoids using lipase of *Candida antarctica* as biocatalyst", *J. Mol. Cat. B: Enzymatic*, vol. 29, pp. 63-67, **2004**.
- [84] Schiefelbein L., Keller M., Weissmann F., Lubber M., Bracher F. and Friess W., "Synthesis, characterization and assessment of suitability of trehalose fatty acid esters as alternatives for polysorbates in protein formulation", *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, vol. 76, pp. 342-350, **2012**.
- [85] Hibert G., "Glycolipids: from synthesis and self-assembly studies to the design of original bio-based polymers", *Thèse de doctorat en polymères, Université de Bordeaux*, **2016**.
- [86] Husband F. A., Sarney D. B., Barnard M. J. and Wilde P. J., "Comparison of foaming and interfacial properties of pure sucrose monolaurate, dilaurate and commercial preparations", *Food Hydrocolloids*, vol. 12, p. 237, **1998**.
- [87] Keipert S. and Schulz G., "Microemulsions with sucrose fatty ester surfactants. Part 1. In vitro characterization", *Parmazie*, vol. 49, p. 195, **1994**.
- [88] Megahed M. G., "Preparation of sucrose fatty acid esters as food emulsifiers and evaluation of

their surface active and emulsification properties”, *Grasas Aceites*, vol. 50, p. 280, **1999**.

- [89] Boyer A., Lingome C. E., Condassamy O., Schappacher M., Moebs-Sanchez S., Queneau Y., Gadenne B., Alfos C. and Cramail H., "Glycolipids as a source of polyols for the design of original linear and cross-linked polyurethanes", *Polym. Chem.*, pp. 296-306, **2012**.
- [90] Hibert G., Grau E., Pintori D., Lecommandoux S. and Cramail H., "ADMET polymerization of alpha,omega)unsaturated glycolpids: synthesis and physico-chemical properties of the resulting polymers", *Polym. Chem.*, vol. 2017 (8), pp. 3731-3739, **2017**.
- [91] Ferrer M., Cruces M. A., Bernabé M., Ballesteros A. and Plou F. J., "Lipase-catalyzed regioselective acylation of sucrose in two-solvent mixtures", *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 65 (1), pp. 10-16, **1999**.

Chapitre 2 – Synthèse de glycolipides par catalyse enzymatique :
Étude de l'influence des paramètres réactionnels et des substrats

CHAPITRE 3

Conception de nouveaux monomères glycolipidiques

CHAPITRE 3 – Conception de nouveaux monomères glycolipidiques

I. Introduction, stratégie de synthèse	- 127 -
1. Choix des substrats : donneur d'acyle et sucre	- 127 -
1.1 Choix du sucre	- 127 -
1.2 Choix du donneur d'acyle	- 127 -
2. Modifications possibles	- 128 -
3. Conclusion :	- 131 -
II. Conception de glycolipides à partir de dérivés d'huile de ricin	- 131 -
1. Synthèse de donneurs d'acyle porteurs d'un groupement méthacrylate ou méthastyrène pendant par carbamation	- 131 -
1.1 Synthèse d'esters de vinyle par transvinylation d'acides gras	- 132 -
1.1.1 Transvinylation de l'acide 12-hydroxystéarique	- 132 -
1.1.2 Transvinylation de l'acide ricinoléique	- 133 -
1.2 Carbamation	- 135 -
1.2.1 Carbamation par l'IEMA	- 136 -
1.2.2 Carbamation par l'IIPMS	- 138 -
2. Synthèse de donneurs d'acyle porteurs d'un groupement vinylique pendant	- 139 -
2.1 Insertion d'un groupement acide carboxylique supplémentaire	- 139 -
2.1.1 Acylation de l'acide 12-hydroxystéarique	- 140 -
2.1.2 Acylation de l'acide ricinoléique	- 141 -
2.2 Double-transvinylation des diacides	- 142 -
2.2.1 Transvinylation des diacides porteurs du groupement succinique	- 143 -
2.2.2 Transvinylation des diacides porteurs du groupement maléique	- 144 -
3. Insertion du carbohydate	- 147 -
3.1 Application des conditions de synthèse de glycolipides mises au point	- 147 -
3.2 Optimisation des conditions réactionnelles	- 150 -
III. Conclusion	- 151 -
IV. Bibliographie	- 153 -

I. INTRODUCTION, STRATEGIE DE SYNTHÈSE

1. Choix des substrats : donneur d'acyle et sucre

1.1 Choix du sucre

L'acylation de disaccharides par voie enzymatique, étudiée dans le Chapitre 2, s'étant montrée particulièrement ardue, il a été choisi de se restreindre aux monosaccharides. Le glucose étant le monosaccharide de loin le plus étudié et ayant donné les meilleurs résultats lors des réactions d'acylation, c'est naturellement que nous l'avons sélectionné pour ces travaux.

1.2 Choix du donneur d'acyle

L'étude réalisée dans le chapitre précédent a permis de mettre en évidence une préférence de la CALB pour les donneurs d'acyle à longues chaînes. Abondamment présents dans la plupart des huiles végétales et animales, les acides gras insaturés de longueur C18 représentent un choix particulièrement intéressant. Ces acides sont représentés dans le Schéma 1 ci-dessous.

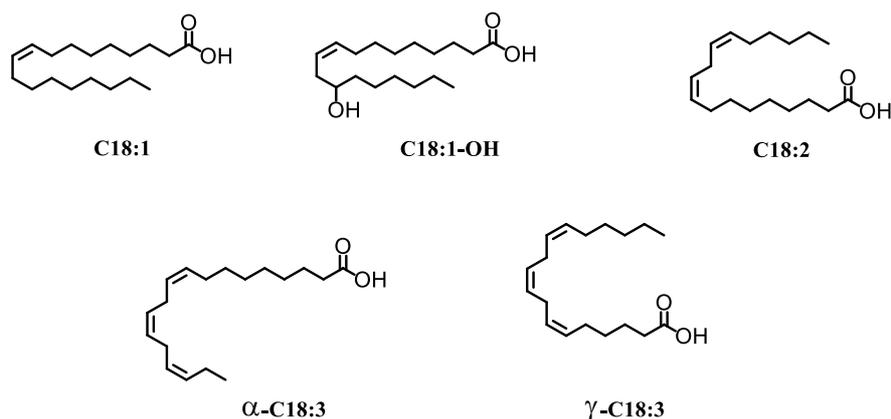


Schéma 1 – Représentation des acides gras C18 naturellement présents dans les huiles végétales
 De gauche à droite : acide oléique (C18:1), acide linoléique (C18:2), acide α-linolénique (α-C18:3),
 acide γ-linolénique (γ-C18:3), et acide ricinoléique (C18:1-OH)

Les acides oléique, linoléique et linolénique entrent dans la composition de nombreuses huiles végétales, toutes considérées comme alimentaires. L'acide ricinoléique, quant à lui, est présent à 90% dans l'huile de ricin. Extraite des graines de ricin, cette huile, d'abord connue depuis des siècles pour ses propriétés laxatives,¹ présente l'avantage d'être non comestible. C'est aussi la seule source commerciale d'acides gras porteurs de groupements hydroxyles.² De par leur importante viscosité induite par ces groupements hydroxyles,³ les composés dérivés de l'huile de ricin trouvent des applications comme lubrifiants^{4,5} L'huile de ricin est également l'un des premiers plastifiants utilisés dans la formulation de polymères comme le poly(chlorure de vinyle), le nitrate de cellulose ou le caoutchouc.⁶ Les dérivés de l'huile de ricin sont par ailleurs largement utilisés dans le domaine des cosmétiques. Ils entrent notamment dans la composition de la plupart des rouges à lèvres, avec des proportions allant de 15 à 81%.⁷

L'hydrogénation de la double-liaison de l'acide ricinoléique conduit à l'acide 12-hydroxystéarique (12HSA). A l'échelle industrielle, ce dernier est obtenu par hydrogénation de l'huile de ricin suivie d'un procédé d'hydrolyse des triglycérides par fat-splitting. Ses propriétés texturantes et antifongiques en font un agent recherché en cosmétiques.²

De manière assez surprenante, il n'existe que très peu de littérature faisant état de la synthèse de glycolipides à partir d'acide ricinoléique, que ce soit sous catalyse chimique⁸ ou enzymatique.⁹ Le groupe de Konishi a décrit en 2011 la synthèse de l'acide 12-O-(α -D-glucopyranosyle) ricinoléique et de l'acide 12-O-(α -D-glucopyranosyle-4-O-(α -gluco-pyranosyle)) ricinoléique catalysée par une α -glucosidase recombinante de *Geobacillus sp.*⁹ Plus récemment, en 2016, Kartha *et al.* ont eu recours à la réaction de Koenigs-Knorr pour synthétiser des glycolipides de mêmes structures.⁸ Des exemples d'estérification de l'acide ricinoléique sous catalyse enzymatique sont décrits dans la littérature,^{10,11} mais à notre connaissance pas à partir de saccharides. Aussi nous avons donc sélectionné l'acide ricinoléique et l'acide 12-hydroxystéarique comme substrats de départ pour la synthèse de glycolipides.

2. Modifications possibles

L'acide ricinoléique possède une double-liaison *cis* en positions 9,10 et un groupement hydroxyle en position 12.

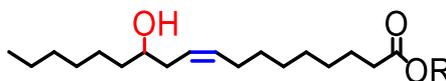


Schéma 2 – Formule développée de l'acide ricinoléique

Les deux principales réactions de fonctionnalisation de la double-liaison de l'acide ricinoléique répertoriées sont l'addition thiol-ène¹² et l'époxydation.¹³⁻¹⁵ Cette dernière peut être suivie d'une ouverture d'époxyde, ou d'une carbonation;¹⁶ les carbonates peuvent alors être fonctionnalisés par l'attaque d'une amine ou d'un alcool. L'alcool secondaire peut quant à lui intervenir dans des réactions d'estérification d'acides gras, d'anhydrides linéaires¹⁷ ou cycliques,^{18,19} ou de chlorures d'acyle²⁰, et de transestérification. En particulier l'action de l'alcool sur un anhydride cyclique permet l'insertion d'une fonction acide carboxylique pendante, laquelle peut par la suite également être fonctionnalisée. Il est aussi possible de faire réagir un chlorure de sulfonyle sur l'alcool secondaire.²¹ La réaction de Williamson permet l'introduction de fonctions éthers. Enfin, la carbamation de l'alcool conduit à la formation de groupements uréthanes.^{22,23} Le Schéma 3 illustre toutes ces réactions possibles.

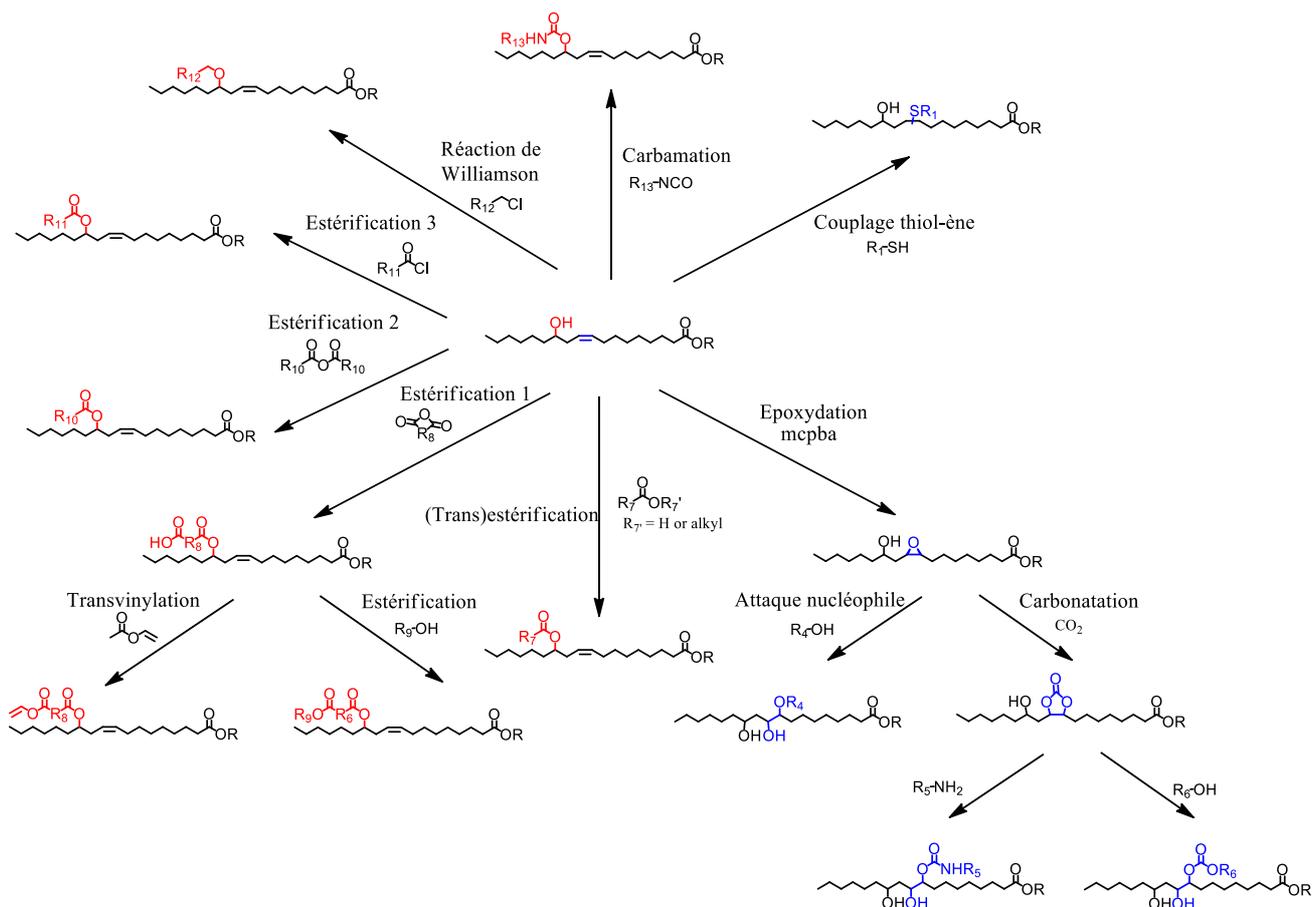


Schéma 3 – Illustration des principales modifications possibles de l'acide ricinoléique ou d'ester de ricinoléate.

Notre objectif est d'insérer le long de la chaîne alkyle de l'acide ricinoléique et du 12HSA un groupement polymérisable par voie radicalaire. Afin de limiter le nombre d'étapes de synthèse, nous nous sommes restreints à l'emploi de réactifs polymérisables commerciaux pour fonctionnaliser nos donneurs d'acyles. Le Schéma 4 présente les réactifs polymérisables commerciaux susceptibles de réagir avec un alcool secondaire.

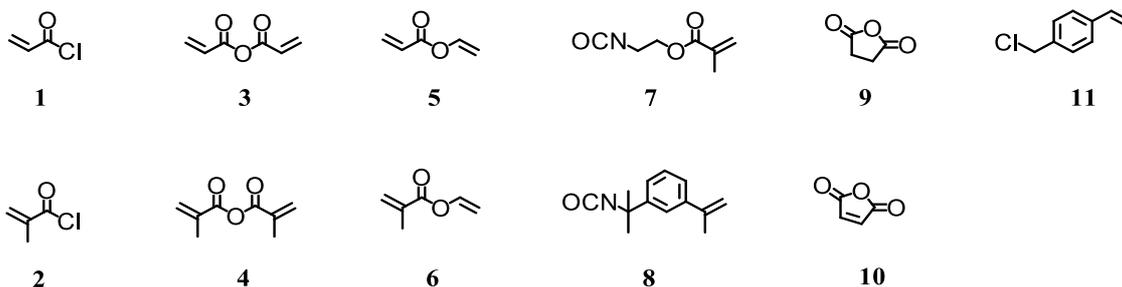


Schéma 4 – Différents réactifs polymérisables adaptés à la fonctionnalisation du groupement 12-hydroxyle des acides ricinoléique et 12-hydroxystéarique

1=chlorure d'acryloyle ; 2=chlorure de méthacryloyle ; 3=anhydride acrylique ; 4=anhydride méthacrylique ; 5=acrylate de vinyle ; 6=méthacrylate de vinyle ; 7=méthacrylate d'isocynoéthyle ; 8= α-méthylstyrène 2-isocyanoprop-2-yle ; 9=anhydride succinique ; 10=anhydride maléique ; 11=chlorure de (4-vinyl)-benzyle

Toutes les réactions correspondantes à l'exception de l'estérification des anhydrides succinique **9** et maléique **10** nécessitent une protection préalable de la fonction acide carboxylique : l'estérification de chlorures d'acyle **1** et **2** et la réaction de Williamson à partir du chlorure de (4-vinyl)-benzyle **11** nécessitent une catalyse basique qui déprotonerait l'acide ; l'emploi des anhydrides **3** et **4** conduit à des réactions de transfert d'anhydrides ; les isocyanates **7** et **8** réagissent avec l'acide pour former une amide. Il est donc nécessaire d'effectuer la transvinylation des acides avant la fonctionnalisation de l'alcool. L'estérification des anhydrides cycliques **9** et **10** peut, quant à elle, être réalisée directement sur l'acide ricinoléique, puis être suivie d'une transvinylation des deux fonctions acides, la partie ricinoléate de vinyle étant destinée à l'acylation du glucose et la partie succinate de vinyle ou maléate de vinyle à la polymérisation des glycolipides résultant.

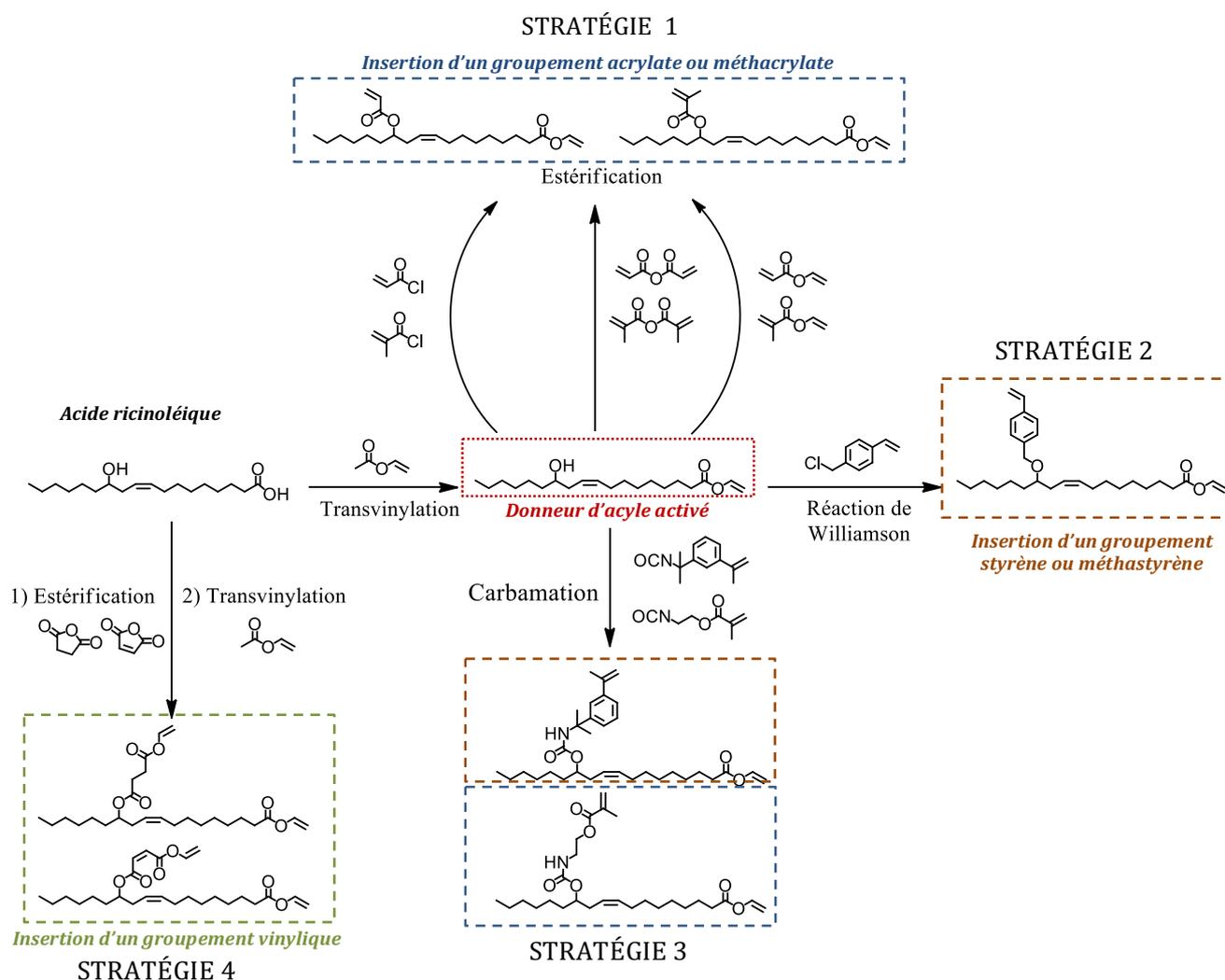


Schéma 5 – Différentes voies de synthèse d'esters vinyliques polymérisables par fonctionnalisation de l'acide ricinoléique

Toutes ces possibles stratégies de synthèses sont illustrées dans le Schéma 5. Les stratégies 1 et 2 exposées dans le Schéma 5 conduisent à l'obtention de donneurs d'acyles fonctionnalisés par un groupement polymérisable directement lié à la chaîne alkyle. Cette dernière est susceptible de causer

une gêne stérique importante, encore plus accentuée après l'ajout d'un sucre, et donc de limiter la polymérisation des monomères correspondants. A l'inverse, les monomères issus des stratégies 3 et 4 présentent un groupement intermédiaire, uréthane, succinique ou maléique entre la chaîne alkyle et la fonction polymérisable. Ces groupements intermédiaires sont susceptibles de limiter l'encombrement stérique inhérent à la structure du glycolipide. De plus, à notre connaissance les monomères résultants n'ont encore jamais été synthétisés. Nous avons donc sélectionné les stratégies 3 et 4 pour la synthèse de donneurs d'acyle polymérisables à partir d'acide ricinoléique et de 12HSA.

3. Conclusion :

A la suite de l'étude réalisée dans le Chapitre 2, les substrats les plus appropriés à une synthèse enzymatique de glycolipides à haute conversion se sont révélés être les esters de vinyles de longueur C18 comme donneurs d'acyle et le glucose comme accepteur d'acyle. Nous avons sélectionné deux produits dérivés de l'huile de ricin comme acides gras de départ : l'acide ricinoléique et l'acide 12-hydroxystéarique.

Une étude de l'état de l'art des modifications chimiques de l'huile de ricin d'une part, et le listage des composés commerciaux porteurs d'une fonction polymérisable pouvant réagir avec un alcool secondaire d'autre part, nous ont permis de dégager quatre stratégies de synthèse de donneurs d'acyle fonctionnalisés. Parmi ces quatre stratégies, deux d'entre elles ont été sélectionnées. La première consiste à réaliser une transvinylation préalable des acides gras puis à insérer un groupement méthacrylate ou méthastyrène *via* la carbamation des esters de vinyle par des isocyanates commerciaux. La deuxième réside dans l'acylation préalable du groupement 12-hydroxyle des acides gras par les anhydrides succinique et maléique, suivie par une double-transvinylation. Enfin, dans un dernier temps, les esters de vinyle fonctionnalisés *via* ces deux stratégies seront transestérifiés par le glucose sous catalyse enzymatique pour conduire aux glycolipides polymérisables correspondants.

II. CONCEPTION DE GLYCOLIPIDES A PARTIR DE DERIVES D'HUILE DE RICIN

1. Synthèse de donneurs d'acyle porteurs d'un groupement méthacrylate ou méthastyrène pendant par carbamation

Cette stratégie consiste à insérer un groupement méthacrylate ou α -méthylstyrène pendant sur les chaînes grasses de l'acide ricinoléique et de l'acide 12-hydroxystéarique *via* une réaction de carbamation. Les isocyanates étant susceptibles de réagir avec les acides carboxyliques, ces derniers seront, dans un premier temps, activés par transvinylation. Le groupement hydroxyle des esters gras synthétisés seront ensuite fonctionnalisés par carbamation grâce à deux isocyanates commerciaux : le méthacrylate d'isocynoéthyle (IEMA) et l'isocyanate de 3-isopropényle de α,α -diméthylbenzyle (IIPMS)

1.1 Synthèse d'esters de vinyle par transvinylation d'acides gras

1.1.1 Transvinylation de l'acide 12-hydroxystéarique



Schéma 6 – Structures du 12-hydroxystéarate de vinyle (HSV, gauche) et du ricinoléate de vinyle (RV, droite)

La transvinylation du 12HSA a tout d'abord été catalysée par le dimère de chlorure de cyclooctène d'iridium en présence d'acétate de sodium dans les conditions décrites par Vilela *et al.*²⁴ La conversion en 12-hydroxystéarate de vinyle n'excède alors pas 65%. Afin d'augmenter cette conversion, la réaction a alors été catalysée dans un second temps par le diacétate de palladium en présence d'hydroxyde de sodium. Cette réaction est effectuée sous activation aux micro-ondes à 60°C.

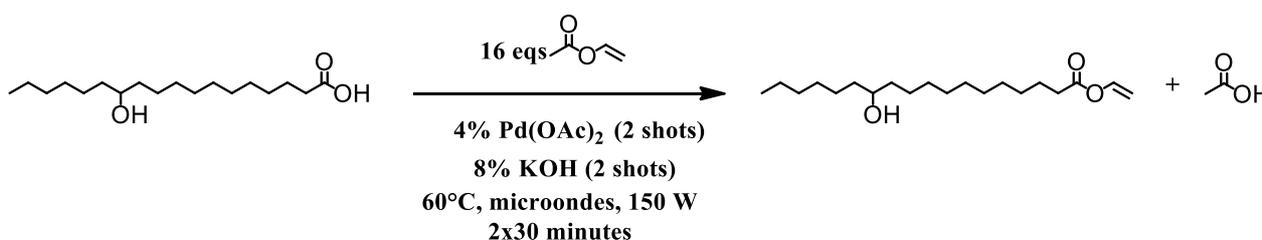


Schéma 7 – Transvinylation du 12HSA

La réduction de l'acétate de palladium en palladium métallique sous l'effet de la température conduit rapidement à une chute de son activité catalytique ; ce dernier est donc généralement injecté dans des quantités importantes. Une étude récemment réalisée par le groupe de Deleuze sur la transvinylation de diacides a alors montré que des additions successives du catalyseur permettaient d'atteindre des conversions plus élevées qu'en une seule addition.²⁵ Plusieurs quantités de diacétate de palladium ont été testées ; les conversions en 12HSV correspondantes sont présentées dans le Tableau 1. L'addition en deux fois du catalyseur conduit effectivement à un meilleur résultat qu'en une seule addition de la même quantité : l'ajout de 4% de Pd(OAc)₂ au début de la réaction conduit à un taux de transvinylation de 87% alors qu'une addition en deux fois de la même quantité permet une transvinylation totale du 12HSA.

% Pd(OAc) ₂	1	2	3	4	2+2
Conversion en 12HSV	55	77	81	87	100

Tableau 1 – Optimisation des quantités de di-acétate de palladium pour la réaction de transvinylation du 12HSA

La transvinylation du 12HSA est suivie par RMN du proton (Figure 1). La réaction est confirmée par l'apparition des trois pics caractéristiques de la fonction vinyle à 4,65 ppm, 4,8 ppm et 7,20 ppm (signaux **h** et **i**), ainsi que par la disparition du proton labile de l'acide carboxylique à 12 ppm (signal **d**). Aucun sous-produit n'est observé.

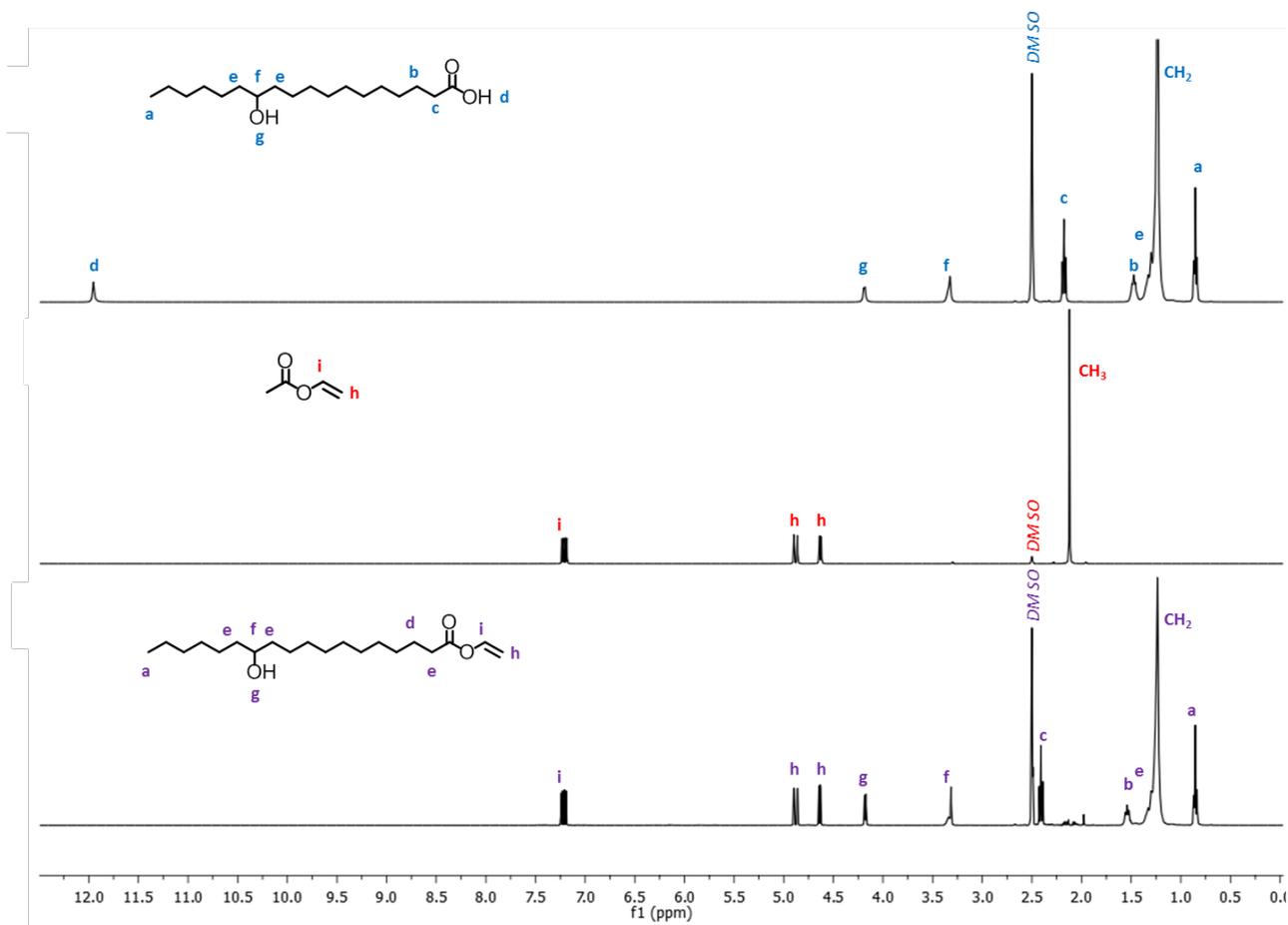


Figure 1 – Superposition des spectres RMN dans le d6-DMSO du 12HSA (haut), de l'AcV (centre) et du 12HSV (bas)

Le 12-hydroxystéarate de vinyle formé précipite partiellement dans l'acétate de vinyle (AcV). À la fin de la réaction, il est dissous dans du toluène à chaud et la solution est filtrée par deux fois sur un lit de Célite afin d'éliminer l'acétate de palladium et l'hydroxyde de potassium. Le filtrat est alors concentré à l'évaporateur rotatif pour conduire à l'isolation du **12-hydroxystéarate de vinyle** (12HSV) sous forme d'une cire légèrement jaunâtre, avec un rendement de 95%. Cette synthèse a pu être réalisée sur 20 grammes de 12HSA sans diminution de la conversion en ester de vinyle ou de chute du rendement.

1.1.2 Transvinylation de l'acide ricinoléique

La transvinylation de l'acide ricinoléique dans les mêmes conditions conduit à seulement 59% de conversion en ricinoléate de vinyle. Différentes quantités d'acétate de palladium ont alors été testées afin de maximiser la conversion en ricinoléate de vinyle. Trois modes d'addition du catalyseur ont été comparés :

- Conditions A : une seule addition au début de la réaction
- Conditions B : une première addition de la moitié du catalyseur est effectuée au début de la réaction et une deuxième addition de l'autre moitié après une heure de réaction
- Conditions C : une première addition de 0,05 équivalents de catalyseur est effectuée au début de la réaction, et une deuxième addition d'une quantité de catalyseur variante de 0,01 eq. à 0,05 eq. est effectué une heure plus tard

Les taux de transvinylation correspondants sont présentés dans la Figure 2 ci-dessous. Etrangement, aucune différence n'est observée entre les conversions obtenues à partir des conditions A et B. En revanche, les conditions C conduisent à des taux d'acylation de 91% quelle que soit la quantité de catalyseur injectée lors de la deuxième addition. Les conditions de transvinylation les plus avantageuses consistent donc à injecter dans un premier temps 5% d'acétate de palladium, et 1% supplémentaire après une heure de réaction. La réaction est alors poursuivie une heure supplémentaire.

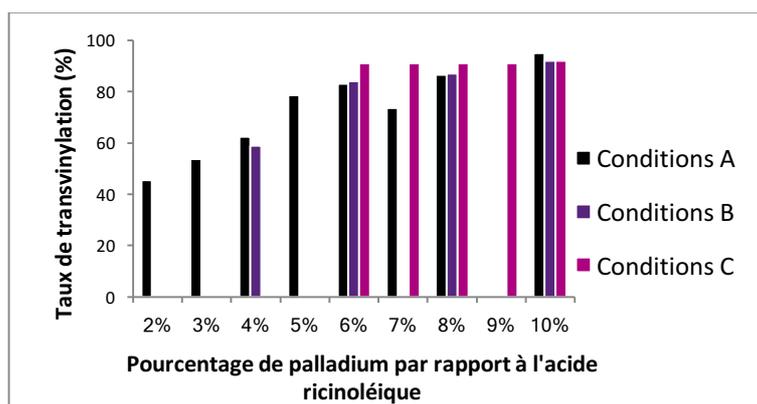


Figure 2 – Taux de transvinylation de l'acide ricinoléique en fonction du pourcentage d'acétate de palladium

Après 2 heures de réaction, le mélange est filtré sur lit de Célite et concentré à l'évaporateur rotatif. L'analyse par RMN ¹H du milieu réactionnel met alors en évidence l'apparition de signaux minoritaires correspondant à la formation de sous-produits (Figure 3).

Les signaux à 3,8 ppm, 3,9 ppm, 4,2 ppm, et 6,4 ppm (**f1**, **h1** et **i1** sur le spectre) attestent d'une conversion partielle du groupement 12-hydroxyle en éther de vinyle. Le signal à 4,8 ppm (**f2**) témoigne d'une acylation partielle du groupement 12-hydroxyle, attribuée à une condensation intermoléculaire partielle du ricinoléate de vinyle. Le mélange est séparé par chromatographie flash (phase éluante : cyclohexane:acétate d'éthyle). Le **ricinoléate de vinyle** (RV) est isolé sous forme d'une huile jaune pâle avec un rendement de 53%. Les deux sous-produits ont également pu être isolés et caractérisés afin de confirmer leur structure. La synthèse et la purification du ricinoléate de vinyle ont pu être réalisées sur 20 grammes d'acide ricinoléique sans diminution de la conversion en ester de vinyle ou de chute du rendement.

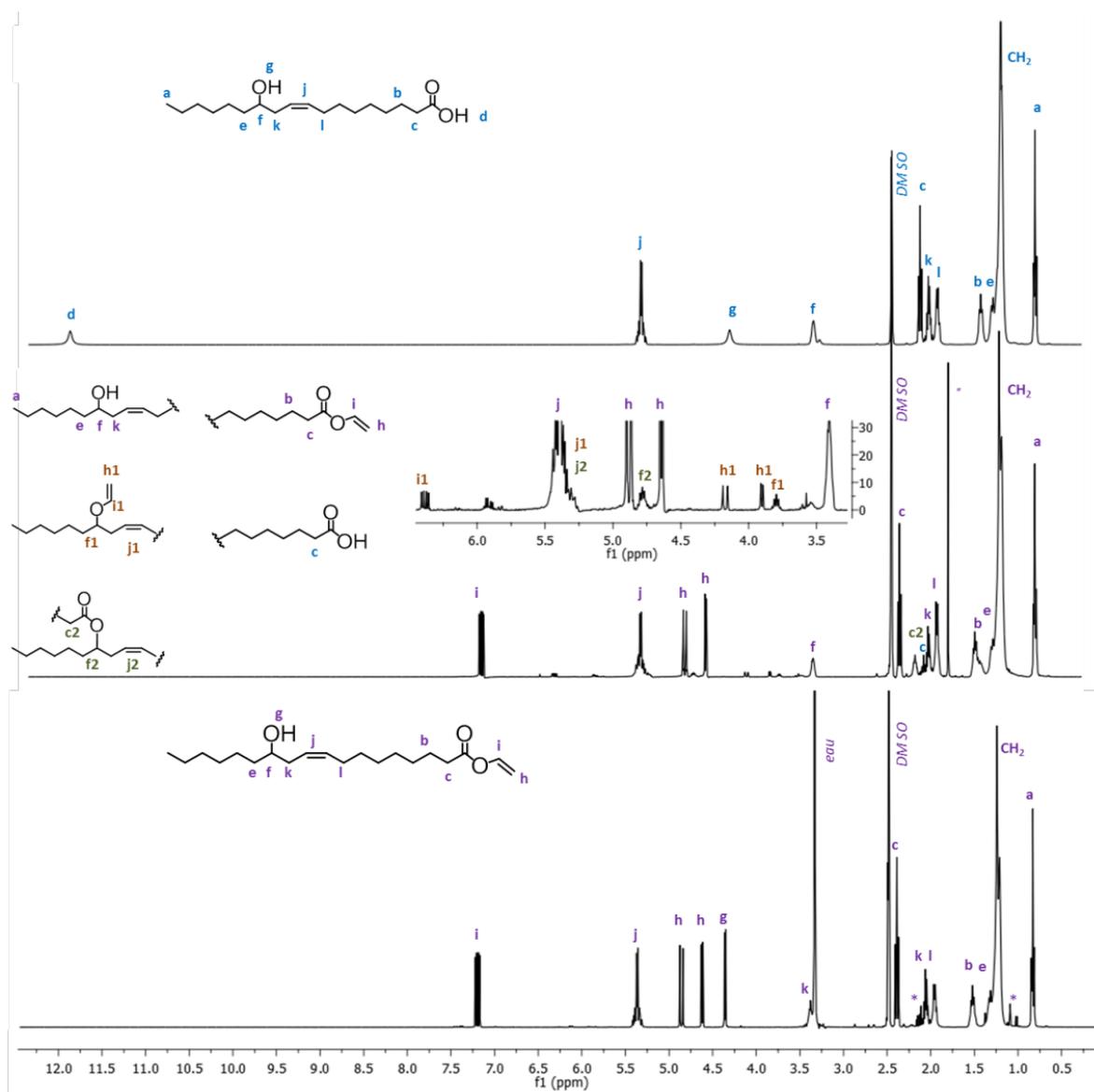


Figure 3 – Superposition des spectres RMN ¹H de l'acide ricinoléique (haut), du milieu réactionnel de transvinylation après évaporation de l'AcV (milieu), et du RV pur (bas) dans le d₆-DMSO

1.2 Carbamation

Le 12HSV et le RV précédemment synthétisés sont dans un second temps fonctionnalisés *via* une réaction de carbamation afin d'introduire un groupement 2-propylénique pendant. Deux isocyanates commerciaux ont été utilisés : le méthacrylate d'isocynoéthyle (IEMA) et le méthastyrène d'isocyanoisopropyle (IIPMS). La réaction est effectuée dans le toluène à 40°C en présence de 1,2 équivalents d'isocyanate par rapport aux fonctions alcools. Ce léger excès d'isocyanate est nécessaire à la fonctionnalisation totale des donneurs d'acyle.

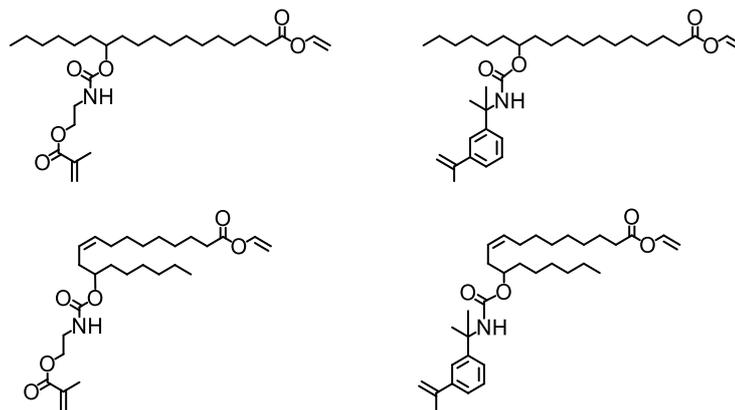


Schéma 8 – Structure des esters de vinyle fonctionnalisés par carbamation avec l'IEMA et l'IIPMS.
De gauche à droite : haut : MASV, MSSV ; bas : MARV, MSRv

1.2.1 Carbamation par l'IEMA

Le Schéma 9 illustre à titre d'exemple la réaction entre le 12HSV et l'IEMA. L'avancement de la réaction est suivi par RMN ^1H et une fonctionnalisation totale de l'alcool est observée en 24 heures. A la fin de la réaction, le milieu réactionnel est concentré à l'évaporateur rotatif. Une huile jaunâtre très visqueuse, composée de 83,3% de **12-[uréthane N-(méthacrylate d'éthyle)] stéarate de vinyle** (MASV) et de 16,7% d'IEMA non consommé, est obtenue. Ce mélange, très instable, est sujet à des phénomènes de gélification irréversibles, observés régulièrement lors de la synthèse de plus de cinq grammes de MASV. L'excès d'isocyanate est éliminé par chromatographie flash (phase éluante : cyclohexane/acétate d'éthyle). Le MASV est isolé sous forme d'une poudre blanche, stable à température ambiante, avec un rendement de 67%.

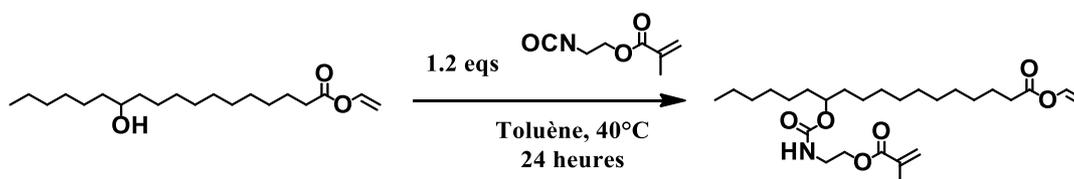


Schéma 9 – Réaction de carbamation du 12HSV par l'IEMA

La synthèse du **12-[uréthane N-(méthacrylate d'éthyle)] ricinoléate de vinyle** (MARV) est effectuée dans les mêmes conditions mais l'ajout de 5% de dilaurate de dibutyle d'étain (DBTDL) s'est révélé nécessaire à l'obtention d'une conversion de 100%. La réaction de carbamation par l'IEMA peut être réalisée sans problème sur le 12HVS et le VR jusqu'à une quantité de 3 grammes ; au delà, des phénomènes de gélification intempestive du milieu réactionnel avant sa purification risquent d'être observés. La purification par chromatographie flash peut quant à elle être réalisée sur 15 grammes de mélange.

La réaction de carbamation est confirmée par RMN ^1H (Figures 4 et 5) par la disparition du proton labile du groupement hydroxyle, par le déplacement du signal du $-\text{CH}-$ relié à l'atome d'oxygène de 3,5 ppm à 4,6 ppm témoignant d'une acylation de l'alcool, et par l'apparition des signaux

caractéristiques du groupement uréthane N-(méthacrylate d'éthyle) à 1,8 ppm, 3,2 ppm, 4,6 ppm, 5,7 ppm, et 6,1 ppm (signaux **m**, **n**, **o** et **p**). L'apparition du signal à 7,15 ppm (signal **g** caractéristique du proton labile d'un groupement uréthane) atteste également de la réussite de la réaction. La fonction ester de vinyle quant à elle demeure bien intacte pendant la réaction. Les attributions des signaux ont toutes été confirmées par RMN 2D (COSY et HSQC).

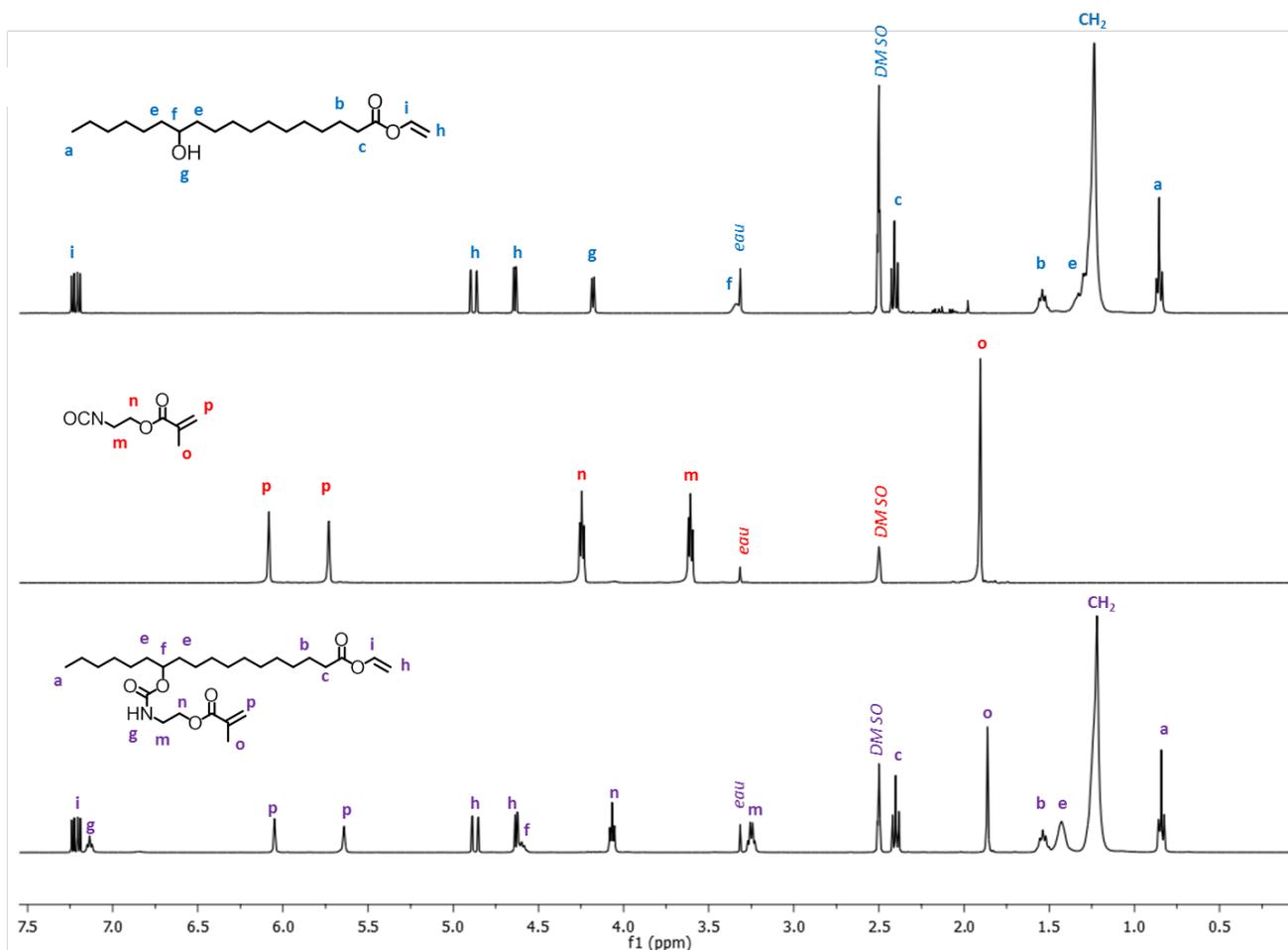


Figure 4 – Superposition des spectres RMN du HSV (haut), de l'IEMA (milieu), et du MASV dans le d_6 -DMSO

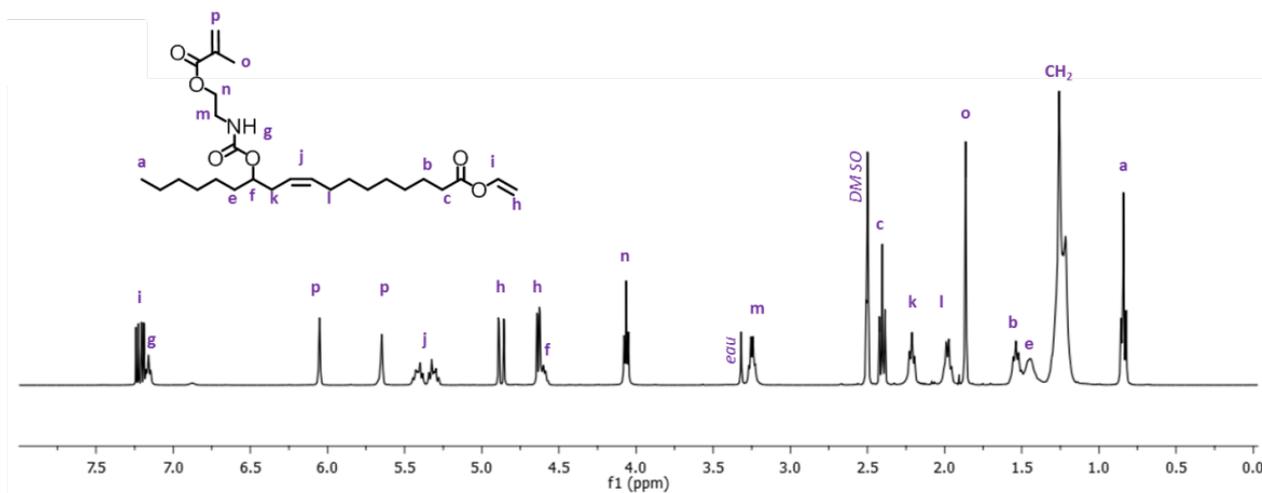


Figure 5 - Spectre RMN du MARV dans le d_6 -DMSO

1.2.2 Carbamation par l'IIPMS

La synthèse du *12-[uréthane N-(3-isopropenyle de α,α -diméthylbenzyle)] stéarate de vinyle* (MSSV) et du *12-[uréthane N-(3-isopropenyle de α,α -diméthylbenzyle)] ricinoléate de vinyle* (MSRV) ainsi que leur purification sont réalisées exactement dans les mêmes conditions et la réaction de carbamation est confirmée par RMN ^1H en suivant la même démarche (Figure 6 et 7). Les conversions sont quantitatives et aucun phénomène de gélification du milieu réactionnel n'a été observé.

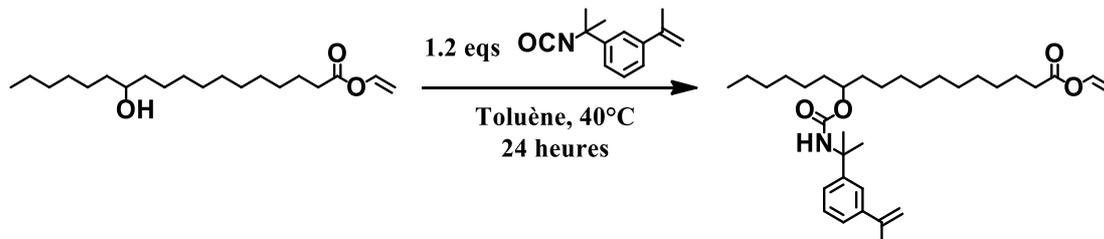


Schéma 10 – Réaction de carbamation entre le 12HSA et l'IIPMS

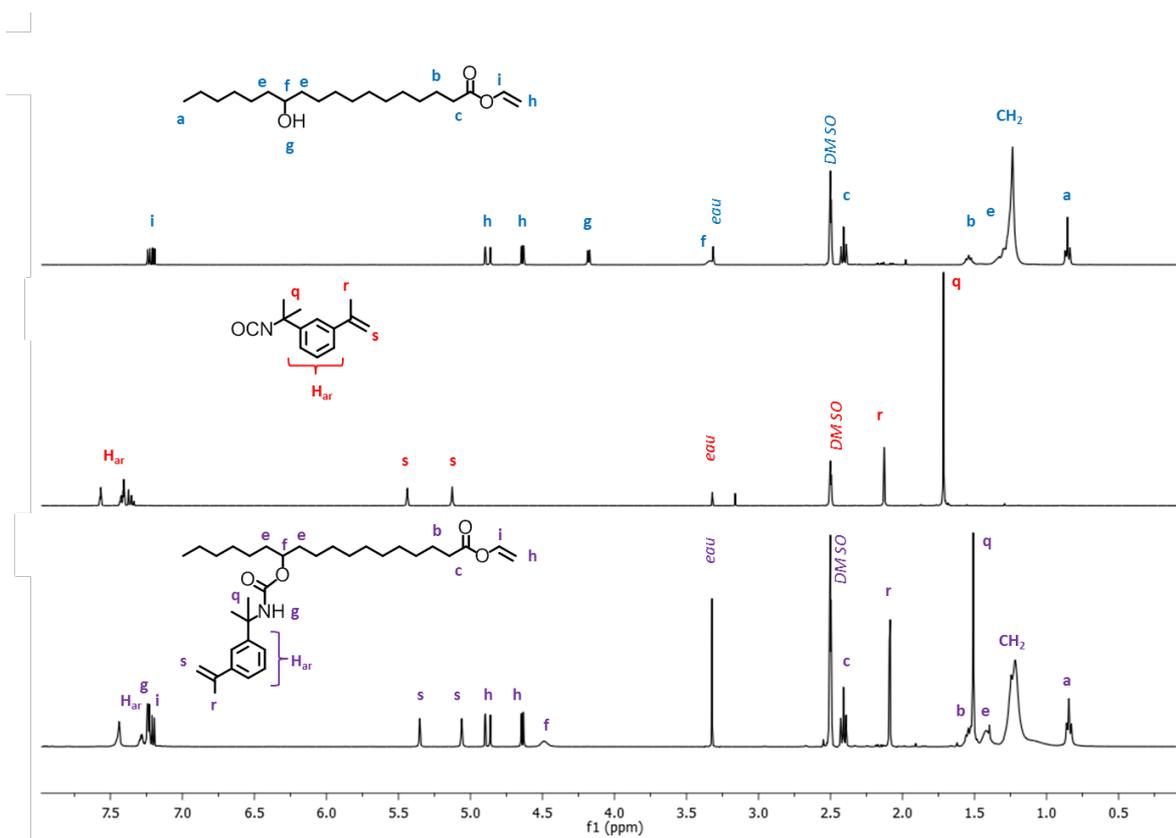


Figure 6 - Superposition des spectres RMN du 12HSV (haut), de l'IIPMS (milieu), et du MASV dans le d_6 -DMSO

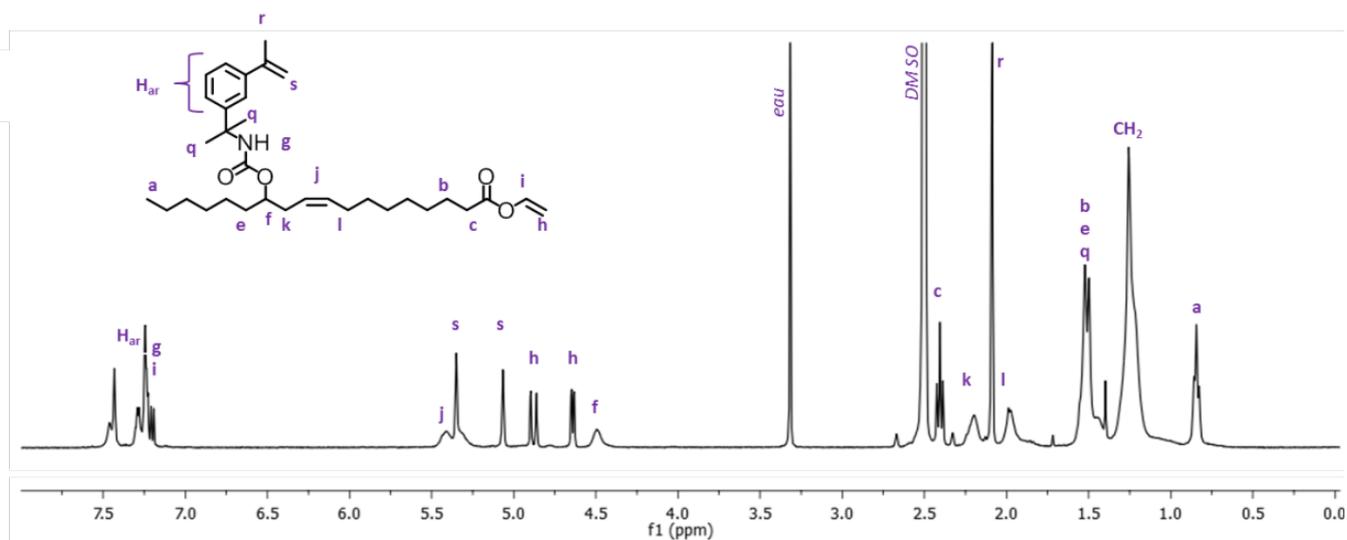


Figure 7 - Spectre RMN du MSVR dans le d_6 -DMSO

2. Synthèse de donneurs d'acyle porteurs d'un groupement vinylique pendent

Cette stratégie consiste à insérer des groupements acides carboxyliques supplémentaires sur les acides gras de départ par acylation du groupement hydroxyle par réaction avec des anhydrides cycliques. La transvinylation des diacides obtenus permet l'obtention de donneurs d'acyle activés porteurs d'une fonction ester de vinyle supplémentaire destinée à la polymérisation.

2.1 Insertion d'un groupement acide carboxylique supplémentaire

Une plate-forme de diacides gras ramifiés a été synthétisée à partir des acides ricinoléique et 12-hydroxystéarique par addition d'anhydride succinique ou maléique sur leur fonction alcool. Ces quatre intermédiaires, dont les structures sont présentées dans le Schéma 11 ci-après, ont été synthétisés suivant les conditions mises au point par Domb *et al.*^{18,19}

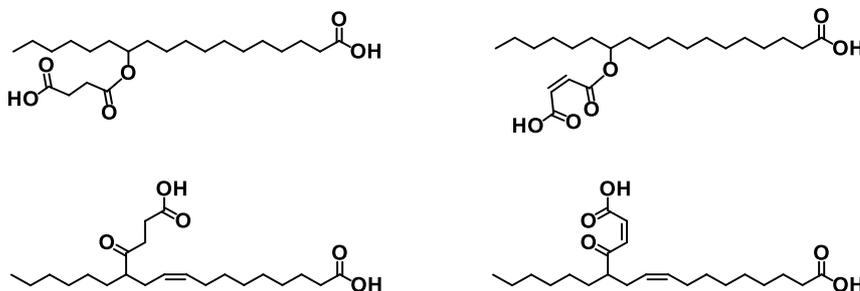


Schéma 11 - Plateforme de diacides synthétisés par acylation des acides ricinoléique et 12-hydroxystéarique par les anhydrides succinique et maléique. De gauche à droite : haut : SASA, MASA ; bas : SARA, MARA

2.1.1 Acylation de l'acide 12-hydroxystéarique

La réaction d'acylation est illustrée par le Schéma 12, en prenant pour exemple la synthèse de l'**acide 12-(succinate)-stéarique**.

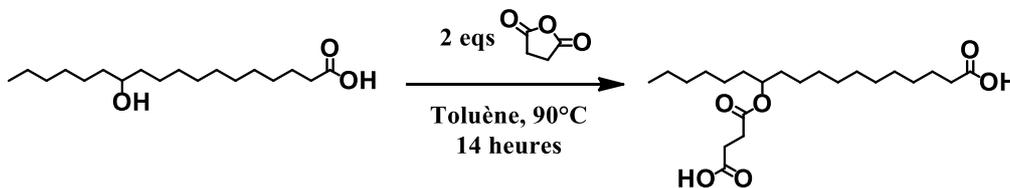


Schéma 12 – Synthèse du diacide (12-succinique) stéarique selon les travaux de Domb *et al.*^{18,19}

L'avancement des réactions est suivi par RMN ¹H. Une conversion totale de l'alcool est atteinte en 14 heures. A la fin de la réaction, l'anhydride en excès est éliminé par extraction à l'eau distillée et la phase organique contenant le diacide pur est concentrée sous vide à l'évaporateur rotatif. Le **diacide (12-succinique) stéarique** (SASA) est obtenu sous forme de cire blanche avec un rendement supérieur à 95%. L'acylation par l'anhydride succinique est confirmée par RMN ¹H (Figure 8) grâce à l'apparition d'un singulet correspondant aux protons succiniques à 2.45ppm (signal **t**) et le déplacement du quintuplet caractéristique du proton en position C12 de 3.5 ppm à 4.75 ppm (signal **f** sur le spectre). Aucune trace d'anhydride ou d'acide succinique résiduel, ou de condensation intermoléculaire de l'acide ricinoléique, n'est observée.

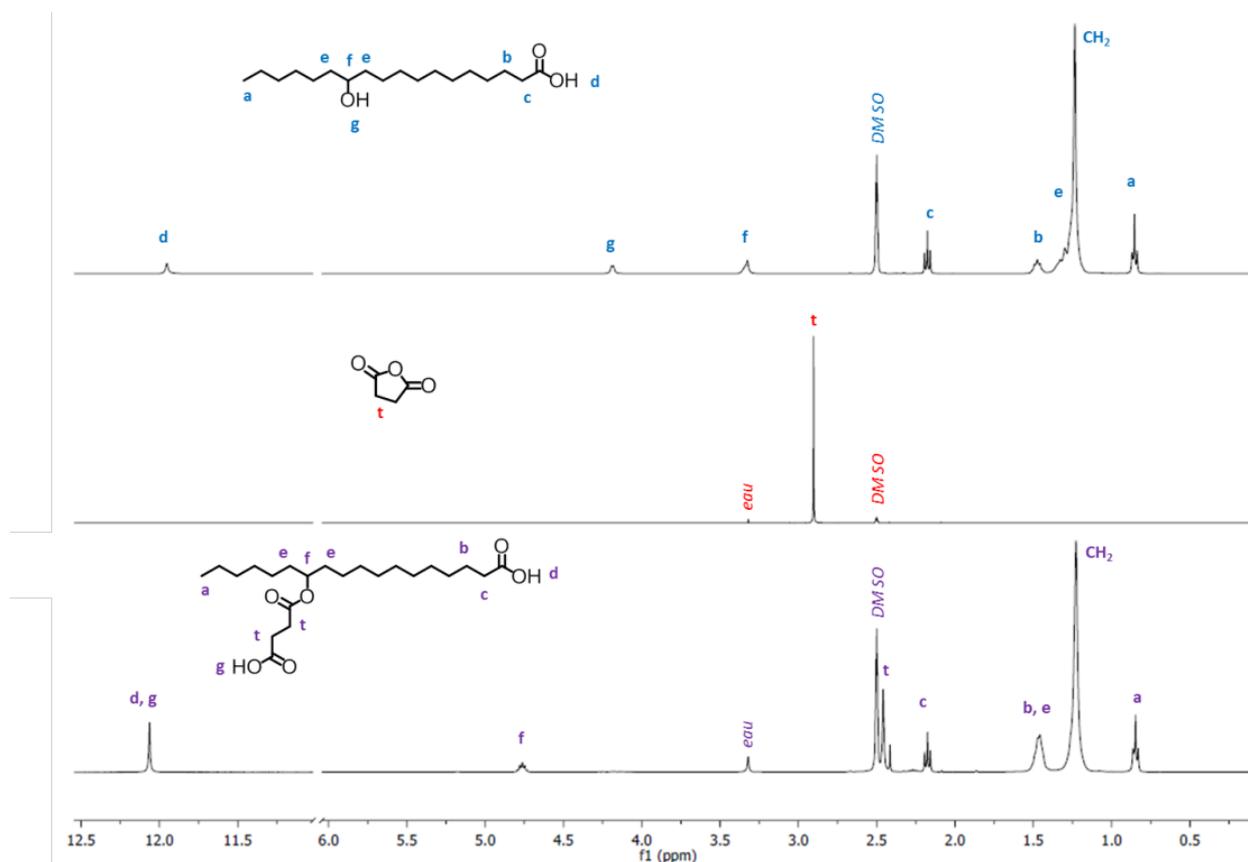


Figure 8 - Spectres RMN du 12HSA (haut), de l'anhydride succinique (centre) et du SASA (bas) dans le d₆-DMSO

L'acylation du 12HSA par l'anhydride maléique est réalisée dans les mêmes conditions et la réaction est confirmée par RMN ^1H suivant la même démarche. En particulier, seul le diacide de configuration *cis* est obtenu (Figure 9). Le **diacide (12-maléique) stéarique** (MASA) est isolé sous la forme d'une cire blanche avec un rendement de 95%. Jusqu'à 20 grammes de SASA et le MASA ont pu être synthétisés et purifiés sans réduction ni de la conversion ni du rendement.

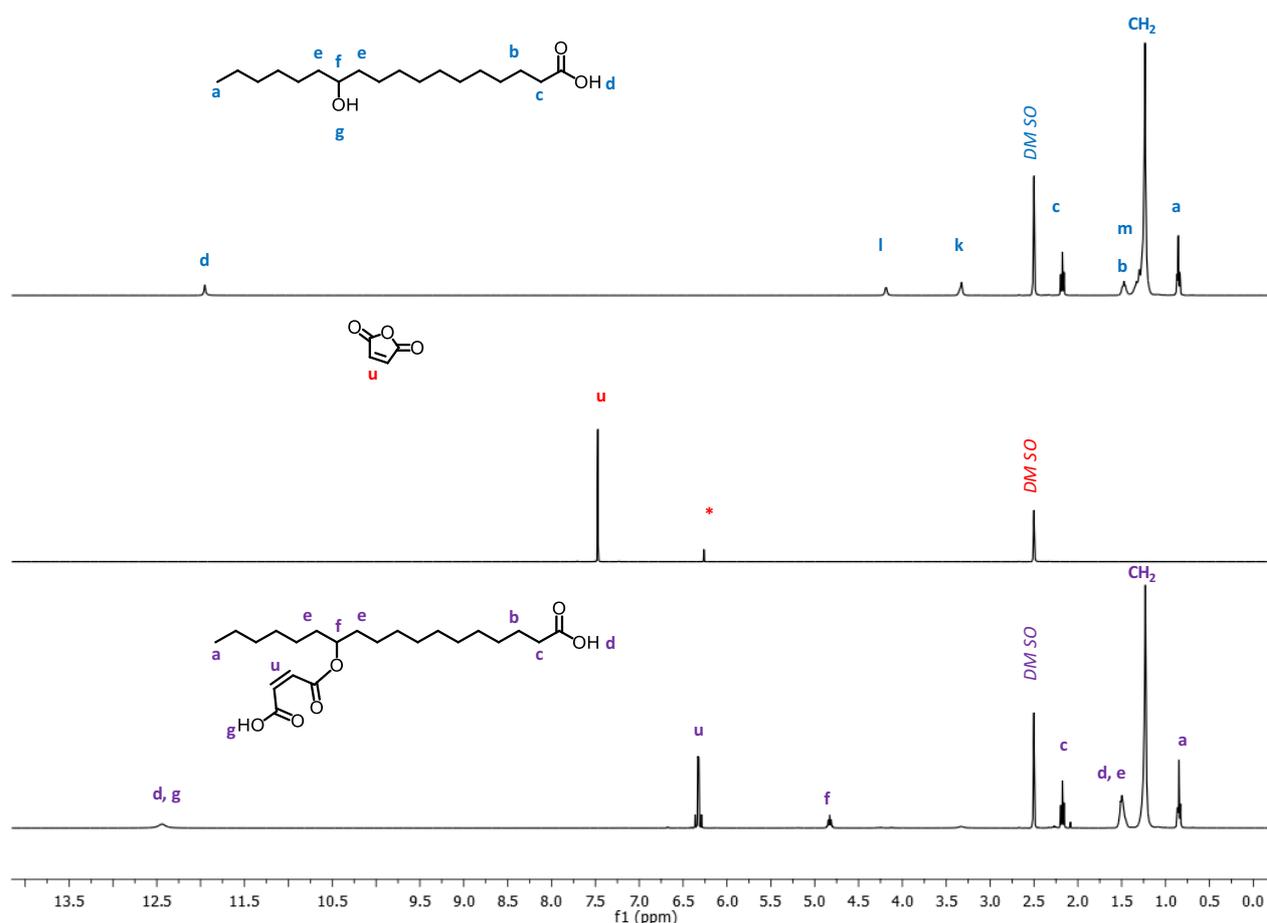


Figure 9- Spectres RMN du 12HSA (haut), de l'anhydride maléique (centre) et du MASA (bas) dans le d_6 -DMSO

2.1.2 Acylation de l'acide ricinoléique

L'acylation de l'acide ricinoléique est réalisée dans les mêmes conditions que celles du 12HSA. Le **diacide (12-succinique) ricinoléique** (SARA) et le **diacide (12-maléique) ricinoléique** (MARA) sont isolés avec des rendements de 95%, sous forme d'huiles extrêmement visqueuses qui figent avec le temps. Jusqu'à 20 grammes de ces deux intermédiaires ont pu être synthétisés sans réduction de la conversion ou du rendement. Les spectres RMN ^1H correspondants sont présentés dans la Figure 10.

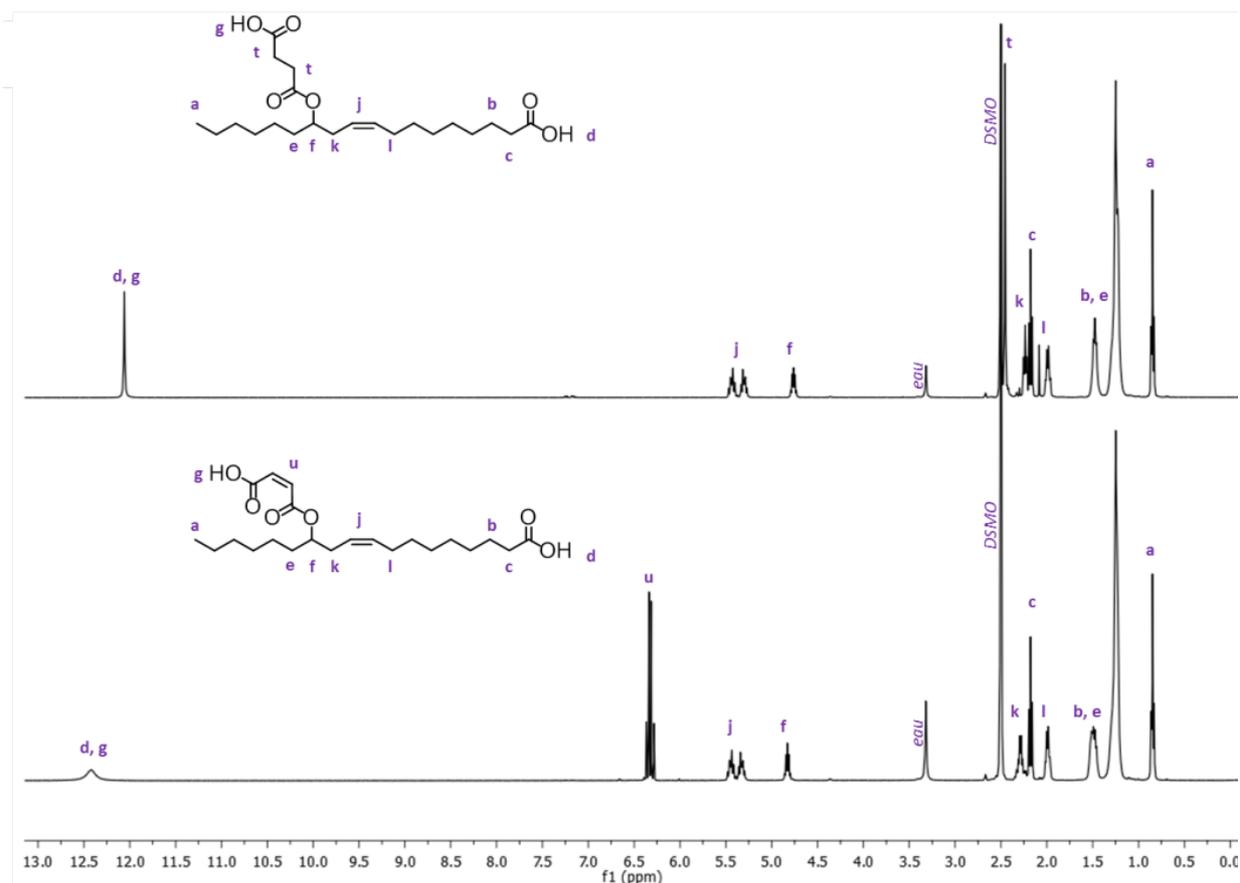


Figure 10 – Superposition des spectres RMN du SARA (haut) et du MARA (bas) dans le d_6 -DMSO

2.2 Double-transvinylation des diacides

Une double-transvinylation des quatre diacides gras synthétisés précédemment est alors effectuée afin d'obtenir une plate-forme de donneurs d'acyle activés polymérisables (Schéma 13). Cette étape permet d'une part d'activer le donneur d'acyle pour la synthèse enzymatique du glycolipide correspondant et d'autre part de fonctionnaliser l'acide succinique ou maléique afin d'introduire une fonction vinylique polymérisable.

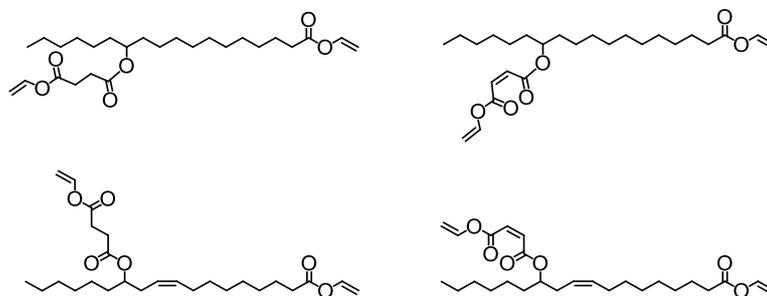


Schéma 13 – Plateforme de diesters de vinyles. De gauche à droite : haut : SVSV, SVMV ; bas : SVRV, MVRV

2.2.1 Transvinylation des diacides porteurs du groupement succinique

La double-transvinylation de l'*acide 12-(succinate)-stéarique* est catalysée par le diacétate de palladium en présence d'hydroxyde de sodium. Cette réaction est effectuée sous activation aux micro-ondes à 60°C. (Schéma 14)

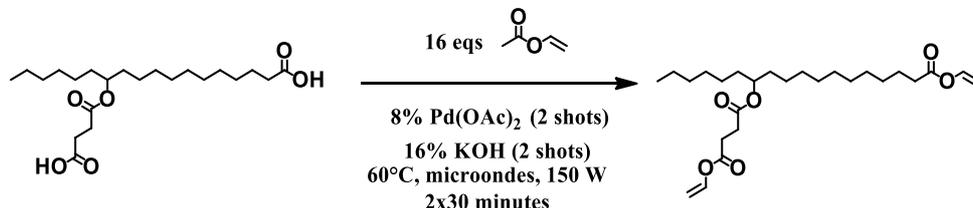


Schéma 14 - Transvinylation du diacide (12-succinique) stéarique

La moitié du diacétate de palladium et de l'hydroxyde de potassium est injectée au début de la réaction et l'autre moitié une demi-heure plus tard. Une conversion totale en diester de vinyle est observée par RMN ^1H . Le milieu réactionnel est alors filtré deux fois consécutives sur un lit de Célite afin d'éliminer le palladium métallique et l'hydroxyde de potassium et l'acétate de vinyle est éliminé à l'évaporateur rotatif. Le *12-(succinate de vinyle)-stéarate de vinyle* (SVSV) est isolé sous forme d'une huile jaunâtre avec un rendement de 90 à 95%.

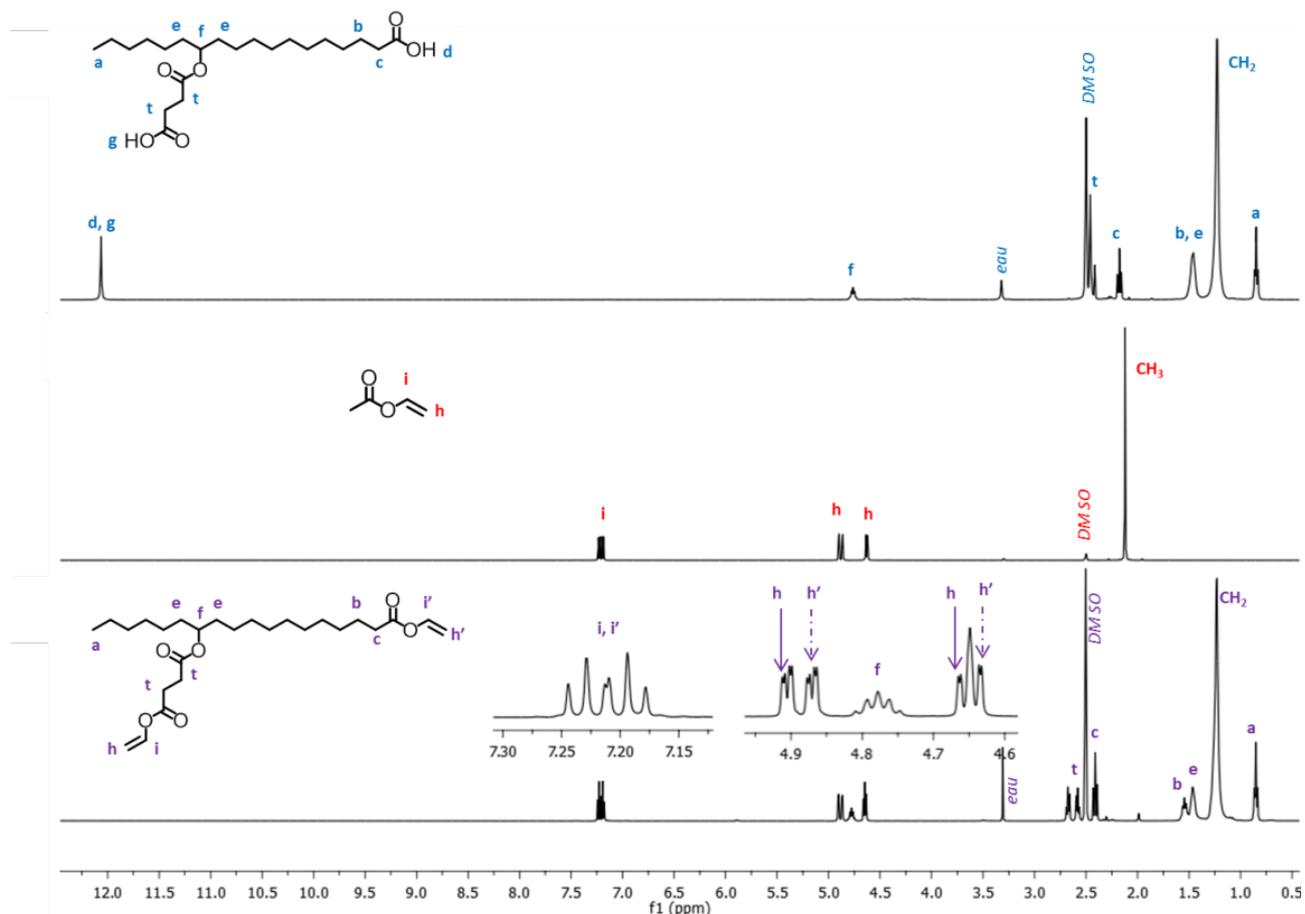


Figure 11 – Superposition des spectres RMN ^1H du SASA (haut), de l'acétate de vinyle (centre), et du SVSV (bas)

Le **12-(succinate de vinyle)-ricinoléate de vinyle (SVRV)** est synthétisé et purifié dans les mêmes conditions et isolé lui aussi avec un rendement de 90 à 95%. Le spectre RMN ^1H du SVRV purifié est présenté dans la Figure 13 ci-après.

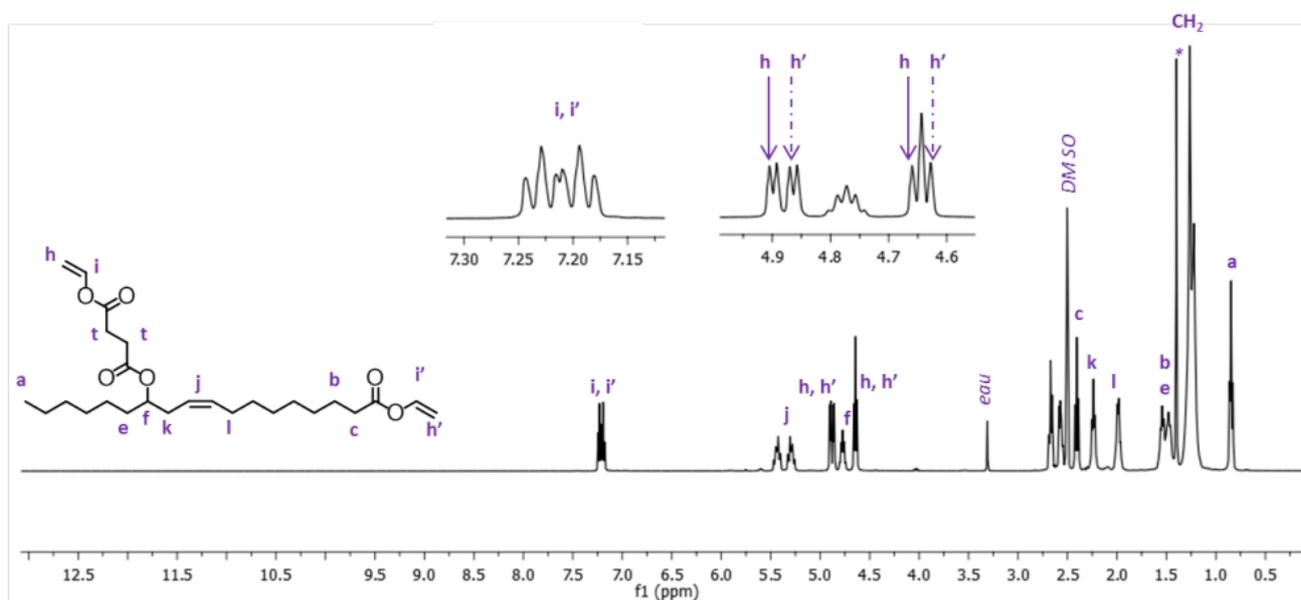


Figure 12 - Spectre RMN ^1H dans le DMSO- d_6 du SVRV

Le dimensionnement du micro-onde et de la verrerie adaptée ne permet pas de traiter plus de 4 grammes d'acides gras, mais la réaction de transvinylation dans effectuée les mêmes conditions sous chauffage conventionnel à l'aide d'une plaque chauffante a permis d'obtenir jusqu'à 20 grammes de SVSV et de SVRV sans perte de conversion ou de rendement.

2.2.2 Transvinylation des diacides porteurs du groupement maléique

L'acétate de palladium s'est révélé inefficace pour la catalyse de double-transvinylation du MASA et du MARA. L'anhydride maléique étant un ligand possible du palladium,²⁶ ces résultats sont probablement imputables à une chélation du palladium par les groupements maléates, causant ainsi sa désactivation. (Schéma 15)



Schéma 15 – Chélation du catalyseur métallique par le groupement maléique. M = Ir ou Pd ; Ln = ligands

Aussi, la synthèse des diesters de vinyle correspondants a été catalysée par le dimère de chlorure de cyclooctène d'iridium en appliquant les conditions mises au point par Vilela *et al.*²⁴ comme illustré dans le Schéma 16. La transvinylation est effectuée en présence de 1% de catalyseur par fonction acide, à 100°C à reflux sous atmosphère d'argon.

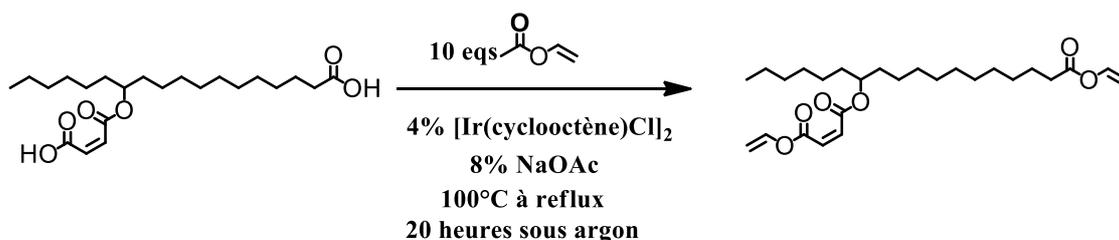


Schéma 16 – Double-transvinylation du MASA catalysée par le dimère de chlorure de cyclooctène d'iridium selon le travaux de Vilela *et al*²⁴

Après 20 heures de réaction, seulement 75% de l'acide stéarique et 25% de l'acide maléique sont convertis en esters de vinyle, là encore probablement suite à une chélation partielle de l'iridium par le groupement maléique. La transvinylation a alors été effectuée en doublant les quantités de catalyseurs et une transvinylation d'environ 90% des deux fonctions acides a été obtenue après 20 heures de réaction. La double transvinylation est confirmée par RMN ¹H, mais l'analyse du milieu réactionnel met cependant en évidence une isomérisation partielle de la double-liaison maléique : environ 8% de configuration trans (groupement fumarique) sont identifiables.

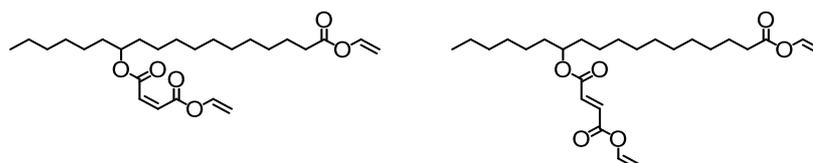


Schéma 17 – Structure des produits obtenus par transvinylation du MARA : isomérisation partielle de la double-liaison cis du groupement maléique

A la fin de la réaction, le milieu réactionnel est extrait par de l'eau distillée afin d'éliminer l'acétate de sodium, concentré à l'évaporateur rotatif et purifié par chromatographie flash (phase éluante : cyclohexane: acétate d'éthyle). Un mélange de diesters de vinyle composé de 92% de **12-(maléate de vinyle)-stéarate de vinyle** et de 8% de **12-(fumarate de vinyle)-stéarate de vinyle** est obtenu sous la forme d'une huile légèrement jaunâtre, avec un rendement de 54%. La légère différence de polarité entre ces deux diesters permet de les séparer par chromatographie flash pour isoler le divinyle de configuration *cis* (phase éluante : cyclohexane: acétate d'éthyle, avec un gradient de 99:1 à 97:3), mais au prix d'une chute du rendement de 54% à 32% ; aussi par la suite le mélange *cis/trans* sera conservé.

La formation du diester de vinyle est confirmée par RMN ¹H par l'apparition des signaux caractéristiques des protons vinyliques (signaux **h**, **i**, **h'** et **i'**) et la disparition des protons des acides carboxyliques (signaux **d** et **g**). La présence de groupements vinyle fumarate est mise en évidence par la présence du signal **u''**, correspondant à la double-liaison fumarique, alors que les signaux **h''** et **i''** attestent bien de la présence d'une troisième fonction vinylique (Figure 13). Toutes les attributions ont été confirmées par RMN du carbone ¹³C et RMN 2D (COSY et HSQC).

La transvinylation du diacide 12-maléique ricinoléique est effectuée dans les mêmes conditions et le mélange de **12-(maléate de vinyle)-ricinoléate de vinyle** et de **12-(fumarate de vinyle)-ricinoléate de vinyle** est isolé sous la forme d'une huile légèrement jaunâtre avec un rendement de 55%. Le spectre RMN de ce mélange est présenté dans la Figure 14.

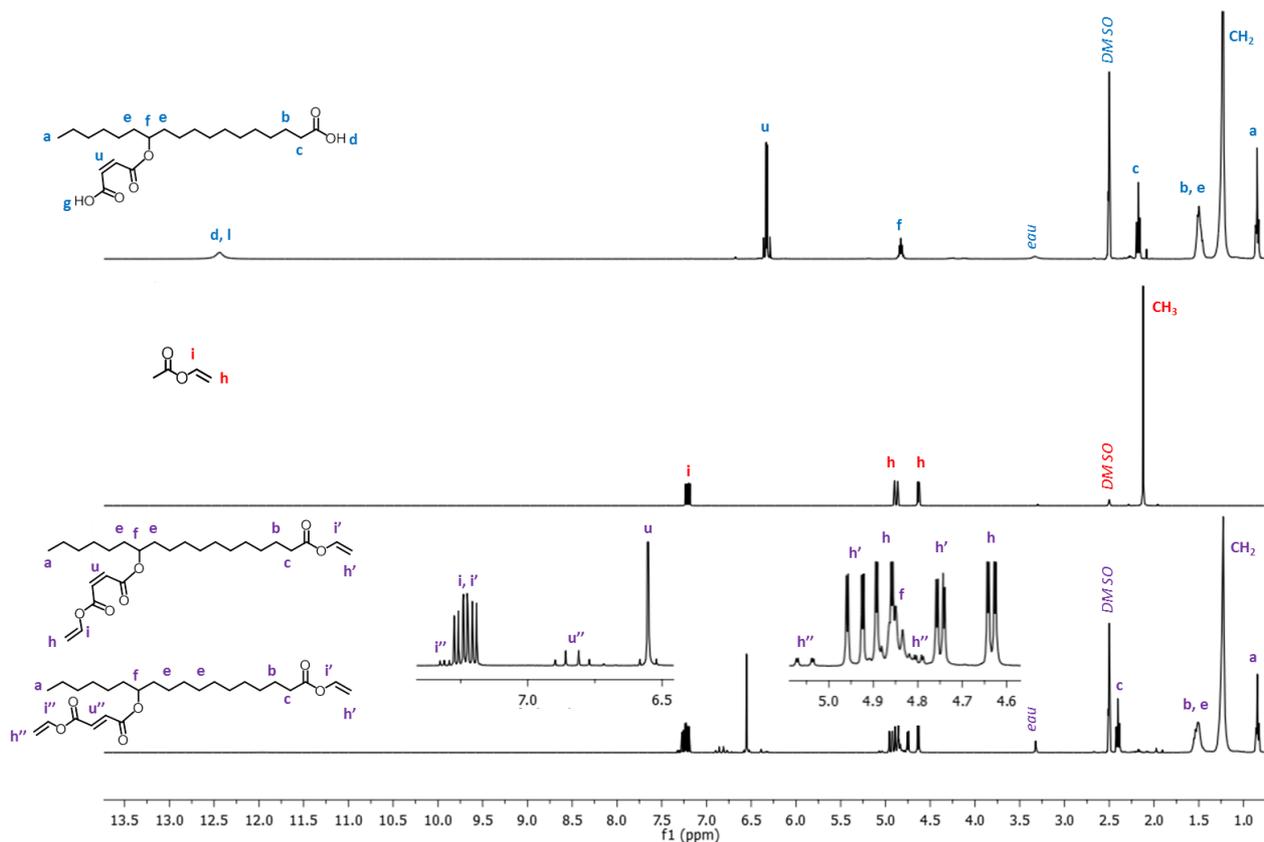


Figure 13 – Superposition des spectres RMN ¹H du MASA (haut), de l'acétate de vinyle (centre), et du mélange de MVSV et de FVSV (bas) dans le d₆-DMSO

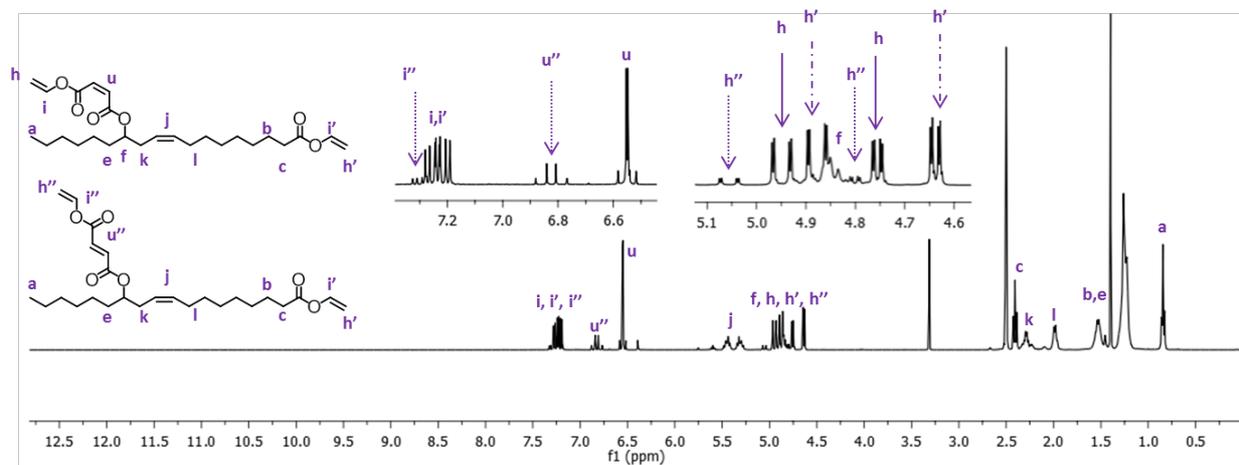


Figure 14 – Spectre RMN ¹H dans le d₆-DMSO du mélange de MVRV et de FVRV

3. Insertion du carbohydrate

Les huit donneurs d'acyle fonctionnalisés sont trans-estérifiés par le glucose sous catalyse enzymatique pour conduire aux glycolipides correspondants (Schéma 18)

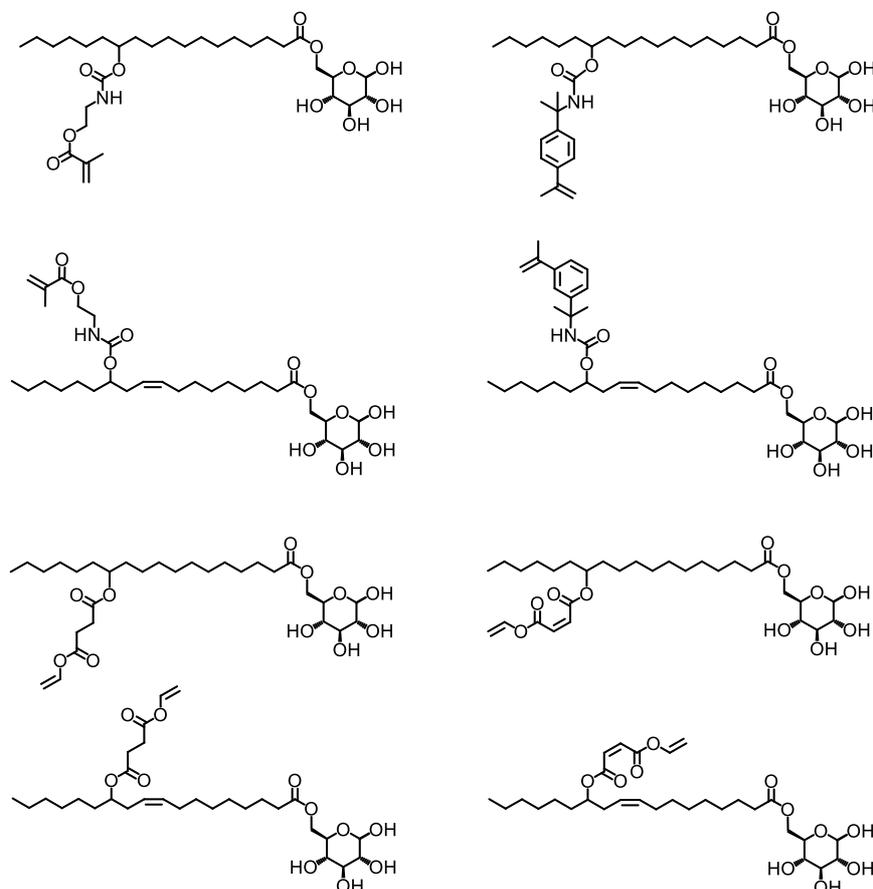


Schéma 18 – Structure des glycolipides synthétisés par transestérification des huit donneurs d'acyles synthétisés

Le SVSV, le MVSV, le SVRV et le MVRV possèdent deux fonctions ester de vinyle : une fonction stéarate de vinyle et une fonction succinate de vinyle, plus courte et plus encombrée de par sa structure ramifiée. Nous avons mis en évidence dans le Chapitre 2 une nette préférence de la CALB pour les donneurs d'acyle à longue chaîne linéaires peu encombrés. Aussi nous pouvons supposer que la transestérification du SVSV, du MVSV, du SVRV et du MVRV sous catalyse enzymatique conduira majoritairement aux esters de mono-glucose correspondants, en laissant les fonctions succinate de vinyle et maléate de vinyle intactes.

3.1 Application des conditions de synthèse de glycolipides mises au point

Les conditions opératoires optimisées dans le Chapitre 2 consistent à trans-estérifier le donneur d'acyle par un équivalent de glucose dans l'acétonitrile anhydre, en présence de 22,2 mg de CALB supportée par mmol de substrat. Afin de pallier la gêne stérique potentiellement causée par la structure ramifiée des donneurs d'acyle, la réaction a été effectuée à 60°C. Le Schéma 19 illustre, à titre d'exemple, la synthèse du **12-(succinate de vinyle)-stéarate de 6-O-glucose** (SVSG) dans ces conditions.

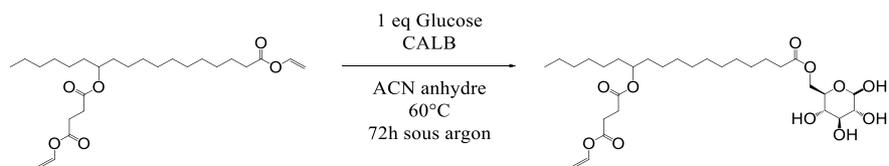


Schéma 19 – Synthèse de glycolipide à partir du SVSV comme donneur d'acyle

Les huit monomères sont tous synthétisés dans les mêmes conditions. Comme attendu, pour les quatre donneurs d'acyle issu de la deuxième plateforme, les fonctions succinate de vinyle et maléate de vinyle demeurent complètement intactes, seule la fonction stéarate ou ricinoléate de vinyle est transestérifiée. La formation des glycolipides est confirmée par RMN ^1H .

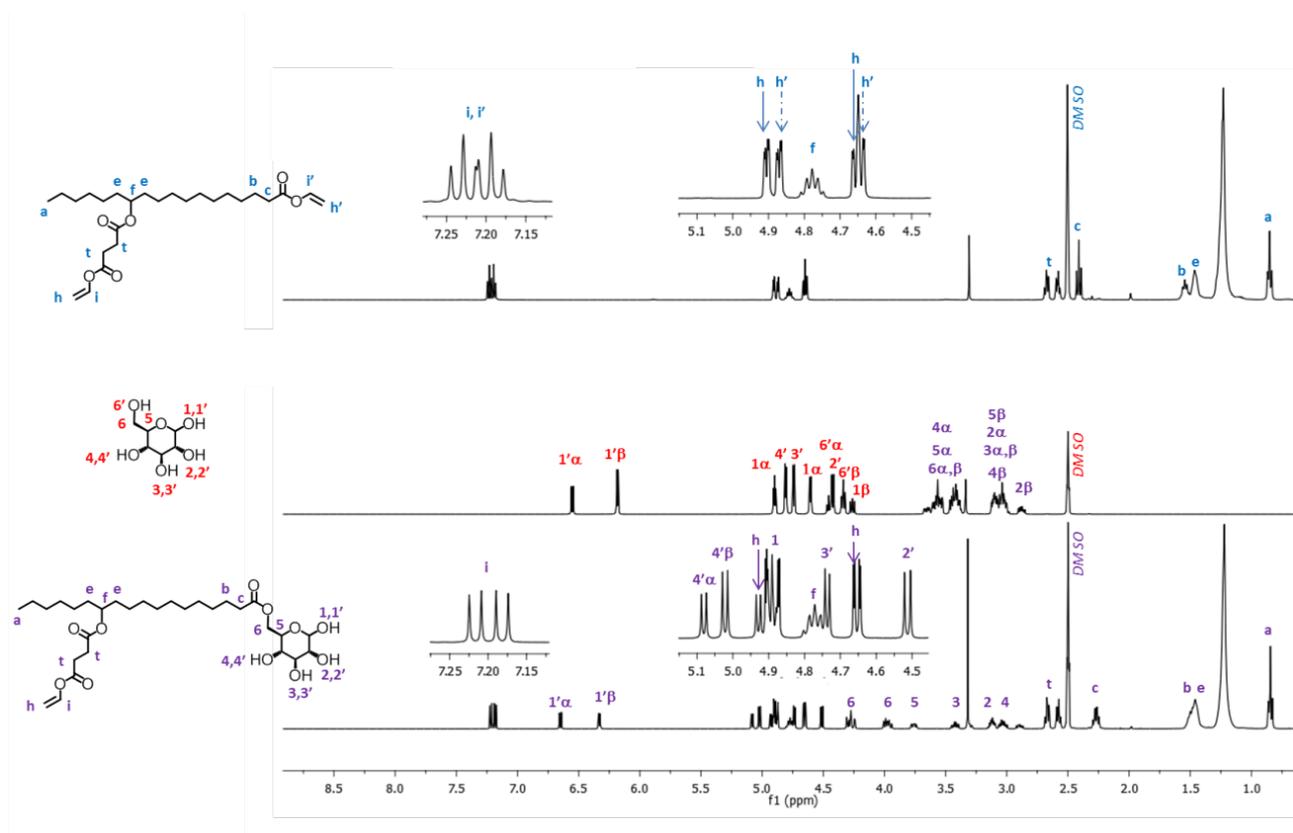


Figure 15 – Superposition des spectres RMN ^1H dans le d_6 -DMSO du SVSV (haut), du glucose (centre) et du SVSG (bas)

La

Figure 15 expose à titre d'exemple le spectre RMN du SVSG. L'apparition des signaux caractéristiques de la partie glucose, le déplacement de 2,40 ppm à 2,26 ppm du signal du CH_2 en α de la fonction carbonyle (signal **c**), et la préservation des signaux **t**, **h** et **i** caractéristiques du groupement succinate prouvent la mono-transestérification par le glucose du SVSV. A la fin de la réaction, le milieu réactionnel est filtré afin d'éliminer la majorité du glucose résiduel et la CALB supportée. La partie soluble, composée du glycolipide, de traces de glucose et de donneur d'acyle, est concentrée à l'évaporateur rotatif puis purifiée par chromatographie flash (phase éluante : DCM:acétate d'éthyle:méthanol). La Figure 16 présente les spectres RMN ^1H de quelques glycolipides après purification. Toutes les attributions ont été confirmées par RMN ^{13}C et RMN 2D (COSY, HSQC et HMBC). Les spectres RMN COSY et HSQC du SVSG et du MASG sont présentés dans l'Annexe 2 à titre d'exemple.

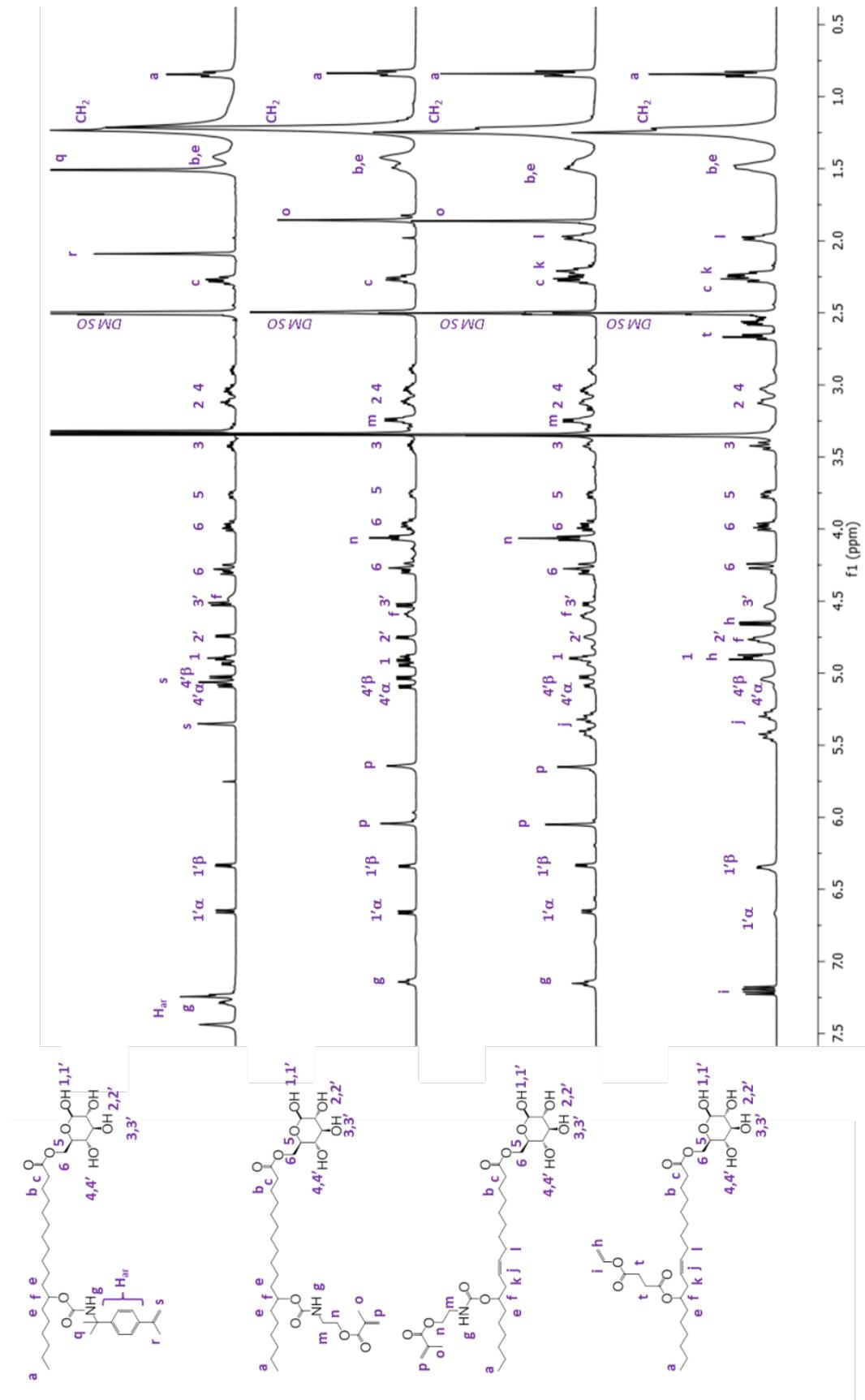


Figure 16 - Superposition des spectres RMN ¹H dans *d*₆-DMSO de plusieurs monomères glycolipidiques. De haut en bas : MSSG, MASG, MARV, SVRG

3.2 Optimisation des conditions réactionnelles

L'analyse des milieux réactionnels après 72 heures par RMN ^1H met en évidence des conversions en glycolipides allant de 70% à 85% seulement, probablement à cause d'un trop grand encombrement stérique. Pour augmenter les conversions, deux possibilités se présentent : la première consiste à injecter un des deux réactifs en excès, la deuxième à augmenter la quantité de CALB. Leur obtention nécessitant deux étapes de synthèse successives, un excès des donneurs d'acyle n'a pas été considéré. De même, en raison de son coût, il n'a pas été jugé intéressant d'augmenter la quantité de CALB. Il a donc été décidé d'injecter le glucose en excès afin d'augmenter les conversions. Le Tableau 2 présente le récapitulatif des quantités de glucose testées et des conversions en glycolipide obtenues :

Donneur d'acyle	1 Glucose	2 Glucose	3 Glucose	4 Glucose
SVSV	85	>95	-	-
MVSV	83	>95	-	-
SVRV	70	>95	-	-
MVRV	73	>95	-	-
MASV	73	94	94	-
MSSV	83	80	87	63
MARV	-	90	-	-
MSRV	83	82	-	-

Tableau 2 – Influence de la quantité de glucose sur la conversion en glycolipides des donneurs d'acyle fonctionnalisés

Pour tous donneurs d'acyles testés à l'exception du MSSV et du MSRV, des taux de glycosylations supérieurs à 90% sont obtenus en 72 heures en présence de 2 équivalent de glucose. Les fonctions succinate de vinyle et maléate de vinyle demeurent là encore intactes. Le groupement α -méthylstyrène fait de ces donneurs d'acyle les plus encombrés, et la gêne stérique ne semble pas pouvoir être compensée par un excès de glucose. Afin de vérifier cette hypothèse la trans-estérification du MSSV a également été réalisée en présence de 3 et 4 équivalents de glucose. La conversion en glycolipide augmente jusqu'à 87% en présence de 3 équivalents de glucose mais chute à 63% en présence de 4 équivalents de glucose, sans doute suite à un phénomène de saturation du site actif de la CALB causé par un trop gros excès du sucre. Aussi, il a été décidé de conserver un ratio glucose/donneur d'acyle de 2 pour la synthèse de nos monomères. Les glycolipides sont alors isolés avec des rendements de 60 à 70%.

III. CONCLUSION

Huit monomères glycolipidiques ont été synthétisés à partir de glucose et de deux dérivés de l'huile de ricin : l'acide ricinoléique et l'acide 12-hydroxystéarique. Une étude des différentes modifications chimiques possibles de ces deux substrats, ainsi que la nécessité d'insérer des groupements polymérisables pendants relativement éloignés de la chaîne grasse afin de minimiser la gêne stérique des monomères, nous ont permis de dégager deux stratégies de synthèse différentes, comparées en détail dans le Tableau 3 ci-après.

La première stratégie a consisté à introduire des groupements méthacryloyle et méthastyrényle par carbamation des hydroxyles des acides gras. La transvinylation préalable des acides gras a pu être effectuée sur 20 grammes, avec un rendement de 95% pour le 12HSV et de 53% pour le RV, mais la carbamation par l'IEMA est limitée par des phénomènes de gélification du milieu réactionnel et ne peut être effectuée sur plus de 3 grammes d'esters de vinyle. En revanche, aucune limitation n'a été observée pour la carbamation par l'IIPMS. Les rendements obtenus pour cette deuxième étape sont de 65 à 70%. Les taux de transestérification des donneurs d'acyle obtenus par le glucose s'élèvent quant à eux à 90% et plus à l'exception du MSSG ; les glycolipides correspondants sont isolés avec un rendement de 60% à 70%. Le rendement total de cette voie de synthèse par rapport aux acides gras de départ est donc d'environ 41% en partant du 12HSA et d'environ 23% en partant de l'acide ricinoléique. Malgré de nombreuses tentatives d'optimisation, ces résultats n'ont pas pu être améliorés plus que cela ; la formation de sous-produits lors de la transvinylation de l'acide ricinoléique fait chuter le rendement global des synthèses et la formation de gels lors de l'emploi d'IEMA limite la production de monomères en grandes quantités.

Une deuxième stratégie a alors été développée, consistant à acyler les hydroxyles des acides gras à partir des anhydrides succinique et maléique, puis à effectuer une transvinylation des diacides ainsi formés. La transestérification des diesters de vinyle catalysée par la CALB a conduit exclusivement à l'obtention d'esters de mono-glucose, en laissant les fonctions succinate de vinyle et maléate de vinyle intactes. Les deux premières étapes de synthèse ont pu être réalisées sur 20 grammes de réactifs. Le rendement total de cette voie de synthèse par rapport aux acides gras de départ est donc d'environ 59% en partant de l'anhydride succinique et d'environ 34% en partant de l'acide maléique. Cette deuxième stratégie a donc permis de synthétiser des monomères glycolipidiques dans des conditions plus faciles, dans de plus grandes quantités et de meilleurs rendements globaux que la première.

Chapitre 3 – Conception de nouveaux monomères glycolipidiques

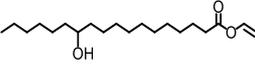
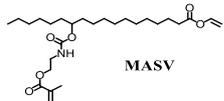
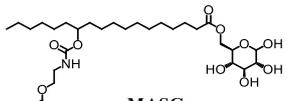
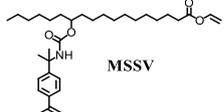
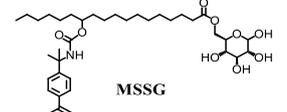
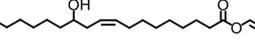
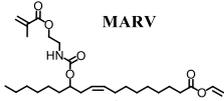
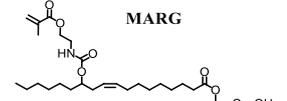
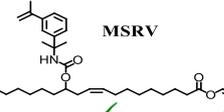
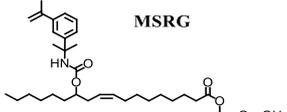
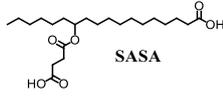
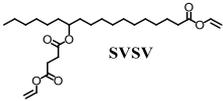
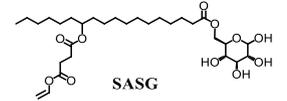
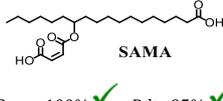
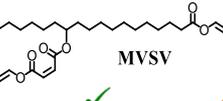
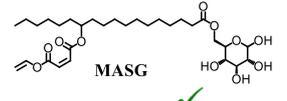
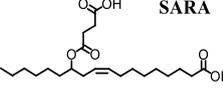
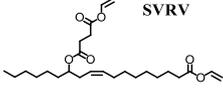
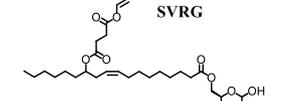
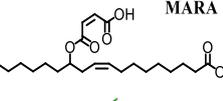
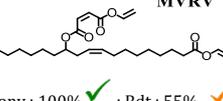
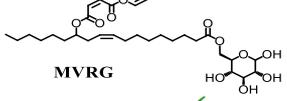
Monomère	Acylation	Transvinylation	Carbamation	Glycosylation
1		<p align="center">HSV</p>  <p>Conv : 100% ✓ ; Rdt : 95% ✓ Synth : 20g ✓ ; Purif : 20g ✓</p>	<p align="center">MASV</p>  <p>Conv : 100% ✓ ; Rdt : 67% ✓ Synth : 3g max ✗ ; Purif : 15g ✓</p>	<p align="center">MASG</p>  <p>Conv : 90% ✓ ; Rdt : 60-70% ✓ Synth : 5g max ✓ ; Purif : 15g ✓</p>
2			<p align="center">MSSV</p>  <p>Conv : 100% ✓ ; Rdt : 67% ✓</p>	<p align="center">MSSG</p>  <p>Conv : 80% ✓ ; Rdt : 60-70% ✓ Synth : 5g max ✓ ; Purif : 15g ✓</p>
3		<p align="center">RV</p>  <p>Conv : 90% ✓ ; Rdt : 53% ✓ Synth : 20g ✓ ; Purif : 10g ✓</p>	<p align="center">MARV</p>  <p>Conv : 100% ✓ ; Rdt : 67% ✓ Synth : 2g max ✗ ; Purif : 15g ✓</p>	<p align="center">MARG</p>  <p>Conv : 100% ✓ ; Rdt : 60-70% ✓ Synth : 3g max ✓ ; Purif : 15g ✓</p>
4			<p align="center">MSRV</p>  <p>Conv : 100% ✓ ; Rdt : 67% ✓</p>	<p align="center">MSRG</p>  <p>Conv : 100% ✓ ; Rdt : 60-70% ✓</p>
5	<p align="center">SASA</p>  <p>Conv : 100% ✓ ; Rdt : 95% ✓ Synth : 20g ✓ ; Purif : 20g ✓</p>	<p align="center">SVSV</p>  <p>Conv : 100% ✓ ; Rdt : 92% ✓ Synth : 20g ✓ ; Purif : 20g ✓</p>		<p align="center">SASG</p>  <p>Conv : 100% ✓ ; Rdt : 60-70% ✓ Synth : 5g max ✓ ; Purif : 15g ✓</p>
6	<p align="center">SAMA</p>  <p>Conv : 100% ✓ ; Rdt : 95% ✓ Synth : 20g ✓ ; Purif : 20g ✓</p>	<p align="center">MVSV</p>  <p>Conv : 100% ✓ ; Rdt : 55% ✓ Synth : 20g ✓ ; Purif : 20g ✓</p>		<p align="center">MASG</p>  <p>Conv : 100% ✓</p>
7	<p align="center">SARA</p>  <p>Conv : 100% ✓ ; Rdt : 95% ✓ Synth : 20g ✓ ; Purif : 20g ✓</p>	<p align="center">SVRV</p>  <p>Conv : 100% ✓ ; Rdt : 92% ✓ Synth : 20g ✓ ; Purif : 20g ✓</p>		<p align="center">SVRG</p>  <p>Conv : 100% ✓ ; Rdt : 60-70% ✓ Synth : 5g max ✓ ; Purif : 15g ✓</p>
8	<p align="center">MARA</p>  <p>Conv : 100% ✓ ; Rdt : 95% ✓ Synth : 20g ✓ ; Purif : 20g ✓</p>	<p align="center">MVRV</p>  <p>Conv : 100% ✓ ; Rdt : 55% ✓ Synth : 20g ✓ ; Purif : 20g ✓</p>		<p align="center">MVRG</p>  <p>Conv : 100% ✓</p>

Tableau 3 – Récapitulatif et comparaison des différentes étapes de synthèse de chaque monomère.

✓ Très bon résultat ; ✓ Résultat convenable ; ✗ Résultat limitant

IV. BIBLIOGRAPHIE

- [1] Gaginella T.S., Capasso F., Mascolo N. and Perilli S., «Castor oil : new lessons from an ancient oil», *Phytother. Res.*, vol. 12, pp. 128-130, **1998**.
- [2] Mckeen T., *Industrial Oil Crops*, Elsevier Science, **2016**.
- [3] Quinchia L. A., Delgado M. A., Reddyhoff T., Gallegos C. and Spikes H. A., «Tribological studies of potential oil-based lubricants containing environmentally friendly viscosity modifiers.», *Tribol. Int.*, vol. 69, pp. 110-117, **2014**.
- [4] Garcia-Zapateiro L. A., Valencia C. and Franco J. M., «Formulation of lubricating greases from renewable basestocks and thickener agents: A rheological approach», *Ind. Crops Prod.*, vol. 54, pp. 115-121, **2014**.
- [5] Sanchez R., Franco J. M., Delgado M. A., Valencia C. and Gallegos C., «Development of new green lubricating grease formulations based on cellulosic derivatives and castor oil», *Green Chem.*, vol. 11, pp. 686-693, **2009**.
- [6] Wypych G., *Handbook of Plasticizers*, ChemTec Publishing, Toronto, **2012**.
- [7] Johnson W., «Final report on the safety assessment of Ricinus communis (castor) seed oil, hydrogenated castor oil, glyceryl ricinoleate, glyceryl ricinoleate SE, ricinoleic acid, potassium ricinoleate, sodium ricinoleate, zinc ricinoleate, cetyl ricinoleate, ethyl ricinoleate, glycol ricinoleate, isopropyl ricinoleate, methyl ricinoleate, and octyldodecyl ricinoleate», *Int. J. Toxicol.*, vol. 26 (Suppl. 3), pp. 31-77, **2007**.
- [8] Kuppala R., Govindarajan M., Tambat R., Patel N., Nandanwar H., Bhutani K. K. and Kartha K. P. R., «Synthesis and antibacterial activity of ricinoleic acid glycosides», *RCS Adv.*, vol. 6, pp. 3700-3713, **2016**.
- [9] Konishi M., Fukuoka T., Shimane Y., Mori K., Nagano Y., Ohta Y., Kitamoto D. and Hatada Y., «Biochemical synthesis of novel, self-assembling glycolipids from ricinoleic acid by a recombinant alpha-glucosidase from Geobacillus sp.», *Biotechnol. Lett.*, vol. 33, pp. 139-145, **2011**.
- [10] Jachmanian I., Shulte E. and Mukherjee K. D., «Substrate selectivity in esterification of less common fatty acids catalysed by lipases from different sources», *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 44, pp. 563-567, **1996**.
- [11] Horchani H., Bouaziz A., Gargouri Y. and Sayari A., «Immobilized Staphylococcus xylosus lipase-catalyzed synthesis of ricinoleic acid esters», *J. Mol. Cat. B: Enzymatic*, vol. 75, pp. 35-42, **2012**.
- [12] Testud B., «Les huiles végétales comme plateforme pour la conception de nouveaux polyesters hyper-ramifiés», *Thèse de doctorat en polymères, Université de Bordeaux*, **2015**.
- [13] Salimon J., Salih N. and Yousif E., «Synthetic biolubricant basestocks from epoxidized ricinoleic acid: improved low temperature properties», *Kem. Ind.*, vol. 60 (3), p. 127, **2011**.
- [14] Salimon J., Salih N. and E. Yousif, «Synthesis and characterization of esters derived from ricinoleic acid and evaluation of their low temperature property», *Sains Malaysiana*, vol. 41 (10), p. 1239, **2012**.
- [15] Dantas Costa I., de Oliveira Wanderley Neto A., Fernanda Oliveira da Silva H., Perin Moraes E., Thamyris Damascena Npbrega E., Sant'Anna C., Eugenio M. and da Silva Gasparotto L. H., «Dual role of a ricinoleic acid derivative in the aqueous synthesis of silver nanoparticles», *J. Nanomater.*, vol. 2017, **2017**.

- [16] Guzman A. F., Echeverri D. A. and Rios L. A., «Carbonation of epoxidized castor oil: a new bio-based building block for the chemical industry», *J. Chem.Technol. Biotechnol.*, vol. 92 (5), p. 1104, **2016**.
- [17] Aldrich S. and Reuter L. F., «Acylation of hydroxylated esters», US 2500918, **1950**.
- [18] Domb A. J. and Nudelman R., «Biodegradable polymers derived from natural fatty acids», *J. Polym. Sci. A: Polym. Chem.*, vol. 33 (4), pp. 717-725, **1995**.
- [19] Teomim D., Nyska A. and Domb A. J., «Ricinoleic acid-based biopolymers», *J. Biomed. Mater. Res.*, vol. 45 (3), pp. 258-267, **1999**.
- [20] Dupé A., Achard M., Fischmeister C. and Bruneau C., «Methyl ricinoleate as platform chemical for simultaneous production of fine chemicals and polymer precursors», *ChemSusChem*, vol. 5 (11), p. 2249, **2012**.
- [21] Berdeaux O., Christie W. W., Gunstone F. D. and Sebedio J.L., «Large-scale synthesis of methyl cis-9,trans-11-octadecadienoate from methyl ricinoleate», *JAACS*, vol. 74 (8), pp. 1011-1015, **1997**.
- [22] Black M. and Rawlins J. W., «Thiol-ene UV-curable coatings using vegetable oil macromonomers», *Eur. Polym. J.*, vol. 45, pp. 1433-1441, **2009**.
- [23] Ferreira P., Pereira R., Coelho J. F. J., Silva A. F. M. and Gil M. H., «Modification of the biopolymer castor oil with free isocyanate groups to be applied as bioadhesive», *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 40, pp. 144-152, **2007**.
- [24] Vilela C., Rua R., Silvester J. D. et Gandini A., «Polymers and copolymers from fatty acid-based monomers», *Ind.Crops Prod.*, vol. 32, pp. 97-104, **2010**.
- [25] Barbara I., Birot M., Bismarck A. and Deleuze H., «Preparation of divinyl esters by transvinilation between vinyl acetate and dicarboxylic acids», *ARKIVOC*, vol. 2016, pp. 23-35, **2016**.
- [26] Takacs J. M. and Leonov A. P. , «Bis(triphenylphosphine)(maleic anhydride)Palladium(0)», e-EROS, **2002**.

CHAPITRE 4

Synthèse de nouveaux polymères glycolipidiques, Partie 1 :
Polymérisation des monomères de la Plateforme 1

CHAPITRE 4 – Synthèse de nouveaux polymères glycolipidiques, Partie 1 : Polymérisation des monomères de la Plateforme 1

I. Introduction	- 157 -
II. Etude de l'homopolymérisation des monomères	- 158 -
1. Homopolymérisation des monomères glycolipidiques	- 158 -
2. Polymérisation de monomères modèles	- 160 -
III. Copolymerisation avec l'acétate de vinyle	- 163 -
1. Rapports de réactivité	- 163 -
2. Copolymérisation de l'AcV et du SVSG employés au ratio 90/10	- 164 -
3. Copolymérisation de l'acétate de vinyle et du SVSG employés à différents ratios	- 166 -
3.1 Conversions des monomères : influence de la composition du copolymère	- 167 -
3.2 Propriétés des copolymères synthétisés	- 168 -
3.2.1 Distributions des masses molaires	- 168 -
3.3.2 Propriétés thermiques	- 169 -
4. Application aux autres monomères synthétisés	- 171 -
4.1 Cas des monomères SVRG et SVEMSG, porteur de la fonction succinate de vinyle	- 172 -
4.2 Cas des monomères MVSG et MVRG porteurs de la fonction maléate de vinyle	- 175 -
4.2.1 Synthèse des copolymères	- 175 -
4.2.2 Caractérisation des copolymères : mise en évidence de la réticulation	- 176 -
4.2.3 Propriétés thermiques	- 178 -
4.3 Conclusion	- 180 -
IV. Conclusion	- 181 -
V. Bibliographie	- 182 -

I. INTRODUCTION

Huit monomères glycolipidiques, regroupés en deux familles, ont été synthétisés et isolés. Une première famille a été obtenue en fonctionnalisant l'acide ricinoléique et le 12HSA par une réaction de carbamation, afin d'introduire des groupements méthacryloyles et α -méthylstyrène. Une deuxième famille a été synthétisée en introduisant des groupements succinate de vinyle et maléate de vinyle le long de la chaîne des acides gras. Les structures de ces huit monomères sont rappelées dans le Schéma 1 ci-dessous :

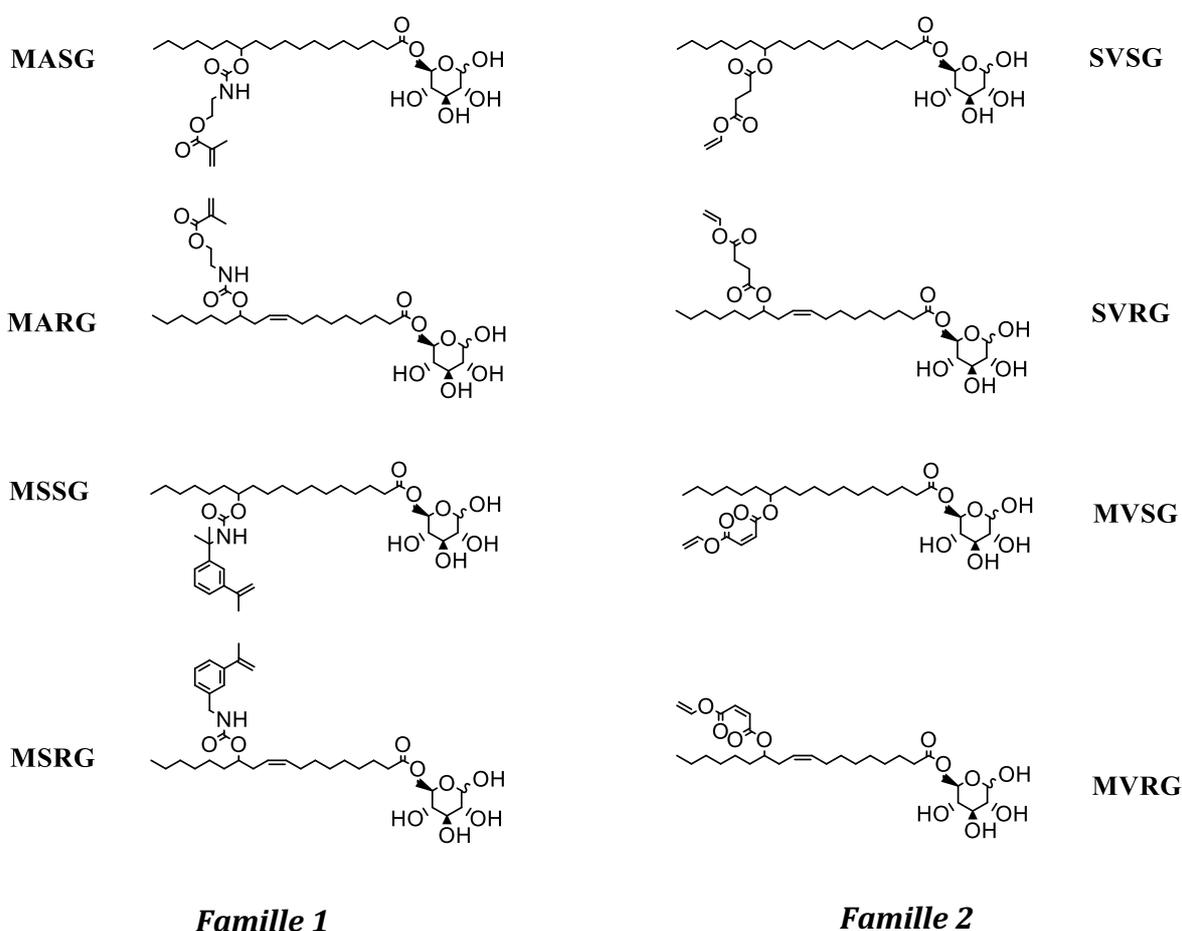


Schéma 1 – Rappel des structures des huit monomères glycolipidiques synthétisés

L'objectif de ces travaux est de synthétiser des polymères amphiphiles, capable de s'auto-assembler dans l'eau. Afin de réduire les coûts de ces polymères, une stratégie intéressante est de les copolymériser avec un monomère commercial bon marché, et de déterminer le taux minimal de monomère glycolipidique nécessaire à l'obtention de systèmes auto-assemblés en milieu aqueux. Les monomères de la Famille 2 ont pu être synthétisés dans de plus grandes quantités et de meilleurs rendements que ceux de la Famille 1 (voir Chapitre 3). Aussi, l'homopolymérisation et

la copolymérisation avec l'acétate de vinyle des monomères de la Famille 2 ont été étudiées dans un premier temps. Ce chapitre expose les travaux effectués sur cette famille. La polymérisation de l'autre famille de monomère sera quant à elle traitée dans le Chapitre 5.

II. ETUDE DE L'HOMOPOLYMERISATION DES MONOMERES

1. Homopolymérisation des monomères glycolipidiques

Dans un premier temps, la capacité à s'homopolymériser des monomères SVSG, SVRG, MVSG, MVRG a été étudiée : les monomères ont été mis en solution dans du THF anhydre en présence de 2,5% molaires d'azobisisobutyronitrile (AIBN). Après trois cycles de dégazage afin d'éliminer l'oxygène, le milieu réactionnel est porté à 70°C sous agitation pendant 16 heures.

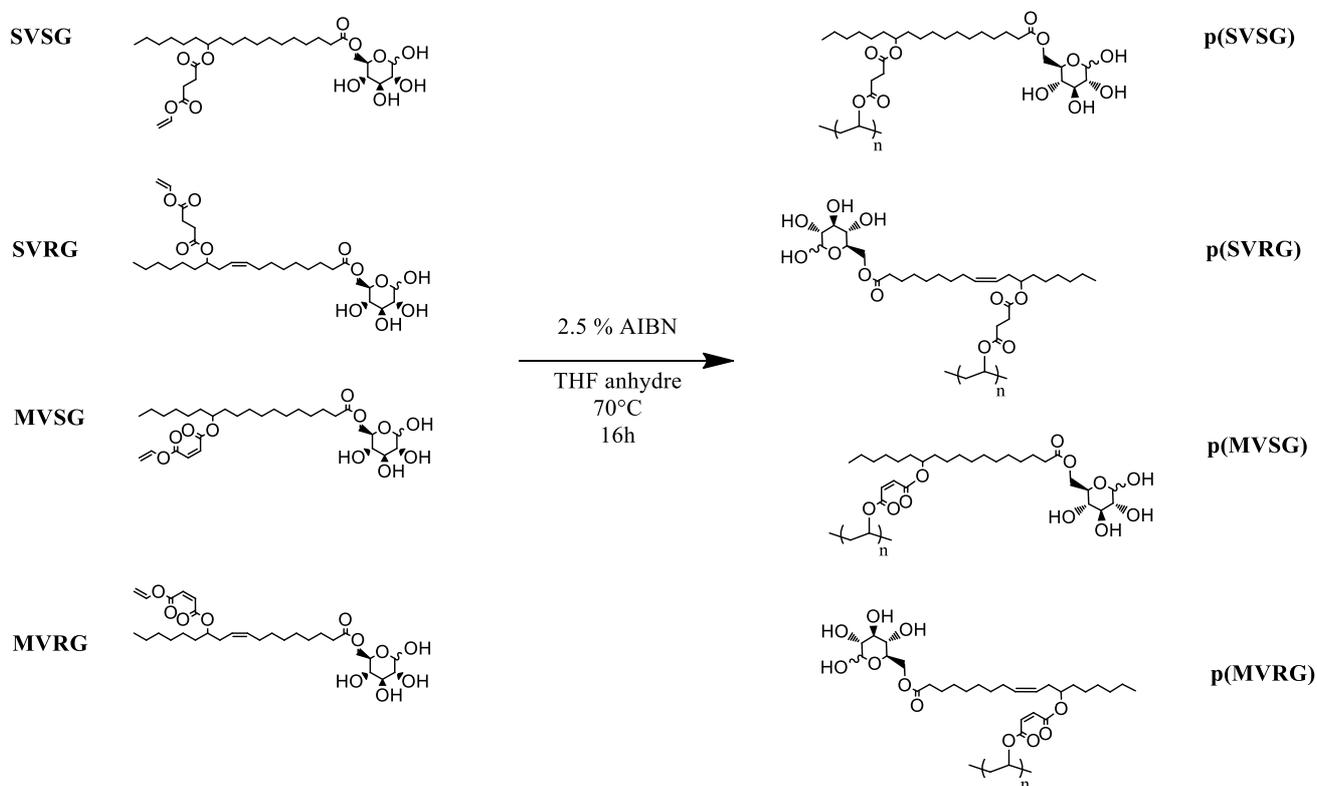


Schéma 2 – Tentative de polymérisation des monomères glycolipidiques en présence d'AIBN comme amorceur

Après 16 heures d'agitation, les milieux réactionnels sont analysés par RMN ¹H. Malheureusement, une absence totale de polymérisation est constatée pour les quatre monomères : sur les spectres RMN, les signaux correspondant aux protons vinyliques demeurent inchangés et aucun nouveau signal pouvant correspondre à un polymère n'est observé. Les milieux réactionnels ont également été analysés par chromatographie par exclusion stérique (SEC) (phase éluante : THF), et

pour chacun, un unique pic de distribution de masses molaires est obtenu, correspondant bien aux monomères. Le SVSG, le SVRG, le MVSG, et le MVRG sont donc bien retrouvés intacts.

Différentes tentatives de polymérisation supplémentaires ont été effectuées sur le SVSG. La littérature fait état de plusieurs exemples de polymérisation de monomères de type glyco-vinyls, mais ces derniers sont généralement polymérisés dans l'eau¹⁻⁵ en présence d'un couple d'amorceur d'oxydo-réduction peroxyde d'hydrogène/persulfate de potassium³⁻⁵ ou peroxyde d'hydrogène/acide ascorbique.^{1,2} Ces monomères sont synthétisés par réaction de mono-transestérification de l'adipate de divinyle par un sucre (glucose, galactose, sucrose, maltitol ou lactitol). Dans ce cas, la fonction ester de vinyle restante est séparée du sucre par seulement 6 carbones, permettant la solubilité du glycomonomère dans l'eau. Or, dans notre cas, la partie hydrophobe des monomères synthétisés est composée de 22 carbones, rendant ces derniers complètement insolubles dans l'eau, même à reflux. Le groupe de Tokiwa a publié une série d'études sur l'homopolymérisation du vinyl adipate de 6-O-D-glucose comparant plusieurs azoamorceurs⁶ et sur la polymérisation du vinyl sebacate de 6-O-glucose.⁷ Les polymérisations sont alors effectuées dans le DMF à 60°C. (Schéma 3)

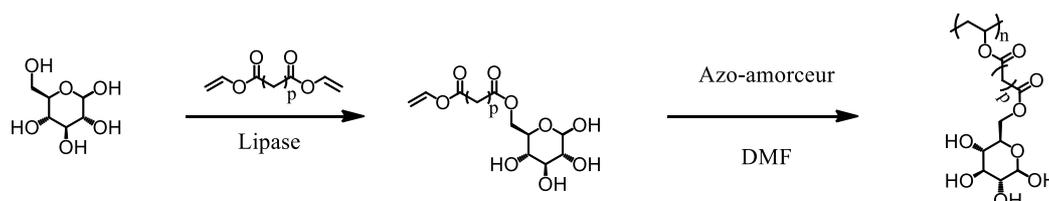


Schéma 3 – Synthèse et homopolymérisation du vinyl adipate de 6-O-D-glucose (p=4) et du vinyl sebacate de 6-O-D-glucose (p=8) selon les travaux de Tokiwa *et al.*

Plus récemment, Li *et al.* ont décrit la copolymérisation de vinyl sebacate de 6-O-D-galactose et du vinyl sebacate de 6-O-D-glucose avec la 5-O-vinyladipyl-ribavirine, amorcée par l'AIBN dans le DMSO.⁸ (Schéma 4)

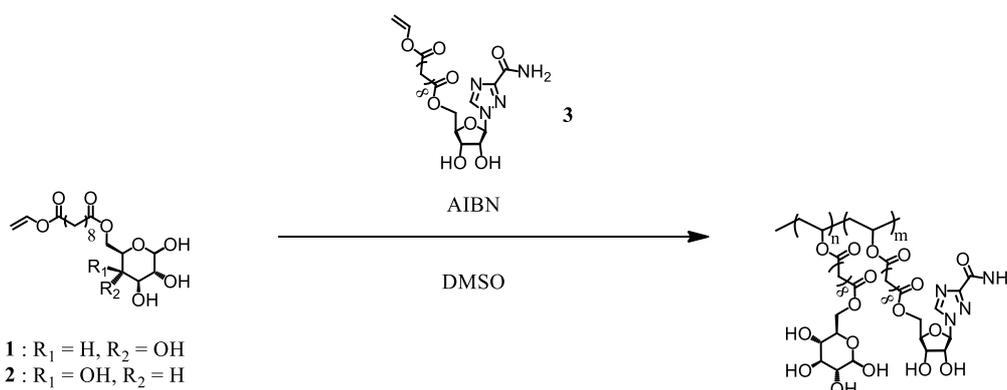


Schéma 4 – Synthèse d'un copolymère à partir de la 5-O-vinyladipyl-ribavirine (3) et du vinyl sebacate de 6-O-D-glucose (1) ou du vinyl sebacate de 6-O-D-galactose (2) selon les travaux de Li *et al.*

Sur la base de ces récents travaux de la littérature, la polymérisation du SVSG a été testée dans le DMF et le DMSO, mais toujours sans résultat. Augmenter les quantités d'AIBN n'a pas non plus permis

d'amorcer la polymérisation. Enfin dans un dernier temps, l'AIBN a été remplacé par le peroxyde de benzoyle (BPO) comme amorceur, mais là encore aucune polymérisation n'est observée. Ces tentatives, toutes infructueuses, sont résumées dans le Tableau 1.

Entrée	Solvant	Concentration	% AIBN	Température	Conversion
1	THF	2,7 M	2,5	70°C	0
2	THF	2,7 M	5	70°C	0
3	DMF	2,7 M	2,5	70°C	0
4	DMSO	2,7 M	2,5	70°C	0

Tableau 1 - Récapitulatif des tentatives d'homopolymérisation du SVSG

2. Polymérisation de monomères modèles

L'absence de polymérisation des monomères SVSG, SVRG, MVSG et MVRG peut provenir de différents facteurs : leur taille, la gêne stérique liée à leur structure ramifiée, l'encombrement du groupement glycoside... La concentration massique du milieu réactionnel, d'environ 1,6 g/mL, qui est particulièrement élevée du fait des masses molaires importantes des monomères, peut également contribuer à limiter la polymérisation, de par une viscosité trop importante gênant la mobilité des radicaux. Afin de déterminer les éventuelles influences de chacun de ces facteurs, sept monomères « modèles » de différentes structures et de différentes masses molaires, ont été sélectionnés :

- L'acétate de vinyle (AcV) comme « témoin »
- Le palmitate de vinyle (PaV) pour étudier l'influence de la longueur de chaîne
- Le pivalate de vinyle (PiV) pour étudier l'influence de l'encombrement
- Le 6SVU pour étudier la capacité à polymériser du groupement succinate de vinyle
- Le 6MVU pour étudier la capacité à polymériser du groupement maléate de vinyle
- Le 12-(succinate de vinyle)-stéarate de méthyle (SVSM) pour s'approcher au plus près de la géométrie des monomères
- Le 9/10-(succinate de vinyle de mercaptoéthyle)-stéarate de 6-O-glucose (SVEMSG) afin d'étudier l'influence d'un « éloignement » de la fonction vinyle de la chaîne grasse

Les structures de ces sept monomères sont exposées dans le Schéma 5.

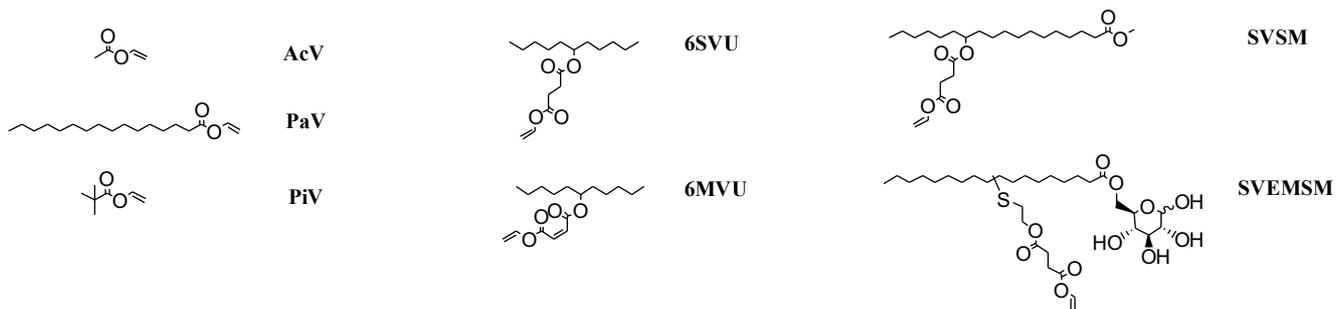


Schéma 5 – Structures des monomères modèles choisis

Les monomères AcV, PaV, et PiV sont issus du commerce. L'AcV et le PiV ont été préalablement séchés sur hydrure de calcium et cryodistillés alors que le PaV a été polymérisé sans traitement préalable. Le 6SVU et le 6MVU ont tous les deux été synthétisés à partir du 6-undécanol (voir Chapitre 2). Le SVSM a été synthétisé en trois étapes à partir du 12HSA. Dans un premier temps, une méthylation du 12HSA catalysée par la CALB est effectuée à température ambiante. Le groupement hydroxyle est ensuite acylé par l'anhydride succinique.⁹ Enfin, une transvinylation est effectuée pour conduire au SVSM. (Schéma 6) Les deux dernières étapes ont été effectuées selon les conditions présentées dans le Chapitre 3.

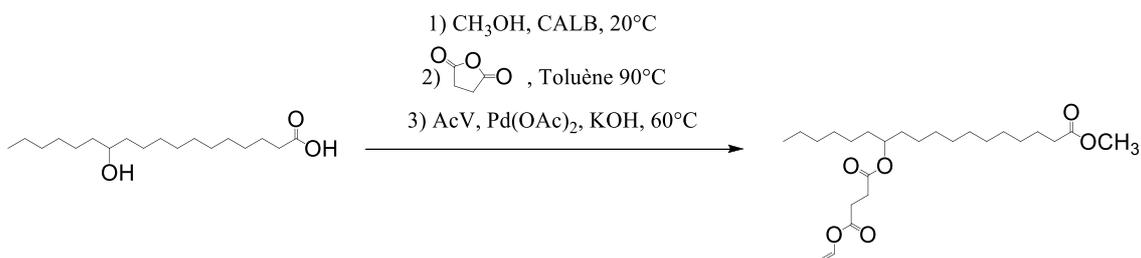


Schéma 6 – Synthèse du SVSM en trois étapes à partir du 12HSA

Le SVEMSG a été synthétisé en quatre étapes à partir de l'acide oléique. L'addition thiol-ène du 2-mercapto-1-éthanol sur la double-liaison de l'acide oléique, réalisée selon les conditions mises au point par Desroches *et al.*^{10,11} permet l'introduction d'un alcool primaire pendant en position 9 ou 10 de la chaîne grasse. Cet alcool est alors acylé par l'anhydride succinique, puis une double transvinylation est effectuée. Enfin, le diester de vinyle obtenu est transestérifié par le glucose en présence de CALB pour conduire au SVEMSG. (Schéma 7) Toutes ces étapes de synthèse sont détaillées dans l'Annexe 5.

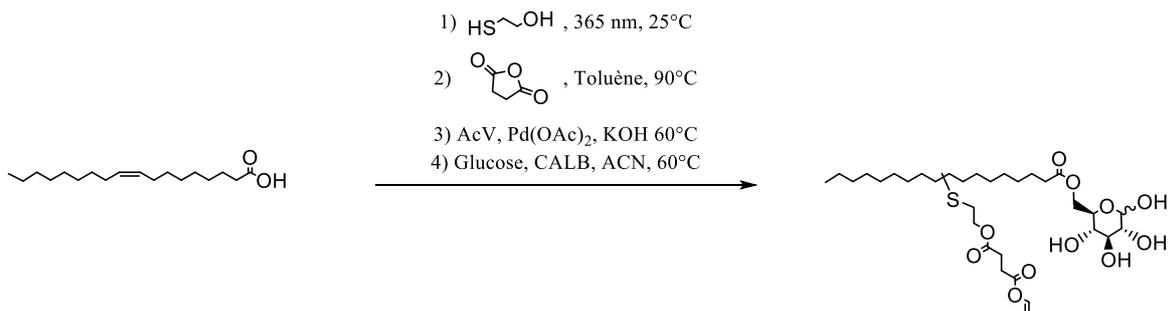


Schéma 7 – Synthèse du SVEMSG en quatre étapes à partir de l'acide oléique

Les sept monomères modèles sont solubilisés dans du THF anhydre à une concentration de 2,7M et polymérisés à 70°C en présence de 2,5% d'AIBN comme amorceur après trois cycles de dégazage consécutifs. Afin d'étudier l'effet du solvant de polymérisation, l'AcV, le PaV, le PiV et le SVSM ont également été polymérisés dans les mêmes conditions dans du DMSO anhydre.

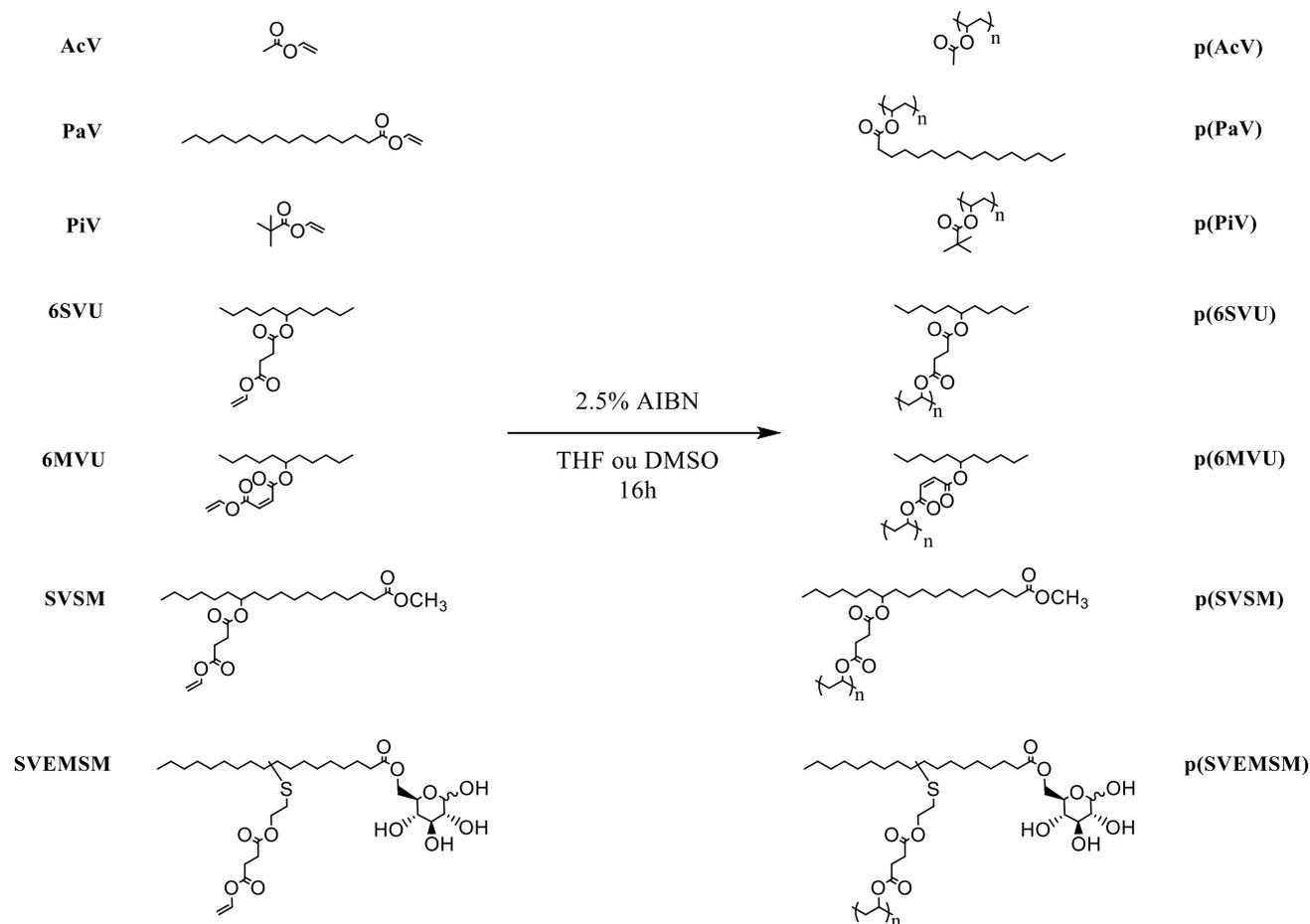


Schéma 8 - Polymérisation des monomères modèles PaV, PiV, 6SVU, 6MVU, et SVSM en présence d'AIBN comme amorceur

Les conversions obtenues, déterminées par analyse par RMN ¹H du milieu réactionnel après 16 heures sous agitation, sont présentées dans le Tableau 2.

Monomère	AcV	PaV	PiV	6SVU	6MVU	SVSM	SVEMSG
Concentration (g/mL)	0,23	0,76	0,35	0,81	0,80	1,14	1,7
Conversion dans le THF	>99%	84%	97%	95%	20%	79%	0%
Conversion dans le DMSO	>99%	89%	96%	-	-	71%	0%

Tableau 2 - Conversions des monomères modèles obtenues après 16 heures dans le THF et le DMSO anhydres

Pour chaque monomère (à l'exception du 6SVU et du 6MVU qui n'ont été polymérisés que dans le THF) les taux de conversion observés dans le THF et le DMSO sont très proches. Sans surprises, la polymérisation de l'acétate de vinyle est quasi-totale. L'encombrement du PIV ne semble pas poser problème puisque des conversions de 96% à 97% sont atteintes. 95% du 6SVU est polymérisé dans le THF ; la fonction succinate de vinyle, même située sur une chaîne grasse ramifiée susceptible de causer une certaine gêne stérique, est donc bien réactive. La concentration massique du milieu, qui atteint alors 0,8 g/mL, ne pose pas non plus problème. En revanche, seulement 20% du 6MVU sont convertis. La fonction vinylique est peut-être située plus près de la chaîne grasse en raison de la configuration *cis* de la double-liaison maléique, et donc moins accessible. Plus encombré que le 6SVU, le SVSM est bien plus proche de la structure du SVSG ; le p(SVSM) est obtenu dans des conversions plus faibles que le 6SVU, mais toujours élevées : 71% dans le DMSO et 79% dans le THF. La géométrie du SVSM a donc une légère influence sur sa conversion, mais sans empêcher sa polymérisation ; enfin, aucune polymérisation du SVEMSG n'est observée, malgré une fonction vinylique plus éloignée du reste de la molécule et donc moins encombrée que dans le cas du SVSG.

Il semble donc que ce soit surtout la présence du groupement glycoside qui freine la polymérisation des monomères glycosidiques, en raison de l'encombrement résultant, mais peut-être aussi de l'augmentation de la viscosité du milieu avec la concentration massique en monomère. Par ailleurs, au vu des taux de polymérisation du 6MVU, la fonction maléate de vinyle semble beaucoup moins réactive que la fonction succinate de vinyle, rendant la polymérisation des monomères MVSG et MVRG encore plus ardue.

III. COPOLYMERISATION AVEC L'ACETATE DE VINYLE

Suite à la comparaison des sept polymérisations modèles effectuée précédemment, il est apparu qu'il était bien possible de polymériser une fonction succinate de vinyle ramifiée : des conversions de 95% en p(6SVU) et de 79% en p(SVSM) ont été obtenues dans le THF en présence de 2,5% d'AIBN. L'absence d'homopolymérisation des monomères glycolipidiques est donc causée par leur trop grand encombrement. Cet encombrement pourrait être compensé par une copolymérisation avec un monomère plus petit. Aussi, la copolymérisation des monomères SVSG, SVRG, MVSG et MVRG avec l'acétate de vinyle a été étudiée.

1. Rapports de réactivité

Les rapports de réactivité du SVSG et de l'acétate de vinyle n'ont pas été déterminés, mais nous sommes basés sur des rapports de réactivités tabulés dans la littérature pour l'acétate de vinyle et trois autres esters vinyliques comme références : le propionate de vinyle, le butanoate de vinyle et le stéarate de vinyle. Ces valeurs sont rapportées dans le Tableau 3.

Co-monomère 2	r1	r2	Référence
Propionate de vinyle	0,98	0,98	12
Butanoate de vinyle	1,00	0,97	12
Stéarate de vinyle	0,953	0,96	13

Tableau 3 – Rapports de réactivité pour l'AcV et : le propionate de vinyle, le butanoate de vinyle et le stéarate de vinyle. r1 = rapport de réactivité de l'acV ; r2 = rapport de réactivité du co-monomère

Pour ces trois co-monomères vinyliques, les rapports de réactivités tabulés sont tous très proches de l'unité. En prenant ces valeurs comme références, une copolymérisation de l'AcV et du SVSG suivant une statistique aléatoire est le plus probable.

2. Copolymérisation de l'AcV et du SVSG employés au ratio 90/10

Dans un premier temps, le SVSG a été sélectionné afin de mettre au point les conditions de copolymérisation de l'AcV et des glycomonomères succiniques et maléïques. La synthèse d'un copolymère à partir de 90% d'AcV et de 10% de SVSG a donc été étudiée (Schéma 9). Ce copolymère sera nommé « p(AcV₉₀-SVSG₁₀) ». Afin de limiter les quantités de monomères glycolipidiques engagées, la concentration en SVSG a été fixée à 0,15M et celle en AcV à 1,35M. Ainsi, la concentration totale en monomères est de 1,5M.

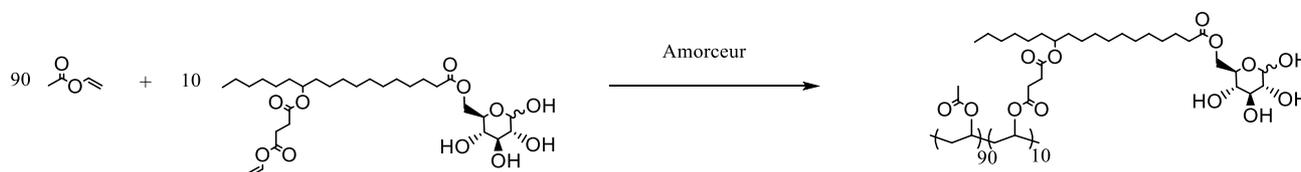


Schéma 9 – Synthèse du copolymère p(AcV₉₀-SVSG₁₀)

La copolymérisation de l'AcV et du SVSG est amorcée par 2,5% molaires d'AIBN dans du THF anhydre à 70°C. Après 16 heures de réaction, l'analyse par RMN ¹H du milieu réactionnel met bien en évidence la formation d'un copolymère et la conversion de 85% de l'AcV et de 80% du SVSG. Après élimination du THF et de l'AcV résiduel, un mélange composé du p(AcV₉₀-SVSG₁₀) et de 9,4% massiques de SVSG résiduel est obtenu. (Tableau 4, entrée 1)

Entrée	Solvant	T°C	Amorceur		Conversion		Composition du copolymère	%SVSG résiduel	
			AIBN	BPO	AcV	SVSG		Molaire	Massique
1	THF	70°C	2,5%	-	85%	80%	90,5 : 9,5	2,4	9,4
2	AcEt	80°C	2%	-	37%	38%	89,8 : 10,2	14,3	42,0
3	AcEt	80°C	-	0,8%	81%	88%	89,3 : 10,7	1,5	5,7
4	AcEt	80°C	-	2%	93%	87%	90,6 : 9,4	1,4	5,8
5	AcEt	80°C	-	5%	98%	99%	89,9 : 10,1	0,1	0,3
6	AcEt	80°C	-	8%	99,5%	100%	90,0 : 10,0	0	0

Tableau 4 - Optimisation des conditions de copolymérisation de l'AcV et du SVSG employés au ratio 90/10

Les solubilités du p(AcV₉₀-SVSG₁₀) et du SVSG dans différents solvants organiques sont similaires. Une purification du copolymère par précipitation est donc ici impossible. Par ailleurs, la difficulté à synthétiser de grandes quantités de monomères glycolipidiques (voir Chapitre 3) nous impose de réaliser les polymérisations sur de faibles quantités, généralement sur 100 mg, quantité trop faible pour envisager une purification du p(AcV₉₀-SVSG₁₀) par dialyse. Aussi, afin d'obtenir des copolymères les plus purs possible, nous avons cherché à atteindre une conversion totale du SVSG.

Dans un premier temps, afin de limiter au maximum les transferts de radicaux au solvant, le THF a été remplacé par l'acétate d'éthyle : la constante de transfert de radicaux de l'AcV à l'acétate d'éthyle est de $7,8 \cdot 10^{-4}$ à 70°C.¹⁴ En revanche, l'AIBN se décompose beaucoup plus lentement dans l'acétate d'éthyle que dans le THF : son temps de demi-vie dans l'acétate d'éthyle a été estimé à 20 heures à 60°C par Mellish *et al.*¹⁵ La copolymérisation de l'AcV et du SVSG à 80°C dans l'acétate d'éthyle, amorcée par l'AIBN, ne conduit donc qu'à des conversions inférieures à 40% après 16 heures. (Tableau 4, entrée 2) Aussi, par la suite, l'AIBN a été remplacé par le peroxyde de benzoyle (BPO). En effet, le temps de demi-vie du BPO dans l'acétate d'éthyle est de seulement 53,5 minutes à 80°C.¹⁶ Différentes quantités de BPO ont été testées et une conversion quasi-totale des deux monomères a pu être obtenue dans l'acétate d'éthyle à 80°C en amorçant la copolymérisation par 5% de BPO. (Tableau 4, entrées 3 à 6) Ces conditions ont donc été retenues pour la suite de nos travaux.

Après 16h de polymérisation, l'acétate d'éthyle et l'AcV résiduel sont éliminés des milieux réactionnels bruts par évaporation. Les spectres RMN ^1H des copolymères synthétisés obtenus après élimination de l'acétate d'éthyle et de l'AcV résiduel sont exposés dans la Figure 2.

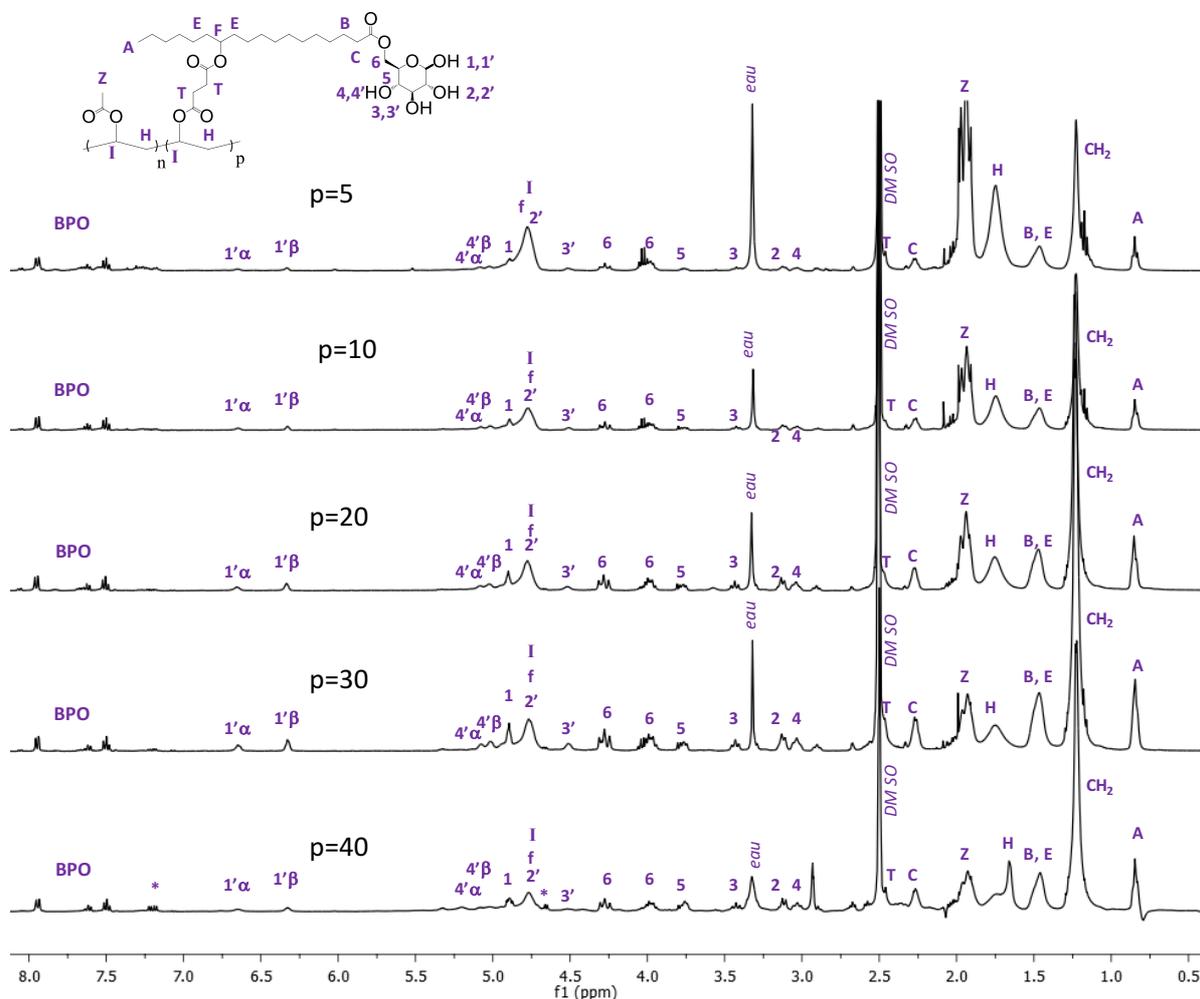


Figure 2 – Superposition des spectres RMN ^1H dans le d_6 -DMSO des copolymères synthétisés à partir de AcV et de SVSG. De haut en bas : $p(\text{AcV}_{95}\text{-SVSG}_5)$, $p(\text{AcV}_{90}\text{-SVSG}_{10})$, $p(\text{AcV}_{80}\text{-SVSG}_{20})$, $p(\text{AcV}_{70}\text{-SVSG}_{30})$, et $p(\text{AcV}_{60}\text{-SVSG}_{40})$

3.1 Conversions des monomères : influence de la composition du copolymère

Les conversions respectives de l'AcV et du SVSG et la composition des polymères obtenus ont été déterminées par RMN ^1H :

- Un premier spectre RMN du milieu réactionnel brut, avant évaporation, permet de déterminer la quantité totale de monomères non consommés (AcV + SVSG) en se basant sur les intégrations des signaux des protons vinyliques résiduels.
- Un deuxième spectre RMN du milieu réactionnel après élimination de l'acétate de l'éthyle et de l'AcV permet de déterminer la quantité de SVSG résiduel, et donc son taux de conversion.
- De ces deux informations sont déduits la quantité d'AcV résiduel et le taux de conversion correspondant.

Cette méthode de calcul des conversions est détaillée dans l'Annexe 2. Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 5 ci-après.

Copolymère	Concentration mg/mL	Conversion (%)		%SVSG dans le copolymère		SVSG résiduel	
		AcV	SSG	Molaire	Massique	Molaire	Massique
p(AcV)	0,13	100	-	-	-	-	-
p(AcV ₉₅ -SVSG ₅)	0,17	94	98	5,2	26,5	0,10	0,5
p(AcV ₉₀ -SVSG ₁₀)	0,20	98	99	10,1	43,2	0,08	0,3
p(AcV ₈₀ -SVSG ₂₀)	0,28	93	92	19,8	63,1	1,8	5,4
p(AcV ₇₀ -SVSG ₃₀)	0,36	92	90	29,6	74,6	3,1	7,4
p(AcV ₆₀ -SVSG ₄₀)	0,43	66	72	42,0	82,0	14,1	24,4
p(SVSG)	0,88	-	0	-	-	-	-

Tableau 5 – Composition des copolymères synthétisés à partir d'AcV et de SVSG

L'augmentation du taux de SVSG s'accompagne d'une chute progressive des conversions des deux monomères : seulement 66% de l'AcV et 72% du SVSG sont consommés lors de la synthèse du p(AcV₆₀-SVSG₄₀). Le SVSG résiduel est d'ailleurs identifiable sur le spectre RMN ¹H du copolymère. (Figure 2) Encore une fois, l'homopolymérisation du SVSG ne se fait pas : le SVSG est retrouvé intact après la dégradation de l'AIBN. Etant donné l'incapacité du SVSG s'homopolymériser, une diminution des conversions observées avec l'augmentation du taux de SVSG est logique. L'absence d'homopolymérisation du SVSG est causée par sa structure, qui cause un encombrement des fonctions vinyliques, mais qui se traduit également par une très forte viscosité du milieu réactionnel. Aussi, lors de la copolymérisation de l'AcV et du SVSG, l'augmentation des conversions massiques avec le taux de SVSG, qui se traduit par une viscosité de plus en plus importante du milieu, peut expliquer la baisse des conversions observée. En revanche, malgré cette diminution des conversions, les taux d'incorporations de SVSG dans les copolymères obtenus demeurent toujours très proches de taux visés.

Comme il n'a pas été possible de mettre au point une méthode de purification de ces copolymères, il a été décidé de ne pas augmenter davantage le taux de SVSG.

3.2 Propriétés des copolymères synthétisés

3.2.1 Distributions des masses molaires

Les masses molaires en nombre et les dispersités correspondantes ont été déterminées par chromatographie par exclusion stérique (SEC) (phase éluante : THF ; calibration : polystyrène). Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 6.

Polymère	%SVRG massique dans le copolymère	M _n (g/mol)	Đ
p(AcV)	-	3600	1,8
p(AcV ₉₅ -SVSG ₅)	26,5	4500	1,6
p(AcV ₉₀ -SVSG ₁₀)	43,2	6000	1,7
p(AcV ₈₀ -SVSG ₂₀)	63,1	5400	1,6
p(AcV ₇₀ -SVSG ₃₀)	74,6	4100	1,4
p(AcV ₆₀ -SVSG ₄₀)	82,0	4300	1,2

Tableau 6 – Masses molaires moyennes et dispersités observées pour les copolymères de type p(AcV_n-SVSG_p) (calibration polystyrène)

Une diminution des masses molaires moyennes estimées est observée alors que le taux de glycopolymère augmente. Cette incohérence s'explique par une solubilité de plus en plus faible des copolymères avec l'augmentation du taux de glycomonomère : les rayons hydrodynamiques des copolymères en solution diminuent et les masses molaires moyennes estimées chutent. Afin d'obtenir une meilleure estimation des masses molaires moyennes, il faudrait connaître la valeur du rapport dn/dc des copolymères synthétisés ; malheureusement la détermination de ce rapport n'est possible qu'à partir d'échantillons parfaitement purs, ce qui n'est pas le cas des copolymères p(AcV₈₀-SVSG₂₀), p(AcV₇₀-SVSG₃₀) et p(AcV₆₀-SVSG₄₀) qui contiennent un taux de monomère résiduel non négligeable. Les dispersités de tailles de chaînes mesurées, entre 1,4 et 1,8, sont quant à elles caractéristiques d'une polymérisation radicalaire non contrôlée.

3.3.2 Propriétés thermiques

Les températures de dégradation des copolymères ont été déterminées par analyse thermogravimétrique (ATG) sous atmosphère inerte et leurs températures de transition vitreuse par calorimétrie différentielle à balayage (DSC). Seuls le p(AcV) et les copolymères p(AcV₉₅-SVSG₅) et p(AcV₉₀-SVSG₁₀) ont été analysés par TGA et DSC. En effet, les taux non-négligeables de SVSG résiduels dans les autres copolymères synthétisés ne nous permettent pas de donner une température de dégradation (T_d) ou de transition vitreuse (T_g) fiable.

La Figure 3 expose les courbes obtenues par ATG pour le p(AcV₉₅-SVSG₅) et le p(AcV₉₀-SVSG₁₀) en comparaison avec le p(AcV).

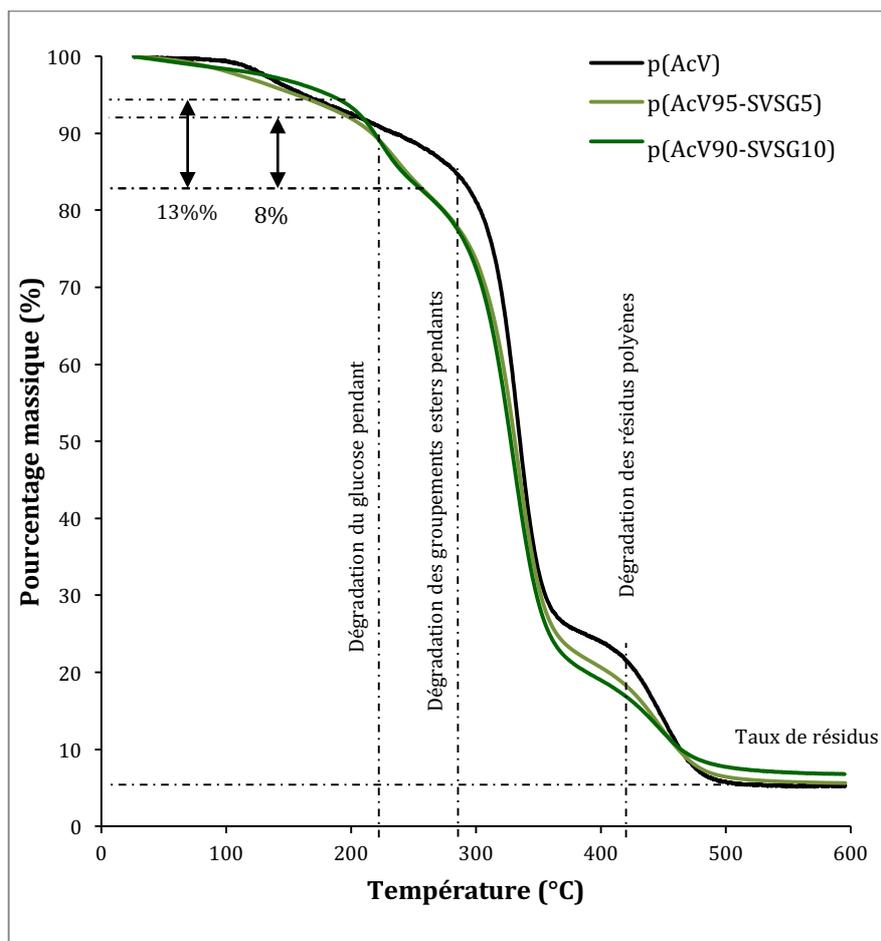


Figure 3 – Courbes ATG des polymères p(AcV), p(AcV₉₅-SVSG₅) et p(AcV₉₀-SVSG₁₀) et leur interprétation

La dégradation du p(AcV) s'effectue en deux vagues consécutives. La première, principale, entre 250 et 400°C, correspond à la déacétylation des chaînes polymères qui demeure sous forme de résidus insaturés. La deuxième vague, plus petite, entre 400 et 500°C, correspond à la dégradation du polyène résiduel par scissions de chaînes.^{17,18} La légère perte de masse observée vers 100°C correspond à l'évaporation de solvant ou d'acétate de vinyle résiduels. Ces deux vagues se retrouvent sur les profils de dégradation des copolymères p(AcV₉₅-SVSG₅) et p(AcV₉₀-SVSG₁₀), précédées d'une nouvelle vague observable entre 150°C et 250°C, qui correspond à la dégradation des unités de glucose pendants : les taux massiques de glucose des copolymères p(AcV₉₅-SVSG₅) et p(AcV₉₀-SVSG₁₀), qui s'élèvent à 8,1% et 13,2% respectivement, correspondent bien aux pertes de masses relevées au cours de cette première dégradation. Aussi, les taux de résidus observés après la dégradation des polymères augmentent légèrement avec le taux de monomère glycolipidiques : de 5,2% pour le p(AcV), ils passent à 5,6% pour le p(AcV₉₅-SVSG₅) et à 6,8% pour le p(AcV₉₀-SVSG₁₀).

Les copolymères ont également été analysés et comparés au p(AcV) par DSC. Après une première rampe de chauffe jusqu'à 75°C suivie d'une rampe de refroidissement jusqu'à -80°C afin d'effacer l'histoire thermique des échantillons, une deuxième rampe de température jusqu'à 100°C est

effectuée. La Figure 4 expose les profils obtenus par DSC du p(AcV), du p(AcV₉₅-SVSG₅) et le p(AcV₉₀-SVSG₁₀) lors de la deuxième rampe de température.

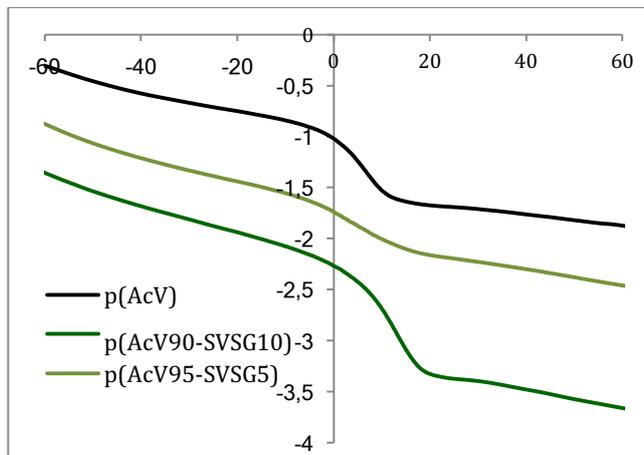


Figure 4 – Courbes DSC des polymères p(AcV), p(AcV₉₅-SVSG₅) et p(AcV₉₀-SVSG₁₀)

Les températures de transition vitreuses mesurées sont exposées dans le Tableau 7. Les deux copolymères p(AcV₉₅-SVSG₅) et p(AcV₉₀-SVSG₁₀), tout comme le p(AcV), sont complètement amorphes, mais exhibent des températures de transitions vitreuses qui augmentent légèrement avec le taux de SVSG : la T_g passe de 4°C pour le p(AcV) à 6°C pour le p(AcV₉₅-SVSG₅), puis à 13°C pour le p(AcV₉₀-SVSG₁₀).

Copolymère	T _g (°C)
p(AcV)	4
p(AcV ₉₅ -SVSG ₅)	6
p(AcV ₉₀ -SVSG ₁₀)	13

Tableau 7 – Propriétés des copolymères synthétisés

* Les masses molaires moyennes ont été déterminées à partir d'une calibration poly(styrène)

4. Application aux autres monomères synthétisés

Enfin, la copolymérisation de l'AcV avec les glycomonomères SVRG, SVMSG, MVSG et MVRG a également été étudiée. Comme une diminution progressive du taux de polymérisation a été constatée lors de la synthèse des copolymères p(AcV_n-SVSG_p) à partir de 20% de SVSG, nous nous sommes restreints à la synthèse de copolymères à partir de 5% et 10% de glycomonomères. Les copolymères p(AcV₉₅-SVRG₅), p(AcV₉₀-SVRG₁₀), p(AcV₉₀-SVMSG₁₀), p(AcV₉₅-MVSG₅), p(AcV₉₀-MVSG₁₀), p(AcV₉₅-MVRG₅) et p(AcV₉₀-MVRG₁₀) ont été synthétisés dans les conditions mises au point et détaillées plus haut.

4.1 Cas des monomères SVRG et SVEMSG, porteur de la fonction succinate de vinyle

Le SVRG a été copolymérisé avec l'acétate de vinyle en présence de 5% de BPO dans l'acétate d'éthyle. De plus, afin d'étudier une éventuelle influence de l'éloignement de la fonction succinate de vinyle du reste de la chaîne grasse, l'acétate de vinyle a également été copolymérisé avec le SVEMSG. (Schéma 11)

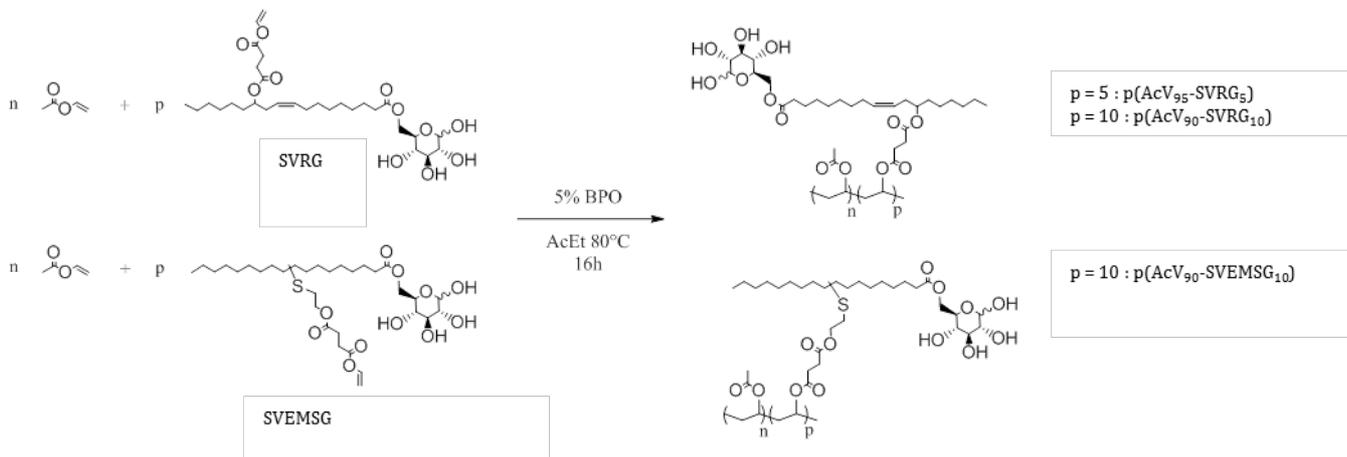


Schéma 11 – Copolymérisation des monomères SVRG et SVEMSG avec l'AcV

Après 16h de polymérisation, l'acétate d'éthyle et l'AcV résiduel sont éliminés des milieux réactionnels bruts par évaporation. Les conversions respectives de l'AcV et des monomères glycolipidiques, ainsi que la composition des copolymères obtenus, ont été déterminées par RMN ¹H par la méthode présentée plus haut. Les distributions de masses molaires moyennes des copolymères et les dispersités correspondantes ont été déterminées par SEC (phase éluante : THF). Les températures correspondant à une dégradation de 5% des polymères ($T_{d5\%}$), les taux de résidus observés après dégradation (R), et leurs températures et de transition vitreuses (T_g), ont été déterminées respectivement par ATG et DSC. Les résultats correspondants sont présentés dans le Tableau 8 où ils sont comparés aux résultats obtenus pour le p(AcV₉₅-SVSG₅) et le p(AcV₉₀-SVSG₁₀).

Copolymère	Conversion (%)		%SVRG %SVSG %SVEMSG	Monomère résiduel		Mn (g/mol)	Đ	T _{d5%} (°C)	R (%)	T _g (°C)
	AcV	SOG		Molaire	Massique					
	AcV	SOG								
p(AcV)	-	-	-	-	-	3600	1,8	162	5,2	4
p(AcV ₉₅ -SVRG ₅)	97	96	4,0	0,002	0,9	7300	1,6	198	5,3	5
p(AcV ₉₀ -SVRG ₁₀)	93	98	10,5	0,002	0,9	5000	1,8	190	5,8	4
p(AcV ₉₀ -SVEMSG ₁₀)	42	56	12	-	-	-	-	-	-	-
p(AcV ₉₅ -SVSG ₅)	94	98	5,2	0,001	0,6	4500	1,6	156	5,6	6
p(AcV ₉₀ -SVSG ₁₀)	98	99	10,1	0,08	0,3	6000	1,7	182	6,8	13

Tableau 8 - Composition et propriétés des copolymères synthétisés à partir d'AcV et de SVRG : comparaison avec les copolymères p(AcV₉₅-SVSG₅) et p(AcV₉₀-SVSG₁₀)

Sans surprise, les résultats obtenus pour les copolymères $p(\text{AcV}_{95}\text{-SVRG}_5)$ et $p(\text{AcV}_{90}\text{-SVRG}_{10})$ sont quasiment identiques à ceux obtenus pour la synthèse du $p(\text{AcV}_{95}\text{-SVSG}_5)$ et du $p(\text{AcV}_{90}\text{-SVSG}_{10})$. Les spectres RMN ^1H de ces deux copolymères sont exposés dans la Figure 5.

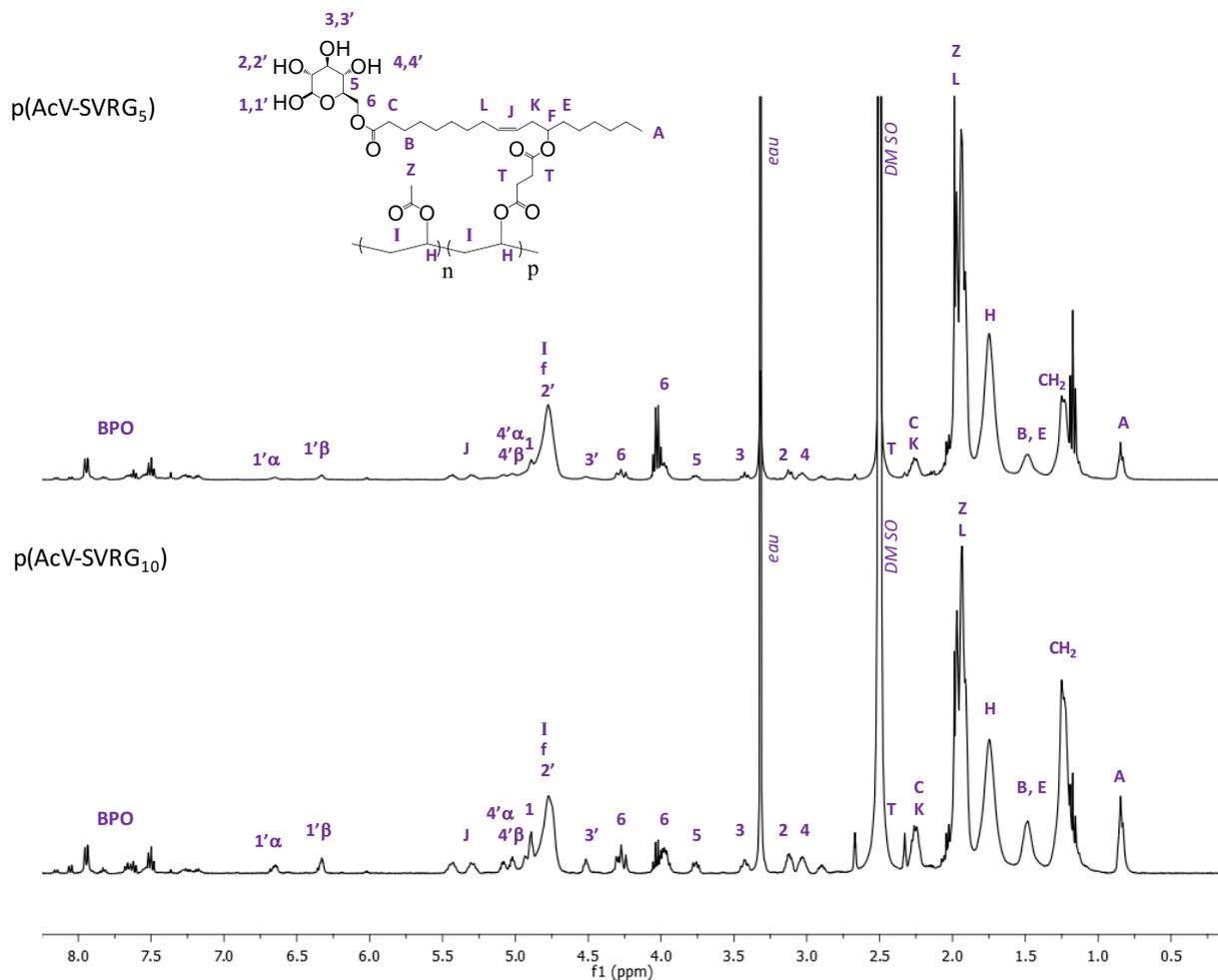


Figure 5 – Superposition des spectres RMN ^1H dans le $d_6\text{-DMSO}$ du $p(\text{AcV}_{95}\text{-SVRG}_5)$ (haut) et du $p(\text{AcV}_{90}\text{-SVRG}_{10})$ (bas)

En revanche, étonnamment, la copolymérisation de l'AcV avec le SVEMSG, qui est pourtant *a priori* moins encombré que le SVSG, donne de moins bons résultats : seulement 42% d'AcV et 56% de SVEMSG sont polymérisés. Les propriétés thermiques du copolymère correspondant n'ont pas été déterminées.

Les courbes ATG et DSC des copolymères $p(\text{AcV}_{95}\text{-SVRG}_5)$ et $p(\text{AcV}_{90}\text{-SVRG}_{10})$ ont été comparées à celles des copolymères $p(\text{AcV}_{95}\text{-SVSG}_5)$ et du $p(\text{AcV}_{90}\text{-SVSG}_{10})$. Les profils de dégradation thermique des copolymères $p(\text{AcV}_{95}\text{-SVRG}_5)$ et $p(\text{AcV}_{90}\text{-SVRG}_{10})$ sont similaires à ceux présentés plus haut dans la Figure 3, avec trois vagues de dégradation successives, avec de légères différences dues à la présence des double-liaisons : les valeurs de $T_{d5\%}$ mesurées, sont supérieures pour les copolymères $p(\text{AcV}_{95}\text{-SVRG}_5)$ et $p(\text{AcV}_{90}\text{-SVRG}_{10})$ (198°C et 190°C respectivement) que pour leurs homologues saturés (156°C et 182°C). Les taux de résidus R observés après la dégradation des polymères sont quant à eux

similaires, entre 5 et 6%. (Figure 6). Le p(AcV₉₅-SVRG₅) et p(AcV₉₀-SVRG₁₀) exhibent également un comportement amorphe, avec des températures de transition vitreuses légèrement plus faibles que leurs homologues saturés, autour de 5°C contre 6 et 13°C observés pour le p(AcV₉₅-SVSG₅) et le p(AcV₉₀-SVSG₁₀). (Figure 7) La présence de double-liasons explique cette légère baisse.

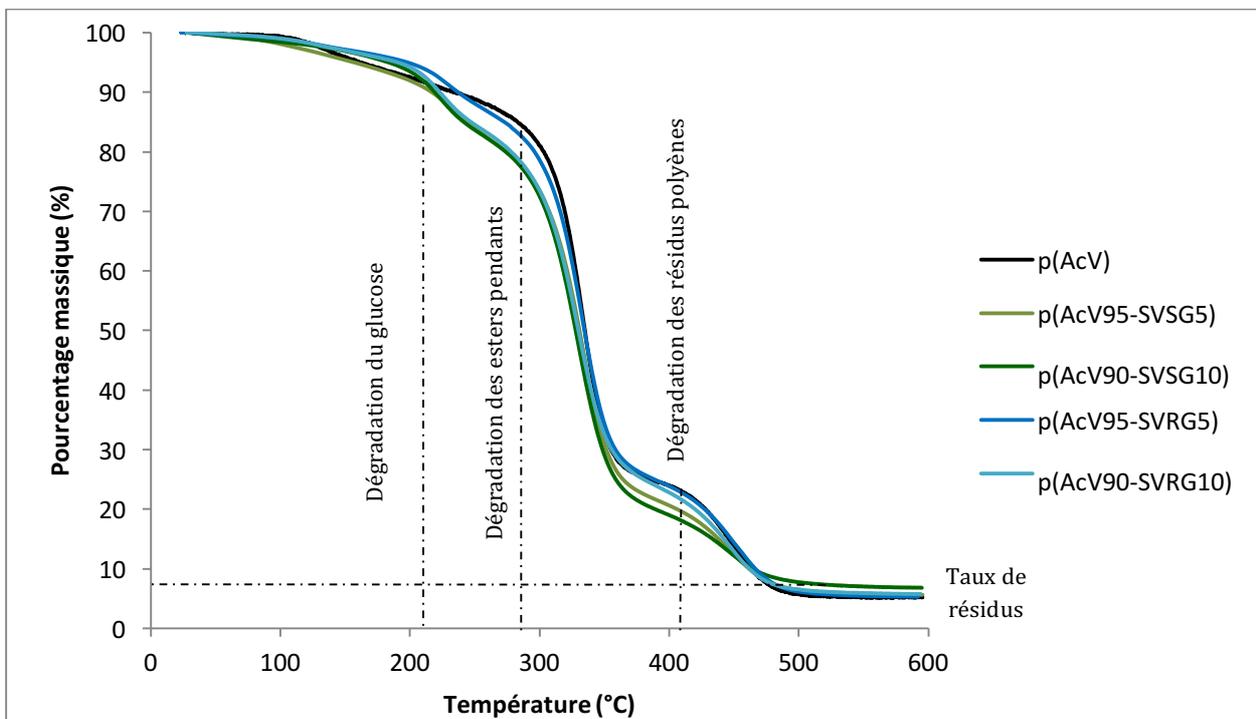


Figure 6 - Courbes ATG des copolymères synthétisés à partir des monomères porteurs de fonctions succiniques

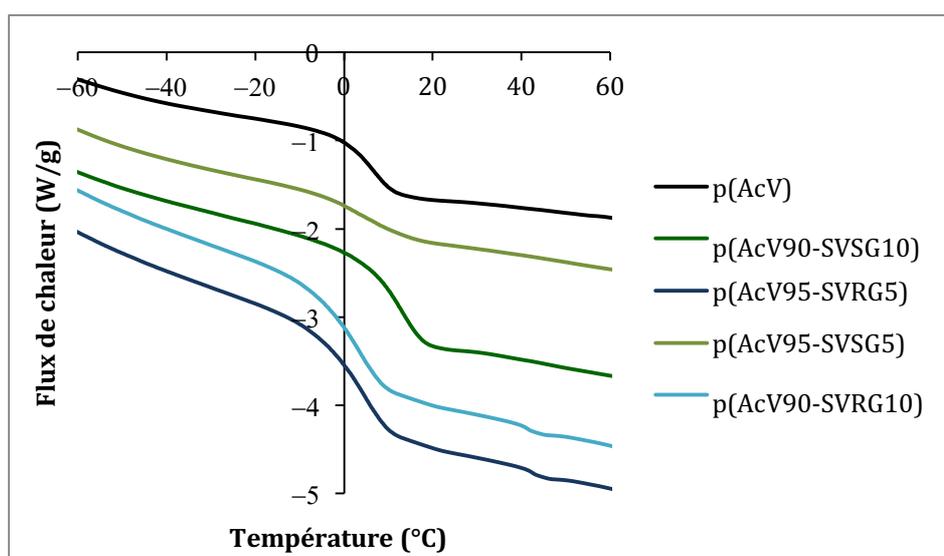


Figure 7 - Courbes DSC des copolymères synthétisés à partir des monomères porteurs de fonctions succiniques

4.2 Cas des monomères MVSG et MVRG porteurs de la fonction maléate de vinyle

Enfin, afin de comparer l'influence des groupements succinate de vinyle et maléate de vinyle sur la copolymérisation des monomères glycolipidiques MVSG et MVRG, ces derniers ont été copolymérisés avec l'acétate de vinyle. (Schéma 12)

4.2.1 Synthèse des copolymères

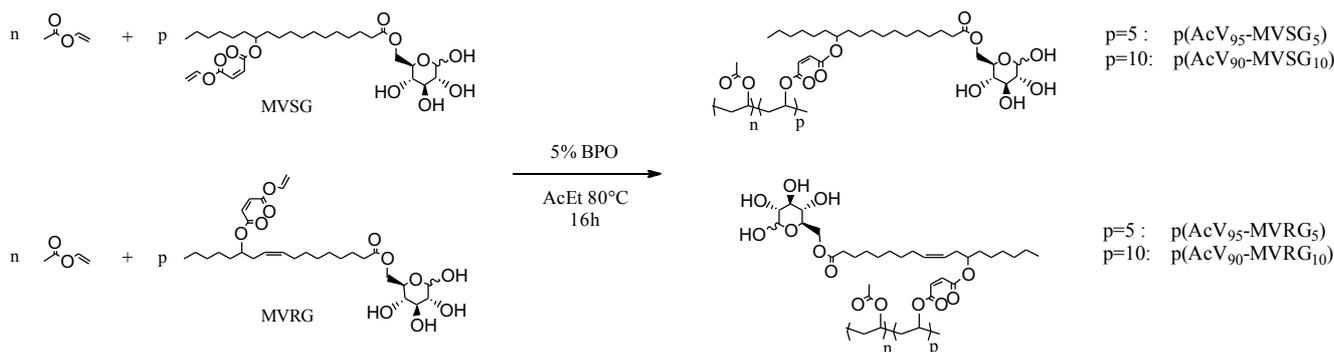


Schéma 12 – Synthèses de copolymères de type $p(\text{AcV}_n\text{-MVSG}_p)$ et $p(\text{AcV}_n\text{-MVRG}_p)$

Pour les quatre copolymérisations réalisées, après 16h de polymérisation, un précipité blanc est observé (Figure 8). L'acétate d'éthyle et l'AcV résiduel sont évaporés et des solides blancs, insolubles dans plusieurs solvants organiques, sont obtenus.



Figure 8 – Synthèse du $p(\text{AcV}_{90}\text{-MVSG}_{10})$
Photographie du milieu réactionnel après 16 heures de réaction

Le caractère insoluble des copolymères formés évoque un phénomène de réticulation, causé par une polymérisation des doubles liaisons maléiques des monomères MVSG et MVRG. En effet, si l'incapacité de l'anhydride maléique à s'homopolymériser est reconnue, plusieurs exemples de copolymérisation de ce dernier notamment avec l'acétate de vinyle sont rapportés dans la littérature.¹⁹⁻²¹ Les rapports de réactivité de l'acétate de vinyle et de l'anhydride maléique étant respectivement de 0,06 et 0,003,²² un copolymère alterné est obtenu. (Schéma 13)

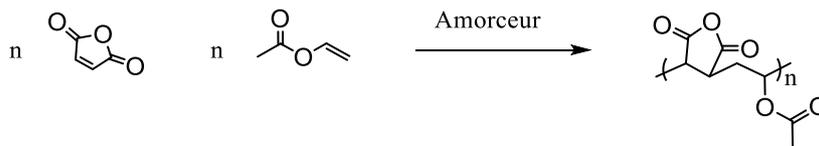


Schéma 13 – Copolymérisation alternée de l'acétate de vinyle et de l'anhydride maléique

De nombreux exemples de copolymérisation de l'AcV avec des diesters de l'acide maléique, notamment le maléate de dibutyle, sont également décrits dans la littérature.²³⁻²⁷ Un tel phénomène de copolymérisation entre l'AcV et les doubles liaisons maléiques des glyco-monomères peut donc être envisagé. Ce phénomène en plus de la copolymérisation des fonctions vinyliques avec le reste de l'AcV, conduirait bien à la formation de copolymères ramifiés car les monomères MVSG et MVRG, porteurs de deux fonctions polymérisables, formeraient des nœuds de réticulation le long des chaînes de polymères.

(Schéma 14).

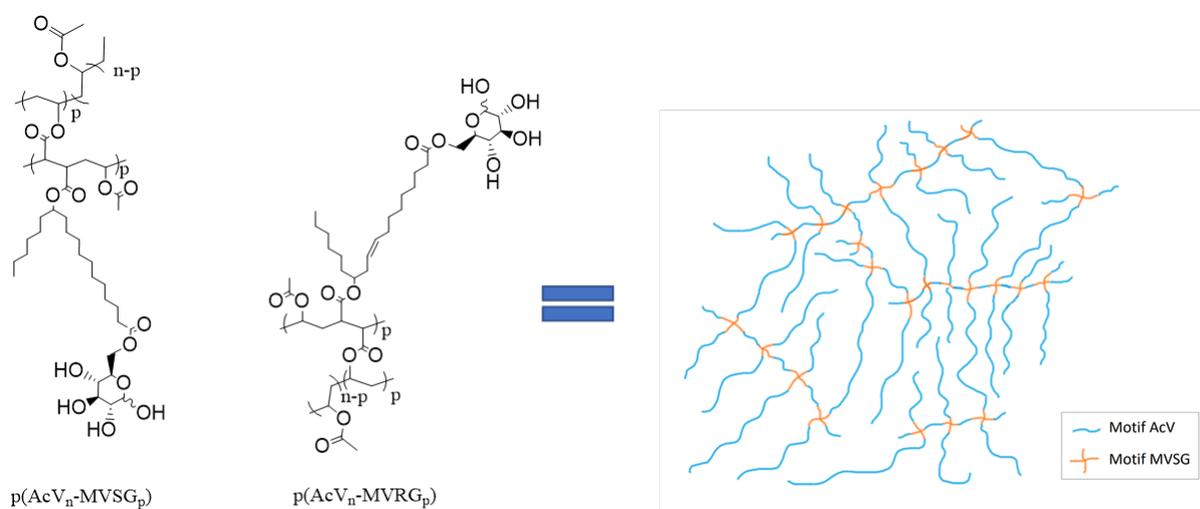


Schéma 14 – Structures proposées pour les copolymères p(AcV-MVSG) et p(AcV-MVRG) ; p = 5 ou 10
En se basant sur les rapports de réactivité de l'anhydride maléique et de l'acétate de vinyle d'une part, et du butanoate de vinyle et de l'AcV d'autre part, la copolymérisation des double-liaisons maléiques et de l'AcV conduirait à des chaînes copolymères alternées et la copolymérisation des fonctions vinyliques à des chaînes statistiques

4.2.2 Caractérisation des copolymères : mise en évidence de la réticulation

Les copolymères synthétisés se révélant complètement insolubles dans tous les solvants deutériés classiques, ces derniers ont été analysés par spectroscopie infrarouge afin de mettre en évidence la polymérisation des double-liaisons maléiques. La Figure 9 compare les spectres infrarouge des copolymères p(AcV₉₀-MVSG₁₀) et p(AcV₉₀-MVRG₁₀) avec les spectres des composés suivants :

- Le MVSG
- Le MVRG
- Le MASA
- Le p(AcV)

- Un mélange de 90% de p(AcV) et de 10% de MASA

Les structures de tous ces composés sont rappelées dans le Schéma 15 ci-dessous :

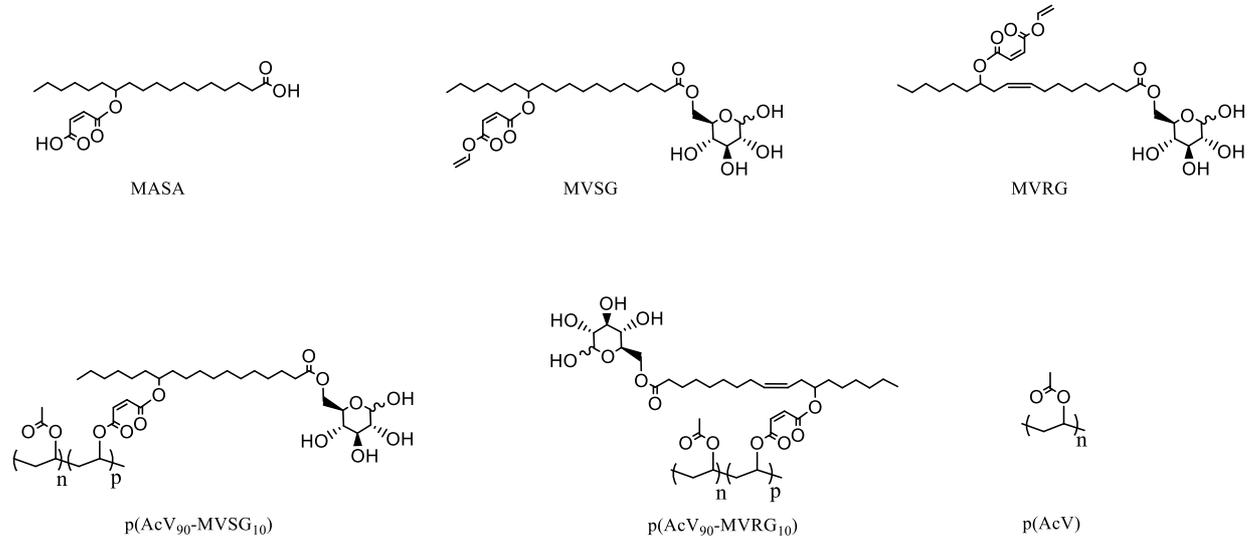


Schéma 15 – Structures des composés analysés par spectroscopie infrarouge

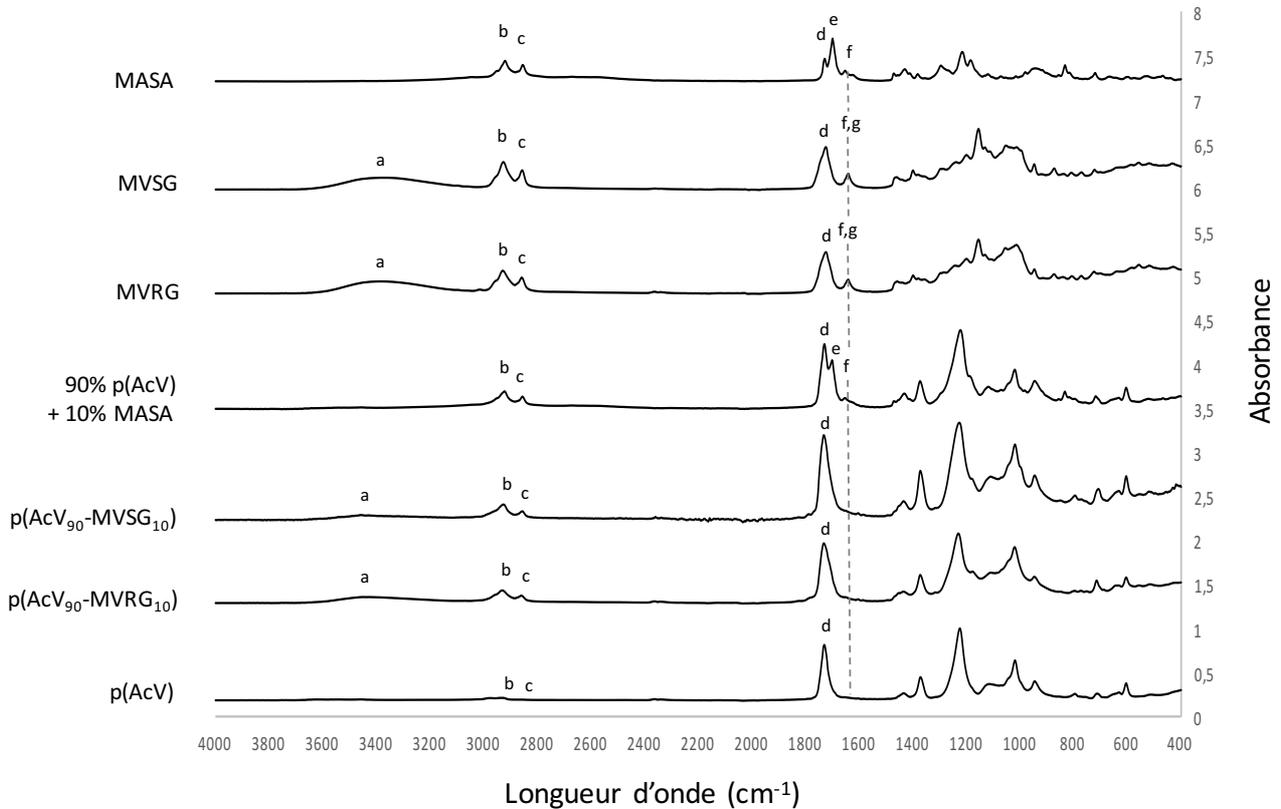


Figure 9 – Superposition des spectres infrarouge des composés MASA, MVSG, MVRG, p(AcV90-MVSG10), p(AcV90-MVRG10), p(AcV) et du mélange 90% p(AcV) + 10% MASA

Bande de vibration	a	b	c	d	e	f	g
Longueur d'onde (cm ⁻¹)	3400	2928	2858	1722	1703	1661	1632
Liaison	O-H	CH ₂ C-H asym	CH ₂ C-H sym	C=O ester	C=O acide	C=C maléique	C=C vinyl

Tableau 9 - Attribution des bandes caractéristiques des spectres infrarouge des composés MASA, MVSG, MVRG, p(AcV₉₀-MVSG₁₀), p(AcV₉₀-MVRG₁₀), p(AcV) et du mélange 90% p(AcV) + 10% MASA

L'absence de bande caractéristique de la vibration d'élongation des liaisons C=C sur les spectres infrarouge du p(AcV₉₀-MVSG₁₀) et du p(AcV₉₀-MVRG₁₀) atteste de la disparition totale des fonctions vinyliques et donc d'une consommation complète des monomères. (Figure 9) Mais cette absence traduit également la disparition des doubles liaisons maléiques des monomères MVSG et MVRG. En l'absence de fonctions vinyliques, la bande de vibration d'élongation de la double-liaison maléique, repérable sur le spectre infrarouge du MASA (signal f, 1661 cm⁻¹), est identifiable même en présence de 90% de p(AcV) sur le spectre du mélange de p(AcV) et de MASA. Or elle n'est pas visible sur les spectres des copolymères p(AcV₉₀-MVSG₁₀) et p(AcV₉₀-MVRG₁₀). Cette observation confirme bien la participation des doubles liaisons maléiques au cours de la copolymérisation avec l'acétate de vinyle, causant la réticulation des systèmes.

4.2.3 Propriétés thermiques

Les profils de dégradation obtenus en fonction de la température et les températures de transition vitreuse (T_g) des copolymères synthétisés ont été déterminés respectivement par ATG sous atmosphère inerte et par DSC. Les températures correspondant à 5% de dégradation des copolymères (T_{d5%}), les taux de résidus observés après dégradation (R) et les températures de transition vitreuse (T_g) sont exposés dans le Tableau 10 en comparaison avec les températures obtenues pour les copolymères porteurs des groupements succiniques.

Polymère	T _{d5%} (°C)	R (%)	T _g (°C)
p(AcV)	162	5,2	4
p(AcV ₉₅ -MVSG ₅)	193	9,4	12
p(AcV ₉₀ -MVSG ₁₀)	171	9,4	24
p(AcV ₉₅ -MVRG ₅)	184	8,7	13
p(AcV ₉₀ -MVRG ₁₀)	152	15,1	-1
p(AcV ₉₅ -SVSG ₅)	156	5,6	6
p(AcV ₉₀ -SVSG ₁₀)	182	6,8	13
p(AcV ₉₅ -SVRG ₅)	198	5,3	5
p(AcV ₉₀ -SVRG ₁₀)	190	5,8	4

Tableau 10 – Comparaison des températures de dégradation et de transition vitreuse des différents polymères synthétisés

La Figure 10 compare les profils de dégradation observés pour les quatre copolymères différents en fonction de leur composition (0%, 5% ou 10% de glycomonomère)

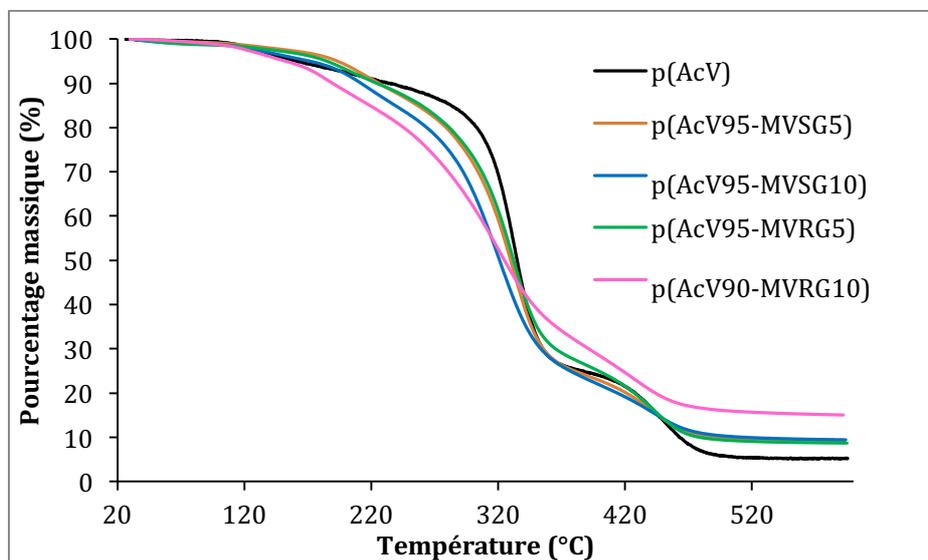


Figure 10 – Superpositions des courbes ATG des polymères p(AcV), p(AcV₉₅-MVSG₅), p(AcV₉₀-MVSG₁₀), p(AcV₉₅-MVRG₅), et (AcV₉₀-MVRG₁₀)

Là encore, trois vagues de dégradation sont observées, légèrement plus étalées que celles obtenus à partir des copolymères porteurs des fonctions succiniques. Le remplacement des fonctions succiniques par des fonctions maléiques ne semble pas avoir d'influence claire sur les valeurs de T_{d5%} observées ; en revanche les taux de résidus obtenus, entre 9 et 15%, sont nettement plus

élevés. (Tableau 10) Ce phénomène est une nouvelle preuve indirecte du phénomène de réticulation de ces copolymères.

Les copolymères ont également été analysés et comparés au p(AcV) par DSC. Après une première rampe de chauffe jusqu'à 75°C suivie d'une rampe de refroidissement jusqu'à -80°C afin d'effacer l'histoire thermique des échantillons, une deuxième rampe de température jusqu'à 100°C est effectuée. La Figure 11 expose les profils obtenus par DSC du p(AcV), du p(AcV₉₅-SVSG₅) et le p(AcV₉₀-SVSG₁₀) lors de la deuxième rampe de température.

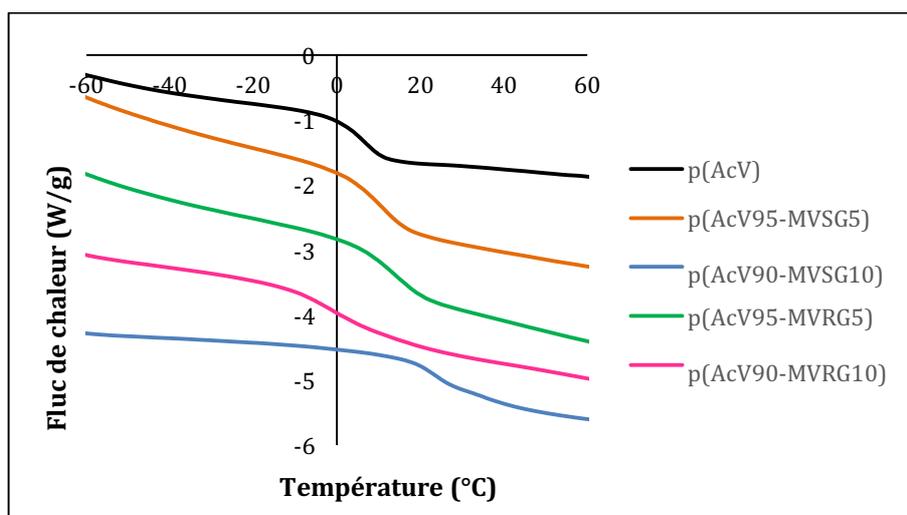


Figure 11 - Superpositions des courbes DSC des polymères p(AcV), p(AcV₉₅-MVSG₅), p(AcV₉₀-MVSG₁₀), p(AcV₉₅-MVRG₅), et p(AcV₉₀-MVRG₁₀)

Les quatre copolymères, là encore amorphes, présentent des températures de transition vitreuse supérieures à celles observées pour les copolymères porteurs de groupements succiniques, à l'exception du p(AcV₉₀-MVRG₁₀) dont la Tg est étonnamment basse (-1°C). (Tableau 10) Ces données sont cohérentes avec la présence de réticulations, sans pour autant que cet effet soit flagrant.

4.3 Conclusion

L'application des conditions de copolymérisation optimisées dans le cas du p(AcV₉₀-SVSG₁₀) ont pu être appliquées à la synthèse de copolymères à partir des quatre monomères glycolipidiques étudiés dans ce chapitre. Des conversions totales de l'AcV et des monomères ont été obtenues pour les compositions 95/5 et 90/10. La copolymérisation de l'AcV avec le MVSG et le MVRG a conduit à un phénomène de réticulation se traduisant par des propriétés thermiques légèrement différentes.

IV. CONCLUSION

Au cours de ce chapitre, ont été présentés les différents travaux de polymérisation et copolymérisation effectués sur une première famille de monomères glycolipidiques porteurs de groupements succinate de vinyle et maléate de vinyle : le SVSG, le SVRG, le MVSG et le MVRG.

Malgré de nombreuses tentatives, ces quatre monomères n'ont pas pu être homopolymérisés. L'étude de la polymérisation de plusieurs modèles nous a permis de diagnostiquer un trop grand encombrement stérique de nos monomères, malgré une réactivité du groupement succinate de vinyle mise en évidence par la polymérisation quasi-totale du 6SVU. Le groupement maléate de vinyle quant à lui ne semble pas être très réactif : seulement 20% du modèle 6MVU ont pu être polymérisés.

Malgré tout, les monomères glycolipidiques SVSG, SVRG, MVSG et MVRG ont tous les quatre pu être copolymérisés avec de l'acétate de vinyle. Dans un premier temps, les conditions de copolymérisation ont été optimisées sur la synthèse du copolymère $p(\text{AcV}_{90}\text{-SVSG}_{10})$ qui a été obtenu avec une conversion totale des deux monomères. En revanche, une chute progressive des conversions des monomères a été constatée lors de la synthèse de copolymères à plus forts taux (de 20 à 40%) de SVSG. A partir des quatre monomères glycolipidiques synthétisés, huit copolymères ont pu être synthétisés avec des conversions totales : le $p(\text{AcV}_{95}\text{-SVSG}_5)$, le $p(\text{AcV}_{90}\text{-SVSG}_{10})$, le $p(\text{AcV}_{95}\text{-SVRG}_5)$, le $p(\text{AcV}_{90}\text{-SV5G}_{10})$, le $p(\text{AcV}_{95}\text{-MVSG}_5)$, le $p(\text{AcV}_{90}\text{-MVSG}_{10})$, le $p(\text{AcV}_{95}\text{-MVRG}_5)$, et le $p(\text{AcV}_{90}\text{-MVRG}_{10})$. A partir des monomères porteurs d'un groupement succinate de vinyle, des copolymères linéaires ont été obtenus. En revanche, lors de l'emploi des monomères porteurs d'un groupement maléate de vinyle, une participation des doubles liaisons maléiques au cours de la polymérisation a également été constatée, conduisant à la formation de copolymères ramifiés.

V. BIBLIOGRAPHIE

- [1] Bevington J. C. and Johnson M., «Radical polymerizations involving esters of vinyl alcohol - II. Copolymerizations,» *Eur. Polym. Jo.*, vol. 4 (6), pp. 669-675, **1968**.
- [2] Adicoff A. and Buselli A., «Reactivity ratios for vinyl stearate-vinyl acetate copolymers,» *J. Polym. Sci.*, vol. 21 (98), pp. 340-343, **1956**.
- [3] Brandrup, J., Immergut E. H., Grulke E. A., Abe A. and Bloch D. R., *Polymer Handbook, fourth edition*, **1999**.
- [4] Bawn C. E. H. and Mellish S. F., «A method of determination of the rate of molecular dissociation in solution. Parts I and II. - The rate of dissociation of benzoyl peroxide and 2 : 2'-azo-bis(isobutyronitrile) in various solvents,» *Trans. Faraday Soc.*, vol. 47, pp. 1216-1227, **1951**.
- [5] Nozaki K. and Bartlett P. D., «The kinetics of decomposition of benzoyl peroxide in solvents,» *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 68 (9), pp. 1686-1692, **1946**.
- [6] Kitagawa M., Takegami S. and Tokiwa Y., «Free-radical polymerization of a reducing vinyl sugar ester in dimethylformamide and water,» *Macromol. Rapid Commun.*, vol. 19, pp. 155-158, **1998**.
- [7] Kitagawa M. and Tokiwa Y., «Synthesis of polymerizable sugar ester possessing long spacer catalyzed by lipase from *Alcaligenes* sp. and its chemical polymerization,» *Biotechnol. Lett.*, vol. 20 (7), pp. 627-630, **1998**.
- [8] Miura Y., Ikeda T. and Kobayashi K., «Chemoenzymatically synthesized glycoconjugate polymers,» *Biomacromolecules*, vol. 4 (2), pp. 410-415, **2003**.
- [9] Kitagawa M. and Tokiwa Y., «Polymerization of vinyl sugar ester using ascorbic acid and hydrogen peroxide as a redox reagent,» *Carbohydr. Polym.*, vol. 64, pp. 218-223, **2006**.
- [10] Li X., Wu Q., Lu M., Zhang F. and Lin X., «Chemoenzymatic synthesis and self-assembly of galactose-functionalized ribavirin-containing amphiphilic random copolymer,» *J. Polym. Sci. A: Polym. Chem.*, vol. 46, pp. 2734-2744, **2008**.
- [11] Lu D-S, Wu Q. and Lin X-F, «Chemoenzymatic synthesis of biodegradable poly(1-O'-vinyladipoyl sucrose),» *CJPS*, vol. 20 (6), pp. 579-584, **2002**.
- [12] Rodrigues Borges M., Alves dos Santos J., Vieira M. and Balaban R., «Polymerization of a water soluble glucose vinyl ester monomer with tensioactive properties synthesized by enzymatic catalyst,» *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 29, pp. 519-523, **2009**.
- [13] Ashrafuzzaman M. D., Pyo J. I. and C. S. Cheong, «Sucrose derivatives preparation using *Thermomyces lanuginosus* Lipase and their application,» *Bull. Korean Chem. Soc.*, vol. 35 (2), pp. 477-482, **2014**.
- [14] Desroches M., Caillol S., Lapinte V., Auvergne R. and Boutevin B., «Synthesis of biobased polyols by thiol-ene coupling from vegetable oils,» *Macromolecules*, vol. 44 (8), pp. 2489-2500, **2011**.
- [15] M. Desroches, «Fonctionnalisation d'huiles végétales et de leurs dérivés pour la formulation de nouveaux revêtements polyuréthanes agro-ressourcés,» *Thèse de doctorat en Chimie des matériaux, Université de Montpellier*, **2011**.
- [16] Teomim D., Nyska A. and Domb A. J., «Ricinoleic acid-based biopolymers,» *J. Biomed. Mater. Res.*, vol. 45 (3), pp. 258-267, **1999**.
- [17] De Wilde M. C. and Smets G., «Copolymérisation de l'anhydride maléique avec différents monomères vinyliques,» *J. Polym. Sci.*, vol. 5 (2), pp. 253-258, **1950**.

- [18] Caze C. and Loucheux C., «Mechanism of alternating copolymerization of vinyl acetate and maleic anhydride,» *Journal of Macromolecular Science: Part A - Chemistry*, vol. 9 (1), pp. 29-43, **1975**.
- [19] Spridon D., Panaitescu L., Ursu D., Uglea C., Popa I. and Ottenbrite R. M., «Synthesis and biocompatibility of maleic anhydride copolymers: 1. Maleic anhydride-vinyl acetate, maleic anhydride-methyl methacrylate and maleic anhydride-styrene,» *Polymer International*, vol. 43, pp. 175-181, **1997**.
- [20] Xing C-M and Yang W-T, «A novel, facile method for the preparation of uniform, reactive maleic anhydride/vinyl acetate copolymer micro- and nanospheres,» *Macromol. Rapid Commun.*, vol. 25 (17), pp. 1568-1574, **2004**.
- [21] Wu J., Li H., Winnik A., Farwaha R. and Rademacher J., «Poly(vinyl acetate-co-dibutyl maleate) latex films in the presence of grafted and post-added poly(vinyl alcohol),» *J. Polym. Sci. A: Polym. Chem.*, vol. 42, pp. 5005-5020, **2004**.
- [22] Wu J., Oh J. K., Yang J. and Winnik M. A., «Synthesis and microstructure characterization of dye-labeled poly(vinyl acetate-co-dibutyl maleate) latex for energy transfer experiments,» *Macromolecules*, vol. 36, pp. 8139-8147, **2003**.
- [23] Wu J., Tomba J. P., Winnik M. A., Farwaha R. and Rademacher J., «Effect of gel content on polymer diffusion in poly(vinyl acetate-co-dibutyl maleate) latex films,» *Macromolecules*, vol. 37, pp. 2427-2453, **2004**.
- [24] Farinha J. P. S., Wu J., Winnik M. A., Farwaha R. and Rademacher J., «Polymer diffusion in gel-containing poly(vinyl acetate-co-dibutyl maleate) latex films,» *Macromolecules*, vol. 38, pp. 4393-4402, **2005**.
- [25] Farrokhi M., Abdollahi M. and Hemmati M., «Controlled radical copolymerization of vinyl acetate and dibutyl maleate by iodine transfer radical polymerization,» *Polymer International*, vol. 63 (8), pp. 1494-1504, **2014**.
- [26] Rimez B., Rahier H., Van Assche G., Artoos T., Biesemans M. and Van Mele B., «The thermal degradation of poly(vinyl acetate) and poly(ethylene-co-vinyl acetate), Part I: Experimental study of the degradation mechanism,» *Polym. Degrad. Stabil.*, vol. 93, pp. 800-810, **2008**.
- [27] Rimez B., Rahier H., Van Assche G., Artoos T. and Van Mele B., «The thermal degradation of poly(vinyl acetate) and poly(ethylene-co-vinyl acetate), Part II: Modelling the degradation kinetics,» *Polym. Degrad. Stabil.*, vol. 93, pp. 1222-1230, **2008**.

CHAPITRE 5

Synthèse de nouveaux polymères glycolipidiques, Partie 2 :
Polymérisation des monomères de la Plateforme 2

CHAPITRE 5 – Synthèse de nouveaux polymères glycolipidiques, Partie 2 : Polymérisation des monomères de la Plateforme 2

I. Introduction	- 187 -
II. Homopolymérisation	- 187 -
1. Homopolymérisation des monomères glycolipidiques	- 187 -
2. Homopolymérisation de monomères modèles : étude du phénomène de gélification	- 189 -
III. Synthèse de copolymères	- 191 -
1. Rapports de réactivité	- 191 -
2. Copolymérisation du MAM et du MASG	- 192 -
2.1 Synthèse de trois gammes de copolymères : NC, BM et RAFT	- 192 -
2.2 Comparaison des trois gammes de copolymères	- 194 -
2.2.1 Conversions des monomères	- 194 -
2.2.3 Distribution des masses molaires	- 199 -
2.2.3.1 SEC dans le THF	- 199 -
2.2.3.2 SEC dans le DMF	- 201 -
2.2.4 Propriétés thermiques	- 202 -
2.2.4.1 Analyse thermogravimétrique	- 202 -
2.2.4.2 Analyse par DSC	- 204 -
3. Application à l'homopolymérisation et la copolymérisation du MARG	- 205 -
IV. Conclusion	- 208 -
V. Bibliographie	- 209 -

I. INTRODUCTION

Ce chapitre est consacré à l'étude de la polymérisation des monomères de la deuxième plateforme décrite dans le Chapitre 3. Le Schéma 1 ci-dessous rappelle les structures des quatre monomères de cette plateforme :

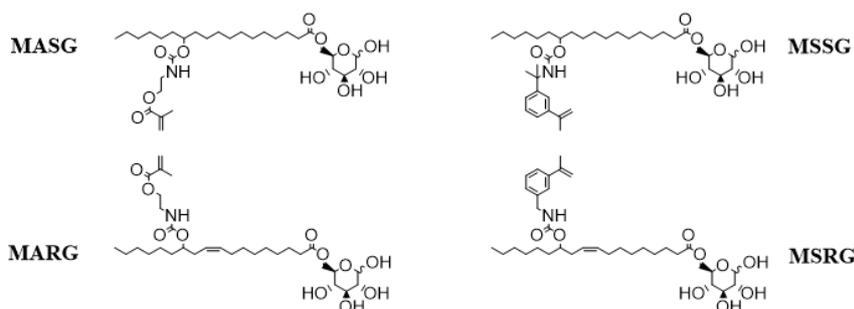


Schéma 1 – Structures des monomères de la plateforme 2 : MASG, MARG, MSSG et MSRSG

L'homopolymérisation du MASG et du MARG, ainsi que leur copolymérisation avec le méthacrylate de méthyle, ont été étudiées en présence d'AIBN dans le THF à 70°C. Ces conditions, qui sont les mêmes que celles initialement fixées pour les monomères de la première plate-forme, (voir Chapitre 4) ne peuvent en revanche pas s'appliquer aux monomères MSSG et MSRSG : La température plafond de l' α -méthylstyrène étant de 61°C, leur polymérisation devrait impérativement être effectuée à des températures plus basses, ce qui impose également de changer d'amorceur. De plus, le groupement α -méthylstyrène est connu pour être très difficilement homopolymérisable ; α -méthylstyrène est d'ailleurs généralement copolymérisé avec le styrène,^{1,2} ou encore l'acrylonitrile.^{3,4} Aussi, au cours de cette thèse, nous avons choisi de concentrer nos recherches uniquement sur la polymérisation du MASG et du MARG. Ce chapitre est consacré à la synthèse et à la caractérisation des polymères obtenus à partir de ces monomères. Les propriétés d'auto-assemblage des polymères synthétisés seront traitées dans le Chapitre 6.

II. HOMOPOLYMERISATION

1. Homopolymérisation des monomères glycolipidiques

Dans un premier temps, la capacité des monomères MASG et MARG à s'homopolymériser a été évaluée. Les monomères ont tous été solubilisés à une concentration de 2,7M dans du THF anhydre en présence de 0,8% d'AIBN comme amorceur et les polymérisations ont été effectuées à 70°C pendant 16 heures. Un effet Trommsdorff⁵ est alors observé : les milieux réactionnels prennent en masse pour conduire à un gel insoluble après seulement deux heures de réaction. (Figure 1) De nombreux articles font état de l'observation de l'effet Trommsdorff lors de la polymérisation en masse du méthacrylate de méthyle.^{6,7} Une concentration molaire de 2,7M en MASG, dont la masse molaire s'élève à 618 g/mol, correspond à une concentration massique de 1,67 g par mL de solvant. Le milieu réactionnel résultant

est donc excessivement visqueux, proche de conditions de polymérisation en masse. Par ailleurs le monomère MASG présente des fonctions uréthane, carboxyle et hydroxyles propres à la formation de nombreuses liaisons hydrogène intermoléculaires, augmentant encore plus la viscosité du milieu, qui continue de croître dès que la polymérisation s’amorce et que des chaînes polymères en croissance se forment. Enfin, plus les chaînes polymères s’allongent, plus la densité de liaisons hydrogène croît, jusqu’à former le gel insoluble qui est observé après deux heures de réaction.



Figure 1 - Phénomène de gélification du milieu réactionnel lors de la polymérisation de MASG

Les homopolymères ainsi obtenus par polymérisation non contrôlée des monomères MASG et MARG, qui seront notés $p(\text{MASG})_{\text{NC}}$ et $p(\text{MARG})_{\text{NC}}$, ont été isolés après 16 heures de réaction sous forme de solides légèrement jaunâtres, par évaporation du THF du milieu réactionnel. La polymérisation totale des monomères a été mise en évidence par spectroscopie infrarouge, par la disparition de la bande de vibration caractéristique de la liaison C=C de la fonction méthacrylate à 1639 cm^{-1} (Figures 2 et 3)

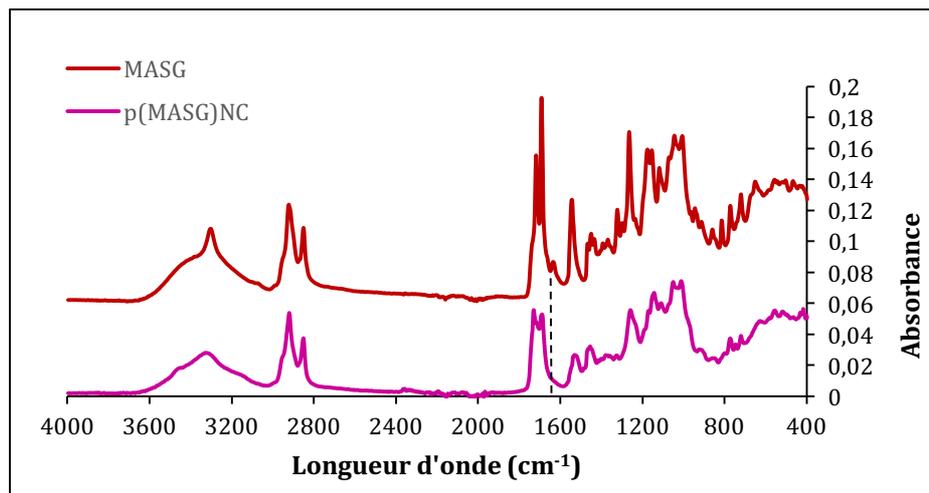


Figure 2 - Superposition des spectres infrarouge du MASG (haut) et du $p(\text{MASG})_{\text{NC}}$ (bas)

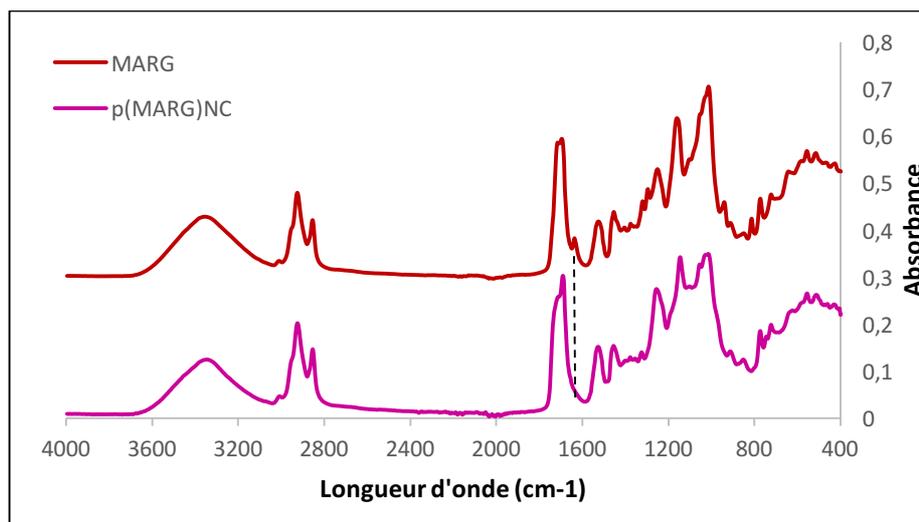


Figure 3 – Superposition des spectres infrarouge du MARG (haut) et du p(MARG)_{NC} (bas)

2. Homopolymérisation de monomères modèles : étude du phénomène de gélification

Afin de mettre clairement en évidence le rôle de la formation de liaisons hydrogène lors du phénomène de gélification irréversible observé au cours de la polymérisation des monomères MASG et MASRG, il a été choisi d'étudier dans les mêmes conditions les polymérisations de quatre monomères modèles :

- Le méthacrylate de méthyle (MAM) comme « témoin »
- Le méthacrylate d'hexyle (MAH)
- L'uréthane N-(méthacrylate d'éthyle) d'éthyle (MAE)
- Le 12-[uréthane N-(méthacrylate d'éthyle)] stéarate de méthyle (MASM)

Les structures de ces quatre monomères sont exposées dans le Schéma 2.

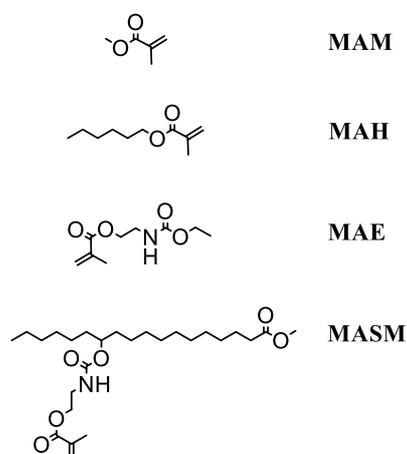


Schéma 2 – Structures des monomères modèles choisis

Le MAM et le MAH commerciaux ont été séchés sur hydruure de calcium et cryodistillés avant usage. Le MAE a été synthétisé par carbamation de l'éthanol absolu par l'IEMA à température ambiante et purifié par évaporation de l'éthanol résiduel. Enfin, le MASM a été obtenu par une méthylation du 12HSA suivie d'une carbamation par l'IEMA dans les conditions décrites dans le Chapitre 3. Toutes ces synthèses, illustrées dans le Schéma 2 ci-dessous, sont détaillées dans le chapitre 'Matériels et méthodes'.

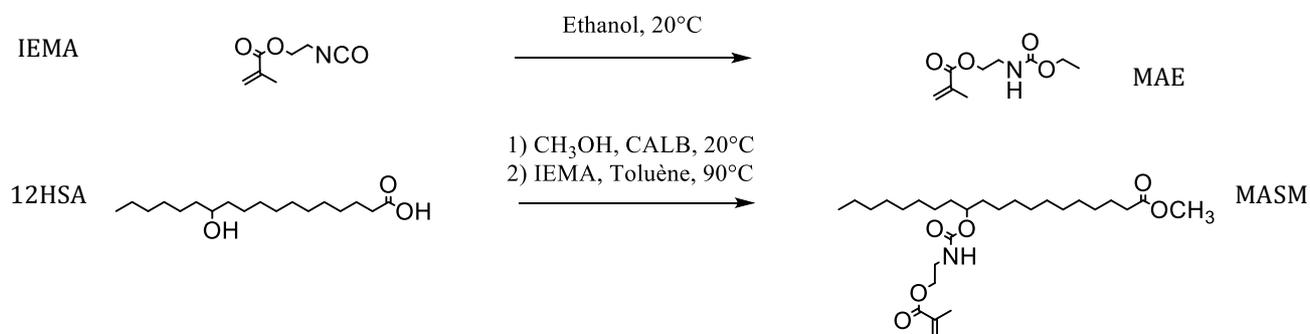


Schéma 3 – Synthèses du MAE et du MASM

Les quatre monomères modèles sont solubilisés dans du THF anhydre à une concentration de 2,7M et polymérisés à 70°C en présence de 2,5% d'AIBN après trois cycles de dégazage consécutifs. (Schéma 4)

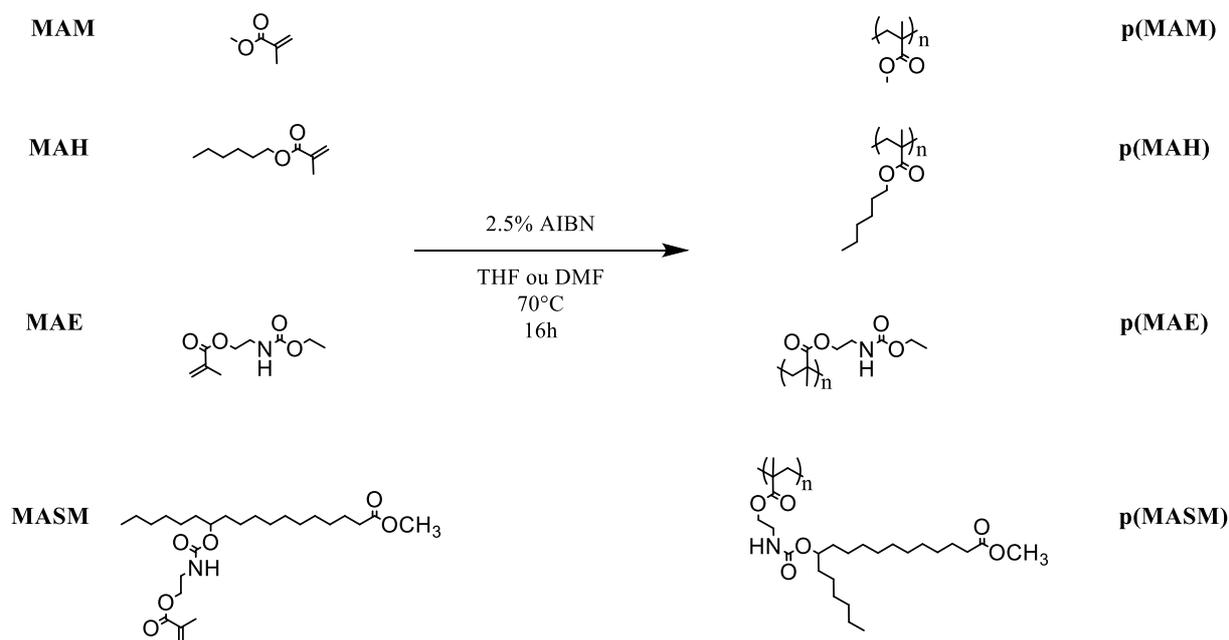


Schéma 4 – Polymérisation des monomères MAM, MAH, MAE et MASM en présence d'AIBN comme amorceur

Après 16 heures de réaction, les polymères p(MAM) et p(MAH) obtenus sont toujours solubles dans le milieu réactionnel et les conversions des monomères correspondants sont déterminées par RMN ¹H. Le milieu réactionnel après polymérisation du MAE est, quant à lui, excessivement visqueux. Enfin, le p(MASM) forme un gel dans le THF mais a pu être solubilisé dans les solvants CDCl₃ et DMSO pour être analysé par RMN, contrairement au p(MASG). Les résultats obtenus par RMN ¹H sont exposés dans le Tableau 2.

Monomère	MAM	MAH	MAE	MASM
Conversion	99%	99%	100%	100%
Gélification	Non	Non	Oui	Oui

Tableau 1 – Polymérisation des monomères modèles MAM, MAH, MAE, et MASM

Les phénomènes de gélification observés sont donc très probablement causés par la formation de liaisons hydrogène entre les protons labiles des fonctions uréthane et les différents carboxyles présents dans la structure des monomères. Plus la structure des monomères modèles se rapproche de celle du MASG, plus le nombre de liaisons hydrogène possibles augmentent, expliquant l'augmentation de la viscosité des milieux réactionnels observée, qui va jusqu'à la formation de gels.

III. SYNTHÈSE DE COPOLYMERES

Le MASG et le MARG ont donc pu être homopolymérisés, mais la présence de liaisons hydrogène intra-chaînes et inter-chaînes rendent les polymères complètement insolubles dans tous les solvants organiques testés même à haute température. L'objectif de ces travaux étant la synthèse de polymères amphiphiles capables de s'auto-assembler dans l'eau, cette insolubilité est un frein à lever. La copolymérisation du MASG et du MARG avec un autre monomère ne comportant pas de groupement susceptible de créer des liaisons hydrogène, pourrait permettre de les espacer suffisamment le long des chaînes polymères et donc de limiter la formation de gels.

Aussi, dans un second temps, nous nous sommes intéressés à la copolymérisation des monomères issus de la plateforme 2 avec des co-monomères commerciaux. Nous avons sélectionné le méthacrylate de méthyle (MAM) comme co-monomère du MASG et du MARG.

1. Rapports de réactivité

Les rapports de réactivité du MAM et du MASG n'ont pas été déterminés mais nous nous sommes appuyés sur les travaux d'Orbay *et al.*,⁸ qui ont déterminé les rapports de réactivité du MAM et du méthacrylate de 2,2'-diméthylaminoéthyle (2,2'DMAEM) dans le dioxane à 65°C. (Tableau 2)

Monomère 1	Monomère 2	r ₁	r ₂
MAM	2,2'DMAEM	0,42 +/- 0,01	0,96 +/- 0,015

Tableau 2 – Rapports de réactivité pour le MAM et le méthacrylate de 2,2'-diméthylaminoéthyle selon les travaux d'Orbay *et al.* ⁸ (Copolymérisation amorcée par l'AIBN dans le dioxane à 65°C)

Le méthacrylate de 2,2'-diméthylaminoéthyle réagirait indifféremment sur lui-même ou le MAM, alors que le MAM réagirait préférentiellement sur le méthacrylate de 2,2'-diméthylaminoéthyle. Aussi, en prenant pour modèles ces rapports de réactivité, nous pouvons nous attendre à synthétiser des

copolymères p(MAM_n-MASG_p) de type aléatoire, avec une incorporation de MASG légèrement plus importante au début de la polymérisation.

2. Copolymérisation du MAM et du MASG

Le MASG ayant déjà prouvé sa capacité à se polymériser et étant plus facile à synthétiser que son homologue insaturé MARG, c'est tout naturellement que nous avons décidé d'étudier sa copolymérisation avec le MAM en premier. Trois gammes de polymères obtenues selon différentes méthodes de polymérisation radicalaire, ont été synthétisées à partir de ces deux monomères. Dans un premier temps, les polymérisations sont effectuées sans aucun contrôle. Puis une deuxième gamme a été synthétisée en recourant à un agent de transfert thiolé afin d'étudier l'influence d'une diminution des masses molaires sur les propriétés des copolymères. Enfin, une troisième gamme a été synthétisée par polymérisation contrôlée par RAFT. Dans un premier temps, seront décrit les modes de synthèse des polymères de ces trois gammes. Les résultats obtenus, à savoir les conversions des monomères, leur caractérisation, leurs distributions de masses molaires et leurs propriétés thermiques, seront présentés plus loin afin de tous les comparer plus aisément.

2.1 Synthèse de trois gammes de copolymères : NC, BM et RAFT

La copolymérisation statistique des monomères MAM et MASG a été réalisée dans du THF anhydre pour différents rapports de comonomères. La proportion de MASG a ainsi été variée de 10 à 100% et la concentration totale en monomère conservée égale à 1,5M.

Une première gamme de copolymères a d'abord été synthétisée par polymérisation non contrôlée; puis dans un second temps, afin de pallier les problèmes de gélification du milieu réactionnel observés pour les taux de MASG trop élevés, nous avons cherché à réduire les masses molaires moyenne des copolymères produits; deux autres gammes ont donc été synthétisées, l'une par polymérisation non contrôlée en présence de benzoyl mercaptan, (BM) et l'autre par RAFT en présence de benzodithioate de 2-cyano-2-propyle (2C2PB) qui est un bon agent de transfert pour la polymérisation contrôlée des fonctions méthacrylates.⁹

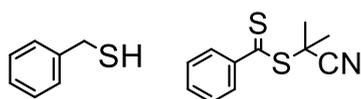


Schéma 5 – Structure des agents de transfert sélectionnés
Gauche : benzyl mercaptan. Droite : benzodithioate de 2-cyano-2-propyle

Ces trois gammes seront nommées par la suite « Gamme NC », « Gamme BM » et « Gamme RAFT ». Toutes les polymérisations ont été réalisées en présence de 0,8% molaires d'AIBN à 70°C pendant 16 heures. Pour les gammes BM et RAFT, le rapport [Monomère]/[Agent de transfert]/[AIBN] a été fixé

à 50/1/0,4. Les polymères ainsi synthétisés, listés dans le Tableau 3, seront par la suite nommés « p(MAM_n-MASG_p)_{NC} », « p(MAM_n-MASG_p)_{BM} », et « p(MAM_n-MASG_p)_{RAFT} ».

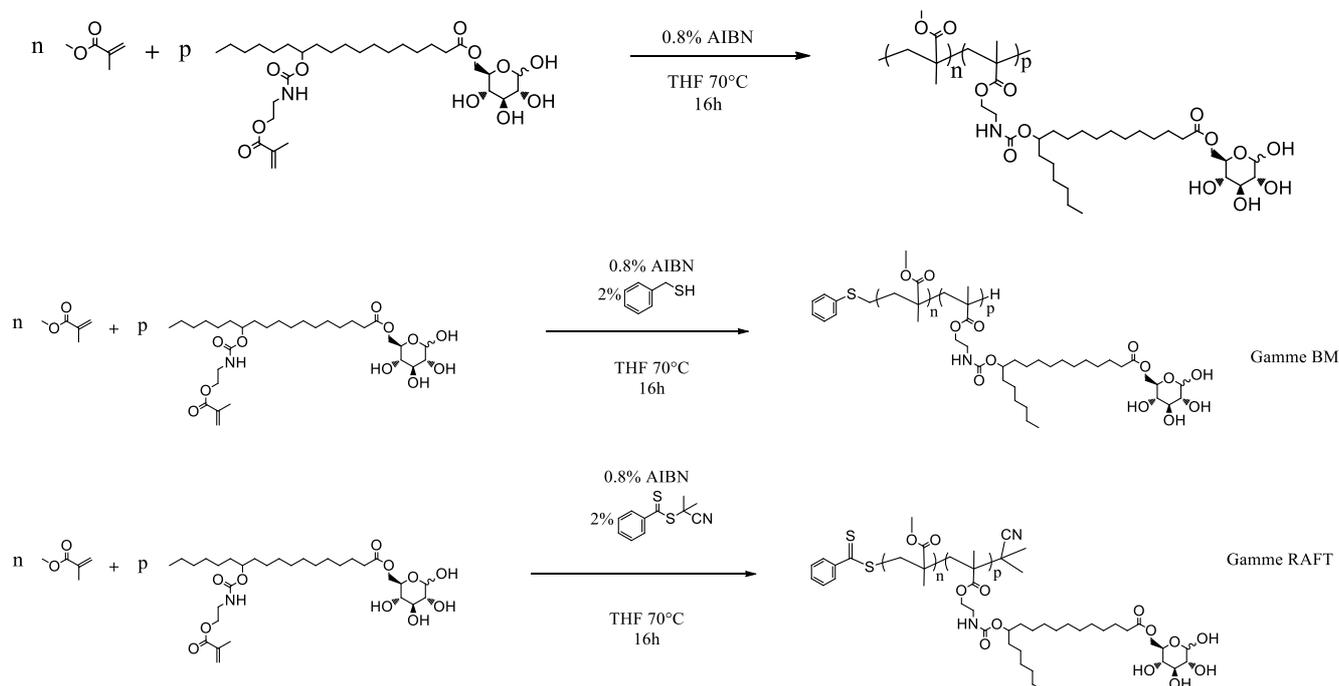


Schéma 6 - Copolymérisations du MAM et du MASG dans le THF en présence d'AIBN comme amorceur
Haut : Gamme NC. Centre : Gamme BM. Bas : Gamme RAFT

Composition	Gamme NC	Gamme BM	Gamme RAFT
100:0	p(MAM) _{NC}	p(MAM) _{BM}	p(MAM) _{RAFT}
90:10	p(MAM ₉₀ -MASG ₁₀) _{NC}	p(MAM ₉₀ -MASG ₁₀) _{BM}	p(MAM ₉₀ -MASG ₁₀) _{RAFT}
80:20	p(MAM ₈₀ -MASG ₂₀) _{NC}	p(MAM ₈₀ -MASG ₂₀) _{BM}	p(MAM ₈₀ -MASG ₂₀) _{RAFT}
70:30	p(MAM ₇₀ -MASG ₃₀) _{NC}	p(MAM ₇₀ -MASG ₃₀) _{BM}	p(MAM ₇₀ -MASG ₃₀) _{RAFT}
60:40	p(MAM ₆₀ -MASG ₄₀) _{NC}	p(MAM ₆₀ -MASG ₄₀) _{BM}	-
40:60	-	p(MAM ₄₀ -MASG ₆₀) _{BM}	p(MAM ₄₀ -MASG ₆₀) _{RAFT}
20:80	-	p(MAM ₂₀ -MASG ₈₀) _{BM}	p(MAM ₂₀ -MASG ₈₀) _{RAFT}
0:100	p(MASG) _{NC}	p(MASG) _{BM}	p(MASG) _{RAFT}

Tableau 3 – Liste des différents polymères synthétisés à partir de MAM et de MASG

Après 16 heures d'agitation, les milieux réactionnels du p(MAM)_{NC}, du p(MAM₉₀-MASG₁₀)_{NC} et du p(MAM₈₀-MASG₂₀)_{NC} sont toujours solubles, avec une très grande viscosité du milieu réactionnel. En revanche, la formation d'un gel est observée pour le p(MAM₇₀-MASG₃₀)_{NC}, le p(MAM₆₀-MASG₄₀)_{NC} et le p(MASG)_{NC} qui présentent des taux de MASG supérieurs. En revanche, aucun phénomène de gélification n'est observé pour les polymères des gammes BM et RAFT, quelle que soit leur composition.

A la fin des polymérisations, le THF et les traces éventuelles de MAM résiduel sont évaporés sous vide. Le p(MAM)_{NC} est isolé sous forme de films transparents ; le p(MASG)_{NC} est quant à lui obtenu sous la forme d'un solide dur légèrement jaunâtre. Les copolymères statistiques synthétisés se présentent

sous la forme intermédiaire de poudres blanches. Les polymères de la gamme BM sont isolés sous forme de films transparents pour le $p(\text{MAM})_{\text{BM}}$ et sous forme de poudre blanche pour les copolymères $p(\text{MAM}_n\text{-MASG}_p)_{\text{BM}}$ et le $p(\text{MASG})_{\text{BM}}$. Les polymères de la gamme RAFT sont tous isolés sous forme de poudres roses. (Figure 4)



Figure 4 - Polymères synthétisés

Haut : Gamme NC. De gauche à droite : $p(\text{MAM})_{\text{NC}}$, $p(\text{MAM}_{90}\text{-MASG}_{10})_{\text{NC}}$, $p(\text{MAM}_{60}\text{-MASG}_{40})_{\text{NC}}$, et $p(\text{MASG})_{\text{NC}}$
Centre : Gamme BM. De gauche à droite : $p(\text{MAM})_{\text{BM}}$, $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{BM}}$, $p(\text{MAM}_{20}\text{-MASG}_{80})_{\text{BM}}$, et $p(\text{MASG})_{\text{BM}}$
Bas : Gamme RAFT. De gauche à droite : $p(\text{MAM})_{\text{RAFT}}$, $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{RAFT}}$, $p(\text{MAM}_{20}\text{-MASG}_{80})_{\text{RAFT}}$, et $p(\text{MASG})_{\text{RAFT}}$

2.2 Comparaison des trois gammes de copolymères

2.2.1 Conversions des monomères

Tous les polymères des gammes BM et RAFT se sont révélés solubles dans le DMSO deutérié. Pour ces deux gammes, la conversion des monomères a été donc déterminée par RMN ^1H . La méthode de calcul employée pour le calcul des conversions, basée sur plusieurs signaux caractéristiques des spectres RMN ^1H obtenus, est détaillée dans l'Annexe 2. La Figure 5 compare à titre d'exemple les spectres RMN ^1H des copolymères $p(\text{MAM})_{\text{RAFT}}$, $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{RAFT}}$ et $p(\text{MASG})_{\text{RAFT}}$.

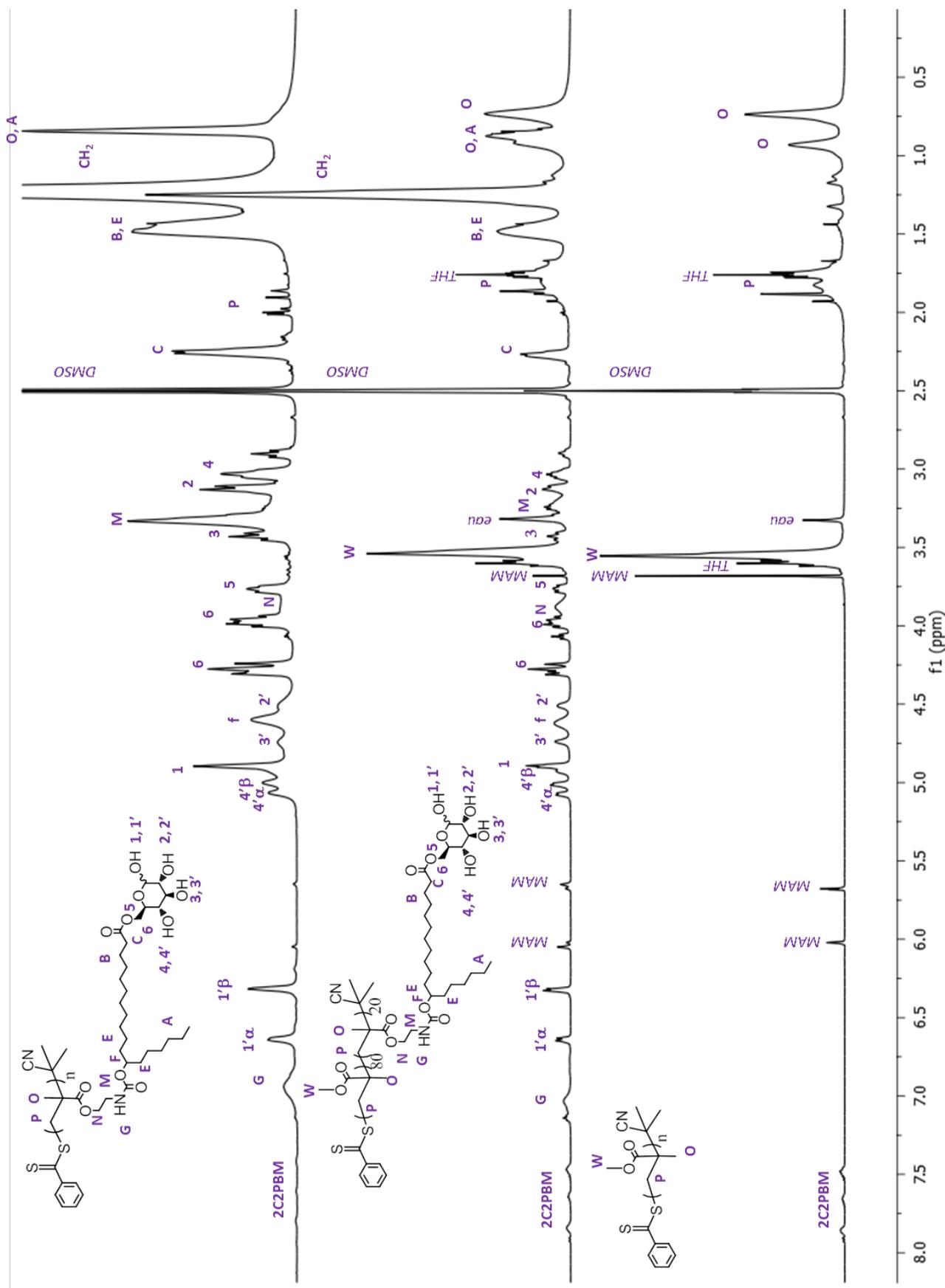


Figure 5 – Superposition des spectres RMN ¹H dans le d₆-DMSO du p(MASG)_{RAFT} (haut), du p(MAM₈₀-MASG₂₀)_{RAFT} (centre) et du p(MAM)_{RAFT} (bas)

Pour la gamme NC, les copolymères contenant plus de 20% de glycomonomère, insolubles dans tous les solvants deutériés testés, ont été caractérisés par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier. La structure des autres polymères, p(MAM)_{NC}, p(MAM₉₀-MASG₁₀)_{NC} et p(MAM₈₀-MASG₂₀)_{NC}, tous solubles dans le DMSO deutérié, a pu être confirmée par RMN ¹H. La Figure 6 présente les spectres infrarouge des copolymères de la gamme NC en comparaison avec les spectres des monomères MAM et MASG. Les attributions des pics caractéristiques relevés sur les spectres sont exposées dans le Tableau 4. La conversion totale des deux monomères est mise en évidence par la disparition de la bande caractéristique de la vibration élongationnelle des liaisons C=C des fonctions méthacrylates, à 1639 cm⁻¹ (signal **f** sur les spectres).

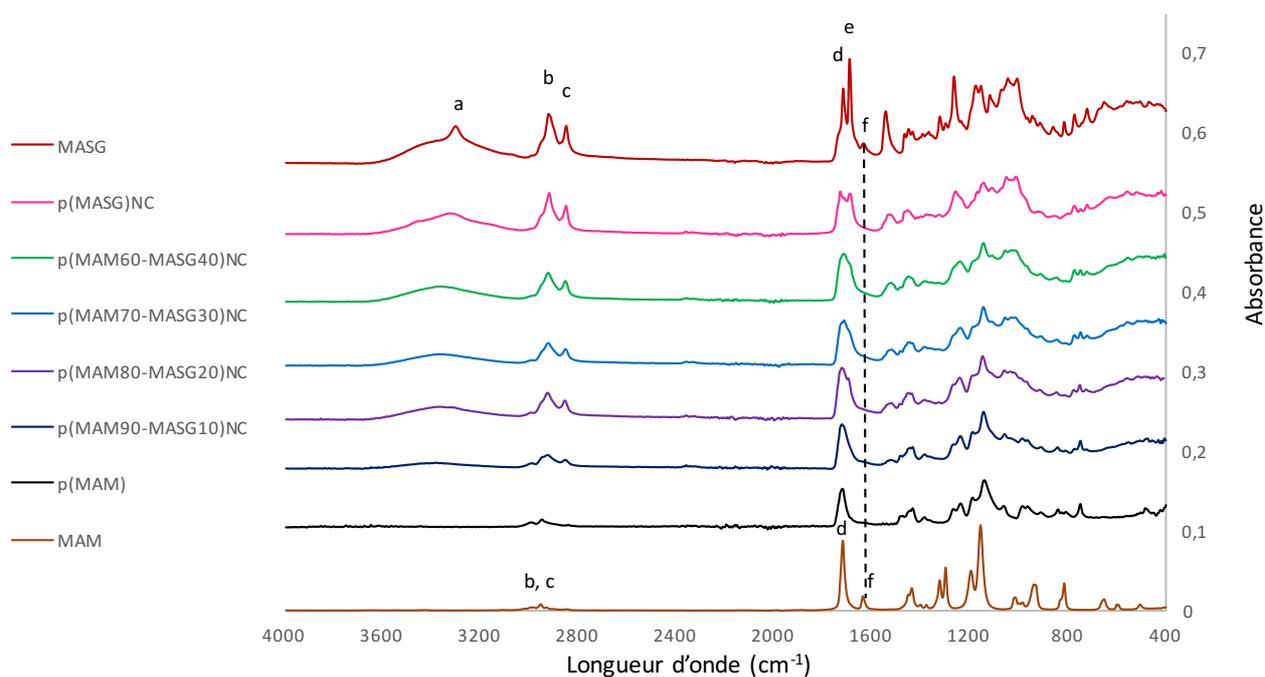


Figure 6 – Superposition des spectres infrarouge des polymères de la gamme NC en comparaison avec le MAM et le MASG. De haut en bas : MASG, p(MASG)_{NC}, p(MAM₉₀-MASG₁₀)_{NC}, p(MAM₈₀-MASG₂₀)_{NC}, p(MAM₇₀-MASG₃₀)_{NC}, p(MAM₆₀-MASG₄₀)_{NC}, p(MAM)_{NC}, et MAM.

Bande de vibration	a	b	c	d	e	f
Longueur d'onde (cm ⁻¹)	3400	2928	2858	1726	1693	1639
Liaison	O-H	CH ₂ C-H asym	CH ₂ C-H sym	C=O ester méthacrylate	C=O esters	C=C méthacrylate

Tableau 4 – Bandes de vibrations caractéristiques des composés MASG, p(MASG)_{NC}, p(MAM₉₀-MASG₁₀)_{NC}, p(MAM₈₀-MASG₂₀)_{NC}, p(MAM₇₀-MASG₃₀)_{NC}, p(MAM₆₀-MASG₄₀)_{NC}, p(MAM)_{NC}, et MAM.

Les conversions du MAM et du MASG obtenues pour chaque polymérisation et copolymérisation ainsi que les taux d'incorporation du MASG dans les copolymères synthétisés ont été calculées par RMN ^1H et sont comparées dans le Tableau 5. La polymérisation non contrôlée du MAM conduit à une conversion quasi-totale de ce dernier (97%). En présence de benzyl mercaptan comme agent de transfert, 93% du MAM sont polymérisés. Enfin, le contrôle de la polymérisation par RAFT se traduit par une conversion nettement plus faible, avec seulement 69% du MAM polymérisé. Le même phénomène est observé lors de la synthèse du p(MAM₉₀-MASG₁₀) : les conversions du MAM et du MASG sont de 85 et 88% en présence d'agent de transfert, et seulement de 23% et 71% en présence d'agent RAFT. En revanche, des conversions quasi-totales des deux monomères sont observées pour le p(MAM₉₀-MASG₁₀)_{NC} et pour les taux de MASG supérieurs ou égaux à 20%. Ceci peut s'expliquer par un effet Trommsdorff plus important du fait de l'augmentation de la viscosité du milieu réactionnel en l'absence d'agents de transfert ou en présence de taux de MASG suffisamment élevés, favorisant fortement la polymérisation.

Polymère	Gamme NC			Gamme BM			Gamme RAFT		
	Conversions		%MASG	Conversions		%MASG	Conversions		%MASG
	MMA	MASG		MMA	MASG		MMA	MASG	
p(MMA)	97%	-	-	93%	-	-	69%	-	-
p(MMA ₉₀ -MASG ₁₀)	100%	100%	10%	85%	88%	10.3%	23%	71%	25.1%
p(MMA ₈₀ -MASG ₂₀)	100%	100%	20%	97%	98%	20.1%	87%	90%	20.5%
p(MMA ₇₀ -MASG ₃₀)	Gel insoluble			100%	100%	30.0%	91%	97%	31.2%
p(MMA ₆₀ -MASG ₄₀)	Gel insoluble			98%	98%	40.1%	NS		
p(MMA ₄₀ -MASG ₆₀)	NS			100%	100%	60.0%	99%	100%	60.1%
p(MMA ₂₀ -MASG ₈₀)	NS			100%	100%	80.0%	100%	100%	80.0%
p(MASG)	Gel insoluble			-	100%	-	-	100%	-

Tableau 5 – Conversions du MAM et du MASG lors de la synthèse des copolymères p(MAM_n-MASG_p) pour les gammes NC, BM, et RAFT ; NS = non synthétisé

L'analyse de la gamme RAFT par RMN ^1H a également permis de calculer le degré de polymérisation (DP) des copolymères obtenus. (Tableau 6) Dans le cas du p(MASG)_{RAFT}, les signaux caractéristiques du 2C2PB étant trop peu intenses, le DP correspondant n'a pas pu être estimé.

Polymère	DP (RMN)	M_n (RMN) (g/mol)
p(MAM)_{RAFT}	42	4200
p(MAM₈₀-MASG₂₀)_{RAFT}	55	11200
p(MAM₇₀-MASG₃₀)_{RAFT}	74	18900
p(MAM₄₀-MASG₆₀)_{RAFT}	59	24200
p(MAM₂₀-MASG₈₀)_{RAFT}	51	26200
p(MASG)_{RAFT}	-	-

Tableau 6 – Valeurs des DP des polymères de la gamme RAFT calculés par RMN ¹H

Etrangement, la présence de 15 à 20% de 2C2PBM résiduel non lié aux chaînes a été observée sur les spectres RMN de tous les polymères synthétisés par RAFT, même après 24 heures de réaction. Ce phénomène n'a pas pu être expliqué. Les DP calculés sont néanmoins relativement proches de 50, témoignant d'un contrôle acceptable des polymérisations.

En conclusion, de très bonnes conversions du MAM et du MASG sont obtenues pour quasiment tous les polymères synthétisés. Les polymères de la gamme NC sont tous obtenus avec des conversions totales des deux monomères. Des conversions totales sont également obtenues pour les copolymères des gammes BM et RAFT à partir d'un taux de MASG de 30% ; en revanche, des conversions plus faibles sont obtenues pour le p(MAM), le p(MAM₉₀-MASG₁₀), et le p(MAM₈₀-MASG₂₀) de ces deux gammes. Ce phénomène peut s'expliquer par une baisse de viscosité des milieux réactionnels lors de la synthèse de ces six polymères avec la diminution des masses molaires des chaînes. Les milieux réactionnels des synthèses non contrôlées conduisent probablement à la formation de polymères de masses molaires moyennes beaucoup plus élevées, et présentent donc une viscosité suffisante pour observer l'effet Trommsdorff qui accélère et favorise la conversion totale des monomères. Dans le cas de la gamme BM, l'incorporation de 20% MASG, est nécessaire à l'obtention d'un milieu réactionnel suffisamment visqueux pour observer cet effet Trommsdorff : des conversions quasi-totales sont alors observées pour le p(MAM₈₀-MASG₂₀)_{BM}. Pour la polymérisation contrôlée par RAFT, qui conduit à des distributions de masses molaires plus homogènes, 30% de MASG sont nécessaires à la conversion totale des deux monomères. Par ailleurs, les degrés de polymérisation des copolymères synthétisés par RAFT ont pu être estimés par RMN ¹H et se sont révélés assez proches du DP de 50 visé, traduisant un contrôle certes imparfait mais relativement efficace de la polymérisation.

2.2.3 Distribution des masses molaires

2.2.3.1 SEC dans le THF

Les polymères suivants se sont révélés solubles dans le THF aux concentrations de la SEC (5mg/mL à température ambiante)

- Gamme NC : Le p(MAM)_{NC}, le p(MAM₉₀-MASG₁₀)_{NC} et le p(MAM₈₀-MASG₂₀)_{NC}
- Gamme BM : Le p(MAM)_{BM}, le p(MAM₈₀-MASG₂₀)_{BM}, et le p(MAM₇₀-MASG₃₀)_{BM}
- Gamme RAFT : Le p(MAM)_{RAFT}, le p(MAM₈₀-MASG₂₀)_{RAFT}, et le p(MAM₇₀-MASG₃₀)_{RAFT}

Les masses molaires moyennes correspondantes ont d'abord été déterminées grâce à un calibrage polystyrène. Comme observé pour la première plateforme (voir Chapitre 4), une diminution des valeurs de M_n est observée avec l'augmentation du taux de MASG. Ce phénomène est dû à une baisse de la solubilité des copolymères avec l'augmentation du taux de glycomonomère, se traduisant par une diminution des rayons hydrodynamiques des copolymères en solution. Aussi, afin d'estimer les masses molaires moyennes vraies des polymères synthétisés, une méthode de détermination des rapports $\frac{dn}{dc}$ correspondants dans le THF a été mise au point. Les valeurs obtenues sont présentées dans le Tableau 7 ci-dessous :

Polymère	Gamme NC	Gamme BM	Gamme RAFT
p(MAM)	0,0626	0,0618	0,0618
p(MAM₉₀-MASG₁₀)	0,0665	ND	ND
p(MAM₈₀-MASG₂₀)	0,0637	0,0568	0,0757
p(MAM₇₀-MASG₃₀)	NS	0,0667	0,0735

Tableau 7 – Valeurs de $\frac{dn}{dc}$ déterminées pour les polymères synthétisés solubles dans le THF
NS = non soluble ; ND = non déterminé (pureté des échantillons insuffisante)

Les masses molaires moyennes en nombre (M_n) et les dispersités (\mathcal{D}) des échantillons correspondants, sont présentées dans le Tableau 8 ci-après où elles sont comparées aux valeurs obtenues à partir du calibrage polystyrène. Les polymères des gammes BM et RAFT présentent bien des distributions de masses molaires plus faibles que ceux de la gamme NC. A composition égale, les masses molaires moyennes en nombres des copolymères BM et RAFT sont assez proches, ce qui est logique étant donné que ces gammes ont été réalisées toutes les deux en présence de 2% d'agent de transfert. Le p(MAM) fait exception, avec une valeur de M_n de 15500 g/mol largement supérieure, de façon étonnante. Enfin, les dispersités (\mathcal{D}) mesurés pour la gamme RAFT, entre 1,1 et 1,2, confirment le bon contrôle de la polymérisation. Les valeurs de DP obtenues pour les gammes NC et BM sont, quant à elles, classiques pour des polymérisations non contrôlées. Enfin, les masses molaires moyennes des copolymères

$p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{RAFT}}$ et $p(\text{MAM}_{70}\text{-MASG}_{30})_{\text{RAFT}}$ qui ont pu être déterminées par SEC dans le THF sont assez proches des valeurs estimées par RMN ^1H , attestant *a priori* de la fiabilité de ces mesures.

Polymère	M_n Gamme NC (g/mol)		M_n Gamme BM (g/mol)		M_n Gamme RAFT (g/mol)		RMN
	A	B	A	B	A	B	
p(MAM)	48700 ($\text{Đ} = 1,5$)	52100 ($\text{Đ} = 1,8$)	15500 ($\text{Đ} = 1,5$)	16900 ($\text{Đ} = 1,9$)	5500 ($\text{Đ} = 1,1$)	8561 ($\text{Đ} = 1,1$)	4200
p(MAM₉₀-MASG₁₀)	9100 ($\text{Đ} = 2,2$)	45400 ($\text{Đ} = 1,5$)	-	-	-	-	-
p(MAM₈₀-MASG₂₀)	9700 ($\text{Đ} = 1,7$)	70450 ($\text{Đ} = 1,9$)	5300 ($\text{Đ} = 1,3$)	18800 ($\text{Đ} = 1,3$)	5100 ($\text{Đ} = 1,2$)	11630 ($\text{Đ} = 1,2$)	11200
p(MAM₇₀-MASG₃₀)	NS	NS	3400 ($\text{Đ} = 1,2$)	17700 ($\text{Đ} = 1,2$)	4500 ($\text{Đ} = 1,2$)	17370 ($\text{Đ} = 1,1$)	18900

Tableau 8 - Comparaison des masses molaires moyennes et des dispersités obtenues par analyse par SEC dans le THF des copolymères $p(\text{MMA}_n\text{-MASG}_p)$ pour les gammes NC, BM et RAFT.

A = Calibration polystyrène. B = Masses molaires moyennes vraies. NS = non soluble

Les chromatogrammes des copolymères de même composition $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{NC}}$, $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{BM}}$, et $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{RAFT}}$, qui sont comparés dans la Figure 7, mettent bien en évidence une diminution des masses molaires moyennes en présence de BM ou de 2C2PB. Une distribution de masses molaires beaucoup plus resserrée est obtenue pour $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{RAFT}}$, attestant bien du contrôle de la polymérisation.

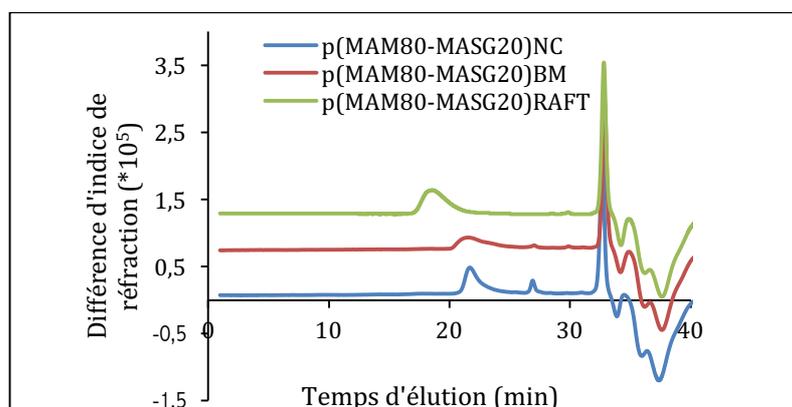


Figure 7 – Chromatogrammes d'exclusion stérique dans le THF pour les copolymères $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{NC}}$, $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{BM}}$, et $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{RAFT}}$

2.2.3.2 SEC dans le DMF

Afin de tenter d'estimer également les masses molaires moyennes et les dispersités des copolymères à plus hauts taux de glycomonomères, les polymères des gammes BM et RAFT dont les solubilités le permettaient ont également été analysés par SEC dans le DMF :

- Gamme BM : Le p(MAM)_{BM}, le p(MAM₈₀-MASG₂₀)_{BM}, et le p(MAM₇₀-MASG₃₀)_{BM}
- Gamme RAFT : Le p(MAM)_{RAFT}, le p(MAM₈₀-MASG₂₀)_{RAFT}, et le p(MAM₇₀-MASG₃₀)_{RAFT}

Les rapports $\frac{dn}{dc}$ de ces copolymères ont été déterminées dans le DMF. Malheureusement, les valeurs mesurées étant très faibles (0,02 à 0,04), les pourcentages d'erreur sur les masses molaires moyennes correspondantes se sont révélés colossaux, rendant les résultats correspondants inexploitable. Aussi, seules les masses molaires moyennes déterminées dans le DMF à partir du calibrage polystyrène sont présentées dans le Tableau 9.

Polymère	Gamme BM	Gamme RAFT	
	Mn SEC	Mn SEC	Mn RMN
	(g/mol)	(g/mol)	
p(MAM ₈₀ -MASG ₂₀)	84800 (Đ = 1,6)	25200 (Đ = 1,4)	11200
p(MAM ₇₀ -MASG ₃₀)	10600 (Đ = 1,6)	35300 (Đ = 1,4)	18900
p(MAM ₆₀ -MASG ₄₀)	NS	-	-
p(MAM ₄₀ -MASG ₆₀)	NS	86700 (Đ = 1,5)	24200
p(MAM ₂₀ -MASG ₈₀)	NS	100000 (Đ = 1,5)	26200
p(MASG)	NS	182000 (Đ = 2,3)	

Tableau 9 - Comparaison des masses molaires moyennes et des dispersités obtenues par analyse par SEC dans la DMF des copolymères p(MMA_n-MASG_p) pour les gammes BM et RAFT. Calibration polystyrène. NS = non soluble

Les valeurs de M_n mesurées sont très largement supérieures à celles mesurées par SEC dans le THF. On observe une forte augmentation des masses molaires moyennes avec l'augmentation du taux de glycomonomère. En revanche, les valeurs de M_n semblent beaucoup trop importantes par rapport à la réalité : pour la gamme RAFT, cela correspondrait à des DP entre 125 et 270, ce qui est incohérent par rapport aux valeurs de DP calculées par RMN qui se situent bien autour de 50. Aussi, de grosses différences sont observées entre les valeurs de M_n des copolymères des deux gammes de même composition : 84800 g/mol pour le p(MAM₈₀-MASG₂₀)_{BM} contre seulement 25200 g/mol pour le même copolymère de la gamme RAFT. Par ailleurs, les valeurs de DP mesurées pour la gamme RAFT sont

largement plus élevées que celles obtenues dans le THF. Ces résultats sont donc malheureusement inexploitable.

2.2.4 Propriétés thermiques

Enfin, pour chacune des trois gammes synthétisées (NC, BM et RAFT), les propriétés thermiques des polymères ont été étudiées par ATG et DSC.

2.2.4.1 Analyse thermogravimétrique

Les profils de dégradation thermique des polymères synthétisés ont été déterminés par ATG. Les températures correspondant à une dégradation de 5% des polymères ($T_{d5\%}$) sont exposées dans le Tableau 10.

Polymère	Gamme NC	Gamme BM	Gamme RAFT
p(MMA)	160°C	234°C	155°C
p(MMA ₉₀ -MASG ₁₀)	144°C	-	-
p(MMA ₈₀ -MASG ₂₀)	154°C	226°C	197°C
p(MMA ₇₀ -MASG ₃₀)	134°C	204°C	185°C
p(MMA ₆₀ -MASG ₄₀)	160°C	216°C	-
p(MMA ₄₀ -MASG ₆₀)	-	223°C	170°C
p(MMA ₂₀ -MASG ₈₀)	-	216°C	203°C
p(MASG)	215°C	225°C	212°C

Tableau 10 - Températures correspondant à une dégradation de 5% ($T_{d5\%}$) des polymères étudiés

Les courbes obtenues par ATG pour les polymères p(MAM), p(MAM₈₀-MASG₂₀) et p(MASG) des trois gammes, sélectionnés à titre d'exemples, sont exposées dans les Figures 8, 9 et 10.

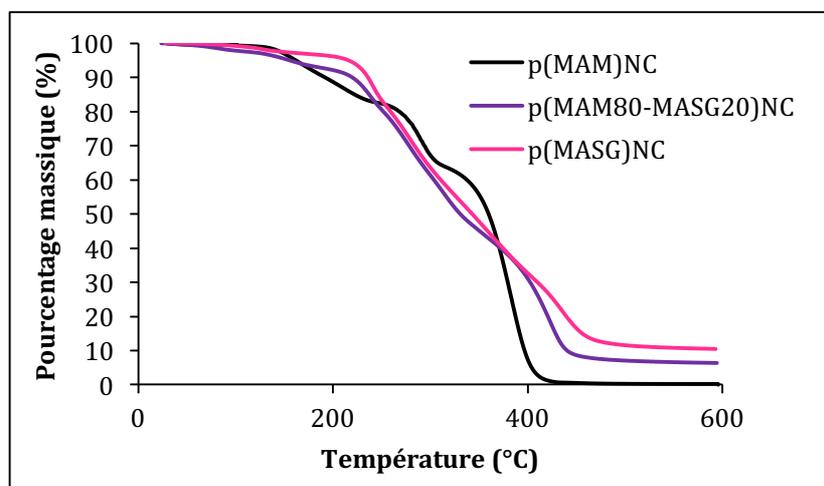


Figure 8 - Profils de dégradation thermique des polymères p(MAM)_{NC}, p(MAM₈₀-MASG₂₀)_{NC} et p(MASG)_{NC}

La dégradation thermique du p(MAM)_{NC} s'effectue en trois vagues, vers 140°C, 250°C et la plus importante vers 330°C. Ces trois vagues ont été caractérisées par Kishiwagi *et al.* en 1986 : ¹⁰ la première correspond à des scissions de chaînes au niveau des recombinaisons tête à tête, plus fragile que les enchaînements tête à queue; la seconde est initiée par une dégradation des bouts de chaînes insaturés formés par disproportionnement ; enfin, la vague de dégradation principale à 330°C correspond à la dégradation du reste du polymère.

Les profils de dégradation thermique des copolymères p(MAM₈₀-MASG₂₀), p(MAM₆₀-MASG₄₀) et p(MASG) sont, quant à eux, plus étalés, sans palier entre les différentes vagues successives contrairement à la courbe du p(MAM). Comme observé également dans le chapitre précédent pour les copolymères de la première plateforme, une vague supplémentaire apparaît autour de 220°C. Cette dernière correspond à la dégradation des glucoses pendants du copolymère. Le taux de résidus présents à la fin de la dégradation augmente également avec le taux de glucose des copolymères.

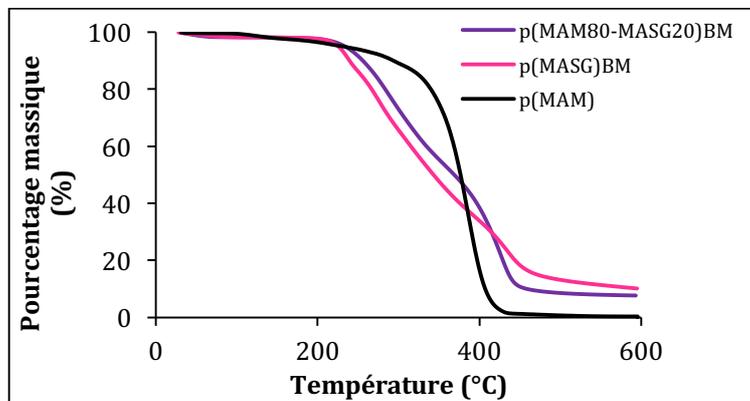


Figure 9 - Profils de dégradation thermique des polymères p(MAM)_{BM}, p(MAM₈₀-MASG₂₀)_{BM} et p(MASG)_{BM}

Le recours à un agent de transfert lors de la polymérisation du p(MAM) est connu pour limiter le nombre de liaisons tête à tête et de terminaisons de chaînes vinyliques, ce qui accroît fortement sa stabilité thermique.¹⁰ Ce phénomène est également vérifié pour le p(MAM₈₀-MASG₂₀)_{BM} et le p(MASG)_{BM} (Figure 9) ainsi que pour le p(MAM₈₀-MASG₂₀)_{RAFT} et le p(MASG)_{RAFT} (Figure 10) qui restent parfaitement stables jusqu'au début de la dégradation des unités glucoses vers 220°C.

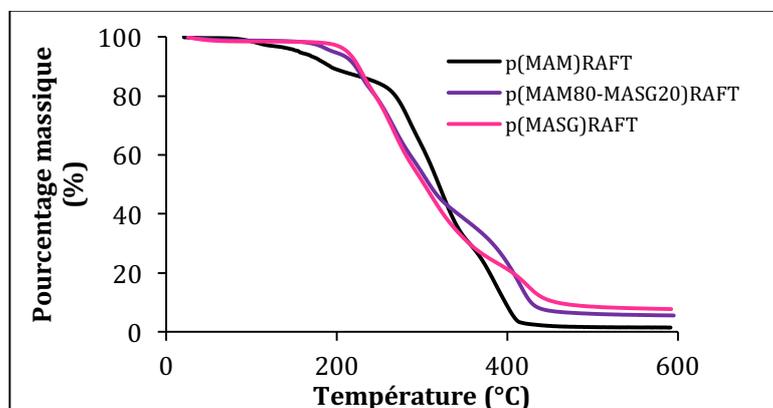


Figure 10 - Profils de dégradation thermique des polymères p(MAM)_{RAFT}, p(MAM₈₀-MASG₂₀)_{RAFT} et p(MASG)_{RAFT}

2.2.4.2 Analyse par DSC

Les différents polymères synthétisés ont également été analysés par DSC. Après une première rampe de chauffe jusqu'à 100°C suivie d'une rampe de refroidissement jusqu'à -80°C afin d'effacer l'histoire thermique des échantillons, une deuxième rampe de température jusqu'à 120°C est effectuée. Tous les polymères synthétisés sont amorphes ; les T_g obtenues lors du second cycle de chauffe sont indiquées dans le Tableau 11 :

Polymère	Gamme NC	Gamme BM	Gamme RAFT
p(MMA)	85°C	73°C	82°C
p(MMA ₉₀ -MASG ₁₀)	44°C	-	-
p(MMA ₈₀ -MASG ₂₀)	46°C	46°C	47°C
p(MMA ₇₀ -MASG ₃₀)	53°C	48°C	48°C
p(MMA ₆₀ -MASG ₄₀)	49°C	45°C	-
p(MMA ₄₀ -MASG ₆₀)	-	43°C	-
p(MMA ₂₀ -MASG ₈₀)	-	44°C	46°C
p(MASG)	45°C	42°C	44°C

Tableau 11 - Températures de transition vitreuses (T_g) des copolymères p(MAM_n-MASG_p) des gammes NC, BP et RAFT lors du second cycle de chauffe

Le p(MAM)_{NC}, le p(MAM)_{BM} et le p(MAM)_{RAFT} présentent des T_g entre 73 et 85°C. Dès l'introduction de 10% de MASG, une chute des T_g autour de 45°C est observée, puis l'augmentation du taux de MASG dans la composition du copolymère ne semble plus avoir d'influence sur les T_g mesurées, toutes situées entre 42 et 49°C. La distribution en taille des chaînes de copolymères ne semble pas non plus avoir d'impact sur la T_g : pour un copolymère d'une composition donnée, les T_g mesurées sont très proches pour les gammes NC, BM et RAFT. Les Figures 5, 6, et 7 présentent les courbes obtenues pour les polymères des gammes NC, BM et RAFT lors de la deuxième rampe de température.

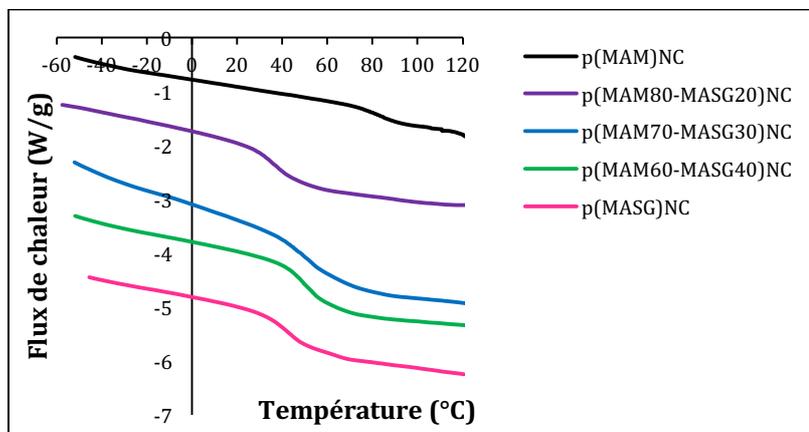


Figure 11 - Parties des courbes obtenues par analyse par DSC des polymères de la gamme NC lors du second cycle de chauffe

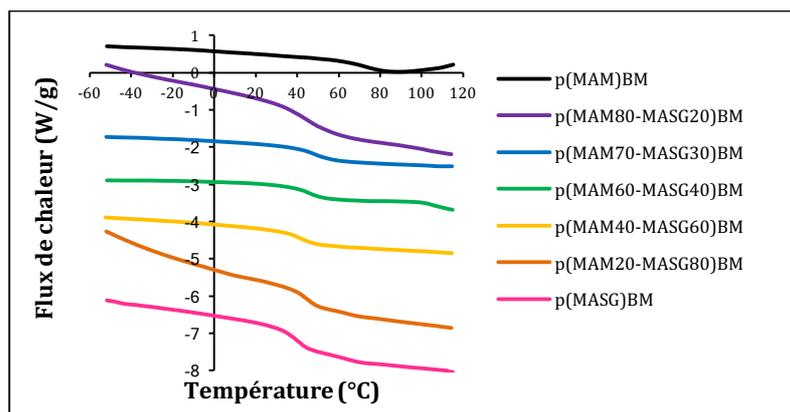


Figure 12 – Parties des courbes obtenues par analyse par DSC des polymères de la gamme BM lors du second cycle de chauffe

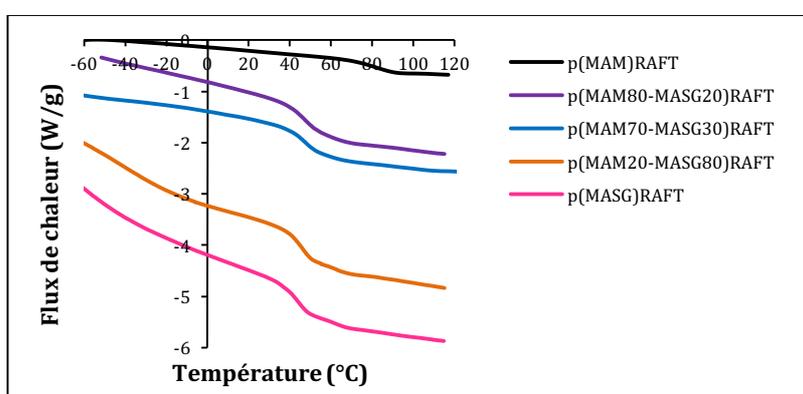


Figure 13 - Parties des courbes obtenues par analyse par DSC des polymères de la gamme RAFT

3. Application à l'homopolymérisation et la copolymérisation du MARG

Dans un dernier temps, nous nous sommes brièvement intéressés à la polymérisation du MARG et à sa copolymérisation avec le MAM. Deux polymères ont ainsi été synthétisés par polymérisation non contrôlée : un homopolymère noté $p(\text{MARG})_{\text{NC}}$ et un copolymère à partir de 80% de MAM et 20% de MARG, noté $p(\text{MAM}_{80}\text{-MARG}_{20})_{\text{NC}}$. Le MAM et le MARG sont solubilisés dans du THF anhydre. La concentration totale en monomère est de 1,5M. 0,8% d'AIBN sont ajoutés au milieu réactionnel qui est alors porté à 70°C pendant 16 heures.

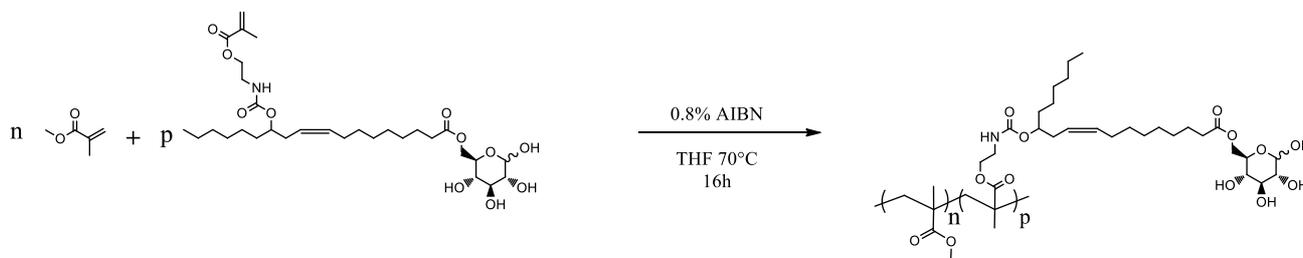


Schéma 7 – Copolymérisation radicalaire non contrôlée du MAM et du MARG

Après 16 heures d'agitation, le milieu réactionnel est toujours soluble mais très visqueux. Le THF et les traces de MAM résiduel sont éliminés par évaporation sous vide. Le p(MAM₈₀-MARG₂₀)_{NC} est obtenu sous la forme d'une poudre légèrement jaunâtre. Les conversions du MAM et du MARG ont été déterminées par RMN ¹H dans le DMSO deutérié. La masse molaire et la dispersité en taille du p(MAM₈₀-MARG₂₀)_{NC} ont été déterminées par SEC dans le THF. Ses propriétés thermiques ont également été étudiées par ATG et DSC. Les mêmes analyses ont été effectuées sur l'homopolymère p(MARG)_{NC}, dont la synthèse a été décrite au début de ce Chapitre (voir p 187). Les résultats correspondants sont comparés à ceux obtenus pour le p(MAM)_{NC}, le p(MAM₈₀-MASG₂₀)_{NC}, et le p(MASG)_{NC} dans le Tableau 11 ci-dessous :

Monomère	Conversion		Composition du copolymère	Mn g/mol.	Đ	T _d	T _g
	%MMA	%MARG					
p(MAM) _{NC}	97	-	100:0	48700	1,5	160°C	85°C
p(MAM ₈₀ -MARG ₂₀) _{NC}	96	97	79,9:20,1	15960	1,8	227°C	44°C
p(MARG) _{NC}	-	100	0:100	-	-	209°C	37°C
p(MAM ₈₀ -MASG ₂₀) _{NC}	100	100	80:20	16000	1,8	154°C	46°C
p(MASG) _{NC}	100	100	80:20	-	-	215°C	45°C

Tableau 12 – Récapitulatif et comparaison des propriétés des polymères synthétisés à partir du MARG et du MASG

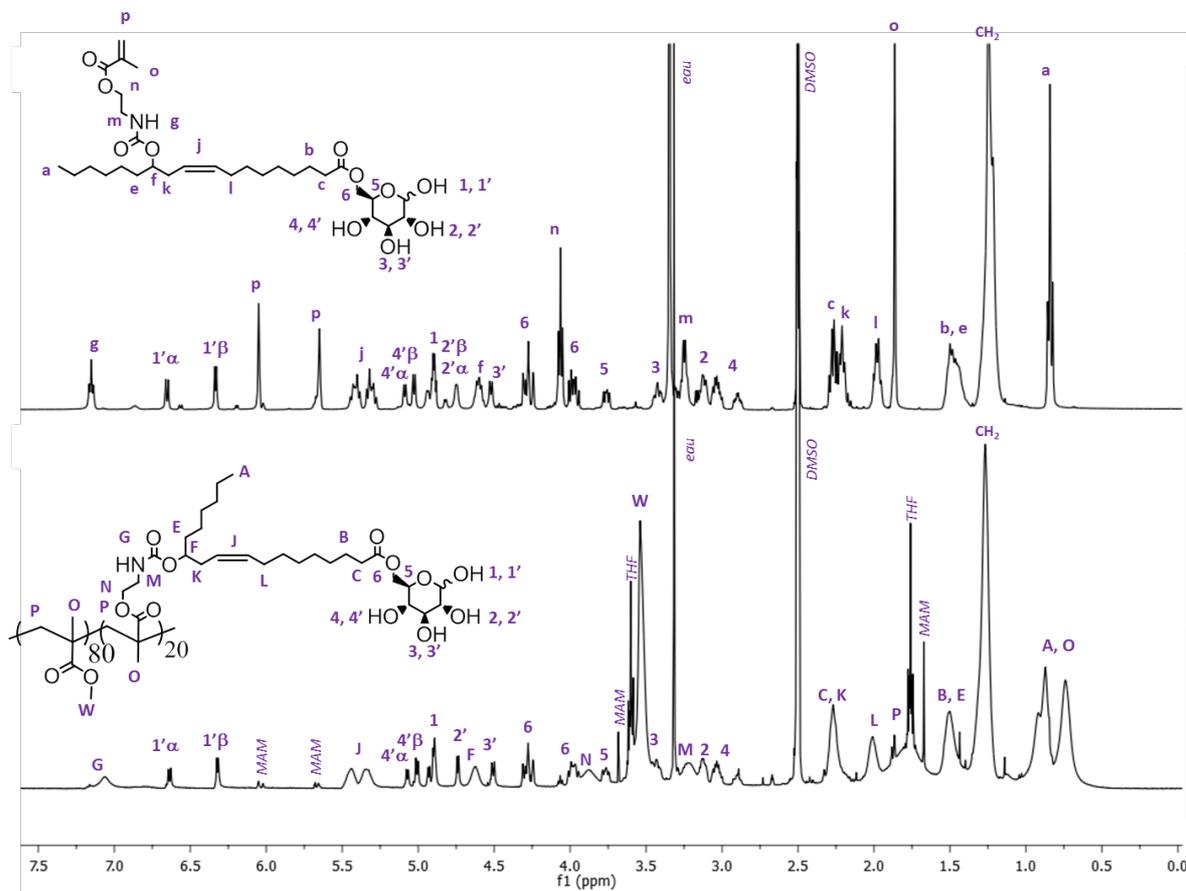


Figure 14 – Superposition des spectres RMN ¹H dans le d₆-DMSO du MARG (haut) et du p(MARG)_{NC} (bas)

A l'instar de la copolymérisation entre les monomères MAM et MASG dans les mêmes conditions, une conversion quasi-totale des deux monomères est observée. Le spectre RMN ^1H du $\text{p}(\text{MAM}_{80}\text{-MARG}_{20})_{\text{NC}}$ est présenté dans la Figure 14. La polymérisation des deux monomères est attestée par la quasi-disparition des signaux correspondants aux protons méthacrylates (signaux **p** et **o** sur le spectre) ainsi qu'au léger déplacement des signaux **m** et **n** et à l'apparition des signaux correspondant au squelette du polymère.

Les profils de dégradation du $\text{p}(\text{MASG})_{\text{NC}}$ et du $\text{p}(\text{MARG})_{\text{NC}}$ sont comparés Figure 16. Les deux courbes sont très similaires, même si la dégradation du $\text{p}(\text{MARG})_{\text{NC}}$ est légèrement moins étalée que celle du $\text{p}(\text{MASG})_{\text{NC}}$. Les deux polymères ont un comportement identique jusqu'à environ 220°C ; les pertes de masse des deux polymères débutent à la même température, et le même taux de résidus est obtenu après dégradation. En revanche, une température de transition vitreuse plus faible est mesurée par DSC pour le $\text{p}(\text{MARG})_{\text{NC}}$: 37°C contre 45°C pour le $\text{p}(\text{MASG})_{\text{NC}}$. La présence de la double-liaison intrachaîne du $\text{p}(\text{MARG})_{\text{NC}}$ explique probablement ce phénomène. (Figure 16)

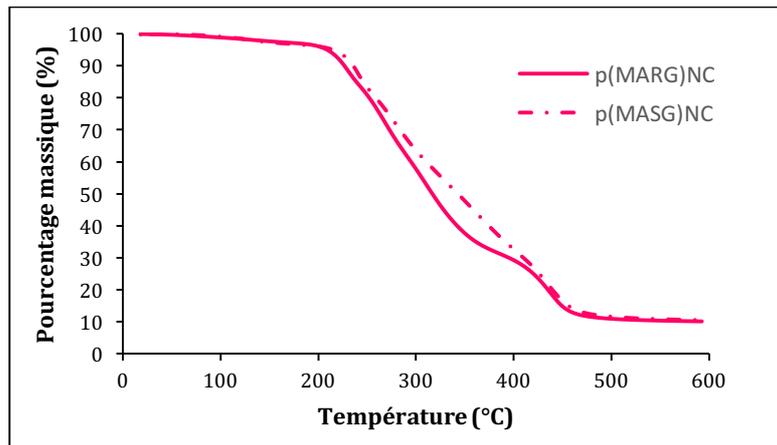


Figure 15 - Comparaison des courbes obtenues par ATG du $\text{p}(\text{MARG})_{\text{NC}}$ et du $\text{p}(\text{MASG})_{\text{NC}}$

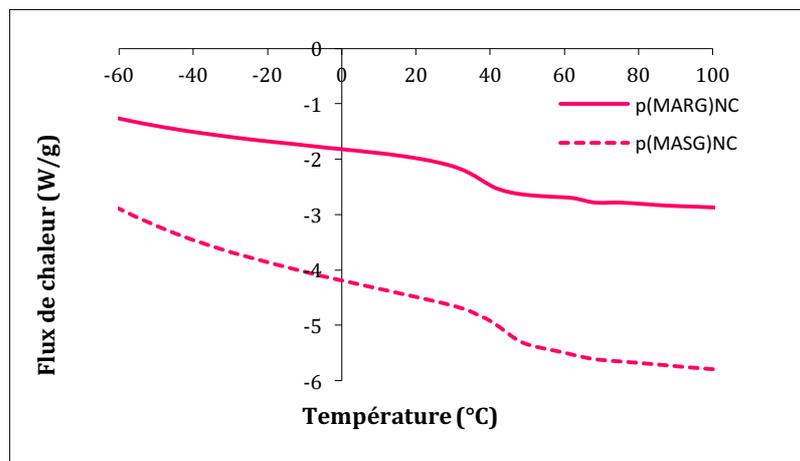


Figure 16 - Comparaison des courbes obtenues par DSC du $\text{p}(\text{MARG})_{\text{NC}}$ et du $\text{p}(\text{MASG})_{\text{NC}}$

IV. CONCLUSION

Au cours de ce chapitre, ont été présentés les réactions de polymérisation et copolymérisation effectués sur la deuxième plate-forme de monomères glycolipidiques. Trois gammes de copolymères ont été synthétisées à partir du MASG et de MAM.

La première a été synthétisée par copolymérisation radicalaire non-contrôlée. Des conversions totales du MAM et du MASG ont été obtenue, mais les copolymères contenant plus de 20% de glycomonomère se sont révélés complètement insolubles dans tous les solvants organiques. Ils ont en outre démontré une capacité à gélifier le THF. Ces copolymères composés de 30% et plus de MASG se révèlent donc inadaptés à des applications d'auto-assemblage dans l'eau, mais semblent présenter en solution des propriétés de gonflement intéressantes et pourraient être d'un certain intérêt pour des applications en tant qu'organogels.

Une seconde gamme de copolymères a été synthétisée, en présence de benzyl mercaptan comme agent de transfert, afin de réduire les masses molaires moyennes. Les copolymères obtenus se sont révélés solubles dans le THF, le DMF et le DMSO jusqu'à un taux de 30% de MASG ; les copolymères à plus hauts taux de glycomonomères synthétisés se sont révélés solubles uniquement dans le DMSO.

Enfin, afin de mieux maîtriser la taille des chaînes des copolymères, une troisième gamme a été synthétisée par polymérisation RAFT. Tous les copolymères ainsi obtenus se sont révélés solubles dans le THF à chaud, ainsi que dans le DMF, le DMSO et le méthanol à température ambiante. Si un contrôle parfait des tailles de chaînes semble difficile, surtout pour des taux élevés en glycomonomère, des degrés moyens de polymérisation autour de 50 ont pu être obtenus selon les analyses RMN. Les polymères de cette gamme sont prometteurs pour les applications d'auto-assemblage visées dans le cadre de ces travaux de thèse.

Dans un second temps, deux polymères ont été synthétisés par polymérisation non contrôlée à partir du MARG afin de les comparer à ceux obtenus à partir du MASG : le $p(\text{MARG})_{\text{NC}}$ et le $p(\text{MAM}_{80}\text{-MARG}_{20})_{\text{NC}}$. Sans surprise, la réactivité du MARG et les propriétés des polymères obtenus sont comparables à celles observées à partir du MASG.

V. BIBLIOGRAPHIE

- [1] Rudin A. and Samanta M. C., «Emulsion copolymerization of alpha-methylstyrene and styrene», *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 24 (7), pp. 1665-1689, **1979**.
- [2] Douglas P. S., Pete Patellis A. P. and Vredenburg W. A., «Copolymers of alpha-methylstyrene and uses thereof». US Brevet 3932332 A, **1973**.
- [3] Minematsu H., Matsumoto K., Saeki T. and Kishi A., «Low residual monomer alpha-methylstyrene-acrylonitrile copolymers and ABS blends therefrom». US4294946, **1981**.
- [4] Shimozato Y., Tsuchikawa S., Kimura S. and Noro M., «Heat-resistant copolymer of alpha-methylstyrene and acrylonitrile, process for preparing the same, and thermoplastic resin composition containing the same». US4659790, **1987**.
- [5] E., Trommsdorff, H., Köhle et P., Lagally «Aur Polymerisation des Methacrylsäuremethylestern», *Makromol. Chem.*, vol. 1, pp. 169-198, **1948**.
- [6] Ray A. B., Saraf D. BN. and Sen Gupta K., «Free radical polymerizations associated with the Trommsdorff effect under semibatch reactor conditions. I: Modeling», *Polym. Eng. Sci.*, vol. 35 (16), pp. 1290-1299, **1995**.
- [7] Gloor P. E. , Warner R. J., Blechinger S., Mohammed S., Sorenson K. E. and Villalobos M. A., «A look at the kinetics of methyl methacrylate polymerization», *8th RC User Forum Europe in Lugano, Switzerland*, November **1997**.
- [8] Orbay M., Laible R. et Dulog L., «Preparation of amide and amine groups containing copolymers of methyl methacrylate and their performance in solid polymer composites», *Makromol. Chem.*, vol. 183, pp. 47-63, **1982**.
- [9] Keddie D., «A guide to the synthesis of block copolymers using reversible-addition fragmentation chain transfer (RAFT) polymerization», *Chem. Soc. Rev.*, vol. 43 (2), pp. 496-505, **2014**.
- [10] Kashiwagi T., Inaba A. and Brown J. E., «Effects of weak linkages on the thermal and oxidative degradation of poly(methyl methacrylate)», *Macromolecules*, vol. 19 (8), pp. 2160-2168, **1986**.

CHAPITRE 6

Auto-assemblage dans l'eau des polymères
glycolipidiques synthétisés

CHAPITRE 6 – Auto-assemblage dans l'eau des polymères glycolipidiques synthétisés

I. Introduction	- 213 -
II. Systèmes auto-assemblés a partir des copolymères de la plateforme 2 : morphologies et dimensions des nanoparticules obtenues	- 213 -
1. Présentation du procédé de nanoprécipitation	- 213 -
2. Influence de la composition des copolymères sur la morphologie des nanoparticules obtenues	- 214 -
2.1 <i>Caractérisation des suspensions obtenues</i>	- 214 -
2.2 <i>Analyse des glycopolymères par WAXS : mise en évidence de la cristallinité</i>	- 219 -
2.3 <i>Influence du solvant organique sur la morphologie des nanoparticules obtenues</i>	- 220 -
2.4 <i>Conclusion</i>	- 221 -
3. Influence de la taille et de la dispersité des chaînes : Gammes BM et NC	- 221 -
4. Influence du procédé d'injection sur la morphologie des nanoparticules	- 223 -
5. Conclusion	- 226 -
III. Stabilité des suspensions	- 227 -
1. Influence de la température	- 227 -
2. Résistance aux forces ioniques	- 227 -
3. Hydrolyse par CALB	- 228 -
4. Conclusion	- 229 -
IV. Vers la vectorisation de principes actifs : une preuve de concept	- 229 -
V. Conclusion	- 233 -
VI. Bibliographie	- 234 -

I. INTRODUCTION

Dans une dernière partie, nous nous sommes intéressés aux propriétés d'auto-assemblage dans l'eau des différents polymères obtenus à partir des deux plateformes de monomères synthétisées. Les quelques tentatives de nanopréciipitation des copolymères issus de la première plate-forme de monomères, présentés dans le Chapitre 4, n'ont malheureusement pas conduit à des résultats concluants : des nanoparticules instables et de dimensions mal définies ont été obtenues à partir du p(AcV₉₅-SVSG₅) et du p(AcV₉₀-SVSG₁₀), le taux de fonctions hydrophiles de ces copolymères étant probablement insuffisant pour assurer une stabilité colloïdale de ces systèmes auto-assemblés. Quant aux copolymères à plus haut pourcentage de SVSG, la présence de monomère résiduel est un frein à l'auto-assemblage. L'étude de cette plate-forme n'a donc pas été poursuivie. Ce chapitre est donc consacré à l'étude des propriétés d'auto-assemblage des copolymères de la deuxième plate-forme avec l'objectif d'en dégager quelques applications potentielles.

II. SYSTEMES AUTO-ASSEMBLES A PARTIR DES COPOLYMERES DE LA PLATEFORME 2 : MORPHOLOGIES ET DIMENSIONS DES NANOPARTICULES OBTENUES

Des systèmes auto-assemblés ont été réalisés à partir des glycopolymères de la plateforme 2 par nanopréciipitation. Ce procédé consiste à solubiliser les polymères dans un minimum de solvant organique miscible à l'eau et de mettre cette solution en contact avec un plus large volume d'eau sous agitation. Le solvant organique est alors éliminé, soit par évaporation, soit par dialyse. Les solvants organiques généralement employés sont le THF,^{1,2} le DMSO,^{3,4,5} le DMF,⁶ l'acétone⁷ ou encore le méthanol.⁸ Nous avons sélectionné pour cette étude le THF, qui ne nécessite pas de dialyse et s'élimine facilement par évaporation.

1. Présentation du procédé de nanopréciipitation

- Des auto-assemblages des copolymères suivants ont été réalisés Gamme NC : p(MAM₉₀-MASG₁₀)_{NC} et p(MAM₈₀-MASG₂₀)_{NC}
- Gamme BM : p(MAM₈₀-MASG₂₀)_{BM}, p(MAM₇₀-MASG₃₀)_{BM} et p(MAM₆₀-MASG₄₀)_{BM}
- Gamme RAFT : p(MAM₈₀-MASG₂₀)_{BM}, p(MAM₇₀-MASG₃₀)_{BM} et p(MAM₄₀-MASG₆₀)_{BM}

Ces copolymères sont dissous dans le THF à une concentration de 5,0 mg/mL. Les nanopréciipitations ont alors été réalisées comme suit :

- Procédé « THF dans Eau » : dans un pilulier sous agitation contenant 4,5 mL d'eau distillée préalablement filtrée, 0,5 mL d'une solution de copolymère dans du THF sont ajoutés au goutte à goutte à une vitesse de 0,05 mL/min.
- Procédé « Eau dans THF » : dans un pilulier sous agitation contenant 0,5 mL de la même solution de copolymère dans du THF, 4,5 mL d'eau distillée filtrée sont ajoutés au goutte à goutte à une vitesse de 0,5 mL/min.

Les solutions obtenues après nanoprecipitation sont alors laissées à l'air libre sous une sorbonne pendant 16 heures afin de permettre au THF de s'évaporer. La concentration finale en copolymère est alors de 0,55 mg/mL. Des suspensions très légèrement opaques sont obtenues à partir du procédé « THF dans Eau » ; les suspensions réalisées à partir du procédé « Eau dans THF » sont, quant à elles, d'un blanc laiteux. Aucun précipité n'est observé. Des analyses régulières des suspensions par DLS ont révélées que ces dernières étaient stables à température ambiante pendant plusieurs mois.

2. Influence de la composition des copolymères sur la morphologie des nanoparticules obtenues

2.1 Caractérisation des suspensions obtenues

L'influence de la composition des copolymères et essentiellement du pourcentage de sucre, sur leurs propriétés d'auto-assemblage a été étudiée sur la gamme RAFT, qui est la seule à être entièrement soluble dans le THF aux concentrations étudiées. Des nanoprecipitations des polymères $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{RAFT}}$, $p(\text{MAM}_{70}\text{-MASG}_{30})_{\text{RAFT}}$, $p(\text{MAM}_{40}\text{-MASG}_{60})_{\text{RAFT}}$, $p(\text{MAM}_{20}\text{-MASG}_{80})_{\text{RAFT}}$, et $p(\text{MASG})$ ont été effectuées suivant les procédés « THF dans Eau » et « Eau dans THF ». Les suspensions correspondantes seront nommées comme suit :

- Procédé « THF dans Eau » : $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{RAFT}}/\text{T@E}$, $p(\text{MAM}_{70}\text{-MASG}_{30})_{\text{RAFT}}/\text{T@E}$, $p(\text{MAM}_{40}\text{-MASG}_{60})_{\text{RAFT}}/\text{T@E}$, $p(\text{MAM}_{20}\text{-MASG}_{80})_{\text{RAFT}}/\text{T@E}$, et $p(\text{MASG})/\text{T@E}$
- Procédé « Eau dans THF » : $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{RAFT}}/\text{E@T}$, $p(\text{MAM}_{70}\text{-MASG}_{30})_{\text{RAFT}}/\text{E@T}$, $p(\text{MAM}_{40}\text{-MASG}_{60})_{\text{RAFT}}/\text{E@T}$, $p(\text{MAM}_{20}\text{-MASG}_{80})_{\text{RAFT}}/\text{E@T}$, et $p(\text{MASG})/\text{E@T}$.

La Figure 1 montre les suspensions obtenues par nanoprecipitation de ces glycopolymères suivant les procédés « Eau dans THF » et « THF dans Eau » après évaporation du THF.

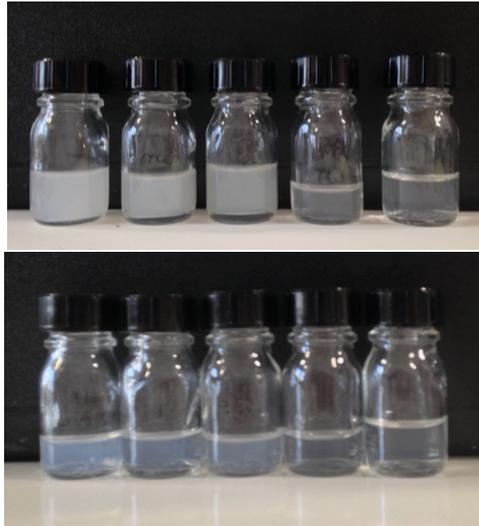


Figure 1 – Solutions obtenues :

Haut : « Eau dans THF ». De gauche à droite : $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{RAFT}}/\text{E@T}$, $p(\text{MAM}_{70}\text{-MASG}_{30})_{\text{RAFT}}/\text{E@T}$, $p(\text{MAM}_{40}\text{-MASG}_{60})_{\text{RAFT}}/\text{E@T}$, $p(\text{MAM}_{20}\text{-MASG}_{80})_{\text{RAFT}}/\text{E@T}$, et $p(\text{MASG})/\text{E@T}$
Bas : « THF dans l'eau ». De gauche à droite : $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{RAFT}}/\text{T@E}$, $p(\text{MAM}_{70}\text{-MASG}_{30})_{\text{RAFT}}/\text{T@E}$, $p(\text{MAM}_{40}\text{-MASG}_{60})_{\text{RAFT}}/\text{T@E}$, $p(\text{MAM}_{20}\text{-MASG}_{80})_{\text{RAFT}}/\text{T@E}$, et $p(\text{MASG})_{\text{RAFT}}/\text{T@E}$

L'analyse des suspensions obtenues par DLS met en évidence la formation de systèmes auto-assemblés quelle que soit la composition des copolymères : l'incorporation de 20% de glycomonomère dans le poly(méthacrylate de méthyle) suffit donc à obtenir des nanoparticules en phase aqueuse.

Echantillon	THF dans Eau		Eau dans THF	
	d_I (nm) (Pdi)	d_N (nm)	d_I (nm) (Pdi)	d_N (nm)
$p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{RAFT}}$	143 (0,14)	76	462 (0,10)	395
$p(\text{MAM}_{70}\text{-MASG}_{30})_{\text{RAFT}}$	143 (0,18)	62	354 (0,05)	306
$p(\text{MAM}_{40}\text{-MASG}_{60})_{\text{RAFT}}$	169 (0,18)	78	379 (0,04)	326
$p(\text{MAM}_{20}\text{-MASG}_{80})_{\text{RAFT}}$	131 (0,17)	66	613 (0,07)	571
$p(\text{MASG})_{\text{RAFT}}$	213 (0,27)	41	834 (0,27)	179

Tableau 1 – Diamètres hydrodynamiques des nanoparticules formées mesurés par DLS et dispersités correspondantes. d_I : diamètre moyen issu de la distribution de tailles en intensité ; d_N : diamètre moyen issu de la distribution de tailles en nombre ; Pdi = dispersité

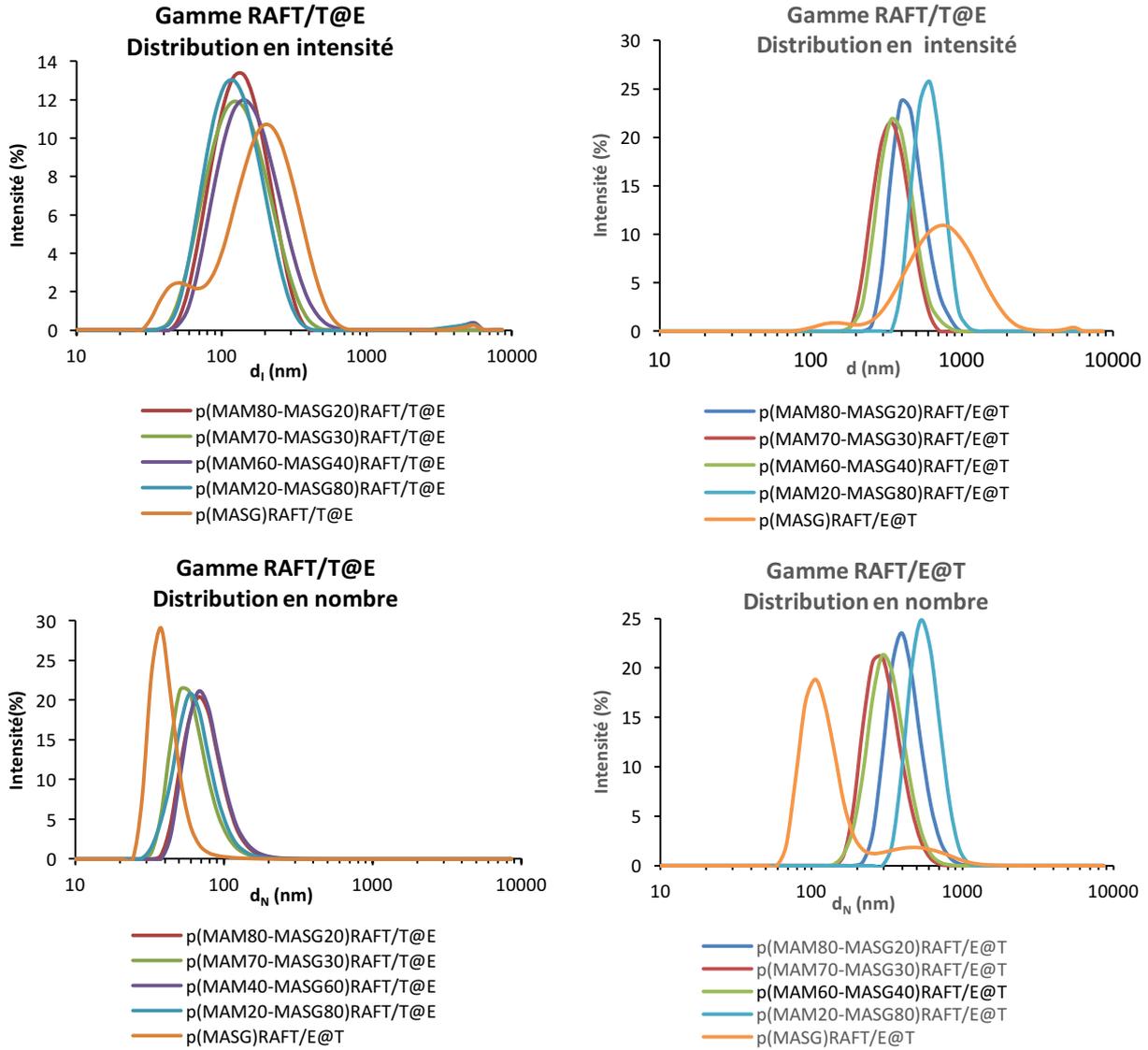


Figure 2 - Analyse par DLS des suspensions obtenues pour les gammes RAFT/T@E et RAFT/E@T : distributions de tailles de particules en intensité (haut) et en nombre (bas)

Le procédé « THF dans Eau » conduit à des distributions de tailles de particules autour de 100-150 nm, relativement bien définies, avec des dispersités entre 0,14 et 0,27. Pour des taux de MASG de 20 à 80%, la composition du copolymère semble ne pas avoir d'impact sur les résultats obtenus. En revanche la suspension $p(\text{MASG})_{\text{RAFT}}/\text{T@E}$ présente un profil bimodal, avec une première population d'objets de dimensions d'environ 50 nm, largement dominante sur le profil de distribution en nombre et une deuxième population d'objets plus gros, de 100 à 1000 nm de diamètre.

Le procédé « Eau dans THF » conduit, quant à lui, à la formation d'objets plus gros, avec des distributions extrêmement bien définies pour les quatre copolymères étudiés : des dispersités inférieures à 0,10 sont obtenues. Des nanoparticules entre 300 et 500 nm de diamètre sont obtenues au

sein des suspensions $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{RAFT}}/\text{E@T}$, $p(\text{MAM}_{70}\text{-MASG}_{30})_{\text{RAFT}}/\text{E@T}$, et $p(\text{MAM}_{40}\text{-MASG}_{60})_{\text{RAFT}}/\text{E@T}$; la suspension $p(\text{MAM}_{20}\text{-MASG}_{80})_{\text{RAFT}}/\text{E@T}$ semble, quant à elle, contenir des objets un peu plus gros, autour de 600 nm de diamètre. Enfin, on retrouve un profil bimodal pour la suspension $p(\text{MASG})_{\text{RAFT}}/\text{E@T}$, avec une population d'objets d'environ 100 nm de diamètre et une autre population polydispense contenant des objets de 100 à 1100 nm.

Afin de déterminer la morphologie exacte des nanoparticules formées, les suspensions ont été observées par TEM. La Figure 3 ci-dessous compare les différents clichés obtenus pour les suspensions issues du procédé « Eau dans THF » pour les systèmes $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{RAFT}}/\text{E@T}$, $p(\text{MAM}_{70}\text{-MASG}_{30})_{\text{RAFT}}/\text{E@T}$, $p(\text{MAM}_{40}\text{-MASG}_{60})_{\text{RAFT}}/\text{E@T}$, $p(\text{MAM}_{20}\text{-MASG}_{80})_{\text{RAFT}}/\text{E@T}$, et $p(\text{MASG})_{\text{RAFT}}/\text{E@T}$:

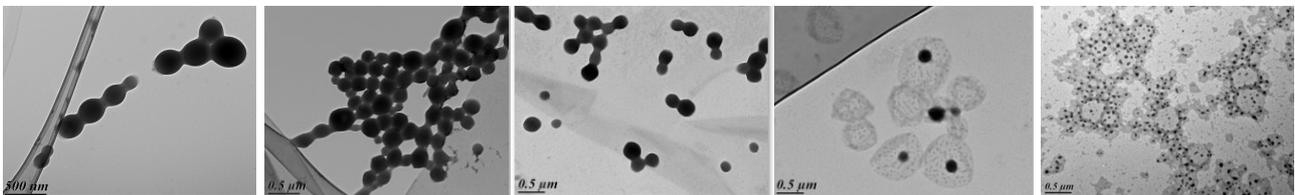


Figure 3 – Influence de la composition des copolymères sur la morphologie des systèmes auto-assemblés correspondants. Clichés obtenus par TEM à haut contraste. De gauche à droite : $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{RAFT}}/\text{E@T}$, $p(\text{MAM}_{70}\text{-MASG}_{30})_{\text{RAFT}}/\text{E@T}$, $p(\text{MAM}_{40}\text{-MASG}_{60})_{\text{RAFT}}/\text{E@T}$, $p(\text{MAM}_{20}\text{-MASG}_{80})_{\text{RAFT}}/\text{E@T}$ et $p(\text{MASG})_{\text{RAFT}}/\text{E@T}$. Echelle = 500 nm.

Les suspensions $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{RAFT}}/\text{E@T}$, $p(\text{MAM}_{70}\text{-MASG}_{30})_{\text{RAFT}}/\text{E@T}$ et $p(\text{MAM}_{40}\text{-MASG}_{60})_{\text{RAFT}}/\text{E@T}$ sont composées de nanoparticules sphériques très contrastées, visiblement pleines, plutôt monodisperses et de dimensions autour de 300 nm. Ces observations vont bien de pair avec les résultats obtenus par DLS. Les nanoparticules observées par TEM étant exemptes de la double-couche hydrodynamique qu'elles présentent en solution, il est logique que les dimensions mesurées soient légèrement inférieures à celle mesurées par DLS.

En revanche, l'observation par TEM de la suspension $p(\text{MASG})_{\text{RAFT}}/\text{E@T}$ révèle la présence d'objets très peu contrastés, polydispenses, évoquant des bulles, recouvertes de particules très contrastées d'environ 50 nm. La Figure 4 présente des clichés supplémentaires à différents grossissements de ces échantillons. Enfin, la suspension $p(\text{MAM}_{20}\text{-MASG}_{80})_{\text{RAFT}}/\text{E@T}$ présente une situation intermédiaire, avec à la fois des sphères pleines de dimensions semblables à celles observées à partir des glycopolymères à plus faibles taux de glucose et les systèmes observés pour le $p(\text{MASG})_{\text{RAFT}}/\text{E@T}$.

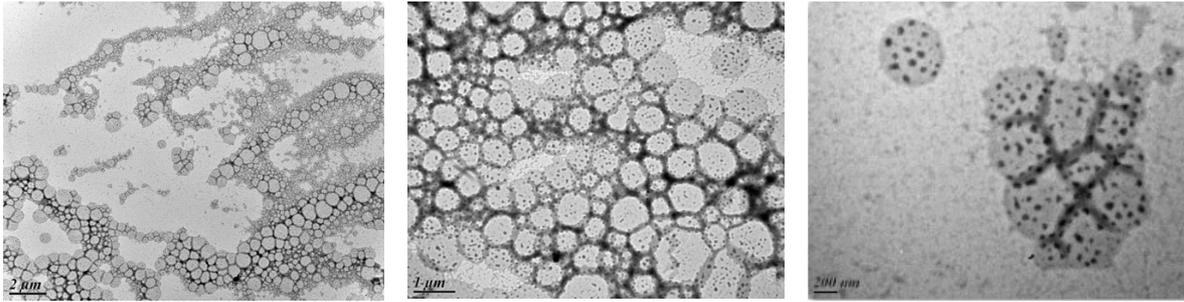


Figure 4 - Clichés à différents grossissements des nano-objets présents dans la suspension $p(\text{MASG})_{\text{RAFT}}/\text{E@T}$ obtenus par TEM à haut contraste.

L'analyse par TEM des suspensions $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{RAFT}}/\text{T@E}$ et $p(\text{MASG})_{\text{RAFT}}/\text{T@E}$ conduit aux mêmes observations : des sphères pleines, de dimensions d'environ 100 nm sont obtenues pour l'échantillon $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{RAFT}}/\text{T@E}$ et des systèmes de morphologies semblables à ceux décrits plus haut pour la suspension $p(\text{MASG})_{\text{RAFT}}/\text{E@T}$ sont observés pour la suspension $p(\text{MASG})_{\text{RAFT}}/\text{T@E}$. (Figure 5) Ce phénomène est donc indépendant du sens d'injection choisi lors du procédé de nanoprécipitation du $p(\text{MASG})_{\text{RAFT}}$.

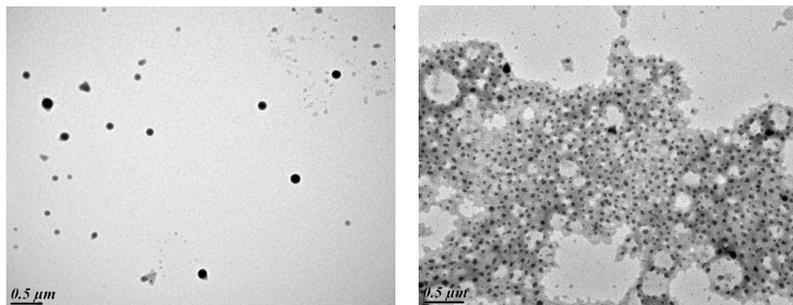


Figure 5 - Clichés des nano-objets présents dans les suspensions $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{RAFT}}/\text{T@E}$ et $p(\text{MASG})_{\text{RAFT}}/\text{T@E}$ obtenus par TEM à haut contraste. Echelle = 500 nm.

Plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour expliquer ce phénomène. Premièrement, l'augmentation du taux de glycomonomère au sein du copolymère se traduit par une solubilité de moins en moins bonne de ce dernier dans le THF. Aussi, les chaînes polymères à hauts taux de sucre peuvent être susceptibles de commencer à s'organiser directement dans le THF ; elles sont alors moins disponibles pour s'auto-assembler lors de l'addition de l'eau, ce qui expliquerait le mauvais contrôle de la taille des nanoobjets, avec des dispersités de 0,27.

Par ailleurs, la morphologie des nanoparticules contrastées observée en TEM évoquent des cristaux. En effet, les glycopolymères, en raison de la présence des groupements saccharidiques, peuvent parfois exhiber un comportement cristallin. Notre groupe a d'ailleurs récemment publié la synthèse de polymères glycolipidiques semi-cristallins à partir de tréhalose et d'acide 10-undécénoïque.^{6,9} Les objets observés en TEM pourraient alors correspondre à une organisation des

chaînes de p(MASG)_{RAFT} en structures sphériques inhomogènes, composées d'un cœur lipidique peu contrasté et de parties glycosylées cristallines en surface.

Les clichés obtenus peuvent également évoquer des gouttes ou des bulles, stabilisées par les petites particules noires, faisant penser à des hybridosomes. Ces nano-objets, synthétisés et définis pour la première fois en 2016 par Gauffre *et al.*,^{10,11} résultent de la stabilisation par des particules polymères de gouttes de THF dispersées dans une phase aqueuse, de façon similaire à une émulsion Pickering. Il a été en effet montré récemment que le mélange de THF et d'eau, complètement miscibles à l'échelle macroscopique, conduisait à la formation de gouttelettes de THF nanoscopiques en suspension.¹² Une fois ces objets formés, l'évaporation du THF conduit alors à des capsules creuses. Cette hypothèse présente l'avantage de corroborer les résultats obtenus par DLS présentés plus haut (Figure 2) qui évoquent une distribution de tailles de particules bimodale, avec une population vers 50 nm assez bien définie, largement majoritaire sur la distribution de taille de particules en nombre et qui correspondrait aux nanoparticules contrastées visibles par TEM et une seconde très polydisperse allant de 100 à 1100 nm, qui correspondrait aux gouttelettes de THF.

Afin d'étudier ces hypothèses, d'une part, les copolymères p(MAM₈₀-MASG₂₀)_{RAFT}, p(MAM₂₀-MASG₈₀)_{RAFT} et p(MASG)_{RAFT} ont été analysés par diffraction des rayons X aux grands angles (WAXS) afin de mettre en évidence un éventuel caractère cristallin de ces échantillons. Puis, d'autre part, le THF a été remplacé par deux autres solvants lors des procédés de nanopréciipitation : le méthanol et le DMSO, et leur influence sur la morphologie des nanoparticules étudiée.

2.2 Analyse des glycopolymères par WAXS : mise en évidence de la cristallinité

La Figure 6 compare les profils d'intensité de diffraction des rayons X en fonction de l'angle 2θ pour les glycopolymères p(MAM₈₀-MASG₂₀)_{RAFT}, p(MAM₂₀-MASG₈₀)_{RAFT} et p(MASG)_{RAFT}.

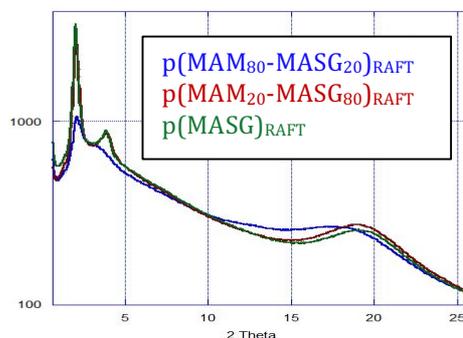


Figure 6 – Profils d'intensité de diffraction déterminés par WAXS sur les copolymères p(MAM₈₀-MASG₂₀)_{RAFT}, p(MAM₂₀-MASG₈₀)_{RAFT} et p(MASG)_{RAFT}.

Les profils obtenus mettent en évidence deux pics de diffraction pour des angles 2θ de $1,5^\circ$ et $3,5^\circ$ d'intensité croissante avec le taux de glycomonomère, traduisant bien un caractère semi-cristallin de ces glycopolymères. L'absence de pics de fusion sur les thermogrammes DSC correspondants (voir Chapitre 5) s'explique probablement par une température de fusion supérieure aux températures de dégradation des polymères. Les particules de 50 nm observées lors de l'analyse par TEM des suspensions $p(\text{MASG})_{\text{RAFT}}/\text{E@T}$ et $p(\text{MASG})_{\text{RAFT}}/\text{T@E}$ pourraient donc *a priori* bien correspondre à des zones cristallines à la surface des objets formés par nanopréciipitation.

2.3 Influence du solvant organique sur la morphologie des nanoparticules obtenues

Des nanopréciipitations ont été effectuées à partir des glycopolymères $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{RAFT}}$, $p(\text{MAM}_{20}\text{-MASG}_{80})_{\text{RAFT}}$ et $p(\text{MASG})_{\text{RAFT}}$ en remplaçant le THF par le méthanol, dans le sens « Eau dans méthanol ». Après évaporation du méthanol et une analyse préalable des systèmes obtenus par DLS (Tableau 2), ces derniers ont été observés par TEM. La Figure 7 compare les clichés obtenus par TEM à partir des six échantillons à ceux obtenus pour les suspensions $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{RAFT}}/\text{E@T}$, $p(\text{MAM}_{20}\text{-MASG}_{80})_{\text{RAFT}}/\text{E@T}$ et $p(\text{MASG})_{\text{RAFT}}/\text{E@T}$.

Polymère	Eau dans THF		Eau dans Méthanol	
	d_I (nm) (Pdi)	d_N (nm)	d_I (nm) (Pdi)	d_N (nm)
$p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{RAFT}}$	462 (0,10)	395	406 (0,03)	359
$p(\text{MAM}_{20}\text{-MASG}_{80})_{\text{RAFT}}$	613 (0,07)	517	433 (0,11)	376
$p(\text{MASG})_{\text{RAFT}}$	834 (0,27)	179	292 (0,08)	212

Tableau 2 - Diamètres hydrodynamiques des nanoparticules formées mesurés par DLS et dispersités correspondantes. d_I : diamètre moyen issu de la distribution de tailles en intensité ; d_N : diamètre moyen issu de la distribution de tailles en nombre ; Pdi = dispersité

Les nanopréciipitations des polymères à partir de méthanol conduisent à des systèmes de même morphologie qu'à partir du THF : là encore, des sphères pleines, très contrastées, de dimensions autour de 400 nm de diamètre sont obtenues. Contrairement à l'échantillon $p(\text{MAM}_{20}\text{-MASG}_{80})_{\text{RAFT}}/\text{E@T}$, la suspension $p(\text{MAM}_{20}\text{-MASG}_{80})_{\text{RAFT}}/\text{E@M}$ se révèle homogène et semblable à $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{RAFT}}/\text{E@M}$. En revanche, on retrouve des systèmes hétérogènes similaires à $p(\text{MAM}_{20}\text{-MASG}_{80})_{\text{RAFT}}/\text{E@T}$ pour le $p(\text{MASG})_{\text{RAFT}}/\text{E@M}$. Ces résultats infirment l'hypothèse de la formation d'hybridosomes, qui ne peuvent *a priori* pas être obtenus à partir d'un autre solvant organique que le THF. Les structures hétérogènes observées pour les polymères à forts taux de MASG sont donc probablement dues à une baisse de leur solubilité dans le solvant organique.

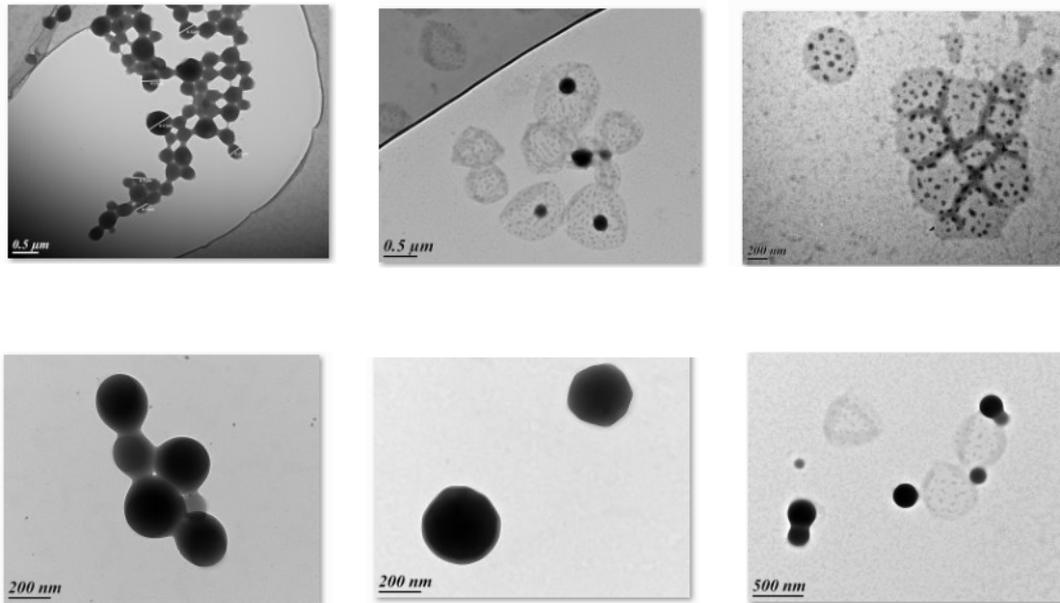


Figure 7 – Influence du solvant organique sur la morphologie des nanoparticules obtenues.
Clichés obtenus par TEM à haut contraste.
Haut : p(MAM₈₀-MASG₂₀)_{RAFT}/E@T, p(MAM₂₀-MASG₈₀)_{RAFT}/E@T et p(MASG)_{RAFT}/E@T
Bas : p(MAM₈₀-MASG₂₀)_{RAFT}/EM, p(MAM₂₀-MASG₈₀)_{RAFT}/EM et p(MASG)_{RAFT}/EM

2.4 Conclusion

La nanoprécipitation dans un système THF/eau des glycopolymères de la gamme RAFT conduit à la formation de systèmes auto-assemblés sous forme de sphères pleines jusqu'à des taux de MASG de 60%. Le procédé « THF dans Eau » conduit à des distributions de tailles de particules plutôt homogènes, tandis que le procédé « Eau dans THF » permet de former des objets extrêmement bien définis. En revanche, l'auto-assemblage du p(MAM₂₀-MASG₈₀)_{RAFT} et du p(MASG)_{RAFT} donne de moins bons résultats, probablement en raison de leur plus faible solubilité dans le THF, qui conduit à des objets mal définis et difficilement caractérisables, comportant probablement des parties cristallines à leur surface.

3. Influence de la taille et de la dispersité des chaînes : Gammes BM et NC

Dans un second temps, l'influence de la taille et de la dispersité des glycopolymères sur leurs propriétés d'auto-assemblage a été étudiée : des nanoprécipitations suivant les procédés « THF dans Eau » et « Eau dans THF » ont été effectuées sur les copolymères des gammes NC et BM solubles dans le THF aux concentrations étudiées. Les suspensions correspondantes ont été caractérisées par DLS et par TEM. Les copolymères de la gamme BM à plus haut taux de MASG n'étant pas solubles dans le THF, leur capacité à s'auto-assembler n'a pas été étudiée ici.

Aucune influence de la taille ou de la dispersité des copolymères sur les dimensions des nanoparticules obtenues par le procédé « THF dans l'eau » n'est constatée. En revanche, des nanoparticules de dimensions un peu plus importantes sont obtenues par le procédé « Eau dans THF » à partir des copolymères des gammes NC et BM en comparaison de la gamme RAFT. Seul le $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{NC}}$ fait exception, en s'auto-assemblant en nanoparticules significativement plus petites que le $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{BM}}$ et le $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{RAFT}}$ de mêmes compositions : un diamètre hydrodynamique de 304 nm est mesuré, contre 465 et 462 nm pour le $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{BM}}$ et le $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{RAFT}}$ respectivement. (Tableau 3)

Echantillon	THF dans Eau		Eau dans THF	
	d_I (nm) (Pdi)	d_N (nm)	d_I (nm) (Pdi)	d_N (nm)
	GAMME NC			
$p(\text{MAM}_{90}\text{-MASG}_{10})_{\text{NC}}$	144 (0,07)	95	780 (0,09)	649
$p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{NC}}$	132 (0,19)	62	304 (0,06)	241
	GAMME BM			
$p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{BM}}$	133 (0,12)	74	465 (0,14)	402
$p(\text{MAM}_{70}\text{-MASG}_{30})_{\text{BM}}$	101 (0,14)	84	592 (0,11)	527
$p(\text{MAM}_{60}\text{-MASG}_{40})_{\text{BM}}$			614 (0,14)	450

Tableau 3 - Diamètres hydrodynamiques des nanoparticules formées mesurés par DLS et dispersités correspondantes. d_I : diamètre moyen issu de la distribution de tailles en intensité ; d_N : diamètre moyen issu de la distribution de tailles en nombre ; Pdi = dispersité

Les clichés obtenus par TEM et les distributions de taille des particules en intensité obtenues par DLS pour ces suspensions sont comparées dans les Figures 8 et 9.

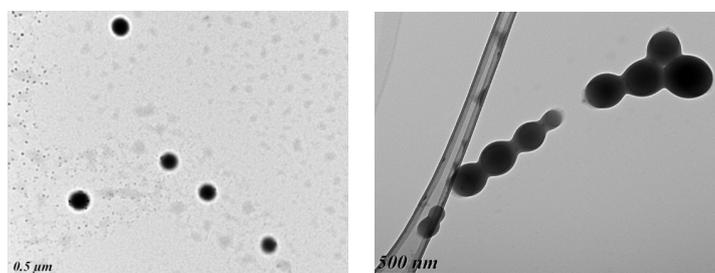


Figure 8 – Influence du contrôle de la taille des chaînes de glycopolymères à base de MASG sur les morphologies des systèmes auto-assemblés correspondants :
Gauche : suspension $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{NC}}/\text{E@T}$; droite : suspension $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{RAFT}}/\text{E@T}$
Clichés obtenus par TEM à haut contraste.

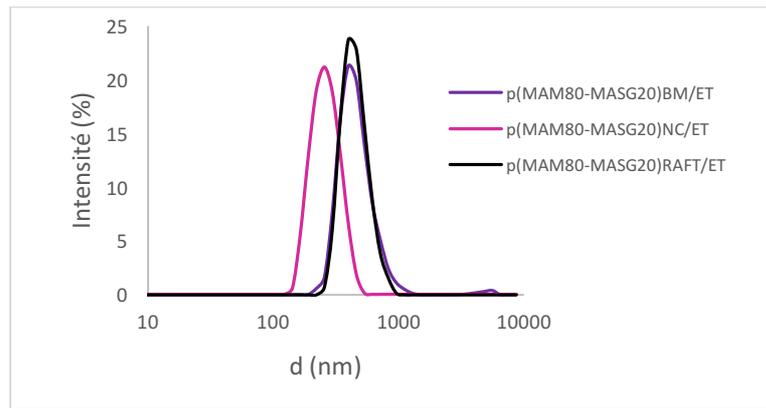


Figure 9 – Analyse par DLS des suspensions $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{NC}}/\text{E@T}$, $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{BM}}/\text{E@T}$ et $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{RAFT}}/\text{E@T}$

Les glycopolymères issus des gammes NC et BM solubles dans le THF sont donc également capables de s'auto-assembler en milieu aqueux : le contrôle de la distribution de taille des chaînes de glycopolymères n'est donc pas indispensable à l'obtention de systèmes auto-assemblés monodisperses.

4. Influence du procédé d'injection sur la morphologie des nanoparticules

Enfin, dans un dernier temps, nous avons étudié l'influence de la vitesse d'injection de l'eau lors du procédé de nanoprecipitation sur les morphologies des systèmes obtenus. A partir d'une solution de $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{NC}}$ dans le THF, des systèmes auto-assemblés ont été synthétisés par ajout d'eau distillée à différentes vitesses d'injection : 0,05 mL/min, 0,5 mL/min, 2,0 mL/min, 5,0 mL/min, et 7,5 mL/min. Enfin dans un dernier essai, l'eau a été ajoutée d'un coup à la solution de copolymère. Les aspects des suspensions résultantes sont comparés dans la Figure 9 ci-après.



Figure 9 – De gauche à droite : 0,05 mL/min, 0,5 mL/min, 2,0 mL/min, 5,0 mL/min, 7,5 mL/min, et injection instantanée

L'addition d'eau à une vitesse de 0,05 mL conduit à une suspension extrêmement opaque, laissant supposer la formation d'objets de plusieurs centaines de nanomètres. A l'inverse, des solutions de plus en plus translucides sont obtenues en augmentant la vitesse d'addition jusqu'à 5 mL/min. Enfin, un ajout instantané d'eau distillée conduit à la précipitation du copolymère. Les six suspensions

obtenues, notées A, B, C, D, E et F, ont été analysées par DLS. La Figure 10 compare pour ces quatre échantillons les diamètres moyens des nanoparticules (d_i) et les dispersités correspondantes, extraits des distributions de tailles par intensité obtenues par DLS.

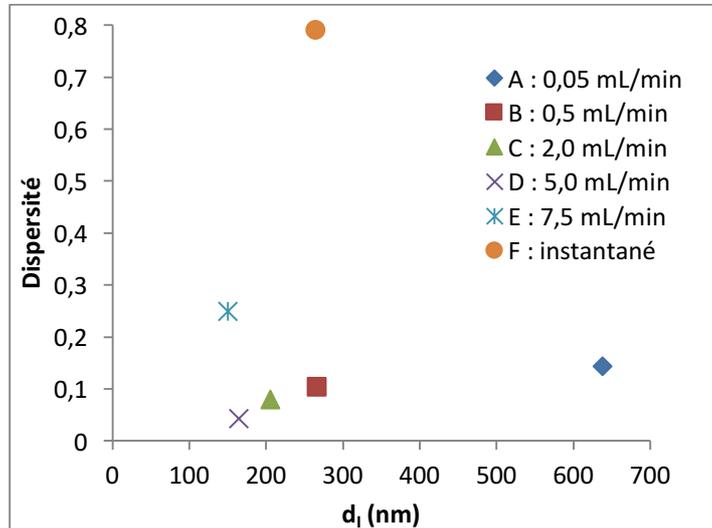


Figure 10 – Influence de la vitesse d'addition de l'eau sur les dimensions des nanoparticules obtenues : comparaison des diamètres hydrodynamique et des dispersités mesurées par DLS

Des objets de dimensions moyennes de 638, 267, 205, 165, 150 et 265 nm sont obtenus pour les échantillons A, B, C, D, E et F respectivement. L'analyse des suspensions obtenues par DLS confirme les observations faites plus haut : pour les échantillons de A à E, une addition d'eau de plus en plus rapide se traduit par une diminution des dimensions des objets obtenus. Jusqu'à une vitesse de 5 mL/min, ces derniers sont également obtenus avec des distributions plus resserrées, avec des dispersités allant de 0,14 pour la suspension A à 0,04 pour la suspension D. Cette tendance s'inverse pour les vitesses d'injection supérieures à 5,0 mL/min : l'échantillon E est moins bien défini, avec une dispersité de 0,25. Enfin, l'ajout instantané d'eau ne conduit plus à la formation de nanoparticules mais à celle d'agrégats non organisés.

La Figure 12 présente les clichés obtenus par TEM à partir des suspensions A, B, D et E. Jusqu'à des vitesses d'addition d'eau de 5,0 mL/min, la morphologie des systèmes formés reste inchangée : des nanoparticules sphériques pleines sont obtenues pour les échantillons A, B, et D, ne différant que par leurs dimensions. En revanche, l'addition d'eau à une vitesse de 7,5 mL/min (suspension E) semble conduire à la formation de vésicules.

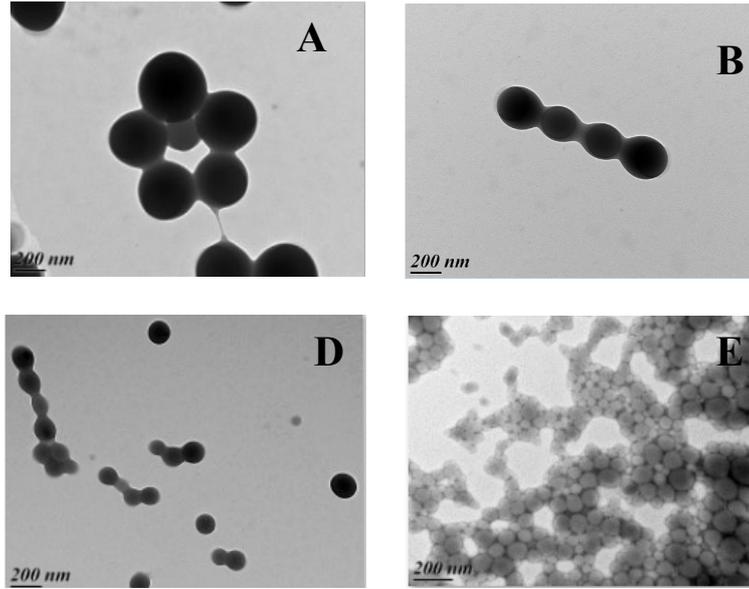


Figure 11 – Etude par TEM de l'influence de la vitesse d'injection d'eau sur les morphologies des nanoparticules obtenues lors de l'auto-assemblage du p(MAM₈₀-MASG₂₀)NC.
A = 0,05 mL/min ; B = 0,5 mL/min ; D = 5,0 mL/min ; E = 7,5 mL/min

Afin de corroborer cette hypothèse, la suspension p(MAM₈₀-MASG₂₀)_{NC}/E@T-7,5 a été analysée par DLS et SLS sur une gamme d'angles allant de 30° à 150° avec un pas de 5° grâce à un appareil ALV. Le rayon de giration R_G du copolymère pour chaque suspension a été déterminé par SLS en appliquant le modèle de Guinier. (Equation 1) Le rayon hydrodynamique R_H a, quant à lui, été déterminé par DLS à partir de la relation de Stokes-Einstein. (Equation 2)

$$\ln I_s(q) = 1 - \frac{1}{3} q^2 R_G^2 \quad (1)$$

$$R_H = \frac{k_B T q^2 \tau}{6\pi\eta} \quad (2)$$

Dans ces deux équations, q représente le vecteur d'onde, $\ln I_s(q)$ le facteur de forme, k_B la constante de Boltzmann, η la viscosité dynamique du milieu, et τ le temps caractéristique.

Suite à l'analyse par SLS de la suspension E, l'évolution correspondante de $\ln(I_s(q))$ en fonction de q^2 sur la gamme d'angles étudiée a été tracée. Le rayon de giration correspondant a été déterminé par régression linéaire. (Equation 1) De même, l'analyse de la suspension par DLS aux mêmes angles a ensuite permis de tracer l'évolution de $1/\tau$ en fonction de q^2 et d'en extraire la valeur du rayon hydrodynamique des particules en suspension (Equation 2). Les courbes obtenues sont présentées dans la Figure 12 et les résultats extraits de ces tracés sont présentés dans le Tableau 4.

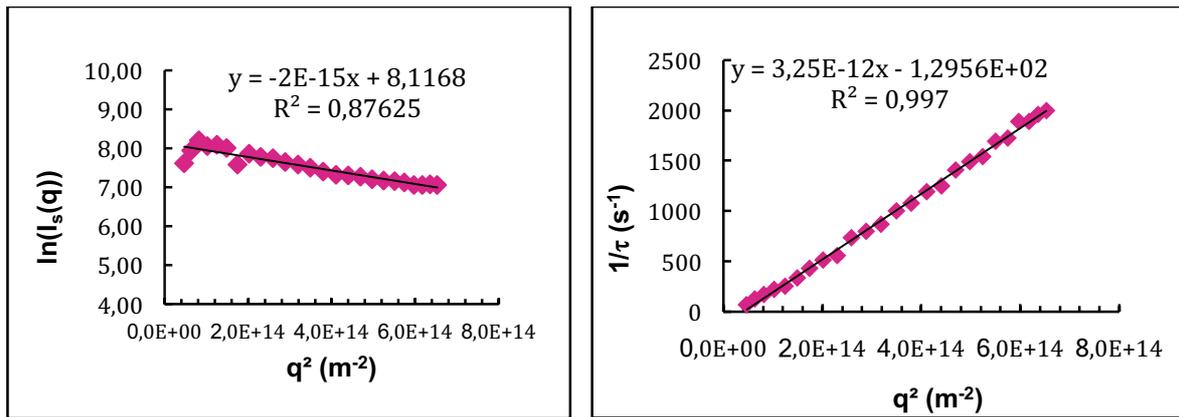


Figure 12 – Gauche : Tracé de l'évolution du facteur de forme mesure par SLS en fonction de q^2
Droite : Tracé de l'évolution de l'inverse du temps caractéristique mesuré par DLS en fonction de q^2

Vitesse d'injection	R_G (nm)	R_H (nm)	R_G/R_H
7,5 mL/min	72,0	74,6	0,97

Tableau 4 – Valeurs du rayon de giration et du rayon hydrodynamique moyens déterminés par analyse par SLS et DLS multi-angles de la suspension $p(MAM_{80}-MASG_{20})_{NC}/E@T-7,5$

Un ratio R_G/R_H quasiment égal à 1, caractéristique de vésicules, est obtenu pour la suspension E. Ce résultat vient corroborer les observations faites par TEM. Il est donc possible, à partir du même copolymère $p(MAM_{80}-MASG_{20})_{NC}$, d'obtenir des systèmes auto-assemblés de différentes morphologies : une injection rapide d'eau lors du procédé de nanopréciipitation permet l'obtention de vésicules de 164 nm de diamètre, alors qu'une addition plus lente conduit à la formation de sphères compactes.

5. Conclusion

Des systèmes auto-assemblés sous forme de sphères pleines ont été obtenus par nanopréciipitation des glycopolymères des gammes NC, BM et RAFT dans le sens « THF dans Eau » comme dans le sens « Eau dans THF », pour des taux de MASG de 10 à 60%. Les suspensions obtenues se sont révélées stables à température ambiante pendant un an. Les dimensions et la morphologie des nanoparticules obtenues peuvent être contrôlées par le procédé « Eau dans THF » en fixant la vitesse d'injection de l'eau : des sphères pleines sont obtenues jusqu'à des vitesses d'ajout d'eau de 5,0 mL/min, avec des distributions de plus en plus resserrée. En revanche, une addition d'eau plus rapide, à une vitesse de 7,5 mL/min, semble conduire à l'obtention de vésicules.

III. STABILITE DES SUSPENSIONS

Dans un second temps, une étude de la stabilité des suspensions à plus haute température ainsi qu'aux forces ioniques et à l'hydrolyse a été réalisée.

1. Influence de la température

Afin d'évaluer sa résistance en température, la suspension $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{NC}}/\text{E@T}$ a été soumise à une rampe de température de 20 à 75°C à une vitesse de 5°C/h grâce à l'appareil Malvern. A chaque degré, une mesure de DLS a été effectuée. La Figure 13 trace l'évolution de l'intensité lumineuse reçue par le détecteur en fonction de la température.

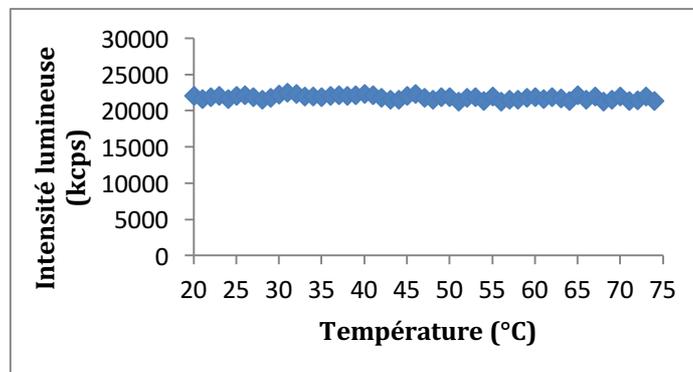


Figure 13 – Evolution de l'intensité lumineuse perçue par DLS pour la suspension $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{NC}}/\text{E@T}$ en fonction de la température

Quelle que soit la température, les distributions de taille des nanoparticules restent inchangées, ainsi que l'intensité lumineuse détectée : la suspension formée est donc stable jusqu'à des températures de 75°C.

2. Résistance aux forces ioniques

La résistance aux forces ioniques des suspensions a été étudiée par ajout de chlorure de sodium. Afin d'étudier l'influence de la composition des copolymères sur la stabilité des suspensions en présence de chlorure de sodium, les copolymères $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{RAFT}}$ et $p(\text{MAM}_{40}\text{-MASG}_{60})_{\text{RAFT}}$ ont été sélectionnés comme modèles. Pour chacun de ces copolymères, cinq suspensions ont été préparées dans le sens « eau dans THF ». Dans quatre de ces suspensions, des cristaux de chlorure de sodium sont ajoutés afin d'obtenir une concentration en sel de 0,22 g/L, 1,0 g/L, 8,9 g/L, et 40 g/L. La cinquième suspension joue, quant à elle, le rôle de témoin. Les suspensions sont alors laissées sous agitation orbitale pendant 12 heures.

A partir de 8,9 g/L de NaCl, correspondant à une force ionique de 152,3 mmol/L, la suspension est complètement déstabilisée et un précipité blanc est observé au fond du pilulier. (Figure 14) Les nanoparticules obtenues à partir de $p(\text{MAM}_{40}\text{-MASG}_{60})_{\text{RAFT}}$ semblent être un peu moins stables que celles obtenues à partir de $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{RAFT}}$; une déstabilisation partielle est déjà observée à partir de 0,22 mg/mL de sel. L'analyse par DLS des échantillons confirme bien la destruction des nanoparticules en présence de NaCl: l'intensité lumineuse mesurée décroît fortement avec l'augmentation de la quantité de NaCl, jusqu'à atteindre quasiment zéro à partir de 8,9 mg/mL. Les nanoparticules formées peuvent donc aisément être détruites en présence de sel.

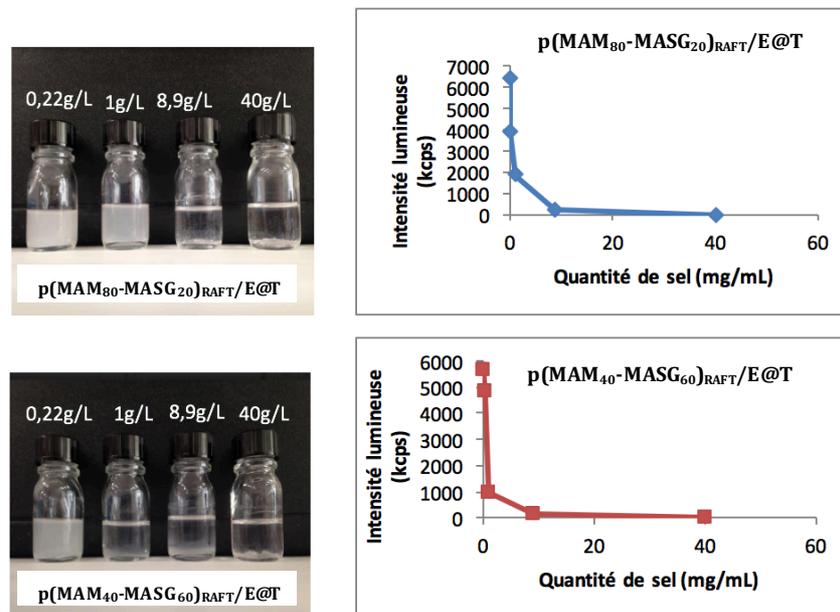


Figure 14 – Influence de la quantité de sel, NaCl, sur la stabilité des suspensions $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{RAFT/E@T}}$ et $p(\text{MAM}_{40}\text{-MASG}_{60})_{\text{RAFT/E@T}}$;

Gauche : photographie des échantillons après 16h d'agitation en présence de NaCl.

Droite : Evolution de l'intensité lumineuse captée par DLS en fonction de la quantité de NaCl ajoutée aux suspensions

3. Hydrolyse par CALB

Enfin, la résistance à l'hydrolyse des nanoparticules formées a été étudiée. En raison de leur déstabilisation sous l'effet de forces ioniques, une hydrolyse acide ou basique est à proscrire. Aussi, la résistance à l'hydrolyse des suspensions $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{RAFT/E@T}}$ et $p(\text{MAM}_{40}\text{-MASG}_{60})_{\text{RAFT/E@T}}$ a été étudiée en présence de CALB à différentes concentrations. La destruction des nanoparticules a été confirmée par DLS par une décroissance de l'intensité lumineuse recueillie par le détecteur. (Figure 15) Seulement 50 mg de CALB suffisent à détruire la suspension $p(\text{MAM}_{40}\text{-MASG}_{60})_{\text{RAFT/E@T}}$, qui avec ses 60% de MASG contient plus de fonctions ester hydrolysables que la $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{RAFT/E@T}}$. 100 mg de CALB sont nécessaires pour déstabiliser cette dernière.

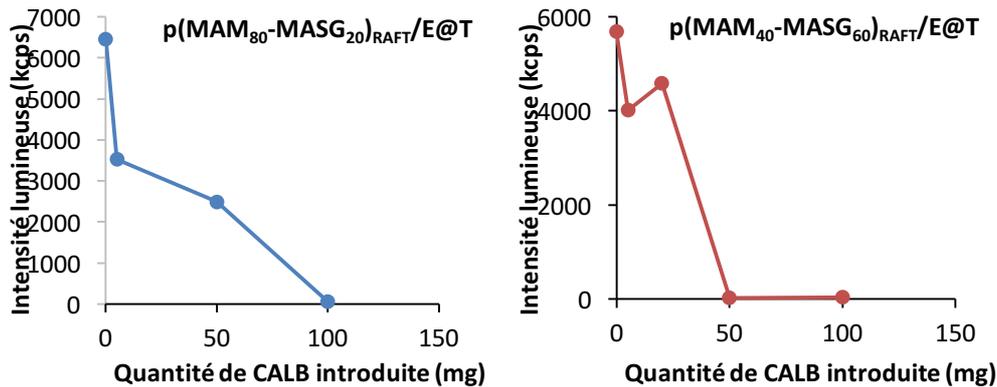


Figure 15 - Influence de la quantité de sel NaCl sur la stabilité des suspensions $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{RAFT}}/\text{E@T}$ et $p(\text{MAM}_{40}\text{-MASG}_{60})_{\text{RAFT}}/\text{E@T}$: Evolution de l'intensité lumineuse reçue par le détecteur en DLS en fonction de la quantité de CALB ajoutée aux suspensions

4. Conclusion

La résistance à la température, aux forces ioniques et à l'hydrolyse des suspensions formées ont été étudiées. Les suspensions se sont révélées stables jusqu'à des températures de 75°C. En revanche, elles peuvent être aisément déstabilisées en présence de chlorure de sodium : une précipitation des chaînes polymères est observée sous l'action d'une force ionique de 152,3 mmol/L pour des taux de MASG de 20% comme 60%. Les nanoparticules peuvent également être détruites par hydrolyse des chaînes polymères en présence de 50 mg de CALB pour des taux de MASG de 60% et de 100 mg pour des taux de 20%.

IV. VERS LA VECTORISATION DE PRINCIPES ACTIFS : UNE PREUVE DE CONCEPT

Les principales applications des systèmes polymères glycosylés auto-assemblés relèvent du domaine biomédical. Ces derniers sont généralement dédiés à des applications de biomimétisme, d'interaction avec la lectine ou de vectorisation de principes actifs. Les deux premiers exemples requièrent plutôt des glycopolymères porteurs de galactose, qui contrairement au glucose est capable de se lier à la lectine. C'est donc la dernière application que nous avons choisi d'explorer. Afin d'établir une preuve de concept pour la vectorisation potentielle de principes actifs, cette dernière partie présente un exemple de stabilisation puis de relargage d'un colorant insoluble dans l'eau, le Rouge du Nil, (Schéma 1) par la suspension $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{BM}}/\text{E@T}$, que nous avons sélectionné comme modèle pour cette étude.

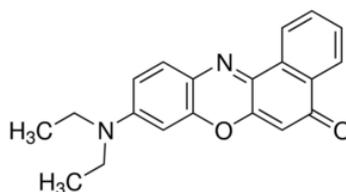


Schéma 1 - Structure du Rouge de Nil.

Afin d'étudier la capacité de $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{BM}}$, à stabiliser le Rouge de Nil, deux solutions dans le THF sont préparées :

- Solution 1 : 0,045 μmol de Rouge de Nil sont dissous dans 0,5 mL de THF.
- Solution 2 : 2,5 mg de $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{BM}}$ sont dissous dans 0,5 mL de la Solution 1.

Deux échantillons, notés NR/E@T et $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{BM}}\text{-NR/E@T}$, sont préparés par nanopréciipitation respectivement à partir des Solutions 1 et 2. 4,5 mL d'eau distillée sont ajoutés goutte à goutte à une vitesse de 0,5 mL/min aux deux solutions sous agitation. Les deux échantillons sont ensuite laissés 16 heures à l'air libre sous une sorbonne afin de permettre au THF de s'évaporer. Le Rouge de Nil étant complètement insoluble dans l'eau, après élimination du THF, un précipité rouge est observé au fond de l'échantillon témoin NR/E@T. A l'inverse, une suspension rose vif, stable, est obtenue pour l'échantillon $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{BM}}\text{-NR/E@T}$. La Figure 16 compare les deux échantillons à la suspension $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{BM}}\text{/E@T}$ réalisée, quant à elle, en l'absence de Rouge de Nil.



**Figure 16 – Echantillons obtenus à partir des solutions 1 et 2, en comparaison avec la suspension $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{BM}}\text{/E@T}$.
Gauche : NR/E@T ; centre : $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{BM}}\text{-NR/E@T}$; droite : $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{BM}}\text{/E@T}$**

Les suspensions $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{BM}}\text{/E@T}$ et $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{BM}}\text{/E@T-NR}$ ont été observées à l'aide d'un microscope confocal en excitant les échantillons à une longueur d'onde de 561 nm et en collectant la lumière émise entre 570 et 623 nm. La Figure 17 montre des clichés obtenus pour les deux suspensions.

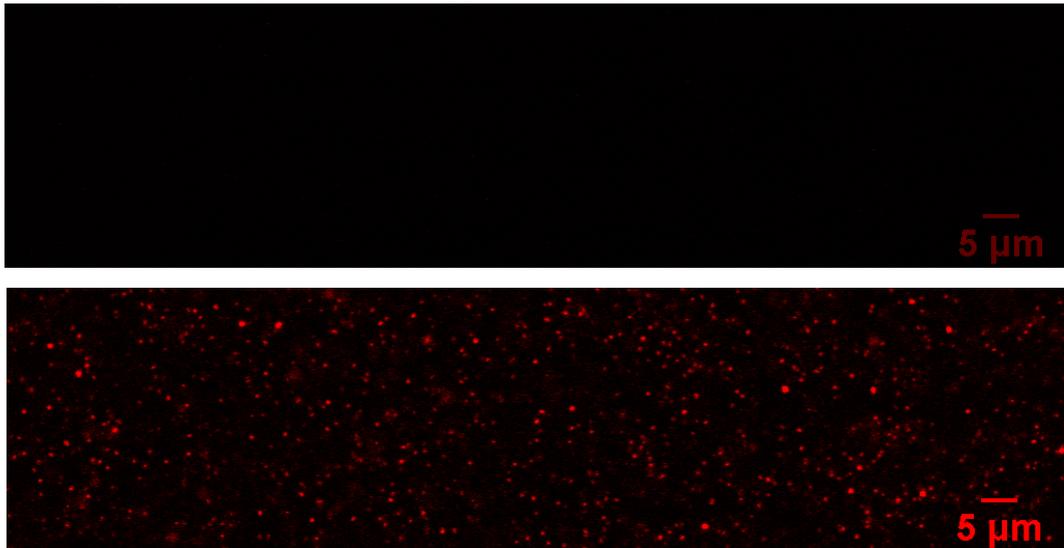


Figure 17 – Clichés obtenus suite à l’observation au microscope confocal des suspensions $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{BM}}/\text{E@T}$ (haut) et $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{BM}}/\text{E@T-NR}$ (bas)

En l’absence de Rouge de Nil, les nanoparticules formées à partir des copolymères étudiés n’émettant rien dans la gamme de longueur d’onde étudiée, rien n’est observé pour la suspension $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{BM}}/\text{E@T}$. En revanche, l’observation de l’échantillon $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{BM}}/\text{E@T-NR}$ révèle la présence d’objets sphériques rouges correspondant aux nanoparticules en suspension. La lumière rouge observée étant émise par le Rouge de Nil, cette observation montre que ce dernier se situe bien au contact des nanoparticules, que ce soit à l’intérieur ou à leur surface. Le copolymère $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{BM}}$ auto-assemblé permet donc bien la stabilisation du Rouge de Nil en milieu aqueux.

Dans un second temps, une fois le Rouge de Nil encapsulé -et/ou adsorbé- au sein des nanoparticules polymères, nous nous sommes intéressés à son relargage. La suspension $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{BM}}\text{-NR}/\text{E@T}$ s’est révélée stable pendant plusieurs mois ; le Rouge de Nil ne semble pas diffuser à travers les nanoparticules. Par ailleurs, comme montré plus haut, il est possible de déstabiliser les suspensions obtenues par ajout de chlorure de sodium ou de CALB. La force ionique induite par le chlorure de sodium présente l’avantage de déstabiliser la suspension sans pour autant détruire la structure du copolymère, qui peut alors être récupéré. De plus, cette stratégie est extrêmement peu coûteuse comparée à l’usage de la CALB. A la suspension $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{BM}}\text{-NR}/\text{E@T}$, ont été ajoutés 112 mg de NaCl, afin d’atteindre une concentration en sel de 25 mg/mL. Après 16 heures sous agitation orbitaire, la suspension est déstabilisée et le Rouge du Nil sédimente au fond du pilulier avec le $p(\text{MAM}_{80}\text{-MASG}_{20})_{\text{BM}}$. Le copolymère est alors précipité par ajout de 2 mL d’éther diéthylique dans le pilulier : après une agitation manuelle du pilulier, le coagulum blanc qui se forme à l’interface de la phase aqueuse et de la phase organique est récupéré à l’aide d’une pince.



Figure 18 – Mise en évidence du relargage du Rouge du Nil par ajout de chlorure de sodium.
Gauche : suspension p(MAM₈₀-MASG₂₀)_{BM}-NR/E@T ; Centre : déstabilisation de la suspension après ajout de NaCl ;
Droite : précipitation du p(MAM₈₀-MASG₂₀)_{BM} après l'ajout d'éther diéthylique.

Enfin dans un dernier temps, la réutilisation du p(MAM₈₀-MASG₂₀)_{BM} a été étudiée : une fois précipité dans l'éther diéthylique, le copolymère a été récupéré et dissous à nouveau dans 0,5 mL de THF. 4,5 mL d'eau distillée filtrée ont alors été additionnés goutte à goutte sous agitation à une vitesse de 0,5 mL/min afin de reformer des nanoparticules. Une suspension opaque est à nouveau obtenue. L'analyse par DLS des objets formés met bien en évidence la reformation des nanoparticules lors de ce deuxième cycle, même si ces dernières semblent présenter des dimensions légèrement plus importantes que lors du premier cycle. (Figure 20)

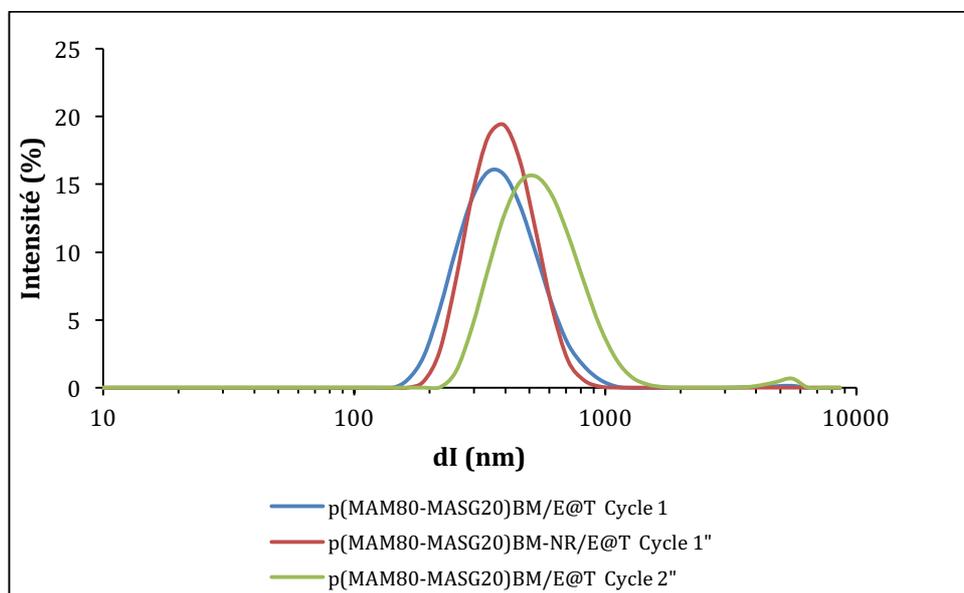


Figure 19 – Comparaison des distributions en intensité des tailles de nanoparticules pour le premier et le second cycle de nanoprecipitation « Eau dans THF » à partir du même échantillon de copolymère p(MAM₈₀-MASG₂₀)_{BM}

V. CONCLUSION

Les propriétés d'auto-assemblage des différents glycopolymères synthétisés à partir du MASG ont été étudiées au cours de ce chapitre. Des systèmes auto-assemblés sphériques ont pu être obtenus par nanoprécipitation des glycopolymères au sein d'un système THF/eau à partir de taux de MASG de seulement 10% pour la gamme NC et de 20% pour les gammes BM et RAFT. Des sphères pleines, de taille homogène, ont été obtenues pour tous les glycopolymères étudiés jusqu'à des taux de MASG de 60%. Les suspensions obtenues se sont révélées stables à température ambiante pendant un an et également résistantes à des températures jusqu'à 75°C. Les nanoparticules obtenues ont été utilisées pour la stabilisation dans l'eau d'un colorant hydrophobe, le Rouge de Nil. Ce dernier a pu être aisément libéré en déstabilisant les suspensions par l'ajout de chlorure de sodium. Le glycopolymère peut alors être récupéré et redispersé dans l'eau sous forme de nanoparticules pour une nouvelle utilisation. Ces derniers tests physico-chimiques ouvrent des pistes intéressantes dans le domaine de l'encapsulation de façon générale. Une étude poussée de la biocompatibilité des copolymères synthétisés serait indispensable pour envisager des applications de vectorisation de principes actifs dans l'organisme, en revanche ces derniers pourraient éventuellement se destiner à des applications d'encapsulation hors du domaine biomédical, par exemple en cosmétique, ou encore éventuellement en synthèse organique comme nanoréacteurs dispersés en phase aqueuse.

VI. BIBLIOGRAPHIE

- [1] Legrand P., Lesieur S., Bochot A., Gref R., Raatjes W., Barratt G. and Vauthier C., «Influence of polymer behaviour in organic solution on the production of polylactide nanoparticles by nanoprecipitation,» *Int. J. Pharm.*, Vols. %1 sur %2344 (1-2), pp. 33-43, **2007**.
- [2] Hatton F. L., Chambon P., McDonald T. O., Owen A. and Rannard S. P., «Hyperbranched polydendrons: a new controlled macromolecular architecture with self-assembly in water and organic solvents,» *Chem. Sci.*, vol. 5, pp. 1844-1853, **2014**.
- [3] Gavory C., Durand A., Six J-L., Nouvel C., Marine E. and Leonard M., «Polysaccharide-covered nanoparticles prepared by nanoprecipitation,» *Carbohydr. Polym.*, vol. 84 (1), pp. 133-140, **2011**.
- [4] Peyret A., Trant J. F., Bonduelle C. V., Ferji K., Jain N., Lecommandoux S. and Gilies E. R., «Synthetic glycopolypeptides: synthesis and self-assembly of poly(gamma-benzyl-L-glutamate)-glycosylated dendron hybrids,» *Polym. Chem.*, vol. 45 (6), pp. 7902-7912, **2015**.
- [5] Gauche C. and Lecommandoux S., «Versatile design of amphiphilic glycopolypeptides nanoparticles for lectin recognition,» *Polymer*, vol. 107, pp. 474-484, **2016**.
- [6] Hibert G., Glycolipids: from synthesis and self-assembly studies to the design of original bio-based polymers, *Thèse de doctorat en polymères, Université de Bordeaux*, **2016**.
- [7] Kara A., «Investigation of formulation parameters of PLGA nanoparticles prepared by nanoprecipitation technique,» chez *Proceedings of the 5th International Conference on Nanotechnology: Fundamentals and Applications*, Prague, Czeck Republic, **2014**.
- [8] Yadav K. S. and Sawant K. K., «Modified nanoprecipitation method for preparation of cytarabine-loaded PLGA nanoparticles,» *AAPS PharmSciTech*, vol. 11 (3), pp. 1456-1465, **2012**.
- [9] Hibert G., Grau E., Pintori D., Lecommandoux S. and Cramail H., «ADMET polymerization of alpha,omega)unsaturated glycolpids: synthesis and physico-chemical properties of the resulting polymers,» *Polym. Chem.*, vol. 2017 (8), pp. 3731-3739., **2017**.
- [10] Sciortino F., Casterou G., Eliat P-A., Troadec M-B., Gaillard C., Chevance S., Kahn M. L. and Gauffre F., «Simple engineering of polymer-nanoparticle hybrid nanocapsules,» *ChemNanoMat*, vol. 2 (8), pp. 796-799, **2016**.
- [11] Sciortino F., Thivolle M., Kahn M. L., Gaillard C., Chevance S. and Gauffre F., «Structure and elasticity of composite nanoparticle/polymer nanoshells (hybridosomes®),» *Soft Matter.*, vol. 13 (24), pp. 4393-4400, **2017**.
- [12] Li Z., Cheng H., Li J., Hao J., Zhang L., Hammouda B. and Han C. C., « Large-scale structures in tetrahydrofuran water mixture with a trace amount of antioxidant butylhydroxytoluene (BHT),» *J. Phys. Chem. B*, vol. 115 (24), pp. 7887-7895, **2011**.

CONCLUSION GENERALE

Ces travaux de thèse, s'inscrivant dans une démarche de valorisation des ressources oléagineuse et saccharidique, avaient pour objectif la synthèse de nouveaux polymères amphiphiles glycolipidiques, capables de s'auto-assembler en phase aqueuse et potentiellement utilisables pour des objectifs d'encapsulation et de vectorisation. Dans ce but, nous avons choisi de synthétiser des polymères linéaires à sucres pendants par voie radicalaire, à partir de monomères glycolipidiques porteurs d'une fonction polymérisable située le long de leur chaîne grasse. La stratégie adoptée pour la synthèse de ces glycomonomères consiste à greffer des groupements polymérisables le long de la chaîne des dérivés d'acide gras, puis à transestérifier ces derniers à l'aide d'un sucre pour conduire aux glycolipides polymérisables correspondants. Pour un procédé plus 'vert', nous avons décidé de réaliser cette dernière étape par catalyse enzymatique en présence d'une lipase.

En dépit de ses nombreux avantages, à savoir une sélectivité vis-à-vis des alcools primaires des saccharides et la possibilité de travailler dans des conditions réactionnelles plus douces et moins toxiques, la synthèse de glycolipides par voie enzymatique présente des verrous qui endiguent une production à large échelle, comme le coût élevé des enzymes et des temps de réaction longs, qui de plus, conduisent à des conversions plus faibles qu'à partir de catalyseurs chimiques. Aussi, la première partie de ces travaux a été consacrée d'une part à l'optimisation des conditions réactionnelles de la synthèse enzymatique de glycolipides et, d'autre part, à une compréhension complète de l'influence des substrats sur les cinétiques de conversion observées.

Après une étude de l'influence des paramètres réactionnels, à savoir le choix du solvant, de la lipase et de la température de travail, l'acylation d'esters de vinyle par des quantités équimolaires de glucose a été effectuée avec des conversions totales en 40 heures dans l'acétonitrile anhydre à partir de seulement 5% wt. de CALB. Ce résultat est à souligner dans la mesure où cela représente quatre à six fois moins de CALB que dans les travaux décrits dans la littérature.

Suite à ces résultats, la comparaison de huit acides gras linéaires de quatre à dix-huit carbones, puis des huit esters de vinyle correspondants nous a permis d'accéder à une meilleure compréhension de l'influence de la longueur de chaîne du donneur d'acyle sur les cinétiques de conversion en glycolipides. Une meilleure affinité de la CALB pour les acides gras aux plus longues chaînes a été observée. En revanche, en partant d'esters de vinyle, nous avons constaté des cinétiques de transestérification plus rapides pour les chaînes les plus courtes (de quatre à dix carbones), mais des phénomènes d'hydrolyse des glycolipides formés ont également été

Conclusion générale

observés, conduisant à une décroissance du taux de glycolipides après avoir atteint un maximum. Les cinétiques de réaction sont légèrement moins rapides à partir de donneurs d'acyle à longues chaînes, mais aucune hydrolyse des produits n'est observée et les conversions atteignent 100% en une quarantaine d'heure. Enfin, l'étude de l'influence de la géométrie des donneurs d'acyle a également mis en évidence une très nette préférence de la CALB pour les substrats linéaires et saturés : une chute de la conversion en glycolipides est observée en présence d'acides gras insaturés et/ou ramifiés.

Forts de ces conclusions, nous avons décidé de synthétiser des monomères glycolipidiques à partir de glucose et de dérivés oléagineux vinyliques à longue chaîne : l'acide ricinoléique et l'acide 12-hydroxystéarique. A partir de ces substrats, huit monomères ont été conçus suivant une stratégie de synthèse en trois étapes : (i) conversion des acides ricinoléique et 12-hydroxystéarique en esters vinyliques afin de les activer, (ii) greffage d'un groupement polymérisable le long de la chaîne grasse, et (iii) synthèse des glycolipides correspondants à partir de glucose en présence de CALB.

Une première stratégie a consisté à insérer des esters vinyliques pendants le long des chaînes grasses des glycolipides à partir d'anhydrides succinique et maléique : les acides ricinoléique et 12-hydroxystéarique ont, dans un premier temps, été acylés par les anhydrides, puis les intermédiaires obtenus ont suivi une double-transvinylation suivie de la transestérification sélective des esters vinyliques stéarique et ricinoléique par le glucose catalysée par la CALB, en appliquant les conditions réactionnelles optimisées précédemment. Cette stratégie se base sur la meilleure affinité de la CALB pour les donneurs d'acyles linéaires et à longue chaîne par rapport aux donneurs d'acyles courts et ramifiés. Quatre monomères, nommés SVSG, SVRG, MVSG et MVRG, ont ainsi été synthétisés, regroupés dans une première plateforme. (Plateforme 1) Des conversions totales, sans aucune formation de sous-produits, ont été obtenues pour toutes les étapes de synthèse jusqu'à une échelle de 20 grammes.

La polymérisation de ces monomères s'est en revanche révélée plus difficile. Malgré leur incapacité à s'homopolymériser en dépit de nombreuses tentatives, ces derniers ont toutefois pu être copolymérisés à faibles taux (5 et 10%) avec l'acétate de vinyle avec des conversions totales. Au-delà de 10% de monomères glycolipidiques, une baisse des conversions a été observée. Finalement, huit copolymères ont pu être obtenus avec des conversions totales : le $p(\text{AcV}_{95}\text{-SVSG}_5)$, le $p(\text{AcV}_{90}\text{-SVSG}_{10})$, le $p(\text{AcV}_{95}\text{-SVRG}_5)$, le $p(\text{AcV}_{90}\text{-SVRG}_{10})$, le $p(\text{AcV}_{95}\text{-MVSG}_5)$, le $p(\text{AcV}_{90}\text{-MVSG}_{10})$ et le $p(\text{AcV}_{95}\text{-MVRG}_5)$, le $p(\text{AcV}_{90}\text{-MVRG}_{10})$. La copolymérisation de l'acétate de vinyle avec les glycomonomères SVSG et SVRG conduit à des polymères linéaires, tandis que des polymères hyper-ramifiés sont obtenus à partir du MVSG et du MVRG, en raison de la réactivité en polymérisation de la double-liaison maléique avec l'acétate de vinyle.

Conclusion générale

Les quelques tentatives de nanopréciipitation effectuées sur les quatre copolymères linéaires obtenus ne furent malheureusement pas concluantes : les systèmes auto-assemblés obtenus se sont révélés mal définis et instables, probablement en raison d'un trop faible taux de glucose. Cette première plateforme de glycomonomères, bien que facile à synthétiser avec de bons rendements, n'a donc pas permis de remplir les objectifs visés au cours de cette thèse. Des systèmes auto-assemblés pourraient probablement être obtenus à partir de cette plateforme en synthétisant des copolymères à plus haute teneur en SVSG ou SVRG, soit en augmentant la conversion en glycomonomère, soit en mettant au point une méthode de purification des polymères obtenus.

Une deuxième plateforme de glycomonomères a été synthétisée en insérant des groupements méthacrylates par le biais d'une réaction de carbamation. (Plateforme 2) Les fonctions méthacrylates étant plus réactives que les esters de vinyle, cette stratégie permet d'améliorer la réactivité des glycomonomères par rapport à la première plateforme. Deux monomères supplémentaires, nommés MASG et MARG, ont ainsi été obtenus. Ces derniers ont été synthétisés par une transvinylation préalable des acides ricinoléique et 12-hydroxystéarique, suivie d'une carbamation par le méthacrylate d'isocynoéthyle, l'IEMA, puis d'une transestérification par le glucose en présence de CALB dans les mêmes conditions que précédemment. Si la dernière étape a été réalisée sans encombre avec des conversions totales, la transvinylation et la carbamation des acides gras se sont révélées plus difficiles. La transvinylation de l'acide ricinoléique conduit à la formation de deux sous-produits, ce qui se traduit par une chute du rendement à 55%, contre 95% à partir de l'acide 12-hydroxystéarique. Enfin, des phénomènes de gélification irréversible du milieu réactionnel observés lors de la réaction de carbamation limitent la montée en échelle du procédé de synthèse.

En revanche, la polymérisation de ces deux monomères, ainsi que leur copolymérisation avec le méthacrylate de méthyle, ont été un succès. La copolymérisation non contrôlée du méthacrylate de méthyle et du MASG ou du MARG à des taux de 30% et plus conduit à la formation de gels insolubles inappropriés à la synthèse de systèmes auto-assemblés, mais des copolymères solubles, de plus faibles masses molaires, ont pu être obtenus quelle que soit leur composition en présence de 2% d'agent de transfert. Trois gammes de copolymères ont ainsi été synthétisées à partir du méthacrylate de méthyle et du MASG : la gamme NC, par polymérisation non contrôlée, la gamme BM en présence de 2% de benzèneméthanethiol et la gamme RAFT en présence de 2% de benzodithioate de 2-cyano-2-propyle. Les copolymères ont tous été obtenus avec des conversions totales des deux monomères pour la gamme NC et pour des taux de MASG de 20% et plus pour les gammes BM et RAFT. Les degrés de polymérisation atteints pour la gamme RAFT, estimés par RMN ^1H , se sont bien révélés proches de 50 et des dispersités inférieures à 1,2 ont pu être déterminées par SEC pour les copolymères solubles dans le THF, attestant d'un bon contrôle de la polymérisation.

Conclusion générale

Les copolymères issus de cette deuxième plate-forme montrent tous une capacité à s'auto-assembler en phase aqueuse par nanopréciipitation dans un milieu THF/eau. Des nanoparticules avec des distributions de tailles extrêmement bien définies sont obtenues à partir de copolymères comportant seulement 10% de glycomonomère et jusqu'à des taux de 60%, et ce, sans nécessiter de contrôle de la polymérisation. La morphologie des nanoparticules peut être fixée en réglant la vitesse du procédé de nanopréciipitation : des sphères pleines ou des vésicules peuvent être obtenues sélectivement. Une fois auto-assemblés, les copolymères en solution se sont révélés stables pendant un an ; ils peuvent être aisément récupérés par précipitation en présence de chlorure de sodium et être ainsi réutilisés. Enfin, un test réussi de stabilisation du Rouge de Nil suivi de son relargage contrôlé par ajout de chlorure de sodium, laisse entrevoir des perspectives intéressantes pour ces nouveaux systèmes dans les domaines requérant l'encapsulation, la vectorisation et le relargage de principes actifs.

De nombreuses perspectives se dégagent de ces travaux de thèse. Si la synthèse des monomères de la Plateforme 1 est viable, il est nécessaire d'améliorer les résultats obtenus lors de leur polymérisation afin de les valoriser. Les fonctions ester de vinyle sont connues pour être difficilement polymérisables en général, mais une optimisation plus poussée des conditions réactionnelles pourrait peut-être conduire à de meilleures conversions pour les taux de glycomonomères supérieurs à 10%. Le recours à d'autres solvants ou d'autres amorceurs que l'AIBN ou le BPO, ou une injection de l'amorceur en plusieurs fois au cours de la polymérisation sont des pistes d'amélioration qui restent à explorer. Le recours à des techniques de polymérisation plus adaptées, comme par exemple la polymérisation radicalaire à base de cobalt (CMRP), est aussi une perspective intéressante. La purification des copolymères obtenus est également un verrou à lever. Leur non solubilité dans l'eau empêche leur purification par dialyse, mais un procédé de purification par microfiltration dans le THF pourrait être envisagé. Enfin, si les propriétés d'auto-assemblage des copolymères à plus haut taux de glucose ne se révélaient toujours pas probantes, d'autres applications peuvent être explorées notamment dans le domaine des revêtements ou des adhésifs.

Si les copolymères issus de la Plateforme 2 se révèlent quant à eux très prometteurs, il est indispensable d'optimiser la synthèse des monomères correspondants, d'une part pour pallier les problèmes de gélifications observés qui empêchent une production au-delà de trois grammes, et d'autre part afin d'éviter la formation de sous-produits lors de la synthèse du ricinoléate de vinyle. La seule piste permettant de résoudre ces deux problèmes de façon efficace consiste à remplacer la fonction ester vinylique par une fonction ester méthylique. La méthylation des acides gras catalysée par la CALB s'effectue très aisément dans des rendements de 100%, et aucun phénomène de gélification n'a été observé lors de la carbamation du ricinoléate de méthyle ou du 12-hydroxystéarate de méthyle jusqu'à une échelle de 5 grammes. En revanche, l'acylation enzymatique des esters méthyliques par le glucose dans les conditions

Conclusion générale

mises au point s'est révélée impossible. Il est donc nécessaire soit de modifier le procédé de synthèse de glycolipides optimisé dans le Chapitre 2 afin de l'adapter à cette nouvelle réaction, (par exemple en augmentant les quantités de lipase engagée et en ajoutant du tamis moléculaire 4Å afin de piéger le méthanol et déplacer l'équilibre) soit en dernier recours de réaliser cette étape sous catalyse chimique.

Enfin, suite aux résultats très encourageants obtenus dans le Chapitre 6, il serait intéressant de mener une étude plus poussée des propriétés physicochimiques des copolymères issus de la Plateforme 2. L'analyse des nanoparticules formées à partir des copolymères à hauts taux de MASG par cryo-microscopie électronique permettrait d'accéder à une meilleure compréhension de ces systèmes. Une diversification des copolymères synthétisés, par exemple en synthétisant des copolymères à blocs et en comparant leurs propriétés d'auto-assemblage à celles des copolymères statistiques synthétisés jusque là, représente également une piste intéressante. Enfin, des études de biocompatibilité et de biodégradabilité des copolymères synthétisés, ainsi que leur capacité à piéger différents principes actifs autres que le Rouge de Nil, permettraient de les valoriser en vue d'applications d'encapsulation et de vectorisation.

Conclusion générale

*MATÉRIELS ET
MÉTHODES*

*PARTIE
EXPÉRIMENTALE*

MATÉRIELS ET MÉTHODES – PARTIE EXPÉRIMENTALE

I. Matériels et méthodes	- 243 -
1. Description des produits et solvants utilisés	- 243 -
1.1 Produits chimiques	- 243 -
1.2 Solvants	- 243 -
2. Description des appareils	- 243 -
II. Partie expérimentale	- 246 -
1. Synthèses organiques	- 246 -
1.1 Procédure générale de méthylation des acides gras	- 246 -
1.2 Procédure générale d'addition thiol-ène	- 247 -
1.3 Procédure générale d'acylation par un anhydride	- 247 -
1.3.1 Anhydride succinique	- 247 -
1.3.2 Anhydride maléique	- 249 -
1.4 Procédure générale de transvinylation des acides gras	- 250 -
1.4.1 Transvinylation catalysée par le dimère de chlorure cyclooctène	- 250 -
1.4.2 Transvinylation catalysée par le diacétate de palladium	- 252 -
1.5 Procédure générale de carbamation par un isocyanate	- 253 -
1.5.1 Carbamation d'un alcool secondaire (procédure générale)	- 254 -
1.5.2 Cas particulier de la carbamation de l'éthanol	- 255 -
1.6 Procédure générale de synthèse enzymatique de glycolipides saturés	- 256 -
1.6.1 Synthèse de glycolipides à partir de donneurs d'acyle non fonctionnalisés	- 256 -
1.6.2 Synthèse des monomères glycolipidiques	- 260 -
2. Polymérisations	- 263 -
2.1 Procédure de polymérisation des esters de vinyle (Chapitre 4)	- 263 -
2.1.1 Homopolymérisation	- 263 -
2.1.2 Copolymérisation avec l'acétate de vinyle	- 264 -
2.2 Procédure de polymérisation des monomères méthacrylate (Chapitre 5)	- 267 -
2.2.1 Polymérisation non contrôlée des monomères modèles	- 267 -
2.2.2 Synthèse des polymères de la gamme NC	- 268 -
2.2.3 Synthèse des copolymères de la gamme BM	- 270 -
2.2.4 Copolymérisation avec le méthacrylate de méthyle contrôlée par RAFT	- 272 -

I. MATÉRIELS ET MÉTHODES

1. Description des produits et solvants utilisés

1.1 Produits chimiques

Le palmitate de vinyle, le butyrate de vinyle, l'hexanoate de vinyle, le decanoate de vinyle, le diacétate de palladium (II), le 6-undécanol, l'acide oléique et le dilaurate de dibutyle d'étain proviennent de TCI. Les lipases greffées sur billes acryliques de *Candida antarctica B* (CALB), *Candida antarctica A* (CALA), *Rhizomucor miehei* (RML), *Thermomyces lanuginosa* (TLL), *Pseudomonas cepacia* (ABC) et *Fusarium solani pisi* (L51) proviennent de Chiral Vision. L'acétate de vinyle, l'acétate d'isopropylène, le dimère de chlorure d'iridium cyclooctène, l'acétate de sodium, la lipase B de *Candida antarctica* supportée, l'acide octanoïque, l'acide myristique, l'acide laurique, l'acide stéarique, le mannose, le galactose, l'anhydride succinique, l'anhydride maléique, le méthacrylate d'isocyanéthyle, l' α -méthylstyrène d'isocyanoisopropyle, le 2-mercapto-1-éthanol, le pivalate de vinyle, le peroxyde de benzoyle, le méthacrylate de méthyle, le méthacrylate d'hexyle, le benzyl mercaptan et le benzodithiate de 2-(2-cyano)-propyle proviennent de Sigma Aldrich. L'acide linoléique, l'hydroxyde de potassium (KOH, sous forme de pastilles) et le tréhalose anhydre proviennent de Fisher. Le glucose provient d'Euromedex. Le xylose et saccharose proviennent de Prolabo. L'AIBN provient de Acros Organics. L'acide ricinoléique, l'acide élaïdique et l'acide linoléinique proviennent de Nu-Check Prep. L'acide 12-hydroxystéarique et l'oléate de vinyle ont été fournis par l'Iterg. L'éthanol et le méthanol absolus proviennent de Scharlau.

1.2 Solvants

L'acétone (grade technique), l'acétate d'éthyle, le tétrahydrofurane, l'acétonitrile, le toluène, le dichlorométhane et le cyclohexane (grade Chromatosolv) proviennent de VWR Chemicals. Le dioxane, le DMSO et le DMF proviennent de Sigma Aldrich. Les solvants deutériés (chloroforme et DMSO) proviennent d'Euriso-top.

2. Description des appareils

Résonance magnétique nucléaire (RMN)

Toutes les analyses RMN ont été effectuées à 25°C sur un spectromètre Bruker Avance 400, à la fréquence de 400 MHz. Selon les échantillons à analyser, le solvant deutérié utilisé (CDCl_3 ou d_6 -DMSO) est précisé dans la légende de chaque spectre RMN présenté dans le manuscrit.

Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR-ART)

L'acquisition des spectres infrarouge à transformée de Fourier a été effectuée à température ambiante entre 400 et 4000 cm^{-1} grâce à un spectromètre Bruker VERTEX 70 (résolution 4 cm^{-1} , 64 scans, DLaTGS MIR) équipé d'un « Pike GladiATR plate) (cristal de diamant) pour la réflexion totale atténuée (ATR)

Chromatographie d'exclusion stérique (SEC)

Les distributions de masses molaires des polymères ont été déterminées par chromatographie d'exclusion stérique (SEC), sur un appareil Ultimate 3000 de la marque ThermoScientific, équipé d'un détecteur à barrettes de diodes, d'un détecteur de diffusion de la lumière multi-angles, et d'un détecteur de différence d'indice de réfraction de Wyatt technology. Les polymères ont été séparés sur trois colonnes de gel G2000, G3000 et G4000 TOSOH HXL de dimensions 300*7,8 mm (limites d'exclusions de 1000 Da à 400000 Da) en utilisant comme éluant du THF ou une solution de DMF contenant 1g/L de bromure de lithium. L'éluion est effectuée à un débit de 1 mL/min et à une température de 40°C. Les masses molaires moyennes ont été déterminées à partir d'une courbe de calibration polystyrène.

Chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

Les analyses de chromatographie liquide à haute performance ont été effectuées sur un appareil Ultimate 3000 Dionex de la marque Thermo Scientific, muni de pompes DGP-3600 SD, d'un passeur automatique WPS-3000, d'un four TCC-3000 et d'un détecteur Corona Veo SD, et d'une colonne LUNA 5 μm C18 100Å de dimensions 250mm x 4.6mm. Pour chaque analyse, 50 μl d'échantillon ont été élués par un mélange isocratique Méthanol/Acétonitrile/Eau 75/20/5 v/v/v à un débit de 0,25 mL/min et à une température de 40°C.

Calorimétrie différentielle à balayage (DSC)

Les mesures DSC ont été effectuées sur un appareil DSC Q100 (TA Instruments). Les échantillons ont d'abord été refroidis jusqu'à -80°C puis chauffés jusqu'à 100°C à une vitesse de 10°C/min. Un deuxième refroidissement jusqu'à -80°C a alors été effectué, suivi d'une nouvelle chauffe jusqu'à 150°C. Les températures de transition vitreuse ont été mesurées à partir de la seconde chauffe.

Analyse thermogravimétrique (TGA)

Les analyses thermogravimétriques ont été effectuées sur un appareil TA Instruments Q500. Les échantillons sont chauffés de 25°C à 600°C à une vitesse de 10°C/min sous azote. Les analyses ont été effectuées en utilisant une nacelle en platine.

Microscopie électronique à transmission (TEM)

Les analyses par TEM ont été effectuées au Centre d'Imagerie de Bordeaux (BIC) sur un microscope Hitachi H7650 à 80KV, en mode « haute résolution », en utilisant des grilles 300 mesh recouvertes d'un revêtement Lacey.

Diffusion dynamique de la lumière (DLS)

Les analyses DLS ont été effectuées sur un appareil Malvern Instrument Nano-ZS équipé d'un laser He-Ne (1/4 632,8 nm). Les solutions à analyser ont été introduites dans une cellule en quartz. Les mesures ont été réalisées à un angle de diffusion de 90°C.

Diffusion statique de la lumière (ALV)

Les mesures de diffusion de la lumière multiangle ont été effectuées à l'aide d'un goniomètre ALV/CG6-8F équipé d'un laser He-Ne rouge à polarisation linéaire à 35 mW (1/4 632.8 nm) et d'un corrélateur numérique multi tau à 20°C. Les données ont été collectées à l'aide du logiciel de corrélation de l'ALV, le temps de comptage a été fixé à 15s pour chaque angle de 30 à 150°C.

Microscopie confocale

Les observations au microscope confocal ont été effectuées sur un appareil de la marque Leika muni d'un objectif HCXPL APO Lambda blue 63,0x1,40 OIL corrélé à un scanner résonnant à 8000 Hz. Les échantillons ont été excités à une longueur d'onde de 561 nm, par le biais d'un laser DPSS 561 et la lumière émise a été collectée à l'aide d'un photomultiplicateur entre 570 et 623 nm.

Chromatographie flash

Les séparations par chromatographie flash ont été réalisées sur un appareil Grace Reverelis, muni de colonnes de silice directement vendues par Grace, et équipé d'un détecteur ELSD et de deux détecteurs UV (245 nm et 280 nm). Les phases éluantes utilisées sont décrites dans le manuscrit selon les mélanges à séparer.

Diffraction aux rayons X

Les analyses de diffraction aux rayons X aux grand angles (WAXS) ont été réalisées par Ahmed Bentaleb au Centre de Recherche Paul Pascal (CRPP) à partir d'un « microfocus rotating anode C-ray source » (Rigaku MicroMax-007 HF) combiné à « performant multi-layers optics and a 3-pinholes collimation that provide in intense X-ray intensity on the sample ». L'échantillon à analyser est contenu dans un capillaire Lindemann et placé dans un four thermostaté. Les radiations diffusées sont analysées par un détecteur à deux dimensions (Image plate from Mar research). La calibration de la distance échantillon-détecteur a été réalisée en utilisant du « silver behenate » comme référence

II. PARTIE EXPERIMENTALE

Les synthèses organiques ne sont pas classées par ordre d'apparition dans le manuscrit mais par procédures générales, elles-mêmes classées selon leur ordre de succession pour plus de logique, en particulier dans le cas des synthèses à plusieurs étapes successives. Les procédures de séchage utilisées pour les solvants sont décrites dans l'Annexe 1. « NC » signifie « non connu ».

1. Synthèses organiques

1.1 Procédure générale de méthylation des acides gras

Synthèse

Dans un Schlenk préalablement flammé sous vide dynamique, muni d'un barreau aimanté, 10 mmol (1eq) d'acide gras sont dissous dans 400 mmol (40eqs) de méthanol anhydre sous atmosphère d'argon. 224 mg de lipase de *Candida antarctica* B supportée sont ajoutés sous balayage d'argon. Le milieu réactionnel est agité (250 rpm) pendant 16 heures à température ambiante.

Purification

Après 16 heures d'agitation, le milieu réactionnel est filtré afin d'éliminer la lipase et le méthanol est éliminé à l'évaporateur rotatif.

Liste des produits synthétisés

(1) Synthèse du palmitate de méthyle à partir de l'acide palmitique

Conversion : 100% - Rendement : 100% - Aspect : cire blanche - Stable à température ambiante
 RMN ¹H : (CDCl₃, 400 MHz, δ(ppm)) 0,86 (3H, t, CH₃), 1,18-1,33 (24H, massif, -CH₂- chaîne alkyle), 1,59 (2H, quin, CH₂-CH₂-CO), 2,28 (t, 2H, CH₂-CO), 3,63 (3H, s, OCH₃)

(2) Synthèse du stéarate de méthyle à partir de l'acide stéarique

Conversion : 100% - Rendement : 100% - Aspect : cire blanche - Stable à température ambiante
 RMN ¹H : (CDCl₃, 400 MHz, δ(ppm)) 0,86 (3H, t, CH₃), 1,18-1,33 (28H, massif, -CH₂- chaîne alkyle), 1,59 (2H, quin, CH₂-CH₂-CO), 2,28 (t, 2H, CH₂-CO), 3,63 (3H, s, OCH₃)

(3) Synthèse du 12-hydroxy stéarate de méthyle (12HSM) à partir du 12HSA

Conversion : 100% - Rendement : 100% - Aspect : cire blanche - Stable à température ambiante
 RMN ¹H : (CDCl₃, 400 MHz, δ(ppm)) 0,86 (3H, t, CH₃), 1,18-1,33 (22H, massif, -CH₂- chaîne alkyle), 1,41 (4H, m, (CH₂)₂-CH-OH), 1,59 (2H, quin, CH₂-CH₂-CO), 2,28 (t, 2H, CH₂-CO), 3,56 (1H, quin, CH-OH), 3,64 (3H, s, OCH₃)

1.2 Procédure générale d'addition thiol-ène

Synthèse

Dans un ballon de contenance 100 mL muni d'un barreau aimanté, sont introduits 3n mmol (3eqs) de 2-mercapto-1-éthanol, n mmol (1eq) de réactif insaturé, et 0,01n mmol (0,01eq) d'acide diméthylolpropionique (DMPA) Le milieu réactionnel est agité sous irradiation UV à une longueur d'onde de 365 nm.

Purification

Après 5 heures d'agitation, le milieu réactionnel est dissous dans du DCM, est extrait deux fois consécutives par de l'eau distillée afin d'éliminer le 2-mercapto-1-éthanol en excès puis une fois par une solution aqueuse de chlorure de sodium saturée. La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée et concentrée à l'évaporateur rotatif.

Liste des produits synthétisés

(4) Synthèse de l'EMSA

Conversion : 100% - Rendement : 99% - Aspect : Huile incolore - Produit instable, sujet à une dégradation. A conserver au frigo et utiliser rapidement

RMN ¹H : (CDCl₃, 400 MHz, δ(ppm)) 0,88 (3H, t, CH₃), 1,19-1,46 (22H, massif, -CH₂- chaîne alkyle), 1,53 (4H, quin, (CH₂)₂-CHS), 1,63 (2H, quin, CH₂-CH₂-CO) 2,35 (2H, t, CH₂-CO), 2,58 (1H, quin, CHS), 2,71 (2H, t, CH₂S), 3,70 (2H, t, CH₂OH).

1.3 Procédure générale d'acylation par un anhydride

1.3.1 Anhydride succinique

Synthèse

34.4 mmol (2eqs) d'anhydride succinique sont portées à 90°C dans 10 mL de toluène sous vive agitation dans un ballon surmonté d'un réfrigérant. 17.2 mmol (1eq) du réactif à acyler sont alors ajoutées et le milieu réactionnel est laissé agiter à 90°C pendant 24h¹. Le milieu réactionnel est trouble (anhydride succinique non dissous).

Purification

30 mL de toluène sont rajoutés et le milieu est lavé par 4*40 mL d'eau distillée afin d'éliminer l'anhydride en excès, puis par 20 mL de saumure. La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée, et concentrée à l'évaporateur rotatif.

¹ A l'exception de la synthèse du SAEMSA qui est réalisée à température ambiante en 4 heures.

Liste des produits synthétisés

(5) Synthèse du SASA à partir du 12HSA et d'anhydride succinique :

Conversion : 100% - Rendement : 95% - Aspect : cire blanche - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (d6-DMSO, 400 MHz, δ(ppm)) 0,88 (3H, t, CH₃), 1,17-1,39 (22H, massif, chaîne alkyle -CH₂-), 1,45 (6H, massif, CH₂-CH₂-CO et (CH₂)₂-CH-O), 2,18 (2H, t, CH₂-CO), 2,45 (4H, massif, OC-CH₂-CH₂-CO), 4,75 (1H, quin, CH-O), 12,1 (2H, s, COOH)

(6) Synthèse du SARA à partir de l'acide ricinoléique et d'anhydride succinique :

Conversion : 100% - Rendement : 95% - Aspect : huile incolore très visqueuse - Stable à température ambiante, fige avec le temps pour donner une cire blanche

RMN ¹H : (d6-DMSO, 400 MHz, δ(ppm)) 0,88 (3H, t, CH₃), 1,17-1,39 (16H, massif, chaîne alkyle -CH₂-), 1,45 (4H, massif, CH₂-CH₂-CO et CH₂-CH-O), 2,00 (2H, m, CH₂-CH=), 2,18 (2H, t, CH₂-CO), 2,35 (=CH-CH₂-CH-O), 2,45 (4H, massif, OC-CH₂-CH₂-CO), 4,75 (1H, quin, CH-O), 5,35 (1H, dt, CH=CH), 5,45 (1H, dt, CH=CH), 12,1 (2H, s, COOH)

(7) Synthèse du 6USA à partir du 6-undécanol et d'anhydride succinique :

Conversion : 100% - Rendement : Non isolé - Aspect : huile incolore - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (CDCl₃, 400 MHz, δ(ppm)) 0,85 (6H, t, CH₃) 1,15-1,35 (12H, massif, -CH₂-), 1,48 (4H, m, (CH₂)₂-CH-O), 2,62 (4H, m, OC-CH₂-CH₂-CO), 4,87 (1H, quin, CH-O).

(8) Synthèse du SASM à partir du stéarate de méthyle et d'anhydride succinique :

Conversion : 100% - Rendement : 82% - Aspect : cire blanche - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (CDCl₃, 400 MHz, δ(ppm)) 0,89 (3H, t, CH₃), 1,20-1,37 (22H, massif, -CH₂- chaîne alkyle), 1,52 (4H, m, (CH₂)₂-CH-O), 1,63 (2H, quin, CH₂-CH₂-CO), 2,31 (2H, t, CH₂-CO), 2,65 (4H, m, OC-CH₂-CH₂-CO), 3,67 (3H, s, OCH₃), 4,90 (1H, quin, CH-O).

(9) Synthèse du SAEMSA à partir de l'EMSA et d'anhydride succinique :

Conversion : 100% - Rendement : 80% - Aspect : huile incolore - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (CDCl₃, 400 MHz, δ(ppm)) 0,88 (3H, t, CH₃), 1,17-1,40 (22H, massif, -CH₂- chaîne alkyle), 1,51 (4H, m, (CH₂)₂-CH-S), 1,61 (2H, quin, CH₂-CH₂-CO), 2,31 (2H, t, CH₂-CO), 2,50-2,75 (7H, massif, CHS, S-CH₂-CH₂-O, et OC-CH₂-CH₂-CO), 4,19 (2H, m, S-CH₂-CH₂-O).

1.3.2 Anhydride maléique

Synthèse

33.7g (34.4 mmol, 2 eqs) d'anhydride maléique sont dissous dans 10 mL de toluène à 90°C sous vive agitation dans un ballon bicol surmonté d'un réfrigérant. 5,17g (17.2 mmol, 1 eq) d'acide ricinoléique hydrogéné sont alors ajoutés et le milieu réactionnel est laissé agiter à 90°C pendant 16h. le milieu réactionnel est limpide.

Purification

30 mL de toluène sont rajoutés et le milieu est lavé par 4*40 mL d'eau distillée afin d'éliminer l'anhydride en excès, puis par 20 mL de saumure. La phase organique est séchée sur MgSO₄, filtrée et concentrée à l'évaporateur rotatif.

Liste des produits synthétisés

(10) Synthèse du MASA à partir du 12HSA et d'anhydride maléique :

Conversion : 100% - Rendement : 95% - Aspect : cire blanche - Stable à température ambiante
RMN ¹H : (*d*6-DMSO, 400 MHz, δ(ppm)) 0,88 (3H, t, CH₃), 1,17-1,39 (22H, massif, chaîne alkyle -CH₂-), 1,45 (6H, massif, CH₂-CH₂-CO et (CH₂)₂-CH-O), 2,18 (2H, t, CH₂-CO), 4,75 (1H, quin, CH-O), 6,35 (2H, dd, OC-CH=CH-CO), 12,45 (2H, s, COOH)

(11) Synthèse du MARA à partir de l'acide ricinoléique et d'anhydride maléique :

Conversion : 100% - Rendement : 95% - Aspect : huile incolore très visqueuse - Stable à température ambiante, fige avec le temps pour donner une cire blanche

RMN ¹H : (*d*6-DMSO, 400 MHz, δ(ppm)) 0,88 (3H, t, CH₃), 1,17-1,39 (22H, massif, chaîne alkyle -CH₂-), 1,45 (4H, massif, CH₂-CH₂-CO et CH₂-CH-O), 2,00 (2H, m, CH₂-CH=), 2,18 (2H, t, CH₂-CO), 2,35 (=CH-CH₂-CH-O), 4,75 (1H, quin, CH-O), 5,35 (1H, dt, CH=CH), 5,45 (1H, dt, CH=CH), 6,35 (2H, dd, OC-CH=CH-CO), 12,45 (2H, s, COOH)

(12) Synthèse du 6UMA à partir du 6-undécanol et d'anhydride maléique :

Conversion : 100% - Rendement : Non isolé - Aspect : huile incolore - Stabilité : NC

RMN ¹H : (*d*6-DMSO, 400 MHz, δ(ppm)), 0,85 (6H, t, CH₃), 1,14-1,39 (12H, massif, -CH₂-), 1,50 (4H, m, (CH₂)₂-CH-O), 4,84 (1H, quin, CH-O), 6,29 (2H, dd, OC-CH=CH-CO), 12,88 (1H, s, COOH).

1.4 Procédure générale de transvinylation des acides gras

1.4.1 Transvinylation catalysée par le dimère de chlorure cyclooctène

Synthèse

Dans un Schlenk préalablement flammé sous vide dynamique muni d'un barreau aimanté et surmonté d'un réfrigérant relié à un bulleur, sous atmosphère d'argon, sont introduits 1eq d'acide gras (ou 0,5eq de diacide) et 0,03eqs d'acétate de sodium. 0,01eqs de dimère de chlorure cyclooctène sont prélevés en boîte à gants dans un Schlenk préalablement flammé trois fois sous vide dynamique, et dissous dans 10 eqs d'acétate de vinyle. La solution de catalyseur est alors ajoutée au milieu réactionnel sous balayage d'argon. Le milieu réactionnel est agité à 100°C à reflux pendant 24 heures sous atmosphère d'argon.

Purification

Après 24 heures, le milieu réactionnel est concentré à l'évaporateur rotatif et purifié par chromatographie flash avec un mélange cyclohexane/acétate d'éthyle comme phase éluante (gradient d'élution : 3% à 10% d'acétate d'éthyle)

Liste des produits synthétisés

(13) Synthèse de l'octanoate de vinyle à partir de l'acide octanoïque

Conversion : 70% - Rendement : NC - Aspect : huile jaunâtre - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (*d6*-DMSO, 400 MHz, δ (ppm)) 0,88 (3H, t, CH₃), 1,17-1,39 (8H, massif, chaîne alkyle -CH₂-), 1,65 (2H, quin, CH₂-CH₂-CO), 2,38 (2H, t, CH₂-CO), 4,56 (1H, dd, CH₂=CH), 4,86 (1H, dd, CH₂=CH), 5,34 (2H, CH=CH), 7,28 (1H, dd, CH=CH₂)

(14) Synthèse du laurate de vinyle à partir de l'acide laurique

Conversion : 82% - Rendement : NC - Aspect : huile jaunâtre - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (*d6*-DMSO, 400 MHz, δ (ppm)) 0,88 (3H, t, CH₃), 1,17-1,39 (16H, massif, chaîne alkyle -CH₂-), 1,65 (2H, quin, CH₂-CH₂-CO), 2,38 (2H, t, CH₂-CO), 4,56 (1H, dd, CH₂=CH), 4,86 (1H, dd, CH₂=CH), 5,34 (2H, CH=CH), 7,28 (1H, dd, CH=CH₂)

(15) Synthèse du myristate de vinyle à partir de l'acide myristique

Conversion : 84% - Rendement : NC - Aspect : huile jaunâtre - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (*d6*-DMSO, 400 MHz, δ (ppm)) 0,88 (3H, t, CH₃), 1,17-1,39 (20H, massif, chaîne alkyle -CH₂-), 1,65 (2H, quin, CH₂-CH₂-CO), 2,38 (2H, t, CH₂-CO), 4,56 (1H, dd, CH₂=CH), 4,86 (1H, dd, CH₂=CH), 5,34 (2H, CH=CH), 7,28 (1H, dd, CH=CH₂)

(16) Synthèse du stéarate de vinyle à partir de l'acide stéarique

Conversion : 87% - Rendement : 70% - Aspect : cire jaunâtre - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (*d6*-DMSO, 400 MHz, δ (ppm)) 0,88 (3H, t, CH₃), 1,17-1,39 (28H, massif, chaîne alkyle -CH₂-), 1,65 (2H, quin, CH₂-CH₂-CO), 2,38 (2H, t, CH₂-CO), 4,56 (1H, dd, CH₂=CH), 4,86 (1H, dd, CH₂=CH), 5,34 (2H, CH=CH), 7,28 (1H, dd, CH=CH₂)

(17) Synthèse de l'elaïdate de vinyle à partir de l'acide elaïdique

Conversion : 83% - Rendement : 77% - Aspect : huile jaunâtre - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (*d*6-DMSO, 400 MHz, δ (ppm)) 0,88 (3H, t, CH₃), 1,20-1,30 (18H, massif, chaîne alkyle -CH₂-), 1,65 (2H, quin, CH₂-CH₂-CO), 1,96 (4H, m, CH₂-CH=CH) 2,38 (2H, t, CH₂-CO), 4,56 (1H, dd, CH₂=CH), 4,86 (1H, dd, CH₂=CH), 5,38 (2H, m, CH=CH), 7,29 (1H, dd, CH=CH₂)

(18) Synthèse du linoléate de vinyle à partir de l'acide linoléique

Conversion : <5% - Rendement : Non isolé - Aspect : huile jaunâtre - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (*d*6-DMSO, 400 MHz, δ (ppm)) 0,89 (3H, t, CH₃), 1,19-1,36 (14H, massif, chaîne alkyle -CH₂-), 1,66 (2H, quin, CH₂-CH₂-CO), 2,04 (4H, m, CH₂-CH=CH), 2,38 (2H, t, CH₂-CO), 2,77 (2H, t, CH=CH₂=CH), 4,56 (1H, dd, CH₂=CH), 4,86 (1H, dd, CH₂=CH), 5,36 (4H, m, CH=CH), 7,28 (1H, dd, CH=CH₂)

(19) Synthèse du linoléïdate de vinyle à partir de l'acide linoléïdique

Conversion : 74% - Rendement : Non isolé - Aspect : huile jaunâtre - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (*d*6-DMSO, 400 MHz, δ (ppm)) 0,88 (3H, t, CH₃), 1,19-1,39 (14H, massif, chaîne alkyle -CH₂-), 1,65 (2H, quin, CH₂-CH₂-CO), 1,99 (4H, m, CH₂-CH=CH), 2,38 (2H, t, CH₂-CO), 2,67 (2H, t, CH=CH₂=CH), 4,56 (1H, dd, CH₂=CH), 4,86 (1H, dd, CH₂=CH), 5,40 (4H, m, CH=CH), 7,28 (1H, dd, CH=CH₂)

(20) Synthèse du 6SVU à partir du 6SAU

Conversion : NC - Rendement : 57% - Aspect : huile jaunâtre - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (CDCl₃, 400 MHz, δ (ppm)) 0,85 (6H, t, CH₃), 1,14-1,35 (12H, massif, -CH₂-), 1,48 (4H, m, (CH₂)₂-CH-O), 2,66 (4H, m, OC-CH₂-CH₂-CO) 4,55 et 4,86 (2H, dd, CH₂=CH), 4,86 (1H, CH-O), 7,25 (1H, dd, CH₂=CH).

(21) Synthèse du 6MVU à partir du 6MAU

Conversion : 60% - Rendement : 30% - Aspect : huile jaunâtre - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (CDCl₃, 400 MHz, δ (ppm)) 0,86 (6H, t, CH₃), 1,17-1,37 (12H, massif, -CH₂-), 1,55 (4H, m, (CH₂)₂-CH-O), 4,64 et 4,95 (2H, dd, CH₂=CH), 4,96 (1H, CH-O), 6,25 (2H, dd, CH=CH), 7,31 (1H, dd, CH₂=CH).

(22) Synthèse du MVSV à partir du MASA

Conversion : 100% - Rendement : 55% - Aspect : huile jaunâtre - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (*d*6-DMSO, 400 MHz, δ (ppm)) 0,88 (3H, t, CH₃), 1,19-1,39 (22H, massif, chaîne alkyle -CH₂-), 1,55 (6H, (CH₂)₂-CH-O et CH₂-CH₂-CO), 2,40 (2H, t, CH₂-CO), 4,64 et 4,88 (2H, dd, CH₂=CH-OCO-(CH₂)₁₀), 4,75 et 4,95 (2H, dd, CH₂=CH-OCO-CH=CH-CO cis), 4,80 et 5,05 (2H, dd, CH₂=CH-OCO-CH=CH-CO trans), 4,85 (1H, quin, CH-O-CO), 6,51 (2H, dd, OC-CH=CH-CO cis), 6,80 (2H, dd, OC-CH=CH-CO trans), 7,21 (2H, deux dd, CH₂=CH-OCO-(CH₂)₁₀ et CH₂=CH-OCO-CH=CH-CO cis), 7,30 (1H, dd, CH₂=CH-OCO-CH=CH-CO trans)

(23) Synthèse du MVRV à partir du MARA

Conversion : 100% - Rendement : 55% - Aspect : huile jaunâtre - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (*d6*-DMSO, 400 MHz, δ (ppm)) 0,88 (3H, t, CH₃), 1,19-1,39 (16H, massif, chaîne alkyle -CH₂-), 1,55 (4H, CH₂-CH-O et CH₂-CH₂-CO), 1,95 (2H, m, CH₂-CH=), 2,30 (2H, m, O-CH-CH₂-CH=), 2,40 (2H, t, CH₂-CO), 4,64 et 4,88 (2H, dd, CH₂=CH-OCO-(CH₂)₁₀), 4,75 et 4,95 (2H, dd, CH₂=CH-OCO-CH=CH-CO cis), 4,80 et 5,05 (2H, dd, CH₂=CH-OCO-CH=CH-CO trans), 4,85 (1H, quin, CH-O-CO),), 5,35 (2H, m, -CH=CH) 6,57 (2H, dd, OC-CH=CH-CO cis), 6,81 (2H, dd, OC-CH=CH-CO trans), 7,21 (2H, deux dd, CH₂=CH-OCO-(CH₂)₁₀ et CH₂=CH-OCO-CH=CH-CO cis), 7,30 (1H, dd, CH₂=CH-OCO-CH=CH-CO trans)

1.4.2 Transvinylation catalysée par le diacétate de palladium

Synthèse²

Activation aux micro-ondes : dans un flacon adapté au réacteur à micro-ondes muni d'un barreau aimanté, 1 eq d'acide gras (ou 0,5 eq de diacide) sont dissous dans 16 eqs d'acétate de vinyle. 0,02 eqs de diacétate de palladium et 0,04 eqs d'hydroxyde de potassium sont ajoutés et le milieu réactionnel est chauffé à 60°C au réacteur à microondes pendant 30 minutes. 0,02 eqs de diacétate de palladium et 0,04 eqs d'hydroxyde de potassium supplémentaires sont rajoutés et la réaction est poursuivie à 60°C pendant 30 minutes supplémentaires.

Réaction dans un bain d'huile : dans un flacon adapté au réacteur à micro-ondes muni d'un barreau aimanté, 1 eq d'acide gras (ou 0,5 eq de diacide) sont dissous dans 16 eqs d'acétate de vinyle. 0,02 eqs de diacétate de palladium et 0,04 eqs d'hydroxyde de potassium sont ajoutés et le milieu réactionnel est chauffé à 60°C pendant 16 heures grâce à une plaque chauffante équipée d'un bain d'huile. 0,02 eqs de diacétate de palladium et 0,04 eqs d'hydroxyde de potassium supplémentaires sont rajoutés et la réaction est poursuivie à 60°C pendant 16 heures supplémentaires.

Purification

Après 24 heures, le milieu réactionnel est concentré à l'évaporateur rotatif et purifié par chromatographie flash avec un mélange cyclohexane/acétate d'éthyle comme phase éluante (gradient d'élution : 3% à 10% d'acétate d'éthyle)

Liste des produits synthétisés

(24) Synthèse du HSV à partir du 12HSA

Conversion : 100% - Rendement : 95% - Aspect : cire jaunâtre - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (*d6*-DMSO, 400 MHz, δ (ppm)) 0,88 (3H, t, CH₃), 1,19-1,39 (24H, massif, chaîne alkyle -CH₂-), 1,55 (2H, quin, CH₂-CH₂-CO), 2,40 (2H, t, CH₂-CO), 3,35 (1H, quin, CH-OH), 4,20 (1H, d, OH), 4,65 et 4,80 (2H, dd, CH₂=CH), 7,20 (1H, dd, CH₂=CH)

² Cas de la transvinylation de l'acide ricinoléique : ajout de 0,05eqs de diacétate de palladium et 0,1 eqs d'hydroxyde de potassium puis rajout de 0,01eqs de diacétate de palladium et 0,02eqs d'hydroxyde de potassium après 30 minutes de réaction

(25) Synthèse du RV à partir de l'acide ricinoléique

Conversion : 90%, deux sous-produits - Rendement : 53% - Aspect : huile jaunâtre - Instable, se dégrade avec le temps. A stocker à 4°C et à utiliser rapidement

RMN ¹H : (*d6*-DMSO, 400 MHz, δ (ppm)) 0,88 (3H, t, CH₃), 1,19-1,39 (20H, massif, chaîne alkyle -CH₂-), 1,55 (2H, quin, CH₂-CH₂-CO), 1,95 (2H, m, CH₂-CH=), 2,05 (2H, m, HO-CH-CH₂-CH=), 2,40 (2H, t, CH₂-CO), 3,35 (1H, quin, CH-OH), 4,32 (1H, d, OH), 4,65 et 4,80 (2H, dd, CH₂=CH), 5,35 (2H, m, -CH=CH-), 7,20 (1H, dd, CH₂=CH).

(26) Synthèse du SVSV à partir du SASA

Conversion : 100% - Rendement : 92% - Aspect : huile jaunâtre - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (*d6*-DMSO, 400 MHz, δ (ppm)) 0,88 (3H, t, CH₃), 1,19-1,39 (22H, massif, chaîne alkyle -CH₂-), 1,45 (4H, (CH₂)₂-CH-O), 1,55 (2H, quin, CH₂-CH₂-CO), 2,40 (2H, t, CH₂-CO), 2,6 et 2,7 (4H, m, OC-CH₂-CH₂-CO), 4,64 et 4,88 (2H, dd, CH₂=CH-OCO-(CH₂)₁₀), 4,66 et 4,91 (2H, dd, CH₂=CH-OCO-(CH₂)₂-CO), 4,70 (1H, quin, CH-O-CO), 7,21 (2H, deux dd, CH₂=CH-OCO-(CH₂)₁₀ et CH₂=CH-OCO-(CH₂)₂-CO).

(27) Synthèse du SVRV à partir du SARA

Conversion : 100% - Rendement : 92% - Aspect : huile jaunâtre - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (*d6*-DMSO, 400 MHz, δ (ppm)) 0,88 (3H, t, CH₃), 1,17-1,39 (16H, massif, chaîne alkyle -CH₂-), 1,45 (2H, massif, CH₂-CH-O), 1,60 (2H, quin, CH₂-CH₂-CO), 2,00 (2H, m, CH₂-CH=), 2,30 (=CH-CH₂-CH-O), 2,40 (2H, t, CH₂-CO), 2,60 et 2,70 (4H, massif, OC-CH₂-CH₂-CO), 4,64 et 4,88 (2H, dd, CH₂=CH-OCO-(CH₂)₁₀), 4,66 et 4,91 (2H, dd, CH₂=CH-OCO-(CH₂)₂-CO), 4,77 (1H, quin, CH-O-CO), 5,35 (1H, dt, CH=CH), 5,45 (1H, dt, CH=CH), 7,21 (2H, deux dd, CH₂=CH-OCO-(CH₂)₁₀ et CH₂=CH-OCO-(CH₂)₂-CO).

(28) Synthèse du SVEMSV à partir du SAEMSA

Conversion : 100% - Rendement : 90% - Aspect : huile jaunâtre - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (CDCl₃, 400 MHz, δ (ppm)) 0,86 (3H, t, CH₃), 1,17-1,43 (22H, massif, -CH₂- chaîne alkyle), 1,50 (4H, m, (CH₂)₂-CH-S), 1,62 (2H, quin, CH₂-CH₂-CO), 2,36 (2H, t, CH₂-CO), 2,58 (1H, quin, CH-S), 2,62-2,75 (6H, m, S-CH₂-CH₂-O et OC-CH₂-CH₂-CO), 4,20 (2H, t, S-CH₂-CH₂-O), 4,54 et 4,84 (2H, dd, CH₂=CH-OCO-(CH₂)₁₀), 4,57 et 4,89 (2H, dd, CH₂=CH-OCO-(CH₂)₂-CO), 7,27 (2H, deux dd, CH₂=CH-OCO-(CH₂)₁₀ et CH₂=CH-OCO-(CH₂)₂-CO).

1.5 Procédure générale de carbamation par un isocyanate

1.5.1 Carbamation d'un alcool secondaire (procédure générale)

Synthèse

Dans un ballon de contenance 100mL muni d'un barreau aimanté, 1 eq du réactif à fonctionnaliser est dissous dans du toluène à la concentration de 100mg/mL. La solution est portée à 40°C et 1,2eqs d'isocyanate sont ajoutés. Le milieu réactionnel est agité pendant 24 heures à 40°C.

Purification

Carbamation par le méthastyrène d'isocyanoisopropyle (IIPMS): Après 24 heures, le milieu réactionnel est concentré à l'évaporateur rotatif et purifié par chromatographie flash sur colonne de silice avec une phase éluante composée de cyclohexane et d'acétate d'éthyle. Un premier plateau d'élution à 1% d'acétate d'éthyle permet d'éliminer l'IIPMS, puis un gradient d'élution de 1% à 10% d'acétate d'éthyle est appliqué afin de récupérer l'uréthane pur.

Carbamation par le méthacrylate d'isocynoéthyle (IEMA): Après 24 heures, le milieu réactionnel est séparé en fractions de 10 mL qui sont concentrées séparément à l'évaporateur rotatif afin d'éliminer un maximum de toluène. Les fractions de mélange séparées obtenues peuvent alors être réunies et purifiées immédiatement; dans le cas contraire, les différentes fractions encore dissoutes dans un minimum de toluène sont stockées séparément à -20°C dans des piluliers de verre fermés. Les fractions sont purifiées ensemble par chromatographie flash sur colonne de silice avec une phase éluante composée de cyclohexane et d'acétate d'éthyle. Un gradient d'élution de 3% à 10% d'acétate d'éthyle est appliqué. Les fractions récupérées correspondant à l'uréthane sont analysées par RMN afin d'identifier celles contenant des traces d'isocyanate résiduel. Ces dernières sont éliminées et seules les fractions d'uréthane pur à 100% sont concentrées à l'évaporateur rotatif. Ces précautions permettent d'éviter la formation de gels.

Liste des produits synthétisés

(29) Synthèse du MASV à partir du HSV et d'IEMA

Conversion : 100% - Rendement : 67% - Aspect : cire blanche - Hautement instable avant purification, stocker à -20°C en présence de solvant. Stable à température ambiante après purification

RMN ¹H : (d6-DMSO, 400 MHz, δ(ppm)) 0,88 (3H, t, CH₃), 1,19-1,39 (20H, massif, chaîne alkyle -CH₂-), 1,45 (4H, m, (CH₂)₂-CH-O), 1,55 (2H, quin, CH₂-CH₂-CO), 1,80 (3H, s, CH₃-C(CO)=), 2,40 (2H, t, CH₂-CO), 3,25 (2H, q, CH₂-NH), 4,05 (2H, t, CH₂-CH₂-OCO), 4,60 (1H, quin, CH-O-CO), 4,65 et 4,80 (2H, dd, CH₂=CH), 5,70 et 6,1 (2H, deux dd, CH₂=C(CO)-CH₃), 7,15 (1H, t, NH), 7,20 (1H, dd, CH₂=CH).

(30) Synthèse du MARV à partir du RV et d'IEMA

Conversion : 100% - Rendement : 67% - Aspect : huile légèrement jaunâtre - Stabilité : NC
RMN ¹H : (d6-DMSO, 400 MHz, δ(ppm)) 0,88 (3H, t, CH₃), 1,19-1,39 (18H, massif, chaîne alkyle -CH₂-), 1,45 (2H, m, (CH₂-CH-O), 1,55 (2H, quin, CH₂-CH₂-CO), 1,80 (3H, s, CH₃-C(CO)=), 1,95 (2H, m, CH₂-CH=), 2,05 (2H, m, O-CH-CH₂-CH=), 2,40 (2H, t, CH₂-CO), 3,25 (2H, q, CH₂-NH), 4,05 (2H, t, CH₂-CH₂-OCO), 4,60 (1H, quin, CH-O-CO), 4,65 et 4,80 (2H, dd, CH₂=CH), 5,35 (2H, m, -CH=CH-), 5,70 et 6,1 (2H, deux dd, CH₂=C(CO)-CH₃), 7,15 (1H, t, NH), 7,20 (1H, dd, CH₂=CH).

(31) Synthèse du MASM à partir du 12HSM et d'IEMA

Conversion : 100% - Rendement : 71% - Aspect : cire blanche - Stable à température ambiante
RMN ¹H : (CDCl₃, 400 MHz, δ(ppm)) 0,85 (3H, t, CH₃), 1,18-1,35 (22H, massif, -CH₂- chaîne alkyle), 1,47 (4H, m, (CH₂)₂-CH-O), 1,59 (2H, quin, CH₂-CH₂-CO), 1,90 (3H, s, CH₃-C(CO)=), 2,28 (2H, t, CH₂-CO), 3,47 (2H, dt, CH₂-NH), 3,64 (3H, s, OCH₃), 4,21 (2H, t, CH₂-CH₂-OCO), 4,71 (1H, quin, CH-O), 4,81 (1H, m, NH), 5,57 et 6,10 (2H, deux dd, CH₂=C(CO)-CH₃).

(32) Synthèse du MSSV à partir du HSV et d'IIPMS

Conversion : 100% - Rendement : 67% - Aspect : huile très visqueuse - Stable à température ambiante
RMN ¹H : (d6-DMSO, 400 MHz, δ(ppm)) 0,88 (3H, t, CH₃), 1,19-1,39 (20H, massif, chaîne alkyle -CH₂-), 1,45 (4H, m, (CH₂)₂-CH-O), 1,50 (6H, s, (CH₃)₂-C-NH), 1,55 (2H, quin, CH₂-CH₂-CO), 2,10 (3H, s, CH₃-C=CH₂), 2,40 (2H, t, CH₂-CO), 4,45 (1H, quin, CH-O-CO), 4,65 et 4,80 (2H, dd, CH₂=CH), 5,05 et 5,30 (2H, CH₂=C-CH₃), 7,20 (1H, dd, CH₂=CH), 7,25 et 7,45 (4H, m, H aromatiques), 7,27 (1H, s, NH).

(33) Synthèse du MSRV à partir du RV et d'IIPMS

Conversion : 100% - Rendement : 67% - Aspect : huile très visqueuse - Stable à température ambiante
RMN ¹H : (d6-DMSO, 400 MHz, δ(ppm)) 0,88 (3H, t, CH₃), 1,19-1,39 (18H, massif, chaîne alkyle -CH₂-), 1,40-1,55 (10H, massif, CH₂-CH-OCO, (CH₃)₂-C-NH, et CH₂-CH₂-CO), 1,95 (2H, m, CH₂-CH=), 2,10 (3H, s, CH₃-C=CH₂), 2,20 (2H, m, OC-O-CH-CH₂-CH=), 2,40 (2H, t, CH₂-CO), 4,50 (1H, quin, CH-O-CO), 4,65 et 4,80 (2H, dd, CH₂=CH),), 5,05 et 5,30 (2H, CH₂=C-CH₃), 5,35 (2H, m, -CH=CH-), 7,20 (1H, dd, CH₂=CH), 7,25 et 7,45 (4H, m, H aromatiques), 7,27 (1H, s, NH)

1.5.2 Cas particulier de la carbamation de l'éthanol

Synthèse

1eq d'IEMA est dissous dans 20eqs d'éthanol absolu dans un ballon muni d'un barreau aimanté. Le milieu réactionnel est agité pendant 16 heures à température ambiante.

Purification

A la fin de la réaction l'éthanol en excès est éliminé à l'évaporateur rotatif.

Liste des produits synthétisés

(34) Synthèse du MAE à partir d'éthanol absolu et d'HEMA

Conversion : 100% - Rendement : 100% - Aspect : solide blanc - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (CDCl₃, 400 MHz, δ(ppm)) 1,22 (3H, t, CH₃-CH₂-O), 1,92 (3H, s, CH₃-C(CO)=CH₂), 3,47 (2H, quadruplet, HN-CH₂-CH₂-O), 4,10 (2H, quadruplet, CH₃-CH₂-O), 4,20 (2H, t, HN-CH₂-CH₂-O), 4,90 (1H, m, NH), 5,57 et 6,10 (2H, deux dd, CH₂=C(CO)-CH₃).

1.6 Procédure générale de synthèse enzymatique de glycolipides saturés

1.6.1 Synthèse de glycolipides à partir de donneurs d'acyle non fonctionnalisés

Synthèse

Dans un Schlenk préalablement flammé trois fois sous vide dynamique, sous balayage d'argon, sont introduits 0,9 mmol (1eq) de donneur d'acyle et 0,9 mmol (1eq) de saccharide (pour les dissacharides : 0,45 mmol, 0,5 eqs). 10 mL de solvant³ sont alors ajoutés sous balayage d'argon. La réaction est démarrée en introduisant 20 mg de lipase de *Candida antarctica* B de Sigma Aldrich⁴ et est laissée sous agitation magnétique (250 rpm) à 45°C pendant 72 heures.

Purification

A la fin de la réaction, le milieu réactionnel est concentré à l'évaporateur rotatif. Du THF est ajouté et le mélange est filtré afin d'éliminer la lipase et le glucose en excès. Le filtrat est évaporé et lavé une première fois par de l'eau distillée pour éliminer les traces résiduelles de glucose puis trois fois consécutives par de l'acétone afin d'éliminer les acides gras non consommés et les traces d'eau du lavage précédent.

Liste des produits synthétisés

(35) Synthèse du palmitate de 6-O-glucose

Conversion : 100% - Rendement : 90% - Aspect : cire blanche - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (d₆-DMSO, 400 MHz, δ(ppm)) 0,88 (3H, t, CH₃), 1,14-1,34 (24H, massif, chaîne alkyle -CH₂-), 1,54 (2H, quin, CH₂-CH₂-CO), 2,26 (2H, t, CH₂-CO), 3,04 (1H, m, H₄), 3,10 (1H, m, H₂), 3,42 (1H, m, H₃), 3,76 (1H, m, H₅), 3,99 (1H, m, H_{6a}), 4,26 (1H, m, H_{6b}), 4,50 (1H, d, OH₃) 4,73 (1H, d, OH₂), 4,90 (1H, t, H₁), 5,01 (1H, d, OH_{4β}), 6,33 (1H, d, OH_{1β})

³ Se référer au manuscrit

⁴ La quantité de CALB introduite lors des synthèses de glycolipides à partir de tréhalose a été amenée à varier. Se référer aux valeurs citées dans le manuscrit. (Chapitre 2)

(36) Synthèse du butyrate de 6-O-glucose

Conversion : 81% - Rendement : Non isolé - Aspect : cire blanche - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (*d6*-DMSO, 400 MHz, δ (ppm)) 0,88 (3H, t, CH₃), 1,54 (2H, quin, CH₂-CH₂-CO), 2,26 (2H, t, CH₂-CO), 3,04 (1H, m, H₄), 3,10 (1H, m, H₂), 3,42 (1H, m, H₃), 3,76 (1H, m, H₅), 3,99 (1H, m, H_{6a}), 4,26 (1H, m, H_{6b}), 4,50 (1H, d, OH₃) 4,73 (1H, d, OH₂), 4,90 (1H, t, H₁), 5,01 (1H, d, OH₄ β), 6,33 (1H, d, OH₁ β)

(37) Synthèse de l'hexanoate de 6-O-glucose

Conversion : 83% - Rendement : Non isolé - Aspect : cire blanche - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (*d6*-DMSO, 400 MHz, δ (ppm)) 0,88 (3H, t, CH₃), 1,14-1,34 (4H, massif, chaîne alkyle -CH₂-), 1,54 (2H, quin, CH₂-CH₂-CO), 2,26 (2H, t, CH₂-CO), 3,04 (1H, m, H₄), 3,10 (1H, m, H₂), 3,42 (1H, m, H₃), 3,76 (1H, m, H₅), 3,99 (1H, m, H_{6a}), 4,26 (1H, m, H_{6b}), 4,50 (1H, d, OH₃) 4,73 (1H, d, OH₂), 4,90 (1H, t, H₁), 5,01 (1H, d, OH₄ β), 6,33 (1H, d, OH₁ β)

(38) Synthèse du octanoate de 6-O-glucose

Conversion : 55% - Rendement : Non isolé - Aspect : cire blanche - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (*d6*-DMSO, 400 MHz, δ (ppm)) 0,88 (3H, t, CH₃), 1,14-1,34 (8H, massif, chaîne alkyle -CH₂-), 1,54 (2H, quin, CH₂-CH₂-CO), 2,26 (2H, t, CH₂-CO), 3,04 (1H, m, H₄), 3,10 (1H, m, H₂), 3,42 (1H, m, H₃), 3,76 (1H, m, H₅), 3,99 (1H, m, H_{6a}), 4,26 (1H, m, H_{6b}), 4,50 (1H, d, OH₃) 4,73 (1H, d, OH₂), 4,90 (1H, t, H₁), 5,01 (1H, d, OH₄ β), 6,33 (1H, d, OH₁ β)

(39) Synthèse du décanoate de 6-O-glucose

Conversion : 42% - Rendement : NC - Aspect : cire blanche - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (*d6*-DMSO, 400 MHz, δ (ppm)) 0,88 (3H, t, CH₃), 1,14-1,34 (12H, massif, chaîne alkyle -CH₂-), 1,54 (2H, quin, CH₂-CH₂-CO), 2,26 (2H, t, CH₂-CO), 3,04 (1H, m, H₄), 3,10 (1H, m, H₂), 3,42 (1H, m, H₃), 3,76 (1H, m, H₅), 3,99 (1H, m, H_{6a}), 4,26 (1H, m, H_{6b}), 4,50 (1H, d, OH₃) 4,73 (1H, d, OH₂), 4,90 (1H, t, H₁), 5,01 (1H, d, OH₄ β), 6,33 (1H, d, OH₁ β)

(40) Synthèse du laurate de 6-O-glucose

Conversion : 75% - Rendement : 67% - Aspect : cire blanche - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (*d6*-DMSO, 400 MHz, δ (ppm)) 0,88 (3H, t, CH₃), 1,14-1,34 (16H, massif, chaîne alkyle -CH₂-), 1,54 (2H, quin, CH₂-CH₂-CO), 2,26 (2H, t, CH₂-CO), 3,04 (1H, m, H₄), 3,10 (1H, m, H₂), 3,42 (1H, m, H₃), 3,76 (1H, m, H₅), 3,99 (1H, m, H_{6a}), 4,26 (1H, m, H_{6b}), 4,50 (1H, d, OH₃) 4,73 (1H, d, OH₂), 4,90 (1H, t, H₁), 5,01 (1H, d, OH₄ β), 6,33 (1H, d, OH₁ β)

(41) Synthèse du myristate de 6-O-glucose

Conversion : 100% - Rendement : 90% - Aspect : cire blanche - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (*d*6-DMSO, 400 MHz, δ (ppm)) 0,88 (3H, t, CH₃), 1,14-1,34 (18H, massif, chaîne alkyle -CH₂-), 1,54 (2H, quin, CH₂-CH₂-CO), 2,26 (2H, t, CH₂-CO), 3,04 (1H, m, H4), 3,10 (1H, m, H2), 3,42 (1H, m, H3), 3,76 (1H, m, H5), 3,99 (1H, m, H6a), 4,26 (1H, m, H6b), 4,50 (1H, d, OH3) 4,73 (1H, d, OH2), 4,90 (1H, t, H1), 5,01 (1H, d, OH4 β), 6,33 (1H, d, OH1 β)

(42) Synthèse du stéarate de 6-O-glucose

Conversion : 100% - Rendement : 90% - Aspect : cire blanche - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (*d*6-DMSO, 400 MHz, δ (ppm)) 0,88 (3H, t, CH₃), 1,14-1,34 (28H, massif, chaîne alkyle -CH₂-), 1,54 (2H, quin, CH₂-CH₂-CO), 2,26 (2H, t, CH₂-CO), 3,04 (1H, m, H4), 3,10 (1H, m, H2), 3,42 (1H, m, H3), 3,76 (1H, m, H5), 3,99 (1H, m, H6a), 4,26 (1H, m, H6b), 4,50 (1H, d, OH3) 4,73 (1H, d, OH2), 4,90 (1H, t, H1), 5,01 (1H, d, OH4 β), 6,33 (1H, d, OH1 β)

(43) Synthèse de l'oléate de 6-O-glucose

Conversion : 47% - Rendement : Non isolé

RMN ¹H : (*d*6-DMSO, 400 MHz, δ (ppm)) 0,85, (3H, t, CH₃), 1,13-1,36 (20H, massif, -CH₂- chaîne alkyle), 1,49 (2H, quin, CH₂-CH₂-CO), 1,97 (4H, m, CH₂-CH=CH-CH₂), 2,27 (2H, t, CH₂-CO), 3,04 (1H, m, H4), 3,10 (1H, m, H2), 3,42 (1H, m, H3), 3,76 (1H, m, H5), 3,99 (1H, m, H6a), 4,26 (1H, m, H6b), 4,50 (1H, d, OH3),) 4,73 (1H, d, OH2), 4,90 (1H, t, H1), 5,01 et 5,07 (1H, deux d, OH4 β et OH4 α), 5,32 (2H, m, CH=CH), 6,33 et 6,65 (1H, deux d, OH1 β et OH1 α).

(44) Synthèse de l'élaïdate de 6-O-glucose

Conversion : 83% - Rendement : Non isolé

RMN ¹H : (*d*6-DMSO, 400 MHz, δ (ppm)) 0,86 (3H, t, CH₃), 1,13-1,37 (20H, massif, -CH₂- chaîne alkyle), 1,50 (2H, quin, CH₂-CH₂-CO), 1,94 (4H, m, CH₂-CH=CH-CH₂), 2,28 (2H, t, CH₂-CO), 3,04 (1H, m, H4), 3,10 (1H, m, H2), 3,42 (1H, m, H3), 3,76 (1H, m, H5), 3,99 (1H, m, H6a), 4,26 (1H, m, H6b), 4,50 (1H, d, OH3),) 4,73 (1H, d, OH2), 4,90 (1H, t, H1), 5,01 et 5,07 (1H, deux d, OH4 β et OH4 α), 5,36 (2H, m, CH=CH), 6,33 et 6,65 (1H, deux d, OH1 β et OH1 α).

(45) Synthèse du linoléate de 6-O-glucose

Conversion : <5% - Rendement : Non isolé

RMN ¹H : NC (conversions trop faibles)

(46) Synthèse du linoléïdate de 6-O-glucose

Conversion : 70% - Rendement : Non isolé

RMN ¹H : (*d*6-DMSO, 400 MHz, δ (ppm)) 0,88 (3H, t, CH₃), 1,13-1,39 (14H, massif, -CH₂- chaîne alkyle), 1,50 (2H, quin, CH₂-CH₂-CO), 1,96 (4H, m, CH₂-CH=CH), 2,28 (2H, t, CH₂-CO), 2,64 (2H, t, CH=CH₂=CH), 3,04 (1H, m, H₄), 3,10 (1H, m, H₂), 3,42 (1H, m, H₃), 3,76 (1H, m, H₅), 3,99 (1H, m, H_{6a}), 4,26 (1H, m, H_{6b}), 4,50 (1H, d, OH₃),) 4,73 (1H, d, OH₂), 4,90 (1H, t, H₁), 5,01 (1H, d, OH₄ β), 5,40 (4H, m, CH=CH), 6,33 et 6,65 (1H, deux d, OH₁ β et OH₁ α).

(47) Synthèse du 6SGU à partir du 6SVU

Conversion : 9% - Rendement : Non isolé

RMN ¹H : NC (conversions trop faibles)

(48) Synthèse du 6MGU à partir du 6MVU

Conversion : 5% - Rendement : Non isolé

RMN ¹H : NC (conversions trop faibles)

(49) Synthèse du palmitate de 6-O-galactose

Conversion : 48% - Rendement : Non isolé

RMN ¹H : Attribution non effectuée

(50) Synthèse du palmitate de 6-O-mannose

Conversion : 100% - Rendement : Non isolé

RMN ¹H : (*d*6-DMSO, 400 MHz, δ (ppm)) 0,86 (3H, t, CH₃), 1,16-1,34 (24H, -CH₂- chaîne alkyle), 1,51 (2H, quin, CH₂-CH₂-CO), 2,27 (2H, t, CH₂-CO), 3,38 (1H, m, H₄), 3,55 (2H, m, H₂ et H₃), 3,70 (1H, m, H₅), 4,00 (1H, m, H_{6a}), 4,29 (1H, m, H_{6b}), 4,53 (1H, m, OH₂ ou OH₃), 4,58 (1H, m, OH₂ ou OH₃), 4,85 (2H, m, H₁ et OH₄), 6,34 (1H, m, OH₁).

(51) Synthèse du palmitate de 6-O-xylose

Conversion : 92% - Rendement : Non isolé

RMN ¹H : Attribution non effectuée

(52) Synthèse du palmitate de 6-O-tréhalose

Conversion : 80% - Rendement : Non isolé

RMN ¹H : (*d*6-DMSO, 400 MHz, δ (ppm)) 0,85 (6H, t, CH₃), 1,18-1,30 (48H, massif, -CH₂- chaîne alkyle), 1,50 (4H, quin, CH₂-CH₂-CO), 2,26 (4H, t, CH₂-CO), 3,12 (2H, m, H₄), 3,25, (2H, m, H₂) 3,54 (2H, m, H₃), 3,88 (2H, m, H₅), 4,03 (2H, m, H_{6a}), 4,23 (2H, m, H_{6b}), 4,75 (2H, d, OH₂), 4,82 (2H, d, OH₃), 4,88 (2H, d, H₁), 5,05 (2H, d, OH₄).

(53) Synthèse du palmitate de 6-O-saccharose

Aucune conversion

1.6.2 Synthèse des monomères glycolipidiquesSynthèse

Dans un Schlenk préalablement flammé trois fois sous vide dynamique, sous balayage d'argon, sont introduits 15 mmol (1eq) de donneur d'acyle et 30 mmol (2eq) de glucose. 167 mL d'acétonitrile anhydre sont alors ajoutés sous balayage d'argon. La réaction est démarrée en introduisant 334 mg de lipase de *Candida antarctica* B de Sigma Aldrich, et est laissée tourner sous agitation magnétique (250 rpm) à 60°C pendant 72 heures.

Purification

A la fin de la réaction, le milieu réactionnel est concentré à l'évaporateur rotatif. Du dichlorométhane est ajouté et le mélange est filtré afin d'éliminer la lipase et le glucose en excès. Le filtrat est évaporé et le glycolipide est purifié par chromatographie flash sur colonne de silice avec une phase éluante composée de A : dichlorométhane/acétate d'éthyle 1/1 v/v et B : méthanol : Une première élution est réalisée avec un mélange A/B 99/1 v/v afin d'éliminer les acides gras résiduels, suivie par une élution avec un mélange A/B 70/30 pour récupérer le glycolipide synthétisé.

Liste des produits synthétisés**(54) Synthèse du SVSG à partir du SVSV**

Conversion : >95% - Rendement : 60-70% - Aspect : cire jaune extrêmement collante qui fige après quelques mois - Stable à température ambiante

RMN ¹H : DMSO 0,88 (3H, t, CH₃), 1,19-1,39 (22H, massif, chaîne alkyle -CH₂-), 1,45 (6H, m, (CH₂)₂-CH-O et CH₂-CH₂-CO), 2,26 (2H, t, CH₂-CO), 2,6 et 2,7 (4H, m, OC-CH₂-CH₂-CO), 3,05 (1H, m, H₄), 3,15 (1H, m, H₂), 3,40 (1H, m, H₃), 3,76 (1H, m, H₅), 3,95 (1H, m, H_{6a}), 4,28 (1H, m, H_{6b}), 4,51 (1H, d, OH₃), 4,66 et 4,91 (2H, dd, CH₂=CH-OCO-(CH₂)₂-CO), 4,74 (1H, d, OH₂), 4,78 (1H, quin, CH-O-CO), 4,90 (1H, t, H₁), 5,02 et 5,08 (1H, deux d, OH_{4α} et OH_{4β}), 6,30 et 6,65 (1H, deux d, OH_{1α} et OH_{1β}), 7,20 (1H, dd, CH₂=CH-OCO-(CH₂)₂-CO)

(55) Synthèse du SVRG à partir du SVRV

Conversion : >95% - Rendement : 60-70% - Aspect : cire jaune extrêmement collante qui fige après quelques mois - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (d₆-DMSO, 400 MHz, δ(ppm)) 0,88 (3H, t, CH₃), 1,17-1,39 (16H, massif, chaîne alkyle -CH₂-), 1,45 (4H, massif, CH₂-CH-O et CH₂-CH₂-CO), 2,00 (2H, m, CH₂-CH=), 2,30 (4H, m, =CH-CH₂-CH-O et CH₂-CO), 2,60 et 2,70 (4H, massif, OC-CH₂-CH₂-CO), 3,05 (1H, m, H₄), 3,15 (1H, m, H₂), 3,40 (1H, m, H₃), 3,76 (1H, m, H₅), 3,95 (1H, m, H_{6a}), 4,28 (1H, m, H_{6b}), 4,51 (1H, d, OH₃), 4,66 et 4,91 (2H, dd, CH₂=CH-OCO-

(CH₂)₂-CO), 4,75 (2H, m, OH₂ et CH-O-CO), 4,90 (1H, t, H₁), 5,02 et 5,08 (1H, deux d, OH_{4α} et OH_{4β}), 5,35 (1H, dt, CH=CH), 5,45 (1H, dt, CH=CH), 6,30 et 6,65 (1H, deux d, OH_{1α} et OH_{1β}), 7,21 (1H, CH₂=CH-OCO-(CH₂)₂-CO).

(56) Synthèse du MVSG à partir du MVSV

Conversion : >95% - Rendement : 60-70% - Aspect : cire jaune extrêmement collante - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (d₆-DMSO, 400 MHz, δ(ppm)) 0,85 (3H, t, CH₃), 1,19-1,30 (22H, massif, chaîne alkyle -CH₂-), 1,50 (6H, (CH₂)₂-CH-O et CH₂-CH₂-CO), 2,26 (2H, t, CH₂-CO), 3,05 (1H, m, H₄), 3,15 (1H, m, H₂), 3,40 (1H, m, H₃), 3,76 (1H, m, H₅), 3,95 (1H, m, H_{6a}), 4,28 (1H, m, H_{6b}), 4,51 (1H, d, OH₃), 4,76 et 4,93 (2H, dd, CH₂=CH-OCO-CH=CH-CO cis), 4,80 et 5,05 (2H, dd, CH₂=CH-OCO-CH=CH-CO trans), 4,85 (1H, quin, CH-O-CO), 4,88 (1H, d, OH₂), 4,90 (1H, t, H₁), 5,02 et 5,08 (1H, deux d, OH_{4α} et OH_{4β}), 6,34 et 6,64 (1H, deux d, OH_{1α} et OH_{1β}), 6,55 (2H, dd, OC-CH=CH-CO cis), 6,85 (2H, dd, OC-CH=CH-CO trans), 7,21 (1H, dd, CH₂=CH-OCO-CH=CH-CO cis), 7,30 (1H, dd, CH₂=CH-OCO-CH=CH-CO trans)

(57) Synthèse du MVRG à partir du MVRV

Conversion : >95% - Rendement : 60-70% - Aspect : cire jaune extrêmement collante - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (d₆-DMSO, 400 MHz, δ(ppm)) 0,88 (3H, t, CH₃), 1,19-1,39 (16H, massif, chaîne alkyle -CH₂-), 1,55 (4H, CH₂-CH-O et CH₂-CH₂-CO), 1,95 (2H, m, CH₂-CH=), 2,30 (2H, m, O-CH-CH₂-CH=), 2,40 (2H, t, CH₂-CO), 3,05 (1H, m, H₄), 3,15 (1H, m, H₂), 3,40 (1H, m, H₃), 3,76 (1H, m, H₅), 3,95 (1H, m, H_{6a}), 4,28 (1H, m, H_{6b}), 4,51 (1H, d, OH₃), 4,76 et 4,93 (2H, dd, CH₂=CH-OCO-CH=CH-CO cis), 4,80 et 5,05 (2H, dd, CH₂=CH-OCO-CH=CH-CO trans), 4,90 (1H, t, H₁), 5,02 et 5,08 (1H, deux d, OH_{4α} et OH_{4β}), 5,35 (2H, m, -CH=CH-), 6,34 et 6,64 (1H, deux d, OH_{1α} et OH_{1β}), 6,55 (2H, dd, OC-CH=CH-CO cis), 6,85 (2H, dd, OC-CH=CH-CO trans), 7,21 (1H, dd, CH₂=CH-OCO-CH=CH-CO cis), 7,30 (1H, dd, CH₂=CH-OCO-CH=CH-CO trans)

(58) Synthèse du MASG à partir du MASV

Conversion : 94% - Rendement : 60-70% - Aspect : solide blanc cassant - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (d₆-DMSO, 400 MHz, δ(ppm)) 0,88 (3H, t, CH₃), 1,19-1,39 (20H, massif, chaîne alkyle -CH₂-), 1,45 (4H, m, (CH₂)₂-CH-O), 1,55 (2H, quin, CH₂-CH₂-CO), 1,80 (3H, s, CH₃-C(CO)=), 2,26 (2H, t, CH₂-CO), 3,05 (1H, m, H₄), 3,15 (1H, m, H₂), 3,25 (2H, dt, CH₂-NH), 3,40 (1H, m, H₃), 3,76 (1H, m, H₅), 3,95 (1H, m, H_{6a}), 4,05 (2H, t, CH₂-CH₂-OCO), 4,28 (1H, m, H_{6b}), 4,51 (1H, d, OH₃), 4,60 (1H, quin, CH-O-CO), 4,70 (1H, d, OH₂), 4,90 (1H, t, H₁), 5,02 et 5,08 (1H, deux d, OH_{4α} et OH_{4β}), 5,70 et 6,1 (2H, CH₂=C(CO)-CH₃), 6,30 et 6,65 (1H, deux d, OH_{1α} et OH_{1β}), 7,15 (1H, t, NH).

(59) Synthèse du MARG à partir du MARV

Conversion : 90% - Rendement : 60-70% - Aspect : huile jaune extrêmement visqueuse et collante qui durcit après quelques mois - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (*d*6-DMSO, 400 MHz, δ(ppm)) 0,88 (3H, t, CH₃), 1,19-1,39 (18H, massif, chaîne alkyle -CH₂-), 1,45 (4H, massif, CH₂-CH-O et CH₂-CH₂-CO), 1,80 (3H, s, CH₃-C(CO)=), 1,95 (2H, m, CH₂-CH=), 2,05 (2H, m, HO-CH-CH₂-CH=), 2,26 (2H, t, CH₂-CO), 3,05 (1H, m, H₄), 3,15 (1H, m, H₂), 3,25 (2H, dt, CH₂-NH), 3,40 (1H, m, H₃), 3,76 (1H, m, H₅), 3,95 (1H, m, H_{6a}), 4,05 (2H, t, CH₂-CH₂-OCO), 4,28 (1H, m, H_{6b}), 4,51 (1H, d, OH₃), 4,60 (1H, quin, CH-O-CO), 4,70 (1H, d OH₂), 4,90 (1H, t, H₁), 5,02 et 5,08 (1H, deux d, OH_{4α} et OH_{4β}), 5,35 (2H, m, -CH=CH-), 5,70 et 6,1 (2H, CH₂=C(CO)-CH₃), 6,30 et 6,65 (1H, deux d, OH_{1α} et OH_{1β}), 7,15 (1H, t, NH)

(60) Synthèse du MSSG à partir du MSSV

Conversion : 80% - Rendement : 60-70% - Aspect : Cire jaune extrêmement collante - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (*d*6-DMSO, 400 MHz, δ(ppm)) 0,88 (3H, t, CH₃), 1,19-1,39 (20H, massif, chaîne alkyle -CH₂-), 1,45 (4H, m, (CH₂)₂-CH-O), 1,50 (8H, s, (CH₃)₂-C-NH et CH₂-CH₂-CO), 2,10 (3H, s, CH₃-C=CH₂), 2,26 (2H, t, CH₂-CO), 3,05 (1H, m, H₄), 3,15 (1H, m, H₂), 3,40 (1H, m, H₃), 3,76 (1H, m, H₅), 3,95 (1H, m, H_{6a}), 4,28 (1H, m, H_{6b}), 4,50 (1H, quin, CH-O-CO), 4,55 (1H, d, OH₃), 4,70 (1H, d OH₂), 4,90 (1H, t, H₁), 5,02 et 5,08 (1H, deux d, OH_{4α} et OH_{4β}), 5,05 et 5,30 (2H, CH₂=C-CH₃), 6,30 et 6,65 (1H, deux d, OH_{1α} et OH_{1β}), 7,25 et 7,45 (4H, m, H aromatiques), 7,27 (1H, s, NH)

(61) Synthèse du MSRG à partir du MSRV

Conversion : 82% - Rendement : 60-70% - Aspect :

RMN ¹H : (*d*6-DMSO, 400 MHz, δ(ppm)) 0,88 (3H, t, CH₃), 1,19-1,39 (18H, massif, chaîne alkyle -CH₂-), 1,40-1,55 (10H, massif, CH₂-CH-OCO, (CH₃)₂-C-NH, et CH₂-CH₂-CO), 1,95 (2H, m, CH₂-CH=), 2,10 (3H, s, CH₃-C=CH₂), 2,20 (2H, m, OC-O-CH-CH₂-CH=), 2,40 (2H, t, CH₂-CO), 3,05 (1H, m, H₄), 3,15 (1H, m, H₂), 3,40 (1H, m, H₃), 3,76 (1H, m, H₅), 3,95 (1H, m, H_{6a}), 4,28 (1H, m, H_{6b}), 4,50 (1H, quin, CH-O-CO), 4,55 (1H, d, OH₃), 4,70 (1H, d OH₂), 4,90 (1H, t, H₁), 5,02 et 5,08 (1H, deux d, OH_{4α} et OH_{4β}), 5,05 et 5,30 (2H, CH₂=C-CH₃), 5,35 (2H, m, -CH=CH-), 6,30 et 6,65 (1H, deux d, OH_{1α} et OH_{1β}), 7,25 et 7,45 (4H, m, H aromatiques), 7,27 (1H, s, NH).

(62) Synthèse du SVEMSG à partir du SVEMSV

Conversion : >95%, un sous-produit - Rendement : 82% - Aspect : huile jaune extrêmement visqueuse et collante qui durcit après quelques mois - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (DMSO, 400 MHz, δ(ppm)) 0,85 (3H, t, CH₃), 1,17-1,43 (22H, massif, -CH₂- chaîne alkyle), 1,47 (6H, m, (CH₂)₂-CH-S et CH₂-CH₂-CO), 2,28 (2H, t, CH₂-CO), 2,61 (1H, quin, CH-S), 2,64-2,70 (6H, m, S-CH₂-CH₂-O et OC-CH₂-CH₂-CO), 3,03 (1H, m, H₄), 3,15 (1H, m, H₂), 3,40 (1H, m, H₃), 3,77 (1H, m, H₅), 3,95 (1H, m, H_{6a}), 4,11 (2H, t, S-CH₂-CH₂-O), 4,28 (1H, m, H_{6b}), 4,49 (1H, d, OH₃), 4,66 et 4,91 (2H, dd, CH₂=CH-OCO-(CH₂)₂-CO), 4,73 (1H, d, OH₂), 4,89 (1H, t, H₁), 5,02 et 5,09 (1H, deux d, OH_{4α} et OH_{4β}), 6,35 et 6,65 (1H, deux d, OH_{1α} et OH_{1β}), 7,20 (1H, dd, CH₂=CH-OCO-(CH₂)₂-CO).

2. Polymérisations

2.1 Procédure de polymérisation des esters de vinyle (Chapitre 4)

2.1.1 Homopolymérisation

Synthèse

Dans un Schlenk muni d'un barreau aimanté, 2,7 mmol (1eq) de monomère et 0,068 mmol d'AIBN (0,025eqs) sont dissous dans 1 mL de solvant anhydre (THF, DMF ou DMSO, se référer au manuscrit). Le milieu réactionnel est refroidi par de l'azote liquide jusqu'à solidification et l'air est éliminé sous vide dynamique jusqu'à ce que la solution redevienne liquide. Ce procédé est effectué trois fois consécutives. Le milieu réactionnel sous vide statique est agité pendant 16 heures à 70°C.

Liste des polymères synthétisés

(63) Synthèse du p(SVSG)

Conversion nulle

(64) Synthèse du p(SVRG)

Conversion nulle

(65) Synthèse du p(MVSG)

Conversion nulle

(66) Synthèse du p(MVRG)

Conversion nulle

(67) Synthèse du p(AcV)

Conversion : 100% - Aspect : Solide collant - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (*d*₆-DMSO, 400 MHz, δ(ppm)) 1,70 (2H, massif, -CH₂- chaîne polymère), 1,90 (3H, massif, CH₃-CO), 4,80 (1H, massif, -CH(O)- chaîne polymère)

(68) Synthèse du p(PaV)

Conversion : 84% - Aspect : Solide pâteux extrêmement collant - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (CDCl₃, 400 MHz, δ(ppm)) 0,88 (3H, t, CH₃), 1,15-1,28 (24H, massif, -CH₂- chaîne alkyle), 1,45 (2H, massif, CH₂-CH₂-CO), 1,55 (2H, massif, -CH₂- chaîne polymère), 2,18 (2H, massif, CH₂-CO), 4,80 (1H, massif, -CH(O)- chaîne polymère)

(69) Synthèse du p(PiV)

Conversion : 97% - Aspect : Cire blanche solide - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (CDCl₃, 400 MHz, δ(ppm)) 1,05-1,2 (9H, massif, (CH₃)₃-C-CO), 1,60-2,00 (2H, massif, -CH₂- chaîne polymère), 4,80 (1H, massif, -CH(O)- chaîne polymère)

(70) Synthèse du p(6SVU)

Conversion : 95% - Aspect : Solide pâteux extrêmement collant - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (CDCl₃, 400 MHz, δ(ppm)) 0,88 (6H, t, CH₃), 1,2 (6H, massif, -CH₂- chaîne alkyle), 1,45 (2H, massif, -CH₂- chaîne polymère), 2,52 (2H, massif, OC-(CH₂)₂-CO), 4,80 (1H, massif, -CH(O)- chaîne polymère)

(71) Synthèse du p(6MVU)

Conversion : 20% - Aspect : Solide pâteux extrêmement collant - Stable à température ambiante

RMN ¹H : NC (conversions trop faibles)

(72) Synthèse du p(SVSM)

Conversion : 79% - Aspect : Solide pâteux extrêmement collant - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (CDCl₃, 400 MHz, δ(ppm)) 0,88 (6H, t, CH₃), 1,2 (22H, massif, -CH₂- chaîne alkyle), 1,45 (2H, massif, CH₂-CH₂-CO), 1,55 (6H, massif, -CH₂- chaîne polymère et (CH₂)₂-CH-O), 2,22 (2H, t, CH₂-CO), 2,52 (2H, massif, OC-(CH₂)₂-CO), 4,80 (1H, massif, -CH(O)- chaîne polymère)

(73) Synthèse du p(SVEMSM)

Aucune conversion

2.1.2 Copolymérisation avec l'acétate de vinyle

Synthèse

Dans un Schlenk muni d'un barreau aimanté, 1,5*p mmol de monomère, 1,5*(1-p) d'acétate de vinyle fraîchement distillé, et 0,012 mmol de BPO (0,008 eqs) sont dissous dans 1 mL d'acétate d'éthyle (p étant compris entre 0 et 1 et représentant le taux d'incorporation de monomère souhaité). Le milieu réactionnel est refroidi par de l'azote liquide jusqu'à solidification et l'air est éliminé sous vide dynamique jusqu'à ce que la solution redevienne liquide. Ce procédé est effectué trois fois consécutives. Le milieu réactionnel sous vide statique est agité pendant 16 heures à 80°C.

Purification

Après 16 heures d'agitation, le milieu réactionnel est concentré sous vide pour éliminer l'acétate d'éthyle et l'acétate de vinyle résiduel. Un mélange du copolymère et du monomère résiduel est obtenu.

Liste des polymères synthétisés

(74) Synthèse du p(AcV₉₅-SVSG₅)

Aspect : Solide incolore pâteux extrêmement collant - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (d₆-DMSO, 400 MHz, δ(ppm)) 0,88 (15H, massif, CH₃ chaîne alkyle), 1,15-1,30 (110H, massif, -CH₂- chaîne alkyle), 1,45 (30H, massif, CH₂-CH₂-CO et (CH₂)₂-CH-O), 1,70 (200H, massif, -CH₂- chaîne

polymère), 1,90 (285H, massif, $\text{CH}_3\text{-CO}$), 2,26 (10H, massif, $\text{CH}_2\text{-CO}$), 2,48 (20H, massif, $\text{OC-(CH}_2)_2\text{-CO}$), 3,05 (5H, massif, H4), 3,15 (5H, massif, H2), 3,42 (5H, massif, H3), 3,78 (5H, massif, H5), 4,00 (5H, massif, H6a), 4,28 (5H, massif, H6b), 4,52 (5H, massif, OH3), 4,8 (110H, massif, -CH(O)- chaîne polymère, CH-O-CO , et OH2), 4,90 (5H, massif, H1), 5,02 et 5,08 (5H, massifs, OH4 β et OH4 α), 6,35 et 6,60 (5H, massifs, OH1 β et OH1 α), 7,50-7-90 (20H, m, BPO)

(75) Synthèse du p(AcV₉₀-SVSG₁₀)

Aspect : Solide incolore pâteux extrêmement collant - Stable à température ambiante
RMN ¹H : (*d*₆-DMSO, 400 MHz, δ (ppm)) 0,88 (30H, massif, CH_3 chaîne alkyle), 1,15-1,30 (220H, massif, $\text{-CH}_2\text{-}$ chaîne alkyle), 1,45 (60H, massif, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$ et $(\text{CH}_2)_2\text{-CH-O}$), 1,70 (200H, massif, $\text{-CH}_2\text{-}$ chaîne polymère), 1,90 (270H, massif, $\text{CH}_3\text{-CO}$), 2,26 (20H, massif, $\text{CH}_2\text{-CO}$), 2,48 (40H, massif, $\text{OC-(CH}_2)_2\text{-CO}$), 3,05 (10H, massif, H4), 3,15 (10H, massif, H2), 3,42 (10H, massif, H3), 3,78 (10H, massif, H5), 4,00 (10H, massif, H6a), 4,28 (10H, massif, H6b), 4,52 (10H, massif, OH3), 4,8 (120H, massif, -CH(O)- chaîne polymère, CH-O-CO , et OH2), 4,90 (10H, massif, H1), 5,02 et 5,08 (10H, massifs, OH4 β et OH4 α), 6,35 et 6,60 (10H, massifs, OH1 β et OH1 α), 7,50-7-90 (20H, m, BPO)

(76) Synthèse du p(AcV₈₀-SVSG₂₀)

Aspect : Solide pâteux légèrement jaunâtre, extrêmement collant - Stable à température ambiante
RMN ¹H : (*d*₆-DMSO, 400 MHz, δ (ppm)) 0,88 (60H, massif, CH_3 chaîne alkyle), 1,15-1,30 (440H, massif, $\text{-CH}_2\text{-}$ chaîne alkyle), 1,45 (120H, massif, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$ et $(\text{CH}_2)_2\text{-CH-O}$), 1,70 (200H, massif, $\text{-CH}_2\text{-}$ chaîne polymère), 1,90 (240H, massif, $\text{CH}_3\text{-CO}$), 2,26 (40H, massif, $\text{CH}_2\text{-CO}$), 2,48 (80H, massif, $\text{OC-(CH}_2)_2\text{-CO}$), 3,05 (20H, massif, H4), 3,15 (20H, massif, H2), 3,42 (20H, massif, H3), 3,78 (20H, massif, H5), 4,00 (20H, massif, H6a), 4,28 (20H, massif, H6b), 4,52 (20H, massif, OH3), 4,8 (140H, massif, -CH(O)- chaîne polymère, CH-O-CO , et OH2), 4,90 (20H, massif, H1), 5,02 et 5,08 (20H, massifs, OH4 β et OH4 α), 6,35 et 6,60 (20H, massifs, OH1 β et OH1 α), 7,50-7-90 (20H, m, BPO)

(77) Synthèse du p(AcV₇₀-SVSG₃₀)

Aspect : Solide pâteux légèrement jaunâtre, extrêmement collant - Stable à température ambiante
RMN ¹H : (*d*₆-DMSO, 400 MHz, δ (ppm)) 0,88 (90H, massif, CH_3 chaîne alkyle), 1,15-1,30 (660H, massif, $\text{-CH}_2\text{-}$ chaîne alkyle), 1,45 (180H, massif, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$ et $(\text{CH}_2)_2\text{-CH-O}$), 1,70 (200H, massif, $\text{-CH}_2\text{-}$ chaîne polymère), 1,90 (210H, massif, $\text{CH}_3\text{-CO}$), 2,26 (60H, massif, $\text{CH}_2\text{-CO}$), 2,48 (120H, massif, $\text{OC-(CH}_2)_2\text{-CO}$), 3,05 (30H, massif, H4), 3,15 (30H, massif, H2), 3,42 (30H, massif, H3), 3,78 (30H, massif, H5), 4,00 (30H, massif, H6a), 4,28 (30H, massif, H6b), 4,52 (30H, massif, OH3), 4,8 (160H, massif, -CH(O)- chaîne polymère, CH-O-CO , et OH2), 4,90 (30H, massif, H1), 5,02 et 5,08 (30H, massifs, OH4 β et OH4 α), 6,35 et 6,60 (30H, massifs, OH1 β et OH1 α), 7,50-7-90 (20H, m, BPO)

(78) Synthèse du p(AcV₆₀-SVSG₄₀)

Aspect : Solide pâteux légèrement jaunâtre, extrêmement collant - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (d₆-DMSO, 400 MHz, δ(ppm)) 0,88 (120H, massif, CH₃ chaîne alkyle), 1,15-1,30 (880H, massif, -CH₂- chaîne alkyle), 1,45 (240H, massif, CH₂-CH₂-CO et (CH₂)₂-CH-O), 1,70 (200H, massif, -CH₂- chaîne polymère), 1,90 (180H, massif, CH₃-CO), 2,26 (80H, massif, CH₂-CO), 2,48 (160H, massif, OC-(CH₂)₂-CO), 3,05 (40H, massif, H₄), 3,15 (40H, massif, H₂), 3,42 (40H, massif, H₃), 3,78 (40H, massif, H₅), 4,00 (40H, massif, H_{6a}), 4,28 (40H, massif, H_{6b}), 4,52 (40H, massif, OH₃), 4,8 (180H, massif, -CH(O)- chaîne polymère, CH-O-CO, et OH₂), 4,90 (40H, massif, H₁), 5,02 et 5,08 (40H, massifs, OH_{4β} et OH_{4α}), 6,35 et 6,60 (40H, massifs, OH_{1β} et OH_{1α}), 7,50-7-90 (20H, m, BPO)

(79) Synthèse du p(AcV₉₅-SVRG₅)

Aspect : Solide pâteux légèrement jaunâtre, extrêmement collant - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (d₆-DMSO, 400 MHz, δ(ppm)) 0,88 (15H, massif, CH₃ chaîne alkyle), 1,17-1,39 (80H, massif, chaîne alkyle -CH₂-), 1,45 (20H, massif, CH₂-CH-O et CH₂-CH₂-CO), 1,70 (200, -CH₂- chaîne polymère), 1,90-2,1 (295H, massif, CH₃-CO et CH₂-CH=), 2,30 (20H, m, =CH-CH₂-CH-O et CH₂-CO), 2,48 (20H, massif, OC-CH₂-CH₂-CO), 3,05 (5H, m, H₄), 3,15 (5H, m, H₂), 3,40 (5H, m, H₃), 3,76 (5H, m, H₅), 3,95 (5H, m, H_{6a}), 4,28 (5H, m, H_{6b}), 4,51 (5H, d, OH₃), 4,75-4,90 (110H, -CH(O)- chaîne polymère, OH₂ et CH-O-CO), 4,90 (5H, t, H₁), 5,02 et 5,08 (5H, deux d, OH_{4β} et OH_{4α}), 5,35 (5H, dt, CH=CH), 5,30 (5H, massif, CH=CH), 5,45 (5H, massif, CH=CH), 6,30 et 6,65 (5H, deux massifs, OH_{1β} et OH_{1α}), 7,50-7-90 (20H, m, BPO)

(80) Synthèse du p(AcV₉₀-SVRG₁₀)

Aspect : Solide pâteux légèrement jaunâtre, extrêmement collant - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (d₆-DMSO, 400 MHz, δ(ppm)) 0,88 (30H, massif, CH₃ chaîne alkyle), 1,17-1,39 (160H, massif, chaîne alkyle -CH₂-), 1,45 (40H, massif, CH₂-CH-O et CH₂-CH₂-CO), 1,70 (200, -CH₂- chaîne polymère), 1,90-2,1 (290H, massif, CH₃-CO et CH₂-CH=), 2,30 (40H, m, =CH-CH₂-CH-O et CH₂-CO), 2,48 (40H, massif, OC-CH₂-CH₂-CO), 3,05 (10H, m, H₄), 3,15 (10H, m, H₂), 3,40 (10H, m, H₃), 3,76 (10H, m, H₅), 3,95 (10H, m, H_{6a}), 4,28 (10H, m, H_{6b}), 4,51 (10H, d, OH₃), 4,75-4,90 (120H, -CH(O)- chaîne polymère, OH₂ et CH-O-CO), 4,90 (10H, t, H₁), 5,02 et 5,08 (10H, deux d, OH_{4β} et OH_{4α}), 5,35 (10H, dt, CH=CH), 5,30 (10H, massif, CH=CH), 5,45 (10H, massif, CH=CH), 6,30 et 6,65 (10H, deux massifs, OH_{1β} et OH_{1α}), 7,50-7-90 (20H, m, BPO)

(81) Synthèse du p(AcV₉₅-MVSG₅)

Aspect : Solide pâteux incolore - Stable à température ambiante

RMN ¹H : NC (polymère insoluble)

(82) Synthèse du p(AcV₉₀-MVSG₁₀)

Aspect : Solide blanc - Stable à température ambiante

RMN ¹H : NC (polymère insoluble)

(83) Synthèse du p(AcV₉₅-MVRG₅)

Aspect : Solide pâteux légèrement jaunâtre, extrêmement collant - Stable à température ambiante

RMN ¹H : NC (polymère insoluble)

(84) Synthèse du p(AcV₉₀-MVRG₁₀)

Aspect : Solide pâteux légèrement jaunâtre, extrêmement collant - Stable à température ambiante

RMN ¹H : NC (polymère insoluble)

2.2 Procédure de polymérisation des monomères méthacrylate (Chapitre 5)

2.2.1 Polymérisation non contrôlée des monomères modèles

Synthèse

Dans un Schlenk muni d'un barreau aimanté, 2,7 mmol de monomère, et 0,068 mmol d'AIBN (0,025 eqs) sont dissous dans 1 mL de THF anhydre. Le milieu réactionnel est refroidi par de l'azote liquide jusqu'à solidification et l'air est éliminé sous vide dynamique jusqu'à ce que la solution redevienne liquide. Ce procédé est effectué trois fois consécutives. Le milieu réactionnel sous vide statique est agité pendant 16 heures à 70°C. A la fin de la réaction le milieu réactionnel est évaporé sous vide afin d'évaporer le THF.

Liste des polymères synthétisés

(85) Synthèse du p(MAH)

Conversion⁵ : 100% - Aspect : Non isolé - Stable à température ambiante

RMN ¹H : NC

(86) Synthèse du p(MAE)

Conversion : 100% - Aspect : Non isolé - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (DMSO, 400 MHz, δ(ppm)) 0,62-1,02 (3H, massif, CH₃-C(CO)-(CH₂)₂), 1,17 (3H, massif, CH₃-CH₂-O), 1,61-2,02 (2H, massif, CH₂ chaîne polymère), 3,23 (2H, massif, HN-CH₂-CH₂-O), 3,88 (2H, massif, CH₃-CH₂-O), 4,00 (2H, massif, HN-CH₂-CH₂-O), 7,1 (1H, m, NH)

⁵ Estimation basée sur la disparition de la bande caractéristique de la vibration élongationnelle des liaisons C=C des fonctions méthacrylates, à 1636 cm⁻¹

(87) Synthèse du p(MASM)

Conversion : 100% - Aspect : poudre blanche - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (CDCl₃, 400 MHz, δ(ppm)) 0,86 (6H, massif, CH₃), 1,14-1,37 (18H, massif, -CH₂- chaîne polymère), 1,47 (4H, massif, (CH₂)₂-CH-O), 1,58 (2H, massif, CH₂-CH₂-CO), 2,27 (2H, triplet, CH₂-CO), 3,39 (2H, massif HN-CH₂-CH₂-O), 3,64 (3H, s, CH₃-O), 4,00 (2H, massif, HN-CH₂-CH₂-O), 4,68 (1H, massif, CH-O), 5,58 (1H, m, NH)

2.2.2 Synthèse des polymères de la gamme NC

Synthèse

Dans un Schlenk muni d'un barreau aimanté, 1,5*p mmol de monomère, 1,5*(1-p) de méthacrylate de méthyle fraîchement distillé, et 0,012 mmol d'AIBN (0,008 eqs) sont dissous dans 1 mL de THF anhydre. (p étant compris entre 0 et 1 et représentant le taux d'incorporation de monomère souhaitée). Le milieu réactionnel est refroidi par de l'azote liquide jusqu'à solidification et l'air est éliminé sous vide dynamique jusqu'à ce que la solution redevienne liquide. Ce procédé est effectué trois fois consécutives. Le milieu réactionnel sous vide statique est agité pendant 16 heures à 70°C.

Purification

A la fin de la réaction le milieu réactionnel est évaporé sous vide afin d'évaporer le THF et le méthacrylate de méthyle résiduel.

Liste des polymères synthétisés

(88) Synthèse du p(MAM)_{NC}

Conversion : 97% - Aspect : Films transparents - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (DMSO, 400 MHz, δ(ppm)) 0,74 et 0,93 (3H, deux massifs, CH₃), 1,63-1,99 (2H, massif, -CH₂- chaîne polymère), 3,55 (3H, singulet, CH₃-O)

(89) Synthèse du p(MAM₉₀-MASG₁₀)_{NC}

Conversions : MAM : 100%, MASG : 100% - Aspect : Poudre blanche - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (d₆-DMSO, 400 MHz, δ(ppm)) 0,60-0,86 (165H, deux massifs, CH₃), 1,07-1,38 (110H, massif, CH₂ chaîne alkyle), 1,38-1,57 (30H, massif, (CH₂)₂-CH-O et CH₂-CH₂-CO), 1,63-1,96 (100H, massif, -CH₂- chaîne polymère), 2,27 (10H, m, CH₂-CO), 3,03 (5H, m, H4), 3,13 (5H, m, H2), 3,24 (10H, massif, O-CH₂-CH₂-NH), 3,43 (5H, m, H3), 3,54 (135H, m, CH₃-O-CO), 3,76 (5H, m, H5), 3,88 (10H, massif, O-CH₂-CH₂-NH), 3,98 (5H, m, H6a), 4,28 (5H, m, H6b), 4,51 (5H, massif, OH3), 4,63 (5H, massif, CH-O) 4,74 (5H, massif, OH2), 4,89 (5H, massif, H1), 5,02 et 5,08 (5H, deux d, OH4β et OH4α), 6,33 et 6,63 (5H, deux d, OH1β et OH1α), 6,94-7,19 (5H, m, NH)

(90) Synthèse du p(MAM₈₀-MASG₂₀)_{NC}

Conversions : MAM : 100%, MASG : 100% - Aspect : Poudre blanche - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (*d6*-DMSO, 400 MHz, δ (ppm)) 0,60-0,86 (180H, deux massifs, CH₃), 1,07-1,38 (220H, massif, CH₂ chaîne alkyle), 1,38-1,57 (60H, massif, (CH₂)₂-CH-O et CH₂-CH₂-CO), 1,63-1,96 (100H, massif, -CH₂-chaîne polymère), 2,27 (20H, m, CH₂-CO), 3,03 (10H, m, H4), 3,13 (10H, m, H2), 3,24 (20H, massif, O-CH₂-CH₂-NH), 3,43 (10H, m, H3), 3,54 (120H, m, CH₃-O-CO), 3,76 (10H, m, H5), 3,88 (20H, massif, O-CH₂-CH₂-NH), 3,98 (10H, m, H6a), 4,28 (10H, m, H6b), 4,51 (10H, massif, OH3), 4,63 (10H, massif, CH-O) 4,74 (10H, massif, OH2), 4,89 (10H, massif, H1), 5,02 et 5,08 (10H, deux d, OH4 β et OH4 α), 6,33 et 6,63 (10H, deux d, OH1 β et OH1 α), 6,94-7,19 (10H, m, NH)

(91) Synthèse du p(MAM₇₀-MASG₃₀)_{NC}

Conversions⁶ : MAM : 100%, MASG : 100% - Aspect : Poudre blanche - Stable à température ambiante

RMN ¹H : NC (polymère insoluble)

(92) Synthèse du p(MAM₆₀-MASG₄₀)_{NC}

Conversions⁶ : MAM : 100%, MASG : 100% - Aspect : Poudre blanche - Stable à température ambiante

RMN ¹H : NC (polymère insoluble)

(93) Synthèse du p(MAM₈₀-MARG₂₀)_{NC}

Conversions : MAM : 96%, MARG : 97% - Poudre blanche - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (*d6*-DMSO, 400 MHz, δ (ppm)) 0,60-0,86 (180H, deux massifs, CH₃), 1,07-1,38 (220H, massif, CH₂ chaîne alkyle), 1,38-1,57 (40H, massif, CH₂-CH₂-CH-O et CH₂-CH₂-CO), 1,63-1,96 (100H, massif, -CH₂-chaîne polymère), 2,05 (20H, CH₂-CH=CH-CH₂-CHO), 2,27 (40H, m, CH₂-CO et CH₂-CH=CH-CH₂-CHO), 3,03 (10H, m, H4), 3,13 (10H, m, H2), 3,24 (20H, massif, O-CH₂-CH₂-NH), 3,43 (10H, m, H3), 3,54 (120H, m, CH₃-O-CO), 3,76 (10H, m, H5), 3,88 (20H, massif, O-CH₂-CH₂-NH), 3,98 (10H, m, H6a), 4,28 (10H, m, H6b), 4,51 (10H, massif, OH3), 4,63 (10H, massif, CH-O) 4,74 (10H, massif, OH2), 4,89 (10H, massif, H1), 5,02 et 5,08 (10H, deux d, OH4 β et OH4 α), 5,35 (2H, m, -CH=CH-), 6,33 et 6,63 (10H, deux d, OH1 β et OH1 α), 6,94-7,19 (10H, m, NH)

(94) Synthèse du p(MARG)_{NC}

Conversions⁷ : MAM : 100%, MARG : 100% - Aspect : Solide vitreux - Stable à température ambiante

RMN ¹H : NC (polymère insoluble)

⁶ Estimation basée sur la disparition de la bande caractéristique de la vibration élongationnelle des liaisons C=C des fonctions méthacrylates, à 1636 cm⁻¹

⁷ Estimation basée sur la disparition de la bande caractéristique de la vibration élongationnelle des liaisons C=C des fonctions méthacrylates, à 1636 cm⁻¹

2.2.3 Synthèse des copolymères de la gamme BM

Synthèse

Dans un Schlenk muni d'un barreau aimanté, 1,5*p mmol de monomère, 1,5*(1-p) de méthacrylate de méthyle fraîchement distillé, 0,03 mmol de benzoyl mercaptan, et 0,012 mmol d'AIBN (0,008 eqs) sont dissous dans 1 mL de THF anhydre. (p étant compris entre 0 et 1 et représentant le taux d'incorporation de monomère souhaité). Le milieu réactionnel est refroidi par de l'azote liquide jusqu'à solidification et l'air est éliminé sous vide dynamique jusqu'à ce que la solution redevienne liquide. Ce procédé est effectué trois fois consécutives. Le milieu réactionnel sous vide statique est agité pendant 16 heures à 70°C.

Purification

A la fin de la réaction le milieu réactionnel est évaporé sous vide afin d'évaporer le THF et le méthacrylate de méthyle résiduel.

Liste des polymères synthétisés

(95) Synthèse du p(MAM)_{BM}

Conversion : 93% - Aspect : Films transparents - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (DMSO, 400 MHz, δ(ppm)) 0,74 et 0,93 (3H, deux massifs, CH₃), 1,63-1,99 (2H, massif, -CH₂-chaîne polymère), 3,55 (3H, singulet, CH₃-O), 6,80-7,40 (5H, benzyl mercaptan)

(96) Synthèse du p(MAM₉₀-MASG₁₀)_{BM}

Conversions : MAM : 85%, MASG : 88% - Aspect : Poudre blanche - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (d₆-DMSO, 400 MHz, δ(ppm)) 0,60-0,86 (165H, deux massifs, CH₃), 1,07-1,38 (110H, massif, CH₂ chaîne alkyle), 1,38-1,57 (30H, massif, (CH₂)₂-CH-O et CH₂-CH₂-CO), 1,63-1,96 (100H, massif, -CH₂-chaîne polymère), 2,27 (10H, m, CH₂-CO), 3,03 (5H, m, H₄), 3,13 (5H, m, H₂), 3,24 (10H, massif, O-CH₂-CH₂-NH), 3,43 (5H, m, H₃), 3,54 (135H, m, CH₃-O-CO), 3,76 (5H, m, H₅), 3,88 (10H, massif, O-CH₂-CH₂-NH), 3,98 (5H, m, H_{6a}), 4,28 (5H, m, H_{6b}), 4,51 (5H, massif, OH₃), 4,63 (5H, massif, CH-O) 4,74 (5H, massif, OH₂), 4,89 (5H, massif, H₁), 5,02 et 5,08 (5H, deux d, OH_{4β} et OH_{4α}), 6,33 et 6,63 (5H, deux d, OH_{1β} et OH_{1α}), 6,94-7,19 (5H, m, NH), 6,80-7,40 (5H, benzyl mercaptan)

(97) Synthèse du p(MAM₈₀-MASG₂₀)_{BM}

Conversions : MAM : 97%, MASG : 98% - Aspect : Poudre blanche - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (d₆-DMSO, 400 MHz, δ(ppm)) 0,60-0,86 (180H, deux massifs, CH₃), 1,07-1,38 (220H, massif, CH₂ chaîne alkyle), 1,38-1,57 (60H, massif, (CH₂)₂-CH-O et CH₂-CH₂-CO), 1,63-1,96 (100H, massif, -CH₂-chaîne polymère), 2,27 (20H, m, CH₂-CO), 3,03 (10H, m, H₄), 3,13 (10H, m, H₂), 3,24 (20H, massif, O-CH₂-CH₂-NH), 3,43 (10H, m, H₃), 3,54 (120H, m, CH₃-O-CO), 3,76 (10H, m, H₅), 3,88 (20H, massif, O-CH₂-CH₂-NH), 3,98 (10H, m, H_{6a}), 4,28 (10H, m, H_{6b}), 4,51 (10H, massif, OH₃), 4,63 (10H, massif, CH-O) 4,74 (10H, massif, OH₂), 4,89 (10H, massif, H₁), 5,02 et 5,08 (10H, deux d, OH_{4β} et OH_{4α}), 6,33 et 6,63 (10H, deux d, OH_{1β} et OH_{1α}), 6,94-7,19 (10H, m, NH), 6,80-7,40 (5H, benzyl mercaptan)

(98) Synthèse du p(MAM₇₀-MASG₃₀)_{BM}

Conversions : MAM : 100%, MASG : 100% - Aspect : Poudre blanche - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (*d6*-DMSO, 400 MHz, δ (ppm)) 0,60-0,86 (195H, deux massifs, CH₃), 1,07-1,38 (330H, massif, CH₂ chaîne alkyle), 1,38-1,57 (90H, massif, (CH₂)₂-CH-O et CH₂-CH₂-CO), 1,63-1,96 (100H, massif, -CH₂-chaîne polymère), 2,27 (30H, m, CH₂-CO), 3,03 (15H, m, H4), 3,13 (15H, m, H2), 3,24 (30H, massif, O-CH₂-CH₂-NH), 3,43 (15H, m, H3), 3,54 (105H, m, CH₃-O-CO), 3,76 (15H, m, H5), 3,88 (30H, massif, O-CH₂-CH₂-NH), 3,98 (15H, m, H6a), 4,28 (15H, m, H6b), 4,51 (15H, massif, OH3), 4,63 (15H, massif, CH-O) 4,74 (15H, massif, OH2), 4,89 (15H, massif, H1), 5,02 et 5,08 (15H, deux d, OH4 β et OH4 α), 6,33 et 6,63 (15H, deux d, OH1 β et OH1 α), 6,94-7,19 (15H, m, NH),), 6,80-7,40 (5H, benzyl mercaptan)

(99) Synthèse du p(MAM₆₀-MASG₄₀)_{BM}

Conversions : MAM : 98%, MASG : 98% - Aspect : Poudre blanche - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (*d6*-DMSO, 400 MHz, δ (ppm)) 0,60-0,86 (210H, deux massifs, CH₃), 1,07-1,38 (440H, massif, CH₂ chaîne alkyle), 1,38-1,57 (120H, massif, (CH₂)₂-CH-O et CH₂-CH₂-CO), 1,63-1,96 (100H, massif, -CH₂- chaîne polymère), 2,27 (40H, m, CH₂-CO), 3,03 (20H, m, H4), 3,13 (20H, m, H2), 3,24 (40H, massif, O-CH₂-CH₂-NH), 3,43 (20H, m, H3), 3,54 (90H, m, CH₃-O-CO), 3,76 (20H, m, H5), 3,88 (40H, massif, O-CH₂-CH₂-NH), 3,98 (20H, m, H6a), 4,28 (20H, m, H6b), 4,51 (20H, massif, OH3), 4,63 (20H, massif, CH-O) 4,74 (20H, massif, OH2), 4,89 (20H, massif, H1), 5,02 et 5,08 (20H, deux d, OH4 β et OH4 α), 6,33 et 6,63 (20H, deux d, OH1 β et OH1 α), 6,94-7,19 (20H, m, NH), 6,80-7,40 (5H, benzyl mercaptan)

(100) Synthèse du p(MAM₄₀-MASG₆₀)_{BM}

Conversions : MAM : 100%, MASG : 100% - Aspect : Poudre blanche - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (*d6*-DMSO, 400 MHz, δ (ppm)) 0,60-0,86 (180H, deux massifs, CH₃), 1,07-1,38 (660H, massif, CH₂ chaîne alkyle), 1,38-1,57 (180H, massif, (CH₂)₂-CH-O et CH₂-CH₂-CO), 1,63-1,96 (100H, massif, -CH₂- chaîne polymère), 2,27 (60H, m, CH₂-CO), 3,03 (30H, m, H4), 3,13 (« àH, m, H2), 3,24 (60H, massif, O-CH₂-CH₂-NH), 3,43 (30H, m, H3), 3,54 (60H, m, CH₃-O-CO), 3,76 (30H, m, H5), 3,88 (60H, massif, O-CH₂-CH₂-NH), 3,98 (30H, m, H6a), 4,28 (30H, m, H6b), 4,51 (30H, massif, OH3), 4,63 (30H, massif, CH-O) 4,74 (30H, massif, OH2), 4,89 (30H, massif, H1), 5,02 et 5,08 (30H, deux d, OH4 β et OH4 α), 6,33 et 6,63 (30H, deux d, OH1 β et OH1 α), 6,94-7,19 (30H, m, NH), 6,80-7,40 (5H, benzyl mercaptan)

(101) Synthèse du p(MAM₂₀-MASG₈₀)_{BM}

Conversions : MAM : 100%, MASG : 100% - Aspect : Poudre blanche - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (*d6*-DMSO, 400 MHz, δ (ppm)) 0,60-0,86 (270H, deux massifs, CH₃), 1,07-1,38 (880H, massif, CH₂ chaîne alkyle), 1,38-1,57 (240H, massif, (CH₂)₂-CH-O et CH₂-CH₂-CO), 1,63-1,96 (100H, massif, -CH₂- chaîne polymère), 2,27 (80H, m, CH₂-CO), 3,03 (40H, m, H4), 3,13 (40H, m, H2), 3,24 (80H, massif, O-CH₂-CH₂-NH), 3,43 (40H, m, H3), 3,54 (30H, m, CH₃-O-CO), 3,76 (40H, m, H5), 3,88 (80H, massif, O-CH₂-CH₂-NH), 3,98 (40H, m, H6a), 4,28 (40H, m, H6b), 4,51 (40H, massif, OH3), 4,63 (40H, massif, CH-O)

4,74 (40H, massif, OH₂), 4,89 (40H, massif, H₁), 5,02 et 5,08 (40H, deux d, OH_{4β} et OH_{4α}), 6,33 et 6,63 (40H, deux d, OH_{1β} et OH_{1α}), 6,94-7,19 (40H, m, NH), 6,80-7,40 (5H, benzyl mercaptan)

(102) Synthèse du p(MASG)_{BM}

Conversion : 100% - Aspect : Poudre blanche - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (d₆-DMSO, 400 MHz, δ(ppm)) 0,85 (300H, massif, CH₃), 1,07-1,38 (1100H, massif, CH₂ chaîne alkyle), 1,38-1,57 (300H, massif, (CH₂)₂-CH-O et CH₂-CH₂-CO), 1,63-1,96 (100H, massif, -CH₂- chaîne polymère), 2,27 (100H, m, CH₂-CO), 3,03 (50H, m, H₄), 3,13 (50H, m, H₂), 3,24 (100H, massif, O-CH₂-CH₂-NH), 3,43 (50H, m, H₃), 3,76 (50H, m, H₅), 3,88 (100H, massif, O-CH₂-CH₂-NH), 3,98 (50H, m, H_{6a}), 4,28 (50H, m, H_{6b}), 4,51 (50H, massif, OH₃), 4,63 (50H, massif, CH-O) 4,74 (50H, massif, OH₂), 4,89 (50H, massif, H₁), 5,02 et 5,08 (50H, deux d, OH_{4β} et OH_{4α}), 6,33 et 6,63 (50H, deux d, OH_{1β} et OH_{1α}), 6,94-7,19 (50H, m, NH), 6,80-7,40 (5H, benzyl mercaptan)

2.2.4 Copolymérisation avec le méthacrylate de méthyle contrôlée par RAFT

Synthèse

Dans un Schlenk muni d'un barreau aimanté sous balayage d'argon, 1,5*p mmol de monomère, 1,5*(1-p) de méthacrylate de méthyle fraîchement distillé, 0,03 mmol de benzodithiate de 2-(2-cyano)-propyle, et 0,012 mmol d'AIBN (0,008 eqs) sont dissous dans 1 mL de THF anhydre. (p étant compris entre 0 et 1 et représentant le taux d'incorporation de monomère souhaitée). Le milieu réactionnel est refroidi par de l'azote liquide jusqu'à solidification et l'air est éliminé sous vide dynamique jusqu'à ce que la solution redevienne liquide. Ce procédé est effectué trois fois consécutives. Le milieu réactionnel sous vide statique est agité pendant 16 heures à 70°C.

Purification

A la fin de la réaction le milieu réactionnel est évaporé sous vide afin d'évaporer le THF et le méthacrylate de méthyle résiduel.

Liste des polymères synthétisés

(103) Synthèse du p(MAM)_{RAFT}

Conversion : 69% - Aspect : Poudre rose - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (DMSO, 400 MHz, δ(ppm)) 0,74 et 0,93 (3H, deux massifs, CH₃), 1,63-1,99 (2H, massif, -CH₂- chaîne polymère), 3,55 (3H, singulet, CH₃-O), 7,47 (2H, m, agent RAFT), 7,63 (1H, m, agent RAFT), 7,84 (2H, m, CH=C(S)=CH agent RAFT)

(104) Synthèse du p(MAM₉₀-MASG₁₀)_{RAFT}

Conversions : MAM : 23%, MASG : 71% - Aspect : Poudre rose - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (d₆-DMSO, 400 MHz, δ(ppm)) 0,60-0,86 (165H, deux massifs, CH₃), 1,07-1,38 (110H, massif, CH₂ chaîne alkyle), 1,38-1,57 (30H, massif, (CH₂)₂-CH-O et CH₂-CH₂-CO), 1,63-1,96 (100H, massif, -CH₂-

chaîne polymère), 2,27 (10H, m, CH₂-CO), 3,03 (5H, m, H4), 3,13 (5H, m, H2), 3,24 (10H, massif, O-CH₂-CH₂-NH), 3,43 (5H, m, H3), 3,54 (135H, m, CH₃-O-CO), 3,76 (5H, m, H5), 3,88 (10H, massif, O-CH₂-CH₂-NH), 3,98 (5H, m, H6a), 4,28 (5H, m, H6b), 4,51 (5H, massif, OH3), 4,63 (5H, massif, CH-O) 4,74 (5H, massif, OH2), 4,89 (5H, massif, H1), 5,02 et 5,08 (5H, deux d, OH4β et OH4α), 6,33 et 6,63 (5H, deux d, OH1β et OH1α), 6,94-7,19 (5H, m, NH), 7,47 (2H, m, agent RAFT), 7,63 (1H, m, agent RAFT), 7,84 (2H, m, CH=C(S)=CH agent RAFT)

(105) Synthèse du p(MAM₈₀-MASG₂₀)_{RAFT}

Conversions : MAM : 87%, MASG : 90% - Aspect : Poudre rose - Stable à température ambiante
RMN ¹H : (d6-DMSO, 400 MHz, δ(ppm)) 0,60-0,86 (180H, deux massifs, CH₃), 1,07-1,38 (220H, massif, CH₂ chaîne alkyle), 1,38-1,57 (60H, massif, (CH₂)₂-CH-O et CH₂-CH₂-CO), 1,63-1,96 (100H, massif, -CH₂-chaîne polymère), 2,27 (20H, m, CH₂-CO), 3,03 (10H, m, H4), 3,13 (10H, m, H2), 3,24 (20H, massif, O-CH₂-CH₂-NH), 3,43 (10H, m, H3), 3,54 (120H, m, CH₃-O-CO), 3,76 (10H, m, H5), 3,88 (20H, massif, O-CH₂-CH₂-NH), 3,98 (10H, m, H6a), 4,28 (10H, m, H6b), 4,51 (10H, massif, OH3), 4,63 (10H, massif, CH-O) 4,74 (10H, massif, OH2), 4,89 (10H, massif, H1), 5,02 et 5,08 (10H, deux d, OH4β et OH4α), 6,33 et 6,63 (10H, deux d, OH1β et OH1α), 6,94-7,19 (10H, m, NH), 7,47 (2H, m, agent RAFT), 7,63 (1H, m, agent RAFT), 7,84 (2H, m, CH=C(S)=CH agent RAFT)

(106) Synthèse du p(MAM₇₀-MASG₃₀)_{RAFT}

Conversions : MAM : 91%, MASG : 97% - Aspect : Poudre rose - Stable à température ambiante
RMN ¹H : (d6-DMSO, 400 MHz, δ(ppm)) 0,60-0,86 (195H, deux massifs, CH₃), 1,07-1,38 (330H, massif, CH₂ chaîne alkyle), 1,38-1,57 (90H, massif, (CH₂)₂-CH-O et CH₂-CH₂-CO), 1,63-1,96 (100H, massif, -CH₂-chaîne polymère), 2,27 (30H, m, CH₂-CO), 3,03 (15H, m, H4), 3,13 (15H, m, H2), 3,24 (30H, massif, O-CH₂-CH₂-NH), 3,43 (15H, m, H3), 3,54 (105H, m, CH₃-O-CO), 3,76 (15H, m, H5), 3,88 (30H, massif, O-CH₂-CH₂-NH), 3,98 (15H, m, H6a), 4,28 (15H, m, H6b), 4,51 (15H, massif, OH3), 4,63 (15H, massif, CH-O) 4,74 (15H, massif, OH2), 4,89 (15H, massif, H1), 5,02 et 5,08 (15H, deux d, OH4β et OH4α), 6,33 et 6,63 (15H, deux d, OH1β et OH1α), 6,94-7,19 (15H, m, NH), 7,47 (2H, m, agent RAFT), 7,63 (1H, m, agent RAFT), 7,84 (2H, m, CH=C(S)=CH agent RAFT)

(107) Synthèse du p(MAM₄₀-MASG₆₀)_{RAFT}

Conversions : MAM : 99%, MASG : 100% - Aspect : Poudre rose - Stable à température ambiante
RMN ¹H : (d6-DMSO, 400 MHz, δ(ppm)) 0,60-0,86 (180H, deux massifs, CH₃), 1,07-1,38 (660H, massif, CH₂ chaîne alkyle), 1,38-1,57 (180H, massif, (CH₂)₂-CH-O et CH₂-CH₂-CO), 1,63-1,96 (100H, massif, -CH₂- chaîne polymère), 2,27 (60H, m, CH₂-CO), 3,03 (30H, m, H4), 3,13 (« àH, m, H2), 3,24 (60H, massif, O-CH₂-CH₂-NH), 3,43 (30H, m, H3), 3,54 (60H, m, CH₃-O-CO), 3,76 (30H, m, H5), 3,88 (60H, massif, O-CH₂-CH₂-NH), 3,98 (30H, m, H6a), 4,28 (30H, m, H6b), 4,51 (30H, massif, OH3), 4,63 (30H, massif, CH-O) 4,74 (30H, massif, OH2), 4,89 (30H, massif, H1), 5,02 et 5,08 (30H, deux d, OH4β et OH4α), 6,33 et 6,63 (30H, deux d, OH1β et OH1α), 6,94-7,19 (30H, m, NH), 7,47 (2H, m, agent RAFT), 7,63 (1H, m, agent RAFT), 7,84 (2H, m, CH=C(S)=CH agent RAFT)

(108) Synthèse du p(MAM₂₀-MASG₈₀)_{RAFT}

Conversions : MAM : 100%, MASG : 100% - Aspect : Poudre rose - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (*d*₆-DMSO, 400 MHz, δ(ppm)) 0,60-0,86 (270H, deux massifs, CH₃), 1,07-1,38 (880H, massif, CH₂ chaîne alkyle), 1,38-1,57 (240H, massif, (CH₂)₂-CH-O et CH₂-CH₂-CO), 1,63-1,96 (100H, massif, -CH₂- chaîne polymère), 2,27 (80H, m, CH₂-CO), 3,03 (40H, m, H4), 3,13 (40H, m, H2), 3,24 (80H, massif, O-CH₂-CH₂-NH), 3,43 (40H, m, H3), 3,54 (30H, m, CH₃-O-CO), 3,76 (40H, m, H5), 3,88 (80H, massif, O-CH₂-CH₂-NH), 3,98 (40H, m, H6a), 4,28 (40H, m, H6b), 4,51 (40H, massif, OH3), 4,63 (40H, massif, CH-O) 4,74 (40H, massif, OH2), 4,89 (40H, massif, H1), 5,02 et 5,08 (40H, deux d, OH4β et OH4α), 6,33 et 6,63 (40H, deux d, OH1β et OH1α), 6,94-7,19 (40H, m, NH), 7,47 (2H, m, agent RAFT), 7,63 (1H, m, agent RAFT), 7,84 (2H, m, CH=C(S)=CH agent RAFT)

(109) Synthèse du p(MASG)_{RAFT}

Conversion : 100% - Aspect : Poudre rose - Stable à température ambiante

RMN ¹H : (*d*₆-DMSO, 400 MHz, δ(ppm)) 0,85 (300H, massif, CH₃), 1,07-1,38 (1100H, massif, CH₂ chaîne alkyle), 1,38-1,57 (300H, massif, (CH₂)₂-CH-O et CH₂-CH₂-CO), 1,63-1,96 (100H, massif, -CH₂- chaîne polymère), 2,27 (100H, m, CH₂-CO), 3,03 (50H, m, H4), 3,13 (50H, m, H2), 3,24 (100H, massif, O-CH₂-CH₂-NH), 3,43 (50H, m, H3), 3,76 (50H, m, H5), 3,88 (100H, massif, O-CH₂-CH₂-NH), 3,98 (50H, m, H6a), 4,28 (50H, m, H6b), 4,51 (50H, massif, OH3), 4,63 (50H, massif, CH-O) 4,74 (50H, massif, OH2), 4,89 (50H, massif, H1), 5,02 et 5,08 (50H, deux d, OH4β et OH4α), 6,33 et 6,63 (50H, deux d, OH1β et OH1α), 6,94-7,19 (50H, m, NH), 7,47 (2H, m, agent RAFT), 7,63 (1H, m, agent RAFT), 7,84 (2H, m, CH=C(S)=CH agent RAFT)

ANNEXES

ANNEXES

Annexe 1 : Caractérisation des glycolipides par RMN : Quelques Spectres RMN 2D - 277 -

Annexe 2 – Méthode de calcul des conversions par RMN ¹H - 281 -

1. Calcul des conversions en glycolipides - 281 -
2. Calcul des conversions des monomères AcV, SVSG, et SVRG - 283 -
3. Calcul des conversions des monomères MAM, MASG et MARG - 284 -

Annexe 3 : Procédures de séchage des solvants - 285 -

Annexe 4 – Calibrations HPLC - 286 -

1. Mesures de solubilité du glucose dans divers solvants - 286 -
2. Mesures de solubilité des glycolipidiques par HPLC dans divers solvants - 287 -

Annexe 5 – Synthèse du SVEMSG - 290 -

1. Synthèse du donneur d'acyle SVEMSV - 290 -
2. Glycosylation du SVEMSV - 292 -

ANNEXE 1 : CARACTERISATION DES GLYCOLIPIDES PAR RMN : QUELQUES SPECTRES RMN 2D

Sont présentés à titre d'exemple dans les Figures 1 à 7 les spectres RMN COSY et HSQC ayant permis la caractérisation du palmitate de 6-O-glucose, du SVSG, et du MASG.

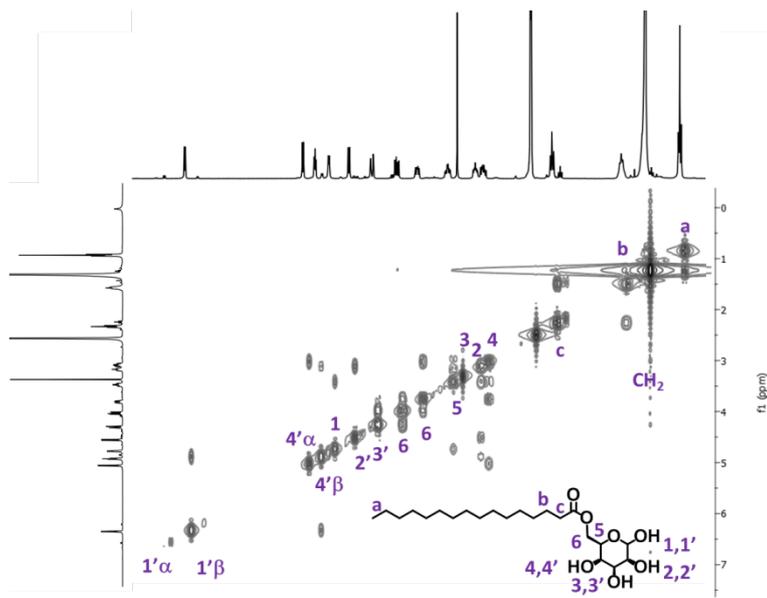


Figure 1 - Spectre RMN COSY dans le *d6*-DMSO du palmitate de 6-O-glucose

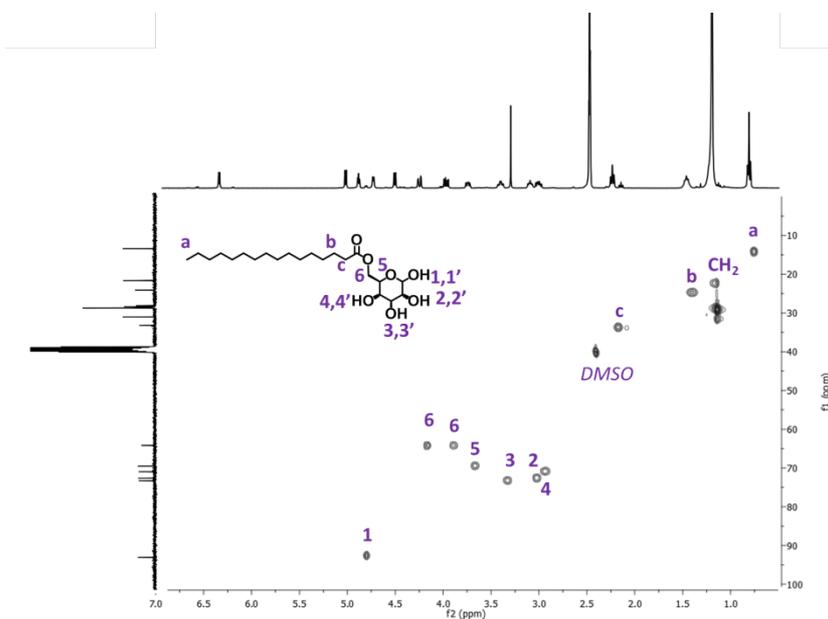


Figure 2 - Spectre RMN HSQC dans le *d6*-DMSO du palmitate de 6-O-glucose

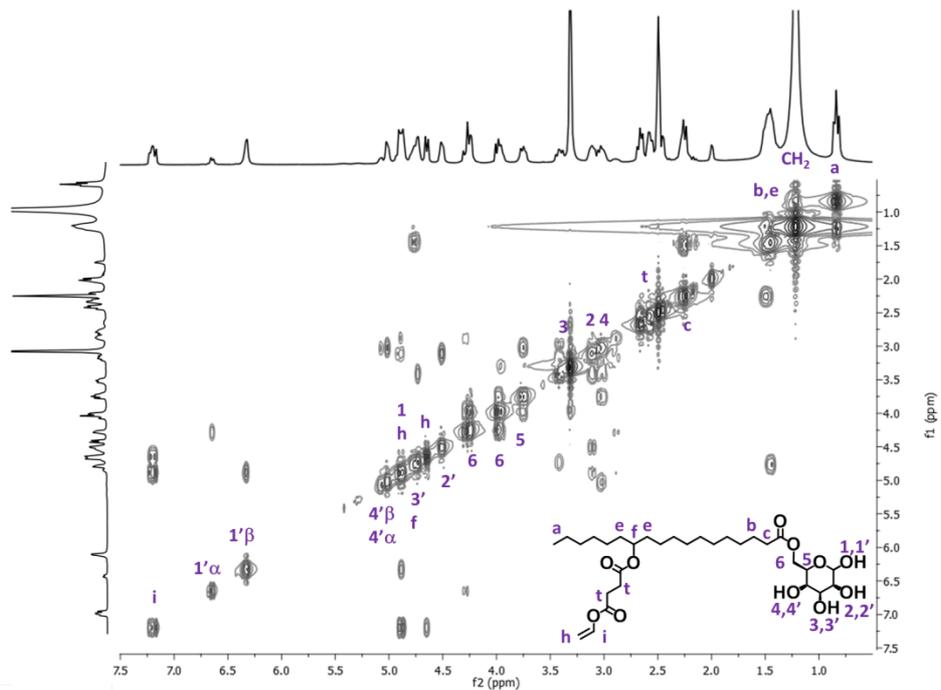


Figure 3 - Spectre RMN COSY dans le *d6*-DMSO du SVSG

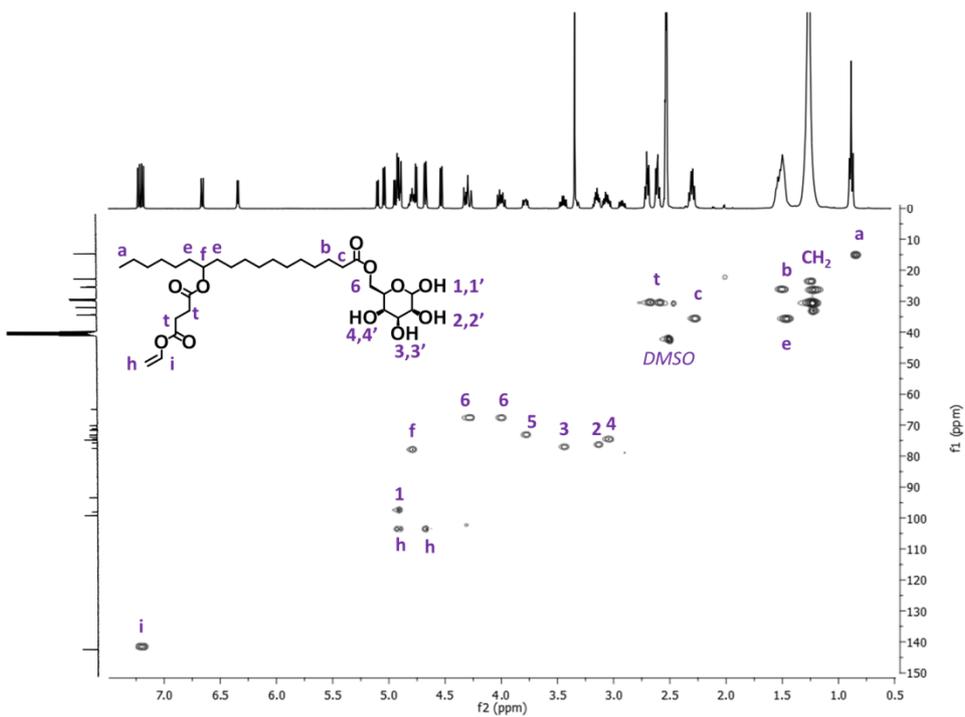


Figure 4 - Spectre RMN HSQC dans le *d6*-DMSO du SVSG

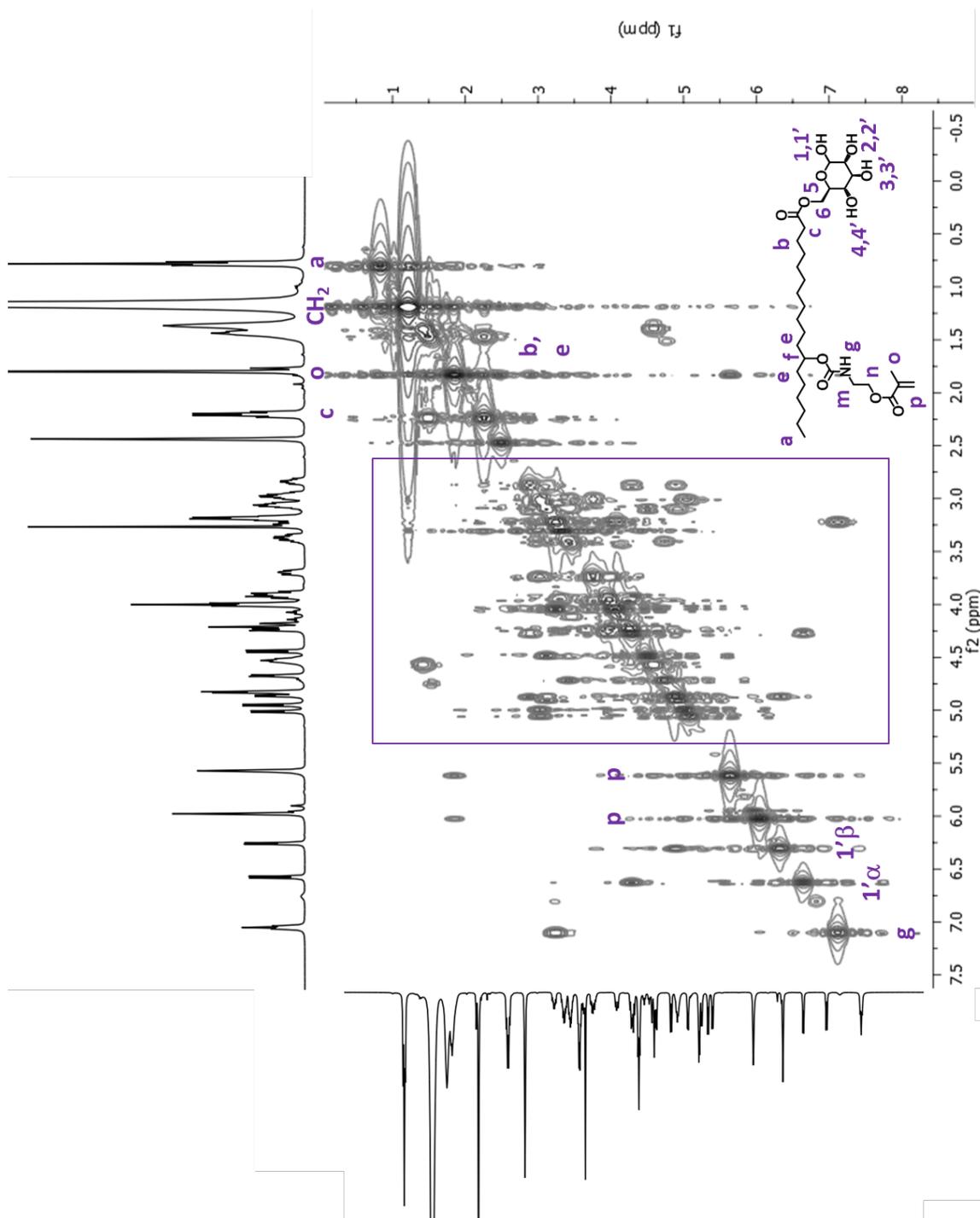


Figure 5 - Spectre RMN COSY dans le d_6 -DMSO du MASG.
 Un grossissement de la partie encadré est proposé dans la Figure 6

Annexes

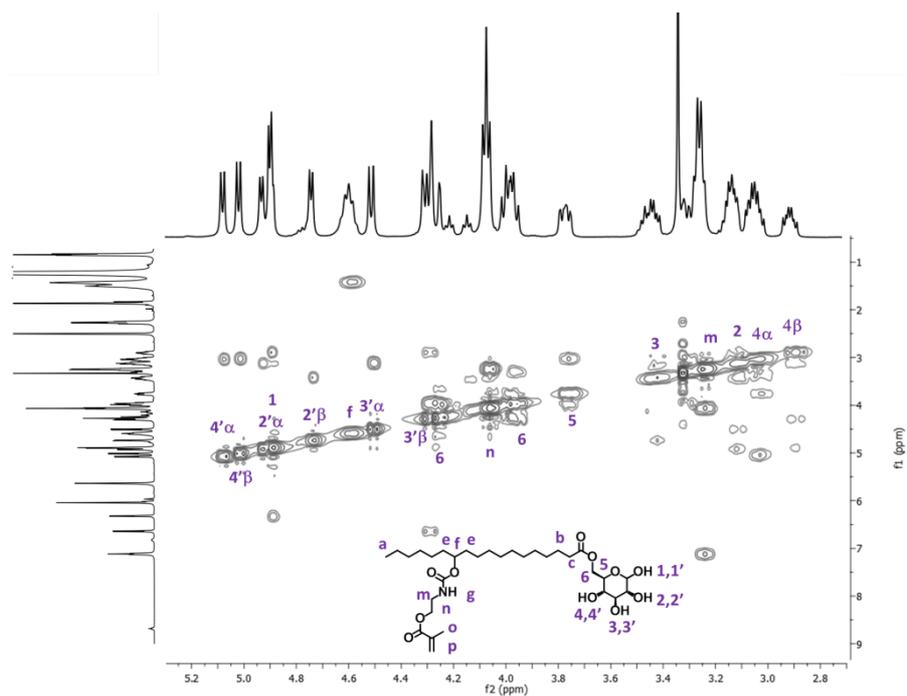


Figure 6 - Spectre RMN COSY dans le *d6*-DMSO du MASG : grossissement entre 3,7 et 5,3 ppm

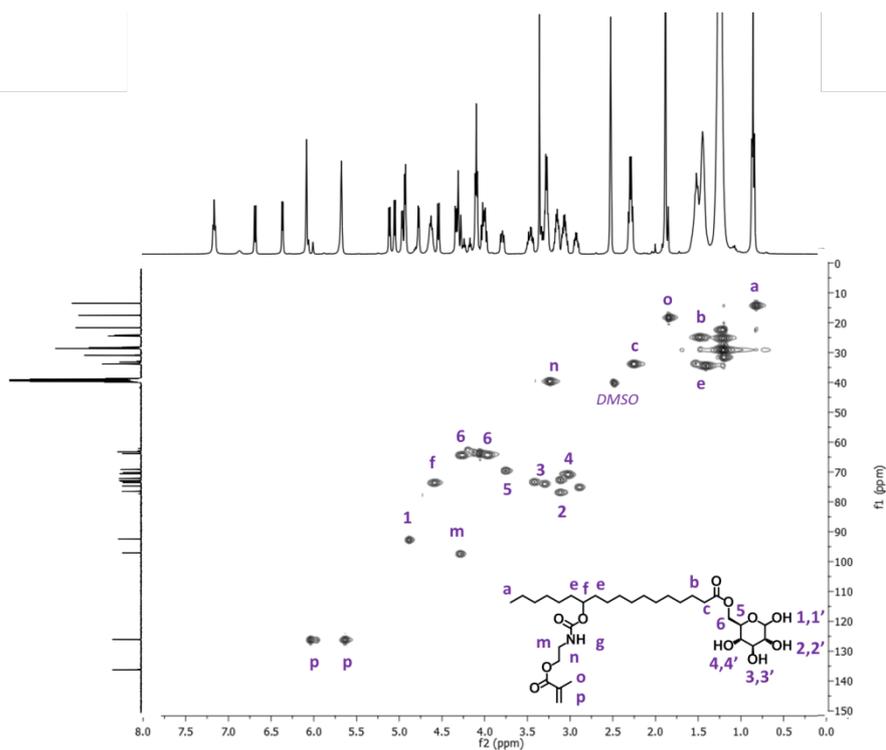


Figure 7 - Spectre RMN HSQC dans le *d6*-DMSO du MASG

ANNEXE 2 – METHODE DE CALCUL DES CONVERSIONS PAR RMN ¹H

1. Calcul des conversions en glycolipides

La méthode de calcul des conversions en glycolipides lors de la trans-estérification d'un ester de vinyle par le glucose est détaillée en prenant pour exemple la synthèse du glucose de 6-O-palmitate, dont le schéma réactionnel est rappelé ci-dessous :

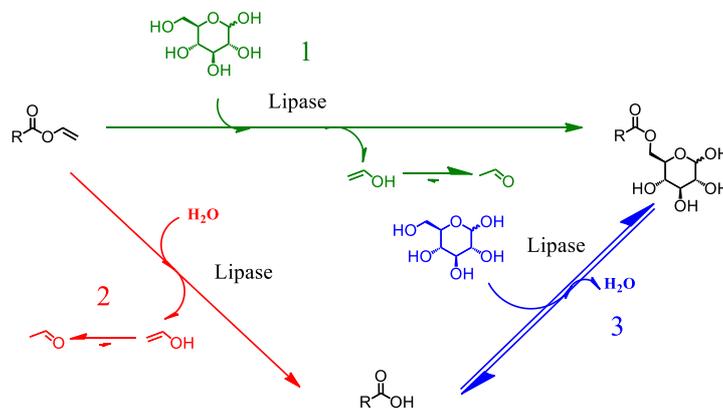


Schéma 1 - Synthèse de glycolipides à partir de glucose et d'un ester de vinyle

La Figure 8 expose les spectres RMN ¹H dans le d₆-DMSO du palmitate de vinyle, de l'acide palmitique, du 6-O-glucose palmitate et du mélange réactionnel après 16 heures d'agitation en présence de CALB. Toutes les attributions ont été vérifiées par RMN 2D (COSY, HSQC et HMBC). Tous les signaux et leurs attributions sont classés dans le Tableau 1.

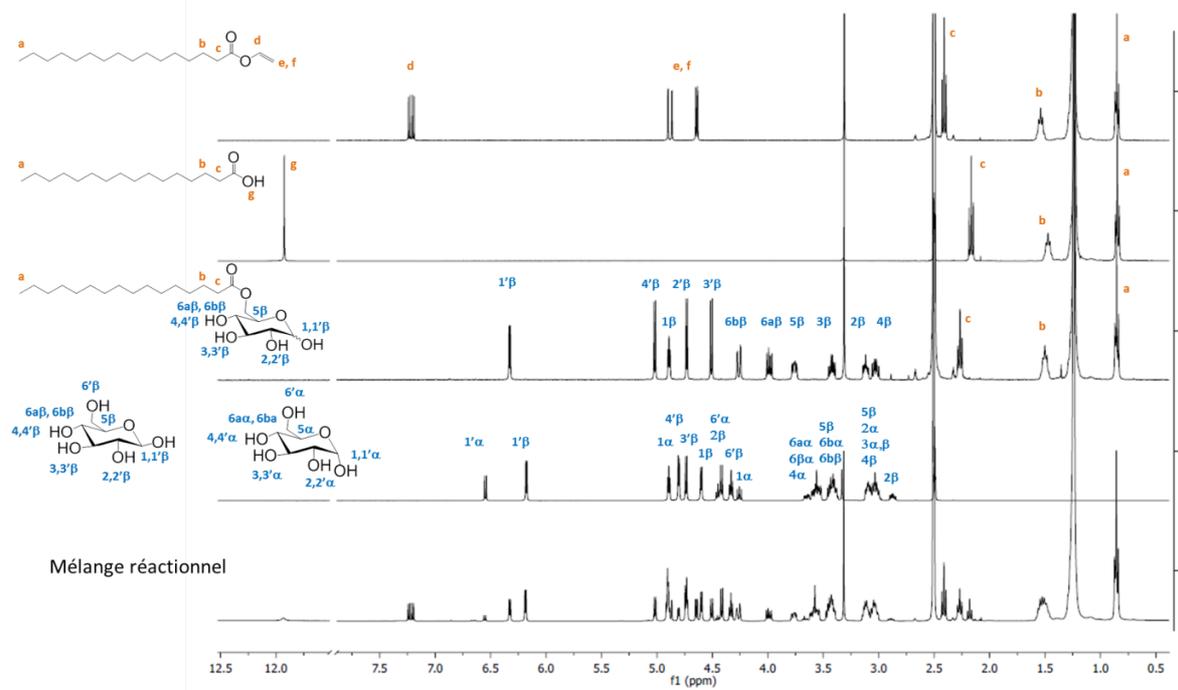


Figure 8 – Comparaison des spectres RMN ¹H dans le DMSO – De haut en bas : palmitate de vinyle, acide palmitique, palmitate de 6-O-glucose, glucose, mélange réactionnel après environ 16 heures d'agitation dans l'acétonitrile à 45°C en présence de CALB

Annexes

δ (ppm)	Palmitate de vinyle	Acide palmitique	Glucose	Palmitate de 6-O-glucose
0,85	CH ₃	CH ₃		
1,14-1,34	CH ₂ chaîne alkyle	CH ₂ chaîne alkyle		CH ₂ chaîne alkyle
1,54	CH₂-CH₂-CO	CH₂-CH₂-CO		CH₂-CH₂-CO
2,17		CH₂-CO		
2,26				CH₂-CO
2,41	CH₂-CO			
2,89			H2 β	
3,04				H4
3,10				H2
3,42			H5 α , H6b α , H6b β	H3
3,57			H4 α , H6a β	
3,66			H6a α	
3,76				H5
3,99				H6a
4,26			H1 β	H6b
4,33			H6' β	
4,41			H2' β	
4,45			H6' α	
4,50				
4,56	CH₂=CH			
4,60			H3' β	
4,73				H3'
4,74			H4' β	
4,80			H2' α , H3' α , H4' α	
4,86	CH₂=CH			
4,90			H1 α	H1
5,01				H4' β
5,07				H4' α
6,18			H1' β	
6,33				H1' β
6,55			H1' α	
6,64				H1' α
7,21	CH=CH₂			
11,93		COOH		

Tableau 1 – Liste des déplacements chimiques observés sur le spectre RMN ¹H dans le d6-DMSO du milieu réactionnel lors de la transestérification du palmitate de vinyle par le glucose

Les pourcentages de palmitate de vinyle, d'acide palmitique et de palmitate de 6-O-glucose ont été calculés à partir des Equations (1), (2) et (3) suivantes. I représente les valeurs des intégrations des signaux correspondants sur le spectre RMN du mélange réactionnel. Les intégrations ont été calculées en fixant $I_{0.85 \text{ ppm}} = 3$.

$$\%VP = \frac{\frac{1}{2} * (0.5 I_{2.41 \text{ ppm}} + I_{7.21 \text{ ppm}})}{\frac{1}{2} * (0.5 I_{2.41 \text{ ppm}} + I_{7.21 \text{ ppm}}) + \frac{1}{2} * (0.5 I_{2.17 \text{ ppm}} + I_{11.93 \text{ ppm}}) + \frac{1}{7} * (0.5 I_{2.26 \text{ ppm}} + I_{3.76 \text{ ppm}} + I_{3.99 \text{ ppm}} + I_{5.01 \text{ ppm}} + I_{5.07 \text{ ppm}} + I_{6.33 \text{ ppm}} + I_{6.64 \text{ ppm}})} \quad (1)$$

$$\%PA = \frac{\frac{1}{2} * (0.5 I_{2.17 \text{ ppm}} + I_{11.93 \text{ ppm}})}{\frac{1}{2} * (0.5 I_{2.41 \text{ ppm}} + I_{7.21 \text{ ppm}}) + \frac{1}{2} * (0.5 I_{2.17 \text{ ppm}} + I_{11.93 \text{ ppm}}) + \frac{1}{7} * (0.5 I_{2.26 \text{ ppm}} + I_{3.76 \text{ ppm}} + I_{3.99 \text{ ppm}} + I_{5.01 \text{ ppm}} + I_{5.07 \text{ ppm}} + I_{6.33 \text{ ppm}} + I_{6.64 \text{ ppm}})} \quad (2)$$

$$\%GP = \frac{\frac{1}{7} * (0.5 I_{2.26 \text{ ppm}} + I_{3.76 \text{ ppm}} + I_{3.99 \text{ ppm}} + I_{5.01 \text{ ppm}} + I_{5.07 \text{ ppm}} + I_{6.33 \text{ ppm}} + I_{6.64 \text{ ppm}})}{\frac{1}{2} * (0.5 I_{2.41 \text{ ppm}} + I_{7.21 \text{ ppm}}) + \frac{1}{2} * (0.5 I_{2.17 \text{ ppm}} + I_{11.93 \text{ ppm}}) + \frac{1}{7} * (0.5 I_{2.26 \text{ ppm}} + I_{3.76 \text{ ppm}} + I_{3.99 \text{ ppm}} + I_{5.01 \text{ ppm}} + I_{5.07 \text{ ppm}} + I_{6.33 \text{ ppm}} + I_{6.64 \text{ ppm}})} \quad (3)$$

2. Calcul des conversions des monomères AcV, SVSG, et SVRG

Les conversions de l'AcV et du SVSG lors de la synthèse d'un copolymère de type $p(\text{AcV}_n\text{-SVSG}_p)$ sont déterminées à partir des intégrations des signaux caractéristiques des protons vinyliques résiduels. Les signaux correspondants de l'AcV et du SVSG étant superposés, deux spectres RMN sont nécessaires au calcul de leurs conversions respectives : un spectre RMN ^1H du milieu réactionnel brut et un spectre RMN ^1H du milieu après évaporation de l'AcV résiduel et du THF. Les intégrations des signaux vinyliques sont notées $I_{\text{vinyl}}(\text{brut})$ et $I_{\text{vinyl}}(\text{sec})$. Ces derniers doivent être intégrés par rapport à un signal de référence afin de les relier aux conversions correspondantes. C'est l'intégration du signal caractéristique du groupement $-\text{CH}_3$ terminal de la chaîne grasse du SVSG, dont la valeur a été fixée à $3p$, qui a été choisie comme référence. (Figure 9)

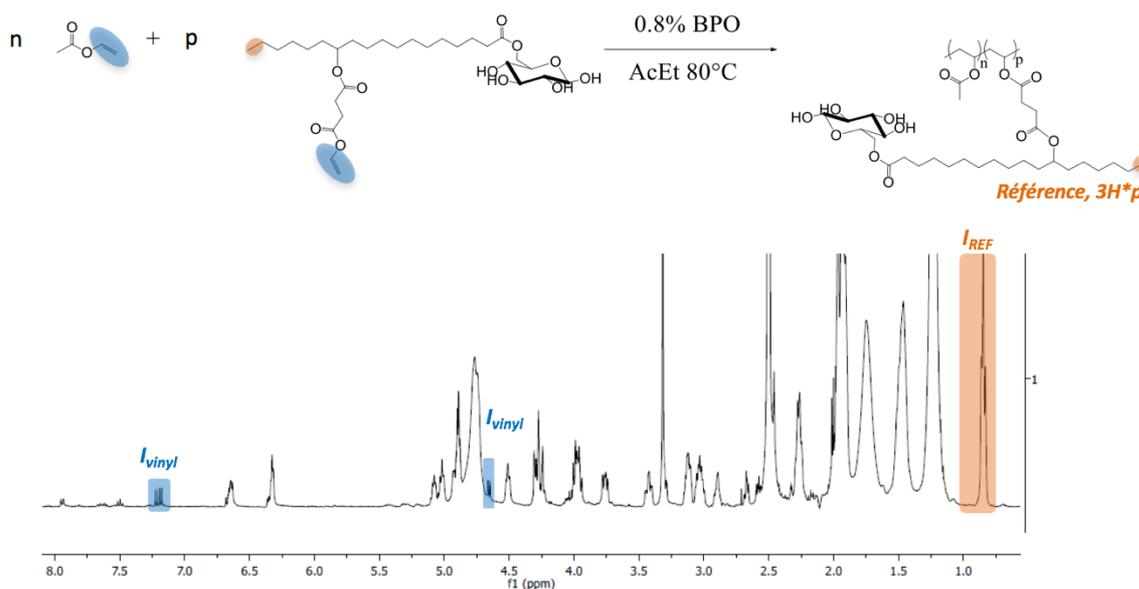


Figure 9 - Calcul des conversions de l'AcV et du SVSG à partir de spectres RMN ^1H dans le d_6 -DMSO

Les conversions de l'AcV et du SVSG sont alors déterminée à partir des Equations (4) et (5) :

$$\text{Conversion SVSG} = p - I_{\text{vinyl}(\text{sec})} \quad (4)$$

$$\text{Conversion AcV} = n - (I_{\text{vinyl}(\text{brut})} - I_{\text{vinyl}(\text{sec})}) \quad (5)$$

3. Calcul des conversions des monomères MAM, MASG et MARG

Les conversions du MAM et du MASG lors de la synthèse d'un copolymère de type $p(\text{MAM}_n\text{-MASG}_p)$ sont déterminées à partir d'un spectre RMN ^1H du milieu réactionnel brut à l'aide des intégrations des signaux caractéristiques des protons méthacrylates résiduels autour de 5,7 et 6,0 ppm, notées I_{MAM} et I_{MASG} . Ces derniers sont intégrés par rapport au signal du groupement $-\text{CH}_2-$ en α de la fonction ester de glucose du MASG, dont l'intégration est notée I_{REF} . (Figure 10)

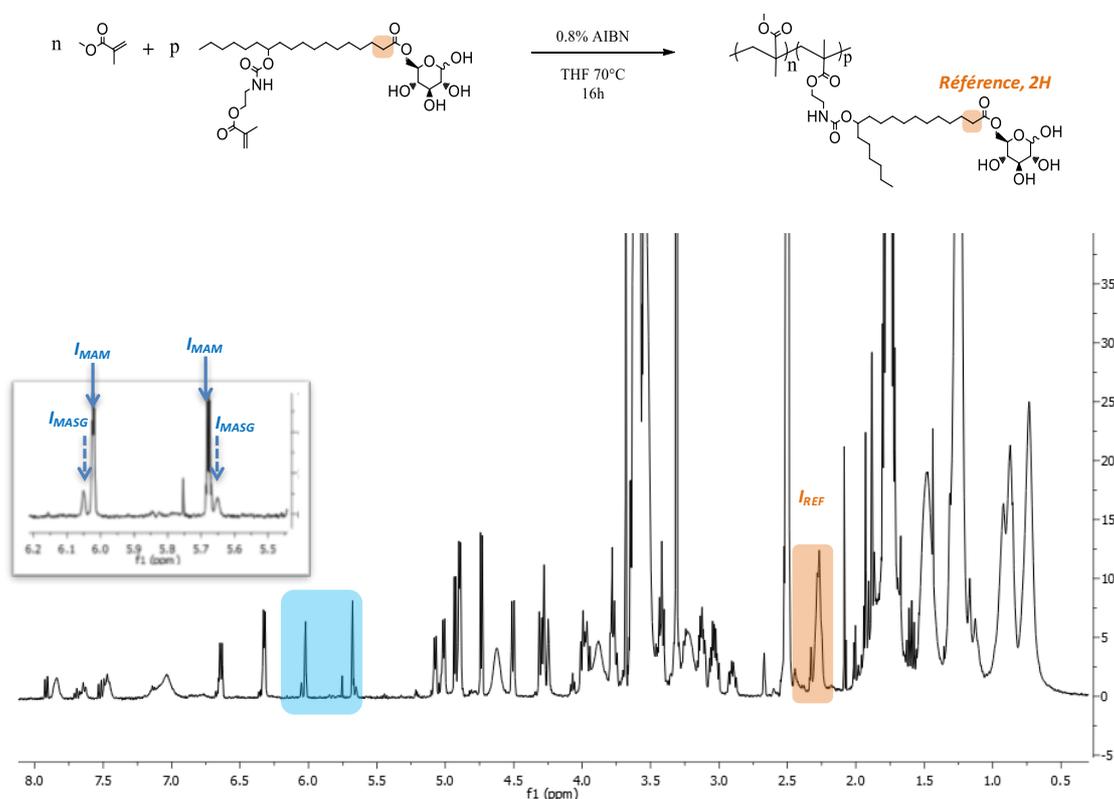


Figure 10 – Calcul des conversions de MAM et de MASG à partir du spectre RMN ^1H du milieu réactionnel brut dans le d_6 -DMSO

Les conversions des deux monomères sont alors obtenues à partir des Equations (6) et (7) :

$$\text{Conversion MASG} = 100 * \frac{[\text{MASG}]_0 - [\text{MASG}]_{\text{res}}}{[\text{MASG}]_0} = 100 * \frac{I_{\text{REF}} - I_{\text{MASG}}}{I_{\text{REF}}} \quad (6)$$

$$\text{Conversion MAM} = 100 * \frac{[\text{MAM}]_0 - [\text{MAM}]_{\text{res}}}{[\text{MAM}]_0} = 1 - \frac{p}{n} * (1 - \text{Conversion MASG}) * \frac{I_{\text{MAM}}}{I_{\text{MASG}}} \quad (7)$$

ANNEXE 3 : PROCEDURES DE SECHAGE DES SOLVANTS

Le Tableau 2 répertorie les procédés de séchage appliqués pour chaque solvant. Le cyclohexane, le DMSO et le DMF ont été séchés à travers une colonne d'alumine et utilisés directement sans purification supplémentaire. Les autres solvants ont été cryodistillés après 72 heures d'agitation en présence d'un agent desséchant. Tous les solvants ont été utilisés directement après purification.

Solvant	1 ^{er} séchage	2 ^{ème} séchage	3 ^{ème} séchage
Acétone	72h sur CaSO ₄	72h sur tamis moléculaire 3Å	-
Acetonitrile	72h sur P ₂ O ₅	72h sur tamis moléculaire 3Å	-
<i>tert</i> -Butanol	72h sur CaSO ₄	24h sur Na/benzophénone	72h sur tamis moléculaire 3Å
Cyclohexane	Passage à travers une colonne d'alumine	-	-
Dichlorométhane	72h sur CaH ₂	-	-
DMSO	Passage à travers une colonne d'alumine	-	-
DMF	Passage à travers une colonne d'alumine	-	-
Dioxane	72h sur CaH ₂	-	-
THF	72h sur Na/benzophénone	72h sur tamis moléculaire 3Å	-

Tableau 2 - Procédures de séchage employées pour chaque solvant

ANNEXE 4 – CALIBRATIONS HPLC

1. Mesures de solubilité du glucose dans divers solvants

Les solubilités maximales du glucose dans le dioxane, l'acétone, le THF, l'acétonitrile et le *tert*-butanol ont été déterminées par HPLC à partir d'une courbe de calibration, préalablement déterminée à partir de six solutions aqueuses de glucose de concentrations connues. (Tableau 3) L'évolution de l'aire du pic d'éluion du glucose a été tracée en fonction de la concentration en glucose des échantillons. (Figure 11) La relation entre l'aire mesurée (A_G) et la concentration correspondante (m_G) a été déterminée par régression linéaire grâce à l'Equation (8).

Echantillon	Concentration (mg/mL)	Volume injecté (μ L)	Masse correspondante (mg)	Aire mesurée (pA*min)
1	1,50	10	0,015	13,7513
2	1,25	10	0,0125	11,818
3	1,00	10	0,01	9,6187
4	0,75	10	0,0075	7,169
5	0,50	10	0,005	5,1782
6	0,25	10	0,0025	2,541

Tableau 3 – Aires des pics d'éluion du glucose mesurées par HPLC sur six solutions de concentrations connues

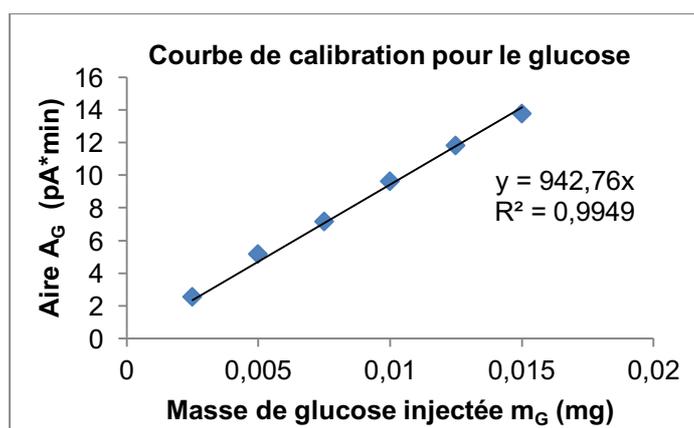


Figure 11 – Courbe de calibration déterminée par HPLC pour le glucose

$$A_G = 942,76 * m_G \quad (8)$$

Afin de déterminer les solubilités maximales du glucose dans les solvants étudiés, pour chaque solvant, trois échantillons de solution saturée en glucose ont été préparés et laissés sous agitation à température ambiante pendant 24 heures. Les solutions ont été filtrées sur un filtre en cellulose de porosité 0,45 μm puis analysées par HPLC. Pour chaque échantillon, l'aire du pic d'éluion du glucose a été mesurée et la concentration correspondante calculée à partir de l'Equation 8. Les résultats obtenus sont exposés dans le Tableau 4 ci-dessous.

Solvant	Echantillon	Volume injecté (μL)	Aire ($\text{pA}\cdot\text{min}$)	Masse de glucose (mg)	Concentration (mg/mL)	Concentration moyenne	
						mg/mL	mM
Acétone	1	50	12,78	0,014	0,27	0,27	1,49
	2	50	12,55	0,013	0,27		
tert-Butanol	1	50	45,27	0,048	0,96	0,95	5,25
	2	50	43,89	0,047	0,93		
	3	50	44,52	0,047	0,94		
Acétonitrile	1	50	3,94	0,004	0,08	0,09	0,50
	2	50	3,85	0,004	0,08		
	3	50	5,00	0,005	0,11		
THF	1	50	20,05	0,021	0,43	0,43	2,40
	2	50	19,10	0,020	0,41		
	3	50	22,06	0,023	0,47		
Dioxane	1	50	33,73	0,036	0,72	0,70	3,90
	2	50	32,11	0,034	0,68		
	3	50	33,48	0,036	0,71		

Tableau 4 – Solubilités maximales du glucose à 25°C dans différents solvants déterminées par HPLC

2. Mesures de solubilité des glycolipidiques par HPLC dans divers solvants

Des courbes de calibration ont été déterminées par HPLC pour les glycolipides C10, C12, C14, C16 et C18 : cinq solutions de concentrations connues de chaque glycolipide dans le DMSO ont été préparées et injectées en HPLC. Les aires des pics d'éluion ont été mesurées pour chaque échantillon et les courbes de calibration correspondantes sont présentées dans la Figure 12. Pour chaque glycolipide, la relation entre l'aire mesurée et la concentration correspondante ont été déterminées par régression linéaire. (Equations 9 à 13)

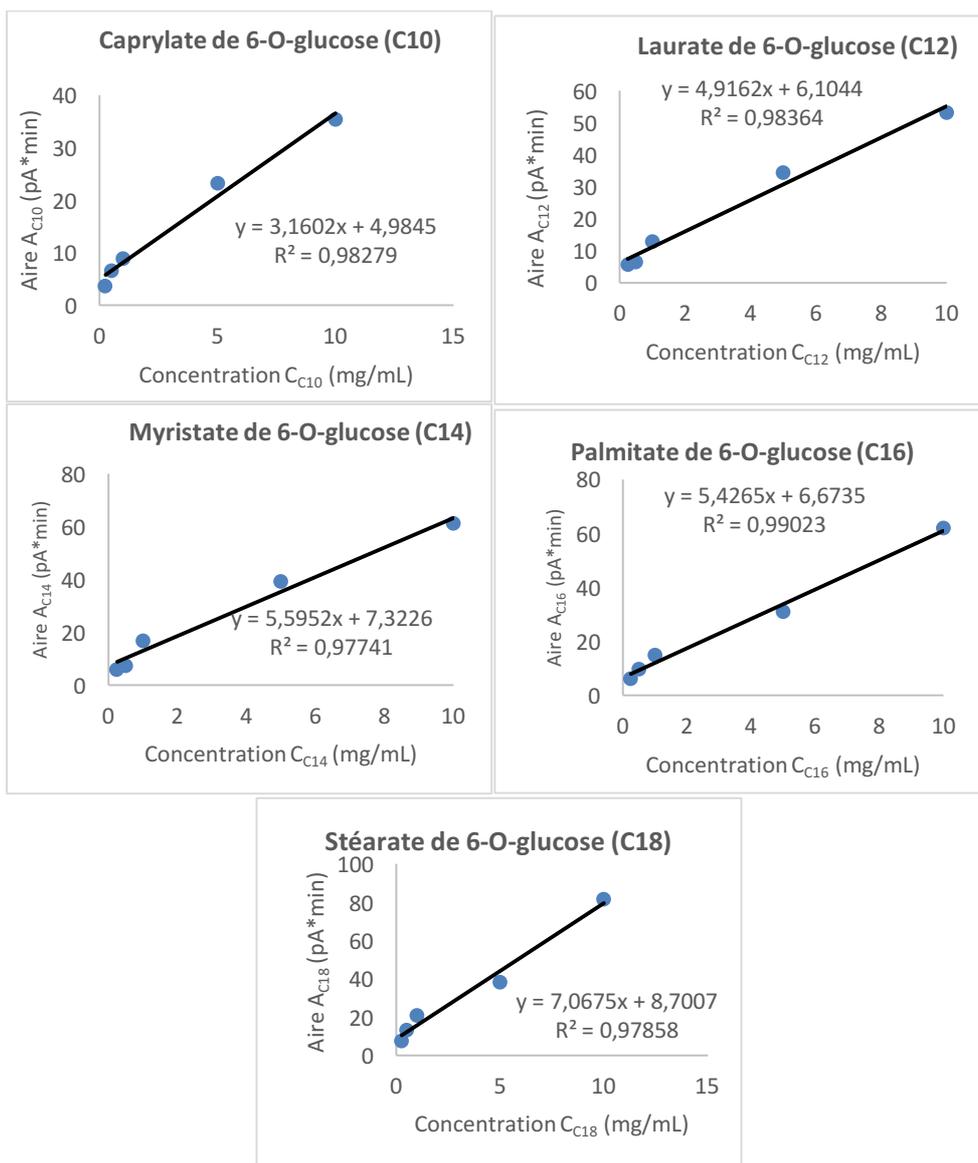


Figure 12 – Courbes de calibrations déterminées par HPLC pour les glycolipides C10, C12, C14, C16 et C18

$$A_{C_{12}} = 3,1602 * C_{C_{10}} \quad (9)$$

$$A_{C_{12}} = 4,916 * C_{C_{12}} \quad (10)$$

$$A_{C_{14}} = 5,5952 * C_{C_{14}} \quad (11)$$

$$A_{C_{16}} = 5,4265 * C_{C_{16}} \quad (12)$$

$$A_{C_{18}} = 7,0675 * C_{C_{18}} \quad (13)$$

Les solubilités à 25°C dans l'acétonitrile de ces quatre glycolipides ont été déterminées suivant le même procédé que pour le glucose. Les solubilités maximales du palmitate de 6-O-glucose dans l'acétone, le tert-butanol, le dioxane et le THF ont également été déterminées. Les résultats obtenus sont présentés dans les Tableaux 5 et 6.

Glycolipide	Volume injecté (μL)	Aire (pA*min)	Concentration	
			mg/mL	mM
C10	50	16,720	5,291	26,68
C12	50	7,646	1,555	6,85
C14	50	2,827	0,505	1,99
C16	50	1,061	0,17	0,60
C18	50	0,564	0,080	0,26

Tableau 5 - Solubilités maximales à 25°C des glycolipides C10, C12, C14, C16 et C18 dans l'acétonitrile

Glycolipide	Volume injecté (μL)	Aire (pA*min)	Concentration	
			mg/mL	mM
Acétone	50	7,662	1,21	2,9
tert-Butanol	50	24,796	3,93	9,4
Acétonitrile	50	1,061	0,17	0,41
THF	50	21,143	3,35	0,80
Dioxane	50	15,461	2,45	0,59

Tableau 6 - Solubilités maximales à 25°C du palmitate de 6-O-glucose dans divers solvants organiques

ANNEXE 5 – SYNTHÈSE DU SVEMSG

1. Synthèse du donneur d'acyle SVEMSV

Le SVEMSV est synthétisé en trois étapes à partir de l'acide oléique. (Schéma 2)

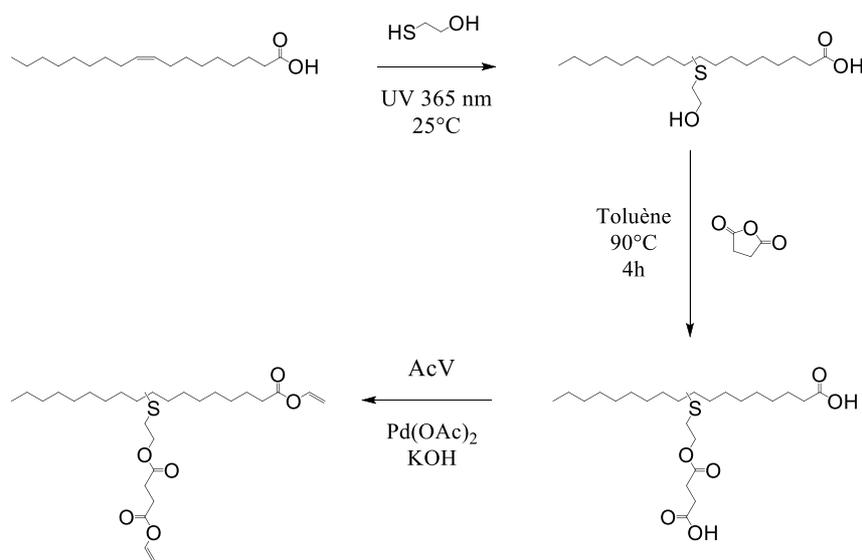


Schéma 2 – Synthèse du SVEMSV en trois étapes à partir d'acide oléique

La réaction thiol-ène entre l'acide oléique et le mercaptoéthanol a été réalisée dans les conditions mises au point par Auvergne et al. (1; 2) La réaction est amorcée par irradiation UV de longueur d'onde 365 nm. Après 3 heures d'agitation, le mélange réactionnel est dissous dans du dichlorométhane et extrait deux fois consécutives par de l'eau distillée puis par une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium. La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée et concentrée à l'évaporateur rotatif. Un mélange d'acide 9-(mercaptoéthyle)-stéarique et d'acide 10-(mercaptoéthyle)-stéarique est obtenu avec un rendement de 100%. Ce mélange sera par la suite utilisé comme tel et nommé simplement **acide (mercaptoéthyle)-stéarique** (EMSA).

L'EMSA ainsi formé est ensuite acylé par l'anhydride succinique dans les conditions de Domb et al. décrites dans le Chapitre 3 pour conduire au **diacide (mercaptoéthyle-succinique)-stéarique** (SAEMSA). L'alcool primaire étant plus réactif que l'alcool secondaire de l'acide ricinoléique et du 12HSA, une acylation totale est observée après seulement 4 heures de réaction. Le **diacide (mercaptoéthyle-succinique)-stéarique** (SEMSA) est isolé sous la forme d'une huile jaunâtre extrêmement visqueuse avec un rendement de 80%.

Enfin, la double transvinylation du SEMSA, catalysée par l'acétate de palladium en présence d'hydroxyde de potassium, conduit au **(succinate de vinyle de mercaptoéthyle)-stéarate de vinyle**

SVEMSV. Le taux de transvinylation obtenu est de 95%. Le SVEMSV est filtré sur lit de Célite pour éliminer le palladium métallique et est isolé avec un rendement de 90%.

La réussite de chaque étape de synthèse a été confirmée par RMN ^1H : les spectres RMN de l'EMSA, du SAEMSA et du SVEMSV sont exposés dans la Figure 13 ci-dessous.

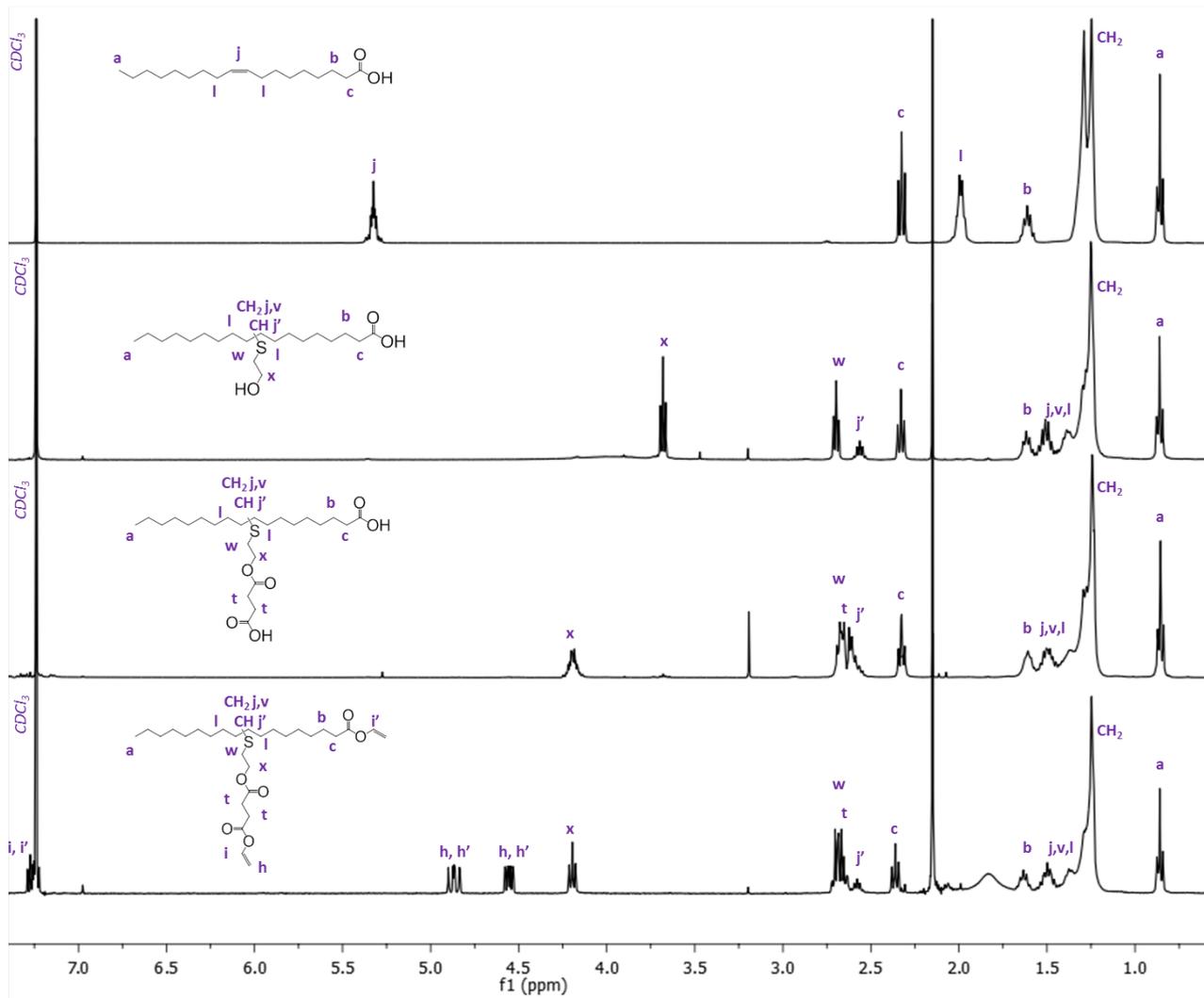


Figure 13 - Superposition de spectres RMN dans le CDCl_3 ; de haut en bas : acide oléique, EMSA, SAEMSA, SVEMSV

2. Glycosylation du SVEMSV

Cette dernière étape de synthèse consiste à trans-estérifier la fonction stéarate de vinyle du SVEMSV afin d'introduire le groupement glycoside, tout en conservant le groupement succinate de vinyle intact. (Schéma 3)

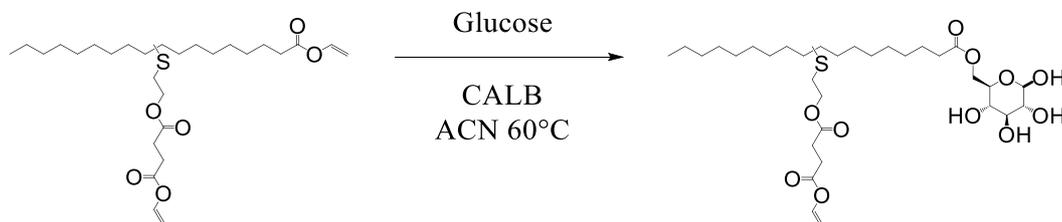


Schéma 3 - Acylation du glucose par le SVEMSV catalysée par la CALB

Nous avons mis en exergue dans le Chapitre 2 une préférence de la CALB pour les donneurs d'acyles à plus longue chaîne. Lors de la synthèse du SVSG, décrite dans le Chapitre 3, cette sélectivité vis-à-vis de la fonction stéarate de vinyle n'avait pas posé de problème : la ramification portant la fonction stéarate de vinyle faisait 12 carbones alors que celle portant la fonction succinate de vinyle n'en faisait que 5. En revanche dans le cas du SVESMV, cette différence de taille est beaucoup plus faible. (Schéma 4) La fonction succinate de vinyle est donc également à même d'être trans-estérifiée par le glucose.

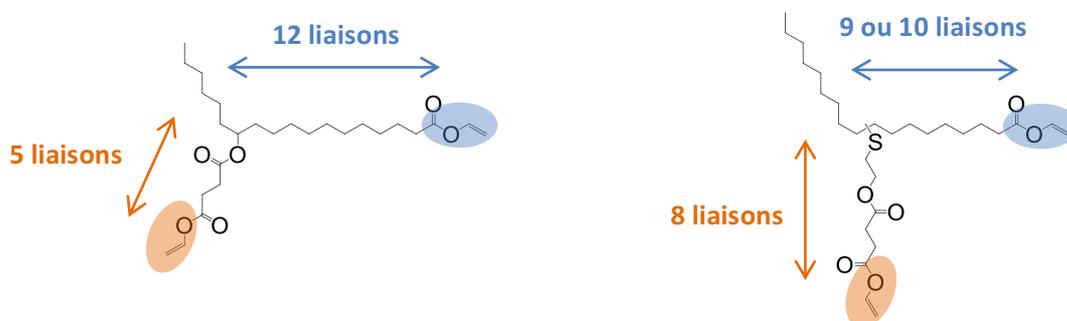


Schéma 4 - Structures du SVSG (gauche) et du SVEMSV (droite)

Les deux fonctions esters de vinyle du SVESMV étant réactives, le schéma réactionnel global lors de sa trans-estérification par le glucose catalysée par la CALB est exposé dans le Schéma 5 : le milieu réactionnel est alors composé de neuf composés différents (en plus de glucose).

Annexes

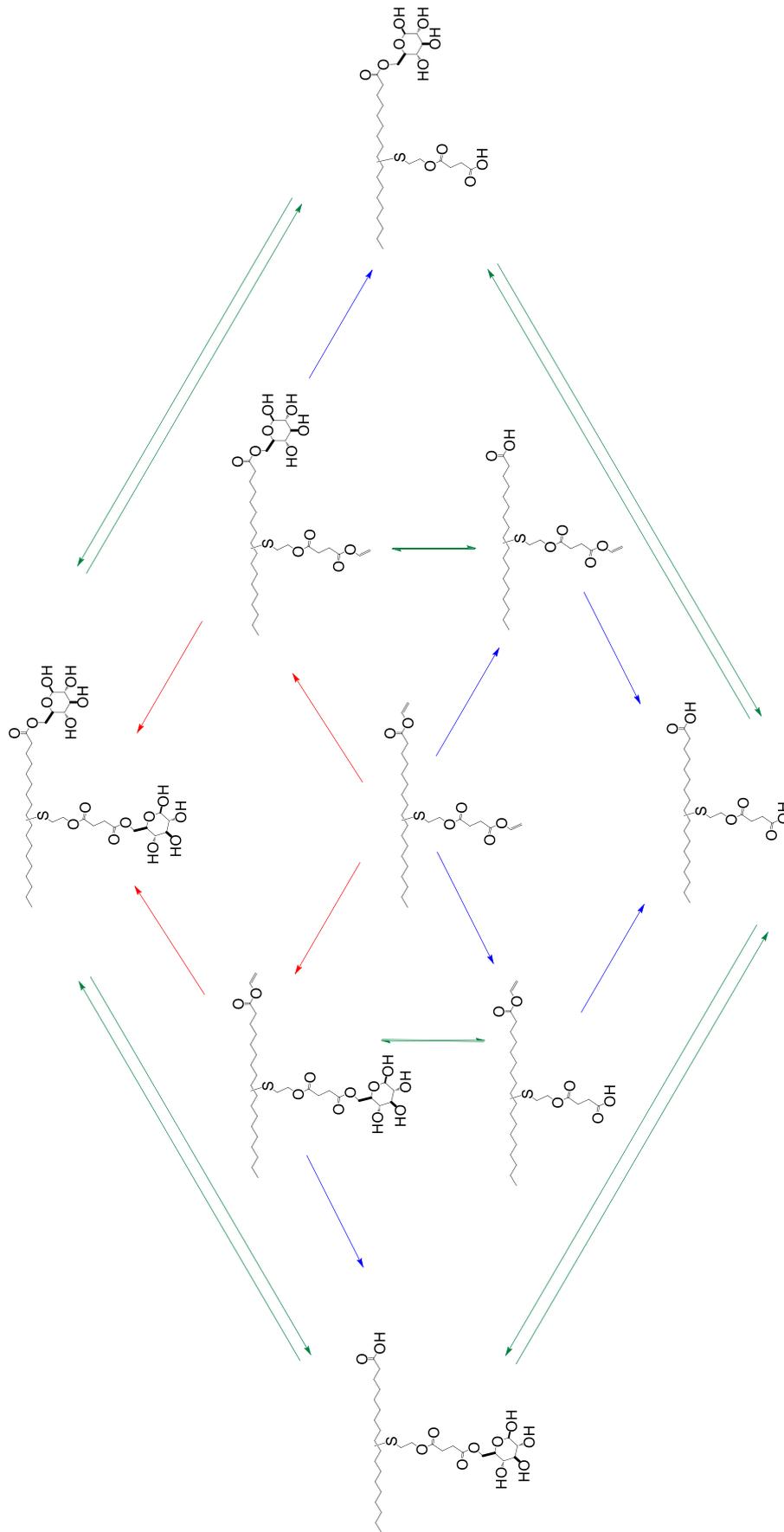


Schéma 5 - Schéma réactionnel de la trans-estérification du SVEMSV par le glucose catalysée par la CALB

Afin d'optimiser la composition du milieu réactionnel, nous avons fait varier les quantités de glucose et de CALB. Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 7 ci-dessous.

Entrée	Glucose (eqs)	CAL B (%wt/wt)	Groupement stéarate		Groupement succinate			
			Vinyle	Acide	Glucose	Vinyle	Acide	Glucose
1	1	3,5	15,2%	7,0%	77,8%	83%	-	17%
2	1	7	6,0%	10,1%	83,9%	88%	-	12%
3	2	3,5	7,4%	7,0%	82,6%	81%	-	19%
4	2	7	0	26%	74%	85%	-	15%
5	1,5	7	<5%	6,3%	>95%	88%	-	12%

Tableau 7 - Influence du nombre d'équivalents de glucose et de la quantité de CALB injectée sur la composition du milieu réactionnel lors de la trans-estérification du SVEMSV

Quelles que soient les conditions appliquées, la trans-estérification du groupement stéarate reste largement majoritaire : de 74 à 95% de ce groupement est glycosylé, contre seulement de 12 à 19% du groupement succinate. Etrangement, aucune hydrolyse du groupement succinate n'a été observée.

Les conditions favorisant le mieux la formation du SVEMSG consistent à trans-estérifier le SVEMSV par 1,5 eqs de glucose en présence de 7% wt/wt de CALB. L'analyse du milieu réactionnel brut après 40 heures de réaction permet d'identifier les groupements stéarate de 6-O-glucose, succinate de 6-O-glucose et succinate de vinyle. Le milieu réactionnel est solubilisé dans du dichlorométhane et filtré afin d'éliminer le glucose résiduel et la CALB. Le filtrat est concentré à l'évaporateur rotatif et purifié par chromatographie flash (phase éluante : dichlorométhane:acétate d'éthyle:méthanol). Le (**succinate de vinyle de mercaptoéthyle**)-stéarate de 6-O-glucose (SEMSG) est isolé avec une pureté supérieure à 95% et un rendement de 82%. Le rendement global de la synthèse du SVEMSG par rapport à l'acide oléique s'élève donc à 59%. Le spectre RMN ¹H du SEMSG après purification est présenté dans la Figure 14.

Annexes