



HAL
open science

Hydrogels injectables thermostimulables : relations structure/propriétés

Lucile Barbier

► **To cite this version:**

Lucile Barbier. Hydrogels injectables thermostimulables : relations structure/propriétés. Autre. Sorbonne Université, 2022. Français. NNT : 2022SORUS394 . tel-03967346

HAL Id: tel-03967346

<https://theses.hal.science/tel-03967346>

Submitted on 1 Feb 2023

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.



Sorbonne Université

ED 397 : Physique et Chimie des Matériaux

Science et Ingénierie de la Matière Molle (SIMM)

Hydrogels injectables thermostimulables : relations structure/propriétés

Par Lucile Barbier

Thèse de doctorat de Chimie des Matériaux

Dirigée par Dominique Hourdet et Yvette Tran

Présentée et soutenue publiquement le 03/10/2022

Devant un jury composé de :

Amiel Catherine, Professeur, Rapporteuse

Picton Luc, Professeur, Rapporteur

Charlot Aurélie, Maître de conférences, Examinatrice

Castignolles Patrice, Professeur, Examineur

Hourdet Dominique, Professeur, Directeur de thèse

Tran Yvette, Maître de conférences, Co-directrice de thèse



Except where otherwise noted, this work is licensed under <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/>

Remerciements

Je voudrais prendre le temps de remercier les différentes personnes qui ont contribué de près ou de loin au bon déroulement de ces trois années de thèse. Cette thèse m'aura beaucoup apporté que ce soit d'un point de vue scientifique comme d'un point de vue humain.

Je tiens tout d'abord à remercier les membres du jury ; Pr. Patrice Castignolles pour avoir présidé le jury et pour ses remarques et conseils sur l'analyse des PAA ; Dr. Aurélie Charlot pour avoir examiné mon travail. Je remercie également les deux rapporteurs de cette thèse Pr. Luc Picton et Pr. Catherine Amiel pour avoir pris le temps de lire mon travail et pour les questions pertinentes.

Je remercie également Etienne Barthel, directeur du laboratoire SIMM, pour m'avoir permis d'effectuer ma thèse au sein du SIMM et l'ED397 pour m'avoir accordé une bourse pour effectuer ma thèse.

Je remercie également mes encadrants, Dominique Hourdet et Yvette Tran, de m'avoir choisi pour ce sujet de thèse. Je remercie tout particulièrement Dominique pour son implication dans ce projet. Tu as toujours su trouver le temps et je me souviens que tu t'en voulais même lorsque qu'on ne discutait pas des résultats pendant plusieurs semaines. Tu as également su me laisser de la liberté dans ce sujet tout en me conseillant sur les axes à suivre.

Je voudrais remercier également les personnes qui ont aussi participé à ce projet, notamment Guylaine, pour son aide avec la rhéologie et de m'avoir appris que la rigueur est importante en rhéologie pour être sûr de ses résultats ; Mohamed, pour son aide avec la GPC, je pense t'avoir pas mal embêté avec mes polymères thermosensibles et parfois non filtrables ; Mehdi, pour son aide en début de thèse ; Cédric Lorthioir, pour toutes les expériences de RMN en température, de très jolis résultats à la clé ; Julie et l'équipe du SAXS pour les échantillons qui ont pu être passés grâce à vous.

Je remercie aussi Nadège pour les TP passés à tes côtés, c'était très sympathique de pouvoir enseigner avec toi. Une pensée aussi à Rettina et Patrick de la plateforme polymères de Jussieu pour leur aide lors des TP.

Je remercie également Perrine (aka PEPA ou Peregrine) pour les bons moments scientifiques lors de ton stage et lors de ta thèse tout comme ceux à l'extérieur du labo. Merci aussi de m'avoir accompagnée à venir au labo certains week-ends. À deux, c'est plus motivant ! Tu es devenue

bien plus qu'une stagiaire en très peu de temps et je suis contente d'avoir pu te voir arriver en thèse et continuer à travailler ensemble pendant un an.

Un petit coucou aussi à Ciara qui aura travaillé quelques semaines avec Perrine et moi.

Merci aussi à toutes les personnes qui permettent le bon fonctionnement du labo ; Gilles, Pierre, Fabienne et l'atelier.

Merci aux anciens du labo et aux plus jeunes notamment les premières années (bientôt ou déjà deuxième année) qui ont apporté une très bonne énergie au labo en arrivant en troupe d'une dizaine de personnes.

Une dédicace aux autres « premières années » (Anusree, Krupal, Flora-Maud, Lola, Julie, Clara et Marion), merci pour les bons restos qu'on a pu faire ensemble et le soutien qu'on a pu s'apporter durant ces 3 ans. Une dédicace plus particulière aux filles de H (Lola, Anusree, Julie et Flora-Maud) avec qui on a partagé beaucoup de moments et merci d'avoir toujours défendu notre honneur sur la piste de danse jusqu'au bout de la nuit !

Une dédicace à Maeva et Raquel, on s'est rencontré en Master 2 et on a toutes les trois choisi de faire une thèse. Toi, Maeva à Lyon et nous au SIMM, avec Raquel.

Je remercie également tout particulièrement mes différents co-bureaux, Pascal, Lola, Aaliyah, Gabriel, Caroline et Hernan. On aura formé une belle équipe et incontestablement le meilleur bureau. Merci d'avoir été là ! On a partagé nos moments de doute tout comme les bons moments. Je repense notamment à la période COVID où l'on ne voyait quasiment plus personne à part le bureau (Aaliyah, Pascal et Lola), merci d'avoir continué à maintenir des activités et notamment nos différents voyages (Strasbourg, Montpellier et Sainte-Mère Eglise, tout ça en 2020 !). Merci à Aaliyah, ma partenaire de voyage, on aura aussi fait ensemble l'Italie, la Bretagne et Annecy, tout ça en seulement un an de temps à Paris pour toi.

La thèse fut aussi marquée par les conférences dont leur nombre a été un peu diminué à cause du COVID mais on a pu se rattraper en troisième année ;

Flora-Maud et la team du JEPO (Louise et Théo) pour la première vraie conférence en présentiel, à Porquerolles, pas mal !

La Team Dumbio (Perrine, Matthieu, Lazare, Julie et Nohman) se fut très sympathique cette escapade en terre Grenobloise et notamment le Barberousse.

Et enfin la Team PNG (Maksim, Maeva, Flora-Maud, Julie, Perrine, Anusree et Yuan Yuan), on aura bien profité de cette conférence sur les gels tout en mangeant quasiment tous les jours des pâtes et des gelato.

Je fais également une dédicace à ceux hors du labo qui ont contribué à penser à autre chose qu'à la thèse durant ces trois ans ;

La Team Cergy, Natacha et Hajar, on aura fait pas mal de resto, de karaoké et de week-end. Natacha, merci de toujours m'embarquer dans tes délires et réciproquement de me suivre dans les miens ;

La Team Solvay, Emilie et Elodie, on s'est rencontré un an avant ma thèse et malgré les confinements et couvre-feux on arrivait toujours à se voir, merci la limite des 10 km.

Un grand merci à tous ceux qui sont passés lors de ma soutenance, du pot et/ou du bar. Cette journée fut exceptionnelle et riche en émotion.

Merci également à ma famille parce que je suis certaine que je n'en serais pas arrivée là aujourd'hui.

Erwan, merci pour le soutien au quotidien, les fous rires et ta folie.

MERCI !

Table des matières

INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
CHAPITRE 1 : ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE	7
I. Introduction sur les hydrogels injectables	7
II. Comportement des polymères en milieu solvant	11
II.1. Polymères en solution	11
II.1.1. Conformation de la chaîne macromoléculaire	11
II.1.2. Régimes de concentration et lois d'échelle	12
II.1.3. Analyse viscoélastique	13
II.1.4. Viscosité et injectabilité	14
II.2. Propriétés physico-chimiques des hydrogels	18
II.2.1. Transition Sol/Gel	18
II.2.2. Cinétique de gélification	19
II.2.3. Caractéristiques des gels (Q, G, ξ)	20
II.2.4. Propriétés d'adhésion	23
III. Polymères thermosensibles	26
III.1. Thermodynamique des polymères en solution et séparation de phase	26
III.2. LCST en phase aqueuse	29
III.3. Exemples de polymères à LCST	30
III.3.1. Le poly(<i>N</i> -isopropylacrylamide)	30
III.3.2. Cas des poly(oligo(ethylene glycol) methyl ether methacrylate)	32
III.4. Paramètres externes influençant la LCST	33
III.4.1. Addition de sel	33
III.4.2. Ajout d'un co-solvant	35
III.5. Potentialités des polymères à LCST	36
IV. Systèmes thermogélifiants	37
IV.1. Hydrogels thermosensibles à LCST	37
IV.1.1. Dérivés de cellulose	37
IV.1.2. Chitosane	39
IV.2. Copolymères thermogélifiants	41
IV.2.1. Copolymères linéaires à blocs	41
IV.2.2. Copolymères linéaires statistiques	42
IV.2.3. Copolymères greffés	43
V. Conclusion	49
Références	51
CHAPITRE 2 : MATÉRIELS ET MÉTHODES	59
I. Plateforme macromoléculaire	59
I.1. Réactifs et précurseurs	59
I.2. Synthèse des polymères à LCST	59
I.2.1. PNIPAm-NH ₂	59
I.2.2. PEGMA-NH ₂	60
I.2.3. Copolymères linéaires de P(NIPAm-co-AMPS)	62
I.3. Synthèse de copolymères greffés thermoassociatifs	62

II. Techniques de caractérisation	66
II.1. Masses molaires et composition	66
II.1.1. RMN	66
II.1.2. SEC	67
II.1.3. Viscosimétrie capillaire	68
II.2. Caractérisation thermodynamique des solutions	69
II.2.1. Spectrométrie UV-visible	69
II.2.2. DSC	69
II.2.3. RMN ¹ H	70
II.3. Analyse structurale	70
II.3.1. SAXS	70
II.3.2. Cryo-MET	71
II.4. Études rhéologiques	71
II.4.1. Propriétés viscoélastiques aux faibles déformations	71
II.4.2. Injectabilité	72
II.4.3. Adhésion - Test de tack	73
II.5. Comportement en milieu physiologique	75
II.5.1. Gonflement	75
II.5.2. Étude du relargage de la Rhodamine B	76
Annexes	77
Références	90
CHAPITRE 3 : ÉTUDE D'UN HYDROGEL INJECTABLE MODÈLE : LE POLY(ACIDE ACRYLIQUE)-G-PNIPAM	92
I. Comportement thermoassociatif du PAA1-N67	92
I.1. Introduction	92
I.2. Analyse calorimétrique différentielle à balayage (DSC)	92
I.3. Analyse RMN ¹ H	94
I.4. Analyse viscoélastique	95
I.5. Analyse structurale	98
II. Impact de la concentration en copolymère	101
II.1. Introduction	101
II.2. Analyse calorimétrique	102
II.3. Analyse viscoélastique	102
III. Impact de la concentration en sel	107
III.1. K ₂ CO ₃	107
III.2. Tampon Phosphate Salin (PBS)	109
IV. Étude des propriétés d'adhésion	109
IV.1. Introduction	109
IV.2. Impact de la température sur les propriétés d'adhésion	110
IV.3. Impact de la concentration sur l'adhésion	116
V. Conclusion	118
Annexes	119
Références	121

CHAPITRE 4 : ÉTUDE D'UN HYDROGEL INJECTABLE MODÈLE À BASE DE POLY(ACIDE ACRYLIQUE)-G-PNIPAM – IMPACT DE LA STRUCTURE SUR LES PROPRIÉTÉS THERMOGÉLIFIANTES	124
I. Introduction	124
II. Étude du comportement thermoassociatif aux faibles déformations	124
II.1. Impact de la taille des greffons	124
II.2. Impact du taux de greffage	129
II.3. Impact de la taille du squelette	130
III. Adhésion – Analyse comparative aux grandes déformations	136
III.1. Impact du pourcentage en greffons	136
III.2. Impact de la taille du squelette	137
III.3. Impact du pourcentage en polymère sur les propriétés aux grandes déformations	139
IV. Conclusion	141
Annexes	142
Références	142
CHAPITRE 5 : COPOLYMÈRES LINÉAIRES STATISTIQUES THERMOGÉLIFIANTS : RELATIONS STRUCTURE/PROPRIÉTÉS	145
I. Introduction	145
II. Impact du pourcentage en AMPS sur les propriétés thermogélifiantes	147
II.1. Introduction	147
II.2. Analyse viscoélastique	147
II.2.1. Étude des solutions à 5 wt%	147
II.2.2. Influence de la concentration en polymère	149
II.2.3. Étude des propriétés en milieu PBS	151
III. Caractérisation viscoélastique du copolymère PN-A3,5	154
III.1. Étude aux petites déformations	154
III.1.1. Influence de la concentration	154
III.1.2. Influence de la masse molaire	156
III.2. Étude aux grandes déformations	157
III.2.1. Influence de la concentration en copolymère	157
III.2.2. Impact de la vitesse de décollement sur les propriétés d'adhésion	158
IV. Conclusion	161
Annexes	162
Références	163
CHAPITRE 6 : ÉTUDE DE COPOLYMÈRES GREFFÉS THERMOGÉLIFIANTS À BASE DE PEGMA	165
I. Introduction	165
II. Étude des greffons PEGMA	165
II.1. Transition de phase du PDEGMA	165

II.2. Transition de phase des copolymères P(DEGMA-co-TEGMA)	168
II.3. Transition de phase des copolymères P(DEGMA-co-OEGMA ₄₇₅)	169
III. Élaboration de copolymères greffés à base de PAA-g-PEGMA	170
III.1. Introduction	170
III.2. Propriétés thermogélifiantes des PAA-g-PEGMA	171
III.3. Comparaison entre PAA-g-PEGMA et PAA-g-PNIPAm	176
III.4. Discussion	177
IV. Conclusion	179
Annexes	180
Références	180
CHAPITRE 7 : BIOPOLYMÈRES THERMOGÉLIFIANTS	183
I. Introduction	183
II. Acide hyaluronique modifié	183
II.1. Comportement thermoassociatif	183
II.2. Propriétés viscoélastiques	184
II.3. Propriétés adhésives	186
III. Alginates modifiés	186
III.1. Introduction	186
III.2. Propriétés viscoélastiques des solutions d'ALG1-N45	187
III.2.1. Propriétés viscoélastiques dans l'eau	187
III.2.2 Propriétés viscoélastiques en milieu PBS	190
III.3. Influence de la masse molaire	190
III.4. Influence du taux de greffage	192
III.5. Influence de la nature des greffons	194
III.5.1. Introduction	194
III.5.2. Analyse viscoélastique	194
III.5.3. Analyse RMN	196
III.5.4. Analyse par SAXS	197
IV. Propriétés des biogels injectables en milieu physiologique	198
IV.1. Propriétés rhéologiques sous cisaillement	198
IV.1.1. Viscosité sous cisaillement	198
IV.1.2. Injectabilité	200
IV.2. Gélification	202
IV.3. Gonflement et intégrité du gel	205
IV.4. Relargage	206
IV.5. Toxicité/ Viabilité cellulaire	208
V. Discussion générale	209
VI. Conclusion	213
Annexes	214
Références	217
CONCLUSION GÉNÉRALE	219

Abréviations

AET : 2-aminoethanethiol

DSC : Differential Scanning Calorimetry

EDC : 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide

KPS : potassium persulfate

LCST : Lower Critical Solution Temperature

MADAP : *N,N*-[(diméthylamino)propyl] méthacrylamide

NHS : *N*-hydroxysuccinimide

NIPAm : *N*-isopropylacrylamide

PAA : poly(acide acrylique)

PBS : Phosphate-Buffered Saline, tampon phosphate salin

PDMA : poly(*N,N*-diméthylacrylamide)

PEGMA/POEGMA : poly(oligo(éthylène glycol) méthyl éther méthacrylate)

PEPO : poly(éthylène oxide-co-propylène oxide)

PNIPAm : poly(*N*-isopropylacrylamide)

RMN ¹H : Résonance Magnétique Nucléaire du proton

SEC : Size Exclusion Chromatography

UCST : Upper Critical Solution Temperature

C_e : Concentration d'enchevêtrement

C_p : Concentration en polymère

C_{PNIPAm} : Concentration en PNIPAm

\mathcal{D} : Dispersité

G' : Module de conservation (Pa)

G'' : Module de perte (Pa)

M_n : Masse molaire moyenne en nombre

M_w : Masse molaire moyenne en masse

η^* : Viscosité complexe (Pa.s)

η_{rel} : Viscosité relative

η_{sp} : Viscosité spécifique

T_{as} : Température d'association

$T_{sol-gel}$: Température de transition sol-gel

Tableau récapitulatif - Copolymères greffés

Noms de code	Squelette	Greffons				
		PNIPAm			PDEGMA	PEPO
		38k	8k	20k	27k	2k
PAA1-N37	PAA1 $M_v = 230 \text{ kg/mol}$	37 wt%				
PAA1-N67		67 wt%				
PAA1-N75		75 wt%				
PAA1-N75/8k			75 wt%			
PAA2-N75	PAA2 $M_v = 710 \text{ kg/mol}$	75 wt%				
ALG1-N15	ALG1 $M_n = 155 \text{ kg/mol}$	15 wt%				
ALG1-N45		45 wt%				
ALG1-N72		72 wt%				
ALG1-D45					45 wt%	
ALG1-P45						45 wt%
ALG1-P67						67 wt%
ALG2-N45	ALG2 $M_n = 53 \text{ kg/mol}$	45 wt%				
HA-N55/20k	$M_n = 200 \text{ kg/mol}$			55 wt%		

Introduction générale

Introduction générale

Les hydrogels sont des solides macromoléculaires possédant une forte affinité pour l'eau et résultant de l'assemblage de chaînes polymères par des liaisons covalentes (gels chimiques) ou physiques (gels réversibles). Ces matériaux hydratés font l'objet de nombreux développements dans des domaines aussi variés que l'industrie alimentaire, cosmétique, pétrolière ou les domaines de la chimie analytique (chromatographie) ou du paramédical avec des applications bien connues telles que les superabsorbants dans les couches-culottes, les lentilles de contact ou les pansements.

La possibilité pour ces matériaux de transiter de manière contrôlée entre un état liquide et un état solide, a conduit durant ces dernières décennies à d'intenses recherches dans le domaine biomédical avec le développement d'hydrogels injectables. Sur ces 5 dernières années, on trouve en effet plus de 800 articles comportant les termes « hydrogel » et « injectable » uniquement dans le titre. En plus des avantages typiques des hydrogels conventionnels, tels que la biocompatibilité, la perméabilité à l'oxygène et aux nutriments, propriétés similaires aux caractéristiques de la matrice extracellulaire, et l'existence d'une structure poreuse permettant le chargement d'agents thérapeutiques, leur caractère injectable permet un minimum d'invasivité associé à une mise en œuvre relativement aisée pour combler des sites aux formes irrégulières.

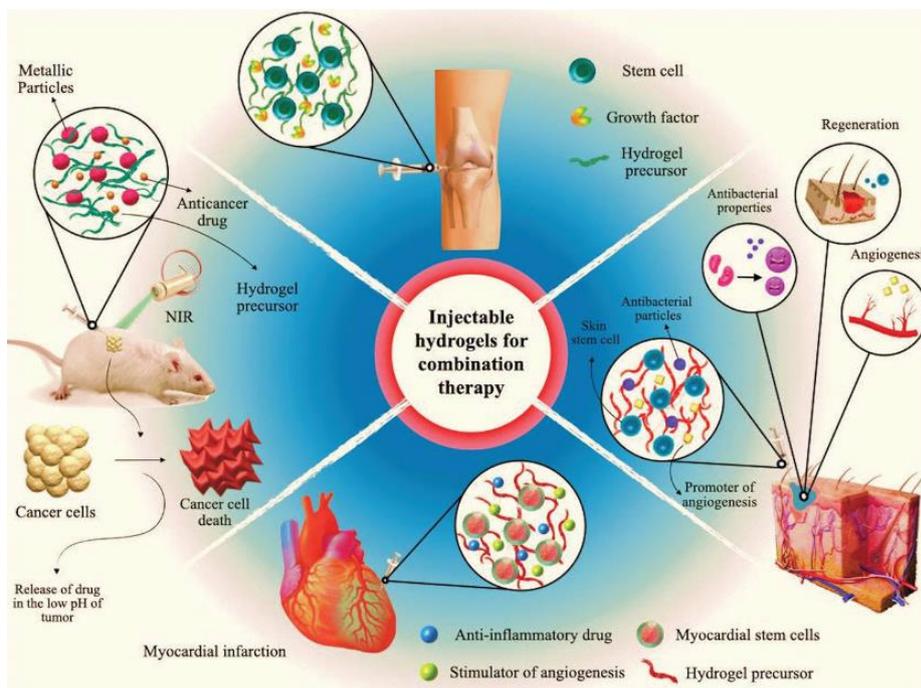


Figure 1 : Illustration d'applications potentielles d'hydrogels injectables pour la thérapie contre le cancer et la régénération de tissus endommagés¹.

Comme schématisé sur la Figure 1, les hydrogels injectables sont actuellement envisagés dans de nombreuses applications, soit en tant que matrice 3D ou comme transporteurs d'agents thérapeutiques tels que des médicaments, des cellules, des protéines et des molécules bioactives utilisées dans le traitement de maladies comme le cancer et pour la réparation et la régénération des tissus. Il est ainsi possible de cibler précisément le site de traitement en injectant, à l'aide d'une seringue par exemple, la solution contenant les précurseurs de l'hydrogel ainsi que d'éventuels cellules ou principes actifs à l'endroit souhaité. Dans le cadre du relargage ciblé de principes actifs, leur encapsulation au sein de l'hydrogel permet de plus un relargage progressif et localisé en augmentant l'efficacité du traitement et en évitant la toxicité d'un relargage rapide. Notons que ces systèmes injectables sont également envisagés dans le cadre d'applications transmucoales (muqueuses buccale, oculaire, nasale...) pour lesquelles la transition sol/gel peut se faire par pulvérisation ou par simple dépôt de la formulation initialement liquide.

Pour obtenir cette transition sol-gel, deux principales méthodes sont utilisées :

- la réalisation de réactions chimiques (photopolymérisation, polymérisation thermique, etc.) *in vivo*, conduisant à un phénomène irréversible dû à la création de liaisons covalentes entre les chaînes de polymère ;
- l'application d'un stimulus interne ou externe (pH, température, force ionique, UV...) qui va provoquer la formation de liaisons physiques qui sont réversibles par nature lors d'un retour à l'environnement initial.

D'une manière générale, l'utilisation de gels réversibles, permettant d'éviter toutes réactions chimiques *in situ*, a la préférence des chercheurs. Parmi ces systèmes, les réseaux thermostimulables pouvant transiter aux environs de la température du corps font l'objet d'un intérêt tout particulier. Ils reposent très souvent sur l'intégration dans la structure macromoléculaire de polymères thermosensibles de type LCST, caractérisés par une séparation de phase générée par chauffage, qui offrent un très large choix de structures chimiques permettant d'atteindre une température de transition proche de celle du corps. Ces polymères à LCST sont généralement couplés à des chaînes hydrosolubles afin de limiter le phénomène de séparation de phase au niveau microscopique et ainsi permettre l'obtention d'un hydrogel stable en température. D'un point de vue pratique, les hydrogels thermostimulables sont très souvent développés à partir de structures greffés ou à blocs offrant à travers ces architectures une très grande variété de paramètres structuraux.

Or, si on trouve aujourd'hui de nombreux travaux utilisant les propriétés thermogélifiantes de tels systèmes, ces articles s'intéressent plus spécifiquement aux températures de transition et de

gélification, aux propriétés du gel à la température du corps ainsi qu'à des applications thérapeutiques spécifiques. Il existe néanmoins peu d'études systématiques ayant pour objectif de répondre aux questions suivantes :

- Comment la nature chimique et la masse molaire de la séquence hydrosoluble impactent les caractéristiques viscoélastiques des formulations gélifiantes avant et après transition ?
- Comment la taille et la nature chimique des séquences à LCST permettent de contrôler le mécanisme de thermoassociation (température et discontinuité de la transition) et les propriétés à haute température : élasticité, cohésion, adhésion ?
- Quelle est le meilleur compromis entre ces deux composantes et peut-on prévoir simplement les propriétés thermogélifiantes à partir des paramètres structuraux ?

Afin de tenter de répondre à ces questions, l'objectif de ce travail de thèse a été d'établir les relations structure/propriétés à partir de copolymères thermogélifiants développés principalement sur la base d'architectures greffés constituées d'un squelette hydrophile et de greffons thermosensibles à LCST.

Ce manuscrit est divisé en 7 chapitres.

Le Chapitre 1 est consacré à une étude bibliographique sur les hydrogels injectables afin de définir quels sont les critères nécessaires à l'élaboration de tels systèmes pour des applications biomédicales et notamment de délivrance de principes actifs.

Le Chapitre 2 rassemble quant à lui toute la partie relative à la synthèse des copolymères thermosensibles qui a été réalisée majoritairement en 2 étapes faisant intervenir la télomérisation des greffons à LCST portant une fonction amine terminale suivi de leur greffage sur des squelettes hydrosolubles portant des fonctions carboxyliques par couplage peptidique en présence de carbodiimide (cf. Figure 2). Ce chapitre rassemble également la présentation des différentes techniques expérimentales qui ont été mises en œuvre dans ce travail.

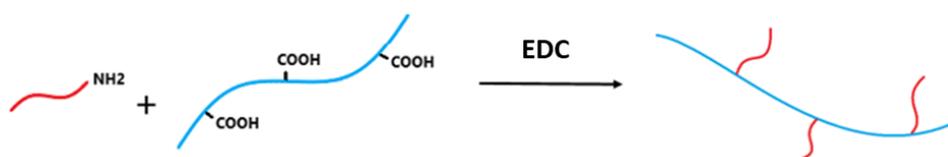


Figure 2 : Schéma de la réaction de couplage entre les fonctions acides et amines à l'aide d'un carbodiimide, l'EDC.

Les chapitres suivants relatifs aux résultats expérimentaux sont divisés en trois parties.

La Partie A est consacrée à l'étude d'un copolymère greffé thermogélifiant totalement synthétique : le poly(acide acrylique)-g-poly(*N*-isopropylacrylamide) (PAA-g-PNIPAm). Ce

copolymère possède un squelette hydrophile polyélectrolyte et des greffons thermosensibles, possédant une LCST aux alentours de 32 °C. Ce copolymère servira de système modèle afin de poser les bases des relations structure/propriétés de copolymères greffés thermosensibles de topologie donnée. L'étude de ce système modèle est découpée en deux chapitres.

Le premier chapitre (Chapitre 3) est consacré à la caractérisation des solutions aqueuses d'un copolymère PAA-g-PNIPAm de référence via différentes techniques (rhéologie, RMN, DSC, test de tack, etc.).

Le second chapitre (Chapitre 4) permet d'appréhender l'impact de la structure macromoléculaire sur les propriétés de thermogélification à partir d'une même structure greffée PAA-g-PNIPAm, où nous avons fait varier divers paramètres tels que la taille du squelette, la taille des greffons et/ou leur nombre (cf. Figure 3).

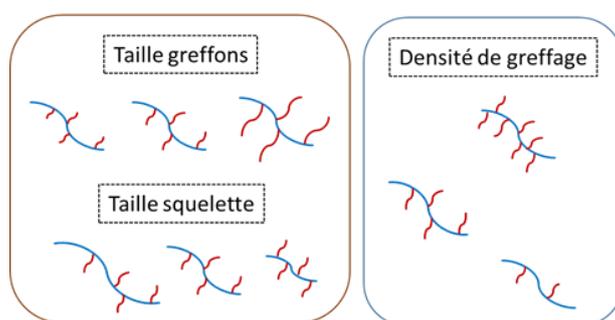


Figure 3 : Paramètres structuraux des PAA-g-PNIPAm étudiés dans le Chapitre 4.

Dans la Partie B, les systèmes étudiés sont toujours de nature synthétique, mais nous avons fait varier soit la nature chimique des greffons, soit la topologie de l'architecture macromoléculaire.

Dans un premier chapitre (Chapitre 5), l'architecture greffée des copolymères est remplacée par une architecture linéaire développée sur la base de copolymères statistiques de type P(NIPAm-co-AMPS). L'objectif de ce Chapitre 5 est de vérifier, avec ce type d'architecture peu étudiée mais relativement simple à synthétiser, dans quelles conditions de force ionique et pour quelles compositions il est possible d'obtenir des formulations thermogélifiantes stables à la température du corps. Dans ce cadre, nous nous intéresserons également à l'impact de la topologie, greffée ou linéaire, sur les propriétés rhéologiques aux petites et grandes déformations (modules dynamiques et tests d'adhésion).

Dans un second chapitre (Chapitre 6), l'architecture greffée est conservée mais c'est la nature des greffons qui est modifiée en utilisant des copolymères de poly(éthylène glycol méthacrylate), PEGMA, à la place du PNIPAm. Le mécanisme d'association et les propriétés thermogélifiantes de ces copolymères greffés PAA-g-PEGMA sont ainsi analysés et comparés aux résultats obtenus avec les PAA-g-PNIPAm présentés dans la Partie A (Chapitres 3 et 4).

Les résultats obtenus dans les deux premières parties (Parties A et B) avec des systèmes synthétiques serviront ensuite de référence en élargissant notre étude aux copolymères greffés avec un squelette polysaccharide.

Dans la Partie C (Chapitre 7), deux biopolymères, l'alginate et l'acide hyaluronique, ont été utilisés avec comme objectif de comparer leurs propriétés thermogélifiantes dans le cadre très général des copolymères greffés. Ce chapitre repose principalement sur l'étude comparative de trois copolymères greffés à base d'alginate : ALG-g-PNIPAm, ALG-g-PDEGMA et ALG-g-PEPO (PEPO = poly(oxyde d'éthylène-co-oxyde de propylène)) avec des analyses complémentaires orientées vers l'injectabilité des solutions et la délivrance de principes actifs.

Le synoptique des copolymères étudiés dans les chapitres expérimentaux est présenté sur la Figure 4.

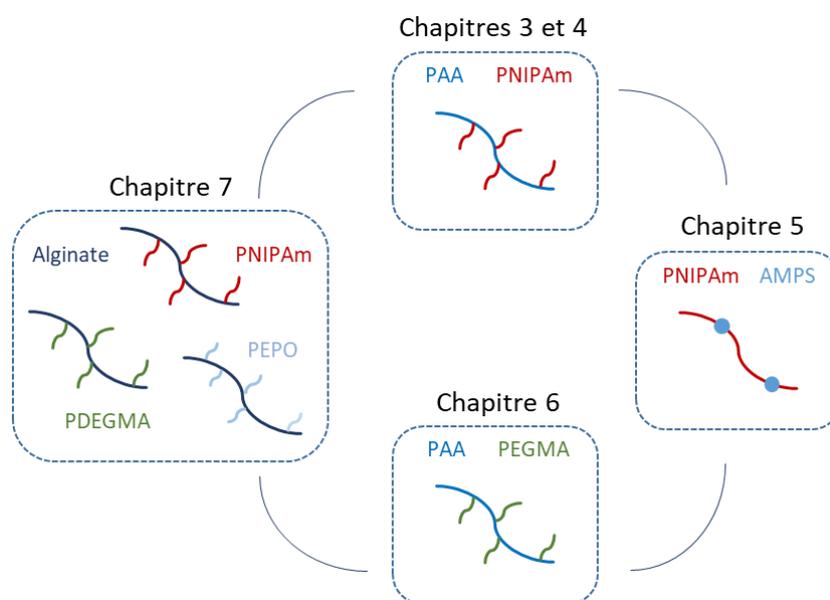


Figure 4 : Synoptique des copolymères étudiés dans les chapitres expérimentaux (leur synthèse est détaillée au Chapitre 2).

Références

1. Poustchi, F. *et al.* Combination Therapy of Killing Diseases by Injectable Hydrogels: From Concept to Medical Applications. *Adv. Healthcare Mater.* **10**, 2001571 (2021).

Chapitre 1 :

Étude bibliographique

Table des matières

CHAPITRE 1 : ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE	7
I. Introduction sur les hydrogels injectables	7
II. Comportement des polymères en milieu solvant	11
II.1. Polymères en solution	11
II.1.1. Conformation de la chaîne macromoléculaire	11
II.1.2. Régimes de concentration et lois d'échelle	12
II.1.3. Analyse viscoélastique	13
II.1.4. Viscosité et injectabilité	14
II.2. Propriétés physico-chimiques des hydrogels	18
II.2.1. Transition Sol/Gel	18
II.2.2. Cinétique de gélification	19
II.2.3. Caractéristiques des gels (Q, G, ξ)	20
II.2.4. Propriétés d'adhésion	23
III. Polymères thermosensibles	26
III.1. Thermodynamique des polymères en solution et séparation de phase	26
III.2. LCST en phase aqueuse	29
III.3. Exemples de polymères à LCST	30
III.3.1. Le poly(<i>N</i> -isopropylacrylamide)	30
III.3.2. Cas des poly(oligo(ethylene glycol) methyl ether methacrylate)	32
III.4. Paramètres externes influençant la LCST	33
III.4.1. Addition de sel	33
III.4.2. Ajout d'un co-solvant	35
III.5. Potentialités des polymères à LCST	36
IV. Systèmes thermogélifiants	37
IV.1. Hydrogels thermosensibles à LCST	37
IV.1.1. Dérivés de cellulose	37
IV.1.2. Chitosane	39
IV.2. Copolymères thermogélifiants	41
IV.2.1. Copolymères linéaires à blocs	41
IV.2.2. Copolymères linéaires statistiques	42
IV.2.3. Copolymères greffés	43
V. Conclusion	49
Références	51

Chapitre 1 : Étude bibliographique

I. Introduction sur les hydrogels injectables

Les hydrogels sont des réseaux tridimensionnels formés de chaînes macromoléculaires hydrophiles, d'origine naturelle ou synthétique, reliées entre elles par des liaisons covalentes et/ou des interactions physiques schématisés par des points de réticulation sur la Figure 1.1. Faiblement dissociables dans l'eau, les hydrogels possèdent la propriété de gonfler en milieu aqueux en raison des fonctions hydrophiles portées par les chaînes de polymère. Selon leur nature chimique, ils peuvent présenter des teneurs en eau très variables, généralement entre 40 et 95 %, pouvant atteindre des pourcentages supérieurs à 99,9 % dans le cas des gels superabsorbants. En raison de leurs caractéristiques physico-chimiques similaires aux tissus humains, module élastique de l'ordre du kPa et forte teneur en eau, les hydrogels sont particulièrement utilisés dans le domaine biomédical.

Cependant, dans la plupart des cas, le réseau tridimensionnel n'est pas injectable directement sous sa forme « solide » et il est alors intéressant de développer une transition de solution à gel au cours de l'injection. La solution contenant les précurseurs de l'hydrogel doit alors posséder une viscosité faible à température ambiante suivi par une gélification relativement rapide *in situ*. Dans le cadre d'applications biomédicales, les hydrogels injectables présentent l'avantage d'éviter une intervention chirurgicale via la formation de l'hydrogel directement au niveau de la zone de traitement. Ils peuvent en effet être utilisés notamment pour la délivrance de principes actifs ou la régénération tissulaire *in situ*.

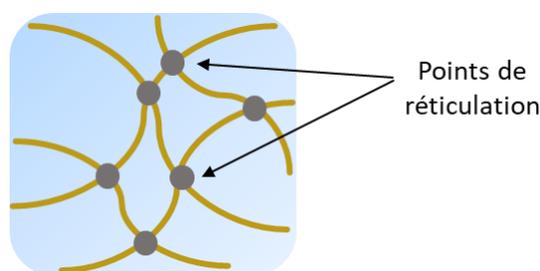


Figure 1.1 : Schéma d'un hydrogel.

Dans ce cadre, deux technologies d'hydrogels injectables peuvent être envisagées : les hydrogels covalents, ou hydrogels chimiques, et les hydrogels physiques.

La formation d'hydrogels injectables covalents peut être induite par photopolymérisation^{1,2}, polymérisation thermique³ ou amorçage rédox⁴, etc. Le désavantage lié à la formation de ces hydrogels est la toxicité que peuvent entraîner des réactions chimiques réalisées directement en présence de matériel vivant (réactions secondaires avec le milieu vivant, résidus de réaction...).

Des réactions alternatives, visant à limiter ou supprimer la toxicité *in vivo*, ont alors été développées. Il s'agit de réactions dites bio-orthogonales qui n'interfèrent pas avec les processus biologiques^{5,6}. Malgré ces développements, remplacer des réactions chimiques par des associations physiques stimulées par un changement d'environnement apparaît comme la meilleure alternative pour la formation de gels *in vivo*.

Ces hydrogels physiques reposent sur l'utilisation de polymères solubles dans l'eau qui en présence d'un stimulus (ou de plusieurs stimuli) vont s'associer pour conduire à la formation d'un réseau macromoléculaire tridimensionnel. Ces stimuli peuvent être associés à un changement de température (cf. Figure 1.2), de force ionique, de pH, etc. Dans ce cas, ce sont des liaisons faibles qui se forment entre les chaînes de polymères (interactions hydrophobes, électrostatiques...) et la transition est souvent réversible par retour à l'environnement initial. Cependant, en raison des liaisons faibles qui forment les zones de jonction inter-chaînes, les propriétés mécaniques des hydrogels physiques restent souvent moins élevées que celles des réseaux covalents.



Figure 1.2 : Transition sol-gel dans le cadre d'hydrogels injectables thermosensibles ; une T_{gel} inférieure à celle du corps est nécessaire pour assurer la formation du gel *in situ*, adapté de Yu *et al.*⁷.

La formation induite d'hydrogels physiques peut également être réalisée par injection d'un système bi-composant à partir duquel les deux composés vont interagir fortement lorsqu'ils seront mis en présence. C'est le cas par exemple des mélanges entre un polyanion et des espèces polycationiques (polymères ou cations multivalents) qui vont se complexer par interactions électrostatiques et conduire à la formation d'hydrogels ionotropiques. Un des exemples les plus connus est celui de l'alginate en présence d'ions calcium Ca^{2+} . L'alginate est un polysaccharide issu des algues brunes constitué de motifs acides mannuronique (M) et guluronique (G) chargés négativement dans les conditions physiologiques ($pK_a \sim 3.5$). Les fonctions carboxylates des unités G ont la propriété de complexer fortement les ions multivalents, tels que le calcium Ca^{2+} , pour conduire à la formation de séquences associatives (modèle boîte à œufs) qui vont réticuler les chaînes entre elles (cf. Figure 1.3). Avec ce type de système, la formation d'un réseau étant

pratiquement instantanée, un dispositif de double seringue est nécessaire pour conserver le caractère injectable avant introduction dans le milieu choisi.

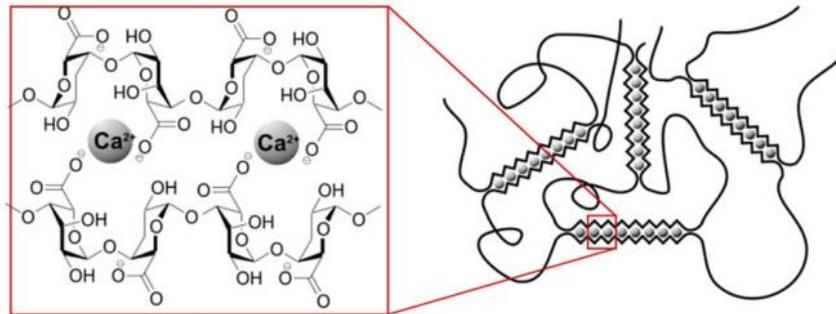


Figure 1.3 : Réticulation physique de l'alginate en présence d'ions Ca^{2+} ⁸.

Dans le cadre d'applications biomédicales, les hydrogels injectables sont généralement utilisés dans deux principaux domaines : l'ingénierie tissulaire et la délivrance de principes actifs. Dans ces types d'application, les hydrogels servent à encapsuler et piéger des cellules dans le cas de l'ingénierie tissulaire (cf. Figure 1.4) ou des principes actifs pour la délivrance contrôlée *in situ*.

En ingénierie tissulaire, les hydrogels servent de matrice pour le développement cellulaire. Via un système injectable, la régénération des tissus peut alors avoir lieu directement au sein du corps. Ceci présente l'avantage d'éviter une culture cellulaire *in vitro* et d'avoir à implanter l'hydrogel par la suite.

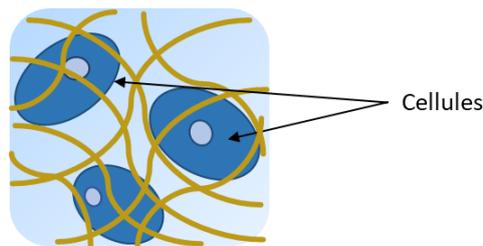


Figure 1.4 : Cellules piégées au sein d'un hydrogel.

Un critère important en ingénierie tissulaire est la biodégradation de la matrice. En effet, la matrice sert de milieu de développement aux cellules mais doit ensuite se dégrader progressivement pour laisser place aux nouveaux tissus formés. Elle doit être complètement dégradée une fois les tissus totalement reconstruits. La dégradation doit donc être contrôlée et doit suivre la tendance inverse de formation des nouveaux tissus.

Un autre paramètre à prendre en compte est le module élastique de la matrice. En effet, les cellules sont sensibles à leur environnement et se différencient en fonction du module du substrat⁹. Sur la Figure 1.5, des modules de 1 kPa, 10 kPa et 100 kPa permettent d'obtenir respectivement des neurones, des myoblastes (cellules musculaires) et des ostéoblastes (cellules osseuses) à partir de cellules souches. Caliarì *et al.*¹⁰ ont ainsi montré qu'en contrôlant

l'élasticité du support 2D (hydrogels de 1 à 34 kPa et verre), il était possible d'orienter la différenciation des cellules (cf. Figure 1.5).

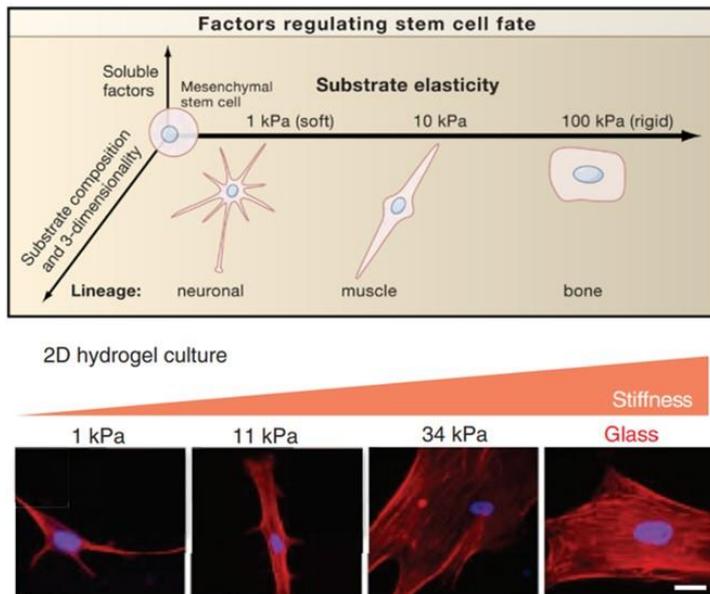


Figure 1.5 : Différenciation des cellules en fonction de l'élasticité de la matrice^{10,11}.

En délivrance de principes actifs (« controlled drug release » ou « controlled drug delivery »), le but est de contrôler le relargage sur un temps donné. En effet, en contrôlant le relargage à l'endroit ciblé, il est possible de diminuer la toxicité du médicament puisque celui-ci est libéré majoritairement au niveau de la cible à traiter et également d'augmenter son efficacité via une cinétique contrôlée.

Dans le cadre des hydrogels injectables, le relargage de principes actifs peut s'effectuer par diffusion et/ou via le gonflement du gel en milieu physiologique.

Plus l'hydrogel gonfle et plus la maille du réseau s'agrandit ce qui va permettre aux principes actifs de sortir plus facilement du réseau (cf. Figure 1.6). Le relargage peut également se faire via la dégradation/érosion du gel *in situ*. Pour avoir un relargage contrôlé sur un temps donné, il est donc important d'avoir une bonne connaissance des propriétés du gel *in situ*, notamment au niveau de sa stabilité et de ses propriétés thermodynamiques (gonflement, solubilisation).

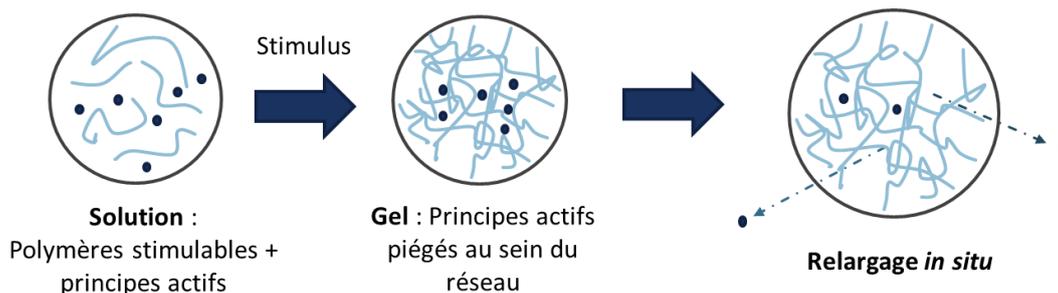


Figure 1.6 : Relargage de principes actifs via un hydrogel injectable.

Lors de traitements médicaux comme la délivrance de principes actifs, il existe plusieurs dispositifs. Dans le cas des hydrogels injectables, l'administration via une seringue est la voie la plus classique car elle permet l'accès direct à la zone à traiter, surtout quand celle-ci est difficile d'accès (injection sous-cutanée ou intramusculaire). Cependant, pour des applications topiques comme au niveau de l'œil ou des muqueuses, une solution liquide (collyre) ou une solution sprayable peuvent être directement déposées sur la surface à traiter. Pour ces cas, on note que l'hydrogel doit présenter des propriétés d'adhésion afin d'éviter leur élimination trop rapide de la surface.

II. Comportement des polymères en milieu solvant

Dans cette partie, les principales caractéristiques des polymères en solution et à l'état de gel sont abordées. Cette revue assez générale a pour objectif de faire le point sur les principales fonctionnalités recherchées dans le cadre des hydrogels injectables et notamment de souligner les critères importants à prendre en compte pour définir le cahier des charges.

II.1. Polymères en solution

II.1.1. Conformation de la chaîne macromoléculaire

En milieu dilué, la chaîne macromoléculaire peut adopter différentes conformations en fonction de la qualité du solvant (cf. Figure 1.7).

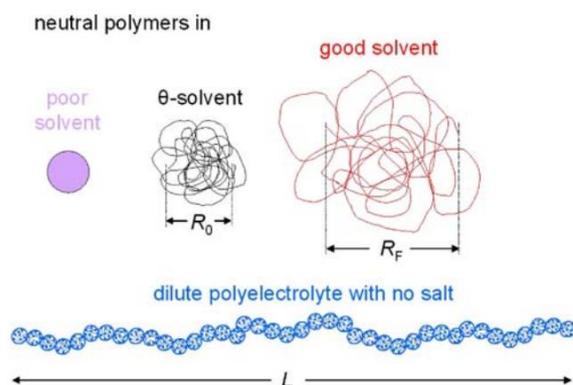


Figure 1.7 : Représentation schématique d'une chaîne de polymère neutre (en mauvais solvant, solvant- θ et bon solvant) et d'un polyélectrolyte en solution diluée et en absence de sel. D'après Colby *et al.*¹²

Dans le cas de chaînes flexibles, on distingue la conformation de référence (pelote statistique) en solvant- θ , que l'on retrouve avec le polymère à l'état fondu, de celle en bon solvant, où la chaîne gonfle sous l'effet du volume exclu. En mauvais solvant, la chaîne adopte une conformation globulaire pour réduire ses interactions avec le solvant. Quelle que soit la qualité du solvant, il existe une relation implicite entre la dimension de la chaîne (notée R) et sa masse molaire (M) proportionnelle au nombre d'unités monomères (N) : $R \sim M^\nu \sim N^\nu$, avec $\nu = 3/5$, $1/2$ et $1/3$ en bon solvant, solvant- θ et mauvais solvant¹².

Dans le cas des solutions diluées de polyélectrolytes sans sel ajouté, la chaîne adopte une conformation très étirée en raison des répulsions électrostatiques entre charges portées par la chaîne. Dans ce cas, l'exposant (ν) de la loi de puissance précédente vaut 1 ; la taille de la chaîne est donc proportionnelle à sa masse molaire. En présence de sel ajouté, la chaîne polyélectrolyte se replie progressivement pour rejoindre à force ionique élevée la conformation d'une chaîne neutre.

II.1.2. Régimes de concentration et lois d'échelle

Dans le cas de solutions de polymères, on distingue tout d'abord deux principaux régimes de part et d'autre de la concentration de recouvrement (c^*) : le régime dilué pour $c < c^*$ et le régime semi-dilué pour $c > c^*$. Ce dernier se divise en deux sous-régimes de part et d'autre de la concentration d'enchevêtrement (c_e) : le régime semi-dilué non enchevêtré pour $c^* < c < c_e$ et le régime semi-dilué enchevêtré pour $c > c_e$ (cf. Figure 1.8).

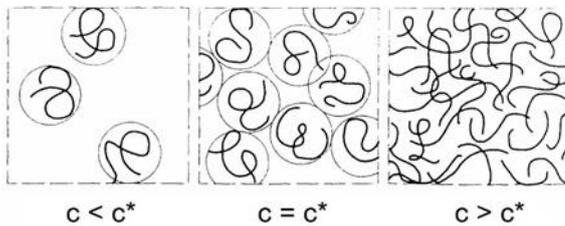
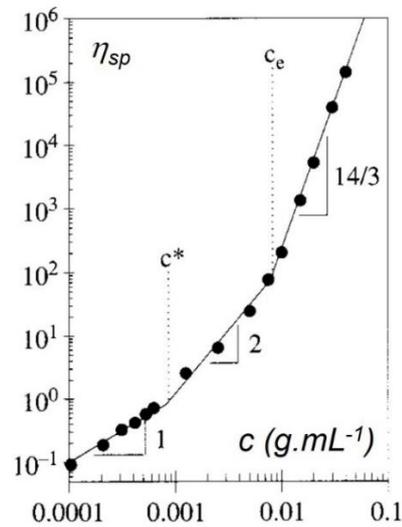


Figure 1.8 : (Haut) Représentation schématique de la concentration de recouvrement (c^*) séparant les régimes dilué et semi-dilué. (Droite) Variation de la viscosité spécifique η_{sp} , $(\eta - \eta_s)/\eta_s$, d'une solution aqueuse de poly(oxyde d'éthylène) ($M_w = 5.10^6$ g/mol) à $T = 25$ °C, mettant en évidence les différents régimes de concentration. D'après Colby et Rubinstein¹³. Avec, η : viscosité de la solution et η_s : viscosité du solvant.



D'une manière générale, la concentration de recouvrement c^* peut être calculée à partir des paramètres de la chaîne ($c^* \sim M/R^3 \sim M^{1-3\nu}$) et évaluée expérimentalement en posant $\eta = 2\eta_s$; soit $\eta_{sp} \cong 1$, ou $c^* \cong 1/[\eta]$ avec $[\eta]$, la viscosité intrinsèque. De la même manière, la concentration d'enchevêtrement des polymères neutres est généralement observée pour des concentrations 5 à 10 fois supérieures à la concentration de recouvrement¹² : $c_e \approx (5 - 10)c^*$.

Selon le régime de concentration dans lequel on se place, la solution va présenter des caractéristiques viscoélastiques très différentes qui sont généralement décrites à partir des variations du module de cisaillement (G en Pa), du temps de relaxation terminal (τ en s) et de la viscosité qui relie ces deux paramètres : $\eta = G \cdot \tau$ (Équation 1.1). Des théories bien établies,

relatives à la dynamique des polymères en solution et utilisant le modèle de reptation en milieu enchevêtré¹⁴, conduisent aux lois d'échelle rassemblées dans le Tableau 1.1.

Tableau 1.1 : Variation des paramètres viscoélastiques en fonction de la nature du polymère (neutre ou polyélectrolyte) et des conditions de solvatation¹².

Régime	Nature polymère	Conditions	G (Pa)		τ (s)		η (Pa.s)	
$c < c^*$	Neutre	solvant-θ	c	M ⁻¹	c ⁰	M ^{3/2}	c	M ^{1/2}
		bon solvant	c	M ⁻¹	c ⁰	M ^{9/5}	c	M ^{4/5}
	Polyélectrolyte	sans sel	c	M ⁻¹	c ⁰	M ³	c	M ²
$c^* < c < c_e$	Neutre	solvant-θ	c	M ⁻¹	c	M ²	c ²	M
		bon solvant	c	M ⁻¹	c ^{1/4}	M ²	c ^{5/4}	M
	Polyélectrolyte	sans sel	c	M ⁻¹	c ^{1/2}	M ²	c ^{1/2}	M
$c > c_e$	Neutre	solvant-θ	c ^{7/3}	M ⁰	c ^{7/3}	M ^{3,4}	c ^{14/3}	M ^{3,4}
		bon solvant	c ^{9/4}	M ⁰	c ^{3/2}	M ^{3,4}	c ^{15/4}	M ^{3,4}
	Polyélectrolyte	sans sel	c ^{3/2}	M ⁰	c ⁰	M ^{3,4}	c ^{3/2}	M ^{3,4}

II.1.3. Analyse viscoélastique

L'analyse des propriétés viscoélastiques est le plus souvent réalisée sous cisaillement de manière continue ou oscillatoire. Dans ce dernier mode, l'analyse est effectuée en appliquant un balayage en fréquence afin d'évaluer les contributions visqueuse et élastique de la solution. Cette analyse des modules élastique (G'), ou module de conservation, et visqueux (G''), ou module de perte, est généralement réalisée dans le domaine linéaire où ces grandeurs restent constantes et indépendantes de la déformation ou de la contrainte appliquée.

La connaissance de ces modules permet de remonter à la viscosité complexe (η^*) exprimée selon l'équation suivante :

$$\text{Equation 1.2 : } \eta^* = \sqrt{\left(\frac{G''}{\omega}\right)^2 + \left(\frac{G'}{\omega}\right)^2} \quad \text{Avec, } \omega : \text{ pulsation (rad/s).}$$

Un exemple représentatif d'une solution viscoélastique est donné sur la Figure 1.9, dans le cas du modèle de Maxwell couplant en série un amortisseur purement visqueux et un ressort Hookéen. Aux faibles fréquences, le fluide possède dans cet exemple un comportement liquide visqueux caractérisé par une viscosité newtonienne de 100 Pa.s. À hautes fréquences, pour des temps caractéristiques beaucoup plus faibles que le temps de relaxation ($\tau = 1$ s), le système se comporte comme un solide élastique caractérisé par un module de cisaillement : $G = 100$ Pa. Le point de croisement des courbes G' et G'' en fonction de la pulsation ω permet de déterminer le temps de relaxation de la solution : $\tau = 1/\omega_c$.

Lorsque les expériences sont réalisées en cisaillement continu, en faisant varier le gradient de cisaillement sur une échelle similaire ($\dot{\gamma} = 10^{-2}$ à 10^2 s^{-1}), la viscosité mesurée, $\eta_{\dot{\gamma}}$, est constante et identique à la viscosité complexe pour les faibles valeurs de $\dot{\gamma}$ (viscosité newtonienne). Au-delà de $\dot{\gamma} \approx \tau^{-1}$, l'accord est parfois conservé en comparant $\eta^*(\omega)$ et $\eta_{\dot{\gamma}}(\dot{\gamma} = \omega)$ (loi de Cox-Merz), mais des divergences sont parfois observées pour des gradients de cisaillement élevés en raison des fortes déformations subies par l'échantillon lors d'un cisaillement continu. Sur une échelle de gradient donnée, la viscosité d'un fluide peut être décrite par une loi de comportement établie par d'Ostwald-de Waele (cf. Figure 1.9, pour $\omega > 1 \text{ rad/s}$) :

Équation 1.3 : $\eta_{\dot{\gamma}} = K\dot{\gamma}^{n-1}$

Avec, K : indice de consistance (Pa.s^n) et n : indice d'écoulement décrivant le comportement newtonien ($n = 1$), rhéofluidifiant ($0 < n < 1$) ou rhéoépaississant ($n > 1$).

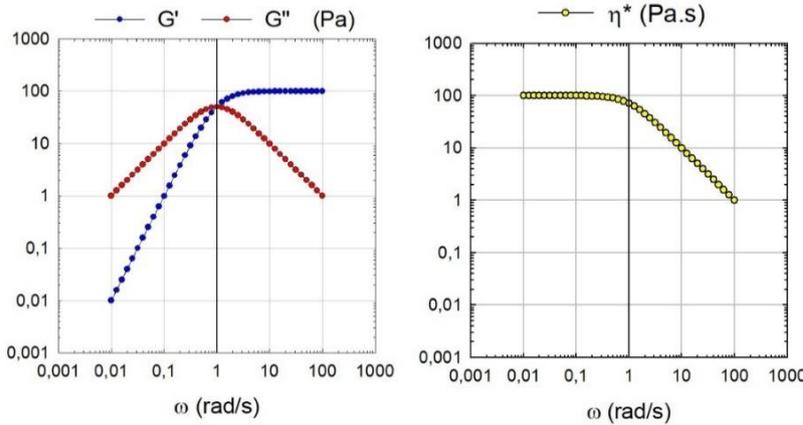


Figure 1.9 :
Caractéristiques d'un fluide viscoélastique calculées sur la base du modèle de Maxwell avec $G = 100 \text{ Pa}$, $\tau = 1 \text{ s}$ et $\eta = G.\tau = 100 \text{ Pa.s}$.

II.1.4. Viscosité et injectabilité

La viscosité des fluides est un paramètre important qui intervient dans tous les processus impliquant leur transport. Si on se place dans le cas des injections réalisées dans le domaine biomédical, l'injectabilité d'une solution renvoie le plus souvent à l'utilisation d'une seringue équipée d'une aiguille. Dans le cas de liquides newtoniens, la force d'injection (F) peut être calculée à partir de la loi de Hagen–Poiseuille^{15,16} :

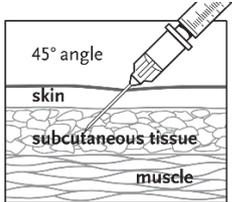
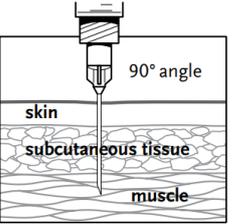
Équation 1.4 : $F = \frac{8\eta L Q_v R_s^2}{R_a^4} + F_f$

Avec, η : viscosité dynamique, L : longueur de l'aiguille, Q_v : débit volumétrique, R_s : rayon interne de la seringue, R_a : rayon interne de l'aiguille et F_f : force de friction du piston dans la seringue.

Généralement, les caractéristiques de l'aiguille (diamètre et longueur) diffèrent en fonction du site d'injection et de l'âge du patient. Le diamètre de l'aiguille est exprimé en Gauge. Plus le diamètre est petit et plus le nombre de Gauge augmente. Les aiguilles médicales se situent dans

la gamme de 20 à 30 Gauges. Dans le cas des injections intramusculaire ou sous-cutanée, les diamètres et les longueurs d'aiguille standards sont reportés dans le Tableau 1.2.

Tableau 1.2 : Caractéristiques des aiguilles utilisées en injection sous-cutanée et intramusculaire (source : www.immunize.org).

Type d'injection		Aiguille	Diamètre externe	Diamètre interne	Longueur
Injection sous-cutanée		23 - 25 G	0,64 - 0,51 mm	0,33 - 0,26 mm	16 mm
Injection intramusculaire		22 - 25 G	0,71 - 0,51 mm	0,41 - 0,26 mm	16 à 40 mm

D'après l'Équation 1.4, on note que le rayon interne de l'aiguille joue un rôle prépondérant sur la force d'injection ($F \sim R_a^{-4}$), ainsi que dans une moindre mesure celui de la seringue ($F \sim R_s^2$). Sur la Figure 1.10A, en passant de 18 G à 27 G, la force sur le plateau augmente d'environ 0,5 à 7 N. La force d'injection augmente également lorsque la longueur de l'aiguille augmente (cf. Figure 1.10B).

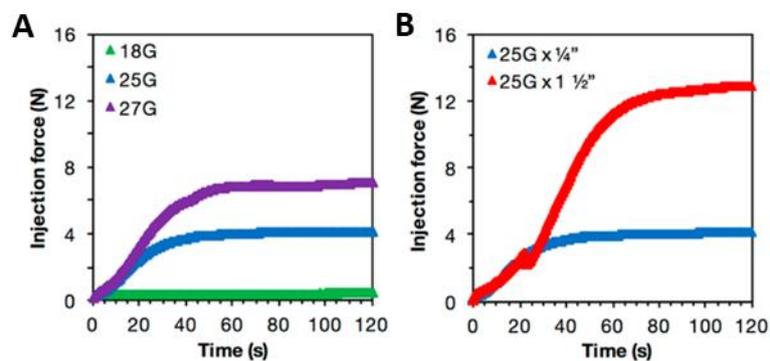


Figure 1.10 : Force d'injection en fonction (A) du diamètre de l'aiguille (B) de la longueur de l'aiguille¹⁷.

Il est également important de prendre en compte le temps d'injection et donc la vitesse d'injection. Plus la vitesse d'injection (ou le débit Q_v) augmente et plus la force d'injection augmente. Selon Watt *et al.*¹⁶, une force d'injection n'excédant pas 20 N est idéale, surtout dans le cadre d'une auto-injection. Via des tests d'injection de solutions d'alginate par un panel de

participants, Robinson *et al.*¹⁸, suggèrent même une force d'injection inférieure à 12 N pour une injection facile (cf. Figure 1.11).

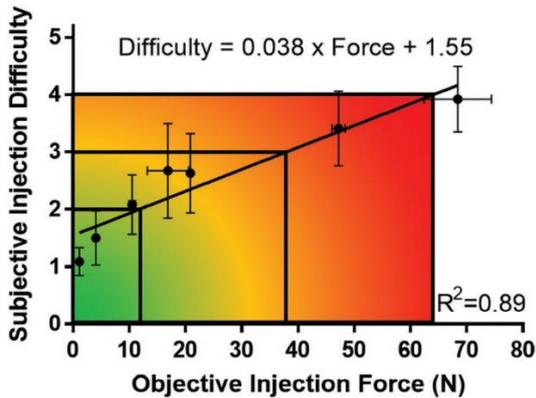


Figure 1.11 : Score de difficulté d'injection selon un panel de participants en fonction de la force d'injection mesurée, pour une injection de 5 mL de solution d'alginate en 50 s¹⁸.

3 zones sont définies :
 $F < 12$ N (injection facile), 12 N $< F < 38$ N (efforts considérables) et 38 N $< F < 64$ N (efforts très importants ; toute la solution ne peut être injectée).
 À noter qu'au-dessus de 64 N, l'injection n'est plus possible.

Bien que la viscosité η de la solution intervienne sur la force d'injection de manière plus modérée (cf. Équation 1.4), elle reste un paramètre prépondérant dans la mesure où elle peut varier avec une très grande amplitude. C'est notamment le cas des solutions de polymères, et plus particulièrement de biopolymères, qui ont des viscosités souvent importantes, même à de faibles pourcentages massiques. Néanmoins, certains biopolymères présentent un comportement rhéofluidifiant comme c'est le cas pour l'alginate (cf. Figure 1.12).

Xia *et al.*¹⁹ ont également reporté ce comportement pour d'autres biopolymères, comme la méthylcellulose et l'acide hyaluronique. Ces polymères sont notamment utilisés pour la formation d'hydrogels injectables et seront présentés par la suite. Dans ce cadre, le caractère rhéofluidifiant peut être mis à profit car les solutions sont soumises à des valeurs de $\dot{\gamma}$ très élevées lors de l'injection, souvent supérieures à 10^4 s⁻¹.

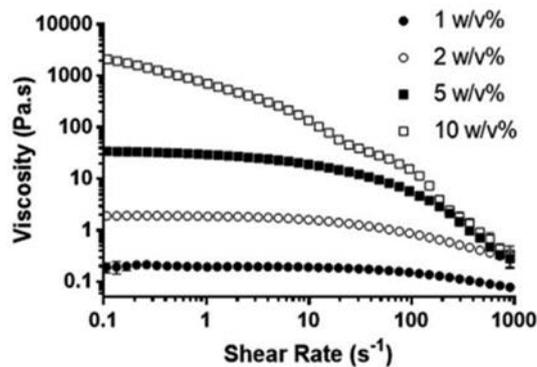


Figure 1.12 : Comportement rhéofluidifiant de solutions d'alginate en fonction de la concentration¹⁸.

Dans le cadre des fluides rhéofluidifiants, la force d'injection peut être calculée à partir de l'équation précédente (Équation 1.4) en prenant la valeur de la viscosité correspondant au gradient de cisaillement effectif développé dans l'aiguille.

Une autre possibilité revient à prendre en compte les indices K et n donnés par la loi d'Ostwald-de Waele (Équation 1.3) et à les intégrer dans l'équation de Hagen-Poiseuille (Équation 1.4) ce qui conduit à la relation^{15,18} suivante :

$$\text{Équation 1.5 : } F = \frac{2^{n+2}\pi^{1-n}LR_S^2KQ_v^n}{R_a^{3n+1}} \left(\frac{3n+1}{2n+1}\right)^{n-1} + F_f$$

Sur la Figure 1.13, d'après l'Équation 1.3 ($\eta\dot{\gamma} = K\dot{\gamma}^{n-1}$), l'ajustement linéaire permet de déterminer les indices de consistance (K) et d'écoulement (n) à partir, respectivement, de l'ordonnée à l'origine et de la pente (n-1).

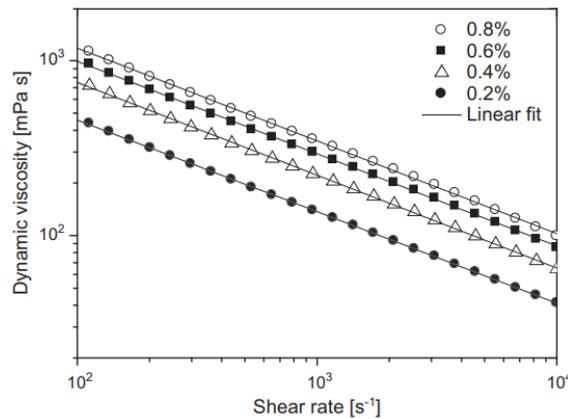


Figure 1.13 : Viscosité de solutions de Carbopol en fonction du gradient de cisaillement²⁰, à 25 °C et ajustement linéaire permettant de remonter aux paramètres K et n de la loi d'Ostwald-de Waele.

Un exemple est présenté sur la Figure 1.14 où le comportement d'injectabilité de suspensions colloïdales de chitosane est modélisé par l'équation de Hagen-Poiseuille modifiée (cf. Équation 1.5).

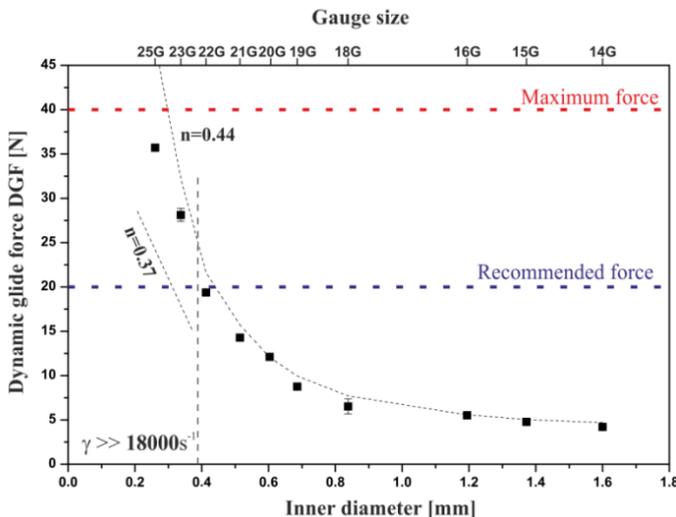


Figure 1.14 : Valeurs expérimentales obtenues à partir de suspensions colloïdales de chitosane et prédiction théorique (Équation 1.5) de la force nécessaire à l'injection en fonction du diamètre interne de l'aiguille. Les autres paramètres de l'Équation 1.5 sont maintenus constants²¹.

II.2. Propriétés physico-chimiques des hydrogels

II.2.1. Transition Sol/Gel

Dans le cas où un processus de réticulation chimique ou physique est mis en jeu, il est important de déterminer les caractéristiques associées à cette transition. Comme schématisé sur la Figure 1.15, le processus de réticulation conduit au cours de la conversion (p) à la création de liens entre les précurseurs qui forment des agrégats dont la taille augmente avec p . La formation de ces clusters conduit à une augmentation significative de la viscosité (cf. Figure 1.15B) et à une diminution de l'exposant n de la loi de puissance $G' \sim \omega^n$. Avec la conversion, la viscosité augmente puis diverge au point de gel (p_c) correspondant à la formation d'un réseau percolant. Dans ces conditions critiques, G' et G'' suivent les mêmes lois de puissance $G' \sim G'' \sim \omega^n$ et ce critère, établi par Winter et Chambon²², est parfois utilisé pour définir cette transition. Au-delà du point de gel ($p > p_c$), des interactions inter-chaînes continuent à se former et G' augmente (cf. Figure 1.15B) pour conduire à un état de gel où le module devient constant et indépendant de la fréquence.

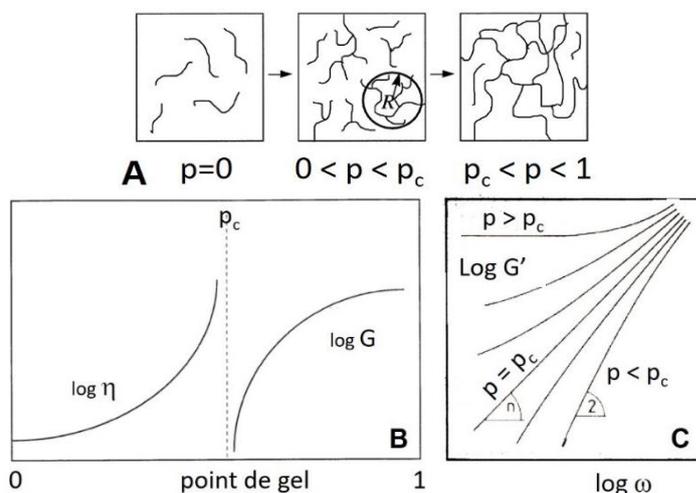


Figure 1.15 : Représentations schématiques : (A) de la croissance des clusters pendant la réticulation, (B) de la divergence de la viscosité au point de gel avec le développement d'un module élastique et (C) de la variation de la dépendance en fréquence du module élastique en fonction de l'avancement de la réaction²³.

Le suivi du processus de gélification peut être effectué de différentes manières. En suivant le critère établi par Winter et Chambon selon lequel les modules G' et G'' adoptent les mêmes dépendances en fréquence au point de gel, il peut être avantageux de porter $\tan \delta = G''/G'$ en fonction de la conversion pour différentes fréquences. La signature du point de gel correspond alors au croisement des courbes (cf. Figure 1.16). Une autre méthode plus souvent employée consiste à considérer que le point de gel correspond approximativement au croisement des modules G' et G'' en fonction du paramètre clé (p) qui peut être le temps, la température (cf. Figure 1.17), etc.

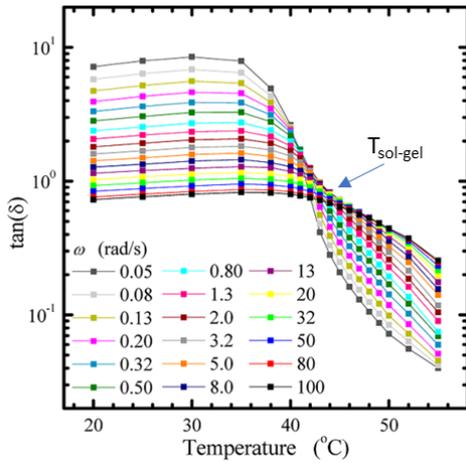


Figure 1.16 : Mesure du point de gel, via le critère de Chambon-Winter²⁴, pour de la méthylcellulose, un biopolymère thermogélifiant.

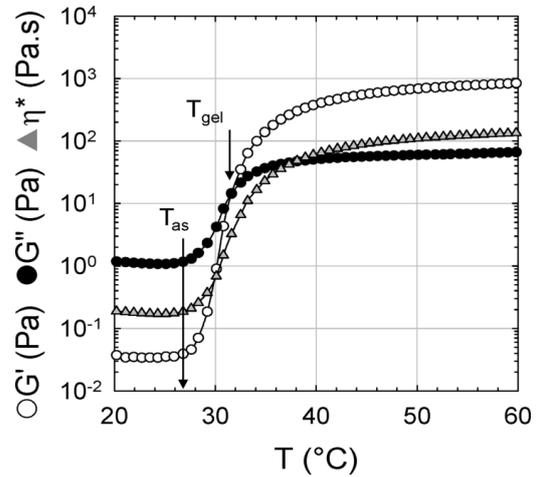


Figure 1.17 : η^* , G' et G'' en fonction de la température pour un système thermogélifiant à base de poly(acrylamide)-g-poly(*N*-isopropylacrylamide)²⁵.

II.2.2. Cinétique de gélification

La cinétique de gélification est importante à prendre en compte pour estimer le temps de formation du gel. Dans le cadre des hydrogels injectables, une fois la solution injectée au sein du corps, il est nécessaire de connaître le temps de gélification. En effet, si le temps de gélification est trop long, une partie des cellules ou principes actifs à encapsuler sera déjà relarguée avant même la formation du gel. Ce phénomène de relargage prématuré est appelé « burst release » et correspond donc à la libération brutale des principes actifs ou des cellules dans les premiers temps suivant l'injection. Un temps minimal de gélification est donc souhaité. Dans la Figure 1.18, la courbe de relargage suivant un ordre zéro est la courbe idéale ; aucun relargage prématuré apparaît et une cinétique contrôlée est obtenue.

Les deux désavantages principaux de ce phénomène de « burst release » sont :

- la toxicité que peut entraîner une forte dose de principes actifs libérée sur un temps très court ;
- la nécessité de réinjecter plusieurs fois l'hydrogel pour permettre un traitement sur le long terme.

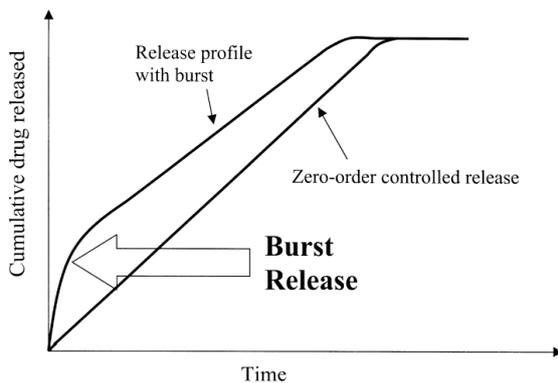


Figure 1.18 : Libération prématurée des principes actifs en début d'injection (« burst release »)²⁶.

Le temps de gélification peut être déterminé par la méthode de l'inversion du tube²⁷. Cette méthode consiste à placer le tube contenant les précurseurs du gel dans les conditions de gélification adéquates (température, pH, pression, etc.) et à mesurer le temps à partir duquel le gel ne s'écoule plus dans le tube en retournant celui-ci. Il peut être également déterminé par rhéologie²⁸⁻³¹ en mesurant dans le temps les modules G' et G'' , à une température donnée. Le temps de gélification correspond au temps associé au croisement de G' et G'' .

II.2.3. Caractéristiques des gels (Q , G , ξ)

Dans des conditions de solvation données (température, pH, force ionique), les propriétés intrinsèques des gels sont intimement liées à la fraction volumique en polymère (ϕ_2) que l'on exprime généralement à travers le gonflement ($Q = 1/\phi_2$) ; rapport du volume du gel gonflé sur le volume du gel sec (souvent exprimé en rapport massique).

D'un point de vue thermodynamique, la pression de gonflement d'un gel (Π_{gel}) résulte d'un équilibre entre un terme de mélange (Π_m), lié notamment à l'affinité du polymère pour le solvant, et un terme élastique (Π_{el}), lié aux forces de rappel générées par les chaînes entre points de réticulation et/ou enchevêtrements. Si le gel est mis en présence d'un excès de solvant, la pression dans le gel va s'équilibrer avec la pression du liquide extérieur (Π_{ext}) qui est nulle dans le cas d'un solvant pur.

Dans le cas des réseaux neutres dits fortement réticulés, pour lesquels le nombre de motifs monomères entre nœuds de réticulation (N) est plus faible que celui entre enchevêtrements ($N < N_c(\phi_0)$), la pression dans le gel peut être déterminée à partir de l'expression suivante établie à partir du modèle de réseau fantôme :

Équation 1.6 :

$$\Pi_{gel} = \Pi_m + \Pi_{el} = \left(-\frac{RT}{V_1} (\ln(1 - \phi_2) + \phi_2 + \chi_{12}\phi_2^2) \right) + \left(-\frac{RT}{V_1} \left(1 - \frac{2}{f} \right) \frac{\phi_0^{2/3} \phi_2^{1/3}}{N} \right) = \Pi_{ext}$$

Avec, R : constante des gaz parfaits, T : température, V_1 : volume molaire du solvant, ϕ_2 : fraction volumique du polymère, ϕ_0 : fraction volumique du polymère lors de sa préparation, χ_{12} : paramètre d'interaction de Flory, f : fonctionnalité des nœuds et N : nombre de motifs monomères entre nœuds.

À partir de cette Équation 1.6, on peut noter que le gonflement du gel va surtout dépendre de la qualité du solvant ($\chi_{12} = 0$ en bon solvant ; $\chi_{12} = 0,5$ en conditions thêta et $\chi_{12} > 0,5$ en mauvais solvant) et du degré de réticulation (proportionnel à $1/N$) ; le gonflement augmentant lorsque χ_{12} diminue donc lorsque la qualité du solvant augmente et lorsque N augmente donc lorsque le degré de réticulation diminue.

L'influence du degré de réticulation est présentée sur la Figure 1.32, avec la cinétique de gonflement de films d'alginate plongés dans des solutions de CaCl_2 de concentration croissante³². Après environ 15 minutes, le gonflement relatif $((m_{\text{gonflée}}-m_{\text{sèche}})/m_{\text{sèche}})$ atteint sa valeur à l'équilibre. Le ratio de gonflement diminue lorsque la concentration en ions calcium augmente puisque le calcium joue ici le rôle de réticulant.

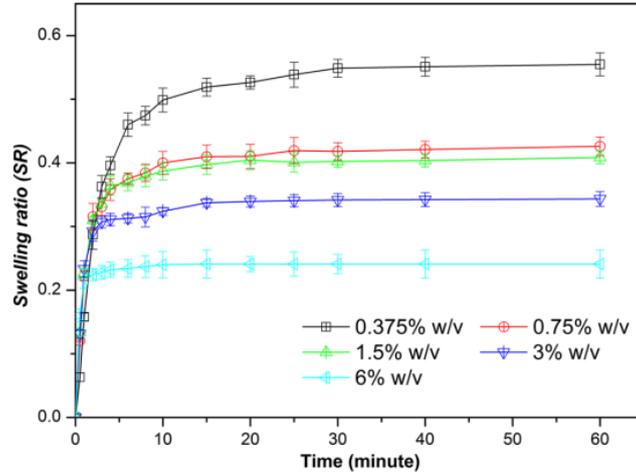


Figure 1.32 : Gonflement de films d'alginate pour différents pourcentages en calcium³².

Le gonflement peut également varier avec le pH ^{33,34}, la concentration en sel³⁴, la température^{33,34}, etc. Ces paramètres jouent également sur la qualité du solvant. Pour des applications biomédicales, il est donc important d'étudier le gonflement dans des conditions physiologiques.

Le gonflement est également relié à la tenue du gel en milieu aqueux. En effet, dans le cas de gels physiques ou de gels chimiques faiblement réticulés, le gel peut gonfler à tel point qu'une dissociation et/ou une rupture progressive des liaisons inter-chaines se produise ; l'intégrité du gel est progressivement perdue. Les hydrogels physiques présentent donc l'avantage de pouvoir se dissocier après un certain temps. En effet, dans le cadre des hydrogels injectables, le gel doit pouvoir se dégrader, dès lors que le traitement a été réalisé. Ainsi, l'intégrité d'un gel, ou sa cinétique d'érosion, sont également des aspects importants à prendre en compte en fonction du temps de traitement envisagé.

Conformément à l'équation précédente (cf. Équation 1.6), l'ajustement des propriétés de gonflement va ainsi contrôler le module de cisaillement du gel ($G = -\Pi_{el}$), qui rend compte de l'aptitude du gel à se déformer sous contrainte. On obtient ainsi les lois de variation du module et du gonflement en fonction des conditions de solvation³⁵ :

- en bon solvant : $G \sim N^{-1} \phi_0^{5/12} \phi_2^{7/12}$ et $Q \sim N^{3/5} \phi_0^{-1/4}$
- en conditions- θ : $G \sim N^{-1} \phi_0^{2/3} \phi_2^{1/3}$ et $Q \sim N^{3/8} \phi_0^{-1/4}$

Dans le cas des gels faiblement réticulés, avec ($N_e(\phi_0) < N$), le traitement théorique conduit à des variations plus importantes du gonflement avec la concentration de préparation ; les modules suivant quant à eux les mêmes lois que celles établies pour les solutions semi-diluées enchevêtrées³⁵ :

$$\begin{aligned} & - \text{en bon solvant} : G \sim \phi_0^{5/3} \phi_2^{7/12} \text{ et } Q \sim \phi_0^{-1} \\ & - \text{en conditions-}\theta : G \sim \phi_0^2 \phi_2^{1/3} \text{ et } Q \sim \phi_0^{-3/4} \end{aligned}$$

Les données expérimentales ne sont pas toujours en accord avec les lois de puissance proposées. Obukhov *et al.*³⁵ suggèrent qu'un mélange de ces deux types d'effet est à l'origine d'un module G variant entre ϕ^1 ($N_e(\phi_0) > N$) et $\phi^{2,33}$ ($N_e(\phi_0) < N$) pour un solvant θ ou entre ϕ^1 et $\phi^{2,25}$ pour un bon solvant.

Les propriétés de gonflement du gel vont également affecter le maillage du réseau, de taille caractéristique ξ . Il est important de souligner que dans la littérature cette caractéristique géométrique, qui correspond intuitivement à la distance moyenne entre deux points de réticulation, est souvent associée à la notion de longueur de corrélation ξ_c introduite par De Gennes³⁶. Par définition, ξ_c est la distance caractéristique en deçà de laquelle il existe une plus grande probabilité de trouver un monomère appartenant à la même chaîne polymère plutôt qu'à une autre chaîne. Elle est également appelée longueur d'écran car les effets de volume exclu disparaissent rapidement pour des distances supérieures à ξ_c en raison de la présence d'autres chaînes polymères. Or, si ξ est supposée dépendre uniquement de la densité des nœuds de réticulation, ξ_c quant à elle ne dépend pas de la densité de réticulation mais varie avec la concentration suivant les lois d'échelles établies pour les solutions semi-diluées de polymère ($\xi_c \sim c^{-\alpha}$; avec $\alpha = 0,5$; $0,75$ et 1 pour des polymères neutres en solvant thêta ou en bon solvant et pour les polyélectrolytes, respectivement)³⁷. Une troisième distance caractéristique, plus proche du maillage géométrique et proportionnelle à cette dernière, a été proposée par Pincus³⁸. Il s'agit du blob élastique (ξ_{el}) qui correspond à la taille caractéristique d'une chaîne dite élastiquement active et qui peut être obtenu à partir du module élastique ($G \sim \xi_{el}^{-3} \sim \xi^{-3}$)³⁷.

D'une manière générale, le contrôle de G et ξ , aux variations opposées (cf. Figure 1.19), est particulièrement important pour les applications biomédicales puisqu'il permet d'ajuster les propriétés élastiques du gel à celles de la matrice extracellulaire et des tissus. Comme vu dans l'introduction de ce chapitre, la différenciation des cellules dépend du module du gel.

D'autre part, le contrôle du maillage du réseau à partir du gonflement permet de régler la diffusion des molécules dans le cas d'applications de relargage contrôlé.

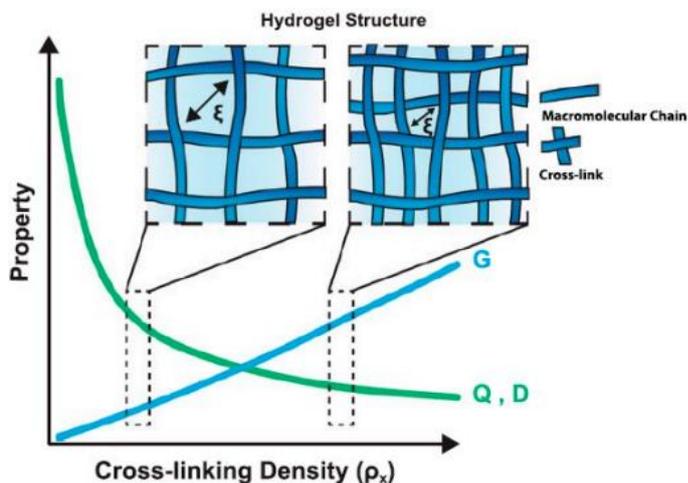


Figure 1.19 : Impact de la densité de réticulation (ρ_x) sur les propriétés de l'hydrogel ; Q : ratio de gonflement, G : module de cisaillement, ξ : taille d'un pore, D : diffusivité³⁹.

II.2.4. Propriétés d'adhésion

L'adhésion des gels est également un point important pour garantir le bon maintien du gel à l'endroit où il a été injecté.

Le phénomène d'adhésion d'une formulation sur une surface fait intervenir différents processus physico-chimiques liés au mouillage, à la formation de liaisons interfaciales et aux caractéristiques viscoélastiques de la formulation déposée.

- Le mouillage permet tout d'abord de former un contact intime entre la formulation et le substrat. Il va dépendre de la tension superficielle formulation/substrat et de l'aptitude de celle-ci à bien recouvrir la surface et à pénétrer les anfractuosités. Lorsque l'angle de contact est nul, conditions proches du dépôt d'une goutte de solution aqueuse sur un tissu biologique, la formulation peut mouiller totalement le solide et la viscosité devient le paramètre clé dans le cas de substrat rugueux.

- La formation d'une liaison interfaciale entre la formulation et le substrat peut se faire par le biais de réactions chimiques (formation de liaisons covalentes) ou d'interactions physiques (Van der Waals, liaisons-H, interactions électrostatiques, etc.). Corrélée au mouillage, l'insertion du liquide dans les anfractuosités de la surface (rugosité) permettra un meilleur ancrage du dépôt sur le solide. La formation d'interactions physiques formulation/substrat joue un rôle important dans les processus de bioadhésion et plus spécifiquement de mucoadhésion impliquant le relargage de principes actifs au niveau des muqueuses buccale, oculaire, vaginale, rectale, nasale ou gastro-intestinale. Dans ce cas, la fonctionnalité des polymères joue un rôle important au niveau des interactions avec la muqueuse. Il est reconnu que les polyélectrolytes, et notamment le poly(acide acrylique), l'alginate, la carboxyméthylcellulose (CMC) ou le chitosane, possèdent de meilleures propriétés mucoadhésives⁴⁰ que les polymères neutres.

À titre d'exemple, un comparatif de la capacité mucoadhésive des polymères dans le cas d'une application oculaire est donné dans le Tableau 1.3.

Tableau 1.3 : Pouvoir mucoadhésif en fonction du polymère et de sa charge⁴¹.

Polymer	Charge	Mucoadhesive capacity
Poly(acrylic acid) (neutralized)	A	+++
Carbomer (neutralized)	A	+++
Hyaluronan	A	+++
Chitosan	C	++
Na carboxymethylcellulose	A	++(+)
Poly(galacturonic acid)	A	++
Na alginate	A	++(+)
Pectin	A	++(+)
Xanthan gum	A	+
Xyloglucan gum	A	+
Scleroglucan	A	+
Poloxamer	NI	+(+)
Hydroxypropylmethylcellulose	NI	+
Methylcellulose	NI	+
Poly(vinyl alcohol)	NI	+
Poly(vinyl pyrrolidone)	NI	+

Charge: A: anionic; C: cationic; NI: non-ionic.

Mucoadhesive capacity: +++: excellent; ++: good; +: poor/absent.

Dans le cas de macromolécules neutres comme le POE, il a également été montré que les polymères de masses molaires élevées ($M > 100$ kg/mol) étaient plus mucoadhésifs que ceux de faibles masses molaires en favorisant la formation d'enchevêtrements lors de leur pénétration dans la couche de la muqueuse⁴².

- Le troisième critère considéré précédemment concerne les propriétés viscoélastiques de la formulation qui doivent être à la fois cohésive et dissipative pour résister aux déformations. Pour cela il est possible de s'appuyer sur la littérature abondante relative aux adhésifs sensibles à la pression (PSA) dont les propriétés d'adhésion non spécifique résultent d'un équilibre entre composantes élastique et visqueuse lorsqu'ils sont soumis à des déformations.

Comme nous l'avons vu, le comportement de type liquide (visqueux) permet à l'adhésif de s'écouler et de mouiller le substrat pour créer un bon contact, tandis que le comportement de type solide (élastique) confère à l'adhésif la force de résister au décollement. Un matériau viscoélastique se comporte généralement de façon plus élastique lorsqu'il est déformé à des échelles de temps rapides et se comporte de manière plus visqueuse lorsqu'il est déformé à des échelles de temps lentes. Les caractéristiques de la formulation et ses variations lors de la transition de phase vont donc fortement influencer leurs propriétés d'adhésion aux interfaces. L'évaluation des propriétés adhésives de couches minces peut se faire par différentes techniques mais le test d'adhésion appelé « probe tack » reste l'une des plus répandues en raison de sa simplicité de mise en œuvre. Il s'agit d'un test de traction réalisé sur le matériau à vitesse

constante. La force nécessaire au décollement du poinçon est ainsi mesurée en fonction du déplacement.

Le comportement aux faibles déformations de cette couche confinée va varier en fonction de son caractère de liquide visqueux ou de solide élastique et peut être décrit à partir des relations suivantes⁴³ :

- Équation 1.7 : pour un liquide de viscosité η ,
$$\sigma_N = \frac{3\eta\dot{\lambda}}{\lambda^2} \left(1 + \frac{(a_0/h_0)^2}{2\lambda^3} \right)$$

- Équation 1.8 : pour un solide de module G ,
$$\sigma_N = 3G \left(1 + \frac{(a_0/h_0)^2}{2} \right) \varepsilon$$

Avec, $\sigma_N = F/S$: contrainte nominale, F : force mesurée, S : surface du poinçon, η : viscosité, G : module de cisaillement, a_0 : rayon de la sonde cylindrique, h_0 : épaisseur initiale de la couche, $\lambda = h/h_0$: élongation, $\varepsilon = \lambda - 1$: déformation et $\dot{\lambda}$: vitesse de déformation.

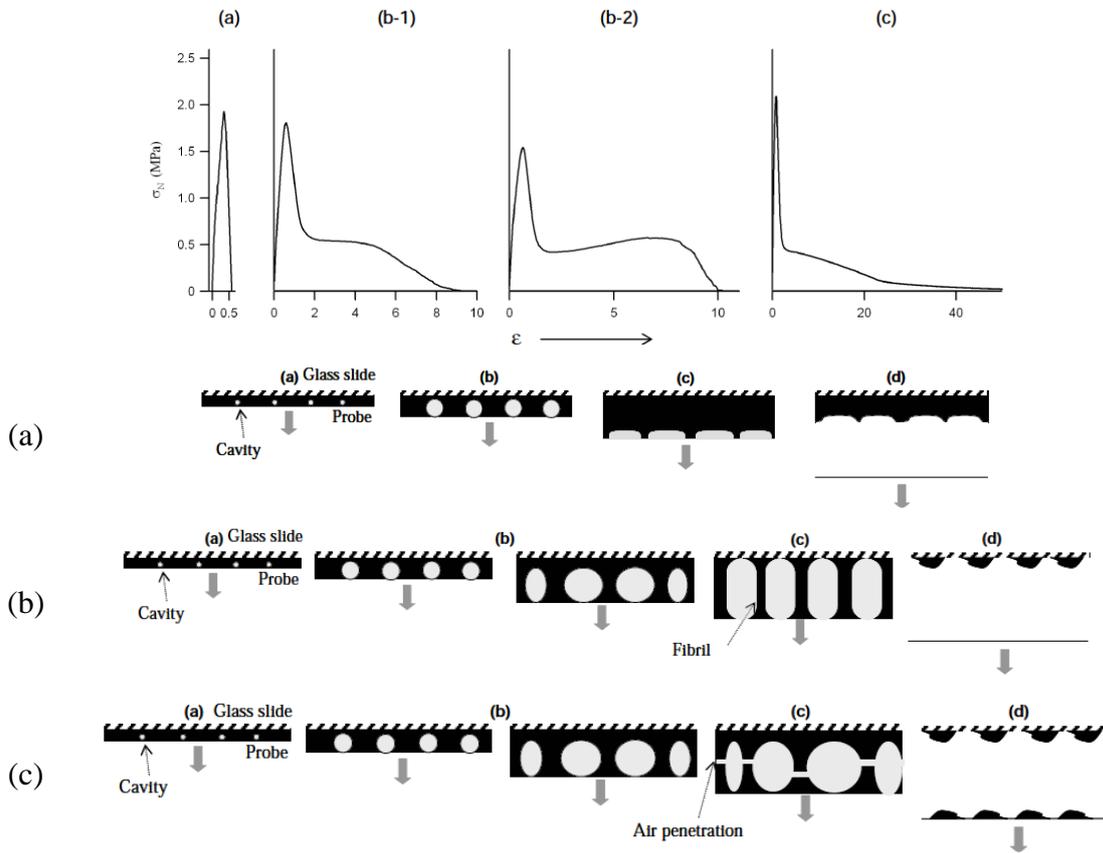


Figure 1.20 : Représentations caractéristiques des principaux comportements observés pour les courbes contrainte-déformation obtenues lors de tests de tack et schématisation des profils latéraux au cours de la déformation : (a) rupture fragile (interfaciale) avec nucléation de cavités à l'interface, (b) rupture adhésive avec formation de cavités dans le volume dont les murs forment les fibrilles qui se déforment avec éventuellement un phénomène de renforcement sous déformation (b-2), (c) rupture cohésive, de type liquide, avec formation de cavités et pénétration d'air par digitation. D'après Deplace *et al.*^{44,45}.

Sous grande déformation, la couche confinée va présenter différents comportements et modes de détachement en fonction de ses caractéristiques viscoélastiques qui démontrent bien

l'importance de l'équilibre entre les composantes élastique et visqueuse sur l'énergie d'adhésion W_{adh} , qui est proportionnelle à l'intégrale sous la courbe contrainte-déformation (cf. Équation 1.9).

$$\text{Équation 1.9 : } W_{adh} = h_0 \int_0^{\varepsilon^{max}} \sigma_N \cdot d\varepsilon$$

Sur la Figure 1.20, trois comportements caractéristiques des tests de tack sont présentés.

Un composé élastique présentera un comportement de type rupture fragile représenté par le cas (a) qui est caractérisé par une absence de plateau. Pour un matériau viscoélastique, son comportement est typique du cas (b). Le matériau de par son côté élastique va entraîner une augmentation de la contrainte aux faibles déformations jusqu'à atteindre un maximum puis celle-ci va chuter, cette partie est similaire au cas (a). Le côté visqueux du matériau va entraîner la formation de fibrilles qui peuvent s'étirer et ainsi entraîner l'apparition d'un plateau. Le cas (c) correspond à celui d'un liquide qui entraîne une rupture cohésive.

L'objectif de cette première partie était de mettre l'accent sur les principales fonctionnalités recherchées dans le cadre des hydrogels injectables et notamment de souligner l'importance de la viscosité de la formulation initiale et de la cinétique de gélification, ainsi que les caractéristiques du gel formé (élasticité, porosité, propriétés d'adhésion et de gonflement...). Dans le cadre de cette thèse, nous allons maintenant nous intéresser aux polymères thermosensibles qui seront utilisés dans le but de former des hydrogels injectables physiques.

III. Polymères thermosensibles

Après un bref rappel sur le phénomène de séparation de phase dans les mélanges binaires polymère/solvant, nous allons nous intéresser plus particulièrement aux polymères hydrophiles caractérisés par une séparation de phase de type LCST en milieu aqueux qui jouent un rôle majeur dans le développement des hydrogels injectables.

III.1 Thermodynamique des polymères en solution et séparation de phase

Dans le cas d'un mélange polymère (2) / solvant (1), la théorie de Flory-Huggins permet de décrire la variation de densité d'enthalpie libre de mélange (Δg_m) en fonction des paramètres de formulation :

$$\text{Équation 1.10 : } \Delta g_m = \frac{\Delta G_m}{V} = \frac{RT}{V_1} \left(\frac{\phi_1}{m_1} \ln \phi_1 + \frac{\phi_2}{m_2} \ln \phi_2 + \chi_{12} \phi_1 \phi_2 \right)$$

Avec, R : constante des gaz parfaits, T : température, ϕ_1 et ϕ_2 : fractions volumiques du solvant et du polymère ainsi que $m_2 = V_2/V_1$: rapport des volumes molaires entre le polymère (V_2) et le solvant (V_1).

χ_{12} est quant à lui le paramètre de Flory qui définit l'interaction entre le polymère et le solvant. Il rend compte de la qualité du solvant pour un polymère dans des conditions données (température, pression, concentration en sel, etc.). Sa dépendance en température peut être décrite par une expression très générale :

$$\text{Équation 1.11 : } \chi_{12} = A + \frac{B}{T}$$

Avec, A et B/T : contributions relatives aux variations d'entropie et d'enthalpie de mélange, respectivement.

En fonction de la solubilité du polymère avec la température, une séparation de phase peut avoir lieu conduisant à un comportement dit à UCST ou à LCST (cf. Figure 1.21). UCST signifie Upper Critical Solution Temperature (en français, température supérieure de solubilité critique), c'est-à-dire que l'insolubilité du polymère dans un solvant apparaît quand la température du milieu est diminuée. A contrario, LCST signifie Lower Critical Solution Temperature (en français, température inférieure de solubilité critique). Ainsi, le polymère devient insoluble quand le milieu est chauffé.

Par une extension phénoménologique de la théorie de Flory-Huggins, l'Équation 1.11 ci-dessus peut être appliquée aussi bien pour les binaires à UCST ($B > 0$) et à LCST, en posant $B < 0$.

Sur un diagramme de phase, la LCST est définie comme la température minimale de la courbe binodale alors que la UCST est la température maximale de la binodale (cf. Figure 1.21).

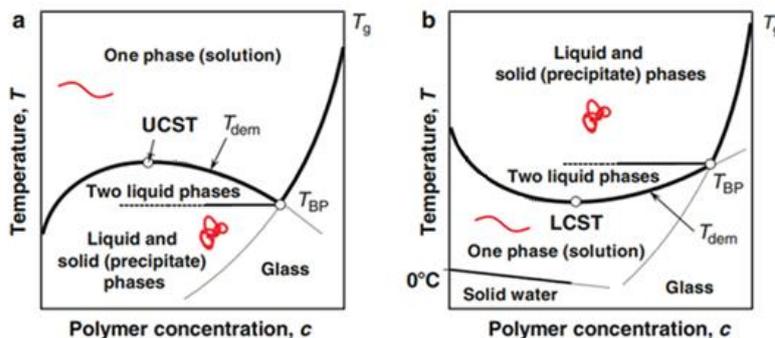


Figure 1.21 : Diagrammes de phase d'un polymère ; (a) à UCST (polystyrène dans du cyclohexane), (b) à LCST (PNIPAm dans l'eau)⁴⁶
 T_{BP} : point de Berghmans, défini comme l'intersection de la binodale et de la courbe de transition vitreuse (T_g).

Un autre point important à commenter sur les diagrammes de phase est le point de Berghmans T_{BP} . Il est défini comme l'intersection de la binodale avec la courbe de transition vitreuse (T_g). Au-dessus du T_{BP} , pour un polymère à UCST, le polymère se sépare en deux phases liquides et en dessous de celui-ci, en une phase liquide pauvre en polymère et une phase riche en polymère qui est à sa transition vitreuse (cf. Figure 1.21). Le comportement inverse est bien entendu observé pour les polymères à LCST. Dans les deux cas, on constate que pour des polymères possédant des T_g élevées, la concentration de la phase riche en polymère et ses propriétés sont conditionnées par la transition vitreuse du mélange.

Impact de la concentration

Comme il est observé sur la Figure 1.21, le polymère ne précipite pas seulement au niveau de la température critique (LCST ou UCST) mais pour toutes les températures de franchissement de la binodale. La température de séparation de phase ou démixtion est donc dépendante de la concentration en polymère. Cette température est souvent notée T_{cp} (pour « cloud point »), ou T_{dem} comme reportée sur la Figure 1.21. Elle peut être déterminée par différentes techniques optiques comme la spectrophométrie UV, la diffusion de la lumière, etc.⁴⁷ En effet, le phénomène de séparation de phase conduit généralement à une augmentation de l'opacité de la solution, visible à l'œil nu. Ceci correspond à la formation de phases riches et pauvres en polymère possédant des indices de réfraction différents. Avec le temps, ces deux phases peuvent se séparer macroscopiquement avec une interface nette entre une phase dense et un surnageant. Les différentes techniques de détection seront présentées par la suite pour les polymères à LCST principalement utilisés dans cette thèse.

Impact de la masse molaire

La masse molaire joue également un rôle majeur sur le diagramme de phase et par conséquent, sur les températures de séparation de phase (LCST ou UCST). En effet, plus la longueur de chaîne augmente et plus l'entropie de mélange diminue. Ainsi, plus la taille du polymère augmente et plus sa solubilité diminue conduisant à des transitions de phase s'effectuant pour des valeurs de χ_{12} plus faibles ; ce qui correspond à des températures plus élevées pour un polymère à UCST ou plus basses pour un polymère à LCST⁴⁸ (cf. Figure 1.22). On notera que dans le cas du poly(oxyde d'éthylène), les plus faibles masses molaires présentent à la fois une LCST à basse température et une UCST à haute température.

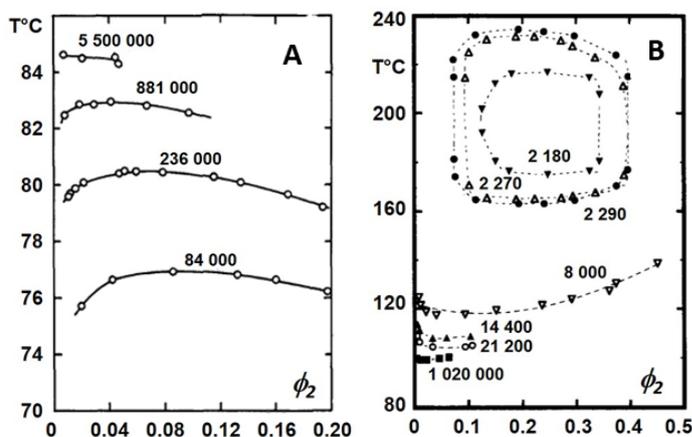


Figure 1.22 : Impact de la masse molaire du polymère (M_2) sur le diagramme de phase ;
 (A) Courbes de point de trouble de type UCST pour le couple polystyrène/cyclohexanol⁴⁹,
 (B) Courbes de point de trouble de type LCST pour le couple poly(oxyde d'éthylène)/eau^{50,51}.

Dans le cadre des hydrogels injectables, les polymères à LCST sont les plus utilisés car l'insolubilité du polymère dans l'eau est recherchée quand la température du milieu augmente.

En effet, dans le cadre d'applications biomédicales, la solution passe de la température ambiante (soit environ 25 °C) à environ 37 °C, la température du corps. Ainsi, théoriquement, une LCST entre 26 et 33 °C est recherchée. En effet, elle doit être à la fois inférieure à la température du corps pour être certain d'obtenir un gel au sein du corps mais également supérieure à la température ambiante pour permettre la conservation du caractère injectable de la solution.

III.2. LCST en phase aqueuse

À l'échelle de la macromolécule, la transition de phase de type LCST correspond à une transition conformationnelle de type pelote/globule. En effet, lorsque le polymère est soluble dans l'eau à basse température, il possède une conformation de pelote stabilisée par des liaisons hydrogène créées entre les groupements polaires du polymère et les molécules d'eau. À partir d'une certaine température (T_{cp}), ces liaisons hydrogènes intermoléculaires sont détruites et le polymère se déshydrate en favorisant des interactions hydrophobes et en adoptant une conformation compacte de type globule (cf. Figure 1.23).

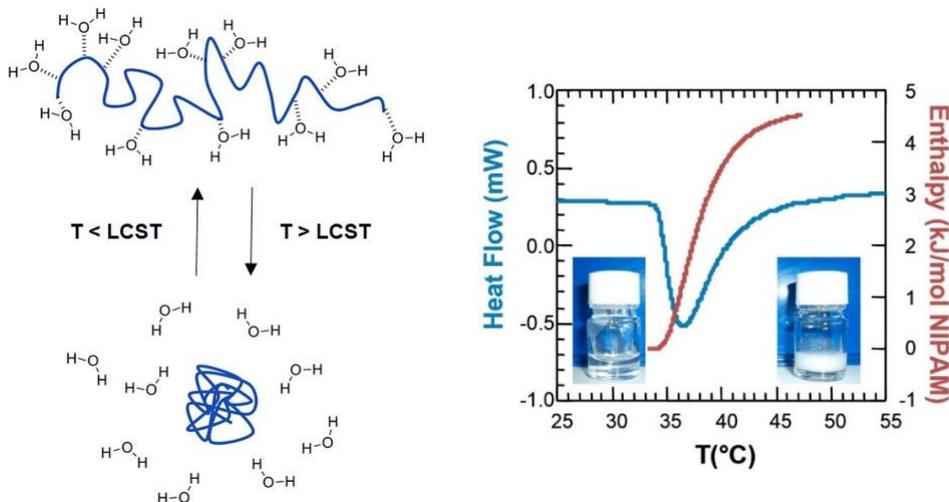


Figure 1.23 : Transition pelote-globule (gauche) en fonction de la température⁵² et thermogramme d'une solution aqueuse de polymère thermosensible (PNIPAm) à 1 wt% (droite)²⁵.

Cette déshydratation, qui peut être observée à l'échelle d'une macromolécule⁵³, s'accompagne généralement en solution d'une séparation de phase macroscopique résultant de l'agrégation des chaînes polymères entre elles qui vont ainsi limiter leur contact avec l'eau et former une phase riche en polymère.

Contrairement au processus de démixtion de type UCST, le phénomène de séparation de phase de type LCST est généralement décrit comme étant de nature entropique, avec une augmentation du désordre qui provient notamment de la destruction de l'arrangement structural des molécules d'eau autour des groupements hydrophobes.

Le bilan énergétique, qui correspond à la rupture des liaisons hydrogène initialement formées entre l'eau et les groupements hydrophiles et leur réorganisation, est généralement endothermique et peut donc être suivi dans certains cas par calorimétrie comme il est montré sur la Figure 1.23.

III.3. Exemples de polymères à LCST

Il existe de nombreux polymères possédant une LCST dans l'eau. Une large gamme de température peut être obtenue via la diversité des polymères à LCST, ce qui ouvre leur utilisation pour des applications variées. Comme expliqué précédemment, pour des applications biomédicales, il s'agira de choisir un polymère avec une LCST proche de la température du corps. Quelques exemples de polymères à LCST sont répertoriés dans le Tableau 1.4.

Tableau 1.4 : Exemples de polymères à LCST.

Nom du polymère / Abréviation	LCST
Poly(<i>N</i> -isopropylacrylamide) / PNIPAm	~ 32 °C ^{54,55}
Poly(<i>N</i> -vinylcaprolactam) / PNVCL	~ 30-38 °C ^{56,57}
Poly(oligo(ethylene glycol) methyl ether methacrylate) / POEGMA, PEGMA	~ 26-90 °C ⁵⁸⁻⁶²
Poly(methyl vinyl ether) / PMVE	~ 12-35 °C ^{63,64}
Jeffamine [®] M-2005 - Poly(ethylene oxide-co-propylene oxide) / PEPO	~ 18 °C
Poly(2-oxazoline)	~ 25-85 °C ⁶⁵⁻⁶⁷

Dans la suite, nous nous intéresserons plus particulièrement aux caractéristiques du poly(*N*-isopropylacrylamide) et des poly(oligo(ethylene glycol) methyl ether methacrylate) qui font l'objet de ce travail de thèse.

III.3.1. Le poly(*N*-isopropylacrylamide)

Le poly(*N*-isopropylacrylamide) (PNIPAm) est le polymère à LCST le plus étudié dans la littérature. L'un des intérêts du PNIPAm est sa LCST proche de la température du corps qui en fait un candidat idéal pour des applications dans le domaine biomédical. De plus, sa température de démixtion (T_{dem} ou T_{cp}) proche de 32 °C est peu dépendante de la masse molaire et relativement constante sur une large gamme de concentration (cf. Figure 1.24).

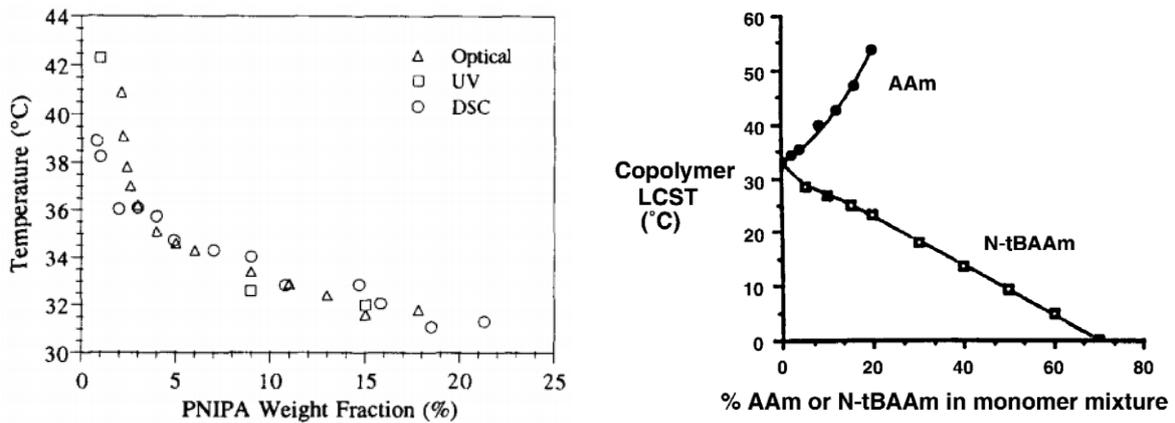


Figure 1.24 : Variation de la température de séparation de phase des solutions aqueuses de PNIPAm⁵⁵ (Gauche) et de copolymères de P(NIPAm-co-acrylamide) (AAm) et de P(NIPAm-co-*N*-tert-butylacrylamide) (NtBAAm)⁶⁸ (Droite).

Il est également possible d’ajuster la LCST du PNIPAm via la copolymérisation. En effet, la LCST d’un polymère dans l’eau, et donc sa solubilité, peut être abaissée en ajoutant un comonomère plus hydrophobe lors de la synthèse. C’est le cas de la copolymérisation du NIPAm avec le monomère *N*-tert-butylacrylamide (NtBAAm) qui permet d’abaisser de manière contrôlée la température de séparation de phase^{68,69}. Comme on peut le noter sur la Figure 1.24, celle-ci rejoint 0 °C pour une composition NIPAM/NtBAAm de 30/70 %.

À l’opposé, l’incorporation de monomères plus hydrophiles, tels que l’acrylamide (AAm)^{68,70} ou le *N,N*-(diméthylaminopropyl)méthacrylamide (MADAP)²⁵ (cf. Figure 1.24), permet d’augmenter le point de trouble de manière importante en jouant sur la composition.

Plus le pourcentage en monomère hydrophile augmente et plus la solubilité du copolymère augmente. Au-delà d’une certaine teneur en monomère hydrophile (25 mol% pour l’AAm et 50 mol% pour le MADAP non ionisé), le caractère thermosensible « disparaît » (cf. Figure 1.25).

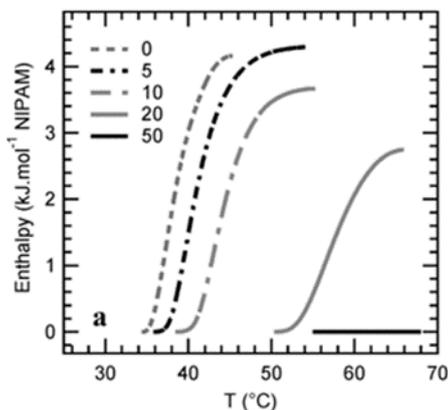


Figure 1.25 : Variation de l’enthalpie de démixtion en fonction de la température pour des solutions aqueuses de copolymères P(NIPAm-co-MADAP) (1 wt%) en fonction du pourcentage molaire en MADAP²⁵.

III.3.2. Cas des poly(oligo(ethylene glycol) methyl ether methacrylate)

Les poly(oligo(ethylene glycol) methyl ether methacrylate), aussi abrégés PEGMA ou POEGMA, ont l'avantage de présenter une large gamme de LCST en fonction du nombre n d'unités oxyde d'éthylène (OE) dans la chaîne latérale du monomère (cf. Figure 1.26).

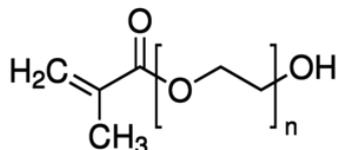


Figure 1.26 : Monomère d'oligo(ethylene glycol) methyl ether methacrylate.

Plus le nombre d'oxyde d'éthylène augmente, plus le système est hydrophile et donc plus la LCST du polymère augmente (cf. Tableau 1.5).

Tableau 1.5 : LCST de différents homopolymères de PEGMA dans l'eau.

Nom du polymère	Nombre d'unités OE	LCST
Poly(DEGMA)	2	~ 26 °C ⁵⁸⁻⁶⁰
Poly(TEGMA)	3	~ 52 °C ⁵⁸
Poly(OEGMA ₃₀₀)	4/5	~ 67-68 °C ^{60,61}
Poly(OEGMA ₄₇₅)	8/9	~ 90 °C ⁶²

La LCST des PEGMA peut également être modulée, tout comme pour le PNIPAm, en modifiant la composition par copolymérisation.

Lutz *et al.*⁶² ont reporté l'ajustement de la LCST en fonction du ratio molaire de DEGMA et OEGMA₄₇₅. Un pourcentage molaire de 5% de OEGMA₄₇₅ est nécessaire pour obtenir une LCST similaire au PNIPAm, soit environ 32 °C (cf. Figure 1.27). Des copolymères de DEGMA et OEGMA₃₀₀ ont également permis de moduler la LCST en fonction de leur pourcentage respectif⁶⁰.

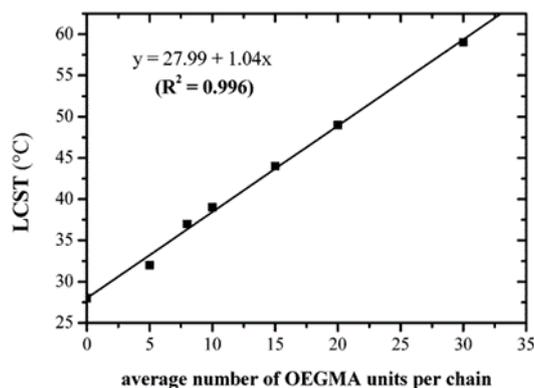


Figure 1.27 : Point de trouble en fonction du pourcentage molaire en OEGMA₄₇₅⁶².

Le point de trouble est dans ce cas mesuré à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible. Avec cette technique, la T_{cp} correspond à la température relative à la chute brusque de la transmittance (ou à la brusque augmentation de l'absorbance) quand le milieu est chauffé^{57,69,71-73}.

Le groupement terminal de la chaîne polyéther joue également un rôle important sur la LCST. En effet, celui-ci permet d'augmenter ou de diminuer l'hydrophilie du polymère. Une baisse de la T_{cp} d'une vingtaine de degrés peut être observée en passant d'un groupement terminal CH_3 à CH_2-CH_3 , sur la chaîne latérale de PEG (cf. Figure 1.28).

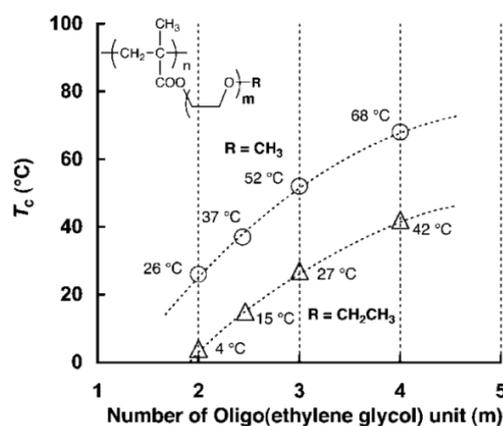


Figure 1.28 : Point de trouble en fonction du groupement terminal R⁶¹.

III.4. Paramètres externes influençant la LCST

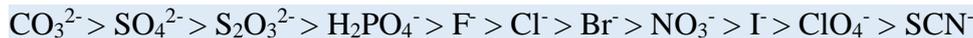
D'une manière générale, l'addition d'un troisième composant (3) au sein d'un mélange binaire va modifier sa stabilité et les caractéristiques du système ternaire ainsi formé doivent alors être évaluées à partir des paramètres d'interactions binaires χ_{12} , χ_{13} et χ_{23} .

Sans entrer dans la thermodynamique des mélanges ternaires, l'objectif de ce paragraphe est de donner une vision qualitative de l'impact de l'ajout de soluté, essentiellement les sels et les co-solvants, sur la transition de phase.

III.4.1. Addition de sel

L'effet des sels sur la solubilité des polymères est un sujet de longue date marqué par le travail de référence de Franz Hofmeister sur l'influence des sels sur la solubilité des protéines et la publication d'une série d'articles dans les années 1890^{74,75}. Ses travaux ont permis de séparer l'effet des anions (prépondérant) de celui des cations sur la solubilité des protéines et des polymères en général. Leur classification, donnée ci-dessous, et connue sous le nom de série de Hofmeister, permet de ranger les ions en fonction de leur impact sur la solubilité ; le carbonate et l'ammonium étant les plus efficaces pour précipiter les polymères :

- Classement des anions :



- Classement des cations :



Cette classification rend compte de la compétition des ions avec les polymères vis-à-vis des molécules d'eau. Certains anions (de CO_3^{2-} à Cl^-) sont connus pour abaisser la solubilité des polymères et on parle alors d'effet de « salting-out ». À l'inverse, les anions de I^- à SCN^- ont un effet opposé, dit de « salting-in », en augmentant la solubilité des polymères. On peut noter que cette classification a également été associée par la suite à la notion d'hydratation des ions, avec des ions kosmotropes fortement hydratés qui vont réduire l'hydratation des macromolécules et provoquer leur précipitation alors qu'à l'inverse les ions chaotropes, moins hydratés, n'auront pas cet effet. Bien qu'elle rende compte des effets généraux des sels sur la solubilité des polymères, cette description reste avant tout qualitative avec des contributions plus complexes prenant en compte la nature chimique des unités monomères, comme proposé par Cremer et Zhang⁷⁶ et schématisé sur la Figure 1.29.

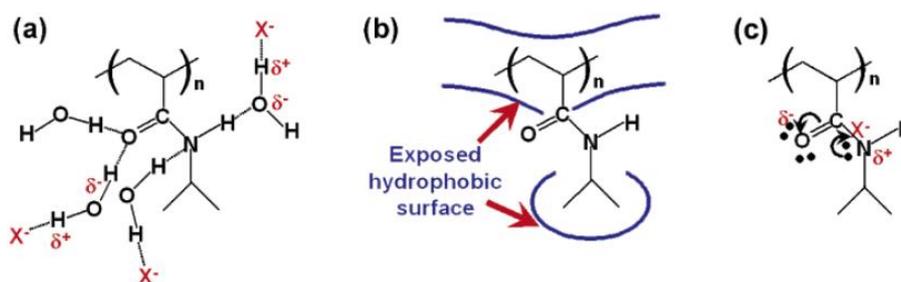


Figure 1.29 : Interactions entre les anions, le PNIPAM et les molécules d'eau d'hydratation :
 (a) Liaison hydrogène de l'amide et sa déstabilisation par polarisation par l'anion, X^- ;
 (b) L'hydratation hydrophobe de la molécule est associée à la tension superficielle qui peut être modulée par le sel ; (c) Liaison directe de l'anion au groupe amide du PNIPAM⁷⁷.

L'effet de ces sels a été largement étudié, notamment par l'équipe de Cremer dont les travaux réalisés sur le PNIPAm^{77,78} et le PEGMA⁷⁹ sont reportés sur la Figure 1.30.

Comme attendu à partir de la classification de Hofmeister, un effet de salting-in correspondant à une augmentation de la température de démixtion est effectivement observé avec les anions thiocyanate et chlorate. De leur côté, les anions kosmotropes (carbonate, sulfate, thiosulfate et phosphate) qui interfèrent fortement sur le processus d'hydratation des chaînes polymères diminuent de manière importante leur solubilité (salting-out).

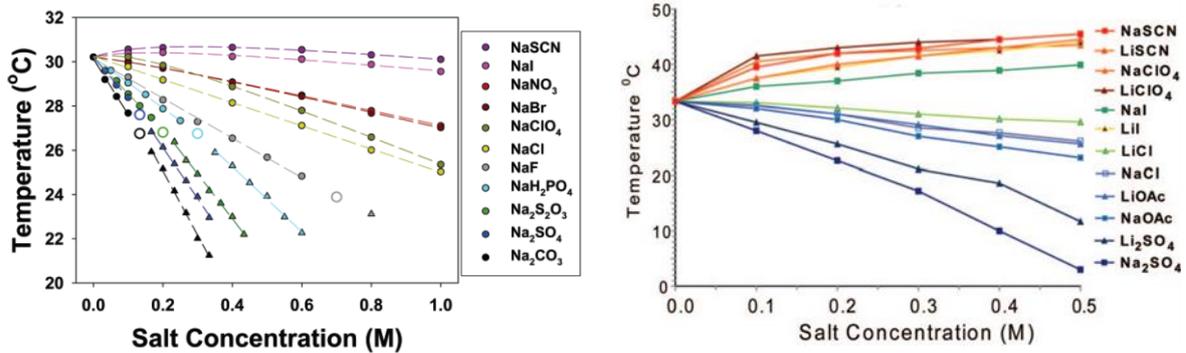


Figure 1.30 : Variation de la température de séparation de phase en fonction de la nature et de la concentration en sel pour des solutions aqueuses de PNIPAM⁷⁷ (gauche) et PEGMA⁷⁹ (droite).

L'effet des sels est particulièrement important et permet dans le cas des POE (cf. Figure 1.22) d'abaisser la température de démixtion de plus de 100 °C et ainsi d'étudier dans des conditions proches de l'ambiante des phénomènes qui pourront avoir lieu à très haute température et sous pression comme dans le cas des fluides de forage pétrolier⁵⁰.

III.4.2. Ajout d'un co-solvant

L'addition de solvants organiques dans les solutions aqueuses de polymère à LCST est un phénomène qui a été, et qui est toujours, très étudié en raison de la complexité et de la richesse des diagrammes de phases obtenus. D'une manière générale, on retrouve avec certains polymères à LCST les effets dits de « co-nonsolvency » observés lorsqu'un polymère initialement soluble dans deux solvants distincts devient insoluble pour certaines compositions de leur mélange. Dans le cas du PNIPAm qui a été particulièrement étudié, cela a tout d'abord été reporté par Schild *et al.*⁸⁰ et Winnik *et al.*⁸¹ dans le cas des mélanges eau/méthanol.

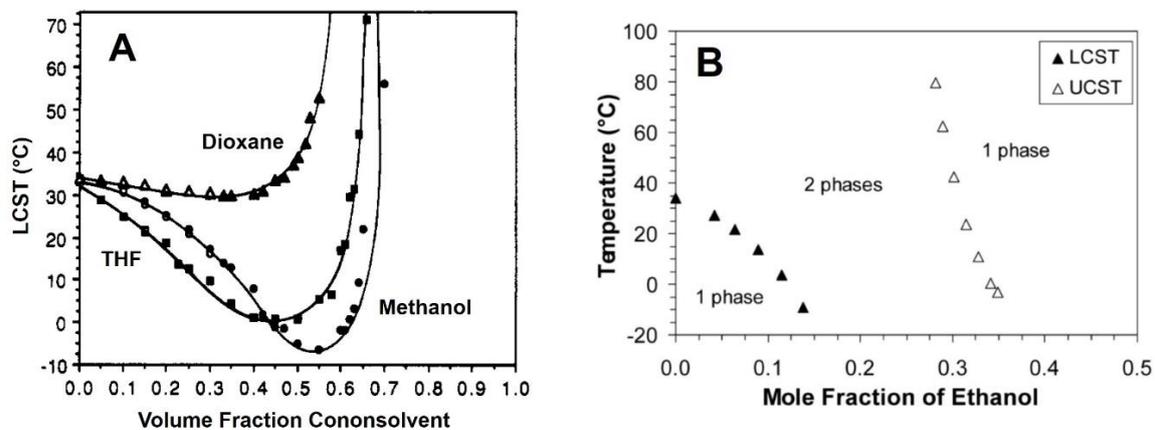


Figure 1.31 : Variation de la température de démixtion des solutions aqueuses de PNIPAm en fonction de la teneur en co-solvant ajouté. D'après (A) Schild *et al.*⁸⁰ et (B) Costa *et al.*⁸².

Ce phénomène a ensuite été élargi à de nombreux autres solvants tels que les alcools courts, l'acétone, le THF, le DMSO, le DMF, etc. (cf. Figure 1.31A). Pour ces systèmes, il a même été montré qu'en balayant toute la gamme de composition eau/co-solvant, la formulation du ternaire pouvait passer par différents comportements sur la gamme de température 0-100 °C : LCST, insoluble, UCST et soluble (cf. Figure 1.31B).

Différentes interprétations ont été avancées pour expliquer les caractéristiques remarquables de ces mélanges. On trouve d'une part des arguments dérivés de la théorie de Flory-Huggins considérant les interactions entre les trois composantes (χ_{12} , χ_{13} , χ_{23})⁸⁰ avec la possibilité de fortes interactions attractives (formation de complexes) entre les deux solvants (terme χ_{13} faible, voire négatif). D'autres interprétations font intervenir l'existence d'une adsorption compétitive entre les deux solvants et la chaîne macromoléculaire (formation de liaisons hydrogène)⁸³ ou bien encore l'existence de mécanismes différents en fonction de la composition du milieu⁸⁴. Dans le domaine de composition riche en eau, le processus d'hydratation hydrophobe prédomine et l'ajout de co-solvant déstabilise la structure des molécules d'eau hydratant les groupements hydrophobes ce qui provoque la précipitation du polymère à une température donnée (diminution de la LCST). À l'inverse, dans le domaine de composition riche en co-solvant, le comportement peut être décrit à partir du traitement thermodynamique classique des mélanges ternaires selon lequel l'ajout d'un mauvais solvant, l'eau, va diminuer la solubilité du polymère à une température donnée (augmentation de la UCST).

Quoi qu'il en soit, tous ces effets thermodynamiques décrits dans le cas des mélanges ternaires de PNIPAm sont intrinsèquement liés à la nature chimique du polymère et des effets différents peuvent être observés avec d'autres polymères à LCST. C'est le cas par exemple des solutions aqueuses de PMVE qui voient leur LCST augmenter de manière continue avec l'ajout de méthanol avant de disparaître au-delà de 40 vol% ($T > 100$ °C)⁸⁰.

III.5. Potentialités des polymères à LCST

En raison de ce phénomène de séparation de phase induit par chauffage, les formulations à base de polymères à LCST sont envisagées dans de très nombreuses applications où cette transition conformationnelle peut induire de fortes modifications à l'échelle macroscopique sous l'action d'un gradient de température. Au cours des années 80-90, de nombreux travaux académiques ont été publiés en s'intéressant principalement à la synthèse et aux propriétés des gels covalents à LCST⁸⁵. En effet, la préparation de ces matériaux thermostimulables permet de générer de fortes modifications de volume sous l'action de la température. Ces travaux ont permis d'une part d'explorer les aspects thermodynamiques des transitions de phase mais également de

développer des dispositifs de transduction thermique. C'est le cas par exemple des technologies microfluidiques qui utilisent des gels minces de PNIPAm pour moduler par la température le gonflement de films polymères et ainsi piéger des cellules⁸⁶, des protéines⁸⁷, etc. Il existe bien entendu de nombreux développements concernant les gels covalents thermostimulables qui peuvent adsorber/désorber des cellules par modification des propriétés de surface^{88,89} mais dès lors que l'on s'intéresse au polymère sous sa forme non réticulée, la séparation de phase se traduit généralement par une simple précipitation, qui ne permet pas l'obtention d'un hydrogel. Si on considère le développement de systèmes liquides thermogélifiants, il est donc important de mieux orchestrer le phénomène associatif en le distribuant à une échelle plus locale, donnant lieu à des micro-séparations de phase, plutôt qu'à une macro-séparation de phase. Pour cela, une composante hydrosoluble doit être intégrée dans la structure macromoléculaire. La partie thermosensible va ainsi permettre la formation de domaines associatifs, formant les points de réticulation, via notamment des interactions hydrophobes, au-delà de la température d'association. La partie hydrophile, quant à elle, va continuer à interagir fortement avec l'eau lors de la formation du réseau et maintenir ainsi la stabilité de la formulation. C'est cette réflexion, basée sur un contrôle thermique de la balance hydrophile/hydrophobe, qui a conduit au développement des systèmes thermogélifiants qui sont à la base de ce travail et que nous allons discuter dans la partie suivante.

IV. Systèmes thermogélifiants

Dans cette partie, nous présenterons différents systèmes capables d'induire une thermogélification lors du chauffage de la solution. Pour chacun d'entre eux, nous discuterons leurs relations structure/propriétés en précisant les paramètres clés et donnerons quelques-unes de leurs applications en temps qu'hydrogel injectable dans le domaine biomédical.

IV.1. Hydrogels thermosensibles à LCST

Certains polymères sont connus pour présenter une transition de solution à gel par chauffage. C'est notamment le cas des dérivés de cellulose comme la méthylcellulose ou l'hydroxypropylméthylcellulose.

IV.1.1. Dérivés de cellulose

Les dérivés de cellulose comme la méthylcellulose (MC) ou l'hydroxypropylméthylcellulose (HPMC) sont capables d'induire la formation d'un hydrogel lorsque la température augmente. Ceci réside dans l'association de leurs parties hydrophobes avec l'augmentation de la

température permettant ainsi l'obtention d'un réseau physique (cf. Figure 1.32). Comme expliqué précédemment, c'est l'association des parties hydrophobes qui permet la formation de points de réticulation. Les parties hydrophiles du polymère peuvent alors interagir avec l'eau permettant la formation d'un hydrogel.

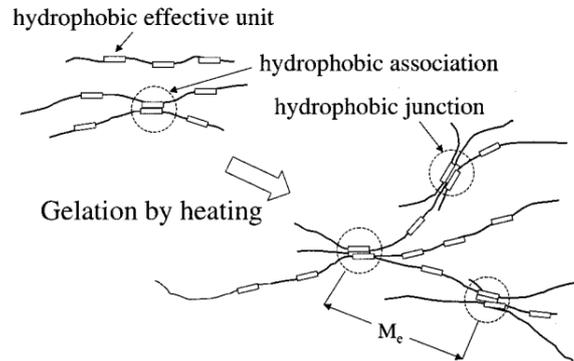


Figure 1.32 : Schéma du mécanisme de gélification de la MC et de la HPMC⁹⁰.

Leur point de gel, tout comme pour la T_{cp} , est dépendant de la concentration en polymère. La méthylcellulose permet d'obtenir une large gamme de $T_{sol-gel}$ en fonction de sa concentration dans l'eau (cf. Figure 1.33). Plus la concentration augmente et plus la $T_{sol-gel}$ diminue. Ceci est un phénomène généralement rencontré pour les polymères thermogélifiants. En effet, en augmentant la concentration en polymère, la proximité entre les chaînes augmente, facilitant alors les associations inter-chaînes à de plus faibles températures.

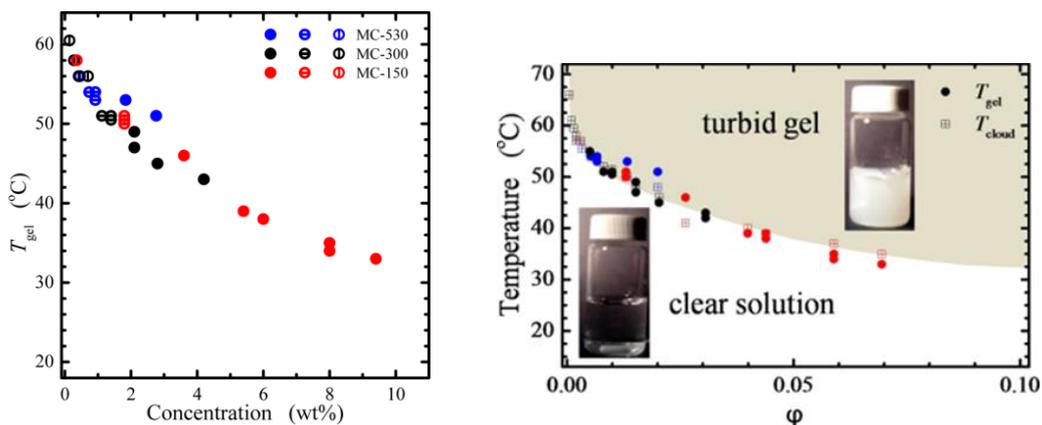


Figure 1.33 : $T_{sol-gel}$ en fonction de la concentration en méthylcellulose pour différentes masses molaires ; (bleu) M_w : 530 kg/mol, (rouge) M_w : 300 kg/mol, (noir) M_w : 150 kg/mol²⁴.

La $T_{sol-gel}$ reste néanmoins élevée aux faibles concentrations en polymère, généralement aux alentours de 50 à 60 °C dans l'eau pure pour la MC^{24,91-93} et pour la HPMC⁹³⁻⁹⁵. Cependant, des sels peuvent être utilisés pour abaisser cette transition^{91,92,94}, comme présenté précédemment pour les polymères à LCST, en utilisant des sels à effet salting-out.

Peu d'impact est observé en fonction de la masse molaire comme reporté sur la Figure 1.33. Le seul point limitant avec les masses molaires les plus hautes est la viscosité qui augmente fortement et qui entraîne une diminution du caractère injectable. La gamme de $T_{\text{sol-gel}}$ qui peut être obtenue est donc plus limitée.

IV.1.2. Chitosane

Le chitosane est un polysaccharide cationique (cf. Figure 1.34) extrait de la carapace des crustacés. Il est soluble en milieu acide dû à la protonation de son amine. Au-dessus de son pKa d'environ 6,5, le chitosane précipite et conduit à la formation d'un gel (phase concentrée).

Le chitosane seul ne possède pas de caractère thermosensible mais en présence de certaines molécules comme l'urée/NaOH, le bicarbonate de sodium ou la β -glycérophosphate, il est capable d'induire une transition sol-gel sous stimulus thermique.

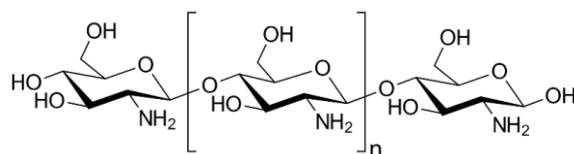


Figure 1.34 : Structure du chitosane.

Chitosane/urée

À pH 7, le chitosane de par sa structure cristalline ne peut être dissout dans l'eau. Via l'utilisation d'un solvant eau/NaOH en présence d'urée, il est possible de le solubiliser. Cependant, lorsque la température augmente, la protection conférée par l'urée/NaOH est perdue progressivement conduisant à la formation d'un gel. Des gels de chitosane à 3 wt% dans une solution de NaOH/urée peuvent ainsi être obtenus après immersion de deux minutes dans un bain à 45 °C²⁸ (cf. Figure 1.35).



Figure 1.35 : Solution de chitosane à 3 wt% dans un mélange urée/NaOH ; (A) Avant immersion, (B) Après immersion 2 minutes dans un bain à 45 °C²⁸.

Cependant, le temps de gélification augmente si la température est abaissée ou si la concentration en chitosane diminue. En effet, pour 3 wt% de chitosane, à 37 °C, il faut environ 8 minutes pour obtenir la transition sol-gel, temps relativement long s'il on imagine une

application de délivrance de principes actifs où un effet de burst release pourrait apparaître après injection.

Chitosane/ β -glycérophosphate

L'addition du β -glycérophosphate (β -GP) (cf. Figure 1.36) entraîne l'augmentation du pH, autour de 7 à 7,4 mais empêche la précipitation du chitosane à ce pH⁹⁶. Cependant, lorsque la température augmente la formation du gel a lieu via des interactions hydrophobes et électrostatiques^{29,97}.

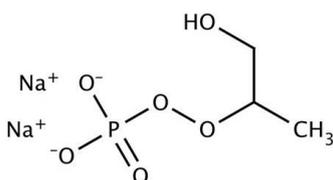


Figure 1.36 : Structure du β -glycérophosphate.

Le temps de gélification dépend à la fois de la concentration en β -GP et de la température (cf. Figure 1.37). Il est à noter qu'à 37 °C, le temps de gélification reste élevé, avec 7 min et 4 min pour 0,46 M et 0,56 M de β -GP, respectivement²⁷. Une concentration en β -GP suffisante est nécessaire pour écranter les interactions répulsives entre chaînes de chitosane chargées et permettre la formation du gel, ainsi en augmentant celle-ci le temps de gélification diminue. Comme avec l'urée/NaOH, la concentration en chitosane joue également un rôle important²⁷, avec une diminution du temps de gélification lorsque la concentration augmente.

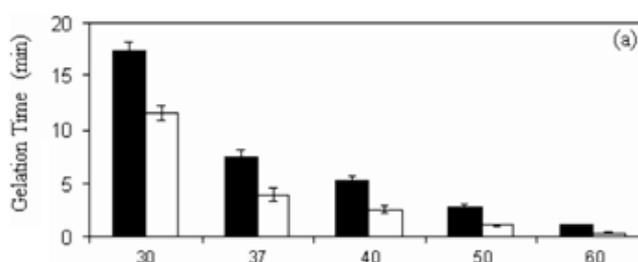


Figure 1.37 : Temps de gélification en fonction de la température pour du chitosane à 2 wt% pour deux concentrations en β -glycérophosphate ; (noir) 0,46 M, (blanc) 0,56 M²⁷.

Chitosane/ NaHCO_3

En ajoutant du bicarbonate de sodium (NaHCO_3), un hydrogel thermosensible de chitosane peut également être obtenu à 37 °C, pour une concentration de 2 % (w/v). Dans ce cas-ci, la formation du gel thermosensible a lieu via la neutralisation de l'amine en présence de HCO_3^- (cf. Figure 1.38). La formation de CO_2 , lors de la neutralisation, augmente progressivement le pH. À de plus hautes températures, le phénomène s'accélère et permet la formation de l'hydrogel.

Une concentration suffisante en HCO_3^- doit être introduite pour permettre une neutralisation rapide à haute température. Cependant, sa concentration ne doit pas être trop élevée car la gélification peut avoir lieu à des températures bien inférieures à 37°C .

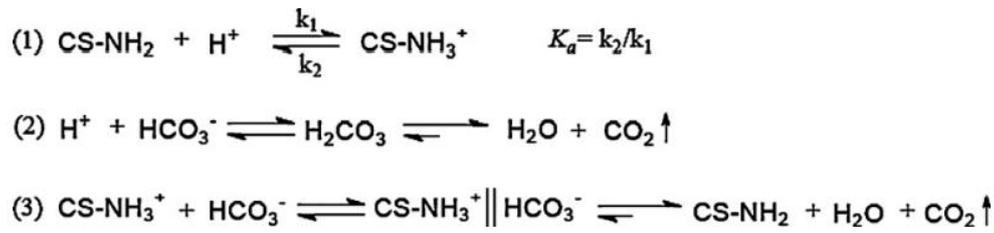


Figure 1.38 : Équilibres intervenant en présence de chitosane/ NaHCO_3 ⁹⁸.

Néanmoins, même si la gélification peut avoir lieu à la température du corps humain, les temps de gélification à 37°C sont longs. Ils varient de 20 heures à 30 minutes, pour des concentrations de 0,08 à 0,12 mol/L en NaHCO_3 ⁹⁸. Trente minutes est le temps minimal de gélification qui peut être obtenu car au delà de 0,13 mol/L en NaHCO_3 ⁹⁸, le système précipite et plus aucun gel n'est obtenu.

Nous avons vu qu'avec le chitosane, l'ajustement du temps de gélification dépendait de nombreux paramètres (température, concentration en polymère et en espèces permettant la thermogélification) et qu'ils sont généralement de plusieurs minutes. L'idéal est d'obtenir plutôt des temps de gélification de quelques secondes (< 1 min) pour éviter un relargage prématuré des principes actifs ou cellules.

IV.2. Copolymères thermogélifiants

Des polymères non stimulables naturellement peuvent également démontrer un caractère thermogélifiant via la modification chimique et notamment l'ajout de séquences macromoléculaires à LCST. Il est également possible de synthétiser des copolymères synthétiques et de jouer sur la balance hydrophile/hydrophobe du polymère pour obtenir un caractère thermogélifiant.

IV.2.1. Copolymères linéaires à blocs

Certains triblocs sont connus pour leurs propriétés thermogélifiantes. C'est notamment le cas des poloxamères.

Les poloxamères sont des triblocs de poly(oxyde d'éthylène-b-oxyde de propylène-b-oxyde d'éthylène) (PEO-PPO-PEO) (cf. Figure 1.39). Ils sont composés d'une partie hydrophile, les blocs PEO et d'une partie hydrophobe, le bloc PPO. Pour modifier leur $T_{\text{sol-gel}}$, le nombre d'unités de chaque bloc peut être ajusté pour changer la balance hydrophile/hydrophobe.

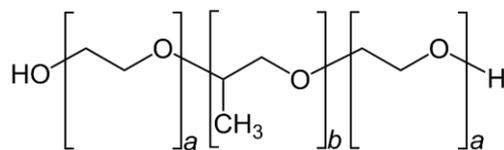


Figure 1.39 : Structure chimique des poloxamères.

Un des poloxamères couramment utilisé est le poloxamère 407 (P407 ou PF-127), avec 101 unités de PEO ($a = 101$) et 56 unités de PPO ($b = 56$). Son désavantage est la nécessité d'une forte concentration en polymère pour obtenir un hydrogel. Dans la littérature, il est reporté qu'à partir de 17-18 wt%^{99,100}, la $T_{\text{sol-gel}}$ devient inférieure à 37 °C.

Le poloxamère 188 (P188 ou PF-68), quant à lui, a une $T_{\text{sol-gel}}$ bien plus haute pour des concentrations similaires au P407 (30 wt%, $T_{\text{sol-gel}}$: 38,1 °C⁹⁹). Il est composé de 80 unités ($a = 80$) de PEO et 27 unités de PPO ($b = 27$).

Des études portant sur le mélange de ces deux poloxamères ont permis de trouver des conditions éligibles pour la formation d'hydrogels à des températures inférieures à 37 °C^{100,101}. Cependant, la concentration totale en polymère est très élevée (~ 30-40 wt%).

Les poloxamères P407 et P188 ont notamment fait l'objet d'études pour du relargage de principes actifs¹⁰² (cf. Tableau 1.6). Des additifs sont également utilisés dans les formulations, comme des sels, pour diminuer la $T_{\text{sol-gel}}$ ou des polymères comme l'alginate pour augmenter la mucoadhésion.

Tableau 1.6 : Applications des poloxamères P407/P188 en biomédical¹⁰².

Zones d'application	Yeux	Vagin	Nez	Rectum
Pourcentages testés % - P407/P188	15/14-16 ¹⁰¹	15-20/15-20 ¹⁰⁰	18 ¹⁰³	9-15/3-30 ^{99,104}

D'autres triblocs permettent l'obtention de formulations thermogélifiantes comme le poly(acide lactique-co-acide glycolique)-b-poly(éthylène glycol)-b-poly(acide lactique-co-acide glycolique) (PLGA-PEG-PLGA).

IV.2.2. Copolymères linéaires statistiques

Via des copolymères linéaires statistiques, il est également possible d'induire une thermogélification. Ceci a été reporté pour du PNIPAm-co-(acide 2-acrylamido-2-méthylpropane sulfonique) (PNIPAm-co-AMPS), de $M_w \sim 2500 \text{ kg/mol}$ ¹⁰⁵ (cf. Figure 1.40). Ainsi, en ajoutant des monomères chargés, ici l'AMPS, dans la chaîne thermosensible (PNIPAm), le polymère peut alors continuer à interagir avec l'eau à haute température pour former un hydrogel thermosensible stable.

La masse molaire de ce type de polymère est un paramètre important concernant la thermogélification. En effet, comme vu précédemment, pour des copolymères P(NIPAm-co-MADAP), aucune thermogélification n'a été observée pour des M_n de l'ordre de 15 kg/mol, dans la gamme de concentration testée²⁵. De plus, Bae *et al.*¹⁰⁶ reportent une thermogélification pour des P(NIPAm-co-(acide acrylique)) de M_w environ égale à 1000 kg/mol, pour 2 à 5 mol% d'acide acrylique¹⁰⁶ mais ce n'est pas le cas pour des M_w de 100 000 g/mol, à 5 wt% PBS.

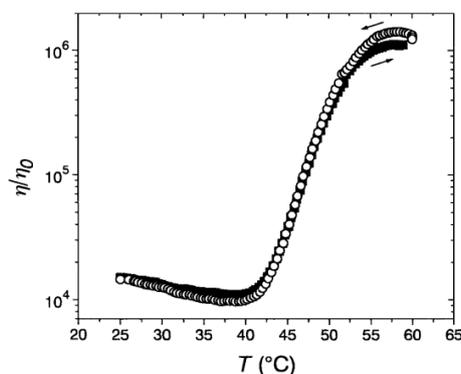


Figure 1.40 : Propriétés thermoépaississantes d'un PNIPAm-co-AMPS, à 8 wt% dans l'eau¹⁰⁵.

Il est à noter que peu d'exemples de copolymères statistiques capables d'induire une transition sol-gel ont été reportés dans la littérature. Ce type de polymère fera l'objet d'un chapitre de cette thèse.

Les copolymères greffés quant à eux font l'objet d'intenses recherches, pour la formation d'hydrogels injectables thermosensibles.

IV.2.3. Copolymères greffés

Dans le cadre de copolymères greffés thermogélifiants, un réseau physique peut également être formé. En effet, dans le cas d'une structure où le squelette est hydrophile et les greffons sont thermosensibles (cf. Figure 1.41), ces derniers en devenant hydrophobes avec l'augmentation de la température cherchent à limiter leur contact avec l'eau et s'associent pour former des zones de jonction. Ils jouent alors le rôle de réticulant physique tandis que le squelette hydrophile va interagir avec l'eau lors de leur association, permettant ainsi la stabilisation du réseau physique.

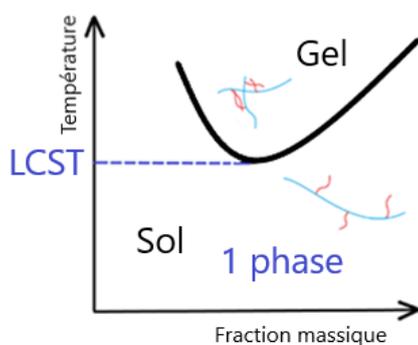


Figure 1.41 : Diagramme de phase d'un copolymère greffé (squelette hydrophile en bleu et greffons à LCST en rouge).

Dans le cadre de cette thèse, ce sont des copolymères greffés qui ont principalement été synthétisés et étudiés. Ils seront présentés par la suite dans ce manuscrit.

IV.2.3.a. Stratégies de synthèse

Plusieurs stratégies peuvent être utilisées pour synthétiser des copolymères greffés. Sur la Figure 1.42, les procédés de « grafting onto », de « grafting from » et de « grafting through » sont illustrés.

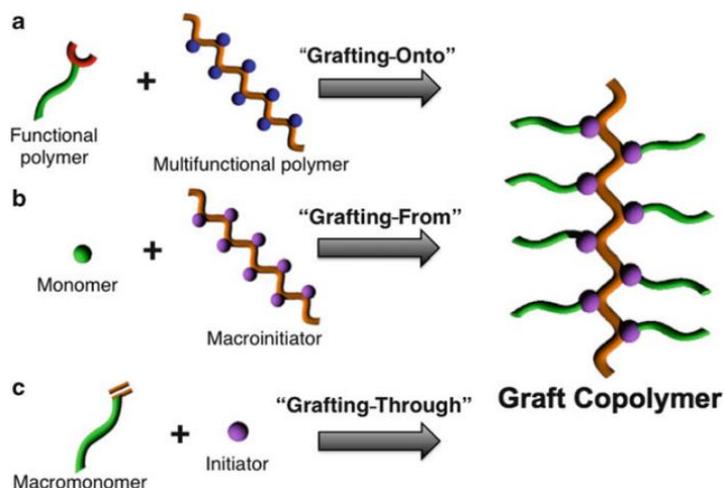


Figure 1.42 : Stratégies de greffage¹⁰⁷.

Grafting onto

Une réaction de couplage a lieu entre la fonction terminale du polymère fonctionnel et une des fonctions du polymère multifonctionnel, qui joue le rôle de squelette.

Un exemple de réaction utilisée pour la formation de copolymère greffé thermosensible est le couplage amine/acide carboxylique (NH_2/COOH) via l'utilisation du 1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide (EDC) et du *N*-hydroxysuccinimide (NHS)^{69,108–110}.

Grafting from

Il y a deux amorçages possibles de la réaction pour cette stratégie, soit le polymère est modifié par des amorceurs¹¹¹, soit la réaction de polymérisation se fait directement sur le polymère sans besoin de le modifier chimiquement au préalable^{112,113}.

Le désavantage de la deuxième approche est le manque de contrôle de la polymérisation qui conduit à une dispersité élevée des masses molaires des greffons.

Pour la première approche, le contrôle de la polymérisation peut avoir lieu en modifiant le squelette par des amorceurs de type agent RAFT, par exemple.

Cependant, pour les deux techniques, la polymérisation peut se faire hors du squelette et entraîner la formation de greffons libres. Ils peuvent alors être éliminés par dialyse et/ou précipitation.

Grafting through

Dans ce cas, un macromonomère est polymérisé en présence d'un second monomère et d'un amorceur. Cette stratégie est plutôt utilisée pour des systèmes complètement synthétiques. Par exemple, des copolymères greffés de poly(*N,N*-diméthylacrylamide)-g-poly(*N*-isopropylacrylamide) (PDMA-g-PNIPAm) et de PNIPAm-g-PDMA capables d'induire une transition sol-gel ont été synthétisés par cette méthode^{114,115}. Cette stratégie, qui offre beaucoup de liberté sur la topologie des copolymères greffés, permet notamment d'évaluer l'impact de l'architecture sur les propriétés du gel, comme nous allons le voir à présent.

IV.2.3.b. Effet de la topologie de copolymères greffés sur leurs propriétés

Guo *et al.*¹¹⁴ ont ainsi synthétisé et étudié des copolymères greffés de PDMA-g-PNIPAm et de topologie inverse PNIPAm-g-PDMA (cf. Figure 1.43).

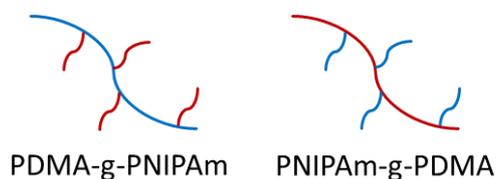


Figure 1.43 : Schéma des deux topologies inverses.

Leurs propriétés rhéologiques sont quasiment similaires en absence de sel. Cependant, en présence d'une concentration croissante en K_2CO_3 , leur comportement thermogélifiant est drastiquement différent. Sur la Figure 1.44A, pour un système PDMA-g-PNIPAm, l'augmentation de 0 à 0,3 M de K_2CO_3 permet une diminution de la T_{as} de de 38 °C à 24 °C environ, sans pour cela perdre les propriétés thermoépaississantes.

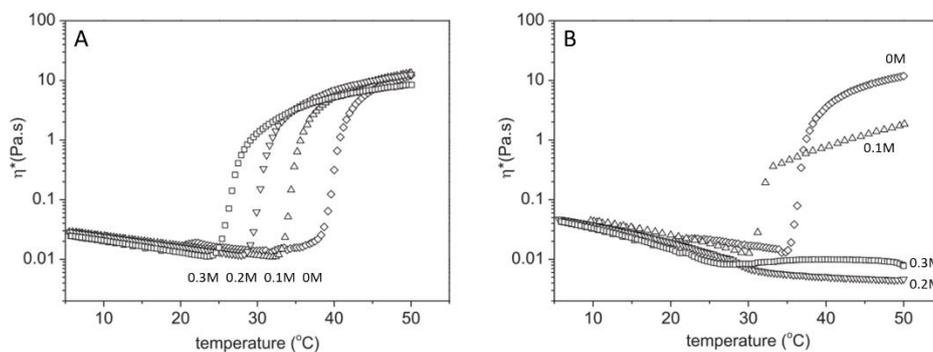


Figure 1.44 : Effet de la concentration en K_2CO_3 pour deux topologies inverses ; (A) PDMA-g-PNIPAm et (B) PNIPAm-g-PDMA¹¹⁴.

Par contre, pour le système inverse PNIPAm-g-PDMA (cf. Figure 1.44B), l'augmentation de la concentration en sel dans le milieu entraîne progressivement la perte des propriétés thermogélifiantes du système. À partir de 0,2 M en K_2CO_3 , le système n'est plus capable de conduire à un réseau percolant à cette concentration en copolymère (3 wt%).

L'impact de la topologie est donc important sur les propriétés de thermogélification. Un squelette hydrophile permet une meilleure stabilité du réseau, notamment en présence d'additifs affaiblissant la solubilité du polymère thermosensible. Cette stabilité du réseau en présence de sel est un paramètre à prendre en compte pour des applications biomédicales, puisque les conditions physiologiques correspondent approximativement à une concentration en NaCl d'environ 0,15 M.

Dans le cadre de cette thèse, un des objectifs est l'utilisation de biopolymères comme squelette pour augmenter la biocompatibilité du système, les greffons seront donc thermosensibles et le squelette hydrophile.

IV.2.3.c. Copolymères greffés à base de biopolymères modifiés

L'utilisation de biopolymères modifiés pour l'obtention d'hydrogels injectables est particulièrement répertoriée dans la littérature. Pour des applications biomédicales, il est important que les systèmes injectables présentent une biocompatibilité et une biodégradabilité, ce qui peut être envisagé via l'utilisation de biopolymères.

La biodégradabilité du système est un paramètre clé car même si l'hydrogel, une fois injecté au sein du corps, doit pouvoir maintenir sa structure, de plusieurs heures à plusieurs jours selon le traitement à effectuer, il doit finir par se dégrader après un temps donné.

Parmi les polysaccharides, l'acide hyaluronique (HA) et l'alginate (Alg) ont particulièrement été étudiés dans le cadre de la préparation de formulations thermosensibles.

Alginate

L'alginate (Alg) est un polysaccharide issu des algues brunes. Il est biocompatible et peu toxique. En effet, Zimmermann *et al.*¹¹⁶ ne reportent pas de réaction inflammatoire après purification de l'alginate, par dialyse, contrairement à l'alginate non purifié qui induit la formation de fibrine.

Lee *et al.*¹¹⁷ ne reportent pas de réponse inflammatoire *in vivo* en présence de gels d'alginate sur des souris. Cependant, l'alginate ne peut pas être dégradé *in vivo* car l'enzyme alginase n'y est pas présente. Kong *et al.*¹¹⁸ ont reporté la dégradation progressive d'hydrogels physiques d'alginate, préalablement oxydé, dans un milieu de culture cellulaire. La préoxydation des chaînes d'alginate semble être une option pour entraîner leur dégradation, une fois injectées. La dégradation d'alginate préoxydé dépend également du pH (cf. Figure 1.45).

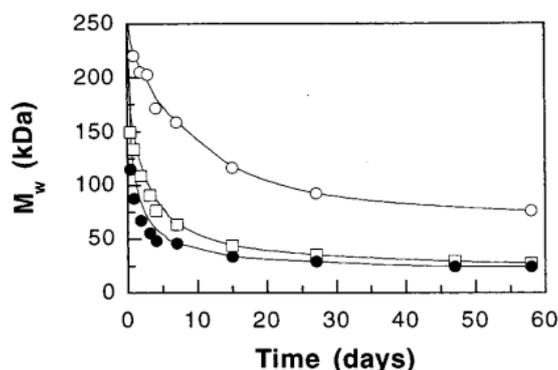


Figure 1.45 : Variation de la masse molaire d'alginate préoxydé en fonction du temps pour différents pH¹¹⁹ ; Ronds vides : pH = 4,5, carrés vides : pH = 7,4, ronds noirs : pH = 9,2.

Acide hyaluronique

L'acide hyaluronique (HA) est naturellement présent au sein du corps et peut être dégradé via l'enzyme hyaluronidase. Cette dégradabilité présente un avantage mais ne doit pas non plus être trop rapide pour que l'hydrogel puisse rester intact le temps du traitement.

Hahn *et al.*¹²⁰ ont reporté que la dégradation d'hydrogels chimiques d'acide hyaluronique dépendait du réticulant. Ainsi, des hydrogels d'HA pouvaient être maintenus de 2 semaines à plus de 29 jours *in vivo* selon le réticulant utilisé.

De nombreux exemples de la littérature sont basés sur des copolymères greffés à base de biopolymères et leur domaine d'applications dans le biomédical est varié. Par exemple, Lü *et al.*¹²¹ utilisent des hydrogels injectables à base de chondroïtine sulfate-g-PNIPAm pour de la culture cellulaire.

Des systèmes à base d'Alg-g-PNIPAm sont particulièrement répertoriés (cf. Tableau 1.7). Liu *et al.*³⁰ reportent notamment la formation d'un hydrogel d'Alg-g-PNIPAm en 35 s en passant de 25 à 37 °C (cf. Figure 1.46). Ce temps de gélification faible le rend utilisable pour l'élaboration de systèmes injectables. En effet, la formation du réseau en moins d'une minute permettrait d'éviter le relargage prématuré des cellules ou principes actifs.

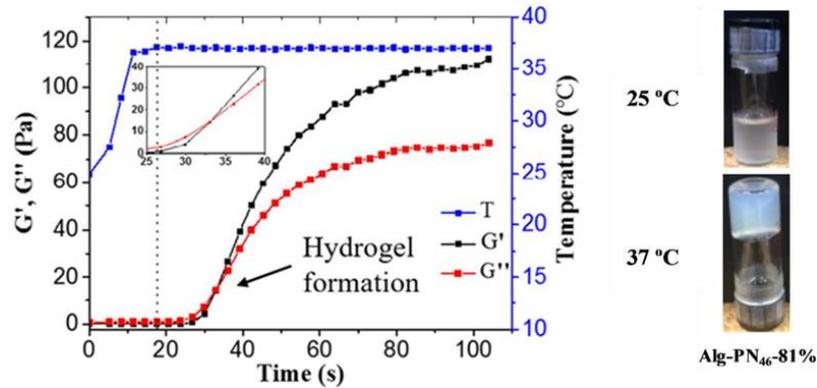


Figure 1.46 : Propriétés thermogélifiantes d'un hydrogel injectable à base d'Alg-g-PNIPAm³⁰ ($C_p = 7,4$ wt% eau) ; (Gauche) Temps de gélification déterminé par rhéologie, (Droite) Transition sol-gel entre 25 et 37 °C.

Des exemples de copolymères greffés à base de biopolymères comme squelette permettant l'obtention d'hydrogels injectables sont répertoriés dans le Tableau 1.7.

Tableau 1.7 : Exemples de copolymères greffés thermogélifiants à base de biopolymères.

Greffons thermosensibles	Squelettes
PNIPAm	Alginate ^{30,69,109,122} ; Chondroïtine sulfate ¹²¹ ; Chitosane ¹¹³
PNVCL	Chitosane ¹²³ ; Hydroxypropylguar ¹¹²
PEPO	CMC ¹¹⁰ ; HA ¹²⁴
Polyoxazoline	HA ^{125,126}

Dans le cadre de cette thèse, des hydrogels injectables thermosensibles à base d'alginate ou d'acide hyaluronique seront présentés. Beaucoup d'exemples sont déjà répertoriés dans la littérature mais dans le cadre de cette thèse, nous avons souhaité donner un guide pour la formation d'hydrogels injectables utilisables dans des conditions physiologiques. Le but principal sera notamment de relier la structure des polymères aux propriétés des gels formés. De nombreuses propriétés seront étudiées allant des propriétés à l'état liquide (injectabilité, viscosité...) à celles à l'état gel (propriétés rhéologiques, adhésion, etc.).

V. Conclusion

Dans ce chapitre, les polymères thermosensibles à LCST ont été introduits et nous avons vu comment les utiliser pour former des systèmes thermogélifiants.

Pour obtenir une thermogélification du système, une partie hydrophile doit être présente dans le copolymère afin de stabiliser le réseau lors de l'association des parties thermosensibles, qui jouent le rôle de réticulant physique. La balance hydrophile/hydrophobe est un point clé pour l'obtention d'une thermogélification. Dans ce cadre, différentes architectures peuvent être utilisées comme des copolymères linéaires statistiques, à blocs ou greffés.

Dans le cadre d'applications biomédicales, une $T_{\text{sol-gel}}$ inférieure à 37 °C est nécessaire pour assurer la formation du gel *in situ*. D'autres paramètres sont également à prendre en compte pour que l'hydrogel injectable puisse être viable dans le cadre d'applications biomédicales. Ces différents paramètres sont récapitulés dans le Tableau 1.8.

Tableau 1.8 : Récapitulatif des différentes caractéristiques pour l'élaboration d'hydrogels injectables pour des applications biomédicales.

Caractéristiques	Conditions
Injectabilité à T_{amb}	Viscosité modérée de la solution ; caractère rhéofluidifiant
Cinétique de gélification	Gélification rapide <i>in situ</i> (< 1 min) → éviter un relargage prématuré
Gonflement/Tenue du gel	Dissociation du gel après un temps donné, gonflement contrôlé
Biocompatibilité/Biodégradabilité	Utilisation de biopolymères
Adhésion/Bioadhésion	Utilisation de polyélectrolytes → mucoadhésifs

L'objectif principal de cette thèse est d'étudier l'impact de la structure de copolymères thermosensibles sur les propriétés des hydrogels formés afin de pouvoir présenter un guide pour la formation d'hydrogels physiques thermosensibles.

Les copolymères greffés thermosensibles seront l'objet principal de ce travail. À travers cette architecture versatile, il est en effet possible d'analyser l'impact de nombreux paramètres (taille du squelette, densité de greffage, etc.) comme indiqué sur la Figure 1.47.

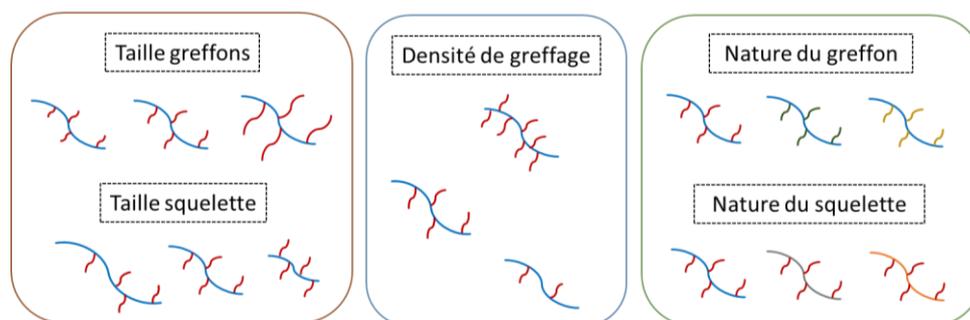


Figure 1.47 : Paramètres pouvant être modifiés sur la structure des copolymères greffés.

Dans une première partie (Partie A), des systèmes modèles entièrement synthétiques à base de poly(acide acrylique)-g-PNIPAm (PAA-g-PNIPAm) seront étudiés pour mieux comprendre comment les propriétés rhéologiques et d'adhésion peuvent être modulées en fonction de la taille des greffons, de la taille du squelette et de la densité de greffage.

Dans la Partie B, nous nous intéresserons à la nature même des greffons. Pour cela, des copolymères de PEGMA seront tout d'abord étudiés pour comprendre comment moduler leur LCST. Ils seront par la suite greffés sur le squelette PAA de référence avec pour objectif de comparer leurs propriétés à celles des PAA-g-PNIPAm.

La modification de l'architecture du système fera également l'objet d'un chapitre particulier. Pour cela, des copolymères linéaires statistiques à LCST seront utilisés.

Dans une troisième partie (Partie C), nous changerons la nature du squelette en utilisant des biopolymères, l'alginate et l'acide hyaluronique. Parallèlement à l'analyse systématique de leurs propriétés viscoélastiques aux petites et grandes déformations, l'étude des copolymères greffés à base d'alginate sera également orientée vers une application de délivrance de principes actifs. Dans ce cadre, nous nous intéresserons aux propriétés d'injectabilité à température ambiante ainsi qu'aux propriétés en milieu physiologique et notamment de relargage d'une molécule modèle, la rhodamine B, à la température de 37 °C.

Enfin, nous ferons le bilan des travaux rassemblés dans ce manuscrit en résumant les résultats saillants et leurs perspectives.

Références

1. Papadopoulos, A. *et al.* Injectable and Photopolymerizable Tissue-Engineered Auricular Cartilage Using Poly(Ethylene Glycol) Dimethacrylate Copolymer Hydrogels. *Tissue Eng. Part A* **17**, 161–169 (2011).
2. Lin, R.-Z., Chen, Y.-C., Moreno-Luna, R., Khademhosseini, A. & Melero-Martin, J. M. Transdermal regulation of vascular network bioengineering using a photopolymerizable methacrylated gelatin hydrogel. *Biomaterials* **34**, 6785–6796 (2013).
3. Wang, X., Hao, T., Qu, J., Wang, C. & Chen, H. Synthesis of Thermal Polymerizable Alginate-GMA Hydrogel for Cell Encapsulation. *J. Nanomater.* **2015**, 1–8 (2015).
4. Zhu, W. & Ding, J. Synthesis and characterization of a redox-initiated, injectable, biodegradable hydrogel. *J. Appl. Polym. Sci.* **99**, 2375–2383 (2006).
5. Sletten, E. M. & Bertozzi, C. R. Bioorthogonal Chemistry: Fishing for Selectivity in a Sea of Functionality. *Angew. Chem. Int. Ed.* **48**, 6974–6998 (2009).
6. Hang, H. C., Yu, C., Kato, D. L. & Bertozzi, C. R. A Metabolic Labeling Approach toward Proteomic Analysis of Mucin-Type O-Linked Glycosylation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **100**, 14846–14851 (2003).
7. Yu, L. & Ding, J. Injectable hydrogels as unique biomedical materials. *Chem. Soc. Rev.* **37**, 1473 (2008).
8. Shaari, N. & Kamarudin, S. K. Recent advances in additive-enhanced polymer electrolyte membrane properties in fuel cell applications: An overview. *Int. J. Energy Res.* **43**, 2756–2794 (2019).
9. Engler, A. J., Sen, S., Sweeney, H. L. & Discher, D. E. Matrix Elasticity Directs Stem Cell Lineage Specification. *Cell* **126**, 677–689 (2006).
10. Caliani, S. R. & Burdick, J. A. A practical guide to hydrogels for cell culture. *Nat. Methods* **13**, 405–414 (2016).
11. Even-Ram, S., Artym, V. & Yamada, K. M. Matrix Control of Stem Cell Fate. *Cell* **126**, 645–647 (2006).
12. Colby, R. H. Structure and linear viscoelasticity of flexible polymer solutions: comparison of polyelectrolyte and neutral polymer solutions. *Rheol. Acta* **49**, 425–442 (2010).
13. Rubinstein, M. & Colby, R. H. *Polymer physics*. (Oxford University Press, 2003).
14. Leibler, L., Rubinstein, M. & Colby, R. H. Dynamics of reversible networks. *Macromolecules* **24**, 4701–4707 (1991).
15. Robinson, T. E., Hughes, E. A. B., Eisenstein, N. M., Grover, L. M. & Cox, S. C. The Quantification of Injectability by Mechanical Testing. *J. Vis. Exp.* 61417 (2020) doi:10.3791/61417.
16. Watt, R. P., Khatri, H. & Dibble, A. R. G. Injectability as a function of viscosity and dosing materials for subcutaneous administration. *Int. J. Pharm.* **554**, 376–386 (2019).
17. Chen, M. H. *et al.* Methods To Assess Shear-Thinning Hydrogels for Application As Injectable Biomaterials. *ACS Biomater. Sci. Eng.* **3**, 3146–3160 (2017).
18. Robinson, T. E. *et al.* Filling the Gap: A Correlation between Objective and Subjective Measures of Injectability. *Adv. Healthc. Mater.* **9**, 1901521 (2020).

19. Xia, S. *et al.* Shear-Thinning Viscous Materials for Subconjunctival Injection of Microparticles. *AAPS PharmSciTech* **22**, 8 (2021).
20. Allmendinger, A. *et al.* Rheological characterization and injection forces of concentrated protein formulations: An alternative predictive model for non-Newtonian solutions. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **87**, 318–328 (2014).
21. Rył, A. & Owczarz, P. Injectability of Thermosensitive, Low-Concentrated Chitosan Colloids as Flow Phenomenon through the Capillary under High Shear Rate Conditions. *Polymers* **12**, 2260 (2020).
22. Chambon, F. & Winter, H. H. Linear Viscoelasticity at the Gel Point of a Crosslinking PDMS with Imbalanced Stoichiometry. *J. Rheol.* **31**, 683–697 (1987).
23. Winter, H. H. & Mours, M. Rheology of Polymers Near Liquid-Solid Transitions. in *Neutron Spin Echo Spectroscopy Viscoelasticity Rheology* vol. 134 165–234 (Springer Berlin Heidelberg, 1997).
24. Arvidson, S. A. *et al.* Interplay of Phase Separation and Thermoreversible Gelation in Aqueous Methylcellulose Solutions. *Macromolecules* **46**, 300–309 (2013).
25. Siband, E., Tran, Y. & Hourdet, D. Thermoresponsive Interpolyelectrolyte Complexation: Application to Macromolecular Assemblies. *Macromolecules* **44**, 8185–8194 (2011).
26. Huang, X. & Brazel, C. S. On the importance and mechanisms of burst release in matrix-controlled drug delivery systems. *J. Controlled Release* **73**, 121–136 (2001).
27. Ganji, F., Abdekhodaie, M. J. & Ramazani S.A., A. Gelation time and degradation rate of chitosan-based injectable hydrogel. *J. Sol-Gel Sci. Technol.* **42**, 47–53 (2007).
28. Li, C., Han, Q., Guan, Y. & Zhang, Y. Thermal gelation of chitosan in an aqueous alkali–urea solution. *Soft Matter* **10**, 8245–8253 (2014).
29. Supper, S. *et al.* Rheological Study of Chitosan/Polyol-phosphate Systems: Influence of the Polyol Part on the Thermo-Induced Gelation Mechanism. *Langmuir* **29**, 10229–10237 (2013).
30. Liu, M., Song, X., Wen, Y., Zhu, J.-L. & Li, J. Injectable Thermoresponsive Hydrogel Formed by Alginate-*g*-Poly(*N*-isopropylacrylamide) That Releases Doxorubicin-Encapsulated Micelles as a Smart Drug Delivery System. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **9**, 35673–35682 (2017).
31. Li, X. *et al.* Gel–sol–gel thermo-gelation behavior study of chitosan–inorganic phosphate solutions. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **75**, 388–392 (2010).
32. Li, J., Wu, Y., He, J. & Huang, Y. A new insight to the effect of calcium concentration on gelation process and physical properties of alginate films. *J. Mater. Sci.* **51**, 5791–5801 (2016).
33. Mutar, M. A. & Radia, N. D. Controlled Release From Crosslinked Polyacrylic acid As Drug Delivery Theophylline. *Iraqi Natl. J. Chem.* **45**, 20 (2012).
34. Li, Z. *et al.* Preparation of γ -PGA hydrogels and swelling behaviors in salt solutions with different ionic valence numbers. *RSC Adv.* **7**, 11085–11093 (2017).
35. Obukhov, S. P., Rubinstein, M. & Colby, R. H. Network Modulus and Superelasticity. *Macromolecules* **27**, 3191–3198 (1994).
36. de Gennes, P. G. & Witten, T. A. *Scaling Concepts in Polymer Physics.* *Phys. Today* **33**, 51–54 (1980).
37. Tsuji, Y., Li, X. & Shibayama, M. Evaluation of Mesh Size in Model Polymer Networks Consisting of Tetra-Arm and Linear Poly(ethylene glycol)s. *Gels* **4**, 50 (2018).

38. Pincus, P. Excluded Volume Effects and Stretched Polymer Chains. *Macromolecules* **9**, 386–388 (1976).
39. Chyzy, A., Tomczykowa, M. & Plonska-Brzezinska, M. E. Hydrogels as Potential Nano-, Micro- and Macro-Scale Systems for Controlled Drug Delivery. *Materials* **13**, 188 (2020).
40. Smart, J. The basics and underlying mechanisms of mucoadhesion. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **57**, 1556–1568 (2005).
41. Ludwig, A. The use of mucoadhesive polymers in ocular drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **57**, 1595–1639 (2005).
42. *Bioadhesive drug delivery systems*. (CRC Press, 1990).
43. Shull, K. R. & Creton, C. Deformation behavior of thin, compliant layers under tensile loading conditions. *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.* **42**, 4023–4043 (2004).
44. Deplace, F. *et al.* Fine Tuning the Adhesive Properties of a Soft Nanostructured Adhesive with Rheological Measurements. *J. Adhes.* **85**, 18–54 (2009).
45. Deplace, F. Adhésifs nanostructurés en voie émulsion. 317.
46. Aseyev, V., Tenhu, H. & Winnik, F. M. Non-ionic Thermoresponsive Polymers in Water. in *Self Organized Nanostructures of Amphiphilic Block Copolymers II* (eds. Müller, A. H. E. & Borisov, O.) vol. 242 29–89 (Springer Berlin Heidelberg, 2010).
47. Zhang, Q., Weber, C., Schubert, U. S. & Hoogenboom, R. Thermoresponsive polymers with lower critical solution temperature: from fundamental aspects and measuring techniques to recommended turbidimetry conditions. *Mater. Horiz.* **4**, 109–116 (2017).
48. Annable, T., Buscall, R., Ettelaie, R. & Whittlestone, D. The rheology of solutions of associating polymers: Comparison of experimental behavior with transient network theory. *J. Rheol.* **37**, 695–726 (1993).
49. Shultz, A. R. & Flory, P. J. Phase Equilibria in Polymer—Solvent Systems. II. Thermodynamic Interaction Parameters from Critical Miscibility Data ¹. *J. Am. Chem. Soc.* **75**, 3888–3892 (1953).
50. Hourdet, D., L'Alloret, F. & Audebert, R. Reversible therothickening of aqueous polymer solutions. *Polymer* **35**, 2624–2630 (1994).
51. Saeki, S., Kuwahara, N., Nakata, M. & Kaneko, M. Upper and lower critical solution temperatures in poly (ethylene glycol) solutions. *Polymer* **17**, 685–689 (1976).
52. Phillips, D. J. & Gibson, M. I. Towards being genuinely smart: 'isothermally-responsive' polymers as versatile, programmable scaffolds for biologically-adaptable materials. *Polym. Chem.* **6**, 1033–1043 (2015).
53. Wang, X., Qiu, X. & Wu, C. Comparison of the Coil-to-Globule and the Globule-to-Coil Transitions of a Single Poly(*N* -isopropylacrylamide) Homopolymer Chain in Water. *Macromolecules* **31**, 2972–2976 (1998).
54. Heskins, M. & Guillet, J. E. Solution Properties of Poly(*N*-isopropylacrylamide). *J. Macromol. Sci. Part - Chem.* **2**, 1441–1455 (1968).
55. Boutris, C., Chatzi, E. G. & Kiparissides, C. Characterization of the LCST behaviour of aqueous poly(*N*-isopropylacrylamide) solutions by thermal and cloud point techniques. *Polymer* **38**, 2567–2570 (1997).
56. Meeussen, F. *et al.* Phase behaviour of poly(*N* -vinyl caprolactam) in water. *Polymer* **41**, 8597–8602 (2000).

57. Laukkanen, A., Valtola, L., Winnik, F. M. & Tenhu, H. Formation of Colloidally Stable Phase Separated Poly(*N* -vinylcaprolactam) in Water: A Study by Dynamic Light Scattering, Microcalorimetry, and Pressure Perturbation Calorimetry. *Macromolecules* **37**, 2268–2274 (2004).
58. Han, S., Hagiwara, M. & Ishizone, T. Synthesis of Thermally Sensitive Water-Soluble Polymethacrylates by Living Anionic Polymerizations of Oligo(ethylene glycol) Methyl Ether Methacrylates. *Macromolecules* **36**, 8312–8319 (2003).
59. Maeda, Y., Kubota, T., Yamauchi, H., Nakaji, T. & Kitano, H. Hydration Changes of Poly(2-(2-methoxyethoxy)ethyl Methacrylate) during Thermosensitive Phase Separation in Water. *Langmuir* **23**, 11259–11265 (2007).
60. Ramírez-Jiménez, Montoya-Villegas, Licea-Claverie, & González-Ayón. Tunable Thermo-Responsive Copolymers from DEGMA and OEGMA Synthesized by RAFT Polymerization and the Effect of the Concentration and Saline Phosphate Buffer on its Phase Transition. *Polymers* **11**, 1657 (2019).
61. Ishizone, T. *et al.* Anionic Polymerizations of Oligo(ethylene glycol) Alkyl Ether Methacrylates: Effect of Side Chain Length and ω -Alkyl Group of Side Chain on Cloud Point in Water. *Macromolecules* **41**, 2963–2967 (2008).
62. Lutz, J.-F. & Hoth, A. Preparation of Ideal PEG Analogues with a Tunable Thermosensitivity by Controlled Radical Copolymerization of 2-(2-Methoxyethoxy)ethyl Methacrylate and Oligo(ethylene glycol) Methacrylate. *Macromolecules* **39**, 893–896 (2006).
63. Van Durme, K., Van Mele, B., Bernaerts, K. V., Verdonck, B. & Du Prez, F. E. End-group modified poly(methyl vinyl ether): Characterization and LCST demixing behavior in water. *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.* **44**, 461–469 (2006).
64. Swier, S., Van Durme, K. & Van Mele, B. Modulated-temperature differential scanning calorimetry study of temperature-induced mixing and demixing in poly(vinylmethylether)/water. *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.* **41**, 1824–1836 (2003).
65. de la Rosa, V. R. Poly(2-oxazoline)s as materials for biomedical applications. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **25**, 1211–1225 (2014).
66. Uyama, H. & Kobayashi, S. A Novel Thermo-Sensitive Polymer. Poly(2- *iso* -propyl-2-oxazoline). *Chem. Lett.* **21**, 1643–1646 (1992).
67. Hoogenboom, R. *et al.* Tuning the LCST of poly(2-oxazoline)s by varying composition and molecular weight: alternatives to poly(*N*-isopropylacrylamide)? *Chem. Commun.* 5758 (2008) doi:10.1039/b813140f.
68. Hoffman, A. S. *et al.* Really smart bioconjugates of smart polymers and receptor proteins. *J. Biomed. Mater. Res.* **52**, 577–586 (2000).
69. Soledad Lencina, M. M., Iatridi, Z., Villar, M. A. & Tsitsilianis, C. Thermoresponsive hydrogels from alginate-based graft copolymers. *Eur. Polym. J.* **61**, 33–44 (2014).
70. Chiklis, C. K. & Grasshoff, J. M. Swelling of thin films. I. Acrylamide–*N*-isopropylacrylamide copolymers in water. *J. Polym. Sci. Part -2 Polym. Phys.* **8**, 1617–1626 (1970).
71. Fan, G., Guo, J., Dong, M. & Feng, Y. Thermothickening Behavior of Graft Copolymers Containing Poly(*N* -isopropylacrylamide- *co* - *N,N* -dimethylacrylamide) Side Chains in Aqueous Solution. *J. Macromol. Sci. Part A* **51**, 881–890 (2014).

72. Gao, X. *et al.* pH- and thermo-responsive poly(N-isopropylacrylamide-co-acrylic acid derivative) copolymers and hydrogels with LCST dependent on pH and alkyl side groups. *J. Mater. Chem. B* **1**, 5578 (2013).
73. Lutz, J.-F. Polymerization of oligo(ethylene glycol) (meth)acrylates: Toward new generations of smart biocompatible materials. *J. Polym. Sci. Part Polym. Chem.* **46**, 3459–3470 (2008).
74. Hofmeister, F. Zur Lehre von der Wirkung der Salze: Zweite Mittheilung. *Arch. Für Exp. Pathol. Pharmacol.* **24**, 247–260 (1888).
75. Jungwirth, P. & Cremer, P. S. Beyond Hofmeister. *Nat. Chem.* **6**, 261–263 (2014).
76. Zhang, Y. & Cremer, P. Interactions between macromolecules and ions: the Hofmeister series. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **10**, 658–663 (2006).
77. Zhang, Y., Furyk, S., Bergbreiter, D. E. & Cremer, P. S. Specific Ion Effects on the Water Solubility of Macromolecules: PNIPAM and the Hofmeister Series. *J. Am. Chem. Soc.* **127**, 14505–14510 (2005).
78. Zhang, Y. *et al.* Effects of Hofmeister Anions on the LCST of PNIPAM as a Function of Molecular Weight †. *J. Phys. Chem. C* **111**, 8916–8924 (2007).
79. Magnusson, J. P. *et al.* Ion-Sensitive “Isothermal” Responsive Polymers Prepared in Water. *J. Am. Chem. Soc.* **130**, 10852–10853 (2008).
80. Schild, H. G., Muthukumar, M. & Tirrell, D. A. Cononsolvency in mixed aqueous solutions of poly(N-isopropylacrylamide). *Macromolecules* **24**, 948–952 (1991).
81. Winnik, F. M., Ringsdorf, H. & Venzmer, J. Methanol-water as a co-nonsolvent system for poly(N-isopropylacrylamide). *Macromolecules* **23**, 2415–2416 (1990).
82. Costa, R. O. R. & Freitas, R. F. S. Phase behavior of poly(N-isopropylacrylamide) in binary aqueous solutions. *Polymer* **43**, 5879–5885 (2002).
83. Tanaka, F., Koga, T. & Winnik, F. M. Temperature-Responsive Polymers in Mixed Solvents: Competitive Hydrogen Bonds Cause Cononsolvency. *Phys. Rev. Lett.* **101**, 028302 (2008).
84. Bischofberger, I., Calzolari, D. C. E. & Trappe, V. Correction: Co-nonsolvency of PNiPAM at the transition between solvation mechanisms. *Soft Matter* **10**, 9003–9004 (2014).
85. Hirotsu, S. Phase Transition of a Polymer Gel in Pure and Mixed Solvent Media. *J. Phys. Soc. Jpn.* **56**, 233–242 (1987).
86. D’Eramo, L. *et al.* Microfluidic actuators based on temperature-responsive hydrogels. *Microsyst. Nanoeng.* **4**, 17069 (2018).
87. Huber, D. L., Manginell, R. P., Samara, M. A., Kim, B.-I. & Bunker, B. C. Programmed Adsorption and Release of Proteins in a Microfluidic Device. *Sci. New Ser.* **301**, 352–354 (2003).
88. Kushida, A. *et al.* Decrease in culture temperature releases monolayer endothelial cell sheets together with deposited fibronectin matrix from temperature-responsive culture surfaces. *J. Biomed. Mater. Res.* **45**, 355–362 (1999).
89. Ebara, M. *et al.* Temperature-Responsive Cell Culture Surfaces Enable “On–Off” Affinity Control between Cell Integrins and RGDS Ligands. *Biomacromolecules* **5**, 505–510 (2004).
90. Li, L. *et al.* Gel Network Structure of Methylcellulose in Water. *Langmuir* **17**, 8062–8068 (2001).
91. Xu, Y., Wang, C., Tam, K. C. & Li, L. Salt-Assisted and Salt-Suppressed Sol–Gel Transitions of Methylcellulose in Water. *Langmuir* **20**, 646–652 (2004).

92. Morozova, S. *et al.* Extensional Flow Behavior of Methylcellulose Solutions Containing Fibrils. *ACS Macro Lett.* **7**, 347–352 (2018).
93. Sarkar, N. Thermal gelation properties of methyl and hydroxypropyl methylcellulose. *J. Appl. Polym. Sci.* **24**, 1073–1087 (1979).
94. Joshi, S. C. Sol-Gel Behavior of Hydroxypropyl Methylcellulose (HPMC) in Ionic Media Including Drug Release. *Materials* **4**, 1861–1905 (2011).
95. Liu, S. Q., Joshi, S. C., Lam, Y. C. & Tam, K. C. Thermoreversible gelation of hydroxypropylmethylcellulose in simulated body fluids. *Carbohydr. Polym.* **72**, 133–143 (2008).
96. Saravanan, S., Vimalraj, S., Thanikaivelan, P., Banudevi, S. & Manivasagam, G. A review on injectable chitosan/beta glycerophosphate hydrogels for bone tissue regeneration. *Int. J. Biol. Macromol.* **121**, 38–54 (2019).
97. Boles, L. *et al.* Development and Evaluation of an Injectable Chitosan/ β -Glycerophosphate Paste as a Local Antibiotic Delivery System for Trauma Care. *J. Funct. Biomater.* **9**, 56 (2018).
98. Liu, L., Tang, X., Wang, Y. & Guo, S. Smart gelation of chitosan solution in the presence of NaHCO₃ for injectable drug delivery system. *Int. J. Pharm.* **414**, 6–15 (2011).
99. Choi, H.-G. *et al.* Development of in situ-gelling and mucoadhesive acetaminophen liquid suppository. *Int. J. Pharm.* **165**, 33–44 (1998).
100. Soliman, G. M., Fetih, G. & Abbas, A. M. Thermosensitive bioadhesive gels for the vaginal delivery of sildenafil citrate: *in vitro* characterization and clinical evaluation in women using clomiphene citrate for induction of ovulation. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **43**, 399–408 (2017).
101. Shastri, D., Prajapati, S. & Patel, L. Thermoreversible mucoadhesive ophthalmic in situ hydrogel: Design and optimization using a combination of polymers. *Acta Pharm.* **60**, (2010).
102. Giuliano, E., Paolino, D., Fresta, M. & Cosco, D. Mucosal Applications of Poloxamer 407-Based Hydrogels: An Overview. *Pharmaceutics* **10**, 159 (2018).
103. Altuntaş, E. & Yener, G. Formulation and Evaluation of Thermoreversible In Situ Nasal Gels Containing Mometasone Furoate for Allergic Rhinitis. *AAPS PharmSciTech* **18**, 2673–2682 (2017).
104. Ryu, J.-M., Chung, S.-J., Lee, M.-H., Kim, C.-K., & Chang-Koo Shim. Increased bioavailability of propranolol in rats by retaining thermally gelling liquid suppositories in the rectum. *J. Controlled Release* **59**, 163–172 (1999).
105. Braun, O., Boué, F. & Candau, F. Microphase separation in weakly charged hydrophobic polyelectrolytes. *Eur. Phys. J. E* **7**, 141–151 (2002).
106. Bae, Y. H., Vernon, B., Han, C. K. & Kim, S. W. Extracellular matrix for a rechargeable cell delivery system. *J. Controlled Release* **53**, 249–258 (1998).
107. Uchida, S. Graft Copolymer Synthesis. in *Encyclopedia of Polymeric Nanomaterials* (eds. Kobayashi, S. & Müllen, K.) 1–4 (Springer Berlin Heidelberg, 2013). doi:10.1007/978-3-642-36199-9_185-1.
108. Karakasyan, C., Lack, S., Brunel, F., Maingault, P. & Hourdet, D. Synthesis and Rheological Properties of Responsive Thickeners Based on Polysaccharide Architectures. *Biomacromolecules* **9**, 2419–2429 (2008).
109. Guo, H., de Magalhaes Goncalves, M., Ducouret, G. & Hourdet, D. Cold and Hot Gelling of Alginate- *graft* -PNIPAM: a Schizophrenic Behavior Induced by Potassium Salts. *Biomacromolecules* **19**, 576–587 (2018).

110. Pereira, B. H. de A., Marques, N. do N., Lima, B. L. B. de, Villetti, M. A. & Balaban, R. de C. Study of the thermoassociative process in carboxymethylcellulose derivatives. *J. Mol. Liq.* **272**, 1041–1047 (2018).
111. Duong, H. T. T. *et al.* Functionalizing Biodegradable Dextran Scaffolds Using Living Radical Polymerization: New Versatile Nanoparticles for the Delivery of Therapeutic Molecules. *Mol. Pharm.* **9**, 3046–3061 (2012).
112. Parameswaran-Thankam, A. *et al.* Guar-Based Injectable Thermoresponsive Hydrogel as a Scaffold for Bone Cell Growth and Controlled Drug Delivery. *ACS Omega* **3**, 15158–15167 (2018).
113. Seetapan, N., Mai-ngam, K., Plucktaveesak, N. & Sirivat, A. Linear viscoelasticity of thermoassociative chitosan-g-poly(N-isopropylacrylamide) copolymer. *Rheol. Acta* **45**, 1011–1018 (2006).
114. Guo, H. *et al.* Influence of topology of LCST-based graft copolymers on responsive assembling in aqueous media. *Polymer* **60**, 164–175 (2015).
115. Vahdati, M., Ducouret, G., Creton, C. & Hourdet, D. Topology-Specific Injectable Sticky Hydrogels. *Macromolecules* **53**, 9779–9792 (2020).
116. Zimmermann, U. *et al.* Production of mitogen-contamination free alginates with variable ratios of mannuronic acid to guluronic acid by free flow electrophoresis. *Electrophoresis* **13**, 269–274 (1992).
117. Lee, J. & Lee, K. Y. Local and Sustained Vascular Endothelial Growth Factor Delivery for Angiogenesis Using an Injectable System. *Pharm. Res.* **26**, 1739–1744 (2009).
118. Kong, H. J., Kaigler, D., Kim, K. & Mooney, D. J. Controlling Rigidity and Degradation of Alginate Hydrogels via Molecular Weight Distribution. *Biomacromolecules* **5**, 1720–1727 (2004).
119. Bouhadir, K. H. *et al.* Degradation of Partially Oxidized Alginate and Its Potential Application for Tissue Engineering. *Biotechnol. Prog.* **17**, 945–950 (2001).
120. Hahn, S. K., Park, J. K., Tomimatsu, T. & Shimoboji, T. Synthesis and degradation test of hyaluronic acid hydrogels. *Int. J. Biol. Macromol.* **40**, 374–380 (2007).
121. Lü, S. *et al.* Thermoresponsive injectable hydrogel for three-dimensional cell culture: chondroitin sulfate bioconjugated with poly(N-isopropylacrylamide) synthesized by RAFT polymerization. *Soft Matter* **7**, 10763 (2011).
122. Ciocoiu, O.-N., Staikos, G. & Vasile, C. Thermoresponsive behavior of sodium alginate grafted with poly(N-isopropylacrylamide) in aqueous media. *Carbohydr. Polym.* **184**, 118–126 (2018).
123. Prabakaran, M., Grailer, J. J., Steeber, D. A. & Gong, S. Stimuli-Responsive Chitosan- graft - Poly(N -vinylcaprolactam) as a Promising Material for Controlled Hydrophobic Drug Delivery. *Macromol. Biosci.* **8**, 843–851 (2008).
124. Madau, M., Le Cerf, D., Dulong, V. & Picton, L. Hyaluronic Acid Functionalization with Jeffamine® M2005: A Comparison of the Thermo-Responsiveness Properties of the Hydrogel Obtained through Two Different Synthesis Routes. *Gels* **7**, 88 (2021).
125. Madau, M. *et al.* Thermo-responsive hydrogels from hyaluronic acid functionalized with poly(2-alkyl-2-oxazoline) copolymers with tuneable transition temperature. *Polymer* **244**, 124643 (2022).
126. Madau, M. *et al.* A mild and straightforward one-pot hyaluronic acid functionalization through termination of poly-(2-alkyl-2-oxazoline). *Polymer* **230**, 124059 (2021).

Chapitre 2 :

Matériels et Méthodes

Table des matières

CHAPITRE 2 : MATÉRIELS ET MÉTHODES	59
I. Plateforme macromoléculaire	59
I.1. Réactifs et précurseurs	59
I.2. Synthèse des polymères à LCST	59
I.2.1. PNIPAm-NH ₂	59
I.2.2. PEGMA-NH ₂	60
I.2.3. Copolymères linéaires de P(NIPAm-co-AMPS)	62
I.3. Synthèse de copolymères greffés thermoassociatifs	62
II. Techniques de caractérisation	66
II.1. Masses molaires et composition	66
II.1.1. RMN	66
II.1.2. SEC	67
II.1.3. Viscosimétrie capillaire	68
II.2. Caractérisation thermodynamique des solutions	69
II.2.1. Spectrométrie UV-visible	69
II.2.2. DSC	69
II.2.3. RMN ¹ H	70
II.3. Analyse structurale	70
II.3.1. SAXS	70
II.3.2. Cryo-MET	71
II.4. Études rhéologiques	71
II.4.1. Propriétés viscoélastiques aux faibles déformations	71
II.4.2. Injectabilité	72
II.4.3. Adhésion - Test de tack	73
II.5. Comportement en milieu physiologique	75
II.5.1. Gonflement	75
II.5.2. Étude du relargage de la Rhodamine B	75
Annexes	77
Références	90

Chapitre 2 : Matériels et méthodes

I. Plateforme macromoléculaire

I.1. Réactifs et précurseurs

Les polymères commerciaux et réactifs utilisés dans ce travail sont répertoriés dans le Tableau 2.1.

Tableau 2.1 : Réactifs et polymères utilisés.

Noms	Noms de code	Fournisseur	M _w fournisseur	M _n (Đ)
NIPAm		Sigma		
DEGMA		Sigma		
TEGMA		Sigma		
OEGMA ₄₇₅		Sigma		
AMPS		Sigma		
AET,HCl		Sigma		
KPS		Sigma		
NaOH		Sigma		
EDC		Sigma		
NHS		Sigma		
PEPO-NH ₂	P	Huntsman – M2005	≈ 2 kg/mol	
PAA	PAA1	Sigma	≈ 250 kg/mol	230 kg/mol (M _v)
PAA	PAA2	Polysciences	≈ 450 kg/mol	710 kg/mol (M _v)
Alginate	ALG1	Cargill – NS 900		155 kg/mol (1,8)
Alginate	ALG2	Brothier – FD 170		53 kg/mol (2,4)
Acide hyaluronique	HA	Soliance	≈ 400 kg/mol	200 kg/mol (2)

I.2. Synthèse des polymères à LCST

I.2.1. PNIPAm-NH₂

La synthèse des greffons thermosensibles a été réalisée selon la méthode de Durand *et al.*¹ (cf. Figure 2.1). La polymérisation est réalisée dans l'eau et à température ambiante à l'aide du couple d'amorceurs redox persulfate de potassium/cystéamine (KPS/AET). La cystéamine est un agent de transfert qui permet tout d'abord de contrôler la masse molaire moyenne des chaînes tout en limitant la dispersité des masses molaires (aux alentours de 1,5, dans notre cas). Elle possède de plus une fonction amine qui va pouvoir être transférée à l'extrémité de la chaîne macromoléculaire et permettre ainsi sa fonctionnalisation qui sera utilisée dans l'étape suivante de greffage.

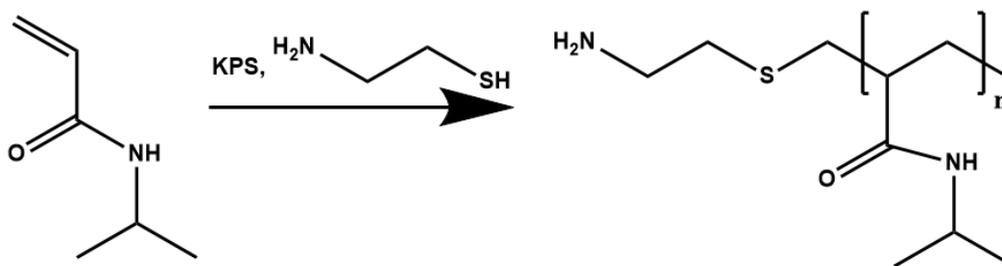


Figure 2.1 : Synthèse du PNIPAm fonctionnalisé.

Dans le cas du PNIPAm 38k, un protocole type peut être décrit comme suit :

22,63 g (0,2 mol) de NIPAm sont introduits dans un tricol et dissouts dans 90 mL d'eau milli-Q à température ambiante. Le milieu est alors désoxygéné pendant au moins 45 minutes par bullage d'azote. Parallèlement, les solutions d'amorceurs sont préparées séparément ; 0,54 g de KPS (0,002 mol) dans 4 mL d'eau et 0,16 g d'AET (0,0014 mol) également dissout dans 4 mL d'eau. Le tricol est alors placé dans un bain de glace avant l'ajout des solutions d'amorceurs pour d'éviter la précipitation du PNIPAm dans le milieu à cause de l'exothermicité de la polymérisation. Après 30 minutes de bullage d'azote, les solutions de KPS et d'AET sont ajoutées simultanément dans le milieu réactionnel qui est maintenu sous azote tout au long de la réaction. Après quatre heures de réaction, les fonctions NH_3^+ sont déprotonées par l'ajout d'environ 1,4 mL d'une solution de NaOH 5 M ($\text{OH}^- / \text{NH}_3^+ \cong 5$). Le milieu est ensuite dialysé dans des membranes de cellulose régénérée pendant au minimum quatre jours dans de l'eau milli-Q, en changeant l'eau 2 à 3 fois par jour. Le seuil de coupure des membranes est de 1 kDa ou 3,5 kDa en fonction de la taille du greffon. Après dialyse, le polymère est lyophilisé.

Tableau 2.2 : Conditions de synthèse et masses molaires des greffons PNIPAm.

	PNIPAm 8k	PNIPAm 20k	PNIPAm 38k
NIPAm (mol)	0,1	0,106	0,2
AET ; KPS (mmol)	2,377 ; 1,667	1,593 ; 2,389	1,408 ; 2
Rendement (%)	31	52	58
M_n ; M_w (kg/mol)	7,6 ; 9,2	20 ; 31	38 ; 61

I.2.2. PEGMA-NH₂

Dans le cas des PEGMA, la réaction de télomérisation est transposée dans le DMSO en raison de la faible miscibilité des monomères dans l'eau. Mis à part le milieu de synthèse, le protocole expérimental reste similaire à celui décrit précédemment pour les PNIPAm. À la fin de la réaction, le milieu réactionnel est dilué dans de l'eau milli-Q froide (environ 2 fois le volume du milieu réactionnel), par ajout petit à petit et sous forte agitation. De l'eau milli-Q peut être

ajoutée au cours de la dilution si le milieu se trouble. Ensuite, la quantité appropriée de soude ($\text{OH}^- / \text{NH}_3^+ \cong 5$) est ajoutée. L'agitation vive et l'utilisation d'une température basse sont des critères importants pour éviter la précipitation du PEGMA dans le mélange de co-solvants, qui devient dans ce cas difficile à resolubiliser dans l'eau. Les solutions sont ensuite dialysées contre de l'eau pure pendant au moins quatre jours et lyophilisées. Les PEGMA étant à l'état caoutchoutique à température ambiante, les lyophilisats sont dilués dans l'eau à une concentration d'environ 20 wt%, pour permettre leur utilisation plus aisée par la suite.

Les conditions de synthèse et masses molaires des copolymères PEGMA sont rassemblées dans les Tableau 2.3 et Tableau 2.4. Les copolymères de P(DEGMA-co-TEGMA) à 23,5 mol% et 36 mol% de TEGMA seront appelés T₁ et T₂, respectivement.

Les copolymères de P(DEGMA-co-OEGMA₄₇₅) à 1,5 mol% et 5 mol% de OEGMA₄₇₅ ($M_n \approx 30$ kg/mol) seront appelés O₁ et O₂, respectivement.

Tableau 2.3 : Conditions de synthèse et masses molaires des copolymères P(DEGMA-co-TEGMA).

TEGMA mol%	23,5	36	44	55	100
DEGMA (mmol)	8,58	5,56	5	4	0
TEGMA (mmol)	2,56	2,96	4	5	11,7
AET ; KPS (mmol)	0,387 ; 0,258	0,303 ; 0,202	0,5 ; 0,33	0,5 ; 0,33	0,48 ; 0,32
Rendement (%)	77	41	53	75	48
M_n ; M_w (kg/mol)	38,5 ; 56	50 ; 69	38 ; 83	37 ; 59	30 ; 47 29 ; 52 (THF)

Tableau 2.4 : Conditions de synthèse et masses molaires des copolymères P(DEGMA-co-OEGMA₄₇₅).

OEGMA ₄₇₅ mol%	0	1,5	5	5	5
DEGMA (mmol)	15	17,16	20,19	10,78	25,24
OEGMA ₄₇₅ (mmol)	0	0,3	1,1	0,57	1,34
AET ; KPS (mmol)	0,49 ; 0,33	0,57 ; 0,38	2,2 ; 1,5	0,405 ; 0,27	0,88 ; 0,59
Rendement (%)	78	38	58	37	30
M_n ; M_w (kg/mol)	27 ; 81 (THF)	26 ; 49	14 ; 22	30 ; 49,5	66 ; 106

I.2.3. Copolymères linéaires de P(NIPAm-co-AMPS)

La synthèse des copolymères linéaires de P(NIPAm-co-AMPS) suit le même protocole que celui développé pour les PNIPAm-NH₂. La différence majeure réside dans la dissolution d'une quantité appropriée d'AMPS (cf. Tableau 2.6) avant le début de la copolymérisation.

Tableau 2.6 : Conditions de synthèse et masses molaires des P(NIPAm-co-AMPS).

	PN-A2	PN-A3,5	PN-A5	PN-A9,3	PN-A3,5/155k
NIPAm ; AMPS (mmol)	26,5 ; 0,54	26,5 ; 0,965	35,35 ; 1,86	26,5 ; 2,95	17,67 ; 9,3
AET ; KPS (10⁻⁶ mol)	5 ; 3	5 ; 3,6	7 ; 5	6 ; 4	13 ; 8
Rendement (%)	98	96	97	91	44
M_n ; M_w (kg/mol)	389, 628	385, 635	417, 656	408, 654	155, 229

I.3. Synthèse de copolymères greffés thermoassociatifs

La synthèse des copolymères greffés a été réalisée par la méthode dite de « grafting onto ». Elle met en jeu la formation d'une liaison amide, activée par le 1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide (EDC) en présence de *N*-hydroxysuccinimide (NHS), entre l'extrémité amine du greffon et un des groupements carboxyliques du squelette (cf. schéma réactionnel sur la Figure 2.2).

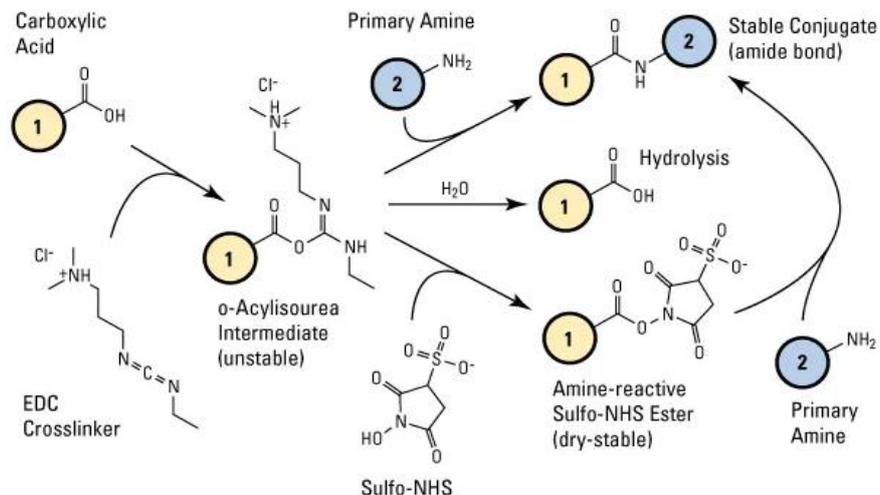


Figure 2.2 : Schéma réactionnel de couplage peptidique impliquant l'activation par l'EDC et la formation d'ester-NHS activé (source : Thermo-Fischer).

Pour toutes les réactions de couplage qui ont été réalisées dans l'eau, le pH est un paramètre clé pour la formation des liaisons amides car il résulte d'un compromis entre les réactions successives qui font intervenir : 1) la réaction de l'EDC/NHS avec des groupements COOH pour former à pH = 3,5-5 l'intermédiaire O-acylisouré ou l'ester NHS activé qui est beaucoup

plus stable² et 2) la formation d'amide entre les intermédiaires précédents et les amines non protonées qui prévalent à un pH plus élevé. L'équilibre d'ionisation dépend bien entendu du pKa de l'amine, mais généralement il s'avère qu'un pH égal à 5 est un bon compromis entre les exigences mentionnées ci-dessus. Dans le cas particulier du greffage de chaînes à LCST, il est également important de considérer les propriétés thermodynamiques des greffons en milieu aqueux. Les réactions de greffage ont donc été réalisées dans un bain glacé à $T = 2-3$ °C afin de travailler dans des conditions homogènes et pour favoriser une distribution aléatoire des greffons à LCST le long du squelette. D'un point de vue pratique, le squelette est solubilisé dans de l'eau milli-Q pendant une nuit lorsqu'il s'agit de biopolymère, sinon quelques heures pour les PAA. Le pH de la solution de polymère est alors ajusté entre 5,5 et 6 avant l'ajout des greffons, après quoi le pH est à nouveau contrôlé et réajusté si la valeur est inférieure à 5,5. L'EDC et le NHS sont alors ajoutés dans le milieu.

Dans la littérature, les quantités d'agent de couplage EDC/NHS varient très largement et par expérience cela dépend beaucoup du type de squelette utilisé, de la taille des greffons et de la concentration des espèces réactives. Dans notre cas, en fonction des conditions, les ratios EDC/NHS peuvent aller de 2 à 20 par rapport aux fonctions amine NH_2 , en un seul ajout.

Les nombreux travaux³ réalisés au laboratoire sur les PAA et leurs dérivés ont montré que cette réaction de couplage fonctionnait de manière quantitative, même en l'absence de NHS. Par contre, dans le cas de polysaccharides, la réaction est plus lente et nécessite souvent des incréments d'addition d'EDC/NHS. Dans le cas des différentes réactions de greffage réalisées sur les différents squelettes poly(acide acrylique), alginate et acide hyaluronique, nous avons utilisé une proportion équimolaire EDC/NHS. L'avancement de la réaction a été suivi en faisant des prélèvements dans le milieu au cours du temps afin de vérifier la présence ou l'absence de précipité blanc au cours d'un chauffage rapide à 60 °C. Si le test est positif (absence de précipité + formation d'un gel), le milieu réactionnel est alors purifié. Si le test est négatif, attestant de la présence résiduelle de polymères à LCST non greffés, dans ce cas de nouveaux ajouts d'EDC et NHS sont introduits.

À la fin de la synthèse, les copolymères sont dialysés (membrane de 50 kDa en cellulose régénérée) pendant 3 jours dans une solution à 0,1 M de NaCl pour éliminer l'EDC résiduel puis pendant 3 jours dans de l'eau milli-Q avant d'être lyophilisés.

Si la procédure est très générale à l'ensemble des réactions de greffage réalisées, quelques différences dans la mise en œuvre peuvent être soulignées :

- Dans le cas des copolymères PAA-g-PNIPAm, le nombre d'ajouts reste modéré et est généralement égal à 2 (cf. Tableau 2.5). Pour les PAA-g-PEGMA, le nombre d'ajouts est

supérieur à 2 (cf. Tableau 2.6 et Tableau 2.7) et suggère une moins bonne fonctionnalisation des extrémités de chaîne par une amine. Les conditions de synthèse des différents copolymères, nommés PAAx-Zy sont rappelées dans les Tableaux 2.5, 2.6 et 2.7, avec une nomenclature définie comme suit :

- PAAx, PAA1 pour $M_v = 230$ kg/mol ou PAA2 pour $M_v = 710$ kg/mol ;
- Zy, avec Z = N pour le PNIPAm, O = P(DEGMA-co-OEGMA₄₇₅), T = P(DEGMA-co-TEGMA) et y, le pourcentage massique de greffons dans le copolymère.

Exemple : Pour PAA1-N67, le copolymère PAA-g-PNIPAm contient 67 wt% de PNIPAm et 33 wt% de PAA, avec un PAA de $M_v = 230$ kg/mol.

Les PAA1-N37, PAA1-N67, PAA1-N75 et PAA2-N75 possèdent des greffons de M_n égale à 38 kg/mol, contrairement à PAA1-N75/8k qui lui possède des greffons de plus faible taille ; soit une M_n de 8 kg/mol (cf. Tableau 2.2).

Tableau 2.5 : Conditions de synthèse des copolymères PAA-g-PNIPAm.

	PAA1-N37	PAA1-N67	PAA1-N75	PAA2-N75	PAA1-N75/8k
PAA ; PNIPAm (g)	1,91 ; 0,9	0,94 ; 2	0,47 ; 1	0,3534 ; 0,75	0,56 ; 1,19
Ratio EDC/NH₂ par ajout	10	10	10	2	10
Nombre d'ajout EDC, NHS	2	2	1	4	2
Rendement (%)	92	86	25	97	83

Tableau 2.6 : Conditions de synthèse des copolymères PAA-g-P(DEGMA-co-TEGMA).

	PAA1-T ₁ 27	PAA1-T ₂ 27
PAA ; PEGMA (g)	0,8225 ; 0,3734	0,38 ; 0,17
Ratio EDC/NH₂ par ajout	20	20
Nombre d'ajout EDC, NHS	6	6
Rendement (%)	39	75

Tableau 2.7 : Conditions de synthèse des copolymères PAA-g-P(DEGMA-co-OEGMA₄₇₅).

	PAA1-O ₁ 27	PAA1-O ₂ 27	PAA1-O ₁ 65	PAA1-O ₂ 65
PAA ; PEGMA (g)	0,544 ; 0,194	1,123 ; 0,548	0,373 ; 0,735	0,244 ; 0,575
Ratio EDC/NH₂ par ajout	20	20	20	20
Nombre d'ajout EDC, NHS	3	7	6	6
Rendement (%)	97	94	99	74

- Pour les copolymères à base d'alginate, ALG-g-LCST, le greffage est plus lent et moins efficace. L'alginate et l'acide hyaluronique ayant des viscosités relativement élevées, il est nécessaire de diluer le milieu réactionnel de façon plus importante que pour les PAA pour favoriser la rencontre des espèces actives. En contrepartie, le nombre d'ajout d'EDC/NHS augmente fortement, passant de 1 à 2 fois, pour les PAA, à 4 à 8 fois, pour les copolymères à base d'ALG1. Dans ces conditions de fortes concentrations d'EDC/NHS, il est également important de diluer le milieu réactionnel pour limiter les réactions d'estérification entre acides et alcools portés par les squelettes polysaccharides, qui conduisent à une réticulation chimique. À la fin de la synthèse, si la quantité de squelette est supérieure à celle des greffons, le copolymère est alors précipité dans l'acétone afin d'éliminer les chaînes éventuellement non greffées. Le précipité est ensuite solubilisé dans l'eau milli-Q avant d'être dialysé pendant 3 jours dans une solution à 0,1 M de NaCl pour éliminer l'EDC résiduel puis pendant 3 jours dans de l'eau milli-Q. Les copolymères sont ensuite lyophilisés.

Les conditions de synthèse des différents copolymères, nommés ALG_x-Z_y, sont rappelées dans les Tableau 2.8 et Tableau 2.9, avec la nomenclature définie précédemment :

- ALG_x, ALG1 pour M_n = 155 kg/mol ou ALG2 pour M_n = 53 kg/mol ;
- Z_y, avec Z = N pour le PNIPAm, Z = D pour le PDEGMA et Z = P pour le PEPO et y le pourcentage massique de greffons dans le copolymère.

On soulignera que dans le cas du greffage des PEPO de faible masse molaire, la réaction de couplage est beaucoup plus efficace et nécessite de plus faibles quantités d'agents de couplage.

Tableau 2.8 : Conditions de synthèse des copolymères ALG-g-PNIPAm.

	ALG1-N15	ALG1-N45	ALG1-N72	ALG2-N45
ALG ; PNIPAm (g)	1,6 ; 0,4	2,5 ; 2,4959	1 ; 2,5	0,75 ; 0,75
Ratio EDC/NH₂ par ajout	20	20	20	10
Nombre d'ajout EDC, NHS	7	4	8	4
Rendement (%)	71	79	63	53

Tableau 2.9 : Conditions de synthèse des copolymères ALG-g-PEGMA et ALG-g-PEPO.

	ALG1-D45	ALG1-P45	ALG1-P67
ALG ; PDEGMA ou PEPO (g)	1,5 ; 1,503	2,5 ; 2,51	1,5 ; 3,61
Ratio EDC/NH₂ par ajout	20	4	2
Nombre d'ajout EDC, NHS	6	2	1
Rendement (%)	72	77	65

Enfin dans le cadre de cette étude, nous avons également travaillé avec un copolymère HA-g-PNIPAm précédemment synthétisé au laboratoire par Marine Protat. Il est constitué d'un squelette hyaluronane de $M_n = 200$ kg/mol ($\bar{D} = 2$) greffé à 55 wt% par des greffons PNIPAm de $M_n = 20$ kg/mol ($\bar{D} = 1,2$). Les conditions de synthèse de ce copolymère HA-N55/20k sont rappelées dans le Tableau 2.10.

Tableau 2.10 : Conditions de synthèse du copolymère HA-g-PNIPAm (HA-N55/20k).

HA (g)	PNIPAm (g)	Ratio EDC/NH ₂ par ajout	Nombre d'ajout EDC, NHS	Rendement (%)
5,5	6	10	4	54

II. Techniques de caractérisation

II.1. Masses molaires et composition

II.1.1. RMN

Ratio M/G

La composition en unités saccharidiques constituant la chaîne d'alginate, M (acide β -D-mannuronique) et G (acide α -L-gulonique), a été déterminée par RMN ¹H dans D₂O ($C_p = 0,5$ wt%) à haute température ($T = 98$ °C) pour décaler le pic relatif à HOD, avec une durée d'impulsion $90^\circ(^1H)$ de 12 μ s et un délai de répétition de 3 s.

La méthode de Grasdalen *et al.*⁴ a été utilisée pour calculer le rapport M/G (cf. Équation 2.1 et Figure 2.3).

$$\text{Équation 2.1 : } F_G = \frac{I_A}{I_B + I_C} ; F_{GG} = \frac{I_C}{I_B + I_C} ; F_G + F_M = 1$$

Avec, F_G : proportion en unité G, F_M : proportion en unité M, F_{GG} : proportion d'enchaînement GG, I_A , I_B et I_C : les intégrations des pics A(G-1), B(M-1, GM-5), et C(GG-5), respectivement.

Dans le cas de ALG1, le calcul est le suivant : $F_G = \frac{5.6077}{9.5516+4.4401} = 0.4$; $F_M = 1 - F_G = 0.6$

Le rapport M/G d'ALG1 est donc de 1,5.

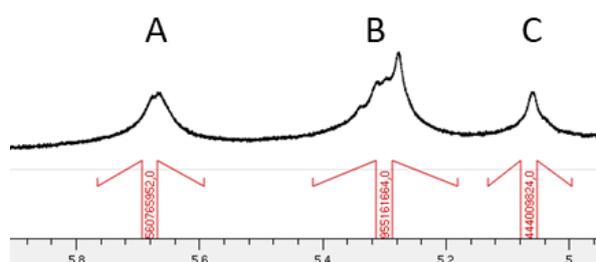


Figure 2.3 : Méthode de détermination du rapport M/G, pour ALG1.

Composition

La composition de tous les copolymères synthétisés a été analysée par RMN ^1H dans l'eau deutérée (D_2O , pic du solvant à $\delta \approx 4,79$ ppm) sur un spectromètre RMN Bruker Avance III 400 MHz. Les spectres de tous les polymères sont présentés en annexe de ce chapitre.

Pour les PEGMA, le nombre de protons observés entre 3,45 et 3,85 ppm varie en fonction du nombre de motif oxyde d'éthylène porté par la chaîne latérale. Ce nombre de protons, noté g , est égal à : $g = 4 * (\text{nombre de motifs oxyde d'éthylène}) - 2$.

Par exemple, pour le PTEGMA, $g = 4 * 3 - 2 = 10$ (cf. Figure 2.4).

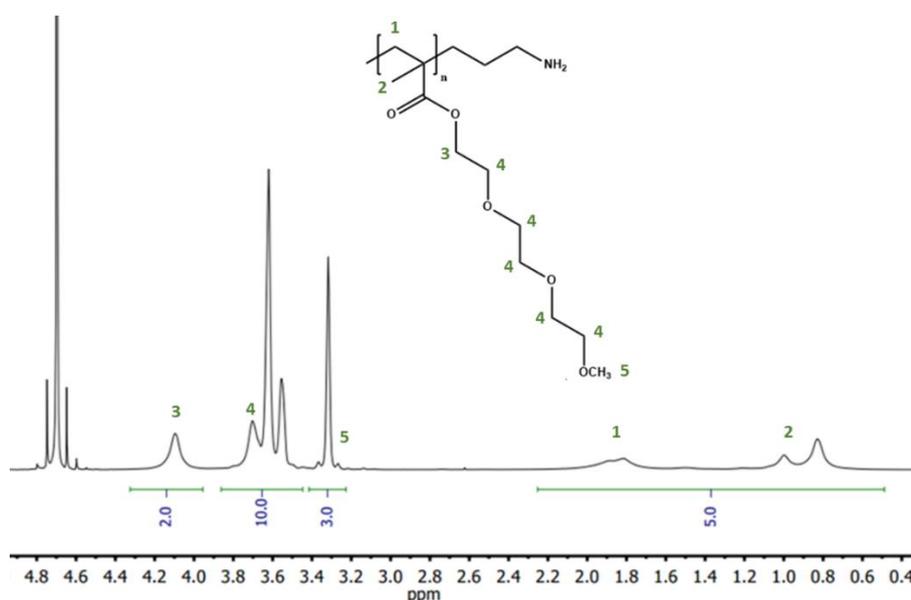


Figure 2.4 : Spectre RMN ^1H du PTEGMA.

Le nombre de protons pour chaque homopolymère de la famille des PEGMA a été répertorié dans le Tableau 2.11. Ainsi, dans le cas de copolymères de PEGMA, seule l'intégration entre 3,45 et 3,85 ppm varie et permet ainsi de déterminer le rapport molaire des monomères.

Tableau 2.11 : Nombre de protons entre 3,45 et 3,85 ppm pour des homopolymères de PEGMA.

	P(DEGMA)	P(TEGMA)	P(OEGMA ₄₇₅)
Nombre de protons ^1H (3,45 - 3,85 ppm)	6	10	34

II.1.2. SEC

La détermination des masses molaires moyennes de la plupart des polymères a été réalisée par chromatographie d'exclusion stérique en milieu NaNO_3 0,2 M sur un système Viscotek TDA 302 équipé de trois colonnes OH-pak et d'une triple détection réfractométrique, viscosimétrique et diffusion de la lumière. Des solutions à environ $C = 2$ mg/mL, initialement préparées dans

l'éluant de la SEC, sont éluées à un débit de 0,6 mL/min. Chaque échantillon a été injecté 3 fois afin de calculer précisément la valeur de l'incrément d'indice de réfraction (dn/dc). Cette valeur est ensuite utilisée par le logiciel OmniSEC pour calculer les masses molaires absolues des polymères à partir d'une courbe d'étalonnage universelle.

Mise à part le PDEGMA, tous les systèmes thermosensibles ont été analysés par SEC en phase aqueuse à une température de 28 °C pour éviter leur séparation de phase au cours de l'élution. Dans le cas du PDEGMA, qui présente une séparation de phase en dessous de 25 °C, les analyses chromatographiques ont été réalisées sur un système Viscotek TDA similaire équilibré dans le THF, à 35 °C.

Les chromatogrammes des copolymères sont présentés en annexe de ce chapitre.

II.1.3. Viscosimétrie capillaire

Dans le cas des solutions des polymères PAA1 et PAA2, pour lesquelles nous avons eu des difficultés de filtration (filtre de 0,22 μm en PVDF) avant injection en GPC, nous avons choisi de caractériser et de comparer les masses molaires des deux squelettes PAA en utilisant la même technique de viscosimétrie capillaire. L'analyse de la viscosité intrinsèque ($[\eta]$) étant une technique de caractérisation relative, nous avons utilisé la relation de Mark-Houwink établie par Mc Carthy *et al.*⁵ (cf. Équation 2.2), pour des solutions de poly(acrylate de sodium) à 25 °C en milieu NaCl 0,5 M, pour remonter à la masse molaire moyenne viscosimétrique (M_v).

Équation 2.2 : $[\eta] = 2,44 \cdot 10^{-3} M_v^{0,887}$ Avec, $[\eta]$ en mL/g.

Les études ont été effectuées avec un viscosimètre Ubbelohde automatique (SEMATech Til) en mesurant les temps d'écoulement du solvant (t_s) et des solutions diluées de polymère (t). La moyenne de chaque temps d'écoulement a été calculée avec au moins 4 valeurs.

L'analyse des résultats a été réalisée en utilisant l'équation de la viscosité inhérente (η_{inh}) :

$$\text{Équation 2.3 : } \frac{\ln(t/t_s)}{C} = [\eta] - k_K [\eta]^2 C$$

Avec, $[\eta]$: viscosité intrinsèque, t_s et t : temps d'écoulement du solvant et des solutions de polymère à la concentration C et k_K : constante de Kraemer.

Il est à noter que des ramifications sont sûrement présentes dans les squelettes PAA utilisés et que la viscosité peut ainsi être impactée. En effet, en polymérisation radicalaire conventionnelle, la présence de branchements est très couramment reportée^{6,7}.

Les résultats présentés sur la Figure 2.5 conduisent à des viscosités intrinsèques de 0,14 et 0,38 L/g pour PAA1 et PAA2, respectivement. En application de la relation de Mark-Houwink

précédente (Équation 2.2), cela conduit à $M_v = 230$ kg/mol pour PAA1 et $M_v = 710$ kg/mol pour PAA2.

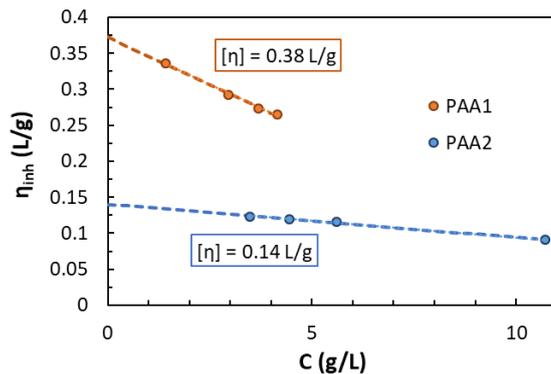


Figure 2.5 :
Détermination des viscosités
intrinsèques des polymères
PAA1 et PAA2.

II.2. Caractérisation thermodynamique des solutions

II.2.1. Spectrométrie UV-visible

Le point de trouble des solutions de polymère a été mesuré à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible (Agilent) en fixant la longueur d'onde à $\lambda = 600$ nm et en changeant automatiquement la température par palier de $0,5$ °C ; soit une vitesse de chauffage de $0,4$ °C/min.

Dans notre cas, le point de trouble est défini comme la température précédant l'augmentation de l'absorbance d'au moins $0,1$ u.a. Sur la Figure 2.6, la T_{cp} est égale à $24,5$ °C.

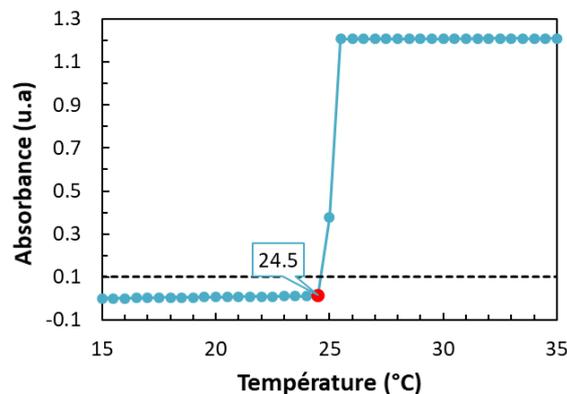


Figure 2.6 : Point de trouble (•) du PDEGMA ($M_n = 27$ kg/mol) à 5,9 wt% dans l'eau ; en pointillés est représentée la limite de $0,1$ u.a.

II.2.2. DSC

Le phénomène de séparation de phase des polymères thermosensibles en solvant aqueux a été analysé avec un calorimètre à balayage différentiel DSC Q200 de TA Instruments. Pour tous les échantillons en solution, entre 20 et 30 mg de solution de polymère, de concentration fixée, ont été placés dans un creuset en aluminium scellé et mis en parallèle avec un creuset rempli

avec la même quantité de solvant. Après une minute de mise à l'équilibre à la température initiale du test, les échantillons sont chauffés, refroidis puis chauffés à nouveau à une vitesse de 2 °C/min pour chaque rampe, pour avoir une vitesse comparable aux mesures faites en rhéologie.

II.2.3. RMN ¹H

Des analyses complémentaires relatives au processus de thermoassociation des solutions de copolymères ont été réalisées en collaboration avec Cédric Lorthioir (LCMCP, SU) par RMN ¹H à l'aide d'un spectromètre Bruker Avance III, couplé à un champ magnétique de 7.0 T (fréquence de Larmor ¹H de 300.1 MHz) et équipé d'une sonde BBFO 5 mm. Les spectres RMN ¹H, obtenus par une expérience de simple impulsion, ont été réalisés dans une gamme de température allant de 10 °C à 70 °C pour la solution de PAA1-N67 dans D₂O (C_p = 5 wt %) et de 5 °C à 70 °C pour la solution d'ALG1-D45 et ALG1-N45 dans D₂O (C_p = 5 wt %). La durée de l'impulsion 90° (¹H) était de 12 μs pour les deux séries d'expériences et le délai de répétition, choisi supérieur à 5 fois la valeur du temps de relaxation T₁ (¹H) le plus long, a été ajusté de 3 s (10 °C) à 120 s (70 °C) pour la solution de PAA1-N67 dans D₂O et de 3 s (5 °C) à 6 s (70 °C) pour les solutions d'ALG1-N45 et ALG1-D45 dans D₂O. Après chaque changement de température, un délai de 15 minutes est introduit, une fois la température de consigne atteinte, afin de permettre l'équilibre thermique de l'échantillon.

II.3. Analyse structurale

II.3.1. SAXS

Dans le cadre du projet expérimental de Julie Brun au Synchrotron SOLEIL, nous avons eu l'occasion de réaliser quelques expériences de diffusion des rayons-X aux petits angles sur la ligne de lumière SWING (local contact : Javier Perez). Les solutions de polymères ont ainsi été étudiées à différentes températures, de 20 à 55 °C, par pas de 5 °C, après avoir fixé les paramètres suivants :

- Distance entre l'échantillon et le détecteur : 4 m
- Énergie : 12,0 keV
- Longueur d'onde : 1,0331 Å
- Temps d'exposition : 500 ms

Dans ces conditions, la gamme de vecteur d'onde balayée s'étend entre $q = 1,84 \cdot 10^{-3} \text{ \AA}^{-1}$ et $q = 3,14 \cdot 10^{-1} \text{ \AA}^{-1}$.

II.3.2. Cryo-MET

Une étude prospective de cryo-microscopie électronique à transmission (cryo-TEM) a été réalisée par Jean-Michel Guigner sur un microscope LaB6 JEOL 2100 au sein de l'Institut de Minéralogie, de Physique des Matériaux et de Cosmochimie (IMPMC) de Sorbonne Université. Les solutions de copolymère ont été préparées en milieu K_2CO_3 0,5 M afin de pouvoir gélifier à température ambiante tout en restant à l'état liquide au cours du stockage à 4 °C. Le challenge pour cette série d'expériences réside dans la capacité à maîtriser au moins qualitativement la succession rapide des étapes de préparation :

- 1) le dépôt d'une goutte **liquide** de solution sur la grille d'analyse,
- 2) l'absorption de l'excédent de **liquide** avec un papier filtre,
- 3) la **gélification** à température ambiante,
- 4) la vitrification de la formulation **gélifiée** dans l'éthane liquide.

II.4. Études rhéologiques

II.4.1. Propriétés viscoélastiques aux faibles déformations

Les mesures de rhéologie en régime linéaire ont été effectuées avec un rhéomètre à contrainte imposée HAAKE RheoStress 600 (Thermo Fisher Scientific). Une géométrie de type cône-plan a été utilisée pour toutes les mesures ; l'angle et le diamètre du cône étant respectivement de 2° et 35 mm.

Le volume requis de solution à analyser (~ 0,45 mL) est placée sur le plateau inférieur, initialement thermostaté à la température initiale de l'essai, puis mis en contact avec le cône en fixant l'entrefer à 105 μ m. L'ensemble de la géométrie est recouverte d'une enceinte de manière à minimiser l'évaporation lors des mesures pouvant se dérouler sur des temps longs ou à des températures élevées.

Les tests en oscillation sont généralement effectués à une fréquence de 1 Hz ($\omega = 6,28$ rad/s) et à une contrainte de 1 Pa. Un balayage en amplitude est réalisé avant chaque test pour s'assurer d'être dans le régime viscoélastique linéaire. Des balayages en température sont ensuite effectués en fixant la vitesse à 2 °C/min. Des cycles chauffage-refroidissement-chauffage sont ainsi réalisés pour vérifier le caractère réversible de la transition.

Ces mesures permettent d'accéder au module élastique (G'), au module visqueux ou module de perte (G''), ainsi qu'à la viscosité complexe (η^*) qui est une combinaison des modules dynamiques :

$$\text{Équation 2.4 : } \eta^* = \sqrt{\left(\frac{G'}{\omega}\right)^2 + \left(\frac{G''}{\omega}\right)^2}$$

À partir d'une expérience type sur une solution thermogélifiante (cf. Figure 2.7), il est possible de déterminer les températures caractéristiques du phénomène associatif : la température d'association (T_{as}) et la température de transition sol-gel ($T_{sol-gel}$).

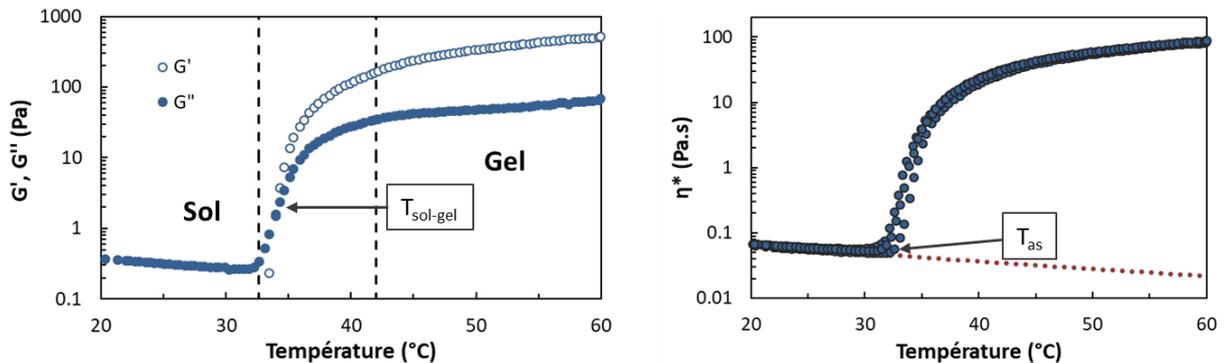


Figure 2.7 : Analyse viscoélastique d'une formulation thermogélifiante ; (Gauche) Détermination de $T_{sol-gel}$, pour $G' = G''$, (Droite) Détermination de T_{as} , à partir du comportement Arrhénien dans l'état non associé (•••).

T_{as} , qui marque le début de la formation de chaînes élastiquement actives, est définie à partir de la représentation de η^* par la température à laquelle la viscosité diverge du comportement Arrhénien initial (cf. Équation 2.5). Le coefficient de détermination R^2 de la droite doit diminuer d'au moins 10 %.

$$\text{Équation 2.5 : } \eta^* = A e^{(E_\eta/RT)}$$

Avec, R : constante des gaz parfaits, T : température, E_η : énergie d'activation pour l'écoulement visqueux et A : constante.

$T_{sol-gel}$ est simplement définie par le croisement des modules dynamiques G' et G'' .

Pour certaines solutions, des études complémentaires ont été réalisées à des températures fixées, généralement 20, 40 et 60 °C, en imposant un balayage en fréquence de 0,01 à 10 Hz.

Des balayages en variant la vitesse de cisaillement ont également été effectués pour les copolymères à base d'alginate ou sur la solution d'alginate non greffé pour suivre le comportement rhéofluidifiant du système. Ce caractère rhéofluidifiant est un paramètre important pour l'injectabilité des solutions de polymère.

II.4.2. Injectabilité

L'injectabilité des solutions est mesurée à partir d'un test de compression réalisé sur une machine Instron 3343 (cf. Figure 2.9) équipée d'une cellule de force de 100 N.

Une vitesse d'injection (v) est imposée à l'appareil et la force (F) est mesurée en fonction du déplacement. Pour tous les tests d'injectabilité, le diamètre interne de la seringue ($D_s = 4,5$ mm)

ainsi que la longueur de l'aiguille ($L = 13 \text{ mm}$) ont été maintenus constants. Ainsi, seuls la vitesse d'injection ($Q_v = 0,18 - 3,67 \text{ mL/min}$, soit $v = 10 - 200 \text{ mm/min}$) et le rayon interne des aiguilles ($R_a = 0,105 \text{ (27 G)} - 0,205 \text{ mm (22 G)}$) ont été modifiés.

Pour chaque condition d'analyse, le test est réalisé au moins en triplicat et la valeur de la force d'injection ($F = f\{Q_v, R_a\}$) est prise sur le plateau de force obtenu (cf. Figure 2.8).

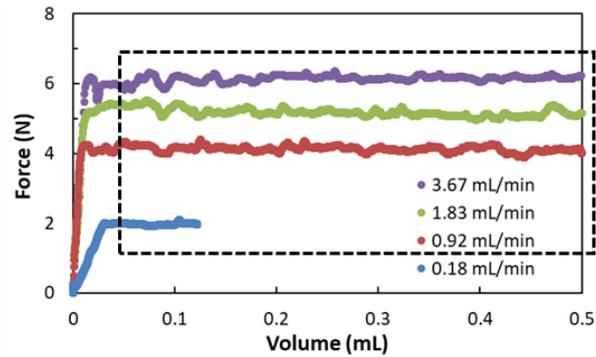


Figure 2.8 : Force d'injection en fonction du débit pour ALG1-N45, 5 wt% PBS (21 °C, 25 G). L'encadré en pointillé correspond au plateau de force.

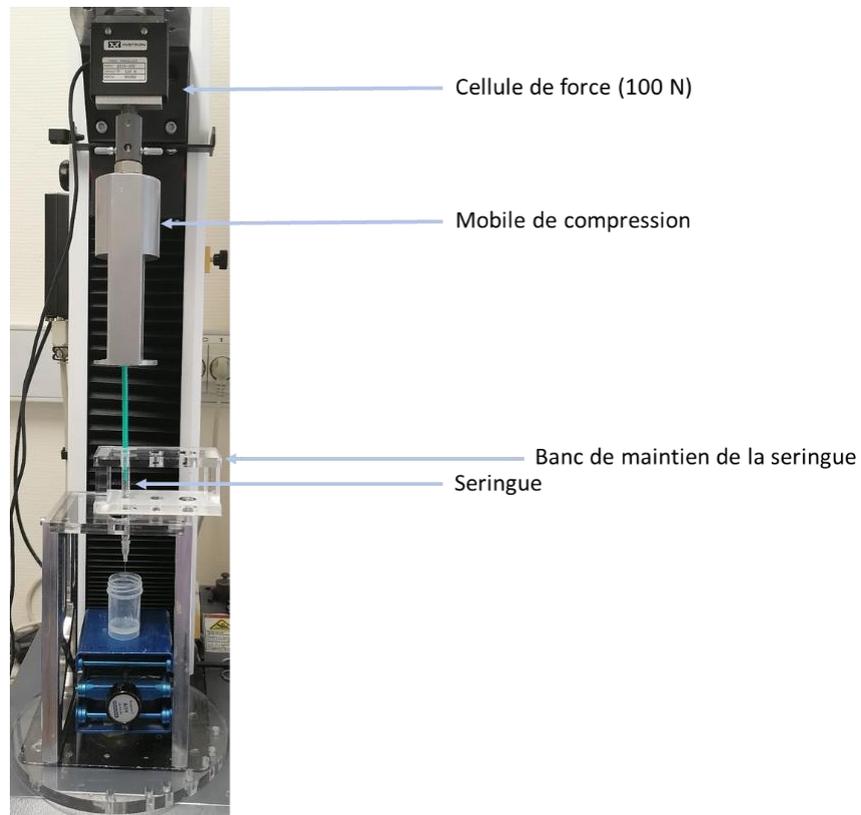


Figure 2.9 : Montage du test de mesure d'injectabilité.

II.4.3. Adhésion - Test de tack

Les propriétés adhésives des formulations thermogélifiantes ont été évaluées en utilisant un test d'adhésion appelé « probe tack test ». Celui-ci consiste à réaliser, à vitesse constante, un test de

traction sur un poinçon en contact avec un substrat et à mesurer la variation de la force au cours du déplacement et jusqu'au décollement. Au laboratoire SIMM, ce type de test a été récemment appliqué aux formulations thermosensibles en adaptant les conditions de fonctionnement d'un rhéomètre.

Les mesures d'adhésion ont été réalisées sur un rhéomètre DHR 3 (TA Instruments) équipé d'une cellule de force de 50 N avec une sensibilité de $\pm 0,1$ N et d'un système de contrôle de la température par effet Peltier. La géométrie utilisée est de type plan-plan, avec un diamètre de 20 mm pour le plan supérieur mobile.

Les différentes étapes du test sont illustrées sur la Figure 2.10 :

(1) Le volume de solution adéquat ($\sim 160 \mu\text{L}$) est déposé sur le plateau inférieur en évitant l'introduction de bulles d'air pour ne pas fausser les mesures d'adhésion en créant au départ des défauts dans le matériau.

(2) L'entrefer est réglé à la valeur souhaitée. L'excès éventuel de produit autour de la géométrie est retiré et une enceinte est ensuite placée autour de la géométrie.

(3&4) La solution est chauffée à la température souhaitée pour favoriser la gélification. L'enceinte placée autour de la géométrie est maintenue pendant les dix minutes d'attente pour minimiser l'évaporation. La gélification entraîne généralement un changement au niveau de la force mesurée pendant les dix minutes d'attente. Si celle-ci dépasse les $\pm 0,1$ N, le gap doit être ajusté. Il est alors varié de $\pm 10 \mu\text{m}$ pour replacer la force entre $-0,1$ N et $0,1$ N.

(5) L'enceinte est enlevée et le mobile supérieur est décollé à une vitesse constante. La force est mesurée en fonction du temps.

Les paramètres classiques de ces tests sont une vitesse de décollement de $100 \mu\text{m/s}$ et une épaisseur h_0 de $400 \mu\text{m}$.

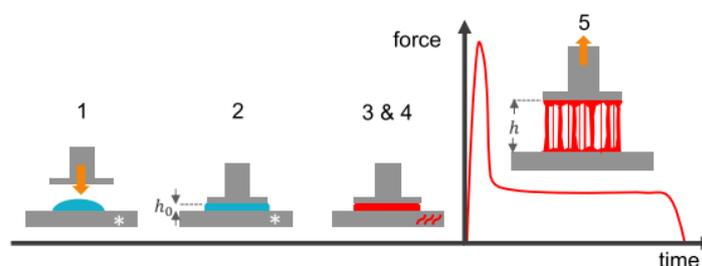


Figure 2.10 : Schéma des étapes du test de tack⁸, (1) ajout d'un volume adéquat de solution ; (2) réglage du gap de hauteur h_0 ; (3&4) chauffage de la solution et attente de 10 min à la température souhaitée : formation du gel ; (5) test de tack : mesure de la force en fonction du temps, à vitesse constante.

Une fois la courbe force-temps obtenue, il est possible de remonter à la contrainte (cf. Équation 2.6) et à la déformation (cf. Équation 2.7). L'énergie d'adhésion peut ainsi être

calculée puisqu'elle correspond à l'aire sous la courbe contrainte-déformation multipliée par l'épaisseur initiale du film, h_0 (cf. Équation 2.8).

Équation 2.6 : $\sigma = \frac{F(t)}{A_{co}}$; Avec, $F(t)$: force et A_{co} : aire de contact entre l'adhésif et le poinçon.

Équation 2.7 : $\varepsilon = \frac{d(t)-h_0}{h_0}$; Avec, $d(t)$: déplacement et h_0 : épaisseur initiale de l'adhésif.

Équation 2.8 : $W_{adh} = h_0 \int_0^{\varepsilon_{max}} \sigma \cdot d\varepsilon$; Avec, σ : contrainte et ε : déformation.

Chaque valeur d'énergie d'adhésion a été obtenue à partir d'au moins deux tests de tack. Les profils contrainte-déformation sont comparés et seuls les profils les plus similaires sont retenus pour calculer la moyenne de l'énergie d'adhésion.

Pour un même polymère et à une même concentration, le test n'est jamais refait sur l'échantillon qui a subi un test préalable. Une nouvelle solution de polymère est placée sur le rhéomètre pour chaque nouveau test.

Pour des raisons de sensibilité de l'appareil, seules les valeurs de contrainte supérieures à 100 Pa sont prises en compte pour calculer l'énergie d'adhésion.

II.5. Comportement en milieu physiologique

II.5.1. Gonflement

La solution de polymère, de concentration donnée, est initialement placée dans une seringue coupée. La seringue est fermée de façon hermétique et placée dans une étuve à 70 °C quelques minutes pour préformer le gel. Au temps t_0 , le gel de masse m_0 est rapidement introduit dans la solution de PBS préalablement chauffée à 37 °C et maintenu dans ces conditions avant d'être pesé après un temps donné (m_t). Les hydrogels thermoformés étant réversibles par nature, ils se redissocient rapidement lors de la pesée. Il est donc nécessaire d'utiliser plusieurs gels préformés pour mesurer le gonflement à différents temps et toutes les mesures ont été faites en triplicat.

Le gonflement est calculé selon l'équation suivante :

Équation 2.9 : $S = \frac{m_t}{m_0} - 1$

II.5.2. Étude du relargage de la Rhodamine B

Pour les tests de relargage, le polymère est solubilisé dans une solution de PBS contenant de la rhodamine B, à la concentration de 10 mg/100 mL de PBS.

Comme pour les mesures de gonflement, des gels de forme cylindrique ($r = 2,3$ mm et $L = 38$ mm) sont préformés à chaud pendant 5 minutes dans une seringue coupée avant d'être plongés, au temps $t = 0$, dans une cellule UV contenant une solution de PBS à 37 °C.

Afin d'obtenir un seuil d'absorbance toujours inférieur à 1, le gel de masse comprise entre $0,065$ g et $0,070$ g doit être introduit dans environ $2,3$ mL de PBS (contenu initial de la cuve UV).

Le relargage de la rhodamine B en fonction du temps conduit à une coloration progressive de la solution de PBS (cf. Figure 2.11). Les suivis cinétiques sont réalisés en triplicat à une longueur d'onde de 553 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible en effectuant des mesures d'absorbance (A_t) à des intervalles de 5 minutes.



Figure 2.11 : Représentation schématique du relargage progressif de la rhodamine dans le bain de PBS.

Afin de déterminer à la fin du test (après environ 15 heures) la concentration totale en rhodamine B dans la cellule UV, la température est abaissée à 20 °C (ou à 15 °C dans le cas des Alg-g-PEPO) afin de permettre la dissociation du gel et la libération de l'intégralité de la rhodamine B dans la solution (A_∞). L'étude cinétique est alors caractérisée par la variation de la proportion de rhodamine relarguée (A_t/A_∞) en fonction du temps.

Annexes

• Annexe 1 : PNIPAm

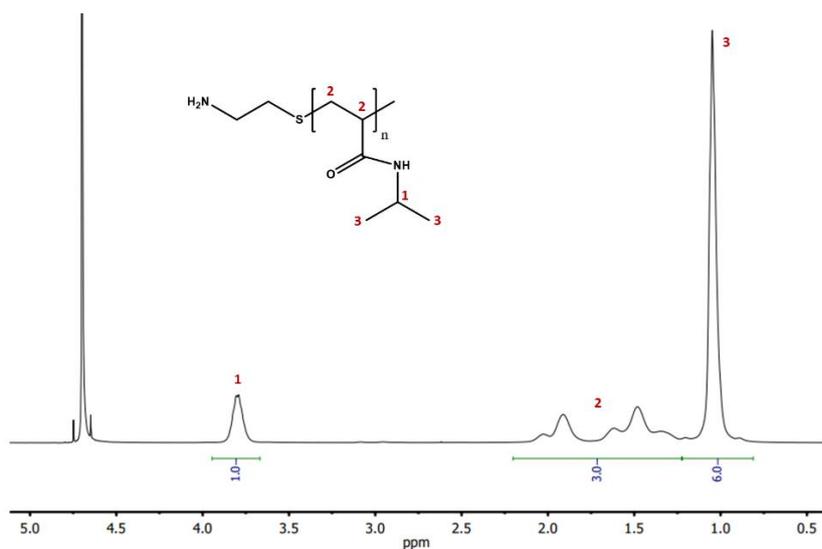
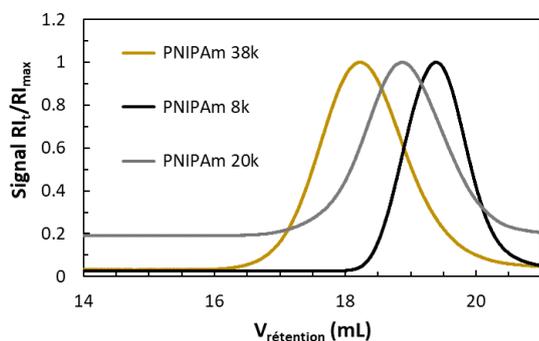


Figure 2.12 :
(Haut) Spectre RMN ¹H
de PNIPAm 38k,
(Bas) Chromatogrammes
GPC des différents
PNIPAm.



• Annexe 2 : PAA-g-PNIPAm

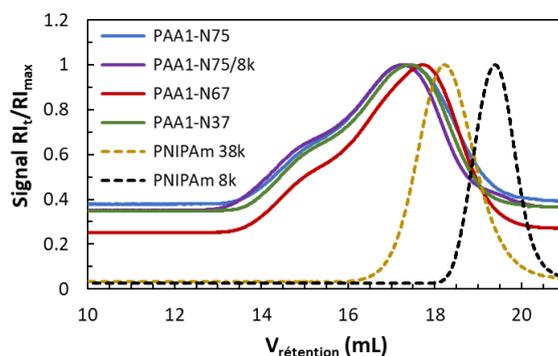


Figure 2.13 : Chromatogrammes des différents PAA-g-PNIPAm synthétisés et de leurs greffons PNIPAm.

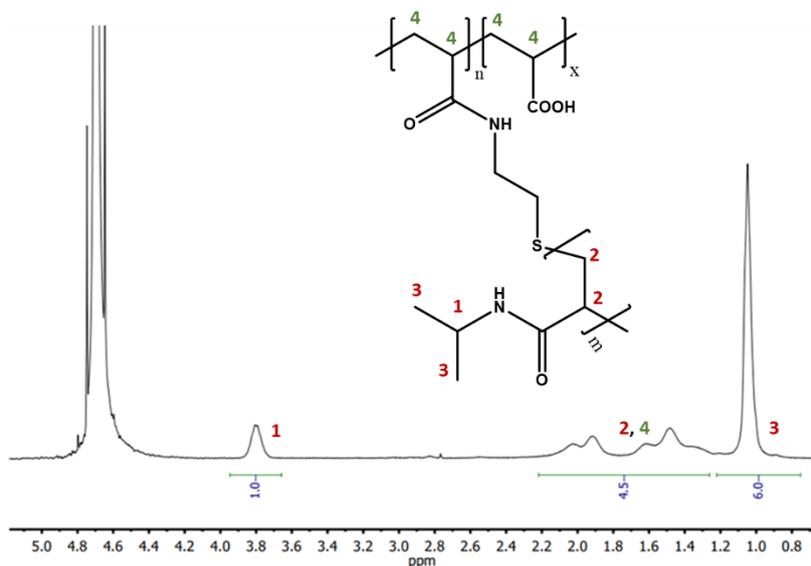


Figure 2.14 : Spectre RMN ^1H de PAA1-N75/8k.

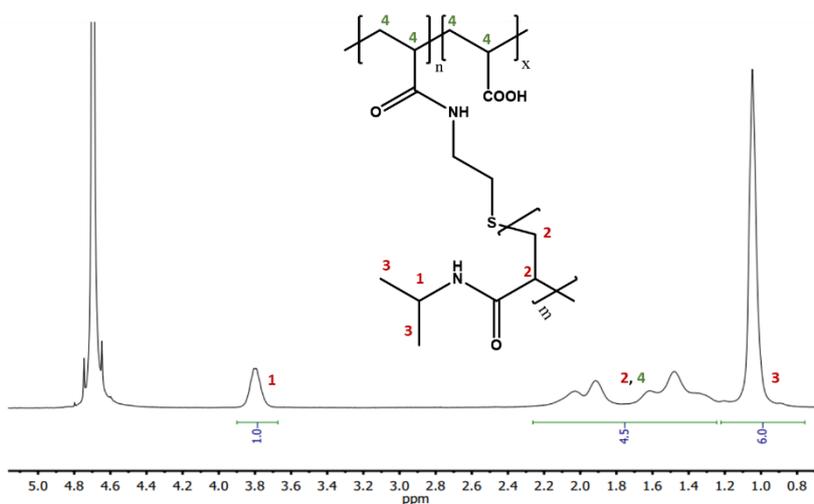


Figure 2.15 : Spectre RMN ^1H de PAA2-N75.

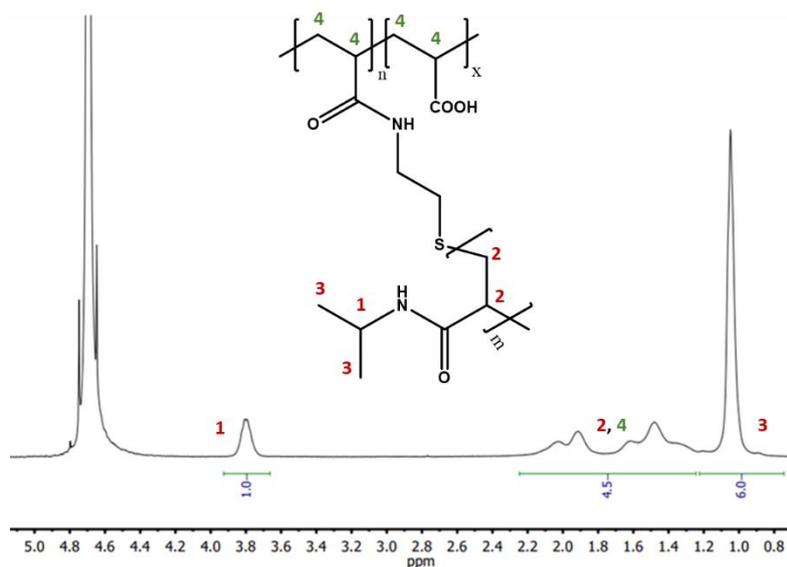


Figure 2.16 : Spectre RMN ^1H de PAA1-N75.

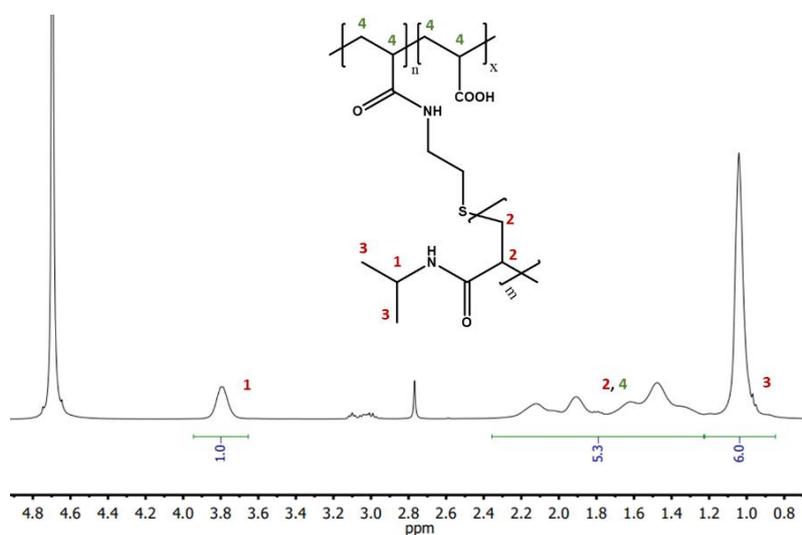


Figure 2.17 : Spectre RMN ^1H de PAA1-N67 ; les pics entre 2,7 et 3,2 ppm sont liés à de l'EDC non éliminé.

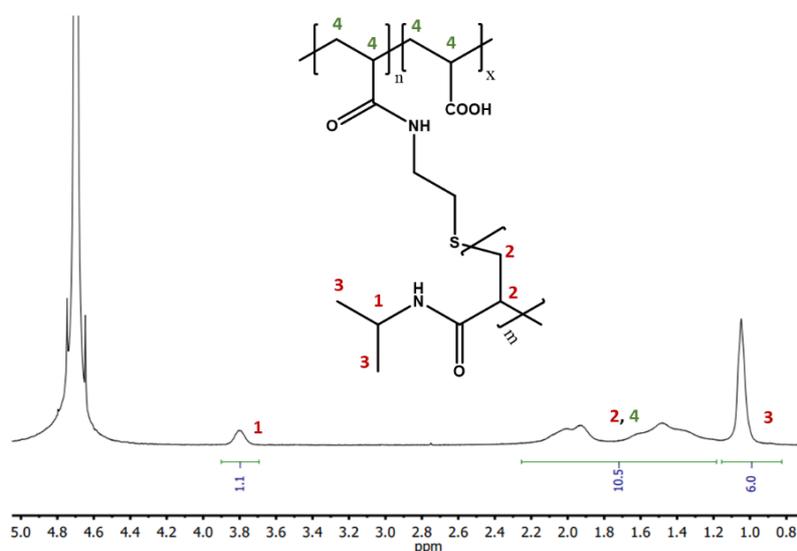


Figure 2.18 : Spectre RMN ^1H de PAA1-N37.

- Annexe 3 : P(NIPAm-co-AMPS)

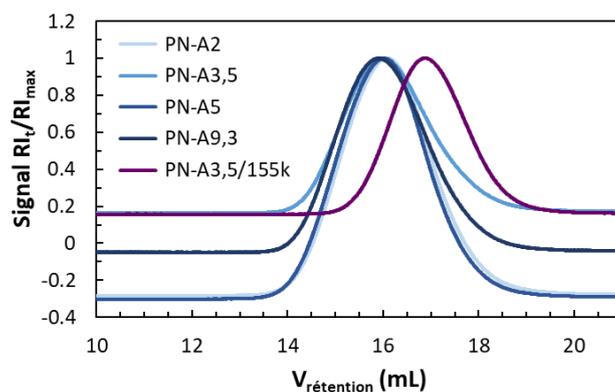


Figure 2.19 : Chromatogrammes GPC des différents P(NIPAm-co-AMPS).

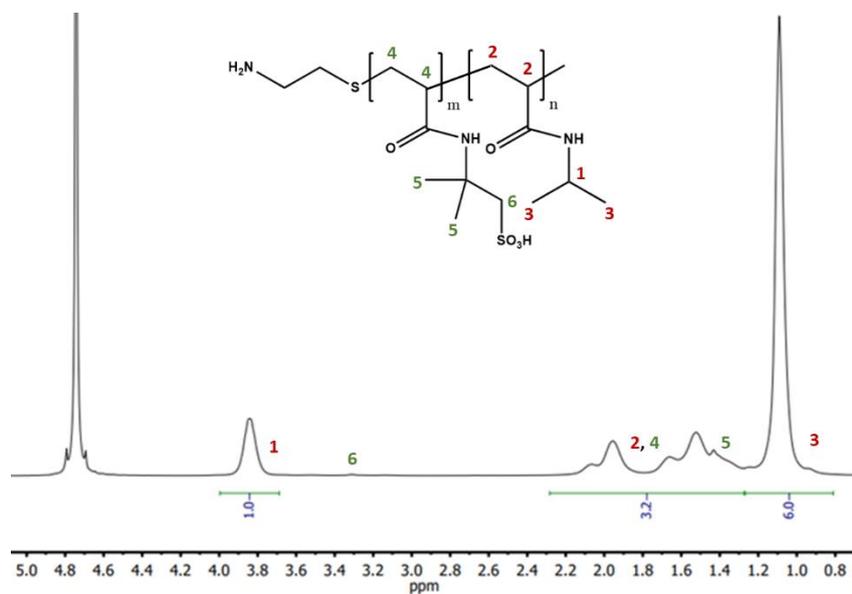


Figure 2.20 : Spectre RMN ^1H de PN-A2.

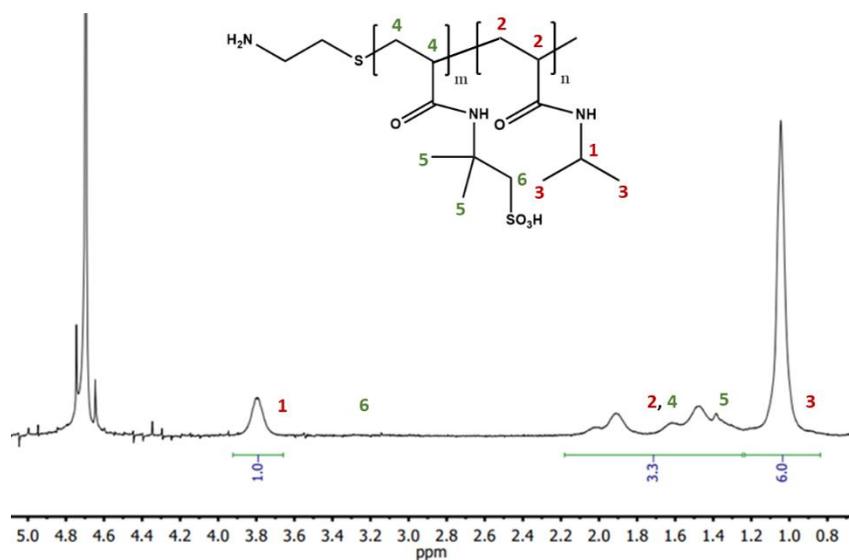


Figure 2.21 : Spectre RMN ^1H de PN-A3,5.

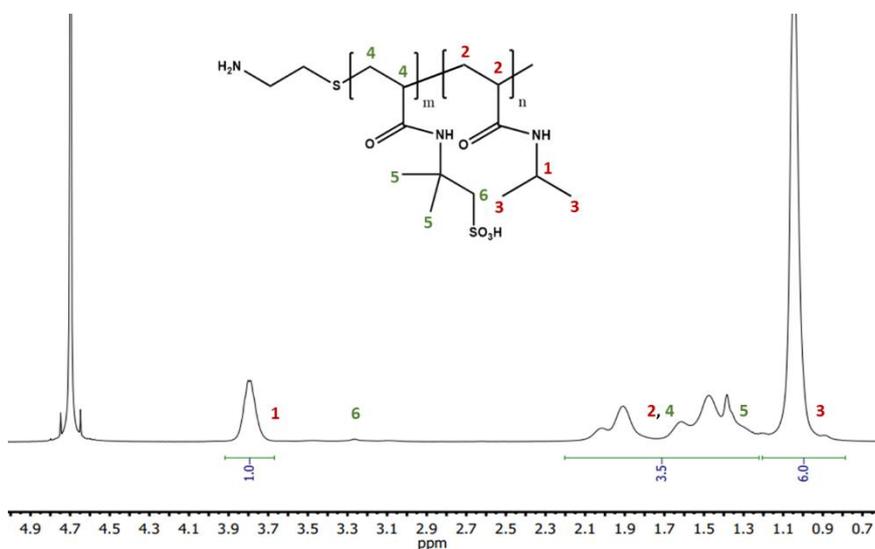


Figure 2.22 : Spectre RMN ^1H de PN-A5.

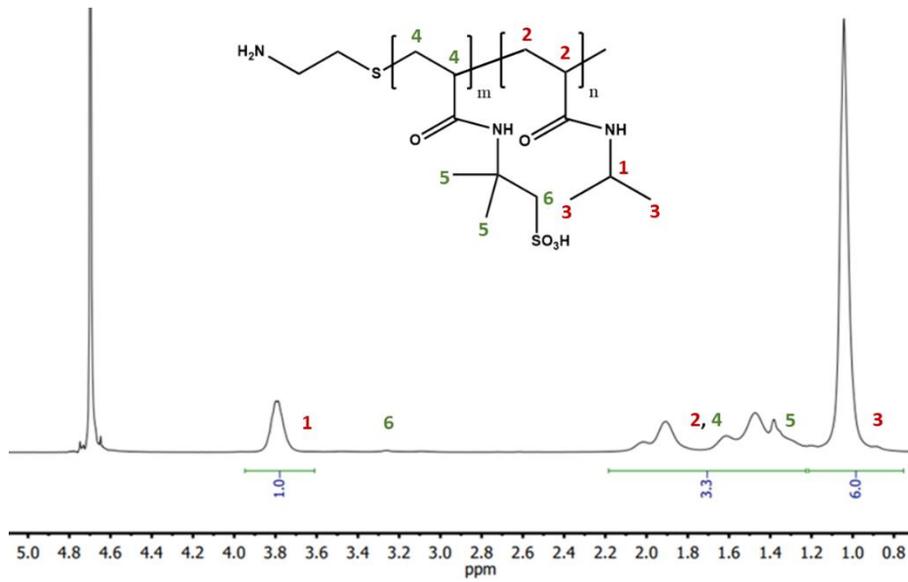


Figure 2.23 : Spectre RMN ^1H de PN-A3,5/155k.

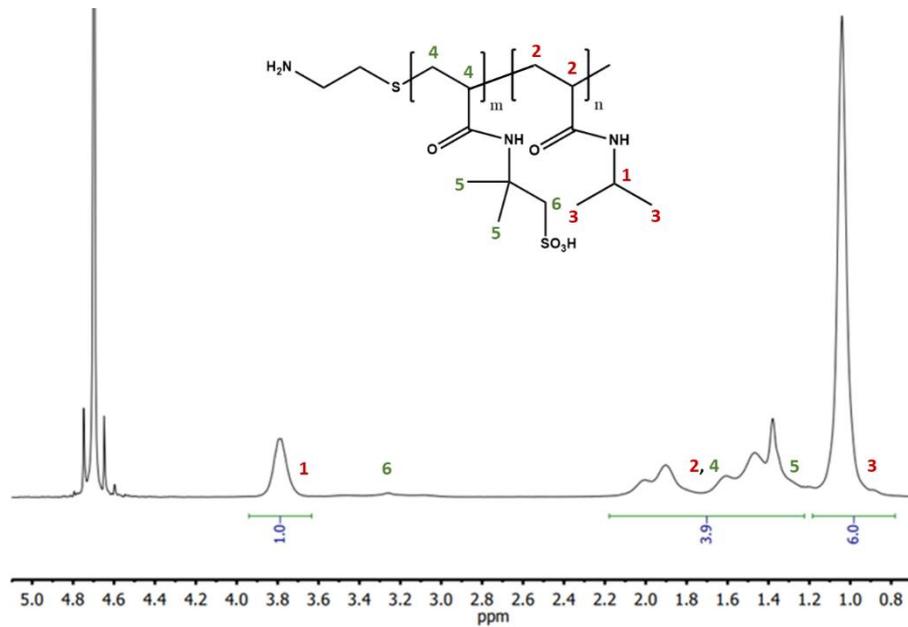


Figure 2.24 : Spectre RMN ^1H de PN-A9,3.

• Annexe 4 : Alg-g-PNIPAm

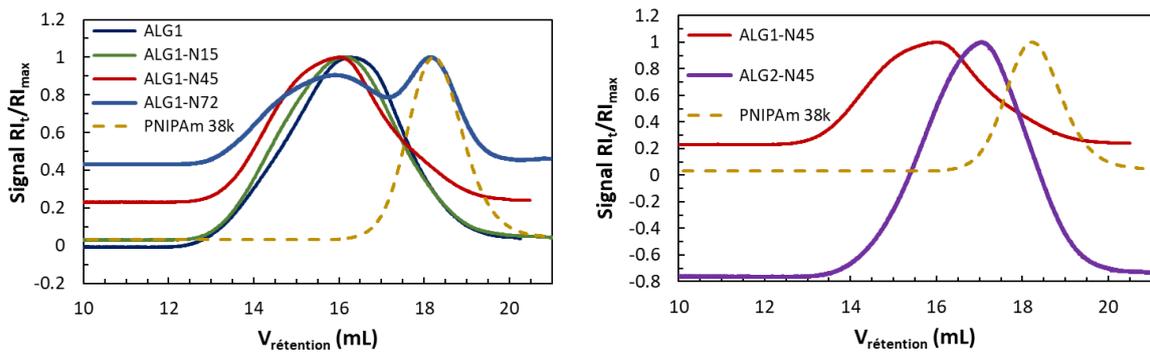


Figure 2.25 : Chromatogrammes GPC des Alginate-g-PNIPAm ; (Gauche) ALG1-g-PNIPAm, (Droite) Comparaison ALG1-N45 et ALG2-N45.

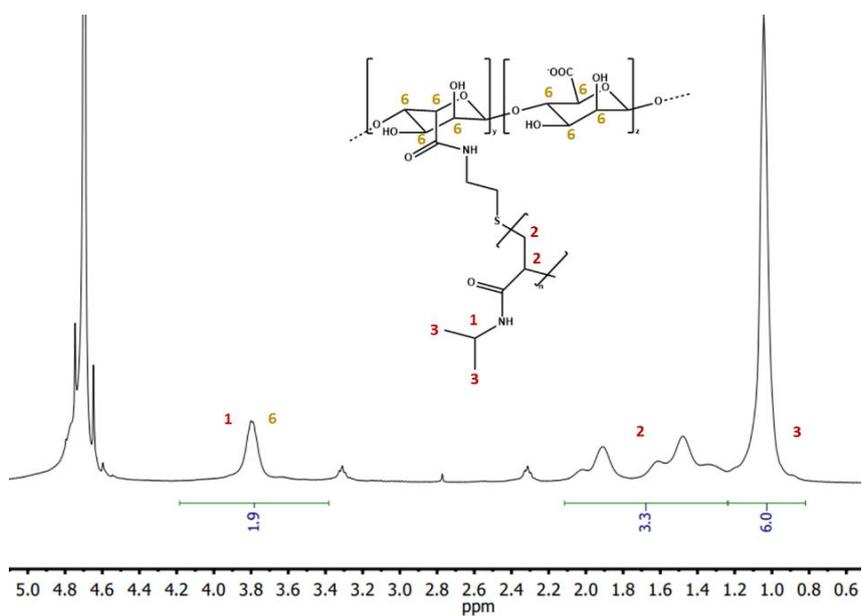


Figure 2.26 : Spectre RMN ¹H de ALG1-N72.

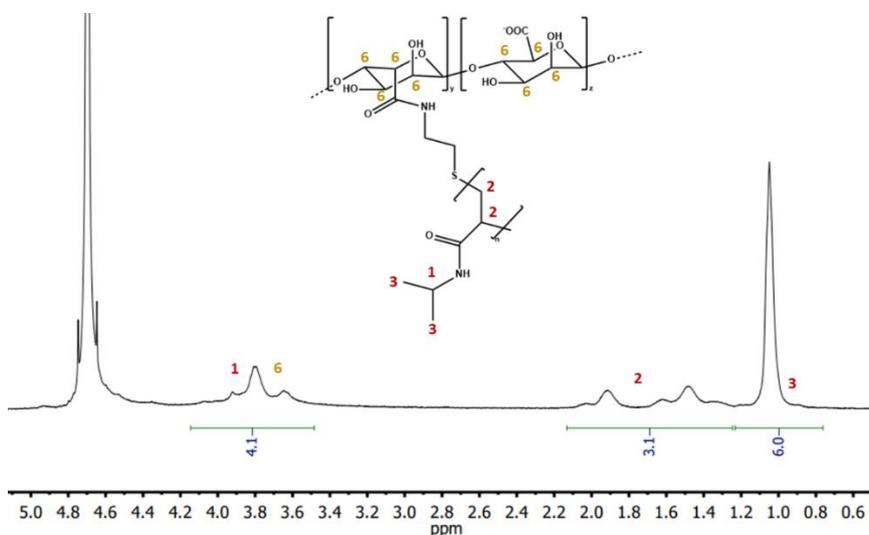


Figure 2.27 : Spectre RMN ¹H de ALG2-N45.

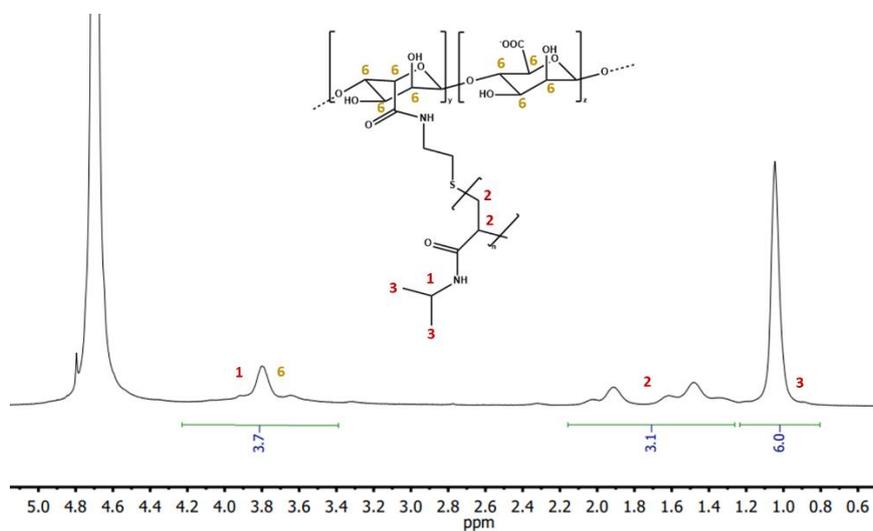


Figure 2.28 : Spectre RMN ¹H de ALG1-N45.

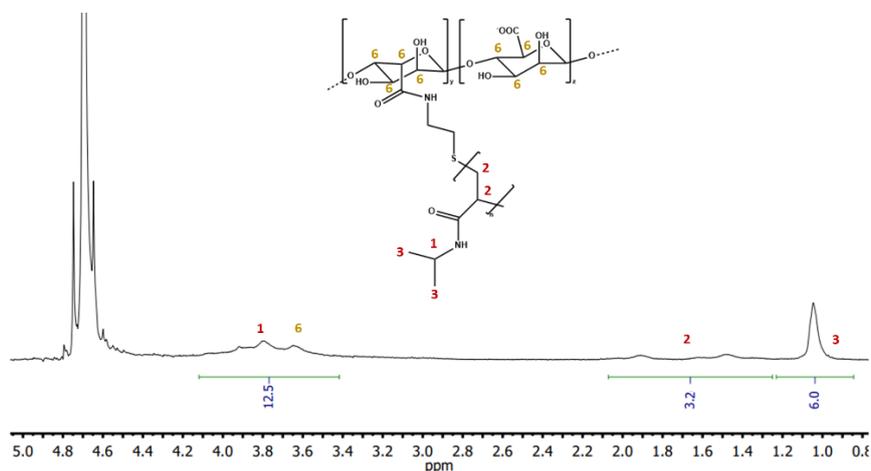


Figure 2.29 : Spectre RMN ^1H de ALG1-N15.

- Annexe 5 : Alg-g-PEGMA

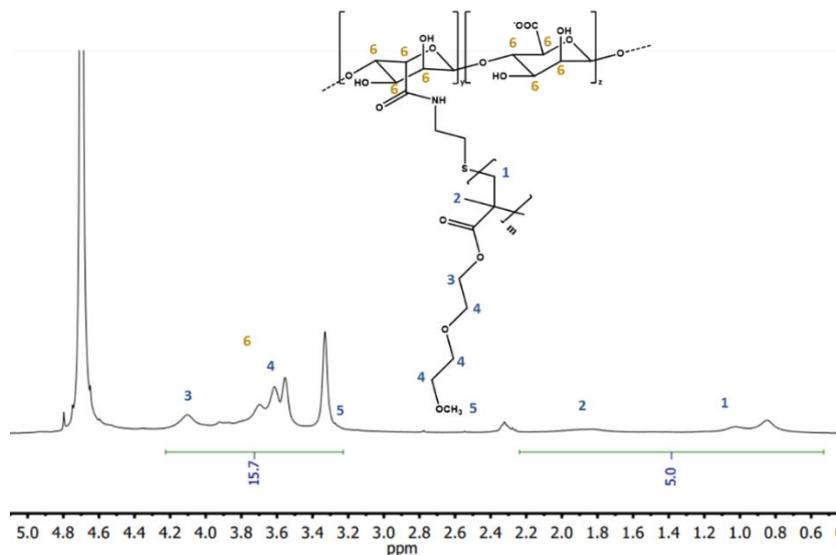


Figure 2.30 : Spectre RMN ^1H de ALG1-D45.

- Annexe 6 : Alg-g-PEPO

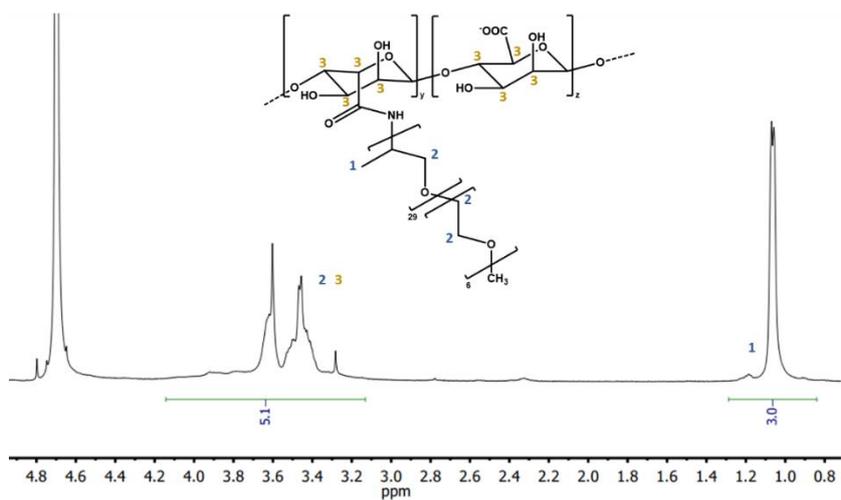


Figure 2.31 : Spectre RMN ^1H de ALG1-P45.

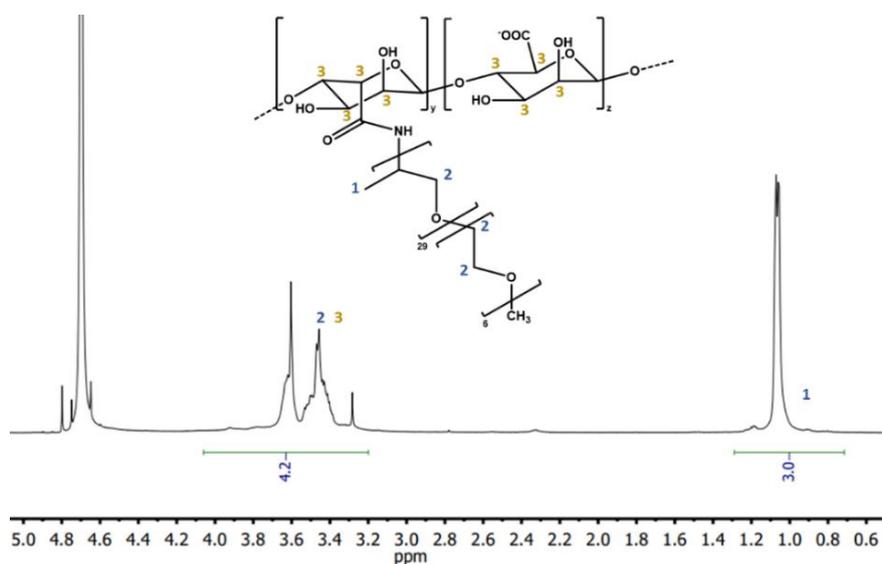


Figure 2.32 : Spectre RMN ^1H de ALG1-P67.

- Annexe 7 : P(DEGMA-co-TEGMA) et PAA-g-P(DEGMA-co-TEGMA)

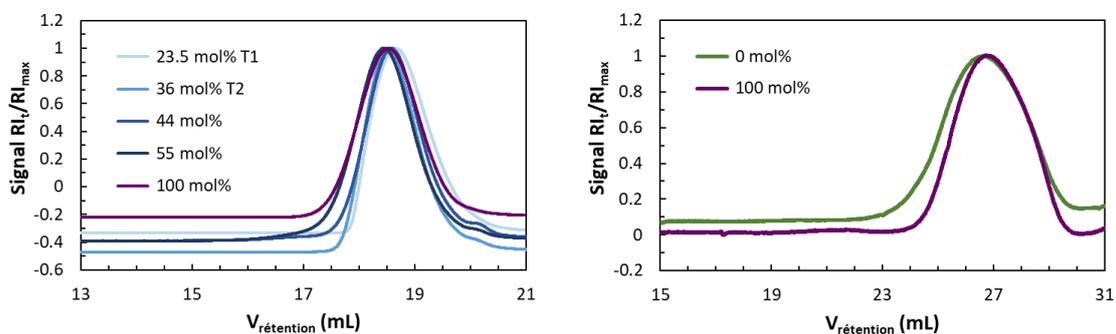


Figure 2.33 : Chromatogrammes GPC des P(DEGMA-co-TEGMA) ;
(Gauche) Eau NaNO_3 , (Droite) THF.

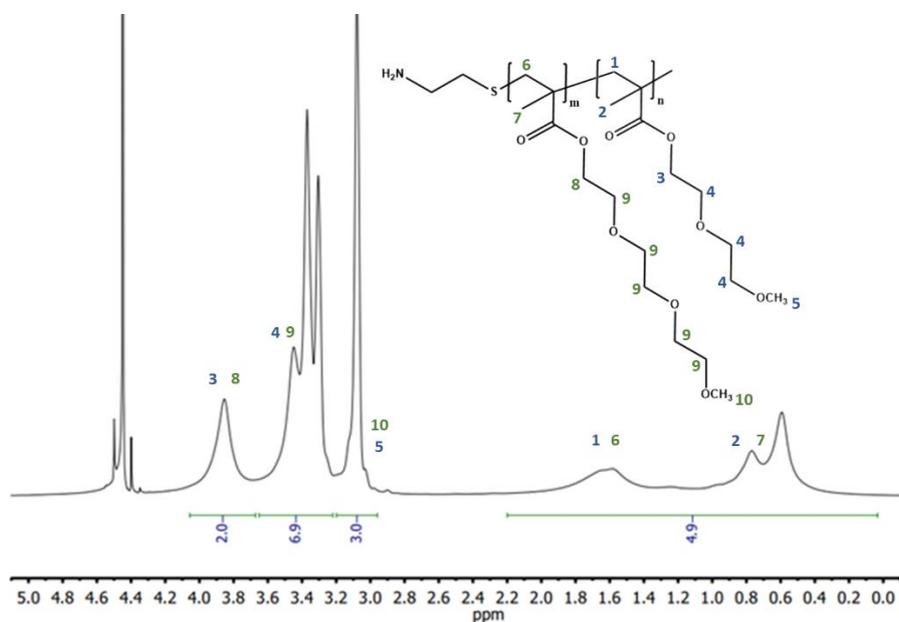


Figure 2.34 : Spectre RMN ^1H de P(DEGMA-co-TEGMA)
(DEGMA/TEGMA : 76,5/23,5 mol%).

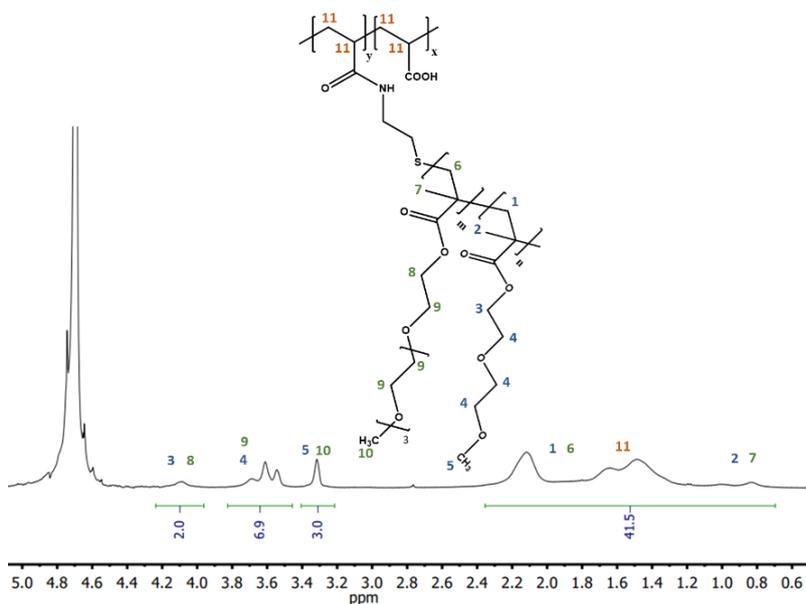


Figure 2.35 : Spectre RMN ^1H de PAA1-T₁27.

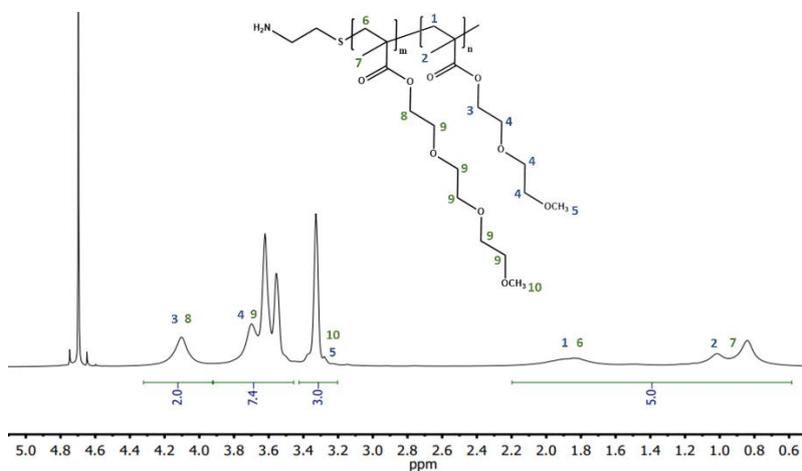


Figure 2.36 : Spectre RMN ^1H de P(DEGMA-co-TEGMA) (DEGMA/TEGMA : 64/36 mol%).

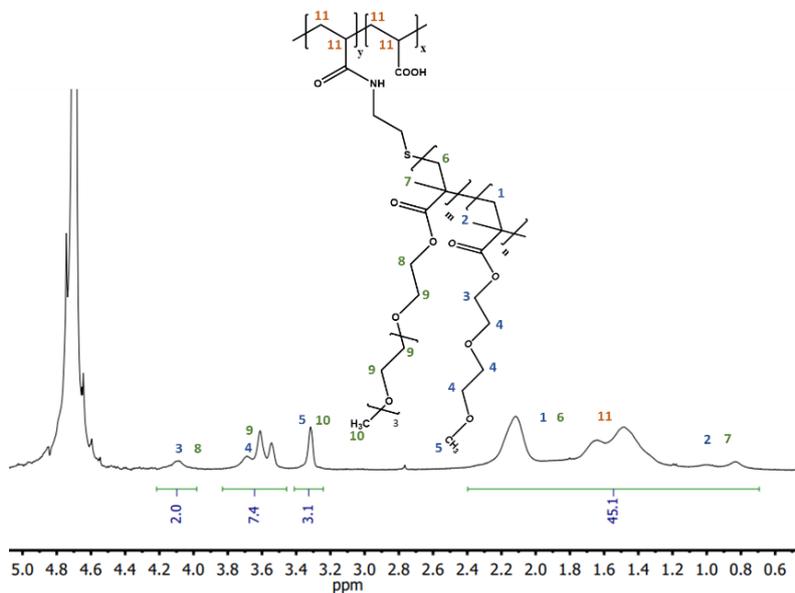


Figure 2.37 : Spectre RMN ^1H de PAA1-T₂27.

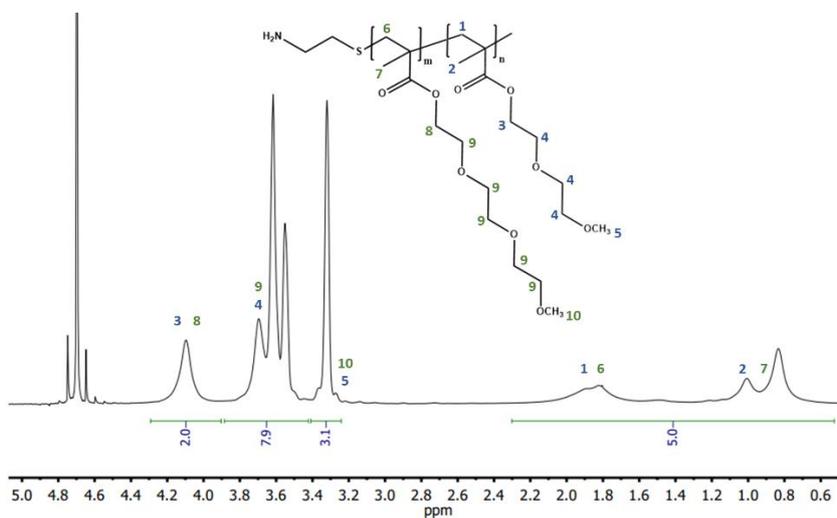


Figure 2.38 : Spectre RMN ^1H de P(DEGMA-co-TEGMA) (DEGMA/TEGMA : 56/44 mol%).

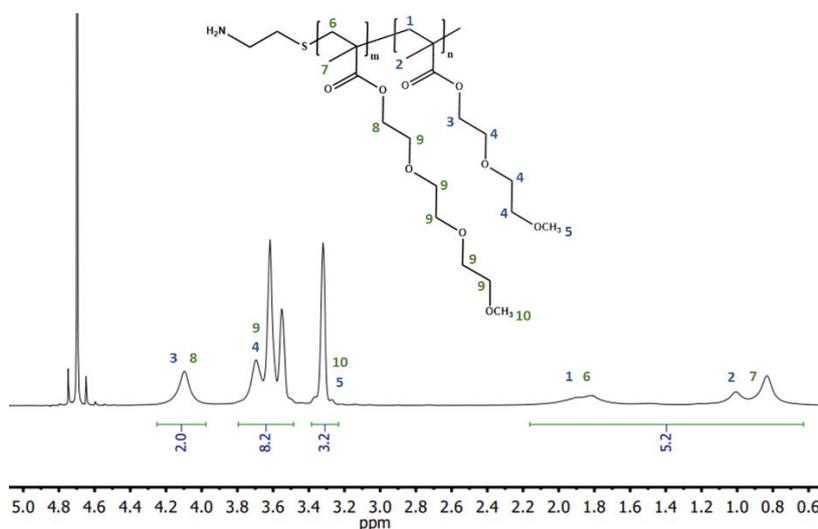


Figure 2.39 : Spectre RMN ^1H de P(DEGMA-co-TEGMA) (DEGMA/TEGMA : 45/55 mol%).

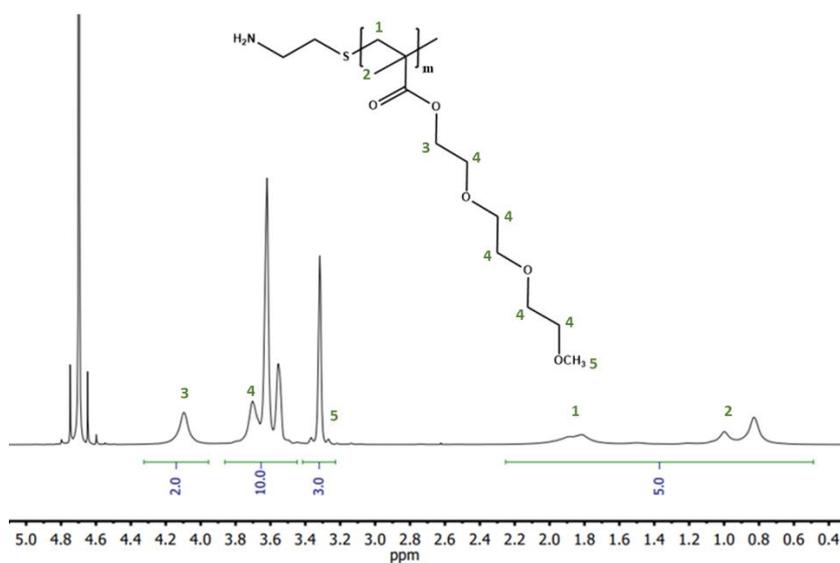


Figure 2.40 : Spectre RMN ^1H de PTEGMA.

- Annexe 8 : P(DEGMA-co-OEGMA₄₇₅) et PAA-g- P(DEGMA-co-OEGMA₄₇₅)

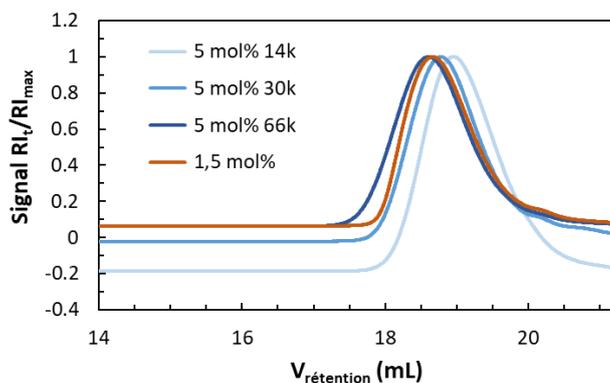


Figure 2.41 : Chromatogrammes GPC des P(DEGMA-co-OEGMA₄₇₅).

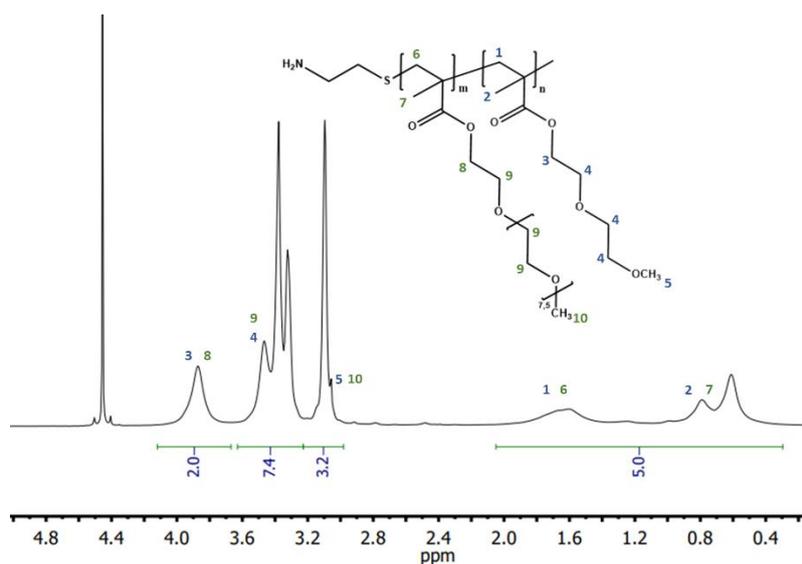


Figure 2.42 : Spectre RMN ¹H de P(DEGMA-co-OEGMA₄₇₅) (DEGMA/OEGMA₄₇₅ : 95/5 mol%, M_n = 14 kg/mol).

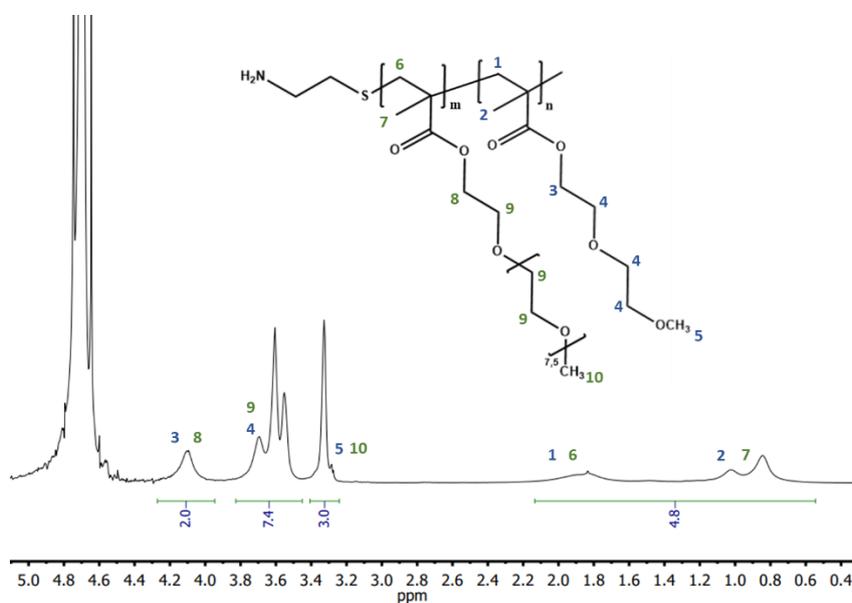


Figure 2.43 : Spectre RMN ¹H de P(DEGMA-co-OEGMA₄₇₅) (DEGMA/OEGMA₄₇₅ : 95/5 mol%, M_n = 30 kg/mol).

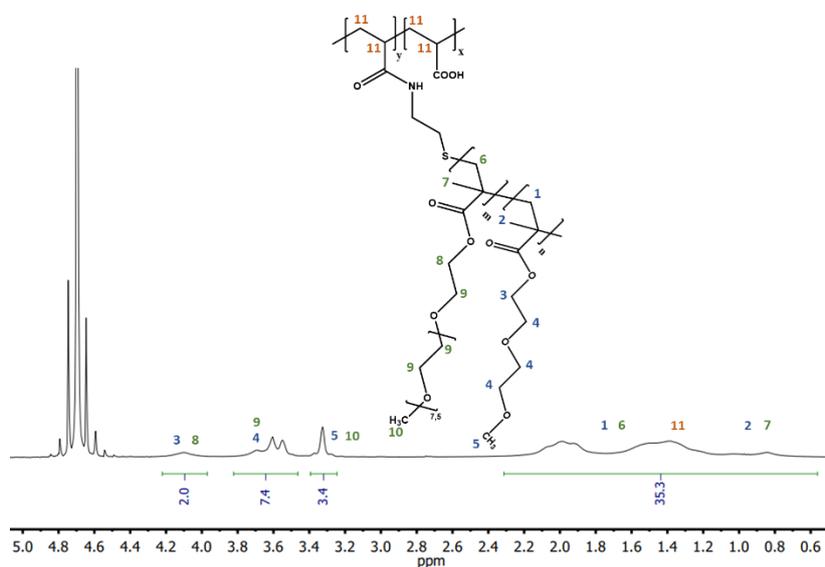


Figure 2.44 : Spectre RMN ^1H de PAA1-O₂₇.

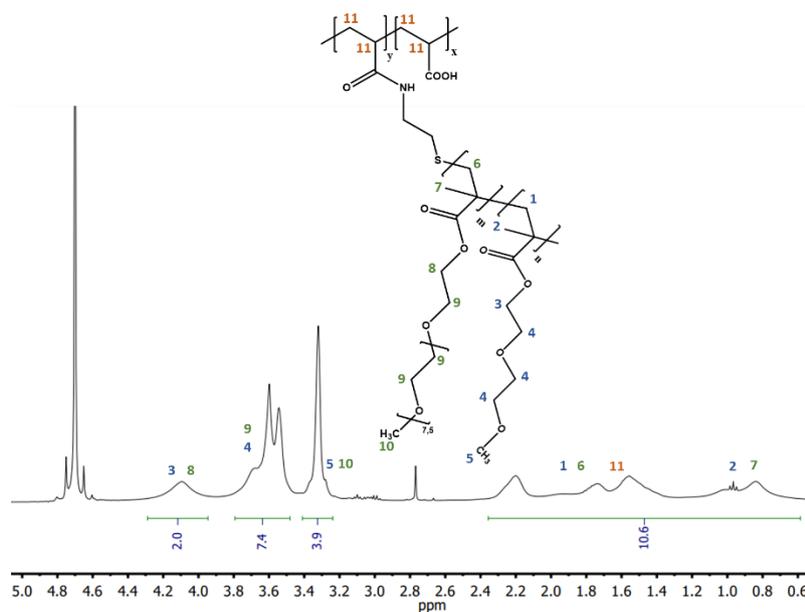


Figure 2.45 : Spectre RMN ^1H de PAA1-O₂₆₅.

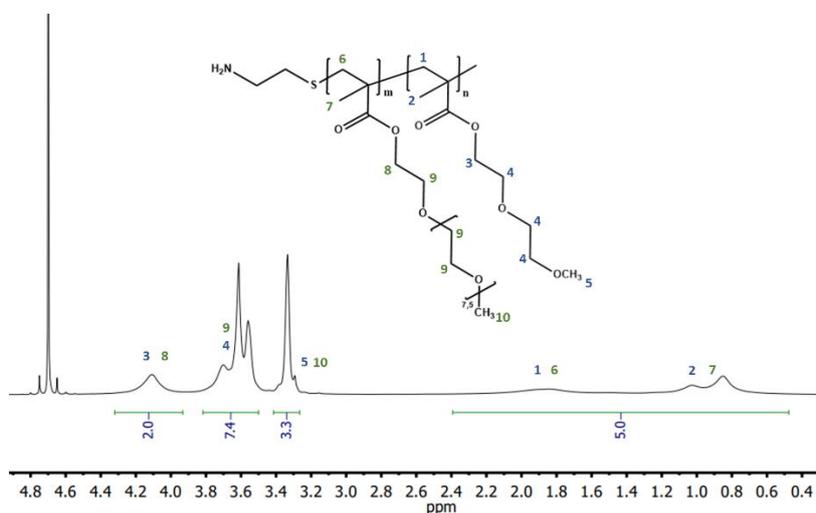


Figure 2.46 : Spectre RMN ^1H de P(DEGMA-co-OEGMA₄₇₅) (DEGMA/OEGMA₄₇₅ : 95/5 mol%, M_n = 66 kg/mol).

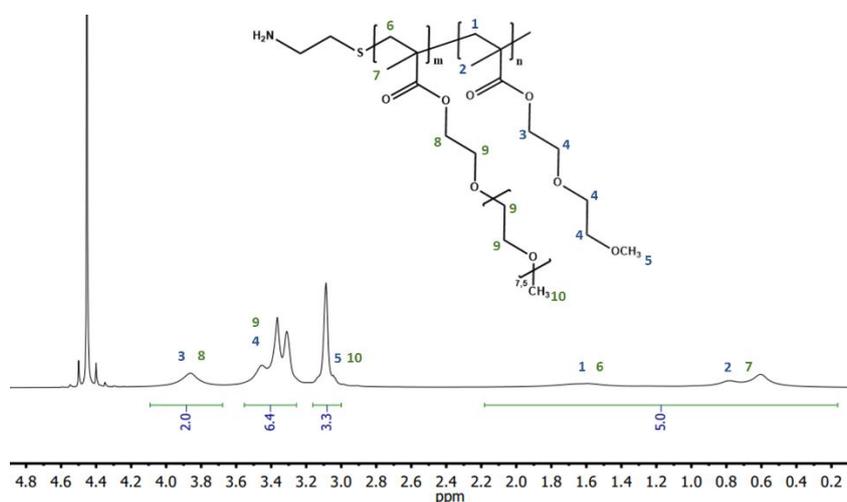


Figure 2.47 : Spectre RMN ^1H de P(DEGMA-co-OEGMA₄₇₅) (DEGMA/OEGMA₄₇₅ : 98,5/1,5 mol%).

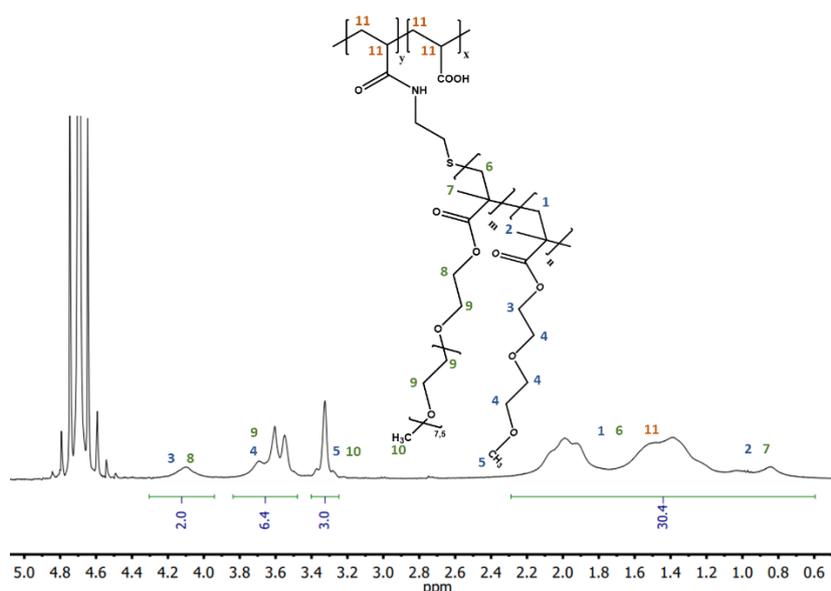


Figure 2.48 : Spectre RMN ^1H de PAA1-O₁₂₇.

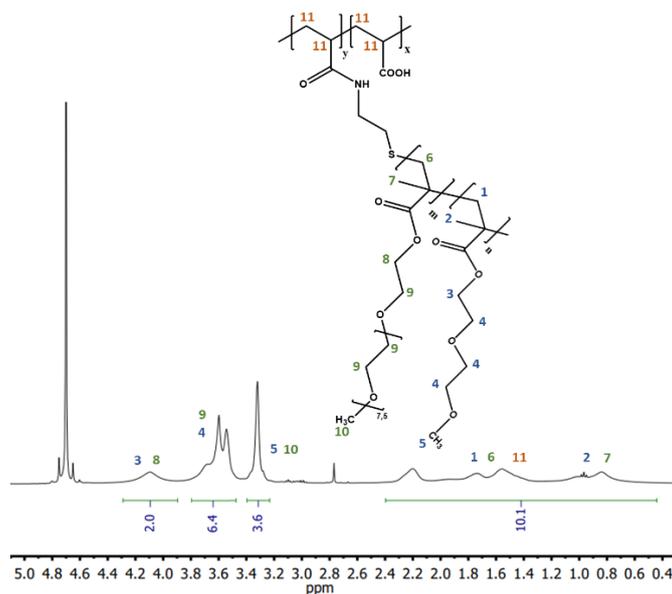


Figure 2.49 : Spectre RMN ^1H de PAA1-O₁₆₅.

Références

1. Durand, A. & Hourdet, D. Synthesis and thermoassociative properties in aqueous solution of graft copolymers containing poly(N -isopropylacrylamide) side chains. *Polymer* **40**, 4941–4951 (1999).
2. Hermanson, G. T. Zero-Length Cross-linkers. in *Bioconjugate Techniques* 169–186 (Elsevier, 1996). doi:10.1016/B978-012342335-1/50004-X.
3. Petit, L., Bouteiller, L., Brûlet, A., Lafuma, F. & Hourdet, D. Responsive Hybrid Self-Assemblies in Aqueous Media †. *Langmuir* **23**, 147–158 (2007).
4. Grasdalen, H., Larsen, B. & Smidsrød, O. A p.m.r. study of the composition and sequence of uronate residues in alginates. *Carbohydrate Research* **68**, 23–31 (1979).
5. McCarthy, K. J., Burkhardt, C. W. & Parazak, D. P. Mark–Houwink–Sakurada constants and dilute solution behavior of heterodisperse poly(acrylamide-co-sodium acrylate) in 0.5M and 1M NaCl. *J. Appl. Polym. Sci.* **33**, 1699–1714 (1987).
6. Lena, J.-B. *et al.* Effect of transfer agent, temperature and initial monomer concentration on branching in poly(acrylic acid): A study by ¹³C NMR spectroscopy and capillary electrophoresis. *Polymer* **114**, 209–220 (2017).
7. Maniego, A. R. *et al.* Degree of branching in poly(acrylic acid) prepared by controlled and conventional radical polymerization. *Polym. Chem.* **10**, 2469–2476 (2019).
8. Vahdati, M., Ducouret, G., Creton, C. & Hourdet, D. Topology-Specific Injectable Sticky Hydrogels. *Macromolecules* **53**, 9779–9792 (2020).

Partie A :

Étude d'un système

modèle :

PAA-g-PNIPAm

Chapitre 3 :

Étude d'un hydrogel injectable
modèle : le poly(acide
acrylique)-g-PNIPAm

Table des matières

CHAPITRE 3 : ÉTUDE D'UN HYDROGEL INJECTABLE MODÈLE : LE POLY(ACIDE ACRYLIQUE)-G-PNIPAM	92
I. Comportement thermoassociatif du PAA1-N67	92
I.1. Introduction	92
I.2. Analyse calorimétrique différentielle à balayage (DSC)	92
I.3. Analyse RMN ¹ H	94
I.4. Analyse viscoélastique	95
I.5. Analyse structurale	98
II. Impact de la concentration en copolymère	101
II.1. Introduction	101
II.2. Analyse calorimétrique	102
II.3. Analyse viscoélastique	102
III. Impact de la concentration en sel	107
III.1. K ₂ CO ₃	107
III.2. Tampon Phosphate Salin (PBS)	109
IV. Étude des propriétés d'adhésion	109
IV.1. Introduction	109
IV.2. Impact de la température sur les propriétés d'adhésion	110
IV.3. Impact de la concentration sur l'adhésion	116
V. Conclusion	118
Annexes	119
Références	121

Chapitre 3 : Étude d'un hydrogel injectable modèle : le poly(acide acrylique)-g-PNIPAm

Ce chapitre est consacré à l'analyse détaillée des propriétés thermoassociatives d'un copolymère PAA-g-PNIPAm d'architecture donnée. Cette étude, qui combine un large spectre de techniques de caractérisations physico-chimiques (DSC, RMN, analyse structurale, rhéologie, adhésion) a pour objectif de quantifier les propriétés des solutions thermogélifiantes de ce copolymère. Ce travail servira de référence pour les études suivantes qui seront réalisées en modifiant l'architecture macromoléculaire.

I. Comportement thermoassociatif du PAA1-N67

I.1. Introduction

Le PAA-g-PNIPAm étudié dans ce chapitre a été préparé par greffage de chaînons PNIPAm de masse molaire $M_n = 38$ kg/mol sur un squelette de poly(acide acrylique) de masse molaire M_v égale à 230 kg/mol (PAA1). L'analyse RMN ^1H donne un rapport massique PAA1/PNIPAm de 33/67, ce qui conduit à la nomenclature PAA1-N67, comme défini au chapitre précédent.

Les caractéristiques du PAA1-N67 sont résumées dans le Tableau 3.1. Les RMN et chromatogrammes de PAA1-N67 et des greffons PNIPAm sont présentés dans le Chapitre 2 (cf. Annexes 1 et 2).

Tableau 3.1 : Caractéristiques de PAA1-N67.

	PAA1	PNIPAm	PAA1-N67
M_n, M_w (kg/mol)	/	38, 61	244, 818
M_v (kg/mol)	230	/	/
T_{as} ; $T_{sol-gel}$ (°C), 4,8 wt% eau	/	/	32,6 ; 34,5

Ce premier paragraphe est consacré à l'analyse du comportement thermoassociatif d'une solution de PAA1-N67, à 4,8 wt% dans l'eau. Cette étude détaillée va nous permettre de préciser les principales caractéristiques des solutions thermogélifiantes qui serviront de base dans toute la suite de ce travail.

I.2. Analyse calorimétrique différentielle à balayage (DSC)

D'une manière générale, les caractéristiques thermiques des solutions de polymères à base de PNIPAm peuvent être aisément analysées par DSC. En effet, le phénomène de séparation de

phase des systèmes à LCST présente généralement un endotherme lors du processus de démixtion par chauffage, correspondant à la réorganisation des interactions entre les unités monomères et les molécules d'eau. Comme indiqué sur la Figure 3.1, avec la solution de greffons PNIPAm, le début de la transition de phase ($T_{as(DSC)}$) peut être clairement observé autour de 35 °C avec un maximum de l'endotherme situé à $T_{max} = 35,8$ °C.

Dans le cas du copolymère greffé PAA1-N67, on note un léger décalage de la température d'association avec un début d'association vers 31,2 °C et un maximum à 33,1 °C. Cette diminution peut être attribuée à un effet de salting-out associé aux contre-ions Na^+ du squelette qui sont ici en concentration relativement élevée ($[Na^+] \cong 0,17$ mol/L). On note également que l'endotherme normalisé par rapport au nombre de moles d'unités NIPAm est plus faible dans le cas du copolymère ($\Delta H \cong 3$ kJ/mol_{NIPAm}) comparativement à la solution de greffons PNIPAm ($\Delta H \cong 5$ kJ/mol_{NIPAm}). Alors que cette dernière valeur est tout à fait conforme à celles reportées dans la littérature pour des concentrations similaires (4,2 kJ/mol_{NIPAM} pour 1 wt%¹ ou 4,3 kJ/mol_{NIPAM} pour 0,5 wt%²), l'enthalpie plus faible obtenue pour le copolymère peut être associée à une plus faible déshydratation des greffons dans les domaines concentrés formés au cours de la séparation de phase. Ceci peut être la conséquence d'une diminution du caractère hydrophobe du copolymère en raison des interactions électrostatiques répulsives imposées par le squelette PAA qui entraîne une contrainte supplémentaire pour l'association des greffons thermosensibles.

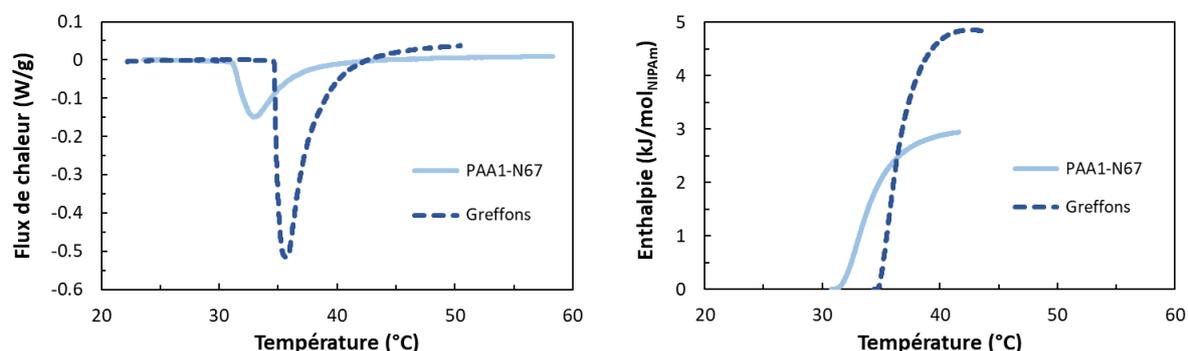


Figure 3.1 : (Gauche) Thermogrammes des solutions de greffons PNIPAm et de copolymère (PAA1-N67) à la concentration de 4,8 wt% dans l'eau ; (Droite) Intégrales des thermogrammes (enthalpies).

Globalement, on retiendra de cette première observation par calorimétrie que le processus de démixtion se déroule sur un domaine de température compris entre 31 et 42 °C et que l'enthalpie plus faible qui en résulte pourrait signaler une déshydratation globale moins importante avec éventuellement la possibilité d'une fraction de greffons PNIPAm non associés.

I.3. Analyse RMN ^1H

Afin de compléter l'étude précédente, nous avons également effectué l'analyse RMN ^1H de la solution de PAA1-N67, à 4,8 wt%, en fonction de la température. En effet, il est possible dans ces conditions de suivre l'évolution du processus de séparation de phase des greffons qui se manifeste par une diminution importante de la mobilité des chaînes à l'état associé et la disparition progressive de leur signature en RMN ^1H . L'analyse RMN s'effectuant dans le D_2O , on s'attend également à ce que l'association des greffons thermosensibles soit légèrement décalée de quelques degrés vers les plus hautes températures comparativement aux mêmes solutions préparées dans H_2O ^{3,4}.

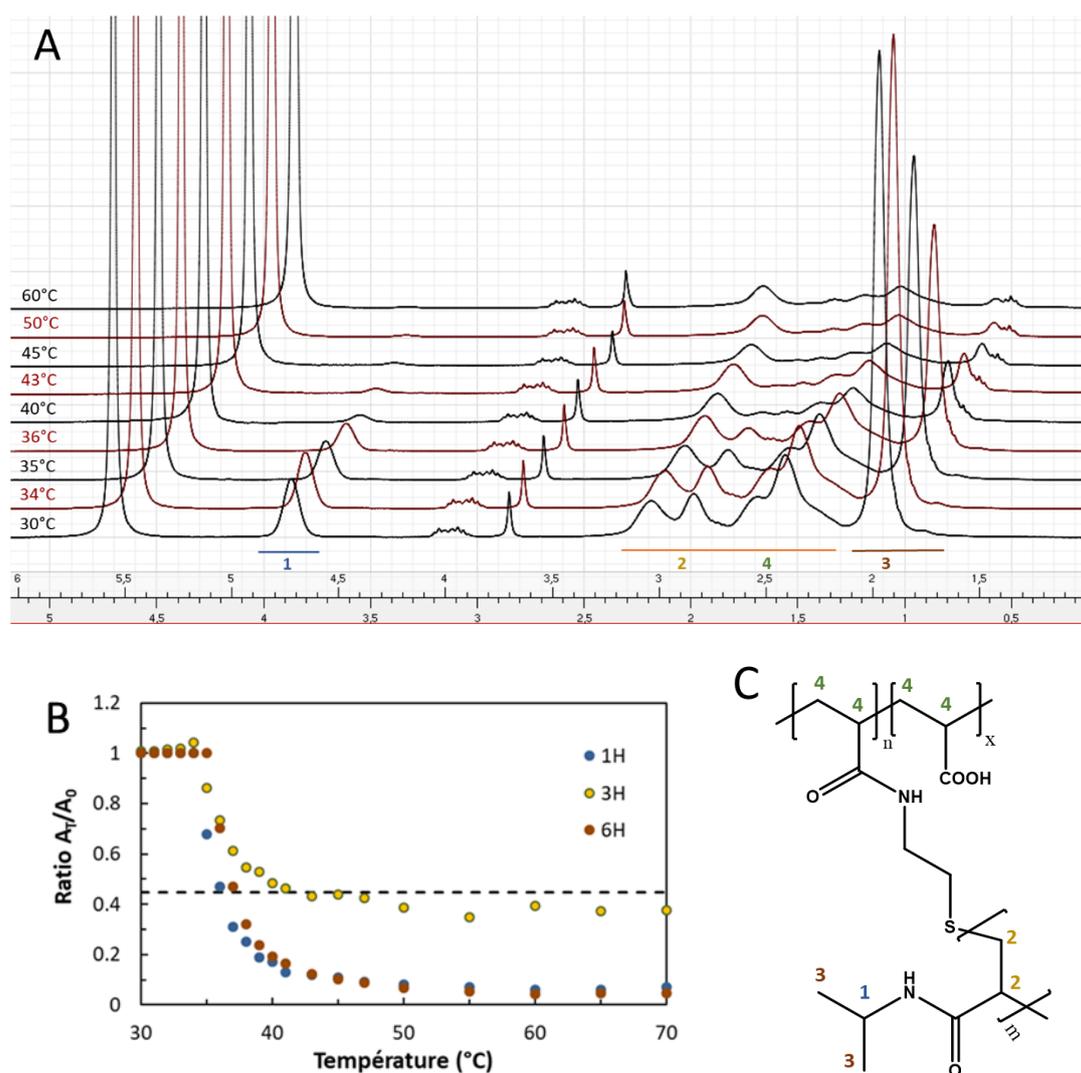


Figure 3.2 : (A) Variation des signaux RMN ^1H en fonction de la température pour le copolymère PAA1-N67, à 4,8 wt% dans D_2O ;
 (B) Ratio des intégrations RMN pour chaque température, avec A_T : aire à x °C et A_0 : aire à 30 °C ; (C) Structure du copolymère de PAA-g-PNIPAm.
 Les pics entre 2,7 et 3,2 ppm sont dus à de l'EDC résiduel.

L'analyse en température reportée sur la Figure 3.2 met clairement en évidence le processus de thermoassociation avec les deux signaux propres au PNIPAm ($\delta = 1,1$ ppm pour 6H et $\delta = 3,9$ ppm pour 1H), qui disparaissent majoritairement entre 35 et 45 °C. En effet, au-delà de 45 °C, le ratio A_T/A_0 (aire à x°C/aire à 30 °C) diminue très peu. De même, pour les signaux communs au PAA et au PNIPAm (CH₂ et CH entre 1,3 et 2,5 ppm), l'intensité se stabilise aux alentours de la valeur attendue de 0,45 (ligne en pointillé) correspondant alors aux seuls protons du PAA.

Comparativement à la calorimétrie, il est donc possible de conclure que la transition de phase des greffons PNIPAm, associée au processus de déshydratation/réarrangement des unités NIPAm, se déroule très majoritairement sur un intervalle d'environ 10 °C, entre 31 et 42 °C selon la calorimétrie réalisée dans H₂O et entre 35 à 45 °C dans D₂O, d'après la RMN. Au-delà de cette température, si le signal de DSC n'évolue plus, on constate par RMN une diminution faible mais continue de l'intensité relative entre 45 et 70 °C (A_T/A_0 variant de 10 % à 5 %), pour les signaux associés au PNIPAm seul, traduisant ainsi l'existence d'une faible fraction résiduelle d'unités NIPAm mobiles qui continue de diminuer en allant vers de plus hautes températures.

I.4. Analyse viscoélastique

Maintenant que nous avons mis en évidence comment la température influait sur les propriétés en solution des greffons PNIPAm, nous allons nous intéresser au comportement viscoélastique de cette même solution de PAA1-N67. Comme représenté sur la Figure 3.3, la variation des modules élastique (G') et visqueux (G''), mesurée à une fréquence de 1 Hz, permet de mettre en évidence trois domaines de température distincts en parfaite corrélation avec les études précédentes.

On notera que pour ce copolymère, et cela reste vrai pour l'ensemble des dérivés à base de PNIPAm, les courbes de chauffage et refroidissement sont superposables (cf. Figure 3.3) et montre l'absence d'hystérèse. Ceci suggère une réponse cinétique suffisamment rapide dans nos conditions d'observation permettant de justifier des états intermédiaires à l'équilibre thermodynamique.

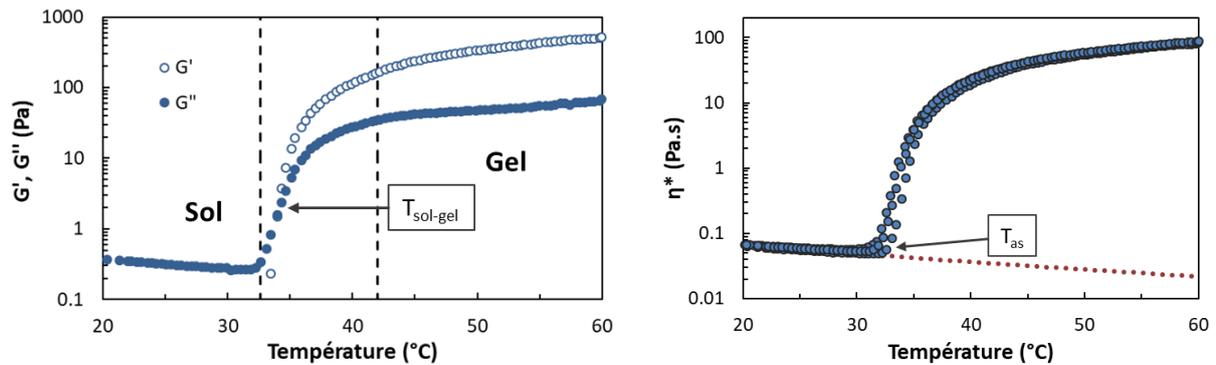


Figure 3.3 : Propriétés thermogélifiantes de PAA1-N67, à 4,8 wt% eau ;
 (Gauche) Détermination de la $T_{sol-gel}$, pour $G' = G''$, (Droite) Détermination de la T_{as} , à partir du comportement Arrhénien de la viscosité dans l'état non associé (•••).

Les trois domaines de température sont les suivants :

1) Un premier régime liquide, appelé « sol », avec $G'' \gg G'$. Dans ce domaine, le module élastique est trop faible pour pouvoir être mesuré correctement ($< 0,2$ Pa) à cette concentration et seul G'' , proportionnel à la viscosité complexe ($\eta^* = G''/\omega$, avec $\omega = 2\pi f$), permet de décrire le comportement visqueux qui suit une loi d'Arrhenius de la forme :

$$\text{Équation 3.1 : } \eta^* = A e^{(E_\eta/RT)}$$

Avec, R : constante des gaz parfaits, T : température, E_η : énergie d'activation pour l'écoulement visqueux et A : constante.

Ce régime perdure jusqu'à la température T_{as} , soit ici de 20 à 32,6 °C ; T_{as} étant définie ici comme la température à partir de laquelle l'association des greffons thermosensibles conduit à une augmentation notable (cf. Chapitre 2) de la viscosité complexe η^* (cf. Figure 3.3). Cette température T_{as} est légèrement supérieure à la température de début de transition de phase des greffons mesurée par DSC car il faut un nombre suffisant d'associations inter-chaînes pour provoquer des modifications observables au niveau macroscopique.

2) Une zone de transition au-delà de T_{as} . La viscosité et les modules G' et G'' augmentent fortement pour conduire à une transition sol-gel caractérisée par la température de croisement des modules ($T_{sol-gel} = 34,5$ °C). La fin de ce régime est définie à partir de la température où l'évolution des modules et de la viscosité ralentit fortement ($T_2 \cong 42$ °C). Comme indiqué sur la Figure 3.4, les limites de ce domaine, T_{as} et T_2 , peuvent être déterminées à partir de l'Équation 3.1, en portant le logarithme de la viscosité dynamique en fonction de l'inverse de la température.

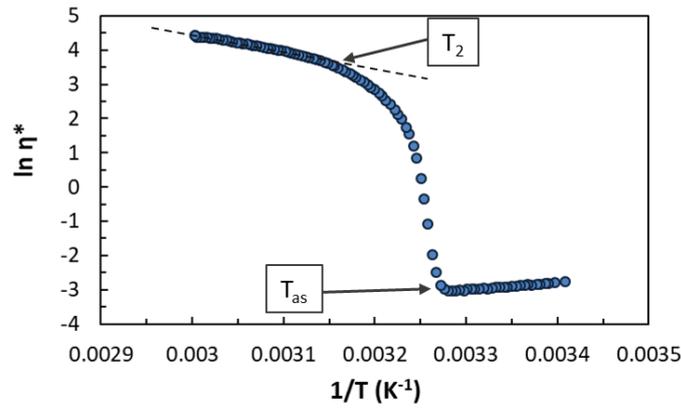


Figure 3.4 : Détermination des températures caractéristiques T_2 et T_{as} , pour PAA1-N67 (4,8 wt% eau).

3) Un régime élastique, appelé « gel », avec $G' \gg G''$. Les modules et la viscosité sont alors peu dépendants de la température. De même, comme indiqué sur la Figure 3.5, les modules G' et G'' mesurés à haute température ($T = 60\text{ °C}$) restent pratiquement indépendants de la fréquence. Ceci signifie que les liaisons formées lors de la transition de phase ont une durée de vie suffisamment longue pour empêcher la relaxation des chaînes macromoléculaires dans nos conditions d'observation ($t < 16\text{ s} \cong 1/\omega$).

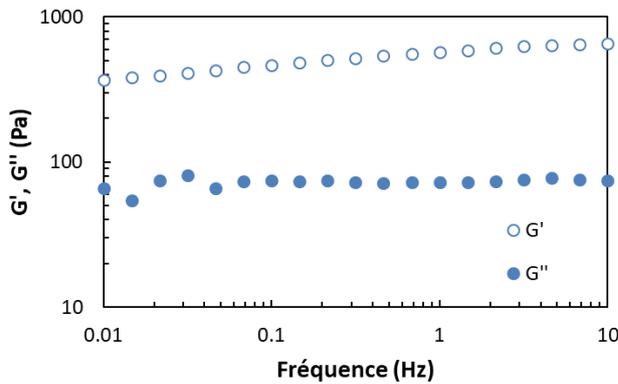


Figure 3.5 : Propriétés viscoélastiques de PAA1-N67, à 60 °C, en fonction de la fréquence ($C_p = 4,8\text{ wt\%}$ dans l'eau).

Afin de rationaliser ces résultats, il est possible de normaliser la viscosité complexe de la solution par rapport à un état de référence « non associé ». Ce dernier, qui est observé uniquement à basse température ($T < T_{as}$), peut être extrapolé sur tout le domaine de température à partir du comportement Arrhénien de la viscosité (η_{th}^*) mesuré pour $T < T_{as}$ (cf. Figure 3.3). Une viscosité relative (η_{rel}^*) peut alors être calculée en divisant pour chaque température la viscosité complexe expérimentale (η_{exp}^*) par la viscosité complexe théorique (η_{th}^*) ; soit :

$$\text{Équation 3.2 : } \eta_{rel}^* = \frac{\eta_{exp}^*}{\eta_{th}^*}$$

La variation de ce rapport η_{rel}^* en fonction de la température (cf. Figure 3.6) permet d'apprécier l'amplitude du phénomène thermoassociatif et ainsi celui du caractère thermogélifiant qui

permet notamment de comparer les différents systèmes entre eux. Dans le cas de PAA1-N67, à 4,8 wt%, le rapport $\frac{\eta_{rel 60^\circ C}^*}{\eta_{rel 20^\circ C}^*}$ est de 3800.

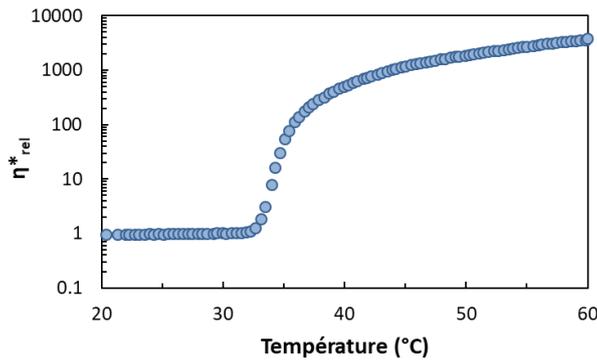


Figure 3.6 : η_{rel}^* en fonction de la température, pour PAA1-N67, à 4,8 wt% eau.

I.5. Analyse structurale

I.5.1. Diffusion des rayons-X aux petits angles (SAXS)

Cette même solution de PAA1-N67 a également été étudiée par diffusion des rayons-X aux petits angles sur la ligne SWING de SOLEIL et la variation d'intensité diffusée en fonction de la température est reportée sur la Figure 3.7. Les clichés obtenus sont présentés dans l'Annexe 2 (cf. Figure 3.31). Les clichés ne montrent aucune anisotropie pour toutes les températures testées.

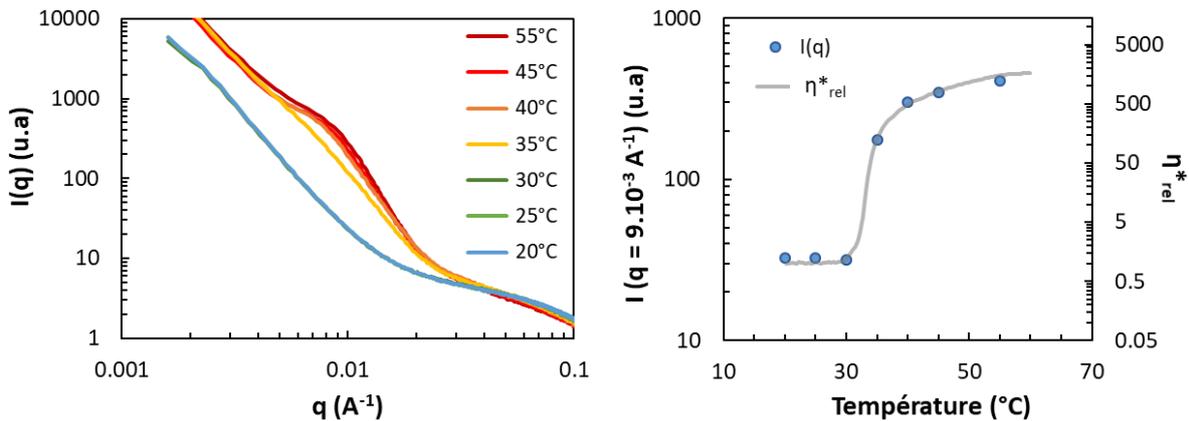


Figure 3.7 : (Gauche) Variation de l'intensité diffusée en fonction de la température ; (Droite) Comparaison des variations de l'intensité diffusée à $q_{max} = 9.10^{-3} \text{ \AA}^{-1}$ et de la viscosité relative en fonction de la température.

De manière qualitative, sur la Figure 3.7, on note tout d'abord un même comportement pour les trois températures les plus basses (de 20 à 30 °C) suivi d'une forte augmentation d'intensité à partir de 35 °C faisant apparaître un pic de corrélation vers $q_{max} = 9.10^{-3} \text{ \AA}^{-1}$. On remarque également que l'augmentation d'intensité diffusée résultant de l'observation à l'échelle

nanoscopique est parfaitement corrélée à la variation des propriétés macroscopiques comme représenté avec la viscosité relative (cf. Figure 3.7 (Droite)).

Le pic de corrélation observé à $q_{\max} \cong 9.10^{-3} \text{ \AA}^{-1}$ suggère la formation de domaines concentrés de PNIPAm lors de la séparation de phase avec une distance caractéristique de l'ordre de $d = 2\pi/q_{\max}$, soit environ 70 nm. Parallèlement au processus de transition de phase qui se manifeste pour $T \geq 35 \text{ }^\circ\text{C}$, la variation de l'intensité diffusée dans le régime asymptotique suit une loi de Porod ($I(q) \sim q^{-4}$) caractéristique de la formation d'un système biphasique séparé par des interfaces nettes. Ce type de signature qui a été largement décrit pour des systèmes thermoassociatifs, notamment par diffusion des neutrons aux petits angles (SANS)^{5,6}, est généralement modélisé en supposant la formation de domaines sphériques polydisperses riches en PNIPAm interagissant avec des répulsions de type sphères dures. Néanmoins, lors d'études récentes réalisées par Guo *et al.*⁷ sur des copolymères poly(*N,N*-diméthylacrylamide)-*g*-PNIPAm (PDMA-*g*-PNIPAm) ou de topologie inverse (PNIPAm-*g*-PDMA), la similitude des caractéristiques multi-échelles obtenue avec ces deux copolymères a ouvert l'hypothèse vers la possibilité d'une structure bi-continue pour le copolymère hydrophile à greffons PNIPAm telle que représentée sur la Figure 3.8.

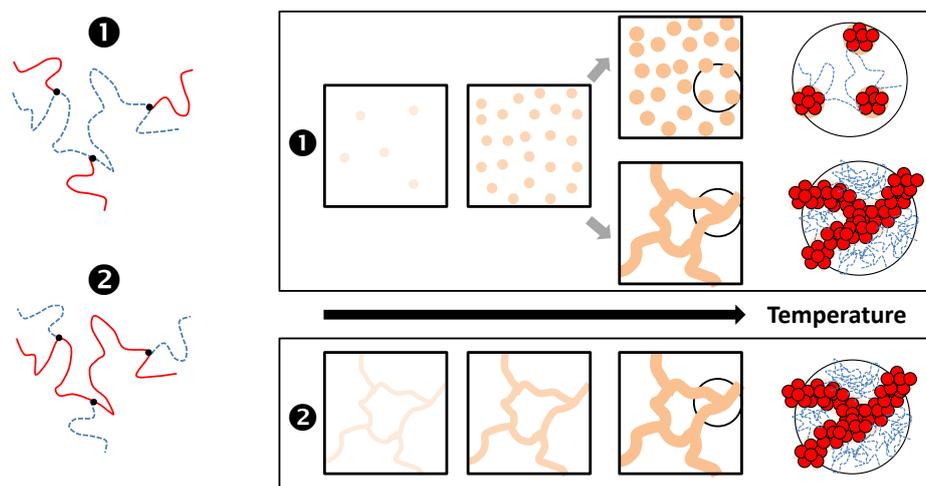


Figure 3.8 : Représentation schématique des processus de thermoassociation proposée pour les copolymères de topologies inverses, PDMA-*g*-PNIPAm (❶) et PNIPAm-*g*-PDMA (❷) en solution dans l'eau⁷.

Quel que soit le type de thermoassociation observé, il s'agit bien d'une séparation de phase à l'échelle nanoscopique faisant apparaître des domaines riches en PNIPAm qui pourraient être soit des domaines isolés reliés entre eux par les chaînes hydrophiles, soit une structure bicontinue avec une phase concentrée en PNIPAm et une phase hydrophile très gonflée.

I.5.2. Analyse Cryo-TEM

Pour compléter l'étude précédente, la solution de PAA1-N67 a également été étudiée par cryo-microscopie électronique à transmission (cryo-TEM). Le copolymère a été étudié en milieu 0,5 M K_2CO_3 afin de pouvoir obtenir un hydrogel à température ambiante et ainsi de maîtriser la succession rapide des étapes de préparation, à savoir 1) le dépôt d'une goutte liquide sur la grille, 2) l'absorption de l'excédent de matériel avec un papier filtre, 3) la gélification à température ambiante suivi par 4) une trempe très rapide dans l'éthane liquide.

Cette analyse, qui a été répétée deux fois sur la solution de PAA1-N67 et complétée par une étude sur un échantillon thermoassociatif de nature voisine, a conduit à une série d'images telles que celle présentée sur la Figure 3.9. Bien qu'il s'agisse d'une première étude par cryo-TEM d'une solution de copolymère greffé à base de PNIPAm, étude qui devra être répétée dans l'avenir dans des conditions mieux contrôlées, on retrouve sur ces clichés des morphologies semblables à celle schématisée dans le cas d'une structure bicontinue avec des murs sombres attribuables aux domaines concentrés en PNIPAm alternant avec des zones plus claires pouvant correspondre aux zones hydrophiles diluées.

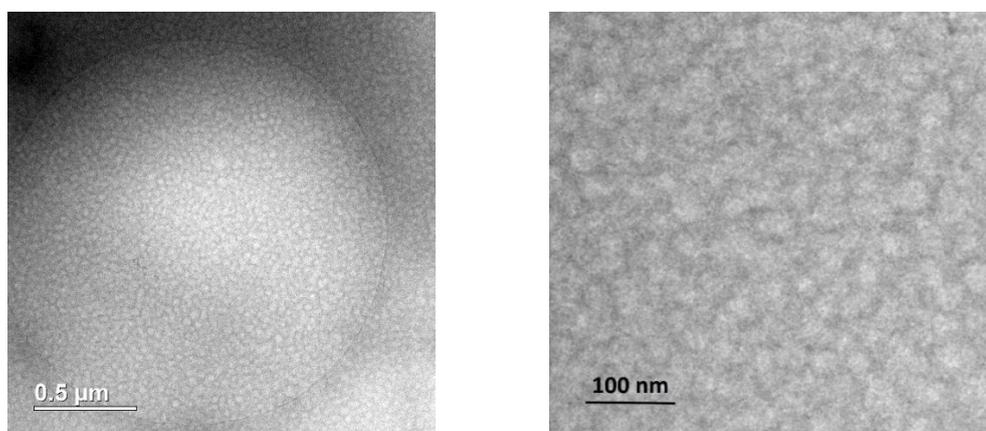


Figure 3.9 : Images obtenues par cryo-TEM d'une solution de PAA1-N67, à 4,8 wt% dans du K_2CO_3 0,5 M.

En conclusion de cette première partie, nous avons montré qu'à basse température ($T < T_{as}$), les greffons PNIPAm sont solubles dans l'eau et la solution de copolymère greffé se comporte comme une solution classique de polymère en milieu semi-dilué. Lorsque la solution est chauffée au-delà de la température de séparation de phase des greffons, ces derniers se déshydratent progressivement et se séparent de la phase aqueuse majoritaire pour former des domaines concentrés en PNIPAm. Malgré leur mobilité réduite, la réversibilité totale et l'absence d'hystérèse pour le comportement viscoélastique suggère une réhydratation très rapide des greffons au cours du refroidissement et l'absence d'un état vitreux à proprement

parlé. Au-delà de 42 °C, en absence de variation du signal en DSC, la légère augmentation des modules avec la température peut être corrélée avec la faible diminution du signal RMN suggérant un renforcement des domaines hydrophobes et donc une augmentation du nombre et/ou de la concentration en PNIPAm dans ces domaines. Via une analyse plus détaillée effectuée par diffusion des neutrons, une conclusion a par ailleurs été proposée par Guo *et al.*⁷ avec des systèmes très similaires de type PDMA-g-PNIPAm ou de topologie inverse PNIPAm-g-PDMA. Comme représenté sur la Figure 3.10, ces auteurs ont suivi l'évolution du produit de la fraction volumique en PNIPAm dans les domaines (ϕ_{PNIPAm}) par la fraction de motifs NIPAm participant à ces mêmes domaines (f_{PNIPAm}), au-delà de la température de transition de phase. Ils observent ainsi une augmentation importante du pourcentage en PNIPAm dans les domaines hydrophobes entre 35 et 45 °C, indépendamment de la topologie. Cette augmentation rapide est liée à l'association des greffons à LCST qui se déshydratent rapidement. Au-delà de 45 °C, la concentration continue d'augmenter mais de manière plus faible. À titre de comparaison avec une topologie similaire à notre système (PDMA-g-PNIPAm), à 8 wt%, le produit ($\phi_{\text{PNIPAm}} * f_{\text{PNIPAm}}$) au sein des domaines passe de 16 % à 60 %, entre 35 et 45 °C, puis de 60 % à 75 %, entre 45 et 60 °C.

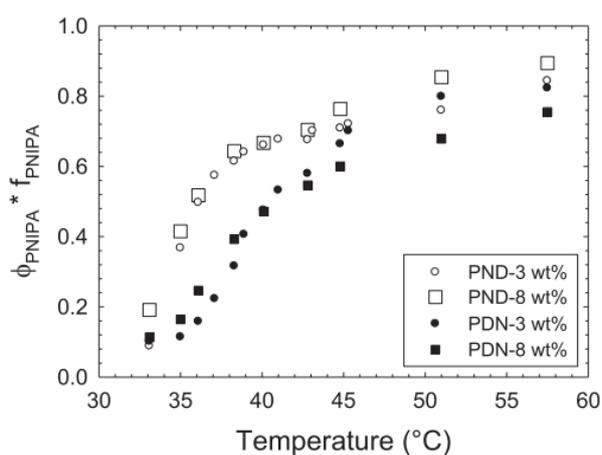


Figure 3.10 : Évolution de la proportion en PNIPAm dans les domaines associés en fonction de la température pour des solutions de PNIPAm-g-PDMA (PND) et de PDMA-g-PNIPAm (PDN), à 3 et 8 wt% dans l'eau⁷.

Enfin, on notera qu'à cette concentration de 4,8 wt%, la solution de PAA1-N67 possède une T_{as} de 32,6 °C et une $T_{\text{sol-gel}}$ de 34,5 °C qui rentrent parfaitement dans les critères de température envisagées dans le cadre d'une application biomédicale ; l'objectif étant d'obtenir une T_{as} entre 26 et 33 °C pour avoir une $T_{\text{sol-gel}}$ inférieure à 37 °C.

II. Impact de la concentration en copolymère

II.1. Introduction

Dans le cadre de systèmes thermogélifiants, la concentration en polymère est un paramètre clé qui permet de modifier à la fois les propriétés mécaniques des gels obtenus et les températures

caractéristiques du processus de thermoassociation (T_{as} et $T_{sol-gel}$). De plus, dans le cadre de systèmes injectables, la concentration en polymère joue également un rôle important sur la viscosité de la solution à température ambiante. Ainsi, dans l'état non associé, la concentration ne doit pas être trop importante pour éviter une viscosité trop élevée qui pourrait nuire au caractère injectable.

II.2. Analyse calorimétrique

Une première étude par calorimétrie permet de comparer la transition de phase des chaînes PNIPAm greffés en fonction de la concentration en copolymère. Comme on peut le constater sur la Figure 3.11, le pic endothermique se déplace légèrement vers les plus basses températures lorsque la concentration augmente. De même, les enthalpies de transition augmentent avec la concentration pour atteindre des valeurs de 4-4,5 kJ/mol_{NIPAm}, pour 6,5 et 9,1 wt%. Les valeurs obtenues se rapprochent ainsi des enthalpies communément reportées pour le PNIPAm. D'un point de vue enthalpique, le signal ne semble plus évoluer au-delà de 40 °C, quelle que soit la concentration.

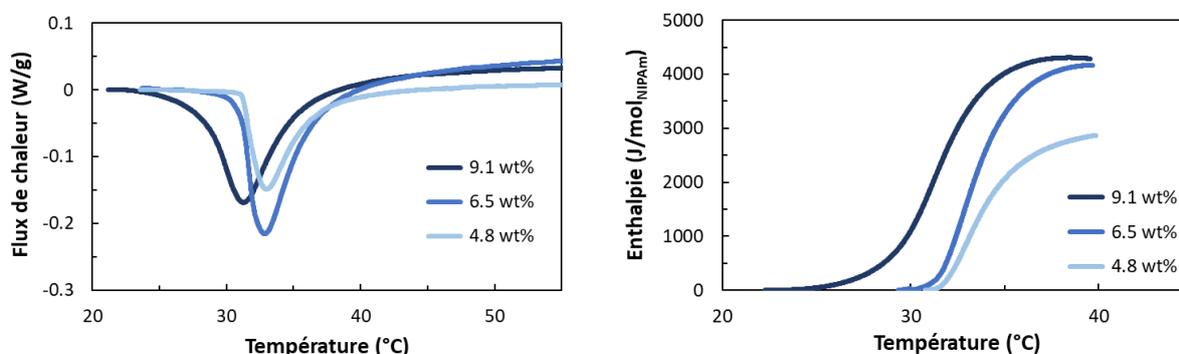


Figure 3.11 : (Gauche) Thermogrammes obtenus par DSC pour PAA1-N67 dans l'eau (chauffage, 2 °C/min) ; (Droite) Enthalpie en fonction de la température pour les différentes concentrations testées.

II.3. Analyse viscoélastique

II.3.1. Comportement thermoassociatif

L'impact de la concentration sur le processus de thermoassociation est un aspect qui a été très étudié et qui a déjà été reporté pour des systèmes semblables au nôtre (PAA-g-PNIPAm⁸) ou relativement proches tels que le PAA-g-P(NIPAm-co-DMA)⁹. Généralement, pour ces systèmes thermogélifiants, l'augmentation de la concentration entraîne une diminution des températures caractéristiques, T_{as} et $T_{sol-gel}$.

Pour simplifier la représentation graphique, nous avons uniquement porté sur la Figure 3.12, la variation de la viscosité complexe en fonction de la température pour les différentes

concentrations étudiées entre 0,5 et 9,1 wt%. Le tracé des modules en fonction de la température pour la plage de concentration testée est présenté dans l'Annexe 1 (cf. Figure 3.28).

Avec ce type de représentation, il est important de noter que pour $T < T_{as}$, η^* est comparable à la viscosité newtonienne alors qu'à très haute température, typiquement à $T = 60\text{ }^\circ\text{C}$, la viscosité complexe est proportionnelle au module élastique pour les systèmes gélifiés ($\eta^* \cong G'/\omega$).

Dans cette gamme de concentration, la solution la plus diluée ($C_p = 0,5\text{ wt}\%$) présente une $T_{sol-gel}$ très élevée avec un croisement de G' et G'' à $51\text{ }^\circ\text{C}$. Pour toutes les autres concentrations, la transition sol-gel est observée dans la gamme de $30\text{ à }40\text{ }^\circ\text{C}$ avec une diminution progressive des températures caractéristiques (T_{as} et $T_{sol-gel}$) lorsque la concentration en polymère augmente (cf. Figure 3.12).

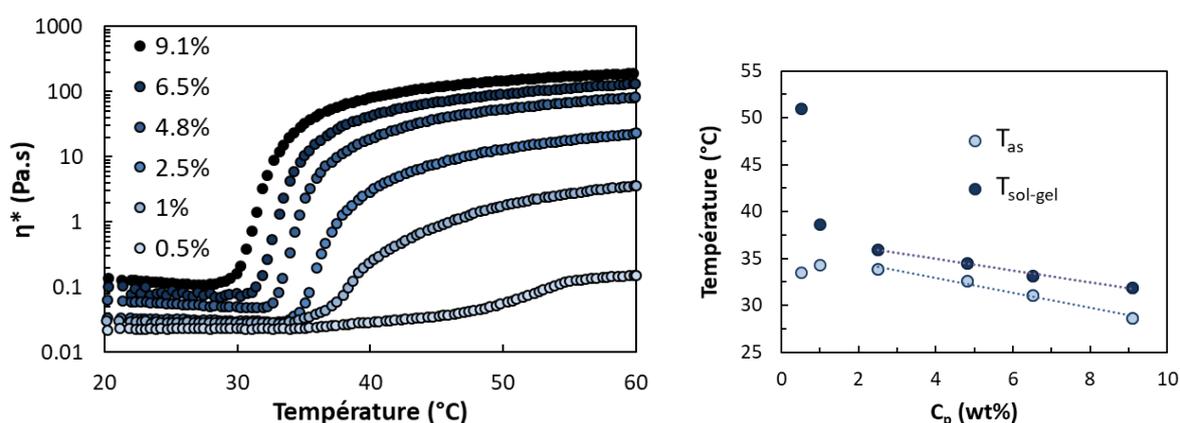


Figure 3.12 : (Gauche) Caractère thermogélifiant pour différentes concentrations en polymère, (Droite) T_{as} et $T_{sol-gel}$ pour chaque concentration.

Cette diminution des températures T_{as} et $T_{sol-gel}$, qui est généralement plus importante dans le cas des chaînes polyélectrolytes, s'explique tout d'abord par l'augmentation de la force ionique avec la concentration en copolymère. Cela conduit d'une part à un écrantage croissant des répulsions électrostatiques entre les chaînes de PAA et d'autre part à un effet de « salting-out » sur les chaînes de PNIPAm qui tendent à s'associer à de plus basses températures. Dans notre système où il existe une compétition entre les interactions électrostatiques répulsives des squelettes PAA chargés négativement et l'association des greffons par interaction hydrophobe, l'augmentation de la concentration en polymère va donc déplacer le phénomène vers de plus faibles températures en favorisant à la fois une diminution des répulsions et un renforcement des interactions attractives hydrophobes.

On notera également que pour les concentrations testées les températures d'association obtenues par DSC ($T_{as(DSC)}$) sont toutes légèrement inférieures à celles obtenues par rhéologie (cf. Tableau 3.2). Comme décrit précédemment, ce léger décalage suggère que les premiers stades de la transition de phase correspondent plutôt à une transition de type pelote/globule des

greffons isolés (interactions intra-chaînes), ne conduisant pas immédiatement à la formation de liaisons inter-chaînes élastiquement actives.

Tableau 3.2 : Températures d'association obtenues par rhéologie et DSC, pour PAA1-N67.

C_p	4,8 wt%	6,5 wt%	9,1 wt%
T_{as} (°C)	32,6	31,1	28,7
T_{as} (DSC) (°C)	31,2	30,6	25,2

Indépendamment de cet effet de force ionique, la proximité des chaînes qui augmente avec la concentration va également favoriser la formation de connexions inter-chaînes au profit de liaisons intra-chaînes prédominantes à faible concentration. Cette transition intra/inter se manifeste par ailleurs à travers les écarts de température entre T_{as} et $T_{sol-gel}$ qui sont plus importants pour les solutions les moins concentrées. Dans notre cas, pour $C_p = 1$ wt%, l'écart entre T_{as} et $T_{sol-gel}$ est de 4,4 °C contre 2-3 °C pour les concentrations supérieures.

II.3.2. Analyse des paramètres-clés

D'après la Figure 3.12, plusieurs caractéristiques importantes peuvent être distinguées à partir du comportement thermoassociatif :

- ❶ la viscosité de la solution à basse température,
- ❷ la température d'association,
- ❸ la thermodynamique du processus d'association qui impacte la variation de viscosité dans le domaine de transition,
- ❹ le module du gel obtenu à 37 °C et à plus haute température.

❶ Afin de discuter ces paramètres, nous avons porté sur la Figure 3.13 la variation de la viscosité complexe à 20 °C en fonction de la concentration. Dans l'état non associé, et à cette fréquence de travail, η^* peut être assimilée à la viscosité newtonienne, ce qui a été vérifié expérimentalement avec la variation linéaire de G'' avec ω . Cette représentation log-log permet de mettre en évidence les deux domaines de concentration du régime semi-dilué, non enchevêtré et enchevêtré, de part et d'autre de la concentration d'enchevêtrement que nous estimons ici de l'ordre de $C_e = 2,5$ wt%.

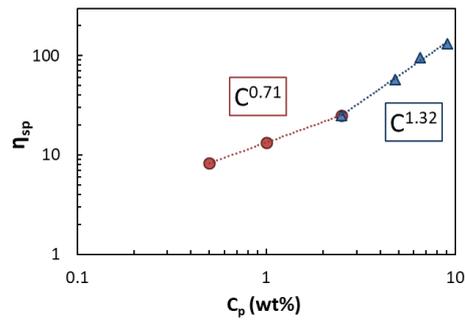


Figure 3.13 : Régimes de concentration pour PAA1-N67, à 20 °C dans l'eau.

Les exposants obtenus pour les lois d'échelle, $\eta_{sp} \sim C^{0,71}$ et $\eta_{sp} \sim C^{1,32}$, sont en bon accord avec les valeurs théoriques prédites pour les polyélectrolytes en absence de sel ajouté¹⁰ : $\eta_{sp} \sim C^{1/2}$ pour $C^* < C < C_e$ et $\eta_{sp} \sim C^{3/2}$ pour $C > C_e$. Il est à noter que la concentration de recouvrement C^* est généralement très faible pour les chaînes polyélectrolytes qui sont très étirées et cette valeur est attendue pour une valeur de η_{sp} voisine de 1. La concentration d'enchevêtrement se situe quant à elle vers $\eta_{sp} \approx 50^{11}$ ce qui correspond assez bien à la limite entre nos deux domaines. Dans la suite de cette étude, nous considérerons que les solutions de copolymère sont réellement en régime enchevêtré pour des concentrations supérieures à 2,5 wt%. Il s'ensuit que la viscosité des solutions injectables dépend essentiellement de la concentration et des caractéristiques du copolymère (masse molaire, caractère polyélectrolyte). Comme nous le verrons par la suite, la viscosité des solutions est également dépendante du gradient de cisaillement. Lorsqu'elles sont soumises à des vitesses de déformation importantes, les solutions semi-diluées de polymère présentent généralement un comportement rhéofluidifiant, cela permet de faciliter leur injection.

② La température d'association est une caractéristique propre aux chaînes à LCST. Dans le cas de l'homopolymère PNIPAm, il y a peu de variation de la température d'association avec la concentration mais nous avons pu constater, notamment dans le cas présent de polyélectrolytes, que la température d'association des greffons pouvait être affectée en fonction des contributions répulsives et attractives mises en jeu. Comme noté sur la Figure 3.12, T_{as} varie entre 35 et 30 °C lorsque la concentration augmente de 1 à 9,1 wt%.

③ et ④ En ce qui concerne la variation de viscosité dans le domaine de transition, typiquement entre 30 et 42 °C, ainsi que l'amplitude des valeurs obtenues dans l'état associé (Gel), on note clairement, sur la Figure 3.12, des variations importantes en fonction de la concentration en polymère.

Une première analyse consiste à comparer la variation des modules élastiques des solutions enchevêtrées en fonction de la température pour $T > T_{sol-gel}$. Comme représenté sur la

Figure 3.14, la dépendance de G' avec la concentration varie de manière très importante avec la température. La pente de ces variations, et donc l'exposant de la loi de puissance $G' \sim C^\alpha$, décroît fortement entre 36 et 42 °C puis plus faiblement au-delà pour atteindre des valeurs comprises entre 2 et 1,3 dans le régime gel.

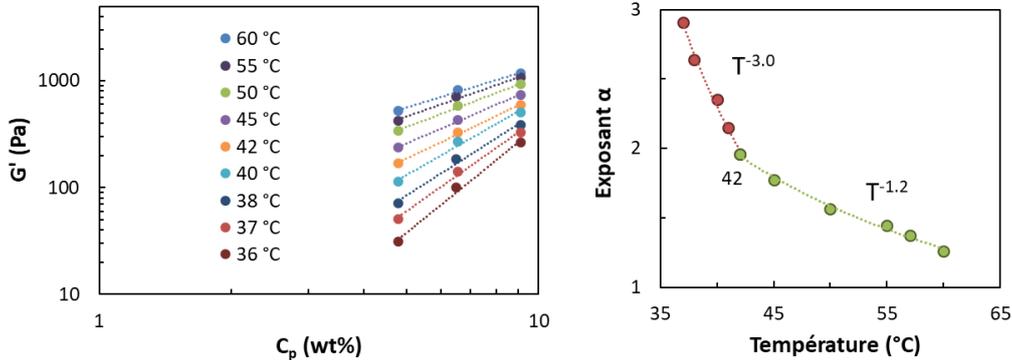


Figure 3.14 : (Gauche) Dépendance du module G' avec la concentration pour différentes températures ($T > T_{\text{sol-gel}}$) ; (Droite) Exposants des lois de puissance ($G' \sim C^\alpha$) déterminés à partir de la figure de gauche.

Cette large variation de comportement dépend à la fois du taux d'enchevêtrement des chaînes, relié à la concentration en polymère, mais également du degré d'avancement de la transition de phase qui débute à des températures différentes en fonction de la concentration (cf. Figure 3.12). Comme discuté précédemment, un moyen de normaliser les courbes rhéologiques, pour pouvoir mieux les comparer, en fonction de la concentration par exemple, consiste à diviser la viscosité complexe mesurée expérimentalement par la viscosité théorique de la même solution dans l'état non associé ; ce que nous appelons viscosité relative : $\eta_{rel}^* = \eta_{exp}^* / \eta_{th}^*$. De même, étant donné que le processus thermoassociatif débute à des températures différentes en fonction de la concentration, nous avons également normalisé la température en la divisant par la température d'association de la solution considérée, soit : $T_{rel} = T / T_{as}$.

La variation de ces paramètres relatifs, portée sur la Figure 3.15, fait clairement apparaître l'importance des régimes de concentration. Pour les solutions semi-diluées enchevêtrées ($C_p = 4,8 ; 6,5$ et $9,1$ wt%), la normalisation conduit dans le cas présent à une seule et même courbe capable de rendre compte du phénomène de thermogélification sur l'ensemble du domaine de température : même pente dans le domaine de transition et même amplitude.

À l'inverse, des différences importantes sont obtenues dans le régime non enchevêtré, typiquement pour 1 et 2,5 wt%, voire 0,5 wt% qui présente un point de gel à une température supérieure à 50 °C.

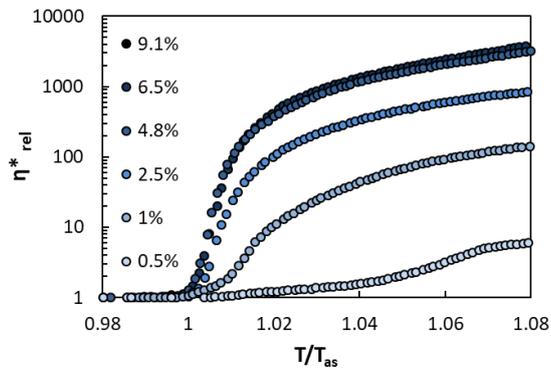


Figure 3.15 : η^*_{rel} en fonction de la température normalisée par T_{as} (T_{rel}).

D’une manière générale, nous reviendrons plus en détail sur l’analyse des modules élastiques et de leur variation en fonction de la concentration et/ou de la composition en PNIPAm dans le chapitre suivant où cette première étude sur le copolymère PAA1-N67 sera complétée avec d’autres copolymères greffés de même nature chimique.

III. Impact de la concentration en sel

III.1. K_2CO_3

Pour abaisser la T_{as} , et par conséquent la $T_{sol-gel}$, il est possible d’ajouter de nombreux additifs et notamment des sels comme par exemple le K_2CO_3 . L’intérêt d’utiliser des sels à fort effet de « salting-out » permet notamment d’étudier les propriétés du matériau à température ambiante, en diminuant fortement la température de transition de phase¹².

Comme on peut l’observer sur la Figure 3.16, l’ajout de K_2CO_3 0,1 M conduit à une diminution de la viscosité à l’état non associée ($T < T_{as}$) d’un facteur 2 par rapport à la référence dans l’eau en raison de l’écrantage des interactions électrostatiques du squelette polyélectrolyte, qui adopte alors une conformation moins étirée. Cet effet est surtout visible entre 0 et 0,1 M qui correspond à une force ionique déjà suffisamment importante ($I = 0,3$ M) pour induire un écrantage efficace.

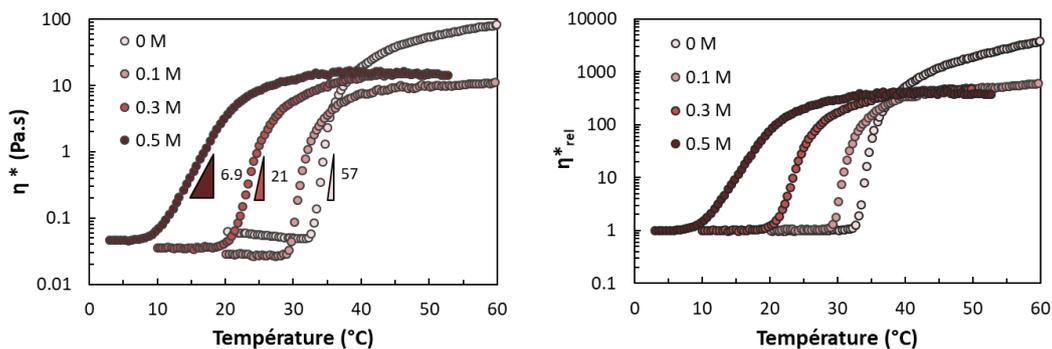


Figure 3.16 : Comportement thermogélifiant en fonction de la concentration en K_2CO_3 , pour PAA1-N67 à 4,8 wt% ; (Gauche) Viscosité complexe η^* , (Droite) η^*_{rel} .

Si on regarde plus en détail la variation des températures caractéristiques, T_{as} et $T_{sol-gel}$, celles-ci diminuent linéairement avec la concentration en K_2CO_3 (cf. Figure 3.17). Un gel peut ainsi être obtenu à T_{amb} , en milieu K_2CO_3 0,3 M.

On notera cependant que l'écart entre T_{as} et $T_{sol-gel}$ augmente avec l'ajout de sel. Ce retard dans le processus de thermogélification est également mis en évidence sur la Figure 3.17 (Droite) à partir des pentes de viscosification mesurées dans le régime intermédiaire (cf. Figure 3.16 Gauche) qui décrivent le caractère plus ou moins abrupte de la transition. On note une forte diminution de cette pente, résultant de la diminution de l'expansion des chaînes, liée à l'écrantage des charges portées par le squelette PAA, en augmentant la concentration en sel. Ainsi, il est plus difficile pour les chaînes de former des liaisons inter-chaînes.

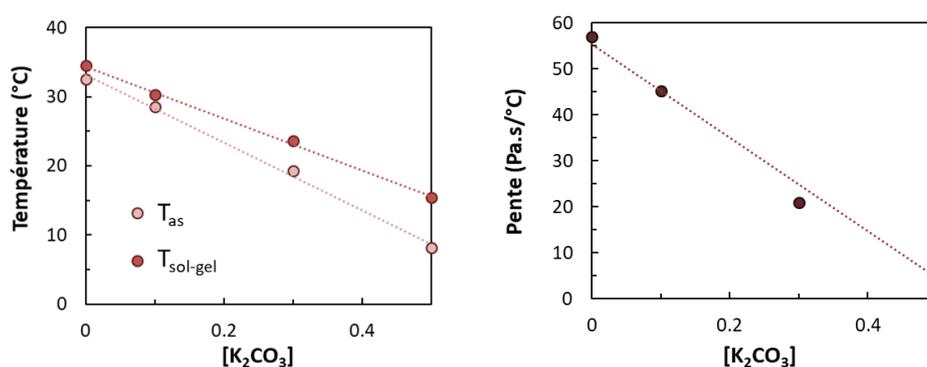


Figure 3.17 : Étude de PAA1-N67, à 4,8 wt% dans l'eau et en milieu K_2CO_3 ;
 (Gauche) T_{as} et $T_{sol-gel}$ en fonction de la concentration en K_2CO_3 ,
 (Droite) Pente d'association en fonction de la concentration en K_2CO_3 .

À de plus fortes concentrations en sel ($C > 0,5$ M K_2CO_3), on peut même envisager l'absence de gélification, voire l'existence d'une séparation de phase macroscopique, la forte contraction des chaînes ne permettant plus de percoler dans tout le volume de la solution. L'addition de sel impacte donc les propriétés thermogélifiantes des solutions en favorisant le processus d'association à plus basse température mais en réduisant les propriétés viscoélastiques dans l'état associé en raison de la contraction des chaînes. Ainsi, les chaînes sont moins étirées et la difficulté pour former des liaisons inter-chaînes augmente.

On peut noter que dans le cas d'un squelette neutre de PDMA modifié par des chaînons PNIPAm, Guo *et al.*⁷ n'ont observé aucune diminution de la viscosité en présence de K_2CO_3 pour des solutions à 3 wt% comme à 10 wt%. Le squelette polyélectrolyte de PAA joue donc un rôle important sur les propriétés thermogélifiantes. En adoptant une conformation étirée dans l'eau pure, il permet en effet de diminuer la concentration d'enchevêtrement par rapport à des polymères neutres de même nature et de même taille. Il est par contre plus sensible à la force

ionique même s'il permet de conserver une meilleure solubilité dans des conditions de forte salinité.

III.2. Tampon Phosphate Salin (PBS)

Le PBS a également été utilisé pour étudier le système dans des conditions similaires au milieu physiologique. Le PBS permet d'obtenir un pH de 7,4 et une concentration en sel similaire à celle du corps humain (~ 0,15 M).

Les courbes de G' et G'' en fonction de la température sont présentées dans l'Annexe 1 (cf. Figure 3.30).

Comme reporté sur la Figure 3.18, le décalage des températures caractéristiques est relativement modeste dans le PBS par rapport à l'eau avec une diminution de 1,4 °C, pour $T_{\text{sol-gel}}$, passant de 34,5 °C dans l'eau à 33,1 °C dans le PBS.

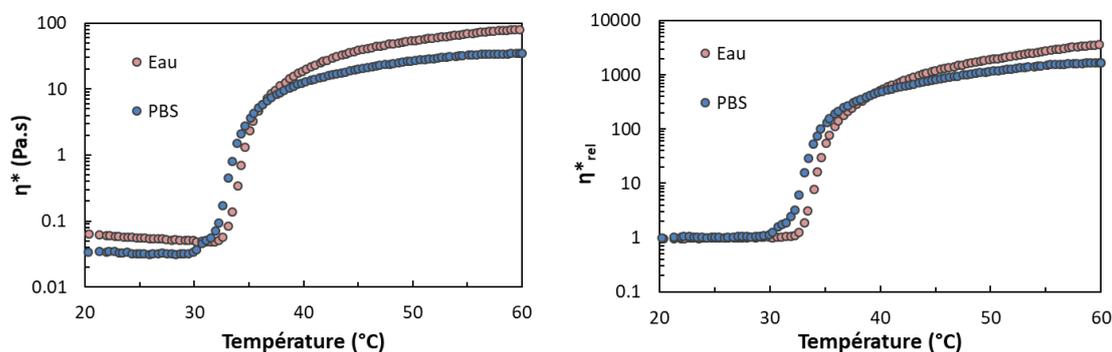


Figure 3.18 : Propriétés thermogélifiantes pour PAA1-N67 dans l'eau et le PBS, 4,8 wt%.

Conformément à ce qui vient d'être décrit dans une solution de K_2CO_3 , la viscosité à l'état non associé est légèrement abaissée, ce qui entraîne une légère diminution des propriétés thermoépaississantes (cf. Figure 3.18). Néanmoins, compte tenu de la force ionique modérée induite par le PBS, les propriétés globales ne sont pas trop affectées et le système est fonctionnel dans les conditions physiologiques. La diminution de la viscosité à basse température ainsi que le décalage de la $T_{\text{sol-gel}}$ peuvent même être bénéfique en terme d'injectabilité et de prise en gel en dessous de 37 °C.

IV. Étude des propriétés d'adhésion

IV.1. Introduction

L'objectif de cette étude est d'étendre la caractérisation rhéologique des systèmes thermogélifiants, réalisée initialement dans le domaine linéaire, aux grandes déformations en utilisant la méthode du « probe tack » qui est une analyse en traction effectuée sur un système

confiné. Comme discuté précédemment, cette technique classique de caractérisation des adhésifs a été transposée récemment au laboratoire SIMM sur un rhéomètre qui permet de plus un contrôle rapide et efficace de la température par effet Peltier^{13,14}.

Une analyse type est rappelée sur la Figure 3.19 avec ① le dépôt de la solution liquide sur le plateau, ② l'approche et le contact ($h_0 = 400 \mu\text{m}$) à $T = 20 \text{ }^\circ\text{C}$ avec la sonde ($r_0 = 10 \text{ mm}$), ③ le chauffage rapide du système via le plateau inférieur jusqu'à la température d'étude, ④ la stabilisation à cette température pendant dix minutes pour s'assurer de la thermalisation de l'échantillon et ⑤ test de tack réalisé à une vitesse de décollement v égale à $100 \mu\text{m/s}$.

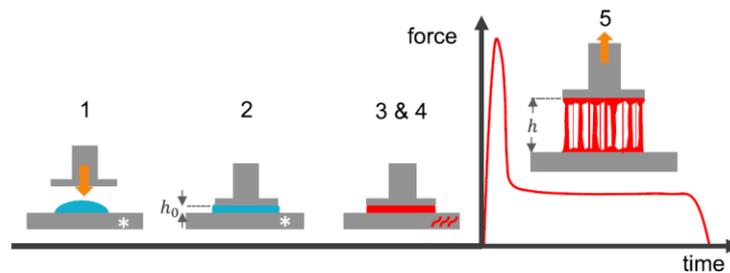


Figure 3.19 : Représentation schématique des différentes étapes suivies dans la procédure du test de tack adapté sur un rhéomètre¹³.

Le suivi de la force (F) en fonction de la distance (h) permet ainsi d'accéder au travail d'adhésion :

$$\text{Équation 3.3 : } W_{adh} = h_0 \int_0^{\varepsilon_{\max}} \sigma \cdot d\varepsilon$$

Avec, $\sigma = F/A_0$: contrainte, $A_0 = \pi r_0^2$: surface de contact initiale et $\varepsilon = (h - h_0)/h_0$: déformation.

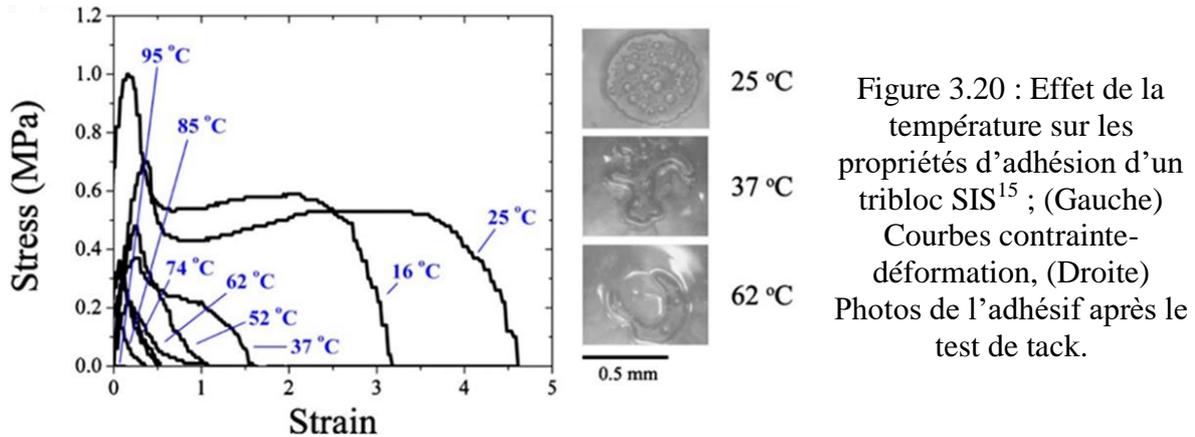
IV.2. Impact de la température sur les propriétés d'adhésion

L'objectif de cette étude est d'analyser les propriétés d'adhésion d'une solution de PAA1-N67, à 4,8 wt% dans l'eau en fonction de la température et de les comparer aux caractéristiques viscoélastiques mesurées aux petites déformations. Il paraît en effet intéressant de vérifier comment l'adhésion est corrélée aux propriétés rhéologiques sur cette très grande gamme de comportement générée lors de la transition sol/gel.

D'une manière générale, pour les systèmes conventionnels tels que les PSA, la température est un paramètre clé de l'adhésion puisque celle-ci joue directement sur les modules G' et G'' (ou E' et E'') du système. Bien entendu, les comportements sont très différents de part et d'autre de la transition vitreuse, et les adhésifs communément utilisés se trouvent à l'état caoutchoutique à T_{amb} . Afin d'optimiser les propriétés adhésives à une température donnée, il est nécessaire d'équilibrer les comportements antagonistes liquide et solide. Le comportement de type liquide visqueux permet en effet à l'adhésif de s'écouler et de créer un bon contact avec

le substrat lors de sa mise en place et apporte également un côté dissipatif lors de la déformation tandis que le comportement élastique apporte la résistance au décollement.

Un exemple de comportement adhésif d'un PSA à base de poly(styrène-b-isoprène-b-styrène) (SIS) est présenté sur la Figure 3.20.



Ses propriétés optimales sont programmées et observées à température ambiante, vers 25 °C, avec un pic d'adhésion important accompagné d'un phénomène de cavitation et de fibrillation conduisant à un renforcement sous déformation (augmentation de la contrainte en fin de plateau). Ceci conduit à retarder la rupture de l'adhésif et donc à augmenter l'énergie d'adhésion proportionnelle à la surface sous la courbe. Le matériau viscoélastique se comporte de façon plus élastique lorsqu'il est déformé à des vitesses plus rapides, ou à des températures plus faibles, et de manière plus visqueuse lorsqu'il est déformé sur des échelles de temps plus importantes, ou à plus haute température. C'est ce qui est observé sur la Figure 3.20, avec une diminution du pic de contrainte et du plateau lorsque la température augmente conduisant à augmenter le caractère visqueux au détriment du caractère élastique. La cavitation observée à 25 °C (cf. Figure 3.20) laisse place à des instabilités dans l'adhésif après le test de tack à 37 et 62 °C, caractéristiques d'un comportement de type liquide visqueux. Le côté plus dissipatif du matériau en augmentant la température entraîne la formation d'instabilités dans la couche d'adhésif. Le phénomène de cavitation/fibrillation laisse place progressivement à un phénomène de digitation.

À l'inverse, dans le cas des systèmes thermosensibles à LCST, le système passe d'un état liquide à gel lors du chauffage, ce qui conduit à augmenter l'énergie d'adhésion avec la température. À l'état liquide, le matériau est trop dissipatif et ne peut résister au décollement aux faibles déformations, une très faible augmentation de la contrainte avec la déformation est obtenue. C'est ce qui est observé sur la Figure 3.21 où l'on note tout d'abord une énergie d'adhésion très faible, même négligeable, à basse température (32 °C) puisque la valeur

mesurée à l'état liquide est de $0,02 \text{ J/m}^2$ et se situe en dessous de la valeur seuil théorique attendue pour l'adhésion capillaire $W_{\text{cap}} \cong 0,14 \text{ J/m}^2$.

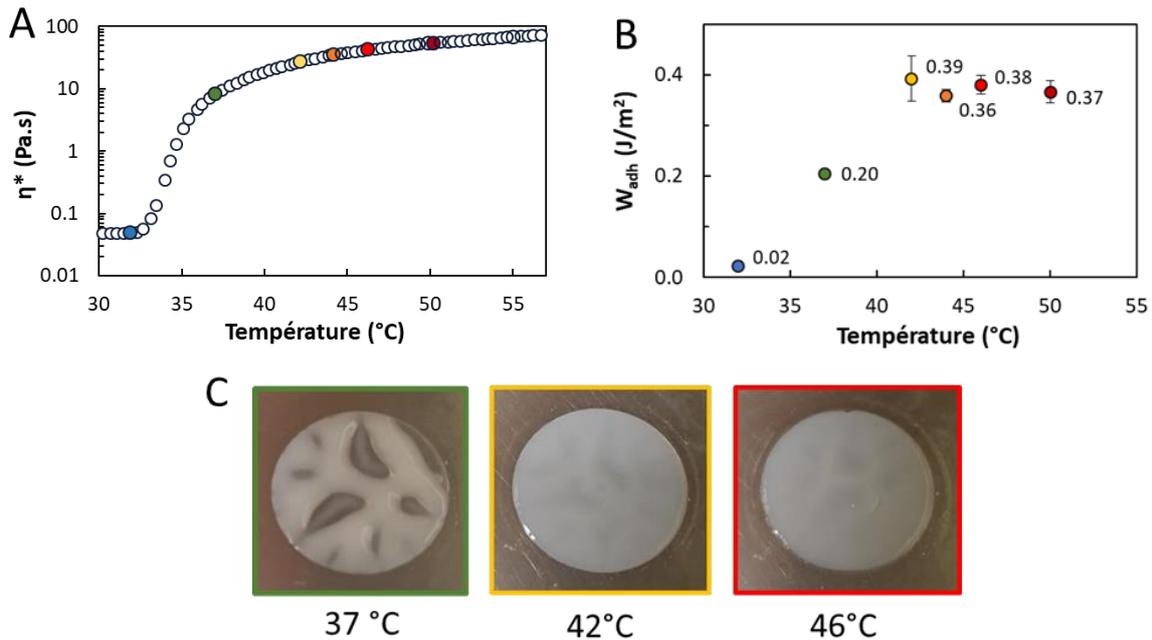


Figure 3.21 : (A) Propriétés thermogélifiantes de PAA1-N67, à 4,8 wt% eau ; (B) Énergie d'adhésion W_{adh} en fonction de la température (h_0 : 400 μm , v : 100 $\mu\text{m/s}$) ; (C) Photos des gels après le test de tack.

En passant la température de transition, l'énergie d'adhésion augmente rapidement pour atteindre un plateau d'une valeur d'environ $0,4 \text{ J/m}^2$ (cf. Figure 3.21B). Si on regarde plus en détail les courbes contrainte-déformation obtenues sur les Figure 3.22, on note que la contrainte maximale (σ_{max}) augmente jusqu'à 42 °C, avant de diminuer légèrement à 50 °C.

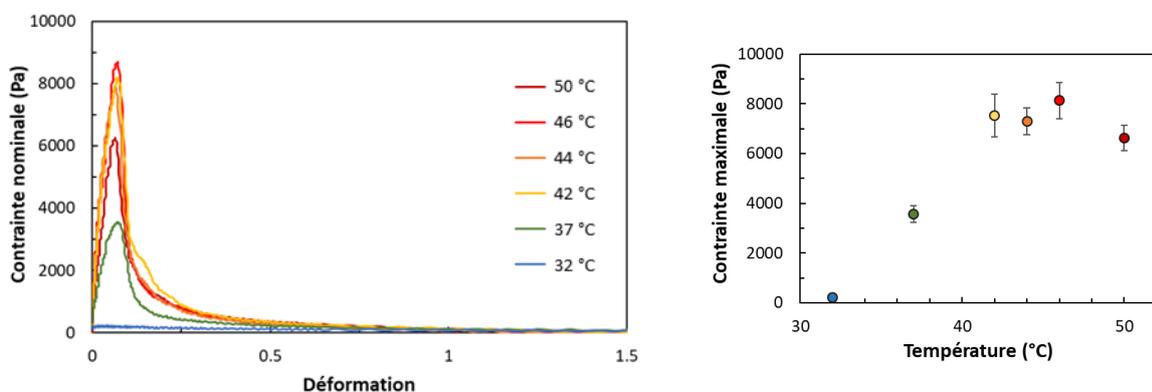


Figure 3.22 : Propriétés adhésives de PAA1-N67 en fonction de la température, 4,8 wt% eau ; (Gauche) Courbes contrainte-déformation, (Droite) Contrainte maximale.

Bien que nous n'ayons pas d'évidence directe sur les mécanismes de décollement au cours de l'expérience de tack, l'absence de dépôt de polymère sur la sonde après détachement témoigne d'une rupture adhésive pour les températures supérieures à 40 °C.

Les photos après tests de décollement montre l'absence de cavitation dans le gel, pour 42 et 46 °C (cf. Figure 3.21C). En effet, les contraintes obtenues sont bien trop faibles pour s'opposer à la pression atmosphérique et donner lieu à un phénomène de cavitation ($\sigma \ll p_0 = 100 \text{ kPa}$). De plus, le rapport de la pression atmosphérique sur le module d'Young (p_0/E) doit être proche de 1 pour que de la cavitation ait lieu dans le volume du gel¹⁶. Dans notre cas, ce rapport est très élevé ($p_0/E \approx 100$) en raison du caractère mou de nos matériaux. Ainsi, le processus de décollement est donc lié à la propagation de digitations à l'interface entre l'adhésif et le gel (cf. Figure 3.23), pour les températures les plus élevées.

Néanmoins, à 37 °C, des digitations bien visibles sont observées dans la couche (cf. Figure 3.21C) en raison de son caractère liquide visqueux qui conduit à une rupture dans le volume du gel (cf. Figure 3.23) et à la présence résiduelle d'adhésif sur les deux surfaces.

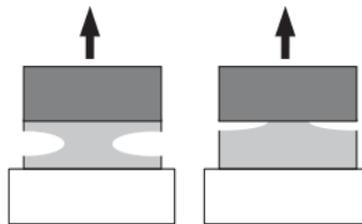


Figure 3.23 : Différence entre une rupture interfaciale (Droite) et une rupture dans le volume du gel (Gauche), adapté de Nase *et al.*¹⁷.

Il semble donc qu'un module G' critique doive être atteint pour obtenir un caractère suffisamment élastique pour conduire à une rupture interfaciale.

Pour prédire les mécanismes de décollement, Webber *et al.*¹⁸ ont notamment utilisé le rapport $\frac{G_c}{E}$, avec : G_c , l'énergie critique de propagation de la fracture et E , le module d'Young. Deplace *et al.*¹⁹ ont montré qu'un parallèle à ce rapport pouvait être fait avec la rhéologie aux petites déformations en utilisant $\tan \delta/G'$. $\tan \delta$, qui est égal au rapport G''/G' , traduit le côté dissipatif d'un matériau. Plus $\tan \delta$ augmente et plus la composante visqueuse prédomine et ainsi plus le matériau est dissipatif. Ainsi, il existe une valeur critique de $\tan \delta/G'$ au-delà de laquelle le mécanisme de décollement transite d'une rupture interfaciale (comme dans notre cas) vers des processus intégrant les propriétés viscoélastiques de l'adhésif qui peuvent être de la déformation dans le volume. Cette valeur critique est notamment dépendante de la surface utilisée lors du test^{17,19}.

Ainsi, dans notre cas, où de la propagation interfaciale est seulement observée à partir de 42 °C, la couche adhésive est déformée de manière homogène pour les faibles déformations avant qu'apparaisse la propagation de défauts (bulles d'air emprisonnées) ou d'instabilités (phénomène de digitation) à l'interface entre la sonde et la couche adhésive. Dans cette

première étape, aux faibles déformations, les propriétés élastiques de l'adhésif peuvent être comparées au comportement théorique d'un système élastique confiné¹⁶ :

$$\text{Équation 3.4 : } \sigma_N = 3G \left(1 + \frac{(r_0/h_0)^2}{2} \right) \varepsilon$$

Avec, σ_N : contrainte nominale (Pa), G : module de cisaillement, ε : déformation, r_0 : rayon du poinçon et h_0 : épaisseur initiale du film.

Cette équation, appliquée aux tests d'adhésion réalisés dans l'état gel, met en évidence un très bon accord pour les températures de 42 et 44 °C alors que la valeur expérimentale s'éloigne de la valeur théorique à 50 °C (cf. Figure 3.24). Cet écart des données expérimentales par rapport aux prédictions théoriques, qui souligne une sensibilité croissante des gels sous déformation, peut expliquer la légère diminution de la contrainte comparativement aux températures de 42 à 44 °C.

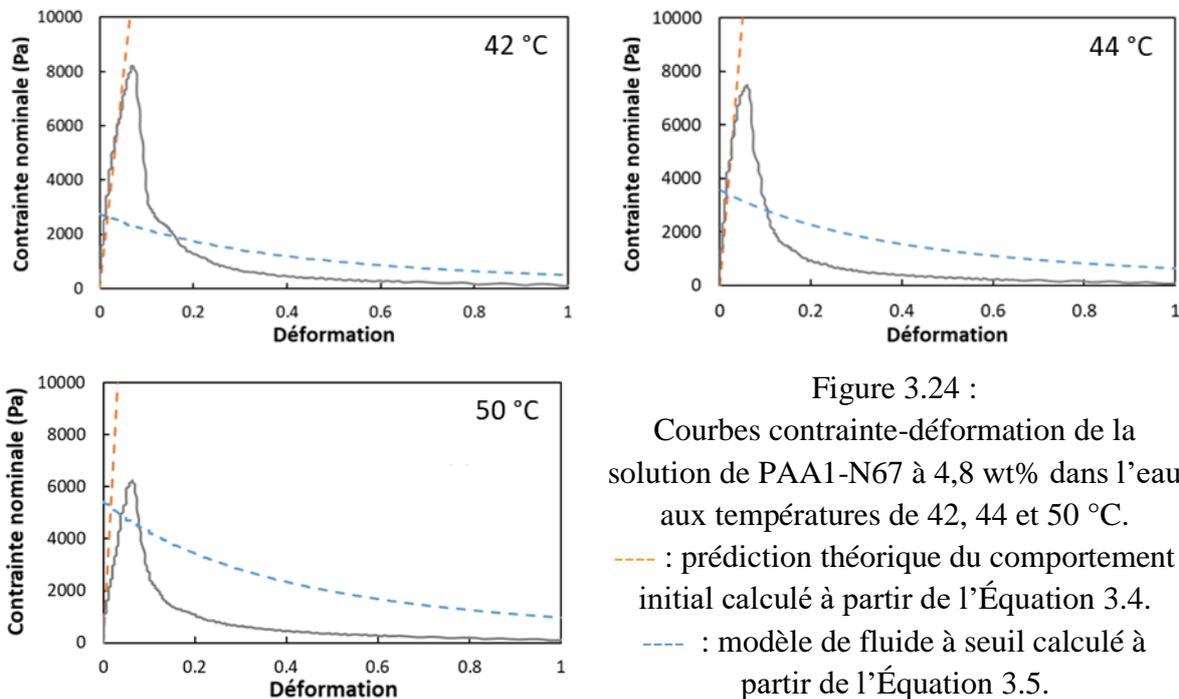


Figure 3.24 :
 Courbes contrainte-déformation de la solution de PAA1-N67 à 4,8 wt% dans l'eau aux températures de 42, 44 et 50 °C.
 --- : prédiction théorique du comportement initial calculé à partir de l'Équation 3.4.
 --- : modèle de fluide à seuil calculé à partir de l'Équation 3.5.

Comme indiqué sur la Figure 3.24, nous avons également essayé de modéliser le comportement adhésif de notre formulation en utilisant un modèle relatif aux fluides à seuil proposé par Derks *et al.*²⁰ avec une dépendance linéaire du travail d'adhésion W avec la contrainte d'écoulement σ_y (cf. Équation 3.5).

$$\text{Équation 3.5 : } F = \frac{2\pi R_0^2 D_0^{3/2} \sigma_y}{3D^{5/2}} \text{ et } W = \frac{4\pi R_0^3 \sigma_y}{9}$$

Avec, R_0 : rayon du poinçon, D_0 , épaisseur initiale du film, D : distance à un temps t , σ_y : contrainte d'écoulement.

Dans notre cas où les gels possèdent des modules faibles, nous avons testé ce modèle en assimilant la contrainte d'écoulement à G' . Comme on peut le constater ce modèle est inadapté à notre système, la formulation gélifiée possédant un caractère élastique bien marqué conduisant à une augmentation rapide et linéaire de la contrainte pour de faibles déformations.

Pour résumer, la chute de la contrainte après le pic initial est attribué à la propagation de digitations à l'interface dû à la présence de défauts. Ce processus de décollement a été largement décrit dans la littérature pour les solides élastiques mous^{17,18}. D'après Shull et Creton¹⁶, ce phénomène de digitation interfaciale intervient dans le cas de couches confinées de solides souples et élastiques lorsque $r_0/h_0 > 2$ et pour des rapports pression atmosphérique/module d'Young suffisamment grands ($p_0/E > 10$) ; conditions vérifiées dans notre cas ($r_0/h_0 = 25$ et $p_0/E \approx 100$).

Des profils similaires ont été obtenus par Vahdati *et al.*¹³, dans le cas de solutions aqueuses de PDMA-g-PNIPAm, avec des énergies d'adhésion voisines pour la solution la moins concentrée ($\sim 0,5 \text{ J/m}^2$, à 4 wt% eau). La contrainte maximale atteinte est plus faible mais des déformations à la rupture plus importantes sont observées (cf. Figure 3.25) et une rupture cohésive est obtenue.

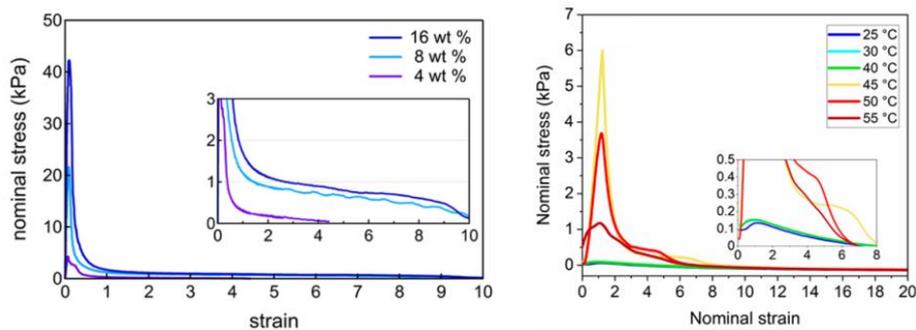


Figure 3.25 : Propriétés adhésives pour (Gauche) PDMA-g-PNIPAm¹³ et (Droite) POEGMA modifié par des nanocristaux de cellulose²¹, 11,5 wt% eau.

Nasseri et Tam²¹ ont également récemment reporté les propriétés d'adhésion de gels thermosensibles à base de POEGMA modifiés par des nanocristaux de cellulose²¹ (cf. Figure 3.25). Les principales différences avec notre système sont que la formulation de POEGMA décrite par Nasseri et Tam²¹ est beaucoup plus concentrée en polymère (11,5 wt% au lieu de 4,8 wt% dans notre cas) et que les chaînes sont réticulées à la fois par des liaisons physiques lors de la transition de phase du POEGMA et par des liaisons chimiques (liaisons acylhydrazones) avec les nanocristaux de cellulose. L'utilisation d'un gel covalent (élastique) beaucoup plus concentré permet d'obtenir une plus grande déformabilité avec des énergies d'adhésion correspondantes environ 10 fois supérieures aux nôtres. Néanmoins, il est

intéressant de constater que les contraintes maximales qu'ils enregistrent sont très proches de celles de notre système PAA1-N67. Leurs meilleures propriétés adhésives, associées au phénomène de fibrillation qui entraîne la formation d'un plateau, résultent de la combinaison des liaisons faibles et covalentes.

IV.3. Impact de la concentration sur l'adhésion

Les propriétés d'adhésion à haute température ($T = 50\text{ °C}$) ont été étudiées dans le cas des formulations enchevêtrées entre 4,8 à 9,1 wt%. Les courbes contrainte-déformation reportées sur la Figure 3.26 montrent tout d'abord que l'énergie d'adhésion, proportionnelle à l'aire sous la courbe, augmente avec la concentration en polymère.

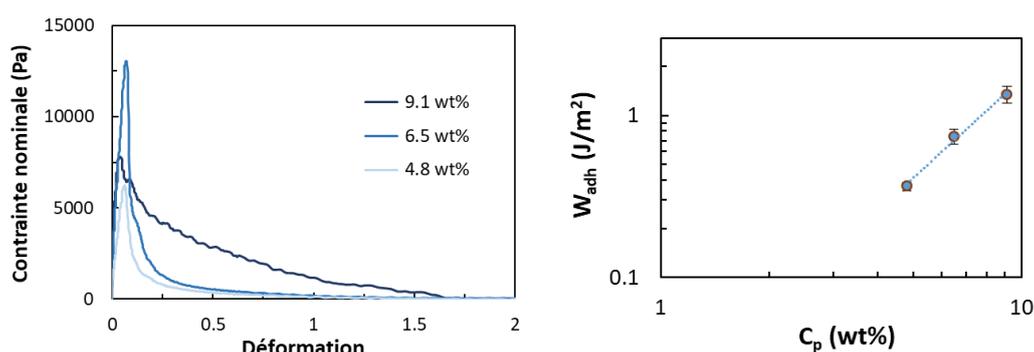


Figure 3.26 : Test de tack à 50 °C en fonction de la concentration en polymère ($h_0 = 400\text{ }\mu\text{m}$ et $v = 100\text{ }\mu\text{m/s}$) ; (Gauche) Courbes contrainte-déformation, (Droite) Énergie d'adhésion.

Néanmoins, l'allure des courbes varie fortement en fonction de la concentration avec une augmentation de σ_{max} de 6 à 13 kPa entre 4,8 et 6,5 wt%. Cette augmentation est classiquement reportée lorsque le module du système augmente. Cependant, pour 9,1 wt%, la contrainte maximale diminue à 8 kPa. De même, au-delà de σ_{max} , la contrainte diminue beaucoup plus faiblement en fonction de la déformation, pour la concentration la plus élevée. Ce ralentissement de la propagation du phénomène de rupture interfaciale est dû très certainement à l'augmentation des points de réticulation physiques et du nombre d'enchevêtrements.

Afin de donner une interprétation globale qualitative de l'ensemble des résultats d'adhésion, il faut tout d'abord considérer qu'à l'état associé ($T > 42\text{ °C}$), les chaînes enchevêtrées voient leur mouvement de reptation considérablement ralenti par l'association des greffons PNIPAm auxquels elles sont attachées, de même que la phase PNIPAm apporte également sa propre contribution au comportement viscoélastique. Au repos, ou sous faible déformation, l'intégrité de ces interactions physiques est principalement contrôlée par l'énergie de surface des domaines PNIPAm hydrophobes et leurs propriétés viscoélastiques qui résistent à la déformation et

maintiennent la cohésion inter-chaînes caractérisée par un comportement élastique dans nos conditions d'observation. Pour des déformations plus importantes, comme il peut être le cas lors de tests de traction, les greffons PNIPAm sont extraits de leurs domaines et retournent en milieu aqueux en libérant ainsi les contraintes des chaînes enchevêtrées qui peuvent alors s'écouler. Cette description, qui dérive des travaux d'Halperin et Zhulina²² relatifs à la déformation d'une chaîne en mauvais solvant (transition globule/pelote étirée), est classiquement utilisée pour décrire le comportement mécanique aux grandes déformations de gels thermosensibles tels que les réseaux réticulés de type PNIPAm-g-PDMA/PDMA-g-PNIPAm⁶ ou encore les systèmes à base de POEGMA et de nanocristaux de cellulose de Nasser et Tam²¹. De manière intéressante, dans ce travail pionnier relatif à la chaîne isolée, Halperin et Zhulina²² mettent en évidence la possibilité de générer une transition discontinue de type globule/pelote étirée au-delà d'une force critique appliquée à la chaîne.

D'autre part, comme nous l'avons décrit précédemment, le module des solutions gélifiées augmente avec la concentration des chaînes enchevêtrées (cf. Figure 3.14) et implicitement il en est de même pour la pente initiale des courbes $\sigma = f(\varepsilon)$. Généralement, l'énergie d'adhésion W_{adh} augmente également avec le module mais cela peut dépendre de la balance viscoélastique de l'adhésif. Ceci est par ailleurs décrit dans la littérature pour des systèmes dont le module dépasse 0,1 MPa (critère de Dahlquist) qui sont alors trop élastiques pour permettre l'obtention de bonnes propriétés d'adhésion. Cette baisse d'énergie d'adhésion avec la concentration a également été observé par Vahdati *et al.*¹³ dans le cas du système PNIPAm-g-PDMA à concentration élevée (16 wt%). Dans notre cas, malgré une baisse de la contrainte maximale, le profil de la courbe $\sigma = f(\varepsilon)$, au-delà de σ_{max} , témoigne d'une plus grande résistance à la propagation pour 9,1 wt%, même si nous n'avons pas mis en évidence de phénomène de fibrillation.

Sur la Figure 3.27, l'énergie d'adhésion a été tracée en fonction du module et une bonne corrélation de ces deux grandeurs est obtenue, ce qui permet de corréler à ce stade les propriétés viscoélastiques aux petites (rhéologie) et aux grandes déformations (adhésion).

De plus, comme discuté précédemment le rapport $\tan \delta/G'$ est également un critère important dans le monde des adhésifs pour estimer les mécanismes de décollement. En traçant l'énergie d'adhésion en fonction de ce rapport, on observe également une corrélation entre ces deux paramètres mais il est à noter que pour les trois concentrations testées $\tan \delta$ est pratiquement constante (0,142, 0,139 et 0,132 Pa⁻¹ pour 4,8, 6,5 et 9,1 wt%, respectivement). L'augmentation des propriétés adhésives avec la concentration est dans ce cas essentiellement liée à

l'augmentation du caractère élastique et non à une quelconque variation du caractère dissipatif du matériau.

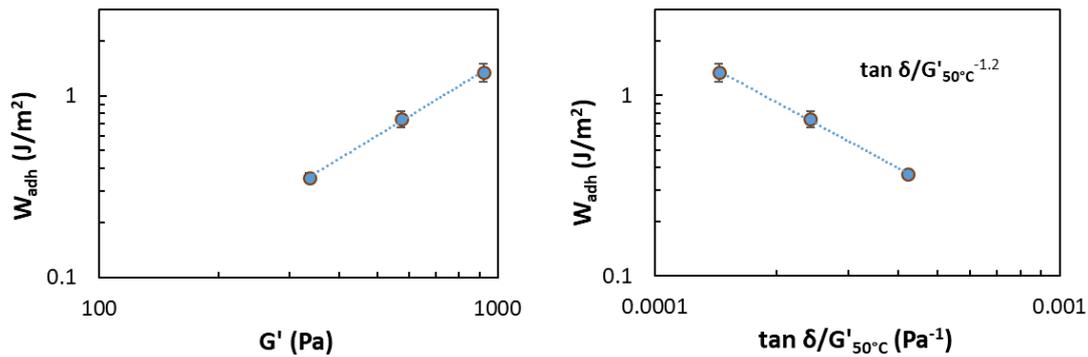


Figure 3.27 : Énergie d'adhésion en fonction (Gauche) du module G' à 50°C, (Droite) de $\tan \delta / G'_{50^\circ C}$.

V. Conclusion

Dans ce premier chapitre expérimental centré sur le copolymère PAA1-N67, nous avons montré que le comportement thermoassociatif des solutions pouvait être décrit à partir de différentes techniques de caractérisation complémentaires. Malgré l'influence du caractère polyélectrolyte du squelette PAA, le processus d'association du copolymère en solution reste étroitement corrélé aux propriétés intrinsèques des greffons PNIPAm. Lors du passage de la transition de phase, les greffons PNIPAm s'associent sur une fenêtre de température assez étroite, environ 5 °C, pour former des domaines concentrés et de faible mobilité qui assurent la jonction globale du réseau associatif. Si ces comportements thermoassociatifs sont toujours observés en milieu semi-dilué, les propriétés des gels sont très dépendantes de la concentration en copolymère, et la concentration d'enchevêtrement apparaît comme un des paramètres clés des propriétés thermogélifiantes. En régime enchevêtré, les $T_{sol-gel}$ des formulations sont inférieures à 37 °C dans l'eau et en milieu PBS, ce qui permet de les envisager dans le cadre d'applications en milieu physiologique.

Parallèlement aux propriétés viscoélastiques mesurées aux faibles déformations, nous avons montré que les propriétés d'adhésion augmentaient également lors du processus de thermoassociation. Néanmoins, les énergies d'adhésion restent modérées dans la gamme de concentration étudiée, en relation avec le niveau des propriétés viscoélastiques. Pour la gamme de concentration testée, l'énergie d'adhésion est étroitement corrélée au module G' et le faible caractère dissipatif des formulations gélifiées conduit à une rupture interfaciale adhésive sans processus de fibrillation.

À partir de ces résultats qui constituent la partie centrale de ce travail, nous allons nous intéresser dans le chapitre suivant à l'influence des différents paramètres structuraux (taux de

PNIPAm dans le copolymère, taille du squelette et taille des greffons) sur les propriétés thermogélifiantes.

Annexes

- Annexe 1 : Rhéologie

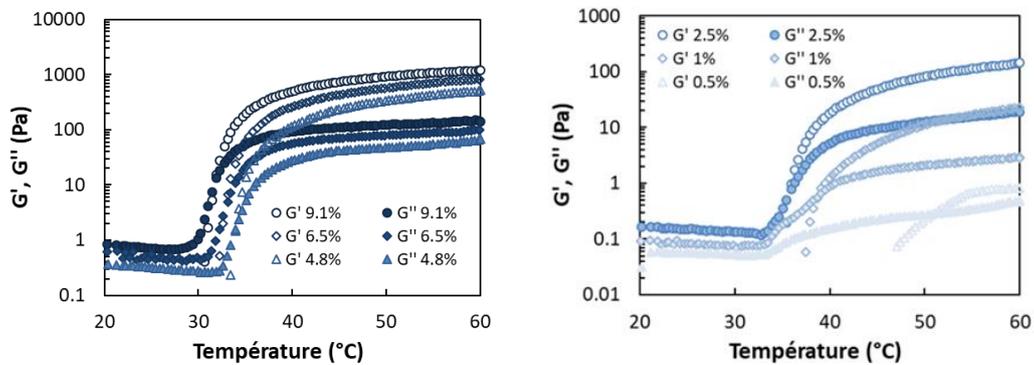


Figure 3.28 : Propriétés thermogélifiantes en fonction de la concentration dans l'eau ; (Gauche) 4,8 à 9,1 wt%, (Droite) 0,5 à 2,5 wt%.

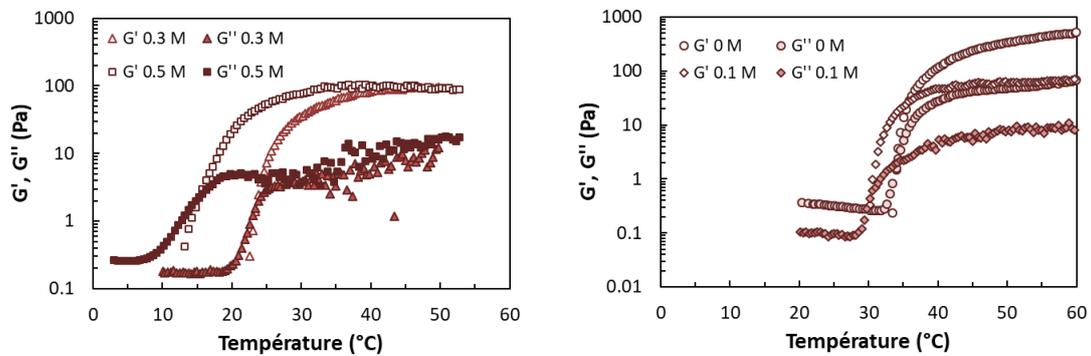


Figure 3.29 : Propriétés thermogélifiantes de PAA1-N67 en fonction de la concentration en K_2CO_3 , 4,8 wt%.

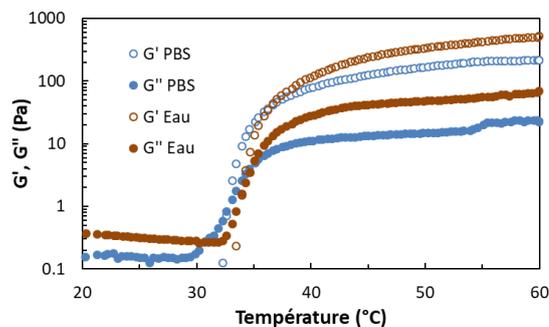


Figure 3.30 : Propriétés thermogélifiantes en fonction du solvant (PBS/Eau), 4,8 wt%.

• Annexe 2 : Clichés de SAXS

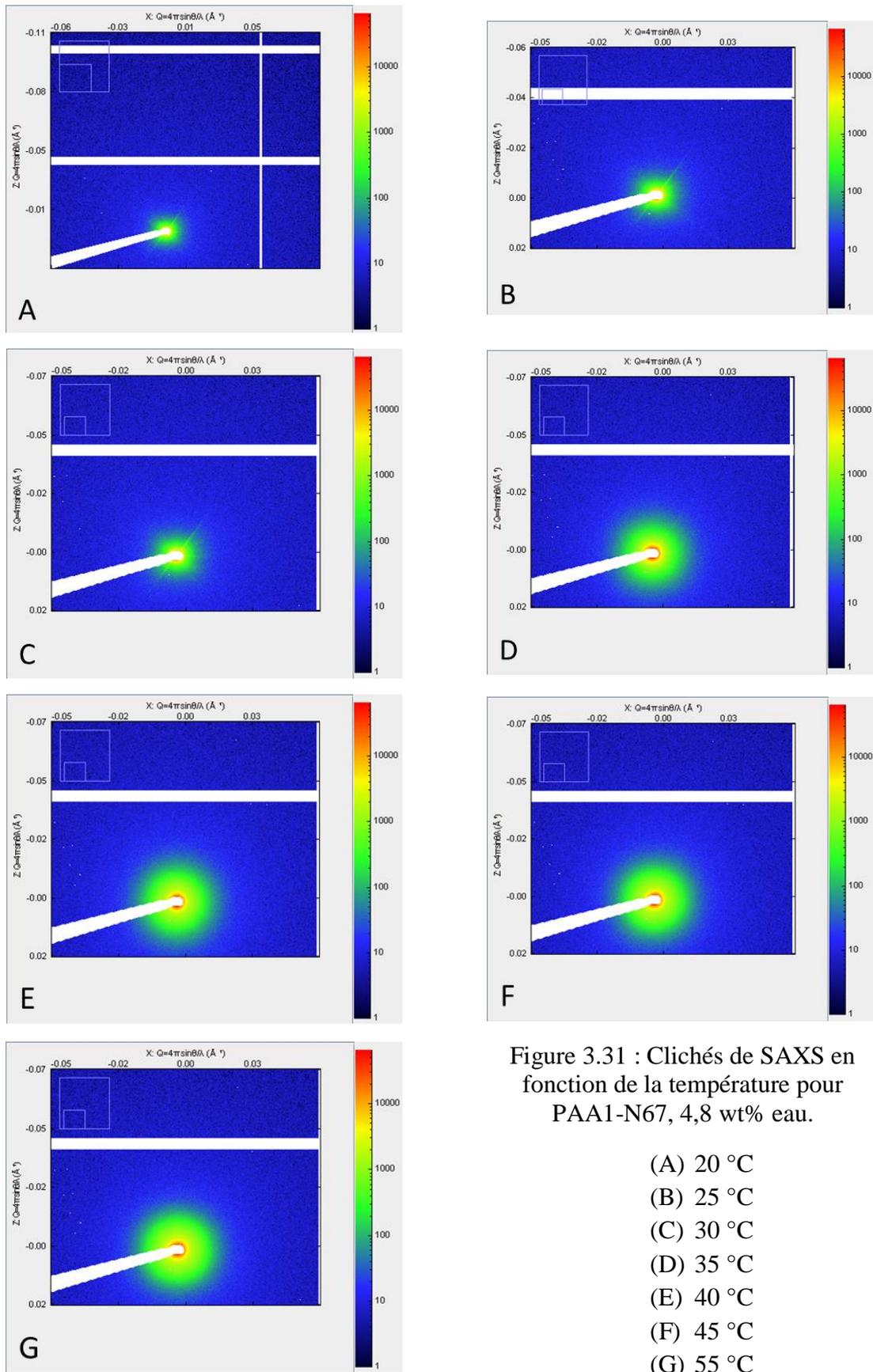


Figure 3.31 : Clichés de SAXS en fonction de la température pour PAA1-N67, 4,8 wt% eau.

Références

1. Siband, E., Tran, Y. & Hourdet, D. Thermoresponsive Interpolyelectrolyte Complexation: Application to Macromolecular Assemblies. *Macromolecules* **44**, 8185–8194 (2011).
2. Petit, L., Bouteiller, L., Brûlet, A., Lafuma, F. & Hourdet, D. Responsive Hybrid Self-Assemblies in Aqueous Media †. *Langmuir* **23**, 147–158 (2007).
3. Kujawa, P. & Winnik, F. M. Volumetric Studies of Aqueous Polymer Solutions Using Pressure Perturbation Calorimetry: A New Look at the Temperature-Induced Phase Transition of Poly(*N* -isopropylacrylamide) in Water and D₂O. *Macromolecules* **34**, 4130–4135 (2001).
4. Zhang, Y., Furyk, S., Bergbreiter, D. E. & Cremer, P. S. Specific Ion Effects on the Water Solubility of Macromolecules: PNIPAM and the Hofmeister Series. *J. Am. Chem. Soc.* **127**, 14505–14510 (2005).
5. Hourdet, D. *et al.* Small-Angle Neutron Scattering Study of Microphase Separation in Thermoassociative Copolymers. *Macromolecules* **31**, 5323–5335 (1998).
6. Guo, H. *et al.* Thermoresponsive Toughening in LCST-Type Hydrogels with Opposite Topology: From Structure to Fracture Properties. *Macromolecules* **49**, 4295–4306 (2016).
7. Guo, H. *et al.* Influence of topology of LCST-based graft copolymers on responsive assembling in aqueous media. *Polymer* **60**, 164–175 (2015).
8. Durand, A. & Hourdet, D. Synthesis and thermoassociative properties in aqueous solution of graft copolymers containing poly(*N* -isopropylacrylamide) side chains. *Polymer* **40**, 4941–4951 (1999).
9. Fan, G., Guo, J., Dong, M. & Feng, Y. Thermothickening Behavior of Graft Copolymers Containing Poly(*N* -isopropylacrylamide- *co* - *N,N* -dimethylacrylamide) Side Chains in Aqueous Solution. *J. Macromol. Sci. Part A* **51**, 881–890 (2014).
10. Colby, R. H. Structure and linear viscoelasticity of flexible polymer solutions: comparison of polyelectrolyte and neutral polymer solutions. *Rheol. Acta* **49**, 425–442 (2010).
11. Dobrynin, A. V., Colby, R. H. & Rubinstein, M. Scaling Theory of Polyelectrolyte Solutions. *Macromolecules* **28**, 1859–1871 (1995).
12. Hourdet, D., L’Alloret, F. & Audebert, R. Reversible thermothickening of aqueous polymer solutions. *Polymer* **35**, 2624–2630 (1994).
13. Vahdati, M., Ducouret, G., Creton, C. & Hourdet, D. Topology-Specific Injectable Sticky Hydrogels. *Macromolecules* **53**, 9779–9792 (2020).
14. Vahdati, M., Ducouret, G., Creton, C. & Hourdet, D. Thermally Triggered Injectable Underwater Adhesives. *Macromol. Rapid Commun.* **41**, 1900653 (2020).
15. Moon, S., Chiche, A., Forster, A. M., Zhang, W. & Stafford, C. M. Evaluation of temperature-dependent adhesive performance via combinatorial probe tack measurements. *Rev. Sci. Instrum.* **76**, 062210 (2005).
16. Shull, K. R. & Creton, C. Deformation behavior of thin, compliant layers under tensile loading conditions. *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.* **42**, 4023–4043 (2004).
17. Nase, J., Lindner, A. & Creton, C. Pattern Formation during Deformation of a Confined Viscoelastic Layer: From a Viscous Liquid to a Soft Elastic Solid. *Phys. Rev. Lett.* **101**, 074503 (2008).

18. Webber, R. E., Shull, K. R., Roos, A. & Creton, C. Effects of geometric confinement on the adhesive debonding of soft elastic solids. *Phys. Rev. E* **68**, 021805 (2003).
19. Deplace, F. *et al.* Fine Tuning the Adhesive Properties of a Soft Nanostructured Adhesive with Rheological Measurements. *J. Adhes.* **85**, 18–54 (2009).
20. Derks, D., Lindner, A., Creton, C. & Bonn, D. Cohesive failure of thin layers of soft model adhesives under tension. *J. Appl. Phys.* **93**, 1557–1566 (2003).
21. Nasser, R. & Tam, K. C. Sticky Hydrogels from Hydrazide-Functionalized Poly(oligo(ethylene glycol) methacrylate) and Dialdehyde Cellulose Nanocrystals with Tunable Thermal and Strain-Hardening Characteristics. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **9**, 10424–10430 (2021).
22. Halperin, A. & Zhulina, E. B. On the Deformation Behaviour of Collapsed Polymers. *Europhys. Lett. EPL* **15**, 417–421 (1991).

Chapitre 4 :

Étude d'un hydrogel injectable
modèle à base de poly(acide
acrylique)-g-PNIPAm –
Impact de la structure sur les
propriétés thermogélifiantes

Table des matières

CHAPITRE 4 : ÉTUDE D'UN HYDROGEL INJECTABLE MODÈLE À BASE DE POLY(ACIDE ACRYLIQUE)-G-PNIPAM – IMPACT DE LA STRUCTURE SUR LES PROPRIÉTÉS THERMOGÉLIFIANTES	124
I. Introduction	124
II. Étude du comportement thermoassociatif aux faibles déformations	124
II.1. Impact de la taille des greffons	124
II.2. Impact du taux de greffage	129
II.3. Impact de la taille du squelette	130
III. Adhésion – Analyse comparative aux grandes déformations	136
III.1. Impact du pourcentage en greffons	136
III.2. Impact de la taille du squelette	137
III.3. Impact du pourcentage en polymère sur les propriétés aux grandes déformations	139
IV. Conclusion	141
Annexes	142
Références	142

Chapitre 4 : Étude d'un hydrogel injectable modèle à base de poly(acide acrylique)-g-PNIPAm – Impact de la structure sur les propriétés thermogélifiantes

I. Introduction

Ce chapitre a pour objectif d'étudier l'impact de la structure d'un copolymère greffé modèle, le PAA-g-PNIPAm, sur les propriétés de thermogélification aux petites et grandes déformations. Dans ce cadre, nous allons nous intéresser plus spécifiquement à la taille des greffons, à la densité de greffage et à la masse molaire du squelette (cf. Figure 4.1). Les modifications relatives à la nature des greffons et du squelette seront discutées dans les chapitres suivants (Partie B).

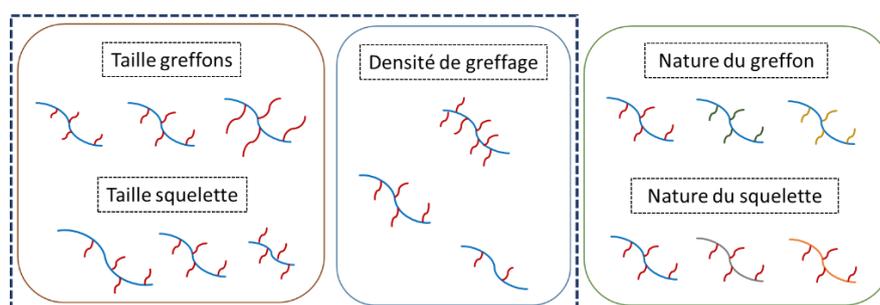


Figure 4.1 : Paramètres structuraux étudiés dans ce chapitre.

II. Étude du comportement thermoassociatif aux faibles déformations

II.1. Impact de la taille des greffons

II.1.1. Introduction

En faisant varier la taille des greffons, l'objectif est de comprendre comment peuvent être modifiées les propriétés thermo-associatives des formulations, de part et d'autre de la température du corps, afin d'adapter au mieux l'architecture du copolymère aux applications biomédicales visées.

Dans un premier temps, nous avons mené une étude prospective afin d'évaluer l'influence de la masse molaire des greffons sur le processus de transition de phase. Pour cela, trois greffons PNIPAm ont été synthétisés avec des masses molaires différentes : $M_n = 8, 20$ et 38 kg/mol, appelés respectivement 8k, 20k et 38k (cf. Tableau 4.1).

Tableau 4.1 : Masses molaires des greffons PNIPAm.

	PNIPAm 8k	PNIPAm 20k	PNIPAm 38k
M_n ; M_w des greffons (kg/mol)	7,6 ; 9,2	20 ; 31	38 ; 61

L'analyse calorimétrique des solutions de ces PNIPAm à 4,8 wt%, reportée sur la Figure 4.2, permet de mettre en évidence quelques différences notables lors de la transition de phase.

- On observe tout d'abord une légère augmentation de T_{as} (DSC) qui passe de 35 °C pour 20k et 38k à 37 °C pour les chaînes de plus faible masse molaire (8k). Cet effet est en bon accord avec la littérature sur le PNIPAm qui est connu pour avoir une T_{cp} peu dépendante de la masse molaire. Des températures d'association similaires ont par ailleurs été reportées par Petit *et al.*¹ pour des chaînes de PNIPAm de $M_n = 8,5$ kg/mol ($\bar{D} = 2$). Dans le cas de nos greffons possédant une extrémité amine chargée en bout de chaîne, il est également possible que cette dernière puisse influencer légèrement la solubilité des greffons en décalant la transition vers de plus hautes températures⁴.

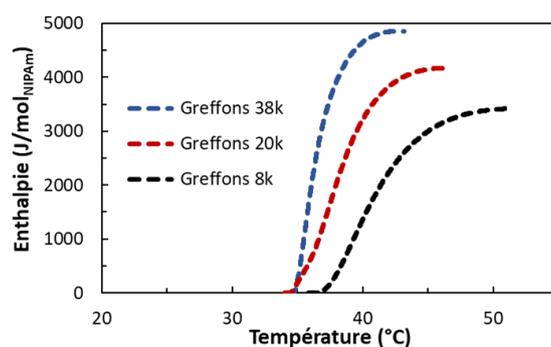


Figure 4.2 : Influence de la masse molaire des greffons PNIPAm sur la transition de phase pour des solutions à 4,8 wt% dans l'eau.

- Le phénomène de transition de phase, tel qu'observé en DSC, se déroule sur une gamme de température de plus en plus large lorsque la masse molaire diminue. Pour les trois greffons étudiés, cette fenêtre de température varie d'environ 5 °C, à 7 °C puis 13 °C pour les greffons 38k, 20k et 8k. Cet effet de la masse molaire, déjà reporté dans les travaux pionniers de microcalorimétrie de Shild et Tirrell³, souligne une transition de phase moins abrupte pour les faibles masses et la nécessité de chauffer plus pour déplacer l'équilibre de la transition pelote/globule.

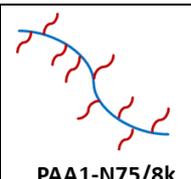
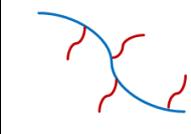
- Enfin, l'enthalpie de transition de phase diminue également avec la masse molaire, passant de 4,8 kJ/mol à 3,3 kJ/mol entre 38k et 8k. Comme discuté dans le chapitre précédent, ces valeurs d'enthalpie sont caractéristiques de celles couramment reportées pour les homopolymères de PNIPAm^{1,2}. Une diminution d'enthalpie est également observée pour les PNIPAm de plus faibles masses molaires³ ainsi que pour les copolymères incorporant des monomères hydrophiles tels que le MADAP². Associée au processus de déshydratation des unités NIPAm, cette diminution de l'enthalpie de transition peut être reliée à une plus faible déshydratation des unités NIPAm dans la phase concentrée et/ou à la présence de chaînes résiduelles dans la phase diluée.

II.1.2. Propriétés thermoassociatives

II.1.2.1. Analyse calorimétrique

Suite à l'étude préliminaire effectuée par DSC, les deux PNIPAm possédant les masses molaires les plus extrêmes, 8k et 38k, ont été greffés avec un même pourcentage massique de greffage (75 wt%) sur le squelette PAA1 décrit au chapitre précédent. Les caractéristiques de ces deux copolymères, **PAA1-N75/8k** et **PAA1-N75/38k**, sont présentées dans le Tableau 4.2.

Tableau 4.2 : Caractéristiques des copolymères PAA1-N75/8k et PAA1-N75/38k et leurs températures caractéristiques déterminées pour des solutions aqueuses à 4,8 wt%.

	PAA1-N75/8k	PAA1-N75/38k	
M_n ; M_w des greffons (kg/mol)	7,6 ; 9,2	38 ; 61	
M_n ; M_w des copolymères greffés	420 ; 1 350	350 ; 1 070	PAA1-N75/8k
T_{as} (°C), 4,8 wt% eau	38	32,7	
T_{sol-gel} (°C), 4,8 wt% eau	49,1	33,9	
Nombre moyen de greffons/chaine	≈ 41	≈ 7	PAA1-N75/38k

Les copolymères greffés ont tout d'abord été étudiés par DSC afin de comparer les propriétés thermodynamiques des chaînons PNIPAm greffés à celles des chaînes libres étudiées précédemment. Comme présenté sur la Figure 4.3, on note une forte diminution de l'enthalpie de transition, de 4,8 à 2,7 kJ/mol pour PAA1-N75/38k et de 3,3 à 0,7 kJ/mol pour PAA1-N75/8k, qui peut être reliée à une plus faible déshydratation des unités NIPAm lors du processus de séparation de phase. L'association des chaînons PNIPAm greffés semble également être gênée stériquement. En effet, si l'on regarde les pentes relatives à la variation d'enthalpie en fonction de la température, elles diminuent fortement par rapport à celles des PNIPAm non greffés. Les interactions électrostatiques répulsives entre les squelettes PAA sont également en partie responsables de ces variations de pente mais le processus d'association semble plus complexe, si l'on compare les températures d'association. En effet, malgré une faible différence de seulement 2 °C entre les T_{as} (DSC) des greffons libres 38k et 8k, l'écart augmente de manière significative entre ces mêmes PNIPAm une fois greffés (environ 6 °C d'écart). En pratique, la T_{as}(DSC) des copolymères greffés diminue par rapport aux chaînes libres pour le PNIPAm 38k alors qu'elle augmente pour le 8k. Comme nous l'avons évoqué précédemment la présence de la chaîne polyélectrolyte de PAA introduit des répulsions électrostatiques inter-chaînes tout en renforçant les interactions hydrophobes par effet de salting-out. Or, si ce dernier effet paraît majoritaire pour les greffons 38k, il semble que pour

les chaînes plus courtes les interactions électrostatiques prévalent et gênent fortement l'agrégation des greffons thermosensibles.

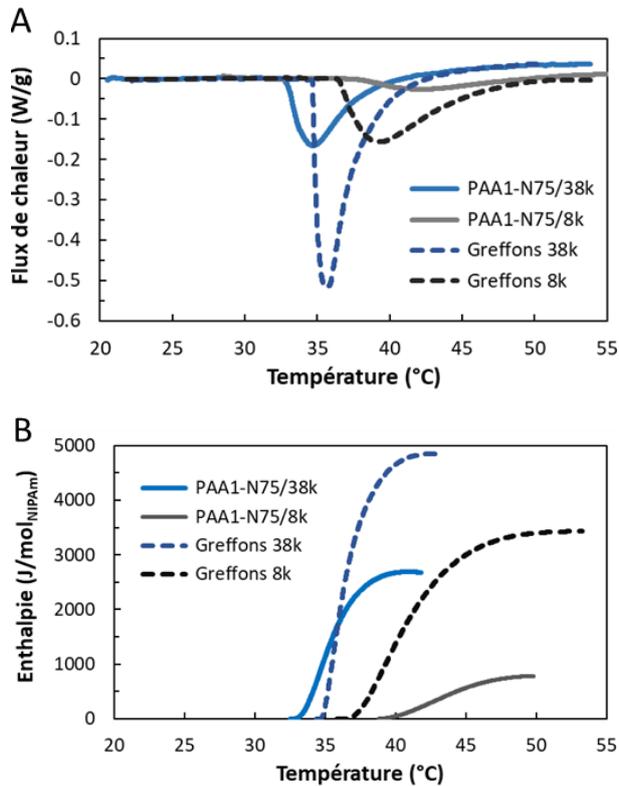


Figure 4.3 : Analyse DSC des solutions aqueuses de greffons seuls, 8k et 38k, et des solutions de copolymères PAA1-N75/8k et PAA1-N75/38k ($C_p = 4,8$ wt%, chauffage, 2 °C/min) ; (A) Thermogrammes, (B) Enthalpie de transition de phase.

En conclusion, une fois greffées, les chaînes de faible masse molaire ($M_n = 8$ kg/mol) semblent donc avoir un caractère hydrophobe trop faible pour prédominer suffisamment sur les interactions répulsives des squelettes PAA.

II.1.2.2. Analyse viscoélastique

De manière complémentaire, la variation des modules élastiques présentée sur la Figure 4.4 confirme les conclusions précédentes avec un affaiblissement du comportement thermogélifiant qui est décalé vers les hautes températures lorsque la taille des greffons diminue.

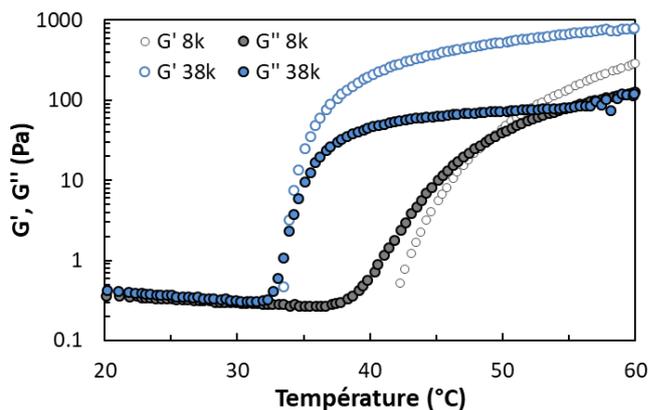


Figure 4.4 : Influence de la taille des greffons sur les propriétés thermogélifiantes des solutions de PAA1-N75, à 4,8 wt% dans l'eau.

La différence « d'hydrophobie » des greffons impacte donc significativement le processus associatif. En effet, même si les deux solutions de copolymères présentent la même viscosité à température ambiante (cf. Figure 4.5), l'augmentation de la viscosité débute à plus basse température et est beaucoup plus abrupte dans le cas du PAA1-N75/38k ($T_{as} = 32,7 \text{ °C}$; $p = 68 \text{ Pa.s/°C}$) comparativement au PAA1-N75/8k ($T_{as} = 38,0 \text{ °C}$; $p = 24 \text{ Pa.s/°C}$). Ceci conduit à une gélification qui intervient juste au-dessus de T_{as} dans le cas du PAA1-N75/38k ($T_{sol-gel} = 33,9 \text{ °C}$). Alors que pour le PAA1-N75/8k, il faut chauffer environ 11 °C au-dessus de T_{as} pour atteindre la transition sol/gel ($T_{sol-gel} = 49,1 \text{ °C}$), soit dans ce cas bien au-dessus de la température du corps. De même à haute température, typiquement dans la zone $50\text{-}60 \text{ °C}$, on note que le phénomène associatif n'est pas terminé et se poursuit de manière non négligeable avec les greffons 8k comme le suggère l'évolution de la pente de G' ou de η^* en fonction de la température.

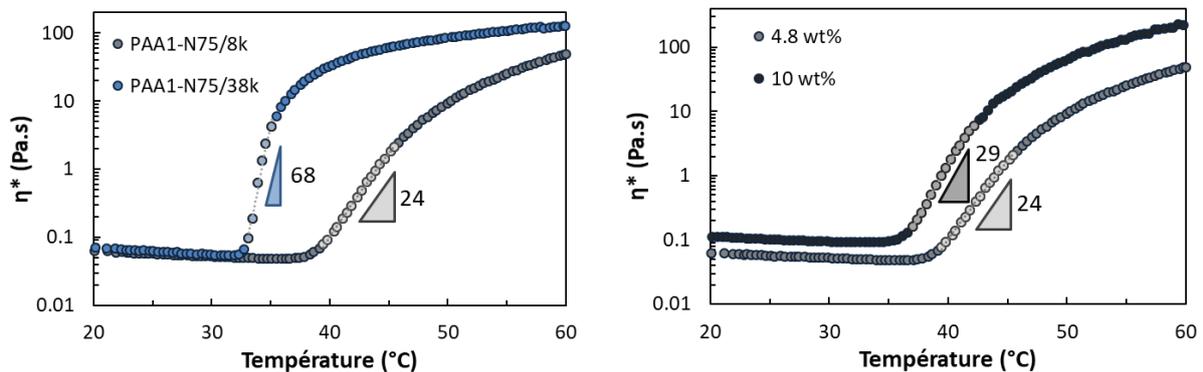


Figure 4.5 : (Gauche) Comparaison du processus de thermoassociation en fonction de la taille des greffons pour PAA1-N75/8k et PAA1-N75/38k, à 4,8 wt% eau ; (Droite) Influence de la concentration du PAA1-N75/8k sur les propriétés thermoviscosifiantes.

Dans le cas du copolymère PAA1-N75/8k, les propriétés thermoépaississantes peuvent être améliorées en augmentant la concentration (cf. Figure 4.5). Néanmoins, la pente n'augmente que très faiblement ($p = 29 \text{ Pa.s/°C}$), avec une $T_{sol-gel}$ qui reste toujours élevée ($45,3 \text{ °C}$) ; tout cela aux dépens d'une viscosité plus élevée à température ambiante qui pourrait ne pas être favorable à l'étape d'injection.

D'une manière générale, nous retrouvons dans cette étude quelques grandes caractéristiques qui ont été reportées sur des structures greffés similaires, du type PAA-g-PNIPAm^{4,5} ou PAA-g-P(NIPAm-co-DMA)⁶, avec 1) le décalage vers les hautes températures et 2) l'affaiblissement du processus de thermoassociation lorsque l'hydrophilie des greffons PNIPAM augmente ou lorsque leur masse molaire diminue, notamment en dessous de 10 kg/mol .

En conclusion, dans le cas des greffons PNIPAm, il est préférable de privilégier une taille de chaîne suffisamment importante pour faciliter le processus d'agrégation et la formation de micro-domaines concentrés en PNIPAm dans une fenêtre de températures la plus réduite possible. Dans ce contexte, la taille des greffons ne peut pas être augmentée de manière inconsidérée car il est difficile de contrôler la fonctionnalisation des extrémités pour des chaînes trop longues. D'autre part, le nombre de greffons par squelette diminuant proportionnellement avec leur masse molaire, pour un taux de greffage donné, le nombre de greffons par chaîne risque de devenir insuffisant pour conduire à une réticulation physique efficace. Dans ce cadre, des greffons à LCST de masse molaire 30-40 kg/mol (M_n) nous semble un bon compromis pour se placer dans des conditions favorables pour l'application envisagée.

II.2. Impact du taux de greffage

III.2.1. Introduction

Lors de leur association avec la température, les greffons à LCST forment des domaines concentrés qui permettent de réticuler le réseau de chaînes hydrophiles. Ainsi, plus leur pourcentage est important, plus le nombre de points de réticulation dans le réseau est censé augmenter, conduisant ainsi à une augmentation du module de conservation G' .

Pour cette étude, trois copolymères greffés ont été synthétisés à partir du même squelette PAA1 en faisant varier le taux en PNIPAm de M_n égale à 38 kg/mol. Les différentes caractéristiques des copolymères greffés sont résumées dans le Tableau 4.3.

Tableau 4.3 : Caractéristiques des copolymères PAA1-Nx/38k et températures caractéristiques déterminées pour des solutions aqueuses à 4,8 wt%.

	PAA1-N37	PAA1-N67	PAA1-N75
M_n ; M_w des greffons (kg/mol)	38 ; 61	38 ; 61	38 ; 61
M_n ; M_w des copolymères greffés (kg/mol)	238 ; 817	244 ; 818	351 ; 1 074
Composition PAA/PNIPAm (wt%)	63/37	33/67	25/75
T_{as} ; $T_{sol-gel}$ (°C)	32,3 ; 34,9	32,6 ; 34,5	32,7 ; 33,9
Nombre moyen de greffons/chaine	≈ 2,5	≈ 4,5	≈ 7

II.2.2. Analyse viscoélastique

À partir des analyses viscoélastiques reportées sur la Figure 4.6, on note peu de modifications au niveau de la température d'association (voir également Tableau 4.3), indiquant ainsi la très faible dépendance de la T_{as} avec le pourcentage en PNIPAm pour une concentration fixée. Il en est de même pour la température de transition sol/gel qui varie seulement entre 34 et 35 °C pour

les trois copolymères en solution. Les modules en fonction de la température sont reportés dans l'Annexe 1 (cf. Figure 4.16).

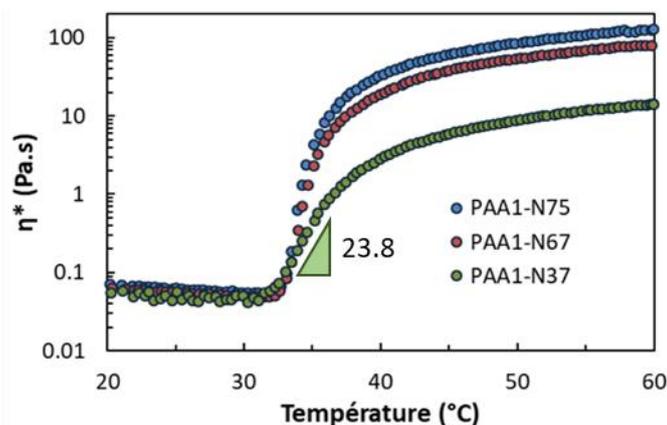


Figure 4.6 :
Propriétés rhéologiques
des solutions de
copolymères
PAA1-N_x/38k,
à 4,8 wt% dans l'eau.

Alors que les trois solutions de copolymère présentent des viscosités comparables dans le domaine non associé, le processus de thermoassociation conduit à des écarts très importants que l'on note à la fois sur les pentes des courbes $\eta^* = f(T)$, avec $p = 23,8 ; 57$ et $68 \text{ Pa.s/}^\circ\text{C}$ pour PAA1-N37, PAA1-N67 et PAA1-N75, respectivement. C'est également le cas pour les modules élastiques obtenus à haute température ($\eta^* \approx G'$). Il apparaît donc clairement que le taux de PNIPAm dans le copolymère joue un rôle majeur sur les caractéristiques viscoélastiques des gels physiques. L'augmentation des propriétés thermoépaississantes avec le pourcentage en PNIPAm s'explique par la formation d'une fraction croissante de microdomaines PNIPAm qui assurent la connexion et le couplage viscoélastique avec la phase semi-diluée enchevêtrée de PAA.

À titre d'exemple, si on estime que la concentration en PNIPAm dans les domaines formés à haute température est d'au moins 50 wt%, la fraction massique des domaines riches en PNIPAm est environ 2 fois plus élevée pour le PAA1-N75/38k comparativement au PAA1-N37/38k ; soit environ 7 et 3,5 wt%, respectivement, pour une concentration totale en copolymère de 4,8 wt%.

II.3. Impact de la taille du squelette

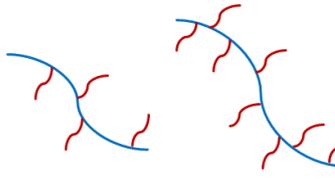
II.3.1. Introduction

Afin d'étudier l'impact de la taille du squelette hydrophile sur le comportement associatif, un poly(acide acrylique) de masse molaire plus élevée que le précédent a été utilisé. Ce deuxième PAA sera appelé PAA2 et possède une M_v égale à 710 kg/mol (cf. Chapitre 2).

Afin de s'affranchir des effets liés aux greffons dans le copolymère, les deux polymères ont été modifiés avec les mêmes greffons PNIPAm ($M_n = 38 \text{ kg/mol}$, $D = 1,6$) et le même pourcentage

de greffons (75 wt%). Les caractéristiques des deux copolymères étudiés sont reportées dans le Tableau 4.4.

Tableau 4.4 : Caractéristiques des copolymères greffés en fonction de la taille du squelette.

	PAA1-N75	PAA2-N75	
M_n ; M_w greffons (kg/mol)	38 ; 61	38 ; 61	
M_n ; M_w copolymère (kg/mol)	351 ; 1 074	/	
T_{as} (°C), 4,8 wt% eau	32,7	32,5	
$T_{sol-gel}$ (°C), 4,8 wt% eau	33,9	33,2	
Nombre moyen de greffons/chaîne	≈ 7	≈ 15	

II.3.2. Analyse viscoélastique

L'analyse comparative de la viscosité complexe en fonction de la température pour les deux copolymères à la même concentration (cf. Figure 4.7) montre tout d'abord une viscosité plus importante à basse température ($T < T_{as}$) avec la solution de copolymère PAA2-N75. Ce résultat classique s'explique par l'augmentation du nombre d'enchevêtrements avec la masse molaire du squelette et par conséquent par une diminution de la concentration d'enchevêtrement C_e du copolymère PAA2-N75 comparativement au PAA1-N75.

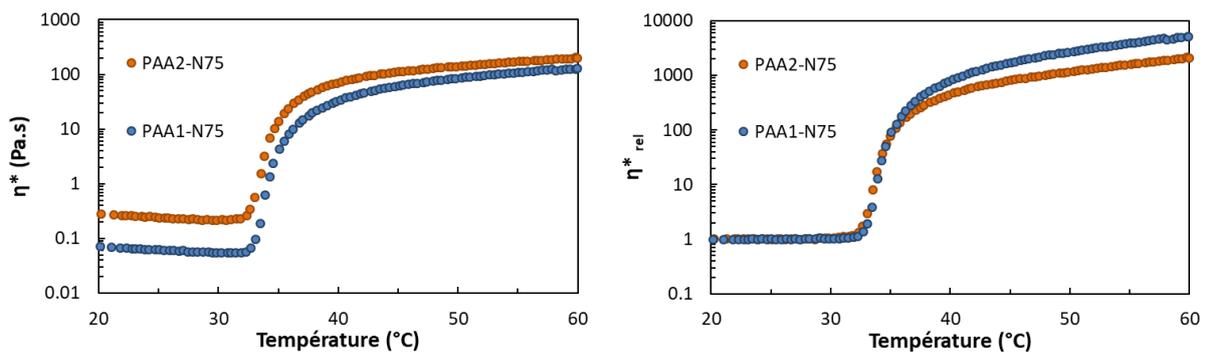


Figure 4.7 : (Gauche) Influence de la masse molaire du squelette PAA sur les propriétés thermogélifiantes : PAA1-N75 et PAA2-N75 ($C_p = 4,8$ wt% dans l'eau) ; (Droite) Variation de la viscosité complexe relative (η^*_{rel}) en fonction de la température.

Expérimentalement, la concentration d'enchevêtrement du PAA2-N75 est estimée à 1,5 wt% (cf. Figure 4.8), comparativement à $C_e = 2,5$ wt% pour les solutions de PAA1-N67. Les lois d'échelle pour le régime semi-dilué non enchevêtré sont très proches pour les deux copolymères, avec $\eta_{sp} \sim C^{0,71}$ et $C^{0,76}$, pour PAA1-N67 et PAA2-N75 respectivement, lorsque $C < C_e$. C'est également le cas pour $C > C_e$, où la viscosité spécifique suit une loi de puissance en $C^{1,32}$ et $C^{1,50}$, pour PAA1-N67 et PAA2-N75 respectivement.

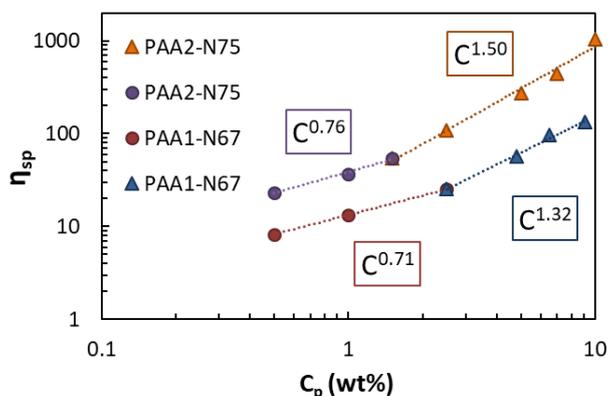


Figure 4.8 : Lois d'échelle pour PAA1-N67 et PAA2-N75, à 20°C dans l'eau.

Les propriétés de thermogélification sont quant à elles assez similaires, avec des valeurs de T_{as} et $T_{sol-gel}$ comparables (cf. Tableau 4.4). Le suivi des modules avec la température se trouve dans l'Annexe 1 (cf. Figure 4.17).

De même, les superpositions de la viscosité relative dans le domaine de températures correspondant à la mise en place des associations (32-35 °C), ainsi que celle des thermogrammes (cf. Figure 4.9), démontrent clairement que dans le cas présent le processus associatif n'est pas influencé par la taille du squelette mais dépend uniquement des greffons.

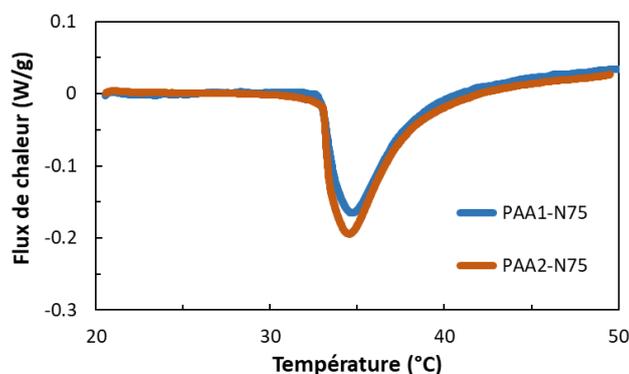


Figure 4.9 : Thermogrammes obtenus par DSC pour les solutions de PAA1-N75 et PAA2-N75, à 4,8 wt% dans l'eau (chauffage, 2 °C/min).

À haute température, le gel de PAA2-N75 présente néanmoins un module élastique plus élevé que celui du copolymère de plus petite taille mais sans corrélation directe avec les viscosités mesurées à basse température.

Dans l'hypothèse, où les propriétés élastiques mesurées à haute température seraient uniquement pilotées par les enchevêtrements initialement formés entre les chaînes de copolymère, le module élastique dans l'état associé ne devrait pas dépendre de la masse molaire ($G \sim M^0$). Dans le cas présent où le rapport des modules mesurés à 60 °C est significativement différent, cela suggère que la masse molaire du squelette influence également les propriétés

élastiques dans l'état associé en jouant sur le nombre de greffons par chaîne ainsi que sur la concentration d'enchevêtrement.

II.4. Discussion

Afin de mieux appréhender les paramètres-clés à l'origine des propriétés élastiques obtenues à haute température, nous avons porté dans un premier temps la variation des modules élastiques relevés à 60 °C en fonction de la concentration en copolymère (C_p). Cette analyse reportée sur la Figure 4.10A fait apparaître une loi de comportement lorsque l'on s'intéresse aux propriétés d'un même copolymère en fonction de la concentration. Par contre, il n'existe pas de corrélation simple dès lors que l'on compare l'ensemble des copolymères.

La fraction de PNIPAm dans le copolymère jouant un rôle important sur le processus de thermoassociation comme nous l'avons vu sur la Figure 4.6. Nous avons alors reporté les modules en fonction de la concentration relative en PNIPAm sur la Figure 4.10B ($C_{PNIPAm} = C_p \cdot w_{PNIPAm}$). Même si des écarts sont observés par rapport à la loi de comportement moyenne calculée sur l'ensemble des données relatives aux copolymères PAA-g-PNIPAm, cette normalisation à partir de la concentration en PNIPAm permet de rendre compte d'un comportement unique pour l'ensemble de cette série ($G' \sim C_p^{1,7}$), quelle que soit la proportion ou la longueur des greffons. Les solutions du copolymère PAA1-N75/8k semblent en effet suivre ce même comportement malgré des greffons PNIPAm plus courts. Dans ce cas, où les T_{as} sont décalées vers des températures plus élevées par rapport aux autres copolymères, cet ajustement pourrait être amélioré en prenant les modules à une température $T = T_{as} + \Delta T$, en utilisant un ΔT constant pour tous les copolymères.

Par contre, si on ajoute sur cette même figure les données obtenues pour la famille PAA2-g-PNIPAm, on note des écarts non négligeables que l'on peut attribuer, à une concentration donnée, à la différence de masse molaire entre les deux copolymères. Afin de prendre en compte ce paramètre ainsi que la nature chimique des chaînes, nous avons considéré la concentration d'enchevêtrement C_e qui dépend à la fois de la masse molaire de la chaîne (M) et de la masse molaire entre enchevêtrements à l'état fondu ($M_{e,0}$) :

$$\text{Équation 4.1 : } C_e \sim (M_{e,0}/M)^\delta$$

L'exposant δ de la relation ci-dessus vaut 3/4 dans le cas des solutions de polymères neutres en bon solvant et en solvant- Θ . Dans le cas des solutions de polyélectrolytes, bien qu'un exposant 2 soit prédit théoriquement la plupart des résultats expérimentaux conduisent à une valeur voisine de la précédente : $\delta = 0,7-0,8^7$.

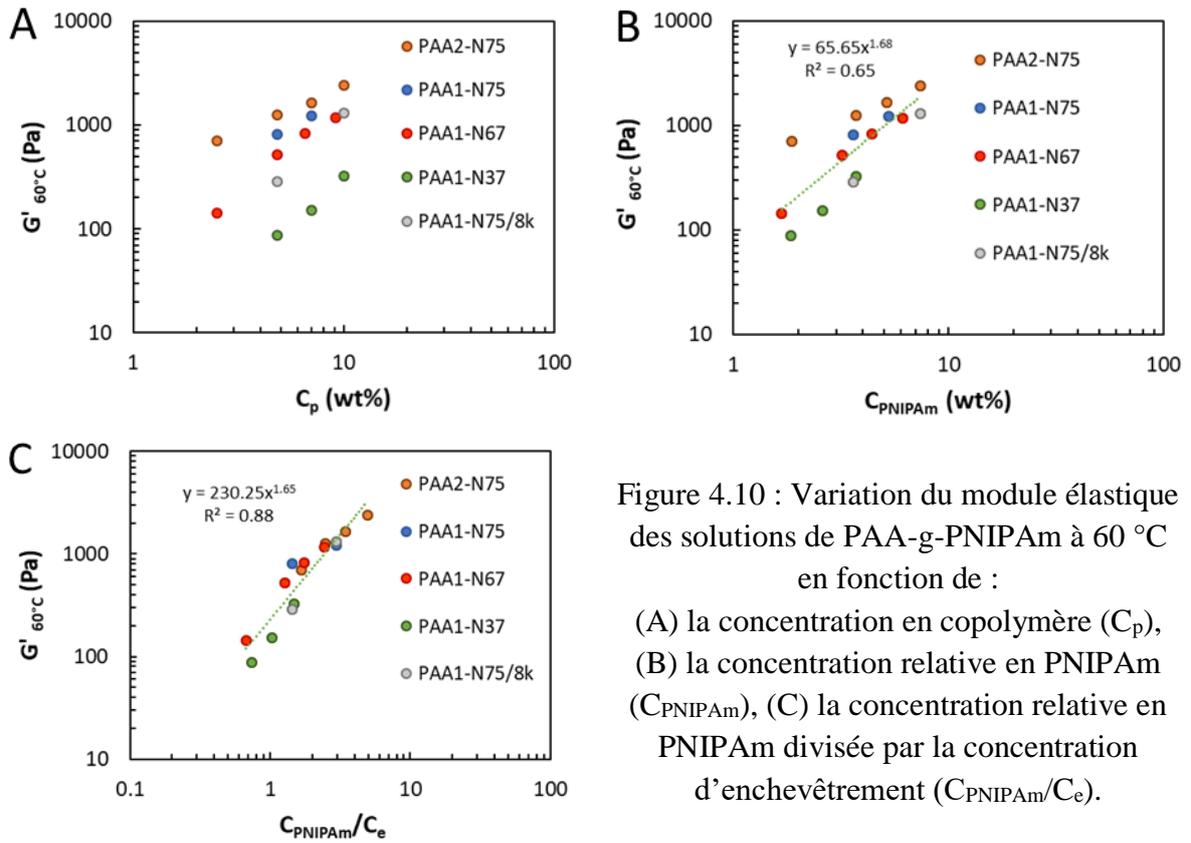


Figure 4.10 : Variation du module élastique des solutions de PAA-g-PNIPAm à 60 °C en fonction de :
 (A) la concentration en copolymère (C_p),
 (B) la concentration relative en PNIPAm (C_{PNIPAm}), (C) la concentration relative en PNIPAm divisée par la concentration d'enchèvement (C_{PNIPAm}/C_e).

Dans une seconde étape, la concentration relative en PNIPAm a donc été normalisée par la concentration d'enchèvement, qui a été évaluée expérimentalement. La concentration C_e est égale à 2,5 wt% pour PAA1-N67/38k et 1,5 wt% pour PAA2-N75/38k (cf. Figure 4.8). Cette normalisation des données reportée sur la Figure 4.10C conduit à une relation générale : $G' \sim C_p^{1,7}$.

D'une manière générale, ce type de loi d'échelle $G' \sim C^\alpha$ est classique dans la littérature et un comportement asymptotique avec une valeur moyenne $\alpha \cong 2$ a été très souvent observé expérimentalement pour décrire le comportement de gels physiques thermostimulables tels que la gélatine ou l'agarose, en se plaçant suffisamment loin de la transition sol/gel⁸.

D'un point de vue théorique, plusieurs modèles permettent d'aboutir à ce type de relation. On trouve par exemple ceux développés historiquement à partir de la théorie de Flory et Stockmayer relative à la polycondensation entre molécules f-fonctionnelles. C'est le cas en particulier du modèle d'Hermans⁹ développé sur la base de la formation de dimères ($\alpha = 2$) ou de la théorie de cascade proposée par Clark et Ross-Murphy¹⁰ qui conduit comme le précédent à un comportement asymptotique avec un exposant $\alpha = 2$, pour des valeurs de fonctionnalité élevées ou $\alpha < 2$ pour des fonctionnalités plus faibles.

Ces lois d'échelle sont également décrites dans le cas des polymères associatifs contenant de multiples points d'interaction (appelés "stickers") responsables du phénomène d'association

intra- ou inter-chaînes. Dans le cas de solutions enchevêtrées, la relaxation des chaînes est décrite par un mécanisme de reptation collante générée par la dissociation de l'ensemble des stickers appartenant à une même chaîne. Dans ce cas, l'amplitude du module au plateau, à des fréquences supérieures à $1/\tau_s$, avec τ_s la durée de vie de l'association physique entre deux stickers, est donnée par :

$$\text{Équation 4.2 : } G \cong CRT \left(\frac{p}{M_s} + \frac{1}{M_e} \right) = G_s + G_e$$

Avec, p : fraction de stickers formant des liens inter-chaînes, M_s/p , M_s et M_e : masses molaires moyennes des segments élastiques compris entre points de réticulation physiques, stickers voisins et enchevêtrements, respectivement, G_s et G_e étant les contributions relatives au module élastique (G) des points de réticulation physiques et des enchevêtrements.

Comme décrit par Leibler *et al.*¹¹, lorsque les enchevêtrements dominant ($M_s/p > M_e$), le module au plateau s'écrit :

$$\text{Équation 4.3 : } G \cong G_e \sim C^\alpha$$

Avec, α : exposant caractéristique des solutions semi-diluées enchevêtrées, c'est-à-dire $\alpha \cong 2,3$ pour les polymères neutres et $\alpha = 1,5$ pour les polyélectrolytes.

À l'inverse, si le comportement est dominé par les points de réticulation physiques ($M_s/p < M_e$), deux plateaux élastiques sont attendus : l'un pour $t < \tau_s$ donné par l'Équation 4.2, l'autre pour $\tau_{rep} > t > \tau_s$, avec un module au plateau plus faible donné par l'Équation 4.3.

Enfin, notons que l'on retrouve également ce même type de loi d'échelle dans le cas des structures cellulaires et nanocomposites. Dans le cas des structures cellulaires, Ashby *et al.*¹² ont en effet montré que le module d'Young d'une mousse avec des pores ouverts (E_c) pouvait être calculé à partir du module d'Young du matériau solide constituant les parois de la mousse (E_2) suivant la relation :

$$\text{Équation 4.4 : } E_c/E_2 = A. (\rho_c/\rho_2)^2$$

Avec, ρ_c et ρ_2 : densités du composite et du matériau formant les parois, respectivement, et A : constante.

Plus récemment, Carolan *et al.*¹³ ont proposé une approche phénoménologique à partir de modélisations numériques réalisées sur des matériaux composites présentant différentes structures relatives à une microséparation de phases ; soit des domaines isolés au sein d'une matrice, soit des phases co-continues. Pour ces différents systèmes biphasiques, ils ont montré avec succès qu'il était possible de modéliser le comportement élastique de matériaux nanostructurés en étendant l'expression d'Ashby *et al.* (cf. Équation 4.4) à des systèmes biphasiques, soit :

$$\text{Équation 4.5 : } E_c = E_1 + (E_2 - E_1)\phi_2^2$$

Avec, $E_2 > E_1$: modules d'Young de chacune des phases et ϕ_2 : fraction volumique de la phase dure.

À travers ces différentes théories, on note que le comportement élastique peut être décrit de manière très différente, soit en prenant en compte uniquement les propriétés de la matrice enchevêtrée, soit à partir du comportement élastique des deux phases générées lors de la séparation de phase. La normalisation que nous avons obtenu à la Figure 4.10C, qui sera également appliquée par la suite dans le cas de squelettes hydrophiles de nature différente, souligne le couplage important qui existe entre les enchevêtrements initiaux des chaînes hydrophiles (C_p/C_e) et la fraction de PNIPAm (w_{PNIPAm}) responsable de la formation de domaines riches en polymère et de l'augmentation importante du temps de relaxation des chaînes qui n'est pas observable dans nos conditions d'étude.

III. Adhésion – Analyse comparative aux grandes déformations

III.1. Impact du pourcentage en greffons

Comme pour la variation du module G' , nous avons étudié l'impact du pourcentage en PNIPAm dans le copolymère. Ainsi, les deux polymères PAA1-N37 et PAA1-N67 ont été comparés aux grandes déformations par des tests de tack réalisés à 50 °C.

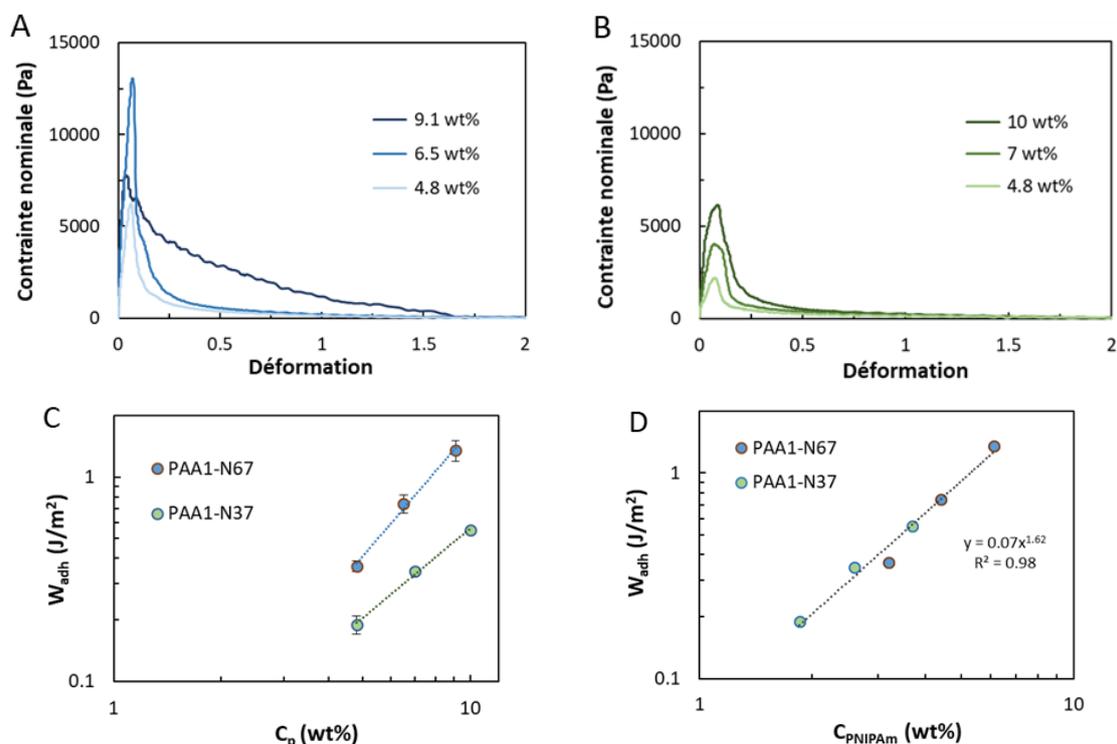


Figure 4.11 : Propriétés adhésives en fonction du pourcentage en PNIPAm, à 50 °C ; (A) Courbes de tack en fonction de la concentration pour PAA1-N67, (B) Courbes de tack en fonction de la concentration pour PAA1-N37, (C) Énergie d'adhésion en fonction de la concentration en polymère, (D) Énergie d'adhésion en fonction de la concentration en PNIPAm.

Dans le cas des formulations de PAA1-N37, on observe une augmentation progressive de la contrainte maximale et de l'énergie d'adhésion avec la concentration (cf. Figure 4.11B et C). Néanmoins, les propriétés d'adhésion de PAA1-N67 sont supérieures à celles de PAA1-N37 sur une même gamme de concentration, faisant clairement apparaître l'impact du pourcentage en PNIPAm. Ainsi, comme pour la variation du module G' , les propriétés adhésives sont étroitement corrélées à la concentration en PNIPAm comme observé sur la Figure 4.11D. Pour ces deux copolymères qui possèdent des concentrations d'enchevêtrement identiques, c'est en effet la proportion de greffons PNIPAm qui va contrôler, à une concentration en copolymère donné, les propriétés adhésives de la formulation. En l'occurrence, le processus de désengagement des chaînes qui intervient lors de la traction de l'adhésif en milieu confiné va dépendre du taux de PNIPAm, ici proportionnel au nombre de chaînes par macromolécules impliquées dans le phénomène d'association. À la fin de cette partie, nous tenterons de normaliser les propriétés d'adhésion pour l'ensemble des copolymères de PAA-g-PNIPAm étudiés, comme nous l'avons fait pour la variation de G' .

III.2. Impact de la taille du squelette

Afin d'évaluer l'influence de la masse molaire du squelette hydrophile sur les propriétés d'adhésion, une étude comparative a été réalisée sur les deux copolymères possédant la même fraction de PNIPAm (75 wt%).

A l'instar des propriétés viscoélastiques précédentes, les mesures de tack présentées sur la Figure 4.12A confirment l'importance de la taille de la chaîne sur l'énergie d'adhésion qui est beaucoup plus importante pour le squelette de masse molaire élevée. Dans le cas de systèmes formulés à une concentration de 4,8 wt%, l'énergie d'adhésion est de $2,8 \text{ J/m}^2$ pour le PAA2-N75, soit 4 à 5 fois plus élevée que celle mesurée pour le PAA1-N75.

Les photos obtenues post-mortem, après les tests de tack, montrent deux faciès différents mais des mécanismes de décollement similaires. En effet, pour les deux copolymères une rupture adhésive, sans résidu sur le poinçon, est observée. Pour PAA1-N75, aucun stigmate lié au décollement n'est observé (cf. Figure 4.12B). Pour PAA2-N75, des digitations apparaissent majoritairement en périphérie de la couche de gel (cf. Figure 4.12C). L'absence de résidu sur le poinçon atteste bien d'une rupture interfaciale et non d'une déformation dans le volume qui aurait aboutie à une rupture cohésive. De plus, comme expliqué précédemment, pour les gels ayant des modules faibles, comme c'est le cas pour nos systèmes, le rapport p_0/E est élevé et il est difficile pour le gel de lutter contre la pression atmosphérique. C'est pourquoi des instabilités vont alors se propager sans phénomène de cavitation.

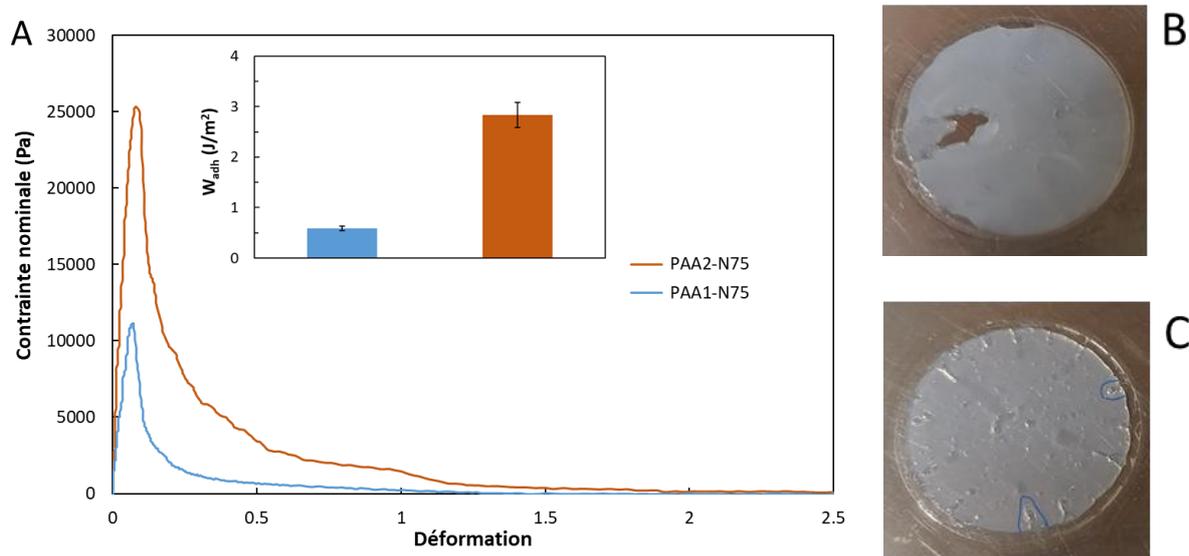


Figure 4.12 : Test de tack en fonction de la taille du squelette à 50 °C (4,8 wt%, v : 100 $\mu\text{m/s}$, h_0 : 400 μm) ; (A) Courbes contrainte-déformation et photos après tests de tack pour (B) PAA1-N75, (C) PAA2-N75.

Néanmoins, PAA2-N75 apparaît plus « dissipatif » que PAA1-N75 puisque sa déformation à la rupture est observée à environ $\varepsilon = 2$, contre 1,25 pour PAA1-N75, ce qui souligne une propagation plus lente des instabilités à l'interface. En ce qui concerne les valeurs de $\tan \delta$ qui traduisent le côté dissipatif du matériau, celles-ci sont assez proches, avec 0,137 et 0,0912 pour PAA1-N75 et PAA2-N75, respectivement. Comme précédemment, les propriétés adhésives des deux copolymères semblent donc être plus étroitement corrélées au caractère élastique des formulations ($G' = 880$ Pa pour PAA2-N75 contre $G' = 540$ Pa pour PAA1-N75) qu'à leur caractère dissipatif ($\tan \delta$) qui lui ne varie que très peu d'un polymère à l'autre. Lorsque l'on compare ces deux copolymères à une même concentration, il faut tout d'abord considérer le nombre d'enchevêtrements par chaîne qui est supérieur pour PAA2-N75 et qui entraîne une meilleure résistance à la propagation des instabilités. De plus, la réticulation physique inter-chaînes, relative aux greffons PNIPAm, est également plus importante avec PAA2-N75 qui possède un plus grand nombre de greffons par chaîne (cf. Tableau 4.4). Ces deux effets combinés, qui permettent d'augmenter les connexions inter-chaînes au sein du réseau, sont donc des paramètres clés pour augmenter l'énergie d'adhésion dans le cas de PAA2-N75.

Les travaux de Zosel *et al.* ont en effet montré l'impact du taux de réticulation¹⁴ et/ou de la masse molaire entre enchevêtrements¹⁵ sur les propriétés adhésives. Dans le cas du PDMS, Zosel *et al.*¹⁴ ont montré qu'il était possible de modifier très largement le comportement adhésif en contrôlant le taux de réticulation par irradiation (cf. Figure 4.13).

En l'absence d'irradiation, le polymère présente un comportement de type « softening ». Dans ce cas-ci, seuls les enchevêtrements agissent comme des connexions inter-chaînes. À partir de

40 kGy, le polymère présente un phénomène de durcissement des fibrilles (« strain hardening ») se manifestant par l'existence d'un plateau et d'une augmentation de la contrainte aux fortes déformations. Par contre, lorsque le taux de réticulation devient trop important, la taille du plateau diminue jusqu'à complètement disparaître pour 1000 kGy, en relation avec la forte composante élastique du système.

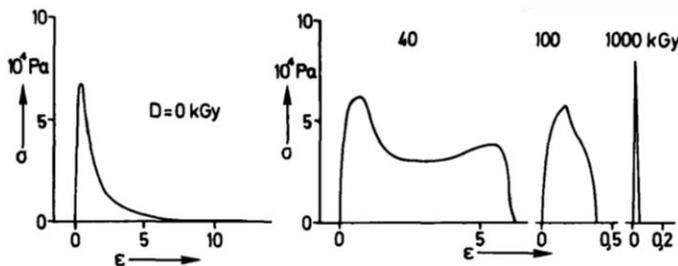


Figure 4.13 : Effet du niveau d'irradiation (taux de réticulation) sur les courbes contrainte-déformation ; Avec, kGy : kiloGray¹⁴.

Dans notre cas, on peut conclure que l'augmentation de la taille du squelette pour PAA2-N75 entraîne une augmentation du nombre de points de réticulation physiques par chaîne ainsi que du nombre d'enchevêtrements. Cela conduit à une augmentation de la composante élastique qui se traduit par une augmentation de l'énergie d'adhésion en relation avec l'augmentation de la contrainte maximale et de la déformation à la rupture. Ainsi, pour nos systèmes PAA-g-PNIPAm, les propriétés adhésives sont étroitement liées au taux d'enchevêtrement et au nombre de greffons à LCST par chaîne, comme c'était le cas également pour le module de conservation G' (cf. Figure 4.10).

III.3. Impact du pourcentage en polymère sur les propriétés aux grandes déformations

Au regard des énergies d'adhésion plus importantes pour PAA2-N75, nous nous sommes intéressés à l'impact de la concentration sur les propriétés aux grandes déformations pour ce polymère.

Comme représenté sur la Figure 4.14, l'énergie d'adhésion augmente sur toute la gamme de concentration testée pour atteindre des valeurs assez élevées de l'ordre de 6 J.m^{-2} , pour la solution à 10 wt%. Les profils sont similaires pour les concentrations de 5 et 7 wt%, avec une augmentation de la contrainte maximale, pour 7 wt%, attestant de l'augmentation du module. De plus, une augmentation de la déformation à la rupture est également observée ($\epsilon_{\text{max}} = 5$) montrant un ralentissement de la propagation des digitations pour cette concentration. Cependant, aucun effet de renforcement sous contrainte n'est observé. Pour 10 wt%, on note une valeur légèrement plus faible pour σ_{max} . La déformation maximale diminue également à

environ $\epsilon_{\max} = 2$ en raison de l'augmentation de l'élasticité du système. Ce phénomène est couramment reporté pour les PSA, comme présenté sur la Figure 4.13.

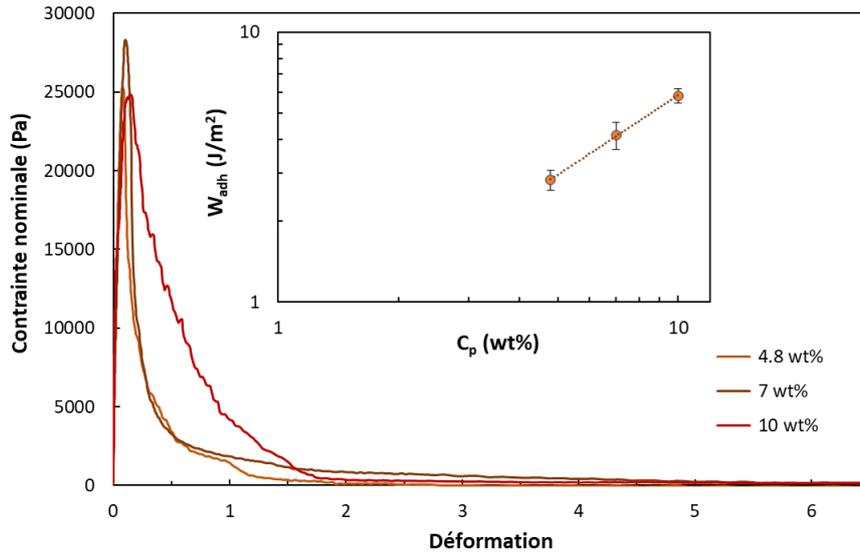


Figure 4.14 : Effet de la concentration en polymère sur l'énergie d'adhésion pour PAA2-N75.

Cependant, malgré des différences de profil sur les courbes contrainte-déformation, l'énergie d'adhésion dépend de la concentration en polymère pour les trois PAA-g-PNIPAm étudiés (cf. Figure 4.15A).

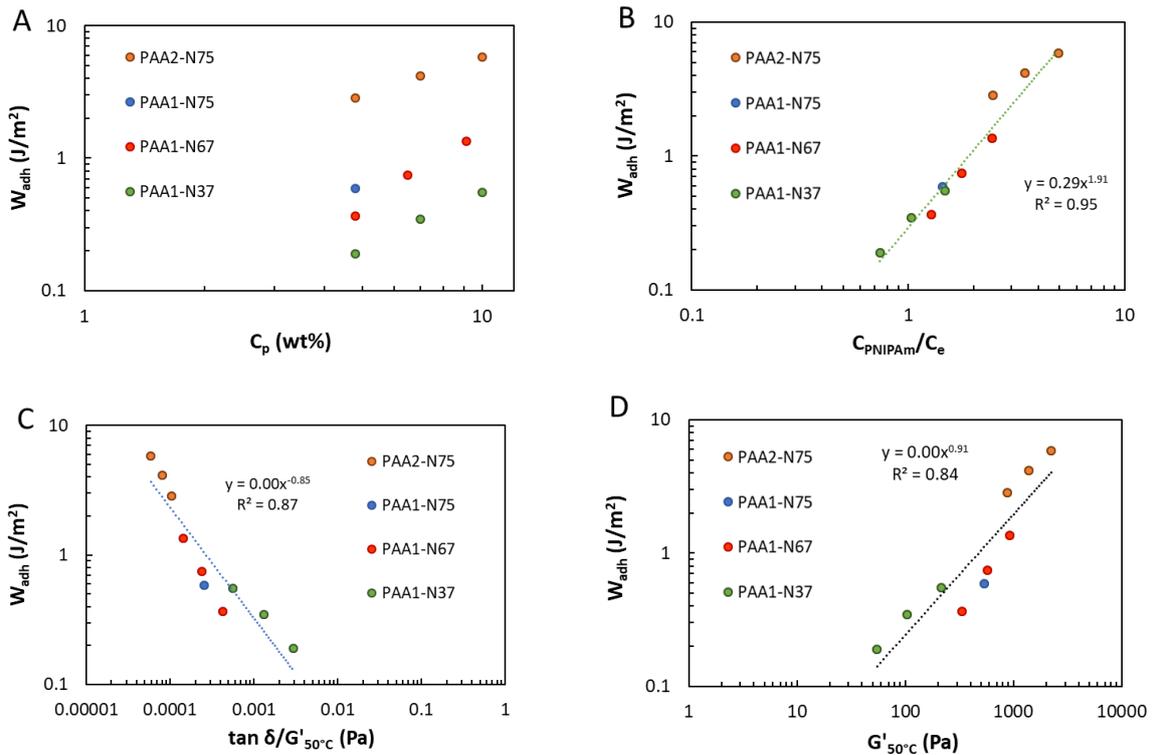


Figure 4.15 : Variation de l'énergie d'adhésion en fonction de la concentration en polymère (A), de la concentration relative en PNIPAm divisée par la concentration d'enchevêtrement (B), de $\tan \delta$ divisé par le module G' à 50 °C (C) et de G' à 50 °C (D).

Afin de comparer l'ensemble des résultats d'adhésion pour tous les PAA-g-PNIPAM synthétisés, nous avons renormalisé les données en portant l'énergie d'adhésion en fonction de la concentration relative en PNIPAM divisée par la concentration d'enchevêtrement (cf. Figure 4.15B). Malgré des signatures parfois différentes obtenues sur les courbes contrainte-déformation, la normalisation des données conduit à un comportement commun $W_{adh} \sim (C_{PNIPAM}/C_e)^{1,9}$ qui implicitement conduit à une corrélation simple entre les propriétés d'adhésion et les propriétés élastiques mesurées aux petites déformations (cf. Figure 4.15C et D).

IV. Conclusion

Sur la base d'une structure greffée PAA-g-PNIPAM, nous avons montré dans ce chapitre comment il était possible de contrôler le processus thermoassociatif en jouant sur les différents paramètres architecturaux. Des modules plus élevés et de meilleures propriétés d'adhésion, pour une concentration donnée, sont obtenus à partir d'un squelette de grande masse molaire. En effet, ceci permet à la fois d'abaisser la concentration d'enchevêtrement et d'augmenter le nombre de greffons à LCST par chaîne de manière à augmenter les connexions inter-chaînes au sein du réseau associatif. De même, il est préférable d'utiliser des greffons suffisamment longs pour favoriser une transition plus abrupte du phénomène associatif et ainsi pouvoir obtenir des températures de transition inférieures à 37 °C.

De manière pratique, il n'est pas possible d'augmenter indéfiniment la masse molaire du squelette PAA au risque d'obtenir des viscosités trop élevées à température ambiante, pouvant ainsi diminuer le caractère injectable de la formulation. De même, en augmentant le taux de greffage de manière trop importante, il y a un risque d'aboutir à un phénomène de macroséparation de phase avec synérèse lors de la transition. En effet, la formation d'un gel thermosensible est gouvernée par la présence d'une proportion suffisante de composante hydrophile dans le copolymère pour permettre la stabilisation du réseau formé lors du processus thermoassociatif. Cet aspect sera notamment discuté dans le chapitre suivant.

En conclusion, l'utilisation de greffons PNIPAM de 30-40 kg/mol (M_n) et des taux de greffage ne dépassant pas 80 wt% semblent bien adaptés au design de copolymères injectables et nous appliquerons ces mêmes paramètres pour la synthèse des copolymères à base d'alginate.

Le résultat le plus marquant de cette première partie reste la possibilité de pouvoir décrire de manière phénoménologique le comportement élastique à haute température, de même que les propriétés d'adhésion non spécifiques, à partir de la concentration en polymère normalisée par la fraction massique en greffons à LCST et la concentration d'enchevêtrement (C_{PNIPAM}/C_e).

Bien qu'il soit difficile de s'appuyer sur une théorie particulière, cette dépendance étroite est une aide importante dans le cadre des relations structure/propriétés et montre ainsi que les propriétés obtenues relèvent d'un subtil couplage entre enchevêtrements et réticulation physique.

Annexes

Annexe 1 : Rhéologie

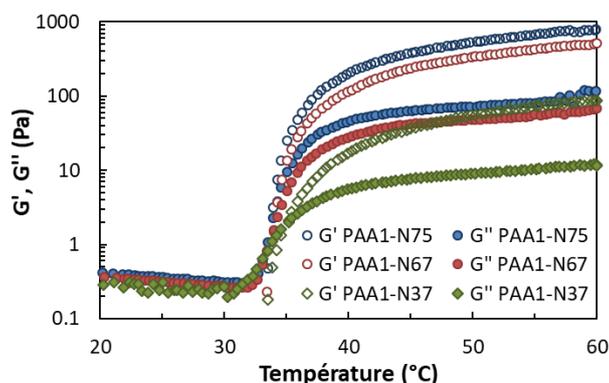


Figure 4.16 : Propriétés thermogélifiantes en fonction du taux de greffage, 4,8 wt% eau.

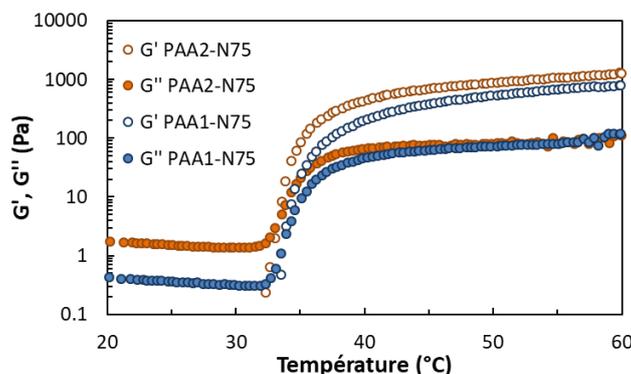


Figure 4.17 : Propriétés thermogélifiantes en fonction de la taille du squelette, 4,8 wt% eau.

Références

1. Petit, L., Bouteiller, L., Brûlet, A., Lafuma, F. & Hourdet, D. Responsive Hybrid Self-Assemblies in Aqueous Media †. *Langmuir* **23**, 147–158 (2007).
2. Siband, E., Tran, Y. & Hourdet, D. Thermoresponsive Interpolyelectrolyte Complexation: Application to Macromolecular Assemblies. *Macromolecules* **44**, 8185–8194 (2011).
3. Schild, H. G. & Tirrell, D. A. Microcalorimetric detection of lower critical solution temperatures in aqueous polymer solutions. *J. Phys. Chem.* **94**, 4352–4356 (1990).
4. Durand, A. & Hourdet, D. Synthesis and thermoassociative properties in aqueous solution of graft copolymers containing poly(N -isopropylacrylamide) side chains. *Polymer* **40**, 4941–4951 (1999).
5. Hourdet, D. *et al.* Thermoreversible Behavior of Associating Polymer Solutions: Thermo thinning versus Thermo thickening. *Macromolecules* **38**, 8512–8521 (2005).

6. Fan, G., Guo, J., Dong, M. & Feng, Y. Thermo-thickening Behavior of Graft Copolymers Containing Poly(*N*-isopropylacrylamide-*co*-*N,N*-dimethylacrylamide) Side Chains in Aqueous Solution. *J. Macromol. Sci. Part A* **51**, 881–890 (2014).
7. Dobrynin, A. V. & Jacobs, M. When Do Polyelectrolytes Entangle? *Macromolecules* **54**, 1859–1869 (2021).
8. Clark, A. H. & Ross-Murphy, S. B. Structural and mechanical properties of biopolymer gels. 136.
9. Hermans, J. Investigation of the elastic properties of the particle network in gelled solutions of hydrocolloids. I. Carboxymethyl cellulose. *J. Polym. Sci. A* **3**, 1859–1868 (1965).
10. Clark, A. H. & Ross-Murphy, S. B. The concentration dependence of biopolymer gel modulus. *Br. Polym. J.* **17**, 164–168 (1985).
11. Leibler, L., Rubinstein, M. & Colby, R. H. Dynamics of reversible networks. *Macromolecules* **24**, 4701–4707 (1991).
12. Ashby, M. F. & Medalist, R. F. M. The mechanical properties of cellular solids. *Metall. Trans. A* **14**, 1755–1769 (1983).
13. Carolan, D., Chong, H. M., Ivankovic, A., Kinloch, A. J. & Taylor, A. C. Co-continuous polymer systems: A numerical investigation. *Comput. Mater. Sci.* **98**, 24–33 (2015).
14. Zosel, A. Effect of Cross-Linking on Tack and Peel Strength of Polymers. *J. Adhes.* **34**, 201–209 (1991).
15. Zosel, A. Adhesion and tack of polymers: Influence of mechanical properties and surface tensions. *Colloid Polym. Sci.* **263**, 541–553 (1985).

Partie B :

Modification de la
nature des greffons et
de l'architecture

Chapitre 5 :

Copolymères linéaires
statistiques thermogélifiants :
Relations structure/propriétés

Table des matières

CHAPITRE 5 : COPOLYMÈRES LINÉAIRES STATISTIQUES THERMOGÉLIFIANTS : RELATIONS STRUCTURE/PROPRIÉTÉS	145
I. Introduction	145
II. Impact du pourcentage en AMPS sur les propriétés thermogélifiantes	147
II.1. Introduction	147
II.2. Analyse viscoélastique	147
II.2.1. Étude des solutions à 5 wt%	147
II.2.2. Influence de la concentration en polymère	149
II.2.3. Étude des propriétés en milieu PBS	151
III. Caractérisation viscoélastique du copolymère PN-A3,5	154
III.1. Étude aux petites déformations	154
III.1.1. Influence de la concentration	154
III.1.2. Influence de la masse molaire	156
III.2. Étude aux grandes déformations	157
III.2.1. Influence de la concentration en copolymère	157
III.2.2. Impact de la vitesse de décollement sur les propriétés d'adhésion	158
IV. Conclusion	161
Annexes	162
Références	163

Chapitre 5 : Copolymères linéaires statistiques thermogélifiants : Relations structure/propriétés

I. Introduction

Dans la littérature, la plupart des copolymères thermogélifiants sont développés à partir de deux principales architectures macromoléculaires. Il y a d'un côté la famille des copolymères greffés, avec des topologies similaires aux PAA-g-PNIPAm (cf. Chapitres 3 et 4) ou des topologies inverses avec un squelette thermosensible et des greffons hydrophiles¹⁻³. De l'autre côté, on retrouve les copolymères à blocs constitués par l'alternance de blocs hydrophiles et hydrophobes, et notamment les copolymères triblocs tels que les poloxamères.

L'objectif du travail prospectif présenté dans ce chapitre est double. Il s'agit tout d'abord de développer un copolymère thermogélifiant avec une mise en œuvre facile, ne nécessitant qu'une seule étape de synthèse, contrairement aux architectures greffées que nous avons préparées précédemment qui nécessitaient deux étapes de synthèse. D'autre part, les propriétés de séparation de phase étant générées dans ce cas par la chaîne principale, les propriétés viscoélastiques, et notamment les propriétés d'adhésion, pourraient être améliorées comme observé par Vahdati *et al.*¹ dans le cas du copolymère greffé PNIPAm-g-PDMA.

Pour préparer un tel copolymère linéaire thermoassociatif, la stratégie est donc d'introduire un comonomère hydrophile au sein de la chaîne à LCST afin de favoriser un phénomène de microséparation de phase et permettre ainsi la formation d'un gel stable même pour de faibles concentrations en polymère. L'introduction d'une composante hydrophile dans les copolymères linéaires thermosensibles est un sujet qui a été largement abordé dans la littérature. C'est le cas par exemple des copolymères de type P(NIPAm-co-*N,N*-[(diméthylamino)propyl] méthacrylamide) (P(NIPAm-co-MADAP)) pour lesquels une augmentation de la température de transition de phase (T_{cp}) avec le pourcentage molaire en monomère cationique a été observé^{4,5}. Au-delà de 50 mol% de MADAP, plus aucune transition de phase n'est observée⁴, ce qui montre les limites du système. L'introduction d'une proportion croissante de monomère hydrophile permet effectivement de limiter le phénomène de séparation de phase macroscopique à une échelle plus locale au détriment de la température de transition qui augmente rapidement.

De plus, dans le cas de ces copolymères P(NIPAm-co-MADAP) de faibles masses molaires (≈ 10 -20 kg/mol), aucune gélification n'a été observée pour des concentrations inférieures à 10 wt%. En pratique, l'incorporation de monomères hydrophiles dans les copolymères à LCST a surtout eu pour objectif de contrôler la température de transition plutôt que de générer des phénomènes de gélification. Il existe donc peu d'études portant sur des copolymères de plus

hautes masses molaires ($M_n > 100$ kg/mol). Nous nous sommes basés sur les travaux de Braun *et al.*⁶ qui ont reporté un comportement thermoépaississant pour un copolymère linéaire de P(NIPAm-co-acide 2-acrylamido-2-méthylpropane sulfonique) (PNIPAm-co-AMPS), avec un ratio 95/5 mol% de NIPAm/AMPS, et une masse molaire M_w égale à environ 2 550 kg/mol (cf. Figure 5.1 Gauche). Pour ce copolymère, étudié à la concentration de 8 wt%, on observe une température de transition décalée vers 40 °C suivi d'un processus de gélification réversible pour des températures allant jusqu'à 60 °C.

De leur côté, Ye *et al.*⁷ ont également reporté ce même processus de thermogélification avec le copolymère P(NIPAm-co-AMPS), dont ils ont fait varier la composition molaire en AMPS entre 0 et 10 mol% ($M_w = 1000$ à 2000 kg/mol).

Des études sur des P(NIPAm-co-AA) ont également montré qu'une M_w d'environ 1 000 kg/mol était idéale pour obtenir une gélification, pour des taux allant de 2 à 5 mol% d'acide acrylique^{8,9}.

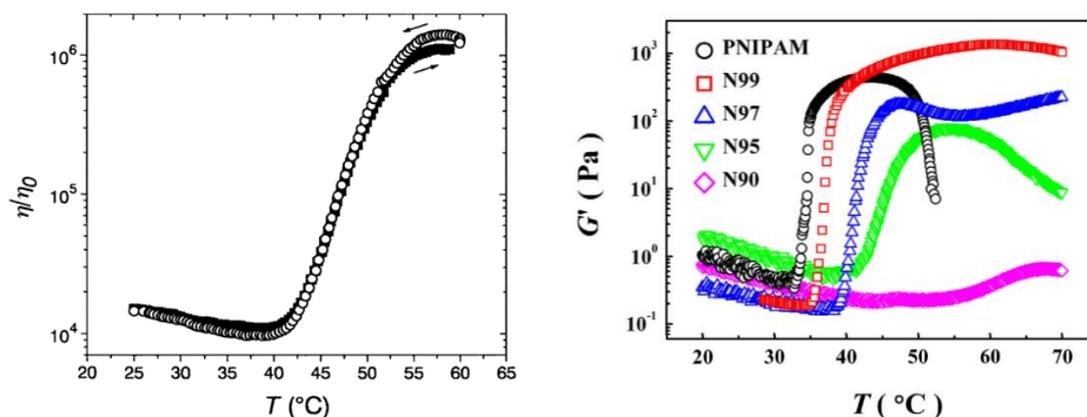


Figure 5.1 : Comportement thermoépaississant de solutions de P(NIPAm-co-AMPS) dans l'eau ; (Gauche) solution à 8 wt% d'un copolymère à 5 mol% d'AMPS⁶, (Droite) solutions à 7 wt% de copolymères à 0 (PNIPAM), 1 (N99), 3 (N97), 5 (N95) et 10 (N90) mol% d'AMPS⁷.

Dans le cas de solutions à 7 wt% en copolymère (cf. Figure 5.1 Droite), l'homopolymère PNIPAm présente bien un comportement thermogélifiant vers 32 °C mais le réseau formé s'écroule au-delà de 50 °C avec l'avancement du processus de séparation de phase. L'introduction d'une proportion croissante en comonomère AMPS permet d'améliorer la stabilité du gel mais comme discuté précédemment cela s'accompagne d'une augmentation de la température d'association et d'un affaiblissement des propriétés gélifiantes qui finissent par pratiquement disparaître pour la solution de copolymère à 10 mol% d'AMPS.

Dans le cadre de ce travail, nous avons donc suivi cette stratégie et préparé des copolymères linéaires de P(NIPAm-co-AMPS) en faisant varier la masse molaire et/ou le taux de monomères ioniques dans la chaîne de PNIPAm. L'objectif est de relier les caractéristiques structurales du

copolymère ainsi que les conditions de préparation (concentration, force ionique) aux propriétés viscoélastiques et adhésives développées sous gradient de température.

II. Impact du pourcentage en AMPS sur les propriétés thermogélifiantes

II.1. Introduction

Afin de nous affranchir des effets liés à la taille des chaînes macromoléculaires, nous avons choisi de fixer la masse molaire des copolymères aux alentours de $M_n \cong 400$ kg/mol en nous référant à l'article de Ye *et al.*⁷ (cf. Tableau 5.1). Les copolymères de P(NIPAm-co-AMPS), synthétisés avec différents pourcentages molaires en AMPS, de 2 à 9,3 mol%, sont notés **PN-Ax**, avec **PN** pour PNIPAm et **A** pour AMPS suivi du pourcentage molaire en AMPS (**x**).

Tableau 5.1 : Caractéristiques des P(NIPAm-co-AMPS) synthétisés.

Nom	PN-A2	PN-A3,5	PN-A5	PN-A9,3
mol% AMPS	2	3,5	5	9,3
M_n, M_w (kg/mol)	389, 628	385, 635	417, 656	408, 654

II.2. Analyse viscoélastique

II.2.1. Étude des solutions à 5 wt%

Les copolymères synthétisés ont tout d'abord été étudiés dans l'eau à une concentration de 5 wt%. Comme on peut l'observer sur la Figure 5.2, les quatre copolymères présentent tous des viscosités voisines à basse température ($T < T_{as}$) en bon accord avec leurs masses molaires comparables. Dans la gamme de composition étudiée, il semble donc que le taux de charge a un effet marginal sur la conformation et l'extension de la chaîne.

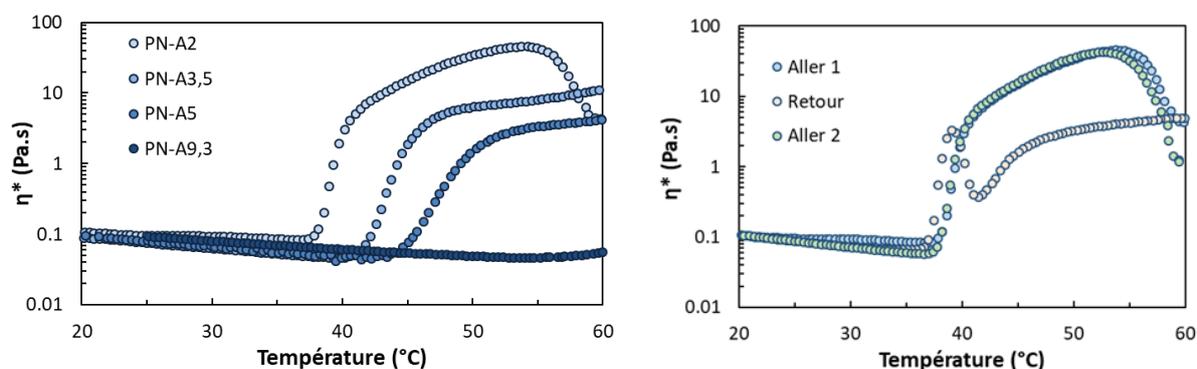


Figure 5.2 : (Gauche) Propriétés rhéologiques des solutions de P(NIPAm-co-AMPS) en fonction du pourcentage molaire en AMPS, ($C_p = 5$ wt% dans l'eau) ; (Droite) Courbe aller-retour-aller de la solution de PN-A2.

Comme observé avec les résultats de Ye *et al.*⁷, l'incorporation d'une proportion croissante d'AMPS, ici 2, 3,5, 5 et 9,3 mol%, conduit à un décalage de la température d'association T_{as} vers les plus hautes températures, respectivement, 37,8, 41,8, 44,7 et 55 °C. Contrairement au comportement thermoassociatif décrit précédemment avec les PAA-g-PNIPAm, on voit apparaître avec le copolymère linéaire le moins substitué, PN-A2, un quatrième domaine de température ($T > 55$ °C), dans lequel la viscosité diminue fortement. Cet effet, également observé par Ye *et al.*⁷ pour du PNIPAm (cf. Figure 5.1), traduit un fort déséquilibre de la balance hydrophile/hydrophobe au profit des interactions entre séquences PNIPAm qui induit une contraction des chaînes PNIPAm. Dans ce cas, cela se traduit par une macroséparation de phase à haute température comme cela est mis en évidence par la comparaison des courbes aller-retour-aller sur la Figure 5.2. Ainsi, à 5 wt%, il n'est donc pas possible d'obtenir un gel stable à température élevée avec cette faible proportion d'AMPS (2 mol%) dans le copolymère. Pour des proportions croissantes en AMPS, typiquement pour PN-A3,5 et PN-A5, les formulations à 5 wt% permettent d'obtenir des gels stables en température. En effet, la variation de viscosité complexe η^* , proportionnelle au module élastique pour $T > T_{gel}$, présente un plateau légèrement croissant et totalement réversible (cf. Annexe 1, Figure 5.17) au-delà de 48 et 52 °C, pour PN-A3,5 et PN-A5, respectivement. On note cependant que le caractère thermogélifiant diminue avec l'ajout croissant d'AMPS dans le copolymère. Ainsi, à 60 °C, la viscosité complexe est nettement plus faible pour le gel de PN-A5 ($\eta^* = 4$ Pa.s, soit $G' = 25$ Pa) comparativement au gel PN-A3,5 ($\eta^* = 11$ Pa.s, soit $G' = 70$ Pa). Les modules en fonction de la température sont reportés sur la Figure 5.18 (cf. Annexe 1).

L'augmentation de la proportion d'AMPS dans le copolymère, qui revient à diminuer la taille des séquences moyennes de PNIPAm entre monomères chargés, tend à défavoriser le processus d'agrégation inter-chaînes et la formation d'un réseau percolant. Pour des proportions d'AMPS encore plus élevées, telles que dans le cas du PN-A9,3, le processus de thermoépaississement est tout juste observable à partir de 55 °C. Dans le cas de nos copolymères, l'impact de l'incorporation d'un monomère hydrophile est tout particulièrement important dans la mesure où il s'agit de monomères chargés introduisant des répulsions électrostatiques qui s'opposent fortement aux interactions hydrophobes.

À cette concentration de 5 wt%, nous avons donc montré que seuls les copolymères PN-A3,5 et PN-A5 étaient capables de former des gels stables à haute température. Pour des proportions en AMPS plus faible (PN-A2) ou plus élevée (PN-A9,3), la formation d'un réseau percolant est fortement affaiblie soit parce que la forte contraction des chaînes sous l'effet de la température pousse le système vers une séparation de phase macroscopique (PN-A2), soit au contraire parce

que les interactions électrostatiques répulsives limitent fortement le processus d'agrégation inter-chaînes (PN-A9,3).

II.2.2. Influence de la concentration en polymère

Les solutions de polymères à LCST formant des phases concentrées au-dessus de leur température de transition, il est possible de contrôler le gonflement de cette phase en introduisant des groupements répulsifs sur la chaîne. C'est ce qui se passe notamment lorsque l'on introduit des motifs AMPS dans la chaîne PNIPAm. Néanmoins, si le taux d'ionicté est insuffisant, une séparation de phase peut apparaître telle qu'observée avec la solution de PN-A2 à 5 wt%, au-delà de 55 °C (cf. Figure 5.2). À l'inverse, si le taux d'ionicté est trop élevé, la solution reste stable car il n'y a plus de séparation de phase. Dans ce contexte, la concentration initiale en copolymère joue un rôle essentiel car elle permet d'une part d'augmenter le taux d'enchevêtrement et les contacts attractifs inter-chaînes mais également de contrôler le gonflement de la phase concentrée de manière à éviter une séparation de phase macroscopique. C'est dans ce but que nous avons poursuivi l'étude précédente en travaillant à des concentrations plus élevées en copolymère (7 et 10 wt%).

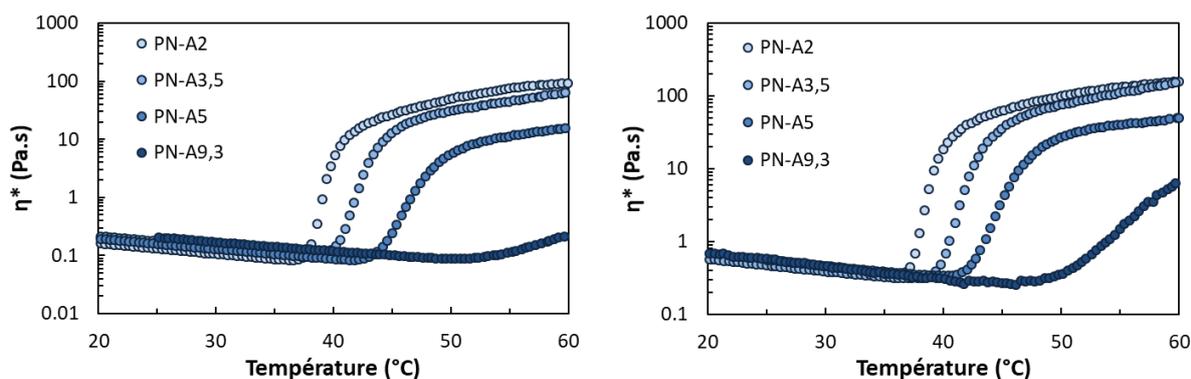


Figure 5.3 : Propriétés thermogélifiantes en fonction du pourcentage en AMPS ; (Gauche) 7 wt% eau, (Droite) 10 wt% eau.

Comme on peut l'observer sur la Figure 5.3, le copolymère PN-A2 conduit cette fois à la formation de gels stables entre 40 et 60 °C pour des concentrations de 7 et 10 wt%. Il existe donc bien une concentration critique en polymère permettant la formation d'un réseau percolant. Les propriétés viscoélastiques sont bien entendu améliorées lorsque l'on passe de 7 à 10 wt% avec un caractère thermoassociatif nettement observable cette fois pour le copolymère PN-A9,3. Dans ce cas, la forte augmentation de la pente de thermoassociation entre 5, 7 et 10 wt% peut être attribuée en partie à un écrantage plus important des répulsions électrostatiques liée à l'augmentation de la force ionique, proportionnelle à la concentration en copolymère. D'une manière générale, dans cette gamme de concentration où les formulations restent stables

sur l'ensemble du domaine de température, les propriétés viscoélastiques à 60 °C diminuent avec le taux d'ionicté. On note de plus une variation significative des températures d'association qui augmentent de manière linéaire avec le taux d'AMPS (cf. Figure 5.4). Il en est de même pour les températures de gélification, ce qui permet une assez bonne prédiction, à cette concentration de 10 wt%, des températures caractéristiques en fonction du pourcentage en AMPS.

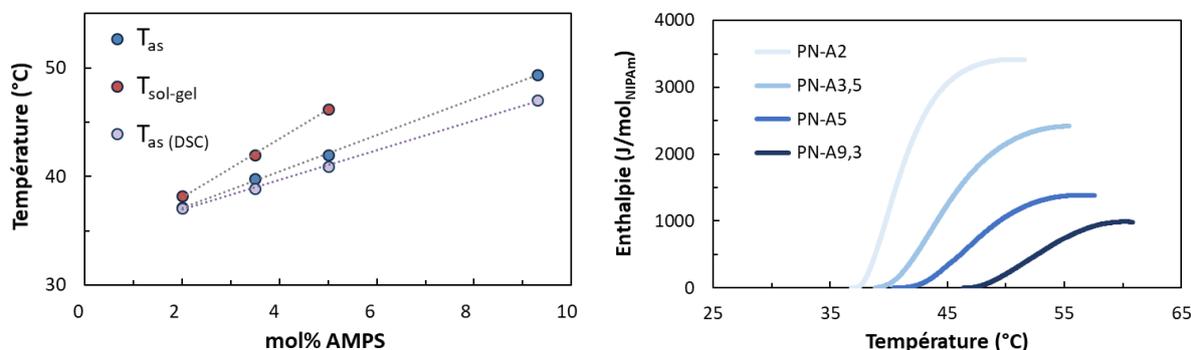


Figure 5.4 : Propriétés thermoassociatives en fonction du pourcentage en AMPS dans le copolymère, 10 wt% eau ; (Gauche) T_{as} et $T_{sol-gel}$, (Droite) Variation de l'enthalpie (chauffage, 2 °C/min).

Ces résultats sont par ailleurs parfaitement corrélés aux analyses calorimétriques réalisées en parallèle sur les mêmes solutions (cf. Figure 5.4). L'augmentation du caractère hydrophile de la chaîne conduit d'une part à une augmentation de la température de transition et d'autre part à une diminution de l'enthalpie, qui peut être considérée comme la signature du phénomène de déshydratation, que l'on peut relier tout du moins qualitativement à l'amplitude des interactions attractives entre séquences PNIPAm. En modifiant cette balance hydrophile/hydrophobe, par l'addition de motifs chargés, il est donc possible de retarder le processus de séparation de phase et de réduire son amplitude. L'impact sur les propriétés rhéologiques est plus complexe car il faut éviter que les forces attractives prépondérantes conduisent à une séparation de phase macroscopique et la concentration en copolymère joue alors un rôle essentiel pour maintenir la stabilité de la formulation lors de la transition sol/gel.

Au cours de cette étude préliminaire, nous avons montré que pour obtenir un hydrogel avec des polymères à LCST linéaires, il est important d'introduire une proportion suffisante de groupements hydrophiles afin de pouvoir stabiliser la formation du gel et éviter une séparation de phase macroscopique. Dans ce cadre, la concentration en polymère est un paramètre clé pour permettre la formation d'un réseau percolant et sa stabilisation. Sur la gamme de composition testée, une hydrophilie modérée (2-5 mol% d'AMPS) semble être un juste équilibre pour éviter soit une trop faible solubilité des chaînes pour $T > T_{as}$, soit au contraire une trop grande

solubilité pouvant entraîner une diminution importante, voire l'absence du caractère thermogélifiant. On notera néanmoins que la transition sol/gel des copolymères se produit à une température supérieure à celles relevées pour la majorité des copolymères greffés, température également supérieure à celle du corps et qui s'éloigne des objectifs visés.

II.2.3. Étude des propriétés en milieu PBS

Dans le cadre d'applications biomédicales, une diminution de la $T_{\text{sol-gel}}$ de ces copolymères en dessous de 37 °C est nécessaire et l'utilisation d'un milieu ionique PBS, qui présente de plus l'avantage de mimer les conditions physiologiques, apparait bien adapté pour aborder cette question. Une première étude menée sur une solution de PN-A5 en milieu PBS (cf. Figure 5.5 Droite) met tout d'abord en évidence une diminution de la température d'association d'environ 5 °C (44,7 à 39,8 °C) par rapport à l'eau pure. Pour PN-A2 (cf. Figure 5.5 Gauche), un décalage de 3 °C est observé dans ce cas-ci (37,8 à 34,6 °C). Parallèlement, l'effet thermoépaississant est beaucoup plus faible et limité sur une zone de température d'une dizaine de degrés. La force ionique favorise donc le phénomène associatif mais comme celui-ci est piloté par le squelette PNIPAm, la contraction des chaînes sous l'effet de la température tend à réduire le nombre de contacts inter-chaînes et à empêcher la formation d'un réseau percolant. Un tel effet a été reporté dans la littérature³ dans le cas de copolymères greffés à squelette thermosensible (PNIPAm-g-PDMA) en présence de K_2CO_3 . En effet, comparativement au copolymère de topologie inverse (PDMA-g-PNIPAm), qui reste très stable en présence de sel ajouté quelle que soit la concentration en copolymère, les solutions salines de PNIPAm-g-PDMA présentent une faible stabilité à haute température notamment pour de faibles concentrations en polymère.

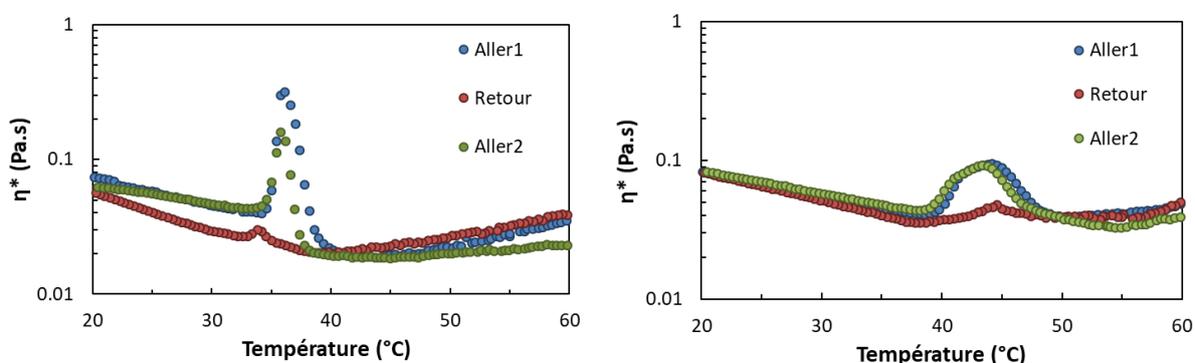


Figure 5.5 : Propriétés rhéologiques de PN-A2 (Gauche) et PN-A5 (Droite), à 5 wt% dans du PBS.

Afin de privilégier les interactions inter-chaînes tout en contrecarrant le phénomène de contraction des chaînes avec la température, il est donc important de travailler à des concentrations en polymère plus élevées pour augmenter le degré de percolation du réseau

associatif. C'est ce que l'on peut observer sur la Figure 5.6, où les propriétés thermoépaississantes sont nettement visibles avec le polymère PN-A5 au-delà de T_{as} mais une fois de plus on observe une perte de stabilité du gel au-delà de 45 °C. Parallèlement, on remarque que dans les mêmes conditions, les solutions de PN-A2 et PN-A3,5 sont beaucoup plus « stables » et conduisent toutes deux à un vrai phénomène de thermogélification réversible qui débute vers 33,8 et 35,8 °C, respectivement.

La concentration mais également la proportion en AMPS dans le copolymère sont donc des paramètres clés pour contrôler la stabilité du gel en présence de sel.

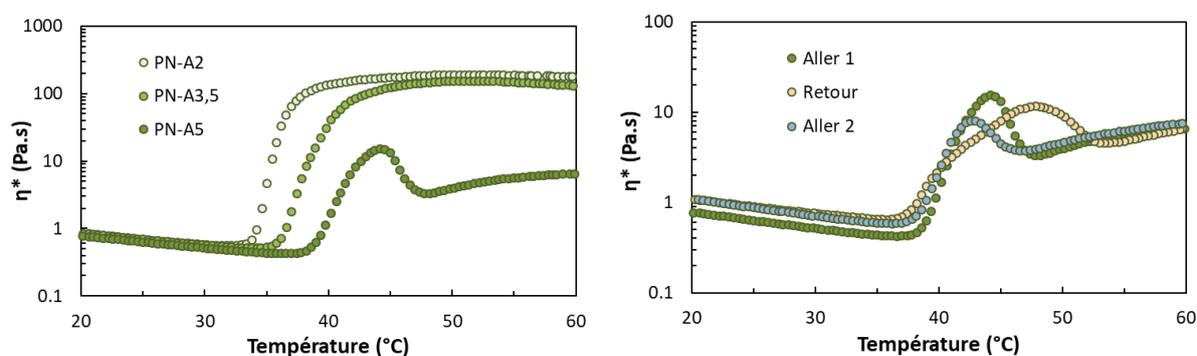


Figure 5.6 : (Gauche) Propriétés thermogélifiantes en fonction du pourcentage en AMPS, 10 wt% PBS ; (Droite) Courbes aller-retour-aller pour PN-A5, 10 wt% PBS.

Dans le cas des solutions de PN-A2 et PN-A3,5 à 10 wt%, la comparaison des milieux eau et PBS se limite essentiellement à un décalage d'environ 4 °C des températures caractéristiques T_{as} et $T_{sol-gel}$ (cf. Figure 5.7).

Tableau 5.2 : T_{as} et $T_{sol-gel}$ en fonction du solvant, à 10 wt%.

	PN-A2	PN-A3,5
T_{as} ; $T_{sol-gel}$ (°C) dans l'eau	37,2 ; 38,2	39,8 ; 42
T_{as} ; $T_{sol-gel}$ (°C) dans le PBS	33,8 ; 34,7	35,8 ; 38

En effet, comme on peut le constater sur la Figure 5.7, l'ajout de sel ne modifie pratiquement pas la viscosité initiale, de même que la viscosité complexe ou le module élastique à 60 °C. En effet, le caractère ionique des chaînes est très faible.

On notera cependant qu'à haute température η^* ou G' (cf. Annexe 1, Figure 5.19) continuent d'augmenter légèrement dans l'eau alors que c'est l'inverse qui est observé en milieu PBS. Dans ces conditions, la diminution du module élastique avec la température peut être attribuée à une baisse de la connectivité du réseau sous l'effet de la contraction des chaînes de PNIPAm.

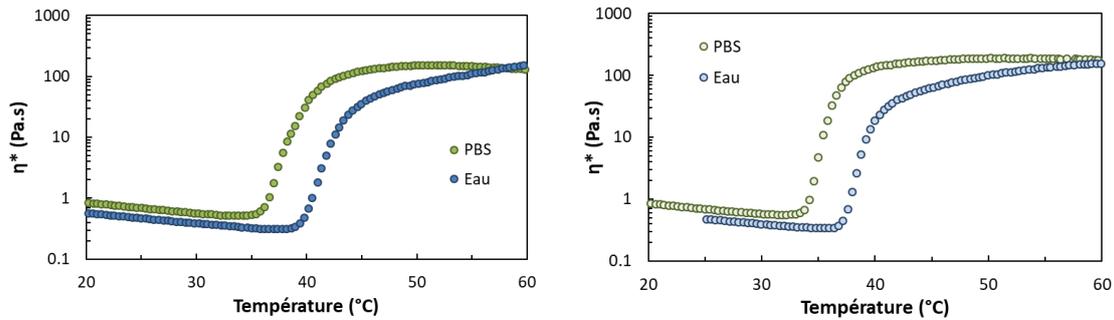


Figure 5.7 : Comparaison eau/PBS pour PN-A3,5 (Gauche) et PN-A2 (Droite), à 10 wt%.

Les analyses complémentaires réalisées par DSC (cf. Figure 5.8) conduisent aux mêmes conclusions avec un décalage des T_{as} d'environ 3-4 °C et une légère augmentation des enthalpies de transition qui souligne un processus de déshydratation plus important en milieu ionique. Ceci souligne l'écrantage des charges en milieu PBS qui permet ainsi de favoriser la formation des interactions hydrophobes au détriment des interactions répulsives.

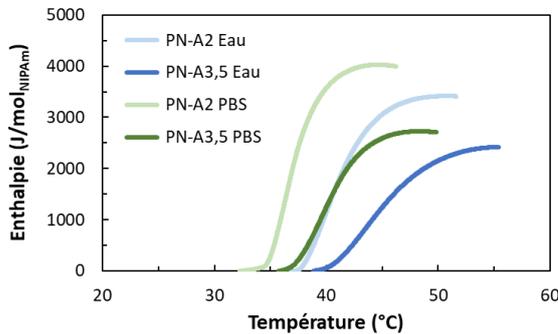


Figure 5.8 : Enthalpie en fonction du solvant, pour PN-A2 et PN-A3,5, 10 wt%.

Cette étude menée dans le PBS, a permis de souligner l'impact de la force ionique sur ces copolymères linéaires qui permet à la fois d'abaisser la température de transition de phase tout en renforçant les interactions entre les chaînes. Dans ces conditions, il devient possible d'obtenir des formulations gélifiées à la température de 37 °C (cf. Figure 5.9) mais dans des conditions très limitées à la fois de composition (PN-A2) mais également de concentration pour éviter une séparation de phase macroscopique (10 wt%). D'une manière générale, ces résultats confirment que les copolymères à squelette thermosensible conduisent à des formulations beaucoup moins stables que les copolymères à greffons thermosensibles.

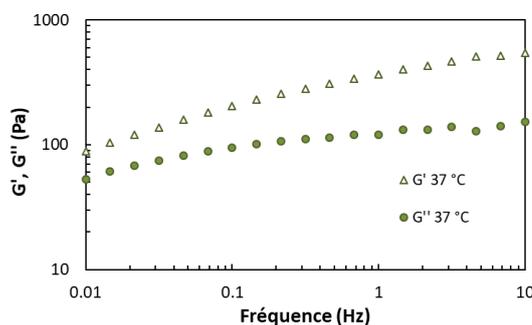


Figure 5.9 : Balayage en fréquence pour PN-A2 à 10 wt% dans le PBS, à $T = 37$ °C.

Afin d'analyser plus en détail les caractéristiques viscoélastiques aux petites et grandes déformations de ces copolymères linéaires, nous nous sommes intéressés plus particulièrement au copolymère PN-A3,5 qui présente une balance hydrophile/hydrophobe conduisant à la formation de gels stables aux différentes concentrations précédemment étudiées.

III. Caractérisation viscoélastique du copolymère PN-A3,5

III.1. Étude aux petites déformations

III.1.1. Influence de la concentration

La variation de la viscosité complexe en fonction de la température reportée sur la Figure 5.10 permet de comparer l'influence de la concentration sur les propriétés viscoélastiques.

Tableau 5.3 : T_{as} et $T_{sol-gel}$ des solutions de PN-A3,5 dans l'eau en fonction de la concentration.

C_p (wt%)	5	7	10	12
T_{as} (°C)	41,8	40,2	39,8	39
$T_{sol-gel}$ (°C)	44,8	42,8	42	41

On retrouve notamment dans le domaine non associé ($T < 39$ °C) le comportement de solutions en régime enchevêtré avec la viscosité qui varie avec la concentration suivant une loi de puissance $\eta_{sp} \sim C^{3,4}$. L'exposant, qui est ici beaucoup plus élevé que celui relevé avec les solutions polyélectrolytes de PAA-g-PNIPAm, est caractéristique d'un polymère neutre en bon solvant ($\eta_{sp} \sim C^{15/4}$)¹⁰. Ce résultat indique qu'à ce faible taux d'ionocité (3,5 mol%), les motifs ioniques influent peu sur la conformation de la chaîne à basse température. L'exposant obtenu pour les solutions de PN-A3,5 est également proche de la valeur expérimentale reportée par Ye *et al.*⁷ ($\eta_{sp} \sim C^{3,9}$) pour des copolymères de PNIPAm incorporant moins de 5 mol% d'AMPS.

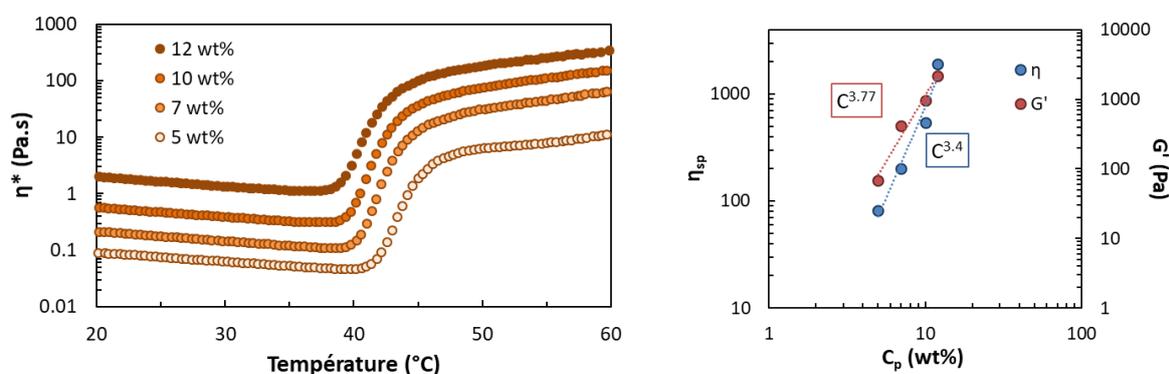


Figure 5.10 : (Gauche) Propriétés thermogélifiantes des solutions de PN-A3,5 dans l'eau en fonction de la concentration ; (Droite) Variation de la viscosité spécifique, à 20 °C, en fonction de la concentration en polymère.

Au-delà de T_{as} , les quatre solutions présentent des signatures de thermoassociation voisines qui conduisent à la formation de gels élastiques à haute température. Cette transition sol/gel a lieu sur un intervalle de 10 °C environ comme on peut le voir sur la Figure 5.11 où l'on passe d'un comportement de liquide visqueux à 40 °C ($G' < G''$) à un comportement de gel élastique à 50 °C, où les modules sont indépendants de la fréquence et G' est supérieur à G'' .

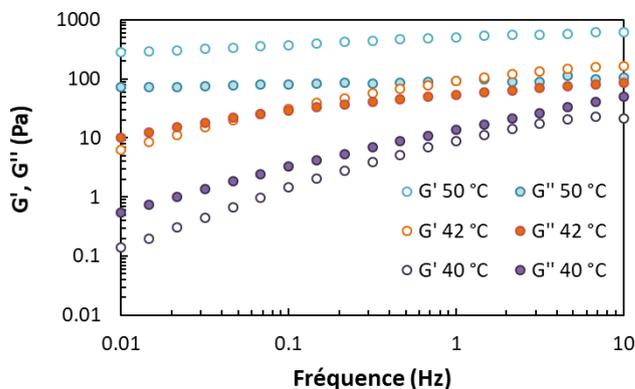


Figure 5.11 :
Variation des modules dynamiques en fonction de la fréquence pour différentes températures ($C_p = 10$ wt% dans l'eau).

Comme discuté précédemment, la transition sol/gel des solutions de PN-A3,5 se produit à des températures supérieures à la température du corps (cf. Tableau 5.3) et de celles relevées pour la majorité des copolymères à greffons PNIPAm. Comparativement à l'homopolymère PNIPAm qui s'associe dès 32 °C, l'ajout d'un comonomère hydrophile dans la chaîne à LCST, même en faible quantité, suffit pour décaler la température d'association au-dessus de 37 °C. Ce comportement, largement décrit dans la littérature pour de nombreux dérivés PNIPAm^{4,11-13}, pourrait être ajusté en utilisant des terpolymères constitués d'unités NIPAm majoritaires, complétées par une fraction équilibrée de monomères ioniques ou ionisables (AMPS ou AA) et de monomères plus hydrophobes tels que le *t*-butylacrylamide (tBAm) ; voire plus simplement des copolymères poly(AA-co-tBAm).

Pour finir, on notera, sur la Figure 5.10, une très forte dépendance des modules élastiques à 60 °C en fonction de la concentration ($G' \sim C^{3,8}$). Cette variation inhabituelle pourrait être attribuée à une forte dépendance de la fraction de liens inter-chaînes avec la concentration en polymère. En effet, dans le cadre de la formation d'un réseau percolant tel qu'envisagé pour ce type de topologie linéaire, le dégonflement (contraction) des copolymères de PNIPAm au cours de la transition de phase pourrait s'accompagner d'un désenchevêtrement partiel des chaînes, et donc d'une perte de connectivité d'autant plus importante pour les solutions les moins concentrées. Si la solution n'est pas suffisamment concentrée, cela peut conduire à l'absence ou à la perte des propriétés gélifiantes telle qu'observée avec les solutions de PN-A2 et PN-A5 en milieu PBS (cf. Figure 5.5).

III.1.2. Influence de la masse molaire

L'impact de la masse molaire sur les propriétés thermogélifiantes a également été testé en comparant deux copolymères possédant le même taux d'AMPS, soit 3,5 mol% (cf. Tableau 5.4). L'un possède une M_n de 155 kg/mol et l'autre 385 kg/mol. Dans la littérature, Bae *et al.*^{8,9} ne reportaient pas de thermogélification pour une M_w d'environ 100 kg/mol pour du P(NIPAm-co-AA) de composition 98/2 mol%, à 5 wt% PBS.

Tableau 5.4 : Caractéristiques des deux copolymères PN-A3,5/M.

Nom	PN-A3,5/155k	PN-A3,5/385k
M_n, M_w (kg/mol)	155, 229	385, 635
$T_{as}; T_{sol-gel}$ (°C)	39,9 ; 51,5 (15 wt%)	40,2 ; 42,8 (7 wt%)

Avec une masse molaire plus faible, il est également possible d'obtenir un gel par chauffage mais il est nécessaire dans ce cas d'augmenter la concentration en copolymère pour assurer la percolation des chaînes. Afin de comparer les deux copolymères, les concentrations ont été ajustées de manière à avoir la même viscosité à température ambiante, soit 15 wt% pour PN-A3,5/155k et 7 wt% pour PN-A3,5/385k (cf. Figure 5.12). On notera que ce rapport de concentration correspond relativement bien à ce que l'on peut attendre pour des solutions enchevêtrées de polymères neutres en bon solvant¹⁰ : $\eta \sim C^{15/4}M^{3,4}$. Dans ces conditions, et bien que les températures d'association soient similaires, les $T_{sol-gel}$ sont très différentes (cf. Tableau 5.4) avec pratiquement 10 °C d'écart entre PN-A3,5/155k (51,5 °C) et PN-A3,5/385k (42,8 °C).

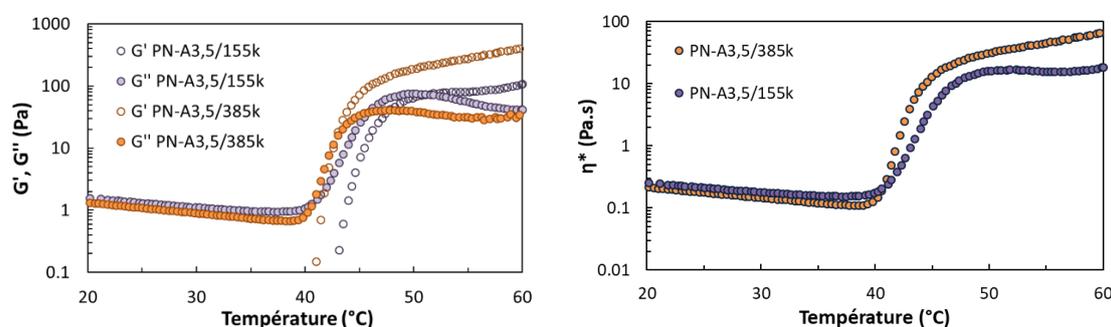


Figure 5.12 : Propriétés thermogélifiantes en fonction de la masse molaire, pour PN-A3,5/385k à 7 wt% et pour PN-A3,5/155k à 15 wt% ; (Gauche) Modules dynamiques, (Droite) Viscosité complexe.

Ainsi, la formation d'un réseau percolant n'est pas simplement liée au degré d'enchevêtrement des chaînes à l'état initial non associé mais dépend également de la réponse des chaînes avec la température (contraction) et de leur probabilité à former des contacts inter-chaînes au-delà de

la température de transition. L'amélioration des propriétés thermoassociatives de ces copolymères linéaires implique donc de travailler avec des masses molaires plus élevées.

III.2. Étude aux grandes déformations

III.2.1. Influence de la concentration en copolymère

Dans le cas des solutions de PN-A3,5, caractérisées par des températures de gélification relativement élevées ($44,8\text{ °C} \geq T_{\text{sol-gel}} \geq 41\text{ °C}$), les tests d'adhésion ont été réalisés à plus haute température ($T = 60\text{ °C}$) comparativement aux solutions de PAA-g-PNIPAm ($T = 50\text{ °C}$).

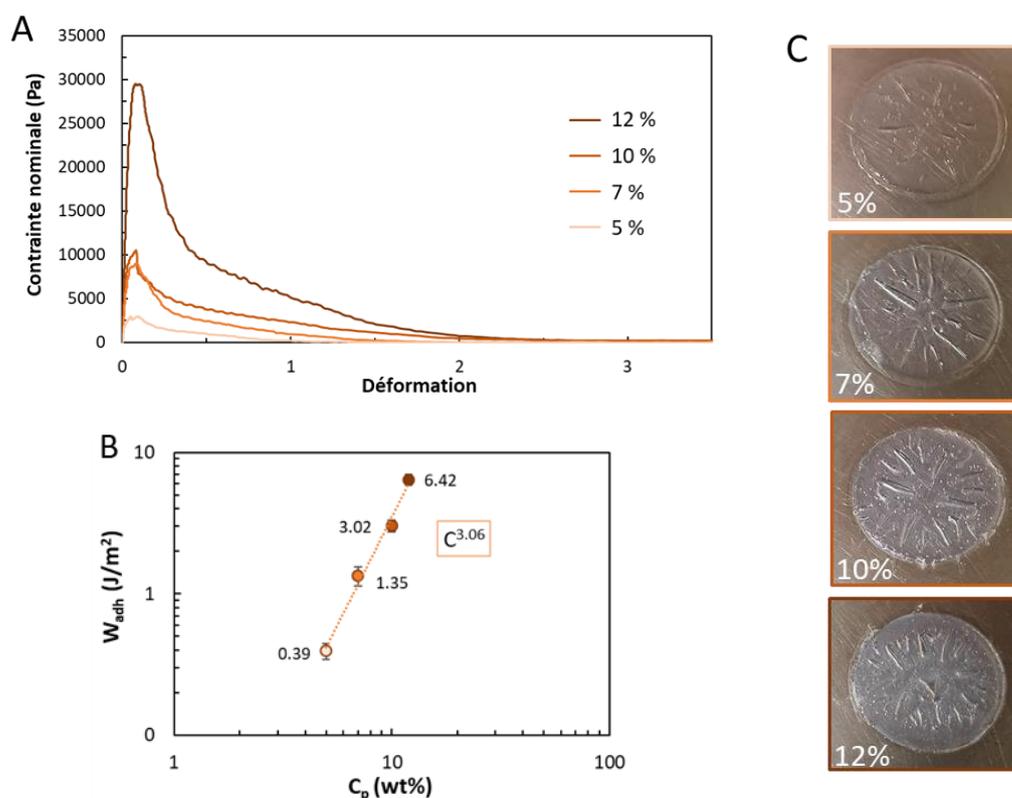


Figure 5.13 : Tests de tack en fonction de la concentration en polymère, pour des formulations de PN-A3,5 dans l'eau ($v = 100\ \mu\text{m/s}$, $h_0 = 400\ \mu\text{m}$ et $T = 60\text{ °C}$) ; (A) Courbes contrainte-déformation, (B) Variation de l'énergie d'adhésion avec la concentration, (C) Photos après tests de tack.

Les figures post-mortem obtenues après détachement, relatives à une rupture interfaciale, montrent une opacité croissante des gels avec la concentration (cf. Figure 5.13C). Cette turbidité, qui provient de la diffusion de la lumière par les domaines riches en PNIPAm, peut être reliée à l'augmentation de leur nombre mais également de leur taille avec la concentration en polymère. De plus, on peut observer sur ces figures des stigmates de plus en plus visibles avec la concentration en polymère qui reflètent un processus de relaxation des gels qui ralentit avec la concentration montrant l'augmentation du caractère élastique du système.

On retrouve sur la Figure 5.13B, l'augmentation des propriétés d'adhésion avec la concentration en polymère qui suit une loi de puissance ; $W_{adh} \sim C^{3,1}$. Bien que l'exposant soit légèrement plus faible que celui obtenu avec la variation du module élastique ($G' \sim C^{3,8}$), la variation concomitante de ces deux paramètres souligne une fois de plus la relation directe qui existe entre les propriétés mesurées aux faibles et aux grandes déformations. Cette forte corrélation entre l'énergie d'adhésion et le module élastique est mise en évidence sur la Figure 5.14 où a été reporté l'ensemble des résultats obtenus avec les copolymères à base de PNIPAm (PAA-g-PNIPAm et P(NIPAm-co-AMPS)). La corrélation est encore meilleure si l'énergie d'adhésion est portée en fonction de $\tan \delta/G'$ (cf. Figure 5.14).

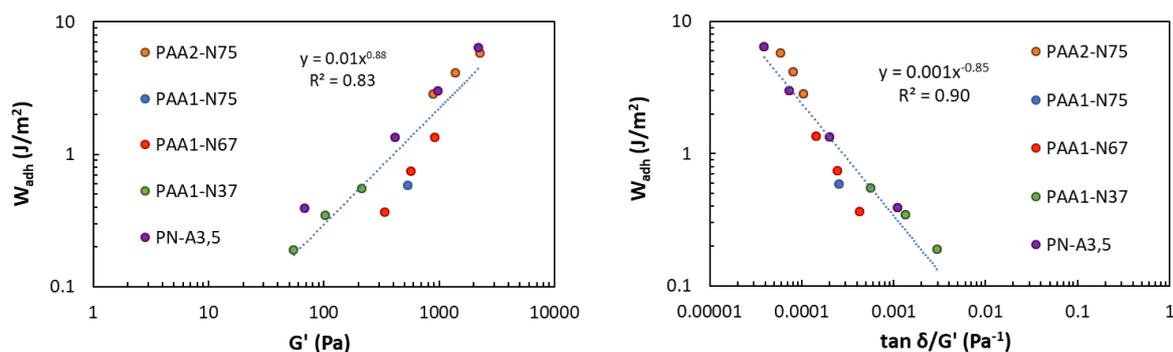


Figure 5.14 : Variation de l'énergie d'adhésion en fonction (Gauche) du module élastique pour les solutions de PN-A3,5 à 60 °C et PAA-g-PNIPAm à 50 °C et (Droite) du rapport $\tan \delta/G'$ à 50°C.

Bien que certaines différences apparaissent entre les différents copolymères, il ressort de cette étude que les copolymères thermosensibles linéaires n'apportent pas d'amélioration importante aux grandes déformations par rapport aux copolymères greffés à chaînons thermosensibles. En effet, les valeurs obtenus pour PAA2-N75 sont proches de celles de PN-A3,5, pour 10 et 12 wt%.

III.2.2. Impact de la vitesse de décollement sur les propriétés d'adhésion

Comme cela a été reporté par Vahdati *et al.*², dans le cas de systèmes thermosensibles tels que le PNIPAm-g-PDMA, la vitesse de décollement joue un rôle important sur les propriétés d'adhésion. Dans notre cas, nous avons étudié l'influence de la vitesse de détachement sur des gels formulés à partir d'une solution de PN-A3,5, à 7 wt% dans l'eau. La vitesse a été variée entre 100 et 1000 $\mu\text{m/s}$, soient des vitesses de déformation égales à $\dot{\epsilon} = v/h_0 = 0,25 - 2,5 \text{ s}^{-1}$ (cf. Figure 5.15).

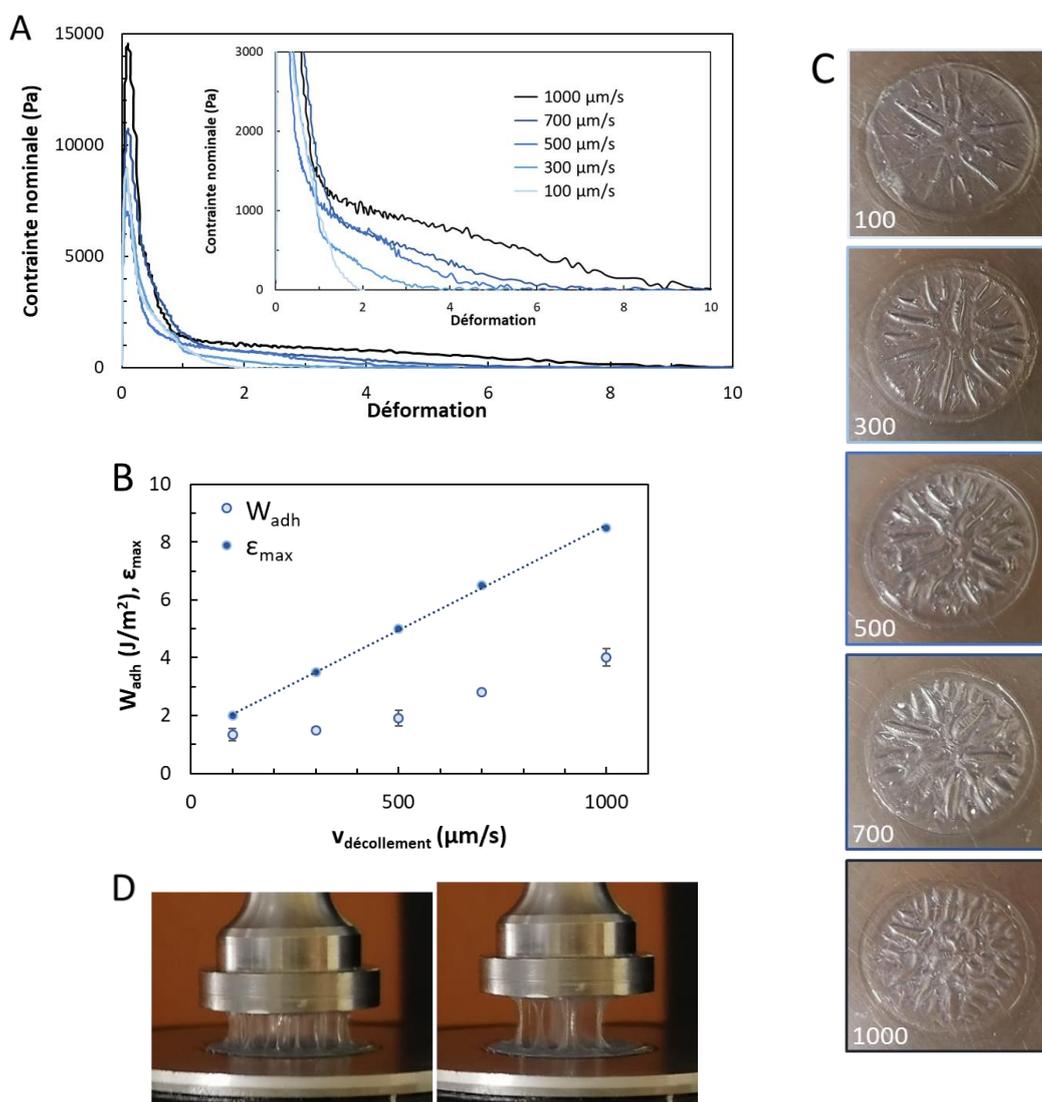


Figure 5.15 : Tests de tack en fonction de la vitesse de décollement pour PN-A3,5, à 7 wt% dans l'eau ($h_0 = 400 \mu\text{m}$, $T = 60 \text{ }^\circ\text{C}$) ; (A) Courbes contrainte-déformation, (B) Énergie d'adhésion, (C) Photos après tests de tack, (D) Formation de fibrilles au cours du décollement ($v = 1000 \mu\text{m/s}$).

À $100 \mu\text{m/s}$, qui est la vitesse couramment utilisée dans nos tests de détachement, aucun plateau n'est réellement observé comme cela était d'ailleurs le cas pour l'ensemble des gels de PAA-g-PNIPAm décrits dans les chapitres précédents (cf. Chapitres 3 et 4). Par contre, si la vitesse de décollement augmente, la réponse adhésive se manifeste par une augmentation de la contrainte maximale ($\sigma_{\text{max}} = 5$ à 15 kPa), par l'apparition d'un pseudo-plateau d'adhésion et par l'augmentation de la déformation à rupture ($\epsilon_R = 2$ à 9) (cf. Figure 5.15). Tout cela conduit à une augmentation du travail d'adhésion d'un facteur 3 quand la vitesse de décollement passe de 100 à $1000 \mu\text{m/s}$. De plus, sur les figures post-mortem (cf. Figure 5.15C) des invaginations typiques de la formation de fibrilles sont observés dès $500 \mu\text{m/s}$. Les fibrilles formées sont bien visibles pour des vitesses élevées (Figure 5.15D). Celles-ci sont notamment responsables de la

formation d'un pseudo-plateau qui apparait nettement à partir de 500 $\mu\text{m/s}$, avec une contrainte d'environ 1000 Pa pour le début du plateau.

En faisant varier la vitesse de décollement, nous avons pu mettre en évidence un changement de mécanisme de décollement pour PN-A3,5, passant d'une rupture purement interfaciale à une déformation dans le volume pour les plus hautes vitesses. Nase *et al.*¹⁴ avaient également observé ces deux modes de détachement pour un même matériau (PDMS) en changeant la surface du poinçon, la vitesse de décollement, le taux de réticulant ou l'épaisseur. Ainsi, en augmentant la vitesse, le matériau se comporte de plus en plus comme un solide d'où l'augmentation de la contrainte maximale. L'augmentation de la taille du plateau montre une plus grande résistance des points de réticulation qui tendent à diminuer la vitesse de propagation des instabilités.

Notons que des résultats similaires ont également été observés avec le gel de PN-A2 à 7 wt% (cf. Figure 5.16) qui présente des propriétés élastiques comparables au PN-A3,5 à cette concentration. La différence majeure entre ces deux gels, que l'on peut constater à partir des photos post-mortem, est la turbidité plus importante du gel PN-A2 qui rend compte de la formation de domaines riches en PNIPAm de taille plus importante pour ce copolymère.

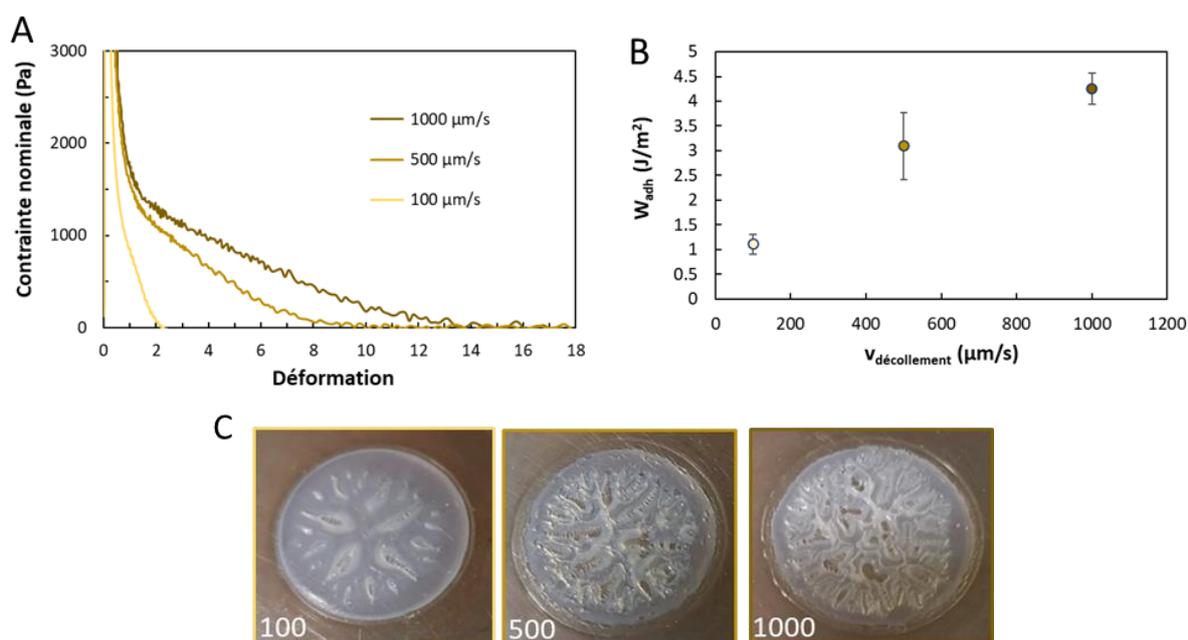


Figure 5.16 : Impact de la vitesse de décollement sur l'adhésion pour PN-A2, 7 wt% eau ($h_0 = 400 \mu\text{m}$, $T = 60 \text{ }^\circ\text{C}$) ; (A) Courbes contrainte-déformation, (B) Energie d'adhésion en fonction de la vitesse, (C) Photos après tests de tack.

Néanmoins, contrairement aux travaux de Vahdati *et al.*² sur le PNIPAm-g-PDMA, les plateaux d'adhésion des solutions de copolymères PN-Ax ne présentent pas de phénomène de renforcement sous contrainte (strain-hardening) que l'on aurait pu attendre avec ce type de

structure à squelette thermosensible. À cela nous pouvons évoquer une masse molaire insuffisante pour la chaîne de PNIPAm ainsi que des séquences associatives trop courtes pour conduire à des interactions fortes au sein du réseau biphasique. Le nombre d'unités NIPAm entre deux motifs hydrophiles successifs est en effet de 28 et 50, respectivement pour PN-A3,5 et PN-A2, comparativement à 124 pour le PNIPAm-g-PDMA. De plus, la M_n du copolymère greffé PNIPAm-g-PDMA est de 880 kg/mol contre environ 400 kg/mol dans le cadre de cette étude, montrant ainsi également l'impact des enchevêtrements sur les propriétés adhésives.

IV. Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons développé à partir d'une synthèse en une seule étape des systèmes capables de gélifier avec la température. Dans l'idéal, nous cherchions à obtenir à des concentrations peu élevées la formation d'un gel stable à une température inférieure à 37 °C, avec de bonnes propriétés viscoélastiques. En pratique, nous avons montré que les propriétés thermogélifiantes résultaient d'un équilibre délicat faisant intervenir notamment le taux d'ionité, ici la fraction d'AMPS, et la concentration en copolymère. Il faut en effet introduire une proportion suffisante de groupements hydrophiles afin d'éviter la séparation de phase macroscopique, et pouvoir ainsi stabiliser la formation du gel, mais pas trop élevée pour éviter une augmentation trop importante de la température d'association et la perte significative des propriétés associatives. Ces copolymères, dont la séparation de phase est pilotée par la balance des interactions « ionique/hydrophobe », sont de plus très sensibles à la concentration en sel qui peut complètement déstabiliser le réseau formé. Finalement, le meilleur compromis a été obtenu pour les copolymères PN-A3,5 et PN-A2 ; ce dernier étant certainement le plus adapté aux propriétés recherchées, puisqu'une $T_{\text{sol-gel}}$ inférieure à 37 °C a pu être obtenue.

Si cette étude a permis de bien définir les paramètres contrôlant les propriétés associatives aux faibles déformations, les propriétés d'adhésion démontrées par ces copolymères restent modérées ou en tout cas pas meilleures que celles obtenues avec les architectures greffées. La synthèse de copolymères linéaires de masse molaire plus élevée est très certainement une piste à envisager pour améliorer leurs propriétés de même que l'utilisation de copolymères ou terpolymères plus hydrophobes permettant de réduire la température d'association. Notons que ces systèmes synthétiques ne sont pas incompatibles pour des applications biomédicales et des copolymères à blocs de PNIPAm-b-PEG (Mebiol®) sont déjà commercialisés et validés pour leur non-toxicité pour des applications en culture cellulaire et en relargage contrôlé de molécules anti-cancéreuses *in vivo*¹⁵. De plus, de nombreux articles^{8,16-18} portant sur des gels de P(NIPAm-co-AA) ont montré leur utilité comme matrice artificielle permettant de mimer le

pancréas afin de permettre la culture cellulaire des îlots de Langerhans responsables de la production d'insuline, qui est en déficit chez les patients diabétiques.

Annexes

Annexe 1 : Rhéologie

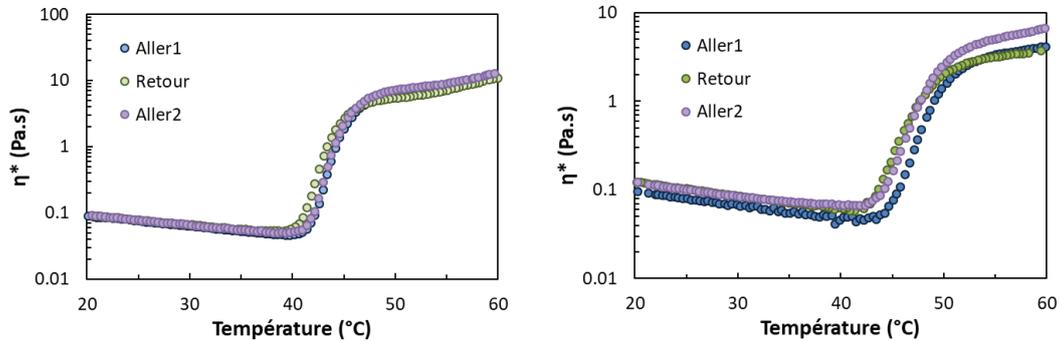


Figure 5.17 : Courbes aller-retour-aller pour PN-A3,5 (Gauche) et PN-A5 (Droite), à 5 wt% eau.

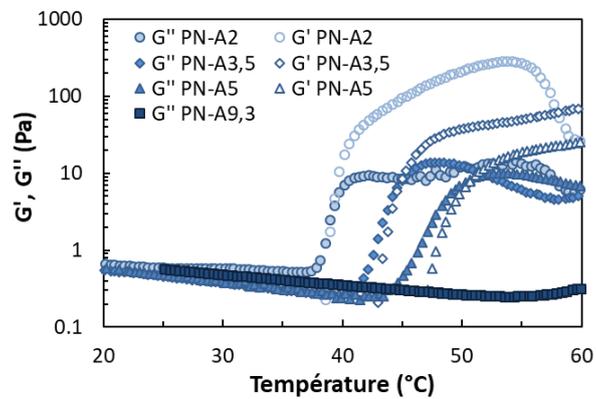


Figure 5.18 : Propriétés thermogélifiantes en fonction du pourcentage en AMPS, 5 wt% eau.

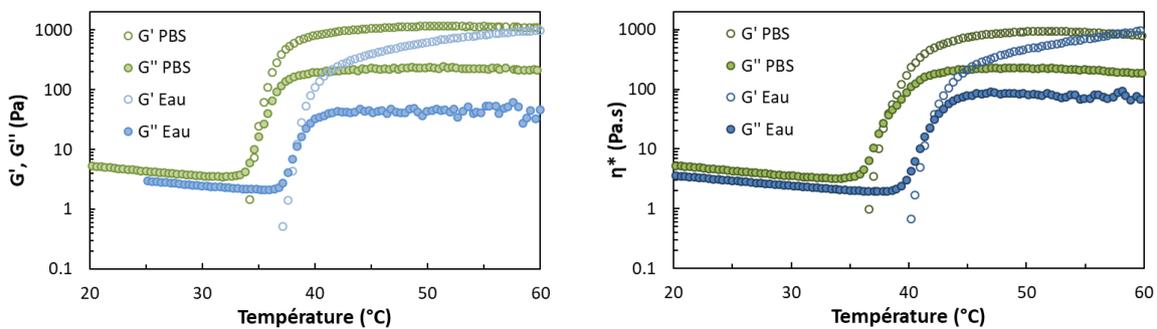


Figure 5.19 : Propriétés thermogélifiantes en fonction du solvant pour (Gauche) PN-A2 et (Droite) PN-A3,5, 10 wt%.

Références

1. Vahdati, M., Ducouret, G., Creton, C. & Hourdet, D. Topology-Specific Injectable Sticky Hydrogels. *Macromolecules* **53**, 9779–9792 (2020).
2. Vahdati, M., Ducouret, G., Creton, C. & Hourdet, D. Thermally Triggered Injectable Underwater Adhesives. *Macromol. Rapid Commun.* **41**, 1900653 (2020).
3. Guo, H. *et al.* Influence of topology of LCST-based graft copolymers on responsive assembling in aqueous media. *Polymer* **60**, 164–175 (2015).
4. Siband, E., Tran, Y. & Hourdet, D. Thermoresponsive Interpolyelectrolyte Complexation: Application to Macromolecular Assemblies. *Macromolecules* **44**, 8185–8194 (2011).
5. Bokias, G., Vasilevskaya, V. V., Iliopoulos, I., Hourdet, D. & Khokhlov, A. R. Influence of Migrating Ionic Groups on the Solubility of Polyelectrolytes: Phase Behavior of Ionic Poly(*N*-isopropylacrylamide) Copolymers in Water. *Macromolecules* **33**, 9757–9763 (2000).
6. Braun, O., Boué, F. & Candau, F. Microphase separation in weakly charged hydrophobic polyelectrolytes. *Eur. Phys. J. E* **7**, 141–151 (2002).
7. Ye, Y., Shangguan, Y., Song, Y. & Zheng, Q. Influence of charge density on rheological properties and dehydration dynamics of weakly charged poly(*N*-isopropylacrylamide) during phase transition. *Polymer* **55**, 2445–2454 (2014).
8. Bae, Y. H., Vernon, B., Han, C. K. & Kim, S. W. Extracellular matrix for a rechargeable cell delivery system. *Journal of Controlled Release* **53**, 249–258 (1998).
9. Han, C. K. & Bae, Y. H. Inverse thermally-reversible gelation of aqueous *N*-isopropylacrylamide copolymer solutions. *Polymer* **39**, 2809–2814 (1998).
10. Colby, R. H. Structure and linear viscoelasticity of flexible polymer solutions: comparison of polyelectrolyte and neutral polymer solutions. *Rheol Acta* **49**, 425–442 (2010).
11. Fan, G., Guo, J., Dong, M. & Feng, Y. Thermothickening Behavior of Graft Copolymers Containing Poly(*N*-isopropylacrylamide-*co*-*N,N*-dimethylacrylamide) Side Chains in Aqueous Solution. *Journal of Macromolecular Science, Part A* **51**, 881–890 (2014).
12. Hoffman, A. S. *et al.* Really smart bioconjugates of smart polymers and receptor proteins. *J. Biomed. Mater. Res.* **52**, 577–586 (2000).
13. Chiklis, C. K. & Grasshoff, J. M. Swelling of thin films. I. Acrylamide–*N*-isopropylacrylamide copolymers in water. *J. Polym. Sci. A-2 Polym. Phys.* **8**, 1617–1626 (1970).
14. Nase, J., Lindner, A. & Creton, C. Pattern Formation during Deformation of a Confined Viscoelastic Layer: From a Viscous Liquid to a Soft Elastic Solid. *Phys. Rev. Lett.* **101**, 074503 (2008).
15. Arai, T. *et al.* Novel drug delivery system using thermoreversible gelation polymer for malignant glioma. *J Neurooncol* **77**, 9–15 (2006).
16. Vernon, B., Gutowska, A., Wan Kim, S. & Han Bae, Y. Thermally reversible polymer gels for biohybrid artificial pancreas. *Macromol. Symp.* **109**, 155–167 (1996).
17. Gappa, H., Baudyš, M., Koh, J. J., Kim, S. W. & Bae, Y. H. The Effect of Zinc-Crystallized Glucagon-Like Peptide-1 on Insulin Secretion of Macroencapsulated Pancreatic Islets. *Tissue Engineering* **7**, 35–44 (2001).
18. Vernon, B., Sung Wan Kim, & You Han Bae. Insulin release from islets of Langerhans entrapped in a poly(*N*-isopropylacrylamide-*co*-acrylic acid) polymer gel. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition* **10**, 183–198 (1999).

Chapitre 6 :

Étude de copolymères greffés thermogélifiants à base de PEGMA

Table des matières

CHAPITRE 6 : ÉTUDE DE COPOLYMÈRES GREFFÉS THERMOGÉLIFIANTS À BASE DE PEGMA	165
I. Introduction	165
II. Étude des greffons PEGMA	165
II.1. Transition de phase du PDEGMA	165
II.2. Transition de phase des copolymères P(DEGMA-co-TEGMA)	168
II.3. Transition de phase des copolymères P(DEGMA-co-OEGMA ₄₇₅)	169
III. Élaboration de copolymères greffés à base de PAA-g-PEGMA	170
III.1. Introduction	170
III.2. Propriétés thermogélifiantes des PAA-g-PEGMA	171
III.3. Comparaison entre PAA-g-PEGMA et PAA-g-PNIPAm	176
III.4. Discussion	177
IV. Conclusion	179
Annexes	180
Références	180

Chapitre 6 : Étude de copolymères greffés thermogélifiants à base de PEGMA

I. Introduction

Comparativement aux copolymères à base de PNIPAm, il existe encore peu de travaux relatifs à l'utilisation des PEGMA dans le développement de formulations thermogélifiantes. Comme discuté précédemment, le PNIPAm possède en effet de nombreux atouts et en particulier une température de transition proche de la température du corps, relativement constante sur une large gamme de concentration, peu dépendante de la masse molaire du polymère, et qui s'accompagne d'une transition relativement abrupte des propriétés macroscopiques lors de la transition de phase. Dans le cas des PEGMA, qui ont été développés plus récemment, la température de transition peut également être ajustée aux alentours de 32 °C par copolymérisation en utilisant des comonomères tels que le DEGMA et le OEGMA₄₇₅, comme reporté par Lutz *et al.*¹. De plus, en raison de la nature chimique de leurs substituants latéraux constitués d'unités éthylène glycol, les PEGMA sont décrits comme biocompatibles et donc particulièrement intéressants pour des applications biomédicales.

Bien que des températures de transition voisines puissent être obtenues pour des chaînes de PNIPAm et de PEGMA, il nous paraissait intéressant de compléter cette analogie en étudiant l'impact de la nature de tels greffons, PNIPAm et PEGMA, sur les propriétés de thermogélification.

Dans un premier temps, nous nous intéresserons à la synthèse et aux caractéristiques thermodynamiques des copolymères de PEGMA préparés à partir des monomères DEGMA/TEGMA, ou DEGMA/OEGMA₄₇₅, afin de préciser leurs relations structure/propriétés et contrôler leur LCST.

Dans une seconde partie, des copolymères greffés de PAA-g-PEGMA seront présentés et leurs propriétés rhéologiques seront étudiées et comparées à celles des copolymères de PAA-g-PNIPAm.

II. Étude des greffons PEGMA

II.1. Transition de phase du PDEGMA

Le DEGMA étant le monomère majoritaire des greffons PEGMA qui seront utilisés par la suite, nous nous sommes intéressés dans un premier temps au diagramme de phase dans l'eau d'un homopolymère PDEGMA ($M_n = 27\ 000$ g/mol ; $\bar{D} \sim 3$).

Bien qu'une LCST de 25-26 °C²⁻⁴ soit communément reportée dans la littérature pour des solutions de PDEGMA, leur diagramme de phase dans l'eau est peu détaillé et les valeurs reportées pour la « LCST » correspondent plus généralement à des points de trouble déterminés à une concentration donnée.

Dans le cadre de notre étude, la température de séparation de phase des solutions de PDEGMA a été déterminée par spectrophotométrie UV-visible, à $\lambda = 600$ nm, en faisant varier la température avec une vitesse de chauffage de 0,4 °C/min. La température de point de trouble est alors définie comme la température à partir de laquelle une augmentation brutale de l'absorbance est observée. Un exemple de suivi en température est présenté sur la Figure 6.1 (Gauche) pour différentes concentrations en PDEGMA dans l'eau.

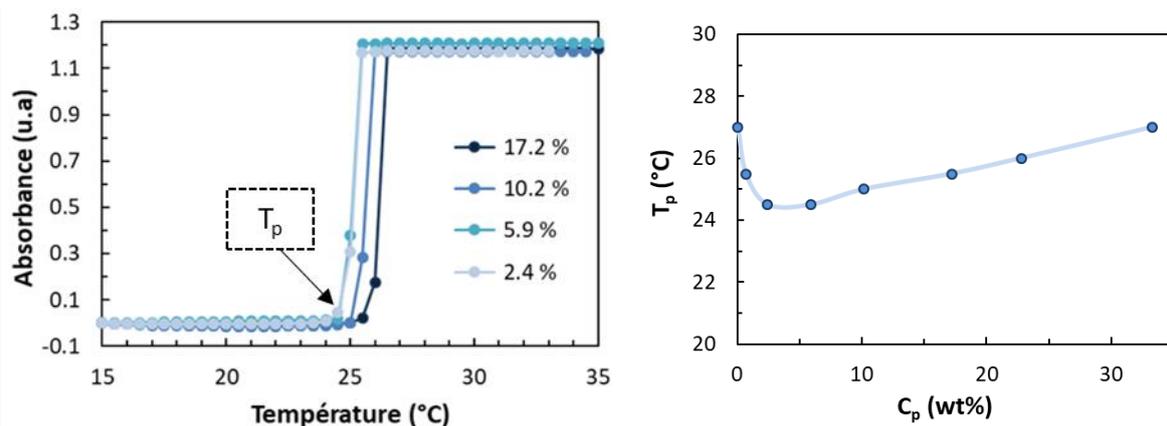


Figure 6.1 : (Gauche) Détermination du point de trouble par spectrophotométrie, à $\lambda = 600$ nm, pour des solutions de PDEGMA à différentes concentrations ; (Droite) Courbe de points de trouble du binaire PDEGMA/eau déterminée dans ces conditions.

À partir de ces valeurs (T_p), nous avons porté sur la Figure 6.1 (Droite) la courbe de points de trouble du binaire PDEGMA/eau. Le minimum de cette courbe, qui correspond par définition à la LCST, est obtenu vers 24,5 °C pour des concentrations comprises entre 2,4 et 5,9 wt%. Ces résultats sont en bon accord avec la littérature^{2,4} qui reporte un point de trouble d'environ 26 °C pour des solutions de PDEGMA à 0,2 wt% dans l'eau. Dans notre cas, nous observons en effet des transitions de phase à 25,5 °C et 27 °C pour des concentrations de 0,7 wt% et 0,06%, respectivement. Comme pour le PNIPAm, on constate donc que la température de point de trouble est relativement constante sur une large gamme de concentration, avec une variation de seulement 1 °C entre 0,7 et 17,2 wt%. Des résultats similaires ont été obtenus avec des gels de PDEGMA qui ont été étudiées de manière détaillée par Czaderna-Lekka *et al.*⁵ (cf. Figure 6.2). Les températures de séparation de phase (T_{VPT}), correspondant aux maxima des thermogrammes obtenus en DSC, se situent en effet vers 25-30 °C et sont peu dépendantes de la concentration en polymère sur un grand domaine de composition ($0,17 \leq w_p \leq 0,5$).

La comparaison de ces résultats avec ceux du binaire PNIPAm/eau (cf. Figure 6.2) permet de compléter la discussion sur les similitudes et les différences entre ces deux systèmes à LCST.

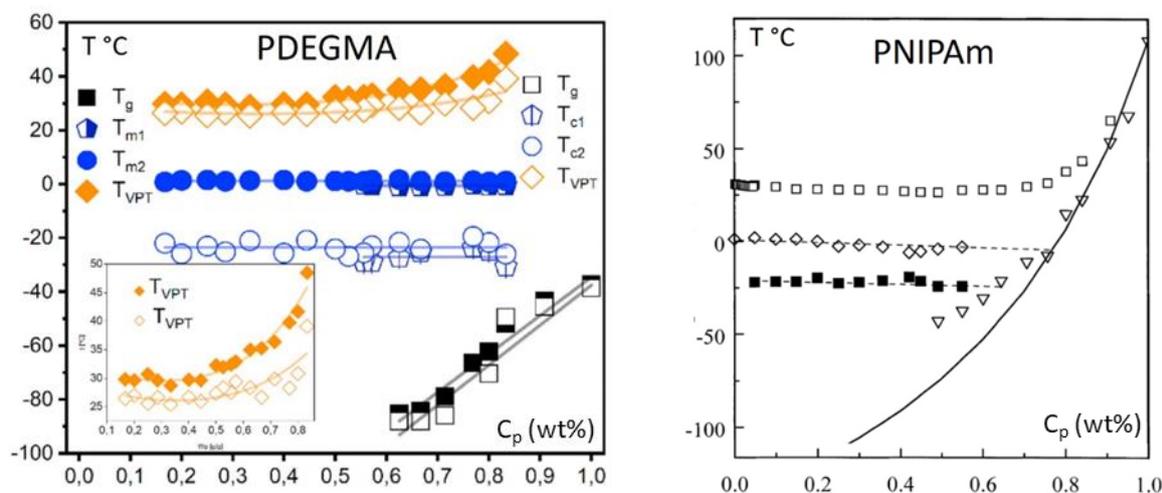


Figure 6.2 : Analyse calorimétrique des diagrammes de phase ; (Gauche) Gels de PDEGMA/eau⁵ avec T_{VPT} , T_m , T_c et T_g les températures de séparation de phase, de fusion de l'eau, de congélation et de transition vitreuse. Les symboles vides et pleins correspondent respectivement aux mesures réalisées lors du refroidissement et du chauffage, (Droite) Solutions de PNIPAm/eau⁶ avec T_m (\diamond), T_c (\blacksquare), T_{dem} (\square) et T_g (∇). La courbe en trait plein correspond au calcul théorique de la T_g en fonction de la composition.

On note tout d'abord pour les deux binaires, des variations relativement linéaires de la température de transition de phase jusqu'à des concentrations très élevées. Au-delà de 83 wt% en PDEGMA, plus aucune séparation de phase n'est observée et il en est de même pour le système PNIPAm/eau au-delà de 76 wt% en polymère. Dans les deux cas, cette composition correspond à une hydratation forte mettant en jeu deux molécules d'eau par unités monomère. Les températures de congélation/décongélation qui impliquent les molécules d'eau libre ou faiblement liées sont également peu dépendantes de la concentration en polymère et disparaissent au-delà des compositions critiques précédentes. Dans ce cas, il ne reste plus que l'eau fortement liée aux chaînes macromoléculaires. Enfin, les deux systèmes se distinguent très nettement par leur température de transition vitreuse en raison des valeurs de T_g très différentes des polymères de départ ; de l'ordre de 125 °C pour le PNIPAm et -40 °C pour le PDEGMA. Contrairement donc au binaire PNIPAm/eau pour lequel la variation de T_g avec la concentration interfère avec le diagramme de phase dans la région riche en polymère, la formation de zones riches en PDEGMA reste totalement indépendante de cet aspect cinétique. Néanmoins, il est impossible de prédire à ce stade des différences liées à la nature des greffons sur les propriétés macroscopiques des copolymères greffés. La concentration ayant peu

d'influence sur la température de séparation de phase, les analyses suivantes de turbidimétrie seront réalisées à une concentration fixée à 10 wt%.

II.2. Transition de phase des copolymères P(DEGMA-co-TEGMA)

En pratique, il est relativement simple de modifier la température de transition d'un homopolymère en lui incorporant un ou des co-monomères plus hydrophiles et/ou plus hydrophobes. Dans la littérature, on trouve des exemples où le DEGMA est copolymérisé avec du OEGMA₃₀₀⁴ ou du OEGMA₄₇₅¹ pour permettre d'augmenter sa transition de phase vers des températures proches de celle du corps. En effet, les LCST des POEGMA₃₀₀ et POEGMA₄₇₅ sont relativement élevées, respectivement de 67-68 °C^{4,7} et 90 °C¹.

Par comparaison avec les comonomères ci-dessus que nous avons également utilisés pour moduler la LCST des PEGMA, nous avons élargi cette étude aux copolymères P(DEGMA-co-TEGMA) qui ont été peu décrits dans la littérature. Pour cela, nous avons fixé la M_n entre 30 et 40 kg/mol, afin d'avoir des valeurs comparables à celle du PNIPAm étudiée aux chapitres précédents ($M_n \sim 38$ kg/mol, $\bar{D} = 1,6$), et avons fait varier la composition molaire des deux comonomères DEGMA et TEGMA au sein de la chaîne. Les masses molaires et les points de trouble des copolymères P(DEGMA-co-TEGMA) sont rassemblés dans le Tableau 6.1.

Tableau 6.1 : Points de trouble dans l'eau et masses molaires en fonction du pourcentage molaire en TEGMA dans les copolymères de P(DEGMA-co-TEGMA).

mol% TEGMA	Nom	T_p (°C), 10 wt% eau	Solvant GPC	M_n (g/mol)	M_w (g/mol)	\bar{D}
0 %	D	25	THF	27 000	81 000	3,0
23,5 %	T ₁	30,5	Eau NaNO ₃	38 500	56 300	1,5
36 %	T ₂	32,5	Eau NaNO ₃	50 000	69 000	1,4
44 %		34,5	Eau NaNO ₃	37 800	83 200	2,2
55 %		36,5	Eau NaNO ₃	37 000	59 200	1,6
100 %		47,5	Eau NaNO ₃	30 300	46 600	1,5

Comme observé sur la Figure 6.3A, le point de trouble des solutions de copolymère varie linéairement avec le taux de TEGMA. Ce comportement est très similaire à ceux reportés par Lutz *et al.*¹ et Ramirez-Jimenez *et al.*⁴ avec les comonomères OEGMA₄₇₅ et OEGMA₃₀₀, respectivement (cf. Figures 6.3 B et C). La principale différence réside dans l'augmentation de la température de transition en fonction du comonomère ajouté (pente de la droite) puisque celle-ci est reliée à l'hydrophilie du comonomère qui augmente avec le nombre d'unités éthylène glycol : TEGMA < OEGMA₃₀₀ < OEGMA₄₇₅.

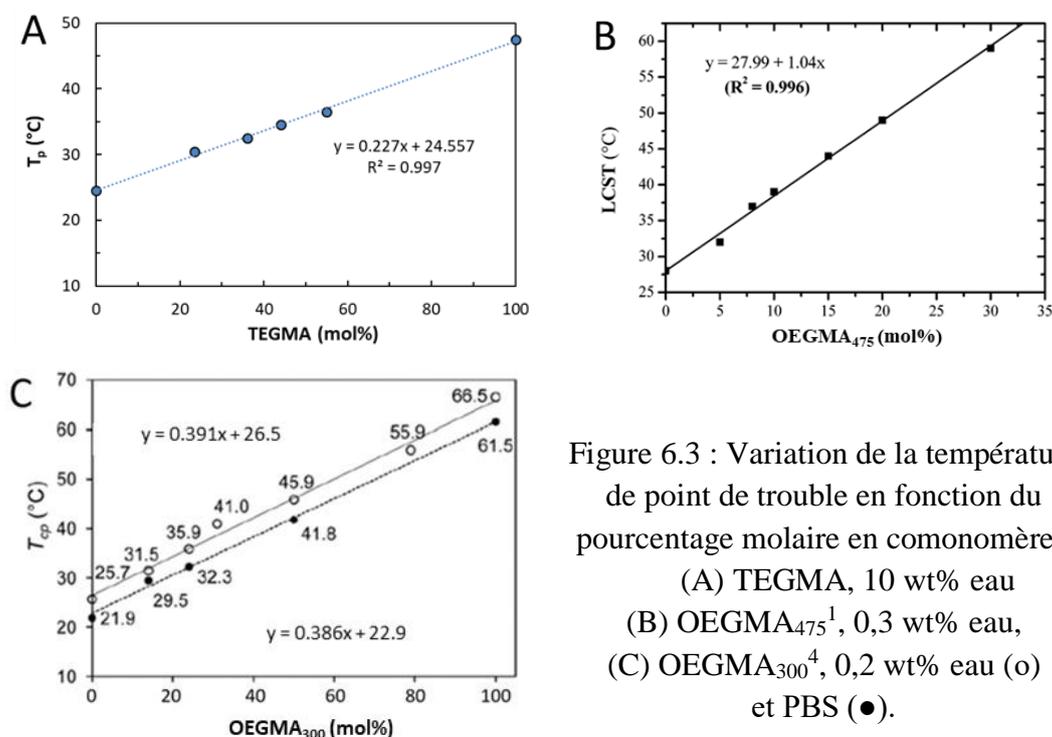


Figure 6.3 : Variation de la température de point de trouble en fonction du pourcentage molaire en comonomère :
 (A) TEGMA, 10 wt% eau
 (B) OEGMA₄₇₅¹, 0,3 wt% eau,
 (C) OEGMA₃₀₀⁴, 0,2 wt% eau (o) et PBS (●).

Cette linéarité est de plus peu dépendante de la masse molaire des copolymères qui est comprise entre 27-50 kg/mol, 30-60 kg/mol et 16-35 kg/mol pour les copolymères à base de TEGMA, OEGMA₃₀₀⁴ et OEGMA₄₇₅¹, respectivement.

A l'instar des autres copolymères P(DEGMA-co-OEGMA), il est donc possible de contrôler très précisément la température de point de trouble avec la concentration en comonomère. Dans le cas des copolymères de P(DEGMA-co-TEGMA), une température de transition de 32 °C, voisine à celle du PNIPAm, peut être ajustée en utilisant un rapport molaire DEGMA/TEGMA égal à 68/32.

II.3. Transition de phase des copolymères P(DEGMA-co-OEGMA₄₇₅)

Comme cela a été décrit précédemment la transition de phase des copolymères P(DEGMA-co-OEGMA₄₇₅) est bien documentée dans la littérature, et nous nous sommes plus particulièrement intéressés à l'impact de la masse molaire sur la LCST en envisageant une gamme un peu plus large. Pour cela nous avons synthétisé trois copolymères P(DEGMA-co-OEGMA₄₇₅) dont nous avons fait varier la masse molaire tout en fixant la composition à 5 mol% en OEGMA₄₇₅ afin d'ajuster la température de transition vers 32 °C. Ces trois copolymères, dont les caractéristiques sont reportées dans le Tableau 6.2, sont également comparés à un copolymère de composition similaire (6 mol% de OEGMA₄₇₅, $T_p = 32$ °C ; cf. Figure 6.3B) et de masse molaire $M_n = 18\,300$ g/mol issu de l'article de Lutz *et al.*¹.

Tableau 6.2 : Masses molaires moyennes et points de trouble dans l'eau des solutions de copolymère P(DEGMA-co-OEGMA₄₇₅).

mol% OEGMA ₄₇₅ (théorique)	mol% OEGMA ₄₇₅ (RMN)	M _n (g/mol)	M _w (g/mol)	Đ	T _p (°C)
5	5	13 800	22 000	1,6	35
		30 200	49 500	1,6	32
		66 200	105 700	1,6	32
5	6	18 300	30 400	1,7	32 ¹

Dans notre cas, nous observons bien, sur la Figure 6.4, une température de transition vers 32 °C pour les deux copolymères de masses molaires les plus élevées, M_n = 30 et 66 kg/mol, en bon accord avec la température de transition du copolymère de référence de composition voisine issu de l'article de Lutz *et al.*¹. Un décalage de la température de transition (35 °C) est cependant observé pour le copolymère de plus faible masse molaire (M_n = 14 kg/mol). L'écart avec le copolymère de référence étant relativement faible (14 et 18 kg/mol), il est possible comme pour les greffons PNIPAm, d'attribuer cette augmentation de T_p à l'influence des extrémités de chaîne dont une d'entre elles est ionisée sous forme -NH₃⁺ dans le cas de nos copolymères.

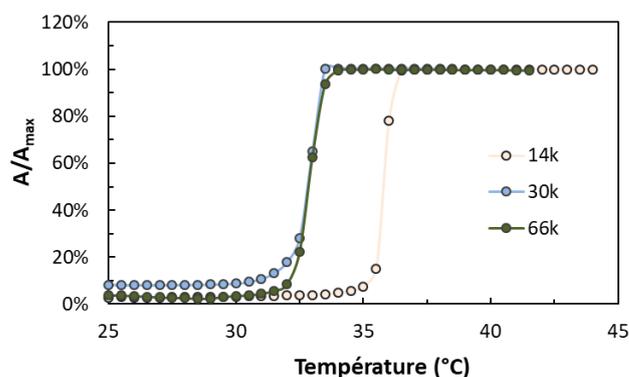


Figure 6.4 :
Influence de la masse molaire sur
la température de point de trouble
pour des solutions de copolymère
P(DEGMA-co-OEGMA₄₇₅),
à 5 mol% de OEGMA₄₇₅
(C_p = 10 wt% dans l'eau).

D'une manière générale, on retiendra qu'en travaillant avec des masses molaires moyennes en nombre comprises entre 20 et 50 kg/mol, il est possible de contrôler précisément la température de transition des copolymères PEGMA en faisant varier la composition en monomères.

III. Élaboration de copolymères greffés à base de PAA-g-PEGMA

III.1. Introduction

Pour cette étude, différents copolymères ont été synthétisés en greffant à partir du même squelette PAA1 des chaînons de PEGMA de compositions différentes. Les copolymères de

PAA-g-P(DEGMA-co-OEGMA₄₇₅) et PAA-g-P(DEGMA-co-TEGMA) ainsi préparés seront notés, respectivement, PAA1-O_yz et PAA1-T_yz pour lesquels :

- PAA1 fait référence au squelette PAA ($M_v = 230$ kg/mol),
- O_yz et T_yz, avec O pour OEGMA₄₇₅ et T pour TEGMA, correspondent aux greffons PEGMA avec y la référence du greffon relative à sa proportion dans le PEGMA (cf. Tableau 6.3 et Tableau 6.5) et z le pourcentage massique de PEGMA dans le copolymère greffé.

III.2. Propriétés thermogélifiantes des PAA-g-PEGMA

Dans cette partie, nous allons nous intéresser aux propriétés thermogélifiantes des copolymères à greffons PEGMA en jouant sur trois variables : la nature du comonomère dans le PEGMA (OEGMA₄₇₅ (O) ou TEGMA (T)), la composition des greffons (y) et le pourcentage massique de greffons dans le copolymère (27 ou 65 wt%). Afin d'évaluer l'impact de ces différents paramètres, nous avons préparé deux séries de copolymères en fixant la fraction massique en greffons à 27 et 65 wt%.

III.2.1 Topologie à faible taux en PEGMA

Copolymères à greffons P(DEGMA-co-OEGMA₄₇₅)

Pour cette première série de PAA1-O_y27, deux copolymères ont été préparés à partir de greffons P(DEGMA-co-OEGMA₄₇₅), contenant 1,5 et 5 mol% de OEGMA₄₇₅, qui possèdent des températures de transition aux environs de 30 °C (cf. Tableau 6.3).

Tableau 6.3 : Masses molaires et points de trouble des greffons PEGMA O_y.

Nom	OEGMA ₄₇₅ (mol%)	M _n (g/mol)	M _w (g/mol)	Đ	T _p (°C) (C _p = 10 wt%)
O ₁	1,5	25 700	48 600	1,9	28
O ₂	5	30 200	49 500	1,6	32

Les propriétés viscoélastiques des copolymères greffés sont présentés sur la Figure 6.5 et leurs températures caractéristiques, T_{as} et T_{sol-gel}, sont rassemblées dans le Tableau 6.4.

Comparativement à leurs greffons libres, on constate tout d'abord une diminution de la température d'association d'environ 3 °C pour les chaînes de PEGMA greffés, indépendamment de leur composition. Cette diminution peut être attribuée à la contribution ionique du squelette PAA, qui entraîne un effet de salting-out, comme c'était le cas pour les PAA-g-PNIPAm.

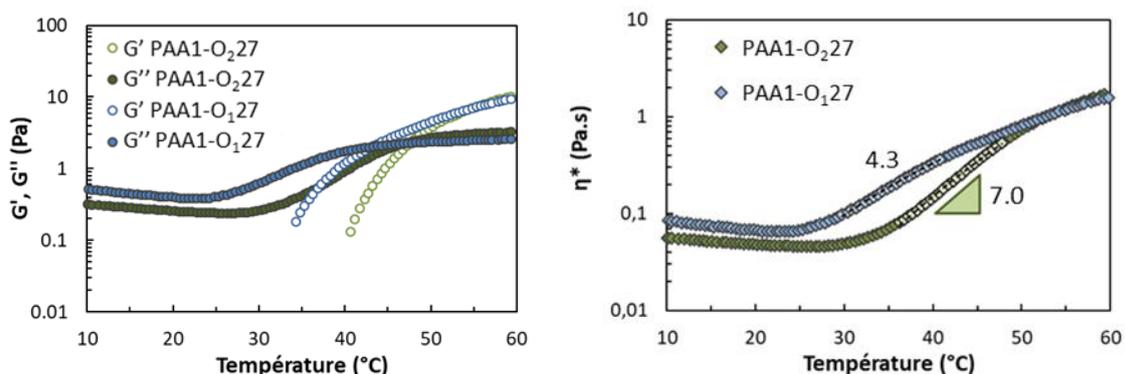


Figure 6.5 : Propriétés thermogéliantes en fonction du pourcentage en OEGMA₄₇₅, pour les solutions de copolymères PAA1-O₁₂₇ et PAA1-O₂₂₇, à 5 wt% dans l'eau.

Conformément à la différence de composition des greffons, on retrouve un même décalage d'environ 4 °C dans le processus d'association des deux copolymères greffés, à la fois pour T_{as} et T_{sol-gel}, avec cependant un écart très important d'environ 18 °C entre les températures d'association et les températures de gélification (cf. Tableau 6.4).

Tableau 6.4 : Températures caractéristiques des copolymères PAA1-O₁₂₇ et PAA1-O₂₂₇ (5 wt% eau) et des greffons O₁ et O₂ (10 wt% eau).

	PAA1-O ₁₂₇	O ₁	PAA1-O ₂₂₇	O ₂
T _{as} (°C) et T _{cp} (°C)	25,3	28	29,3	32
T _{sol-gel} (°C)	43,3	---	47,8	---
Pente d'association (Pa.s/°C)	4,3	---	7,0	---

Ce comportement que l'on retrouvera d'une manière générale avec toutes les solutions à base de greffons PEGMA, souligne un processus d'association plus progressif, ou plus dynamique, mettant en jeu un nombre de greffons moins important et/ou des interactions plus faibles au sein des domaines riches en PEGMA. Cela conduit à des pentes d'association relativement faibles pour les deux copolymères, 4,3 Pa.s/°C pour PAA1-O₁₂₇ et 7 Pa.s/°C pour PAA1-O₂₂₇, qui conduisent à la formation d'une phase gel à des températures bien supérieures à 40 °C. On remarque également que les propriétés viscoélastiques des deux copolymères continuent d'augmenter de manière significative à haute température et se rejoignent vers 60 °C (G' ≃ 10 Pa). D'une manière générale, sur cette série de copolymères à faible taux de PEGMA, il faut également prendre en compte le faible nombre de greffons par chaîne qui tend à réduire les interactions entre les chaînes responsables de la percolation du réseau.

Greffons P(DEGMA-co-TEGMA)

Dans cette seconde série, PAA1-T_y27, ce sont deux copolymères de P(DEGMA-co-TEGMA) qui ont été greffés sur le squelette de PAA1. Ces deux greffons, préparés avec des teneurs en TEGMA de 23,5 et 36 mol%, possèdent des LCST proches de celle du PNIPAm (cf. Tableau 6.5).

Tableau 6.5 : Masses molaires et points de trouble des greffons PEGMA T_y.

Nom	TEGMA (mol%)	M _n (g/mol)	M _w (g/mol)	Đ	T _{cp} (°C) ; C _p = 10 wt%
T ₁	23,5	38 500	56 300	1,5	30,5
T ₂	36	50 000	69 000	1,4	32,5

Les solutions de copolymères PAA1-T_y27 présentent des caractéristiques viscoélastiques et thermoépaississantes très proches de celles relevées avec la série précédente (cf. Figure 6.6). Cette similitude concerne à la fois l'abaissement des T_{as}, comparativement aux valeurs de T_p des greffons seuls, et la faible pente de thermoépaississement (environ 7 Pa.s/°C) qui conduit à des systèmes gélifiés uniquement au-delà de 40 °C, soit environ 15 °C au-dessus de la température d'association (cf. Tableau 6.6).

Tableau 6.6 : Températures caractéristiques des copolymères PAA1-T₁27 et PAA1-T₂27 (4,8 wt% eau) et des greffons T₁ et T₂ (10 wt% eau).

	PAA1-T ₁ 27	T ₁	PAA1-T ₂ 27	T ₂
T _{as} (°C) et T _{cp} (°C)	25,8	30,5	30,9	32,5
T _{sol-gel} (°C)	42,2	---	45,7	---
Pente d'association (Pa.s/°C)	7,4	---	7,9	---

La seule différence qui ressort de cette comparaison concerne les propriétés élastiques plus élevées pour les copolymères PAA1-T_y27 à haute température (cf Figure 6.6) que l'on peut essayer de relier à une plus grande hydrophobie du TEGMA par rapport au OEGMA₄₇₅ et par conséquent à des interactions plus fortes entre les chaînes.

D'une manière générale, on retiendra que pour cette série de copolymères à faible taux de PEGMA, le processus de transition de phase des greffons conduit bien à des propriétés thermogélifiantes mais celles-ci se développent sur une plage de température très large et conduisent à des gels faibles uniquement au-delà de 40 °C.

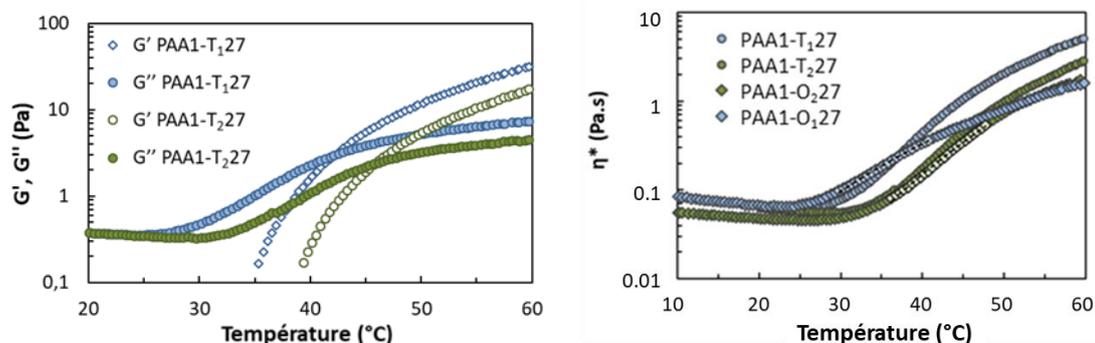


Figure 6.6 : (Gauche) Propriétés thermogélifiantes (5 wt% eau) en fonction du pourcentage molaire de TEGMA, pour PAA1-T₁27 et PAA1-T₂27 ; (Droite) Comparaison des propriétés viscoélastiques des solutions de copolymères PAA1-T_y27 et PAA1-O_y27 (5 wt% eau).

III.2.2 Topologie à fort pourcentage en PEGMA

Afin de renforcer les propriétés thermoassociatives, des PAA-g-P(DEGMA-co-OEGMA₄₇₅) ont été synthétisés avec un taux de greffage plus important (65 wt%). La variation de leurs propriétés viscoélastiques avec la température, présentée sur la Figure 6.7, montre un comportement thermoépaississant beaucoup plus important que précédemment.

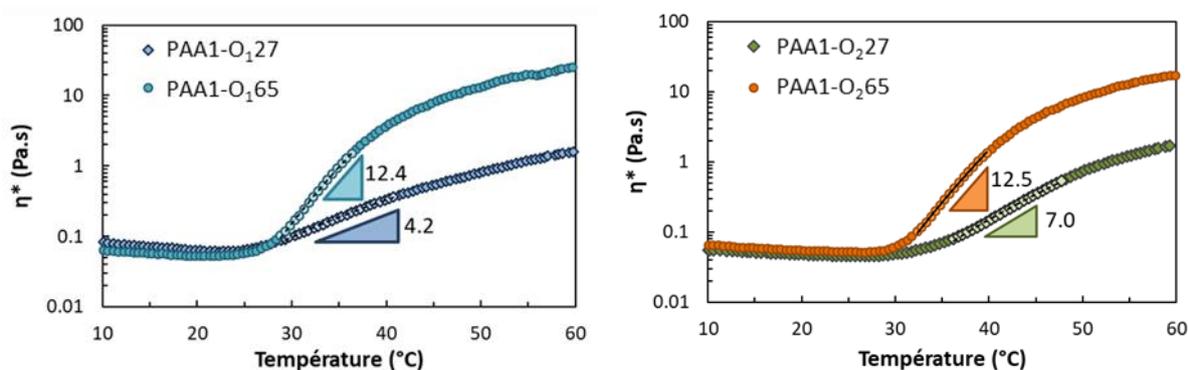


Figure 6.7 : Influence du taux de greffage sur les propriétés thermogélifiantes des copolymères PAA1-O_yz. Les greffons O₁ (gauche) et O₂ (droite) contiennent, respectivement, 1,5 et 5 mol% de monomère OEGMA₄₇₅ (C_p = 5 wt% dans l'eau).

Dans ce cas, où la contribution massique du squelette PAA est trois fois plus faible que dans la série précédente, les températures d'association sont plus proches des températures de point de trouble déterminées sur les greffons libres (cf. Tableau 6.7), ce qui dénote un faible effet de salting-out. Au niveau du processus de thermogélification, les pentes sont plus élevées ($\approx 12,5 \text{ Pa.s}/^\circ\text{C}$), ce qui permet d'atteindre la transition sol-gel à des températures plus basses comprises entre 37 et 40 °C, soit entre 6 et 8 °C plus bas par rapport aux solutions de copolymères PAA1-O_y27. Tout cela conduit à 60 °C à des viscosités complexes, ou des modules élastiques, 10 fois plus élevés pour les copolymères les plus modifiés.

Tableau 6.7 : Températures caractéristiques des copolymères PAA1-O₁65 et PAA1-O₂65 (5 wt% eau) et des greffons O₁ et O₂ (10 wt% eau).

	PAA1-O ₁ 65	O ₁	PAA1-O ₂ 65	O ₂
T _{as} (°C) et T _{cp} (°C)	27,8	28	30,3	32
T _{sol-gel} (°C)	37,3	---	40,1	---
Pente d'association (Pa.s/°C)	12,4	---	12,5	---

Néanmoins, les propriétés viscoélastiques restent faibles notamment si on se place dans le cadre d'applications en milieu physiologique où les formulations de ces copolymères hautement modifiés sont à peine gélifiées.

III.2.4. Impact de la concentration en polymère

L'effet de la concentration en polymère sur les propriétés viscoélastiques est présenté sur la Figure 6.8 dans le cas des solutions de PAA1-O₂65.

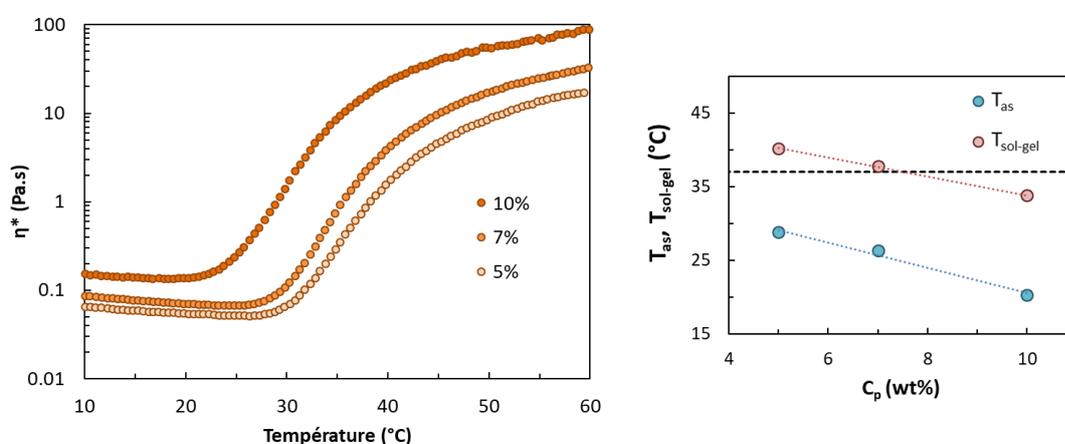


Figure 6.8 : Comportement thermoassociatif des solutions de copolymère PAA1-O₂65 en fonction de la concentration en polymère ; Variations de la viscosité complexe (Gauche) et des températures caractéristiques T_{as} et T_{sol-gel} (Droite).

La ligne en pointillé représente la limite des 37 °C.

On retrouve le comportement attendu à l'état non associé ($T = 10\text{ °C}$) pour une solution enchevêtrée de polyelectrolyte avec une variation de la viscosité Newtonienne suivant une loi de puissance $\eta \sim C^{1,37}$ (cf. Annexes, Figure 6.14), conforme à la théorie ($\eta \sim \phi^{1,5}$)⁸. Ce comportement est similaire à celui décrit avec les solutions de PAA1-N67 dans le Chapitre 3 ($\eta \sim C^{1,32}$). De même, à l'instar des études menées avec les solutions de PAA1-g-PNIPAm, on observe un décalage de T_{as} vers les basses températures lorsque la concentration en polymère augmente. Cette variation de T_{as} est par ailleurs corrélée à la variation de T_{sol-gel} mais dans le cas présent la différence entre ces deux températures est d'au moins 10 °C comparativement à

moins de 3 °C dans les mêmes conditions pour le système PAA1-g-PNIPAm. Il est à noter qu'en se basant sur les droites obtenues sur la Figure 6.8, il faudrait environ 9,5 wt% de PAA1-O₂65, soit environ le double en concentration, pour obtenir une T_{sol-gel} similaire à PAA1-N67, soit 34,5 °C à 5 wt%.

En compilant l'ensemble des modules élastiques mesurés à 60 °C, pour les différentes solutions de copolymères PAA1-O_{yz}, en fonction de la concentration normalisée ($C_P \cdot w_{PEGMA} / C_e$), nous obtenons, sur la Figure 6.9, une tendance générale similaire aux dérivés PNIPAm, avec un exposant $\beta = 2,24$ pour PAA1-O_{yz} comparé à 1,65 pour les PAA-g-PNIPAm. Néanmoins, pour une concentration donnée, les modules des solutions de PAA-g-PEGMA sont systématiquement plus faibles par rapport aux PAA-g-PNIPAm et cela traduit clairement la thermoviscosification beaucoup plus efficace des dérivés PNIPAm par rapport aux PEGMA en se plaçant dans des conditions identiques de concentration, de composition et de température de transition.

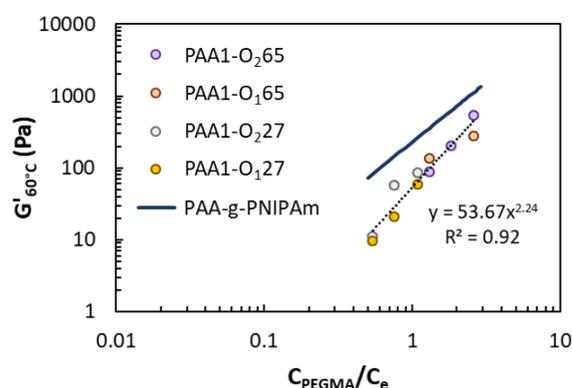


Figure 6.9 : Variation du module élastique des solutions de PAA1-O_{yz} à 60 °C en fonction de la concentration relative en PEGMA divisée par la concentration d'enchevêtrement (C_{PEGMA}/C_e) ; — Comportement moyen des copolymères PAA-g-PNIPAm extrait du Chapitre 4.

Ainsi, pour des systèmes à base de greffons PEGMA, caractérisés par une température d'association proche de 32 °C, il serait nécessaire de travailler à des concentrations en copolymère plus importantes pour obtenir des modules élastiques, à 60 °C, identiques à ceux des PAA-g-PNIPAm. De plus, pour obtenir une température de gélification inférieure à 37 °C, il semble nécessaire d'utiliser des greffons avec des T_{cp} plus basses que celle du PNIPAm (< 32 °C), à cause de l'association plus progressive des greffons PEGMA. Le PDEGMA semble une bonne option avec sa LCST proche de l'ambiante et pourrait ainsi permettre d'abaisser la T_{sol-gel}.

III.3. Comparaison entre PAA-g-PEGMA et PAA-g-PNIPAm

Afin d'élargir cette comparaison entre dérivés PEGMA et PNIPAm, nous avons rassemblé sur la Figure 6.10, les comportements thermoviscosifiants de quatre copolymères greffés issus du

même squelette PAA1. Quel que soit le taux de greffage, les pentes du processus thermoassociatif sont toutes supérieures pour les dérivés PNIPAm.

Pour des taux de greffage comparables (N67, O₁65 et O₂65), on observe très clairement que le processus de thermogélification est nettement plus abrupt pour le dérivé PNIPAm dont la pente (57 Pa.s/°C) est 4 à 5 fois supérieure à celle de ses homologues PEGMA. Même les solutions de PAA1-N37 à faible taux de PNIPAm viscosifient beaucoup plus « rapidement » avec la température que les dérivés PEGMA.

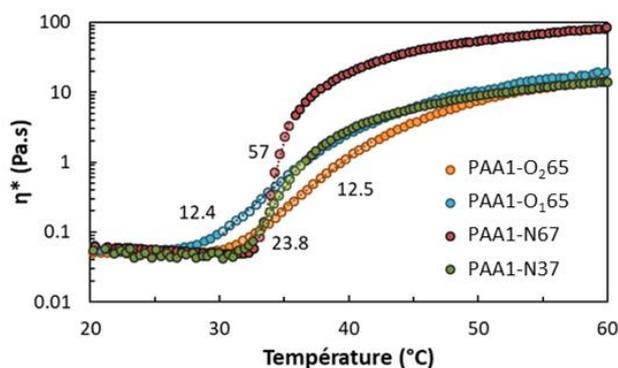


Figure 6.10 : Influence de la nature chimique des greffons sur le caractère thermogélifiant des copolymères greffés ($C_p = 5$ wt% dans l'eau).

De plus, aux grandes déformations, les comportements adhésifs des copolymères PEGMA sont faibles comparativement aux dérivés PNIPAm (cf. Figure 6.11). Les énergies d'adhésion mesurées sur les formulations de PAA1-O₁65 (0,23 J/m²) et PAA1-O₂65 (0,25 J/m²) restent en effet très proches de la valeur obtenue avec le PAA1-N37 (0,19 J/m²). Ce résultat semble cohérent étant donnée la relation implicite que nous avons mise en évidence entre l'énergie d'adhésion et le module élastique G' .

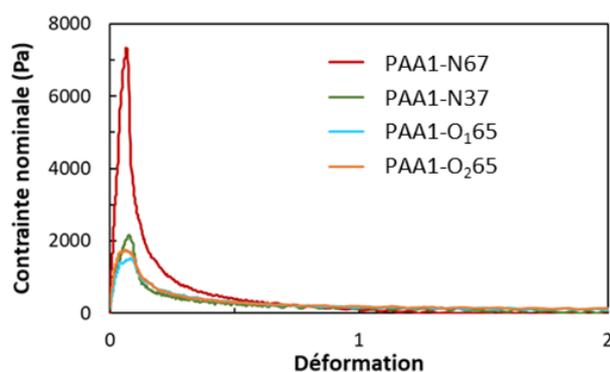


Figure 6.11 : Comparaison des comportements adhésifs à 50 °C de formulations de PAA1-g-PNIPAm et PAA1-g-PEGMA ($v = 100$ $\mu\text{m/s}$; $h_0 = 400$ μm).

III.4. Discussion

Malgré un pourcentage élevé en PEGMA dans le copolymère greffé, nous avons montré qu'il n'était pas possible d'obtenir des performances similaires aux PAA-g-PNIPAm. Afin de discuter des différences de comportement observées lors du processus de thermoassociation

généralisé par les greffons PNIPAm et PEGMA, il est important de considérer les différents mécanismes mis en jeu. Dans ce cadre, une des différences majeures entre PNIPAm et PEGMA concerne la rupture et à la formation de liaisons-H lors du processus de déshydratation des chaînes. En effet, les unités NIPAm présentent à la fois un site donneur et un site accepteur de liaisons-H contrairement aux monomères EGMA qui ne possèdent que des sites accepteurs. Ce problème a été considéré en particulier par Pang et Cui⁹ dans leur étude comparative des transitions de phase de type LCST entre PNIPAm et poly(*N,N*-diéthylacrylamide) (PDEAM).

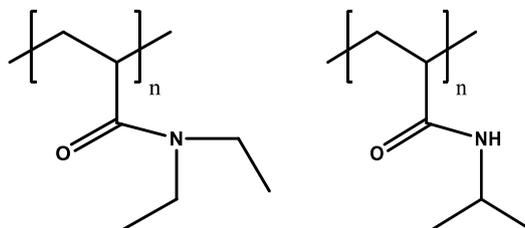


Figure 6.12 : Structure du PDEAM (Gauche) et du PNIPAm (Droite).

En effet, bien que ces deux polymères soient très similaires sur de nombreux aspects, en particulier T_p et T_g très voisines, l'énergie liée au réarrangement des molécules d'eau lors de la séparation de phase est bien plus élevée pour le PNIPAm (5,19 kJ/mol) que pour le PDEAM (1,13 kJ/mol). Ceci s'explique par le plus grand nombre de molécules d'eau initialement liées au PNIPAm à partir de ses différents sites donneurs et accepteurs de liaisons-H ; la rupture et réorganisation de ces liaisons conduisant à une énergie de transition plus importante.

De plus, comme le PNIPAm peut former des liaisons-H intra-chaînes une fois à l'état associé¹⁰, cela facilite sa déshydratation lors de sa transition et c'est effectivement ce qui est observé comparativement au PDEAM qui de par sa structure ne peut pas former de liaisons-H intra-monomères. L'existence de ces liaisons-H intra- ou inter-chaînes dans le cas du PNIPAm est d'ailleurs très souvent mise en avant pour justifier une cinétique de réhydratation plus lente au cours du refroidissement qui génère des phénomènes d'hystérèse. Bien que cela n'ait pas été observé dans notre cas, où les comportements viscoélastiques sont parfaitement réversibles, la formation de liaisons-H entre unités NIPAm est une des raisons principales du renforcement des interactions inter-chaînes. Dans le cas des polymères PDEAM et PDEGMA, qui ne peuvent pas former de liaisons-H inter-chaînes, les études relèvent généralement une faible déshydratation au niveau des groupements carbonyles (5,5% et 15,9% pour des PDEGMA de DP_n de 20 et 50¹¹, et environ 10% pour le PDEAM¹²), comparativement à 35 % de déshydratation pour le groupement C=O du PNIPAm¹³. Comme cela a été proposé par Dalgakiran et Tatlipinar¹¹, le processus de séparation de phase des PEGMA est avant tout relatif à des interactions faibles entre groupes hydrophobes après rupture des cages d'hydratation.

Parallèlement, si on s'intéresse aux phases riches en greffons qui se forment au-delà de T_{as} , on n'attend pas d'après la littérature à obtenir des différences de concentrations notables entre PEGMA et PNIPAm. Par contre, une des caractéristiques importantes dans les processus associatifs concerne la dynamique des interactions avec la durée de vie des chaînes à l'état associé qui pilote les propriétés viscoélastiques. Alors qu'une durée de vie infinie conduira à la formation de liaisons permanentes, équivalentes à celles d'un gel chimique, une durée de vie beaucoup trop faible par rapport aux conditions d'étude ne pourra être perçue expérimentalement. Dans le cas des PAA-g-PNIPAm, la transition abrupte des propriétés viscoélastiques peut donc être attribuée à la formation de domaines concentrés en greffons PNIPAm caractérisés par une très faible dynamique de dissociation, s'expliquant par de fortes interactions inter-chaînes générées par le couplage des interactions hydrophobes et des liaisons-H. Pour les copolymères PAA-g-PEGMA, une dynamique de dissociation plus élevée, dû à l'impossibilité de former des liaisons H inter-chaines, peut expliquer la transition plus progressive des greffons PEGMA.

IV. Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons tout d'abord étudié l'impact de la proportion en comonomère sur la modification de la LCST des copolymères de PEGMA et montré qu'il était possible de contrôler très finement cette température en ajustant la proportion de TEGMA ou de OEGMA₄₇₅ dans la chaîne de PDEGMA. Après avoir greffé ces chaînons à LCST sur un squelette PAA, nous avons pu étudier leurs propriétés thermoviscosifiantes et comparer l'impact de la nature des greffons sur ces propriétés.

Il ressort que le PEGMA génère une transition viscoélastique beaucoup moins abrupte que le PNIPAm entraînant ainsi un écart important entre T_{as} et $T_{sol-gel}$. Ces propriétés associatives plus faibles sont attribuées à une plus grande dynamique des chaînes PEGMA dans l'état associé.

Comme il est difficile d'atteindre un état gel dans les conditions physiologiques en ajustant la température d'association vers 32 °C avec des copolymères de PEGMA, nous avons poursuivi cette étude au chapitre suivant avec des copolymères greffés à base d'alginate en utilisant simplement l'homopolymère PDEGMA comme greffon thermosensible. Bien que sa LCST soit relativement basse (24,5 °C), cela nous permet d'envisager une transition sol-gel à des températures inférieures à 37 °C, pour des concentrations assez faibles en polymère.

Annexes

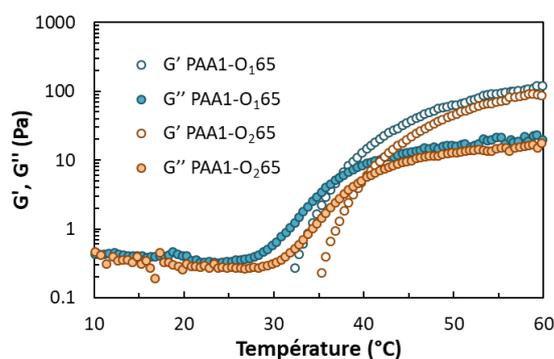


Figure 6.13 : Comportement thermogélifiant en fonction du pourcentage en OEGMA₄₇₅ pour des solutions de copolymère PAA1-O₁₆₅ et PAA1-O₂₆₅, 5 wt% eau.

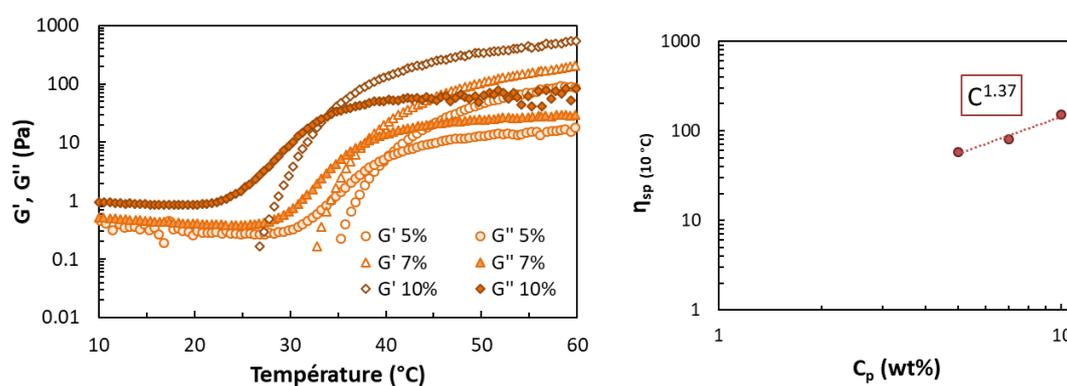


Figure 6.14 : (Gauche) Comportement thermogélifiant en fonction de la concentration pour des solutions de copolymère PAA1-O₂₆₅ ; (Droite) Viscosité spécifique en fonction de la concentration à l'état non associé.

Références

1. Lutz, J.-F. & Hoth, A. Preparation of Ideal PEG Analogues with a Tunable Thermosensitivity by Controlled Radical Copolymerization of 2-(2-Methoxyethoxy)ethyl Methacrylate and Oligo(ethylene glycol) Methacrylate. *Macromolecules* **39**, 893–896 (2006).
2. Han, S., Hagiwara, M. & Ishizone, T. Synthesis of Thermally Sensitive Water-Soluble Polymethacrylates by Living Anionic Polymerizations of Oligo(ethylene glycol) Methyl Ether Methacrylates. *Macromolecules* **36**, 8312–8319 (2003).
3. Maeda, Y., Kubota, T., Yamauchi, H., Nakaji, T. & Kitano, H. Hydration Changes of Poly(2-(2-methoxyethoxy)ethyl Methacrylate) during Thermosensitive Phase Separation in Water. *Langmuir* **23**, 11259–11265 (2007).
4. Ramírez-Jiménez, Montoya-Villegas, Licea-Claverie, & González-Ayón. Tunable Thermo-Responsive Copolymers from DEGMA and OEGMA Synthesized by RAFT Polymerization and the Effect of the Concentration and Saline Phosphate Buffer on its Phase Transition. *Polymers* **11**, 1657 (2019).
5. Czaderna-Lekka, A., Kozanecki, M., Matusiak, M. & Kadlubowski, S. Phase transitions of poly(oligo(ethylene glycol) methyl ether methacrylate)-water systems. *Polymer* **212**, 123247 (2021).

6. Afroze, F., Nies, E. & Berghmans, H. Phase transitions in the system poly(*N*-isopropylacrylamide)/water and swelling behaviour of the corresponding networks. *Journal of Molecular Structure* **554**, 55–68 (2000).
7. Ishizone, T. *et al.* Anionic Polymerizations of Oligo(ethylene glycol) Alkyl Ether Methacrylates: Effect of Side Chain Length and ω -Alkyl Group of Side Chain on Cloud Point in Water. *Macromolecules* **41**, 2963–2967 (2008).
8. Colby, R. H. Structure and linear viscoelasticity of flexible polymer solutions: comparison of polyelectrolyte and neutral polymer solutions. *Rheol Acta* **49**, 425–442 (2010).
9. Pang, X. & Cui, S. Single-Chain Mechanics of Poly(*N,N*-diethylacrylamide) and Poly(*N*-isopropylacrylamide): Comparative Study Reveals the Effect of Hydrogen Bond Donors. *Langmuir* **29**, 12176–12182 (2013).
10. Zhou, K. *et al.* The Coil-to-Globule-to-Coil Transition of Linear Polymer Chains in Dilute Aqueous Solutions: Effect of Intrachain Hydrogen Bonding. *Macromolecules* **41**, 8927–8931 (2008).
11. Dalgakiran, E. & Tatlipinar, H. Atomistic insights on the LCST behavior of PMEO₂MA in water by molecular dynamics simulations. *J. Polym. Sci. Part B: Polym. Phys.* **56**, 429–441 (2018).
12. Maeda, Y., Nakamura, T. & Ikeda, I. Change in Solvation of Poly(*N,N*-diethylacrylamide) during Phase Transition in Aqueous Solutions As Observed by IR Spectroscopy. *Macromolecules* **35**, 10172–10177 (2002).
13. Sun, B., Lin, Y., Wu, P. & Siesler, H. W. A FTIR and 2D-IR Spectroscopic Study on the Microdynamics Phase Separation Mechanism of the Poly(*N*-isopropylacrylamide) Aqueous Solution. *Macromolecules* **41**, 1512–1520 (2008).

Partie C :

Étude de systèmes
thermogélifiants à base
de biopolymères

Chapitre 7 :

Biopolymères thermogélifiants

Table des matières

CHAPITRE 7 : BIOPOLYMÈRES THERMOGÉLIFIANTS	183
I. Introduction	183
II. Acide hyaluronique modifié	183
II.1. Comportement thermoassociatif	183
II.2. Propriétés viscoélastiques	184
II.3. Propriétés adhésives	186
III. Alginates modifiés	186
III.1. Introduction	186
III.2. Propriétés viscoélastiques des solutions d'ALG1-N45	187
III.2.1. Propriétés viscoélastiques dans l'eau	187
III.2.2 Propriétés viscoélastiques en milieu PBS	190
III.3. Influence de la masse molaire	190
III.4. Influence du taux de greffage	192
III.5. Influence de la nature des greffons	194
III.5.1. Introduction	194
III.5.2. Analyse viscoélastique	194
III.5.3. Analyse RMN	196
III.5.4. Analyse par SAXS	197
IV. Propriétés des biogels injectables en milieu physiologique	198
IV.1. Propriétés rhéologiques sous cisaillement	198
IV.1.1. Viscosité sous cisaillement	198
IV.1.2. Injectabilité	200
IV.2. Gélification	202
IV.3. Gonflement et intégrité du gel	205
IV.4. Relargage	206
IV.5. Toxicité/ Viabilité cellulaire	208
V. Discussion générale	209
VI. Conclusion	213
Annexes	214
Références	217

Chapitre 7 : Biopolymères thermogélifiants

I. Introduction

Après avoir étudié les relations structure/propriétés des polymères synthétiques thermoépaississants à base de PAA comme squelette, nous allons nous intéresser dans ce dernier chapitre au développement de biopolymères thermogélifiants préparés à partir d'acide hyaluronique (HA) et d'alginate (ALG). Dans ce cadre, nous reprendrons la même stratégie d'architectures greffées développée précédemment (Chapitres 3, 4 et 6) en comparant les propriétés générées par des greffons PNIPAm, PDEGMA et des copolymères statistiques d'oxyde d'éthylène et d'oxyde de propylène (PEPO).

Ces copolymères à base de biopolymères seront étudiés dans un but plus applicatif de délivrance de principes actifs. Ainsi, nous nous intéresserons également à leurs propriétés d'injectabilité, de stabilité en environnement aqueux et de délivrance d'une molécule modèle dans des conditions physiologiques.

Enfin, nous reviendrons tout à la fin sur une discussion générale afin de comparer les différents systèmes entre eux et de préciser le rôle des paramètres structuraux sur les propriétés à l'état associé.

II. Acide hyaluronique modifié

II.1. Comportement thermoassociatif

Cette étude a été réalisée sur un acide hyaluronique ($M_n = 200$ kg/mol ; $\bar{D} \cong 2$) greffé à 55% en masse avec des chaînes de PNIPAm ($M_n = 20$ kg/mol ; $\bar{D} \cong 1,2$). La synthèse de ce copolymère HA-N55/20k a été réalisée précédemment au laboratoire par Marine Protat dans le cadre de son stage de master. Comme on peut l'observer sur la Figure 7.1, on retrouve les caractéristiques thermiques de la séparation de phase des greffons PNIPAm avec une température T_{as} de l'ordre de 33 °C et une enthalpie $\Delta H = 6,5$ kJ/mol_{PNIPAm}.

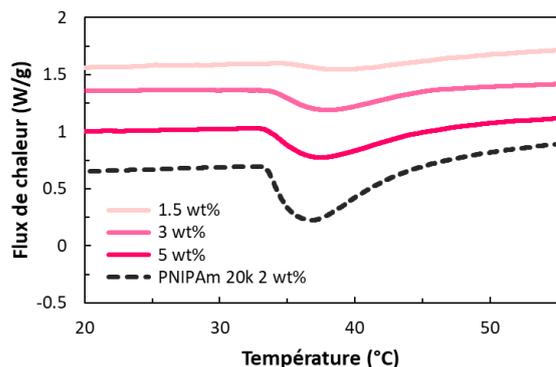


Figure 7.1 : Endothermes caractéristiques du processus de thermoassociation des solutions de HA-N55/20k à différentes concentrations dans du PBS et du précurseur PNIPAm 20k (2 wt% PBS).

Tableau 7.1 : Données obtenues en DSC pour des solutions de HA-N55 et son greffon PNIPAm dans le PBS.

Polymère	C _p (wt%)	ΔH (kJ/mol _{PNIPAm})	T _{as} (°C)	T _{max} (°C)
PNIPAm-20k	2,0	6,5	33,4	36,8
HA-N55/20k	1,5	2,5	34,9	39,6
	3,0	2,9	33,9	38,0
	5,0	3,1	33,5	37,6

Comme dans le cas des copolymères PAA-Ny/z, l'enthalpie de transition du PNIPAm diminue lorsque ceux-ci sont greffés sur le squelette hydrosoluble de HA. Cependant, contrairement aux PAA, nous n'observons pas de variation aussi importante des T_{as} avec la concentration en copolymère. En effet, la T_{as} ne varie que de 1,4 °C entre 1,5 et 5 wt% (cf. Tableau 7.1), pour HA-N55/20k, contre 6 °C d'écart entre 4,8 et 9,1 wt%, pour PAA1-N67 (cf. Chapitre 3). Ceci souligne dans le cas du HA une plus faible contribution des répulsions électrostatiques sur le processus d'association.

II.2. Propriétés viscoélastiques

Les propriétés viscoélastiques obtenues avec une solution à 5 wt% PBS (cf. Figure 7.2) reproduisent à l'échelle macroscopique les observations précédentes avec une température de transition T_{as} = 32,1 °C suivie d'une transition abrupte des propriétés entre 30 et 40 °C caractérisée par une température de gélification T_{sol-gel} égale à 35,2 °C.

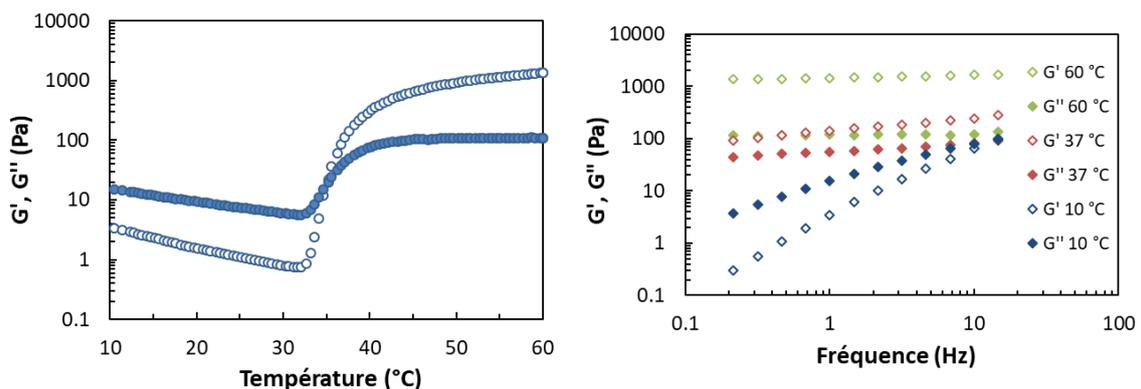


Figure 7.2 : Propriétés viscoélastiques d'une solution aqueuse de HA-N55/20k (C_p = 5 wt% PBS) ; (Gauche) Variation des modules viscoélastiques (f = 1 Hz), (Droite) Dépendance en fréquence des modules dynamiques à différentes températures.

La solution à 5 wt% atteint donc bien un état gel à 37 °C mais son module reste peu élevé (G' ≃ 100 Pa), environ 10 fois plus faible qu'à 50 ou 60 °C car la transition de phase des greffons n'est pas achevée (cf. Figure 7.2). Cette transition sol-gel est observée pour toutes les solutions

étudiées ($C_p = 0,5$ et 7 wt%) mais dans le cas de la solution la plus diluée on obtient un gel très faible avec un module élastique de l'ordre du Pascal qui est instable en température (cf. Annexe 2, Figure 7.36). Les variations de propriétés viscoélastiques en fonction de la concentration en polymère sont présentées sur la Figure 7.3 où l'on observe l'existence d'un régime enchevêtré à partir d'environ $1,5$ wt% en copolymère. Contrairement aux solutions de copolymères à base de PAA, l'exposant obtenu, pour $C > C_e$, avec les dérivés HA ($\alpha = 3,3$) se rapproche du comportement de polymères neutres puisque les lois d'échelle prédisent $\eta \sim C^\alpha$, avec $\alpha = 15/4$ en bon solvant et $14/3$ en solvant- Θ , contrairement à $\alpha = 3/2$ pour les solutions de polyélectrolytes. Ce résultat est par ailleurs en bon accord avec les travaux de Milas *et al.*¹ qui donnent pour des solutions d'acide hyaluronique un exposant α compris entre $3,6$ et $4,1$ qu'ils attribuent au caractère semi-rigide de la chaîne de hyaluronane qui l'emporte sur son caractère polyélectrolyte.

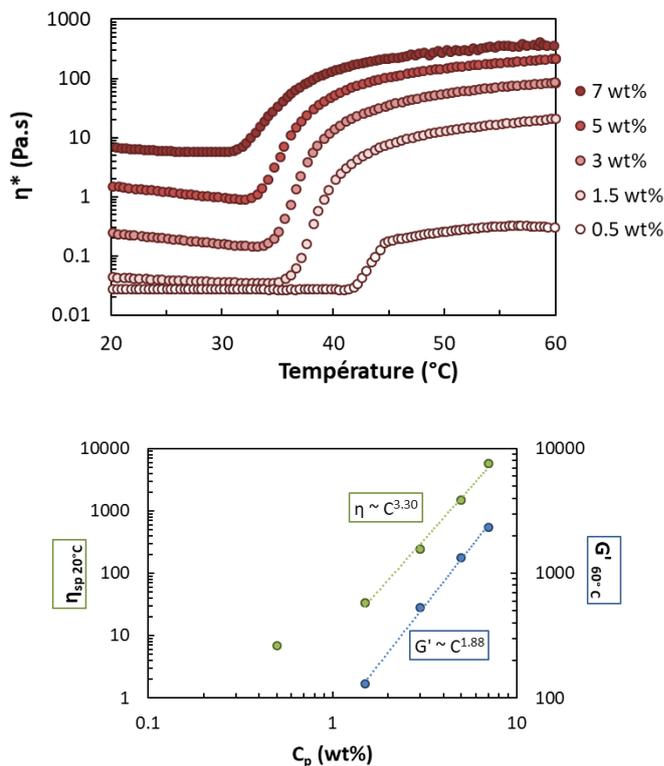


Figure 7.3 : Propriétés viscoélastiques des solutions de HA-N55/20k dans du PBS ;

(Gauche) Variation de la viscosité complexe ($f = 1$ Hz) au cours du chauffage pour différentes concentrations en polymère ;

(Droite) Variation de la viscosité complexe à 20 °C et du module élastique à 60 °C en fonction de la concentration en copolymère.

Dans ce même domaine enchevêtré, les modules élastiques mesurées à 60 °C varient selon la relation $G' \sim C^\beta$ avec un exposant proche de 2 qui est classique pour des solutions enchevêtrées de polymère et des systèmes gélifiés. Comme discuté précédemment, la solution à $0,5$ wt%, qui se trouve donc dans le régime semi-dilué non enchevêtré, conduit bien à la formation d'un gel faible mais avec une connectivité insuffisante qui le rend instable à haute température.

II.3. Propriétés adhésives

Nous avons également réalisé des tests d'adhésion en fonction de la température avec la formulation de HA-N55/20k, à 5 wt% dans l'eau. Contrairement à l'étude dans le PBS, l'utilisation d'eau comme solvant ne permet pas d'obtenir une $T_{\text{sol-gel}}$ en dessous de 37 °C. Elle est égale à 37,9 °C dans ce cas (cf. Annexe 2, Figure 7.37). Ceci peut être attribué à une taille de greffons trop faible et renforce la nécessité d'une taille de greffons de 30-40 kg/mol.

Les courbes contrainte-déformation, portées sur la Figure 7.4, montrent des résultats similaires à PAA1-N67 (cf. Chapitre 3) avec une adhésion négligeable en dessous de T_{as} suivie d'une rapide augmentation de la contrainte σ_{max} et de l'énergie d'adhésion qui atteignent des valeurs plateau au-delà de 45 °C. Il est néanmoins à noter qu'à 37 °C l'énergie d'adhésion est très faible ($< 0,1 \text{ J/m}^2$) dû au fait que la $T_{\text{sol-gel}}$ n'est pas encore atteinte.

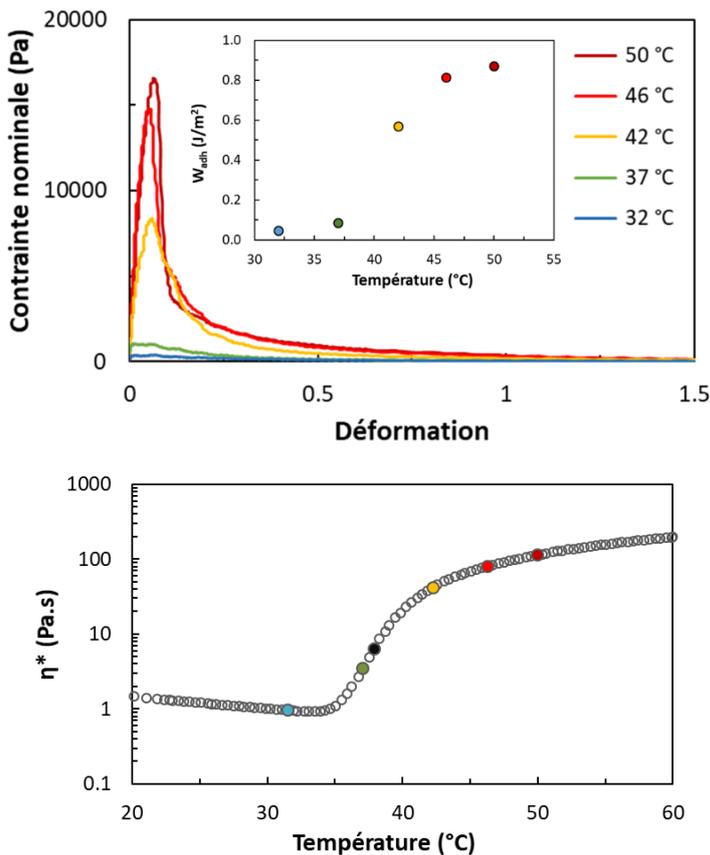


Figure 7.4 : (Haut) Variation des propriétés adhésives en fonction de la température pour une solution de HA-N55/20k, à 5 wt% eau ; (Bas) Propriétés thermogélifiantes pour HA-N55/20k, 5 wt% eau. La $T_{\text{sol-gel}}$ est symbolisée par ● et est égale à 37,9°C.

III. Alginate modifiés

III.1. Introduction

Les études présentées dans cette partie ont été réalisées sur des copolymères à squelette alginate modifiés par des greffons à LCST de type PNIPAm (N), PDEGMA (D) ou PEPO (P). À partir de ces différents copolymères, dont les caractéristiques sont rassemblées dans le Tableau 7.1,

l'objectif est d'étudier l'influence de paramètres clés tels que le taux de greffage, la nature des greffons ou la taille du squelette alginate sur les propriétés thermoépaississantes.

Tableau 7.2 : Caractéristiques des copolymères greffés à base d'alginate.

Polymère	M_n (kg/mol)	M_w (kg/mol)	\bar{D}	Ratio ALG/polymère à LCST	Nombre de greffons par chaîne
ALG1	155	285	1,8		
ALG2	53	125	2,4		
PNIPAm = N	38	61	1,6		
ALG1-N15	161	284	1,8	85/15 wt%	0,7
ALG1-N45	232	335	1,4	55/45 wt%	3
ALG1-N72	146	519	3,5	28/72 wt%	≈ 10
ALG2-N45	88	137	1,6	55/45 wt%	1
PDEGMA = D	27	81	3,0		
ALG1-D45	/	/	/	55/45 wt%	≈ 5
PEPO = P	/	2	/		
ALG1-P45	/	/	/	55/45 wt%	≈ 60
ALG1-P67	/	/	/	30/70 wt%	≈ 180

Comme indiqué dans le Tableau 7.2, nous avons utilisé les mêmes greffons PNIPAm de masse molaire $M_n = 38$ kg/mol afin de faire le lien avec les études précédentes sur les copolymères PAA-Ny/38k. De même, le polymère PDEGMA ($M_n = 27$ kg/mol) a été synthétisé de manière à avoir une masse molaire proche du PNIPAm. En ce qui concerne le PEPO, il s'agit d'un copolymère commercial de faible masse molaire ($M_n = 2$ kg/mol) possédant une LCST proche de la température ambiante et qui est très utilisé dans le développement de systèmes thermostimulables²⁻⁴.

III.2. Propriétés viscoélastiques des solutions d'ALG1-N45

III.2.1. Propriétés viscoélastiques dans l'eau

Le copolymère ALG1-N45 sera utilisé comme référence dans cette étude dans la mesure où il possède une composition intermédiaire et équilibrée en ALG/PNIPAm (55/45). L'analyse des propriétés viscoélastiques de ce copolymère est présentée sur la Figure 7.5.

On note tout d'abord à température ambiante ($T < T_{as}$) des niveaux de viscosité relativement élevés comparativement aux solutions précédentes de PAA qui reflètent, à l'instar du squelette hyaluronique, l'impact du caractère semi-rigide du squelette sur ses propriétés en solution.

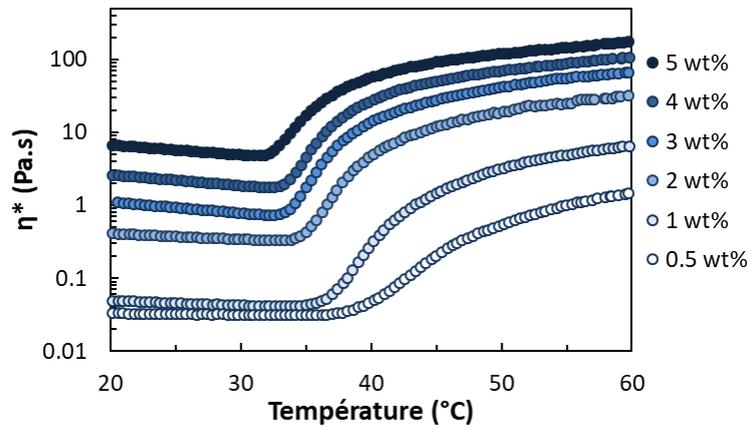


Figure 7.5 : Variation des propriétés thermogélifiantes du copolymère ALG1-N45 en fonction de sa concentration dans l'eau.

Pour comparaison, à la concentration de 5 wt%, la viscosité de la solution d'ALG1-N45 est de 8 Pa.s contre 0,2 Pa.s pour la solution de PAA1-N37. Dans l'état non associé, les lois d'échelle obtenues (cf. Figure 7.6) sont voisines de celles des dérivés HA précédents avec $\eta \sim C^{3,1}$ dans le régime semi-dilué enchevêtré. D'une manière générale, ces exposants sont comparables à ceux reportés dans la littérature pour des polyélectrolytes semi-rigides tels que la CMC⁵ (cf. Figure 7.6) ou le chitosan⁶ avec $\eta \sim C^{1,3}$ pour $C < C_e$ et $C^{3,26}$ pour $C > C_e$. Dans le cas présent, la concentration d'enchevêtrement du copolymère ALG1-N45 est estimée à 1 wt%.

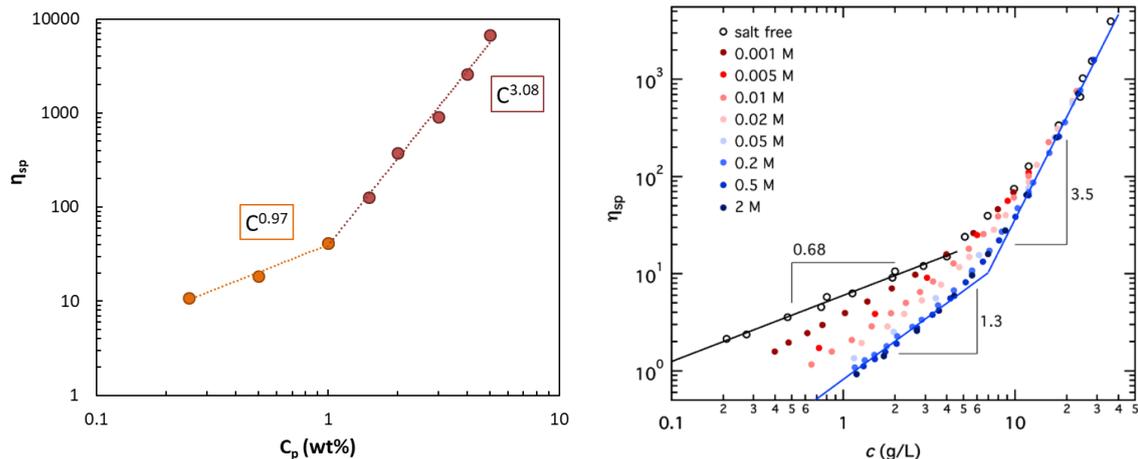


Figure 7.6 : Lois d'échelle $\eta \sim C^\alpha$ dans les régimes semi-dilué non enchevêtré et enchevêtré : (Gauche) ALG1-N45 dans l'eau (20 °C), (Droite) CMC⁵ dans l'eau et en présence de sel.

Tableau 7.3 : T_{as} et $T_{sol-gel}$ en fonction de la concentration pour ALG1-N45 dans l'eau.

C_p (wt%), eau	0,5	1	2	3	4	5
T_{as} (°C)	36,6	35,4	34,6	34,2	33,8	32,6
$T_{sol-gel}$ (°C)	44,6	40,4	36,2	36,2	35,5	34,5
Pente d'association (Pa.s/°C)	12,9	21,5	21,6	20,8	18,9	14,8

Lorsque la température augmente, on observe bien un comportement thermoépaississant avec des températures caractéristiques qui diminuent de quelques degrés lorsque la concentration en polymère augmente (cf. Tableau 7.3). Il est à noter que dès 2 wt% dans l'eau, une $T_{\text{sol-gel}}$ inférieure à 37 °C est obtenue possible, ce qui n'était pas le cas pour HA-N55/20k même à 5 wt%, confirmant bien la nécessité de greffons de M_n égale à 30-40 kg/mol. De plus, toutes les solutions étudiées entre 0,5 et 5 wt% forment des gels à haute température mais l'écart ΔT entre T_{as} et $T_{\text{sol-gel}}$ qui n'est que de 2 °C dans le régime enchevêtré tend à augmenter significativement lorsque la concentration diminue : $\Delta T = 8$ °C à 0,5 wt%. Les pentes d'association reportées dans le Tableau 7.3 sont d'une manière générale plus faibles comparativement aux solutions de PAA-Ny (cf. Figure 7.7) mais ces valeurs ne font que refléter l'écart important qui existe entre les viscosités relevées à $T < T_{\text{as}}$.

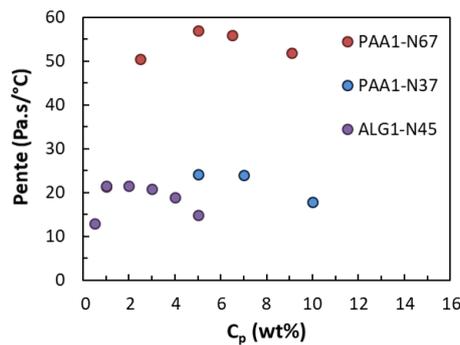


Figure 7.7 : Pentes d'association pour des solutions thermoépaississantes de PAA1-N37, PAA1-N67 et ALG1-N45.

De même, la diminution des pentes d'association dans le régime enchevêtré ($C > 1$ wt% ; cf. Tableau 7.3) souligne la différence de comportement entre la viscosité à basse température ($\eta \sim C^\alpha$) et le module élastique à haute température ($G' \sim C^\beta$). En effet, dans l'état associé, le module élastique varie avec la concentration avec un exposant β voisin de 2 (cf. Figure 7.8) comme observé avec les solutions de HA-N55/20k précédentes, et donc beaucoup plus faible que l'exposant $\alpha = 3,1$, de la relation $\eta \sim C^\alpha$.

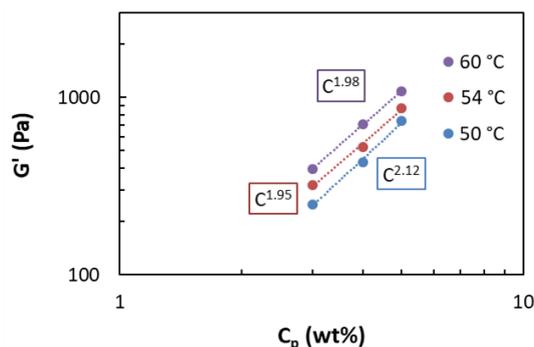


Figure 7.8 : Variation du module élastique G' en fonction de la concentration en polymère, pour les solutions d'ALG1-N45 dans l'eau.

III.2.2 Propriétés viscoélastiques en milieu PBS

L'objet de ce paragraphe, visant à se rapprocher d'applications potentielles *in vivo* ou *in vitro*, nous avons vérifié dans un premier temps l'impact du milieu tampon PBS sur les propriétés thermoassociatives. Comme on peut le constater sur la Figure 7.9, avec les solutions du copolymère de référence ALG1-N45, le milieu PBS ne modifie pratiquement pas le comportement viscoélastique en fonction de la température. Cet environnement ionique conduit simplement à un léger décalage de la viscosité complexe sur toute la gamme de température balayée et une diminution de la température d'association d'environ 2 °C (cf. Tableau 7.4).

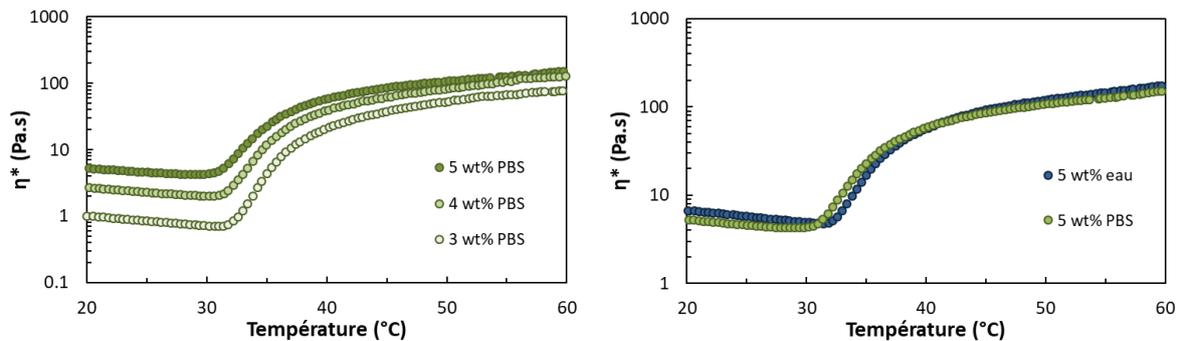


Figure 7.9 : (Gauche) Propriétés thermogélifiantes en fonction de la concentration pour ALG1-N45 dans du PBS ; (Droite) Comparaison des propriétés thermogélifiantes en fonction du solvant (eau, PBS), à 5 wt%.

Il est donc possible de former des gels en milieu PBS de la même manière et avec les mêmes amplitudes que ce qui a été décrit dans l'eau pure. Travailler en milieu PBS présente l'avantage de diminuer T_{as} , et par la même occasion la température de gélification, ce qui permet d'améliorer les propriétés élastiques autour de 37 °C.

Tableau 7.4: Comparaison des températures caractéristiques des solutions d'ALG1-N45 en fonction de la concentration dans l'eau ou le PBS.

C_p (wt%, PBS)	3	4	5
T_{as} (°C)	32,6	31,8	30,6
$T_{sol-gel}$ (°C)	34	33,5	32,9
C_p (wt%, H ₂ O)	3	4	5
T_{as} (°C)	34,2	33,8	32,6
$T_{sol-gel}$ (°C)	36,2	35,5	34,5

III.3. Influence de la masse molaire

La viscosité initiale des solutions d'alginate étant relativement élevée, nous avons utilisé un squelette de plus faible masse molaire $M_n = 53$ kg/mol (ALG2), au lieu de 155 kg/mol pour

ALG1, tout en maintenant la composition alginate/PNIPAm constante (55/45). Néanmoins, compte tenu de la taille des greffons PNIPAm, cela conduit à un nombre moyen de greffon par chaîne voisin de 1 ce qui implique une hétérogénéité importante de composition des chaînes macromoléculaires avec la coexistence de chaînes d'alginate non modifiées et multi-modifiées.

Tableau 7.5 : T_{as} et $T_{sol-gel}$ en fonction de la concentration pour ALG2-N45, dans l'eau.

C_p (wt%, H ₂ O)	4	5	7	10
T_{as} (°C)	34,2	33	29,4	27,3
$T_{sol-gel}$ (°C)	43	41,8	38,8	36,5

Malgré cette hétérogénéité, les solutions étudiées à des concentrations $C_p \geq 4$ wt% présentent des comportements thermoassociatifs avec des transitions sol-gel entre 35 et 45 °C (cf. Figure 7.10 et Tableau 7.7).

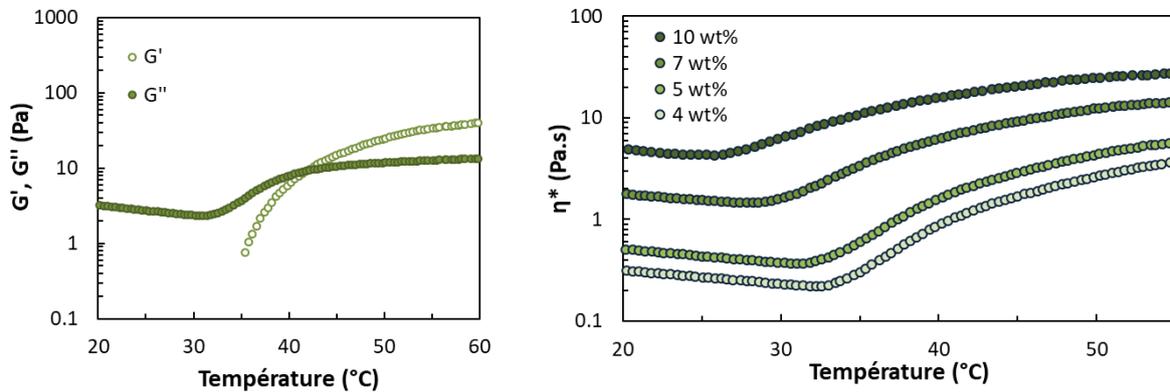


Figure 7.10 : Propriétés thermogéliantes de solutions d'ALG2-N45 dans l'eau ; (Gauche) Modules dynamiques ($C_p = 5$ wt%) ; (Droite) Viscosité complexe.

Les pentes d'association sont dans ce cas beaucoup plus faibles (cf. Figure 7.11) puisque que toutes les chaînes ne contribuent pas à la formation de domaines riches en PNIPAm, l'association est ainsi ralentie.

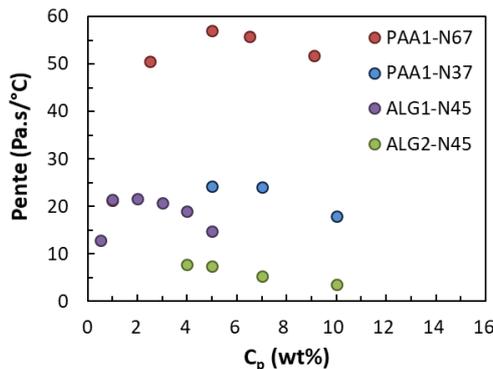


Figure 7.11 : Pentas d'association en fonction de la nature du squelette et du taux de greffons.

En conclusion, même si les viscosités ont bien été diminuées à basse température, les propriétés élastiques restent faibles à haute température et il faut atteindre des concentrations de 10 wt% pour obtenir une transition sol-gel à la température du corps. Ce design est donc inadapté aux propriétés recherchées et si l'objectif est de renforcer les propriétés à haute température tout en conservant un squelette de faible masse molaire, il faudrait plutôt utiliser une proportion plus importante de greffons à LCST afin d'augmenter le nombre de greffons par chaîne et possiblement permettre une association des greffons sur une plus faible gamme de température. Nous allons justement dans le paragraphe suivant nous intéresser à l'impact du taux de greffons dans le copolymère.

III.4. Influence du taux de greffage

Nous nous intéressons ici à trois copolymères issus du même squelette ALG1 modifié avec différentes proportions de PNIPAm : 15, 45 et 72 wt% (cf. Tableau 7.1). Il est à noter que contrairement aux copolymères ALG1-N15 et ALG1-N45 qui ont pu être parfaitement purifiés, en couplant la précipitation dans l'acétone puis la dialyse, le copolymère ALG1-N72 dont le rendement de greffage n'est pas total contient encore une proportion importante de chaînes PNIPAm libres (cf. Chapitre 2, Figure 2.25). Malgré son taux de greffage réel plus faible et la présence de chaînes résiduelles, nous avons étudié cet échantillon qui nous permet d'analyser l'impact de la présence de greffons libres sur le phénomène thermoassociatif. En effet, dans le cadre de travaux précurseurs menés au laboratoire sur des polymères thermoépaississants en application pétrolière, il a été montré et breveté que l'addition de chaînes à LCST libres, de même taille que les greffons, amélioreraient fortement les propriétés rhéologiques des solutions de copolymères greffés à haute température en participant activement au processus de séparation de phase ("Thermoviscosifying polymers, their synthesis and their uses in particular in the oil industry." P. Maroy, D. Hourdet, F. L'Alloret, R. Audebert. Dowell-Schlumberger / Eur. Patent 0 583 814 A1 (1993)).

La comparaison des comportements thermoépaississants est présentée sur la Figure 7.12 dans le cas de solutions à 4 wt%. Contrairement aux PAA1-Ny, pour lesquels la viscosité à basse température variait peu en fonction du taux de greffage, le comportement est complètement différent avec les dérivés ALG1-Ny où la viscosité diminue fortement lorsque le taux de greffage augmente. Afin de prendre en compte ces différences, nous avons porté sur la Figure 7.12 (Droite) la variation de viscosité spécifique en fonction de la concentration relative en alginate. On constate alors que l'ensemble des résultats relatifs aux solutions de ALG1-Ny, complétés par les viscosités de solutions d'alginate non modifié (ALG1), s'inscrivent

parfaitement dans la continuité de la relation établie précédemment avec les solutions d'ALG1-N45. Cette courbe maîtresse souligne le rôle prépondérant du squelette alginate et de sa concentration relative sur les propriétés visqueuses et en particulier sur le degré d'enchevêtrement des chaînes qui nécessite de considérer la concentration relative en alginate plutôt que la concentration globale en copolymère.

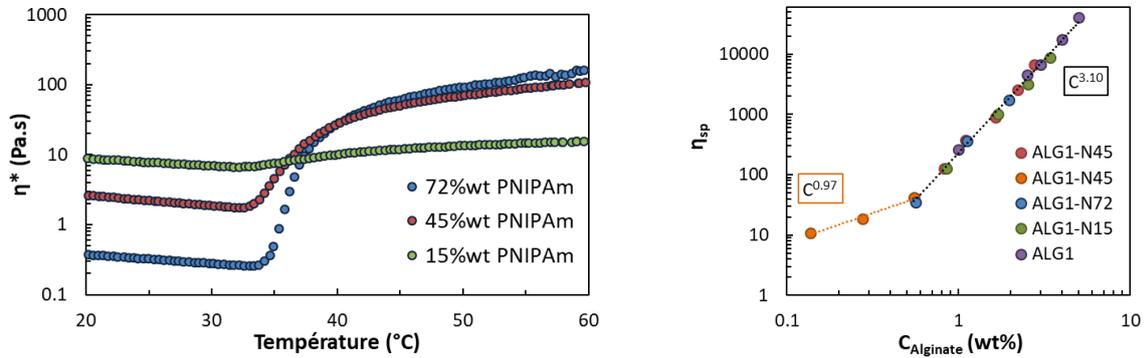


Figure 7.12 : (Gauche) Propriétés thermogélifiantes des solutions de copolymère ALG1-Ny en fonction de la proportion en PNIPAm (4 wt% eau) ; (Droite) Variation de la viscosité spécifique en fonction de la proportion en alginate dans le copolymère.

En ce qui concerne le comportement thermoassociatif, on constate que, comme pour les PAA-g-PNIPAm, le pourcentage en PNIPAm impacte très peu la T_{as} . Celle-ci est en effet égale à environ 34 °C pour les trois copolymères présentés (cf. Tableau 7.6).

Tableau 7.6 : Températures caractéristiques des solutions de copolymère ALG1-Ny, à 4 wt% dans l'eau.

Copolymère	ALG1-N15	ALG1-N45	ALG1-N72
T_{as} (°C)	34,1	33,8	34,2
$T_{sol-gel}$ (°C)	51,1	35,5	35,2

Pour ALG1-N45 et ALG1-N72, les T_{as} et $T_{sol-gel}$ obtenues sont assez similaires à celles des PAA-g-PNIPAm étudiés précédemment et inférieures à 37 °C. Les écarts entre ces températures caractéristiques ($T_{sol-gel}$ et T_{as}) sont également très faibles ce qui démontre une gélification des solutions sur une fenêtre de température très réduite, inférieure à 2 °C. Par contre, le copolymère ALG1-N15 présente des propriétés thermogélifiantes beaucoup plus faibles avec une transition sol-gel qui est observée uniquement au-delà de 50 °C. Comme pour l'échantillon ALG2-N45, ALG1-N15 se caractérise par un faible nombre de greffons par chaîne (~ 0,7), ce qui implique une participation réduite du nombre de chaînes au phénomène associatif.

En ce qui concerne l'échantillon ALG1-N72, incomplètement modifié, les propriétés élastiques à haute température ne sont que très légèrement supérieures à celles du copolymère ALG1-N45.

À ce stade, on peut invoquer bien entendu la présence de greffons libres, non rattachées de manière covalente au squelette, mais également une concentration relative en alginate pratiquement deux fois plus faible que celle de l'échantillon ALG1-45. Nous reviendrons sur ce point lors de la discussion finale.

III.5. Influence de la nature des greffons

III.5.1. Introduction

Dans le cadre de cette étude comparative, le squelette d'alginate ALG1 a été modifié en utilisant trois types de greffons de natures chimiques différentes : PNIPAm (N), PEPO (P) et PDEGMA (D). Les caractéristiques de ces copolymères et de leurs précurseurs sont données dans le Tableau 7.2. Contrairement aux solutions précédentes qui ont été étudiées dans l'eau pure, cette étude a été réalisée en milieu PBS mais comme nous l'avons vu précédemment cela modifie très peu les propriétés viscoélastiques, seules T_{as} et $T_{sol-gel}$ sont décalées vers les plus faibles températures.

III.5.2. Analyse viscoélastique

Dans le cas des trois copolymères préparés avec un même taux de greffage (45 wt%), on note tout d'abord que les viscosités complexes à l'état non associé sont très proches conformément à la concentration en alginate qui est constante pour les trois copolymères greffés et égale à 2,75 wt%. Ceci atteste bien que le pourcentage d'alginate dans les trois copolymères est similaire.

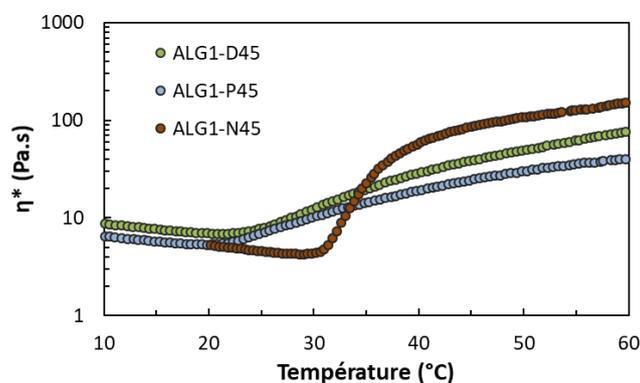


Figure 7.13 : Propriétés thermogélifiantes en fonction de la nature du greffon, 5 wt% PBS.

Au cours du chauffage, l'association des greffons PDEGMA et PEPO débute à plus basse température (22-23 °C) que celle des PNIPAm (31 °C), mais compte tenu du processus d'association plus abrupte pour le dérivé PNIPAm, les trois copolymères présentent des transitions sol-gel à des températures voisines (cf. Tableau 7.7). À haute température, 60 °C,

les propriétés du copolymère ALG1-N45 surpassent celles des deux autres copolymères qui présentent des signatures relativement similaires malgré les différences de masses molaires entre les greffons. Les propriétés du copolymère ALG1-g-PDEGMA sont en bon accord avec l'étude précédente sur les dérivés PAA-g-PEGMA. Dans le cas présent, l'utilisation de greffons 100 % DEGMA a permis d'abaisser suffisamment la température de transition pour permettre de favoriser la transition sol-gel en dessous de la température du corps, tout en évitant un début d'association en dessous de la température ambiante.

Tableau 7.7 : T_{as} et $T_{sol-gel}$ en fonction de la nature du greffon, 5 wt% PBS.

	ALG1-N45	ALG1-D45	ALG1-P45	ALG1-P67
T_{as} (°C)	30,6	23,3	21,8	15,8
$T_{sol-gel}$ (°C)	32,9	31,6	31,1	23,3

Pour compléter cette étude un second dérivé à base de greffons PEPO a été synthétisé avec une proportion massique beaucoup plus élevée (67 wt%) : ALG1-P67. L'avantage d'utiliser du PEPO pour les taux de greffage élevés (> 50 wt%) est sa facile purification par dialyse, dû à sa faible masse molaire. Ainsi, contrairement à ALG1-N72, il n'y a que très peu de greffons libres. Par comparaison avec l'ALG1-P45 (cf. Figure 7.14), les propriétés viscoélastiques sont largement améliorées à haute température.

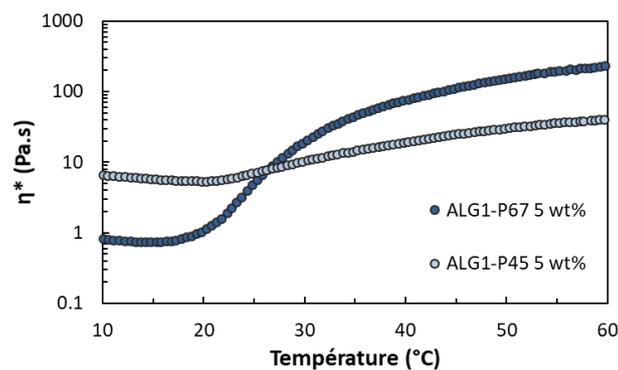


Figure 7.14 : Propriétés thermogélifiantes en fonction du taux de greffage des solutions de copolymère à greffons PEPO : ALG1-P45 et ALG1-P67 (5 wt% PBS).

Les principales différences entre ces deux polymères sont les suivantes :

- 1) la viscosité initiale est environ huit fois plus faible en raison de la concentration relative en alginate qui est pratiquement deux fois plus faible dans le cas de l'ALG1-P67 ($\eta \sim C^{3,1}$) ;
- 2) les températures d'association et de transition sol-gel sont fortement décalées vers des températures plus basses (cf. Tableau 7.7). Ce décalage important est attribué à la forte dépendance de la température de séparation de phase des chaînons PEPO avec la concentration.

Même si l'association débute vers 16 °C, la viscosité de la solution conserve un niveau acceptable tant que l'on reste à des températures ambiantes inférieures à 25 °C ;

- 3) les propriétés élastiques à haute température sont nettement améliorées par rapport au copolymère ALG1-P45 avec un facteur 4 à 37 °C et 5,9 à 60 °C pour la variation du module de conservation G' .

III.5.3. Analyse RMN

Les trois copolymères greffés ont été étudiés par RMN ^1H en température (cf. Figure 7.15) mais seules les solutions d'ALG1-N45 et ALG1-D45 ont permis une analyse quantitative du processus d'association en suivant la diminution des signaux relatifs aux greffons à LCST.

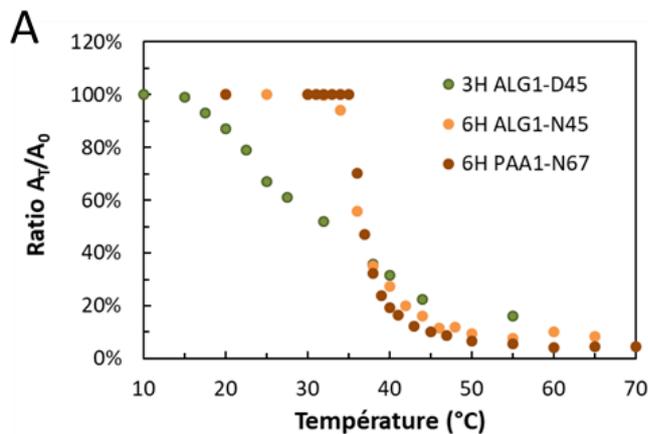
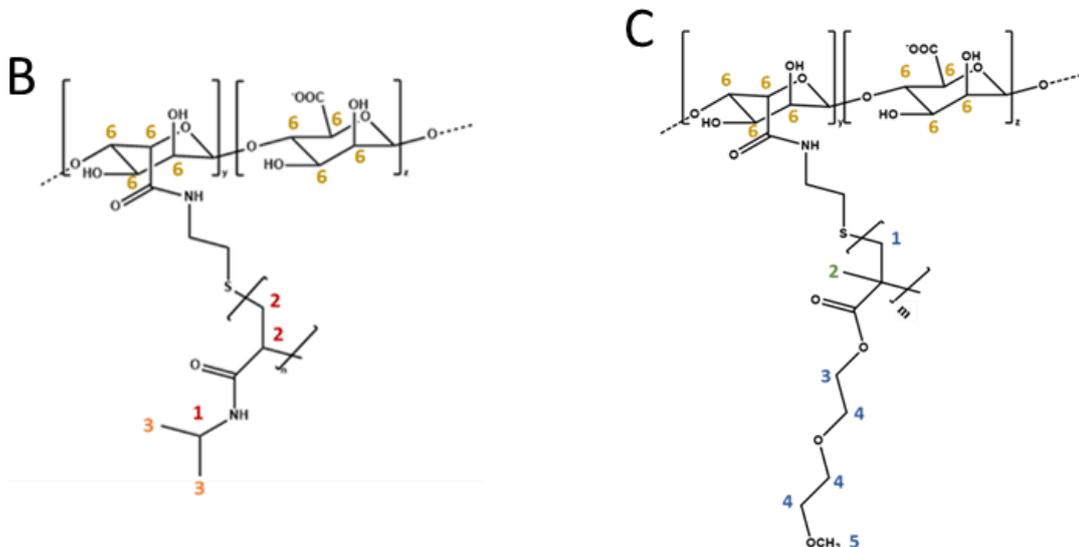


Figure 7.15 : (A) Variation en fonction de la température des aires relatives aux signaux RMN ^1H des greffons à LCST pour ALG1-N45 et ALG1-D45, à 5 wt% dans D_2O ;

(B) Structure de ALG1-N45 ;

(C) Structure de ALG1-D45.

Les intégrations de ALG1-N45 correspondent aux protons **3** sur la structure (B) et celles pour ALG1-D45 correspondent aux protons **2** sur la structure (C).



Dans le cas du copolymère ALG1-P45, l'association des greffons PEPO se traduit uniquement par un élargissement des signaux comme cela a été décrit par Gupta *et al.*⁴, dans le cas des carboxyméthyl guar modifiés par ces mêmes PEPO. Cet élargissement, qui apparaît à partir de T_{as} et qui correspond à la formation de domaines concentrés en PEPO, souligne la mobilité

relative conservée par les greffons PEPO de faible masse molaire au sein des domaines concentrés.

En ce qui concerne les deux autres copolymères, le suivi des signaux RMN ^1H en fonction de la température reflète les études viscoélastiques précédentes avec une disparition beaucoup plus progressive pour ALG1-D45 comparé à ALG1-N45 (cf. Figure 7.15). Comme pour le copolymère PAA1-N67 étudié précédemment, la diminution des signaux relatifs aux protons des PNIPAm a lieu sur une gamme étroite de température, majoritairement entre 34 et 42 °C. La diminution des pics est très comparable pour PAA1-N67 et ALG1-N45. Par comparaison, la diminution des signaux des greffons PDEGMA se fait de manière continue entre 18 et 44 °C (cf. Annexe 1, Figure 7.35). Ceci montre bien la transition beaucoup plus progressive des PEGMA.

III.5.4. Analyse par SAXS

À l'occasion des expériences de SAXS menées sur le projet de Julie Brun, les solutions de copolymères ALG1-N45 et ALG1-D45, à 5 wt% dans le PBS, ont pu être analysées en fonction de la température (cf. Figure 7.16). Si on se limite à une analyse qualitative, on constate que le processus de micro-séparation de phase de la solution d'ALG1-N45 transite de manière abrupte entre 30 et 35 °C et se stabilise à partir de 40 °C formant des interfaces nettes comme souligné par le comportement asymptotique $I(q) \sim q^{-4}$. Le pic de corrélation observé à $q_{\text{max}} = 0,0075 \text{ \AA}^{-1}$ peut être associé à une distance moyenne entre domaines d'environ 840 Å.

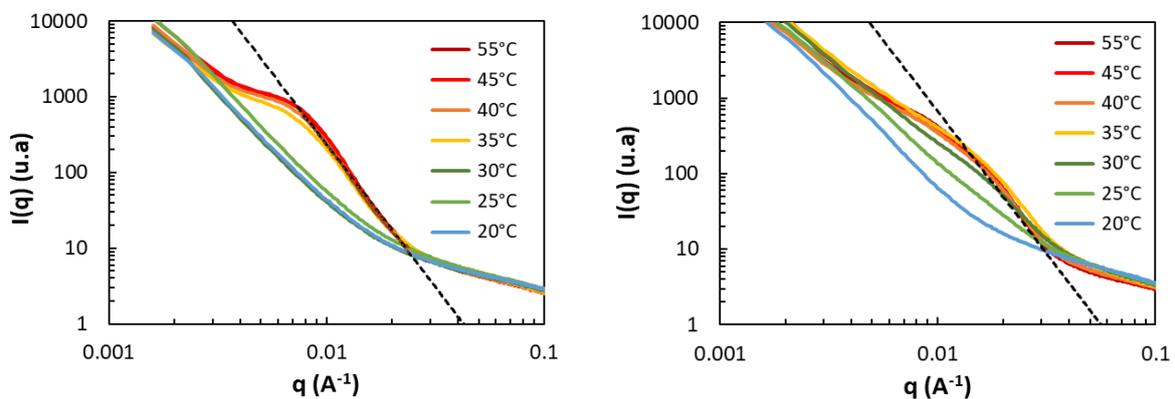


Figure 7.16 : Variation des spectres de diffusion RX aux petits angles en fonction de la température pour des solutions à 5 wt% dans le PBS ; (Gauche) ALG1-N45, (Droite) ALG1-D45. Les droites en pointillés matérialisent le comportement asymptotique $I(q) \sim q^{-4}$.

Comparativement, le processus d'association des greffons PDEGMA dans le copolymère ALG1-D45 se produit sur une fenêtre de température plus importante, entre 20 et 35 °C, et donne lieu à un pic de corrélation beaucoup plus large centré autour de $q_{\text{max}} = 0,012 \text{ \AA}^{-1}$; soit

une distance moyenne de 520 Å. On peut faire l'hypothèse que les PDEGMA forment des domaines de plus petite taille que les PNIPAm avec des interfaces plus diffuses en raison des interactions moins fortes que l'on suppose entre les chaînes. Quel que soit le niveau d'interprétation, on peut retenir qu'il existe un très bon accord entre les caractéristiques macroscopiques données par la rhéologie et les caractéristiques structurales et moléculaires concernant le processus d'association.

IV. Propriétés des biogels injectables en milieu physiologique

IV.1. Propriétés rhéologiques sous cisaillement

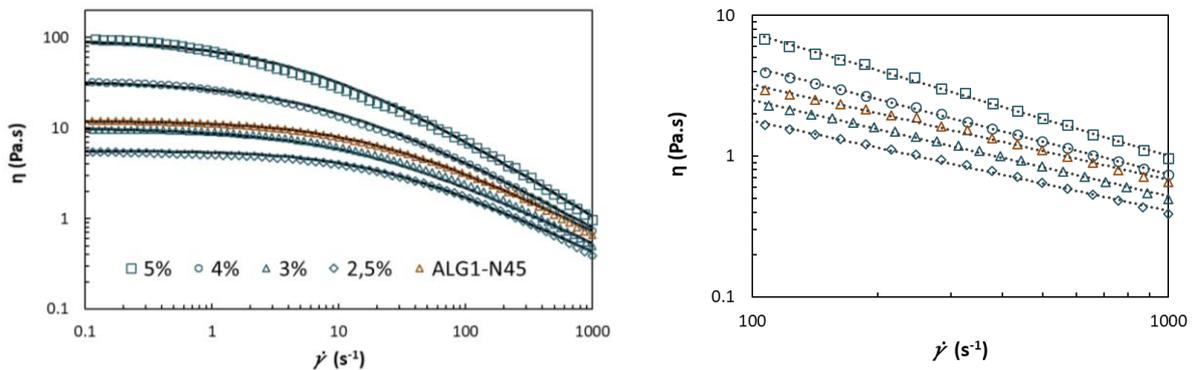
IV.1.1. Viscosité sous cisaillement

Le comportement sous cisaillement a tout d'abord été étudié avec des solutions enchevêtrées d'alginate non greffé, ALG1, (cf. Figure 7.17). Alors qu'un plateau newtonien est bien observé pour les quatre solutions aux faibles gradients de cisaillement ($\dot{\gamma} < 1 \text{ s}^{-1}$), la viscosité diminue lorsque le gradient de cisaillement augmente.

Afin de décrire le comportement rhéofluidifiant des solutions, nous avons utilisé une des formes du modèle de Cross⁷ donné par la relation suivante :

$$\text{Équation 7.1 : } \eta_{\dot{\gamma}} = \eta_{\infty} + \frac{(\eta_0 - \eta_{\infty})}{(1 + (\lambda \dot{\gamma})^x)^{(1-n)/x}}$$

Avec, η_0 : viscosité newtonienne, η_{∞} : viscosité limite du second plateau newtonien atteint pour des valeurs élevées du gradient de cisaillement, $\dot{\gamma}$, λ : temps caractéristique de la relaxation du système, x : paramètre ajustable permettant d'adapter au mieux le modèle dans la partie initiale de la rhéofluidification et n : indice de la loi de puissance dans le domaine rhéofluidifiant.



	C_p (wt%)	η_0 (Pa.s)	λ (s)	n
ALG1	2	5,6	0,05	0,35
	3	10	0,065	0,31
	4	33	0,12	0,23
	5	96	0,17	0,13
ALG1-N45	5	12	0,055	0,31

Figure 7.17 : Comportement rhéofluidifiant en fonction de la concentration, pour des solutions d'ALG1 en milieu PBS, à 20 °C : 5 wt% ; 4 wt% ; 3wt% ; 2 wt% et ALG1-45 5 wt%. Les lignes correspondent à l'ajustement des résultats en application des Équations 7.1 et 7.2.

En négligeant la valeur de η_∞ dans l'Équation 7.1, les courbes expérimentales peuvent être décrites principalement à partir des trois paramètres caractéristiques de la solution, η_0 , λ et n qui sont reportés sur la Figure 7.17 ; x étant maintenu constant ($x = 0,7$) pour toutes les solutions.

Les résultats précédents, obtenus aux gradients de cisaillement les plus élevés, ont également été ajustés sur la Figure 7.17 en utilisant l'expression d'Ostwald-de Waele (cf. Équation 7.2) qui rend compte uniquement du comportement asymptotique de la solution sous cisaillement, avec $n = 1$ pour un fluide newtonien, $n < 1$ pour un système rhéofluidifiant et $n > 1$ pour un système rhéoépaississant :

$$\text{Équation 7.2 : } \eta_{\dot{\gamma}} = K\dot{\gamma}^{n-1}$$

Dans le cas présent, on obtient bien les mêmes valeurs de n qui diminuent lorsque la concentration augmente, traduisant ainsi une sensibilité croissante au cisaillement. D'autre part, plus la concentration augmente et plus le temps de relaxation λ augmente ce qui conduit à un phénomène de rhéofluidification qui apparaît pour des valeurs de $\dot{\gamma}$ de plus en plus faibles. En portant la viscosité sous cisaillement ainsi que les modules et les temps de relaxation extrapolés à partir du modèle de Carreau en fonction de la concentration (cf. Figure 7.18), on obtient des lois de puissance avec des exposants qui peuvent être comparés avec les valeurs théoriques relatives aux solutions de polymère semi-diluées enchevêtrées en bon solvant : avec $\eta_0 = G \cdot \lambda \sim C^{15/4}$, $G \sim C^{9/4}$, $\lambda \sim C^{3/2}$.

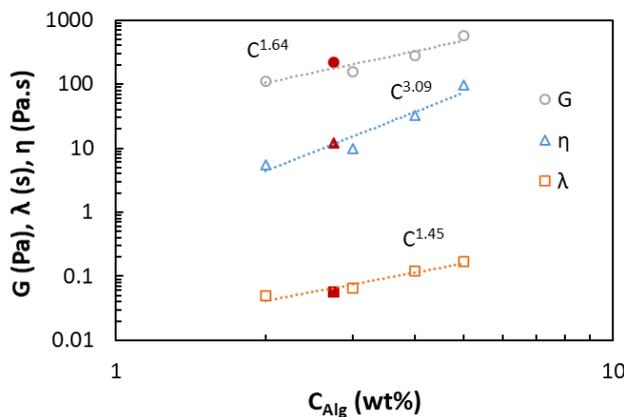


Figure 7.18 :
Variation en fonction de la concentration en milieu PBS de la viscosité newtonienne η (Δ), du module élastique G (\circ) et du temps de relaxation λ (\square) des solutions d'ALG1 et d'ALG1-N45 (\blacktriangle , \bullet , \blacksquare).

Comme nous l'avons discuté précédemment, la viscosité à basse température d'une solution d'ALG1-N45 à 5 wt% est comparable à celle d'une solution d'ALG1 à la même concentration relative en alginate ; soit 2,75 wt%. C'est ce que l'on retrouve sur les Figure 7.17 et Figure 7.18 où le comportement de la solution d'ALG1-N45 s'approche de celui d'une solution d'alginate à 3 wt%. L'ajustement de la courbe à partir du modèle de Cross (Équation 7.3) conduit aux paramètres suivants : $\eta_0 = 12 \text{ Pa.s}$, $\lambda = 0,055 \text{ s}$ et $n = 0,31$.

D'une manière générale, le cisaillement est un paramètre important à prendre en compte car il permet d'abaisser la viscosité de la solution mais il peut également conduire à une déstructuration plus ou moins importante dans le cas de formulations élastiques. Un exemple est donné sur la Figure 7.19 dans le cas d'une solution d'HA-N55/20k qui a été étudiée dans le PBS, soit en dynamique ($\omega = 6,28 \text{ rad/s}$) soit en cisaillement dans les mêmes conditions d'observation, $\dot{\gamma} = 6,28 \text{ s}^{-1}$.

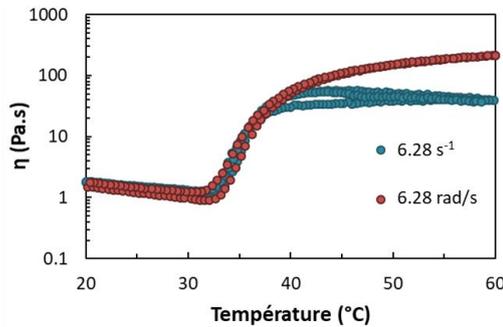


Figure 7.19 : Variation des propriétés viscoélastiques d'une solution de HA-N55/20k à 5 wt% dans le PBS en fonction de la fréquence ou du gradient de cisaillement.

En effet, si les résultats de viscosité sont similaires et totalement réversibles aux basses températures ($T < 35 \text{ °C}$), l'application d'une déformation importante sur la formulation gélifiée conduit au-delà de 40 °C à la diminution des propriétés du gel. Ce point particulier est à considérer dans le cas où des formulations pourraient être injectées à des températures supérieures à leur point de gel.

IV.1.2. Injectabilité

Dans une première approche, on peut s'intéresser au cas des fluides newtoniens, pour lesquels la force d'injection (F) peut être calculée à partir de la loi de Hagen–Poiseuille^{8,9} :

$$\text{Équation 7-3 : } F = \frac{8\eta L Q_v R_s^2}{R_a^4} + F_f$$

Avec, η : viscosité dynamique, L : longueur de l'aiguille, Q_v : débit volumétrique, R_s : rayon interne de la seringue, R_a : rayon interne de l'aiguille et F_f : force de friction du piston dans la seringue.

Si on se place dans des conditions données, en fixant $R_a = 0,13 \text{ mm}$ (aiguille 25 G) ; $R_s = 2,3 \text{ mm}$; $L = 12,7 \text{ mm}$, $Q_v = 2 \text{ mL/min}$ et une force maximale $F = 20 \text{ N}$, cela donne une viscosité $\eta \leq 0,32 \text{ Pa.s}$ en négligeant les forces de friction. Si cette valeur est supérieure à celle des viscosités mesurées pour les solutions de PAA1-N45 au Chapitre 3 ($\eta < 0,2 \text{ Pa.s}$, pour $C_p \leq 9 \text{ wt\%}$), elle est très inférieure à la viscosité des solutions d'ALG1-N45 ($\eta = 12 \text{ Pa.s}$, à 5 wt\%). Bien que cela soit un problème pour les solutions d'alginate modifié, ou plus généralement pour les biopolymères à chaîne semi-rigide, le caractère rhéofluidifiant des solutions va permettre de se rapprocher des conditions d'injectabilité.

En effet, comme nous l'avons présenté dans le chapitre bibliographique, l'intégration du comportement décrit par la relation d'Ostwald-de Waele (paramètres K et n de l'Équation 7.2) dans l'équation de Hagen-Poiseuille permet de prendre en compte le caractère rhéofluidifiant de la solution. Pour cela il est nécessaire de relier le gradient de cisaillement au débit d'injection et au rayon interne du capillaire. Pour cela on peut utiliser l'équation usuelle pour ce type d'écoulement :

$$\text{Équation 7.4 : } \dot{\gamma} = \frac{4Q_v}{\pi R_a^3} \quad \text{soit} \quad F = \frac{2^{2n+1} \pi^{1-n} L R_s^2 K Q_v^n}{R_a^{3n+1}} + F_f$$

On peut également prendre la valeur du gradient de cisaillement effectif tel que proposé par Mueller *et al.*¹⁰ :

$$\text{Équation 7.5 : } \bar{\gamma} = \frac{2Q_v}{\pi R_a^3} \frac{3n+1}{2n+1} \quad \text{soit} \quad F = \frac{2^{n+2} \pi^{1-n} L R_s^2 K Q_v^n}{R_a^{3n+1}} \left(\frac{3n+1}{2n+1} \right)^{n-1} + F_f$$

Quelle que soit l'hypothèse choisie pour le gradient de cisaillement, on note sur la Figure 7.20 un bon accord quantitatif avec les résultats expérimentaux, et ceci pour les trois aiguilles utilisées. Cela démontre d'une part la possibilité d'extrapoler le comportement d'injectabilité à partir du comportement rhéofluidifiant de la solution de polymère. D'autre part, malgré des viscosités newtoniennes élevées, les solutions d'alginate modifié peuvent être injectées sans que la force d'injection sur le plateau ne dépasse 12 N ; ce qui représente le cas d'une injection facile selon Robinson *et al.*¹¹.

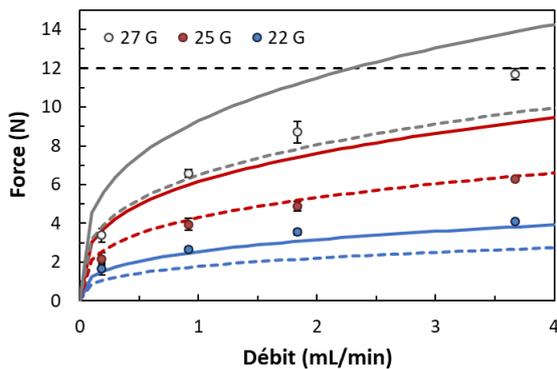


Figure 7.20 : Variation de la force d'injection en fonction du débit et du diamètre de l'aiguille pour ALG1-N45, 5 wt% PBS, ($L = 12,7$ mm, $R_s = 2,3$ mm, $T = 21-22$ °C). Modélisation à partir des Équation 7.4 (---) et Équation 7.5 (—).

Enfin, nous avons comparé l'injectabilité de solutions préparées à partir des trois copolymères modifiés par des greffons de nature chimique différente (cf. Figure 7.21). Pour ces trois solutions réalisées à même concentration relative en alginate et en utilisant des aiguilles 25 G, il ressort des profils relativement similaires avec cependant des forces d'injection globalement plus élevées pour ALG1-D45 et ALG1-P45 comparativement à ALG1-N45. Ceci peut être attribué à la température du test (21-22 °C), à laquelle les copolymères d'ALG1-D45 et ALG1-P45 commencent à s'associer, entraînant une augmentation de la viscosité. Néanmoins, dans ces conditions, la force d'injection reste inférieure à 12 N pour les trois systèmes étudiés.

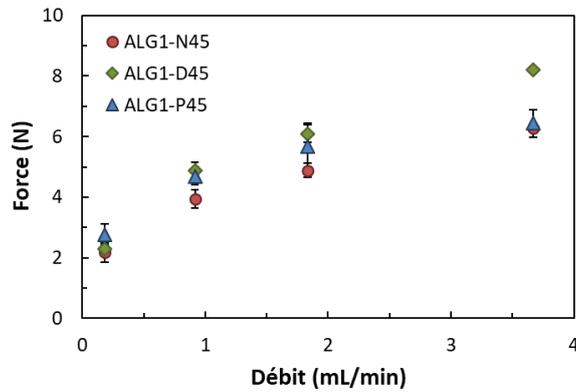


Figure 7.21 : Force d'injection en fonction de la vitesse pour les trois copolymères testés (ALG1-N45, ALG1-P45 et ALG1-D45) ; 5 wt% PBS, 25 G, longueur de l'aiguille : 13 mm, T = 21-22 °C.

IV.2. Gélification

Afin de tester la cinétique de gélification, nous avons essayé dans un premier temps de monter le plus rapidement possible entre 20 et 37 °C en utilisant le rhéomètre. Contrairement aux études précédentes qui ont été réalisées à une vitesse de chauffage contrôlée de 2 °C/min, le déclenchement du chauffage avec une consigne de 37 °C permet de rejoindre rapidement cette température à une vitesse d'environ 20 °C/min. Les résultats de ce test, présentés sur la Figure 7.22, montrent un développement rapide des propriétés thermoépaississantes avec la température. Le croisement de G' et G'' se fait en 36 s, valeur similaire à celle de Liu *et al.*¹² pour un Alg-g-PNIPAM à 81 wt% en PNIPAm (M_n (PNIPAm) = 5200 g/mol, \bar{D} = 1,2).

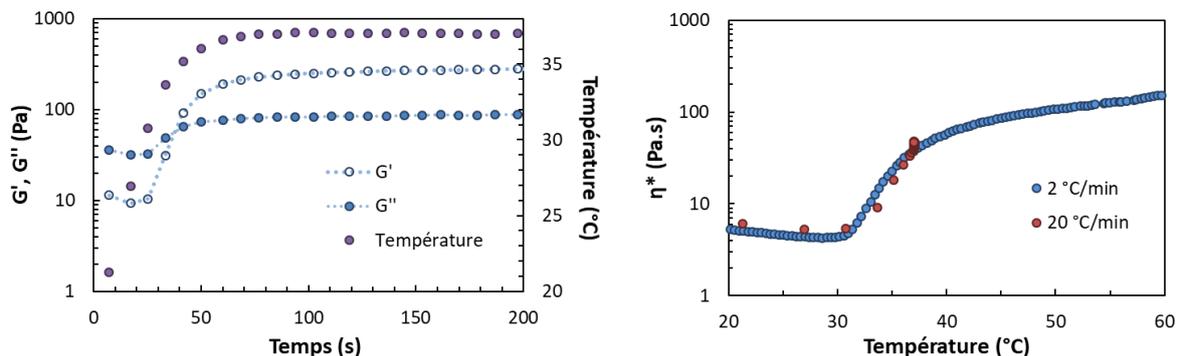


Figure 7.22 : (Gauche) Variation des propriétés viscoélastiques d'une solution d'ALG1-N45 à 5 wt% dans le PBS au cours d'une rampe en température non contrôlée ($v \cong 20$ °C/min) ; (Droite) Comparaison des propriétés thermoviscosifiantes en fonction de la vitesse de chauffage.

Si l'on compare les courbes de thermoviscosification obtenues à deux vitesses de chauffage très différentes, 2 et 20 °C/min, on n'observe pratiquement pas de différences mis à part à 37 °C pour la solution qui a été chauffée rapidement et laissée à l'équilibre pendant environ deux minutes. La viscosité complexe augmente légèrement sur ce temps d'équilibre. Le phénomène

thermogélification est donc extrêmement rapide, seulement quelques secondes, et ceci a été observé pour les trois dérivés ALG1, quelle que soit la nature des greffons (cf. Annexe 2, Figure 7.42).

Bien qu'il soit difficile d'accéder à la cinétique de gélification, nous avons réalisé un second test qualitatif visant à mimer la gélification des solutions dans des conditions proches des situations rencontrées lors d'injections en milieu physiologique, avec un transfert rapide de la température ambiante vers la température du corps. Pour cela, nous avons utilisé le montage précédent en injectant la solution, initialement équilibrée à température ambiante, dans un bain de PBS à 37 °C. Pour mieux visualiser le comportement lors de l'injection, le copolymère ALG1-N45 a été solubilisé dans une solution de PBS contenant de la rhodamine B à la concentration de 0,01 wt%. Comme on peut l'observer sur la Figure 7.23 issue d'une vidéo, la gélification est « immédiate » dans le bain à 37 °C avec formation d'un filament solide ralentissant fortement la diffusion du colorant dans le milieu. Pour les autres copolymères, les photos issues des vidéos sont dans l'Annexe 3 (cf. Figure 7.43).



Figure 7.23 : Photo d'un essai d'injection dans un bain de PBS à 37 °C d'une solution d'ALG1-N45 à 5 wt% PBS (25 G, $v = 50$ mm/min, soit $Q = 0,92$ mL/min).

Par comparaison, lors d'un test d'injection réalisé sous agitation avec une injection manuelle de la solution dans un bain de PBS à 20 °C, on observe la formation d'un filament visqueux qui se dissout complètement en 13 s sous agitation en libérant la totalité de la rhodamine dans le milieu (cf. Figure 7.24). Dans les mêmes conditions à 37 °C (cf. Figure 7.25), le filament se fragmente en plusieurs morceaux mais ne se solubilise pas dans le milieu.

La présence d'un copolymère thermogélifiant permet ainsi de limiter le phénomène indésirable de « burst release » conduisant à la libération d'une concentration élevée en principes actifs sur un temps très court pouvant entraîner des problèmes de toxicité.

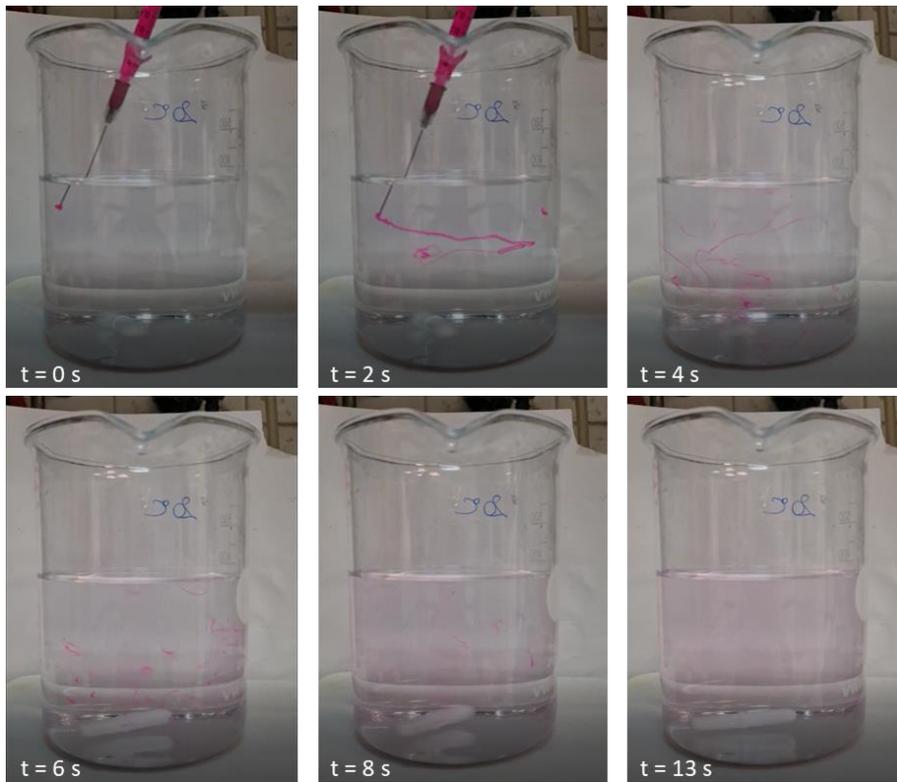


Figure 7.24 : Suivi dans le temps après injection d'ALG1-N45 (5 wt% PBS) dans un bain de PBS à 20 °C, sous agitation.

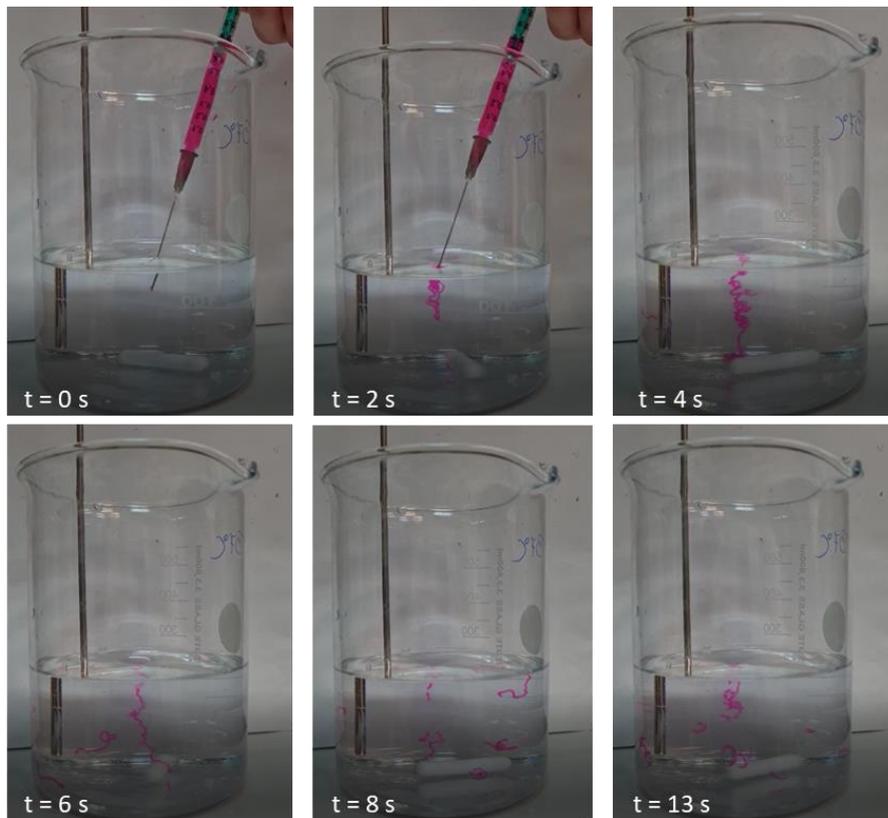


Figure 7.25 : Suivi dans le temps après injection d'ALG1-N45 (5 wt% PBS) à 37 °C, dans un bain de PBS, sous agitation.

La Rhodamine B, étant facilement détectable par spectrophotométrie UV-visible, nous l'utiliserons par la suite comme molécule modèle pour les études de relargage.

IV.3. Gonflement et intégrité du gel

Afin de vérifier les propriétés de gonflement et d'intégrité des formulations gélifiées une fois introduites en excès de milieu physiologique, une première étude a été réalisée avec l'échantillon ALG2-N45 de faible masse molaire. Pour ce faire, la solution de polymère à une concentration initiale de 10 wt% est introduite à température ambiante dans une seringue avant de la fermer hermétiquement. La seringue est alors placée quelques minutes à 70 °C pour laisser le gel se former puis celui-ci est introduit rapidement dans un bain de PBS à 37 °C. Sur la Figure 7.26, une dissociation importante du gel cylindrique est observée à 37 °C en moins de 24 h. La même expérience répétée à plus haute température (40 °C) afin de s'assurer d'être plusieurs degrés au-dessus de la transition sol-gel ne permet pas d'améliorer de manière notable la tenue du gel sur la même durée. Comme évoqué précédemment, le nombre insuffisant de greffons par macromolécule (voisin de 1), qui implique qu'une partie seulement des chaînes participe au phénomène associatif, est incompatible avec la conservation de ses propriétés solides en excès de solvant sur de longues durées.

Comparativement, la même expérience menée avec le copolymère ALG1-N45 qui possède un squelette de plus grande taille et donc un nombre de greffons par macromolécule plus important, montre clairement la conservation de sa forme initiale après 24 h dans un bain de PBS (cf. Figure 7.27).



Figure 7.26 : Gels d'ALG2-N45 à 10 wt% en milieu PBS, au bout de 24 h ; (Gauche) 37 °C, (Droite) 40 °C.

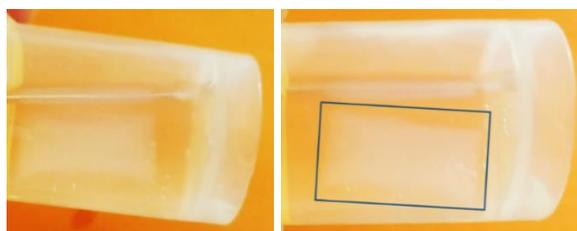


Figure 7.27 : Photos d'un gel cylindrique d'ALG1-N45, préparé à une concentration initiale de 5 wt% dans l'eau, après 24 h d'immersion dans un bain de PBS à 37 °C.

Il est cependant difficile d'empêcher le gonflement du réseau associatif, même en milieu ionique, car l'alginate est un polymère hydrophile. Il faut également considérer que les mesures de gonflement réalisées sur les gels thermoassociatifs sont difficiles à mener car contrairement aux gels chimiques, dès leur retrait du bain thermostaté, ils commencent très rapidement à se reliquéfier ce qui induit des incertitudes relativement importantes sur les mesures. De plus, plus la durée d'immersion augmente, plus le gel gonfle et plus il est difficile de récupérer le gel du bain, sans le fragiliser. Les mesures de gonflement ont été faites au moins trois fois pour chaque temps d'immersion. Les résultats obtenus sur un gel d'ALG1-N45 formé initialement à une concentration de 5 wt%, mettent en évidence un gonflement d'environ 200 % sur les cinq premières heures ; gonflement qui semble se stabiliser par la suite (cf. Figure 7.28).

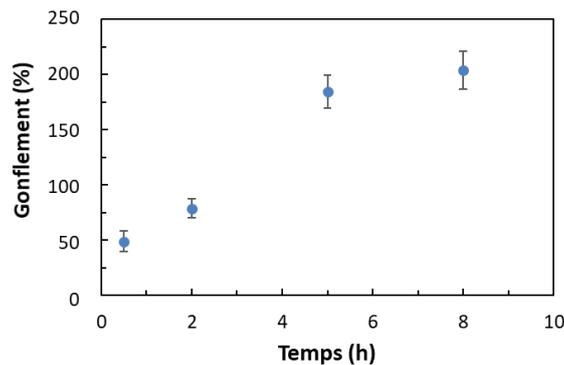


Figure 7.28 : Gonflement du gel ALG1-N45 à 5 wt% PBS, dans un bain de PBS, à 37 °C.

IV.4. Relargage

Les propriétés de relargage de la rhodamine B ont également été étudiées par spectrophotométrie UV-visible pour les copolymères d'alginate préparés à partir des différents greffons à LCST. Ces mesures ont été réalisées en triplicat en suivant le même protocole que celui décrit dans le Chapitre 2. Les gels de forme cylindrique ($r = 2,3$ mm et $L = 40$ mm) sont préformés à chaud à une concentration de 5 wt% en présence de rhodamine B avant d'être plongés au temps $t = 0$ dans une cellule UV contenant une solution de PBS à 37 °C. L'absorbance à $\lambda = 553$ nm est alors suivie en fonction du temps pour étudier la fraction de rhodamine B relarguée. Bien que les concentrations en copolymère soient les mêmes, on note sur la Figure 7.29 que la nature des greffons impacte légèrement les propriétés de relargage. Afin d'étudier plus en détail les mécanismes de relargage et étudier si le relargage est lié à la diffusion, nous avons appliqué le modèle correspondant à la loi de Fick dans le cas d'un gel cylindrique¹³ :

$$\text{Équation 7.6 : } \frac{M_t}{M_\infty} = 4 \left(\frac{Dt}{\pi r^2} \right)^{1/2} - \frac{Dt}{r^2} \quad \text{Avec, } M_t \text{ et } M_\infty : \text{quantités cumulés de Rhodamine,}$$

t : temps, r : rayon du cylindre et D : coefficient de diffusion dans le gel.

Cette équation, valable dans l'hypothèse d'une diffusion radiale pour $M_t/M_\infty < 0,4$, permet d'ajuster correctement nos résultats expérimentaux (cf. Figure 7.29). Cela démontre tout d'abord le caractère Fickien du relargage dans sa première partie suivie par un pseudo plateau marquant la saturation progressive du milieu extérieur en Rhodamine.

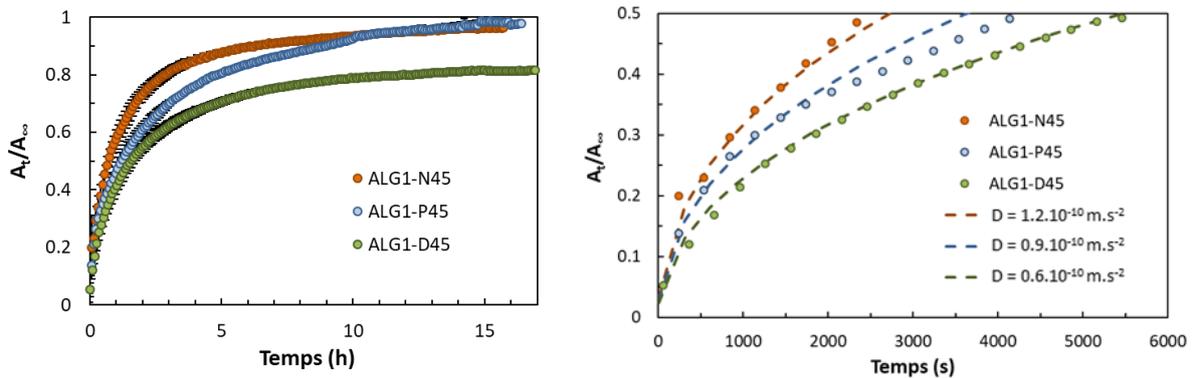


Figure 7.29 : Relargage de la rhodamine B en fonction de la nature du greffon (milieu PBS, $T = 37\text{ }^\circ\text{C}$).

À partir de ce modèle de diffusion fickienne, on peut en déduire le coefficient de diffusion de la rhodamine dans les différents gels avec des valeurs $D = 1,2.10^{-10}$, $0,9.10^{-10}$, et $0,6.10^{-10}\text{ m}^2/\text{s}^2$ qui sont environ quatre fois plus faibles que celles caractérisant la diffusion de la rhodamine dans l'eau pure ($D_0 \cong 4.10^{-10}\text{ m}^2/\text{s}^2$)^{14,15}. Ces résultats indiquent tout d'abord l'absence d'un relargage instantané « burst release » lors de la mise en contact de la formulation dans le milieu physiologique grâce à une cinétique de gélification extrêmement rapide. En ce qui concerne les coefficients de diffusion, on trouve dans la littérature diverses expressions empiriques reliant le coefficient de diffusion d'une molécule dans un gel (D) au coefficient de diffusion de cette même molécule dans l'eau pure (D_0). Cela fait intervenir de nombreux paramètres tels que la taille de la molécule par rapport au maillage du réseau, la fraction volumique du polymère dans le gel et éventuellement l'existence d'une membrane en périphérie qui ralentit les phénomènes de diffusion. À cela il faut également prendre en compte les possibles interactions (électrostatiques, hydrophobes) entre la molécule et les chaînes de polymère.

Ceci est particulièrement visible sur la Figure 7.30 où sont reportées les cinétiques de relargage de la Rhodamine B par des gels ALG-g-PEPO préparés à deux concentrations différentes, 5 et 10 wt%, et deux taux de greffage, 45 et 67 wt%. Bien que les ajustements soient moins bons que précédemment, on note un net ralentissement de la diffusion de la rhodamine. Il est à noter que le coefficient de diffusion diminue quand la $T_{\text{sol-gel}}$ diminue car à $37\text{ }^\circ\text{C}$, la maille du réseau diminue dû à l'augmentation du taux de réticulation dans le gel. Malgré la $T_{\text{sol-gel}}$ relativement basse ($T_{\text{sol-gel}} = 21,5\text{ }^\circ\text{C}$) pour ALG1-P67 à 10 wt% (cf. Annexe 2, Figure 7.40), la solution possède une force d'injection inférieure à 12 N pour 0,92 et 1,84 mL/min (cf. Annexe 3,

Figure 7.44), ce qui ouvre une voie potentielle de ces systèmes déjà gel à T_{amb} pour de l'injection, grâce à leur côté rhéofluidifiant.

De plus, il faut noter que contrairement au gel ALG1-P45 préparé à 5 wt% qui se morcèle et perd son intégrité sur la durée, les autres gels, et notamment ceux préparés à partir d'ALG1-P67 conservent leur intégrité tout au long du test réalisé sur une vingtaine d'heures.

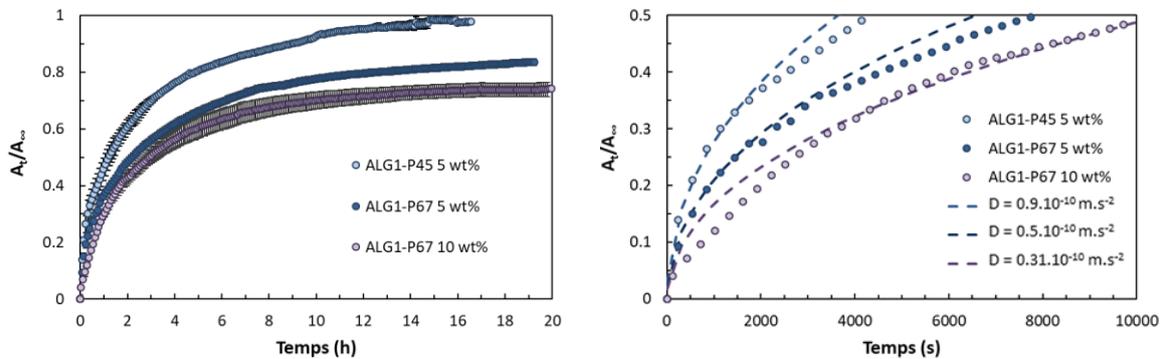


Figure 7.30 : Effet du greffage et de la concentration sur le relargage de la Rhodamine B dans les gels ALG1-g-PEPO.

Bien évidemment, cette étude prospective de relargage mériterait d'être étendue à l'encapsulation d'objets de dimensions plus importantes, tels que des peptides ou mêmes des cellules, de manière à élargir le spectre d'applications.

IV.5. Toxicité/ Viabilité cellulaire

Pour terminer, nous avons réalisé quelques essais préliminaires de viabilité cellulaire à partir de solutions de greffons seuls. Le type de cellule ne sera pas précisé pour des raisons de confidentialité.

Les cellules sont mises en contact à température ambiante (20 °C) dans un milieu de culture mélangé à la solution de polymère afin d'obtenir une concentration finale en polymère à LCST de 2 wt%, proche des conditions de préparation des solutions d'alginate greffés 55/45. Les formulations sont ensuite conservées pendant une nuit à température ambiante et leur viabilité est alors étudiée à 37 °C. Les tests ont été réalisés sur une population de 8 échantillons avec deux lectures de toxicité pour chaque échantillon. Bien que le PNIPAm soit souvent critiqué pour sa non biocompatibilité, les résultats rassemblés sur la Figure 7.31 semblent montrer un très faible impact du PNIPAm en ce qui concerne sa toxicité envers des cellules, tout comme pour le PTEGMA. Bien entendu ces premiers résultats prospectifs devront être répétés avec les copolymères greffés, mais ils sont encourageants pour la suite de ce travail.

De plus, les analyses de toxicité pourraient être réalisées sur des temps plus longs pour mimer des conditions similaires à l'application envisagée, soit plusieurs jours.

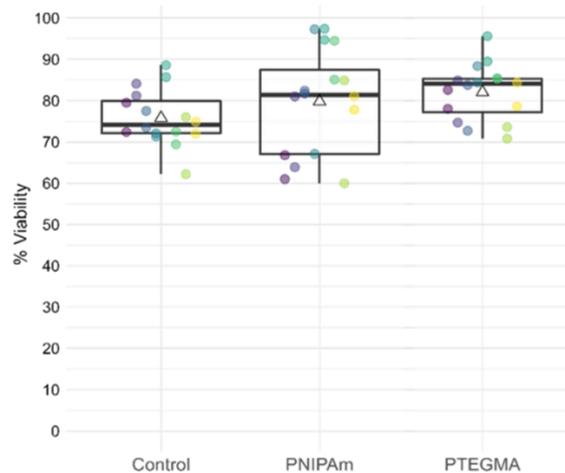


Figure 7.31 : Viabilité cellulaire pour deux types de greffons, PNIPAm et PTEGMA, 2 wt%.

V. Discussion générale

Dans ce travail, notre objectif a été de relier la structure des copolymères thermoassociatifs à leurs caractéristiques viscoélastiques aux petites et grandes déformations ainsi qu'à leurs propriétés applicatives en environnement physiologique.

Influence de la nature des chaînes à LCST

Si l'on s'intéresse tout d'abord à la nature des greffons à LCST, il est important de souligner que la température d'association qui est généralement considérée comme le critère essentiel est loin d'être seule à contrôler les propriétés thermoassociatives. En effet, comme nous avons pu le voir à travers différents greffons possédant des LCST voisines, certains d'entre eux tels que le PNIPAM conduisent à des transitions abruptes des propriétés au-delà de T_{as} alors que les dérivés « éthylène glycol », PEGMA et PEPO, démontrent une transition beaucoup plus progressive qui peut être un véritable inconvénient dans le cadre de l'injection de systèmes thermogélifiants. Dans cette étude, nous avons attribué cette différence de comportement aux interactions et à la dynamique des greffons présents dans la phase concentrée.

La taille des greffons est également un paramètre important mais c'est plutôt le nombre de greffons par squelette qui combine taux de greffage et masse molaire des greffons qui va jouer un rôle clé dans la séparation de phase et la formation de connexions inter-chaînes. Dans ce cadre, le dimensionnement du copolymère est critique avec l'utilisation d'un nombre de greffons suffisant pour permettre la percolation du réseau et également le maintien de son intégrité en milieu physiologique.

Influence de la taille et de la nature du squelette hydrophile

En ce qui concerne le squelette hydrosoluble, nous avons montré que la taille jouait un rôle majeur en permettant d'accéder au régime enchevêtré à de plus faibles concentrations et en favorisant la formation de liens inter-chaînes au-dessus de T_{as} . Des écarts importants ont été observés entre les chaînes de polyélectrolytes flexibles, le PAA, qui sont caractérisées par des viscosités peu élevées dans le régime enchevêtré comparativement aux chaînes semi-rigides de hyaluronane ou d'alginate. Bien que la viscosité importante des chaînes polysaccharides soit un handicap au niveau de l'injectabilité, nous avons montré que leurs propriétés rhéofluidifiantes permettaient de réaliser des injections dans des conditions relativement faciles avec des forces inférieures à 12 N. Ce résultat est intéressant et même important dans le design des biopolymères injectables. L'utilisation de polysaccharides plus flexibles, tels que le dextrane ou le pullulane, pourraient être une alternative intéressante pour le design de ces systèmes, afin de diminuer la viscosité à T_{amb} ^{2,16}.

Propriétés viscoélastiques pour $T > T_{as}$.

Les premières études menées sur les copolymères à squelette synthétique ont permis d'établir une relation simple entre structure, concentration et propriétés. Pour des copolymères suffisamment modifiés, il ressort que les propriétés élastiques à haute température sont directement liées à trois paramètres clés : la concentration en copolymère, la fraction massique en greffons à LCST et la concentration d'enchevêtrement. En effet, dans le cas des copolymères PAA-g-PNIPAm, nous avons vu qu'il était possible d'obtenir une courbe maîtresse en portant le module élastique dans le régime associé en fonction de la concentration normalisée par la fraction de greffons PNIPAm et la concentration d'enchevêtrement. Pour compléter cette description nous avons reproduit ce comportement sur la Figure 7.32 en y ajoutant les résultats obtenus avec les solutions d'ALG1-N45, ALG1-N72 et HA-N55/20k en prenant en compte les mêmes paramètres que précédemment. Dans ce cas, nous n'avons pas utilisé les résultats des copolymères ALG1-N15 et ALG2-N45 qui possèdent un nombre insuffisant de greffons par squelette. De même, la concentration d'enchevêtrement qui a été déterminée expérimentalement dans le cas du copolymère ALG1-N45 ($C_e = 1$ wt%, soit $C_e^{ALG} = 0,55$ wt%) a été extrapolée pour l'échantillon ALG1-N72 à partir de sa composition relative en alginate ($C_e \cong 2$ wt%, soit $C_e^{ALG} = 0,55$ wt%).

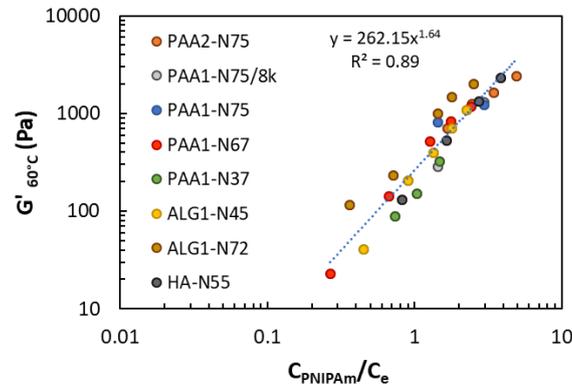


Figure 7.32 : $G'_{60^\circ\text{C}}$ en fonction de C_{PNIPAm}/C_e pour les PAA-g-PNIPAm, ALG1-g-PNIPAm et HA-g-PNIPAm.

Le report des données relatives aux solutions d'ALG-g-PNIPAM et d'HA-g-PNIPAM est en bon accord avec les données précédentes, ce qui renforce la cohérence de cette normalisation. Comme discuté précédemment, il est difficile d'associer simplement le comportement des copolymères thermoassociatifs à des prédictions théoriques car si on utilise par exemple le modèle de Rubinstein et Semenov^{17,18} avec les points de jonction formés par l'association de deux stickers, on s'attendrait à avoir dans le régime enchevêtré des modules élastiques indépendant de l'état d'association. Or, cela n'est pas observé pour nos solutions car à partir de la modélisation du comportement rhéofluidifiant par l'équation de Carreau, les modules de cisaillement extrapolés à 20 °C ($T < T_{\text{as}}$) sont nettement plus faibles que ceux mesurés dans l'état associé à 60 °C. Parallèlement, dans le cas de formulations biphasiques, il est possible d'utiliser des modèles prenant en compte les compositions relatives des deux phases et leurs modules de cisaillement comme par exemple :

$$G_c = G_1 + (G_2 - G_1)\phi_2^2$$

Si de tels modèles peuvent être envisagés dans le cas des dérivés à greffons PNIPAM qui forment une phase concentrée avec un module G_2 élevé, c'est beaucoup moins convaincant dans le cas des greffons PEPO qui forment une phase riche en polymère mais totalement liquide. En pratique, d'après Nasser et Tam¹⁹, le processus d'association/dissociation conduisant à la formation de liaisons efficaces inter-chaînes est fortement dépendant de la tension interfaciale entre la phase aqueuse et la phase riche en polymère.

La normalisation qu'il est possible de faire sur la Figure 7.32 montre clairement que les paramètres clés qui pilotent le mécanisme d'association sont la concentration relative en enchevêtrement et la fraction massique de greffons à LCST. Il faut souligner que la prise en compte d'un paramètre unique de normalisation $G' \sim (C \cdot \frac{w_{\text{PNIPAm}}}{C_e})^{1,64}$ suppose une même loi

d'échelle pour ces trois paramètres ce qui n'est pas trivial a priori et mériterait d'être étudié sur une plus large gamme de composition.

En regroupant tous les copolymères possédant des greffons à LCST de natures différentes, la comparaison est plus difficile car la thermodynamique des processus d'association est également différente, avec une transition moins abrupte conduisant à des modules élastiques plus faibles à haute température pour les dérivés de PEGMA et PEPO. C'est notamment le cas du copolymère ALG1-P45 qui est caractérisé par des modules élastiques très faibles (cf. Figure 7.33 Gauche).

Cependant, en reportant seulement les dérivés de PDEGMA sur une même figure (cf. Figure 7.33), la loi d'échelle obtenue varie en $G' \sim (C \cdot \frac{w_{PEGMA}}{C_e})^{2,37}$. À nouveau, comme pour les dérivés de PNIPAm (cf. Figure 7.32), la loi de puissance ne semble pas dépendre de la nature du squelette. L'exposant dépend donc de la nature du greffon. Il serait alors intéressant de pouvoir mener une étude plus large sur différents greffons à LCST, comme le PNVCL, les polyoxazolines, etc.

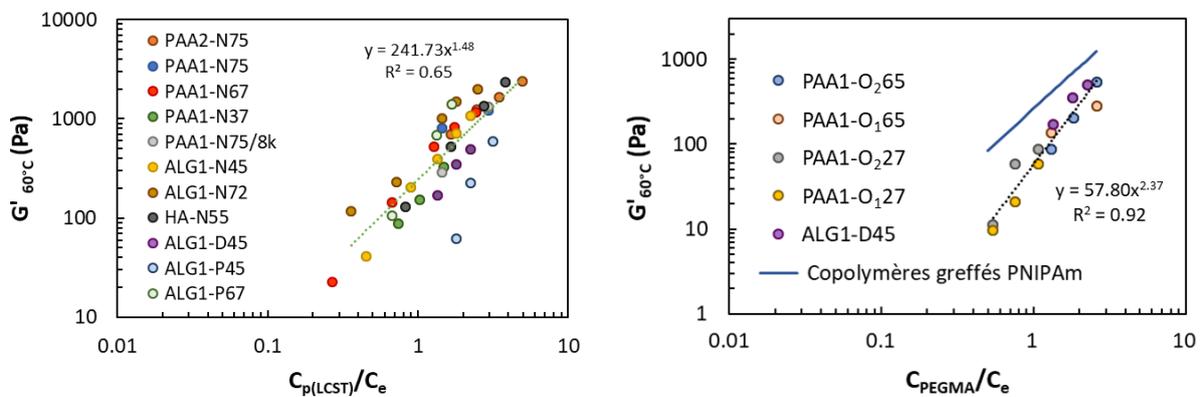


Figure 7.33 : (Gauche) $G'_{60^\circ\text{C}}$ en fonction de $C_{p(\text{LCST})}/C_e$ pour les copolymères à PAA-g-PNIPAm, Alg-g-PNIPAm, Alg-g-PDEGMA et Alg-g-PEPO ; (Droite) $G'_{60^\circ\text{C}}$ en fonction de C_{PEGMA}/C_e pour les copolymères à base de PEGMA, — Comportement moyen des copolymères à base de PNIPAm de la Figure 7.32.

En ce qui concerne les propriétés d'adhésion observées à haute température, nous observons une tendance globalement similaire pour les dérivés de PNIPAm. L'énergie d'adhésion semble dépendre de C_{PNIPAm}/C_e avec cependant des écarts non négligeables entre les différentes familles de copolymères (cf. Figure 7.34). Pour toutes les formulations de copolymères greffés présentées sur la Figure 7.34, nous n'observons pas de phénomène de fibrillation, mais simplement une rupture interfaciale, l'énergie d'adhésion augmente avec le module élastique et par conséquent, avec la capacité du gel à résister à la déformation.

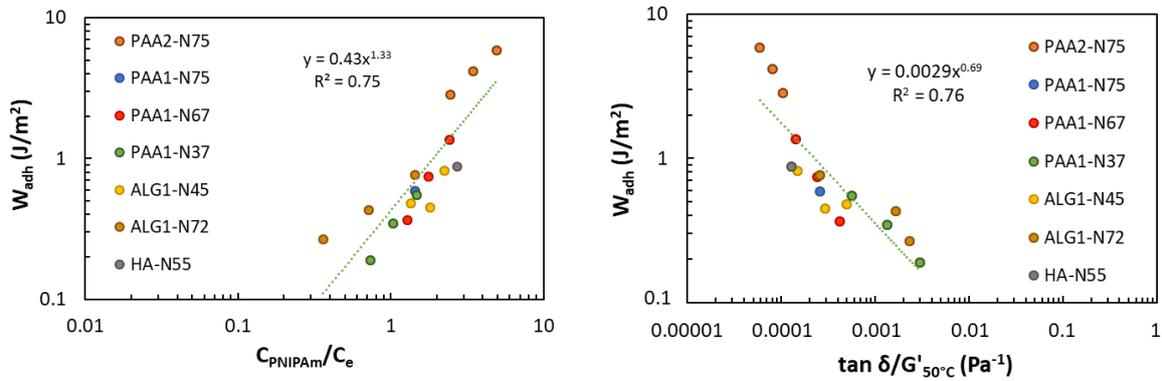


Figure 7.34 : Variation des propriétés adhésives pour les PAA-g-PNIPAm et Alg-g-PNIPAm ; (Gauche) Énergie d'adhésion en fonction de C_{PNIPAm}/C_e , (Droite) Énergie d'adhésion en fonction de $\tan \delta/G'_{50^\circ\text{C}}$.

Applications en milieu physiologique

Dans le cadre des propriétés recherchées, nous avons montré que la cinétique de gélification était extrêmement rapide pour la plupart des gels testés et permettait d'éviter un phénomène de « burst release ». Pour les copolymères suffisamment modifiés, les gels formés conservent leur intégrité sur des durées d'au moins une journée et conduisent au relargage de petites molécules selon un phénomène de diffusion fickienne dans les premiers temps suivants l'injection (< 40 %). Quelques expériences prospectives ont permis de montrer que le processus de relargage pouvait être ralenti en augmentant soit la concentration en copolymère, soit la fraction de greffons à LCST. Il reste cependant de nombreuses études à réaliser sur nos systèmes afin de vérifier l'innocuité des copolymères vis-à-vis du milieu vivant ainsi que les propriétés de mucoadhésion en environnement physiologique.

VI. Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons montré que les propriétés thermoassociatives de polysaccharides greffés étaient globalement équivalentes à celles des polymères synthétiques que nous avons étudiés précédemment. Dans le cas des squelettes à greffons PNIPAm qui ont été plus largement étudiés, nous avons en effet montré que les propriétés élastiques à haute température suivaient une même loi de comportement en considérant les paramètres clés de la formulation : concentration en polymère, fraction massique de greffons et concentration d'enchevêtrement. La principale différence entre les polyélectrolytes synthétiques et les polysaccharides semi-rigides de type hyaluronane et alginate concerne les propriétés visqueuses à basse température, dans le domaine non associé. Les polysaccharides modifiés présentent en effet des viscosités beaucoup plus élevées qui restent cependant applicables en injection sous cutanée ou

intramusculaire grâce à leurs propriétés rhéofluidifiantes. Sur la base du squelette alginique, nous avons également pu mettre en évidence l'impact de la nature des greffons qui nécessite de considérer non seulement la température de transition mais également le processus thermodynamique d'association qui contrôle la formation et la dynamique du réseau associatif à haute température. Enfin, l'analyse des propriétés des polysaccharides greffés en milieu physiologique a permis de montrer l'intérêt de ces formulations qui conduisent à la formation « instantané » d'un gel physique dès leur introduction en environnement physiologique. Pour des squelettes polysaccharides suffisamment longs, les gels obtenus conservent leur intégrité dans le temps et permettent un relargage ralenti de leur contenu dans le milieu extérieur.

Annexes

- Annexe 1 : RMN en température

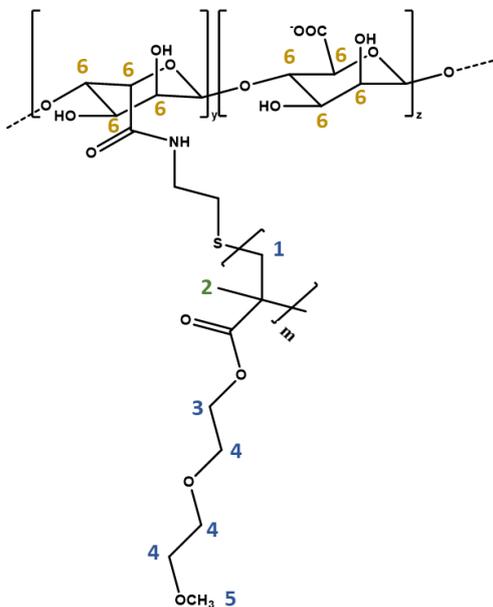
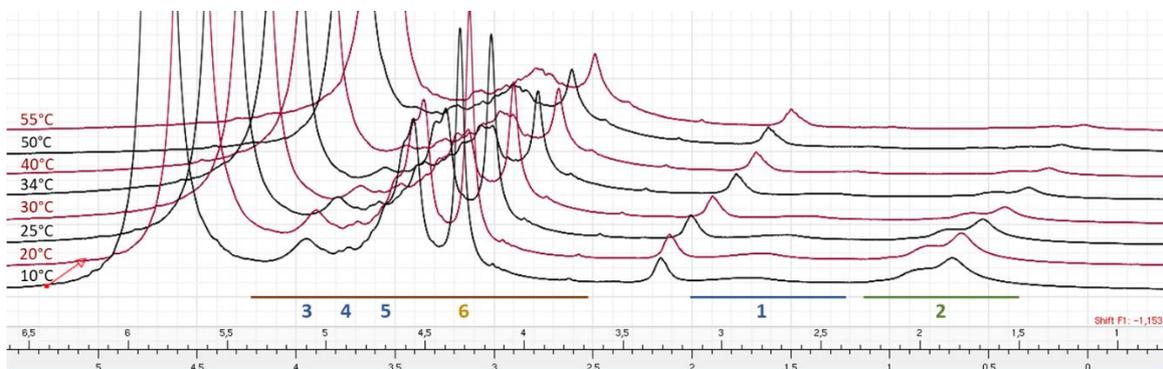


Figure 7.35 : RMN en température pour ALG1-D45 ; (Haut) Spectres RMN pour différentes températures, (Bas) Structure de ALG1-D45.

• Annexe 2 : Rhéologie

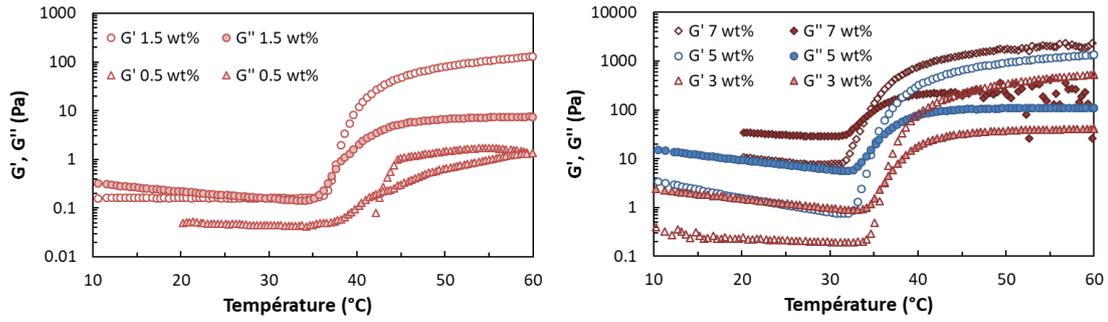


Figure 7.36 : Propriétés thermogélifiantes de HA-N55 en fonction de la concentration dans le PBS ; (Gauche) de 0,5 à 1,5 wt%, (Droite) 3 à 7 wt%.

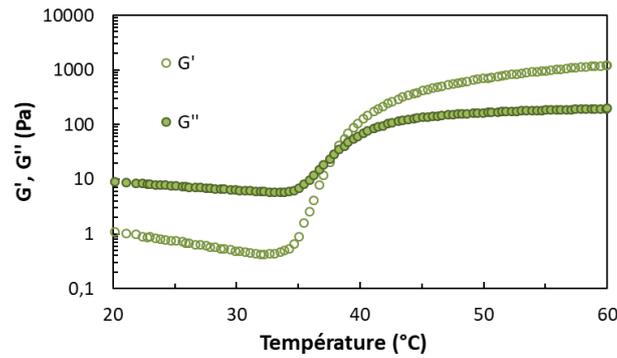


Figure 7.37 : Propriétés thermogélifiantes de HA-N55 dans l'eau, à 5 wt%.

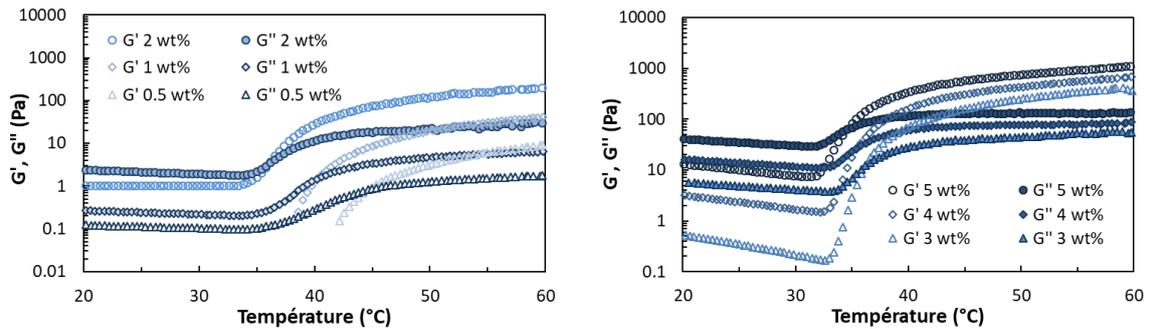


Figure 7.38 : Propriétés thermogélifiantes de ALG1-N45 en fonction de la concentration dans l'eau ; (Gauche) de 0,5 à 2 wt%, (Droite) 3 à 5 wt%.

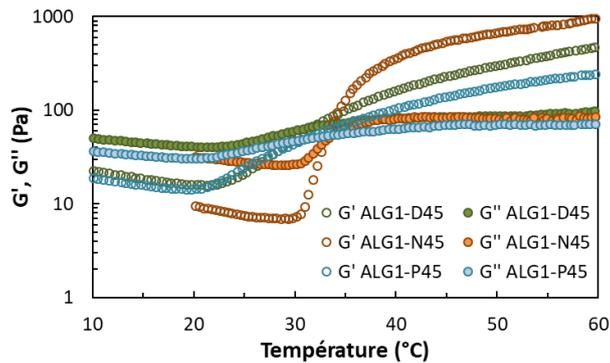


Figure 7.39 : Propriétés thermogélifiantes de fonction de la nature du greffon, 5 wt% PBS.

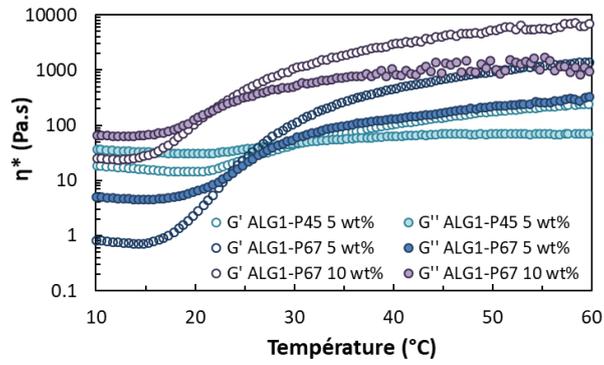


Figure 7.40 : Propriétés thermogélifiantes dans le PBS en fonction du taux de greffage.

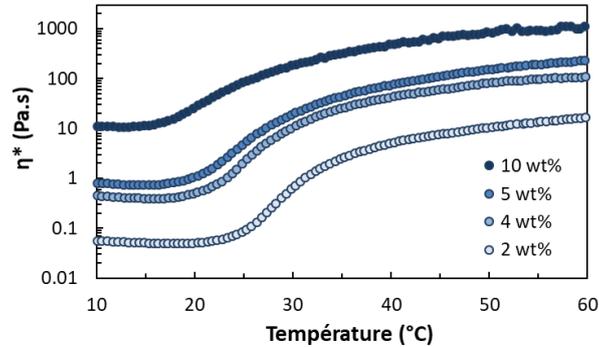


Figure 7.41 : Propriétés thermogélifiantes de ALG1-P67 en fonction de la concentration, dans le PBS.

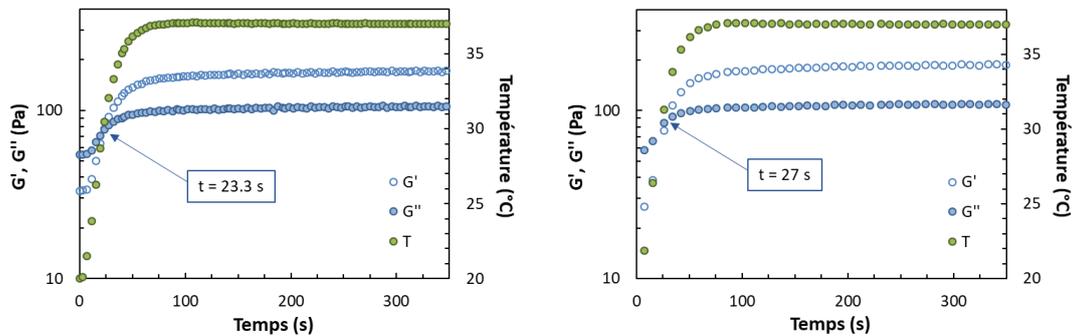


Figure 7.42 : Temps de gélification pour ALG1-P45 (Gauche) et ALG1-D45 (Droite).

- Annexe 3 : Injection

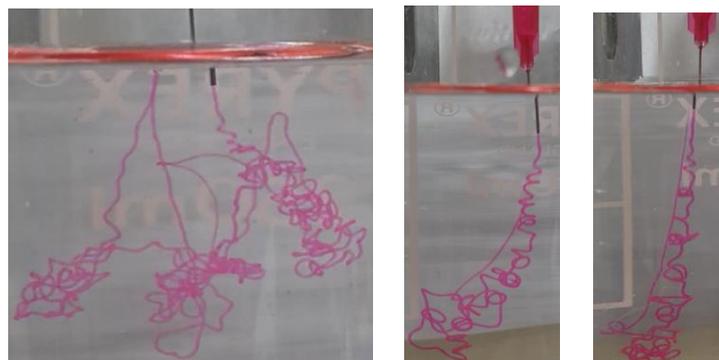


Figure 7.43 : Photos d'essais d'injection dans un bain de PBS à 37 °C de solution à 5 wt% (25 G, $v = 50 \text{ mm/min}$, soit $Q = 0,92 \text{ mL/min}$) ; (Gauche) ALG1-P67, (Milieu) ALG1-P45, (Droite) ALG1-D45.

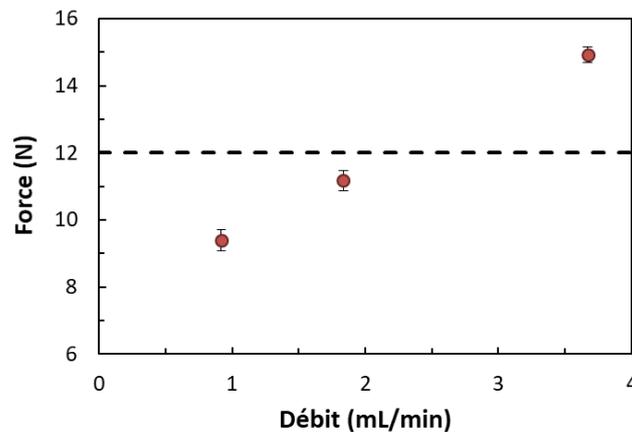


Figure 7.44 : Force d'injection pour ALG1-P67, à 10 wt% PBS ($T = 23\text{ }^{\circ}\text{C}$, 25 G, longueur de l'aiguille : 13 mm).

Références

1. Milas, M. *et al.* Comparative rheological behavior of hyaluronan from bacterial and animal sources with cross-linked hyaluronan (hylan) in aqueous solution. *Biopolymers* **59**, 191–204 (2001).
2. Dulong, V., Mocanu, G., Picton, L. & Le Cerf, D. Amphiphilic and thermosensitive copolymers based on pullulan and Jeffamine®: Synthesis, characterization and physicochemical properties. *Carbohydr. Polym.* **87**, 1522–1531 (2012).
3. Madau, M., Le Cerf, D., Dulong, V. & Picton, L. Hyaluronic Acid Functionalization with Jeffamine® M2005: A Comparison of the Thermo-Responsiveness Properties of the Hydrogel Obtained through Two Different Synthesis Routes. *Gels* **7**, 88 (2021).
4. Gupta, N. R. *et al.* Synthesis and characterization of PEPO grafted carboxymethyl guar and carboxymethyl tamarind as new thermo-associating polymers. *Carbohydr. Polym.* **117**, 331–338 (2015).
5. Lopez, C. G., Colby, R. H., Graham, P. & Cabral, J. T. Viscosity and Scaling of Semiflexible Polyelectrolyte NaCMC in Aqueous Salt Solutions. *Macromolecules* **50**, 332–338 (2017).
6. Payet, L., Ponton, A., Grossiord, J.-L. & Agnely, F. Structural and rheological properties of chitosan semi-interpenetrated networks. *Eur. Phys. J. E* **32**, 109–118 (2010).
7. Cross, M. M. Relation between viscoelasticity and shear-thinning behaviour in liquids. *Rheol. Acta* **18**, 609–614 (1979).
8. Robinson, T. E., Hughes, E. A. B., Eisenstein, N. M., Grover, L. M. & Cox, S. C. The Quantification of Injectability by Mechanical Testing. *J. Vis. Exp.* 61417 (2020) doi:10.3791/61417.
9. Watt, R. P., Khatri, H. & Dibble, A. R. G. Injectability as a function of viscosity and dosing materials for subcutaneous administration. *Int. J. Pharm.* **554**, 376–386 (2019).
10. Allmendinger, A. *et al.* Rheological characterization and injection forces of concentrated protein formulations: An alternative predictive model for non-Newtonian solutions. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **87**, 318–328 (2014).
11. Robinson, T. E. *et al.* Filling the Gap: A Correlation between Objective and Subjective Measures of Injectability. *Adv. Healthc. Mater.* **9**, 1901521 (2020).

12. Liu, M., Song, X., Wen, Y., Zhu, J.-L. & Li, J. Injectable Thermoresponsive Hydrogel Formed by Alginate-*g*-Poly(*N*-isopropylacrylamide) That Releases Doxorubicin-Encapsulated Micelles as a Smart Drug Delivery System. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **9**, 35673–35682 (2017).
13. Siepmann, J. & Siepmann, F. Modeling of diffusion controlled drug delivery. *J. Controlled Release* **161**, 351–362 (2012).
14. Gendron, P.-O., Avaltroni, F. & Wilkinson, K. J. Diffusion Coefficients of Several Rhodamine Derivatives as Determined by Pulsed Field Gradient–Nuclear Magnetic Resonance and Fluorescence Correlation Spectroscopy. *J. Fluoresc.* **18**, 1093–1101 (2008).
15. Rani, S. A., Pitts, B. & Stewart, P. S. Rapid Diffusion of Fluorescent Tracers into *Staphylococcus epidermidis* Biofilms Visualized by Time Lapse Microscopy. *Antimicrob. Agents Chemother.* **49**, 728–732 (2005).
16. Karakasyan, C., Lack, S., Brunel, F., Maingault, P. & Hourdet, D. Synthesis and Rheological Properties of Responsive Thickeners Based on Polysaccharide Architectures. *Biomacromolecules* **9**, 2419–2429 (2008).
17. Rubinstein, M. & Semenov, A. N. Dynamics of Entangled Solutions of Associating Polymers. *Macromolecules* **34**, 1058–1068 (2001).
18. Rubinstein, M. & Semenov, A. N. Thermoreversible Gelation in Solutions of Associating Polymers. 2. Linear Dynamics. *Macromolecules* **31**, 1386–1397 (1998).
19. Nasserri, R. & Tam, K. C. Sticky Hydrogels from Hydrazide-Functionalized Poly(oligo(ethylene glycol) methacrylate) and Dialdehyde Cellulose Nanocrystals with Tunable Thermal and Strain-Hardening Characteristics. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **9**, 10424–10430 (2021).

Conclusion générale

Conclusion générale

Comme énoncé dans la partie introductive de ce manuscrit, l'objectif de ce travail de thèse était de corréler la structure des copolymères thermoassociatifs à leurs propriétés thermogélifiantes pour essayer de répondre aux questions initialement posées :

- Comment la nature chimique et la masse molaire de la séquence hydrosoluble impactent les caractéristiques viscoélastiques des formulations gélifiantes avant et après transition ?
- Comment la taille et la nature chimique des séquences à LCST permettent de contrôler le mécanisme de thermoassociation (température et discontinuité de la transition) et les propriétés à haute température : élasticité, cohésion, adhésion ?
- Quel est le meilleur compromis entre ces deux composantes et peut-on prévoir simplement les propriétés thermogélifiantes à partir des paramètres structuraux ?

Dans ce contexte, nous avons développé notre étude sur la base d'une architecture de copolymères à greffons thermosensibles, complétée par quelques copolymères à structure linéaire statistique (cf. Figure 1).

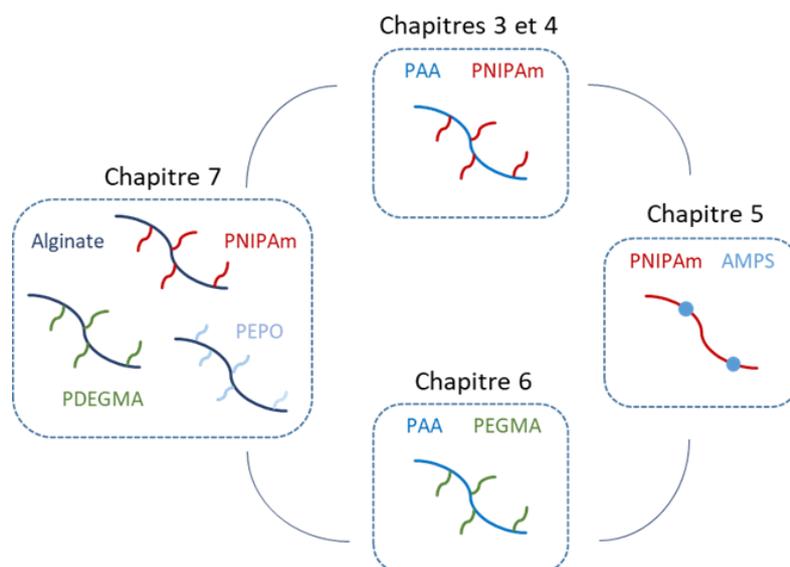


Figure 1 : Copolymères thermogélifiants étudiés dans ce travail.

À partir de notre système modèle PAA-g-PNIPAm, nous avons tout d'abord mis en évidence l'impact des paramètres structuraux sur les propriétés des gels formés en changeant notamment la taille du squelette, celle des greffons et le taux de greffage (Chapitres 3 et 4). Si qualitativement on pouvait imaginer qu'à une concentration donnée, une taille importante du squelette et des greffons ainsi qu'un taux élevé de greffons thermosensibles étaient plutôt favorables au phénomène de gélification, nous avons montré que les propriétés élastiques à haute température pouvaient être reliées quantitativement à deux paramètres clés : la

concentration d'enchevêtrement C_e et la proportion massique de greffons. Le module élastique des gels formés suit ainsi une relation unique lorsqu'il est porté en fonction de la concentration réduite décrite par C_{PNIPAm}/C_e (cf. Figure 2).

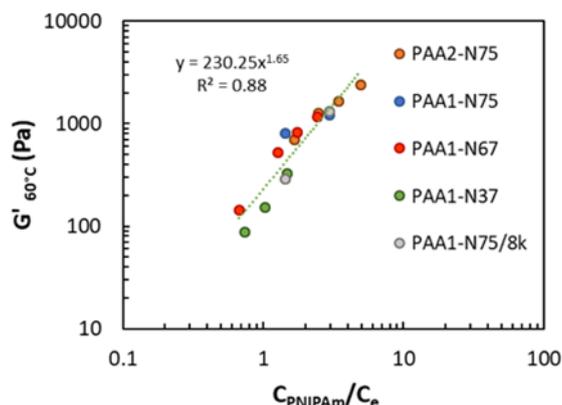


Figure 2 : Variation du module élastique des solutions de PAA-g-PNIPAm à 60 °C en fonction de la concentration relative en PNIPAm divisée par la concentration d'enchevêtrement (C_{PNIPAm}/C_e).

Ce résultat montre l'impact de la réticulation physique relative à l'association des greffons mais également du taux d'enchevêtrement des chaînes à l'état non associé ($T < T_{as}$). En effet, en-dessous de la concentration d'enchevêtrement C_e , le développement plus progressif des associations entre greffons PNIPAm tend à augmenter les températures caractéristiques d'association (T_{as}) et de transition sol-gel ($T_{sol-gel}$) qui se déplacent alors en dehors de la fenêtre de températures recherchée ($25\text{ °C} < T < 35\text{ °C}$). Dans ce cadre, la taille des greffons est également un paramètre important pour favoriser un phénomène d'association efficace et abrupte des PNIPAm et lutter contre les répulsions électrostatiques relatives au squelette PAA. Dans le cas des PAA-g-PNIPAm, nous avons montré qu'une masse molaire de 30-40 kg/mol des greffons PNIPAm était idéale pour obtenir une $T_{sol-gel}$ inférieure à 37 °C, à condition d'avoir un squelette assez long pour porter un nombre suffisant de greffons. Les propriétés viscoélastiques dans le régime linéaire ont été complétées aux grandes déformations par une étude des propriétés d'adhésion non spécifique. Les tests de tack réalisés en fonction de la température ont montré une forte augmentation des propriétés d'adhésion lors du passage de la transition, avec une rupture interfaciale pour la quasi-totalité des solutions de PAA-g-PNIPAm. Dans le cas de ces systèmes, on observe une corrélation importante entre les propriétés élastiques dans le domaine linéaire et l'énergie d'adhésion qui a pu être également reliée à la concentration réduite (C_{PNIPAm}/C_e). Ce résultat tend à montrer que les phénomènes de dissipation attendus pour le désengagement des greffons de leurs domaines associés ne sont pas très importants, voir négligeables dans le domaine de concentration que nous avons exploré. Cette conclusion a par ailleurs déjà été reportée dans la littérature où il était montré qu'il était

plus favorable d'un point de vue dissipatif d'incorporer la composante thermosensible dans le squelette plutôt que dans les chaînes latérales¹.

C'est en partie sur cette idée que nous nous sommes intéressés aux copolymères linéaires P(NIPAm-co-AMPS) (Chapitre 5) qui ont été peu étudiés dans ce contexte et qui peuvent être synthétisés très simplement en une seule étape, contrairement aux copolymères greffés.

Pour cette série de copolymères linéaires, les propriétés adhésives se sont finalement montrées très proches de celles des PAA-g-PNIPAm avec une forte corrélation avec le module élastique G' . Des différences ont néanmoins été observées en augmentant la vitesse de décollement qui a permis de faire apparaître un phénomène de fibrillation avec l'apparition d'un plateau conduisant à une augmentation notable de l'énergie d'adhésion. En ce qui concerne les propriétés viscoélastiques dans le domaine linéaire des copolymères P(NIPAm-co-AMPS), nous avons montré qu'elles étaient très sensibles à la force ionique et que l'ajustement de la composition NIPAm/AMPS était critique pour obtenir des gels stables à des températures inférieures à 37 °C.

Dans la poursuite de cette étude, il serait intéressant de travailler tout d'abord avec des masses molaires plus élevées pour favoriser le processus de dissipation viscoélastique et améliorer les propriétés adhésives. L'architecture macromoléculaire est également un aspect important qui mériterait d'être approfondi car si les copolymères PNIPAm-g-PDMA de la littérature^{1,2} sont caractérisés par de longues séquences hydrophiles et à LCST, les copolymères linéaires P(NIPAm-co-AMPS) présentent de courtes séquences PNIPAm entre groupements ionisés qui sont de plus très sensibles à la force ionique. On peut donc imaginer que le contrôle de la taille des séquences thermosensibles et de la nature des séquences hydrophiles sont des paramètres clés à prendre en compte dans ces relations structure/propriétés. De même, il paraît intéressant d'élargir cette étude sur les propriétés viscoélastiques aux petites et grandes déformations à des biopolymères possédant des transitions sol-gel par chauffage tels que la méthylcellulose, les xyloglucanes ou les formulations chitosane/glycérophosphate.

Dans le Chapitre 6, nous nous sommes intéressés aux copolymères PEGMA qui ont été développés plus récemment et décrits comme ayant des propriétés équivalentes aux PNIPAm tout en possédant une meilleure biocompatibilité. Afin d'obtenir une LCST proche de celle du PNIPAm, la composition des copolymères de PEGMA a été optimisée à partir de deux systèmes différents : DEGMA/TEGMA et DEGMA/OEGMA₄₇₅. Malgré des LCST similaires, les copolymères greffés de PAA-g-PEGMA ont montré un caractère thermogélifiant plus faible comparé aux PAA-g-PNIPAm avec un processus d'association bien plus progressif entraînant une augmentation de la $T_{\text{sol-gel}}$ à des températures souvent bien supérieures à 40 °C. Cet écart

important entre T_{as} et $T_{sol-gel}$ avec les dérivés PEGMA est à mettre en relation avec leurs caractéristiques dans l'état associé : dynamique d'association et cohésion au sein des domaines. Pour améliorer les propriétés thermogélifiantes, il a alors été nécessaire d'utiliser des homopolymères de PDEGMA afin d'obtenir une T_{as} suffisamment basse pour que la transition sol-gel puisse se faire à des températures inférieures à 37 °C.

D'une manière générale, si les caractéristiques des polymères à LCST se limitent très souvent à leur température de transition, nous avons mis en évidence avec la comparaison PNIPAm/PEGMA que la thermodynamique d'association pouvait être différente et impacter directement les propriétés des copolymères greffés. Il paraît donc important d'aller plus loin dans la caractérisation des propriétés thermodynamiques des polymères à LCST (concentration des phases à l'équilibre, dynamique des associations) afin de mieux prévoir la mise en place et le développement du phénomène thermoassociatif.

À partir de cet ensemble de résultats obtenus avec des systèmes entièrement synthétiques, la dernière partie de ce travail (Chapitre 7) avait pour objectif de transposer cette étude à des systèmes greffés à base de polysaccharides, notamment l'alginate et l'acide hyaluronique.

En utilisant des greffons PNIPAm de taille comparable aux études précédentes, nous avons de nouveau montré que les propriétés élastiques à haute température étaient contrôlées par la concentration réduite à condition d'incorporer un nombre suffisant de greffons par chaîne. Ce comportement général est d'autant plus intéressant qu'il semble indépendant de la nature du squelette ; les chaînes d'alginate et de hyaluronane possédant des conformations semi-rigides très différentes de celle du PAA. Cela montre que pour un même taux massique en greffons et une même concentration en polymère, il est possible de renforcer l'élasticité du gel en augmentant la masse molaire du polymère ou sa rigidité, mais en contrepartie la viscosité à basse température va également augmenter. Bien que cela ne soit pas favorable en terme d'injectabilité, nous avons montré que le caractère rhéofluidifiant des solutions visqueuses d'alginates permettait de maintenir des forces d'injection suffisamment faibles ($F < 12 \text{ N}^3$) pour pouvoir être injectées sans trop d'effort dans des conditions standards (aiguilles de 25 G). Dans le cas particulier de l'échantillon ALG1-N72, dont on peut estimer que seulement la moitié des greffons sont accrochés au squelette, les propriétés rhéologiques résultantes ne semblent pas trop être affectées par ce problème. Cela tend à montrer que l'ensemble des chaînes à LCST, greffés et non greffés, forment une phase commune, concentrée en polymère, qui impacte les propriétés viscoélastiques. La présence, ou l'addition volontaire, de greffons libres est un aspect peu étudié bien que souvent présent dans de nombreuses formulations. Il mériterait une étude toute particulière concernant par exemple l'influence de la taille ou de la nature chimique des

chaînes ajoutées sur le processus d'association des chaînes greffées. Il est même possible d'envisager un phénomène de couplage interactionnel entre les greffons du squelette et des chaînes de nature chimique complémentaire, initialement ajoutées dans la formulation initiale. De tels effets ont par exemple été démontrés dans le cas du couplage de greffons PNIPAm à faible teneur en motifs anioniques et de chaînes PNIPAm à faible teneur en monomères cationiques⁴.

Les conditions étant optimisées pour obtenir une $T_{\text{sol-gel}}$ inférieure à 37 °C avec les ALG-g-PNIPAm, nous avons étendu l'étude à d'autres greffons comme le PDEGMA ou le PEPO. Malgré leur processus d'association plus progressif avec la température, leur faible T_{as} permet la formation de gels à des températures inférieures à 37 °C, en travaillant à des concentrations supérieures ou égales à 5 wt% dans le PBS. À partir de ces différents copolymères, nous avons montré que l'injection de ces solutions dans un milieu physiologique (bain de PBS à 37 °C) conduisait à une gélification immédiate pour tous les systèmes testés. Ces observations visuelles, complétées par une étude de relargage de la rhodamine B, ont démontré l'intégrité des gels formés avec un relargage ralenti de la rhodamine B sur plusieurs heures.

À partir des résultats obtenus dans ces différents chapitres, nous avons rassemblé ci-après quelques considérations générales à prendre en compte pour le design de formulations injectables thermogélifiantes dans les conditions physiologiques, de même que quelques perspectives ouvertes par ce travail.

- Choix des greffons. Bien que notre étude se soit limitée à trois types de greffons à LCST, le choix est immense d'autant plus si sont prises en compte toutes les possibilités offertes par la copolymérisation. Il ressort clairement que l'utilisation de greffons de masses molaires élevées favorise l'amplitude du phénomène thermoassociatif, d'autant plus que l'association des chaînes à LCST peut être génée stériquement une fois greffées sur le squelette. Dans le cas des copolymères greffés avec lesquels nous avons travaillé, des masses molaires de 20 à 40 kg/mol pour des greffons PNIPAM ou PEGMA paraissent idéales pour favoriser la gélification en dessous de 37 °C. Il ressort également de cette étude comparative que les propriétés thermodynamiques intrinsèques aux greffons impactent fortement le processus de thermogélification et c'est certainement un élément essentiel à prendre en compte dans le développement de tels systèmes.

- Taux de greffage. Afin d'obtenir des réponses viscoélastiques sur des fenêtres étroites de température, il est important d'incorporer dans le copolymère un nombre suffisant de greffons que l'on peut raisonnablement estimer entre 40 et 80 wt%. Pour des taux plus faibles, les

greffons moins nombreux et plus distants conduisent à un niveau de percolation moins important. Pour des taux supérieurs, le risque est de provoquer une séparation de phase macroscopique telle que nous avons pu l'observer avec certains copolymères linéaires de P(NIPAm-co-AMPS). Dans ce cas, tout va dépendre de la séquence hydrophile qui permet le maintien du copolymère en solution.

- Caractéristiques du squelette. Le choix du squelette hydrosoluble est bien évidemment très large et va dépendre soit de l'application visée, soit des réactions chimiques envisagées pour modifier le polymère. À cela, il faut également ajouter la concentration à laquelle on désire travailler. Il est en effet possible d'utiliser des chaînes courtes à des concentrations élevées (> 15-20 wt%) comme c'est le cas pour les poloxamères^{5,6} ou les copolymères greffés de faible taille, soit de privilégier une plus faible concentration en polymère (1 à 10 wt%) qui s'accompagne également d'une plus grande porosité de la matrice. Dans ce dernier cas, sur lequel nous avons travaillé, la masse molaire du squelette doit être au moins 2 fois plus importante que celle des greffons, pour un taux de greffage de 50 wt% par exemple, si on vise un nombre suffisant de greffons par chaîne pour former un réseau percolant avec l'ensemble des macromolécules présentes. Même en se plaçant dans ce domaine de concentrations modérées, il est important de travailler au-dessus de la concentration d'enchevêtrement C_e . Ceci a pour effet de favoriser l'association des greffons thermosensibles qui vont à la fois former une phase dense, réticuler les chaînes macromoléculaires et figer les enchevêtrements. Idéalement, la concentration d'enchevêtrement peut être abaissée en augmentant la taille du squelette et/ou sa rigidité. Dans le cas particulier de nos copolymères, une concentration d'au moins 5 wt% dans le PBS préférentiellement convient parfaitement pour abaisser la $T_{sol-gel}$ en dessous de la température du corps (cf. Figure 3).

$T_{sol-gel} < 37\text{ °C} /$ Tenue en milieu aqueux		Injectabilité	
			
Taille squelette (M_n)	$\geq 150\text{ kg/mol}$	$\eta^* < 10\text{ Pa.s}$	Rhéofluidifiant
Taille greffons (M_n)	30-40 kg/mol		
Greffons par chaîne	≥ 2		
Solvant	PBS		
Ratio polymère à LCST	40-80 wt%		
C_p	$\geq 5\text{ wt\%}$ et $> C_e$		

Figure 3 : Critères et conditions d'utilisation des copolymères greffés (squelette hydrophile/greffons à LCST) dans le cadre de formulations injectables thermogélifiantes.

En ce qui concerne la topologie linéaire à base de P(NIPAm-co-AMPS), celle-ci est intéressante en raison de ses conditions de synthèse en une seule étape mais elle nécessite un équilibre subtil entre composante à LCST et groupements ioniques. Dans notre cas, le meilleur compromis a été obtenu avec un pourcentage en AMPS de 2 mol% dans le squelette PNIPAm et une M_n d'au moins 350 kg/mol. Comme discuté précédemment, des masses molaires plus élevées et l'utilisation de biopolymères comme squelettes thermostimulables sont des pistes intéressantes à étudier.

- Injectabilité :

Si il est intéressant de se placer au dessus de la concentration d'enchevêtrement pour les propriétés finales du gel, il est également nécessaire de ne pas trop augmenter la viscosité initiale à basse température. Néanmoins, dans le régime enchevêtré les solutions se caractérisent par leur comportement rhéofluidifiant qui permet d'abaisser notablement la viscosité de la solution sous cisaillement. Typiquement, dans le cas des solutions d'alginate que nous avons étudiées, il ne faut pas que la viscosité Newtonienne dépasse 10 Pa.s, à 20 °C, pour conserver une force d'injection inférieure à 12 N, caractéristique d'une injection aisée pour des diamètres d'aiguilles utilisés couramment en milieu médical.

- Performances des solutions thermogélifiantes :

Les propriétés élastiques et adhésives des gels formés par chauffage dépendent de la concentration relative en enchevêtrements C/C_e et de la fraction massique en greffons à LCST. Si ce dernier paramètre impacte principalement les propriétés élastiques à $T > T_{as}$, le rapport C/C_e intervient sur l'ensemble du domaine de température. À basse température, la comparaison entre les squelettes PAA et ALG a montré :

- une plus faible dépendance de la viscosité des dérivés PAA avec la concentration en polymère (caractère polyélectrolyte) qui permet ainsi d'abaisser la viscosité initiale des solutions enchevêtrées,
- une viscosité initiale des solutions principalement fonction de la concentration en squelette pour les dérivés alginates. Ceci a pour effet de diminuer la viscosité initiale pour des taux de greffage élevés (proportion de squelette plus faible) tout en maintenant de bonnes propriétés élastiques à haute température.

Une fois formés, les gels maintiennent leur intégrité lorsqu'ils sont plongés en milieu physiologique. En fonction de leur nature chimique et du taux de réticulation, les réseaux ont tendance à gonfler. Cette caractéristique des gels physiques ouvre sur une étude beaucoup plus large que nous n'avons pas eu le temps de suffisamment développer, à savoir l'impact de la nature du squelette, des greffons et du taux de greffage sur les propriétés de gonflement en

milieu physiologique ; propriétés qui peuvent également impacter le relargage des espèces présentes à travers le maillage du réseau.

D'un point de vue applicatif, il serait également intéressant d'élargir l'étude de toxicité à différents types de cellules afin d'attester de la biocompatibilité des copolymères greffés à base d'alginate. De même, alors que nos études d'adhésion ont été évaluées dans des conditions non spécifiques entre deux plans métalliques, une étude plus ciblée sur la mucoadhésion pourrait être envisagée afin de vérifier le comportement adhésif de nos biopolymères sur des tissus vivants.

Références

1. Vahdati, M., Ducouret, G., Creton, C. & Hourdet, D. Topology-Specific Injectable Sticky Hydrogels. *Macromolecules* **53**, 9779–9792 (2020).
2. Vahdati, M., Ducouret, G., Creton, C. & Hourdet, D. Thermally Triggered Injectable Underwater Adhesives. *Macromol. Rapid Commun.* **41**, 1900653 (2020).
3. Robinson, T. E. *et al.* Filling the Gap: A Correlation between Objective and Subjective Measures of Injectability. *Adv. Healthcare Mater.* **9**, 1901521 (2020).
4. Siband, E., Tran, Y. & Hourdet, D. Thermoresponsive Interpolyelectrolyte Complexation: Application to Macromolecular Assemblies. *Macromolecules* **44**, 8185–8194 (2011).
5. Choi, H.-G. *et al.* Development of in situ-gelling and mucoadhesive acetaminophen liquid suppository. *International Journal of Pharmaceutics* **165**, 33–44 (1998).
6. Soliman, G. M., Fetih, G. & Abbas, A. M. Thermosensitive bioadhesive gels for the vaginal delivery of sildenafil citrate: *in vitro* characterization and clinical evaluation in women using clomiphene citrate for induction of ovulation. *Drug Development and Industrial Pharmacy* **43**, 399–408 (2017).

Résumé :

Ce travail de thèse porte sur le développement d'hydrogels injectables thermostimulables. Dans le cadre de la délivrance de principes actifs, l'objectif est de partir d'une solution de polymère suffisamment fluide à température ambiante pour pouvoir être injectée à un endroit ciblé du corps et d'obtenir une gélification rapide de la formulation une fois introduite en milieu physiologique. Pour aborder cette étude, une large plateforme de copolymères greffés a été développée à partir de squelettes hydrophiles et de greffons thermosensibles caractérisées par leur LCST en milieu aqueux. Dans un premier temps, un système entièrement synthétique à base de poly(acide acrylique)-g-poly(N-isopropyl acrylamide) a été utilisé comme système modèle. Les relations structure/propriétés ont alors été établies en étudiant l'impact de la taille du squelette, de la taille des greffons et du taux de greffage sur la transition de phase et sur les propriétés rhéologiques dans le domaine linéaire (modules dynamiques) ainsi qu'aux grandes déformations (test d'adhésion). En régime enchevêtré, il a été montré que les propriétés élastiques générées à haute température pouvaient être décrites à partir d'un paramètre réduit prenant en compte la concentration en copolymère, la concentration d'enchevêtrement des chaînes ainsi que la fraction massique de greffons à LCST. Dans une seconde étape, cette étude a été élargie en utilisant des greffons de poly[oligo(éthylène glycol) méthyl éther méthacrylate]. Dans cette étude comparative, nous montrons que si la température de transition de phase des greffons est importante pour le déclenchement du processus associatif, les propriétés thermodynamiques des greffons gouvernent les propriétés élastiques à haute température. Dans une dernière partie, cette étude a été transposée à des squelettes polysaccharides de type alginate et acide hyaluronique afin d'améliorer la biocompatibilité. Avec ces copolymères de nature chimique pourtant très différente, la corrélation précédente entre module élastique et concentration réduite est de nouveau observée. Enfin, dans le cadre d'études plus appliquées, le caractère injectable des solutions a été vérifié pour les copolymères à base d'alginate, de même que leur cinétique de gélification extrêmement rapide en milieu physiologique qui permet de conserver l'intégrité des gels sur des temps longs tout en favorisant un relargage ralenti des molécules d'intérêt dans le milieu extérieur.

Mots clés : Hydrogel, LCST, Rhéologie, PNIPAm, Alginate, Injectabilité.

Abstract :

This thesis work focuses on the development of thermoresponsive injectable hydrogels. In the context of drug delivery, the objective is to start from a polymer solution that is sufficiently fluid at room temperature to be injected into a targeted area of the body and to obtain a rapid gelation of the formulation once introduced in a physiological environment. To address this problem, a large platform of graft copolymers has been developed using hydrophilic backbones and thermoresponsive side-chains characterized by their LCST in aqueous medium. In a first step, a fully synthetic macromolecular architecture based on poly(acrylic acid)-g-poly(N-isopropyl acrylamide) was used as a model system. The structure/properties relationships were then established by studying the impact of the size of the backbone, the size of the grafts and the rate of grafting on the phase transition and on the rheological properties determined in the linear domain (dynamic moduli) as well as at large deformations (adhesion test). In the entangled regime, it was shown that the elastic properties triggered at high temperature could be described from a reduced parameter taking into account the copolymer concentration, the entanglement concentration of chains as well as the weight fraction of LCST grafts. In a second step, this study was extended to the same copolymers using poly[oligo(ethylene glycol) methyl ether methacrylate] as responsive grafts. In this comparative study, we show that while the association temperature of the grafts is important for triggering the associative process, their thermodynamic properties control the elastic properties at high temperature. In a last part, this study was transposed to polysaccharide backbones, alginate and hyaluronic acid, to improve their biocompatibility. With these copolymers of very different chemical nature, the previous correlation between elastic modulus and reduced concentration is still observed. Finally, in a more applicative context, the injectability of alginate-based copolymers solutions was verified, as well as their extremely rapid kinetics of gelation in a physiological environment, which leads to the conservation of the integrity of gels over long periods of time while favouring a slower release of the molecules of interest into the external environment.

Keywords : Hydrogel, LCST, Rheology, PNIPAm, Alginate, Injectability.