



HAL
open science

Elaboration en phase fondue de matériaux polymères à activité biologique

Kedafi Belkhir

► **To cite this version:**

Kedafi Belkhir. Elaboration en phase fondue de matériaux polymères à activité biologique. Polymères. Université de Lyon, 2017. Français. NNT : 2017LYSES006 . tel-02102608

HAL Id: tel-02102608

<https://theses.hal.science/tel-02102608>

Submitted on 17 Apr 2019

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.



N°d'ordre NNT : LYSES006

THESE de DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LYON
opérée au sein du
Laboratoire d'Ingénierie des Matériaux Polymères, Université Jean Monnet

Ecole Doctorale N° 488
Science, Ingénierie, Santé

Spécialité de doctorat : Chimie et Science des Matériaux Polymères

Soutenue publiquement le 29/03/2017, par :
Kedafi BELKHIR

**Elaboration en phase fondue de matériaux polymères à
activité biologique**

Devant le jury composé de :

CARROT Christian	Professeur. Université Jean Monnet, Saint-Etienne. France	Examineur
OULAHAL Nadia	Maître de conférences, HDR. Université Lyon 1, France.	Rapporteur
BOKIAS Georgios	Professeur. Université de Patras, Grèce.	Rapporteur
BEYOU Emmanuel	Professeur. Université Claude Bernard Lyon 1.	Examineur
TAHA Mohamed	Professeur. Université Jean Monnet, Saint-Etienne. France.	Directeur de thèse
JEGAT Corinne	Maître de conférences, HDR. Université Jean Monnet, Saint-Etienne, France.	Co-
directrice de thèse		

Remerciements

Les travaux de cette thèse ont été réalisés au laboratoire d'Ingénierie des Matériaux Polymères IMP UMR 5223 CNRS de l'université Jean Monnet de Saint-Etienne. Elle a été financée par le Ministère Français de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche (MESR ENS 2013-311). Un stage de trois mois a été également effectué au Laboratoire de Recherche en Sciences appliquées à l'Alimentation (RESALA), INRS-Institut Armand-Frappier, à Laval, Québec, Canada. Ce dernier ayant bénéficié d'une aide à la mobilité internationale de la part de l'université Jean Monnet de Saint-Etienne, ainsi que d'un financement de la part du Programme Avenir Lyon Saint-Etienne (PALSE).

Je remercie madame Nadia OULAHAL, maître de conférences, et monsieur Georges BOKIAS, Professeur, d'avoir accepté de rapporter ce travail de thèse.

Je tiens également à remercier monsieur Emmanuel BEYOU, Professeur, d'avoir accepté de participer à ce jury de thèse.

Je remercie le professeur Christian CARROT de m'avoir accueilli dans son laboratoire et de m'avoir accordé la chance d'effectuer mes travaux de recherche au sein de son équipe pluridisciplinaire et riche en compétences, ainsi que l'occasion de participer à de nombreuses manifestations scientifiques. Je le remercier également d'avoir accepté de participer à ce jury de thèse.

Mes remerciements s'adressent également au professeur Mohamed TAHA, mon directeur de thèse, pour tout ce que j'ai pu apprendre de lui, son large champ de savoir et son expérience tant dans le domaine des polymères que sur divers sujets, ses précieux conseils, son orientation qui m'a permis d'avancer et de franchir de nombreux obstacles, sa présence à mes côtés pour me guider non seulement sur le plan scientifique mais également sur des sujets de la vie courante, un directeur duquel j'ai pu acquérir une très grande expérience.

Je remercie aussi le docteur Corinne JEGAT, ma co-directrice de thèse, qui m'a aidé et orienté sans réserve dans toutes les étapes de ma thèse, j'ai pu bénéficier de son encadrement pour mener mes expériences vers les meilleurs résultats, son encouragement, son soutien, ses conseils et ses corrections lors de la rédaction de mes publications et de mon manuscrit de thèse, sa disponibilité dans des moments difficiles, l'expérience que j'ai pu acquérir grâce à elle dans le domaine de la recherche, dans l'enseignement supérieur et dans d'autres domaines.

Je tiens à remercier également le professeur Monique LACROIX ainsi que son équipe du laboratoire RESALA de l'institut Armand Frappier, Laval, Canada, de m'avoir accueilli durant mon stage, de m'avoir encadré sur un sujet qui m'était nouveau et de m'avoir permis de tirer profit de son expérience et de celle de son équipe.

Le professeur Jean-Charles MAJESTE pour son aide précieuse concernant les études rhéologiques menées durant ma thèse, et les connaissances que j'ai pu acquérir de lui dans ce domaine qui m'était nouveau.

Le docteur Frédéric PROCHAZKA pour son encadrement concernant la partie relative à la biodégradabilité, sa disponibilité, mais aussi son caractère humoristique qui motive et qui installe une ambiance positive et productive dans le travail.

Je remercie le docteur Tarik SADIK, mon ami et ancien collègue, une personne exceptionnelle, aux talents divers et variés (très variés...), son aide dans le domaine des polymères, de l'informatique, ces conseils précieux qui m'ont servi à maintes reprises au niveau administratif et en dehors du laboratoire, mais aussi tous les moments inoubliables passés sur Saint-Etienne.

Toute personne ayant participé de près ou de loin au bon déroulement de cette thèse, notamment les membres de l'équipe de l'IMP@UJM, Hang, Sirine, Dalila, Basak, Melinda, Nathalie, Caroline, Claude, Marie, Anouar, Hanna, Olivier et tous les autres, mais aussi les membres de l'équipe du laboratoire RESALA au Canada, Mohamed-Ali qui m'a beaucoup aidé, Stéphane, Madjid, Slim, Paola, Amina, Marie-Christine et tous les autres.

J'adresse mes remerciements à tous les membres de ma famille très nombreuse, mes parents pour leur soutien continu durant mes trois années de thèse, leur encouragement et leur fierté de moi, une raison qui m'a poussé à chercher toujours à aller plus loin. Mes frères et sœurs, Aziz, Razik, Zakia, Selmia, Kaissa, Malika ainsi que mes nièces et mes neveux. Je remercie aussi tous mes amis et toutes les personnes que j'aime, en Algérie et en France, Rafik, L'Yacine, Gérald, Mohand, Rachida, Pierrick, Salah, Salima, Houcine, Tinhinane, Farouk, Hafit, Katia et les autres.

Publications, congrès et conférences

Liste des publications

1. K. Belkhir, H. Shen, J. Chen, C. Jegat, M. Taha. Synthesis of Multi-Thiol Functionalized Polylactic Acid, Polyhydroxybutyrate and Polycaprolactone. *Eur. Poly. J.* 66 (2015) 290-300.
2. K. Belkhir, C. Jegat, M. Taha. Thiol–Ene Grafting from Polylactic Acid, Polycaprolactone, and Polyhydroxybutyrate. *React. Funct. Polym.* 101 (2016) 82-89.
3. K. Belkhir, C. Jegat, F. Prochazka, M. Taha. Quaternary Ammonium-Functionalized Polymers in Biodegradable Matrices: Physico-Chemical Properties, Morphology and Biodegradability. *J. Appl. Polym. Sci.* Soumise.
4. K. Belkhir, M. Lacroix, S. Salmieri, M. Jamshidian, C. Jegat, M. Taha. Antibacterial Activity of Branched Quaternary Ammonium Grafted Biodegradable Polymers. *Food Packaging and Shelf Life.* Soumise.
5. K. Belkhir, J.- C. Majesté, C. Jegat, M. Taha. Rheological Study of Quaternary Ammonium-Containing Star-Shaped Polylactic Acid. *Polymer.* Soumise.

Liste des communications et conférences

1. Congrès international : IUPAC-APME 2015. The International Union for Pure and Applied Chemistry – Advanced Polymers via Macromolecular Engineering. 18-22 Octobre 2015, Yokohama, Japon. Présentation orale.
2. Congrès international : PPS-32. 32nd International conference of Polymer Processing Society. 25-29 Juillet 2016, Lyon, France. Présentation orale.
3. Congrès national : GFP-2015. 44^{ième} colloque national du Groupe Français des Polymères. 23-26 Novembre 2015, Belvaux, Luxembourg. Présentation orale.
4. Congrès national : JEPO 2014. 42^{ième} session des Journées d'Etudes des Polymères. 12-17 Octobre 2014, Obernai, France. Présentation orale.
5. Atelier international : IMP Workshops. Processing and Applications of Polymer Foams. 2-3 Juillet 2015. Lyon-Villeurbanne, France. Auditeur.

6. Conférence internationale : Glass Transition : Physics, Chemistry and control of Materials properties. Organisée par la section locale du GFP Rhône-Alpes-Auvergne. Le 8 Octobre 2015. Villeurbanne, France. Auditeur.

7. Journées de l'école doctorale EDSIS 488 : le 12/06/2014, le 16/06/2015 et le 25/06/2016, présentation de poster.

Table des matières

INTRODUCTION GENERALE	9
CHAPITRE I ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	12
I.1. Introduction	13
I.2. Les polymères biodégradables	13
I.2.1. Généralités	13
I.2.2. Définition de la biodégradabilité d'un polymère	14
I.2.3. Intérêt de la biodégradabilité d'un polymère et compostage	16
I.2.4. Mesure de la biodégradabilité d'un polymère	17
I.3. Les structures polymères branchées	17
I.3.1. Généralités	17
I.3.2. Les polymères branchés, hyperbranchés et les dendrimères	18
I.3.3. Grandeurs structurales caractéristiques des polymères branchés	22
I.4. Les polymères multi-thiolés	24
I.4.1. Généralités	24
I.4.2. Synthèse et fonctionnalisation des polymères thiolés	27
I.4.3. Applications des polymères multi-thiolés	31
I.5. La réaction thiol-ene	32
I.5.1. Généralités	32
I.5.2. Le mécanisme radicalaire de l'addition thiol-ene	34
I.5.3. Addition thiol-ène de Michael	35
I.5.4. La télomérisation et la polymérisation radicalaire de type thiol-ène	37
I.5.5. La cinétique de la polymérisation radicalaire thiol-ène et la constante de transfert	39
I.6. Les polymères antibactériens	45
I.6.1. Généralités et définitions	45
I.6.2. Incorporation d'une activité antibactérienne dans un polymère	47
I.6.3. L'action antibactérienne des polymères	51
I.6.4. Le groupement ammonium quaternaire dans les polymères antibactériens	54
I.6.5. Mise en œuvre en phase fondue des polymères dotés de groupements ammoniums quaternaires	59
I.7. CONCLUSION	61

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	62
CHAPITRE II SYNTHÈSE DE POLYMERES BRANCHES MULTI-THIOLES	76
Synthesis of Multi-Thiol Functionalized Polylactic Acid, Polyhydroxybutyrate and Polycaprolactone	77
II.1. Introduction	78
II.2. Experimental	79
II.3. Results and discussion	86
II.4. Conclusion	99
II.5. References and notes	100
II.6. Supporting information	105
II.7. Abstract	109
CHAPITRE III GREFFAGE DE MONOMERES (METH)ACRYLIQUES SUR LES POLYMERES BRANCHES MULTI-THIOLES	110
Thiol-Ene Grafting from Polylactic Acid, Polycaprolactone and Polyhydroxybutyrate	111
III.1. Introduction	111
III.2. Experimental	112
III.3. Results and discussion	118
III.4. Conclusion	129
III.5. References	130
III.6. Supplementary information	133
III.7. Abstract	147
CHAPITRE IV ÉLABORATION ET CARACTERISATION DE MELANGES DE POLYMERES DOTES DE GROUPEMENTS AMMONIUMS QUATERNAIRES AVEC DES MATRICES BIODEGRADABLES EN PHASE FONDUE	148
Quaternary Ammonium-Functionalized Polymers in Biodegradable Matrices: Physico-chemical properties, Morphology and Biodegradability	150
IV.1. Introduction	150
IV.2. Experimental	151
IV.3. Results and discussion	157

IV.4.	Conclusion	168
IV.5.	References	169
IV.6.	Supporting information	172
IV.7.	Abstract	179

CHAPITRE V APPLICATION DES POLYMERES PORTANT DES GROUPEMENTS AMMONIUMS QUATERNAIRES COMME MATERIAUX ANTIBACTERIENS 180

Antibacterial Activity of Branched Quaternary Ammonium Grafted Biodegradable Polymers 181		
V.1.	Introduction	182
V.2.	Experimental section	185
V.3.	Results and discussion	191
V.4.	Conclusion	209
V.5.	References	211
V.6.	Supporting information	220
V.7.	Abstract	228

CHAPITRE VI ETUDE DU COMPORTEMENT RHEOLOGIQUE DU POLYMERE BRANCHE EN ETOILE, A BASE DE SEGMENTS DE PLA, PORTANT DES GROUPEMENTS AMMONIUMS QUATERNAIRES 229

Rheological Study of Quaternary Ammonium-Containing Star-Shaped Polylactic Acid 230		
VI.1.	Introduction	230
VI.2.	Experimental	231
VI.3.	Results and discussion	233
VI.4.	Conclusion	245
VI.5.	References	246
VI.6.	Abstract	250

CONCLUSION GENERALE 251

INTRODUCTION GENERALE

Les polymères ont longtemps été utilisés comme matériaux, cet usage étant justifié par leurs propriétés attrayantes en tant que tels, la facilité de leur mise en forme ainsi que leur disponibilité et leur faible coût comparé à celui de leurs analogues métalliques. C'est avec l'avènement des avancées dans les domaines de la chimie qu'on a pu ajouter une autre valeur importante aux polymères qui est la fonctionnalité, cette valeur a permis d'étendre leur usage et de les sortir du cadre limité de matériaux inertes. En étant fonctionnel, un polymère a la possibilité d'interagir avec des entités présentes dans son milieu environnant selon le type de fonctions dont il dispose ; il peut s'agir de sites réactifs lui permettant d'établir différents types de liaisons avec d'autres molécules ou atomes, des groupements chimiques ayant un impact sur des systèmes biologiques (tels que des bactéries) qui rentrent en contact avec le polymère, des fonctions lui permettant le transport d'ions ou d'électrons, ou encore des structures ayant des affinités sélectives permettant la séparation ou l'extraction de composés chimiques, de nombreuses autres fonctionnalités existent.

Par leur réactivité chimique, les polymères fonctionnels permettent également d'obtenir des structures macromoléculaires, dont le design est contrôlé, en assemblant de différentes manières des chaînes polymères de base pouvant être liées entre elles grâce à la présence de fonctions chimiques réactives, ce concept a connu un grand succès et constitue toute une discipline appelée ingénierie macromoléculaire. Ce domaine d'étude permet d'obtenir des structures polymères dont l'architecture macromoléculaire est contrôlée et adaptée à des besoins précis, puisqu'en agissant sur cette dernière il est possible de moduler les masses molaires des polymères obtenus, la compacité du matériau, et surtout ses propriétés rhéologiques, mécaniques et thermiques. Le contrôle du design macromoléculaire des polymères permet également de contrôler la fonctionnalité du produit final, puisqu'on part de chaînes polymères linéaires, possédant une fonction par bout de chaîne par exemple, pour finir avec une structure dans laquelle plusieurs chaînes sont assemblées en une seule molécule, offrant ainsi plusieurs bouts de chaînes ; c'est le cas des polymères branchés.

Quel que soient son usage et ses propriétés, un polymère doit répondre, le mieux possible, aux contraintes environnementales imposées aujourd'hui qui constituent une problématique de grande ampleur, qui concernent tant les producteurs à grande échelle que l'individu dans sa vie quotidienne. Pour y remédier, le défi majeur de la science des

polymères est de substituer la plus grande part possible des polymères utilisés actuellement par des analogues biodégradables, ou au mieux, biodégradables et biosourcés. Ce challenge ambitieux souffre de quelques handicaps, notamment la concurrence des polymères synthétiques et d'origine fossile par leurs excellentes propriétés et leur faible coût, mais grâce aux efforts produits sur ce sujet, de plus en plus de polymères respectueux de l'environnement sont utilisés et leur avenir est prometteur.

Le but de cette thèse est de réunir, au sein d'un même polymère, le contrôle du design des structures macromoléculaire, la fonctionnalité chimique permettant des post-modifications pour arriver au final à une fonctionnalité biologique, ainsi que l'aspect respectueux de l'environnement et la possibilité de mise en œuvre par un procédé en phase fondue. Pour se faire, des chaînes polymères biodégradables et/ou biosourcées de PLA, PCL et PHB sont assemblées dans des architectures macromoléculaires contrôlées, et fonctionnalisées avec des groupes thiols réactifs permettant d'apporter une activité biologique via la réaction thiol-ène à partir de monomères acrylates portant un groupe d'ammonium quaternaire censés apporter l'activité biologique. Le matériau polymère final doit pouvoir être mis en œuvre en phase fondue par extrusion sans perdre son activité biologique.

Le premier chapitre de ce manuscrit est une étude bibliographique qui définit la notion de biodégradabilité et de polymères biodégradables et décrit les architectures macromoléculaires rencontrées dans le domaine des polymères, l'incorporation de la fonction thiol et son intérêt dans les structures des polymères, la réaction thiol-ène telle quelle et en tant que méthode de post-modification des polymères, les polymères dotés d'activités biologiques et le groupement ammonium quaternaire qui constitue un agent antibactérien efficace et dont la propriété peut être transférée sur des polymères par l'incorporation de ce dernier dans leur structure.

Le second chapitre décrit la synthèse de polymères branchés à partir de chaînes téléchéliques de PLA, PCL ou PHB, leur design étant contrôlé. Les structures obtenues ont pu être fonctionnalisées en y introduisant des groupements thiol, pour donner finalement des polymères multi-thiolés. Ces derniers ont fait l'objet de caractérisations par RMN, SEC, DSC dosage chimique, les réactions de synthèse ont été suivies par IR.

Dans le troisième chapitre, la réactivité des polymères multi-thiolés, obtenus précédemment, a été exploitée pour greffer des molécules portant des groupements ammoniums, via la réaction thiol-ène, pour donner des structures polymères porteuses

d'ammoniums quaternaires. Les produits obtenus ont fait l'objet de caractérisations chimiques et physicochimiques, les cinétiques de greffage ont été étudiées.

Le quatrième chapitre est consacré à la mise en œuvre des polymères dotés de groupements ammoniums quaternaires, obtenus précédemment, en phase fondue, par un procédé d'extrusion, ainsi que la préparation de mélange de ces derniers avec d'autres matrices. Les mélanges obtenus ont été caractérisés par DSC, ATG et MEB, leurs propriétés de surface, leur biodégradabilité ainsi que leur comportement rhéologique sont également étudiés.

L'utilisation des polymères synthétisés ainsi que de leurs mélanges pour des applications biologiques est décrite dans le chapitre V qui traite de l'activité antibactérienne des polymères dotés de groupements ammoniums quaternaires et de leurs mélanges avec des matrices de PLA et de PCL vis-à-vis d'*Echerichia coli*, *Salmonella* et *Listeria monocytogenes*.

Enfin, le chapitre VI décrit une étude du comportement rhéologique particulier de ces polymères en prenant comme exemple une structure branchée en étoile à trois branches de PLA et portant des ammoniums quaternaires.

Les chapitres II à VI sont rédigés en langue anglaise puisqu'ils correspondent chacun à une publication scientifique parue ou soumise dans des revues internationales.

CHAPITRE I

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Introduction

Dans un cadre de développement durable, les travaux sur les polymères biodégradables et biosourcés se sont intensifiés, et leurs propriétés se voient de plus en plus intéressantes, grâce à des modifications de ces matériaux tant à l'échelle moléculaire que macromoléculaire. Leurs structures chimiques sont souvent ajustées dans le but de faire face à la concurrence de leurs analogues synthétiques et/ou non biodégradables.

Le contrôle du design macromoléculaire de ces derniers s'est avéré être un moyen efficace pour ajuster leurs propriétés en tant que matériaux, leur fonctionnalisation permet d'élargir leurs champs d'applications.

Ce chapitre décrit un état d'art sur les polymères biodégradables puis sur les structures branchées, hyperbranchées et dendrimères rencontrées dans le domaine des polymères et leur préparation. Les méthodes d'incorporation de la fonction thiol dans des structures polymères, son intérêt et les polymères multi-thiolés sont ensuite présentées ainsi qu'une description de la chimie "click" de façon générale et de la réaction thiol-ène en particulier. La dernière partie de ce chapitre est relative à l'activité antibactérienne des polymères. Les propriétés biologiques du groupement ammonium quaternaire, son incorporation dans des polymères et le transfert de l'activité antibactérienne sur ces derniers sont plus particulièrement traitées.

I. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I.2. Les polymères biodégradables

I.2.1. Généralités

La durabilité des propriétés d'un polymère est recherchée, mais conduit en contrepartie à des problèmes de gestion de déchets car la plupart des polymères actuels résistent à la dégradation par les microorganismes présents dans l'environnement naturel ; ils sont non biodégradables. L'impact environnemental de ces matériaux persistants est de plus en plus inquiétant, l'incinération de ces derniers peut générer des pollutions de l'air, les sites d'enfouissements sont limités et les méthodes de recyclage sont parfois non rentables car très énergivores. Pour toutes ces raisons, les polymères biodégradables ont sollicité un intérêt particulier et croissant auprès de la communauté scientifique dont le défi est de substituer, dans tous les domaines, les polymères non biodégradables par leurs analogues biodégradables tout en conservant leurs propriétés, ou bien de les modifier pour améliorer leur biodégradabilité. La Figure 1 illustre l'évolution du nombre de publications, par année, présentant des travaux sur des polymères biodégradables au cours des 38 dernières années, les valeurs indiquées ont été recueillies à partir de quatre bases de données différentes [1]. Cependant, la part des polymères biodégradables dans la production mondiale reste toujours faible, elle était à 0.026% en 2007 [2] puis à 0.135% en 2009 [3]. Sa croissance est estimée à 10-20% par année [4]. Leur champ d'application reste limité par rapport à leurs analogues non biodégradables qui sont jusqu'à présent plus compétitif en termes de propriétés, de facilité de mise en œuvre dans des procédés de transformation ainsi que pour des raisons économiques, dans certains cas.

Selon leur origine, les polymères biodégradables peuvent être classés en deux catégories : la première regroupe les polymères biodégradables biosourcés qui sont issus de ressources naturelles renouvelables tels que le polyacide lactique (PLA) ou les polyhydroxybutyrates (PHBs) qui font parties des polyhydroxyalcanoates (PHAs), la deuxième catégorie regroupe les polymères biodégradables d'origine fossile tels que le polycaprolactone (PCL). D'autres classifications sont rencontrées dans la littérature, telles que la classification selon le procédé de production du polymère biodégradable : (i) polymères issus de la biomasse (e.g., amidon, cellulose), (ii) polymères produits par des microorganismes vivants (e.g., les polyhydroxyalcanoates), (iii) polymères synthétisés chimiquement à partir de monomères issus de la biomasse (e.g., PLA) et (iv) polymères obtenus à partir de ressources fossiles (e.g.,

PCL), les trois premières catégories (i-iii) sont des polymères biosourcés, tandis que la quatrième (iv) correspond aux polymères non biosourcés (pétrosourcés).

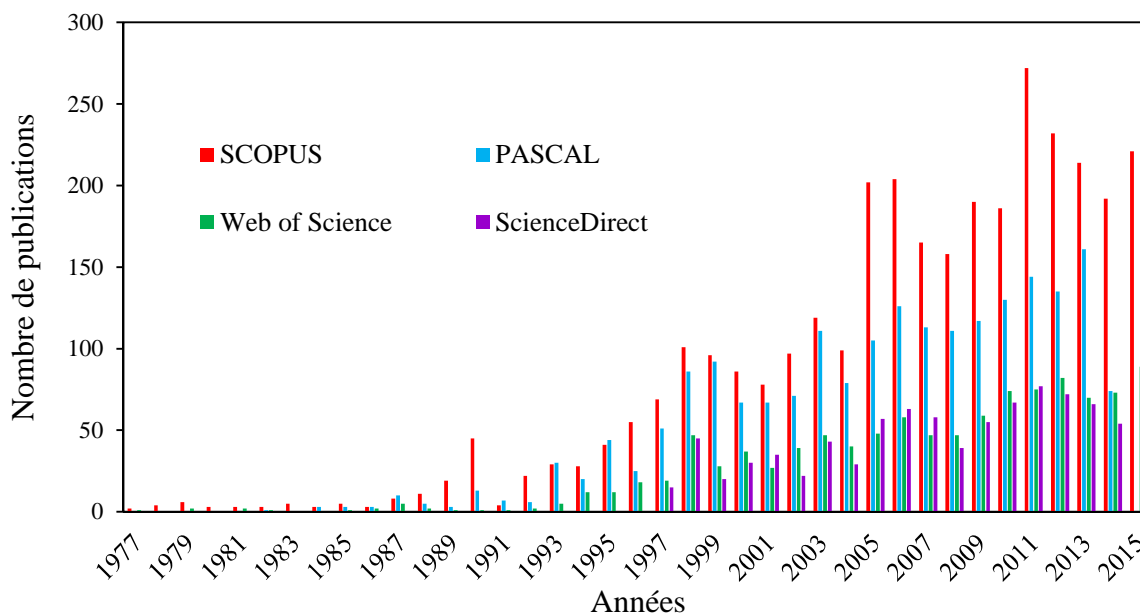


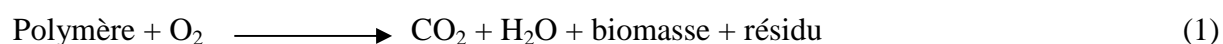
Figure 1. Nombre de publications, parues par année, sur les polymères biodégradables dans 4 bases de données de 1977 à 2015. Ces résultats concernent les publications comportant le mot « biodegrad» dans le titre et dont le nom du journal en question comporte le mot « polymer».

I.2.2. Définition de la biodégradabilité d'un polymère

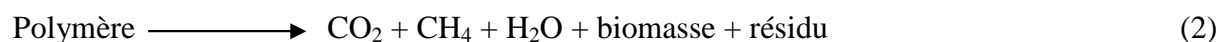
Plusieurs définitions de la biodégradabilité d'un polymère peuvent être rencontrées et varient en fonction des auteurs, des méthodes utilisées pour les tests de biodégradabilité, ou encore selon le milieu dans lequel la biodégradation a lieu (le sol, le milieu aquatique, le milieu de compostage, la décharge...). Cependant ces définitions se rejoignent lorsqu'il s'agit de l'impact du matériau polymère sur l'environnement et de façon générale, un polymère biodégradable peut être défini comme étant un polymère capable d'être dégradé par des microorganismes tels que des bactéries, des algues ou des moisissures produisant ainsi du CO₂ et/ou du CH₄, de l'eau, une biomasse et un résidu (sels, minéraux...).

La biodégradation d'un polymère se fait par rupture de liaisons se trouvant dans les chaînes de ce dernier, cette rupture peut avoir lieu soit par hydrolyse ou sous l'action de microorganismes présents dans la nature tels que des bactéries, des moisissures ou des algues. La biodégradation est considérée comme étant le plus important mécanisme de dégradation des polymères rejetés dans l'environnement [5], elle se fait en deux principales étapes ; la première consiste à détériorer (ou désintégrer) le matériau polymère grâce à des agents extérieurs tels que le broyage, l'irradiation UV, les vers de terre, les insectes, les racines, les rongeurs... cette première étape est importante car elle permet le morcellement du matériau, le rendant ainsi facile d'accès pour les micro-organismes (augmentation de la surface de contact). La deuxième étape correspond à l'attaque du matériau par les microorganismes qui vont le transformer en métabolites et l'assimiler dans leurs cellules, les produits issus de ce mécanisme diffèrent selon le type de biodégradation (aérobie ou anaérobie) [6] comme le montrent les équations (1) et (2).

Biodégradation aérobie (en présence d'oxygène)



Biodégradation anaérobie (en l'absence d'oxygène)



La structure chimique du polymère est le facteur prédominant sur sa biodégradabilité, la présence de fonctions chimiques sur les chaînes polymères peut avoir un effet sur l'activité des microorganismes qui les dégradent, sur l'hydrophobicité et le mouillage du matériau et sur sa réactivité avec le milieu environnant. D'autres facteurs peuvent aussi influencer la biodégradabilité d'un polymère, tels que ses propriétés physiques et mécaniques (le poids moléculaire, l'élasticité, la cristallinité...) et des facteurs externes tels que la température, l'humidité et l'exposition au rayonnement [4,5].

Plusieurs normes ont été établies concernant la biodégradabilité des matériaux polymères [3], notamment la norme D6400 de l'*American Society for Testing and Materials* (ASTM) relative aux plastiques biodégradables sous des conditions de compostage, la norme européenne EN 13432 sur les emballages valorisables par compostage et biodégradation, au Royaume Uni la norme BS EN 13432 définit les exigences sur les plastiques compostables et biodégradables,

toutes ces normes sont en concordance et rejoignent les normes établies dans d'autres pays tels que le Japon, la Chine, la Taiwan et la Corée. A l'échelle internationale, l'Organisation Internationale de la Normalisation (ISO pour *International Standards Organisation*) a établi la norme ISO 17088 concernant les spécifications pour les plastiques compostables, cette norme étant en harmonie avec les précédentes.

I.2.3. Intérêt de la biodégradabilité d'un polymère et compostage

Les avantages mis en évidence dans nos sociétés actuelles concernant les polymères (ou les matériaux) biodégradables consistent en la diminution de la pollution de l'environnement lorsque des objets constitués de ces polymères sont abandonnés dans la nature, leur impact sur la faune et la flore, particulièrement sous-marine ainsi que l'effet visuel désagréable qu'ils engendrent, leurs biodégradabilité permet donc d'atténuer considérablement ces conséquences mais le matériau, même en étant biodégradable, reste présent dans l'environnement pour une certaine durée qui dépend de la vitesse de sa dégradation, de plus, au cours du processus de sa dégradation, le polymère libère des gaz à effet de serre dont le dioxyde de carbone et le méthane, cependant il existe un moyen de tirer profit de la biodégradabilité des polymères : c'est le compostage, ce dernier présente un grand intérêt tant économique que environnemental et permet une meilleure gestion des émissions de gaz durant le processus de biodégradation notamment lorsqu'il est réalisé en anaérobie, il peut être conduit à l'échelle industrielle comme à l'échelle du foyer (compostage dans un jardin), il s'agit d'une valorisation biologique de ces polymères qui produit, à la fin du processus, une substance organique appelé « compost » qui est riche en nutriments et qui constitue un fertilisant naturel que l'on peut utiliser directement pour fertiliser les sols en remplaçant les engrais chimiques et qui est de meilleure qualité. Selon la désignation D 6400-04 de l'ASTM [7], un plastique compostable est un plastique pouvant subir une dégradation selon un processus biologique durant son compostage et produisant du dioxyde de carbone, de l'eau, des composés inorganiques et de la biomasse, sans produire de déchets visibles, identifiables ou toxiques, la vitesse de ce processus devant être comparable aux matériaux compostables de référence. Il existe une norme spécifique aux plastiques compostables, c'est la norme ISO 17088 (spécifications pour les plastiques compostables). Le label « *OK-Compost* » garantit la compostabilité d'un emballage conformément à la norme européenne EN 13432 relative aux emballages compostables [8].

I.2.4. Mesure de la biodégradabilité d'un polymère

Il existe plusieurs méthodes pour l'évaluation de la biodégradabilité d'un polymère, certaines sont qualitatives et d'autres quantitatives, qui tiennent compte de la durée du processus de biodégradation et de la nature du milieu (ou conditions climatiques). Parmi les méthodes qualitatives, la méthode dite « méthode des zones claires » consiste à déposer un petit échantillon sous forme de film sur de la gélose (milieu favorisant la prolifération de microorganismes) ou à mélanger le polymère avec la poudre de gélose, ce qui rend cette dernière opaque, puis à inoculer le système avec une boue active ou une souche bactérienne spécifique, la croissance des bactéries qui se nourrissent du polymère va provoquer l'apparition de zones claires [9], les méthodes quantitatives quant à elles sont basées sur les mesures de croissance bactérienne, de la perte de masse du polymère en question ou les mesures des quantités d'oxygène consommées ou celles de dioxyde de carbone produites par les microorganismes responsables de la dégradation du matériaux polymère. À l'échelle du laboratoire, deux tests in-vitro sont très connus pour l'évaluation de la biodégradabilité d'un polymère conformément à la normalisation ISO : l'évaluation de la biodégradabilité aérobie ultime et de la désintégration des matériaux plastiques dans des conditions contrôlées de compostage – méthode par analyse du dioxyde de carbone libéré ISO 14855 et l'évaluation de la biodégradabilité aérobie ultime des matériaux plastiques en milieux aqueux – méthode par détermination de la demande en oxygène dans un respiromètre fermé [10].

I.3. Les structures polymères branchées

I.3.1. Généralités

L'architecture macromoléculaire des polymères a connu un important développement grâce aux nouvelles méthodologies de synthèses et à une meilleure connaissance des relations entre la structure macromoléculaire d'un polymère et ses propriétés. La forme et la taille des structures branchées des polymères sont davantage contrôlées [11], la maîtrise de ces architectures permet de moduler plusieurs propriétés, telles que la densité, les comportements rhéologique, mécanique et thermique, la fonctionnalité... Les polymères branchés possèdent une plus grande compacité et une plus forte densité de segments par rapport à leurs analogues linéaires de même poids moléculaire [12-15].

Le branchement des chaînes polymères peut être le résultat d'une réaction de polymérisation ou d'une post-modification en reliant les chaînes polymères déjà synthétisées. Un polymère est considéré branché dès l'apparition d'une ramification dans sa structure moléculaire, et ce via le remplacement d'un substituant au sein de sa structure (un atome d'hydrogène par exemple) par une chaîne d'une quelconque longueur, de ce même polymère ou d'un autre. La Figure 2 représente la différence de structure entre un polymère linéaire, un polymère branché et un réseau polymère.

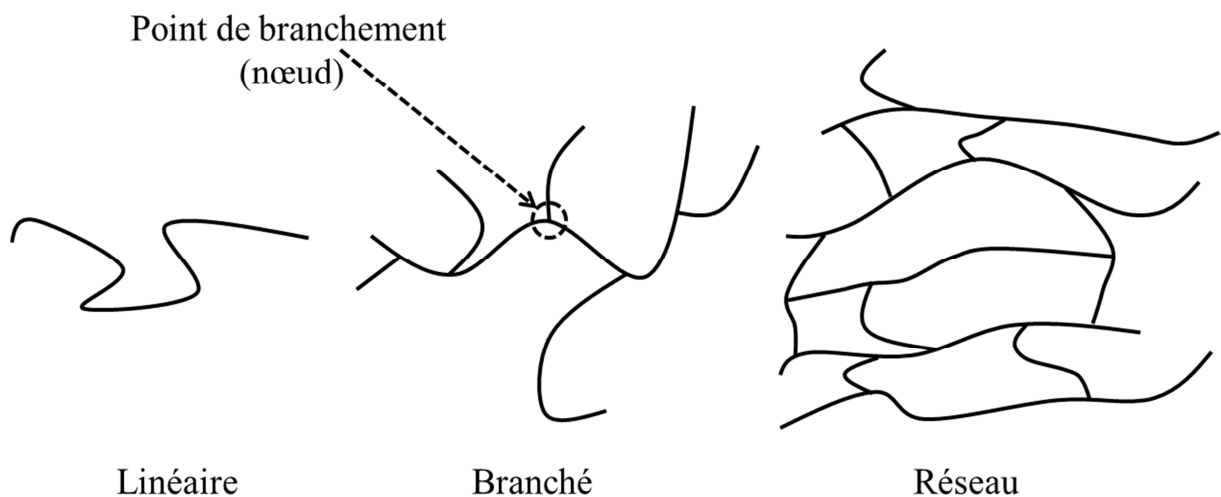


Figure 2. Représentation schématique des structures polymères linéaire, branchée et réticulée (réseau)

I.3.2. Les polymères branchés, hyperbranchés et les dendrimères

Un polymère est considéré branché si sa structure comporte au moins un point de branchement (ou nœud) N dont la fonctionnalité f est supérieure ou égale à 3, le nombre de bouts de chaînes B doit être supérieur ou égal à 3 (Figure 3) [16].

Selon le nombre, la fonctionnalité et la position des points de branchement, plusieurs architectures branchées peuvent être distinguées : les polymères en étoile, en peigne, polymères hyperbranchés et dendrimères (Figure 4).

Un polymère en étoile (Figure 4.a) est un polymère branché dans lequel toutes les branches, qui sont des chaînes linéaires, sont reliées au même point de branchement appelé noyau ou cœur [17,18], il s'agit de la forme la plus simple des polymères branchés, le premier polymère

en étoile a été synthétisé dans les années quarante [19] et a attiré l'attention des chercheurs de par ses propriétés avantageuses (ou dire lesquelles) comparées à celles de ses analogues linéaires.

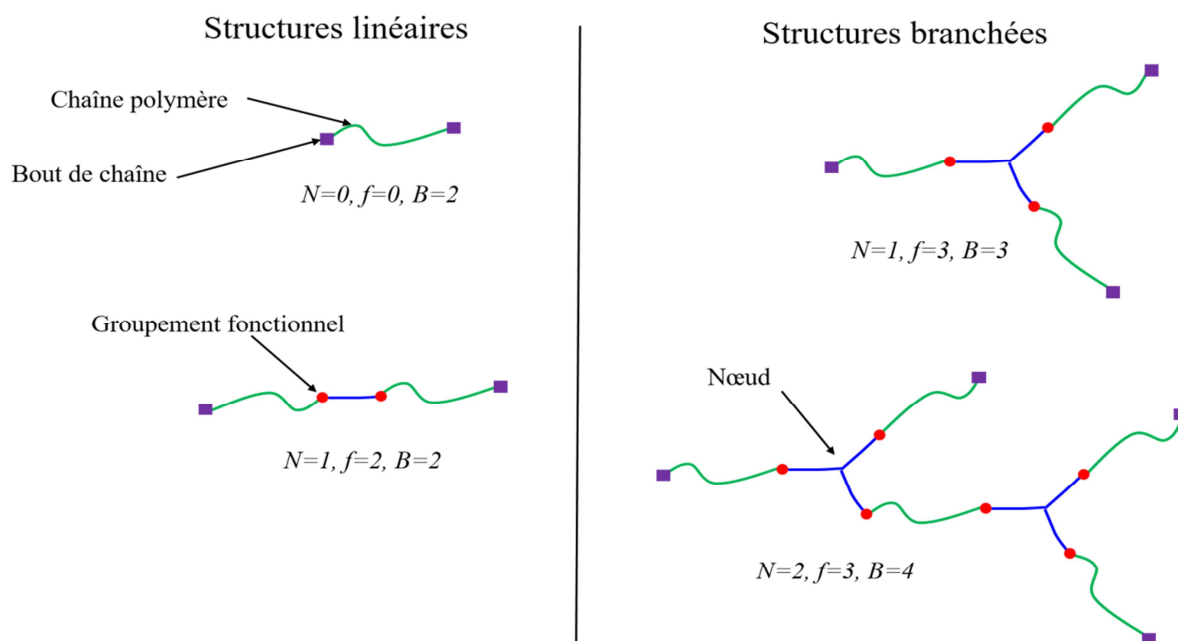


Figure 3. Exemples de structures polymères linéaires et branchées en fonction des paramètres N, f et B .

Les branches en question peuvent être de même nature (même unité répétitive) donnant ainsi un polymère en étoile régulier ou de nature différente pour donner un polymère en étoile panaché, il est aussi dit homogène si les branches sont de tailles comparables ou hétérogène, si la longueur des branches diffère. Deux principales méthodes sont utilisées pour la synthèse de ces structures :

La méthode convergente, en anglais « arm-first » (les branches en premier), consiste à faire réagir des chaînes linéaires (branches) fonctionnelles sur un agent de couplage multifonctionnel qui constituera le cœur de l'étoile [20-22], les fonctions ou sites actifs des branches utilisées doivent se positionner sur leurs bouts de chaînes et doivent présenter une bonne réactivité vis-à-vis des fonctions de l'agent de couplage. Les mécanismes réactionnels mis en jeu dans cette méthode peuvent être ioniques ou radicalaires.

La méthode divergente, en anglais « core-first » (le cœur en premier), part d'un amorceur multifonctionnel (qui représentera le cœur de l'étoile) sur lequel les monomères vont venir réagir l'un après l'autre, ainsi la croissance du polymère qui en résulte se fait du cœur vers la périphérie [23-25], le nombre de branches étant idéalement égal au nombre de sites actifs sur l'amorceur. L'inconvénient de cette méthode c'est que l'amorçage des sites actifs de l'agent de couplage peut ne pas se faire au même moment, et dans certains cas ils ne sont pas tous amorcés, ce qui a conduit à des travaux pour le développement d'amorceurs multifonctionnels spécialement dédiés à cette synthèse.

Une autre architecture macromoléculaire branchée a été mise en évidence et largement étudiées, c'est la structure polymère en peigne ("comb-like polymers" en anglais), telle que illustrée sur la Figure 4.b, un polymère en peigne est constitué d'une chaîne linéaire principale (appelée colonne vertébrale) sur laquelle viennent s'accrocher des chaînes périphériques [26], ces dernières peuvent être de même nature que la chaîne principale ou de nature différente, elles peuvent être identiques ou différentes entre elles. Selon la distribution des chaînes périphériques le long de la chaîne principale, on distingue des structures en peigne régulières [27], aléatoires [28] et des structures en gradient [29].

Les deux architectures précédentes (étoile et peigne) ont un point commun : les chaînes périphériques partent d'un seul centre qui est soit un nœud (cas des étoiles) ou une chaîne principale (peigne) et dans les deux cas il n'y a qu'une seule génération de chaînes périphériques qui émergent du centre, si d'autres chaînes (de deuxième génération) viennent s'attacher sur les chaînes périphériques, on se retrouve dans ce cas avec des architectures hyperbranchées.

Un polymère hyperbranché (Figure 4.c) est un polymère hautement ramifié (ou hautement branché) et tridimensionnel offrant ainsi un très grand nombre de groupement terminaux [30,31], c'est une classe relativement nouvelle de polymères dendritiques qui a reçu un grand intérêt tant sur le plan académique que sur le plan industriel depuis que Flory [32] a publié un rapport en 1952 décrivant la possibilité de synthèse de structures polymères hautement branchées tout en évitant la gélification de ces dernières. Depuis, des études ont montré que ces structures présentent des propriétés particulières et intéressantes, telles que leur comportement visqueux très différent de celui de leurs analogues linéaires [33,34], ils se distinguent également par leur conformation qui, d'après des analyses aux rayons X et de diffusion de neutrons, se présente sous forme d'une structure globulaire [35], ils sont

également compatibles en mélange avec une large gamme d'autres polymères de structures différentes [36] et disposent de bonnes propriétés mécaniques modulables permettant d'améliorer le comportement mécanique des polymères avec lesquels ils sont mélangés [37].

Une autre classe de polymères dendritiques existe : les dendrimères, ces derniers se distinguent par rapport aux polymères dendritiques hyperbranchés par leur architecture qui est théoriquement parfaitement régulière, homogène et monodisperse (Figure 4.d) , ce sont donc des polymères hyperbranchés avec une architecture plus précisément contrôlée et ordonnée basée sur des unités de branchement symétriques autour d'une molécule (noyau) ou d'une chaîne polymère principale [38], un dendrimère dispose d'un grand nombre de groupements terminaux sur la périphérie de la molécule ce qui donne la possibilité de les fonctionnaliser et de modifier ainsi les propriétés chimiques et/ou biologiques de la macromolécule [39,40]. Ces polymères ont gagné un large champ d'applications notamment en chimie supramoléculaire, et offrent l'avantage d'avoir un très grand nombre de groupements fonctionnels dans une structure moléculaire compacte [41].

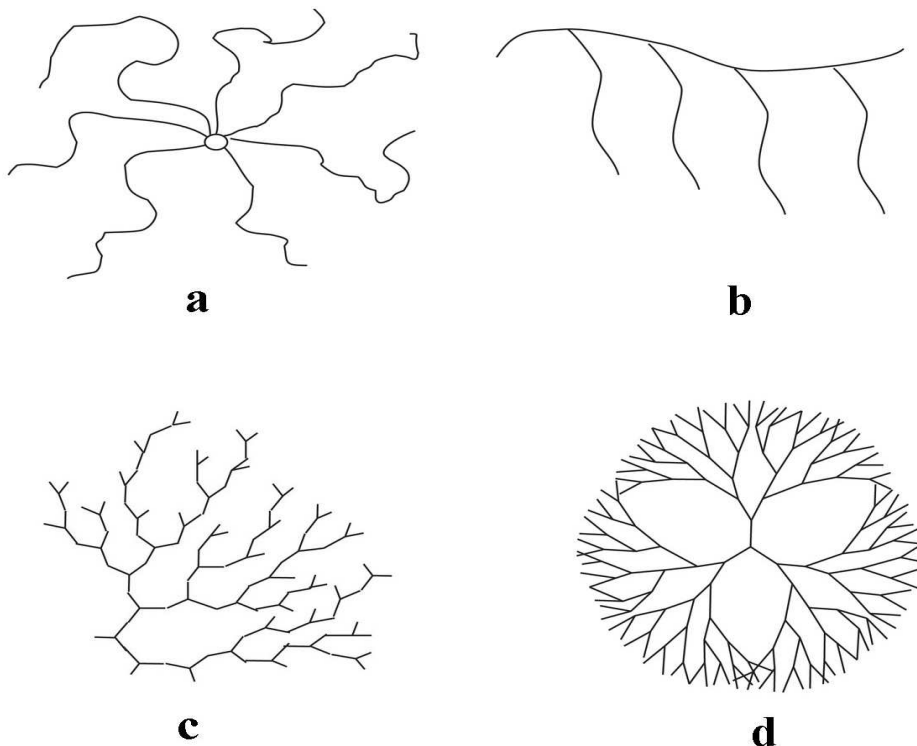


Figure 4. Exemples d'architectures polymères branchées, a : structure en étoile, b : en peigne, c : polymère hyperbranché et d : dendrimère. [42]

I.3.3. Grandeurs structurales caractéristiques des polymères branchés

Le paramètre le plus utilisé pour caractériser les topologies des structures polymères branchées (incluant les structures hyperbranchées et dendrimères aussi) est le “degré de branchement” DB , ce paramètre a été mis en évidence par Hawker et al. [43] et est donné par l'équation (3) :

$$DB(\%) = \frac{D+T}{D+T+L} \times 100 \quad (3)$$

où D est le nombre d'unités dentritiques, T le nombre d'unités terminales et L le nombre d'unités linéaires (Figure 5).

Cette définition compare la somme des unités dentritiques et terminales à la somme de toutes les unités présentes dans la structure, une deuxième définition a été établie par Hötler et al. [44] et ne tient compte que des unités dendritiques et linéaires tel que le montre l'équation (4) :

$$DB'(\%) = \frac{2D}{2D+L} \times 100 \quad (4)$$

Cette seconde définition est souvent plus fiable que la première dans le cas des masses molaires faibles [44].

La valeur de DB varie de 0, pour un polymère linéaire, jusqu'à 100 pour un dendrimère (considéré parfaitement branché).

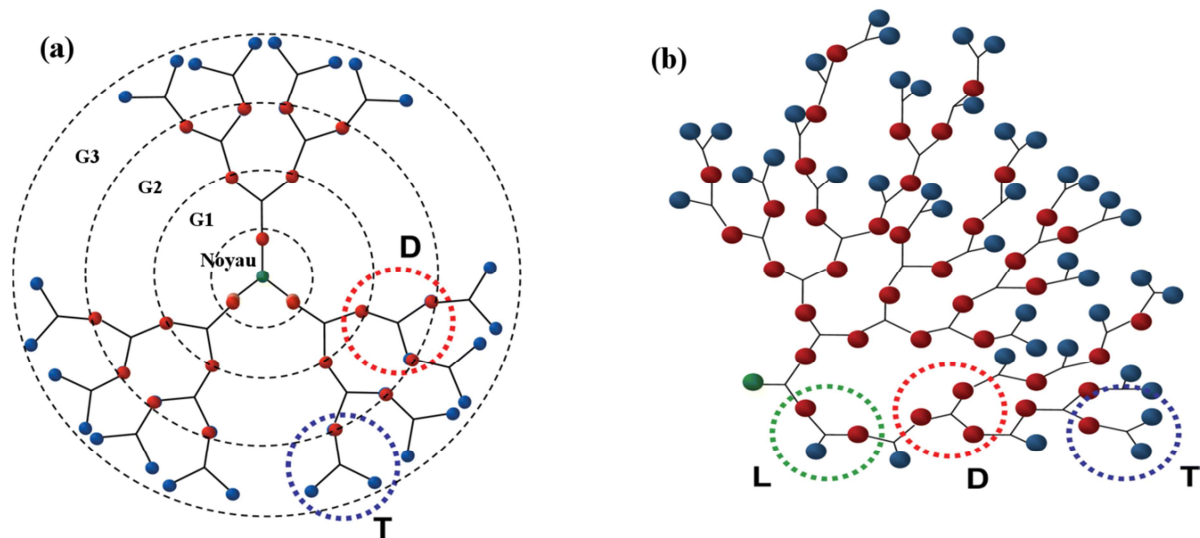


Figure 5. Exemples de structures montrant les unités L, D, et T dans (a) un dendrimère et (b) un polymère hyperbranché. Il n'y a pas d'unité L dans le dendrimère puisque celui-ci est parfaitement branché. G1, G2, et G3 correspondent respectivement aux générations 1, 2 et 3 d'unités dendritiques. [42]

Une autre grandeur est utilisée pour décrire les structures polymères branchées, c'est "l'indice de Wiener" ou "indice topologique de Wiener" [45] noté W est défini par l'équation (5)

$$W = \frac{1}{2} \sum_{j=1}^n \sum_{i=1}^n d_{ij} \quad (5)$$

n étant le nombre de sites dans la molécule, d_{ij} est la distance, exprimée en nombre de liaisons carbone-carbone, qui sépare chaque couple de sites dans la molécule (Figure 6). L'indice de Wiener correspond donc à la moitié de la somme de toutes ces distances. Ainsi, cette définition nous renseigne sur la compacité de la molécule et non sur sa taille [46], pour des polymères branchés de même masse molaire, plus le nombre W est petit, plus la molécule est compacte, et inversement, plus W est grand, plus le nombre de liaisons carbone-carbone séparant les sites est grand, ce qui se traduit par une molécule moins compacte et plus « ouverte ».

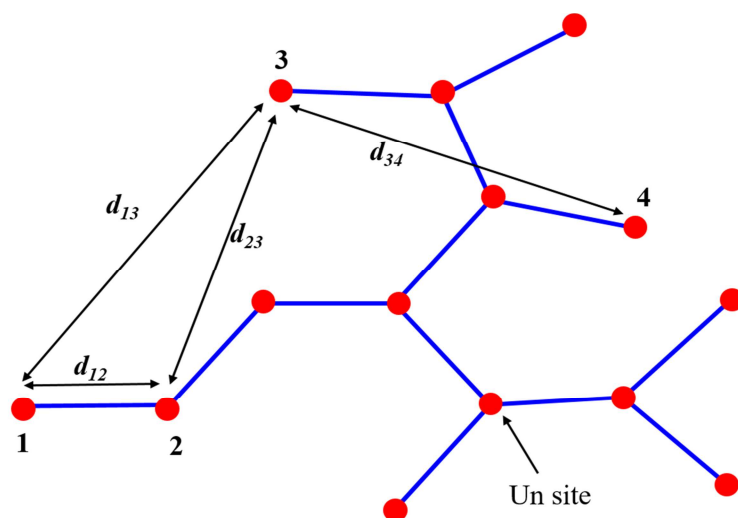


Figure 6. Exemple de structure hyperbranchée montrant la détermination des valeurs de la variable b_{ij} dans la formule permettant le calcul de l'indice de Wiener (équation 5).

I.4. Les polymères multi-thiolés

I.4.1. Généralités

Divers groupements fonctionnels peuvent être intégrés dans les structures des polymères pour des fins d'applications directes ou post-modifications, l'incorporation de ces groupements peut être contrôlée en termes de nombre de fonctions par molécule de polymère, mais aussi de localisation sur les chaînes polymères. Parmi ces groupements on peut rencontrer la fonction hydroxyle [47], amine [48], furane [49], chlorométhyle [50], vinyle [51] et bien d'autres. Le groupement thiol (-SH, appelé également mercaptan) a attiré beaucoup d'attention pour sa grande réactivité et sa versatilité [52], permettant par exemple la création de réseaux polymères grâce à la formation de ponts disulfides entre polymères portant des fonctions thiol [53], ou d'autres réactions pour des post-modifications telles que la réaction thiol-ène ou la réaction thiol-Michael [54,55], la présence d'une fonction thiol pendante sur une chaîne polymère permet l'adhésion de cette dernière aux parois de certaines cellules vivantes [56], étant hautement nucléophile et montrant des interactions spécifiques avec des métaux tels que l'or, l'argent et le cadmium, la présence de ce groupement sur un polymère lui apporte une grande valeur ajoutée du point de vue chimique et biologique [57].

Le contrôle de la taille des chaînes polymères lors des synthèses par voie radicalaire a un grand intérêt et définit souvent les propriétés des produits obtenus. Pour y parvenir, le concept

de ‘l’agent de transfert’ (en anglais chain transfer agent, ou CTA) a pris place et l’utilisation de ce dernier a permis le contrôle des tailles (i.e. masses molaires) des polymères synthétisés [58,59]. Parmi ces agents, les réactifs thiols ont montré une très grande efficacité grâce leur constante de transfert élevée.

Plusieurs petites molécules portant le groupement thiol ont été utilisées comme agents de transfert [60,61] dans le but d’obtenir des polymères de faibles masses molaires, dans la plupart des cas. Des polymères porteurs de groupements thiols ont aussi été utilisés comme agent de transfert, il s’agit d’un ‘macro agent de transfert’ (en anglais macro-chain-transfer agent) [62], rendant possible d’autres réactions de polymérisation ou de greffage sur le polymère en question [63,64]. Il existe des polymères avec des structures comportant un seul groupement thiol qui est généralement localisé en bout de chaîne [65-67], on trouve aussi des polymères avec plusieurs de ces groupements sur une molécule [68,69]. La figure 7 illustre quelques exemples de structures de petites molécules ainsi de que de polymères portant des groupements thiols.

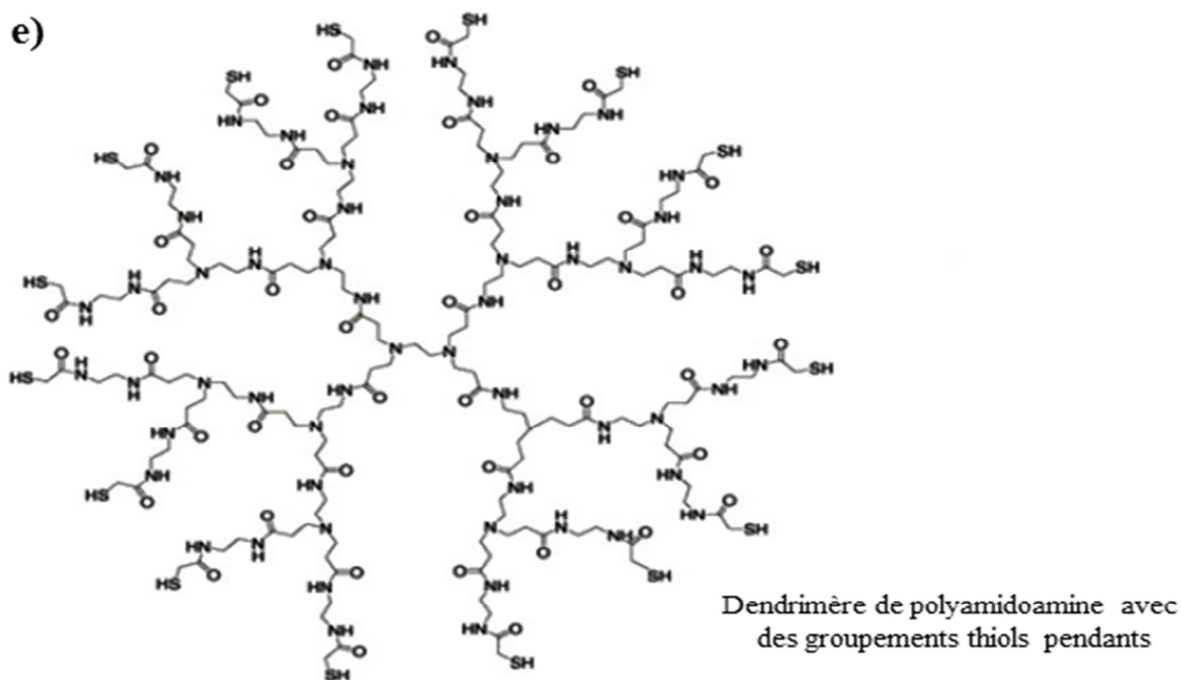
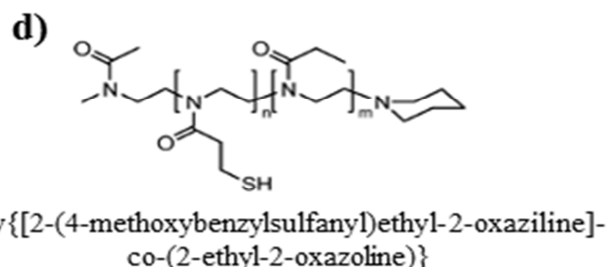
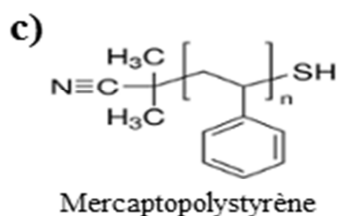
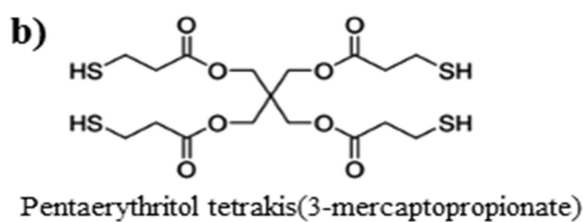
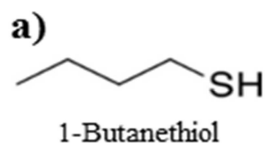


Figure 7. Structures chimiques d'une molécule avec un groupement thiol (a), une molécule avec plusieurs groupements thiols (b), un polymère linéaire avec un groupement thiol (c), un polymère linéaire avec plusieurs groupements thiols (d) et un dendrimère avec plusieurs groupements thiols (e) [69].

I.4.2. Synthèse et fonctionnalisation des polymères thiolés

Les groupements thiols peuvent être incorporés dans les structures des chaînes polymères suivant différentes manières, il existe essentiellement trois techniques qui sont largement utilisées d'après la littérature.

La première consiste à polymériser des monomères dotés de groupements thiols (monomères thiolés), ce qui permet de transférer ces groupements sur le polymère obtenu. Les monomères en question doivent d'une part porter un groupement thiol et d'une autre part disposer d'un site réactif leur permettant de subir une polymérisation, tel que la double liaison carbone-carbone pour une polymérisation radicalaire, par exemple. Cette méthode permet d'obtenir des polymères multi-thiolés avec des structures désirées et des teneurs contrôlées en groupements thiols (en contrôlant le degré de polymérisation des monomères thiolés) mais elle présente l'inconvénient relatif à la réactivité élevée des groupements thiols présents sur les monomères qui sont instables sous certaines conditions et qui peuvent interférer avec la réaction de polymérisation. Pour remédier à cette contrainte, on utilise la technique de protection-déprotection, qui consiste à protéger le groupement thiol se trouvant sur le monomère par un autre groupement chimique, ce qui permet sa polymérisation sans risque d'interférence du groupement thiol, puis une fois le polymère obtenu, on procède à la déprotection des groupements thiol en retirant le groupement protecteur. Liras et al. [70] ont réalisé la synthèse d'un monomère méthacrylique thiolé dans lequel le groupement thiol est protégé par un groupement acétyle (le 2-acétylthiol)éthyle méthacrylate, AcSEMA), ils ont par la suite réalisé la copolymérisation radicalaire de ce dernier avec un autre monomère méthacrylique (le 2-(2-méthoxyéthoxy)éthyle méthacrylate, MEO₂MA) pour obtenir un copolymère avec des groupements thiols protégés, le P(MEO₂MA-co-AcSEMA), ils ont ensuite procédé à la déprotection de ces groupements thiols par hydrolyse des groupements acétyles pour obtenir un copolymère multi-thiolé (portant des groupements thiols pendants) qui est le P(MEO₂MA-co-SEMA), le schéma réactionnel est illustré sur la figure 8.a.

La deuxième méthode consiste à modifier des sites réactionnels disponibles sur des chaînes polymères pour donner des groupements thiols, cette technique offre l'avantage de pouvoir générer des groupements thiols dont la localisation sur les chaînes du polymère est contrôlée, sans modifier la structure macromoléculaire de ce dernier ni sa taille, elle est cependant limitée par la réactivité des sites que l'on souhaite modifier et par des éventuelles gênes stériques autour de ces derniers. Du Prez et al. [71] ont suivi cette méthode pour synthétiser

un polystyrène multi-thiolé : dans un premier temps, ils ont synthétisé un polystyrène portant des fonctions thiolactones suite à la copolymérisation du styrène avec le styrène-thiolactone, ils ont ensuite procédé à l'aminolyse des fonctions thiolactones sur le polymère obtenu pour générer des groupements thiols pendants sur la chaîne polymère (figure 8.b). Dans ce même contexte, Paris et al. [72] ont réalisé la conversion de groupements terminaux bromés du poly(méthyle méthacrylate) en groupements thiols, et ceux en deux étapes, la première étant le remplacement de l'atome du brome par du thio-ester, la seconde consistait à hydrolyser les fonctions ester pour obtenir des groupements thiols pendants.

Une autre stratégie est souvent utilisée, il s'agit de la rupture des ponts disulfides qui se trouvent dans la structure du polymère et qui peuvent être intra ou intermoléculaires, chaque pont rompu génère deux groupements thiols, la contrainte subie lors de la réalisation de cette stratégie est l'accès aux ponts disulfides qui peut être difficile particulièrement lorsqu'il s'agit de ponts intermoléculaires. Thimistou et al. [73] ont synthétisé des chaînes de copolymères à blocs, à base de divers monomères acryliques, du lactide et d'un bloc ester aliphatique, qui sont branchées entre elles par des ponts disulfides (intermoléculaires) et comportant des ponts disulfides intramoléculaires dans leurs structures, la rupture de ces ponts, en utilisant du tributyle phosphine a permis l'obtention de chaînes linéaires portant des groupements thiols (figure 8.c). Emrick et al. [74] quant à eux ont réalisé la polymérisation d'un monomère portant des ponts disulfides dans sa structure (le méthacrylate d'acide lipoiq), ils ont donc obtenu un polymère dont chaque unité répétitive porte un pont disulfide, ces ponts ont été par la suite rompus, donnant naissance à un polymère multi-thiolé (deux groupements thiols par unité répétitive).

Il existe une autre méthode qui est rarement citée dans la littérature et dont très peu de travaux ont vu le jour malgré les avantages qu'elle présente, elle consiste à fixer des molécules portant le groupement thiol sur des chaînes polymères portant des sites réactifs permettant l'établissement de ces liaisons, la réaction doit se faire entre le site réactif du polymère et un autre site réactif de la molécule en question à part le groupement thiol lui-même que l'on souhaite garder libre dans le produit final, d'où la nécessité d'une réaction sélective qui ne fait pas intervenir le groupement thiol. Cette méthode permet de localiser les groupements thiols sur les chaînes polymères ciblées, elle offre également la possibilité de travailler sur différents polymères fonctionnels, de différentes tailles et architectures macromoléculaire. Dans la littérature, au meilleur de notre connaissance, un seul composé thiolé a été utilisé à cette fin par Bernkop-Schnürch et al. [80,81], c'est la cystéine, cette molécule dispose d'un

groupement thiol, mais également d'un groupement amine qui a permis de la fixer, via une liaison covalente, sur les polymères en question, dans l'un de leurs travaux [75], les auteurs ont pu fixer la cystéine sur du polycarbophile et sur du carboxymethylcellulose par des liaisons covalentes établies entre l'amine de la cystéine avec un carbone oxygéné se trouvant dans le polymère, et ce, en utilisant un intermédiaire réactionnel 1-ethyl-3-(3-diméthylaminopropyl) carbodiimide (EDAPC) (figure 8.d), dans un autre article [76], ils ont pu la fixer sur du polycarbophile via des liaisons amides covalentes établies entre les groupements amines primaires de la cystéine et les groupements acides carboxyliques se trouvant sur le polymère. Dans les deux cas ils ont obtenu des polymères avec des groupements thiols pendants.

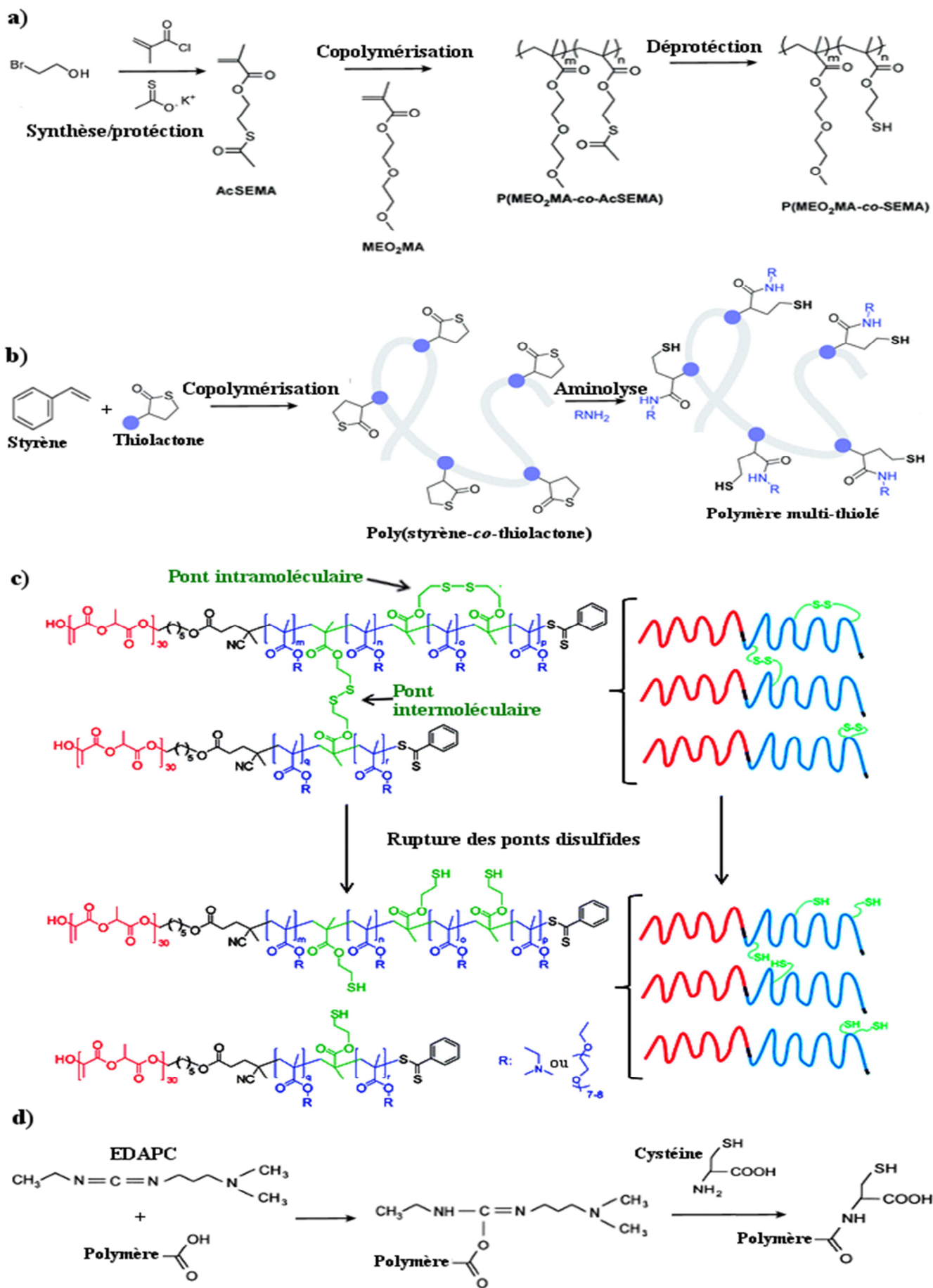


Figure 8. Stratégies de synthèse des polymères portant des groupements thiols.

I.4.3. Applications des polymères multi-thiolés

Le groupement thiol se distingue parmi les divers groupements fonctionnels qui existent dans la nature, et ce, par propriétés très particulières telles que sa capacité à former de façon réversible des ponts disulfides, son pK_a typique, son caractère nucléophile et sa tendance à former des liaisons de différents types avec différents autres groupements et atomes [64]. Ceci a engendré un élargissement des champs d'applications des polymères portant des groupements thiol, allant de la chimie, la biologie, la médecine, les matériaux et revêtements, jusqu'aux instruments de détection et d'analyse.

Dans leur étude sur des copolymères thiolés à base de poly(éthylène glycol) et d'acide polylactique, Lieb et al. [77] ont montré une nette amélioration des interactions et une plus forte adhésion aux cellules ostéoblastes humaines (se trouvant autour et à l'intérieur des os) de ces matériaux après avoir incorporé des fonctions thiol par des liaisons covalentes avec des molécules thiolées, ce qui fait de ces polymères de très bons candidats pour le revêtement des prothèses osseuses.

Dans le domaine des biocapteurs, une étude Johnson et al. [78] ont montré l'efficacité des polymères thiolés pour l'immobilisation de molécules d'ADN, avec un taux d'immobilisation d'environ 10^{13} brins d'ADN par centimètre carré, avec formation d'une monocouche régulière et stable même à des températures avoisinant les 100 °C, ce qui est une grande avancée dans le domaine des diagnostics.

La mucoadhésion peut être définie comme étant la capacité de certaines molécules à adhérer à des tissus muqueux, tels que la muqueuse intestinale. Dans le cas des systèmes à libération contrôlée de principes actifs dans les intestins, le challenge est de concevoir des systèmes avec la plus longue durée d'adhésion possible dans les intestins pour assurer une plus longue durée de diffusion de principe actif, ceci a été rendu possible grâce à l'utilisation du chitosan thiolé au lieu de son analogue non thiolé, il a été démontré [79] que lorsque des fonctions thiol sont intégrées dans la structure du chitosan (largement utilisé dans ce domaine) via la création de liaisons covalentes avec des molécules thiolées, ce dernier voit ses propriétés d'adhésion nettement améliorées telles que la durée d'adhésion a été multipliée par un facteur de 10.3 par rapport au chitosan non thiolé, et ce avec seulement 38.23 μmol de groupements thiols par gramme de polymère.

À l'échelle du nano, Aryal et al. [80] ont réussi à stabiliser des nanoparticules d'or en y greffant des molécules polymères dotées de groupements thiols. Dans un premier temps, du polycaprolactone thiolé a été synthétisé avec succès, puis ce dernier a été greffé sur des nanoparticules d'or suivant deux processus différents, dans les deux cas, les nanoparticules obtenues étaient de tailles et de formes plus homogènes que celles obtenues de manière classique. Ces dernières ont pu être par la suite encapsulées dans des nano-transporteurs à base de polycaprolactone par un simple procédé de nano-précipitation.

Les nano-tiges d'or sont très utilisées pour l'imagerie intracellulaire et dans les thérapies photo-thermiques contre les cellules cancéreuses [81,82], mais l'application de ces nano-tiges souffre d'un défaut qui est la présence d'un composé cytotoxique, le cetyltriméthylammonium bromide, en forme de couche qui les entoure et qui est issu de leur procédé de fabrication, Sanda et al. [83] ont montré que cette couche peut être éliminée en utilisant du poly(éthylène glycol) portant des groupements thiols qui, grâce à la présence de ces derniers dans sa structure, permet de détoxifier les nano-tiges : la fonction thiol permet de lier le poly(éthylène glycol) à la nano-tige et du fait, remplacer le composé cytotoxique.

Du côté des techniques de laboratoire, la chromatographie de covalence est une technique utilisée pour la purification des protéines et de certains autres composés grâce à des résines dotées de fonctions thiols [84], comme des résines polyacrylamide multi-thiolées [85]. Ces résines ont également un intérêt dans le domaine environnemental, elles ont montré une grande efficacité pour l'extraction du mercure de l'eau [86]. Des résines de polystyrène thiolé sont également utilisées pour l'extraction de différents métaux [87] le développement de colonnes capillaires sélectives [88] et l'élaboration des biocapteurs [89], et ce, grâce à la présence de groupements thiols dans ces structures polymères.

I.5. La réaction thiol-ene

I.5.1. Généralités

Les réactions d'addition à des liaisons carbone-carbone multiples (doubles et triples), particulièrement celles impliquant le groupement thiol occupent une grande partie de la "chimie click" [90-94], les réactions thiol-isocyanate [95] et thiol-halogène [96] en font partie également. La réaction d'un groupement thiol avec une double liaison carbone-carbone est une réaction "thiol-ène" et celle avec une triple liaison est une réaction "thiol-yne".

Récemment, la réaction thiol-ène a suscité un intérêt particulier auprès de la communauté scientifique, notamment dans le domaine des polymères, La figure 9 montre le nombre d'ouvrages relatifs à cette réaction qui sont publiés chaque année durant les 20 dernières années.

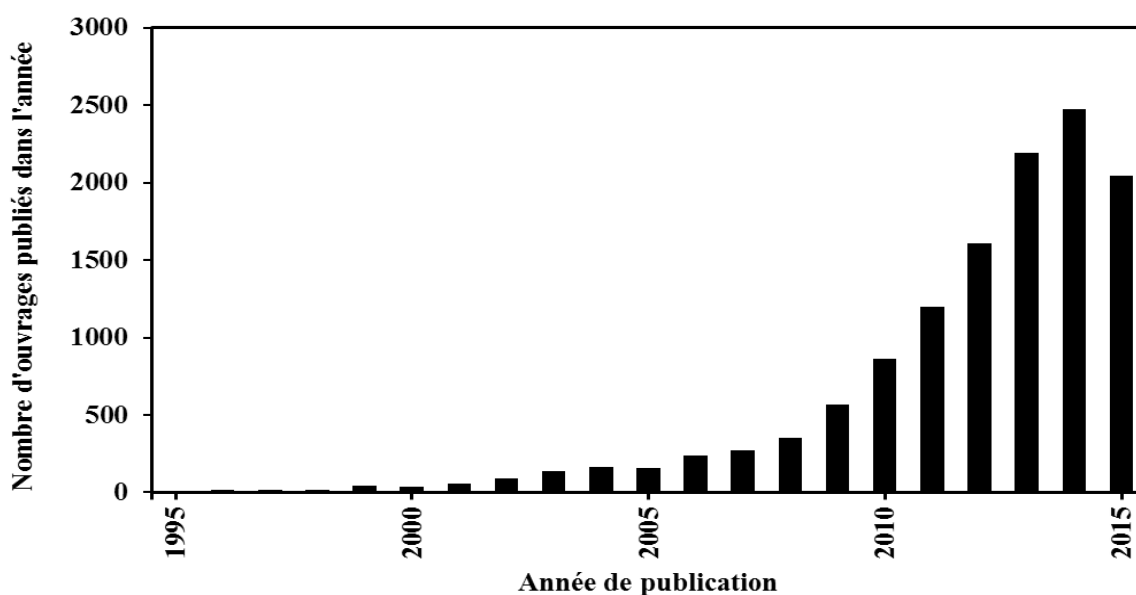


Figure 9. Nombre d'ouvrages dont le titre comporte le terme "thiol-ène" parus chaque année entre 1995 et 2015, d'après la base de données TitaneSciences. Les doublons ont été supprimés de la recherche.

La réaction thiol-ène correspond à l'hydrothiolation de la double liaison carbone-carbone et conduit à la formation d'un alkyle sulfide (figure 10).

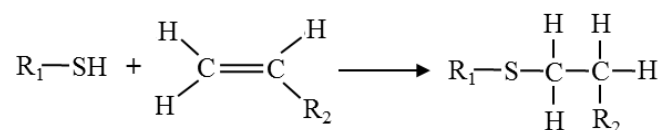


Figure 10. Schéma général de la réaction thiol-ène.

Deux types de mécanismes réactionnels sont adoptés pour décrire la réaction thiol-ène : le mécanisme radicalaire (l'addition radicalaire thiol-ène) et le mécanisme ionique (l'addition thiol-ène de Michael [97]).

I.5.2. Le mécanisme radicalaire de l'addition thiol-ene

La réaction d'addition radicalaire thiol-ène peut être amorcée thermiquement en présence d'un amorceur tel que l'AIBN [98-100], elle peut également se faire par amorçage photochimique (en général sous la lumière UV) [101-102]. Dans ces deux conditions, le mécanisme réactionnel implique une première étape d'amorçage qui permet la formation d'un radical thiyl suite au transfert au thiol durant la deuxième étape, qui est l'étape de propagation, le radical thiyl formé s'additionne à la double liaison carbone-carbone pour former une liaison entre l'atome du soufre et un des deux atomes de carbone de la double liaison (C-S), ce qui donne un radical intermédiaire qui va transférer à un autre groupement thiol pour donner l'alkyle sulfide (produit final) et générer par la même occasion un nouveau radical thiyl, et le cycle se répète jusqu'à la fin de la réaction [104-106], la figure 11 montre ce mécanisme, il s'agit d'un mécanisme régiosélectif anti-Markovnikov.

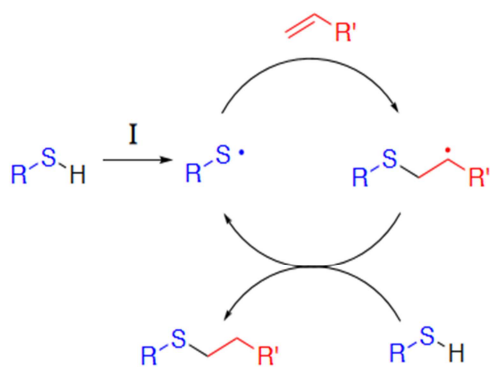


Figure 11. Schéma général du mécanisme réactionnel de l'addition radicalaire thiol-ene. L'amorceur (I) peut être thermique ou photochimique (UV).

I.5.3. Addition thiol-ène de Michael

Appelée également l'addition ionique thiol-ène, elle implique un mécanisme ionique qui peut être catalysé par une base ou initié par un composé nucléophile (figure 12) avec une régiosélectivité de type anti-Markovnikov [107,108]. Dans le cas d'un catalyseur basique (figure 12.a), ce dernier va capter le proton du groupement thiol pour générer un anion thiolate ($R-S^-$), ce dernier s'additionne sur la double liaison carbone-carbone du réactif en question pour donner un intermédiaire anionique dont la charge négative est portée par un carbone central. Cet intermédiaire anionique va ensuite transférer à un autre groupement thiol pour donner l'alkyl sulfide comme produit final et générer en parallèle un autre anion thiolate qui va reproduire le cycle jusqu'à la fin de la réaction qui sera marquée par la neutralisation de l'intermédiaire anionique par le cation issu du catalyseur basique ($H-B^+$). Grâce à la réactivité élevée du groupement thiol, différents catalyseurs basiques peuvent être utilisés, particulièrement les amines tertiaires telles que la triéthylamine ou le 1,8-diazobicycloundec-7-ène [92].

Dans le cas du mécanisme amorcé par un composé nucléophile (Nu), tel que illustré sur la figure 12.b, ce dernier réagit directement avec la double liaison carbone-carbone du réactif utilisé pour former un intermédiaire zwitterionique qui va à son tour arracher le proton du groupement thiol pour donner l'anion thiolate ($R-S^-$), ce dernier va s'additionner sur la double liaison carbone-carbone d'une autre molécule du réactif pour former l'intermédiaire anionique avec une charge négative sur un carbone central, ce dernier va à son tour s'accaparer le proton d'un autre groupement thiol produisant ainsi l'alkyle sulfide (produit final) et un nouvel anion thiolate qui va reproduire le cycle. Plusieurs composés nucléophiles ont montré leur efficacité pour initier ce mécanisme, notamment les phosphines [109,110] et l'imidazole [111].

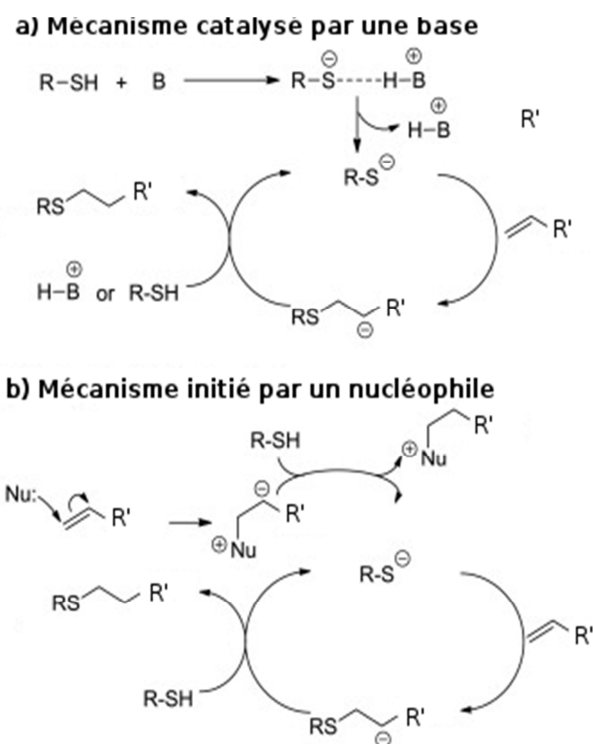


Figure 12. Schéma général du mécanisme d'addition thiol-ène de Michael, B : base, Nu : nucléophile. [112] (modifié).

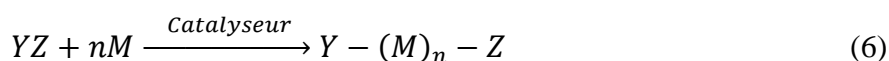
La cinétique et l'efficacité des réactions thiol-ène dépendent du mécanisme mis en œuvre, dans les deux cas (addition radicalaire et addition de Michael), l'un des critères les plus déterminants est la fragilité de la liaison S-H qui est influencée par les effets électroniques des liaisons voisines, la structure de la molécule portant le groupement thiol a donc un effet très important sur la cinétique de la réaction [90].

D'après la littérature, le mécanisme le plus adopté et le plus largement utilisé est le mécanisme radicalaire de l'addition thiol-ène [113]. De nombreux travaux relatifs à la synthèse de monomères, la modification des bouts de chaînes et des groupements terminaux des polymères, la préparation de composites organique-inorganique, l'élaboration de macromolécules à structures branchées, la modification des nanoparticules et des surfaces des matériaux polymères ont été publiés. L'addition radicalaire thiol-ène possède en particulier un très haut rendement avoisinant les 100% dans plusieurs cas [114]. C'est une réaction de grand intérêt dans la chimie des polymères, puisqu'elle permet de réaliser des télomérisations

en additionnant plus d'un monomère sur le groupement thiol, aussi aisément que des réactions de polymérisation radicalaire produisant de longues chaînes polymères.

I.5.4. La télomérisation et la polymérisation radicalaire de type thiol-ène

La télomérisation selon IUPAC¹ est une réaction d'oligomérisation en chaîne durant laquelle l'étape de transfert de chaîne détermine la longueur de l'oligomère obtenu. Cette oligomère, appelée « télomère », est une substance de masse molaire intermédiaire constituée de la répétition d'un petit nombre d'unités dérivées de molécules de faible masse molaire [115]. Dans la littérature relative au domaine des polymères, la télomérisation est définie comme étant une réaction entre une molécule YZ, appelée télogène, et une ou plusieurs molécules M polymérisables, appelées taxogènes, sous des conditions de polymérisation. Le produit est appelé télomère et est de formule Y(M)_nZ (équation 6) dans laquelle n est le nombre de taxogènes qui est en général inférieur à 100 [116-118].



La télomérisation est une approche très pratique pour contrôler la taille de macromolécules obtenues, en particulier lorsque le degré de polymérisation (*DP*) est faible. Dans le cas de la télomérisation radicalaire, le télogène utilisé est un agent de transfert qui, en fonction de son efficacité, permet de minimiser les réactions de terminaison. Parmi les agents de transfert utilisés, le groupement thiol a montré une grande efficacité dans la conduite des réactions de télomérisation radicalaire, en particulier avec des monomères dotés de doubles liaisons carbone-carbone : il s'agit de la télomérisation radicalaire thiol-ène (figure 13) dont le mécanisme sera détaillé dans la partie suivante.

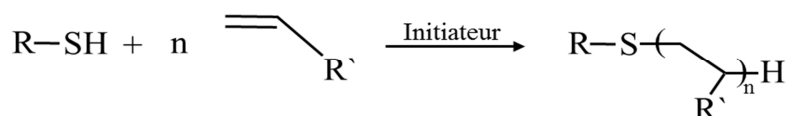


Figure 13. Schéma général de la télomérisation (et de la polymérisation) radicalaire thiol-ène.

¹The International Union of Pure and Applied Chemistry.

L'utilisation du groupement thiol en tant qu'agent de transfert a montré une grande efficacité pour les réactions de télomérisation de monomères vinyliques (thiol-ène). Parmi les molécules thiolées utilisées, on trouve l'acide thioglycolique [119], le 2-mercaptoéthylamine et l'acide 3-mercaptopropionique [120], le 2-mercaptoéthanol [121], les n-alcanethiols [122], le thiophenol [123] et bien d'autres [124].

La télomérisation radicalaire thiol-ène est efficace en solution mais également à l'état condensé, Taha et al. [125] ont réalisé la télomérisation du butyl méthacrylate en utilisant le octadecane-1-thiol comme agent de transfert via un procédé d'extrusion réactive, offrant l'avantage de ne pas avoir recours à des solvants et d'assurer une production continue. Ils ont obtenu des télomères de tailles contrôlées, les valeurs des *DP* moyens comprises entre 3.8 et 32.3 en fonction de la température d'extrusion.

Comme indiqué dans la partie I.3., les polymères portant des groupements thiols peuvent également jouer le rôle d'agent de transfert et réagir sur des monomères portant une double liaison carbon-carbone. Schlaad et al. [126] ont réalisé la télomérisation radicalaire thiol-ène du styrène sur du polyorganosiloxane portant des groupements thiols suivant un mécanisme radicalaire initié par de la lumière UV qui a permis de générer des radicaux thiyls localisés à la surface du polymère. Ils ont obtenu des chaînes télomères de 43 monomères en moyenne ($DP=43$).

L'efficacité du groupement thiol en tant qu'agent de transfert dans les réactions d'addition radicalaires ne se limite pas aux réactions de télomérisation et à la production de petites chaînes, mais elle s'étend aux réactions de polymérisation et la production de chaînes polymères de grande taille, il s'agit de la polymérisation radicalaire thiol-ène. Comme pour la réaction thiol-ène entre une double liaison carbone-carbone et une molécule thiolée, la polymérisation thiol-ène est aussi considérée comme faisant partie du concept de la chimie click car elle répond à des critères tels que la possibilité de sa réalisation sous des conditions modérées, son très haut rendement et les quantités minimales de sous-produits qu'elle génère [127]. La polymérisation radicalaire thiol-ène est en plein essor ces dernières années, divers matériaux polymères sont issus de cette réaction qui sollicite autant d'intérêt notamment dans la préparation de structures polymères branchées et les réseaux de polymères, elle représente un outil pratique pour contrôler les propriétés mécaniques de ces matériaux, respectueuse de l'environnement dans la plupart des cas, régiosélective, elle permet des économies de temps

de par sa vitesse et conduit souvent à des matériaux biodégradables [128-129]. Les polymères issus de cette réaction trouvent généralement leurs applications dans les domaines biomédicaux tels que la préparation de nanoparticules et des hydrogels pour les systèmes de libération de médicaments, les hydrogels biomimétiques, les résines dentaires et les hydrogels pour la régénération des tissus [130-135].

La réaction de polymérisation radicalaire thiol-ène peut être initiée par voie photochimique (UV) ou via un amorceur thermique tel que l'AIBN par exemple [114], l'efficacité de l'amorceur choisi dépend de la nature de l'agent de transfert utilisé (l'entité portant le groupement thiol) et du monomère insaturé que l'on souhaite polymériser. Le mécanisme réactionnel mis en jeu s'apparente à celui d'une polymérisation radicalaire classique impliquant les trois étapes d'amorçage, propagation et terminaison, mais l'étape de la propagation est accompagnée, de manière séquentielle, d'une autre réaction, qui est déterminante du point de vue cinétique et qui a une grande influence sur la taille et les propriétés chimiques du polymère obtenu, c'est la réaction de transfert de chaîne. Le mécanisme, ainsi que la cinétique de polymérisation, sont détaillés dans la partie suivante.

I.5.5. La cinétique de la polymérisation radicalaire thiol-ène et la constante de transfert

Le mécanisme général de la réaction de la polymérisation radicalaire thiol-ène est représenté sur la figure 14, les différentes étapes sont détaillées dans la figure 15. La première étape (l'amorçage) consiste à générer des radicaux thiyls sous l'action de l'amorceur (photochimique ou thermique) qui permet de soustraire un atome d'hydrogène du groupement thiol. Durant l'étape de la propagation, le radical thiyl généré précédemment va attaquer la double liaison carbone-carbone du monomère pour former un alkyle sulfide intermédiaire portant un site radicalaire central, ce dernier va ensuite soit réagir avec un autre monomère pour faire croître la chaîne polymère, ou transférer son site radicalaire sur un autre groupement thiol (réaction de transfert) pour produire un nouveau radical thiyl qui reprendra le cycle et donner par la même occasion un télomère saturé capable d'être ré-initié de nouveau, ainsi la polymérisation radicalaire thiol-ène s'effectue à travers une alternance de séquences de propagations de radicaux thiyls et de réactions transfert de chaîne. L'étape de la terminaison a moins d'importance dans les études cinétiques de ces réactions du fait de la prédominance de l'étape de propagation et de la réaction de transfert. La terminaison se fait soit par combinaison ou par dismutation des espèces portant des sites radicalaires [105].

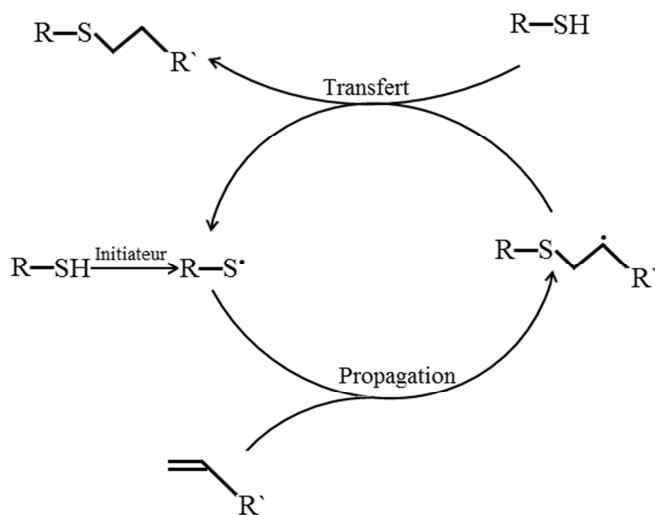


Figure 14. Schéma général de la polymérisation radicalaire thiol-ène.

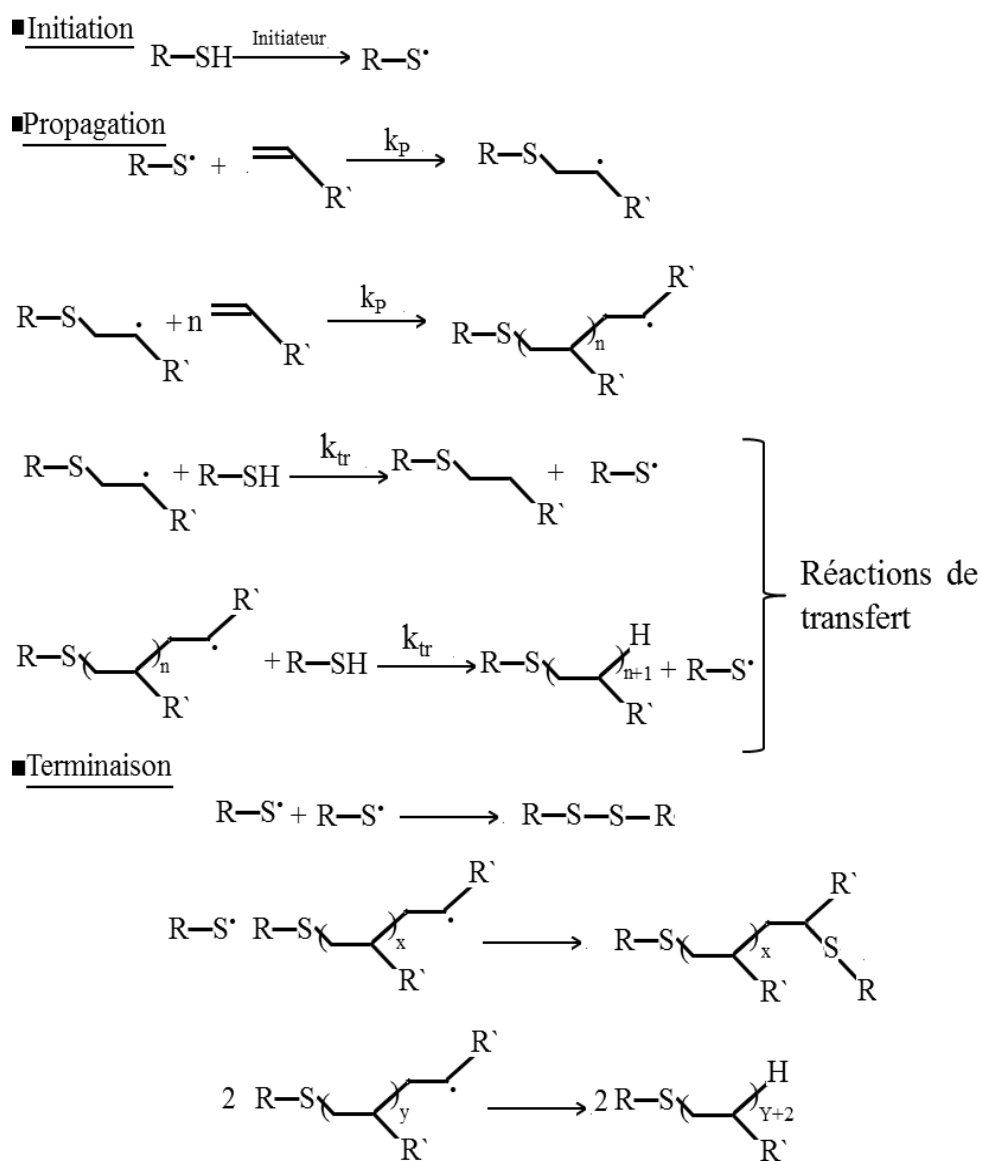


Figure 15. Mécanisme de la polymérisation radicalaire thiol-ène. k_{tr} : constante de vitesse de la réaction de transfert, k_p : constante de vitesse de la réaction de propagation.

Il a été démontré dans la littérature [136,137] que la réaction de transfert de chaîne est l'étape limitante de la cinétique de polymérisation radicalaire thiol-ène dans la plupart des cas et que la cinétique de ces réactions est d'ordre 1 par rapport aux groupements thiols et d'ordre 0 par rapport aux monomères portant la double liaison carbone-carbone pendante (ènes) comme le montre l'équation 7.

$$v \sim [SH]^1 [C=C]^0 \quad (7)$$

où v est la vitesse de réaction, $[SH]$ est la concentration en groupements thiols et $[C=C]$ la concentration en monomères portant la double liaison carbone-carbone (ènes).

Un model cinétique a été développé par Bowman et al. [136] pour la polymérisation radicalaire thiol-ène. Il tient compte des concentrations en thiols $[SH]$ et en ènes $[C=C]$, mais également des concentrations en radicaux thiyls $[S^*]$ et en carbones intermédiaires $[C^*]$. Les équations 8-11 décrivent selon ce modèle un mécanisme réactionnel étape par étape.

$$\frac{d[SH]}{dt} = -k_{tr}[SH][C^*] \quad (8)$$

$$\frac{d[C=C]}{dt} = -k_p[C=C][S^*] \quad (9)$$

$$\frac{d[S^*]}{dt} = v_i - v_t(S^*) + k_{tr}[SH][C^*] - k_p[C=C][S^*] \quad (10)$$

$$\frac{d[C^*]}{dt} = v_i - v_t(C^*) - k_{tr}[SH][C^*] + k_p[C=C][S^*] \quad (11)$$

L'équation 8 évalue la consommation du groupement thiol due à l'arrachement d'un atome d'hydrogène de ce dernier par un carboradical. L'équation 9 représente la consommation des doubles liaisons carbone-carbone pendantes portées par les monomères suite à la réaction de propagation du radical thiyl. Les équations 10 et 11 décrivent respectivement les concentrations des radicaux thiyl et des carboradicaux en tenant compte des contributions des réactions d'amorçage (v_i : vitesse de la réaction d'amorçage), de terminaison (v_t : vitesse de la réaction de terminaison) ainsi que de la production ou de la consommation de ses radicaux par les réactions de propagation et de transfert de chaîne. Notons que les équations 8 et 9

supposent que la consommation des groupements thiols et des doubles liaisons durant l'étape d'amorçage est négligeable par rapport à l'étape de propagation.

L'aspect cyclique des séquences de propagation et transfert de chaîne fait que si l'une des deux réactions est considérablement plus lente que l'autre, elle devient l'étape limitante de tout le mécanisme réactionnel. C'est ainsi que le comportement cinétique global de la réaction de polymérisation radicalaire thiol-ène peut être approché à partir des valeurs des constantes cinétiques de transfert (k_{tr}) et de propagation (k_p) tel qu'indiqué à partir des équations 12-14 qui distinguent trois cas possibles relatifs au rapport entre les valeurs des deux constantes.

- $k_{tr} \cong k_p$

$$[S^{\bullet}]/[C^{\bullet}] \approx 1 \quad \text{et} \quad v \sim [SH]^{1/2}[C=C]^{1/2} \quad (12)$$

- $k_{tr} \ll k_p$

$$[S^{\bullet}]/[C^{\bullet}] \ll 1 \quad \text{et} \quad v \sim [SH]^1 \quad (13)$$

- $k_{tr} \gg k_p$

$$[S^{\bullet}]/[C^{\bullet}] \gg 1 \quad \text{et} \quad v \sim [C=C]^1 \quad (14)$$

Dans le premier cas, les deux constantes cinétiques sont approximativement égales, les deux réactions ont la même contribution dans le comportement cinétique global (équation 12), dans le deuxième cas, la constante cinétique de transfert est inférieure à celle de la propagation ce qui explique la gouvernance de la réaction de transfert dans le comportement global (équation 13), pour le troisième cas, c'est la réaction de propagation qui définit la cinétique globale de la polymérisation car la constante de propagation est inférieure à celle de la réaction de transfert (équation 14).

La constante de transfert de chaîne C_T (en anglais "chain transfer constant") est définie comme étant le rapport de la constante de vitesse de la réaction de transfert k_{tr} sur la constante de vitesse de la réaction de propagation k_p (équation 15).

$$C_T = \frac{k_{tr}}{k_p} \quad (15)$$

Ce paramètre (C_T) est un outil très pratique dans l'étude des cinétiques de polymérisation radicalaire thiol-ène (et radicalaires de façon générale). Plusieurs auteurs [137-139] ont étudié

son influence sur la masse molaire moyenne des polymères obtenus ou leur degré de polymérisation moyen (\overline{DP}_n). L'équation 16 permet de quantifier cette influence [140].

$$\frac{1}{(\overline{DP}_n)_j} = C_T r \quad , \quad \text{avec } r = \frac{[SH]}{[C=C]} \quad (16)$$

$(\overline{DP}_n)_j$ étant le degré de polymérisation moyen instantané (à l'instant j), r le rapport, à l'instant j , de la concentration en groupements thiols sur la concentration en monomères portant la double liaison carbone-carbone. L'équation 16 peut être écrite autrement pour tenir compte du taux de conversion en monomère (α) et éviter les difficultés liées à la variation de r au cours du temps, l'équation 25 a été obtenue [141].

$$(\overline{DP}_n)_j = \frac{(1-\alpha)^{1-C_T}}{C_T r_0} \quad , \quad \text{avec } r_0 = \frac{[SH]_0}{[C=C]_0} \quad (17)$$

Avec r_0 le rapport de la concentration des groupements thiols sur celle des monomères portant les doubles liaisons à l'instant initial (temps=0).

L'équation 17 donne l'expression du degré de polymérisation moyen instantané alors que l'équation 18 donne l'expression du degré de polymérisation moyen cumulé (ou réel) [142].

$$(\overline{DP}_n)_{cum} = \frac{\alpha}{r_0[1-(1-\alpha)^{C_T}]} \quad (18)$$

$(\overline{DP}_n)_{cum}$ étant le degré de polymérisation moyen cumulé (ou réel).

A partir de cette donnée, il est possible d'obtenir une relation linéaire en y introduisant un logarithme népérien, on obtient l'équation (19).

$$\ln\left(1 - \frac{\alpha}{r_0(\overline{DP}_n)_{cum}}\right) = C_T \ln(1 - \alpha) \quad (19)$$

Permettant ainsi l'accès à la valeur de C_T qui n'est autre que la pente correspondant à la variation du terme à gauche de l'équation en fonction de la valeur de $\ln(1-\alpha)$.

Selon plusieurs auteurs [143,144], la valeur "idéale" de la constante de transfert lors de la polymérisation radicalaire thiol-ène est de 1, valeur traduisant des vitesses de consommations équivalentes entre le monomère et l'agent de transfert, et conduisant à des chaînes polymères de faible polydispersité. Le tableau 1 regroupe les valeurs de C_T pour différents composés thiolés utilisés comme agents de transfert avec différents monomères portant des doubles liaisons carbone-carbone.

Tableau 1. Constantes de transfert lors de la polymérisation radicalaire thiol-ène de quelques monomères portant une double liaison carbone-carbone en utilisant des agents de transfert thiolés.

Agent de transfert thiolé	Monomère	C_T	Température (°C)	Réf.
Pénicillamine	Acrylamide	0.22	25	[145]
Pénicillamine	1-Vinyl-2-pyrrolidone	2.34	25	[145]
4-Acetylbenzenthionol	Méthyl méthacrylate	2.6	45	[146]
4-Methylbenzenthionol	Méthyl méthacrylate	7.4	45	[146]
2-Methyl-2-propanethionol	Styrène	4.0	50	[147]
2-Methyl-2-propanethionol	Styrène	3.1	60	[148]
2-Methyl-2-propanethionol	Styrène	1.8	100	[148]

D'après la littérature et comme le montre le tableau 1, la valeur de la constante de transfert lors de la polymérisation radicalaire thiol-ène dépend de la nature du monomère utilisé, de la nature de l'agent de transfert thiolé, mais également de la température de réaction, telle que la valeur de C_T diminue avec l'augmentation de la température, ce qui est évident car il s'agit d'un rapport de deux constantes cinétiques dépendantes de l'inverse de la température suivant une lois d'Arrhenius, le résultat est donc une grandeur qui suit la même tendance (équations 20-22).

$$k_{tr} = A_{tr} e^{\frac{(-E_a)_{tr}}{RT}} \quad (20)$$

$$k_p = A_p e^{\frac{(-E_a)_p}{RT}} \quad (21)$$

$$C_T = \frac{k_{tr}}{k_p} = \frac{A_{tr}}{A_p} e^{\frac{-((E_a)_{tr} - (E_a)_p)}{RT}} = A e^{\frac{-E_a}{RT}} \quad (22)$$

A_{tr} , A_p et A sont respectivement les facteurs pré-exponentiels des constantes de l'étape de transfert, de propagation et de l'équation de constante de transfert de chaîne résultante du rapport des deux précédentes constantes.

$(E_a)_{tr}$ et $(E_a)_p$ sont respectivement les énergies d'activations des étapes de transfert et de propagation, E_a est la résultante des deux.

R et T sont respectivement la constante des gaz parfaits et la température.

I.6. Les polymères antibactériens

I. 6. 1. Généralités et définitions

Les infections par différents microorganismes sont un réel problème pour la santé de l'être humain dans la société moderne, elles touchent différents secteurs, tels que le matériel médical et les équipements chirurgicaux, les surfaces exposées au contact humain dans les hôpitaux, les produits hygiéniques, les systèmes de purification des eaux, les textiles, l'emballage et le stockage des produits alimentaires et plein d'autres domaines allant de l'échelle de la société (lieux publiques) jusqu'à l'échelle domestique et individuelle. Les germes "responsables" de ces infections peuvent se développer n'importe où, dans le sol, dans l'air et dans l'eau, et l'infection peut se faire suite à un contact (toucher) avec le milieu contaminé, elle peut se faire aussi par inhalation de gaz (air) contaminé, en buvant des liquides ou en ingérant des aliments contaminés. D'après l'OMS², dans un rapport publié en 2014 et regroupant les statistiques enregistrées entre 2000 et 2012 dans le monde, les maladies infectieuses sont responsables de 29.7% des décès répertoriés durant cette période, ce qui fait que les infections occupent la première place dans les causes de mortalité dans le monde [149]. Ces préoccupations ont sollicité l'attention de la communauté scientifique dans divers domaines tels que la biologie, la médecine, l'industrie pharmaceutique et la chimie pour développer des produits capables d'éliminer ces microorganismes ou d'empêcher leur développement, ces produits peuvent être de petites molécules, mais ils peuvent également être sous forme de matériaux composés de longues chaînes polymères. Plusieurs appellations et notions sont apparues dans ce domaine, il convient d'enlever la confusion entre quelques termes souvent employés dans le domaine des polymères destinés à ces applications:

Antimicrobien : désigne toute substance pouvant être utilisée pour lutter contre les microbes, et ce, en les éliminant ou en ralentissant leur croissance, un microbe étant un microorganisme

² Organisation Mondiale de la Santé

vivant de taille microscopique, il peut être une bactérie, un champignon, un virus, une algue, une levure ...

Antibactérien : désigne toute substance pouvant être utilisée pour lutter contre les bactéries en les éliminant ou en ralentissant leur croissance, une bactérie étant un être vivant ne possédant qu'une seule cellule.

Antifongique : désigne toute substance pouvant être utilisée pour lutter contre les champignons (moisissures), soit en les éliminant ou en ralentissant leur croissance.

Biocide : substance capable d'éliminer (tuer) un organisme vivant.

Bactéricide : substance capable d'éliminer (tuer) des bactéries.

Bactériostatique : Substance capable d'inhiber la croissance bactérienne.

Fongicide : substance capable d'éliminer (tuer) des champignons.

Tous les termes définis précédemment peuvent être regroupés sous le nom de "activité biologique".

En science des polymères, on a pu concevoir des matériaux disposant d'une seule activité biologique ou de différentes activités simultanément, ils peuvent être destinés à lutter contre une multitude de microorganismes différents ou contre un seul microorganisme (une seule souche de bactérie par exemple).

Un polymère est dit antibactérien, s'il est capable d'exercer une action qui vise à éliminer ou à ralentir la croissance d'un ou plusieurs types de bactéries. Contrairement aux petites molécules connues et utilisées pour leur activité antibactérienne, les polymères antibactériens permettent d'allier, dans le même produit, l'utilité en tant que matériau et l'action qu'il exhibe contre les microorganismes, ils permettent également de répondre aux problématiques liées à la toxicité résiduelle qui résulte de l'usage de petites molécules [150,151], ils disposent aussi d'une meilleure efficacité que leurs analogues de petite taille, mais surtout une durée d'activité antibactérienne beaucoup plus longue [152,153], et actuellement on a pu développer des polymères antibactériens dont l'activité est contrôlée, c'est-à-dire une libération contrôlée du principe actif à partir du polymère [154], on a également réussi à concevoir des polymères antibactériens "intelligents" qui répondent à un stimuli dû à la présence de bactéries dans le milieu en question et dont l'activité n'a lieu qu'en présence de bactéries. Il s'agit de

polymères antibactériens à activité stimulable [155], certains de ces derniers sont capables de rejeter les bactéries après les avoir tuées de manière rapide et répétitive ce qui permet d'assurer la disponibilité de leur surface en continu et le renouvellement du contact avec les bactéries en question [156]. Ces qualités fonctionnelles et ces avancées ont fait que les polymères antibactériens sont d'excellents candidats pour diverses applications tant à l'échelle industrielle que dans la vie courante, telles que le traitement des eaux, les revêtements des matériels médicaux et chirurgicaux, les emballages alimentaires, les équipements sanitaires et autres applications relatives à l'hygiène de vie [157-163].

I.6.2. Incorporation d'une activité antibactérienne dans un polymère

Quelques rares polymères sont naturellement antibactériens, c'est-à-dire que l'activité antibactérienne leur est une propriété intrinsèque qui résulte de leur structure chimique [164]. C'est le cas par exemple du chitosane qui est le polymère le plus étudié dans les domaines biomédicaux. Le chitosane est un copolymère linéaire polycationique, (figure 16.a), son action antibactérienne est due à la présence de groupements amines dans sa structure et couvre une large gamme de bactéries [165,166], son mécanisme d'action dépend de l'acidité du milieu : en milieu acide il y a protonation de la fonction amine du chitosane, ce dernier devient positivement chargé et son action se fait par interactions électrostatiques avec les membranes des bactéries, en milieu basique, le chitosane agit suite à des interactions hydrophobes avec les cellules bactériennes [164].

Le poly- ϵ -lysine est également un polymère naturellement antibactérien, c'est un polyamide cationique (figure 16. b), son action antibactérienne se fait suite à une adsorption électrostatique sur la surface de la membrane externe de la cellule bactérienne, ce qui provoque des déséquilibres physiologiques dans cette dernière [167].

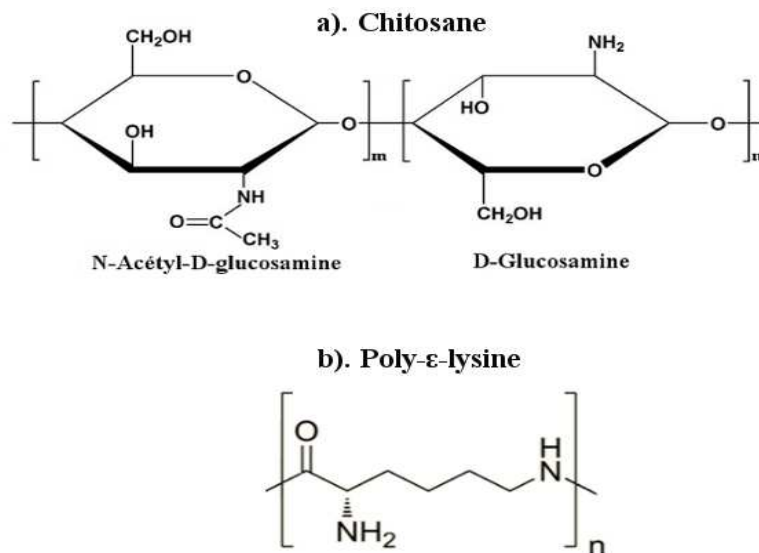


Figure 16. Structures chimiques de polymères naturellement antibactériens.

Néanmoins, la majorité des polymères ne sont pas naturellement dotés d'une activité antibactérienne alors pour obtenir cette propriété, différentes techniques d'incorporation de l'activité antibactérienne dans des polymères impliquant des méthodes chimiques ou des procédés physiques et/ou physicochimiques sont utilisées (figure 17).

L'une de ces techniques consiste à modifier des groupements chimiques disponibles dans la structure du polymère : c'est une activation de groupements chimiques. Par exemple la quaternisation d'une amine primaire (passive) pour donner un ammonium quaternaire (actif), la structure macromoléculaire et la taille du polymère ne sont pas modifiées (figure 17.a). Kenawy et al [153] ont pu obtenir des polymères antibactériens en apportant une modification chimique sur le poly(glycidyle méthacrylate), ils ont synthétisé ce polymère dans un premier lieu, qui dispose de groupements chloroacétyles (suite à une chloroacétylation du polymère de base), les groupements chloroacétyles ont permis de générer des sites quaternaires de phosphonium en les faisant réagir avec du tributylphosphine ou du triphenylphosphine.

La deuxième technique consiste à polymériser des monomères qui possèdent une activité antibactérienne, pour obtenir des chaînes de molécules actives (figure 17.b). Différents monomères sont utilisés à cette fin, ces derniers doivent à la fois posséder un groupement chimique leur permettant de subir une réaction de polymérisation, tels que des liaisons insaturées, et disposer d'un site actif dans leur structure. Plusieurs molécules à activité antibactérienne sont polymérisables, telles que le 2,4,4'-trichloro-2'-acryloyloxydiphényl

éther qui a été synthétisé, polymérisé et co-polymérisé par voie radicalaire avec d'autres monomères dont le styrène, sa polymérisation a été possible grâce à la présence d'une double liaison carbone-carbone pendante dans sa structure chimique, son activité antibactérienne est due au cycle benzylique chloré dont il dispose [168]. Par une technique identique, le p-vinylbenzyl tetraméthylsulfonium tétrafluoroborate a été synthétisé par Endo et al. [169], par voie radicalaire en présence d'AIBN comme amorceur, le polymère obtenu a montré une action antibactérienne envers plusieurs bactéries différentes grâce au cation sulfonium.

Le greffage de molécules dotées d'une activité antibactérienne sur des chaînes polymères est la technique chimique la plus souvent utilisée car elle offre de nombreux avantages. En effet, elle est modulable et diverses molécules actives peuvent être greffées sur un polymère donné (figure 17.c). De plus, cette technique permet une immobilisation de molécules antibactériennes sur des chaînes polymères, notamment lorsque les molécules en question sont liées au polymère via des liaisons covalentes et ne sont pas susceptibles d'être libérées. Alamri et al. [170] ont pu greffer le benzaldéhyde ainsi que deux de ses dérivés (le 4-hydroxybenzaldéhyde et le 2,4-dihydroxybenzaldéhyde) sur du polyacrylonitrile préalablement fonctionnalisé avec des groupements amines, le polymère obtenu a montré une activité microbienne liée au degré de greffage.

Parmi les techniques faisant appel à des procédés physiques, la plus simple est de disperser les molécules actives (ou agents actifs) dans une matrice polymère (figure 17.d), ce procédé peut se faire en solution ou en phase fondue, c'est le cas par exemple lors de la dispersion de métaux tels que l'argent, le cuivre, l'or ou le cadmium (qui sont antibactériens) dans des matrices de polyuréthane ou de polysiloxane, les produits finaux ont prouvé leur efficacité envers une large gamme de bactéries [171]. L'agent antibactérien dispersé peut être une molécule, un atome, un autre polymère qui soit antibactérien ou des nanoparticules actives [172].

Plus récemment, les procédés d'encapsulation d'agents actifs dans les matrices polymères se sont développés (figure 17.e). La technique consiste à élaborer des membranes sphériques (de polymère ou autre matériau) de tailles microscopiques en général autour d'agent antibactérien par un procédé en émulsion. Les capsules jouent le rôle de réservoirs de principe actif [173], ces capsules peuvent par la suite être dispersées dans des matrices polymères. Cette technique est généralement utilisée dans le but de contrôler la libération du principe actif antibactérien à partir du matériau ou de rallonger la durée de l'action antibactérienne. Par exemple, lors de

l'encapsulation du carvacrol et du thymol dans des films de polypropylène pour des applications dans l'emballage alimentaire, les films obtenus ont montré une action antibactérienne prolongée contre la bactérie *Echerchia Coli* [174] qui est souvent présente dans les aliments.

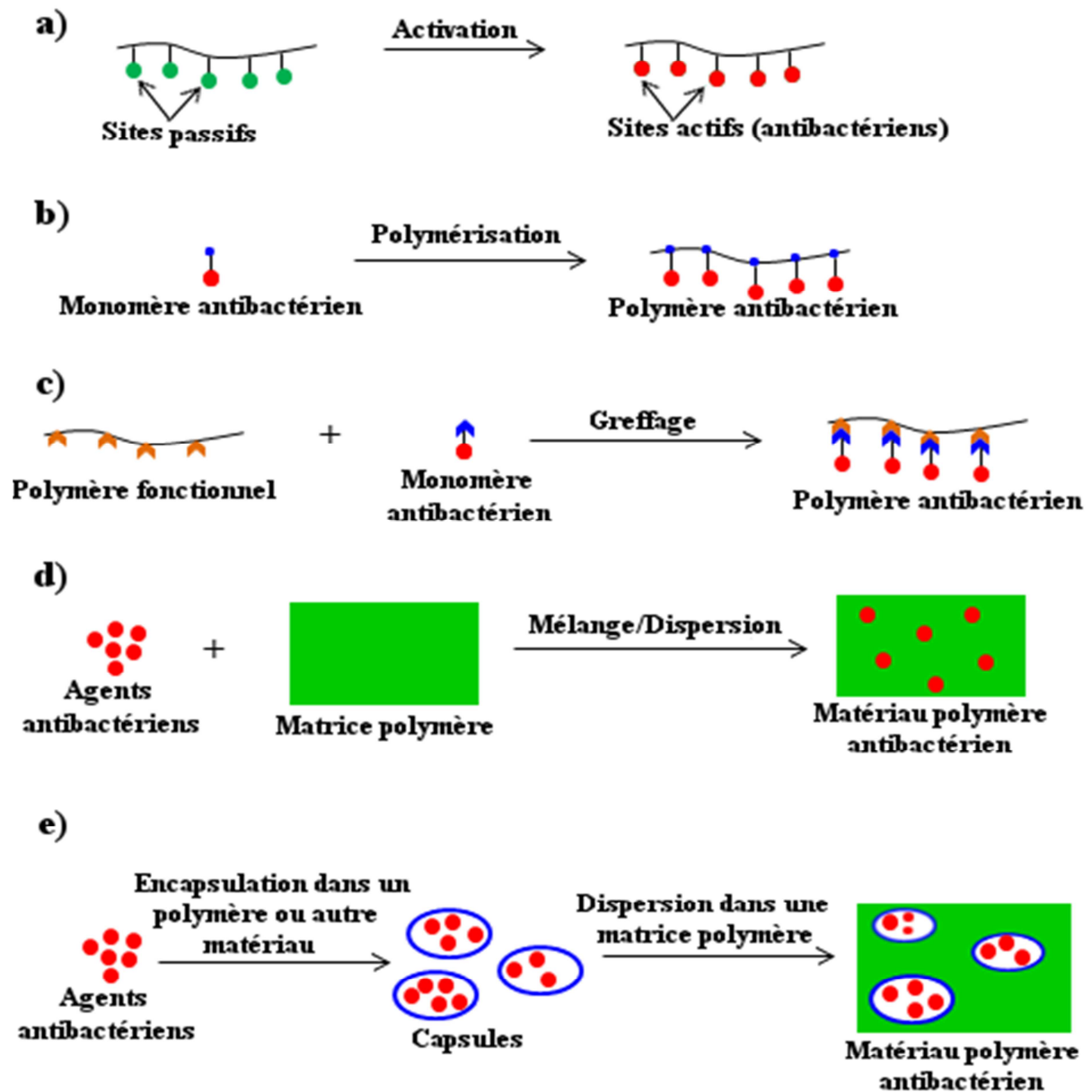


Figure 17. Différentes techniques d'incorporation de l'activité antibactérienne dans des polymères, impliquant des méthodes chimiques (a-c) ou des procédés physiques et/ou physicochimiques (d, e).

I.6.3. L'action antibactérienne des polymères

Pour comprendre l'activité antibactérienne de façon générale et celle des polymères en particulier, ainsi que les différents mécanismes impliqués lors de l'action antibactérienne d'un agent quelconque, il est important de rappeler la structure cellulaire d'une bactérie ainsi que les différents types qui existent.

Une bactérie est un être vivant monocellulaire de taille microscopique (0.2 à 2 μm en général), elle est constituée d'une membrane cellulaire qui renferme le cytoplasme ainsi que les composants nécessaires à ses fonctions et sa survie (figure 18). Il existe des bactéries pathogènes et des non-pathogènes. Selon les structures de leurs membranes cellulaires, les bactéries sont répertoriées en deux types: les bactéries dites de Gram positif (Gram+) et les bactéries de Gram négatif (Gram-), la différence entre les deux est que les bactéries de Gram+ possèdent une membrane cellulaire constituée de plusieurs couches de peptidoglycane, tandis que celles de Gram- ont une membrane constituée d'une seule couche de peptidoglycane (ou deux au maximum), ce qui confère une membrane cellulaire plus épaisse pour les bactéries de Gram+ que pour leurs homologues de Gram- [175]. Ceci joue un rôle sur la robustesse de la membrane cellulaire, mais également sur ses propriétés physicochimiques, les bactéries de Gram- sont connues pour être plus hydrophiles que celle de Gram+. Ces particularités sont déterminantes lors de l'élaboration d'agents antibactériens car l'activité d'un groupement chimique de l'agent antibactérien dépend des phénomènes électrostatiques qui interviennent et de la polarité de la membrane cellulaire et la rupture de la membrane bactérienne peut être plus ou moins facilitée. De ce fait, les agents antibactériens ont souvent une efficacité antibactérienne relative au type de bactéries.

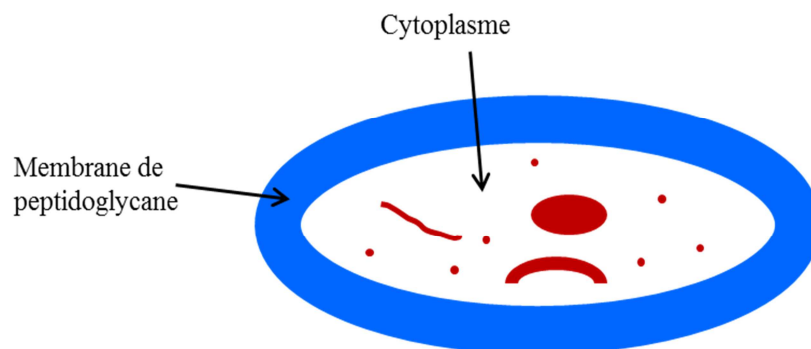


Figure 18. Représentation schématique de la structure cellulaire d'une bactérie.

Selon la structure, la mobilité, la morphologie et le type de groupements chimiques actifs dans les polymères antibactériens mis en jeu, il existe différents mécanismes d'action antibactérienne des polymères (figure 19).

En solution, lorsque les chaînes polymères sont libres de mouvement, le mécanisme d'action pour un polymère amphiphile, constitué de chaîne hydrocarbonée et de tête polaire qui est en général le groupement chimique antibactérien (cas des polymères cationiques par exemple), l'action antibactérienne se fait selon un mécanisme dit de "rupture de membrane cellulaire" (figure 19.a) qui commence lorsque des interactions électrostatiques ont lieu entre le groupement polaire du polymère et la paroi externe de la membrane cellulaire de la bactérie, ce qui provoque une adsorption électrostatique du polymère sur la surface externe de la bactérie, de sorte que le groupement polaire reste au niveau de la membrane pendant que la chaîne polymère pénètre à travers la membrane jusqu'au cytoplasme, ceci provoque à la fois une rupture de la membrane par pénétration de la chaîne polymère, un déséquilibre physiologique au niveau de la membrane et un déséquilibre au niveau du cytoplasme dû à la présence de la chaîne polymère, ce qui conduit à la mort de la bactérie. L'efficacité de ce mécanisme dépend de la polarité du groupement chimique antibactérien mis en jeu, de la taille et de l'architecture macromoléculaire du polymère portant le groupement antibactérien, mais également du type de bactérie [176-179].

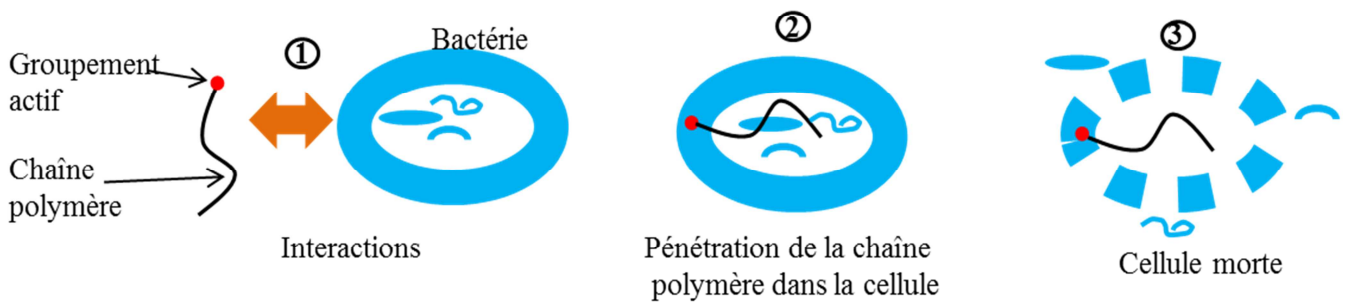
Lorsque le polymère antibactérien constitue une phase solide ou que l'agent antibactérien est immobilisé dans une matrice polymère, le mécanisme d'action est dit "mécanisme par contact" (figure 19.b), c'est-à-dire qu'il n'y a pas diffusion de chaîne polymère ou de molécule active à travers la membrane de la bactérie, mais un contact a lieu entre la bactérie et le polymère : dans un premier lieu, la bactérie est attirée vers la surface du polymère doté de groupements actifs via des interactions électrostatiques, une fois le contact établi, il y a un échange d'ions entre la membrane cellulaire de la bactérie et le groupement antibactérien se trouvant dans le polymère, cet échange consiste en une diffusion de cations divalents de calcium Ca^{2+} et de magnésium Mg^{2+} (dont le rôle est d'assurer la stabilité de l'équilibre électronique de la membrane) depuis la membrane vers le groupement actif du polymère, la perte de ces cations provoque un déséquilibre électronique et physiologique dans la membrane causant sa rupture est par conséquent la mort de la bactérie. Les paramètres régissant l'efficacité de ce mécanisme sont les mêmes que pour le mécanisme en solution auxquels s'ajoutent l'influence de la surface de contact entre le polymère et les bactéries (plus la surface est grande, plus le polymère est efficace), la densité superficielle des groupements

actifs dans la surface du polymère, la mouillabilité de ce dernier lorsque l'action s'effectue en milieu liquide, sa porosité ainsi que l'adhérence des bactéries mortes sur la surface du polymère (formation éventuelle d'un biofilm qui peut diminuer la surface de contact) [180-187].

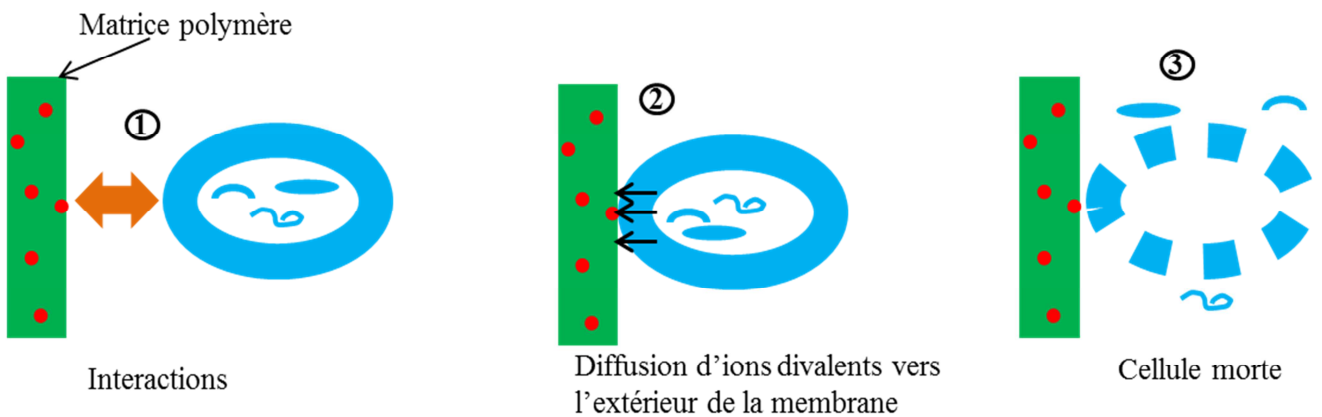
Un autre mécanisme est décrit quand l'agent actif est encapsulé dans une membrane ou une matrice de polymère. Il s'agit du "mécanisme par libération d'agent actif" (figure 19.c), il consiste à libérer un agent actif préalablement piégé ou encapsulé dans une matrice polymère, soit de façon spontanée qui peut être contrôlée (libération contrôlée) ou suite à un stimulus externe, tel que le changement du *pH* ou l'augmentation du taux d'humidité, qui est justement provoqué par la présence des bactéries dans le milieu (activité stimulable). Ce mode d'action offre l'avantage de prolonger la durée de l'activité du matériau et d'économiser des quantités d'agent actif [154,188-190].

Ces 3 mécanismes sont les plus rencontrés dans le domaine des matériaux polymères antibactériens.

a). Mécanisme par rupture de membrane (pénétration du polymère dans la cellule bactérienne)



b). Mécanisme d'action par contact (agent actif immobilisé dans le polymère)



c). Mécanisme d'action par libération d'agent actif (exemple d'activité stimuable, agent encapsulé)

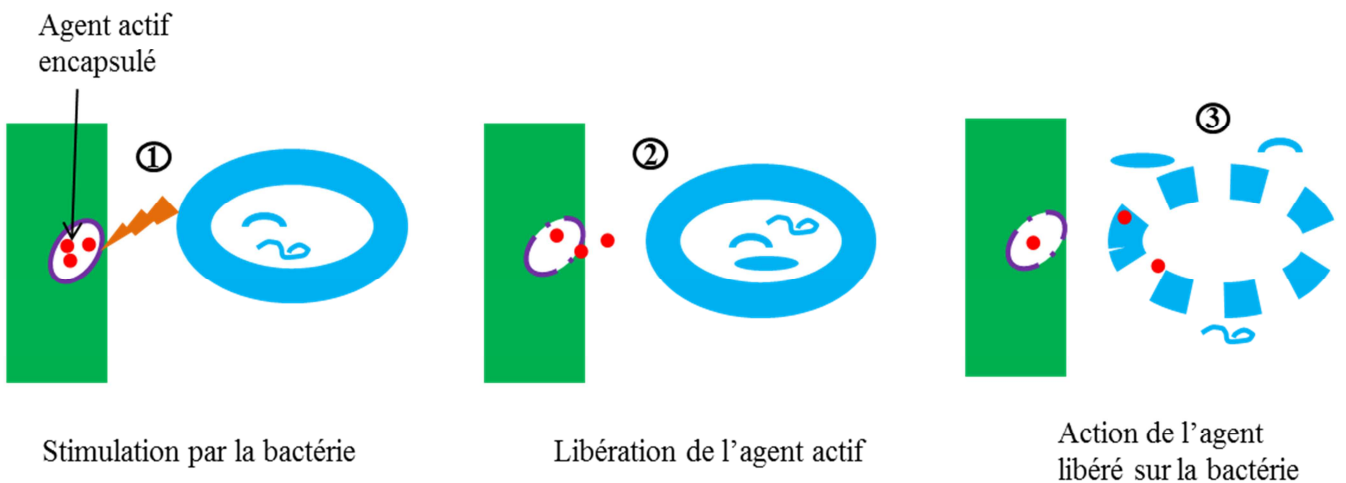


Figure 19. Les différents mécanismes d'action des matériaux polymère antibactériens.

I.6.4. Le groupement ammonium quaternaire dans les polymères antibactériens

Il existe différents groupements chimiques connus pour leur activité antibactérienne, tels que les fonctions hydroxyle, carboxyle, amine, sulfonamide et bien d'autres [191-193], mais le plus utilisé dans la synthèse et l'élaboration des matériaux polymères antibactériens est le groupement ammonium quaternaire (AQ) [195], c'est un cation polyatomique dont la charge positive est portée par l'azote (figure 20) de façon permanente et indépendamment du *pH* du milieu contrairement aux ions ammonium (NH_4^+) et aux ammoniums secondaires et tertiaire. Depuis la découverte de l'activité antibactérienne du groupement AQ en 1935 [196], le nombre de travaux et de recherches effectués sur ce dernier ne cesse d'augmenter et la consommation mondiale des composés contenant ce groupement a atteint 0.5 millions de tonnes en 2004 [197] et occupe 57.8% des formulations de désinfectants [198].

Des polymères dotés de groupements AQ peuvent être préparés selon les techniques vues précédemment ce qui donne lieu à des matériaux polymères antibactériens dont l'efficacité couvre une large gamme de bactéries [199-201].

Selon la position des groupements AQ dans les structures des polymères, on distingue deux groupes : les polymères avec des AQs pendants et les polymères avec des AQs dans la chaîne principale.

Pour les polymères avec des groupements AQ pendants, il existe essentiellement trois méthodes de synthèse, la première consiste à synthétiser au préalable des monomères dotés de groupements AQ et qui sont polymérisables, puis de réaliser la polymérisation ou la copolymérisation de ces derniers [203]. Une autre méthode consiste à polymériser des monomères dotés de groupements amines ou ammoniums tertiaires, puis de les quaterniser dans la structure polymère obtenue [20]. La troisième méthode consiste à greffer des molécules incluant des groupements AQ dans leur structure sur des polymères fonctionnels [205]. L'efficacité de la première méthode dépend de la stabilité des monomères utilisés, celle de la deuxième méthode dépend de la gêne stérique que subissent les groupements que l'on souhaite quaterniser dans le polymère, la troisième dépend de la réactivité des fonctions sur lesquelles on désire greffer les molécules en question ainsi que des éventuelles gênes stériques dans les chaînes polymères.

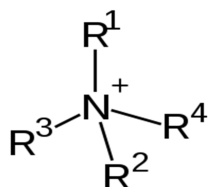


Figure 20. Structure chimique du groupement ammonium quaternaire (AQ). R^1 , R^2 , R^3 et R^4 peuvent être identiques ou différents, ce sont des chaînes alkyles ou polymères.

Concernant les polymères dont le groupement AQ se trouve dans la chaîne principale, ils sont généralement synthétisés soit par une réaction de polymérisation par étapes ou par fonctionnalisation cationique d'un polymère précurseur [206,207].

En fonction de la nature du monomère utilisé et de celle du polymère précurseur, on peut obtenir des polymères dotés de groupements AQ qui soient hydrosolubles, tels que le polynorbornène portant des groupements ammoniums aux bouts des chaînes que Eren et al. [208] ont pu synthétiser par polymérisation du monomère pyridinium préalablement quaternisé et par la quaternisation du polynorbornène portant des alkyles pyridiniums aux bouts des chaînes. Lenoir et al. [209] ont également synthétisé un polymère hydrosoluble dotés de groupements AQ par la quaternisation des groupements amines du poly(éthylène-*co*-butylène)-*b*-poly[2-(diméthylamino)éthyl-méthacrylate]. Ces polymères peuvent être également non-hydrosolubles, tels que du polycaprolactone actif obtenu par cycloaddition de molécules portant des amines tertiaires sur du polycaprolactone suivie par la quaternisation de ces derniers [210].

Les polymères dotés de groupements AQ ne se limitent pas à des structures linéaires, les structures branchées ont attiré une grande attention pour l'élaboration de polymères antibactériens portant des AQ grâce à la compacité et la fonctionnalité élevée qu'offrent les architectures branchées, ce qui a conduit à des synthèses de ces derniers avec des structures branchées, hyperbranchées et dendritiques [195,211,212].

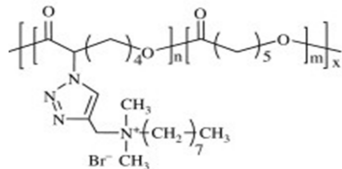

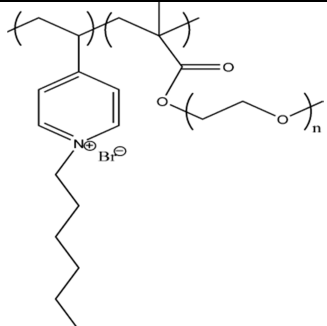
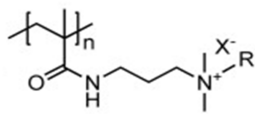
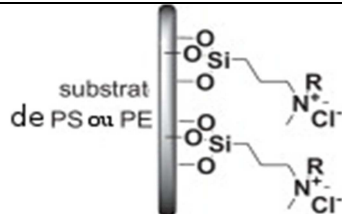
L'existence du groupement AQ dans la structure d'un polymère nécessite la présence d'un contre-ion chargé négativement et assurant l'équilibre électronique du groupement, plusieurs contre-ions sont impliqués dans ces polymères, tels que les ions halogènes (chlorure Cl^- , bromure Br^- , iodure I^- , fluorure F^-), l'ion hydroxyde OH^- , le bisulfide SH^- , le nitrate NO_3^- , le perchlorate ClO_4^- , le trifluoroacétate CF_3COO^- et bien d'autres. Etant donné que les différents

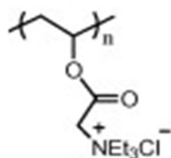
mécanismes d'action antibactérienne des polymères portant les AQs impliquent des interactions électrostatiques et des échanges ioniques entre les groupements AQ du polymère et la membrane de la bactérie, le type du contre-ion associé au cation ammonium peut avoir une influence considérable sur l'activité antibactérienne de l'AQ et par conséquent du polymère. Des études comparatives qui consistaient à changer les contre-ions associés aux AQ dans des polymères différents ont mis en évidence ces effets [196, 213-215].

La balance hydrophile/hydrophobe est également un paramètre déterminant dans l'activité antibactérienne des polymères dotés de groupements AQ, le caractère hydrophile est apporté au polymère par la présence des AQ dans sa structure, tandis que le caractère hydrophobe lui est conféré par les chaînes polymères, ce qui donne des structures amphiphiles. La partie hydrophile (AQ) favorise les interactions avec les membranes cellulaires des bactéries ainsi que les échanges ioniques alors que la partie hydrophobe (ou moins hydrophile) favorise la pénétration du polymère au travers de la membrane de la bactérie dans le cas d'un mécanisme où les chaînes polymères portant les AQ sont libres [216-218].

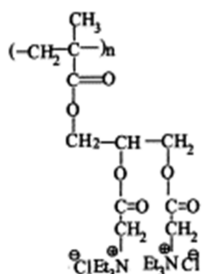
Le tableau 2 regroupe quelques exemples de polymères dotés de groupements AQ, leurs structures, les conditions opératoires de leur élaboration ainsi que les bactéries envers lesquelles ils ont montré leur efficacité.

Tableau 2. Exemples de polymères portant des AQs et type de bactéries envers lesquelles ils ont montré leur efficacité.

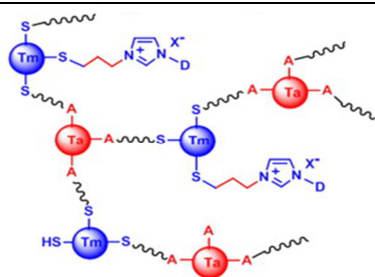
Structure	Conditions opératoire d'élaboration	Réf
	<p>Greffage du N,N-diméthylprop-2-yne-1-amine sur le polycaprolactone, à 35°C dans le THF avec agitation pendant 2 heures. Efficace contre <i>E. coli</i> (Gram-).</p>	[210]
	<p>Quaternisation de polycarbonates par des cycles contenant l'azote, dans le dichlorométhane à température ambiante avec agitation pendant 2 heures. Efficaces contre <i>E. coli</i> (Gram-).</p>	[219]
	<p>Quaternisation des groupements pyridine dans le Poly(vinylpyridine-co-hydroxyméthacrylate) dans un mélange de chloroforme et de méthanol à 70°C sous reflux pendant 48 heures. Efficace contre <i>E.coli</i> (Gram-).</p>	[220]
	<p>Polymérisation d'acrylamides contenant des AQs à 50°C dans de l'eau pendant 30 heures. Efficaces contre <i>E. coli</i> (Gram-) et <i>Staphylococcus albus</i> (Gram+).</p>	[221]
	<p>Greffage de molécules portant des AQs sur du polyéthylène et du polystyrène dans un mélange méthanol/eau à 50°C pendant 24 heures. Efficaces contre <i>Salmonella</i> (Gram-).</p>	[222]



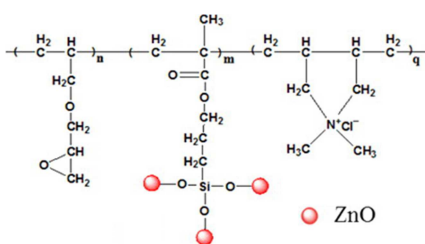
Réaction polyvinylalcol chloroacétylé, avec [223] le triéthylammonium dans du benzène à 80°C pendant 4 jours. Efficace contre *E.coli* (Gram-), *Bacillus subtilis* (Gram+).



Immobilisation de molécules contenant des [153] Aqs sur le poly(glycidyl methacrylate) à 80°C dans du benzène sous reflux pendant 2 jours. Efficaces contre *Pseudomonas aeruginosa*, (Gram-) et *Bacillus cereus* (Gram+)



Réseau polymère contenant des unités [224] d'imidazolium par réaction de photopolymérisation thiol-ène sous UV. Efficace contre *E. coli* (Gram-) et *Staphylococcus aureus* (Gram+).



Copolymérisation du diméthyl diallyl [225] ammonium chloride avec l'allyl glycidyl éther dans l'eau (dispersion) à 80°C pendant 4 heures. Efficace contre *E. Coli* (Gram-) et *Staphylococcus aureus* (Gram+).

I.6.5. Mise en œuvre en phase fondue des polymères dotés de groupements ammoniums quaternaires

L'un des grands avantages des polymères portants des Aqs c'est qu'ils conservent leur activité antibactérienne lorsqu'ils sont mis en œuvre pour réaliser des mélanges tant par voie solvant qu'en phase fondue, même à des températures allant jusqu'à 180°C [226], en particuliers lorsque les groupements AQ sont liés aux chaînes polymères par des liaisons covalentes ou font partie des structures des chaînes. Leur mélangeage en solution est beaucoup étudié jusqu'à présent [227] mais leur mise en œuvre en phase fondue, qui est

possible par différents procédés et qui peut présenter des avantages tant pour le polymère antibactérien que pour la matrice avec laquelle il est mélangé, est très peu traitée dans la littérature.

Par exemple, dans le domaine de l'emballage, on a pu apporter deux grandes améliorations au polyéthylène basse densité (PEBD) on le mélangeant, en phase fondue, avec du polyionène portant des groupements AQ dans une structure en forme d'étoile ou linéaire [226]: la première étant l'incorporation d'une activité antibactérienne dans le PEBD, et la seconde consiste à éliminer les effets électrostatiques à la surface du PEBD (grâce aux AQs), ce qui est une problématique dans le domaine des emballages. Le polyionène actif a quant à lui bénéficié du support mécanique de qualité qu'offre le PEBD et d'une plus grande dispersion dans le matériau obtenu.

Les solutions qui consistent à intégrer directement des molécules antibactériennes dans des matrices polymères souffrent d'une courte durée d'activité, et ce, suite à la libération de ces molécules qui peuvent diffuser à travers la matrice polymère les contenant et présenter aussi un risque de pollution toxique, en revanche, lorsqu'un polymère actif portant des AQs est mélangé à des matrices polymères par voie fondu, les produits obtenus garantissent une plus longue durée d'activité antibactérienne et les entités actives restent dans les matrices qui les contiennent [226,228].

I. 7. Conclusion

Les structures polymères branchées et le contrôle des architectures macromoléculaires sont d'un réel intérêt dans la science des polymères, elles offrent la possibilité d'obtenir des produits ayant différents designs à l'échelle macromoléculaire, ce qui se traduit par des matériaux montrant différentes caractéristiques et propriétés, notamment les propriétés en phase fondue qui permettent une facilité de mise en œuvre et de transformation. Une valeur peut-être ajoutée à ces structures : la fonctionnalité ; on y incorporant des groupements réactifs, ces dernières peuvent offrir un large champ de possibilités de modifications. Parmi les groupements fonctionnels susceptibles d'offrir cet avantage, le groupement thiol présente une grande réactivité et peut se lier avec diverses molécules d'intérêt chimique ou biologique, il est également considéré comme un agent de transfert efficace pour des réactions d'addition radicalaire de type thiol-ène, ce qui peut permettre de greffer des monomères possédant des doubles liaisons sur les structures polymères portant ce groupement. De nombreux monomères peuvent être utilisés à cette fin, parmi lesquels ceux portant un groupement actif connu pour ses propriétés antibactériennes, donnant ainsi naissance à des polymères antibactériens.

Le travail présenté ici consiste à allier ces propriétés dans un même matériau polymère : structures branchées, fonctionnalité et post-modification pour des applications antibactériennes, ainsi que la possibilité de mise en œuvre, tout en restant dans un cadre respectueux de l'environnement, et ce, en utilisant des chaînes polymères biodégradables et/ou biosourcées pour l'élaboration de ces structures.

Références bibliographiques

[1] les quatre bases de données :

SCOPUS : base de données lancée par l'éditeur Elsevier, elle référence 21000 journaux scientifiques.

PASCAL : base de données du centre national français de la recherche scientifique (CNRS), plus de 20 millions de références.

Web of Science : service d'information en ligne qui donne accès à 7 bases de données bibliographiques.

ScienceDirect: plateforme, gérée par l'éditeur Elsevier, qui regroupe plus de 2000 revues scientifiques.

[2] D. J. Darensbourg, *Adv. Polym. Sci.* 245 (2012) 1-28.

[3] J. H. Song, R. J. Murphy, R. Narayan, G. B. H. Davies, *Phil. Trans. R. Soc. B* 364 (2009) 2127-2139.

[4] L. Avérous, E. Pollet, *Environnemental Silicate Nano-Biocomposites* (2012) 13-39.

[5] K. Leja, G. Lewandowicz, *Polish J. Environ. Stud.* 19 (2010) 255-266.

[6] I. Kyrikou, D. Briassoulis, *J. Polym. Environ.* 15 (2007) 124-150.

[7] ASTM D 6400-04 Standard specification for compostable plastics. ASTM International, West Conshohocken, PA (2009).

[8] VINCOTT, 2BR-09f-a, les exigences de la norme EN 13432.

[9] A. Jarerat, Y. Tokiwa, *Biotechnology Letters* 25 (2003) 401-404.

[10] ISO Norme Internationale, 1999(F)

[11] P. J. M. Stals, Y. Li, J. Burdyska, R. Nicolay, A. Nese, A. R. A. Palmans, E. W. Meijer, K. Matyjaszewski, S. S. Sheiko, *J. Am. Chem. Soc.* 135 (2013) 11421-11424.

[12] D. Rein, P. Rempp, P. J. Lutz, *Makromol. Chem., Macromol. Symp.* 67 (1993) 237-249.

[13] D. Yan, W.-J. Wang, S. Zhu, *Polymer* 40 (1999) 1737-1744.

- [14] M. Jayakannan, S. Ramakrishnan, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* 38 (2000) 261-268.
- [15] W. Zhang, T. M. Nicholson, G. R. Davies, I. M. Ward, *Polymer* 37 (1996) 2653-2656.
- [16] M. Le Leindre, Thèse de Doctorat, Polymères linéaires et branchés fonctionnels par synthèse radicalaire et thiochimie (2014) p.52.
- [17] J. M. Ren, T. G. McKenzie, Q. Fu, E. H. H. Wong, J. Xu, Z. An, S. Shanmugam, T. P. Davis, C. Boyer, G. G. Qiao, *Chem. Rev.* 116 (2016) 6743-6836.
- [18] N. H. Aloorkar, A. S. Kulkarni, R. A. Patil, D. J. Ingale, *Int. J. Pharm. Sci. Nanotech.* 5 (2012) 1675-1684.
- [19] J. R. Schaefgen, J. P. Flory, *J. Am. Chem. Soc.* 70 (1948) 2709-2718.
- [20] P. Liu, E. Landry, Z. Ye, H. Joly, W.-J. Wang, B.-G. Li, *Macromolecules* 44 (2011) 4125-4139.
- [21] H. Gao, K. Matyjaszewski, *J. Am. Chem. Soc.* 129 (2007) 11828-11834.
- [22] B. J. Saiki, P. Gogoi, S. Sharmah, S. K. Dolui, *Polym. Int.* 64 (2015) 437-445.
- [23] H. Gao, K. Min, K. Matyjaszewski, *Macromol. Chem. Phys.* 208 (2007) 1370-1378.
- [24] J. H. Xia, X. Zhang, K. Matyjaszewski, *Macromolecules* 32 (1999) 4482-4484
- [25] K. Y. Baek, M. Kamigaito, M. Sawamoto, *Macromolecules* 34 (2001) 215-221.
- [26] S. Peleshanko, V. V. Tsukruk, *Prog. Polym. Sci.* 33 (2008) 523-580.
- [27] B. Zhang, K. Fischer, M. Schmidt, *Macromol. Chem. Phys.* 206 (2005) 157-162.
- [28] H. G. Boerner, D. Duran, K. Matyjaszewski, M. da Silva, *Macromolecules* 35 (2002) 3387-3394.
- [29] S. J. Lord, S. S. Sheiko, I. LaRue, H. I. Lee, K. Matyjaszewski, *Macromolecules* 37 (2004) 4235-4240.
- [30] Y. Segawa, T. Higashihara, M. Ueda, *Polym. Chem.* 4 (2013) 1746-1759.
- [31] C. Gao, D. Yan, *Prog. Polym. Sci.* 29 (2004) 183-275.

- [32] P. J. Flory, *J. Am. Chem. Soc.* 74 (1952) 2718-2723.
- [33] M. Jikei, M. Kakimoto, *Prog. Polym. Sci.* 26 (2001) 1233-1285.
- [34] E. Malmstrom, A. Hult, *J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. Phys.* 37 (1997) 555-579.
- [35] T. J. Prosa, B. J. Bauer, E. J. Amis, D. A. Tomalia, R. Scherrenberg, *J. Pol. Sci. Part B : Polym. Phys.* 35 (1997) 2913-2924.
- [36] C. R. Yates, W. Hayes, *Eur. Polym. J.* 40 (2004) 1257-1281.
- [37] D. J. Massa, K. A. Shriner, S. R. Turner, B. I. Voit, *Macromolecules* 28 (1995) 3214-3220.
- [38] E. Abbasi, S. F. Aval, A. Akbarzadeh, M. Milani, H. T. Nasrabadi, S. W. Joo, Y. Hanifehpour, K. Nejati-Koshki, R. Pashaei-Asl, *Nanoscale Res. Lett.* 9 (2014) 247-256.
- [39] A. W. Bosman, E. W. Meijer, *Chem. Rev.* 99 (1999) 1665-1688.
- [40] S.-E. Stiriba, H. Frey, R. Haag, *Angew. Chem. Int. Ed.* 41 (2002) 1329-1334.
- [41] D. A. Tomalia, J. M. J. Frechet, *J. Polym. Sci. Part A : Polym. Chem.* 40 (2002) 2719-2728.
- [42] A. Lederer, W. Burchard, *RCS Polymer Chemistry Series No. 16* (2015) 1-19.
- [43] C. J. Hawker, R. Lee, J. M. Frechet, *J. Am. Chem. Soc.* 113 (1991) 4583-4588.
- [44] D. Hötler, A. Burgath, H. Frey, *Acta Polym.* 48 (1997) 30-37.
- [45] H. Wiener, *J. Am. Chem. Soc.* 69 (1974) 17-20.
- [46] E. Papirer, E. Brendlé, *J. Chim. Phys.* 95 (1998) 122-149.
- [47] D. Taton, A. Le Borgne, M. Sepulchre, N. Spassky, *Macromol. Chem. Phys.* 195 (1994) 139-148.
- [48] M. Erberich, H. Keul, M. Möller, *Macromolecules* 40 (2007) 3070-3079.
- [49] B. Obermeier, F. Wurm, H. Frey, *Macromolecules* 43 (2010) 2244-2251.
- [50] V. S. Reuss, B. Obermeier, C. Dingels, H. Frey, *Macromolecules* 45 (2012) 4581-4589.

- [51] H. Yang, T. Bai, X. Xue, W. Huang, J. Chen, X. Qian, G. Zhang, B. Jiang, *Polymer* 72 (2015) 63-68.
- [52] A. Southan, E. Hoch, V. Schönhaar, K. Borchers, C. Schuh, M. Müller, M. Bach, G. E. M. Tavor, *Polym. Chem.* 5 (2014) 5350-5359.
- [53] M. K. Marschütz, A. Bernkop-Schnürch, *Eur. J. Pharm. Sci.* 15 (2002) 387-394.
- [54] C. E. Hoyle, C. N. Bowman, *Angew. Chem. Int. Ed.* 49 (2010) 1540-1573.
- [55] C. E. Hoyle, A. B. Lowe, C. N. Bowman, *Chem. Soc. Rev.* 39 (2010) 1355-1387.
- [56] I. Bacalocostantis, V. P. Mane, A. S. Goodley, W. E. Bentley, S. Muro, P. Kofinas, *J. Biomater. Sci., Polym. Ed.* 24 (2012) 912-926.
- [57] C. Miller, P. Cuendet, M. Graetzel, *J. Phys. Chem.* 95 (1991) 877-886.
- [58] C. Tjiam, V. G. Gomes, *Ind. Eng. Chem. Res.* 53 (2014) 7526-7537.
- [59] M. J. Fevola, R. D. Hester, C. L. McCormick, *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* 41 (2003) 560-568.
- [60] F. Karasu, N. Arsu, Y. Yagci, *J. Appl. Polym. Sci.* 103 (2007) 3766-3770.
- [61] L. Harelle, T. Pith, G. H. Hu, M. Lambla, *J. Appl. Polym. Sci.* 52 (1994) 1105-1113.
- [62] F. Beckert, C. Friedrich, R. Thomann, R. Mülhaupt, *Macromolecules* 45 (2012) 7083-7090.
- [63] A. W. Harant, V. S. Khire, M. S. Thibodaux, C. N. Bowman, *Macromolecules* 39 (2006) 1461-1466.
- [64] A. R. Davis, K. R. Carter, *Langmuir* 30 (2014) 4427-4433.
- [65] H. Gappa-Fahlenkamp, R. S. Lewis, *Biomaterials* 26 (2005) 3479-3485.
- [66] N. C. Kalarickal, S. Rimmer, P. Sarker, J.-C. Leroux, *Macromolecules* 40 (2007) 1874-1880.
- [67] E. Themistou, G. Battaqlia, S. P. Armes, *Polym. Chem.* 5 (2014) 1405-1417.

- [68] M. Schmitz, M. Kuhlmann, O. Reimann, C. P. R. Hackenberger, J. Groll, *Biomacromolecules* 16 (2015) 1088-1094.
- [69] S. Cesana, A. Kurek, M. A. Baur, J. Auernheimer, O. Nuyken, *Macromol. Rapid Commun.* 28 (2007) 608-615.
- [70] M. Liras, O. Garcia, N. Guarrotxena, M. Palacios-Cuesta, I. Quijada-Garrido, *Polym. Chem.* 4 (2013) 5751-5759.
- [71] P. Espeel, F. Goethals, M. M. Stamenovic, L. Petton, F. E. Du Prez, *Polym. Chem.* 3 (2012) 1007-1015.
- [72] M. Liras, O. Garcia, I. Quijada-Garrido, R. Parìs, *Macromolecules* 44 (2011) 1335-1339.
- [73] E. Themistou, G. Battaglia, S. P. Armes, *Polym. Chem.* 5 (2014) 1405-1417.
- [74] X. Chen, J. Lawrence, S. Parelkar, T. Emrick, *Macromolecules* 46 (2013) 119-127.
- [75] A. Bernkop-Schnürch, S. Steininger, *Int. J. Pharm.* 194 (2000) 239-247.
- [76] A. Bernkop-Schnürch, V. Schwarz, S. Steininger, *Pharm. Res.* 16 (1999) 876-881.
- [77] E. Lieb, M. Hacker, J. Tessmar, L. A. Kunz-Schughart, J. Fiedler, C. Dahmen, U. Hersel, H. Kessler, M. B. Schulz, A. Göpferich, *Biomaterials* 26 (2005) 2333-23-41.
- [78] P. A. Johnson, R. Levicky, *Langmuir* 19 (2003) 10288-10294.
- [79] C. E. Kast, A. Bernkop-Schnürch, *Biomaterials* 22 (2001) 2345-2352.
- [80] S. Aryal, K. C. R. Bahadur, N. Bhattarai, B. M. Lee, H. Y. Kim, *Mater. Chem. Phys.* 98 (2006) 463-469.
- [81] X. Huang, I. H. El-Sayed, W. Qian, M. A. El-Sayed, *J. Am. Chem. Soc.* 128 (2006) 2115-2120.
- [82] X. C. Huang, P. J. Tsai, Y. C. Chen, *Small* 5 (2009) 51-56.
- [83] S. C. Boca, S. Astilean, *Nanotechnology* 21 (2010) 1-7.
- [84] E. Salih, W. L. Siqueira, E. J. Helmerhorst, F. G. Oppenheim, *Anal. Biochem.* 407 (2010) 19-33.

- [85] M.-C. Millot, B. Sebillé, *Die Angew. Makromol. Chem.* 100 (1981) 159-181.
- [86] S. Chiarle, M. Ratto, M. Rovatti, *Water Research* 34 (2000) 2971-2978.
- [87] K. A. Venkatesan, B. R. Selvan, M. P. Antony, T. G. Srinivasan, P. R. V. Rao, *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 266 (2005) 431-440.
- [88] K. Kobayashi, S. Kitagawa, H. Ohtani, *J. Chrom.:A* 1110 (2006) 95-101.
- [89] S. Xu, X. Han, *Biosens. Bioelectron.* 19 (2004) 1117-1120.
- [90] A. B. Lowe, *Polym. Chem.* 1 (2010) 17-36.
- [91] J. W. Chan, B. Yu, C. E. Hoyle, A. B. Lowe, *Polymer* 50 (2009) 3158-3168.
- [92] J. W. Chan, C. E. Hoyle, A. B. Lowe, M. Bowman, *Macromolecules* 43 (2010) 6381-6388.
- [93] A. B. Lowe, C. E. Hoyle, C. N. Bowman, *J. Mater. Chem.* 20 (2010) 4745-4750.
- [94] J. W. Chan, J. Shin, C. E. Hoyle, C. N. Bowman, A. B. Lowe, *Macromolecules* 43 (2010) 4937-4942.
- [95] H. Li, B. Yu, H. Matsushima, C. E. Hoyle, A. B. Lowe, *Macromolecules* 42 (2009) 6537-6542.
- [96] J. Xu, L. Tao, C. Boyer, A. B. Lowe, T. P. Davis, *Macromolecules* 43 (2010) 20-24.
- [97] A. Michael, *J. Prakt. Chem.* 35 (1887) 349-356.
- [98] T. Hayashi, A. Kazlauciusas, P. D. Thornton, *Dyes and Pigments* 123 (2015) 304-316.
- [99] Z. Yang, X. Liu, X. Xu, S. Chen, X. Zhu, Y. Du, F. Li, *Mater. Chem. Phys.* 179 (2016) 65-71.
- [100] M. Podgorski, E. Becka, M. Claudino, A. Flores, P. K. Shah, J. W. Stansbury, C. N. Bowman, *Dent. Mater.* 31 (2015) 1255-1262.
- [101] T. R. Hayes, P. A. Lyon, E. Silva-Lopez, B. Twamley, P. D. Benny, *Inorg. Chem.* 52 (2013) 3259-3267.

- [102] W. O. Huey, K. S. Jack, A. K. Whittaker, P. Hui, *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* 51 (2013) 4626-4636.
- [103] L. Chen, J. Ou, Z. Liu, H. Lin, H. Wang, J. Dong, H. Zou, *J. Chromatogr. A* 1394 (2015) 103-110.
- [104] M. J. Kade, D. J. Burke, C. J. Hawker, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* 48 (2010) 743-750.
- [105] C. E. Hoyle, C. N. Bowman, *Angew. Chem. Int. Ed.* 49 (2010) 1540-1573.
- [106] C. E. Hoyle, B. Lowe, C. N. Bowman, *Chem. Soc. Rev.* 39 (2010) 1355-1387.
- [107] L. Yu, L.-H. Wang, Z.-T. Hu, Y.-Z. You, D.-C. Wu, C.-Y. Hong, *Polym. Chem.* 6 (2015) 1527-1532.
- [108] D. P. Nair, M. Podgorski, S. Ghatani, T. Gong, W. X. Xi, C. R. Fenoli, C. N. Bowman, *Chem. Mater.* 26 (2014) 724-744.
- [109] M. N. Liu, B. H. Tan, R. P. Burfort, A. B. Lowe, *Polym. Chem.* 4 (2013) 3300-3311.
- [110] J. W. Chan, H. Y. Wei, H. Zhou, C. E. Hoyle, *Eur. Polym. J.* 45 (2009) 2717-2725.
- [111] W. X. Xi, C. Wang, C. J. Kloxin, C. N. Bowman, *ACS Macro Lett.* 1 (2012) 811-814.
- [112] C. Wang, C. Qi, *Tetrahedron* 69 (2013) 5348-5354.
- [113] A. B. Lowe, *Polym. Chem.* 5 (2014) 4820-4870.
- [114] M. Uygen, M. A. Tasdelen, Y. Yagci, *Macromol. Chem. Phys.* 211 (2010) 103-110.
- [115] *Pure & Appl. Chem.* 66 (1994) 1077-1184.
- [116] M. A. Semsarzadeh, S. Amiri, *J. Polym. Res.* 19 (2012) 9891-9900.
- [117] M. A. Semsarzadeh, A. Mirzaei, *Iran. Polym. J.* 12 (2003) 67-75.
- [118] M. A. Semsarzadeh, A. Mirzaei, E. Vasheghani-Farahani, M. Nekomanesh Haghghi, *Eur. Polym. J.* 39 (2003) 2193-2201.
- [119] C. Loubat, A. Javidan, B. Boutevin, *Macromol. Chem. Phys.* 201 (2000) 2845-2852.
- [120] Z.-R. Lu, P. Kopeckova, Z. Wu, J. Kopecek, *Bioconjugate Chem.* 9 (1998) 793-804.

- [121] M. Teodorescu, M. Dimonie, I. Cerchez, *Eur. Polym. J.* 35 (1999) 247-252.
- [122] B. Pucci, J. C. Maurizis, A. A. Pavia, *Eur. Polym. J.* 27 (1991) 1101-1106.
- [123] J.-M. Bessière, B. Boutevin, L. Sarraf, *Polymer Bull.* 18 (1987) 253-257.
- [124] M. D. Costioli, D. Berdat, R. Freitag, X. André, A. H. E. Müller, *Macromolecules* 38 (2005) 3630-3637.
- [125] J. Chen, Y. Chalamet, M. Taha, *Macromol. Mater. Eng.* 288 (2003) 357-364.
- [126] C. Kuttner, P. C. Maier, C. Kunert, H. Schlaad, A. Fery, *Langmuir* 29 (2013) 16119-16126.
- [127] C. E. Hoyle, T. Y. Lee, T. Roper, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* 42 (2004) 5301-5338.
- [128] S. K. Reddy, K. S. Anseth, C. N. Bowman, *Polymer* 46 (2005) 4212-4222.
- [129] A. E. Rydholm, S. K. Reddy, K. S. Anseth, C. N. Bowman, *Polymer* 48 (2007) 4589-4600.
- [130] A. E. Rydholm, K. S. Anseth, C. N. Bowman, *Acta Biomater.* 3 (2007) 449-455.
- [131] A. A. Aimetti, A. J. Machen, K. S. Anseth, *Biomaterials* 30 (2009) 6048-6054.
- [132] J. A. Carioscia, H. Lu, J. W. Stanbury, C. N. Bowman, *Dent. Mater.* 21 (2005) 1137-1143.
- [133] J. J. Roberts, S. J. Bryant, *Biomaterials* 34 (2013) 9969-9979.
- [134] A. Štorha, E. A. Mun, V. V. Khutoryanskiy, *RCS Adv.* 3 (2013) 12275-12279
- [135] E. Hachet, N. Sereni, I. Pignot-Paintrand, V. Ravaine, A. Szarpak-Jankowska, R. Auzély-Velty, *J. Colloid Interf. Sci.* 419 (2014) 52-55.
- [136] N. B. Cramer, T. Davies, A. K. O'Brien, C. N. Bowman, *Macromolecules* 36 (2003) 4631-4636.
- [137] N. B. Cramer, S. K. Reddy, A. K. O'Brien, C. N. Bowman, *Macromolecules* 36 (2003) 7964-7969.

- [138] C. M. Yuan, G. Di Silvestro, M. Farina, *Macromol. Theory Simul.* 3 (1994) 193-202.
- [139] C. H. Bamfort, W. G. Barb, A. D. Jenkins, P. F. Onyon, "The Kinetics of Vinyl Polymerization by Radical Mechanism", Butterworths, London 1958.
- [140] B. Boutevin, M. H. Snoussi, M. Taha, *Eur. Polym. J.* 21 (1985) 445-447.
- [141] B. Boutevin, Y. Pietrasanta, G. Bauduin, *Makromol. Chem.* 186 (1985) 283-295.
- [142] B. Boutevin, Y. Pietrasanta, *Makromol. Chem.* 186 (1985) 1457-1465.
- [143] G. Moad, E. Rizzardo, S. H. Thang, *Polymer* 49 (2008) 1079-1131.
- [144] D. Colombani, P. Chaumont, *Macromolecules* 27 (1994) 5972-5978.
- [145] C. Henriquez, C. Bueno, E. A. Lissi, M. V. Encinas, *Polymer* 44 (2003) 5559-5561.
- [146] C. Barton, R. A. Bird, K. E. Russel, *Canadian J. Chem.* 41 (1963) 2737-2742.
- [147] W. V. Smith, *J. Am. Chem. Soc.* 68 (1946) 2059-2064.
- [148] M. Morton, J. A. Cala, I. Piirma, *J. Am. Chem. Soc.* 78 (1962) 5394-5398.
- [149] OMS-Principales causes de mortalité dans le monde, Aide-mémoire N°310, Mai 2014.
- [150] Y. Sun, G. Sun, *J. Appl. Polym. Sci.* 80 (2001) 2460-2467.
- [151] E.- R. Kenawy, F. I. Abdel-Hay, A. A. El-Magd, Y. Mahmoud, *React. Funct. Polym.* 66 (2006) 419-429.
- [152] E.- R. Kenawy, F. I. Abdel-Hay, A. E.- R. R. El-Shanshoury, M. H. El-Newehy, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* 40 (2002) 2384-2393.
- [153] E.- R. Kenawy, F. I. Abdel-Hay, A. E.-R. R. El-Shanshoury, M. H. El-Newehy, *J. Control. Release* 50 (1998) 145-152.
- [154] G. G. Buonocore, M. Siniqaqlia, M. R. Corbo, A. Bevilacqua, E. La Notte, M. A. Del Nobile, *J. Food. Prot.* 67 (2004) 1190-1194.
- [155] A. Cavallaro, S. Taheri, K. Vasilev, *Biointerphases* 9 (2) (2014) 029005 *Revue*.
- [156] T. Wei, Q. Yu, W. Zhan, H. Chen, *Adv. Healthc. Mater.* 5 (2016) 449-456.

- [157] E. Kenawy, *J. App. Polym. Sci.* 82 (2001) 1364-1374.
- [158] H. M. Kelly, P. B. Deasy, E. Ziaka, N. Claffey, *Int. J. Pharmaceut.* 274 (2004) 167-183.
- [159] Y. Sun, G. Sun, *J. Appl. Polym. Sci.* 81 (2001) 617-624.
- [160] E.- S. Park, W.- S. Moon, M.- J. Song, M.- S. Yoon, *Int. Biodeteriorat. Biodegrad.* 47 (2001) 209-214.
- [161] Z. S. Nurkeeva, V. V. Khutoryanskiy, G. A. Mum, M. V. Sherbakova, A. T. Ivaschenko, N. A. Aithozhina, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 57 (2004) 245-249.
- [162] S. Salmieri, F. Islam, R. A. Khan, F. M. Hossain, H. M. M. Ibrahim, C. Miao, W. Y. Hamad, M. Lacroix, *Cellulose* 21 (6) (2014) 4271-4285.
- [163] N. Takala, S. Salmieri, A. Boumail, R. A. Khan, K. D. Vu, G. Chauve, J. Bouchard, M. Lacroix, *J. Food. Eng.* 116 (3) (2013) 648-655.
- [164] A. Jain, L. S. Duvvuri, S. Farah, N. Beyth, A. J. Domb, W. Khan, *Adv. Healthcare Mater.* 3 (2014) 1969-1985.
- [165] C. A. Allan, L. A. Hadwiger, *Exp. Mycol.* 3 (1979) 285-287.
- [166] S. Hirano, N. Nagao, *Agricultural Biol. Chem.* 53 (1989) 3065-3066.
- [167] S. Shima, H. Matsuoka, T. Iwamoto, H. Sakai, *J. Antibiot.* 37 (1984) 1449-1455.
- [168] S. T. Oh, C. S. Ha, W. J. Cho, *J. Appl. Polym. Sci.* 54 (1994) 859-866.
- [169] A. Kanazawa, T. Ikeda, T. Endo, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* 31 (1993) 2873-2876.
- [170] A. Alamri, M. H. El-Newehy, S. S. Al-Deyab, *Chem. Cent. J.* 6 (2012) 111-123.
- [171] J.-P. Guggenbichler, M. Böswald, S. Lugauer, T. Krall, *Infection* 27 (1999) S16-S23.
- [172] E. Bovero, K. E. A. Magee, E. C. Young, C. Menon, *Macromol. React. Eng.* 7 (2013) 624-631.
- [173] Q. Wang, J. Gong, X. Huang, H. Yu, F. Xue, *J. Appl. Microbiol.* 107 (2009) 1781-1788.

- [174] A. Guarda, J. F. Rubilar, J. Miltz, M. J. Galotto, *Int. J. Food Microbiol.* 146 (2011) 144-150.
- [175] Y. Ohta, Y. Kondo, K. Kawada, T. Teranaka, N. Yoshino, *J. Oleo. Sci.* 57 (2008) 445-452.
- [176] S. Wessels, H. Ingmer, *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 67 (2013) 456-467.
- [177] U. Tezel, S. G. Pavlostathis, *Curr. Opin. Biotech.* 33 (2015) 296-304.
- [178] P. Gilbert, L. E. Moore, *J. Appl. Microbiol.* 99 (2005) 703-715.
- [179] R. Förch, L. Duque, A. Lotz, *Comprehensive Materials Processing* 4 (2014) 449-459.
- [180] M. Crismaru, L. A. T. W. Asri, T. J. A. Loontjens, B. P. Krom, J. de Vries, H. C. van der Mei, H. J. Busscher, *Antimicrob. Agents Chemother.* 55 (2011) 5010-5017.
- [181] C. Z. Chen, S. L. Cooper, *Biomaterials* 23 (2002) 3359-3368.
- [182] P. Li, Y. F. Poon, W. Li, H-Y. Zhu, S. H. Yeap, Y. Cao, X. Qi, C. Zhou, M. Lamrani, R. W. Beuerman, E-T. Kang, Y. Mu, C. M. Li, M. W. Chang, S. S. Jan Leong, M. B. Chan-Park, *Nat. Mater.* 10 (2011) 149-156.
- [183] A. M. Bieser, J. C. Tiller, *Macromol. Biosci.* 11 (2011) 526-534.
- [184] F. Siedenbiedel, J. C. Tiller, *Polymers* 4 (2012) 46-71.
- [185] M. E. Villanueva, A. Salinas, J. A. González, S. Teves, G. J. Copello, *New J. Chem.* 39 (2015) 9200-9206.
- [186] L. A. T. W. Asri, M. Crismaru, S. Roest, Y. Chen, O. Ivashenko, P. Rudolf, J. C. Tiller, H. C. van der Mei, H. J. Busscher, T. J. A. Loontjens, *Adv. Funct. Mater.* 24 (2014) 346-355.
- [187] C. Alvarez-Lorenzo, C. A. Garcia-Gonzalez, E. Bucio, A. Concheiro, *Expert Opin. Drug. Deliv.* 13 (2016) 1109-1119.
- [188] P. Gao, X. Nie, M. Zou, Y. Shi, G. Cheng, *J. Antibiot.* 64 (2011) 625-634.
- [189] N. Seedat, R. S. Kalhapure, C. Mocktar, S. Vepuri, M. Jadhav, M. Soliman, T. Govender, *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* 61 (2016) 616-630.

- [190] L. Zhang, D. Pornpattananankul, C.- M. J. Hu, C.- M. Huang, *Curr. Med. Chem.* 17 (2010) 585-594.
- [191] M. K. Kim, J. C. Park, Y. Chonq, *Nat. Prod. Commun.* 7 (2012) 57-64.
- [192] Y. Fu, Y. Zhang, S. Zhou, Y. Liu, J. Wang, Y. Wang, C. Lu, C. Li, *Int. J. Pharmacol.* 9 (2013) 416-429.
- [193] J. J. Kabara, A. J. Conley, J. P. Truant, *Antimicrob. Agents Chemother.* 2 (1972) 492-498.
- [194] K. Isik, F. Özdemir-Kocak, *Microbiol. Res.* 164 (2009) 49-58.
- [195] Y. Xue, H. Xiao, Y. Zhang, *Int. J. Mol. Sci.* 16 (2015) 3626-3655.
- [196] G. Domagk, *Dtsch. Med. Wochenschr.* 61 (1935) 829-832.
- [197] U. Tezel, S. G. Pavlostathis, *Antimicrobial Resistance in the Environment*, ed. 1, John Wiley and Sons: Hoboken, NJ, USA, (2011) 349-387.
- [198] E. Fu, K. McCue, D. Boesenberg, *Handbook for Cleaning/Decontamination of Surfaces*, ed. 1, Elsevier: Oxford, UK, 1 (2007) 573-592.
- [199] H. Kourai, T. Yabuhara, A. Shirai, T. Maeda, H. Nagamune, *Eur. J. Med. Chem.* 41 (2006) 437-444.
- [200] Y. Zhang, M. Ding, L. Zhou, H. Tan, J. Li, H. Xiao, J. Li, J. Snow, *Polym. Chem.* 3 (2012) 907-913.
- [201] V. Bekiari, K. Nikoulaou, N. Koromilas, G. Lainioti, P. Avramidis, G. Hotos, J. K. Kallitsis, G. Bokias, *Agr. Agr. Sci. Proced.* 4 (2015) 445-450.
- [202] N. D. Koromilas, G. Ch. Lainioti, E. K. Oikonomou, G. Bokias, J. K. Kallitsis, *Eur. Polym. J.* 54 (2014) 39-51.
- [203] G. B. Butler, F. L. Ingley, *J. Am. Chem. Soc.* 73 (1951) 895-896.
- [204] J. S. Parent, A. Penciu, S. A. Guillén-Castellanos, A. Liskova, R. A. Whitney, *Macromolecules* 37 (2004) 7477-7483.
- [205] W. Tian, Y. Hu, W. Wanq, D. Yu, *RCS Adv.* 5 (2015) 91932-91936.

- [206] A. Zheng, X. Xu, H. Xiao, Y. Guan, S. Li, *J. Mater. Sci.* 47 (2012) 7201-7209.
- [207] S. R. Williams, T. E. Long, *Prog. Polym. Sci.* 34 (2009) 762-782.
- [208] T. Eren, A. Som, J. R. Rennie, C. F. Nelson, Y. Urgina, K. Nüsslein, E. B. Coughlin, G. N. Tew, *Macromol. Chem. Phys.* 209 (2008) 516-524.
- [209] S. Lenoir, C. Pagnouille, C. Detrembleur, M. Galleni, R. Jérôme, *J. Polym. Sci. Part A : Polym. Chem.* 44 (2006) 1214-1224.
- [210] R. Riva, P. Lussis, S. Lenoir, C. Jérôme, R. Jérôme, P. Lecomte, *Polymer* 49 (2008) 2023-2028.
- [211] K. Chen, X. Zhou, X. Wang, *J. Surfactants Deterg.* 17 (2014) 1081-1088.
- [212] B. V. Worley, D. L. Slomberg, M. H. Schoenfisch, *Bioconjug. Chem.* 25 (2014) 918-927.
- [213] G. Garg, G. S. Chauhan, R. Gupta, J. H. Ahn, *J. Colloid Interface Sci.* 344 (2010) 90-96.
- [214] A. Kanazawa, T. Ikeda, T. Endo, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* 31 (1993) 1441-1447.
- [215] D. Xie, Y. Weng, X. Guo, J. Zhao, R. L. Gregory, C. Zheng, *Dent. Mater.* 27 (2011) 487-496.
- [216] K. Kuroda, W. F. DeGrado, *J. Am. Chem. Soc.* 127 (2005) 4128-4129.
- [217] T. R. Stratton, J. L. Rickus, J. P. Youngblood, *Biomacromolecules* 10 (2009) 2550-2555.
- [218] A. King, S. Chakrabarty, W. Zhang, X. Zeng, D. E. Ohman, L. F. Wood, S. Abraham, R. Rao, *Biomacromolecules* 15 (2014) 456-467.
- [219] V. W. L. Ng, J. P. K. Tan, J. Leong, Z. X. Voo, J. L. Hedrick, Y. Y. Yang, *Macromolecules* 47 (2014) 1285-1291.
- [220] P. H. Sellenet, B. Allison, B. M. Applegate, J. P. Youngblood, *Biomacromolecules* 8 (2007) 19-23.

- [221] A. Zhang, Q. Liu, Y. Lei, H. Shuanghao, Y. Lin, *React. Funct. Polym.* 88 (2015) 39-46.
- [222] T. Fadida, Y. Kroupitski, U. M. Peiper, T. Bendikov, S. Sela (Saldinger), E. Poverenov, *Coll. Surf. B: Biointerfaces* 122 (2014) 294-300.
- [223] E.- R. Kenawy, M. H. El-Newehy, F. I. Abdel-Hay, A. E.- R. R. El-Shansoury, *Arab. J. Chem.* 7 (2014) 355-361.
- [224] M. Kim, C. Song, D. K. Han, K.- D. Ahn, S. S. Hwang, D. J. Ahn, M.- H. Kim, *React. Funct. Polym.* 87 (2015) 53-60.
- [225] G. Dangge, D. Xiyang, C. Chen, L. Bin, M. Jianzhong, *Ind. Eng. Chem. Res.* 54 (2015) 10560-10567.
- [226] A. Zheng, X. Xu, H. Xiao, Y. Guan, S. Li, D. Wei, *J. Mater. Sci.* 47 (2012) 7201-7209.
- [227] L. Mivehi, S. H. Bahrami, R. M. A. Malek, *J. Appl. Polym. Sci.* 109 (2008) 545-554.
- [228] W. He, Y. Zhang, J. Li, Y. Gao, F. Luo, H. Tan, K. Wang, Q. Fu, *Scientific Reports* 6:32140 (2016) 1-9.

CHAPITRE II

SYNTHESE DE POLYMERES BRANCHES MULTI-THIOLES

Ce chapitre traite de la synthèse et de la fonctionnalisation de structures macromoléculaires branchées à base de segments de chaînes d'acide polylactique (PLA), de polycaprolactone (PCL) et de polyhydroxybutyrate (PHB), différentes architectures macromoléculaires et fonctionnalités ont été obtenues de façon contrôlée. Les segments de chaînes polymères utilisés sont biodégradables (et biosourcés dans les cas du PLA et PHB).

Dans un premiers temps, des oligomères linaires dihydroxytélchéliques ont été préparés par polymérisation par ouverture de cycle du lactide produisant du PLA-diol (HO-PLA-OH) et par transestérification du PHB produisant du PHB-diol (HO-PHB-OH), l'oligomère du polycaprolactone (HO-PCL-OH) a été fourni sous sa forme télchélique. La présence des groupements OH aux extrémités de ces oligomères assure leur réactivité pour l'étape suivante.

Les segments obtenus ont pu être assemblés dans des structures branchées en utilisant le glycérol comme nœud et un diisocyanate comme liant entre les groupements OH du nœud et ceux des segments. À l'issue de cette étape, différentes architectures ont été obtenues avec des groupements isocyanates pendants, c'est justement la disponibilité de ces derniers qui va permettre la fonctionnalisation des macromolécules obtenues.

La dernière étape était la fonctionnalisation des macromolécules on y introduisant des groupements thiols, à cette fin, le 2-aminothiophenol a été utilisé, ce dernier portant deux sites réactifs: l'amine et le thiol. Il a été démontré que dans les conditions opératoires suivies c'est l'amine qui est prioritaire pour réagir avec les groupements isocyanates des macromolécules branchées, ce qui permet de fixer le 2-aminothiophenol sur la fonction isocyanate et de garder le groupement thiol pendant. La fin de cette étape est marquée par l'obtention de macromolécules branchées portant des groupements thiols avec des architectures et fonctionnalités contrôlées.

Les produits obtenus durant les différentes étapes ont fait l'objet de caractérisations physicochimiques (RMN, SEC, DSC, dosage chimique) et les réactions ont été suivies par IR. La présence des groupements thiols sur les polymères obtenus permettra leur modification dans les chapitres suivants.

Synthesis of Multi-Thiol Functionalized Polylactic Acid, Polyhydroxybutyrate and Polycaprolactone

**Kedafi Belkhir,^{1,2,3} Hang Shen,^{1,2,3,4} Jianding Chen,⁴ Corinne Jegat,^{1,2,3}
Mohamed Taha^{1, 2, 3*}**

¹Université de Lyon, F-42023, Saint-Etienne, France

²CNRS, UMR 5223, Ingénierie des Matériaux Polymères, F-42023, Saint-Etienne, France

³Université de Saint-Etienne, Jean Monnet, F-42023, Saint-Etienne, France

⁴Laboratory of Advanced Materials Processing, East China University of Science and Technology, 200237 Shanghai, China

*Corresponding author. Tel.: +33 477481557; Fax: +33 477485126. E-mail address: Mohamed.Taha@univ-st-etienne.fr

HIGHLIGHTS

- Multi-thiol functionalized polyesters were synthesized.
- The products are mainly made of biodegradable segments.
- The molecular design and the thiol functionality were controllable.
- High thiol content was obtained: $1.2 \cdot 10^{-3}$ mol SH/g of product.

II.1.INTRODUCTION

To address environmental concern, the issue of sustainability and ever-limited petroleum resources, biodegradable polyesters such as Polylactic acid (PLA), Polyhydroxybutyrate (PHB) and Polycaprolactone (PCL) have received considerable interests in polymer science.[1,2] In addition to their commercial availability, they do not accumulate plastic wastes after use [3,4] and facilitate local rubbish management.[5] PLA is a bio-based polymer that can be synthesized by ring-opening polymerization of lactide or by polycondensation of lactic acid;[6,7] it can be processed by extrusion,[8,9] injection molding,[10,11] casting,[12,13] thermoforming,[14] foaming[15-17] and fiber spinning.[18] Thanks to its remarkable properties, this polymer has various applications: its uses include medical implants, [19-21] packaging,[22,23] textile[24] and nanoparticulate formulation.[25] PHB is also a biodegradable and bio-based polymer [26,27] which can be produced by more than 300 species of bacteria;[28] it has applications in agriculture, food packaging and storage,[29] can be used as surgical sutures and is studied as scaffolds in textile engineering.[30] PCL is biodegradable [31](by hydrolysis of its ester linkages in physiological conditions such as the human body) and bioabsorbable. This polyester was firstly synthesized by ring opening polymerization of caprolactone in the 1930s.[32] It has several applications in the biomedical field such as drug delivery[33] or sutures[34] and can be processed by extrusion[35] or foaming.[36]

The properties of these biodegradable polymers can be modified for special applications and they can be functionalized by introducing reactive groups allowing further modifications. For example, thiol functionalization [37,38] is an interesting approach to reach this purpose: by bearing thiol groups, polymers offer reactive centers on polymer chains and therefore acquire high reactivity.[39,40] Numerous reactions can be carried out on thiol groups, the most frequently encountered being thiol-ene and thiol-yne click reactions [41,42] which are efficient alternatives to surface modification, grafting and further functionalization of these materials.

The thiol functionalization of PLA is described in many publications. For example, thiol functions were introduced in PLA nanoparticle surfaces; a rate of $8,5 \times 10^{-3}$ mol of thiol functions per mol of PLA was obtained.[43] These nanoparticles were intended to be used as carrier systems for anti-infectious agents, anticancer drugs and other compounds. Another paper[44] describes the synthesis of PLA chains with one thiol function at the end that were used to prepare functional fluorescent labels. However, thiol functionalization of PCL is still

little described. In a previous study,[45] thiol functionalized polyethylene glycol (PEG)-b-polyesters block polymers, which are PEG-b-PLA and PEG-b-PCL, were synthesized; these biodegradable polymers were thiol end-functionalized by breaking a disulfide bond lying in the block copolymer thus giving a thiol-terminated copolymer. However, no publication can be found concerning the thiol functionalization of PHB.

The aim of this study is to prepare PLA, PHB and PCL polyesters with designed structures bearing controlled and variable amounts of thiol groups at the chain ends and different numbers of polyester segment using simple reaction procedures. These polymers can be used as chain transfer agents or clicked with different monomers.

In this work, molar mass controlled PLA and PHB diols were firstly prepared, while PCL diol was commercially available. These prepolymers were used for synthesizing polyesters with isocyanate end-groups. By reacting 2-Aminothiophenol and isocyanate terminated polyesters, multi-thiol functionalized polyesters were obtained with a high thiol function content. This facile method can easily be scaled-up.

II.2. EXPERIMENTAL

Materials

Dihydroxyl-terminated polycaprolactone oligomers CAPA[®] 2100A, 2200A and 2402 were purchased from Solvay (molar masses indicated by the supplier and confirmed by ¹HNMR were 1000, 2000 and 4000 g.mol⁻¹ respectively). Polyhydroxybutyrate PHI002TM was purchased from NaturePLAST (molecular weight by ¹HNMR = 4730 g.mol⁻¹). 3,6-Dimethyl-1,4-dioxane-2,5-dione (*L*-Lactide, C₃H₆O₃, 98+%), 4,4'-Methylenebis(cyclohexyl isocyanate) (H₁₂MDI, C₁₅H₂₂N₂O₂, 90%), Phenylisocyanate (C₆H₅NCO, 98+%), Glycerol (C₃H₈O₃, 99%, dehydrated by 3 Å rod-shaped molecular sieves, 1/16 inch, Fluka, for 1 week before use), 1,4-Butanediol (C₄H₁₀O₂, 99%), 2-Aminothiophenol (C₆H₇NS, 99%), *p*-Toluenesulfonic acid monohydrate (C₇H₈O₃S·H₂O, 98+%), 2-Propanol (C₃H₈O, 99.5%), Hydrochloric acid aqueous solution (HCl, 0.1mol.L⁻¹), Dibutyltin dilaurate (C₃₂H₆₄O₄Sn, 95%), Tin(II) bis (2-ethylhexanoate) (C₁₆H₃₀O₄Sn, 95%), 5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoic acid) (DTNB or Ellman's reagent, C₁₄H₈N₂O₈S₂, 99%) and Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA, C₁₀H₁₆N₂O₈, 99+) were purchased from SIGMA-ALDRICH (France). Anhydrous *N,N*-

Dimethylformamide (DMF, C₃H₇NO, 99.8%), Tetrahydrofuran (THF, C₄H₈O, 99.9%) and Diethyl ether (C₄H₁₀O, 99+%) are Carlo Erba Reagents™.

Synthesis of Dihydroxyl Telechelic Oligomers

PLA and PHB dihydroxyl telechelic oligomers with controlled molar masses were synthesized.

PLA dihydroxyl telechelic oligomers (with molar masses 530, 870 and 1680 g.mol⁻¹) were prepared by ring opening polymerization of *L*-Lactide using 1,4-Butanediol as initiator and Tin(II) bis (2-ethylhexanoate) as catalyst.

A typical procedure is given to illustrate the PLA dihydroxyl telechelic oligomer synthesis, for example the 1680 g.mol⁻¹ one: A 100 mL round-bottom three-necked dry flask equipped with a nitrogen purge and magnetic stirring was heated at 110°C by an oil bath. Then *L*-Lactid (28.83 g or 0.2 mol) and 1,4-Butanediol (1.65 g or 0.018 mol) were placed in the flask and mixed until homogenization. Finally, the catalyst (0.3 g or 7.035×10⁻⁴ mol) was injected using a syringe. The mixture was kept under magnetic stirring for 6 hours.

PHB dihydroxyl telechelic oligomers (with molar masses 980 and 1470 g.mol⁻¹) were prepared by *p*-Toluenesulfonic acid catalyzed transesterification of PHB with 1,4-Butanediol.

A typical procedure is given to illustrate the PHB dihydroxyl telechelic oligomer synthesis, for example the sample with the molecular weight of 980 g.mol⁻¹: A 500 mL round-bottom three-necked dry flask equipped with a reflux condenser and magnetic stirring was immersed in an oil bath at 80°C. PHB (20 g or 4.23×10⁻³ mol), 1,4-Butanediol (40 g or 4.39×10⁻¹ mol) and Chloroform (200 mL) were placed in the flask and stirred. Once the mixture became homogeneous, the oil bath temperature was lowered to 75°C and *p*-Toluenesulfonic acid (9.6 g or 4.94×10⁻² mol) was added as catalyst. The reactive mixture was stirred for 26 hours.

Amino/Isocyanate Model Reactions

The reaction of 2-Aminothiophenol with Phenylisocyanate and H₁₂MDI were respectively performed with mole ratios $n_{2\text{-Aminothiophenol}}/n_{\text{Phenylisocyanate}} = 1/1$ and $n_{2\text{-Aminothiophenol}}/n_{\text{H}_{12}\text{MDI}} = 2/1$. DMF was used as the solvent. At 0°C (ice-water bath), the DMF-diluted 2-Aminothiophenol solution was dropwise added into the Phenylisocyanate-DMF and H₁₂MDI-DMF solutions. After adding all the 2-Aminothiophenol solution, the mixture was kept reacting for 30 minutes. Table 1 includes the amounts of used reagents.

TABLE 1 Model reaction reagents amounts

	2-Aminothiophenol	Phenylisocyanate	H ₁₂ MDI	DMF (mL)
Model 1	25.04 g or 0.2 mol	23.82 g or 0.2 mol	/	50
Model 2	25.04 g or 0.2 mol	/	26.24 g or 0.1 mol	60

After carrying out the model reactions, the obtained products were solubilized in THF then precipitated in ethyl ether three times. ¹HNMR analysis and chemical titration were performed to verify which of the two groups (amino or thiol) had reacted with the isocyanate.

Synthesis of Isocyanate and Thiol-Functionalized Polyesters

A two-step procedure was adopted to prepare the multi-thiol functionalized polyesters. The first step (leading to isocyanate terminated polyesters) consisted in the reaction between the dihydroxyl telechelic polyester oligomers, glycerol and H₁₂MDI. At the end of this step, we obtained isocyanate-terminated polyesters with different numbers and natures of arms (PLA, PCL or PHB) and different isocyanate functionalities. In the second step (leading to multi-thiol functionalized polyesters) 2-Aminothiophenol was added to the obtained products by reacting it with the polyester's isocyanate end groups, thus giving polyesters with thiol groups at the chain ends.

For more details on the protocol, the synthesis of the sample based on PCL (1000 g.mol⁻¹) segments with a structure comprising 7 PCL arms and 5 thiol functions (Entry N° 2 in Table 2) is given as example: glycerol (0.42 g or 4.51×10⁻³ mol), PCL diol (10.69 g or 1.07×10⁻² mol) and anhydrous DMF (40 mL) were placed in a 200 mL round-bottom three-necked dry flask equipped with a nitrogen purge, a 50 mL dropping funnel and magnetic stirring. The mixture was magnetically stirred at room temperature until homogenization. The flask was then immersed in an oil bath and heated at 80°C. Once the temperature was stabilized, H₁₂MDI (7.73 g or 2.65×10⁻² mol) were added to the mixture and dibutyltin dilaurate (0.01 g or 1.58×10⁻⁵ mol) was injected as catalyst. The reaction was monitored by FTIR and stopped after 55 min. The oil bath was then replaced by an ice/water bath. When the temperature decreased to 0°C, a solution of 2-Aminothiophenol (0.98 g or 7.83×10⁻³ mol) in DMF (5 ml), was dropwise added from the dropping funnel and the mixture was kept reacting for 1 hour.

Then the products were precipitated in Diethyl ether and solubilized/precipitated in THF/Diethyl ether three times before being dried under vacuum at room temperature until constant weight.

The stoichiometries of the reactants in the syntheses were fixed in order to obtain tailored structures (different numbers of biodegradable segments and different thiol functionalities) and to avoid cross-linking. The polyester segments used were of different molar masses in order to obtain final products with different glass transition temperatures.

The gel conversion of the reactive system must be more than 1. In this study, this was verified using Macosko Miller equations [46]

$$P_{gel}^2 = \frac{1}{r(f_{OH}-1)(f_{NCO}-1)}$$

(1)

Where: f_{OH} and f_{NCO} are respectively the average alcohol and isocyanate functionalities.

$$f_{OH} = \frac{\sum n_i f_i^2}{\sum n_i f_i}$$

(2)

$$f_{NCO} = \frac{n_{NCO} * f_{NCO}^2}{n_{NCO} * f_{NCO}} = 2$$

(3)

n_i and f_i are the molar quantity and the functionality of alcohol reactant, n_{NCO} and f_{NCO} are the number of isocyanate moles and isocyanate functionality.

r is the molar ratio between alcohol and isocyanate functions, determined as followed:

$$r = \frac{n_{NCO} * f_{NCO}}{\sum (n_i * f_i)_{OH}}$$

(4)

Synthesis characteristics are given in Table 2 which shows, for each synthesized sample, the mole ratio of the reagents and the molar mass of the biodegradable polyester segment used. The expected number of segments and thiol functionalities of the products are also specified.

TABLE 2 Synthesis characteristics of multi-thiol functionalized polyesters based on PCL, PLA and PHB segments.

Entry N°	Expected thiol functionality	Degradable segment number in the expected structure	Mole ratios of the reagents H ₁₂ MDI/glycerol/degradable segment/2-aminothiophenol
PCL systems (based on 1000 g.mol ⁻¹ segments)			
1	3	3	6.6/1/3/3
2	5	7	17.6/3/7/5
3	7	11	28.7/5/11/7
PCL system based on 2000 g.mol ⁻¹ segment			
4	3	3	6.6/1/3/3
PLA systems (based on 870 g.mol ⁻¹ segments)			
5	3	3	6.6/1/3/3
6	5	7	17.6/3/7/5
7	7	11	28.7/5/11/7
PHB systems (based on 980 g.mol ⁻¹ segments)			
8	3	3	6.6/1/3/3
9	5	7	17.6/3/7/5
10	7	11	28.7/5/11/7

In Table 2, the entries are numbered so that both the SH functionality and the number of segments are increasing with the entry number, except for entry number 4 which is taken into account in order to bring out the effect of changing the segment's length (segment molecular weight) when the other feed parameters remain the same. Other entries with different segment molecular weights are available in Table 8 (Supporting Information).

Titration of Amino Groups

Titration of the model product's amino groups was monitored by pH-metry. The model product (1.255 g) was dissolved in 2-Propanol/water mixture (80/20 vol.%) and neutralized by HCl aqueous solution (0.1 mol.L⁻¹).

Titration of Thiol Groups

Ellman's method [47] was adapted to the organic media and used as follows:

A buffer solution (pH=8, 0.02 mol.L⁻¹ KOH, 0.01mol.L⁻¹ EDTA) was prepared by mixing KOH aqueous solution (0.1 mol.L⁻¹, 40 mL) with THF (160 mL) and adding EDTA (0.59 g). Ellman's reagent solution (0.02 mol.L⁻¹ DTNB) was prepared by dissolving DTNB (0.25 g or 6×10⁻⁴ mol) in the buffer solution (30 ml).

Each sample (0.02-0.05 g) was dissolved in the buffer solution (5 ml) and Ellman's reagent solution (1 mL) was added. In these conditions, the DTNB is introduced in excess compared to the concentration of thiol groups in the samples. The reaction between DTNB and thiol groups gives a colored compound 2-Nitro-5-thiobenzoate (TNB⁻²) which absorbs UV irradiation ($\lambda_{\text{max}}=449$ nm) in the used buffer. A calibration curve using 2-Aminothiophenol was made in the considered concentration range of thiol groups (0.08 to 30.6×10⁻³ mol.L⁻¹) with a good correlation coefficient (R²=0.9995). Absorbance measurements were done after 15 minutes of reaction between DTNB and thiol groups.

Instrumentation

FTIR Spectroscopy

FT-IR was used to monitor the consumption of isocyanate groups during both the model reactions and the polymers syntheses. The absorption spectra were recorded on a Nicolet Nexus spectrometer (700-3500 cm⁻¹, 32 scans, resolution of 4 cm⁻¹) using attenuated total reflectance (ATR) technique.

Nuclear Magnetic Resonance (¹HNMR)

¹HNMR analyses were performed with a BRUKER Advance II spectrometer (250MHz, 300 K). The analyses were made with 5 mm diameter tubes containing the product (mass ≈ 25 mg) in deuterated solvent (0.5 mL). Tetramethylsilane was used as internal reference.

¹H NMR Spectra Simulation

The ACD/HNMR Predictor v.8.09 software, edited by ACD Labs, was used to simulate ¹HNMR spectra of the reagents and the synthesized model products from their detailed chemical structure.

Differential scanning calorimetry

Differential scanning calorimetry (DSC) measurements were carried out with a Q10 calorimeter from TA Instruments. Samples were putted into hermetic pans, sealed and analyzed with a cooling/heating ramp of 10°C/min. PCL systems underwent heating from ambient temperature to 210°C followed by cooling to -80°C than heating a second time to 210°C. PLA and PHB systems were firstly heated to 200°, secondly cooled to -50°C and finally heated to 200°. The glass transition temperatures were collected from the second ramp during heating by identifying the inflection points.

Size Exclusion Chromatography

For the analyses of multi-thiol functionalized PCLs and PLAs, size exclusion chromatography (SEC) was conducted using a system equipped with refractive index (Waters 2414) detectors. Two columns HR1 and HR3 from Waters were used. The eluent was THF (flow rate of 1 mL·min⁻¹, 35°C). The polymer molecular weights were determined using a calibration curve established on a set of polystyrene standards.

For the analyses of multi-thiol functionalized PHB segmented polyester, size exclusion chromatography (SEC) was conducted using a system equipped with UV detector (Waters 486, wavelength = 280 nm), Light Scattering Detector (Wyatt TREOS) and RI refractometer detector (Schimadzu RID10A). Two columns PLgel 5 μm MIXED-C and PLgel 20 mm Guard from Organic GPC were used. The eluent was chloroform (flow rate of 1 mL·min⁻¹, elution temperature of 22°C).

UV-Vis Spectroscopy

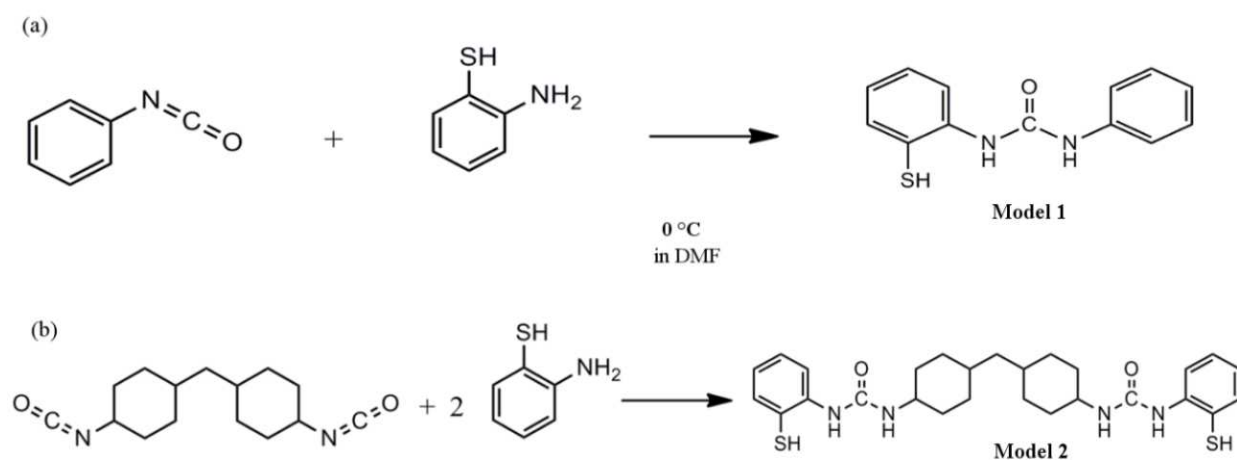
A UV-Vis spectrometer was used to measure the absorbance of TNB⁻² (λ_{\max} =449 nm) which is the product of the reaction between DTNB and the thiol groups. The thiol groups concentration was determined referring to the calibration curve. The measurements were conducted using a Cary 100 UV-Vis Spectrophotometer, in absorbance mode (200 to 800 nm).

II.3. RESULTS AND DISCUSSION

The thiol functionalization of the isocyanate-terminated oligomers using 2-Aminothiophenol is based on the much higher reactivity of amines than thiol functions with isocyanate. This point was first verified by performing model reactions. Then, equivalent reactions were carried out between 2-Aminothiophenol and isocyanate-terminated polyesters to obtain multi-thiol functionalized polymers.

Model Reactions of H₁₂MDI and Phenyl isocyanate with 2-Aminothiophenol

The two model reactions are illustrated on Scheme 1. When the products of the reactions, shown in Schemes 1a or 1b, were dissolved in the solvent mixture of Propan-2-ol/water, PH=8.6, the pH decreased to 6.43 and 8.36 for respectively 1a and 1b. The addition of one drop of HCl (0.1 mol.L⁻¹) decreased the pH to 4 and 5 for respectively 1a and 1b confirming the absence of amine groups.



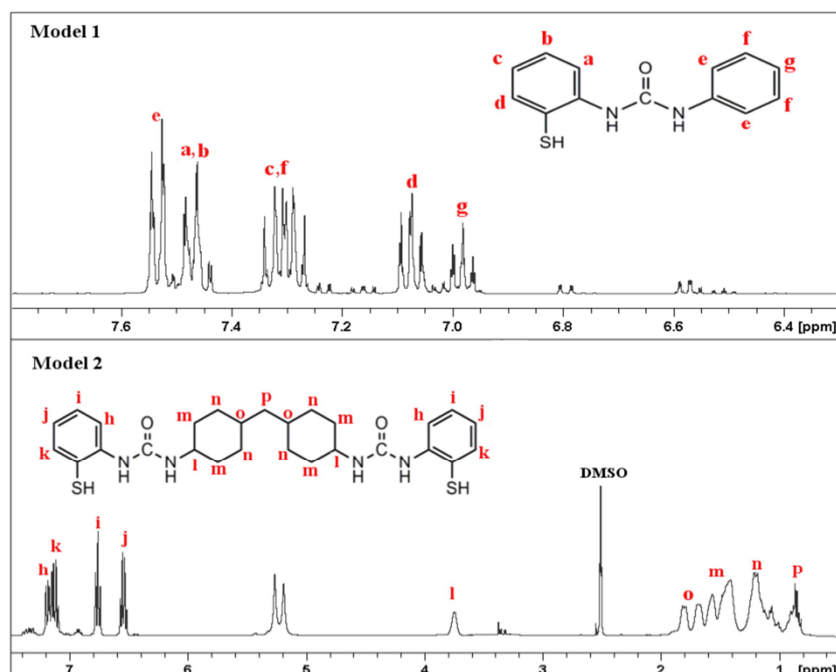
SCHEME 1 Model reactions of 2-Aminothiophenol with (a) Phenylisocyanate giving model 1 and (b) H₁₂MDI giving model 2.

To confirm this simple observation, Ellman's method was used to titrate the thiol groups in the obtained model products; the results are reported in Table 3. The titration of each model was repeated at least three times and the mean value was calculated.

TABLE 3 Ellman's method titration results of model molecules.

Thiol content $\times 10^3$ (mol SH/g product)		
	Expected value	Determined by Ellman's method
Model 1	3.88	3.88 ± 0.077
Model 2	3.90	3.51 ± 0.313

Comparing the SH concentration expected from reactions (a) and (b) (Scheme 2) with the SH concentrations obtained by titration using Ellman's method (Table 3), the results are consistent, confirming the reaction of amines with isocyanate and that the expected products were obtained. Products from reactions (a) and (b) were also analyzed by ^1H NMR. All the proton peaks were identified (Figure 1).

**FIGURE 1** ^1H NMR spectra of the molecules obtained from model reactions. Model 1 from 6.3 to 7.8 ppm and Model 2 from 0.5 to 7.5 ppm. (DMSO, 400MHz, 300K).

The ^1H NMR spectra of Model 1 and Model 2 products are in agreement with those obtained from simulation. The amino group adjacent proton peak was shifted from 6.44 ppm in 2-Aminothiophenol to 7.45 ppm (peak “a”) in Model 1 and 7.18 ppm (peak “h”) in Model 2, the shift of these peaks are in the order of 1.1 and 0.74 ppm respectively, unlike the thiol group’s adjacent proton peak for which no shift was observed in the case of Model 1 (peak “d” at 7.09 ppm) and a small shift was observed in the case of Model 2 from 7.09 ppm in 2-Aminothiophenol to 7.11 in Model 2 (peak “k”). This is in concordance with the fact that the isocyanate group will react with the amino rather than thiol group. Concerning the isocyanate adjacent protons, for Model 1 only the proton “e” was shifted from 7.45 ppm in phenylisocyanate to 7.53 in Model 1; in the case of Model 2, the “l” proton peak which was at 3.89 ppm in H_{12}MDI was shifted to 3.74 ppm in Model 2. A shift is also noted for the “m” protons peak which was at 1.72 ppm in H_{12}MDI and was found at 1.56 ppm in Model 2.

The model reactions were also monitored by FTIR, as shown in Figure 2. Three spectra were collected for each model reaction: before adding 2-Aminothiophenol and after adding 50% and 100% of the stoichiometric amount of 2-Aminothiophenol.

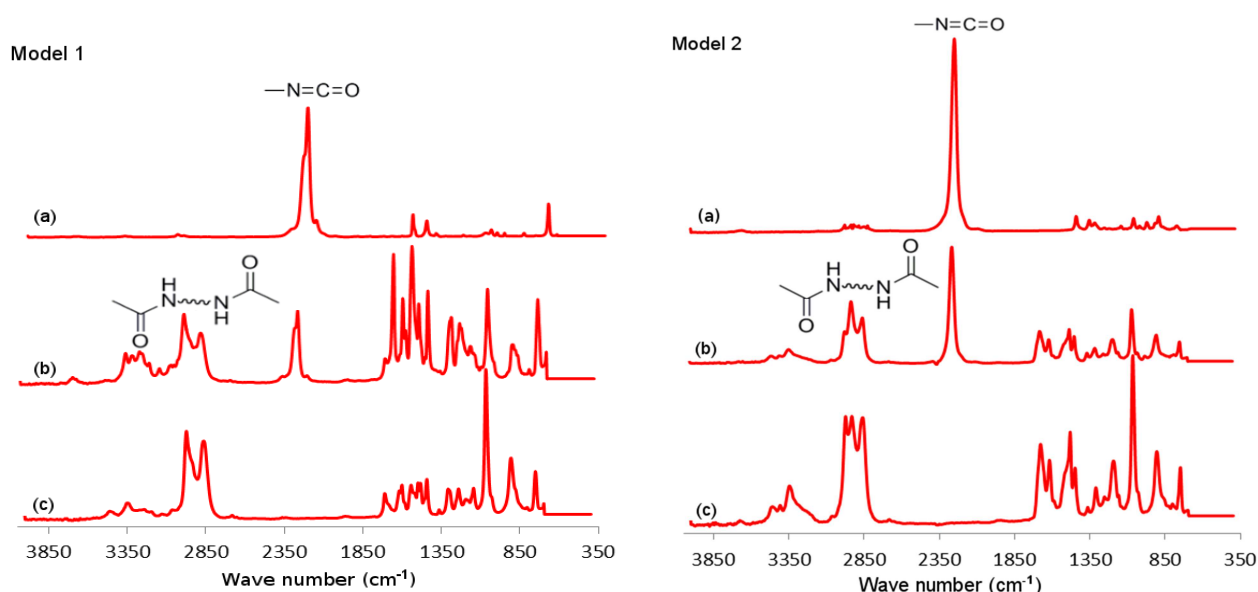


FIGURE 2 FTIR spectra of 2-Aminothiophenol/Phenylisocyanate (Model 1) and 2-Aminothiophenol/ H_{12}MDI (Model 2) reactive mixture when 0% (a), 50% (b) and 100% (c) of the stoichiometric 2-Aminothiophenol amount was added in.

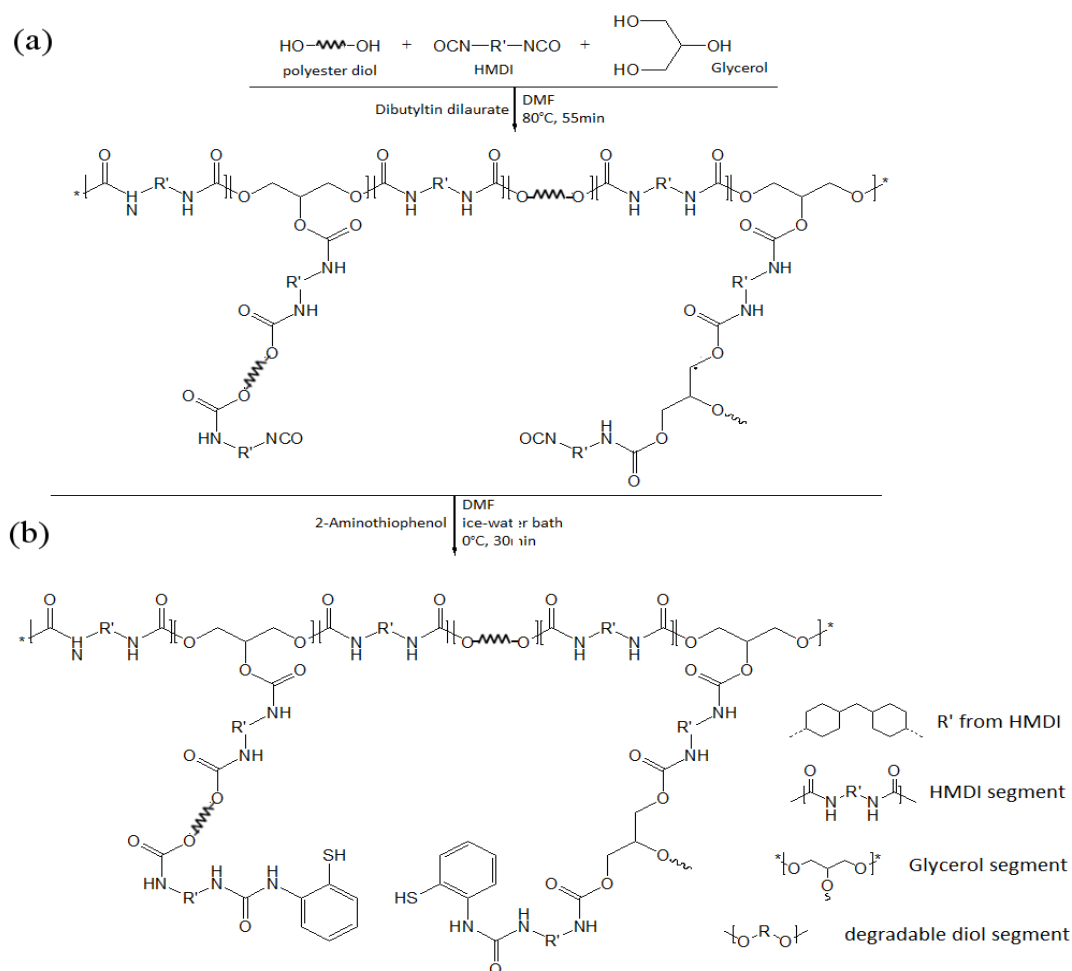
Figure 2 shows the decrease of the isocyanate group peak at 2260 cm^{-1} according to the added amount of 2-Aminothiophenol until disappearance when the stoichiometric value is reached. In parallel, the peak of urea group at $2800\text{--}3400\text{ cm}^{-1}$ increases indicating the formation of this group according to model reactions. Therefore, it is concluded that the reaction of

2-Aminothiophenol with the isocyanate proceeds through the amine reaction with isocyanate, leading to compounds with pendant thiol groups.

Synthesis of Multi-Thiol Functionalized Polyesters

After having confirmed the proceeding of the amine/isocyanate reaction via the models, it was carried out on the isocyanate-terminated polyesters.

Multi-thiol functionalized polyesters were prepared in two steps (Scheme 2): a hydroxyl-terminated polyester oligomer (PLA, PHB or PCL) reacted with diisocyanate (H₁₂MDI) and gave isocyanate-terminated polyesters; then the pendent isocyanate reacted with the amine group of 2-Aminothiophenol.



SCHEME 2 Syntheses of (a) isocyanate-terminated and (b) thiol-functionalized biodegradable polyesters.

Design of the Synthesized Systems

In order to obtain polyesters with different properties, different structures were designed with different functionalities and segment numbers. An example is shown in Figure 3.

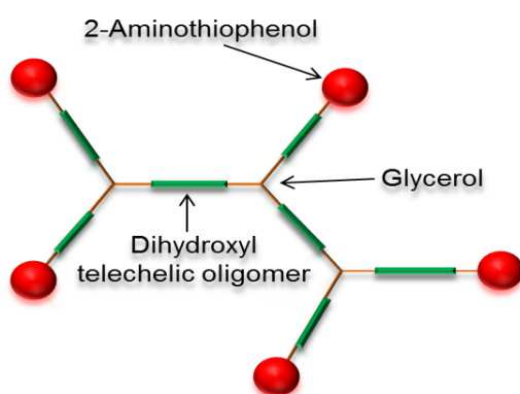


FIGURE 3 Expected structure of the designed polyester with functionality =5 (Entry N°2), the linkage among glycerol, oligomer and 2-Aminothiophenol were performed by diisocyanate H₁₂MDI.

The design of these polyesters was mainly focused on their number of degradable segments and their average functionalities. Via the formula listed in Table 2, branched polyesters with different properties can be obtained, characterized, evaluated for their structures and will be used for further post-modifications.

FTIR Monitoring

FTIR were used to monitor reactions during the two steps synthesis of multi-thiol functionalized polyesters; Figure 4 shows the FTIR monitoring of a PCL based multi-thiol functionalized polyester with 7 thiol functions and 11 PCL segments (Entry N°3).

The first step of polyester synthesis ended when the strength of the absorption peak at around 2260 cm⁻¹ (assigned to isocyanate group) stopped decreasing, indicating the total consumption

of the hydroxyl groups typically after 60 minutes of reaction. Then, the 2-Aminothiophenol was added to react with the polymer isocyanate pendent groups. The disappearance of N=C=O absorption indicates the end of the second step. Equivalent evolutions were observed for all the other entries.

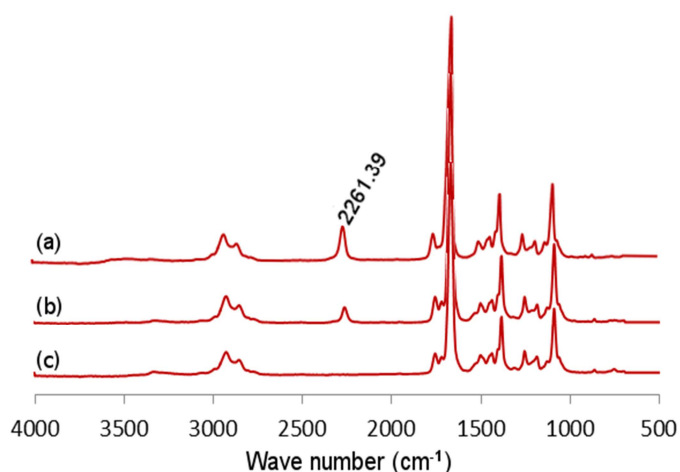


FIGURE 4 IR spectra of a 2-step PCL segmented multi-thiol functionalized polyester synthesis (Entrée N°3): (A) reagent mixture at initial time, (B) PCL based polyester after the first step, (C) multi-thiol functionalized PCL based polyester after the second step.

¹H NMR Characterization of Multi-Thiol Functionalized Polyesters

¹H NMR spectra of the multi-thiol functionalized polyesters are presented in Figure 5. The mole ratio of thiol functions to polyester segment repeat unit was evaluated by calculation which is an effective way to verify the structures of the synthesized products. Comparing integrations of PCL methylene protons “o”, PLA methine proton “r” or PHB proton “v” to the aromatic ring proton “a” at 7.4 ppm that is adjacent to the urea linkage, the mole ratio of thiol

groups to degradable segment repeat unit can be evaluated and compared to expected values. As seen in Table 4, correct concordances were obtained confirming the supposed structures of the polyesters. Thiol titration results using Ellman's method are also shown in this table, expressed as moles of thiol functions versus polyester mass (mol SH/g polyester).

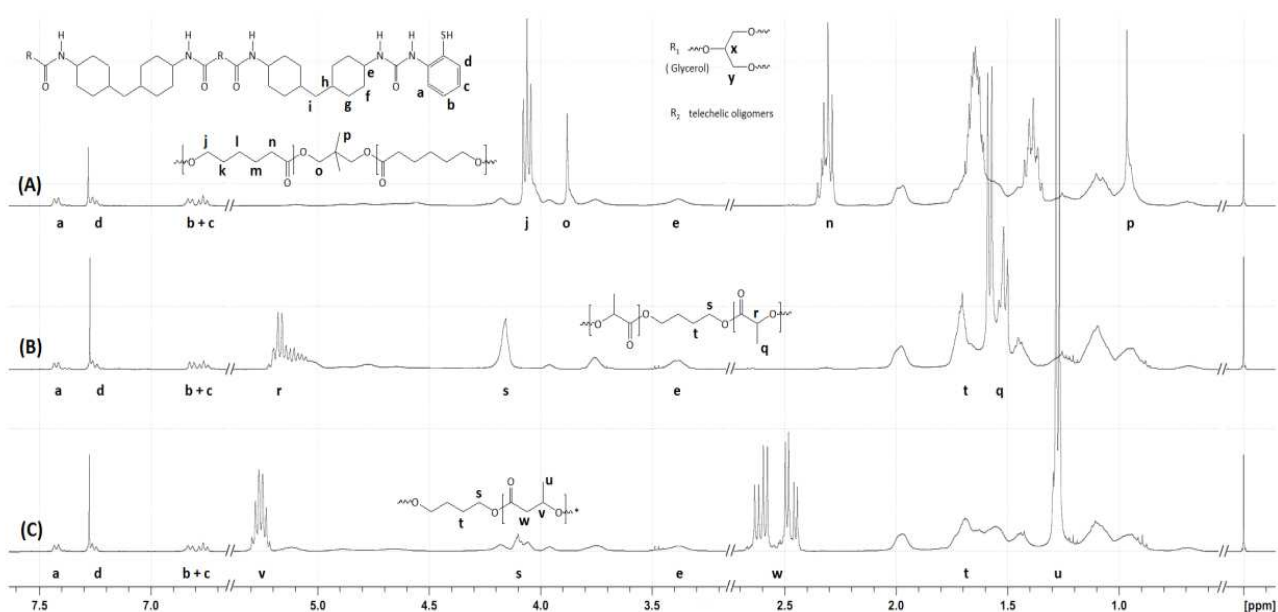


FIGURE 5 The ¹H NMR spectra of thiol-functionalized segmented PCL / PLA / PHB polyesters (A: Entry N°2, B: Entry N°5 and C: Entry N°10 respectively) in CDCl₃ at 300K.

TABLE 4 Thiol content in the multi-thiol functionalized PCL/PLA/PHB polyesters.

Entry N°	[SH]/[oligomer repeat unit] (mol/mol)		SH content×10 ³ (mol / g of product)	
	Expected	Calculated by ¹ HNMR	Expected	Determined by Ellman's method (±0.043)
PCL systems				
1	1/7.8	1/7.6	0.59	0.52
2	1/10.9	1/9.0	0.39	0.37
3	1/12.3	1/12.6	0.35	0.35
4 ^a	1/16.6	1/16.2	0.36	0.35
PLA systems				
5	1/10.6	1/9.9	0.62	0.68
6	1/14.8	1/13.8	0.42	0.39
7	1/16.7	1/16.3	0.38	-
PHB systems				
8	1/10.4	1/11.2	0.58	0.53
9	1/16.3	1/14.8	0.40	0.47
10	1/17.9	1/16.2	0.35	0.41

^a Entry N°4 is different from the other PCL systems in the molecular weight of the segments.

The [SH]/[oligomer repeat unit] ratio (reported in Table 4) depends on the SH functionality and the number of segments, but it also depends on the size of the segments: the longer the segment is (meaning the higher its molecular weight is) the greater the number of repeated unit it comprises is and therefore [SH]/[oligomer repeat unit] has a lower value. This is the case when comparing entries N°1 and N°4 where the SH functionalities are identical and equal to 3; the numbers of segments are also the same and equal to 3 for both entries, but it was observed that the corresponding [SH]/[oligomer repeat unit] ratios were different. This is due to the difference in the length of the segments used for each entry (this length is revealed by the segments' molecular weights: 1000 g.mol⁻¹ and 2000 g.mol⁻¹ for entries N°1 and N°4 respectively). In conclusion, the same mole ratio of reagents in the feed can give different [SH]/[oligomer repeat

unit] ratios in the product when the segments are not of the same size: the longest segments give the lowest [SH]/[oligomer repeat unit] ratio and vice versa.

SH functionality and number of segments are two mutually dependent parameters in this kind of structures and cannot be investigated separately. By comparing different entries in the same polyester segments' nature (PCL, PLA or PHB), it was found that the simultaneous increase of SH functionality and number of segments leads to a decrease of the [SH]/[oligomer repeat unit] ratio because the increase of the number of segments was accompanied by a more important increase of oligomer repeated unit number (one segment involves about 8, 12 and 11 repeated units for PCL, PLA and PHB respectively).

Concerning the SH content in the final products, expressed in mol of SH functions per gram of product in Table 4, it was found that this parameter decreases when increasing SH functionality and number of segments meaning that the SH molar content by mass of product is inversely proportional to the obtained product's molecular size. Entry N°4 shows the effect of the segment's molecular weight on the SH content; by comparing it to Entry N°1 it can be seen that for the same molar ratio of reagents in the feed (and consequently the same SH functionality and number of segments) different SH contents were obtained. This is due to the difference in segment's molecular weights giving two products having the same functionality and the same number of segments but not the same weight. Results concerning other entries with different structures are available in Table 9 (Supporting Information).

SEC and DSC Analyses

SEC analysis of the multi-thiol functionalized polyesters gave their number average molecular weight. For PCL and PLA systems the number average molecular weights were determined using a polystyrene standard calibration curve, while for PHB systems a universal calibration was used. The expected values based on the structures of multi-thiol functionalized polyesters were also calculated. The average thiol functionalities f_{SH} were determined based on the values of SH content (from Table 4) and the SEC provided number average molecular weight \overline{M}_n according to Equation 5; results are reported in Table 5 with the corresponding [OH]/[NCO] ratio for each sample.

$$f_{SH} = (SH \text{ content}) \cdot \overline{M}_n \quad (5)$$

TABLE 5 Expected and SEC obtained number average molecular weights of multi-thiol functionalized polyesters and their average functionalities with [OH]/[NCO] molar ratio.

Entry	[OH]/[NCO] (mol/mol)	\overline{Mn} (g.mol ⁻¹)		Average functionality (mol SH/mol product)
		Expected	Obtained from SEC	
PCL systems				
1	1/1.47	5042	10560	5.5
2	1/1.53	11574	13100	4.8
3	1/1.55	18107	17610	6.2
PLA systems				
5	1/1.47	4651	12500	8.5
6	1/1.53	10664	12780	5.0
7	1/1.55	16492	19295	-
PHB systems				
8	1/1.47	4981	5674	3.0
9	1/1.53	11434	13470	5.0
10	1/1.55	17887	16291	5.4

Entry N°4 is different from the other PCL systems in the segments molecular weight; its related values are available in Table 10 (Supporting Information) as well as other entries.

Table 5 shows that both the expected average molecular weight and that obtained by SEC increase when the [OH]/[NCO] molar ratio decreases. In the structure of the synthesized multi-thiol functionalized polyesters, NCO groups play the role of a linkage between the OH functions of glycerol and those of polyester segment, they also ensure the linkage between the OH functions of the polyester segment and the NH₂ group of 2-Aminothiophenol. In each case, two NCO functions (of H₁₂MDI) are involved to make a linkage. So in all the given structures, the number of NCO groups is higher than that of OH ones and an increase in the molecular weight of a product requires an increase in number of NCO groups that is more important than the corresponding increase in number of OH groups; consequently the molar ratio [OH]/[NCO] decreases. The differences between the expected molecular weight values and those determined are more important in the case of small molecules (entries N°1 and N°5) due to the used refractive index detector which is better suited to molecules with higher molecular weight. This effect was not observed in the case of molecules based on PHB segments because the used detector in this case was not the same (UV detector). Consequently the values of the average SH functionality are more divergent relatively to those expected in the case of entries N°1 and N°5, while a good correspondence was observed for the other entries.

The degree of branching *DB* in the synthesized structures was calculated according to the relation proposed by Howker et al [48] as showed in Equation (6)

$$DB = \frac{(\text{number of dendritic units})+(\text{number of terminal units})}{\text{total number of units}} \quad (6)$$

The total number of units is the summation of the number of dendritic units, of terminal units and of linear units. Results are shown in Table 6. The values of the bifunctional segment (polyester-diol) to glycerol (triol) molar ratio are also shown.

As illustrated in Table 6, the degree of branching is affected by the molar ratio of bifunctional segment to glycerol, so that the degree of branching decreases with the decrease of the cited ratio. The decrease of the degree of branching occurs when the synthesized molecules grow and their size increases, knowing that the growth of these structures is accompanied by an increase of glycerol molar content which is relatively more marked than the increase of segment molar content. Then, rising the size of the branched multi-thiol functionalized polyesters must be accompanied by a decrease of the [segment]/[glycerol] molar ratio and

Table 6 The degree of branching according to [segment]/[glycerol] molar ratio.

Entry	[segment]/[glycerol] (mol/mol)	Degree of branching
PCL systems		
1	3/1	1.00
2	2.3/1	0.67
3	2.2/1	0.40
PLA systems		
5	3/1	1.00
6	2.3/1	0.67
7	2.2/1	0.40
PHB systems		
8	3/1	1.00
9	2.3/1	0.67
10	2.2/1	0.40

leads to a lowering of the degree of branching in the obtained structures. Results concerning other entries are available in Table 11 (Supporting Information).

Glass transition temperatures of the synthesized multi-thiol functionalized polyesters were determined by DSC analysis; the results are reported in Table 7.

The degradable segment content in wt.% (calculated from the formulation of the reactional mixture giving each product) is also shown in Table 7, the values concerning other entries are reported in Table 11 (Supporting Information).

Glass transition behaviors of these polymers are affected by their structure. For the 3 systems (PCL, PLA and PHB), the T_g is shifted comparing to the constitutive segments T_g which was -59°C for PCL, 40°C for PLA and 0°C for PHB segments. It can be supposed that when a polyester content increases in a structure, the T_g of the last tends to reach the T_g of the polyester, this was not the case and the effect was inversed for PCL and PLA systems as shown in Table 7. This opposite phenomenon is due to the existence of another parameter which plays an important role in the modification of the T_g; Xiang Luo and co-workers [49] studied the relationship between the degree of branching and glass transition temperature of

branched polyethylene and it was found that Tg is significantly affected by the *DB*, so for the synthesized branched multi-thiol functionalized polyesters, the Tg is subjected to two simultaneous effects: the polyester segment content and the degree of branching.

Table 7 Biodegradable segment content and glass transition temperatures of multi-thiol functionalized polyesters

Entry	degradable segment content (wt%) ^c	Tg of the obtained polyesters (°C)
PCL systems		
1	58.06	-26.9
2	56.28	-49.2
3	55.80	-56.1
PLA systems		
5	54.17	17.3
6	52.35	23.9
7	51.81	34.5
PHB systems		
8	57.11	3
9	55.32	0.8
10	54.83	1.8

The synthesized multi-thiol functionalized polyesters were composed predominantly of biodegradable segments. As shown in this part, different structures were designed and used for the syntheses of multi-thiol functionalized polyesters. By adapting these different formulas, we obtained materials based on biodegradable polymers with different thiol functionalities (F=3-7), different molecular weights (from 5000 to 18000 g/mol for PCL, 4600 to 16500 g.mol⁻¹ for PLA and 4900 to 17900 g.mol⁻¹ for PHB) and different glass transition temperatures.

These functional polymers can be used in several applications, among which grafting of polyadducts by chain transfer reactions to thiol groups during radical polymerization. This aspect will be developed in the following part of the work.

II.4. CONCLUSION

Biodegradable based polyesters bearing reactive multi thiol groups were synthesized. These degradable polyester-segmented polymers were structured by molecular design and verified by ¹HNMR, SEC, DSC and chemical titration. Model reactions were carried out and resulted to the confirmation of the priority of amino groups to react with isocyanate. The characterizations indicate that these polymers molar mass, glass transition temperature and average thiol functionality can be altered by adjusting the biodegradable segment's compositions and [NCO] / [OH] mole ratios.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank the French Ministry of Higher Education and Research (ENS 2013-311) for its financial support and the China Scholarship Council (state scholarship fund) for the scholarships of Kedafi BELKHIR and Hang SHEN. This work benefited from the international cooperation between Saint-Etienne University (France) and East China University of Science and Technology of Shanghai (China).

II.5. REFERENCES AND NOTES

- [1] Monticelli O., Calabrese M., Gardella L., Fina A., Gioffredi E., Silsesquioxanes: Novel compatibilizing agents for tuning the microstructure and properties of PLA/PCL immiscible blends. *Eur. Polym. J.* 2014;58:69–78.
- [2] Mohanty A. K., Misra M., Drzal L.T., Sustainable Bio-Composites from Renewable Resources: Opportunities and Challenges in the Green Materials World. *J. Polym. Environ.* 2002;10:19–26.
- [3] Lim H. A., Raku T., Tokiwa Y., A New Method for the Evaluation of Biodegradable Plastic Using Coated Cellulose Paper. *Macromol. Biosci.* 2004;4:875–81.
- [4] Hoshino A., Sawada H., Yokota M., Tsuji M., Fukuda K., Kimura M., Influence of weather conditions and soil properties on degradation of biodegradable plastics in soil. *Soil. Sci. Plant. Nutr.* 2001;47:35–43.
- [5] Hoshino A., Tsuji M., Fukuda K., Nonagase M., Sawada H., Kimura M., Changes in molecular structure of biodegradable plastics during degradation in soils estimated by FT-IR and NMR., *Soil. Sci. Plant. Nutr.* 2002;48:469–73.
- [6] Re G.L., Benali S., Habibi Y., Raquez J. M., Dubois P. Stereocomplexed PLA nanocomposites: From in situ polymerization to materials properties. *Eur. Polym. J.* 2014;54:138–50.
- [7] Rämö V., Anghelescu-Hakala A., Nurmi L., Mehtiö T., Salomäki E., Härkönen M., et al. Preparation of aqueous crosslinked dispersions of functionalized poly(d,l-lactic acid) with a thermomechanical method. *Eur. Polym. J.* 2012;48:1495–503.
- [8] Al-Itry R., Lamnawar K., Maazouz A. Reactive extrusion of PLA, PBAT with a multi-functional epoxide: Physico-chemical and rheological properties. *Eur. Polym. J.* 2014;58:90–102.
- [9] Gunning M.A., Geever L.M., Killion J.A., Lyons J.G., Higginbotham C.L. The effect of processing conditions for polylactic acid based fibre composites via twin-screw extrusion. *J. Reinf. Plast. Compos.* 2014;33:648–62.
- [10] Mi H. Y., Salick M. R., Jing X., Jacques B. R., Crone W.C., Peng X. F., et al. Characterization of thermoplastic polyurethane/polylactic acid (TPU/PLA) tissue engineering

scaffolds fabricated by microcellular injection molding. *Mater. Sci. Eng. C-Mater. Biol. Appl.* 2013;33:4767–76.

[11] Sabzi M., JIANG L., Atai M., Ghasemi I. PLA/Sepiolite and PLA/Calcium Carbonate Nanocomposites: A Comparison Study. *J. Appl. Polym. Sci.* 2013;129:1734–44.

[12] Lim L. T., Auras R., Rubino M. Processing technologies for poly(lactic acid). *Prog. Polym. Sci.* 2008;33:820–52.

[13] Hughes J, Thomas R, Byun Y, Whiteside S. Improved flexibility of thermally stable poly-lactic acid (PLA). *Carbohydr Polym* 2012;88:165–72.

[14] Velazquez-Infante J. C., Gamez-Perez J., Franco-Urquiza E.A., Santana O.O., Carrasco F., Li MasPOCH M. Effect of the Unidirectional Drawing on the Thermal and Mechanical Properties of PLA Films with Different L-Isomer Content, *J. Appl. Polym. Sci.* 2013;127:2661–9.

[15] Vega-González A., Subra-Paternault P., López-Periágo A. M., García-González C.A., Domingo C., Supercritical CO₂ antisolvent precipitation of polymer networks of l-PLA, PMMA and PMMA/PCL blends for biomedical applications, *Eur. Polym. J.* 2008;44:1081–94.

[16] WANG X., Kumar V., WEI L.I., Development of Crystallization in PLA During Solid-State Foaming Process Using Sub-Critical CO₂, *Cell. Polym.* 2012;31:1–18.

[17] Mihai M., Huneault M. A., Favis B. D., HONGBO L. I., Extrusion foaming of semi-crystalline PLA and PLA/thermoplastic starch blends. *Macromol. Biosci.* 2007;7:907–20.

[18] Gupta B., Revagade N., Anjum N., Atthoff B., Hilborn J., Preparation of poly(lactic acid) fiber by dry–jet–wet spinning. II. Effect of process parameters on fiber properties, *J. Appl. Polym. Sci.* 2006;101:3774–80.

[19] Hassouna F., Raquez J. M., Addiego F., Dubois P., Toniazzo V., Ruch D., New approach on the development of plasticized polylactide (PLA): Grafting of poly(ethylene glycol) (PEG) via reactive extrusion. *Eur. Polym. J.* 2011;47:2134–44.

[20] Valantin M. A., Aubron-Olivier C., Ghosn J., Laglenne E., Pauchard M., Schoen H., Bousquet R., Katz P., Costagliola D., Katlama C., Polylactic acid implants (New-Fill)® to correct facial lipoma, *AIDS.* 2003; 17 : 2471-2477.

- [21] Saffer E. M., Tew G. N, Bhatia S. R., Poly(lactic acid)-poly(ethylene oxide) Block Copolymers: New Directions in Self-Assembly and Biomedical Applications, *Curr. Med. Chem.*, 2011;18:5676–86.
- [22] Arrieta M. P., Lopez J., Hernandez A., Rayon E., Ternary PLA-PHB-Limonene blends intended for biodegradable food packaging applications, *Eur. Polym. J.*, 2014;50:255–70.
- [23] Arrieta M. P., Lopez J., Ferrandiz S., Peltzer M. A., Characterization of PLA-limonene blends for food packaging applications, *Polym. Test.*, 2013;32:760–8.
- [24] Huang H., Ma W., Zhang S., Lu R., Optimal dyeing systems for resistance to the physical strength loss of the PLA/cotton blended fabric, *J. Appl. Polym. Sci.* 2011;120:886–95.
- [25] Sasatsu M., Onishi H., Machida Y., Preparation of a PLA-PEG block copolymer using a PLA derivative with a formyl terminal group and its application to nanoparticulate formulation. *Int. J. Pharm.*, 2005;294:233–45.
- [26] Modi S., Koelling K., Vodovotz Y., Assessment of PHB with varying hydroxyvalerate content for potential packaging applications, *Eur. Polym. J.* 2011;47:179–86.
- [27] Matsumoto K., Morimoto K., Gohda A., Shimada H., Taguchi S., Improved polyhydroxybutyrate (PHB) production in transgenic tobacco by enhancing translation efficiency of bacterial PHB biosynthetic genes, *J. Biosci. Bioeng.*, 2011;111:485–8.
- [28] García A., Segura D., Espín G., Galindo E., Castillo T., Peña C., High production of poly- β -hydroxybutyrate (PHB) by an *Azotobacter vinelandii* mutant altered in PHB regulation using a fed-batch fermentation process, *Biochem. Eng. J.*, 2014;82:117–23.
- [29] Roa J. P.B., Patrício P. S. de O, Oréface R.L., Lago R.M., Improvement of the thermal properties of poly(3-hydroxybutyrate) (PHB) by low molecular weight polypropylene glycol (LMWPPG) addition, *J. Appl. Polym. Sci.*, 2013;128:3019–25.
- [30] Nair L.S., Laurencin C.T., Biodegradable polymers as biomaterials, *Prog. Polym. Sci.*, 2007;32:762–98.
- [31] Fukushima K., Feijoo J.L., Yang M.C., Comparison of abiotic and biotic degradation of PDLA, PCL and partially miscible PDLA/PCL blend, *Eur. Polym. J.*, 2013;49:706–17.

- [32] Gurarslan A., SHEN J., Tonelli A.E., Behavior of Poly(ϵ -caprolactone)s (PCLs) Coalesced from Their Stoichiometric Urea Inclusion Compounds and Their Use as Nucleants for Crystallizing PCL Melts: Dependence on PCL Molecular Weights. *Macromol.*, 2012;45:2835–40.
- [33] Ghaemy M., Ziaei S., Alizadeh R., Synthesis of pH-sensitive amphiphilic pentablock copolymers via combination of ring-opening and atom transfer radical polymerization for drug delivery, *Eur. Polym. J.*, 2014;58:103–14.
- [34] Althaus C., Sundmacher R., Intraoperative intraocular endoscopy in transscleral suture fixation of posterior chamber lenses: consequences for suture technique, implantation procedure, and choice of PCL design, *Refract. Corneal. Surg.*, 1992;9: 333–9.
- [35] Watzeels N., Van Durme K., Edouard Miltner H., Block C., Van Assche G., Van Mele B., et al., Optimization of Extrusion Parameters for Preparing PCL-Layered Silicate Nanocomposites Supported by Modeling of Twin-Screw Extrusion, *Macromol. Mater. Eng.*, 2013;298:210–20.
- [36] Salerno A., Clerici U., Domingo C., Solid-state foaming of biodegradable polyesters by means of supercritical CO₂/ethyl lactate mixtures: Towards designing advanced materials by means of sustainable processes, *Eur. Polym. J.*, 2014;51:1–11.
- [37] Gyarmati B., Krisch E., Szilágyi A., In situ oxidation-induced gelation of poly(aspartic acid) thiomers, *React. Funct. Polym.*, 2014;84:29–36.
- [38] Hilf S., Kilbinger A. F. M., Thiol-functionalized ROMP polymers via Sacrificial Synthesis, *Macromolecules*, 2009;42:4127–33.
- [39] Hrsic E., Keul H., Möller M., Synthesis of thiol functionalized poly(meth)acrylates through enzymatic catalysis and a subsequent one pot reaction process, *Eur. Polym. J.* 2012;48:761–8.
- [40] Ding L., Qiu J., Zhu Z., Facile Synthesis of Thiol-Functionalized Long-Chain Highly Branched ROMP Polymers and Surface-Decorated with Gold Nanoparticles, *Macromol. Rapid. Commun.*, 2013;34:1635–41.
- [41] Slavin S., Burns J., Haddleton D. M., Becer C. R., Synthesis of glycopolymers via click reactions, *Eur. Polym. J.*, 2011;47:435–46.

- [42] Billiet L., Hillewaere X. K. D., Du Prez F. E., Highly functionalized, aliphatic polyamides via CuAAC and thiol-yne chemistries, *Eur. Polym. J.*, 2012;48:2085–96.
- [43] Nobs L., Buchegger F., Gurny R., Allémann E., Surface modification of poly(lactic acid) nanoparticles by covalent attachment of thiol groups by means of three methods, *Int. J. Pharm.*, 2003;250:327–37.
- [44] Hou X., Li Q., He Y., Jia L., Li Y., Zhu Y., et al., Visualization of spontaneous aggregates by diblock poly(styrene)-b-poly(L-lactide)/poly(D-lactide) pairs in solution with new fluorescent CdSe quantum dot labels, *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.*, 2009;47:1393–405.
- [45] Kalarickal N. C., Rimmer S., Sarker P., Leroux J. C., Thiol-functionalized poly(ethylene glycol)-b-polyesters : Synthesis and characterization, *Macromolecules*, 2007;40:1874–80.
- [46] Petrović Z. S., Zavargo Z., Flynn J. H., Macknight W. J., *J. Appl. Polym. Sci.* 1994, 51, 1087-95.
- [47] Ellman G.L., Tissue sulfhydryl groups, *Arch. Biochem. Biophys.*, 1959;82:70–7.
- [48] Hawker C. J., Lee R., Fréchet J. M. J., One-Step Synthesis of Hyperbranched Dendritic Polyesters, *J. Am. Chem. Soc.*, 1991, 113, 4583-4588.
- [49] Xiang L., Shijie X., Jun L., Haibin H., Jing J., Wei H., Haiyang G., Dongshan Z., Zhongyuan L., Deyue Y., The Relationship Between the Degree of Branching and Glass Transition Temperature of of Branched Polyethylene, *Polym. Chem.*, 2014,5, 1305-12.

II.6. SUPPORTING INFORMATION

TABLE 8 Synthesis characteristics of multi-thiol functionalized polyesters based on PCL, PLA and PHB segments.

Entry N°	Expected thiol functionality	Degradable segment number in the expected structure	Segment molecular weight (g.mol ⁻¹)	Mole ratios of the reagents H ₁₂ MDI/glycerol/degradable segment/2-aminothiophenol
PCL systems				
11	3	1	1000	4.4/1/1/3
12	3	2	1000	5.5/1/2/3
13	3	3	4000	6.6/1/3/3
PLA systems				
14	3	1	870	4.4/1/1/3
15	3	2	870	5.5/1/2/3
16	3	3	530	6.6/1/3/3
17	3	3	1680	6.6/1/3/3
PHB systems				
18	3	1	980	4.4/1/1/3
19	3	2	980	5.5/1/2/3
20	3	3	1510	6.6/1/3/3

TABLE 9 Thiol content in the multi-thiol functionalized PCL/PLA/PHB polyesters.

Entry N°	[SH]/[oligomer repeat unit] (mol/mol)		SH content×10 ³ (mol / g of product)	
	Expected	Calculated by ¹ HNMR	Expected	Determined by Ellman's method (±0.043)
PCL systems				
11	1/2.6	1/2.6	1.19	1.21
12	1/5.2	1/5.9	0.79	0.61
13	1/34.1	1/34.5	0.21	0.26
PLA systems				
14	1/3.5	1/3.6	1.2	0.99
15	1/7.1	1/7.8	0.81	0.72
16	1/6.2	1/6.1	0.78	0.53
17	1/22.1	1/19.1	0.41	0.68
PHB systems				
18	1/3.5	1/3.1	1.15	1.16
19	1/6.9	1/7.8	0.77	0.74
20	1/16.1	1/16.0	0.45	-

TABLE 10 Expected and SEC obtained molecular weight of multi-thiol functionalized polyesters and their average functionalities with [OH]/[NCO] molar ratio.

Entry	[OH]/[NCO] (mol/mol)	\overline{Mn} (g.mol ⁻¹)		Average functionality (mol SH/mol product)
		Expected	Obtained from SEC	
PCL systems				
4	1/1.47	8042	17400	6.1
11	1/1.76	2516	9200	11.1
12	1/1.57	3780	9740	5.9
13	1/1.47	14042	33800	8.8
PLA systems				
14	1/1.76	2387	6450	6.4
15	1/1.22	3519	10310	7.4
16	1/1.47	3632	11079	5.9
17	1/1.47	7082	18930	12.9
PHB systems				
18	1/1.76	2497	5141	6.0
19	1/1.22	3739	5300	3.9
20	1/1.47	6572	6291	-

Table11 Glass transition temperatures of the multi-thiol functionalized polyesters, their degree of branching, degradable segment content and [segment]/[glycerol] molar ratio.

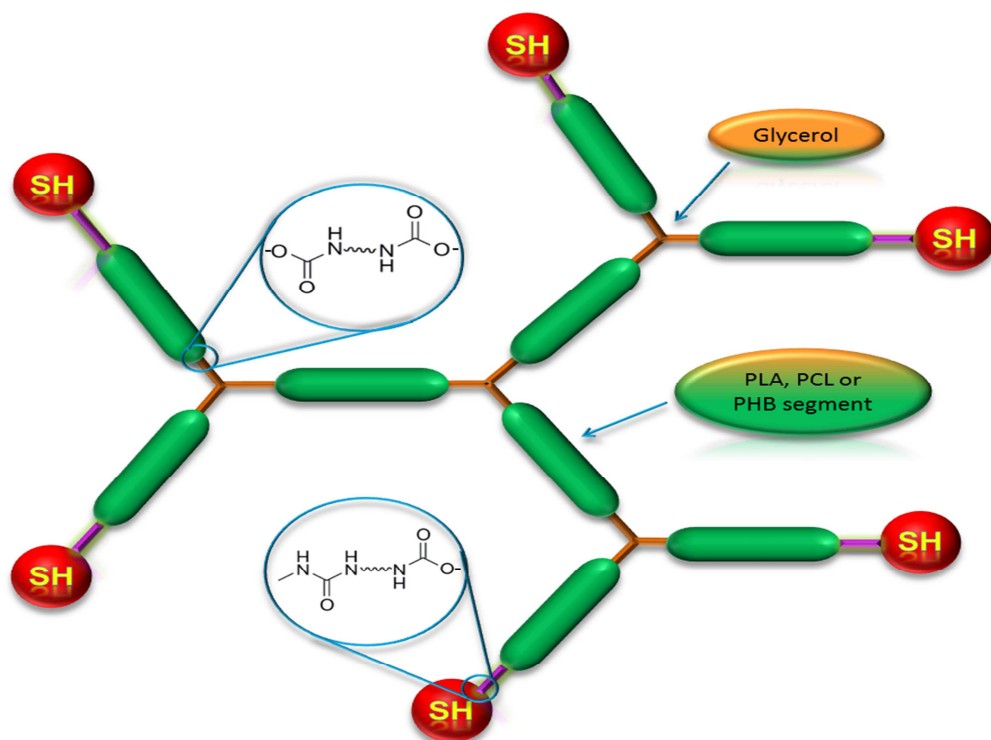
Entry	[segment]/[glycerol] (mol/mol)	Degree of branching	Degradable segment content (wt.%)	Tg of the obtained polyester (°C)
PCL systems				
4	3/1	1	73.13	-30.2
11	1/1	1	40.48	-24.9
12	2/1	1	53.71	-27.4
13	3/1	1	84.48	-31.6
PLA systems				
14	1/1	1	34.78	14.0
15	2/1	1	47.50	17.6
16	3/1	1	42.22	9.5
17	3/1	1	69.62	35.9
PHB systems				
18	1/1	1	37.59	8.3
19	2/1	1	50.55	6.0
120	3/1	1	66.61	1.4

II.7. ABSTRACT

Biodegradable-based multi-thiol functionalized polyesters were synthesized using PLA, PHB and PCL hydroxyl telechelic segments. The structures of these polyesters were designed to endow oligomers with different segment compositions and thiol functionalities. Thiol functionalities between 3 and 7 corresponding to $0.25\text{-}1.2 \times 10^{-3}$ mol SH per gram of product were obtained. Model reactions were carried out before the synthesis of the functionalized polymers. Multi-isocyanate functionalized polymers were first prepared. Then, by reaction with 2-Aminothiophenol, multi-thiol functionalized polymers were selectively prepared. The products were characterized by spectroscopy and titrated to confirm the expected structures. The effects in the different reactions of stoichiometric parameters on the structure, molar mass, thiol functionality and glass transition temperature of these polymers were evaluated.

KEYWORDS: functionalization of polymers, biodegradable, polyesters, synthesis, designed polymers, thiol functionalization.

GRAPHICAL ABSTRACT



Chapitre III

GREFFAGE DE MONOMERES (METH)ACRYLIQUES SUR LES POLYMERES BRANCHES MULTI-THIOLES

Les structures macromoléculaires obtenues dans le chapitre précédent offrent la possibilité pour un large choix de modifications grâce à la présence des fonctions thiols pendantes dans leurs structures, cette grande réactivité sera exploitée dans ce chapitre pour greffer des monomères acryliques et méthacryliques sur les polymères multi-thiolés via la réaction thiol-ène radicalaire.

Les monomères utilisés sont dotés de groupements ammoniums quaternaires, ces derniers sont connus pour leurs propriétés biologiques, le but ultime est donc d'obtenir des polymères portant des groupements ammoniums quaternaires à partir des structures multithiolées.

Le greffage a été réalisé par voie radicalaire, des réactions modèles ont été d'abord conduites avec les différents monomères en utilisant le thiophenol comme composé thiolé modèle portant un seul groupement thiol, montrant que l'addition des monomères en question sur la fonction thiol peut se faire avec différentes valeurs de DP_n, ce dernier étant contrôlable par le rapport stœchiométrique thiol/ène. Ces mêmes réactions ont été ensuite réalisées sur les polymères multi-thiolés branchés avec différentes valeurs de DP_n.

Les produits obtenus suite aux réactions modèles ainsi qu'au greffage sur les polymères ont été caractérisés par RMN, SEC, DSC et ATG. Les cinétiques des réactions thiol-ène ont été suivies par RMN et leurs constantes de transfert ont été déterminées.

Les travaux décrits dans cette partie ont permis d'obtenir des polymères à base de segments de PLA, PCL et PHB, dont les structures sont branchées, et portant des groupements ammoniums quaternaires pendants, la teneur en ces derniers est ajustable en agissant sur le rapport stœchiométrique thiol/ène durant l'addition radicalaire. Les polymères portant des groupements ammoniums sont potentiellement utilisables dans des applications biologiques, cet aspect sera traité dans les chapitres suivants.

III. Thiol-Ene Grafting from Polylactic Acid, Polycaprolactone and Polyhydroxybutyrate

Kedafi Belkhir, Corinne Jegat, Mohamed Taha

Ingénierie des Matériaux Polymères (IMP), UMR CNRS 5223, Université de Saint-Etienne, Jean Monnet, F-42023, Saint-Etienne, France

Université de Lyon, F-42023, Saint-Etienne, France

Correspondence to: M.Taha (E-mail: Mohamed.Taha@univ-st-etienne.fr)

III.1. Introduction

The reaction between thiol and carbon-carbon double bonds, or “enes”, and its high efficiency were mentioned for the first time in 1905 [1]. Called “thiol-ene” reactions, they have gained a great interest in various fields. By carrying numerous characteristics of “click” reactions defined by Sharpless and co-workers [2,3] such as modularity, quantitative yields, no requirement of high concentration of catalyst, being fast either in bulk or in solution and not considerably sensitive to oxygen inhibition, these reactions were considered as belonging to the “click chemistry” [4,5] and represent an efficient tool for polymer functionalization [6], end group modification [7], controlled network forming [8,9], dendrimer synthesis [10], crosslinking [11] and polymer surface modification [12]. Thiol-ene click reactions were much used in the synthesis of telomers with controlled polymerization degrees [13,14]. The monomers having pendant carbon-carbon double bonds, such as acrylic and methacrylic ones, can be added to the thiol group either by (i) base or nucleophile catalyzed Thiol-Michael ionic addition mechanism [15,16] or by (ii) anti-Markovnikov free radical addition [17,18]. The thiol-ene radical addition can be photoinitiated [19-21] or carried out in the presence of a free radical initiator such as 2,2'-Azobisisobutyronitrile (AIBN) [22-24]. Thiol-ene radical polyaddition generally leads to telomers with interesting characteristics and favorable material properties [25]. Among acrylic and methacrylic monomers likely to be thiol-ene added, those including a quaternary ammonium group in their structure are taking a great interest in polymer synthesis due to numerous biological and chemical properties which they may possess or which can be acquired through their polymerization. The presence of a quaternary

ammonium group in the structure of these monomers gives them efficient antibacterial [26-29], antimicrobial [30,31] and fungicide [32,33] activities; they are also used as surfactants [34,35] and known as phase transfer catalysts [36,37]. In a previous study [38], polyurethaneimide block copolymers containing quaternary ammonium groups were synthesized with easily controlled polymer structures and their functional group contents, the resulted materials showed a good film-forming character. In a more recent study [39], a poly(arylene ether sulfone) ionomer was synthesized, this material was endowed with controlled amount and location on the polymer chain of pendant quaternary ammonium groups, which is potentially useful for elaboration of fuel cell membranes. Water soluble polymers based on quaternary ammonium monomers were synthesized and patented; a patent [40] was published describing the invention of linear polymers with high molecular weight having a linear chain of repeating rings with quaternary ammonium groups.

RAFT polymerization is widely used as a method to synthesize polyquaterniums based on monomers having pendant enes. This method was used in a recent work [41] to synthesize a poly(styrene)-*b*-poly(methacryloxyethyltrimethyl ammonium iodide) diblock polymer.

In this study PLA, PCL and PHB multi-thiol functionalized polymers were prepared similarly to our previous work [42] using a facile and original method and giving potentially biodegradable materials with controlled design and high thiol functionality. These polymers should be active in thiol-ene radical addition of several double-bond bearing monomers. It is well known that these reactions are efficient and controllable in the case of small thiol functionalized molecules, giving telomers, but how about the case of multi-thiol functionalized polymers? This work describes the two aspects.

Thiol-ene radical addition reactions were first carried out using small thiol compound, then reactions of thiol functions of PLA, PCL and PHB multi-thiol functionalized polymers were performed. The used monomers were bearing either quaternary ammonium groups, for their biological activities, or methyl methacrylate (MMA) to improve the processability [43] or hydroxyethyl methacrylate (HEMA) to control hydrophilic/hydrophobic balance [44]. The obtained products were characterized by ¹H-NMR, SEC, DSC and TGA analyses.

III.2. Experimental

2.1. Materials

[2-(Acryloyloxy)ethyl]trimethylammonium chloride (ADCl) and [2-(methacryloyloxy)ethyl]trimethylammonium chloride (MADCl) were the quaternary

ammonium active monomers. They were purchased as aqueous solution of 80 wt.%, checked by thermogravimetric analysis and their structures were confirmed by $^1\text{H-NMR}$. Two other monomers were used: methyl methacrylate (MMA) and 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA). These four monomers, thiophenol, 2,2'-azobis(2-methyl-propionitril) (AIBN), tetrahydrofuran (THF) and ethanol were purchased from Sigma Aldrich.

Deuterated dimethylsulfoxide (DMSO-d or $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$), purchased from Euriso-top, and water (D_2O), purchased from Aldrich, were used as solvents for $^1\text{H-NMR}$ analysis.

Multi-thiol functionalized polylactic acid (PLA), polycaprolactone (PCL) and polyhydroxybutyrate (PHB) having different designed structures and different thiol functionalities were synthesized according to the method described in our previous work⁴². Scheme 1 (Supporting Information) shows, as an example, two structures with three or seven biodegradable polymer arms and respectively three or five thiol functions.

2.2. Nomenclature

SH: refers to thiol function.

A: number of arms in the branched structure.

F: the thiol functionality (number of thiol groups in the mutli-thiol functionalized polymer)

g: refers to “grafted”.

Examples

PLA-SH A3 F3 = multi-thiol functionalized PLA with 3 arms and 3 thiol functions.

PLAgAD = PLA grafted with ADCl, having 3 arms and three thiol functions.

PCL-SH A1 F3 = multi-thiol functionalized PCL having 1 arm and 3 thiol functions.

PCLgMAD A1 F3 = PCL grafted with MADCl, having 1 arm and 3 thiol functions.

PHB-SH A7 F5 = multi-thiol functionalized PHB, having 7 arms and 5 functions.

PHBgAD A7 F5 = PHB grafted with ADCl, having 7 arms and 5 functions.

2.3. Instrumentation

$^1\text{H-NMR}$ analyses

$^1\text{H-NMR}$ analyses were performed with a BRUKER Advance II spectrometer, 250 MHz frequency. 30 mg of each product were dissolved in 5 mm diameter tubes using the suitable solvent ($(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ or D_2O). Tetramethylsilane was used as internal reference at 0 ppm. Analysis temperature was 300 K with 128 scans.

Thermal gravimetric analyses (TGA)

For TGA, METTLER TOLEDO TGA/DSC 1 STAR^c System was used, it was provided with a micro-balance. Each sample (8-15 mg) was introduced in a 100 μ L aluminum crucible and underwent a temperature sweep from 25 to 600°C with a heating rate of 10°C min⁻¹. Samples were dried under vacuum at 40°C during 48 hours before TGA analysis.

Differential scanning calorimetry (DSC)

DSC analyses of the materials before and after grafting were achieved with a Q10 calorimeter from TA Instruments. Samples, with weight ranging from 2 to 3 mg were put into hermetic aluminum pans and underwent two series of heating and cooling between -80 and 200°C. The rate of cooling/heating was 10°C/min. Glass transition temperature was collected from the second heating ramp by identifying the inflection point.

Size exclusion chromatography (SEC)

SEC analyses were carried out using a Malvern Viscotek HT GPC 350 system equipped with Refractive Index (RI) and Viscometer detectors. PSS-GRAM columns with a range of 100 to 1000000 g/mol were used and the products were eluted by DMSO at 80°C. Molecular weights were calculated referring to a universal calibration based on polymethyl methacrylate (PMMA) standards.

2.4. Model thiol-ene reactions

Model thiol-ene additions of acrylic (ADCl) and methacrylic (MADCl, MMA, HEMA) monomers were conducted with

$$R_0 = \frac{[SH]_0}{[C=C]_0} = 1 \text{ and } 0.2 \quad (1)$$

[SH]₀ is the concentration of thiol functions and [C=C]₀ the monomer concentration at the initial time.

The reaction between thiophenol and ADCl with $R_0 = 1$ is given as an example to detail the procedure: 1.3912 g of thiophenol (0.013 mol) were dissolved in 7.5 mL ethanol and 3.0261 g ADCl 80 wt.% (0.013 mol) were dissolved in the same amount of ethanol. A 25 ml Schlenk tube with a magnetic stirring was used. The two solutions were introduced in the tube and mixed until homogenization. Then 0.011 g of AIBN ($[AIBN]/[monomer]=5.10^{-3}$) were added. The reactor was purged by a nitrogen flow and immersed in an oil bath at 70°C for 8

hours. The solution was then dried using a rotary evaporator, the remaining solvent was removed under vacuum in an oven (10^{-3} mmHg, 40°C) until constant weight.

All the model reactions conditions are reported in Table 1.

Table 1 Model reaction conditions

Monomer	R ₀	Thiophenol (g)	Monomer (g)	Solvent	AIBN (g)
MMA	1	1.391	1.264	THF	0.011
	0.2	0.348	1.264		
HEMA	1	1.391	1.677	10 ml	0.011
	0.2	0.348	1.677		
ADCl	1	1.391	2.420*	Ethanol	0.011
	0.2	0.348	2.420*		
MADCl	1	1.391	2.596*	15 ml	0.011
	0.2	0.348	2.596*		

*Masse corresponding to the pure product, it contains 20 wt% water.

2.5. Thiol-ene reactions using multi-thiol functionalized PLA, PCL and PHB

For the thiol-ene addition of the monomers on multi-thiol functionalized PLA, PCL and PHB, two values of R₀ (equation 1) were chosen for each monomer. An example concerning the addition of MADCl on the three-thiol functionalized PLA including three biodegradable arms with R₀=0.25 is given: in a 25 mL Schlenk tube equipped with a nitrogen flow, 0.2 g of the PLA (8.268×10^{-5} mol of thiol groups) were dissolved in 15 mL of a 50/50 vol. mixture of THF/ethanol, then 0.086 g of MADCl (80 wt.% in water) were added. The reaction mixture was stirred until homogenization, then 5×10^{-3} g of AIBN were added. The system was immersed in an oil bath at 70°C with magnetic stirring for 12 hours. After reaction, the solution was dried using a rotary evaporator. The remaining solvent was removed under vacuum in an oven (10^{-3} mmHg, 40°C) until constant weight. The product was then analyzed via ¹H-NMR. Reaction conditions for equivalent reactions are listed in Table 2.

2.6. Reactions' kinetics monitoring and determination of transfer constants

The conversions of both thiol functions and monomers were monitored during the thiol-ene addition in the case of a model reaction and the thiol-ene addition of the cited monomers on a multi-thiol functionalized PLA.

As model reaction, thiol-ene addition of ADCl on thiophenol is given as example: 8.473 g of ADCl (0.035 mol) and 0.779 g of thiophenol (0.007 mol) were dissolved in a 50 mL round-bottom two-necked flask by means of 25 mL of DMSO-d as solvent; AIBN (0.03 g) was used as initiator. In these proportions, the initial thiol/ene ratio was $R_0 = 0.2$. The flask was first purged using a nitrogen flow pipe and the reaction was carried out at 70°C using an oil bath with magnetic stirring. 5 mm diameter H-NMR tubes were previously prepared and contained 0.65 mL of DMSO-d₆. Along the reaction, samples of 0.75 µL were taken from the reaction mixture at different times and introduced in the prepared H-NMR tubes that were quickly shacked and immersed in an ice/water bath at 0°C to freeze the reaction. The DMSO-d volume in the H-NMR tubes and the sample one were set to obtain a concentration of about 30 mg.mL⁻¹ in the H-NMR tubes (recommended value for the analyses). After that, the collected samples were analyzed to determine the thiol and monomer conversions enabling the calculation of the transfer constant.

Table 2 Conditions of thiol-ene addition on multi-mercapto functionalized polymers

Structure (number of arms and functionality)	Segment Nature	R_0	Monomer (g)			
			ADCl	MADCl	MMA	HEMA
A1 F3	PLA	1	0.047	0.050	-	-
		0.25	0.186	0.200	0.097	0.129
	PCL	0.25	-	-	0.097	0.128
	PHB	1	0.034	0.036	-	-
0.25		0.134	0.144	-	-	
A3 F3	PLA	1	0.016	0.017	-	-
		0.25	0.064	0.069	-	-
A7 F5	PCL	1	0.038	0.041	-	-
		0.25	0.153	0.164	-	-
	PHB	1	0.023	0.025	-	-
		0.25	0.094	0.100	0.033	0.043

ADCl and MADCl additions were done in a 50/50 vol. mixture of THF/Ethanol, while THF was used as solvent in the case of MMA and HEMA.

Concerning thiol-ene addition on the multi-thiol functionalized PLA, the four monomers were investigated. The latter was constituted of five arms of $1100 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ and endowed four thiol functions. The multi-thiol functionalized PLA (3.5g including 1.6×10^{-3} mol of thiol functions) was dissolved in a 50 mL round-bottom two-necked flask using 25 mL of DMSO-d, then 8×10^{-3} mol of the monomer were added (ADCl: 1.550g, MADCl: 1.662g, MMA: 0.801g, HEMA: 1.041g). In these proportions, the initial thiol/ene mol ratio was $R_0 = 0.2$. The initiator was AIBN (7×10^{-2} g). The reaction was carried out under nitrogen atmosphere at 70°C in an oil bath. Samples of $175 \mu\text{L}$ were taken from the reaction mixture at different times of reaction and directly introduced in previously prepared H-NMR tubes (containing 0.65 mL of DMSO-d) before being quickly shaken and immersed in an ice/water bath to freeze the reaction. Then $^1\text{H-NMR}$ spectra of the samples were collected and the conversions of both thiol functions and monomers were calculated. The obtained values were used to determine the transfer constant of each monomer on the multi-thiol functionalized PLA.

III.3. Results and discussion

3.1. Thiol-ene model reactions: thiophenol addition

3.1.1. Synthesis and structure analyses

Thiophenol was chosen for additions on ADCl, MADCl, MMA and HEMA (supplementary information S-2)

The products were analyzed after removing solvents and the conversions and the polymerization degrees (DP_n) were determined by $^1\text{H-NMR}$. The oligomers of ADCl and MADCl were analyzed in D_2O ; those of MMA and HEMA in DMSO-d . Spectra of the obtained oligomers as well as the peaks attributions are shown in Figure 1 for ADCl and MADCl and supplementary information S-6 and S-7 for HEMA and MMA respectively. The peaks of protons located on ortho “o”, meta “m” and para “p” positions in thiophenol were used to titrate it and observe its related shifts.

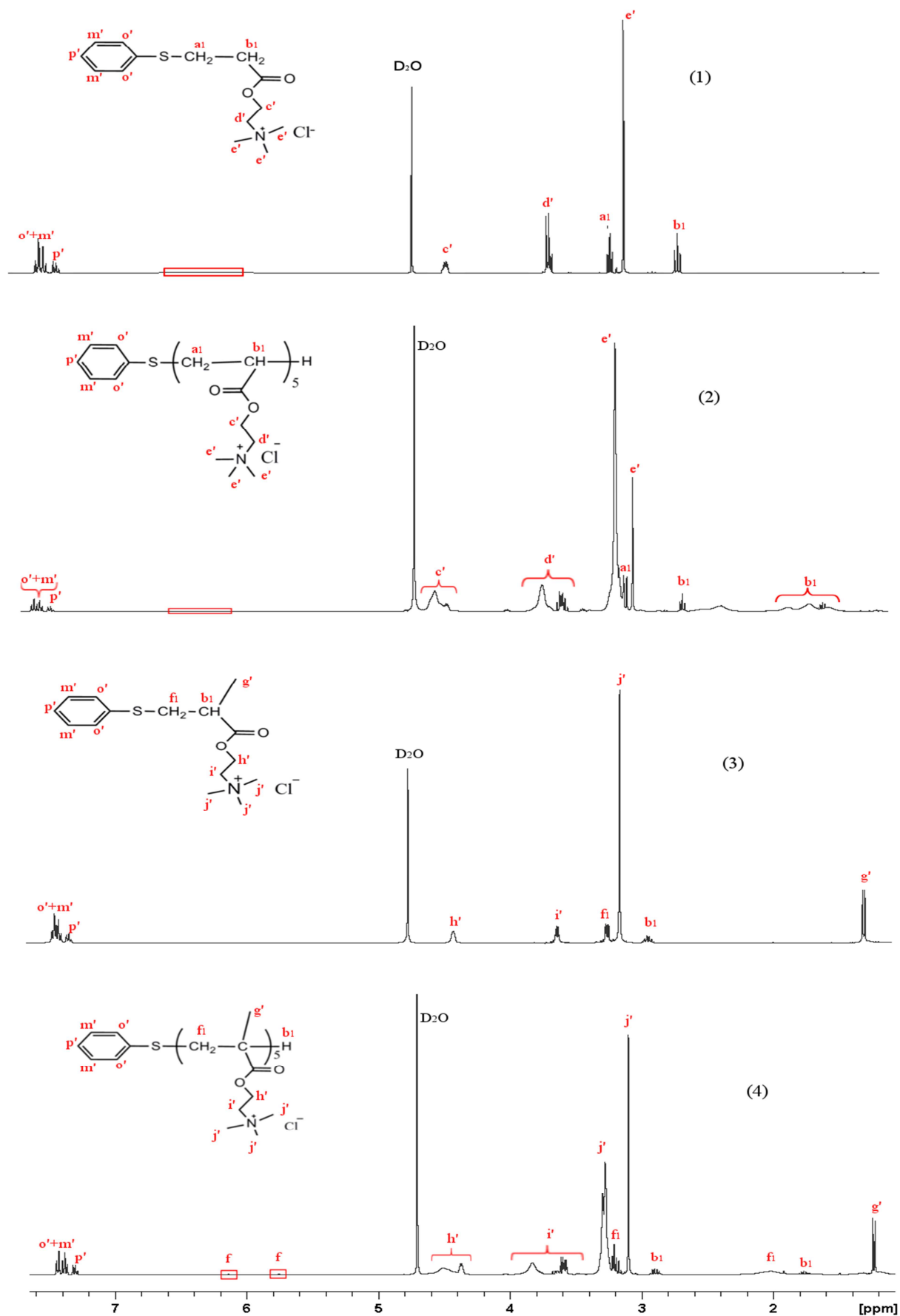


Figure 1 $^1\text{H-NMR}$ spectra of model reactions obtained oligomers, (1) SH-ADCl($R_0=1$), (2) SH-ADCl($R_0=0.2$), (3) SH-MADCl($R_0=1$), (4) SH-MADCl($R_0=0.2$). In D_2O , 400MHz, 300K.

Thiophenol conversion ($Conv_{SH}$) was calculated by integrating unreacted proton peaks and comparing them to the reacted ones; for example Figure 2 shows this calculation in the case of SH-HEMA oligomer with $R_0 = 1$. We can see the remaining ortho located protons “o” peak at 7.50-7.55 ppm (unreacted thiophenol) and a new peak appeared at 7.15-7.25 ppm corresponding to the reacted thiophenol para located proton “p”. Denoted by A_o and $A_{p'}$, the peaks areas of “o” and “p” protons respectively, thiophenol conversion can be expressed by equation (2)

$$Conv_{SH} = \frac{2 \cdot A_{p'}}{2 \cdot A_{p'} + A_o} \quad (2)$$

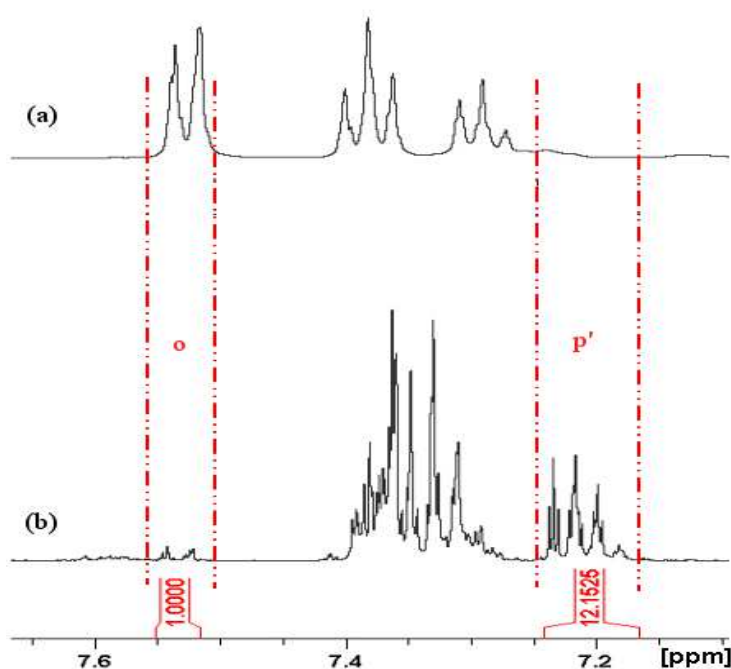


Figure 2 $^1\text{H-NMR}$ spectra of (a) thiophenol and (b) SH-HEMA ($R_0 = 1$) model reaction product. From 7.1 to 7.6 ppm. 300k. 400 MHz. Showing thiophenol conversion calculation.

For monomer conversion ($Conv_{C=C}$), the remaining amount was reflected by double bond proton peaks: these two protons show two separated peaks; MADCl: 6.15 and 5.76 ppm, ADCl: 6.44 and 6.05 ppm (each one is split into two parts), another peak is exploitable for ADCl, it appears at 6.23 ppm and corresponds to the tertiary carbon proton; MMA: 6.02 and 5.67 ppm; HEMA: 6.06 and 5.67 ppm. As it can be seen on Figure 1 (1) and (2), there is no trace of unreacted double bond protons. This means a total consumption of ADCl. However, these peaks appear in SH-MADCl ($R_0 = 1$) spectra (Figure 1, spectra (3) and (4)) but with very small amplitude, so there is a very high consumption of MADCl (conversion values are

in Table 3). Concerning MMA and HEMA (Figure 6, Supporting Information), double bond proton peaks are more marked in the model products' spectra especially in the case of HEMA ("q"). This reveals a lower monomer conversion compared to ADCl and MADCl. These unreacted monomer peaks were compared, where appropriate, to peaks of reacted monomer protons, except for SH-ADCl oligomers (total consumption). For SH-MADCl oligomers "h" and "i" peaks which also contain "h" and "i" peaks of unreacted monomers were chosen. For SH-MMA oligomers, the "m" peak was used (it includes unreacted "m" proton peak). For SH-HEMA oligomers, the "s" (unreacted) and "s'" (reacted) methylene protons peaks were exploited.

Once the conversions of thiophenol and monomers were calculated, a first approximation of the DP_n of the model products could be given according to equation (3)

$$DP_n = \frac{[C=C]_0 \cdot Conv_{C=C}}{[SH]_0 \cdot Conv_{SH}} \quad (3)$$

Where $[C=C]_0$ and $[SH]_0$ are the mole concentration of respectively the monomer and thiophenol in the reaction mixture at the initial time.

This preliminary evaluation was confirmed by studying the structure of the obtained oligomers by 1H -NMR as follows:

For the SH-ADCl oligomer with $R_0 = 1$ (Figure 1, spectrum (1)), the calculation was done by comparing the peak denoted "p" corresponding to the para-located proton in reacted thiophenol (at 7.3 ppm) with the methylene protons peak "c" of reacted ADCl at 4.44 ppm. The same result was obtained when the "d" methylene protons peak was exploited instead of "c". In the case of the SH-ADCl oligomer with $R_0 = 0.2$ (Figure 1, spectrum (2)), the DP_n was calculated by dividing the "c" peak area at 4.40-4.64 ppm (corresponding to the methylene reacted protons of ADCl) by the "p" peak area at 7.3 ppm corresponding to the reacted thiophenol para-located proton. For SH-MADCl with $R_0 = 1$ (Figure 1, spectrum (3)), all the peaks were exploitable and gave convergent values, the ratio between the "p" proton peak area at 7.3 ppm and the "h" one at 4.35 ppm (corresponding to the methylene protons peak) was calculated. An equivalent calculation procedure was used for SH-MADCl with $R_0 = 0.2$ to work out the DP_n (Figure 1, spectrum (4)) in which the "p" proton peak was compared to the "h" one at 4.27-4.65 ppm.

Thiophenol and monomer conversions with the determined DP_n values are summarized in Table 3.

Table 3 Model reaction results concerning the conversions of thiol functions and monomers when those react with thiophenol, conversion-based DP_n evaluation and its $^1\text{H-NMR}$ confirmed values according to the product structure.

Monomer	R_0	Expected DP_n^*	$Conv_{SH}$	$Conv_{C=C}$	DP_n preliminary evaluation by $^1\text{H-NMR}$ determined conversions.	DP_n confirmed by $^1\text{H-NMR}$ analyzing structure.
ADCl	1	1	0.99	1	1.0	1.1
	0.2	5	1	1	5.0	5.4
MADCl	1	1	1	1	1.0	1.0
	0.2	5	0.98	0.99	5.1	4.5
MMA	1	1	0.87	0.97	1.1	1.1
	0.2	5	0.88	0.95	5.4	4.8
HEMA	1	1	0.96	0.93	1.0	1.1
	0.2	5	0.98	0.92	4.7	5.2

*This value of DP_n is expected for $Conv_{SH} = Conv_{C=C} = 1$.

From Table 3, high monomer conversion rates were obtained, especially in the case of quaternary ammonium monomers (ADCl and MADCl) that present a higher conversion than MMA and HEMA. The transfer agent (thiophenol) conversion rate is also higher in the case of quaternary ammonium monomers.

When the expected DP_n values were compared to those calculated from the $^1\text{H-NMR}$ evaluation of monomers and thiophenol conversions, a good agreement was found. This was also the case when the expected DP_n values were compared to those determined by $^1\text{H-NMR}$ analysis of the model molecules' structures. This means firstly that the DP_n values determined experimentally are in accordance with the theoretically expected ones and secondly that the two methods are consistent and give equivalent results.

3.1.2. Chain transfer constant determination

Chain transfer constant C_T was determined using the equation (4) [20]

$$\log\left(1 - \frac{\alpha}{DP_n R_0}\right) = C_T \log(1 - \alpha) \quad (4)$$

Where α is the monomer conversion.

Thus, by plotting $\log(1 - \frac{\alpha}{DP_n R_0})$ versus $\log(1 - \alpha)$, C_T can be calculated as shown in Figure 3.

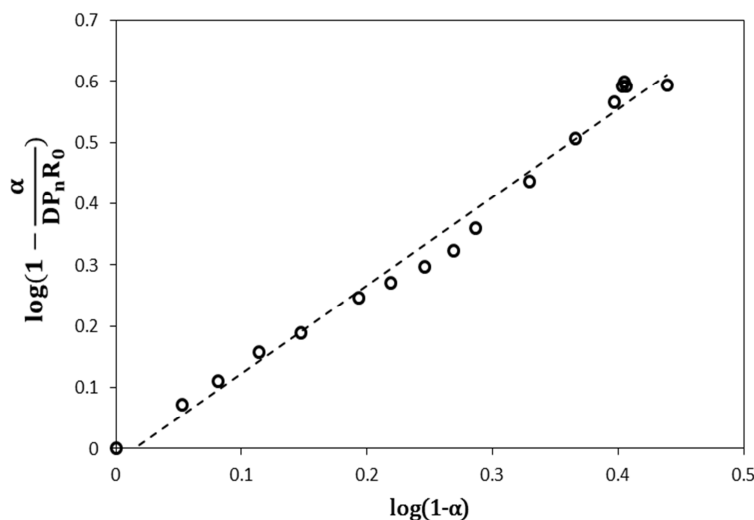


Figure 3 C_T determination during thiol-ene reaction of ADCl with thiophenol (70°C).

C_T of thiophenol to ADCl at 70°C was 1.44; the trend line shows good linearity with a correlation coefficient of 0.985. This value of C_T is coherent with those cited in literature for reactions of thiols and acrylate functions.

3.2. Thiol-ene grafting reactions on multi-thiol functionalized polymers:

3.2.1. Synthesis and structure analyses

Thiol-ene radical additions of ADCl, MADCl, MMA and HEMA on multi-thiol functionalized PLA, PCL and PHB were carried out. Reaction conditions were specified in Table 2. An example with a three-thiol functional prepolymer is illustrated in Supplementary Information S-4.

The products were analyzed by $^1\text{H-NMR}$. The monomer and thiol groups conversions were calculated, thus giving the evaluation of DP_n according to equation (3). Examples of thiol and monomer conversion determination by $^1\text{H-NMR}$ are given in the following paragraphs.

3.2.1.1. SH conversion

For thiol conversion, the aromatic ortho proton (z) toward the SH at 6.53 ppm is deshielded when thiol-ene reaction occurs giving (z') peak (Figure 4.1). The SH conversion becomes

$$Conv_{SH} = \frac{z'}{z+z'} \quad (5)$$

3.2.1.2. Monomers conversion

As example, Figure 4.2 shows ADCl con

version determination by comparing the “b” residual proton peak at 6.23 ppm to total corresponding –O-CH₂- protons peak (“c”+“c'”) at 4.29-4.74 ppm. Equation 6 was used to this calculation

$$Conv_{ADCl} = \frac{c+c'-2b}{c+c'} \quad (6)$$

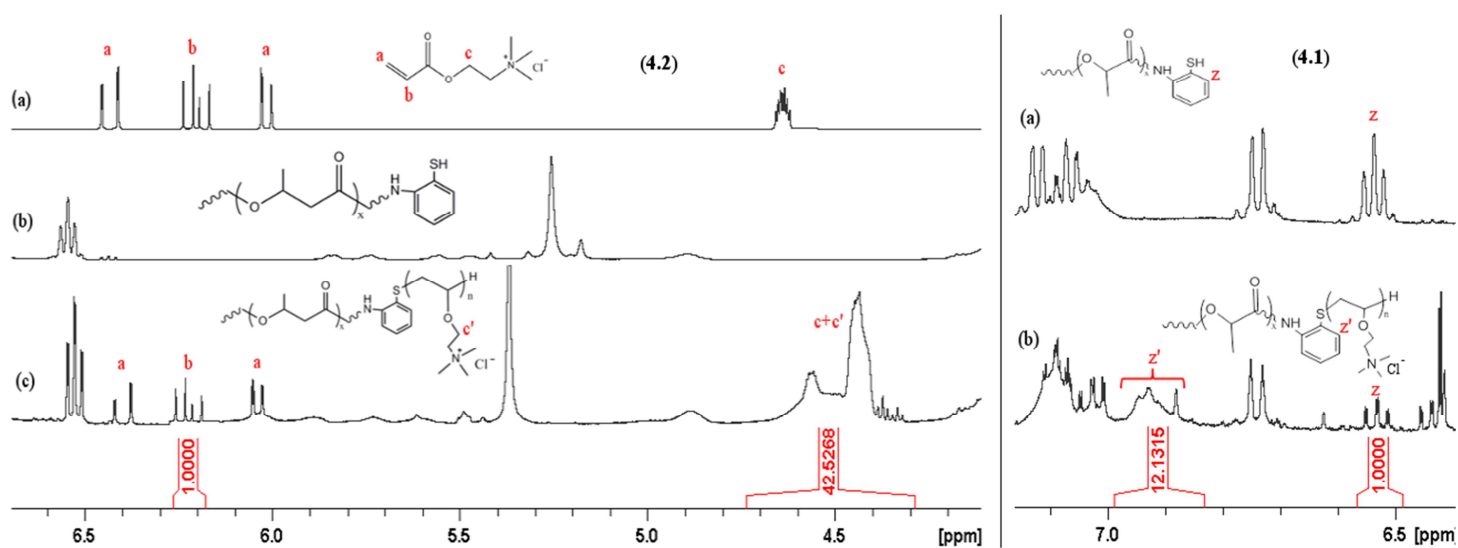


Figure 4 ¹H-NMR spectra in DMSO at 300K, 400 MHz, of **(4.1)** the PLA-based polymer (three arms, three thiol functions) from 6.4 to 7.2 ppm, (a) before thiol-ene addition, (b) after addition of ADCl, showing the calculation of thiol group conversion and **(4.2)** (a) ADCl, (b) PHB-based polymer (seven arms, five thiol functions) before adding ADCl and (c) after addition, from 4.1 to 6.7 ppm.

The determination of conversions of the other monomers (MADCl, MMA and HEMA) is described in Supporting Information (S-5, S-6 and S-7) as well as the spectra of the other products (S-8).

Both monomers and SH conversions values are reported in Table 4.

Table 4 Results of monomers thiol-ene addition on multi-thiol functionalized polymers.

Structure	Segment nature	R_0	Monomer	$Conv_{C=C}$	$Conv_{SH}$	Determined	Expected
						DP_n	DP_n
A1 F3	PLA	1	ADCl	0.89	0.64	1.4	1
			MADCl	0.85	0.84	1.0	1
		0.25	ADCl	0.97	0.63	6.2	4
			MADCl	0.84	0.97	3.5	4
			MMA	0.91	70.1	5.1	4
			HEMA	0.69	0.77	3.5	4
	PCL	0.25	MMA	0.98	0.77	5.1	4
			HEMA	0.78	0.83	3.7	4
	PHB	1	ADCl	0.86	0.68	1.3	1
			MADCl	0.76	0.78	1.0	1
		0.25	ADCl	0.96	0.73	5.3	4
			MADCl	0.77	0.83	3.7	4
A3 F3	PLA	1	ADCl	0.97	0.92	1.1	1
			MADCl	0.90	0.96	1.0	1
		0.25	ADCl	0.95	0.76	5.0	4
			MADCl	0.93	0.83	4.5	4
A7 F5	PCL	1	ADCl	1.00	0.82	1.2	1
			MADCl	0.82	0.90	5.3	1
		0.25	ADCl	0.96	0.78	4.9	4
			MADCl	0.77	0.93	3.3	4
	PHB	1	ADCl	1.00	0.80	1.3	1
			MADCl	0.72	0.89	1.0	1
		0.25	ADCl	0.89	0.72	4.9	4
			MADCl	0.70	0.90	3.1	4
			MMA	1.00	0.81	4.9	4
			HEMA	0.85	0.90	3.8	4

As shown in Table 4, the maximum conversions of monomers are variable, (from 0.70 to 1.00). This is probably due to Dead-End Polymerization [45,46] (Equation 10) .

$$\ln(1 - \text{Conv}_{C=C}) = -2k_p \left(\frac{f[I]_0}{k_t k_d} \right) \quad (10)$$

The dead end conversion depends not only on the initiator's initial concentration $[I]_0$ but also on other parameters that change with the used monomer (k_p and k_t) and the initiator (k_d) as well as the initiator's efficiency f .

All these parameters and constants change with the used reaction composition and conditions; the dead end reaction occurs at different conversions. This is what was actually obtained in the experiments reported above.

The used multi-thiol functionalized polymers were efficient in thiol-ene radical addition of the monomers. The structures of the obtained products conformed to the expected ones.

Is it possible to conduct thiol-ene reactions using these multi-thiol functionalized polymers with acrylate monomers and to obtain either monoaddition or longer chains with controlled DP_n .

3.2.2. Chain transfer constants to multi-thiol functionalized polymers

Chain transfer constants of the four monomers (ADCl, MADCl, MMA and HEMA) were also determined. Figure 5 shows the plots corresponding to the thiol-ene addition of these monomers on the multi-thiol functionalized PLA.

As shown on Figure 5, good correlations were obtained; the calculated values of C_T and the linear correlation coefficient R^2 of each plot are noted on Figure 5. The kinetic monitoring allowed the chain transfer constants determination. The reactions of multi-thiol functionalized polymers were kinetically controlled just as when small thiols were used.

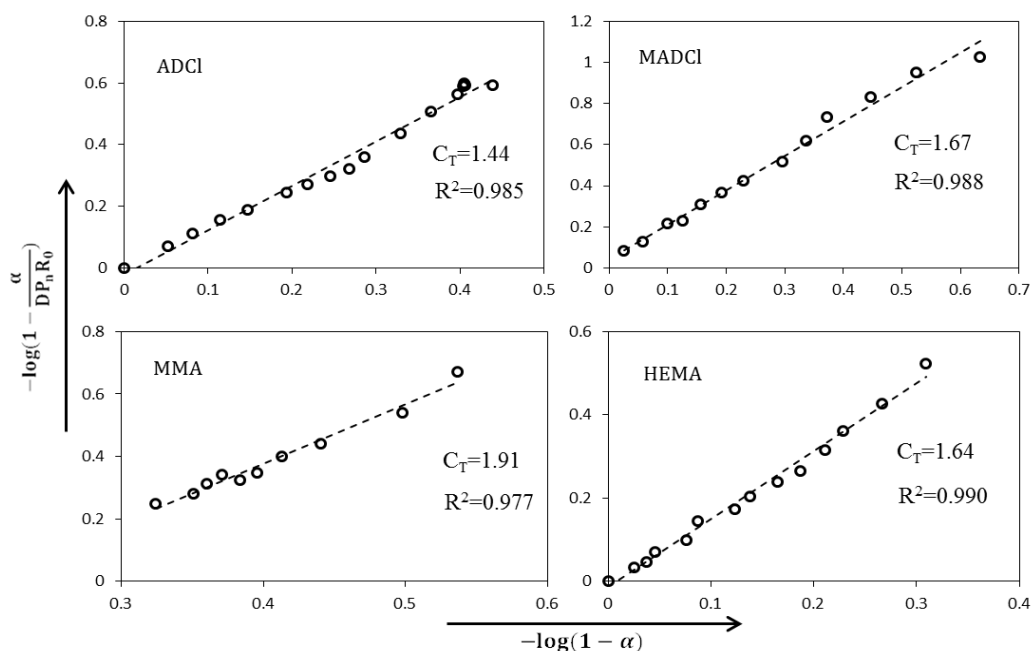


Figure 5 Chain transfer constant determination for the telomerization of ADCl, MADCl, MMA and HEMA by using the multi-thiol functionalized PLA at 70°C.

3.2.3. Thermal properties

Glass transition temperatures (T_g) of the products before and after thiol-ene grafting were determined by DSC, the thermal degradation temperature (T_d) was determined by TGA. Figure 6 shows some examples of the obtained results, other values are in Supplementary Information S-9

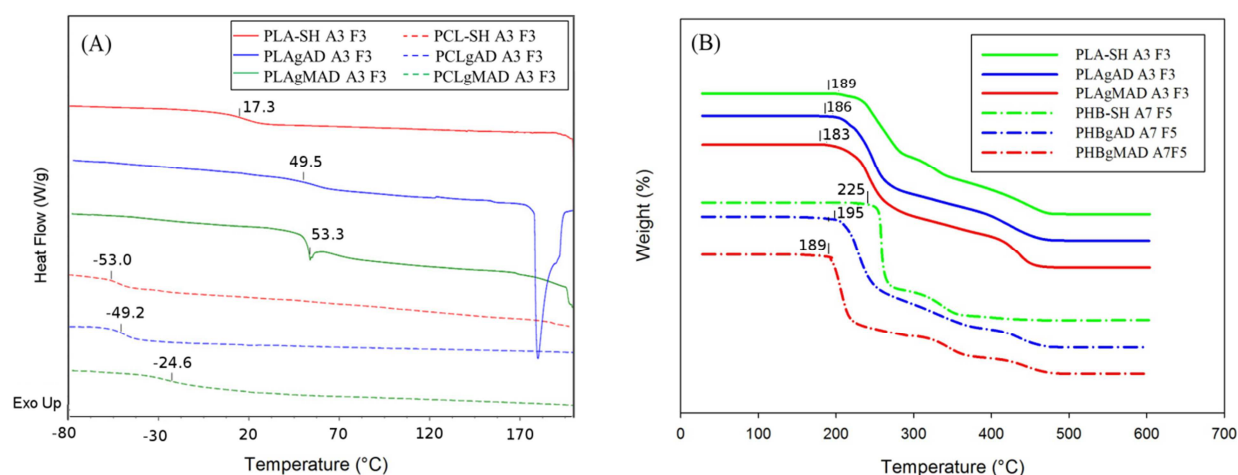


Figure 6 (A): Examples of DSC curves showing the T_g values before and after grafting, (B) examples of TGA curves showing the T_d variations due to grafting monomers on the multi-thiol functionalized polymers.

As shown on figure 6 (A), the glass transition temperature of the materials increases due to grafting the monomers, many studies [47-49] investigated the effect of crosslinking density on the T_g of the polymer and concluded that the T_g increases by increasing the crosslinking density. In our case, by grafting monomers on the end chains of the branched structures, the crosslinking density increases according to the structure of the polymer, so it is obvious that the T_g of these materials increases after grafting monomers. On another side, the T_g depends on the nature of the pendent groups in the branched structure [49], so due to grafting monomers with quaternary ammonium sites, the pendant groups, that were thiol groups, change the chemical and physical properties, hence the T_g is affected. Concerning thermal degradation, as we can see on figure 6 (B), the temperature of thermal degradation decreases after grafting monomers. The values of T_d are still acceptable for eventual applications in molten phase.

3.2.4. SEC results

The reaction is kinetically controlled since the transfer constant was calculated for small model reactants and also multi-functional polymers. Equivalent transfer constants were obtained. This shows that the molar mass has no effect on the kinetic and that reactions are not diffusion controlled but kinetically controlled. The products seemed only soluble in DMSO. The SEC analysis in DMSO at 80°C requires, for practical reasons, a complete solubility of the products for at least 3 to 4 hours. Even if the majority of the products were soluble at the beginning, a partial precipitation was observed for some products at longer time. This is due to inter molecular physical links. More detailed analysis of these interactions was made using rheological study and their results will be soon published. For this reason we consider that the SEC results are not reliable, they are given in supplementary information S10 as indicative values. Actually, $^1\text{H-NMR}$ is the more reliable technique for the characterization of the products obtained in this study.

III.4. Conclusion

Active monomers having pendant double bonds were grafted on multi-thiol functionalized polyesters. These polymers were based on biodegradable segments of PLA, PCL or PHB with different thiol functionalities and segment numbers. Simple model thiol-ene addition reactions were first conducted using thiophenol as a transfer agent bearing thiol function and permitted, by $^1\text{H-NMR}$ analysis, to confirm the addition of the used monomers with different polymerization degrees (DP_n) that can be controlled by thiol/ene proportions in the reaction mixture. The conversion rate values of monomers and transfer agent were relatively high (total conversion in some cases) and the experimentally determined DP_n values were in accordance with the expected ones. In a second part, these reactions were conducted to add the monomers on thiol groups of multi-thiol functionalized polyesters with different DP_n values. The efficiency of this method was noted both for model reactions and for grafting on multi-thiol functionalized polymers. The determination of chain transfer constants showed values comparable between different systems and close to the value obtained with the model reactions. $^1\text{H-NMR}$ results confirmed the ability to control this parameter and make polymers bearing desired amounts of active principles. Thermal characterizations showed an increase of the glass transition temperature and a decrease of the thermal degradation temperature of the materials after grafting the active monomers. In addition to the fact that they are based on biodegradable segments, these materials can have a great interest in smart polymer elaboration, their biodegradability and biological properties (antibacterial, antimicrobial and fungicidal activities) are under study.

Acknowledgment

The authors are grateful to the French ministry of higher education and scientific research for the Ph. D scholarship of Kedafi Belkhir. We thank the NMR Polymer Center of the Institut de Chimie de Lyon (FR3023) for assistance and access to the NMR facilities.

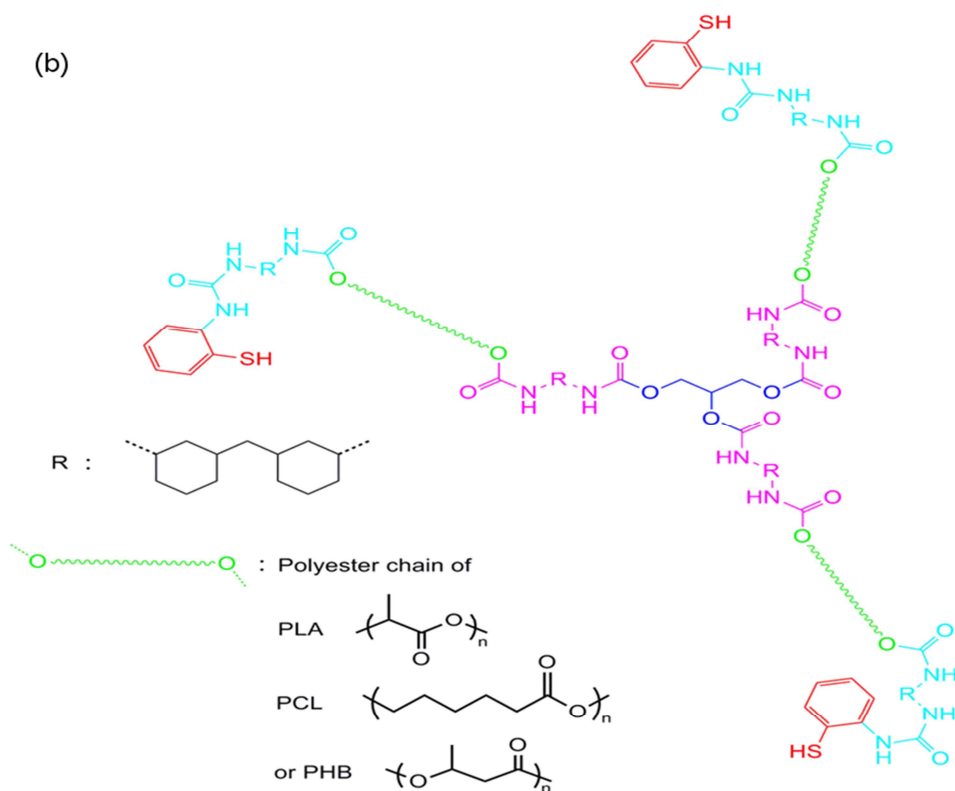
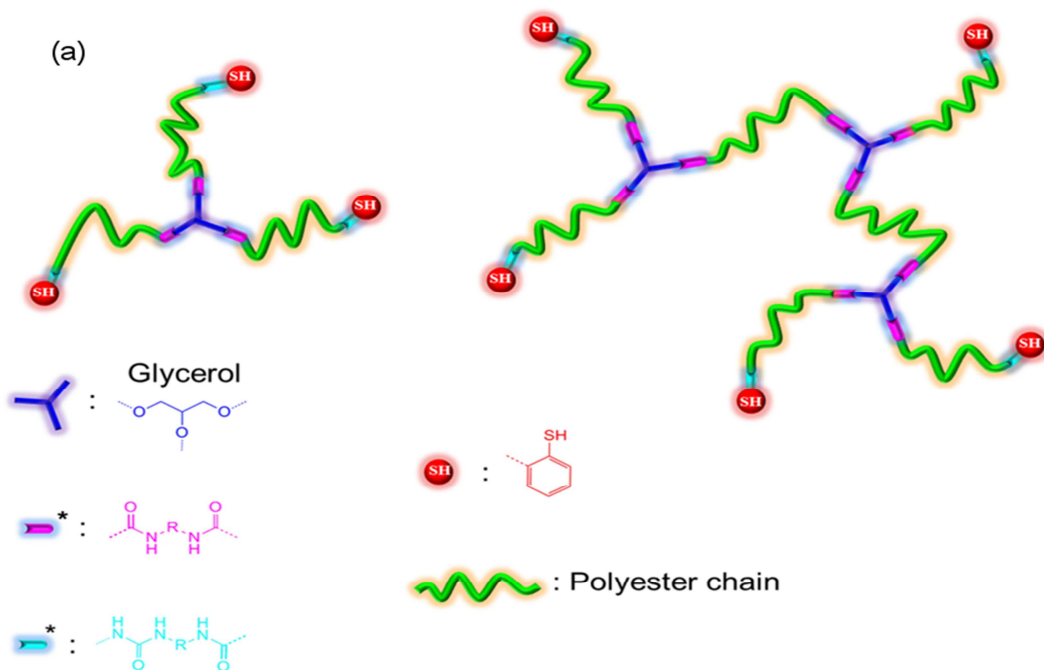
III.5. References

- [1] T. Posner, *Berichte Dtsch. Chem. Ges.* **1905**, 38 (1), 646-657.
- [2] U. Tunca, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2014**, 52 (22), 3147-3165.
- [3] H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2001**, 40 (11), 2004-2021.
- [4] B. H. Northrop, R. N. Coffey, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134, 13804-13817.
- [5] M. J. Robb, C. J. Hawker, *Materials Science and Technology*, **2013**, 923-972.
- [6] M. Bednarek, *React. Funct. Polym.* **2013**, 73, 1130-1136.
- [7] B. Yu, J. W. Chan, C. E. Hoyle, A. B. Lowe, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2009**, 47 (14), 3544-3557.
- [8] L. Li, R. Liang, Y. Li, H. Liu, S. Feng, *J. Colloid Interface Sci.* **2013**, 406, 30-36.
- [9] J. Narayanan, M. J. Jungman, D. L. Patton, *React. Funct. Polym.* **2012**, 72, 799-806.
- [10] M. Galán, J. S. Rodriguez, J. L. Jiménez, M. Relloso, M. Maly, F. J. de la Mata, M. A. Munoz-Fernández, R. Gómez, *Org. Biomol. Chem.* **2014**, 12, 3222-3237.
- [11] S. D. Bhagat, J. Chatterjee, B. Chen, A. E. Stiegman, *Macromolecules* **2012**, 45, 1174-1181.
- [12] M. Khan, J. Yang, C. Shi, Y. Feng, W. Zhang, K. Gibney, G. N. Tew, *Macromol. Mater. Eng.* **2015**, DOI: 10.1002/mame.201500038
- [13] R.G. Petrova, R. K. Freidlina, *Bull. ACAD. Sci. USSR Div; Chem. Sci.* **1962**, 11 (1), 52-56.
- [14] J. Liu, F. Zhang, Q. Fu, X. Zhu, W. Shi, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2008**, 46, 7543-7555.
- [15] D. P. Nair, M. Podgórski, S. Chatani, T. Gong, W. Xi, C. R. Fenoli, C. N. Bowman, *Chem. Matter.* **2014**, 26, 724-744.
- [16] G.-Z. Li, R. K. Randev, A. H. Soeriyadi, G. Rees, C. Boyer, Z. Tong, T. P. Davis, C. Remzi Becer, D. M. Haddleton, *Polym. Chem.* **2010**, 1, 1196-1204.

- [17] M. Sangermano, G. Colucci, M. Fragale, G. Rizza, *React. Funct. Polym.* **2009**, 69, 719-723.
- [18] E. L. Tyson, Z. L. Niemeyer, T. P. Yoon, *J. Org. Chem.* **2014**, 79 (3), 1427-1436.
- [19] E. Çakmakçı, Y. Mülazim, M. V. Kahraman, N. K. Apohan, *React. Funct. Polym.* **2011**, 71, 36-41.
- [20] B. Boutevin, M. H. Snoussi, M. Taha, *Eur. Polym. J.* **1985**, 21 (5), 445-447.
- [21] M. Kim, C. Song, D. K. Han, K-D. Ahn, S. S. Hwang, D. J. Ahn, M-H. Kim, *React. Funct. Polym.* **2015**, 87, 53-60
- [22] B. Sergent, M. Birot, H. Deleuze, *React. Funct. Polym.* **2012**, 72, 962-966.
- [23] I. Martínez-Montero, S. Bruña, A. M. González-Vadillo, I. Cuadrado, *Macromolecules* **2014**, 47 (4), 1301-1315.
- [24] B. Boutevin, J. Mouanda, Y. Pietrasanta, M. Taha, *J. Polym. Sci. Part A : Polym. Chem.* **1986**, 24 (11), 2891-2902.
- [25] H. Mutlu, A. N. Parvulescu, P. C. A. Bruijninx, B. M. Weckhuysen, M. A. R. Meier, *Macromolecules* **2012**, 45 (4), 1866-1878.
- [26] G. Lu, D. Wu, R. Fu, *React. Funct. Polym.* **2007**, 67, 355-366.
- [27] S. Jiang, L. Wang, H. Yu, Y. Chen, *React. Funct. Polym.* **2005**, 62, 209-213.
- [28] H-I. Chang, M-S. Yang, M. Liang, *Ract. Funct. Polym.* **2010**, 70, 944-950.
- [29] K. Chanawanno, S. Chantrapromma, T. Anantapong, A. Kanjana-Opas, H. -K. Fun, *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, 45 (9), 4199-4208.
- [30] J-A. Park, S-B. Kim, *React. Funct. Polym.* **2015**, 93, 30-37.
- [31] E-R. Kenawy, F. I. Abdel-Hay, A. Abou El-Magd, Y. Mahmoud, *React. Funct. Polym.* **2006**, 66, 419-429.
- [32] Y. Lin, Q. Liu, L. Cheng, Y. Lei, A. Zhang, *React. Funct. Polym.* **2014**, 85, 36-44.
- [33] A. Zhang, Q. Liu, Y. Lei, S. Hong, Y. Lin, *Ract. Funct. Polym.* **2015**, 88, 39-46.

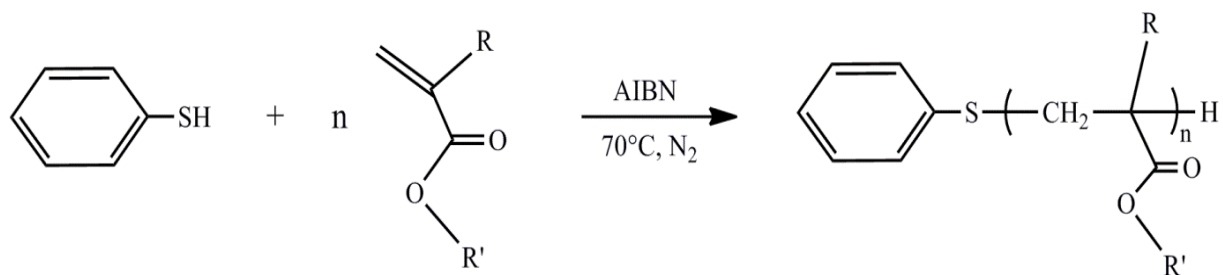
- [34] A. Wang, B. Chen, L. Fang, J. Yu, L. Wang, *Electrochimica Acta* **2013**, *108*, 698–706.
- [35] J. P. Vivek, I. J. Burgess, *J. Electroanal. Chem.* **2010**, *649* (1–2), 16–22.
- [36] H. E. –S. Ali, *Catal. Commun.* **2007**, *8* (6), 855–860.
- [37] M. Lissel, D. Feldman, M. Nir, M. Rabinovitz, M. *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30* (13), 1683–1686.
- [38] M. Awkal, A. Jonquière, G. Creffier, R. Clément, P. Lochon, *Macromolecules* **2004**, *37* (3), 684–687.
- [39] J. Wang, Z. Zhao, F. Gong, S. Li, S. Zhang, *Macromolecules* **2009**, *42* (22), 8711–8717.
- [40] G. B. Butler, Gainesville, Fla., assignor to Peninsular ChemResearch, Inc., Gainesville, Fla., a corporation of Florida, **1962**, Ser. No. 244,596. United States Patent Office, 3,288,770.
- [41] Y. X. Bai, Y. B. Liu, Y. F. Li, Q. Zhang, *Polym. Adv. Technol.* **2012**, *23* (3), 581–587.
- [42] K. Belkhir, H. Shen, J. Chen, C. Jegat, M. Taha, *Eur. Polym. J.* **2015**, *66*, 290–300.
- [43] C. –H. Chen, C. –C. M. Ma, *Compos. Part Appl. Sci. Manuf.* **1997**, *28* (1), 65–72.
- [44] L. Toman, M. Janata, J. Spěvák, B. Dvořánková, P. Látalová, P. Vlček, A. Sikora, J. Michálek, M. Pekárek, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2006**, *44* (9), 2891–2900.
- [45] S. Penczek, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2002**, *40* (11), 1665–1676.
- [46] H. Tamezawa, T. Kumagai, H. Aota, A. Matsumoto, T. Totsuka, H. Fujie, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2012**, *50* (13), 2732–2737.
- [47] K. Shibayama, *Prog. Org. Coat.* **1975**, *3*, 245–260.
- [48] T. Sasaki, T. Uchida, K. Sakurai, *J. Polym. Sci. Part B : Polym. Phys.* **2006**, *44*, 1958–1966.
- [49] H. Stutz, K. –H. Illers, J. Mertes, *J. Polym. Sci. Part B : Polym. Phys.* **1990**, *28*, 1483–1498.

III.6. SUPPLEMENTARY INFORMATION



*Linkages obtained using a diisocyanate compound: 4,4'-Methylenebis(cyclohexyl isocyanate), commonly noted H₁₂MDI.

S-1. Examples of structures of multi-thiol functionalized materials. (a): Schematic representation of multi-thiol functionalized polyester structures with 3 arms 3 functions (left)



R : H for acrylic or CH₃ for methacrylic monomers.

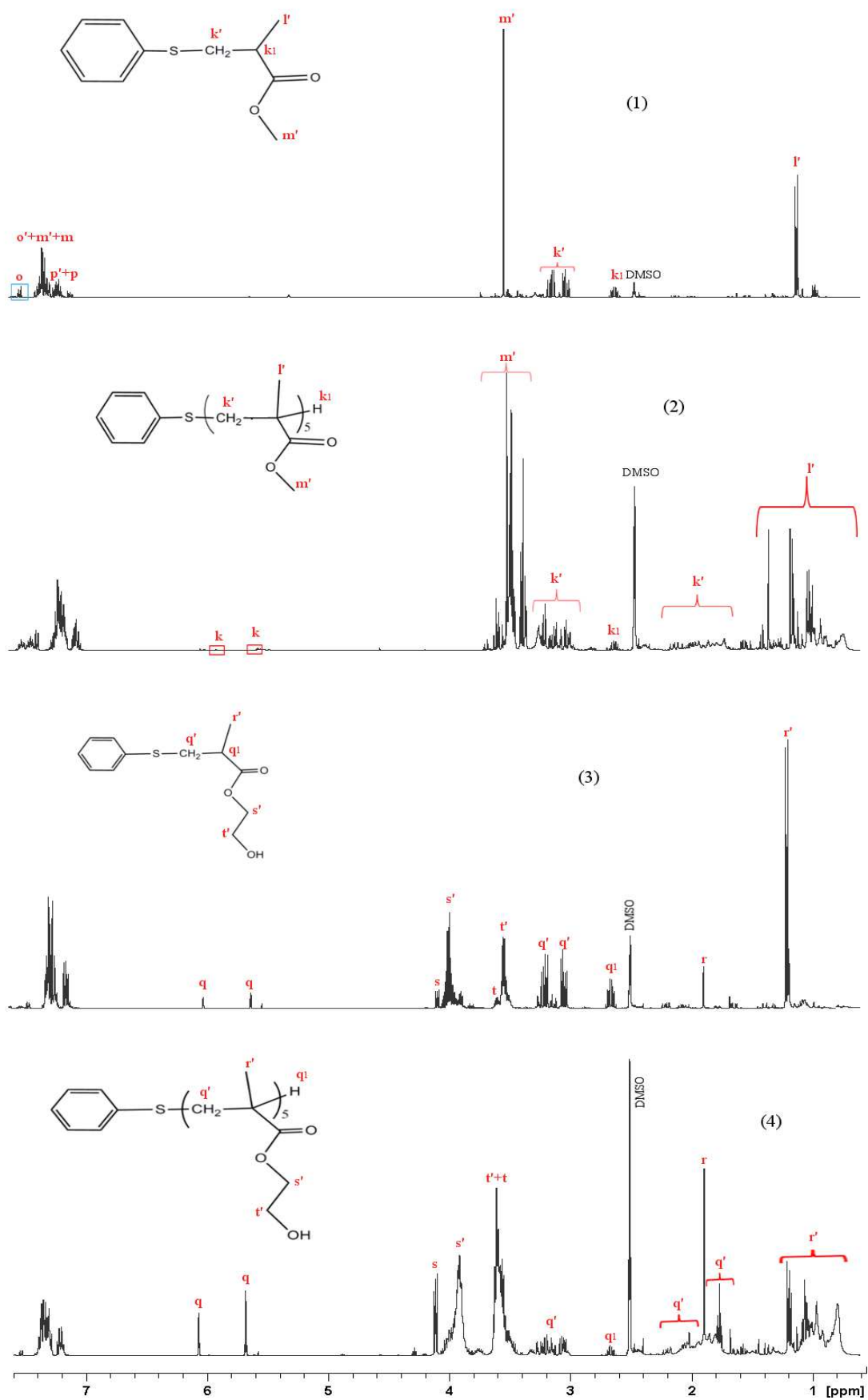
R' : -CH₃ in MMA.

-CH₂-CH₂-OH in HEMA.

-CH₂-CH₂-N(CH₃)₃⁺,Cl⁻ in ADCl and MADCl

and 7 arms 5 functions (right). (b): Detailed structure of the one with 3 arms 3 functions.

S-2. Thiol-ene model reactions.



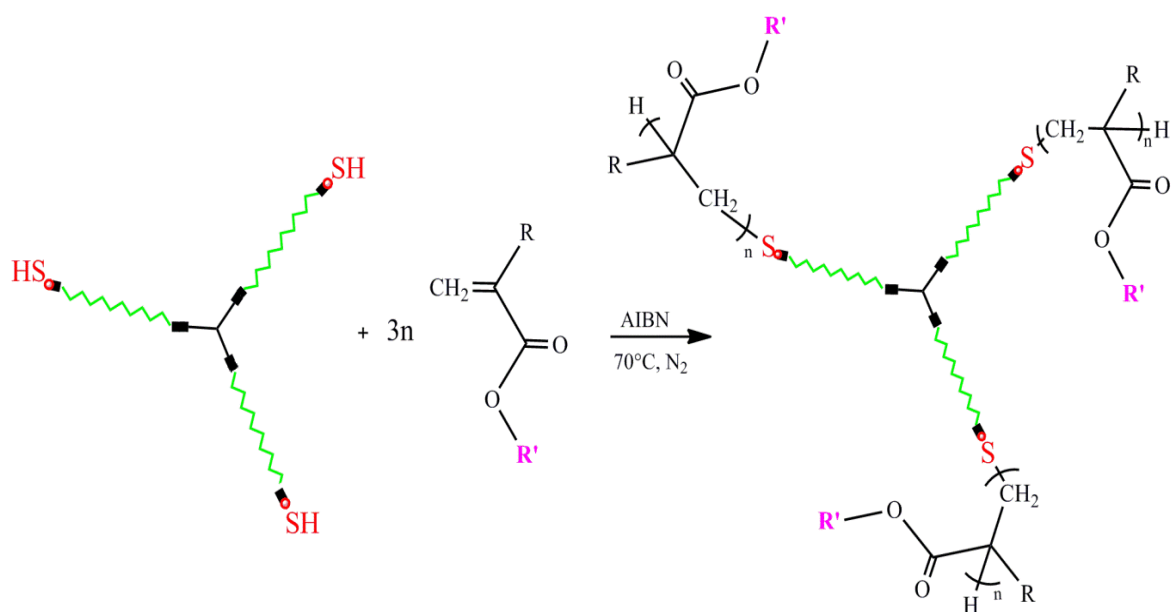
S-3. $^1\text{H-NMR}$ spectra of model reactions obtained oligomers, (1) SH:MMA=1:1, (2) SH:MMA=1:5, (3) SH:HEMA=1:1, (4) SH:HEMA=1:5. In DMSO, 400MHz, 300K.

DP_n determination

In the case of SH-MMA with $R_0 = 1$ (S-3. Spectrum (1)), the “p” peak corresponding to the para-located proton of reacted thiophenol is at 7.21 ppm. It was compared to the reacted MMA methylene protons peak (adjacent to the sulfur) at 3.13 ppm denoted “k”. The “p” proton peak was compared to the methyl protons peak of reacted MMA in the case of MMA with $R_0 = 2$ (S-3. spectrum (2)) which is located at 3.38-3.72 ppm. For HEMA (S-3 spectrum (3) and (4)), the “p” proton peak was compared to the methylene “s” one at 3.91 and 4.01 ppm (respectively when $R_0=1$ and 0.2).

Conversions calculation (S-3):

For SH-MMA oligomers, the “m” peak was used (it includes unreacted “m” proton peak). For SH-HEMA oligomers, the “s” (unreacted) and “s” (reacted) methylene protons peaks were exploited.



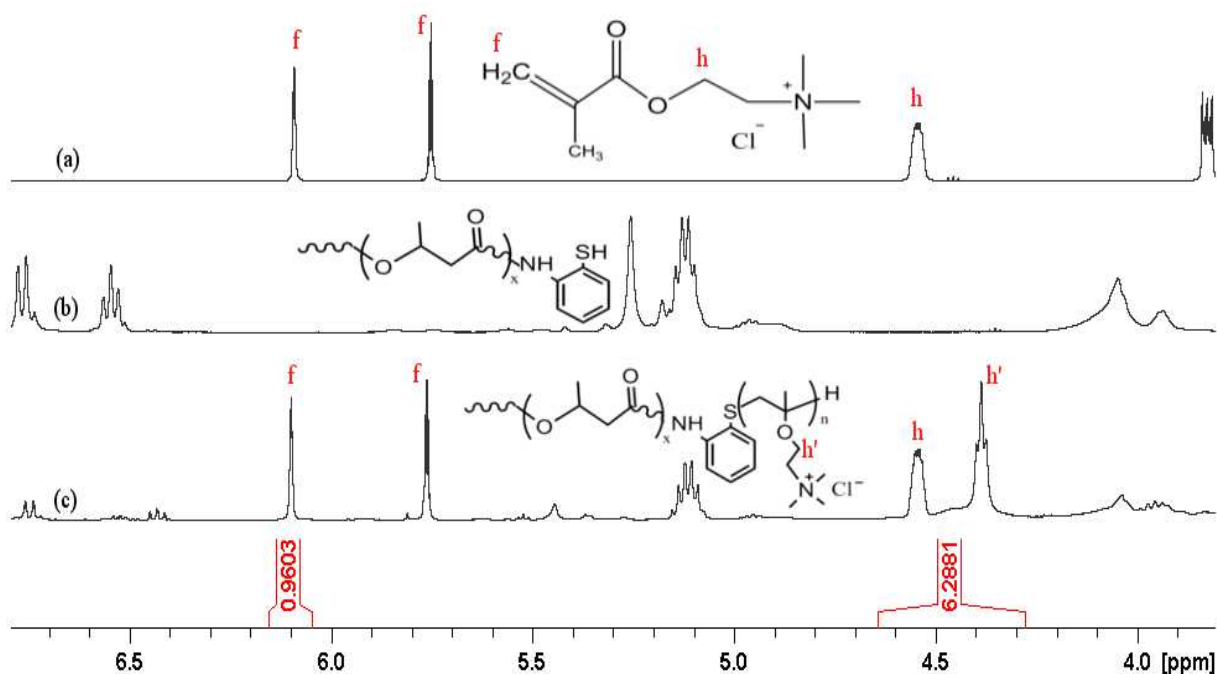
S-4. Thiol-ene radical addition on the multi-thiol functionalized polymers. R' includes the active quaternary ammonium group in the case of ADCI and MADCI.

Monomers conversion during grafting reactions on multi-thiol functionalized polymer

MADCl conversion

For MADCl conversion calculation (Figure 6), the double bond protons peaks “f” represent unreacted monomers. The one located at 6.10 ppm was used because the other (5.76 ppm) is often altered by other peaks. This residual peak was compared to the one corresponding to total -O-CH₂- group of the monomer (reacted “h” and unreacted “h”) in the range of 4.25-4.7 ppm. The calculation was done according to the following equation

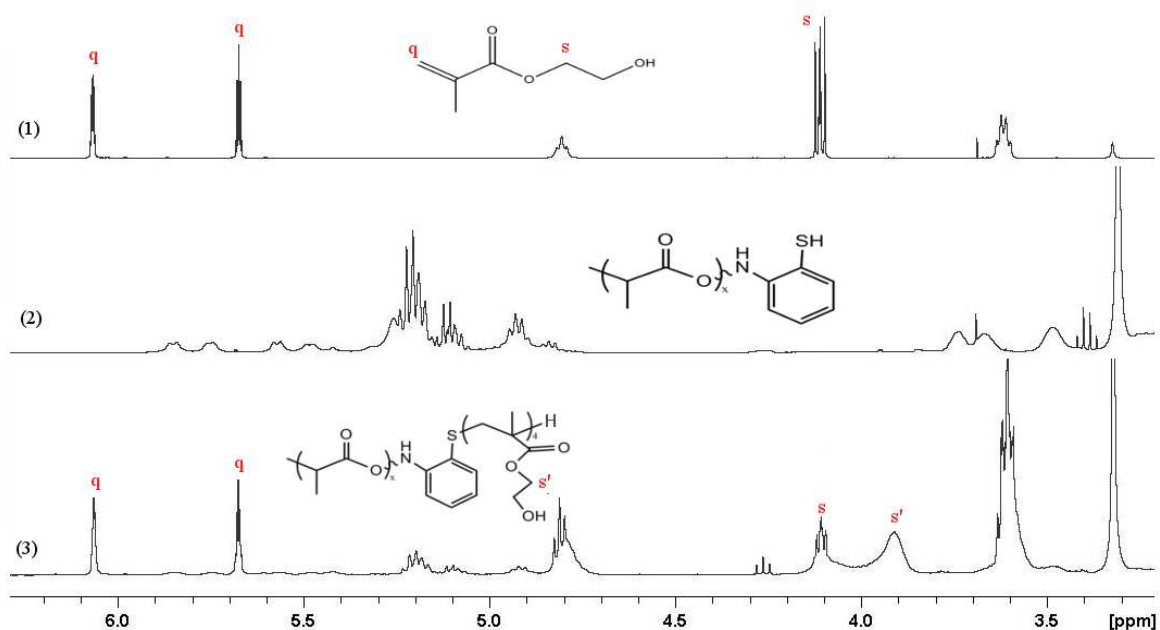
$$Conv_{MADCl} = \frac{h+h'-2f}{h+h'}$$



S-5. ¹H-NMR spectra of (a) the monomer MADCl, (b) the PHB-based polymer (seven arms, five functions) before thiol-ene addition and (c) after the addition of MADCl. From 3.8 to 6.8 ppm. In DMSO. 300K, 400MHz. Showing MADCl conversion calculation.

HEMA conversion

HEMA conversion (Figure 8) was determined by integrating the residual double bond protons peaks “q” situated at 6.07 and 5.67 ppm and comparing them to the total HEMA methylene protons peaks “s” and “s'” (reacted and unreacted) at 4.11 and 3.90 ppm respectively. The following equation shows the calculation



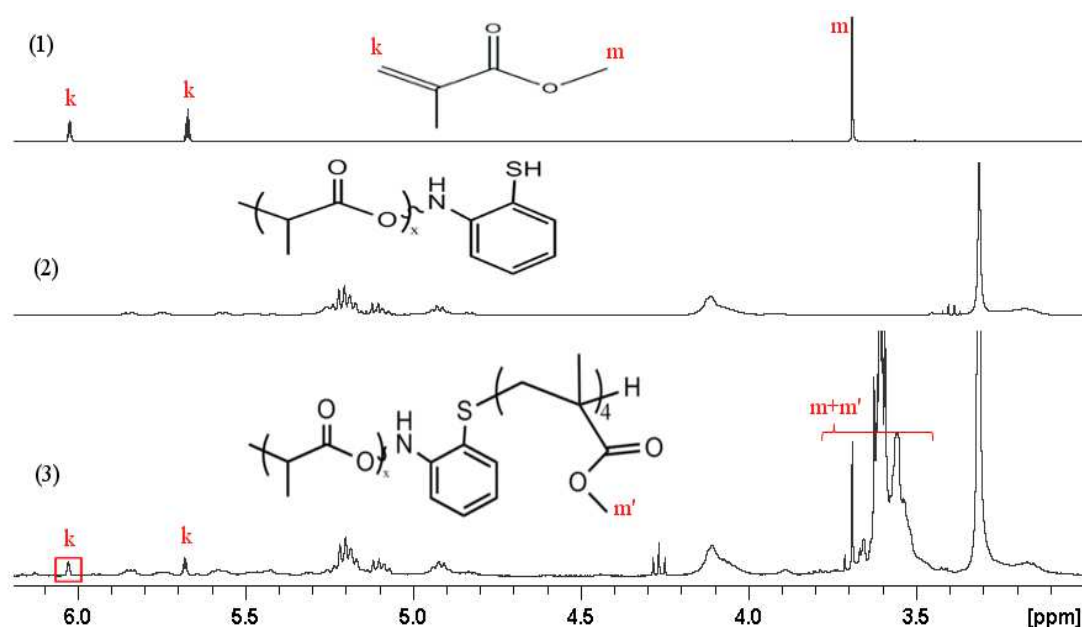
$$Conv_{HEMA} = \frac{s+s'-2q}{s+s'}$$

S-6. ¹H-NMR spectrum of (1) HEMA, (2) PLA-based polymer (one arm, three thiol functions) before thiol-ene addition and (3) after the addition of HEMA. From 3.8 to 6.6 ppm. In DMSO. 300K. 400 MHz. Showing HEMA conversion determinations.

MMA conversion

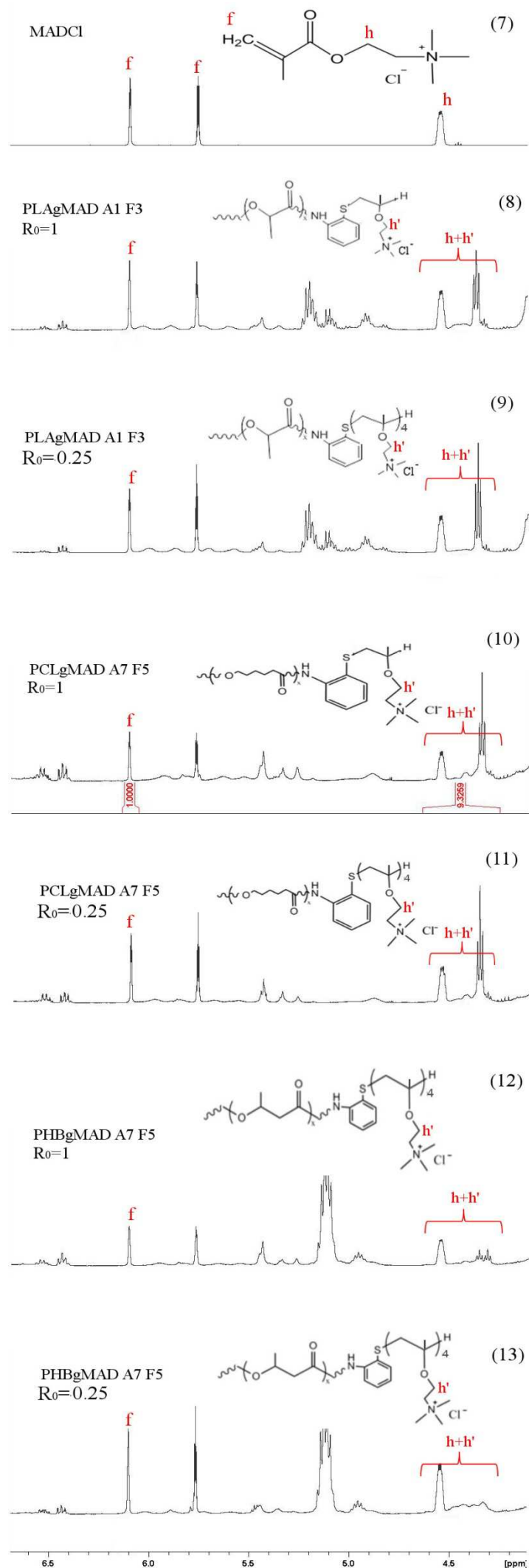
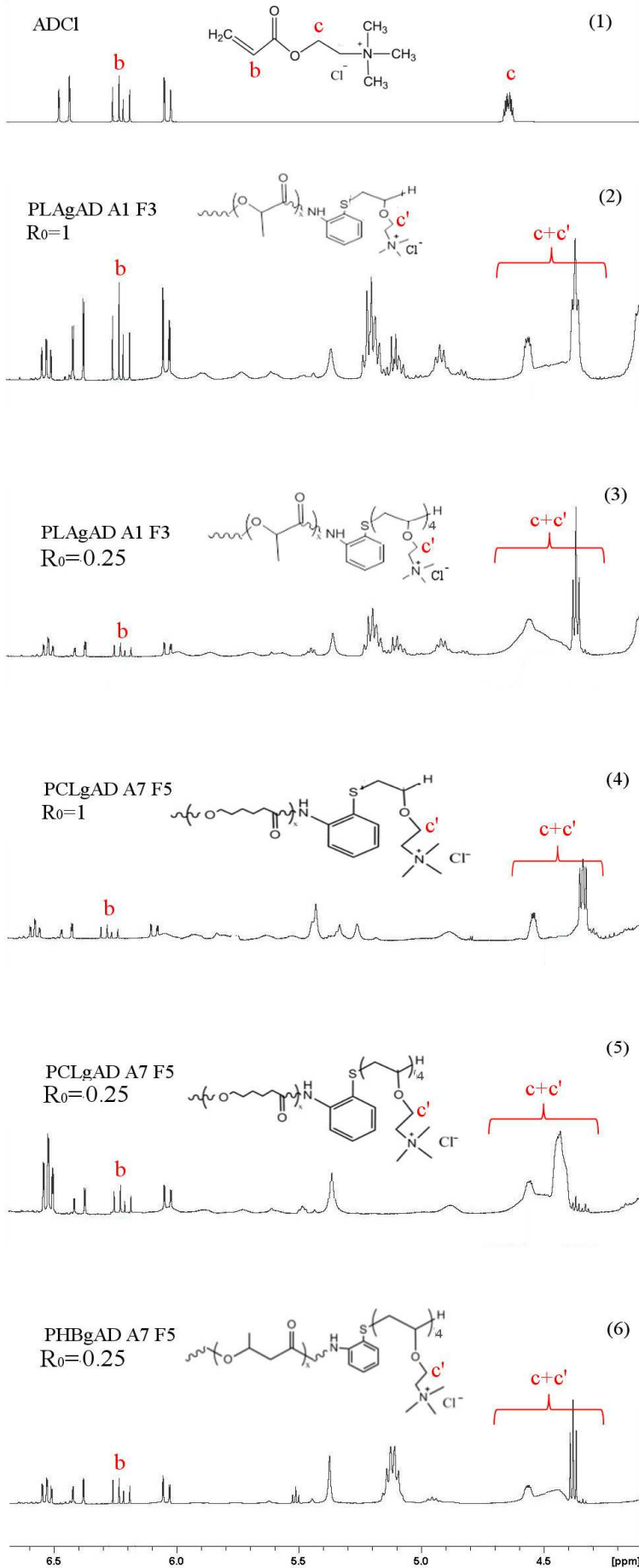
For MMA conversion determination, the residual double bond protons peaks “k” located at 6.02 and 5.67 ppm were compared to the total CH₃ protons peaks (unreacted “m” and reacted “m'”) situated between 3.4 and 3.7 ppm (equation 9). S-7 shows an example of this determination.

$$Conv_{HEMA} = \frac{m+m'-2k}{m+m'}$$



S-7. ¹H-NMR spectra of (1) MMA, (2) PLA-based polymer (one arm, three thiol functions) before thiol-ene addition and (3) after the addition of MMA. From 3,0 to 6,2 ppm. In DMSO. 300 K. 400 MHz. Showing MMA conversion determinations.

In the two cases of HEMA and MMA conversion determination, the residual double bond proton located at 5.67 ppm is distorted by peaks of polymer chain protons, so the other one (6.07 ppm for HEMA and 6.02 ppm for MMA) was used to determine the conversions.



S-8. ¹H NMR spectra of the grafted polymers in DMSO-d₆, showing the exploited peaks, from 4.1 to 6.7 ppm. 300K, 400MHz. DP_n=1 for spectra (2), (4), (8), (10) and (12), DP_n=4 for spectra (3), (5), (6), (9), (11) and (13).

Thermal properties

Structure	Product	Glass transition temperature T_g (°C)	Thermal degradation temperature T_d (°C)
A1 F3	PLA-SH	14.0	201
	PLAgAD	72.2	197
	PLAgMAD	59.7	188
	PCL-SH	-24.9	215
	PCLgAD	56.3	190
	PCLgMAD	58.2	185
	PHB-SH	8.3	198
	PHBgAD	96.6	196
	PHBgMAD	96.3	189
A3 F3	PLA-SH	17.3	189
	PLAgAD	49.5	186
	PLAgMAD	53.3	183
A7 F5	PCL-SH	-53.0	199
	PCLgAD	-49.2	197
	PCLgMAD	-24.6	191
	PHB-SH	0.8	225
	PHBgAD	82.1	195
	PHBgMAD	52.7	189

S-9. Glass transition and thermal degradation temperatures of the products before and after grafting active monomers.

SEC results

Samples	Expected number average molecular weight (g.mol ⁻¹)	SEC obtained number average molecular weight (g.mol ⁻¹)
PLAgAD A1 F3	4840	9000
PLAgMAD A1 F3	5000	12200
PLAgAD A3 F3	7355	10200
PLAgMAD A3 F3	7529	11300
PCLgAD A3 F3	10369	12000
PCLgMAD A3 F3	10489	12400
PHBgAD A1 F3	4800	14700
PHBgMAD A1 F3	4920	14000
PHBgAD A3 F3	7235	89000

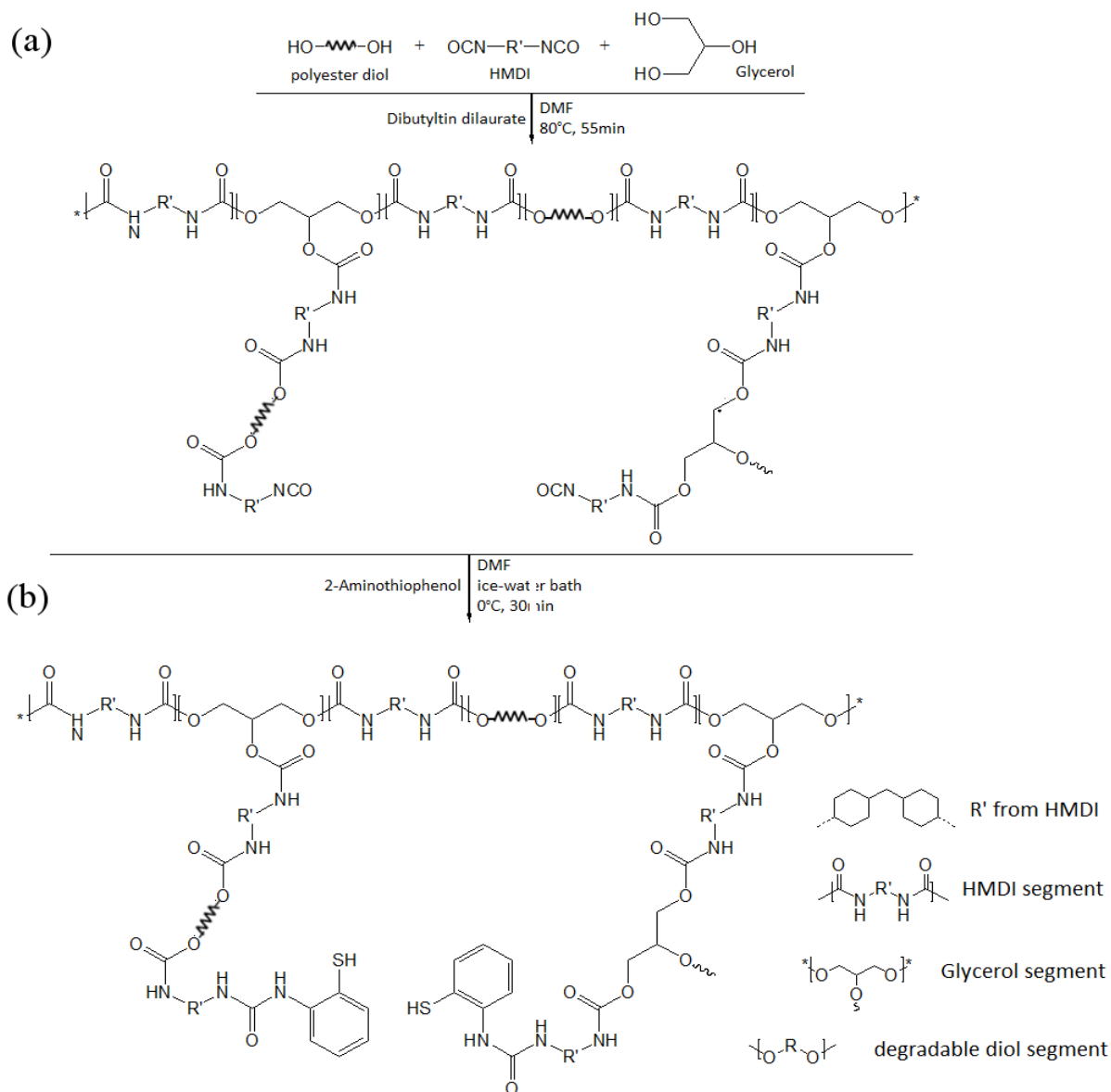
S-10. Expected and SEC obtained values of the average molecular weight of the grafted polymers.

Synthesis of the multi-thiol functionalized polymers

Branched multi-thiol functionalized polymers, with different numbers of arms and functionalities, were synthesized. The protocol of the synthesis consists of two steps: the first one is the synthesis of isocyanate terminated polymers with different branched structures; the second one is the thiol functionalization of the latter. The following figure shows the reaction mechanism.

In the first step (a), the telechelic polyester diol (PLA, PCL or PHB), the glycerol and the diisocyanate (4,4'-Methylenebis(cyclohexyl isocyanate) or H₁₂MDI) were dissolved in dimethylformamide (DMF) into a round flask until homogenization at 80°C under nitrogen atmosphere, then the catalyst (dibutyltin dilaurate) was added. The mixture was kept reacting during 55 minutes. At the end of this step, a viscous mixture was obtained, it contains branched structures with isocyanate pendent groups. The number of arms and isocyanate functions in these structures was controlled by the ratios between different reactants; these values are specified in the following table.

In the second step (b), the obtained mixture from the first step is diluted by adding DMF and the flask was putted in ice/water bath at 0°C, then 2-aminothiophenol was added and the mixture was magnetically stirred during 30 minutes, the polymer was precipitated in large amount of diethyl ether at least three times before being dried under vacuum. At the end of this step, multi-thiol functionalized polymers were obtained with different numbers of arms and functionalities.



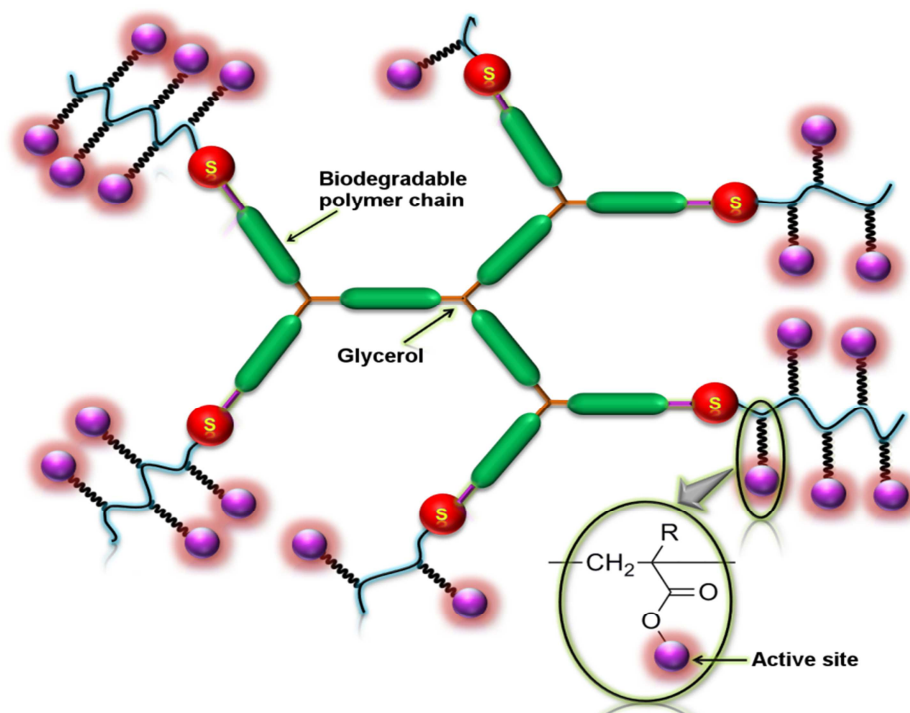
S-11. The two steps of the synthesis of the multi-thiol functionalized polymers. (a): synthesis of the isocyanate terminated structures. (b): thiol functionalization of the isocyanate terminated polymers [42].

S-12. Synthesis characteristics of multi-thiol functionalized polyesters based on PCL, PLA and PHB arms. [42]

Entry N°	Expected thiol functionality	Degradable arms number in the expected structure	Mole ratios of the reagents H ₁₂ MDI/glycerol/degradable arms/2-aminothiophenol
PCL systems (based on 1000 g.mol ⁻¹ segments)			
1	3	3	6.6/1/3/3
2	5	7	17.6/3/7/5
3	7	11	28.7/5/11/7
PCL system based on 2000 g.mol ⁻¹ segment			
4	3	3	6.6/1/3/3
PLA systems (based on 870 g.mol ⁻¹ segments)			
5	3	3	6.6/1/3/3
6	5	7	17.6/3/7/5
7	7	11	28.7/5/11/7
PHB systems (based on 980 g.mol ⁻¹ segments)			
8	3	3	6.6/1/3/3
9	5	7	17.6/3/7/5
10	7	11	28.7/5/11/7

III.7. ABSTRACT

Thiol-ene additions of different monomers from multi-thiol functionalized biodegradable polymers are analyzed. These monomers include quaternary ammonium groups, known for their biological activities; methyl methacrylate (MMA) and hydroxyethyl methacrylate (HEMA) to control the hydrophilic-hydrophobic balance in the issued copolymers. Monomer conversion and the resulting polymer structures are confirmed principally by $^1\text{H-NMR}$. Model reactions are first conducted with thiophenol, then PLA, PCL and PHB multi-thiol functionalized polymers are successfully used. The structures of the obtained products are analyzed by $^1\text{H-NMR}$: all the reactions are kinetically controlled and monomers additions are controllable. Chain transfer constants of the used monomers to the multi-thiol functionalized PLA are between 1.4 and 1.9. The obtained products were also characterized by SEC, DSC and TGA analyses.



Keywords

Thiol-ene reactions, active monomers, functional polymers, acrylate and methacrylate addition, chain transfer constant.

Chapitre IV

ÉLABORATION ET CARACTERISATION DE MELANGES DE POLYMERES DOTES DE GROUPEMENTS AMMONIUMS QUATERNAIRES AVEC DES MATRICES BIODEGRADABLES EN PHASE FONDUE

Avant de tester l'efficacité des polymères obtenus dans les précédents chapitres vis-à-vis des applications biologiques, il convient d'étudier leur mise en œuvre en phase fondue et la possibilité de leur mélange avec d'autres matériaux.

Dans ce chapitre, les polymères à base de segments de PLA et de PCL, dans des structures branchées en étoile avec trois branches, dotés de groupements ammoniums quaternaires (Quaternary ammonium functionalized polymers QAFPs), ont été mélangés par un procédé d'extrusion avec des matrices de polymères commerciaux de PLA et de PCL.

Différentes formulations ont été préparées à 160 °C (de 10 à 60 % en masse de QAFP), ces mélanges ont fait l'objet de caractérisations par DSC, ATG et MEB qui ont montré qu'il s'agit de mélanges biphasiques avec des morphologies type « gouttelettes dans une matrice », les tailles des gouttelettes ainsi que leur distribution dépendent de la nature des QAFPs et de celle des matrices, mais aussi du pourcentage massique du QAFP dans le mélange.

Les propriétés rhéologiques des mélanges obtenus ainsi que de leurs composants ont été étudiées, il a été démontré que le comportement rhéologique des mélanges est gouverné par des interactions interfaciales entre les deux phases qui les constituent et pas par la résultante des propriétés de ces dernières.

La biodégradabilité des QAFPs ainsi que de leurs mélanges a été étudiée en milieu aérobie selon la norme ISO 14851 qui a montré que l'incorporation des groupements ammoniums quaternaires dans les polymères ralentit leur cinétique de biodégradation, mais ces derniers restent toujours biodégradables.

Les mélanges obtenus ont été mis en forme de films, les mesures d'angle de contact avec l'eau de ces derniers a montré que l'incorporation des groupements ammoniums quaternaires dans les QAFPs leur confère un caractère hydrophile et que plus la teneur en QAFPs dans les

mélanges est élevée, plus le caractère hydrophile est accentué, ce qui est un avantage pour les potentielles applications en microbiologie qui feront l'objet du chapitre suivant.

Ce chapitre est présenté sous forme d'article scientifique soumis dans *Journal of Applied Polymer Science*.

IV. Quaternary Ammonium-Functionalized Polymers in Biodegradable Matrices: Physico-Chemical Properties, Morphology and Biodegradability

Kedafi Belkhir, Corinne Jegat, Frédéric Prochazka, Mohamed Taha *

Université de Lyon, F-42023 Saint Etienne, France

CNRS, UMR5223, Ingénierie des Matériaux Polymères, F-42023 Saint-Etienne, France.

Université Jean Monnet de Saint Etienne, F-42023 Saint-Etienne, France.

*Correspondance to : M. Taha. E-mail : Mohamed.taha@univ-st-etienne.fr ,
Tel :+33(0)477481557.

Abstract

Quaternary ammonium-functionalized polymers (QAFPs) based on branched structures of PLA and PCL were blended with neat matrices of PLA and PCL to improve their processability in the melt phase at 160°C. Different formulations were prepared by varying the proportions of the components of the blends (0, 10, 20, 50 and 60wt.% of QAFP). The rheological behavior of each component and their blends was studied at 160°C and dynamic mechanical analyses were carried out. The thermal properties of the matrices were also investigated by thermogravimetric analyses and differential scanning calorimetry; they were found to be affected by the presence of QAFP within them. All the studied blends had a dispersed morphology, highlighted by scanning electron microscopy. The water contact angle of the blends was studied and showed that the hydrophilicity of the surfaces of the blends increased by increasing their QAFP content. The biodegradability of both the components and the blends was investigated: a decrease of the biodegradation kinetics was observed due to the presence of the quaternary ammonium groups, but the materials remain biodegradable.

Keywords: Antibacterial quaternary ammonium polymers, Polymer blends, Polylactic acid, Polycaprolactone, Melt phase.

INTRODUCTION

In addition to performing passive functions as packaging or mechanical support, polymers ensure an active function which can be protective such as an antibacterial action; thereby many methods have been developed to incorporate this interesting property within these materials to make them more useful and to cover broader fields of applications, such as active packaging in which there is no need to add antibacterial agents into the product since the packaging itself is antibacterial [1-5]. Among the used methods, those which are carried out in the melt phase have attracted more interest due to the advantages of the melt processing such as the ease to upscale it to an industrial use as well as its general safety [6-8].

Nowadays, the most used technique consists in the dispersion of antibacterial agents within the polymer matrix by melt blending; these agents can be metals, such as silver or copper, metal salts or small organic molecules [9-13]. This method offers some advantages but it has several downsides such as the low viscosity of the used agents and their low rheological properties which makes them difficult to process and may degrade the properties of the matrices in which they are introduced. They can also be subjected to thermal degradation during the processing at high temperatures or volatilize. Furthermore, these small molecules are susceptible to bacterial resistance and are able to diffuse through the polymer matrix to be released to the surrounding medium causing an environmental contamination [14-16]. Another technique consists in the chemical modification (or functionalization) of polymeric matrices in the melt phase. This method allows to achieve simultaneously the processing and the functionalization of the polymer but it suffers from disadvantages such as the difficulty to carry out and to control chemical reactions in the conditions of the melt process (time, temperature, pressure, viscosity, efficiency of mixing, by-products generation and side reaction, etc.). This method can also dramatically alter the properties of the modified polymeric matrix [17-20].

For all these reasons, an ideal solution to incorporate antibacterial activity into a polymeric matrix is to blend it with another polymer which is antibacterial. This solution presents the advantages of the melt blending of two polymers (high viscosities and good final properties) with neither the drawbacks that were seen in the cases of dispersion of small molecules nor those of chemical modifications: the chemical modifications to make antibacterial polymers can be done separately from the process.

In this work, quaternary ammonium-functionalized polymers (QAFPs) with branched macromolecular structures and a well-defined design bearing quaternary ammonium end groups were used. These polymers were based on PLA and PCL biodegradable chains and were intended to be antibacterial. Despite their unique structural properties, these polymers were found to be of low processing properties when they were used individually in the melt phase and to give weak materials. This is due to supramolecular interactions between the quaternary ammonium groups [21]. It is why in this work the QAFPs were blended with neat matrices of PLA and PCL that are known for their good processing properties as well as for being biodegradable materials [22-25]. The goals behind this are also to obtain a material with antibacterial reservoirs while taking advantage of the immiscible polymer-polymer blends method. An enhancement of the wettability of the used matrices was also suitable in order to promote their interactions with bacteria [26] and to improve their biodegradability which is investigated in environmental conditions.

2. EXPERIMENTAL

2.1. Materials

Poly(lactic acid) PLA 2002D (PLA) from NatureWorks[®] LLC USA and Polycaprolactone CAPA[™] 6800 (PCL) from Perstorp Sweden were used as matrices after drying under vacuum at 40°C during 12 hours.

Quaternary ammonium-functionalized polymers (QAFPs) are based on branched structures of PLA or PCL segments on which [2-(Acryloyloxy)ethyl]trimethylammonium chloride (AD) was grafted. They are respectively noted PLAgAD and PCLgAD. The protocol of the synthesis of these products as well as their characterization are detailed in previous works [27-29].

2.2. Instruments

Thermal Analyses

Thermal gravimetric analyses were carried out using a TGA/DSC 1 STAR[°] System from Mettler-Toledo USA at a heating rate of 10°C min⁻¹ from 25 to 600°C . All the samples were

previously dried at 40°C under vacuum during 24 hours then 10-20 mg were introduced in a 100 μ L aluminum crucible to undergo the temperature sweep.

TA-Q10 calorimeter from TA Instruments-Waters L.L.C. USA was used to perform differential scanning calorimetric (DSC) analyses. Two heating-cooling cycles were carried out at heating/cooling rates of 10°C/min under a nitrogen atmosphere, with a platinum pan filled with about 30 mg of sample. All samples were previously dried at 40°C under vacuum during 24 hours before DSC analyses.

Table 2 lists, for each material, the values of the thermal degradation temperature corresponding to the loss of 5wt.% of the product ($T_{d,5\%}$), the glass transition temperature (T_g) and the melting temperature (T_m). The T_g and T_m values of QAFPs are relatively similar to matricial polymers but their thermal stability is significantly lower. The blending temperature was 160°C, higher than the melting temperatures of all the components and far from their degradation temperatures.

Table 2. Thermal properties of QAFPs and of the two polymer matrices.

Products	T_g (°C)	T_m (°C)	$T_{d,5\%}$ (°C)
PLA	56.2	153.3	326.2
PCL	-63.5	55.9	379.2
PLAgAD	49.5	154.9	217.7
PCLgAD	-53.0	46.3	257.8

Micro-compounder

A micro-compounder HAAKETM MiniLab II from Thermo SCIENTIFIC France, equipped with two conical screws (5/14 mm diameter), a pneumatic bypass and a recirculation channel, was used in co-rotating mode and operated at 50 rpm, monitored by MiniLab software. 7g of QAFPs and PLA or PCL were first cryo-ground and premixed then introduced in the micro-compounder at 160°C. The composition of all blends is listed in Table 2. Torque and heating energy were monitored during the extrusion process (Supporting Information S1). After about

10 min the torque became stable; the blends were left for about 5 minutes then extruded in the shape of a flat rod of about 1.5 mm thick and 5 mm wide and cooled at room temperature. Figure 1 shows the appearance of the QAFPs before and after processing.

Table 2. Compositions of the (QAFPs/PLA or PCL) prepared blends

Run n°	Composition (wt.%)			
	Matrix polymer		QAFPs	
	PLA	PCL	PLAgAD	PCLgAD
1	100	0	0	0
2	90	0	10	0
3	80	0	20	0
4	50	0	50	0
5	40	0	60	0
6	90	0	0	10
7	80	0	0	20
8	50	0	0	50
9	40	0	0	60
10	0	100	0	0
11	0	90	10	0
12	0	80	20	0
13	0	50	50	0
14	0	40	60	0
15	0	90	0	10
16	0	80	0	20
17	0	50	0	50
18	0	40	0	60
19	0	0	100	0
20	0	0	0	100

Dynamic mechanical analyses

The dynamic mechanical analyses (DMA) were carried out using a Q800 DMA apparatus from TA Instruments USA. The samples were in the form of rectangular rods of 17 mm in length, 5 mm in width and about 1.5 mm in thickness. The samples were fixed in the apparatus in single cantilever mode. Temperature sweeps were achieved ranging from -100 to 100°C. Strain tests were done before to ensure the linear viscoelastic conditions.

Molten-state rheology

A Rheometric Scientific ARES G₂ rheometer from TA Instruments USA was used to perform rheological measurements. Plane-plane geometry was achieved by means of two parallel round stainless steel plates (25 mm diameter). The gap was fixed near to 0.6 mm. For each sample, a strain sweep test was first performed to ensure that measurements were carried out within the linear viscoelastic conditions.

Scanning Electron Microscopy

A HIROX SH 4000 M scanning electron microscope was used to observe the surface morphology of the materials. The samples were fractured in liquid nitrogen and the surfaces were covered by a gold layer, before analyses, using a DESK V metallizer from DENTON VACUUM LLC, USA. The obtained pictures were then treated using the ImageJ software to determine the size and the distribution of the dispersed phase.

Contact angle measurements

Water contact angle measurements were carried out on films of QAFPs/PLA or PCL blends with a T100 Theta Lite Optical Tensiometer from Dyne Testing UK. Static measurements on a water droplet of about 13 μ L dispensed by a micro-syringe were carried out at room temperature. The films were dried at 40°C during 24 hours before measurements.

Aerobic biodegradability

The ultimate aerobic biodegradability of the grafted polymers, the PCL and PLA matrices and the prepared blends was measured according to the ISO 14851 standard and following the

procedure from the literature [30,31] under aerobic conditions in closed reactors equipped with pressure sensors from Oxitop® Control WTW GmbH,(Weilheim, Germany). 10 mg of each sample were introduced in the reactor containing an aqueous media prepared according to the ISO 14851 standard method and inoculated with an active sludge which was recovered from the output of a municipal wastewater treatment station (Monistrol, France). The samples were magnetically stirred at 23°C during 28 days. A blank test containing the sludge without polymer sample was also prepared in the same conditions. During the biodegradation process, the O₂ is consumed by microorganisms; the produced CO₂ is trapped by NaOH pellets placed in the top of the bottles causing a decrease of the pressure. The estimation of this decrease leads to determine the Biological Oxygen Demand (BOD) expressed in mg.L⁻¹. The percentage of biodegradation (%Biodeg) of the samples was then calculated according to Equation 1.

$$\%Biodeg = \frac{BOD_s - BOD_{blank}}{C \times D_{thO_s}} \quad \text{Equation 1}$$

Where BOD_s is the BOD of the polymer sample, BOD_{blank} is the BOD of the blank test, C (g.L⁻¹) is the concentration of the polymer in the aqueous medium and D_{thO_s} (mg.g⁻¹) is the theoretical BOD of the polymer determined from its chemical formula.

RESULTS AND DISCUSSION

Four categories of blends were prepared by melt extrusion: PLA+PLAgAD, PLA+PCLgAD, PCL+PLAgAD and PCL+PCLgAD, with QAFP content: 10, 20, 50 and 60 wt.%.

Blends were prepared and examples of extrudates are given in Figure 1.

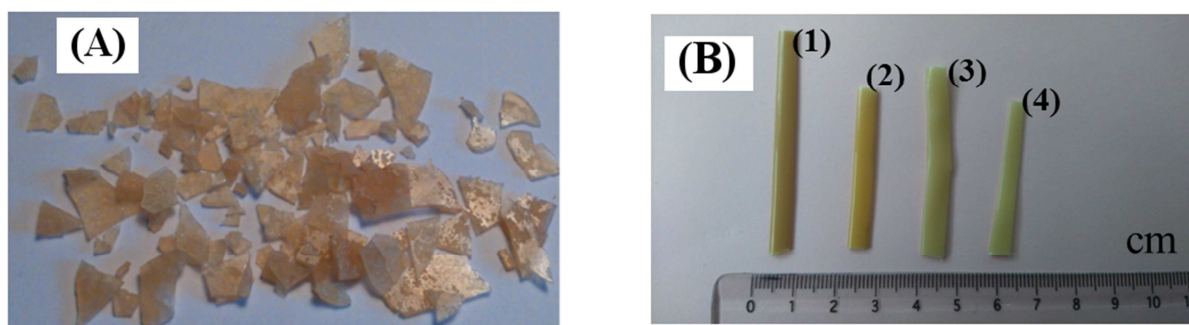


Figure 1. (A):PLAgAD before processing and (B): Examples of extrudates with 20 wt.% of QAFPs (1): PLA+PLAgAD, (2): PLA+PCLgAD, (3): PCL+PLAgAD and (4): PCL+PCLgAD.

One goal of this study being achieved by obtaining easily processable materials, these materials were characterized. First interactions between the mixed phases were analyzed

Thermal analyses

Thermal properties were investigated on the four series of blends; PLA+PLAgAD (Figure 2.A), PLA+PCLgAD (Figure 2.B), PCL+PLAgAD (Figure 2.C) and PCL+PCLgAD (Figure 2.D). In each series, the QAFP amounts were equal to 10, 20, 50 and 60wt.%. The effects of QAFPs (nature and proportion) on the T_g and T_m of the polymer matrix were studied. From Figures 1.A and 1.B, it can be seen that the addition of both PLAGAD and PCLgAD in the PLA matrix tends to decrease its T_g as well as its T_m . This effect is more pronounced in the case of an addition of PLAGAD where the T_g and the T_m decreased by 6

and 10°C respectively at the higher content (60wt.%). Furthermore, Figure 1.A shows a crystallization peak at about 100°C. In the case of the blends with the PCL matrix (Figures 1.C and 2.D), the addition of PLAGAD or PCLgAD does not cause great changes in the T_g or the T_m of the matrix; only slight shifts were observed (less than 3°C). The peaks corresponding to PLAGAD and PCLgAD do not appear clearly on the DSC curves and this result was expected from the values of Table 2 which shows that T_g and T_m of PLAGAD are close to those of the PLA matrix. Simultaneously, those of PCLgAD are close to those of PCL matrix. If we add to this the fact that the T_m of PCLgAD is close to the T_g of PLA, then only the blend of PCLgAD with PLA matrix (Figure 2.B) clearly shows two values of the T_g corresponding to the two components and leading to suppose that the blends are made of two immiscible phases but with some interactions between each other since some shifts were observed. This will be discussed in the following sections.

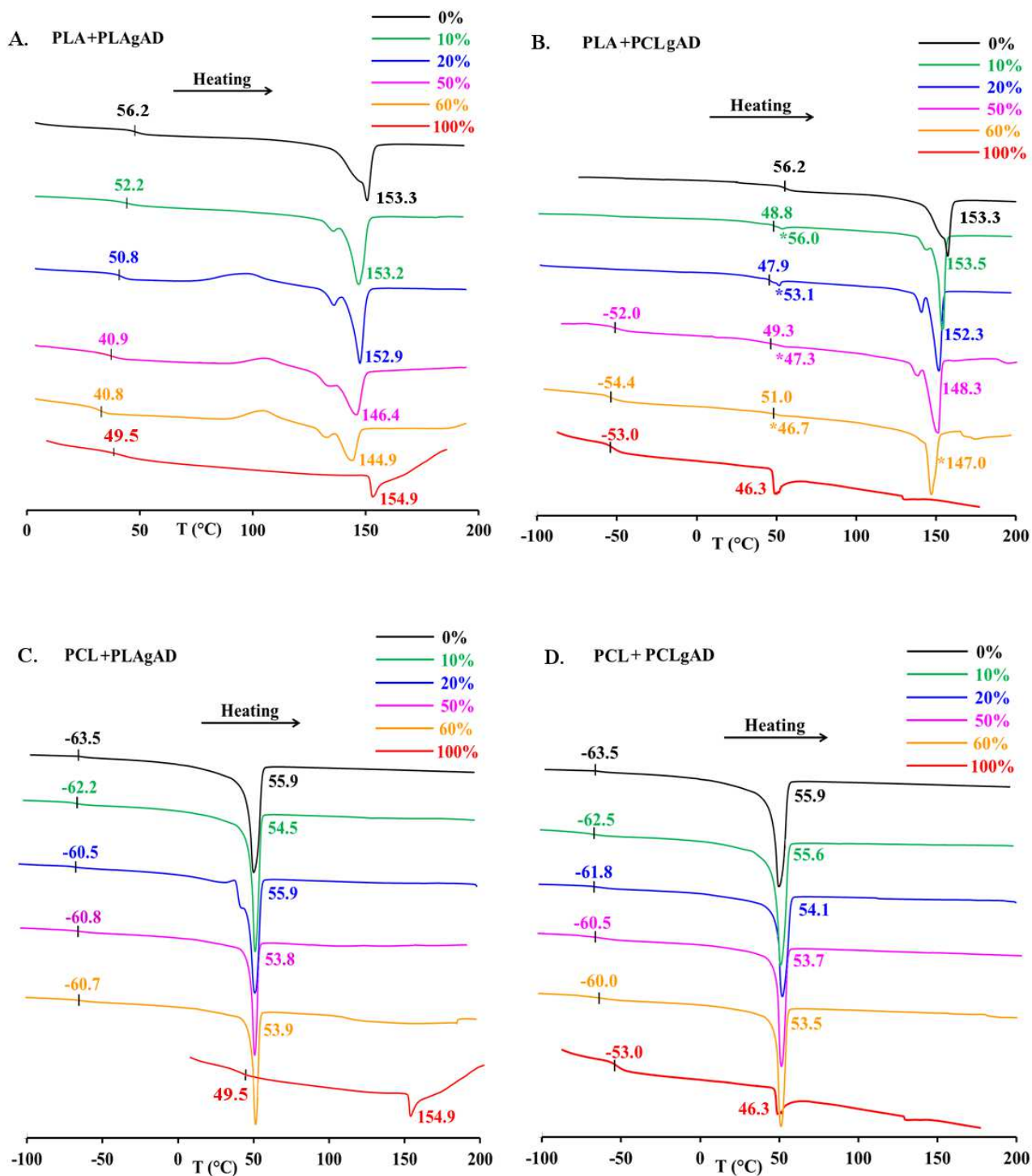


Figure 2. DSC curves of the four series of blends, (A): PLA+PLAgAD, (B): PLA+PCLgAD, (C): PCL+PLAgAD and (D): PCL+PCLgAD with QAFPs content of 0, 10, 20, 50, 60 and 100%, collected from the second heating ramp with a $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ heating rate. (*): the peak was not clearly identifiable from the second heating ramp but it was clear from the first one.

Dynamic mechanical analyses

Results of the dynamic mechanical analyses shown on Figure 3 highlights the $\tan \delta$ transitions of the blends with PLA matrix (A) and two blends with the PCL one (B). Figure 3.A shows that the addition of PLAGAD to the matrix of PLA causes a small shifting in its $\tan \delta$ peak to low temperatures (from 61.5 to 58.2 °C). The curve does not exhibit two distinguishable peaks because PLAGAD and the PLA matrix have thermal characteristics that are close to each other. The same figure shows that in the case of the addition of PCLgAD, two peaks of $\tan \delta$ were observed. The first one is of great amplitude and appears at about 61°C : it corresponds to the PLA matrix. The second one is of very small amplitude and appears at about -50°C corresponding to the PCLgAD. On the other hand, Figure 3.B shows that the addition of PLAGAD or PCLgAD causes a slight shift (about 5°C) in the $\tan \delta$ of the PCL matrix toward the high temperatures, and that only the blend of PLAGAD with this matrix shows two separate peaks, because the properties of PCLgAD are close to those of the PCL matrix. This result is in accordance with the thermal analyses and confirms the presence of two separate phases within the blends with specific interactions between them.

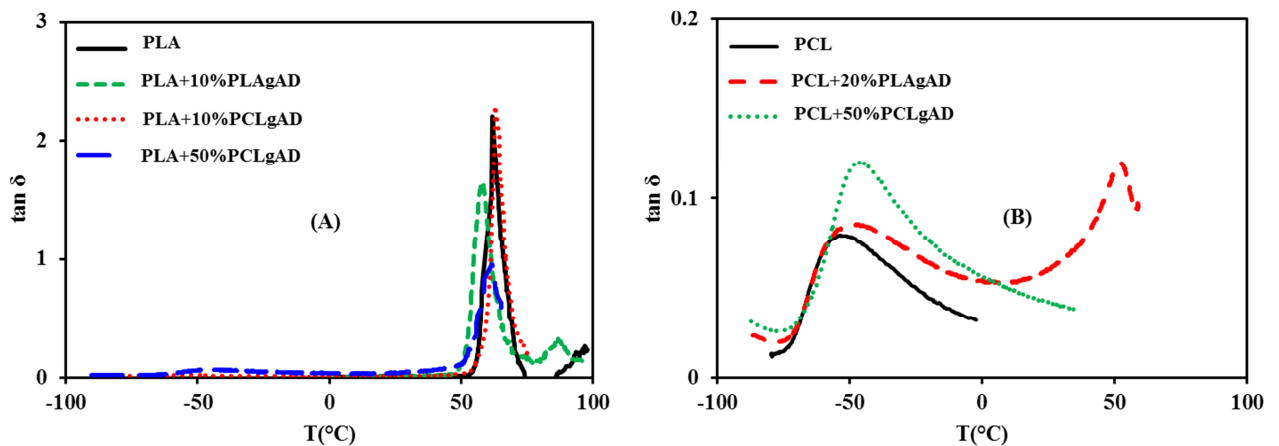


Figure 3. $\tan \delta$ as function of temperature. (A) for the blends with PLA matrix and (B) those of PCL matrix, with 10, 20 and 50wt.% QAFPs content.

Rheology

To further discuss the previous conclusion, rheological behavior in the molten state was studied. Figures 4 shows the complex viscosity η^* (a,b) and the storage modulus G' (c,d) measurements according to frequency. Two examples of blends are presented in this figure (PLA+PCLgAD and PCL+PLAgAD); the results corresponding to the other blends are in Supporting Information S2 and S3.

In contrast to the viscosities of the PLA and PCL matrices which behave like quasi-Newtonian liquids, the viscosities of the two QFAPs decrease with frequency; from 10^3 to 10^2 Pa.s for PLAGAD and more strongly, from 10^4 to 10^1 Pa.s, for PCLgAD which has a rheofluidifying character. In the used mixing conditions, a rotation speed of 50 rpm corresponds to a shear rate of 25 s^{-1} according to the relation between shear rate and mixer rotor speed [32]. Under this shear rate, the viscosities of QAFPs are in all cases inferior to those of PLA and PCL matrices. As the quantity of QFAPs increases, the viscosity of the mixtures decreases and tends towards that of the pure QAFPs, this is a result of a classical law of composition.

The storage moduli of the QAFPs increase well less than those of PLA and PCL matrices with increasing the frequency, the storage modulus of PCLgAD is although almost constant (Figures 4.(c) and Supporting Information S2). The addition of QAFPs lowers the storage moduli of the matrices without significant change in their elastic behavior under increasing shear, except for the PCL+PLAgAD blend with 60% of PLAGAD. Most of these results follow a classical law of mixing except at lowest frequencies where a further relaxation characteristic of the polymer-polymer emulsions takes place [33]. When the storage modulus values of the blend are lower than those of its components, this is explained in literature that in a polymer blend with separated phases, the storage modulus is also governed by the interfacial effects between the two phases, thus the final behavior of the blend can be mainly the result of the interfacial effects and not as the result of the contribution of each component [34]. This result is widely discussed in literature including some theoretical studies [35-37].

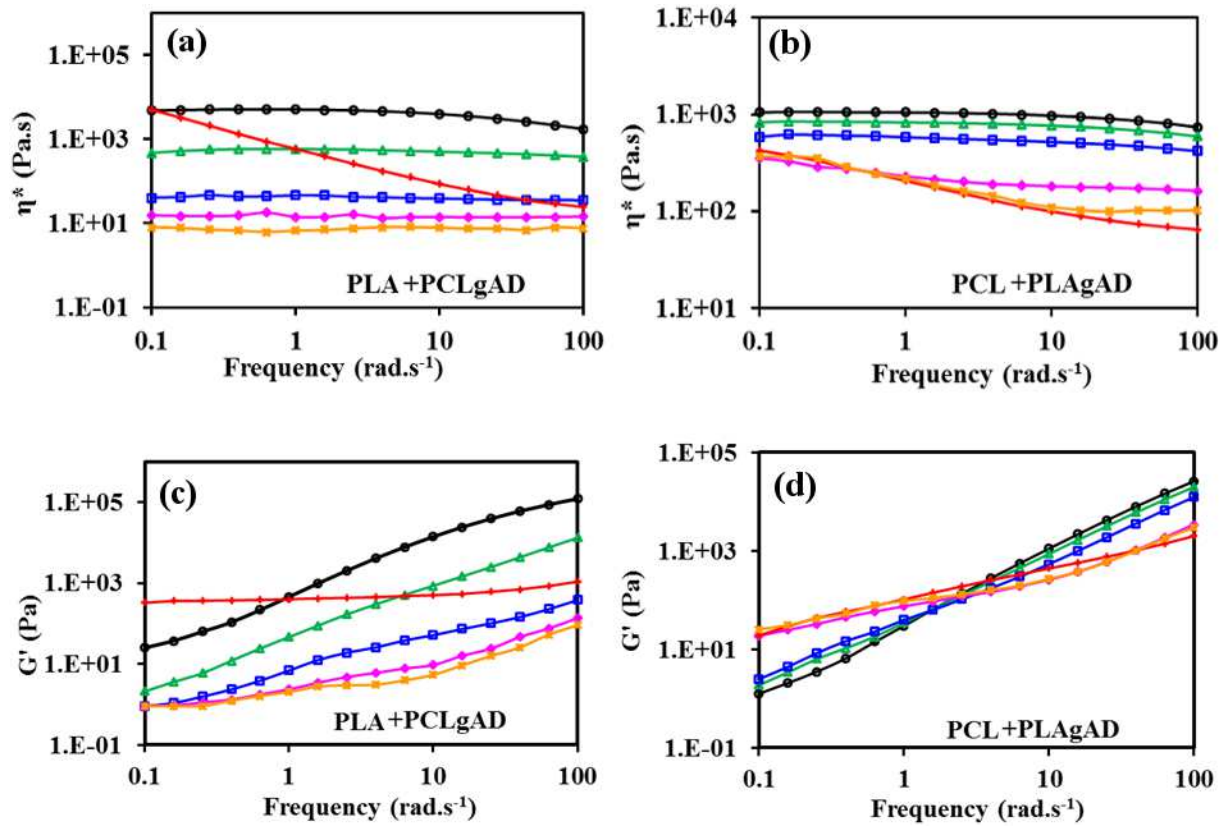


Figure 4. (a,b): The complex viscosity (η^*) and (c,d):The storage modulus (G') of \bullet neat matrix, \blacktriangle neat QAFPs and the different blends containing \blacktriangle 10%, \square 20%, \blacklozenge 50% and \blacklozenge 60% grafted polymer. At 160°C, the strain amplitude was 2% and the gap between the two parallel plates was about 0.6 mm. The frequency sweep was performed from 10^2 to 10^{-1} rad.s⁻¹.

The blends seemed to be of two separate phases with the presence of interactions between them. To confirm this result and to know the morphology of the blends SEM analyses were carried out and the result are in the following section

Morphology of the blends

The morphology of the four series of blends, all prepared in a mini-extruder at 160°C, was investigated by SEM. Figure 5 shows the pictures corresponding to different blends with 60 wt.% content of QAFPs; the blends with the other contents (10, 20, and 50wt.%) are in Supporting Information S5.

SEM micrographs show a dispersed morphology for all the blends and all the concentrations of QAFPs between 10 and 60%, regardless of the nature of QAFPs. The QAFP phase is dispersed in the matrix polymer in the form of microdroplets even when it becomes the major phase (60wt.%), so PLA and PCL are still considered the matrices even when they were not the major phases. The size distribution and the number of the droplets per unit of area, were studied as a function of QAFP proportion in the matrix; the results are presented in Supporting Information S6.

This average size of droplets ranges within 0.5-1 μm in diameter for PLAgAD and 0.4-1.6 μm for PCLgAD in the matrix of PLA, 0.3-6.7 μm for PLAgAD and 0.5-2.8 μm for PCLgAD in the matrix of PCL. It was found that the size of the droplets increases by increasing the QAFP content in all the cases. The size distribution estimated from the standard deviation of the average values of the diameter increases considerably when increasing the QAFP content. The evolution of the number of droplets per 100 μm^2 as a function of the QAFP content (Supporting InformationS7) showed that the number of droplets tends to decrease when increasing the QAFPs content. These results prove that there is a coalescence between the droplets when the QAFP content increases, leading to a reduction of their number and increasing their size.

SEM observations showed the presence of two separate phases even when the components of the blends were based on the same polymer species (PLA+PLAgAD and PCL+PCLgAD). This is probably due to the presence of the quaternary ammonium groups at the chain ends of the grafted polymers. These groups being polar and highly hydrophilic, they make the QAFPs

immiscible with the matrices. A droplet-in-matrix morphology was found even at 60wt.% QAFP content and despite the close values of the viscosities of the component, this can be explained by a weak spreading coefficient of QAFP [38]. This was attributed to the presence of the quaternary ammonium groups in the QAFPs structures.

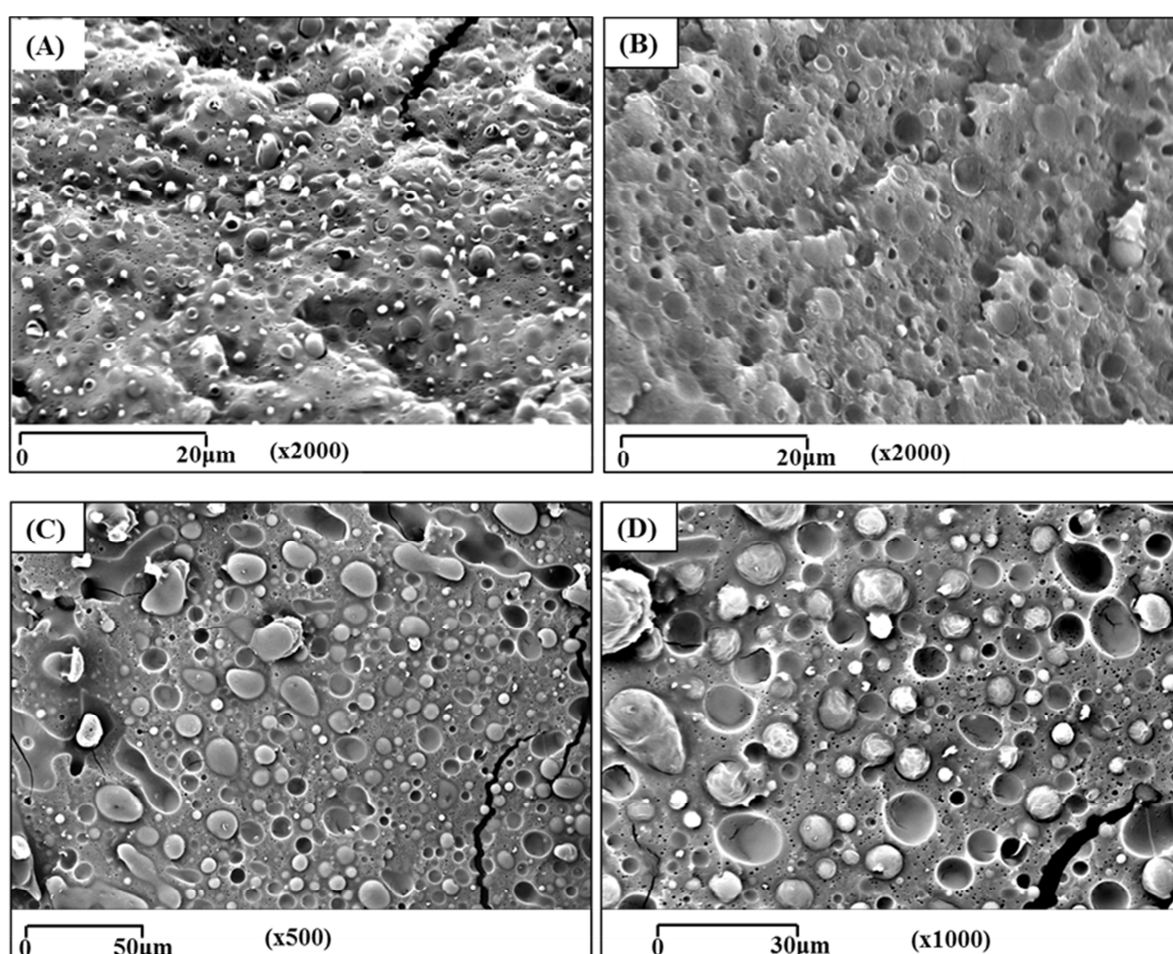


Figure 5. SEM micrographs of blends containing 60 wt.% of QAFPs, (A): PLA+PLAgAD, (B): PLA+PCLgAD, (C): PCL+PLAgAD and (D): PCL+PCLgAD.

The two separate phase morphology of the blends being confirmed, it was important to know the effect of the presence of QAFPs, (which represent polar entities within the polymer matrices, which are relatively more hydrophobic) on the wettability of the blends. This aspect were studied by measuring the water contact angle of the four series of the blends according to the QAFP content. The results are presented in the following section.

Water contact angle

The evolution of the surface water contact angle (α) of the films prepared from PLAGAD and the PLA matrix according to the PLAGAD content (wt.%) is represented in Figure 6. The results of the other blends are in Supporting Information S8. The films made of neat matrices of PLA and PCL have water contact angles of $78\pm 2^\circ$ and $74\pm 2^\circ$ respectively, these values are in concordance with those found in the literature [39-41]. For PLAGAD and PCLgAD the water contact angles are lower than those of the matrices: their values are respectively $34\pm 4^\circ$ and $55\pm 3^\circ$. These results mean that the QAFPs are considerably more hydrophilic than their corresponding matrices of PLA and PCL. For all the blends, the water contact angle decreases by increasing the QAFPs content. The enhanced hydrophilic character of PLA and PCL-based blends was attributed to the presence of the quaternary ammonium pendent groups in the QFAPs known to be hydrophilic [42,43]. To confirm this interpretation, a measurement of the water contact angle of the grafted polymers just before the grafting reaction (without pendent quaternary ammonium groups) was carried out: the values of $76\pm 3^\circ$ and $72\pm 2^\circ$ were found respectively for the non-grafted PLA and PCL. These values are close to PLA and PCL matrices, clearly higher than those of PLAGAD and PCLgAD, so it can be concluded that the decrease of the water contact angle is effectively due to the presence of quaternary ammonium pendent groups in the grafted polymers that transfer this property to the blends. The increase in the hydrophilicity of these polymers and their blends represents a very important advantage in many applications: the most interesting one in view of this work is the use of these products as antibacterial materials. Many works [44-46] have shown that surface hydrophilicity is a very important parameter to ensure the contact between the antibacterial material and the bacterial cells, because the major part of the bacteria are hydrophilic under physiological conditions; therefore, the antibacterial efficiency of a material is strongly related to the hydrophilicity of its surface.

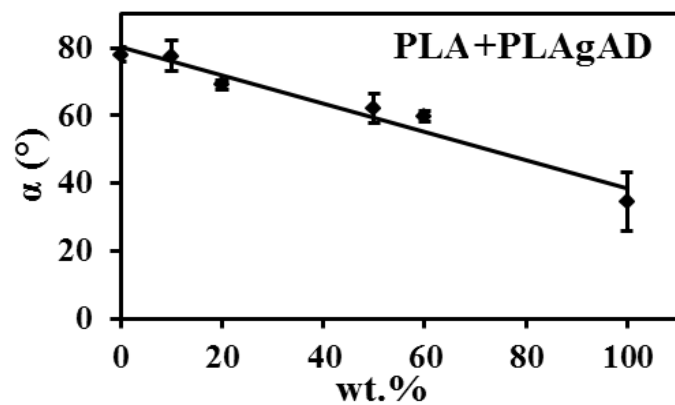


Figure 6. Water contact angle as a function of the QFAP content of films prepared from the blends of PLA+PLAgAD.

Aerobic biodegradability

The kinetics of the aerobic biodegradation for 28 days according to the ISO 14851 standard of the pure components and of some blends (PCL+PLAgAD and PCL+PCLgAD) are shown in Figure 7; a comparison between the biodegradability of the PLA or PCL and that of the PLAgAD and PCLgAD respectively is emphasized in Figures 7.A and 7.B. These results show that the QFAPs are less biodegradable than the matrices. This decrease in the percentage of biodegradation is due to the presence of quaternary ammonium pendent groups in the structure of the QFAPs. Indeed, in our previous study [29], the quaternary ammonium groups were found to provide a high antibacterial activity to PLA and PCL matrices. This antibacterial activity occurs against the microorganisms present in the biodegradation test media and are responsible for the biodegradation by killing a part of them. The measurements concerning the blends of PLA+PLAgAD and PCL+PCLgAD are respectively in Figures 7.C and 7.D. These curves show that the biodegradation kinetics decreases when increasing the grafted polymer content, but the materials remain biodegradable. The difference between the curves of the neat matrices from (A) and (B) to (C) and (D) is due to the fact that two different active sludges were used and the kinetic of the biodegradation depends on the microorganisms present in the media and their respiration activity [47].

The biodegradation curves of both the matrices, the QAFPs and the blends present a period during which the biodegradation rate does not change. This phase appears at the beginning of the biodegradation process and is called the lag phase [48] which corresponds to the time needed by the microorganisms to become acclimatized to presence of the polymer and to start degrading it [49]. QAFPs exhibit a longer lag phase than their equivalent neat matrices. For the blends, the lag phase duration increases when the quaternary ammonium polymer content in the blend increases. This is obvious since the grafted polymers are antibacterial [29] so the acclimatization of the microorganisms is more difficult in the presence of these materials.

This result is interesting in the case of applications that require a long-time stability in environmental conditions while maintaining the biodegradability of the used materials.

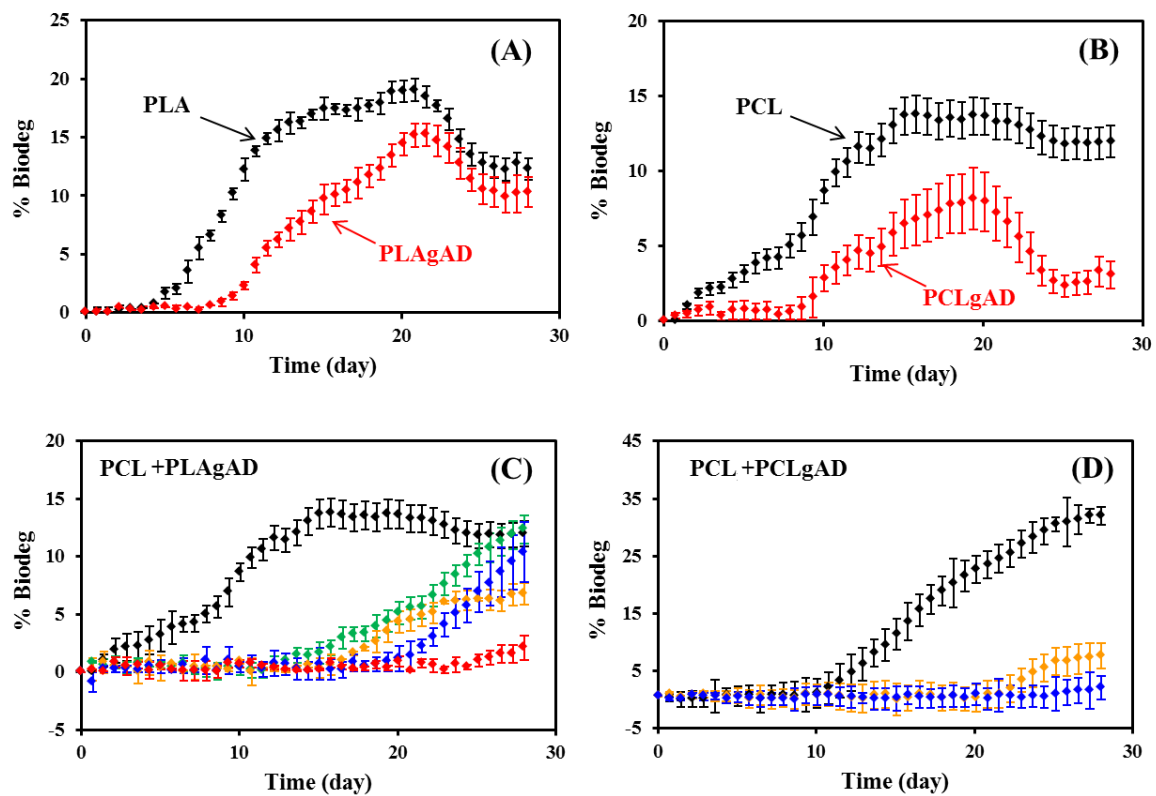


Figure 7. Evaluation of the ultimate aerobic biodegradability of (A): blends of PLA+PLAgAD, (B): blends PCL+PCLgAD, (C): blends of PCL+PLAgAD and (D): blends of PCL+PCLgAD. The blends contain (—): 0%, (—): 10%, (—): 20%, (—): 50% and (—): 60% of grafted polymers. According to ISO 14851 using OxiTop[®] Control measuring system (closed respirometers).

CONCLUSION

PLA and PCL matrices were endowed with quaternary ammonium-functionalized polymers by melt process in order to make antibacterial polymeric materials. The blends were successfully achieved with different QAFP contents. The morphology of the obtained blends, their thermal, viscoelastic, surface and biodegradation properties were studied. All the blends were of two separate phases with some specific interactions between them. The addition of the grafted polymers tended to decrease the T_g of the PLA matrix and increase that of the PCL matrix. It decreased their viscosity and their storage modulus in the molten state and increased their film surface hydrophilicity. The biodegradation kinetics was found to be slowed down by adding the grafted polymers due to their antibacterial activity. This result is an advantage for potential applications needing functional and active polymers for a long time while keeping their biodegradable aspect at the end of their use.

ACKNOWLEDGMENT

The authors are grateful to the French Ministry of Higher Education and Scientific Research for its financial support of the PhD scholarship of Kedafi Belkhir (MESR, ENS 2013-311).

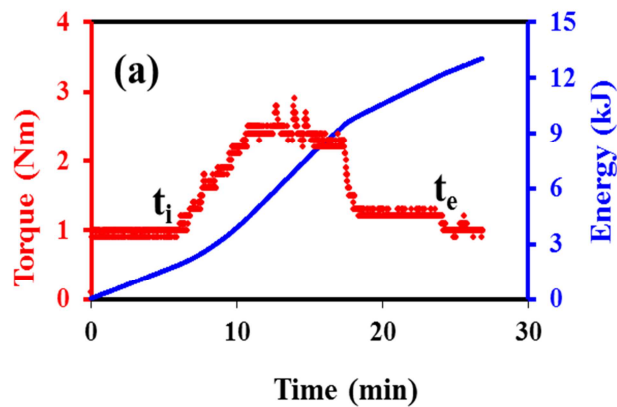
REFERENCES

- [1] B. Malhotra, A. Keshwani, H. Kharkwal, *Front. Microbiol.* 6 (611) (2015) 1-9.
- [2] S. Y. Sung, I. T. Sin, T. T. Tee, S. T. Bee, A. R. Rahmat, M. Vikhraman, *Trends. Food Sci. Technol.* 33 (2013) 110-123.
- [3] R. Shemesh, M. Krepker, D. Goldman, Y. Danin-Poleg, Y. Kashi, N. Nitzan, A. Vaxman, E. Segal, *Polym. Adv. Technol.* 26 (1) (2015) 110-116.
- [4] H. M. C. de Azeredo, *Food Res. Int.* 42 (9) (2009) 1240-1253.
- [5] L. Bastarrachea, S. Dhawan, S. S. Sablani, *Food Eng. Rev.* 3 (2) (2011) 79-93.
- [6] H. Plaza, *Int. J. Mol. Sci.* 16 (2015) 2099-2116.
- [7] J. A. Lemire, J. J. Harrison, R. J. Turner, *Nat. Rev. Microbiol.* 11 (2013) 371-384.
- [8] M. R. E. Santos, A. C. Fonseca, P. V. Mendonça, R. Branco, A. C. Serra, P. V. Morais, J. F. J. Coelho, *Materials* 9 (2016) 599-631.
- [9] E. R. Kenawy, S. D. Worley, R. Broughton, *Biomacromolecules* 8 (2007) 1359-1384.
- [10] W. Zhang, Y. H. Zhang, J. H. Ji, J. Zhao, Q. Yan, P. K. Chu, *Polymer* 2006 (47) 7441-7445.
- [11] M. Jokar, R. Abdul Rahman, N. A. Ibrahim, *Food Bioprocess Technol.* 5 (2) (2012) 719-728.
- [12] P. Persico, V. Ambrogi, C. Carfagna, P. Cerruti, I. Ferrocino, G. Mauriello, *Polym. Eng. Sci.* 49 (2009) 1447-1455.
- [13] H. Plaza, R. Quijada, K. Delgado, *J. Bioact. Compat. Polym.* (2015)1-15.
- [14] A. D. Fuchs, J. C. Tiller, *Angew. Chem. Int. Ed.* 45 (2006) 6759-6762.
- [15] J.-M. Thomassin, S. Lenoir, J. Riga, R. Jérôme, C. Detrembleur, *Biomacromolecules* 8 (2007) 1171-1177.
- [16] Y. Xue, H. Xiao, Y. Zhang, *Int. J. Mol. Sci.* 16 (2015) 3626-3655.

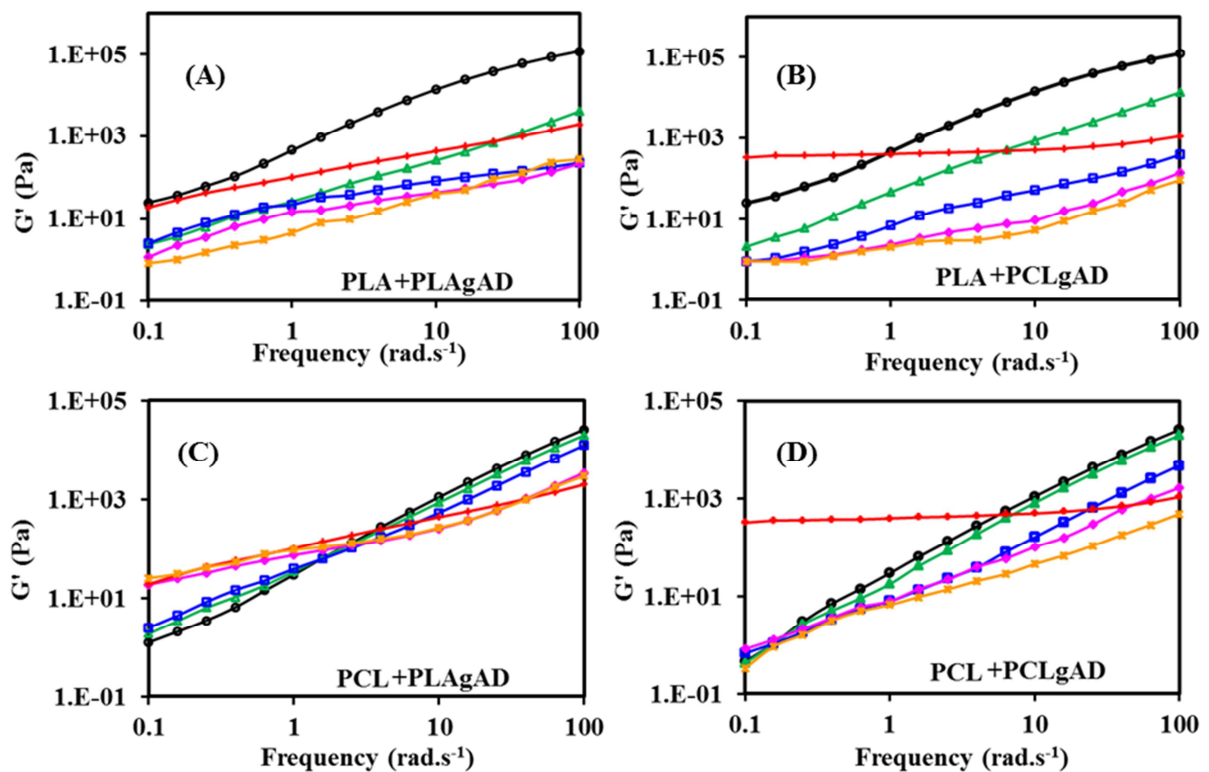
- [17] D. Wang, W. Xu, G. Sun, B. S. Chiou, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 3 (8) (2011) 2838-2844.
- [18] M. R. Badrossamay, G. Sun, *Polym. Int.* 59 (2010) 155-161.
- [19] M. R. Badrossamay, G. Sun, *J. Biomed. Mater. Res. Part B* 89 (2009) 93-101.
- [20] M. Ignatova, N. Manolova, I. Rashkov, *Eur. Polym. J.* 43 (2007) 1112-1222.
- [21] K. Belkhir, J.-C. Majesté, C. Jegat, M. Taha, *Rheological Study of Quaternary Ammonium-Containing Star-Shaped Polylactic Acid*, Submitted.
- [22] A. Kiziltas, B. Nazari, E. E. Kiziltas, D. J. Gardner, Y. Han, T. S. Rushing, *Carbohydr. Polym.* 140 (2016) 393-399.
- [23] B-K. Chen, C-H. Shen, S-C. Chen, A. F. Chen, *Polymer* 51 (2010) 4667-4672.
- [24] Y. Marquez, L. Franco, J. Puiggali, *Thermochim. Acta* 550 (2012) 65-75.
- [25] M. A. Woodruff, D. W. Hutmacher, *Prog. Polym. Sci.* 35 (2010) 1217-1256.
- [26] Y. Xue, H. Xiao, Y. Zhang, *Int. J. Mol. Sci.* 16 (2) (2015) 3626-3655.
- [27] K. Belkhir, H. Shen, J. Chen, C. Jegat, M. Taha, *Eur. Polym. J.* 66 (2015) 290-300.
- [28] K. Belkhir, C. Jegat, M. Taha, *React. Funct. Polym.* 101 (2016) 82-89.
- [29] K. Belkhir, M. Lacroix, M. Jamshidian, S. Salmieri, C. Jegat, M. Taha, *Antibacterial Activity of Branched Quaternary Ammonium Grafted Biodegradable Polymers*, Submitted.
- [30] B. Y. Colak, P. Peynichou, S. Galland, N. Oulahal, G. Assezat, F. Prochazka, P. Degrave, *Ind. Crop. Prod.* 72 (2015) 142-151.
- [31] J.-C. Bénézet, A. Stanojlovic-Davidovic, A. Bergeret, L. Ferry, A. Crespy, *Ind. Crop. Prod.* 37 (2012) 435-440.
- [32] M. Bousmina, A. Ait-Kadi, J.B. Faisant, *J. Rheol.* 43 (1999) 415-433).
- [33] R. Salehiyan, H. Y. Song, M. Kim, W. J. Choi, K. Hyun, *Macromolecules* 49 (2016) 3148-3160.
- [34] H. Gramespacher, J. Meissner, *J. Rheol.* 36 (1992) 1127-1141.
- [35] J. F. Palierne, *Rheol. Acta* 29 (1990) 204-214. Erratum 30 (1991) 497.

- [36] C. Carrot, S. Mbarek, M. Jaziri, Y. Chalamet, C. Raveyre, F. Prochazka, *Macromol. Mater. Eng.* 292 (2007) 693-706.
- [37] T. Sadik, V. Massardier, F. Becquart, M. Taha, *Polymer* 53 (2012) 4585-4594.
- [38] M. E. J. Dekkers, S. Y. Hobbs, I. Bruker, V. H. Watkins, *Polym. Eng. Sci.* 30 (24) (1990) 1628-1632.
- [39] X. Xiong, Q. Li, J.-W. Lu, Z.-X. Guo, J. Yu, *J. Appl. Polym. Sci.* 117 (2010) 1955-1959.
- [40] X. Li, J. Shi, X. Dong, L. Zhang, H. Zeng, *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, 84A (2008) 84-91.
- [41] L. Liu, S. Guo, J. Chang, C. Ning, C. Dong, D. Yan, *J. Biomed. Mater. Res. Part B*, 87B (2008) 244-250.
- [42] H. Bakhshi, H. Yeganeh, S. Mehdipour-Ataei, M. A. Shokrgozar, A. Yari, S. N. Saeedi-Eslami, *Mater. Sci. Eng.:C*, 33 (2013) 153-164.
- [43] K. Kawai, K. Kaneko, T. Yonezawa, *Langmuir* 27 (2011) 7353-7356.
- [44] D. Pavithra, M. Doble, *Biomed. Mater.* 3 (2008) 1-13.
- [45] Y. C. Chung, Y. P. Su, C. C. Chen, G. Jia, H. I. Wang, J. C. G. Wu, J. G. Lin, *Acta. Pharmacol. Sin.* 25 (2004) 932-936.
- [46] G. M. Bruinsma, H. C. V. D. Mei, H. J. Busscher, *Biomaterials* 22 (2001) 3217-3224.
- [47] M. Kunioka, F. Ninomiya, M. Funabashi, *Polym. Degrad. Stab.* 91 (2006) 1919-1928.
- [48] P. Puechner, W.-R. Mueller, D. Bardtke, *J. Env. Polym. Degrad.* 3 (1995) 133-143.
- [49] J. A. Foulk, J. M. Bunn, *J. Food Eng.* 79 (2007) 438-444.

IV.6. SUPORTING INFORMATION

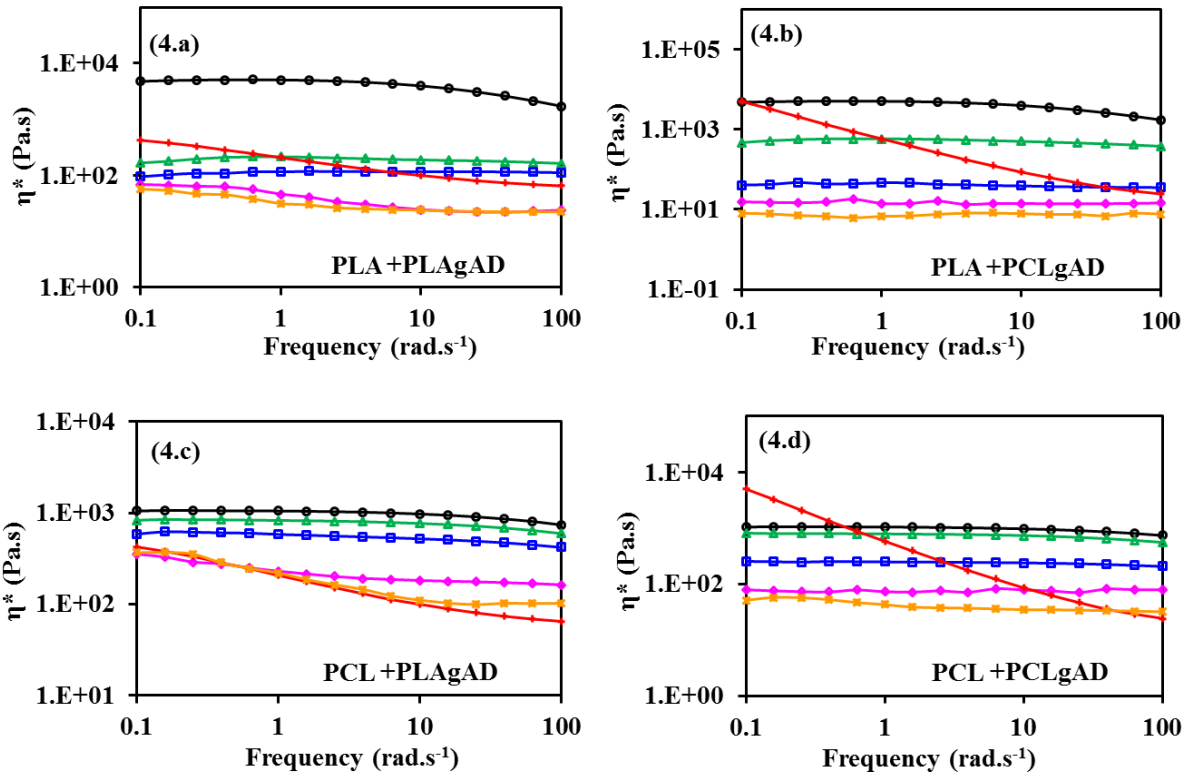


S1. (a): Torque and heat energy monitoring during the extrusion process. t_i : corresponds to the introduction of the polymer blend into the compounder, t_e : corresponds to the beginning of the extrusion.

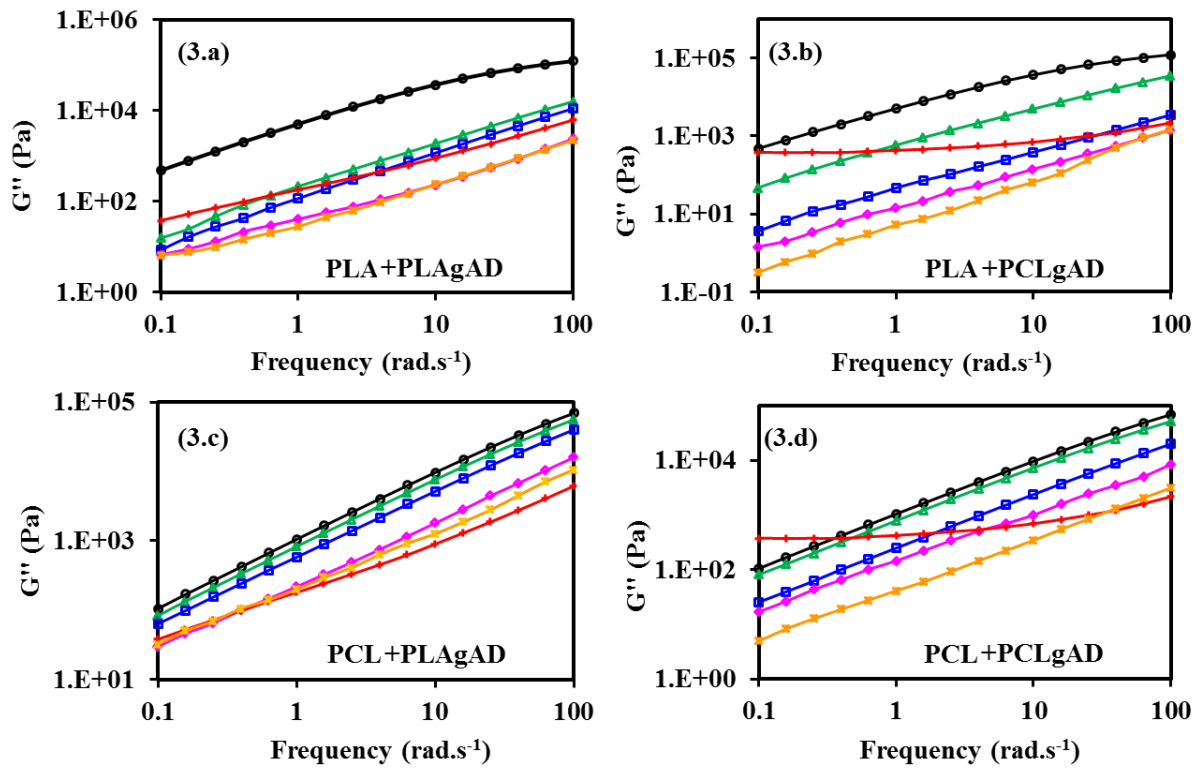


S2. The storage modulus (G') of \bullet neat matrix, \blacksquare neat QAFPs and the different blends containing \blacktriangle 10%, \square 20%, \blacklozenge 50% and \blacklozenge 60% grafted polymer. At 160°C, the

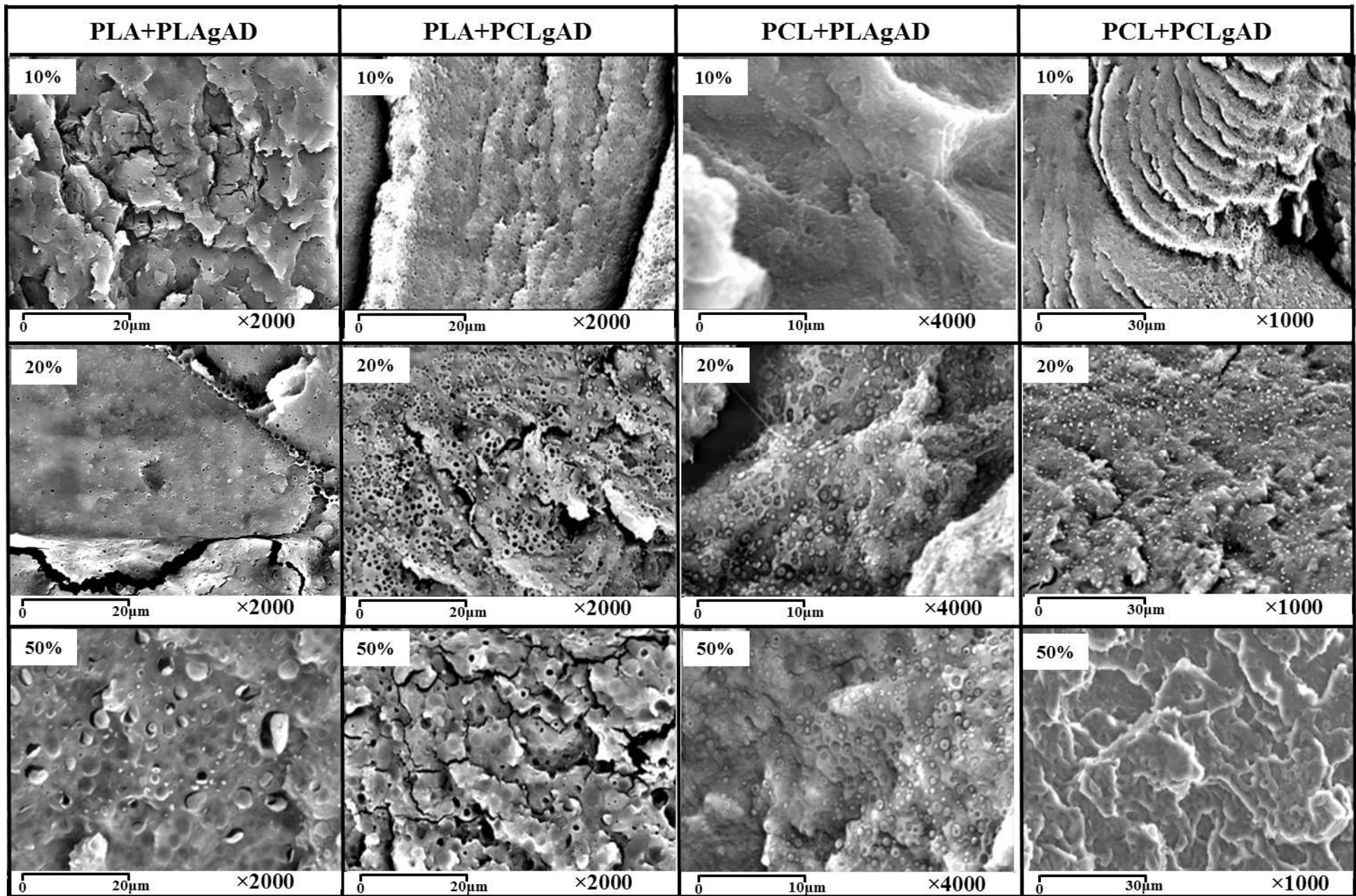
strain amplitude was 2% and the gap between the two parallel plates was about 0.6 mm. The frequency sweep was performed from 10^2 to 10^{-1} rad.s⁻¹.



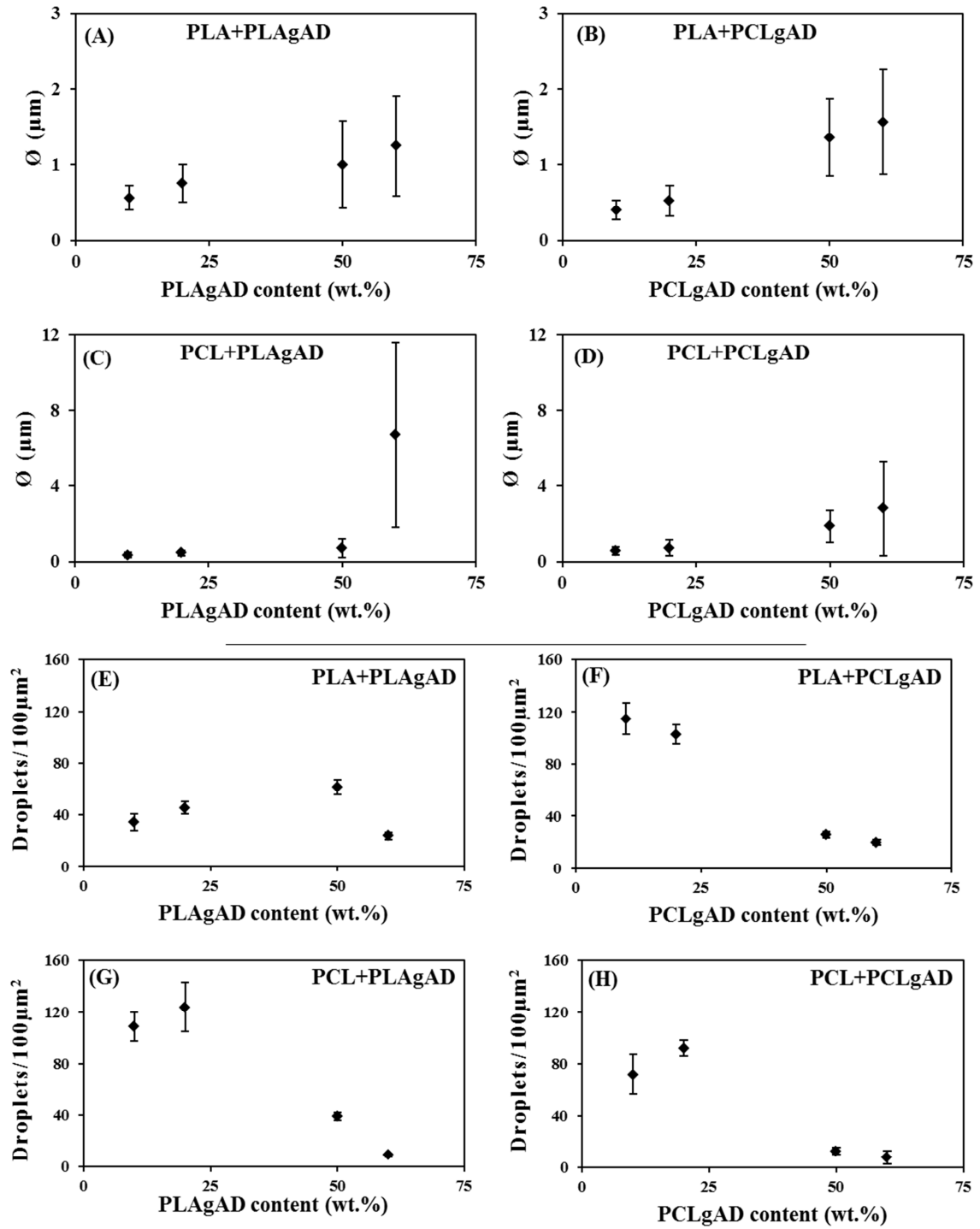
S3. The complex viscosity (η^*) of \bullet neat matrix, \blacktriangle neat grafted polymer and the different blends containing \blacktriangle 10%, \square 20%, \blacklozenge 50% and \blacksquare 60% grafted polymer. At 160°C, the strain amplitude was 2% and the gap between the two parallel plates was about 0.6 mm. The frequency sweep was performed from 10^2 to 10^{-1} rad.s⁻¹. (corriger num sur les graphes)



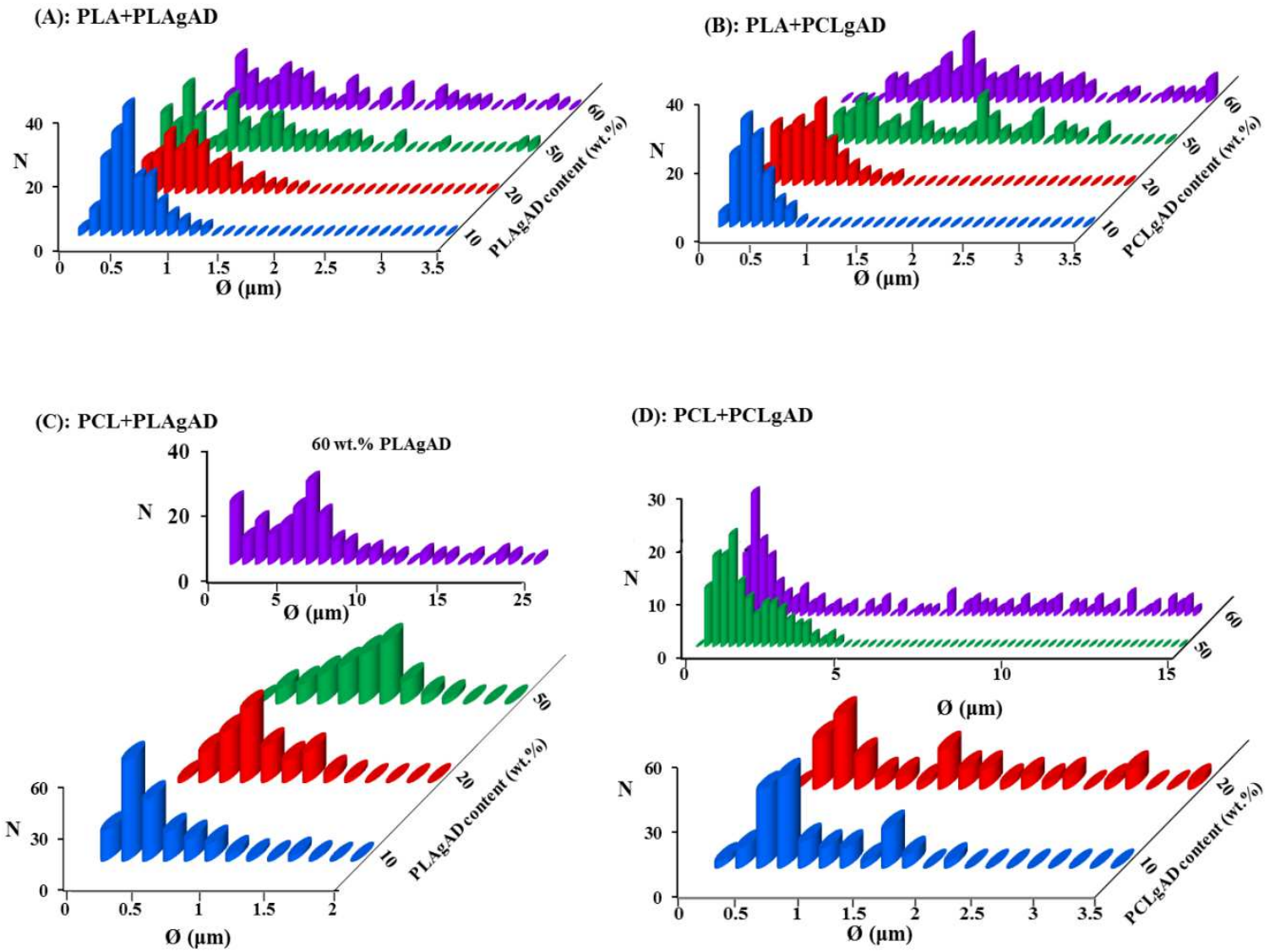
S4. The loss modulus (G'') of \bullet neat matrix, \blacksquare neat grafted polymer and the different blends containing \blacktriangle 10%, \square 20%, \blacklozenge 50% and \blacklozenge 60% grafted polymer. At 160°C, the strain amplitude was 2% and the gap between the two parallel plates was about 0.6 mm. The frequency sweep was performed from 10^2 to 10^{-1} rad.s $^{-1}$. (corriger num sur les graphes)



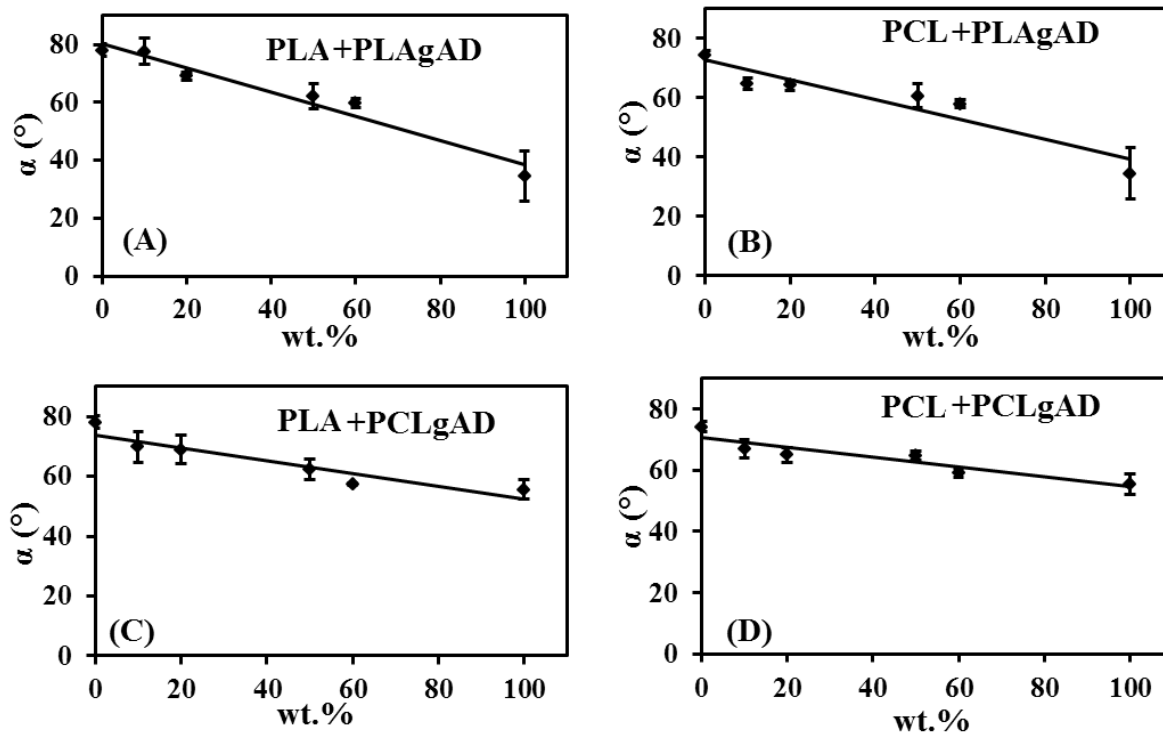
S5. SEM pictures of the different blends, with the corresponding weight content, in percent, of the QAFPs



S6. (A-D): Droplets diameter and (E-H): the number of the droplets per $100\mu\text{m}^2$ as functions of the QAFPs content in the blends.



S7. Size distributions of the droplets in the different blends.



S8. Water contact angle as a function of the QFAPs content of films prepared from the four series of blends; (A): PLA+PLAgAD, (B): PCL+PLAgAD, (C): PLA+PCLgAD and (D): PCL+PCLgAD.

IV.7. Abstract

Quaternary ammonium-functionalized polymers (QAFPs) based on branched structures of PLA and PCL were blended with neat matrices of PLA and PCL to improve their processability in the melt phase at 160°C. Different formulations were prepared by varying the proportions of the components of the blends (0, 10, 20, 50 and 60wt.% of QAFP). The rheological behavior of each component and their blends was studied at 160°C and dynamic mechanical analyses were carried out. The thermal properties of the matrices were also investigated by thermogravimetric analyses and differential scanning calorimetry; they were found to be affected by the presence of QAFPs within them. All the studied blends had a dispersed morphology, highlighted by scanning electron microscopy. The water contact angle of the blends was studied and showed that the hydrophilicity of the surfaces of the blends increased by increasing their QAFP content. The biodegradability of both the components and the blends was investigated: a decrease of the biodegradation kinetics was observed due to the presence of the quaternary ammonium groups, but the materials remain biodegradable.

Keywords: Antibacterial quaternary ammonium polymers, Polymer blends, Polylactic acid, Polycaprolactone, Melt phase.

CHAPITRE V

APPLICATION DES POLYMERES PORTANT DES GROUPEMENTS AMMONIUMS QUATERNAIRES COMME MATERIAUX ANTIBACTERIENS

Les polymères portant des groupements ammoniums quaternaires (QAFPs) qui ont été synthétisés, caractérisés et mis en œuvre en phase fondue dans les chapîtres précédents sont utilisés dans le présent chapitre pour des tests d'activité antibactérienne vis-à-vis de bactéries de Gram négatif (*E. coli* et *Salmonella*) et de Gram positif (*Listeria monocytogenes*).

Dans un premier temps, les monomères acryliques et méthacryliques portant le groupement ammonium ont été testés séparément en solution, leurs concentrations minimale inhibitrice et maximale tolérée ont été déterminées.

Des films de QAFPs et de leurs mélanges avec des matrices de PLA et PCL ont fait l'objet d'une évaluation de leur pouvoir inhibiteur de croissance bactérienne et ont montré leur efficacité.

L'activité bactéricide des QAFPs et de leurs mélanges a été également démontrée contre les bactéries citées, des réductions de 5.6, 4.4 et 4.2 log UFC.mL⁻¹ ont pu être observées respectivement envers *E. coli*, *Salmonella* et *Listeria monocytogenes* après seulement une heure de contact avec les films, certains échantillons ont montré une élimination totale de la population bactérienne.

Pour s'assurer que le type de mécanisme d'action antibactérienne mis en jeu est bien un mécanisme par contact et qu'il n'y a pas de libération d'entités actives dans le milieu, des tests de diffusion sur gélose ont été réalisés montrant des zones d'inhibition nulles, ce qui prouve qu'il n'y a pas de diffusion d'agents actifs depuis les films et que leur activité antibactérienne a lieu par contact avec les bactéries étudiées, ce qui est un point fort pour des applications dans les domaines des emballages et de revêtements dans lesquels la libération de molécules actives n'est pas souhaitée.

Ce chapitre est présenté sous forme d'article soumis dans le journal *Food Packaging and Shelf Life*.

V. Antibacterial Activity of Branched Quaternary Ammonium Grafted Biodegradable Polymers

Kedafi Belkhir^{1,2,3}, Monique Lacroix^{4,*}, Majid Jamshidian⁴, Stéphane Salmieri⁴, Corinne Jegat^{1,2,3}, Mohamed Taha^{1,2,3}.

¹Université de Lyon, F-42023 Saint Etienne, France

²CNRS, UMR5223, Ingénierie des Matériaux Polymères, F-42023 Saint-Etienne, France.

³Université Jean Monnet de Saint Etienne, F-42023 Saint-Etienne, France.

⁴Research Laboratories in Sciences Applied to Food, Canadian Irradiation Center (CIC), INRS-Institute Armand-Frappier, University of Quebec, 531 Boulevard des Prairies, Laval, Quebec H7V 1B7, Canada.

*Corresponding author: M. Lacroix. Tel: (+1) 450 687-5010. E-mail address: monique.lacroix@iaf.inrs.ca

Highlights

- New quaternary ammonium (QA) functionalized polymers (QAFPs) are highly antibacterial.
- The antibacterial activity of the QA (meth)acrylic monomers is preserved when they are grafted on polymers.
- The inhibition of the bacterial growth, as well as the bactericidal activity, depend on the QA content in the film.
- The action of the films bearing QA groups occurs according to a contact-killing mechanism.
- Both Gram-positive and Gram-negative bacteria are subjects of the antibacterial activity of the QAFPs.

V.1. Introduction

Antimicrobial polymers attract a growing interest especially in food industry; many works have been carried out on these materials and their application as food packaging or active coatings in various fields. Their concept was revealed in 1965 (Cornell & Donaruma, 1965) and since they have been developed and adjusted to meet the requirements of different applications and cover a broader range of microorganisms. An antimicrobial polymer is a polymer that can kill microorganisms in contact with them or inhibit their growth. The antibacterial property may be an intrinsic characteristic of the polymer (naturally antibacterial polymers such as chitosan or polycations for example), it may be also incorporated into the polymer by different ways, the best known being the dispersion of antimicrobial agents in the polymeric matrix as additives (Benavides et al., 2012; Colak et al., 2015; Severino et al., 2015; Stroescu et al., 2013); antimicrobial polymers can also be obtained by polymerization of active monomers (Colonna et al., 2012; Coneski et al., 2014; Ganewatta & Tang, 2015; Zhu et al., 2014), modification and functionalization of polymers (Criado et al. 2014) or by grafting monomers including active groups in their structure onto polymer chains (Cerkez et al., 2013; Riva et al., 2008). The antimicrobial polymeric materials act in different ways according to both their structure and the kind of antimicrobial active groups: some materials work by releasing antimicrobial agents in a contaminated medium (Buonocore et al., 2004; Imran et al., 2012; Raval et al., 2014; Muriel-Galet et al., 2015) while others act by contact with the targeted microorganisms (Abreu et al., 2015; Eknoian et al., 1999). Different antibacterial active chemical groups are involved in the elaboration of antibacterial polymers (Jain et al., 2014), such as hydroxyl groups (Park et al., 2001) or phosphonium groups (Nonaka et al., 2003) as well as metal atoms such as silver (de Moura et al., 2012) or copper (Paillot et al., 2016; Zhang et al., 2006). Another active group is widely used in the field of antibacterial polymers: the quaternary ammonium group, where the nitrogen atom is positively charged, with a high antibacterial efficiency against both Gram-negative and Gram-positive bacteria (Lee et al., 2016; Majumdar et al., 2016). It also offers the advantage of being commercially available in different forms and compounds with large possibilities of chemical modifications. Many works were carried out in order to explain the mechanism of antibacterial action of quaternary ammonium groups and different mechanisms were hypothesized, the most common one being the disruption of the cell membrane of bacteria (Förch et al., 2014; Gilbert & Moore, 2005; Tezel & Pavlostathis, 2015; Wessels & Ingmer, 2013). This phenomenon starts when interactions occur between the quaternary ammonium

group and the cell membrane of the bacteria; then the compound penetrates the membrane and permeates it so that the quaternary ammonium group remains in the membrane while the alkyl or the polymer chain bearing this group will be located in the cytoplasm. In addition to the physical and biochemical damages caused when the alkyl chain permeates the membrane, the presence of the charged quaternary ammonium group at the surface disrupts the charge distribution there. As a result, the cell membrane is completely disrupted: Fig. 1 shows a simplified representation of the mechanism of disruption of the cell membrane of bacteria. The proposed mechanism concerns the free molecules bearing these active groups, but the high efficiency of the quaternary ammonium compounds is preserved when they are immobilized in a material such as polymeric films (Berndt et al., 2010; Gottenbos et al., 2002; Mohamed Abo El Ola et al., 2004).

PLA and PHB are biosourced polymers, biodegradable and low cost raw materials, they present many advantages such as being easily processable, interesting mechanical and thermal properties, actually they are widely used in food packaging and cosmetic industry and many works are in progress to enlarge their application fields. PCL presents the property to be highly biodegradable and abundant, it is also a very attracting material for numerous processing methods because of its excellent characteristics even in the melt or the solid state and its high thermal stability. So it could be interesting to add an important property, which is the antibacterial activity, to these attractive polymers.

The aim of this study was to determine the antibacterial activity of films made of polymers including PLA, PCL, and PHB segments in branched structures having pendant quaternary ammonium groups, that were synthesized in previous works (Belkhir et al., 2015, 2016), against Gram-negative bacteria (*E. coli* and *Salmonella Typhimurium*) as well as a Gram-positive bacterium (*Listeria monocytogenes*), to our knowledge it is the first study investigating the antibacterial activity of this kind of polymeric structures with quaternary ammoniums as functional groups. The protocol for the synthesis of the polymers used is described in the Supplementary Information.

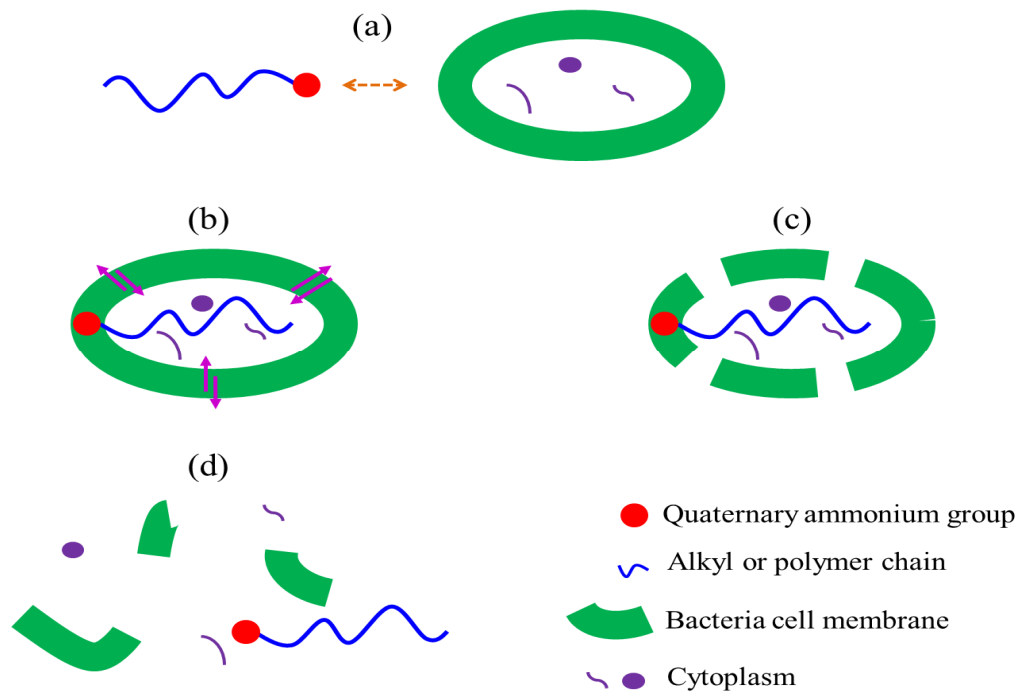


Fig. 1. Simplified representation of the mechanism of action of quaternary ammonium compounds on bacteria by cell membrane disruption. (a): interaction between the compound bearing the quaternary ammonium group and the cell membrane of the bacteria; (b) permeation of the cell membrane by the alkyl or polymer chain and increasing the membrane permeability; (c) disruption of the cell membrane; (d) the cell is completely damaged.

V.2. Experimental section

2.1. Materials

Three quaternary ammonium functionalized polymers (QAFPs) were used as antibacterial products. The structure of these polymers was branched and based on biodegradable polyester chains of PLA, PCL or PHB. Fig. 2 shows a representation of these polymers highlighting the branched structure with three arms and the active sites formula on the chain ends. Their synthesis and physicochemical characterizations were described in previous publications (Belkhir et al., 2015, 2016) and mentioned in Supporting Information. Two polymeric matrices were used: PLA 2002 D, purchased from NatureWorks® (USA.) and PCL CAPA™ 6800, from Perstorp (Sweden). [2-(Acryloyloxy)ethyl]trimethylammonium chloride (ADCl) and [2-(Methacryloyloxy)ethyl]trimethylammonium chloride (MADCl) were purchased from Sigma Aldrich (France) as 80 wt.% aqueous solutions.

Three bacteria were used: *Escherichia coli* O157:H7 EDL933 (*E. coli*) was obtained from the laboratory of Pr. Charles Dozois (IRS-Institut Armand-Frappier, Laval, QC, Canada), *Salmonella* Typhimurium SL1344 (*S. Typhimurium*) and *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) HPB 2812 were isolated by the Health Products and Foods Branch of Health Canada (Ottawa, Ontario, Canada)

Tryptic soy broth (TSB) and Multi Peptone were purchased from Alpha Biosciences and Muller-Hinton broth (MHB) was purchased from Becton-Dickinson Difco™ Detroit, USA.

MacConkey-Sorbitol Agar, Deoxycholate Citrate Lactose Sucrose Agar (DCLS) and PALCAM *Listeria* Selective Agar were purchased from Sigma-Aldrich, Canada.

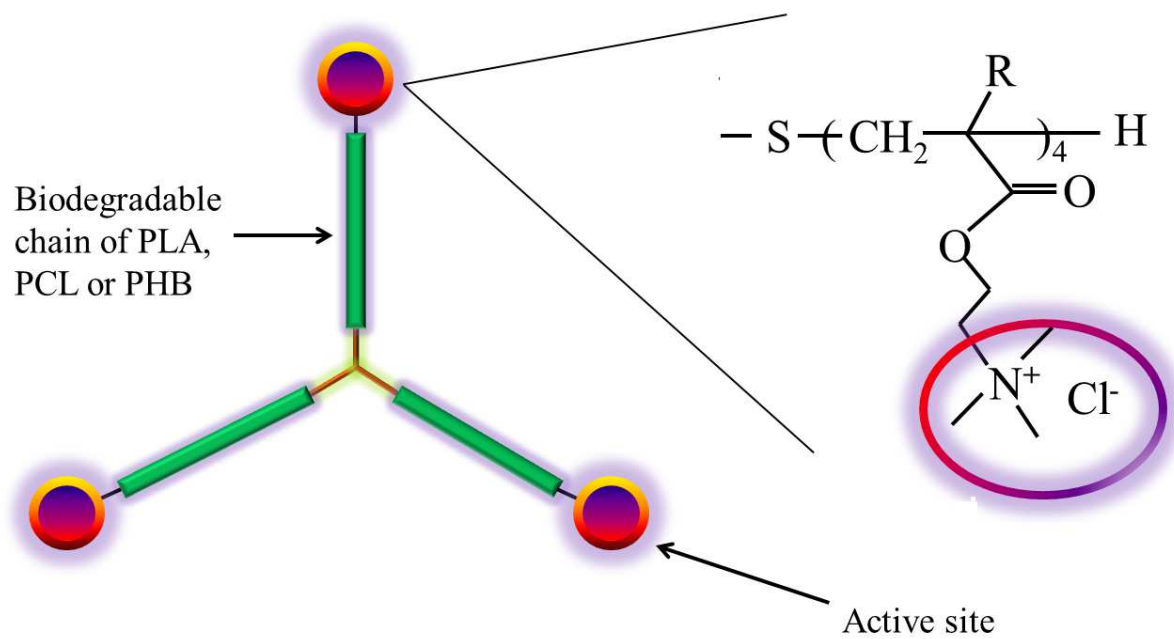


Fig. 2. Schematic representation of the branched structure of the QAFPs.

2.2. Instrumentation

A micro-extruder HAAKE™ MiniLab II from Thermo SCIENTIFIC France, equipped with two conical co-rotating screws, a pneumatic by-pass valve and a recirculation channel, was used as compounder. The device was managed by a MiniLab software allowing the control of the process parameters. The materials were first cryo-ground and premixed in powder form and then 7 g of each sample were introduced in the micro-extruder.

The films were prepared by press molding in a PINETTE EMIDÉCAU 12T TFE press (France) at 160°C with one millimeter thick.

96-well and 6-well transparent polystyrene plates, purchased from Sarstedt, Canada, were used for optical density (OD) measurements. The wells' volumes were respectively 385 µL and 4 mL with a flat base.

The OD of microplate's wells was measured at 595 nm by an ELx800™ Absorbance Microplate Reader from BioTek® Instruments, Canada

2.3. Preparation of the films

Quaternary ammonium grafted polymers were blended with the commercial polymer matrices in the micro-extruder at 160 °C and 50 rpm for 10 minutes before extrusion in the form of rods. The obtained samples were then cut into small pieces and put between two sheets of Teflon in the press at 160 °C. Metallic ridges having 1 mm thick were placed between the sheets to control the thickness of the films. The pressure was progressively increased to reach 200 bar and was then kept constant for 10 minutes. The film was finally taken out of the press to cool down at room temperature before removing the Teflon sheets. Films of pure QAFPs, of pure commercial polymer matrices and of blends with different proportions (QAFP in matrix) were prepared: 10, 20, 50 and 60 wt.%. The products are named as follows:

PLAgAD: PLA based QAFP grafted by ADCl.

PLAgMAD: PLA based QAFP grafted by MADCl.

PCLgAD: PCL based QAFP grafted by ADCl.

PCLgMAD: PCL based QAFP grafted by MADCl.

PHBgAD: PHB based QAFF grafted by ADCI.

PHBgMAD: PHB based QAFF grafted by MADCI.

PLA: commercial polymer matrix of PLA.

PCL: commercial polymer matrix of PCL.

2.4. Preparation of bacterial cultures

Stock cultures of *E. coli*, *S. Typhimurium* and *L. monocytogenes* were stored at -80 °C in TSB/glycerol 50/50 vol.%. Before the experiments, stock cultures were grown through two consecutive 24-hours growth cycles in TSB medium at 37 °C. Then the bacterial concentration of each culture was adjusted to about 6 log CFU.mL⁻¹ by performing dilutions in peptone water (Khan et al., 2016; Takala et al., 2013; Wang et al., 2015).

2.5. Preparation of culture media

The microbial level of *E. coli*, *S. Typhimurium* and *L. monocytogenes* were respectively evaluated using MacConkey-Sorbitol Agar, DCLS Agar and PALCAM Agar media. The bacterial count was done after incubation at 37 °C for 24 hours. All bacterial media cultures were prepared as illustrated by their manufacturers, MacConkey-Sorbitol Agar and PALCAM Agar were autoclaved at 121°C for 15 min, DCLS Agar was not autoclaved.

2.6. Determination of the minimal inhibitory concentration (MIC) and the maximal tolerated concentration (MTC) of the active monomers

Two solutions with 2.800 and 9.385 wt.% of respectively ADCI and MADCI were prepared in the MHB medium and several dilutions were obtained down to 0.097 and 0.185 wt.% respectively. From each dilution, a quantity of 200 µL was introduced in a well of the microplate, followed by the injection of 15 µL of approximately 6 log CFU.mL⁻¹ of the concerned bacterium in peptone water. The microplate was then incubated at 37 °C for 24 h and the OD was measured at 595 nm to identify the MIC and MTC of ADCI and MADCI. The lowest concentration of the used monomer required to completely inhibit the growth of

the tested bacterium was considered as the value of the MIC (related to the absorbance which reaches the minimal value i.e. the value of the blank without bacteria). The value of MTC was defined as the highest concentration of the monomer, which did not affect the bacterial growth (corresponding the highest value of the absorbance which was equal to that of the inoculated medium without antibacterial agent) (Oussalah et al., 2007; Turgis et al., 2012).

2.7. Inhibition tests

In order to study the ability of the used products to inhibit the bacterial growth, inhibition tests were carried out in 96-well microplates. First, rectangular samples of 0.02 g of the films (5×8 mm²) were prepared and decontaminated by UV irradiation under laminary hood for 2 hours before the experiment. The samples were placed in the wells and 200 µL of MHB were introduced, followed by the injection of 15 µL of approximately 6 log CFU.mL⁻¹ of bacteria in peptone water. The microplate was then incubated for 24 hours at 37 °C and the OD was measured after removing the film samples from the wells. For the pure QAFPs samples, 100 µL of the medium was piped and several dilutions were made. For each dilution, a quantity of 100 µL was spread on the appropriate agar in petri dishes and incubated during 24 hours at 37 °C before performing the colony counting.

2.8. Bactericidal activity

Bactericidal activity tests were done with the aim of evaluation of the ability to kill the bacteria that are present in aqueous medium and reduce the bacterial concentration, they were carried out by using 6-well plates. For each bacteria solution, a dilution was prepared in peptone water with a concentration of approximately 6 log CFU.mL⁻¹. From this solution, a quantity of 4 mL was introduced in each well before polymeric film sample was added. The mass of the film to use was determined so as to obtain an amount of quaternary ammonium groups, in the well, equivalent to the value of the MIC. The masses of the different samples are shown in Table 1. The films that were tested are those made of pure QAFP and those of 60 wt.% QAFP in conventional matrix of PLA or PCL in the case of ADCl grafted QAFP, and pure QAFP in the case of MADCl grafted ones. The plate was then placed at 4 °C, this temperature allows the storage of the bacteria and keeps the bacterial concentration constant during a sufficiently long time to do the tests (Rattanachaikunsopon & Phumkhachorn, 2008;

Garriga et al., 2002), so the diminution in this value will be attributed to the presence of the films, a control sample was used for each test to confirm the conservation of the bacterial concentration during the test period. Samples of 100 μ L of this solution were collected at different times: 0, 1, 2, 3, 5 and 24 hours. Several dilutions were made from this volume and 100 μ L of each dilution was spread on the appropriate agar in petri dishes. Those were incubated at 37 °C for 24 hours before colony counting. Since the number of colonies counted allows to track back the bacterial concentration in the well, a monitoring of the evolution of bacterial concentration was done.

Table 1. Masses of the film samples used for bactericidal activity evaluation.

Bacteria	<i>E. coli</i>		<i>S. Typhimurium</i>		<i>L. monocytogenes</i>	
QAFP wt.% in the film	100	60	100	60	100	60
Mass (g) in case of ADCl grafted QAFP	0.254	0.423	0.279	0.466	0.318	0.529
Mass (g) in case of MADCl grafted QAFP	1.042	/	1.042	/	1.042	/

2.9. Bacterial growth kinetic

Inspired from literature (Bahabadi et al., 2016; Mohamed et al., 2014; Othman et al., 2011; Santiago et al., 2015), film samples (1.116 g each) were put in a sterilized tube and 11.16 mL of MHB was added. Afterwards, 0.838 mL of different bacteria (*E. coli*, *S. Typhimurium* or *L. monocytogenes*) previously prepared in peptone water (approximately 6 log CFU.mL⁻¹) was added to each tube. The tubes were then incubated at 37 °C and samples of 215 μ L were regularly collected from each tube during 22 hours. These volumes were introduced in the wells of a 96-well microplate to perform OD measurements. Both pure QAFP films and different formulations were tested.

A simplified scheme summarizing the different experiments steps is in Supporting Information S4.

2.10. Release assay

In order to investigate an eventual release of the quaternary ammonium moieties from the films to the media, agar diffusion tests were inspired from literature and carried out according to the method attended by three different authors (Asri et al., 2014; Burujeny et al., 2015; Villanueva et al., 2015) and allowing to know if the quaternary ammonium moieties were effectively immobilized in the polymers and to conclude if the antibacterial action of the films occurs by contact with bacteria or by the release of active moieties, this tests were performed for all the used films with the three bacteria (resp. *E. coli*, *S. Typhimurium* and *L. monocytogenes*) in the appropriate agar medium (resp. MacConkey Sorbitol Agar, DCLS Agar and PALCAM Agar) : 100 μL of an aqueous solution (in peptone water) of about 6 log CFU.mL⁻¹ of bacteria was spread on the agar in petri dish then a circular sample of each film with 1 cm diameter was placed on, the petri dish was then incubated at 37 °C for 24 hours before analyzing the eventual inhibition zone around the circular film.

2.11. Statistical analysis

The experiments were done in triplicates and the results are presented as average values with standard deviations calculated from replicate measurements using student's t-test method (Microsoft Excel, Microsoft France Corporation, France)

V.3. Results and discussion

3.1. Minimal inhibitory concentration (MIC) and maximal tolerated concentration (MTC) of ADCl and MADCl

After measurements in the inoculated media containing different concentrations of the acrylic (ADCl) or the methacrylic (MADCl) monomers, the evolution of the OD as a function of the concentration of the monomer was represented as curves with their standard deviations (Fig. 3). The values of the standard deviations were reasonable comparing to the represented average values of the OD. For both the monomers and with all three bacteria, OD decreases when the concentration of the monomer increases before reaching a plateau. This means that

the more concentrated the medium is with the monomer, the more inhibited bacterial growth is. On the curve of OD as a function of the monomer concentration, the point corresponding to the beginning of the decrease in OD corresponds to the value of the MTC and the first point of the plateau at the lower values of OD corresponds to the MIC value; these results are reported in Table 2, as average values, which were calculated from the triplicates, with the corresponding standard deviations. No great differences were observed between the values of the triplicates.

In literature, there is no evaluation of MIC or MTC of these monomers against the investigated bacteria in this work, the MIC of MADCl was evaluated only against a fungi (*Candida spp.*) (Stopiglia et al., 2012), thirty-one *Candida* strains were used in the cited study and the MIC of MADCl was found to be between 2.5 and 10 wt.% depending on the strains, this range comprises the value of 8.6 wt.% which was found in this work (Table 2). The European Chemical Agency (ECHA) published a study report (ECHA, 1999) about the antibacterial effect of ADCl against *Pseudomonas putida* which is a Gram-negative bacterium, the MIC of ADCl was found around 0.3 wt.%.

In Table 2, the values for both MIC and MTC are higher for MADCl than for ADCl. This means that the acrylic monomer (ADCl) is more efficient than its methacrylic counterpart (MADCl) in inhibition of all three bacteria. This difference can be related to the chemical structures of the monomers, the only difference between the two structures of the monomers is in the tail end group: acrylate group for ADCl and methacrylate group for MADCl, it is well known that the acrylic group is more hydrophilic than the methacrylic one because of the presence of an additional methyl in the structure of the last one, and as a result, for the same structure, acrylic monomers are more hydrophilic than methacrylic ones (Baute et al., 1998; Warson & Finch, 2001; Wong et al., 2016), in the other hand the first step of the mechanism of the antibacterial action of the quaternary ammonium monomers, which is the attraction between the bacterium and the monomer, is highly dependent on the electrostatic interactions between the two parts, the bacterial cell membranes are hydrophilic under physiological conditions in the most cases and show higher interaction and better contact with hydrophilic compounds than hydrophobic ones (Bruinsma et al., 2001; Chung et al., 2004; Pavithra & Doble, 2008), this is probably the reason why ADCl, thanks to its higher hydrophilicity, is more efficient as bacterial growth inhibitor than MADCl.

Each monomer has approximatively the same values of MIC and MTC against *E. coli* and *S. Typhimurium*, which are Gram-negative bacteria, but higher values were observed against *L. monocytogenes*, which is Gram-positive bacteria. This can be explained by the fact that Gram-negative bacteria are more hydrophilic than Gram-positive ones (Ohta et al., 2008) so quaternary ammonium monomers, which are hydrophilic, are more attracted by Gram-negative than by Gram-positive bacteria. The fact can also be attributed to the differences in the cell membranes between Gram-positive and Gram-negative bacteria. The Gram-positive ones have a multilayered membrane of peptidoglycan while the cell membrane of Gram-negative bacteria is a single thin membrane of peptidoglycan (Sun et al., 2006) and thus the cell membranes of *E. coli* and *S. Typhimurium* are easier to disrupt than that of *L. monocytogenes*.

Table 2. MIC and MTC values of ADCl and MADCl against *E. coli*, *S. Typhimurium* and *L. monocytogenes*, expressed in wt. % of the inoculated solution.

	ADCl		MADCl	
	MIC (wt.%)	MTC (wt.%)	MIC (wt.%)	MTC (wt.%)
<i>E. coli</i>	2.0±0.006	0.1±0.016	8.6±0.049	0.6±0.023
<i>S. Typhimurium</i>	2.2±0.045	0.1±0.008	8.6±0.091	0.6±0.012
<i>L. monocytogenes</i>	2.5±0.033	0.3±0.031	8.6±0.701	1.4±0.021

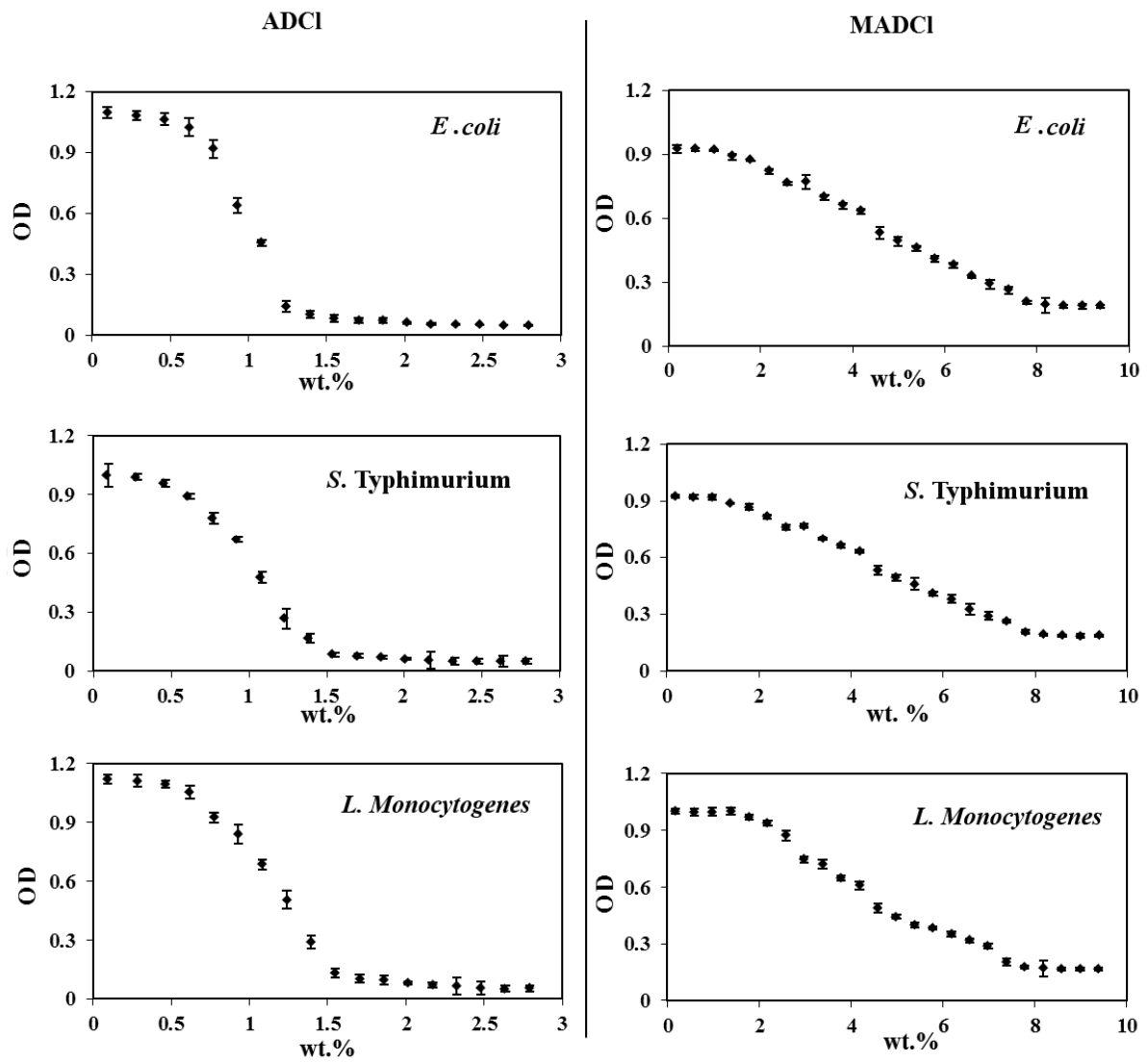


Fig. 3. Optical density versus active monomer concentration for all three bacteria, after 24-hour incubation at 37 °C with the presence of ADCl (left) or MADCl (right) in the inoculum.

3.2. Inhibition tests

OD values after 24-hour incubation with pure films of QAFPs, thiol functionalized polymers and commercial polymer matrices are presented in Fig. 4. The colony counts on agar dishes were also carried out in the case of QAFPs (Fig. 5). The films made of formulations of QAFPs in commercial polymer matrices were also investigated and their related OD results are presented in Fig. 6. All these results are presented with their corresponding standard deviations that were determined from the triplicates. No great variations were observed between the values of the triplicates.

As shown on Fig. 4, for each bacterial strain test, two controls were used: one containing only MHB (Ctrl.MHB) and the other containing the MHB inoculated with bacteria (Ctrl.MHB+*E.coli*, Ctrl.MHB+*S.Typhimurium*, and Ctrl.MHB+*L.monocytogenes*). These controls show that an effective bacterial growth occurred and increased the OD of the medium from about 0.05 to 1. This figure also shows that there is no significant bacterial inhibition effect for the conventional neat polymers (PLA and PCL) against the three bacteria: the OD values corresponding to these samples are approximately equal to the control ones. Concerning the multi-thiol functionalized polymers, PLA-SH, PCL-SH and PHB-SH samples, a small decrease in OD was observed compared to the control; this demonstrates a weak bacterial inhibition activity of these polymers which is due to the presence of thiol functions in their structures. These functions are known to have antimicrobial activity and many works were carried out on this subject (Dominico et al., 1997; Wiradharma et al., 2011; Yomogida et al., 1995). However QAFPs films show an important decrease in OD demonstrating a high bacterial inhibition against both *E.coli*, *S. Typhimurium* as well as for *L. monocytogenes*. This confirms that QAFPs films are antibacterial and that their antibacterial activity is due to grafting quaternary ammonium monomers on their thiol-functionalized end chains. Colony count on agar dishes allowed the determination of bacterial concentrations in the different media containing QAFPs film samples and the results are presented in Fig. 5, expressed in log CFU of bacteria/mL of the inoculated medium. The control sample confirms that bacterial growth occurred and bacterial concentration increased by 2.4, 4.2 and 5.3 log CFU.mL⁻¹ for respectively *E.coli*, *S. Typhimurium* and *L. monocytogenes* after one day. On the other hand, in the presence of QAFPs the bacterial concentration decreased after one day relatively to the control at time=0, so it can be concluded that there is not only a bacterial growth inhibition when QAFPs films are introduced in the solution but also a bactericidal activity. The OD measurements (Fig. 4) showed a more important decrease in the cases of ADCl grafted

QAFPs (PLAgAD, PCLgAD and PHBgAD) compared to the MADCl grafted ones (PLAgMAD, PCLgMAD and PHBgMAD). This observation leads to conclude that the ADCl grafted QAFPs are more efficient inhibitors than their MADCl grafted counterparts. This is confirmed by the colony count on agar (Fig. 5) for all the samples except for PLA based QAFPs against *E.coli*. For instance, PLAGMAD decreased the bacterial concentration more efficiently than its PLAGAD counterpart and it can be explained by the fact that an OD measurement takes all the objects in the investigated medium into account, including dead bacteria while a colony count on agar gives the concentration of only living bacteria. Fig. 6 shows a decrease in the OD of the media containing films in the cases of all the formulations and against *E.coli*, *S. Typhimurium* and *L. monocytogenes*. This decrease starts to appear when 10 wt.% of QAFPs are added into the film and it becomes more and more important with the increase of the wt.% QAFPs content in the films. Films containing 0 wt.% QAFPs (PLA and PCL) did not show a decrease in OD after a one day incubation, so it can be concluded that the antibacterial effect was obtained by incorporating QAFPs into the films for which the inhibition efficiency depends on the QAFPs content. Many studies were carried out about the effect of the quaternary ammonium groups content in materials on enhancing their antibacterial activity (Cavallaro et al., 2016; Kügler et al., 2005; Li et al., 2014) and the authors introduced a variable to better describe and understand this relationship, the variable is the “charge density” expressed in surface charge per surface unit (surface charge.cm⁻¹ or N⁺.cm⁻¹) and gives the number of the quaternary ammonium groups per surface unit of the material, this way of studying the effect of the quaternary ammonium content on the antibacterial efficiency is consistent and interesting since the mechanism of the antibacterial action of this kind of materials (explained in the following sections) occurs by contact between the surface of the film and the bacterial cell allowing the quaternary ammonium groups to kill the bacteria without requiring the penetration of the polymer in the bacterial cell. Murta et al. (2007) immobilized quaternary ammonium brushes, obtained by polymerization of MADCl, on the surfaces of glass slides and silicone wafers and demonstrated that the antibacterial activity of the obtained materials against *E. coli* increases by increasing the surface charge density i.e. by increasing the number of the quaternary ammonium groups. Huang et al. (2008) observed the same result after grafting MADCl on glass slides and obtained a linear correlation between the number of killed bacteria (*E. coli*) and the number of the quaternary ammonium groups on the surface of the tested material, the author explained this result by the fact that the increase in the number of quaternary

ammonium groups intensifies the exchanges between these groups and the bacterial cells during the antibacterial mechanism.

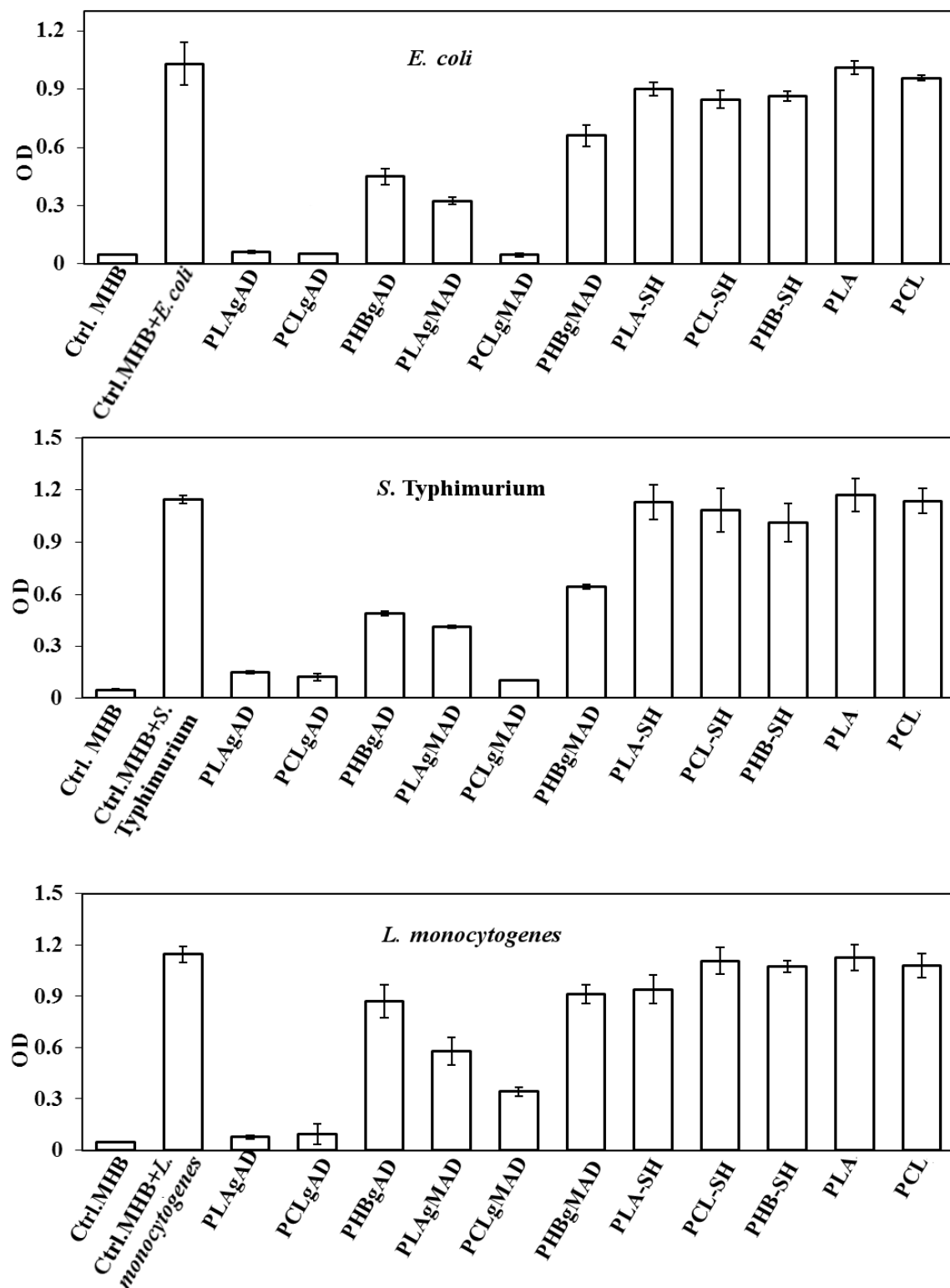


Fig. 4. Bacterial growth inhibition by the pure films, represented by OD measurements after 24 hours of incubation at 37 °C. Ctrl.MHB: control sample with only MHB and without bacteria or film. Ctrl.MHB+*E. coli*, Ctrl.MHB+*S. Typhimurium* and Ctrl.MHB+*L.*

monocytogenes are control samples without films and inoculated with respectively *E.coli*, *S. Typhimurium* and *L. monocytogenes*.

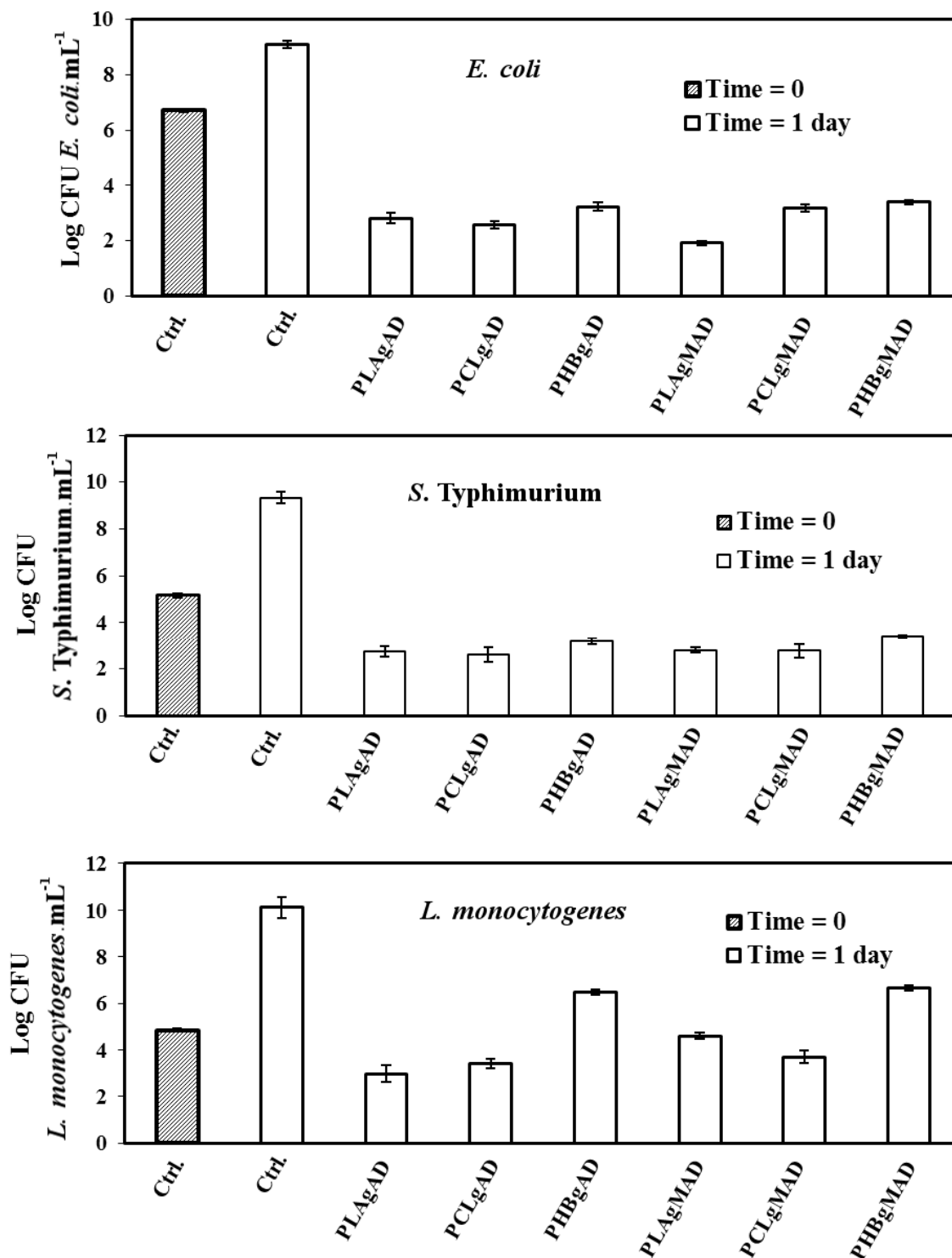


Fig. 5. Bacterial concentration, in log CFU.mL⁻¹, in the inoculated medium after 1 day of incubation at 37°C, with pure QAFPs films. Ctrl: control sample inoculated with bacteria without film. The values were demined by colony counts on the appropriate agar and going back to the concentration in the medium taking into account the different dilutions.

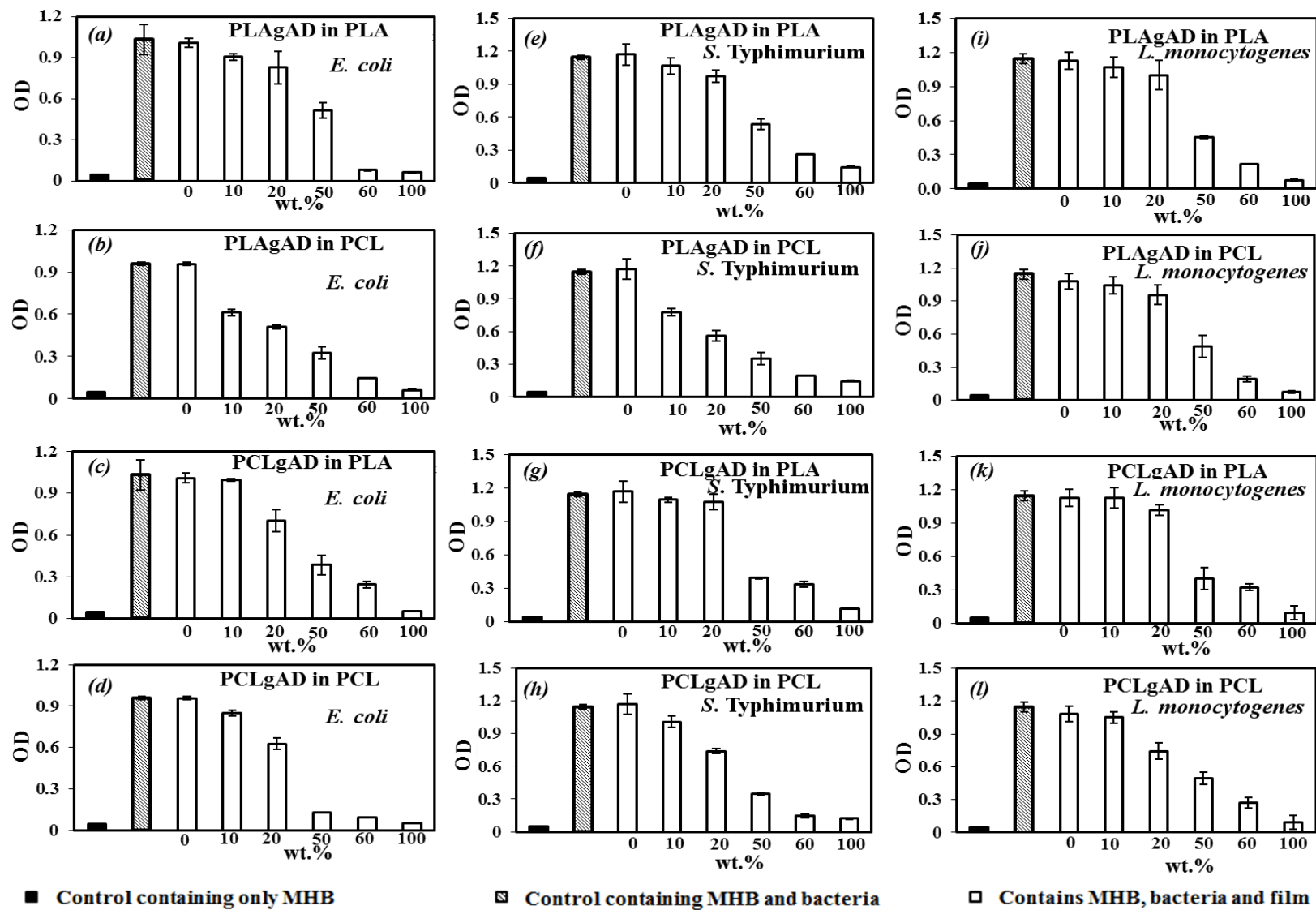


Fig. 6. Inhibition tests of the different formulations of QAFPs in neat matrices, expressed by the values of the OD of the inoculated media versus the QAFP content (in wt.%) in the matrix, after 1 day of incubation at 37°C, with *E.coli* (a-d), *S.Typhimurium* (e-h) and *L.monocytogenes* (i-l).

3.3. Bactericidal activity

The bactericidal activity of films made of pure QAFPs and those containing 60 wt.% QAFP was investigated; the results are illustrated respectively on Fig. 7 and Fig. 8 as bacterial concentrations with their corresponding standard deviations. No great values of the standard deviations were observed comparing to the average values of the bacterial concentrations.

The control sample (Ctrl.) showed that the bacterial concentration was kept almost constant when there was no film in the inoculated medium. A slight decrease was still observed and probably due to the natural death of a small number of bacteria caused by the absence of nutrient in the medium which is peptone water at 4 °C. Both pure QAFPs and their 60 wt.% formulations showed an important decrease of the bacterial concentration for the three tested strains after only one hour of contact between the films and the bacteria containing solution. Some film samples were able to kill all the bacteria present in the medium and decrease the bacterial concentration to 0 CFU.mL⁻¹ after 2 hours of contact (Fig. 7.b: PCLgAD against *S.Typhimurium* and Fig. 7.c: PHBgAD and PCLgMAD against *L. monocytogenes*). After 24 hours of contact, a total elimination of the bacteria was observed with most samples. The films containing 60 wt. % QAFPs showed nearly the same bactericidal efficiency as the pure QAFPs ones and in some cases a greater efficiency, as shown in Fig. 7.a and Fig. 8.a. This is probably due to the difference in monomers distribution on the surfaces of the films. The size of the films were determined so as to obtain a quaternary ammonium group concentration equal to the MIC of the corresponding monomer, so a larger surface of the film containing 60 wt.% QAFP was needed to reach this value compared to the pure QAFP one. Finally the same amount of quaternary ammonium groups was in the media but this amount was spread over a larger surface in the case of the film containing 60 wt.% QAFP compared to the pure QAFP one, and the probability of contact between the quaternary ammonium groups of the film and bacteria was enhanced by increasing the film's surface. Thus, in potential applications for these films, if the film's surface is the limiting restriction, the QAFP wt.% content can be modulated to meet this need; if the QAFP wt.% content is the constraint, it can be overcome by acting on the film's surface, while maintaining the same antibacterial efficiency in both situations.

Questions may arise about an eventual release of active moieties from the films to the bacterial medium to know if the antibacterial action occurs by contact between the films and the bacteria or by diffusion of the quaternary ammonium functionalized moieties from the

films to meet bacteria, the release tests that have been carried out in this work with all the films against the three bacteria showed that in all the cases there was no inhibition zone surrounding the film sample in the inoculated agar medium (Fig. S6 in Supporting Information) this result confirms that there was no release of active moieties from the films and that the antibacterial action occurs by contact (contact-killing mechanism, explained in the following section) and not by diffusion of antibacterial species (Asri et al., 2014; Burujeny et al., 2015; Villanueva et al., 2015). Many other studies were achieved and attest that since the quaternary ammonium compound is covalently attached to the polymer (as in this work) it becomes immobilized in the material and not susceptible to release or leaching (Bakhshi et al., 2013; Jampala et al., 2008; Xue et al., 2015). In a recent work, Burujeny et al. (2015) prepared dental materials in which quaternary ammonium methacrylate compounds (MADCl was among them) were immobilized by the mean of the same reaction as in this work: thiol-ene reaction between thiol functions and methacrylate groups of the monomers bearing the quaternary ammonium groups and found that the quaternary ammonium moieties were immobilized in the materials by doing the same agar diffusion tests. The immobilization of ADCl were also achieved successfully by Lee et al. (2012) first by adding it to chitosan according to a nucleophilic Michael addition then the resulted quaternary ammonium functionalized chitosan was grafted to silicon surface and still immobilized thanks to covalent bounds.

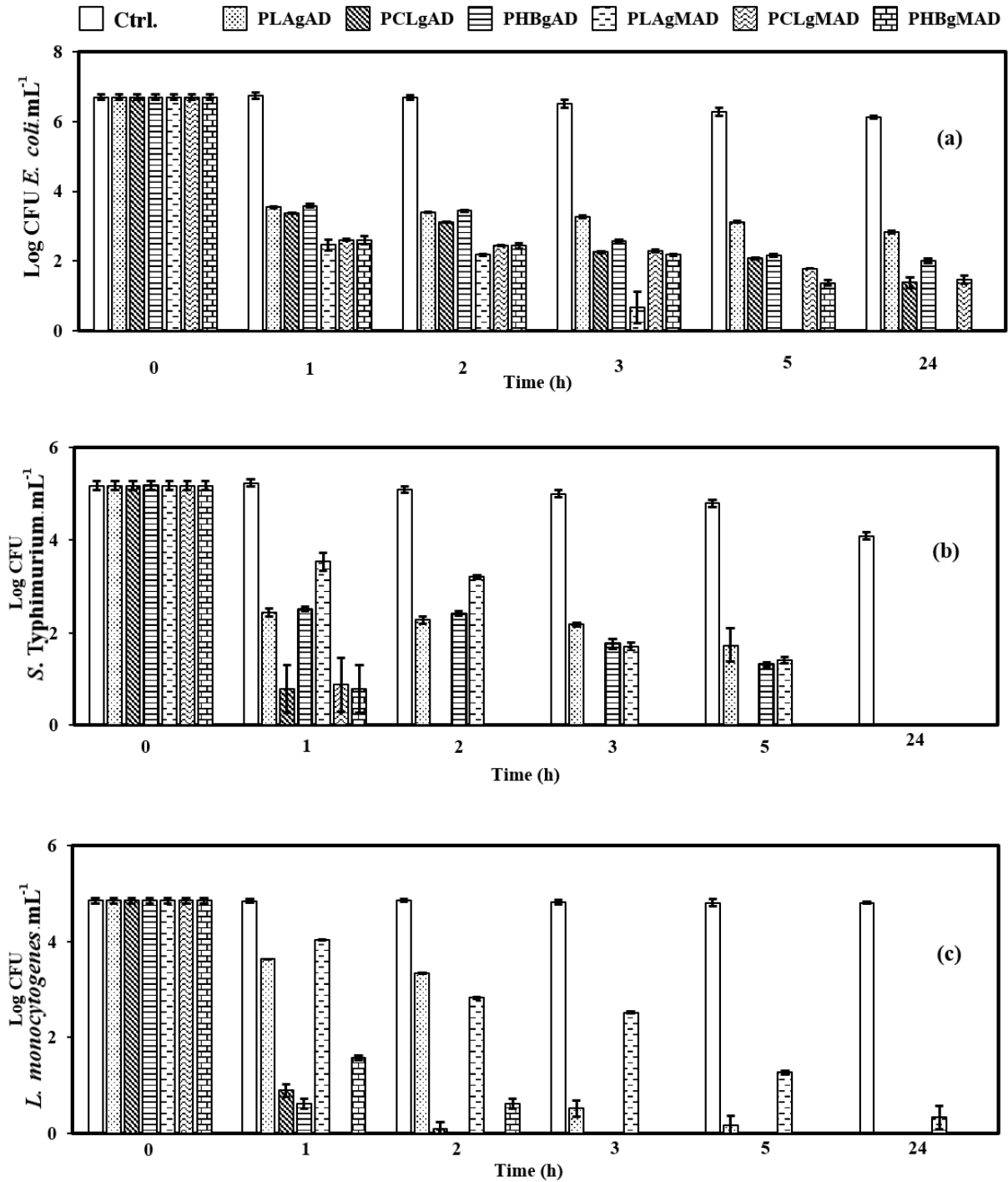


Fig. 7. Bacterial concentration in log CFU.mL⁻¹ versus time, in the inoculated media of peptone water at 4 °C with pure QAFP films. (a): with *E. coli*, (b): with *S. Typhimurium* and (c) with *L. monocytogenes*. Ctrl: contains bacteria in peptone water without film sample. The concentrations were determined by colony counts on agar dishes.

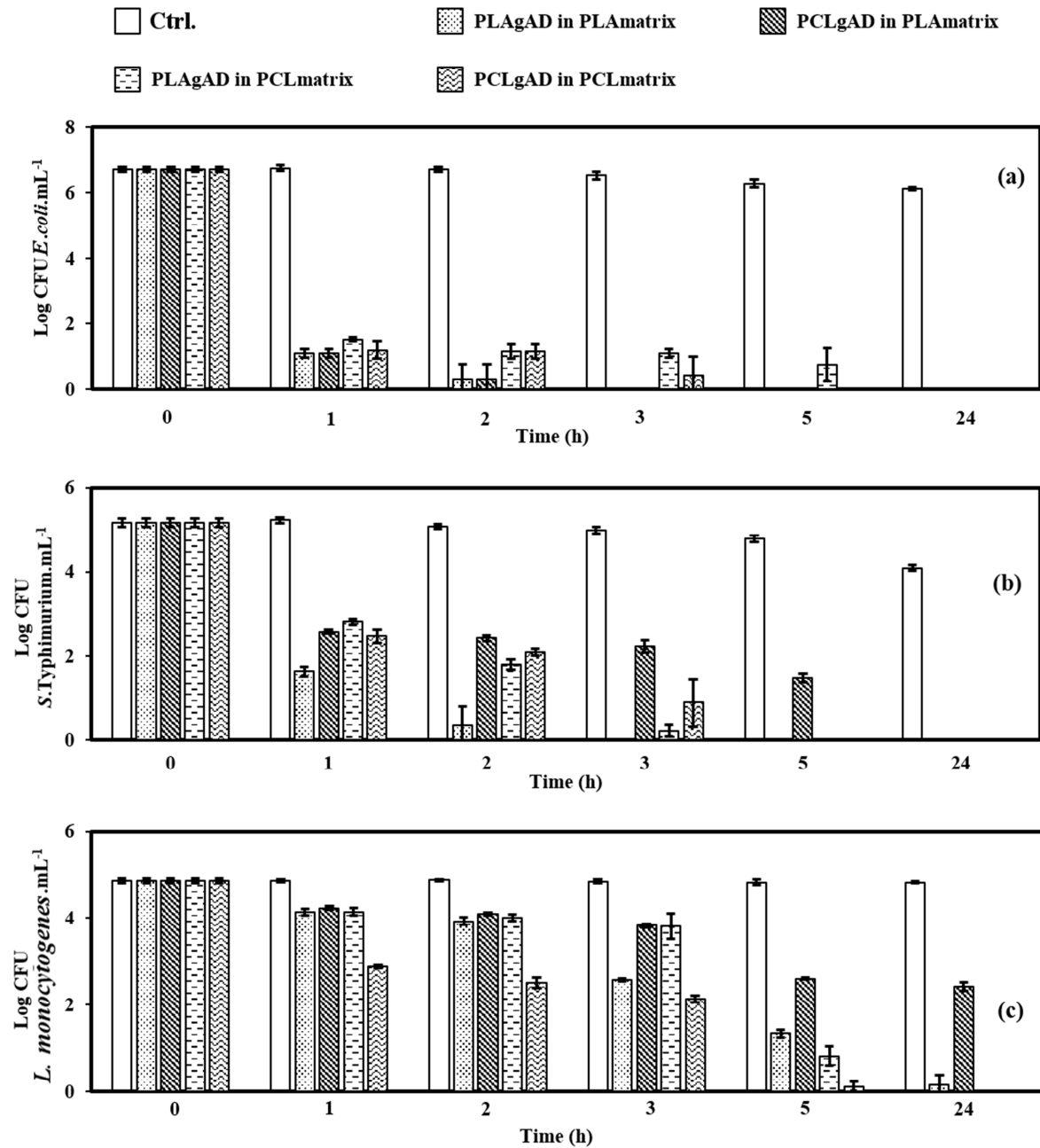


Fig. 8. Bacterial concentration in log CFU.mL⁻¹ versus time, in the inoculated media of peptone water at 4°C with films containing 60 wt.% QAFP . (a): with *E.coli*, (b): with *S. Typhimurium* and (c) with *L. monocytogenes*. Ctrl: contains bacteria in peptone water without film sample. The concentrations were determined by colony counts on agar dishes.

3.4. Bacterial growth kinetics

Figures 9, 10 and 11 show the bacterial growth monitoring of respectively *E. coli*, *S. Typhimurium* and *L. monocytogenes*, by measuring the OD of the inoculated media in the presence of the films made of different QAFPs formulations in the commercial polymer matrices, the maximum values of the standard relative deviations are indicated in the figure captions. These figures show that the evolution of the OD is affected by introducing the films in the inoculated media meaning that the bacterial growth is slowed down and this slowdown is proportional to the QAFP content in the film. No bacterial growth was observed in the case of 100 wt. % QAFP films; this was due to the fact that the quaternary ammonium group content in these films allowed for a higher concentration than the MIC value in the media, as known, the antibacterial activity of quaternary ammonium groups was preserved when these were dispersed in a solution or immobilized in a material such as a film (Berndt et al., 2010; Gottenbos et al., 2002; Mohamed Abo El Ola et al., 2004); the same phenomenon was observed for the 60 wt.% (except for PCLgAD in PLA against *E. coli*, Fig. 9). The efficiency of the contact-killing mechanism depends on the film's surface and the antibacterial group content and their dispersion in the films, but when the value of antibacterial group content becomes sufficient (60 wt.% in most cases) the increase in this value does not change the result (100 wt.%) and no bacterial growth was observed in either case.

The mechanism of the antibacterial action of the quaternary ammonium groups when they are immobilized in a polymer (as in this work) attracted a great interest since there is no diffusion or release of the antibacterial moieties to the medium which contains bacteria, therefore it is evidently not the same mechanism as in the case of free quaternary ammonium monomers which will disrupt the cell membrane of the bacteria after penetrating it (Fig. 1), from the mechanistic point of view it is difficult to imagine a mechanism similar to the last one when the quaternary ammonium groups are linked and immobilized into a material. A new contact-killing mechanism of the antibacterial action of polymers endowing immobilized quaternary ammonium groups was proposed and approved by many independent studies (Asri et al., 2014; Bieser & Tiller, 2011; Chen & Cooper, 2002; Crismaru et al., 2011; Li et al., 2011; Siedenbiedel & Tiller, 2012; Villanueva et al., 2015): the cell membranes of the bacteria contains negatively charged phospholipids which are constantly in interaction with divalent cations such as calcium (Ca^{2+}) and magnesium (Mg^{2+}) ensuring the electronic equilibrium and acting as stabilizers or playing an important role in some vital functions of the bacteria, when the cell membrane is in contact with a quaternary ammonium group, electrostatic interactions

occurs between the negatively charged phospholipids and the positively charged ammonium which is better able to make ionic bonding with the phospholipids than the other divalent cations in the membrane are, as a consequence the divalent cations (no longer bounded to the phospholipids) are pulled out of the membrane causing the loss of the membrane integrity and its death, in other words the indispensable divalent cations are relieved of their function in charge neutralization of the negatively charged phospholipids in the membrane and are then free to be released out of the cell. The negatively charged phospholipids may also be withdrawn from the cell membrane due to the electrostatic interactions with the quaternary ammonium groups. So the higher the number of quaternary ammonium groups in the surface of the film is, the more the ion exchange between the film and the bacterial cell membranes is intensified (Huang et al., 2008), thus the antibacterial efficiency of the films depends on their QAFP content. A simplified schematic representation of this mechanism is in supporting information.

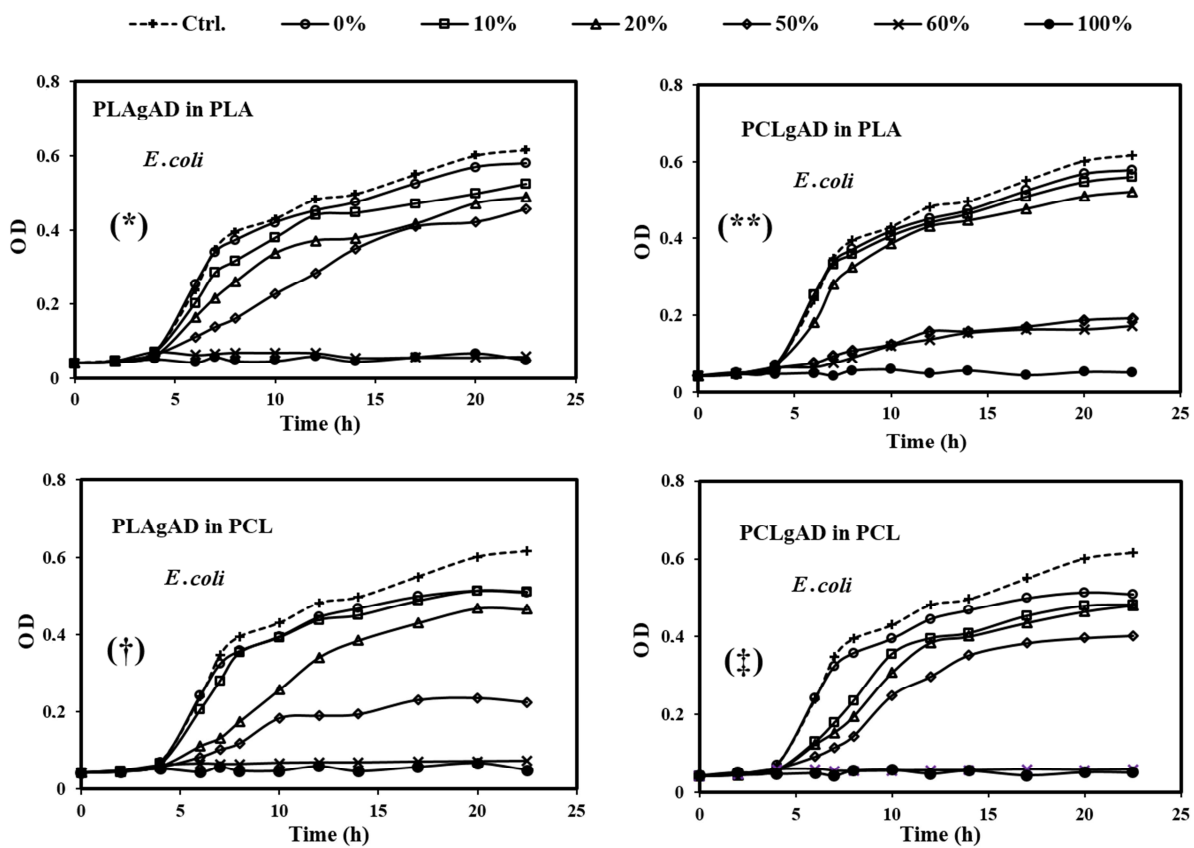


Fig. 9. *E. coli* growth curves in MHB with the presence of different formulations of QAFPs in conventional matrices, showing the effect of the QAFPs content on the bacterial growth, at 37°C. Ctrl: control without film. The maximum standard relative deviations were (*): 3.3, (**): 16.0, (†): 5.6 and (‡): 4.3 % of the average values.

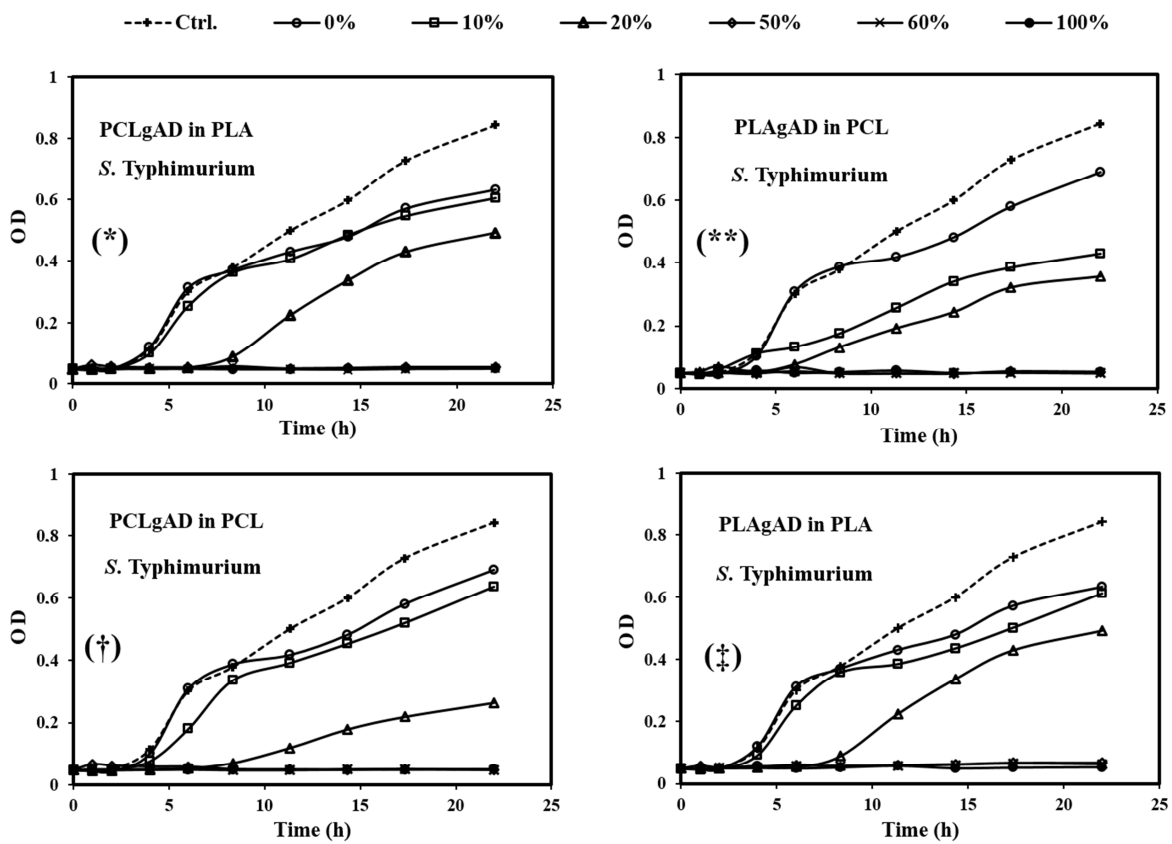


Fig. 10. *S. Typhimurium* growth curves in MHB with the presence of different formulations of QAFPs in conventional matrices, showing the effect of the QAFPs content on the bacterial growth, at 37 °C. Ctrl: control without film. The maximum standard relative deviations were (*): 2.1, (**): 17.8, (†): 1.1 and (‡): 2.0 % of the average values.

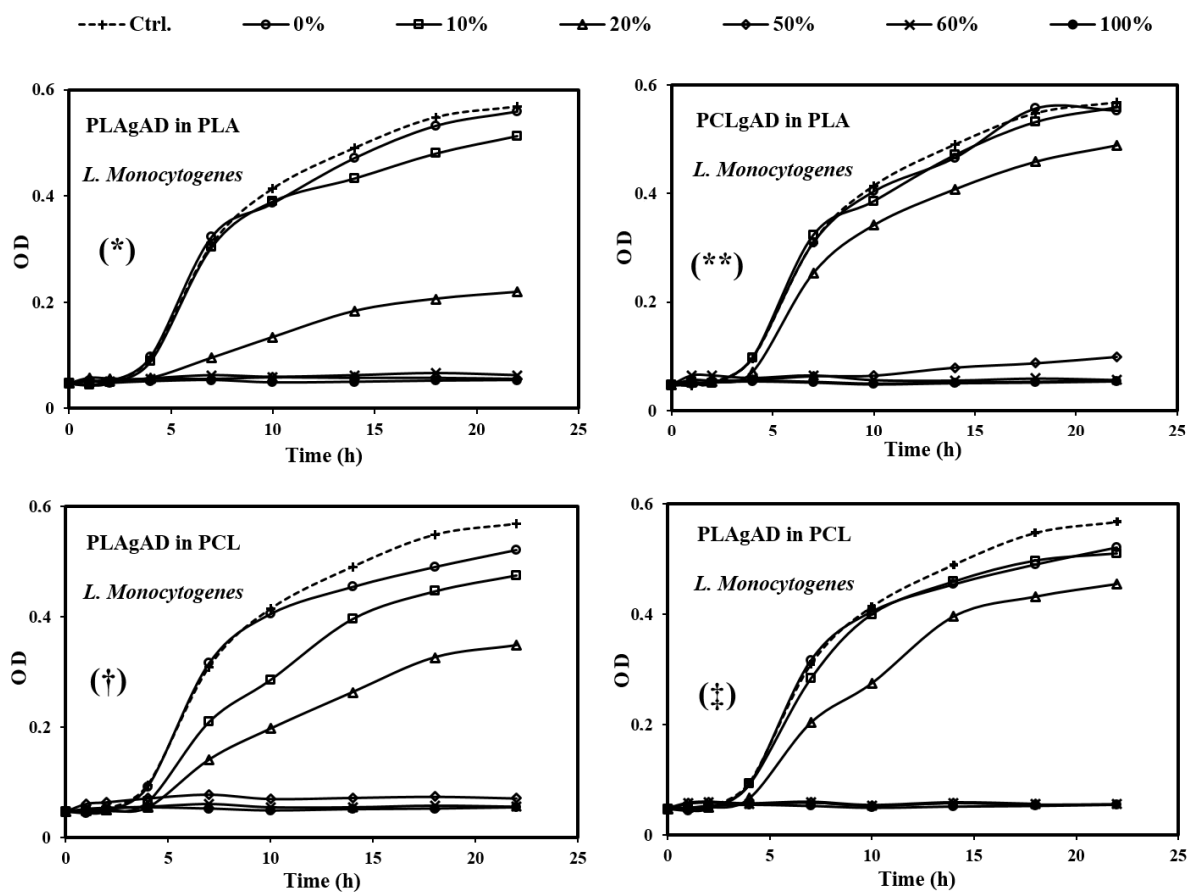


Fig. 11. *L. monocytogenes* growth curves in MHB with the presence of different formulations of QAFPs in conventional matrices, showing the effect of the QAFPs content on the bacterial growth, at 37°C. Ctrl: control without film. The maximum standard relative deviations were (*): 1.3, (**): 10.3, (†): 8.2 and (‡): 1.5 % of the average values.

V.4. Conclusion

Films of quaternary ammonium grafted polymers (QAFPs) based on branched structures of PLA, PCL and PHB biodegradable chains were assessed as antimicrobial polymers against Gram-negative (*E. coli* and *S. Typhimurium*) and Gram-positive (*L. monocytogenes*) bacteria. Formulations containing 10, 20, 50 and 60 wt.% of QAFPs in commercial polymer biodegradable matrices of PLA and PCL were also investigated and a high antibacterial activity was noted for these materials. The values of MIC and MTC of the quaternary ammonium active monomers grafted on the polymers were determined and revealed that the acrylic monomer (ADCl) was more efficient than the methacrylic one (MADCl) against the three tested bacteria, they also showed that *L. monocytogenes* (Gram-positive) is more resistant than the two other bacteria (Gram-negative). The inhibition tests showed that the antibacterial activity of the QAFPs is due to grafting quaternary ammonium monomers on their end chains, and the activity of the formulations is due to the introduction of QAFPs in the neat matrices. Bacterial colony count revealed a major decrease in the bacterial concentration thanks to the presence of the films in the media; for example: 6.3 log reduction for PLAgAD against *E. coli*, 6.7 log reduction in the case of PCLgAD against *S. Typhimurium* and 6.4 log reduction in the case of PCLgAD against *L. monocytogenes*. As expected, the formulations of QAFPs in matrices showed that the inhibition efficiency depended on the QAFPs content. The bactericidal tests showed, for most films, a total elimination of the bacteria by introducing the films in the media containing initially 6.7, 5.2 and 4.9 log CFU.mL⁻¹ of respectively *E. coli*, *S. Typhimurium* and *L. monocytogenes* after 24 hours of contact between the film and the inoculated media. Some samples revealed a total elimination of the bacteria after only 2 to 3 hours. The retarding effect on bacterial growth of both pure QAFPs films and their formulations in the conventional matrices has been demonstrated. This retarding effect was emphasized by increasing the QAFPs content in the matrices. The agar diffusion tests showed that there is no release of quaternary ammonium moieties from the QAFP films and their containing formulations, the combination of all these results leads to assume that the antibacterial action of these materials occurred according to the contact-killing mechanism which is approved in literature. In addition to being highly antibacterial, these materials are constituted of biodegradable polymer chains (and bio sourced in the cases of PLA and PHB) which are abundant in nature. The quaternary ammonium active monomers used are economically available and the obtained products are shapeable in the melt phase. The antibacterial activity of the compounds used was preserved

even after chemical grafting and in-melt processing, so finally these materials offer numerous advantages for antimicrobial applications.

Acknowledgments

This research was supported by:

The French Ministry of High Education and Scientific Research supported the PhD scholarship of Kedafi Belkhir (MESR, ENS 2013-311).

The “Programme Avenir Lyon Saint-Etienne” (PALSE) supported the three months research internship of Kedafi Belkhir (deliberation n° 39/CA/2015) at INRS-Institute Armand-Frappier, Canada.

Jean Monnet university of Saint-Etienne, France, supported the travel expenses of Kedafi Belkhir between France and Canada (Research Committee of October 15th 2015).

The Research Laboratories in Sciences Applied to Food, INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, QC, Canada, supported all the experiments related to the antibacterial tests and ensured the achievements of the internship of Kedafi Belkhir in its locals.

V.5. References

- Abreu, A. S., Oliveira, M., de Sá, A., Rodrigues, R. M., Cerqueira, M. A., Vicente, A. A., & Machado, A. V. (2015). Antimicrobial nanostructured starch based films for packaging. *Carbohydr. Polym.*, 129, 127-134.
- Asri, L. A. T. W., Crismaru, M., Roest, S., Chen, Y., Ivashenko, O., Rudolf, P., Tiller, J. C., van der Mei, H. C., Busscher, H. J., & Loontjens, T. J. A. (2014). A Shape-Adaptive, Antibacterial-Coating of Immobilized Quaternary-Ammonium Compounds Tethered on Hyperbranched Polyurea and its Mechanism of Action. *Adv. Funct. Mater.*, 24 (3), 346-355.
- Bahabadi, M. N., Delavar, F. H., Mirbakhsh, M., Niknam, K., S. A. Johari, S. A. (2016). Assessment of antibacterial activity of two different sizes of colloidal silver nanoparticle (cAgNPs) against *Vibrio harveyi* isolated from shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquacult. Int.* DOI: 10.1007/s10499-016-0043-8.
- Bakhshi, H., Yeganeh, H., Mehdipour-Ataei, S., Shokrgozar, M. A., Yari, A., & Saedi-Eslami, S. N. (2013). Synthesis and characterization of antibacterial polyurethane coatings from quaternary ammonium salts functionalized soybean oil based polyols. *Mater. Sci. Eng. : C*, 33 (1), 153-164.
- Baute, N., Teyssié, P., Martinot, L., Mertens, M., Dubois, P., & Jérôme, R. (1998). Electrografting of Acrylic and Methacrylic Monomers onto Metals: Influence of the Relative Polarity and Donor–Acceptor Properties of the Monomer and the Solvent. *Eur. J. Inorg. Chem.*, 1998 (11), 1711-1720.
- Belkhir, K., Jegat, C., & Taha, M. (2016). Thiol–ene grafting from polylactic acid, polycaprolactone, and polyhydroxybutyrate. *React. Funct. Polym.*, 101, 82-89.
- Belkhir, K., Shen, H., Chen, J., Jegat, C., & Taha, M. (2015). Synthesis of multi-thiol functionalized polylactic acid, polyhydroxybutyrate and polycaprolactone. *Eur. Polym. J.*, 66, 290-300.
- Benavides, S., Villalobos-Carvajal, R., & Reyes, J. E. (2012). Physical, mechanical and antibacterial properties of alginate film: Effect of the crosslinking degree and oregano essential oil concentration. *J. Food Eng.*, 110, 232-239.

- Berndt, E., Behnke, S., Dannehl, A., Gajda, A., Wingender, J., & Ulbricht, M. (2010). Functional coatings for anti-biofouling applications by surface segregation of block copolymer additives. *Polymer*, 51 (25), 5910-5920.
- Bieser, A. M., & Tiller, J. C. (2011). Mechanistic Considerations on Contact-Active Antimicrobial Surfaces with Controlled Functional Group Densities. *Macromol. Biosci.*, 11 (4), 526-534.
- Bruinsma, G. M., van der Mei, H. C., & Busscher, H. J. (2001). Bacterial adhesion to surface hydrophilic and hydrophobic contact lenses. *Biomaterials*, 22 (24), 3217-3224.
- Buonocore, G. G., Sinigaglia, M., Corbo, M. R., Bevilacqua, A., La Notte, E., & Del Nobile, M. A. (2004). Controlled release of antimicrobial compounds from highly swellable polymers. *J. Food Prot.*, 67 (4), 1190-1194.
- Burujeny, S. B., Atai, M., & Yeganeh, H. (2015). Assessments of antibacterial and physico-mechanical properties for dental materials with chemically anchored quaternary ammonium moieties: Thiol-ene-methacrylate vs. conventional methacrylate system. *Dent. Mater.*, 31(3), 244-261.
- Burujeny, S. B., Atai, M., & Yeganeh, H. (2015). Assessments of antibacterial and physico-mechanical properties for dental materials with chemically anchored quaternary ammonium moieties: Thiol-ene-methacrylate vs. conventional methacrylate system. *Dent. Mater.*, 31 (3), 244-261.
- Cavallaro, A., Mierczynska, A., Barton, M., Majewski, P., & Valsilev, K. (2016). Influence of immobilized quaternary ammonium group surface density on antimicrobial efficacy and cytotoxicity. *Biofouling*, 32 (1), 13-24.
- Cerkez, I., Worley, S. D., Broughton, R. M., & Huang, T. S. (2013). Rechargeable antimicrobial coatings for poly(lactic acid) nonwoven fabrics. *Polymer*, 54 (2), 536-541.
- Chen, C. Z. & Cooper, S. L. (2002). Interactions between dendrimer biocides and bacterial membranes. *Biomaterials*, 23 (16), 3359-3368.
- Chung, Y-. C., Su, Y-. P., Chen, C-. C., Jia, G., Wang, H.- I., Wu, J. C. G., Lin, J-. G. (2004). Relationship between antibacterial activity of chitosan and surface characteristics of cell wall. *Acta. Pharmacol. Sin.*, 25 (7), 932-936.

Colak, B. Y., Peynichou, P., Galland, S., Oulahal, N., Assezat, G., Prochazka, F., & Degrave, P. (2015). Active biodegradable sodium caseinate films manufactured by blown-film extrusion: Effect of thermo-mechanical processing parameters and formulation on lysozyme stability. *Ind. Crops Prod.*, 72, 142-151.

Colonna, M., Berti, C., Binassi, E., Fiorini, M., Sullalti, S., Acquasanta, F., Vannini, M., Gioia, D. D., & Aloisio, I. (2012). Imidazolium poly(butylene terephthalate) ionomers with long-term antimicrobial activity. *Polymer*, 53(9), 1823-1830.

Coneski, N. P., Fulmer, P. A., Giles, S. L., & Wynne, J. H. (2014). Lyotropic self-assembly in electrospun biocidal polyurethane nanofibers regulates antimicrobial efficacy. *Polymer*, 55 (2), 495-504.

Cornell, R. J., & Donaruma, L. G. (1965). 2-Methacryloxytropones. Intermediates for the synthesis of biologically active polymers. *J. Med. Chem.*, 8 (3), 388-390.

Criado, P., Fraschini, C., Salmieri, S., & Lacroix, M. (2014). Modification of Nanocrystalline Cellulose for Bioactive Loaded Films. *J. Res. Updates Polym. Sci.*, 3 (2), 122-135.

Crismaru, M., Asri, L. A. T. W., Loontjens, T. J. A., Krom, B. P., de Vries, J., van der Mei, H. C., & Busscher, H. J. (2011). Mechanisms of Action: Physiological Effects Survival of Adhering Staphylococci during Exposure to a Quaternary Ammonium Compound Evaluated by Using Atomic Force Microscopy Imaging. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 55 (11), 5010-5017.

de Moura, M. R., Mattoso, L. H. C., & Zucolotto, V. (2012). Development of cellulose-based bactericidal nanocomposites containing silver nanoparticles and their use as active food packaging. *J. Food Eng.*, 109 (3), 520-524.

Dominico, P., Salo, R. J., Novick, S. G., Schoch, P. E., Van Horn, K., Cunha, B. A. (1997). Enhancement of bismuth antibacterial activity with lipophilic thiol chelators. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 41 (8), 1697-1703.

ECHA (European Chemical Agency). (1999). [2-(Acryloyloxy)ethyl]trimethylammonium chloride, Ecotoxicological information. Study report. <https://newsletter.echa.europa.eu/pl/web/guest/registration-dossier/-/registered-dossier/14693/6/2/8>

- Eknoian, M. W., Worley, S. D., Bickert, J., & Williams, J. F. (1999). Novel antimicrobial *N*-halamine polymer coatings generated by emulsion polymerization. *Polymer*, 40 (6), 1367-1371.
- Förch, R., Duque, L., & Lotz, A. (2014). Antimicrobial Bioactive Polymer Coatings. *Comprehensive Materials Processing*, 4, 449-459.
- Ganewatta, M. S., Tang, C. (2015). Controlling macromolecular structures towards effective antimicrobial polymers. *Polymer*, 63, A1-A29.
- Garriga, M., Aymerich, M. T., Costa, S., Monfort, J. M., & Hugas M. (2002). Bactericidal synergism through bacteriocins and high pressure in a meat model system during storage. *Food Microbiol.*, 19 (5), 509-518.
- Gilbert, P., & Moore, L. E. (2005). Cationic antiseptics: diversity of action under a common epithet. *J. Appl. Microbiol.* 99 (4) (2005) 703-715.
- Gottenbos, B., van der Mei, H. C., Klatter, F., Nieuwenhuis, P., & Busscher, H. J. (2002). In vitro and in vivo antimicrobial activity of covalently coupled quaternary ammonium silane coatings on silicone rubber. *Biomater.*, 23 (6), 1417-1423.
- Huang, J., Koepsel, R. R., Murata, H., Wu, W., Lee, S. B., Kowalewski, T., Russell, A. J., & Matyjaszewski, K. (2008). Nonleaching Antibacterial Glass Surfaces via “Grafting Onto”: The Effect of the Number of Quaternary Ammonium Groups on Biocidal Activity. *Langmuir*, 24 (13), 6785-6795.
- Imran, M., Revol-Junelles, A. M., René, N., Jamshidian, M., Akhtar, M. J., Arab-Tehrany, E., Jacquot, M., & Desobry, S. (2012). Microstructure and physico-chemical evaluation of nano-emulsion-based antimicrobial peptides embedded in bioactive packaging films. *Food Hydrocolloid*, 29 (2), 407-419.
- Jain, A., Duvvuri, L. S., Farah, S., Beyth, N., Domb, A. J., & Khan, W. (2014). Antimicrobial Polymers. *Adv. Healthcare Mater.*, 3 (12), 1969-1985.
- Jampala, S. N., Sarmadi, M., Somers, E. B., Wong, A. C. L., & Denes, F. S. (2008). Plasma-Enhanced Synthesis of Bactericidal Quaternary Ammonium Thin Layers on Stainless Steel and Cellulose Surfaces. *Langmuir*, 24 (16), 8583-8591.

- Khan, A., Gallah, H., Riedl, B., Bouchard, J., Safrany, A., & Lacroix, M. (2016). Genipin cross-linked antimicrobial nanocomposite films and gamma irradiation to prevent the surface growth of bacteria in fresh meats. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 35, 96-102.
- Kügler, R., Bouloussa, O. & Rondelez, F. (2005). Evidence of a charge-density threshold for optimum efficiency of biocidal cationic surfaces. *Microbiology*, 151 (5), 1341-1348.
- Lee, H.- S., Yee, M. Q., Eckmann, Y. Y., Hickok, N. J., Eckmann, D. M., & Composto, R. J. (2012). Reversible swelling of chitosan and quaternary ammonium modified chitosan brush layers: effects of pH and counter anion size and functionality. *J. Mater. Chem.*, 22 (37), 19605-19616.
- Lee, I., Roh, J., Lee, J., Song, J., & Jang, J. (2016). Antibacterial performance of various amine functional polymers coated silica nanoparticles. *Polymer*, 83, 223-229.
- Li, F., Weir, M. D., Chen, J., & Xu, H. H. (2014). Effect of charge density of bonding agent containing a new quaternary ammonium methacrylate on antibacterial and bonding properties. *Dent. Mater.*, 30 (4), 433-441.
- Li, P., Poon, Y. F., Li, W., Zhu, H.- Y., Yeap, S. H., Cao, Y., Qi, X., Zhou, C., Lamrani, M., Beuerman, R. W., Kang, E.- T., Mu, Y., Li, C. M., Chang, M. W., Leong, S. S. J., & Chan-Park, M. B. (2011). A polycationic antimicrobial and biocompatible hydrogel with microbe membrane suctioning ability. *Nat. Mater.*, 10 (2), 149-156.
- Majumdar, P., Lee, E., Gubbins, N., Stafslie, S. J., Daniels, J., Thorson, C. J., & Chisholm, B. J. (2009). Synthesis and antimicrobial activity of quaternary ammonium-functionalized POSS (Q-POSS) and polysiloxane coatings containing Q-POSS. *Polymer*, 50 (5), 1124-1133.
- Mohamed Abo El Ola, S., Kotek, R., Curtis White, W., Reeve, J. A., Hauser, P., & Kim, J. H. (2004). Unusual polymerization of 3-(trimethoxysilyl)-propyldimethyloctadecyl ammonium chloride on PET substrates. *Polymer*, 45 (10), 3215-3225.
- Mohamed, M. F., Hammac, G. K., Guptill, L., & Seleem, M. N. (2014). Antibacterial Activity of Novel Cationic Peptides against Clinical Isolates of Multi-Drug Resistant *Staphylococcus pseudintermedius* from Infected Dogs. *Plos One*, 9 (12), 1-20.

- Murata, H., Koepsel, R. R., Matyjaszewski, K., & Russel, A. J. (2007). Permanent, non-leaching antibacterial surfaces—2: How high density cationic surfaces kill bacterial cells. *Biomaterials*, 28 (32), 4870-4879.
- Muriel-Galet, V. M., Cran, M. J., Bigger S. W., Hernández-Muñoz, P., & Gavara, R. (2015). Antioxidant and antimicrobial properties of ethylene vinyl alcohol copolymer films based on the release of oregano essential oil and green tea extract components. *J. Food Eng.*, 149, 9-16.
- Nonaka, T., Hua, L., Ogata, T., & Kurihara, S. (2003). Synthesis of water-soluble thermosensitive polymers having phosphonium groups from methacryloyloxyethyl trialkyl phosphonium chlorides–*N*-isopropylacrylamide copolymers and their functions. *J. Appl. Polym. Sci.*, 87 (3), 386-393.
- Ohta, Y., Kondo, Y., Kawada, K., Teranaka, T., & Yoshino, N. (2008). Synthesis and antibacterial activity of quaternary ammonium salt-type antibacterial agents with a phosphate group. *J. Oleo Sci.*, 57 (8), 445-452.
- Othman, M., Loh, H. S., Wiart, C., Khoo, T. J., Lim, K. H., & Ting, K. N. (2011). Optimal methods for evaluating antimicrobial activities from plant extracts. *J. Microbiol. Meth.*, 84 (2), 161-166.
- Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L., & Lacroix, M. (2007). Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 18 (5), 414-420.
- Paillot, P., Jegat, C., Becquart, F., & Taha, M. (2016). Effects of antimicrobial agents on the thermal and mechanical properties of acrylate hydrogel matrices. *J. Appl. Polym. Sci.*, 133 (23), 43501-43512.
- Park, E.- S., Moon, W.- S., Song, M.- J., Kim, M.- N., Chung, K.- H., Yoon, J.- S. (2001). Antimicrobial activity of phenol and benzoic acid derivatives. *Int. Biodeter. Biodeg.*, 47 (4), 209-214.
- Pavithra, D., Doble, M. (2008). Biofilm formation, bacterial adhesion and host response on polymeric implants—issues and prevention. *Biomed. Mater.*, 3 (3), 1-13.

- Rattanachaikunsopon, P., & Phumkhachorn, P. (2008). Diallyl Sulfide Content and Antimicrobial Activity against Food-Borne Pathogenic Bacteria of Chives (*Allium schoenoprasum*). *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 72 (11), 2987-2991
- Raval, J. P., Naik, D. R., Amin, K. A., & Patel, P. S. (2014). Controlled-release and antibacterial studies of doxycycline-loaded poly(ϵ -caprolactone) microspheres. *J. Saudi Chem. Soc.*, 18 (5), 566-573.
- Riva, R., Lussis, P., Lenoir, S., Jérôme, C., Jérôme, R., & Lecomte, P. (2008). Contribution of “click chemistry” to the synthesis of antimicrobial aliphatic copolyester. *Polymer*, 49 (8), 2023-2028.
- Santiago, C., Pang, E. L., Lim, K. H., Loh, H. S., & Ting, K. N. (2015). Inhibition of penicillin-binding protein 2a (PBP2a) in methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) by combination of ampicillin and a bioactive fraction from *Duabanga grandiflora*. *BMC Complement. Altern. Med.*, 15 (178), 1-7.
- Severino, R., Ferrari, G., Vu, K. D., Donsi, F., Salmieri, S., Lacroix, M. (2015). Antimicrobial effects of modified chitosan based coating containing nanoemulsion of essential oils, modified atmosphere packaging and gamma irradiation against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* Typhimurium on green beans. *Food Control*, 50, 215-222.
- Siedenbiedel, F., & Tiller, J. C. (2012). Antimicrobial Polymers in Solution and on Surfaces: Overview and Functional Principles. *Polymers*, 4 (1), 46-71.
- Stopiglia, C. D., Collares, F. M., Ogliari, F. A., Piva, E., Fortes, C. B., Samuel, S. M., & Scrofeneker, M. L. (2012). Antimicrobial activity of [2-(methacryloyloxy)ethyl]trimethylammonium chloride against *Candida* spp. *Rev. Iberoam. Micol.*, 29 (1), 20-23.
- Stroescu, M., Stoica-Guzun, A., & Jipa, I. M. (2013). Vanillin release from poly(vinyl alcohol)-bacterial cellulose mono and multilayer films. *J. Food Eng.*, 114, 153-157.
- Sun, L., Du, Y., Fan, L., Chen, X., & Yang, J. (2006). Preparation, characterization and antimicrobial activity of quaternized carboxymethyl chitosan and application as pulp-cap. *Polymer*, 47 (6), 1796-1804.

- Takala, P. N., Vu, K. D., Salmieri, S., Khan, R. A., Lacroix, M. (2013). Antibacterial effect of biodegradable active packaging on the growth of *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes* in fresh broccoli stored at 4 °C. *LWT-Food Sci. Technol.*, 53 (2), 499-506.
- Tezel, U., & Pavlostathis, S. G. (2015). Quaternary ammonium disinfectants: microbial adaptation, degradation and ecology. *Curr. Opin. Biotech.*, 33, 296-304.
- Turgis, M., Vu, K. D., Dupont, C., & Lacroix, M. (2012). Combined antimicrobial effect of essential oils and bacteriocins against foodborne pathogens and food spoilage bacteria. *Food Res. Int.*, 48 (2), 696-702.
- Villanueva, M. E., Salinas, A., González, J. A., Teves, S., Copello, G. J. (2015). Dual antibacterial effect of immobilized quaternary ammonium and aliphatic groups on PVC. *New J. Chem.*, 39 (12), 9200-9206.
- Wang, C., Chang, T., Yang, H., & Cui, M. (2015). Antibacterial mechanism of lactic acid on physiological and morphological properties of *Salmonella* Enteritidis, *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 47, 231-236.
- Warson, H., & Finch, C. A. (2001). Applications of Synthetic Resin Latices. In Wiley J., & Sons Ltd. (Eds.), West Sussex PO19 1UD, England. (1), 135.
- Wessels, S. & Ingmer, H. (2013). Modes of action of three disinfectant active substances: A review. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, 67 (3), 456-467.
- Wiradharma, N., Khan, M., Yong, L.-K., Hauser, C. A. E., Seow, S. V., Zhang, S., & Yang, Y.-Y. (2011). The effect of thiol functional group incorporation into cationic helical peptides on antimicrobial activities and spectra. *Biomaterials*, 32 (34), 9100-9108.
- Wong, A., Midori de Oliveira, F., Teixeira Tarley, C. R., Taboada Sotomayor, M. D. P. (2016). Study on the cross-linked molecularly imprinted poly(methacrylic acid) and poly(acrylic acid) towards selective adsorption of diuron. *React. Funct. Polym.* 100, 26-36.
- Xue, Y., Xiao, H., & Zhang, Y. (2015). Antimicrobial Polymeric Materials with Quaternary Ammonium and Phosphonium Salts. *Int. J. Mol. Sci.*, 16 (2), 3626-3655.

Yomogida, S., Nagaoka, I., & Yamashita, T. (1995). Involvement of cysteine residues in the biological activity of the active fragments of guinea pig neutrophil cationic peptides. *Infect. Immun.*, 63 (6), 2344-2349.

Zhang, W., Zhang, Y.-H., Ji, J.-H., Zhao, J., Yan, Q., & Chu, P. K. (2006). Antimicrobial properties of copper plasma-modified polyethylene. *Polymer*, 47 (21), 7441-7445.

Zhou, X., Chen, Y., Han, J., Wu, X., Wang, G., & Jiang, D. (2014). Betaine ester-shell functionalized hyperbranched polymers for potential antimicrobial usage: Guest loading capability, pH controlled release and adjustable compatibility. *Polymer*, 55 (24), 6261-6270.

V.6. Supporting Information

Synthesis of the quaternary ammonium functionalized polymers (QAFPs)

Materials

Dihydroxy telechelic polylactic acid (PLA-diol) ($\sim 100 \text{ g.mol}^{-1}$) was synthesized by ring opening polymerization of lactide in presence of butanediol, dihydroxy telechelic polyhydroxybutyrate (PHB-diol) ($\sim 1000 \text{ g.mol}^{-1}$) was synthesized by transesterification of conventional polyhydroxybutyrate PHI002TM from NaturePLAST (PHB) in the presence of butanediol. Dihydroxyl-terminated polycaprolactone (PCL-diol) (1000 g.mol^{-1}) CAPA[®] 2100A was purchased from Solvay. 4,4'-Methylenebis(cyclohexyl isocyanate) 90% (H₁₂MDI), Glycerol 99% (dehydrated by 3 Å rod-shaped molecular sieves, 1/16 inch, Fluka, for 1 week before use), 2-Aminothiophenol 99%, and Dibutyltin dilaurate 95% were purchased from SIGMA-ALDRICH (France). Anhydrous *N,N*-Dimethylformamide 99.9% (DMF), Tetrahydrofuran 99.9% (THF) and Diethyl ether 99+% are Carlo Erba ReagentsTM. [2-(Acryloyloxy)ethyl]trimethylammonium chloride (ADCl), [2-(methacryloyloxy)ethyl]trimethylammonium chloride (MADCl) (purchased as aqueous solutions of 80 wt.%) and 2,2'-azobis(2-methyl-propionitril) (AIBN) were purchased from Sigma Aldrich.

The QAFPs synthesis were carried out in three steps:

Step 1. Synthesis of branched polymers with isocyanate functions at the chain ends (Scheme S1)

50 g (0.05 mol) of the dihydroxy telechelic polymer (PLA-diol, PCL-diol or PHB-diol), 1.535 g (0.017 mol) of glycerol and 200 ml DMF were mixed in a 500 mL three-necked flask at room temperature until homogenization, then placed in an oil bath at 80°C. The flask was purged by nitrogen pipe and 30.608 g (0.105 mol) of H₁₂MDI were introduced in, 0.05 g (7.9×10^{-5} mol) of dibutyltin dilaurate were added as catalyst. The mixture was stirred during 55 minutes before putting the flask in an ice/water bath to start the second step.

Step 2. Thiol functionalization (Scheme S2)

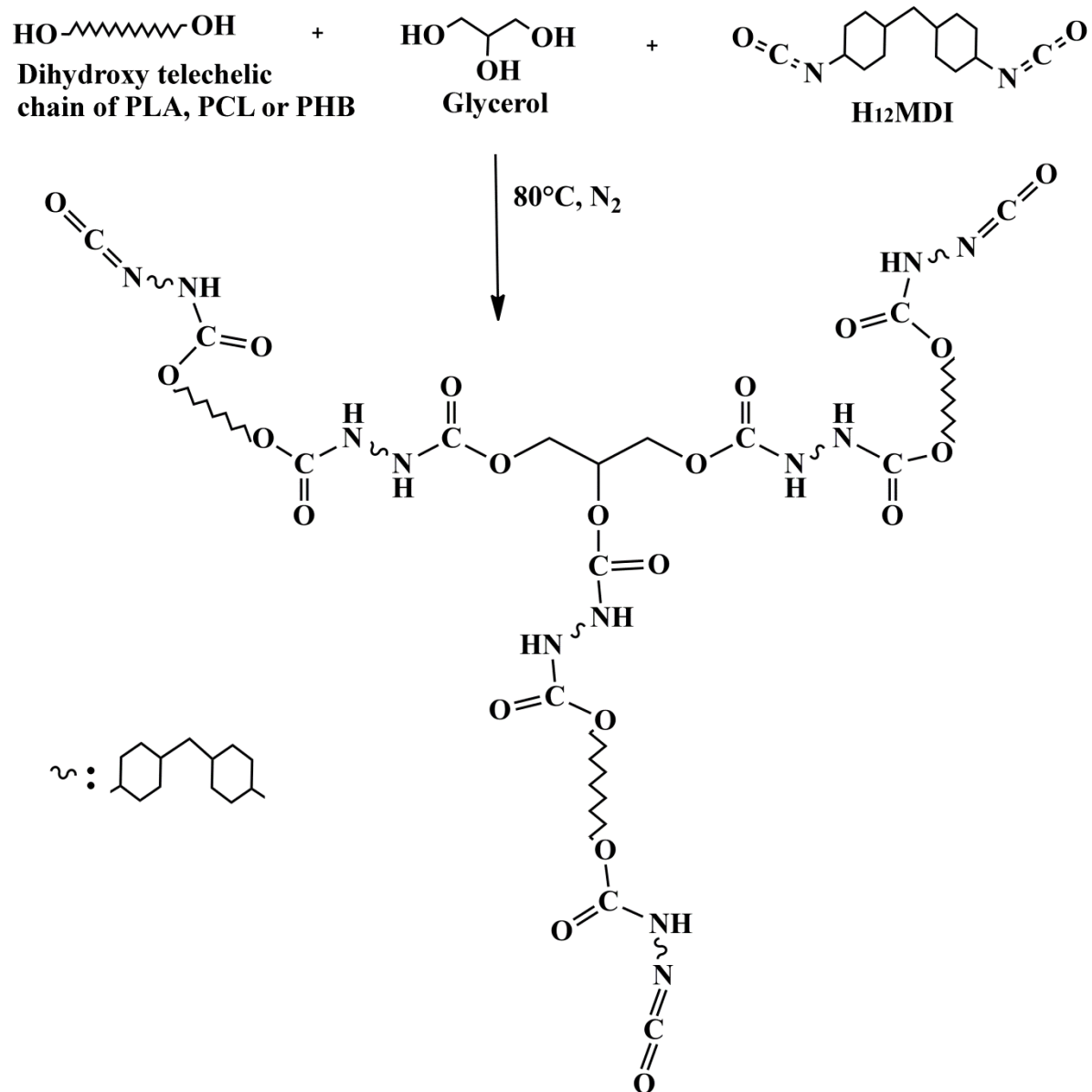
This step consists in adding 2-Aminothiophenol in which the amine group reacts with the isocyanate pendant groups of the structure obtained after the step 1, thus giving a multi-thiol functionalized polymer; PLA-SH, PCL-SH and PHB-SH are respectively multi-thiol functionalized PLA, PCL and PHB.

A solution of 6.333 g (0.05 mol) of 2-Aminothiophenol in 30 mL of DMF was dropwise added to the Step 1 obtained mixture and the flask was kept in the ice/water bath for 1 hour with magnetic stirring. The mixture was then precipitated in diethyl ether, the obtained polymer was solubilized in THF and precipitated in diethyl ether 3 times before drying it under vacuum at room temperature until constant weight.

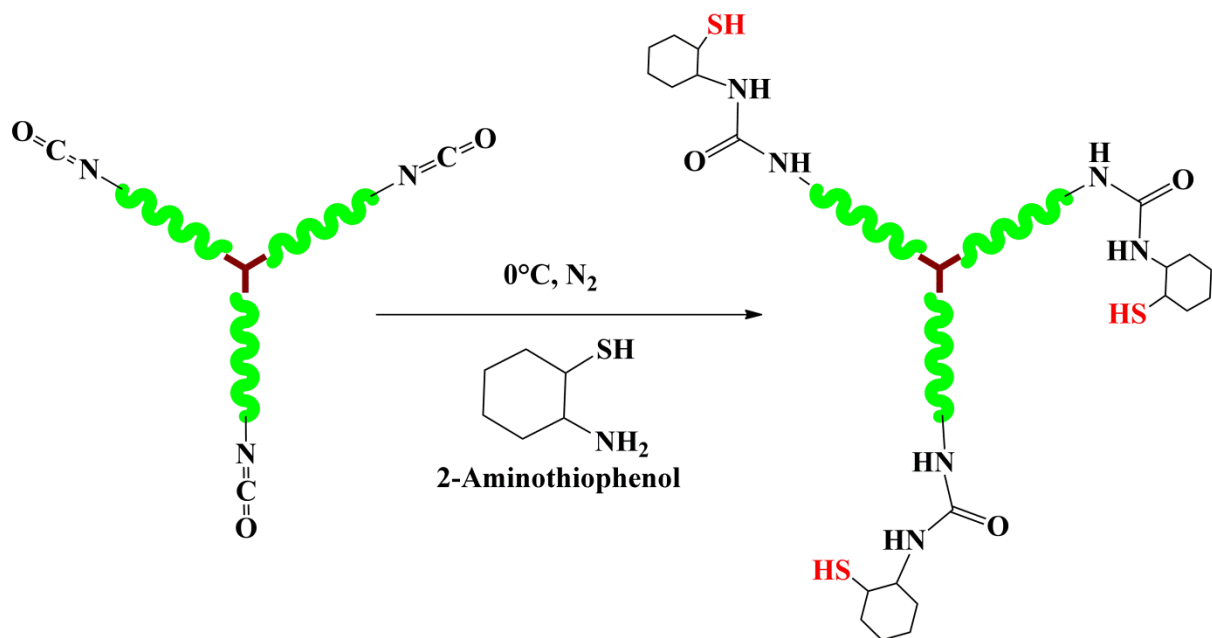
The stoichiometric amounts of reactant was adjusted in order to obtain a three branched structure with three thiol functions (on function on each branch end) while avoiding gelification (during Step 1).

Step 3. Grafting of quaternary ammonium monomers on the thiol functions (Scheme S3)

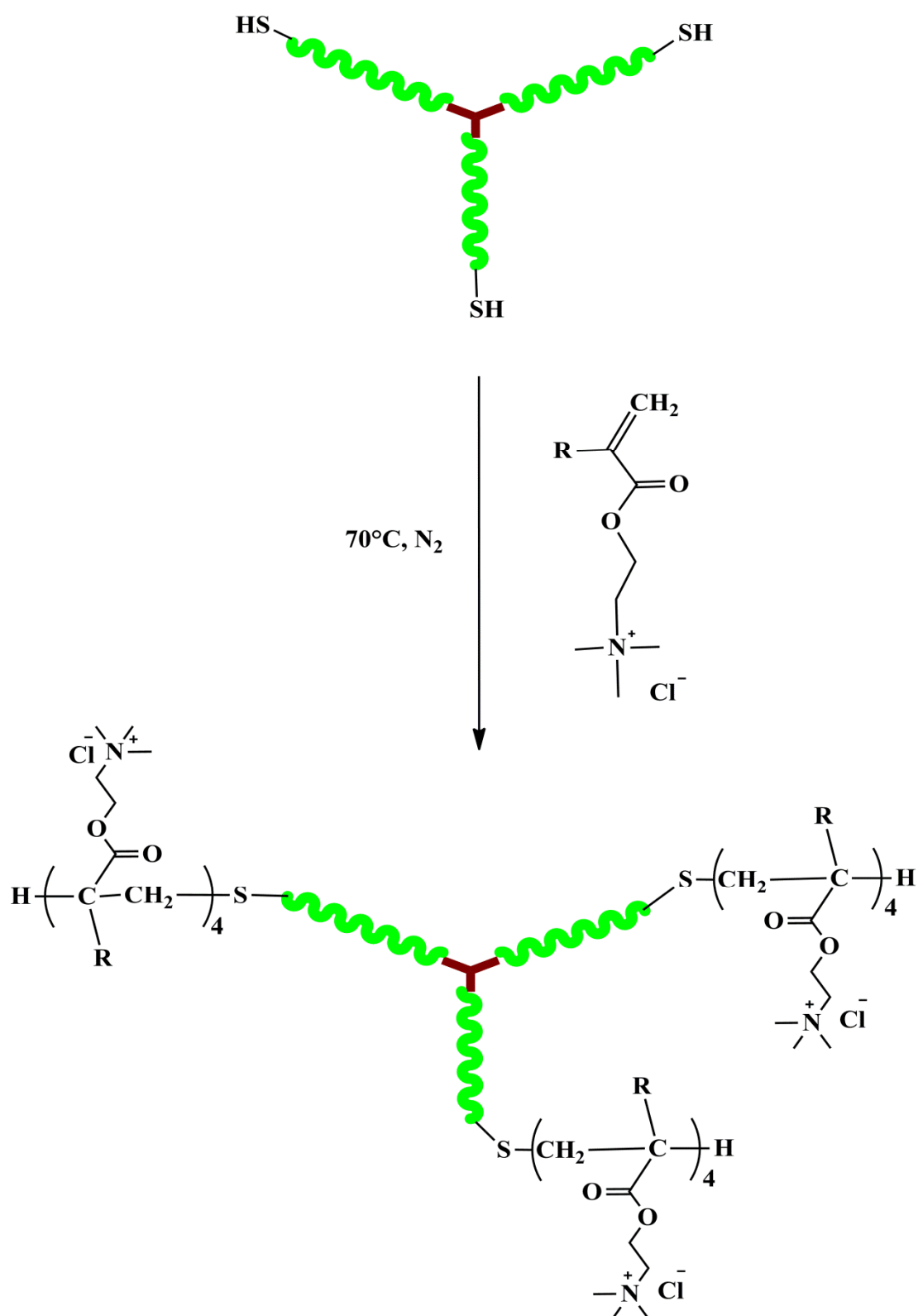
30 g (~ 0.006 mol) the multi-thiol functionalized polymer (PLA-SH, PCL-SH or PHB-SH) were dissolved in 300 mL of a 50/50 vol.% mixture of THF/ethanol in a 500 mL three-necked flask, the mixture was putted at 70 °C and nitrogen atmosphere with magnetic stirring until homogenization followed by the introduction of 13.944 g of ADCl (0.072 mol) or 14.954 g of MADCl (0.072 mol), then 0.75 g of AIBN was added as catalyst. The mixture was kept reacting for 12 hours before precipitating the final product in diethyl ether and drying it under vacuum at 40°C until constant weight, at the end, quaternary ammonium polymers were obtained and characterized (Belkhir et al., 2015, 2016). The amounts of ADCl and MADCl were adjusted in order to obtain a ratio $\text{SH}/\text{ADCl} = \text{SH}/\text{MADCl} = 1/4$.



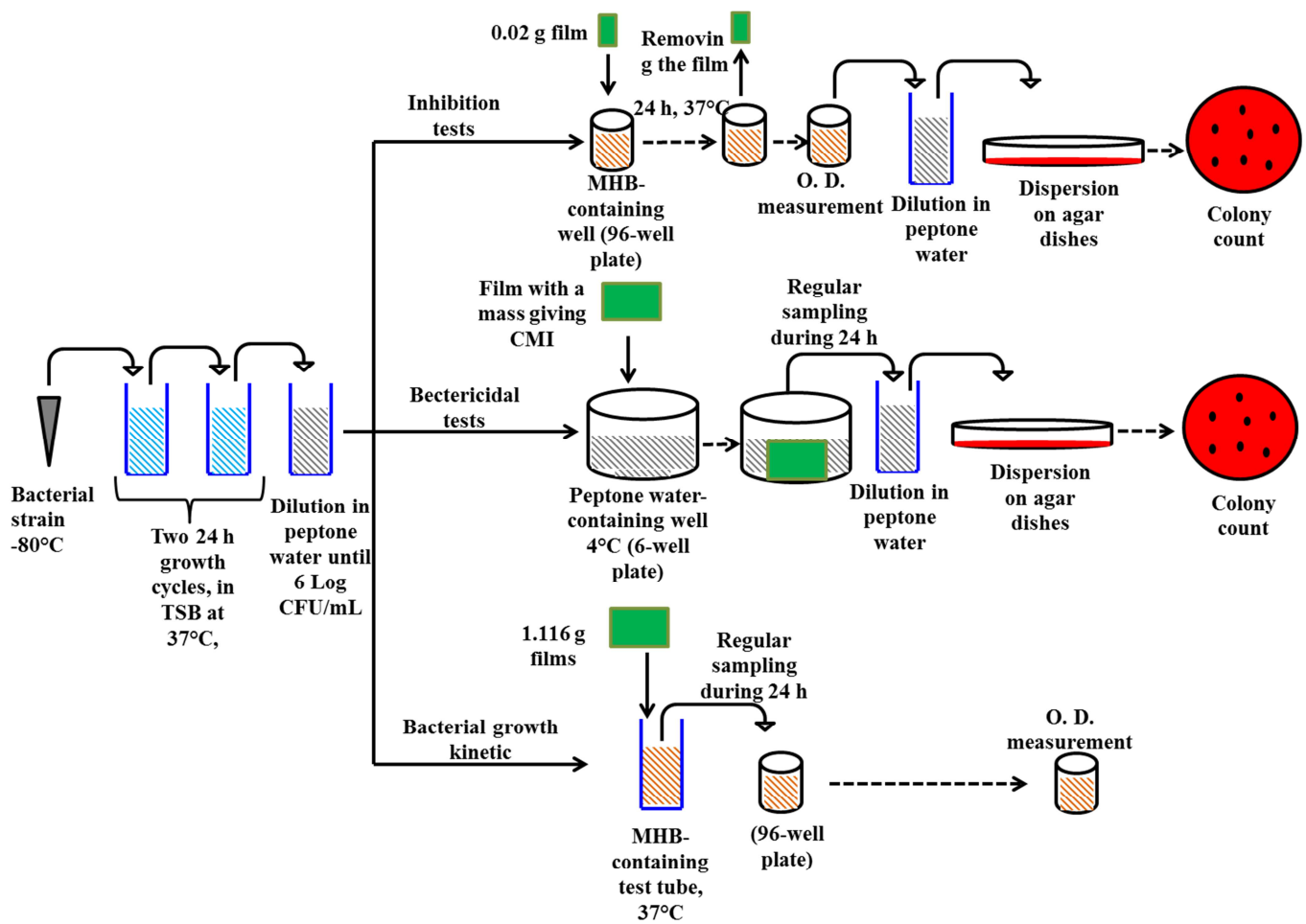
Scheme S1. Synthesis of the branched structures with isocyanate terminated branches.



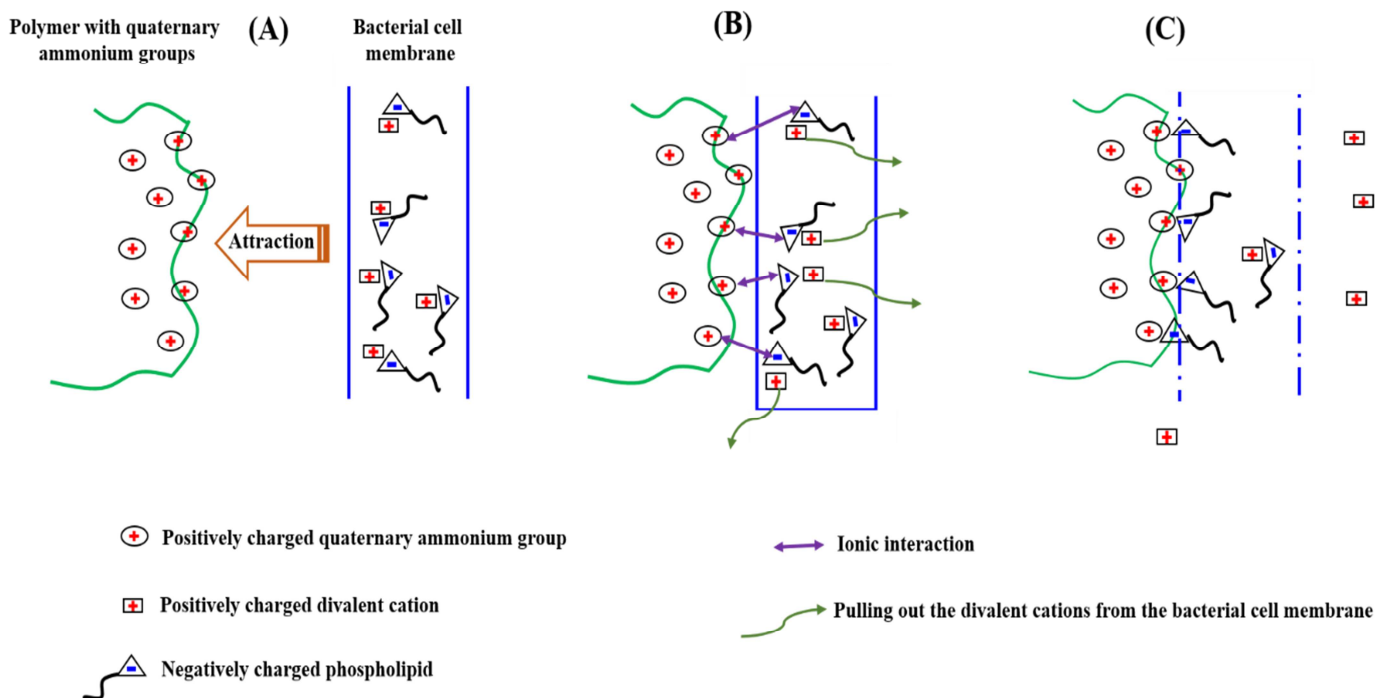
Scheme S2. Thiol functionalization of the isocyanate terminated structures.



Scheme S3. ADCl and MADCl grafting on the multi-thiol functionalized polymers. R refers to hydrogen atom in the case of ADCl and methyl group in the case of MADCl.



Scheme S4. Summary representation of the different experiments.



Scheme S5. Schematic representation of the contact-killing mechanism of the bacteria by a polymer containing quaternary ammonium groups. (A): the bacterial cell is attracted by the surface of the polymeric material, (B): the negatively charged phospholipids interact with the quaternary ammonium groups and ionic bonds are made between them pulling the divalent cations out of the membrane, (C): the cell membrane integrity is lost and the envelope is disrupted causing the death of the bacterium.

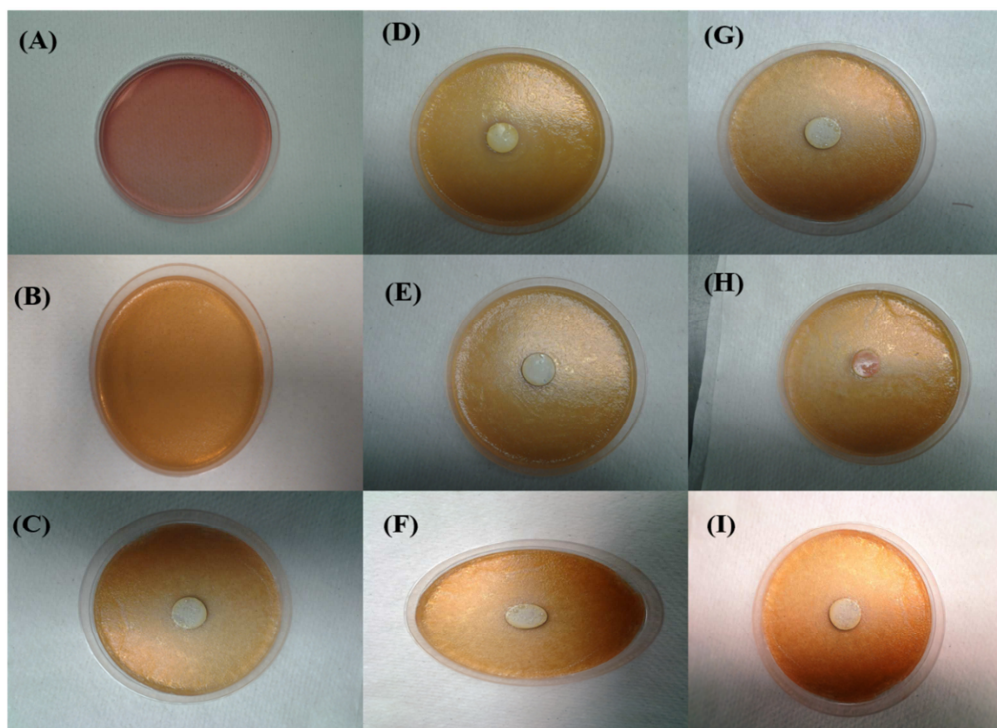


Fig. S6 Example of the results of the diffusion tests against *E. coli* , (A): non-inoculated MacConkey Sorbitol Agar without film, (B): inoculated Agar without film. The film samples are (C): PLAGAD in PLA, (D): PCLgAD in PLA, (E): PLAGAD in PCL, (F): PCLgAD in PCL, (G): PLAGAD, (H): PCLgAD and (I): PHBgAD. The formulations (A-F) are made of 60 wt.% of QAFP, the other samples (G-I) are made of 100 wt.% of QAFP.

V.7. Abstract

This study describes the antibacterial activity evaluation of film-shaped polymers based on biodegradable chains of polylactic acid (PLA), polycaprolactone (PCL) and polyhydroxybutyrate (PHB) in branched structures with quaternary ammonium pendant groups. The materials were tested against both Gram-negative (*Escherichia coli* and *Salmonella* Typhimurium) and Gram-positive (*Listeria monocytogenes*) bacteria. Minimal inhibitory and maximal tolerated concentrations of the quaternary ammonium monomers were first determined. Films of pure quaternary ammonium functionalized polymers (QAFPs) and of blends of QAFPs with commercial matrices were studied to determine their inhibition effects and their bactericidal activity. A high antibacterial activity was found, up to 5.6 log, 4.4 log, and 4.2 log CFU.mL⁻¹ reduction for respectively *Escherichia coli* (*Salmonella* Typhimurium and *Listeria monocytogenes* after only one hour of bactericidal tests, 6.7 log, 5.2 log and 4.9 log CFU.mL⁻¹ reduction was observed for the respectively cited bacteria after 24 hours, making these materials potentially applicable in many fields.

Keywords

Antibacterial polymers; quaternary ammonium polymers; active films; PLA; PCL; PHB.

Chapitre VI

ETUDE DU COMPORTEMENT RHEOLOGIQUE DU POLYMERE BRANCHE EN ETOILE, A BASE DE SEGMENTS DE PLA, PORTANT DES GROUPEMENTS AMMONIUMS QUATERNAIRES

Ce chapitre est consacré à l'étude du comportement rhéologique du polymère en étoile, à trois branches de PLA, et portant des groupements ammoniums aux extrémités (PLA-Q), synthétisé et caractérisé dans les chapitres précédents, sa masse molaire étant d'environ 6900 g.mol^{-1} .

Dans un premier temps, le PLA-Q a été comparé à un son analogue de même structure mais ne portant pas de groupements ammoniums (PLA-CH₃). Les mesures de viscosité de ces derniers a montré l'effet de la présence des groupements ammoniums quaternaires sur la viscosité du polymère : l'écoulement du PLA-Q fondu est fortement ralenti par des interactions ioniques entre ces groupements. Les énergies d'activation de cet écoulement ont été déterminées, leurs valeurs correspondent à des processus physiques (interactions ioniques).

La superposition temps-température des courbes des modules de conservation, de perte ainsi que du facteur de perte $\tan \delta$ a été faite à des temps constants puis à des températures constantes. En concordance avec les travaux trouvés dans la littérature, ces résultats montrent qu'il y a formation de zones discrètes (clusters ou agrégats), au sein du PLA-Q, suite aux interactions ioniques, et que ces derniers changent le comportement rhéologique du matériau.

Ce chapitre est sous forme d'article scientifique soumis dans le journal *Polymer*.

VI. Rheological Study of Quaternary Ammonium-Containing Star-Shaped Polylactic Acid

Kedafi Belkhir, Jean-Charles Majesté, Corinne Jegat, Mohamed Taha*

Université de Lyon, F-42023 Saint Etienne, France

CNRS, UMR5223, Ingénierie des Matériaux Polymères, F-42023 Saint-Etienne, France.

Université Jean Monnet de Saint Etienne, F-42023 Saint-Etienne, France.

*Corresponding author: M. Taha. Tel: (+33)477481557. E-mail address: mohamed.taha@univ-st-etienne.fr

VI.1. INTRODUCTION

Ion-containing polymers have attracted a great interest in the field of polymer science and have imposed themselves in various applications. The success of these materials within the community of polymer scientists is justified by the fact that the incorporation of ions in the structure of a polymer changes dramatically its rheological and mechanical properties due to the establishment of intermolecular physical interactions [1]. The idea of incorporating ions in a polymer structure has been applied for different polymers such as polyisobutylene [2], polystyrenes [3] or polyethylenes [4] and a large variety of ions was investigated such as sodium cations [5], quaternary ammoniums [6], phosphoniums [7] and others. However, by bearing these ions in their structures, ion-containing polymers exhibit other advantages besides the changes in their rheological and mechanical properties: they are good conductors, selective carriers, antistatic and antimicrobial materials [8-11]. There are different ways to prepare ion-containing polymers, among which the polymerization of ion-containing monomers is widely used [12-15] as well as the grafting of ionic moieties on the polymer chains [16]. They can also be prepared by ionization of some reactive chemical groups that are located within the polymeric structure [17].

In the melt phase, unusual properties were observed for the ion-containing polymers and many pieces of work were carried out to attempt to explain their rheological single characteristics; the studies converged to conclude that the flow characteristics of these polymers are governed by physical bonds that take place between the concerned ions and

cause the formation of packs of polymeric molecules in a form of discrete regions within the polymer. These ensembles are called aggregates, clusters or multiplets according to their shape and size [18-24]. This behavior has been demonstrated by using many techniques such as scanning electron microscopy [25], magnetization measurements and electron spin resonance [25,26], dielectric loss measurements [27,28], Raman spectroscopy [29], small angle X-ray and neutron scattering [30-31], dynamic mechanical analyses and stress relaxation studies [34-36], but the most relevant one seems to be the rheological study.

The formation of ion-containing polymer aggregates in the material leads to increase its melt viscosity and changes completely its flow behavior [37,38]. The magnitude of this change depends on the nature of the polymer chains bearing the ions, the ions content (functionality) and their location in the polymer chain backbone, the kind of ions and the counter ions [39]. It also depends on the macromolecular design of the polymer, such as the branched ion-containing polymers are more able to initiate this phenomenon than the linear ones. The formation of these clusters as well as their dissociation are dynamic reversible processes covered by the rheological parameters to which the ion-containing polymer is subjected. This aspect is widely studied in the literature using a variety of ion-containing polymers, but to our knowledge no work was achieved about ion-containing polylactic acid which is a bio-sourced and biodegradable polymer largely used in many relevant applications and known for its interesting properties ; besides, among the variety of the investigated ions, no studies were conducted about quaternary ammoniums.

In this work, the rheological behavior of branched quaternary ammonium-containing polylactic acid was investigated in order to verify the occurrence of ionic interactions, the formation of aggregates and to determine their type and size.

VI.2. EXPERIMENTAL

Materials

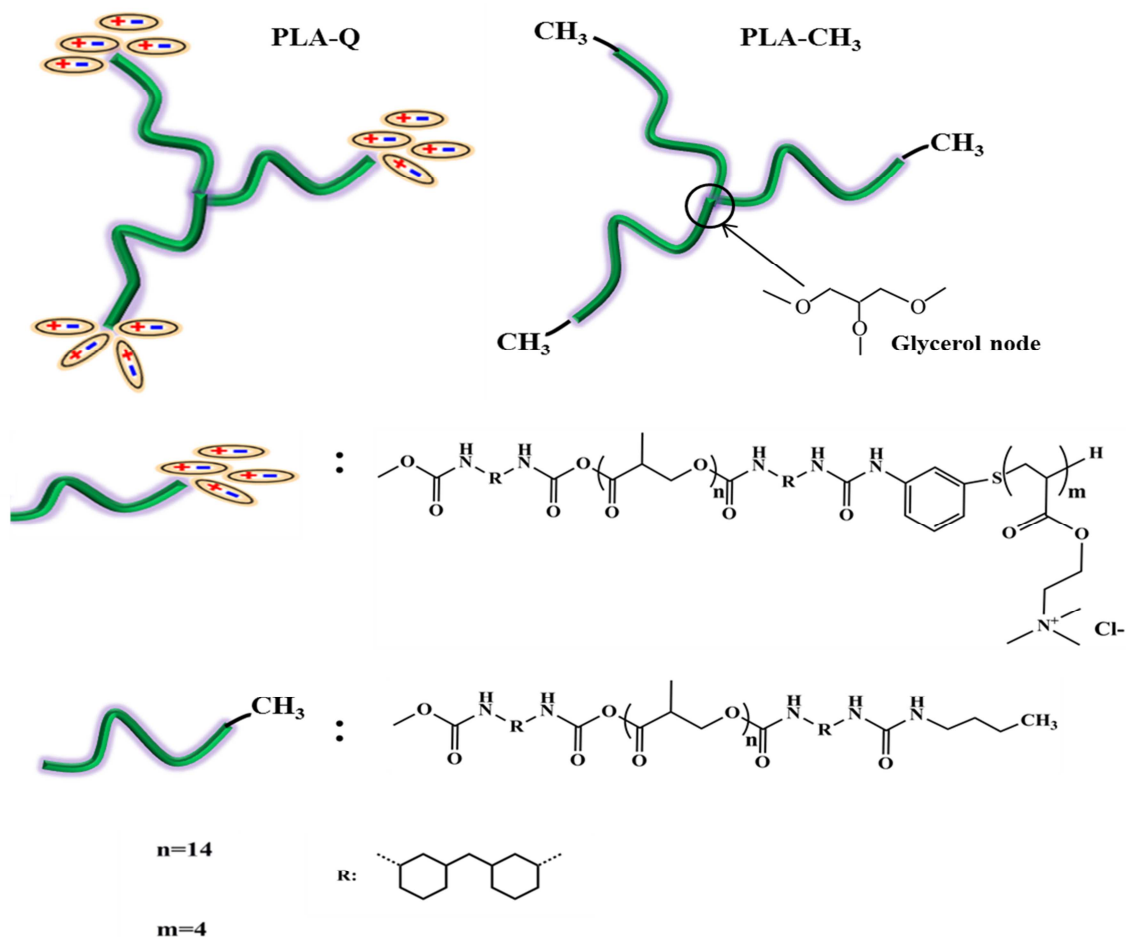
Three-branched star-shaped polylactic acid bearing quaternary ammonium pendant groups (PLA-Q) was studied; its chemical structure is shown in Scheme 1. The synthesis of this polymer and its characterizations were detailed in previous works [40-43]. PLA-Q mean molecular weight was $6900\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$. Each branch was made of a linear chain of PLA of about $1000\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$. The three branches were linked to a glycerol node to make the star-shaped

design. A quaternary ammonium compound with chloride as counter ion was grafted on chain ends of the star shaped PLA with a ratio of 4 molecules per branch to make quaternary ammonium end-functionalized structures with glass transition and melt temperatures of respectively 49.5 and 154.9°C.

Another three-branched star-shaped PLA was used, with the same macromolecular structure but containing alkyl side groups rather than quaternary ammonium ones (PLA-CH₃, Scheme 1), in order to show the effect of the presence of ions by comparison between PLA-Q and its analog.

Dynamic rheology

The rheological behavior of PLA-Q was investigated using an ARES G2 rheometer from TA Instruments. Samples were analyzed in multi-wave mode of shearing, in which the sample is exposed simultaneously to oscillations at various frequencies, using parallel plate geometry of 25mm diameter. All experiments were carried out at temperatures ranging from 130°C to 160°C in the frequency range $0.01 < \omega (\text{rad.s}^{-1}) < 100$. All experiments were performed in the domain of linear viscoelasticity (strain < 2%).



Scheme 1. The chemical structures of PLA-Q and PLA-CH₃.

VI.3. RESULTS AND DISCUSSION

The presence of quaternary ammonium groups on chain ends of the branched PLA-Q was suspected to cause dramatic changes in the rheological behavior of this material. To bring out this effect, the study started by dynamic rheological measurement comparing the viscosities of PLA-Q and its analogue PLA-CH₃ which does not contain ammonium groups.

Dynamic rheological measurements

Figure 1 shows the measurements of dynamic viscosity (η^*) of PLA-Q (A) and PLA-CH₃ (B) as a function of frequency (ω), obtained in multi-wave sweeping mode. The curves were acquired at different temperatures and after different shearing times. The emanating point from the comparison of the two graphs is the large difference in the viscosity values: for each temperature and for a given shear time, PLA-Q showed viscosity values that are over 100 times higher than those of its analog PLA-CH₃. The viscosity of the two polymers decreases when the temperature increases. The effect of the shearing time is less pronounced at low

temperatures and becomes considerable at higher ones. For PLA-Q, a Newtonian behavior was observed at low temperatures (130 and 140°C) with a linear viscoelastic plateau that appears at low frequencies. This behavior dissipates when the temperature increases and the shape of the curves changes. On the other side, a non-Newtonian behavior was observed for PLA-CH₃ which shows a continuous decrease of viscosity when the frequency increases for all the investigated temperatures.

The dramatically increased viscosity of PLA-Q compared to the PLA-CH₃ one is attributed to the presence of the quaternary ammonium groups on the chain ends of PLA-Q. The same result is commonly found in the literature [44] and explained by the fact that ionic interactions occur between the pendant ions of the polymer. Thus the melt viscosity of PLA-Q, even with a small mean molecular weight, is in the same order of magnitude as the one of high molecular weight polyesters without ions in their structures. For example, at 150°C the viscosity of PLA-Q (average molecular weight of $6.9 \times 10^3 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$) is about $10^3 \text{ Pa} \cdot \text{s}$; this value corresponds approximately to that of linear PLA with an average molecular weight of $1.3 \times 10^5 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ at the same temperature and within the same frequency range [40]. At 140°C, PLA-Q shows a viscosity which varies between $3 \cdot 10^3$ and $7 \cdot 10^3 \text{ Pa} \cdot \text{s}$; these values are higher than those of a linear polycaprolactone (another polyester) with an average molecular weight of $1.28 \times 10^5 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ in the same conditions [45].

Bagrodia et al. [44] demonstrated that the effect of molecular weight of ion-containing polymers on their melt viscosity does not follow the same law as their homologs among non-ion-containing polymers, and that the viscosity of low molecular weight polymers is more strongly influenced by the presence of ions than that of higher molecular weight polymers. The authors also showed that these ionic interactions, which are of coulombic nature, still persist even at high temperatures up to 180°C. In agreement with these works, the high viscosities of PLA-Q observed can be attributed to a great effect of the ionic interactions between the PLA-Q molecules. The association of the PLA-Q molecules can be assimilated to the formation of physical associations of molecules in the form of small networks within the material. Many studies have proved that the branched star-shaped structure of the ion-containing polymers is a factor that promotes the formation of these associations. Note that for linear structures, no significant effect on the viscosity was observed by introducing ionic moieties in their chain ends since the ionic interactions may cause a simple chain extension with no network character [2,47].

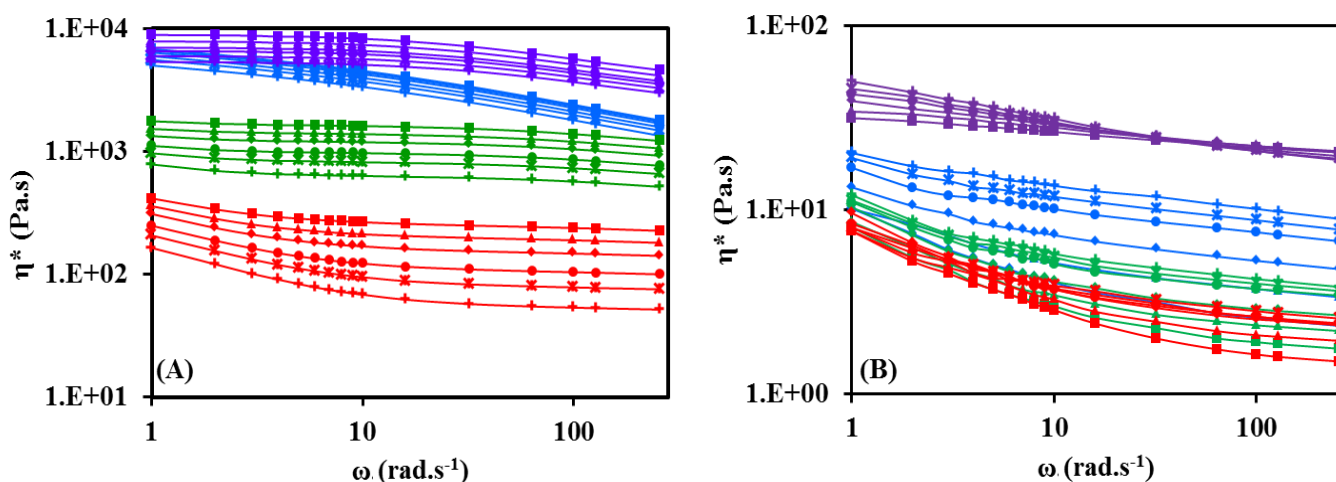


Figure 1. Complex viscosity versus angular frequency for (A): PLA-Q and (B): PLA-CH₃. From 1 to 250rad.s⁻¹. At — 130°C, — 140°C, — 150°C and — 160°C and after (■) 1min, (▲) 3min, (◆) 6min, (●) 10min, (*)14min and (+) 20min shearing. Obtained by a multi-wave sweep with 2% deformation and 0.5 mm gap.

The association/dissociation of the ion-containing polymer molecules has been found to be a rheologically complex process which depends on temperature as well as on shearing time [1,2,21,37,38]. In the next parts, the shape and size of the aggregates (clusters and/or multiplets) formed by the physical bonds of the ions present in the polymers were determined by rheological studies. Therefore the current discussion will be divided into two parts: the first one will address an isothermal study while varying the shearing time and the second one will be an iso-time study while varying temperature. The two parts will be followed by a combination of the two effects in a same discussion.

Isothermal study

In this part, the results corresponding to different shearing times are expressed for a given temperature. For each temperature (130, 140, 150 and 160°C), the three curves corresponding to 1, 10 and 20 minutes shearing time were superposed to give a master curve of G' as well as

G'' (Figures 2 A and B). To make the isothermal master curves, horizontal shifting of G' and G'' curves was done by means of a time shift factor (a_t) defined as:

$$a_t = \frac{\eta(t, T_0)}{\eta(t_0, T_0)} \quad \text{Equation (1)}$$

where $\eta(t, T_0)$ is the viscosity at the shearing time t and $\eta(t_0, T_0)$ is the viscosity at the reference time t_0 which was 20 minutes in this study. T_0 is the temperature at which the viscosity was estimated.

The superposition was easily realizable in all cases, except for the one at 130°C in which some offsets were encountered when making the master curve. The offsets and the inability of the 130°C curve to be superposed could be explained on the one hand by the fact that the polymers with branched structures bearing ions in the chain ends are thermorheologically complex materials with both time and temperature dependent structures [1,2] but moreover, on the other hand, the temperature of 130°C is sufficiently low below the melting temperature T_m of the PLA-Q (154.9°C) to promote crystallization of the PLA polymer chains. The addition of the two contributions is likely to be causing this difference for that particular temperature.

For all the temperatures, relaxation moduli shift to high frequencies when the temperature increases, thus showing the effect of temperature on the size of the ionic associations formed within the material. It appears that temperature promotes breakup of the ionic association. This finding is extensively supported in the literature [48-50].

The dependence of the time shift factor on temperature was then investigated. The variation of $\ln(a_t)$ as a function of time (t) was plotted for different temperatures (Figure 3. A). It is shown that $\ln(a_t)$ decreases linearly with shearing time and that the corresponding slopes increase with temperature. The time shift factor a_t decreases exponentially with time, meaning that dissociation of the ionic aggregates is a time-dependent process. So, from this result, the expression of the time shift factor a_t can be cast under the following form (Equation 2):

$$a_t(t) = e^{-k(t-t_0)} \quad \text{Equation (2)}$$

where k is a kinetic constant corresponding to the relaxation process (dissociation of the ionic aggregates) and t_0 the reference time. Figure 3.B: the values of $-\ln(k)$ were plotted as

function of $\frac{1}{T}$. It clearly demonstrates that the dissociation kinetic constant k increases with temperature and obeys Arrhenius's law expressed in the following equation:

$$k(T) = k_0 e^{\left(\frac{-U_a}{RT}\right)} \quad \text{Equation (3)}$$

where U_a and R are respectively the activation energy of the dissociation process and the ideal gas constant, and k_0 is a pre-exponential factor.

From Equation (3), it can be seen that the kinetic constant increases with temperature. This result firstly states that the relaxation mechanism is dependent on temperature and its progress is favored by the increase of temperature. Secondly, it gives the answer about the origin of the energy causing the aggregates' dissociation: when the temperature of the material increases, its viscosity decreases, so the effect of the mechanical energy that is provided by the apparatus should be attenuated. Thus the dissociation of the aggregates will be disfavored. Yet, the opposite phenomenon was observed here (the dissociation is favored), so it can be concluded that the dissociation of the ionic aggregates is not a consequence of the mechanical constraint imposed by the apparatus, but results from a thermodynamic mechanism which occurs within the material and depends on temperature as well as on time.

This finding is in agreement with the literature concerning other ion-containing polymers. Tobolsky et al. [51] stipulated that the formation of ionic aggregates within the polymer and their sustenance are due to thermodynamic states that are highly unfavorable to dissolve the ionic moieties in the hydrocarbon polymeric medium. To relieve this energetically unfavorable situation, the ions will aggregate thanks to the coulombic interactions between one another. From the results presented in Figure 3.B, the activation energy of the dissociation process has been found to be $86.6\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ and in good agreement with the value generally found in the literature [52] for such ionic interactions.

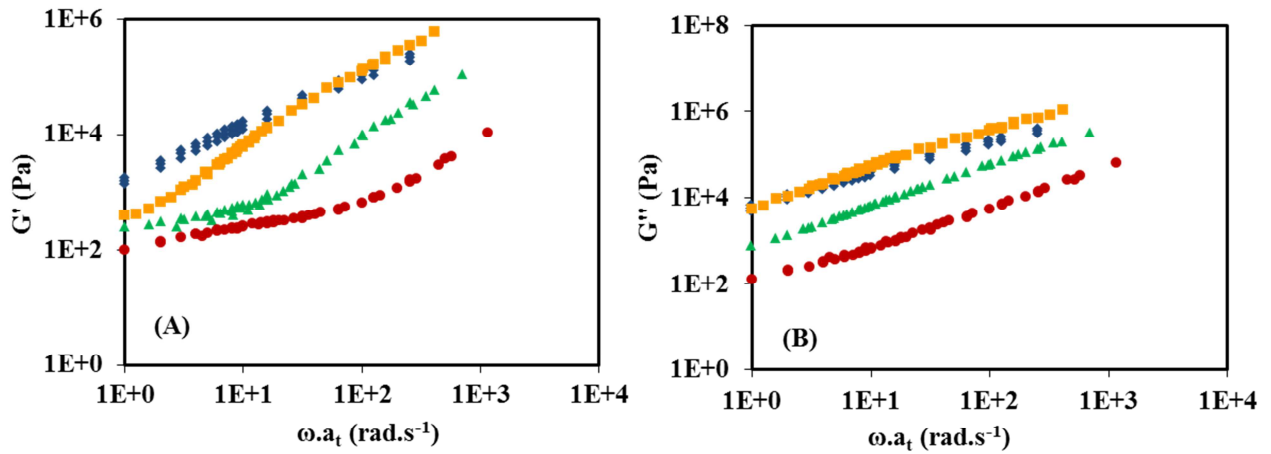


Figure 2. Master curves of the storage modulus (A) and the loss modulus (B), at (\diamond): $T = 130^{\circ}\text{C}$, (\square): $T = 140^{\circ}\text{C}$, (\triangle): $T = 150^{\circ}\text{C}$ and (\bullet): $T = 160^{\circ}\text{C}$ for PLA-Q, calculated from the measurements after $t = 1, 10$ and 20 minutes shearing and related to a reference time of 20 minutes using a time shift factor a_t .

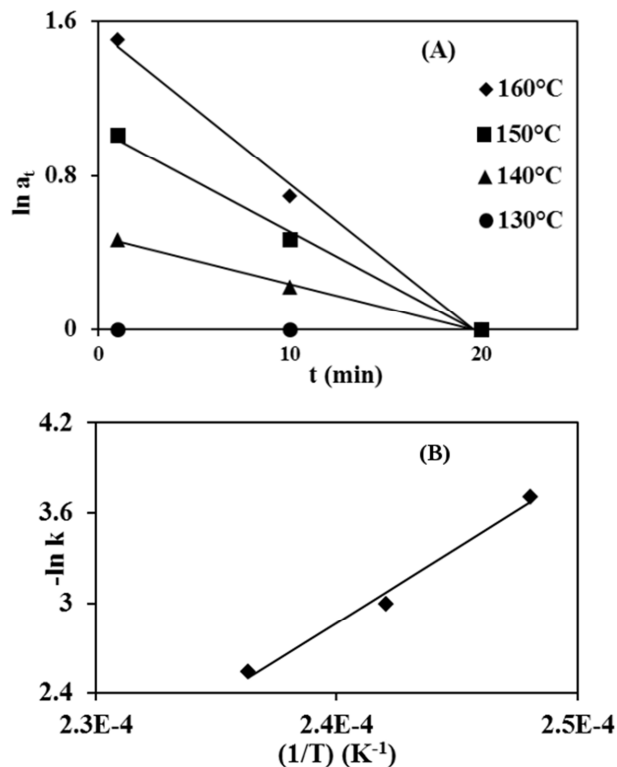


Figure 3. (A): Time shift factor versus time at (\bullet): 130°C , (\blacktriangle): 140°C , (\blacksquare): 150°C and (\blacklozenge): 160°C . (B): Kinetic constant k versus the inverse of the temperature. For PLA-Q.

Iso-time measurements

In this part, the results corresponding to different temperatures are expressed for a given shearing time. For each time (1, 10 and 20 minutes) the frequency sweeps are given for four different temperatures: 130, 140, 150 and 160°C.

Horizontal shifting was done by the mean of the temperature shift factor a_T which was determined according to Equation (4) [53].

$$a_T = \frac{\eta(T, t_0)}{\eta(T_0, t_0)} \quad \text{Equation (4)}$$

where $\eta(T)$ and $\eta(T_0)$ are the viscosities at respectively temperature T and the reference temperature T_0 which was 140°C in this study. t_0 is the shearing time at which the viscosity was estimated.

Figure 4 shows the master curves of the storage G' and the loss G'' modulus obtained. As shown in Figure 4, for each shearing time, the curves of both G' and G'' for different temperatures were superposed to give a master curve as found in the previous section. For the same reasons as discussed in the isothermal study, the master curve at 130°C could not be superposed.

The thermal shift factor depends on the temperature according to Arrhenius's law as shown in Equation (5) [54].

$$a_T = e^{\frac{E_a}{R} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_0} \right)} \quad \text{Equation (5)}$$

where E_a is an activation energy, which can be associated to the global decrease of viscosity, and R the ideal gas constant.

On Figure 5.A, the plotting of $\ln(a_T)$ as a function of $\frac{1}{T}$ shows that the process is in accordance with Arrhenius's law over the range of studied temperatures. The activation energy was inferred from the slope of the corresponding linear curves for each shearing time and the values of E_a as a function of shearing time are gathered on Figure 5.B. It shows a clear increase of the activation energy with time. Our results give values of E_a equal to 282.5, 297.5 and 325.4 kJ.mol⁻¹ for shearing times of 1, 10 and 20 minutes respectively. These values of the flow activation energy are in concordance with the type of interactions suggested (ionic process) between the PLA-Q molecules, and are of the same order as those found in the

literature concerning other branched ion-containing polymers; Bagrodia et al. [2] analyzed five different branched star-shaped polymers with three branches bearing different ions at the chain ends, based on polyisobutylene, with average molecular weights between 8×10^3 and $3 \times 10^4 \text{ g.mol}^{-1}$. They found values of E_a comprised between 104.6 and $138.1 \text{ kJ.mol}^{-1}$ depending on the molecular weight and type of the pendent ions. Broze et al. [55] determined the activation energy of a telechelic ion-containing butadiene (Average molecular weight of $4.6 \times 10^3 \text{ g.mol}^{-1}$) bearing different ions in its chain ends and found values ranging from 62 to 126 kJ.mol^{-1} (function of type of the ion); they confirmed that the process occurring with these values of energy is indeed an ionic process.

However, the activation energy E_a may be interpreted as the sum of two contributions: one is the classical free volume activation energy and the other corresponds to the energy involved in the ionic associations between the molecules of the polymer. The shearing time favors the breakup of the associations, so the longer time is, the more important the energy needed to make associations is. Thus the increase of E_a with time (Figure 5.B) can be explained by the increase of energy needed to make associations.

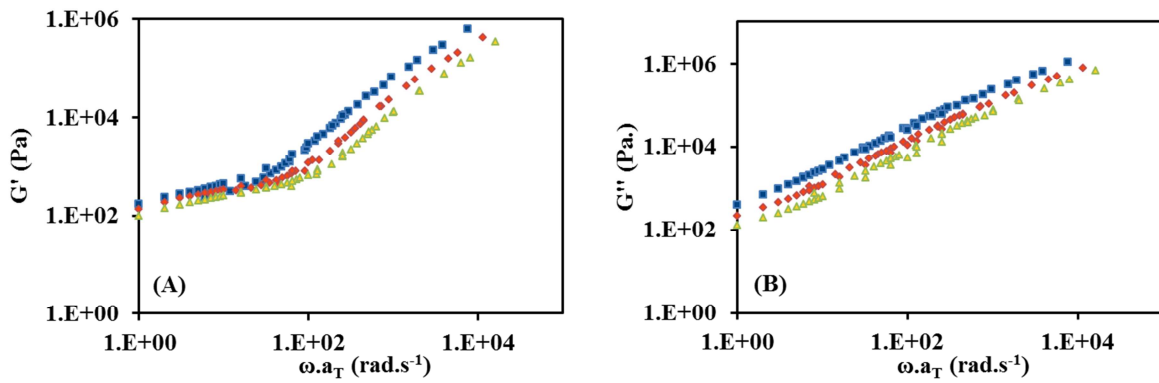


Figure 4. For PLA-Q, superposition of the storage modulus (A) and the loss modulus curves (B), after (■): $t = 1\text{min}$, (◆): $t = 10\text{min}$ and (▲): $t = 20\text{ min}$, calculated from the measurements at $T = 140/150/160\text{ }^\circ\text{C}$ and related to a reference temperature of 140°C using a temperature shift factor a_T .

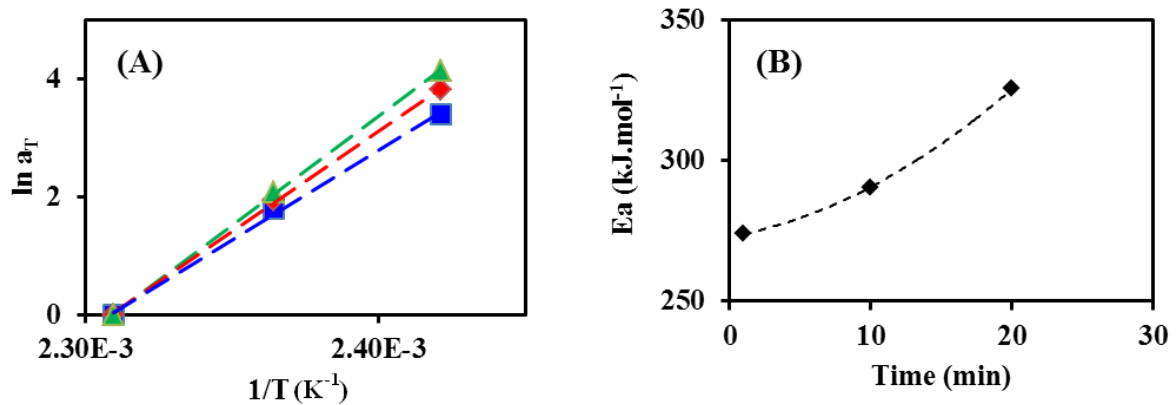


Figure 5. (A): Temperature shift factor versus temperature after (■): 1 min , (◆): 10 min and (▲): 20 min . (B): activation energy versus time.

Generalized behavior and global master curve

By combining simultaneously the temperature (a_T) and time (a_t) shift factors, it was possible to achieve a master curve of master curves that were obtained in the last sections; this unique master curve was then plotted using a global shift factor ($a_T.a_t$). As shown on Figure 6.A, the unique master curve exhibits two different relaxation processes that are distinguishable and well separated in the frequency scale, leading to conclude on the presence of two different aggregate types with very different relaxation times.

Zeng et al. [56] stipulated that this behavior can be explained by the model proposed by Eisenberg [57]: according to Eisenberg, the ionic aggregates subsists within the polymer in two different forms which are clusters and multiplets; the clusters are of large size (sometimes inducing microphase separation) and can be dissociated to give multiplets (association of a small number of ion-containing macromolecules).

On Figure 6 (A) the first part of the G' curve (frequencies $<100 \text{ rad.s}^{-1}$) is attributed to the relaxation of the clusters and the second part (higher frequencies) to the relaxation of the multiplets. So besides the presence of these two species of aggregates, equilibrium can be estimated to occur between them so that the higher frequencies favors the dissociation of the clusters to form multiplets, and inversely the low frequencies favors the association of these multiplets to form clusters.

Contrarily to some works found in the literature [58,59] in which the time-temperature superposition of the master curves shows irregularities and imperfections in the case of ion containing polymers, the unique master curve obtained in this current study is almost perfect and the superposition was obtained without offsets, meaning that the temperature and the shearing time affect only the relaxation time of the aggregates and do not change the architecture of the aggregates, and that both temperature and shearing time have the same effect on the formation/dissociation processes of the aggregates.

By analyzing more carefully the unique master curve on Figure 6.A, the shape of the complex shear modulus of the system of aggregates seems to follow Rouse dynamics. In order to check more quantitatively this observation, these results have been compared to the prediction of the model proposed by Majesté et al. [60] which predicts the viscoelastic behavior of Rouse chains taking into account the distribution of molecular weight $W(M)$.

For polydispersed Rouse chains, the complex shear modulus can be deduced from the behavior of narrow samples by way of a linear law as a function of the molecular weight distribution $W(M)$ and expressed as follows:

$$G^*(\omega) = \int_{-\infty}^{+\infty} W(M)G^*(\omega, M)d \ln M \quad \text{Equation 6}$$

The complex shear modulus $G^*(\omega, M)$ of a narrow fraction of the distribution is given by:

$$G^*(\omega, M) = \frac{\rho RT}{M} \sum_{p=1}^N \frac{j\omega\lambda_p(M)}{1+j\omega\lambda_p(M)} \quad \text{Equation 7}$$

Where ρ is the specific mass of the sample, N is the kinetic unit number in the Rouse chain (namely the DP_n) and $\lambda(M) = \frac{\lambda_0 M^2}{p^2}$ stands for the Rouse relaxation time of a single chain scaling as the square of its molecular weight M . λ_0 is an elementary relaxation time which only depends on the temperature and the length of the kinetic unit. λ_0 is supposed to be non-dependent on the aggregates' architecture.

Equation 6 was used to describe experimental complex shear modulus by adjusting molecular weight distribution $W(M)$ only. For practical use, the continuous expression of equation 6 was discretized as follows:

$$G^*(\omega) = \sum_i W_i G_i^*(\omega) \quad \text{Equation 8}$$

Where W_i and G_i^* are the volume fraction of chain (i) and its complex shear modulus respectively. W_i is expressed in Equation 9.

$$W_i = \int_{M_i}^{M_i+dM} W(M'_i)dM' \quad \text{Equation 9}$$

A Levenberg-Marquardt minimization algorithm was then used to obtain each element (M'_i , W_i) of the molecular weight distribution.

As shown on Figure 6 (A), a very good agreement between Rouse model and experimental data was obtained. It confirms that aggregates (clusters and multiplets) are not entangled with each other and follow Rouse dynamics. From the modeling, the distribution of clusters and the multiplets' sizes were determined and represented as the volume fraction (W_i) versus the

number of the PLA-Q molecules constituting the aggregate ($(DP_n)^*_i$). Results gathered on Figure 6.B show two peaks (almost Gaussian) and mean that there are two distinguishable populations of aggregates according to their sizes: the first one (on the left) represents about 98.4 % of the aggregates, with $(DP_n)^*_i=10.48$ and a polydispersity index of 1.1; the second one (on the right) corresponds to a population which represents 1.6 % of the aggregates, with $(DP_n)^*_i=3300$ and a polydispersity index roughly equal to 1.0. Therefore, the first one can be attributed to the multiplets and the second one to the clusters. In the two cases, the sizes of the aggregates are almost monodisperse. Thus, it can be reasonably hypothesized that the configuration of these aggregates is such that there is a small number of large-size clusters that are spread amid a large number of non-entangled small-size multiplets.

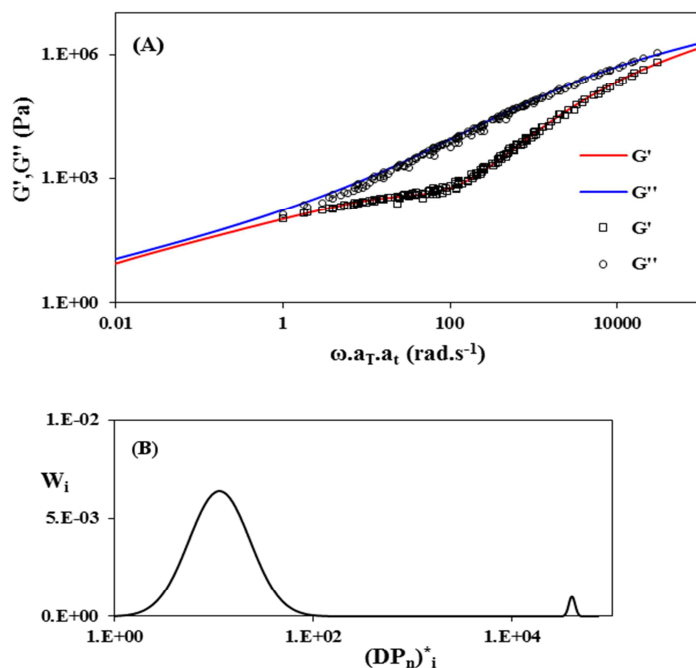


Figure 6. For PLA-Q, (A): \square and \circ correspond respectively to G' and G'' master curves obtained by using simultaneously the temperature (a_T) and time (a_t) shift factors. The reference temperature was 160 °C and the reference time was 20 minutes. Solid lines correspond to modeling by Rouse model (Equation 6).

VI.4. CONCLUSION

The rheological behavior of a quaternary ammonium functionalized star-shaped polylactic acid (PLA-Q) was studied for the first time. This ion-containing polymer with an average molecular weight lower than $10000\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ and with chloride as counter ion, exhibited similar rheological properties to most of the branched ion-containing polymers encountered in the literature.

Viscosity measurements showed that the presence of the quaternary ammonium groups increased dramatically the viscosity of the polymer due to coulombic interactions that occurred between the ionic moieties to form physically linked aggregates within the material, with low activation energy.

The iso-time and isothermal studies, with the time-temperature superposition of the storage and loss modulus and in agreement with the literature, led to conclude about the formation of ionic aggregates within the polymer and that their formation, as well as their dissociation, was a thermodynamic process depending both on time and temperature.

By combining the time and the thermal shift factors, a unique master curve was obtained for the G' and G'' master curves. The results lead to think that there are different types of ionic aggregates within PLA-Q: the multiplets and the clusters. This curve exhibits Rouse dynamics with a good correspondence to this model. The size of the clusters was found to be about 300 times larger than that of the multiplets which are preponderant.

ACKNOWLEDGMENT

The authors are grateful to the French Ministry of Higher Education and Scientific Research for its financial support of the PhD scholarship of Kedafi Belkhir (MESR, ENS 2013-311).

VI.5. REFERENCES

- [1] A. Eisenberg, M. King, *Ion-Containing Polymers: Physical Properties and Structure*, Edt. Polymer Physics Vol. 2, Academic Press, New York (1977).
- [2] S. Bagrodia, G. L. Wilkes, J. P. Kennedy, *Polym. Ing. Sci.* 26 (10) (1986) 662-672.
- [3] C. G. Bazuin, A. Eisenberg, *J. Chem. Edu.* 58 (11) (1981) 938-934.
- [4] C. F. Buitrago, T. M. Alam, K. L. Opper, B. S. Aitken, K. B. Wagener, K. I. Winey, *Macromolecules* 46 (22) (2013) 8995-9002.
- [5] R. W. Connelly, R. C. McConkey, J. M. Noonan, G. H. Pearson, *J. Pol. Sci. Part B: Polym. Phys.* 20 (2) (1982) 259-268.
- [6] M. A. Hickner, *Mater. Today*, 13 (5) (2010) 34-41.
- [7] C. Jangu, T. E. Long, *Polymer* 55 (16) (2014) 3298-3304.
- [8] V. Sproll, G. Nagy, U. Gasser, S. Balog, S. Gustavsson, T. J. Schmidt, L. Gubler, *Radiat. Phys. Chem.* 118 (2016) 120-123.
- [9] W. G. Lee, S. W. Kang, *Scientific Reports* 6 (2016) n° 20430.
- [10] Z. Stoeva, I. Martin-Litas, E. Staunton, Y. G. Andreev, P. G. Bruce, *J. Am. Chem. Soc.* 125 (156) (2003) 4619-4626.
- [11] Y. Xue, H. Xiao, Y. Zhang, *Int. J. Mol. Sci.* 16 (2015) 3626-3655.
- [12] G. B. Butler, F. L. Ingley, *J. Am. Chem. Soc.* 73 (1951) 895-896.
- [13] H. Minamimoto, H. Irie, T. Uematsu, T. Tsuda, A. Imanishi, S. Seki, S. Kuwabata, *Langmuir* 31 (14) (2015) 4281-4289.
- [14] O. A. Mel'nik, A. S. Shaplov, E. I. Lozinskaya, N. A. Popova, M. V. Makarov, I. L. Odinets, K. A. Lysenko, G. I. Timofeeva, I. A. Malyshkina, Ya. S. Vygodskii, *Polym. Sci. Ser. B Polym. Chem.* 52 (5) (2010) 316-326.
- [15] M. Gil, H. Kim, J. Bae, S.-H. Cha, K. J. Lee, *Polymer* 77 (2015) 297-304.
- [16] W. Tian, Y. Hu, W. Wanq, D. Yu, *RCS Adv.* 5 (2015) 91932-91936.

- [17] J. S. Parent, A. Penciu, S. A. Guillén-Castellanos, A. Liskova, R. A. Whitney, *Macromolecules* 37 (2004) 7477-7483.
- [18] A. Eisenberg, M. Rinaudo, *Polym. Bull.* 24 (6) (1990) 671-671.
- [19] M. Pineri, R. Duplessix, S. Gauthier, A. Eisenberg, *Adv. Chem.* 187 (1980) 283-293.
- [20] C. G. Bazuin, A. Eisenberg, *Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Dev.* 20 (2) (1981) 271-286.
- [21] A. Eisenberg, *Pure & Appl. Chem.* 46 (1976) 171-175.
- [22] A. Colbeaux, F. Fenouillot, L. David, J.-F. Gerard, M. Taha, H. Wautier, *J. Appl. Polym. Sci.* 105 (5) (2007) 2605-2610.
- [23] C. Chevallier, Y. Ni, R. Vera, F. Becquart, M. Taha, *J. Appl. Polym. Sci.* 129 (1) (2013) 404-414.
- [24] Y. Ni, F. Becquart, M. Taha, J.-C. Majesté, J. Chen, *Int. J. Polym. Mater. Polym. Biomater.* 63 (8) (2014) 405-415.
- [25] C. T. Meyer, M. Pinery, *J. Polym. Sci. Part B: Polym. Phys.* 16 (4) (1978) 569-581
- [26] M. Pinery, C. Meyer, A. M. Levelut, M. Lambert, *J. Polym. Sci. Part B: Polym. Phys.* 12 (1) (1974) 115-130.
- [27] I. M. Hodge, A. Eisenberg, *Macromolecules* 11 (2) (1978) 283-288.
- [28] B. E. Read, E. A. Carter, T. M. Connor, W. J. MacKnight, *Br. Polym. J.* 1 (3) (1969) 123-131.
- [29] A. Neppel, I. S. Butler, A. Eisenberg, *J. Polym. Sci. Part B : Polym. Phys.* 17 (12) (1979) 2145-2150.
- [30] B. W. Delf, W. J. MacKnight, *Macromolecules* 2 (3) (1969) 309-310.
- [31] R. J. Roe, *J. Phys. Chem.* 76 (9) (1972) 1311-1317.
- [32] C. L. Marx, D. F. Caulfield, S. L. Cooper, *Macromolecules* 6 (3) (1973) 344-353.
- [33] A. Moudden, A. M. Levelut, M. Pineri, *J. Polym. Sci. Part B: Polym. Phys.* 15 (10) (1977) 1707-1719.

- [34] R. A. Weiss, J. J. Fitzgerald, D. Kim, *Macromolecules* 24 (5) (1991) 1071-1076.
- [35] R. A. Weiss, W-. C. Yu, *Macromolecules* 40 (10) (2007) 3640-3643.
- [36] J. Ding, G. Xue, C. Yang, R. Chen, *J. Appl. Polym. Sci.* 45 (6) (1992) 1087-1092.
- [37] M. Hara, J. A. Sauer, *J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. Phys. C* 34 (3) (1994) 325-373.
- [38] C. W. Lantman, W. J. Macknight, R. D. Lundberg, *Comprehensive Polymer Science: The Synthesis, Characterisation, Reactions & Applications of Polymers*, C. Booth, C. Price, Eds. Pergamon: Oxford, UK, Vol. 2, Chapter 25 (1989).
- [39] K. A. Mauritz, *J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. Phys. C* 28 (1) (1988) 65-98.
- [40] K. Belkhir, H. Shen, J. Chen, C. Jegat, M. Taha, *Eur. Polym. J.* 66 (2015) 290-300.
- [41] K. Belkhir, C. Jegat, M. Taha, *React. Funct. Polym.* 101 (2016) 82-89.
- [42] K. Belkhir, C. Jegat, F. Prochazka, M. Taha, Blends of Quaternary Ammonium Functionalized PLA and PCL with their Neat Matrices by Melt Process, Submitted.
- [43] K. Belkhir, M. Lacroix, M. Jamshidian, S. Salmieri, C. Jegat, M. Taha, Antibacterial Activity of Branched Quaternary Ammonium Grafted Biodegradable Polymers, Submitted.
- [44] S. Bagrodia, R. Pisipati, G. L. Wilkes, *J. Appl. Polym. Sci.* 29 (1984) 3065-3073.
- [45] L-. E. Chile, P. Mehrkhodavandi, S. G. Hatzikiriakos, *Macromolecules* 49 (2016) 909-919.
- [46] A. Lopez-Arraiza, J-. R. Sarasua, J. Verdu, X. Colin, *Int. Polym. Process. XXII*, 22(5) (2007) 389-394.
- [47] S. R. Bagrodia, G. L. Wilkes, J. P. Kennedy, *J. Appl. Polym. Sci.* 30 (5) (1985) 2179-2193.
- [48] R. K. Bose, N. Hohlbein, S. J. Garcia, A. M. Schmidt, S. van der Zwaag, *Polymer* 69 (2015) 228-232.
- [49] G. Broze, R. Jérôme, P. Teyssié, *J. Polym. Sci.: Polym. Phys. Ed.* 21 (1983) 2205-2217.

- [50] P. F. Erhardt, J. M. O'Reilly, W. C. Richards, M. W. Williams, *J. Polym. Sci. : Polym. Symp.* 45 (1) (1974) 139-151.
- [51] A. V. Tobolsky, P. F. Lyons, N. Hata, *Macromolecules* 1 (6) (1968) 515-519.
- [52] H. Matsuura, *Polym. J.* 18 (1986) 1027-1035.
- [53] J. Dealy, D. Plazek, *Rheol. Bull.* 72 (2) (2009) 16-31.
- [54] S. Naya, A. Meneses, J. Tarrío-Saavedra, *J. Therm. Anal. Calorim.* 113 (2) (2013) 453-460.
- [55] G. Broze, R. Jérôme, P. Teyssié, C. Marco, Experimental study of the rheological properties of ion containing amorphous polymers, in *Rheology*, Eds. G. Astria, G. Marrucci, L. Nicolais, New York (1980) 527-533.
- [56] X. S. Zeng, M. Takahashi, H. Yamane, T. Masuda, *Nihon Reorojī Gakkaishi* 27 (1) (1999) 59-62.
- [57] A. Eisenberg, *Macromolecules* 3 (2) (1970) 147-154.
- [58] E. Eisenberg, M. Navratil, *J. Polym. Sci. Part C : Polym. Lett.* 10 (7) (1972) 537-542.
- [59] W. E. Fitzgerald, L. E. Nielsen, *Proc. R. Soc. Lond. A* 282 (1388) (1964) 137-146.
- [60] J-. C. Majesté, A. Allal, J-. P. Montfort, *Rheol. Acta* 42 (2003) 477-482.

VI.6. ABSTRACT

The particular rheological behavior of ion-containing polymers has long been studied; these materials show a dramatic change in their properties when ions are incorporated in their structures. This change is due to ionic interactions that occur between the ion-containing polymer molecules and lead to the formation of ionic associations between them in the form of clusters. In this study, quaternary ammonium-containing star-shaped polylactic acid (PLA-Q) was analyzed in melt rheology and found to follow the same clustering behavior. First, the viscosity of this low molecular weight polymer was studied and compared to its analog without quaternary ammoniums: great differences due to the presence of ions appeared and it also showed that the ion-containing polymer exhibits viscosity values comparable to higher molecular weight polymers. The activation energy of the flow process of the PLA-Q was found to be in the range of an ionic process, confirming the formation of ionic associations. The storage and loss modulus of this polymer were investigated and their curves were time-temperature superposed, first at constant temperature, then at constant shearing time to obtain master curves that were themselves superposed to make a unique master curve. The results confirmed on the one hand the formation of the ionic associations (aggregates) within the polymer and on the other hand that these discrete ensembles hinder the motion of the chains of the polymer. The dynamics of these aggregates follow the Rouse model and two species (clusters and multiplets) were found to coexist simultaneously within the material in different proportions.

KEYWORDS

Ion-containing polymer, quaternary ammonium, branched polymer, time-temperature superposition, PLA.

CONCLUSION GENERALE

L'objectif des travaux menés au cours de cette thèse était d'allier dans un même polymère : un design macromoléculaire contrôlé, des fonctionnalités contrôlées et susceptibles de post-modifications ainsi que la possibilité de mise en œuvre par un procédé en fondu tout en conservant l'aspect respectueux de l'environnement.

La synthèse de structures macromoléculaires branchées à partir de chaînes polymères biodégradables et/ou biosourcées, de PLA, PCL et PHB, a été réalisée, le nombre de branches constituant ces macromolécules est contrôlable, de même que le nombre de fonctions, ce qui a permis d'obtenir différentes architectures et fonctionnalités. L'avancement des réactions durant les différentes étapes de cette synthèse a été suivi et confirmé par IR et les structures chimiques ont été analysées par RMN. Pour la fonctionnalisation, des réactions modèles ont permis de comprendre le mécanisme réactionnel du 2-aminothiophenol avec les groupements diisocyanate et de confirmer que c'est la fonction thiol qui reste pendante dans les produits obtenus. La teneur en groupements fonctionnels, qui sont des thiols pendants, a pu être évaluée par une méthode de titrage chimique. Les masses molaires des polymères obtenues ont été déterminées par chromatographie d'exclusion stérique. Il a été constaté que la température de transition vitreuse dépend de l'architecture des polymères en question. La présence de groupements thiols, qui sont très réactifs, sur ces polymères a été un atout pour des post-modifications.

Des monomères acryliques et méthacryliques, portant des groupements ammoniums quaternaires connus pour leur activité biologique, ont pu être greffés sur les fonctions thiols pendantes des polymères multi-thiolés préparés précédemment, et ce, via un mécanisme d'addition radicalaire de type thiol-ène. L'objectif de cette étape était de transférer les groupements ammoniums des monomères utilisés sur les structures des polymères pour obtenir des polymères dotés d'une activité biologique. Le degré de polymérisation (ou d'addition thiol-ène) s'est avéré être dépendant du rapport stœchiométrique thiol/ène dans le mélange réactionnel. Les réactions modèles ont montré la faisabilité de cette addition avant de la réaliser sur les polymères multi-thiolés. Les taux de conversion observés dans les deux cas sont très élevés, une conversion totale a pu être observée dans certains cas. Les cinétiques d'addition radicalaire thiol-ène ont été suivies par RMN et les constantes de transfert de chaînes ont été déterminées, les valeurs de ces dernières étant proches de l'unité, valeur

considérée idéale pour ce type d'addition. Les produits obtenus ont été caractérisés par RMN et DSC.

On a pu confirmer la possibilité de mise en œuvre en phase fondue des polymères branchés et porteurs de groupes ammoniums quaternaires en utilisant comme exemples deux structures branchées en forme d'étoile, l'une étant basées sur des chaînes de PLA et l'autre sur des chaînes de PCL. Des mélanges de ces polymères avec des matrices de PLA et PCL conventionnelles ont été réalisés avec différents pourcentages de polymères porteurs de groupes ammoniums quaternaires (10, 20, 50 et 60%), dans un procédé d'extrusion à 160°C, et mis sous forme de films en utilisant une presse à la même température. Les mélanges obtenus ont fait l'objet d'étude de morphologie par MEB, confirmant la présence de deux phases séparées, avec des structures de type gouttelettes dans une matrice, la taille et la distribution des gouttelettes se sont avérées être dépendantes de la nature des composants des mélanges ainsi que de leur pourcentage. L'étude rhéologique des polymères porteurs de groupes ammoniums quaternaires, dont les masses molaires avoisinent les 8000g.mol⁻¹, a montré des comportements similaires à ceux des polymères de grandes masses molaires, et les propriétés rhéologiques des mélanges obtenus sont gouvernées par des interactions interfaciales entre les composants des mélanges. L'étude de la mouillabilité des films obtenus à partir de ces mélanges a montré que l'introduction des polymères portant des ammoniums quaternaires dans les films conduit à une augmentation du caractère hydrophile du matériau en question, ce qui présente un avantage considérable pour des applications antibactériennes. La présence des groupements ammoniums quaternaires dans les polymères synthétisés provoque un ralentissement de leur cinétique de biodégradation, mais ces derniers restent tout de même biodégradables, cette caractéristique pouvant être exploitée pour des applications qui exigent une longue durée de vie du polymère tout en gardant son aspect biodégradable à la fin de son usage.

Les tests d'activité antibactérienne, qui ont été réalisés sur les polymères dotés de groupements ammoniums quaternaires ainsi que sur leurs mélanges avec des matrices conventionnelles, ont montré une très grande efficacité, faisant de ces matériaux de bons candidats pour des applications à caractère biologique. Ils ont été testés contre trois bactéries, dont deux de Gram négatif (*E. coli* et *Salmonella*) et une de Gram positif (*Listeria monocytogenes*). Dans un premier temps, ils ont montré une grande capacité d'inhibition de la croissance bactérienne des trois souches utilisées, puis leur activité bactéricide a été confirmée avec succès. La cinétique de la croissance des bactéries utilisées a été également étudiée, cette

dernière est ralentie par la présence des films polymères préparés dans les milieux de culture. Pour s'assurer qu'il n'y a pas de libération de polymères actifs ou de molécules portant des ammoniums quaternaires dans les milieux de tests, ce qui peut représenter une pollution dans d'éventuelles applications, des tests de diffusion sur gélose ont été réalisés et ont confirmé qu'il n'y a pas de libération d'entités actives depuis les films, et que le mécanisme d'action de ces derniers est bel et bien un mécanisme par contact entre les bactéries et les films.

Le comportement rhéologique si particulier des polymères portant des ammoniums quaternaires a été étudié, en prenant comme exemple une structure de PLA en étoile avec trois branches, et en réalisant des mesures à températures et à temps constants, les résultats obtenus sont en adéquation avec la littérature qui suppose que lors de la sollicitation de ces matériaux en phase fondue, il y a formation de zones discrètes dans le matériau en question, et que cette dernière résulte des interactions physiques entre les ions (ammoniums quaternaires) portés par les molécules du polymères.

Les perspectives qui se dégagent de ce travail sont nombreuses, l'une d'elles étant l'utilisation des polymères multi-thiolés, obtenus dans le deuxième chapitre, Il serait possible de fixer d'autres entités sur ces matériaux, tels que des métaux, présentant ainsi diverses applications potentielles, ou de créer des ponts disulfides ou d'autres types de liaisons avec d'autres polymères fonctionnels, permettant ainsi de conjuguer différentes propriétés.

Il serait également intéressant de voir de manière détaillée l'effet des branchements sur les propriétés rhéologiques et mécaniques des polymères synthétisés et les comparer à leurs analogues linéaires, de nombreux travaux ont été réalisés dans ce sens, montrant un changement radical de la compacité des polymères suite à leur branchement, se traduisant par un changement des propriétés rhéologiques et mécaniques, le contrôle des architectures macromoléculaires synthétisées pourrait donc être un moyen pour améliorer ou contrôler les propriétés du matériau.

La possibilité d'obtenir d'autres morphologies lors du mélange des polymères portant des ammoniums quaternaires avec des matrices conventionnelles peut être étudiée, des morphologies co-continues peuvent éventuellement être préparées, ou encore des mélanges monophasiques et homogènes en y introduisant des comptabilisants entre les deux phases, ou simplement en choisissant des matrices qui peuvent être miscibles avec ces polymères.

Finalelement, après avoir confirmé leur efficacité en tant que matériaux antibactériens, il serait important d'étudier la cytotoxicité des polymères obtenus, et ce, pour des éventuelles applications touchant aux domaines alimentaires et à la santé.

Elaboration en phase fondue de matériaux polymères à activité biologique

Résumé : L'objectif de cette thèse était d'allier, dans un même polymère, le contrôle de l'architecture macromoléculaire, la fonctionnalité et la possibilité de sa mise en œuvre en phase fondue, tout en préservant l'aspect environnemental. Les structures polymères synthétisées sont basées sur des chaînes biodégradables et/ou biosourcées d'acide polylactique (PLA), de polyhydroxybutyrate (PHB) et de polycaprolactone (PCL). Ces dernières ont été assemblées dans des structures macromoléculaires branchées à design contrôlé et portant des fonctions thiols, ces fonctions ont permis le greffage de monomères dotés de groupements ammoniums quaternaires, sur les structures obtenues, via une addition radicalaire thiol-ène. Les produits obtenus ont été mélangés en phase fondue, par extrusion, avec des matrices de PLA et de PCL, pour préparer des films. Ces derniers ont fait l'objet d'une étude d'activité antibactérienne qui a montré une grande efficacité envers différents types de bactéries.

Mots clés : PLA – PCL – PHB – Architecture macromoléculaire – Thiol-ène – Polymères fonctionnels – Polymères antibactériens.

In melt preparation of biologically active polymeric materials

Abstract: The aim of this work was to develop polymers that combine controlled macromolecular architectures, functionality, melt processing and an environmentally friendly aspect. The obtained polymeric structures were based on biodegradable and/or biosourced chains of polylactic acid (PLA), polycaprolactone (PCL) and polyhydroxybutyrate (PHB). The last were assembled in branched macromolecular structures with controlled design and bearing thiol functions, these functions allowed the grafting of quaternary ammonium-containing monomers on the branched structures according to a thiol-ene radical addition mechanism. The final products were blended with neat matrices of PLA and PCL in the melt state, by extrusion process, to make polymeric films. The obtained film-shaped blends were subjected to antibacterial activity study showing their high efficiency against different types of bacteria.

Keywords: PLA – PCL – PHB – Macromolecular design – Thiol-ene – Functional polymers – Antibacterial polymers