Développement de nanoparticules de poly(hydroxy)uréthane pH- et thermo-stimulable par nanoprécipitation

Thomas Querette

▶ **To cite this version:**

Thomas Querette. Développement de nanoparticules de poly(hydroxy)uréthane pH- et thermo-stimulable par nanoprécipitation. Matériaux. Université de Lyon, 2018. Français. NNT : 2018LYSEI075 . tel-02068015

HAL Id: tel-02068015
https://theses.hal.science/tel-02068015

Submitted on 14 Mar 2019

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

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

N°d'ordre NNT : **2018LYSEI075**

THESE de DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LYON
opérée au sein de
L'Institut National des Sciences Appliquées de Lyon

Ecole Doctorale N° 34
Matériaux

Spécialité / discipline de doctorat :
Matériaux

Soutenue publiquement le 10/12/2018, par :
Thomas QUERETTE

Développement de nanoparticules de poly(hydroxy)uréthane pH- et thermo-stimulable par nanoprécipitation

---

Devant le jury composé de :

CHAPEL Jean-Paul, Directeur de recherche CNRS	Président
CRAMAIL Henri, Professeur	Rapporteur
DURAND Alain, Professeur	Rapporteur
BORDES Claire, Maître de conférences	Examinatrice
SINTES Nathalie, Maître de conférences	Directrice de thèse
FLEURY Etienne, Professeur	Co-directeur de thèse

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Département FEDORA – INSA Lyon - Ecoles Doctorales – Quinquennal 2016-2020

SIGLE	ECOLE DOCTORALE	NOM ET COORDONNEES DU RESPONSABLE
CHIMIE	**CHIMIE DE LYON** **http://www.edchimie-lyon.fr** Sec. : Renée EL MELHEM Bât. Blaise PASCAL, 3e étage **secretariat@edchimie-lyon.fr** INSA : R. GOURDON	M. Stéphane DANIELE Institut de recherches sur la catalyse et l'environnement de Lyon IRCELYON-UMR 5256 Équipe CDFA 2 Avenue Albert EINSTEIN 69 626 Villeurbanne CEDEX **directeur@edchimie-lyon.fr**
E.E.A.	**ÉLECTRONIQUE, ÉLECTROTECHNIQUE, AUTOMATIQUE** **http://edeea.ec-lyon.fr** Sec. : M.C. HAVGOUDOUKIAN **ecole-doctorale.eea@ec-lyon.fr**	M. Gérard SCORLETTI École Centrale de Lyon 36 Avenue Guy DE COLLONGUE 69 134 Écully Tél : 04.72.18.60.97 Fax 04.78.43.37.17 **gerard.scorletti@ec-lyon.fr**
E2M2	**ÉVOLUTION, ÉCOSYSTÈME, MICROBIOLOGIE, MODÉLISATION** **http://e2m2.universite-lyon.fr** Sec. : Sylvie ROBERJOT Bât. Atrium, UCB Lyon 1 Tél : 04.72.44.83.62 INSA : H. CHARLES **secretariat.e2m2@univ-lyon1.fr**	M. Philippe NORMAND UMR 5557 Lab. d'Ecologie Microbienne Université Claude Bernard Lyon 1 Bâtiment Mendel 43, boulevard du 11 Novembre 1918 69 622 Villeurbanne CEDEX **philippe.normand@univ-lyon1.fr**
EDISS	**INTERDISCIPLINAIRE SCIENCES-SANTÉ** **http://www.ediss-lyon.fr** Sec. : Sylvie ROBERJOT Bât. Atrium, UCB Lyon 1 Tél : 04.72.44.83.62 INSA : M. LAGARDE **secretariat.ediss@univ-lyon1.fr**	Mme Emmanuelle CANET-SOULAS INSERM U1060, CarMeN lab, Univ. Lyon 1 Bâtiment IMBL 11 Avenue Jean CAPELLE INSA de Lyon 69 621 Villeurbanne Tél : 04.72.68.49.09 Fax : 04.72.68.49.16 **emmanuelle.canet@univ-lyon1.fr**
INFOMATHS	**INFORMATIQUE ET MATHÉMATIQUES** **http://edinfomaths.universite-lyon.fr** Sec. : Renée EL MELHEM Bât. Blaise PASCAL, 3e étage Tél : 04.72.43.80.46 **infomaths@univ-lyon1.fr**	M. Luca ZAMBONI Bât. Braconnier 43 Boulevard du 11 novembre 1918 69 622 Villeurbanne CEDEX Tél : 04.26.23.45.52 **zamboni@maths.univ-lyon1.fr**
Matériaux	**MATÉRIAUX DE LYON** **http://ed34.universite-lyon.fr** Sec. : Stéphanie CAUVIN Tél : 04.72.43.71.70 Bât. Direction **ed.materiaux@insa-lyon.fr**	M. Jean-Yves BUFFIÈRE INSA de Lyon MATEIS - Bât. Saint-Exupéry 7 Avenue Jean CAPELLE 69 621 Villeurbanne CEDEX Tél : 04.72.43.71.70 Fax : 04.72.43.85.28 **jean-yves.buffiere@insa-lyon.fr**
MEGA	**MÉCANIQUE, ÉNERGÉTIQUE, GÉNIE CIVIL, ACOUSTIQUE** **http://edmega.universite-lyon.fr** Sec. : Stéphanie CAUVIN Tél : 04.72.43.71.70 Bât. Direction **mega@insa-lyon.fr**	M. Jocelyn BONJOUR INSA de Lyon Laboratoire CETHIL Bâtiment Sadi-Carnot 9, rue de la Physique 69 621 Villeurbanne CEDEX **jocelyn.bonjour@insa-lyon.fr**
ScSo	**ScSo*** **http://ed483.univ-lyon2.fr** Sec. : Viviane POLSINELLI Brigitte DUBOIS INSA : J.Y. TOUSSAINT Tél : 04.78.69.72.76 **viviane.polsinelli@univ-lyon2.fr**	M. Christian MONTES Université Lyon 2 86 Rue Pasteur 69 365 Lyon CEDEX 07 **christian.montes@univ-lyon2.fr**

*ScSo : Histoire, Géographie, Aménagement, Urbanisme, Archéologie, Science politique, Sociologie, Anthropologie

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier mes directeurs de thèses Monsieur Etienne Fleury et Madame Nathalie Sintes grâce à qui j'ai pu mener à bien ce projet de thèse. Je tiens à exprimer ma reconnaissance envers Nathalie Sintes pour sa disponibilité, sa rigueur, son soutien et son enthousiasme tout au long de ces trois années.

Je remercie Messieurs Philippe Cassagnau et Thierry Delair, directeurs du laboratoire IMP Lyon 1 où j'ai réalisé mes travaux de thèse.

Je remercie Monsieur Alain Durant, Madame Claire Bordes, Monsieur Jean-Paul Chapel et Monsieur Henri Cramail qui ont accepté de participer au jury de cette thèse.

Je tiens à remercier les membres du personnel de l'IMP Lyon 1 pour leur aide et leurs conseils, en particulier Agnès Crepet, Ali Hadane, Pierre Alcouffe, Olivier Gain, Guillaume Sudre, Fabrice Gouanve, Catherine Ladavière, Valentin Cinquin, Florian Doucet, Eric Drockenmuller, Sylvie Novat et Nadia Yacoub. Je souhaite aussi remercier Carlos Fernandez de Alba, Patrick Goetinck, Claire Bordes, Caroline Pillon, Olivier Boyron, Alexandra Berlioz-Barbier, Stephane Chambert, Patrick Jame et Frédéric Delolme avec qui j'ai pu collaborer durant ce projet de thèse.

Je remercie les doctorants (et docteurs pour certains) du laboratoire avec qui j'ai passé de très bons moments durant ces trois années : Bastien, Pierre, Thibaud, Abdel, Imed, Yann, Michaël, Laurent, Soline, Florian, Francis, Anthony, Jimmy, Inja, Maxime, Mathieu, Noémie, Amira, Amani, Manon, Loïc, Chloë, Mathilde, Dimitri, Bryan, Sarra, Clément, Anatole, André, Luisa, Mohammad, Claire, Orianne, Laura, Marwa, Marie-Carole, Benjamin, Baptiste, Clémence, sans oublier ceux qui se sont succédé dans le bureau 428 : les anciens Danjun, Jingping, Alin, Jasper, Asma, Marc et Mamoudou ; et les nouveaux Renaud, Thibault, Hubert et Mona. Merci aussi à Paula pour son coup de main sur la fin de ma thèse.

Je tiens à remercier mes parents pour leur soutien et leurs encouragements ; si je suis allé aussi loin c'est à eux que je le dois. Enfin, je voudrais te remercier Elsa, ton amour m'a donné la force de traverser les moments difficiles.

Cette thèse vous est dédiée.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

RESUME

L'utilisation de nanoparticules de polymère pour l'encapsulation de substances utilisées en médecine, en cosmétique ou en agrochimie suscite un intérêt croissant. Parmi les polymères préparés sous forme de nanoparticules, le polyuréthane présente l'avantage d'être biocompatible, biodégradable et adaptable à de nombreuses applications. L'utilisation de diisocyanates pour sa synthèse pose néanmoins un problème sanitaire et environnemental majeur. Ce travail de thèse consiste en la synthèse d'un polyuréthane sans isocyanate, le poly(hydroxy)uréthane (PHU), puis en la préparation de nanoparticules par nanoprécipitation de ce polymère. Un objectif supplémentaire est le développement de nanoparticules de PHU thermo- et pH-stimulable. Dans une première partie, un PHU modèle a été synthétisé et caractérisé. Ce polymère a été nanoprécipité en l'absence de tensioactif afin de valider la faisabilité du procédé. La seconde partie se focalise sur l'étude approfondie et l'optimisation de la nanoprécipitation du PHU modèle en présence de tensioactif. Afin de caractériser le système polymère-solvant-eau-tensioactif, la micellisation du tensioactif et les interactions polymère-solvant ont été étudiées. Un plan factoriel complet a été réalisé afin d'optimiser le procédé de nanoprécipitation utilisant le DMSO comme solvant. Les effets principaux et d'interactions de la concentration en polymère, du volume d'eau et de la concentration en tensioactif sur la taille et la distribution de taille des nanoparticules ont été déterminés. Afin de permettre l'élimination du solvant par évaporation, la nanoprécipitation du PHU a aussi été réalisée en utilisant du THF comme solvant organique. Dans une troisième partie, trois poly(hydroxy)uréthanes pH- et thermo-stimulables ont été synthétisés et caractérisés. Des nanoparticules de faible taille et distribution de taille ont ensuite été préparées par nanoprécipitation. Une fois le solvant organique éliminé par dialyse, la réponse des nanoparticules de PHUs stimulables à des variations de température et de pH a été étudiée.

ABSTRACT

Preparation of pH-responsive and thermo-responsive poly(hydroxy)urethane nanoparticles using the nanoprecipitation technique

The use of polymer nanoparticles for substance encapsulation generates a growing interest in medicine, cosmetics or agro-chemistry. Among the polymers used as nano-encapsulation agents, polyurethane has the advantage to be biocompatible, biodegradable and versatile. However, the use of noxious diisocyanates for polyurethane synthesis is a major drawback. This thesis project consists in synthesizing a non-isocyanate polyurethane, poly(hydroxyl)urethane (PHU), and then preparing nanoparticles by PHU nanoprecipitation. An additional objective is the development of thermos and pH-responsive PHU nanoparticles. In a first section, a model PHU was synthesized and characterized. The polymer was then nanoprecipitated in the absence of surfactant in order to ensure the feasibility of the process. The second section focused on the in-depth study and optimization of the model PHU nanoprecipitation in the presence of a surfactant. To characterize the polymer-solvent-water-surfactant system, surfactant micellization and polymer-solvent interactions were studied. A full-factorial design was performed to optimize the nanoprecipitation process using DMSO as an organic solvent. Main and interaction effects of the polymer concentration, water volume and surfactant concentration on nanoparticle size and size distribution were determined. With the aim of eliminating the organic solvent by evaporation, PHU nanoprecipitation was also carried out using THF as the organic solvent. In the third section, three pH- and thermos-responsive PHUs were synthesized and characterized. Small and monodisperse nanoparticles

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

were then prepared by nanoprecipitation. Once the solvent eliminated, responsive PHU nanoparticles were submitted to pH and temperature changes and size variations were studied.

Discipline : Matériaux.

Mots-clés : Nanoprécipitation, poly(hydroxy)uréthane, nanoparticule, stimulable.

Key words: Nanoprecipitation, poly(hydroxy)urethane, nanoparticle, stimuli-responsive.

Adresse : Laboratoire Ingénierie des Matériaux Polymères. UMR CNRS n°5223. Bâtiment Jules Verne,17 avenue Jean Capelle. Institut National des Sciences Appliquées de Lyon. 69621 Villeurbanne cedex.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

GLOSSAIRE

DCM, dichlorométhane : CAS : 75-09-2, M = 84,93 g/mol T_f = -95°C, T_{eb} = 40°C, d = 1,33 (≃ 20°C), Fischer Scientific (99%).

DMF, N,N-diméthylformamide : CAS : 68-12-2, M = 73,09 g/mol T_f = -61°C, T_{eb} = 153°C , d = 0,94 (≃ 20°C), Carlo Erba (anhydre, pour analyse).

DMSO, diméthylsulfoxyde : CAS : 67-68-5, M = 78,13 g/mol T_f = 19°C, T_{eb} = 191°C, d = 1,1 (≃ 20°C), Carlo Erba (99,8 %).

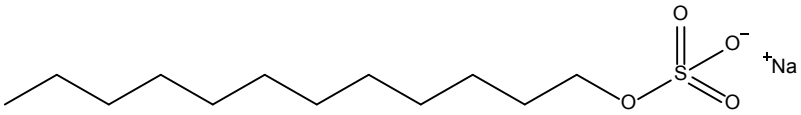
Et_2O, éther diéthylique : CAS : 60-29-7, M = 74,12 g/mol T_f = -116°C, T_{eb} = 35°C, d = 0,71 (≃ 20°C), Carlo Erba (pur, stabilisé avec du BHT)

EtOH, éthanol : CAS : 64-17-5, M = 46,07 g/mol, T_f = -114°C, T_{eb} = 79°C, d = 0,79 (≃ 20°C), Carlo Erba (anhydre, absolu, 99,9 %).

MeOH, méthanol : CAS : 67-56-1, M = 32,04 g/mol, T_f = -98°C, T_{eb} = 65°C, d = 0,79 (≃ 20°C), Sigma Aldrich (grade HPLC, 99,9 %).

THF, tétrahydrofurane : CAS : 109-99-9, M = 72,11 g/mol T_f = -109°C, T_{eb} = 66°C, d = 0,89 (≃ 20°C), Sigma-Aldrich (sans inhibiteur, grade HPLC, 99 %).

SDS, dodécylsulfate de sodium : CAS : 151-21-3, M = 288,38 g/mol T_f = 204°C, Sigma-Aldrich (≥ 98.5 %).



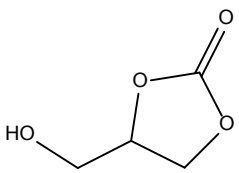
Na_2HPO_4, hydrogénophosphate de sodium : Sigma-Aldrich (99 %)

NaH_2PO_4, dihydrogénophosphate de sodium : Sigma-Aldrich (anhydre, 98 %)

AcOH, acide acétique : Carlo Erba (glacial, 99 %)

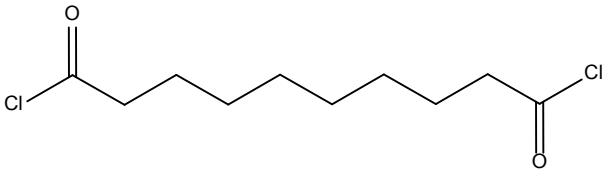
AcONa, acetate de sodium : Sigma-Aldrich (anhydre, 99 %)

GC, carbonate de glycérol (Jeffsol glycerine carbonate) CAS : 93-40-8, M = 118,09 g/mol, T_f = -69°C, T_{eb} = 115°C, d = 1,39 (≃ 20°C), Huntsman (93 %).

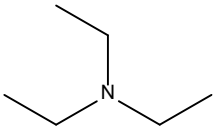


Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

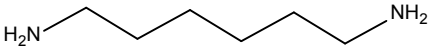
SC, chlorure de sébacoyle : CAS : 111-19-3, M = 239,14 g/mol, T_f = -5°C, T_{eb} = 220°C, d = 1,12 (≃ 20°C), Sigma-Aldrich (99%).



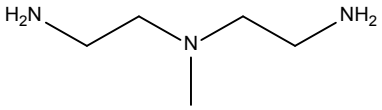
TEA, triéthylamine : CAS : 121-44-8, M = 101,19 g/mol T_f = -115°C, T_{eb} = 89°C, d = 0,72 (≃ 20°C), Sigma-Aldrich (99%).



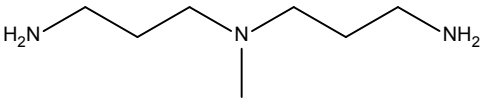
HMDA, héxaméthylène diamine : CAS : 124-09-4, M = 116,20 g/mol T_f = 42°C, T_{eb} = 204°C, Sigma-Aldrich (98%).



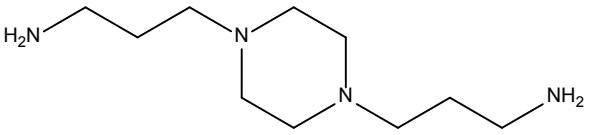
et-DA, N-methyl-2,2'-diaminodiethylamine : CAS : 4097-88-5, M = 117,20 g/mol, T_{eb} = 84°C, d = 0,91 (≃ 20°C), TCI (95%)



prop-DA, 3,3′-diamino-N-methyldipropylamine : CAS : 105-83-9, M = 145,25 g/mol T_f = -30°C, T_{eb} = 110°C, d = 0,90 (≃ 20°C), TCI (98%)

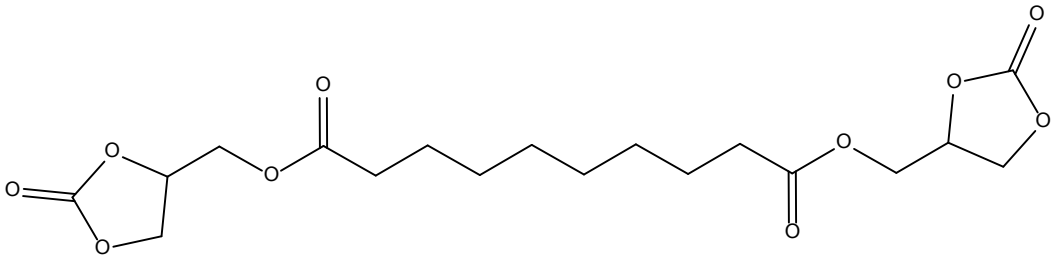


pip-DA, 1,4-bis(3-aminopropyl)piperazine : CAS : 7209-38-3, M = 200,33 g/mol T_f = 15°C, T_{eb} = 150°C, d = 0,97 (≃ 20°C), TCI (98%)

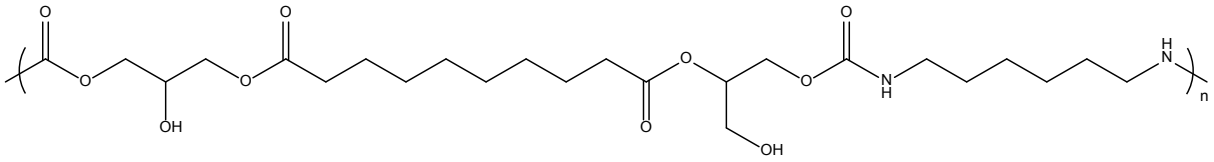


Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

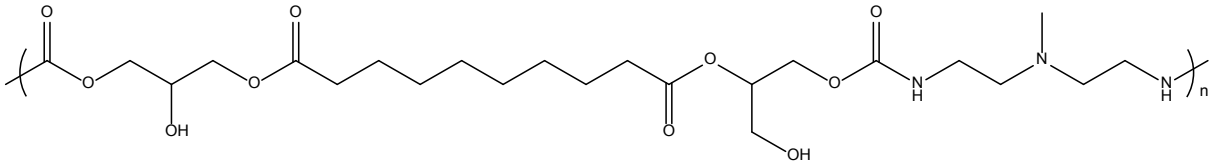
SB bis-CC : CAS : 86047-20-3, M = 404,40 g/mol



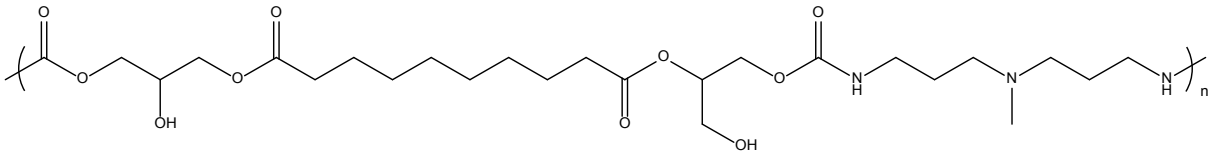
(SB-HM)-PHU : M = 518,6 g/mol



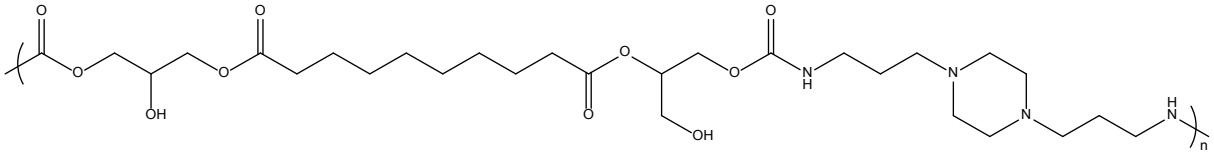
et-PHU : M = 519,6 g/mol



prop-PHU : M = 547,7 g/mol



Pip-PHU : M = 602,7 g/mol



ABREVIATIONS UTILISEES

ATG : Analyse thermogravimétrique

Bis-CC : Bis-(carbonate cyclique)

CMC : Concentration micellaire critique

Cryo-MET : Cryo-microscopie électronique à transmission

Đ : Dispersité

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

DSC : Analyse calorimétrique différentielle à balayage

DLS : Diffusion dynamique de la lumière

$\overline{DP_n}$: Degré de polymérisation moyen en nombre

FTIR : Infrarouge à transformée de Fourier

FTIR-ATR : Infrarouge à transformée de Fourier - réflectance totale atténuée

HPLC : chromatographie liquide haute performance

LCST : température de solution critique inférieure

MET : microscopie électronique à transmission

$\overline{M_n}$: Masse molaire moyenne en nombre

$\overline{M_w}$: Masse molaire moyenne en masse

NIPU : Polyuréthane synthétisé sans isocyanate (non-isocyanate polyurethane)

NP : nanoparticule

PDI : Indice de polydispersité

PHU : Poly(hydroxy)uréthane

PU : Polyuréthane

RMN : Résonnance magnétique nucléaire

SEC : Chromatographie d'exclusion stérique

Spectroscopie MALDI-ToF : Spectroscopie de désorption-ionisation laser assistée par matrice couplée à un analyseur à temps de vol

SDS : Dodecylsulfate de sodium

UCST : température de solution critique supérieure

xCC : Carbonate cyclique à x atomes

XRD : Diffraction aux rayons X.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION GENERALE 1

CHAPITRE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE 7

Introduction 9

I.1. Nanoparticules de polymère 10

I.1.1. Définitions 10

I.1.2. Procédés de préparation de nanoparticules de polymère 10

I.1.2.1. Procédés chimiques 11

I.1.2.1.1. Formulation du système dispersé 11

I.1.2.1.2. Réactions de polymérisation 12

I.1.2.1.3. Cas de la polymérisation interfaciale 13

I.1.2.2. Procédés physico-chimiques 14

I.1.2.2.1. Evaporation de solvant 14

I.1.2.2.3. Emulsion-diffusion 15

I.1.2.2.4. Expansion rapide de fluide supercritique 16

I.1.2.2.5. Modification du pH ou de la température 17

I.1.2.2.6. Dépôt couche par couche 18

I.1.2.2.7. Nanoprécipitation 19

I.2. Préparation de nanosphères de polymère par nanoprécipitation 20

I.2.1. Mécanismes de formation des nanoparticules 20

I.2.1.1. Diffusion du solvant 21

I.2.1.2. Nucléation-croissance 22

I.2.2. Aspects expérimentaux de la nanoprécipitation 25

I.2.2.1. Matériaux utilisés pour la nanosuspension 25

I.2.2.1.1. Polymère 25

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

I.2.2.1.2. Concentration en polymère dans la phase organique 26
I.2.2.1.3. Solvant 26
I.2.2.1.4. Ratio volumique entre phase organique et phase aqueuse 28
I.2.2.1.5. Tensioactif 28
I.2.2.1.6. Concentration en tensioactif dans la phase aqueuse 30
I.2.2.2. Conditions opératoires de la nanoprécipitation 30
I.2.2.2.1. Vitesse d'agitation de la phase aqueuse 30
I.2.2.2.2. Débit d'addition de la phase organique 30
I.2.2.2.3. Méthode d'addition de la phase organique 31
I.2.2.2.4. Elimination du solvant organique 31
I.3. Polyuréthanes sans isocyanate 33
I.3.1. Les polyuréthanes 33
I.3.2. Les polyuréthanes sans isocyanate 33
I.3.3. Les poly(hydroxy)uréthanes 35
I.3.3.1. Synthèse du carbonate cyclique 35
I.3.3.1.1. Carbonate cyclique à cinq atomes 35
I.3.3.1.2. Carbonates cycliques à plus de cinq atomes 37
I.3.3.1.3. Bis-carbonates cycliques 37
I.3.3.2. Mécanisme réactionnel de l'aminolyse du carbonate cyclique 39
I.3.3.3. Formation d'un hydroxyle primaire ou secondaire 39
I.3.3.4. Cinétique de l'aminolyse d'un carbonate cyclique 40
I.3.3.4.1. Influence de la nature du carbonate cyclique sur la cinétique 41
I.3.3.4.2. Influence de la nature de l'amine sur la cinétique 42
I.3.3.4.3. Catalyseurs de la réaction d'aminolyse d'un carbonate cyclique 43
I.3.3.5. Conditions opératoires de la synthèse 44
I.3.3.6. Masses molaires des PHUs et réactions secondaires 46

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

I.3.3.7. Propriétés des PHUs 49
I.4. Nanoparticules de polymère stimulable 51
I.4.1. Stimulation en température 51
I.4.2. Stimulation en pH 52
I.4.3. Autres stimuli 53
Conclusion 54
Références 56
CHAPITRE II : SYNTHESE DE POLY(HYDROXY)URETHANE ET PREPARATION DE NANOPARTICULES PAR NANOPRECIPITATION . 71
Introduction 73
Non-isocyanate Polyurethane Nanoparticles Prepared by Nanoprecipitation 74
Conclusion 109
Références 111
CHAPITRE III : OPTIMISATION DE LA PREPARATION DES NANOPARTICULES DE POLY(HYDROXY)URETHANE PAR NANOPRECIPITATION 117
Introduction 119
III.1. Caractérisation du système polymère / solvant / eau / tensioactif 120
III.1.1. Mesure de la concentration micellaire critique du SDS dans des solutions aqueuses de solvants organiques 120
III.1.1.1. CMC du SDS dans l'eau et dans des mélanges eau/DMSO 121
III.1.1.2. CMC du SDS dans des mélanges eau/THF 125
III.1.2. Estimation des interactions PHU-solvant par viscosimétrie 127
III.1.2.1. Méthode expérimentale 128
III.1.2.2. Résultats et discussions 130
III.1.3. Estimation des interactions PHU-solvant et solvant-eau par le calcul 132

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

III.1.3.1. Paramètres d'interaction PHU-solvant 132

III.1.1.1. Paramètres d'interaction solvant-eau 133

III.2. Optimisation de la nanoprécipitation du PHU à partir du DMSO par plan d'expériences 135

III.2.1. Détermination du plan d'expériences 135

III.2.1.1. Choix des réponses 135

III.2.1.2. Choix des paramètres 137

III.2.1.3. Choix du plan d'expériences 140

III.2.1.3.1. Plans d'expériences 140

III.1.1.1.1. Choix du domaine expérimental : définition des niveaux des facteurs 141

III.1.1.1.2. Présentation du plan factoriel complet 142

III.1.1.1.3. Calcul des coefficients des effets 144

III.1.1.1.4. Calcul des intervalles de confiance 145

III.1.1.2. Protocole expérimental 146

III.1.2. Résultats du plan d'expériences 146

III.1.2.1. Analyse des effets pour la réponse Y_1 (PDI) 149

III.1.2.2. Analyse des effets pour la réponse Y_2 (taille des particules) 152

III.1.2.3. Analyse de la taille des particules (Y_2) par les courbes iso-réponse 155

III.1.2.4. Discussions 158

III.1.2.4.1. Conditions expérimentales optimales 158

III.1.2.4.2. Influence du tensioactif 160

III.1.2.4.3. Influence de la concentration en PHU 163

III.1.2.5. Conclusion de l'étude par plan d'expériences 165

III.1.3. Etude du vieillissement des nanosuspensions 166

III.1.4. Observations en cryo-MET 169

III.1.4.1. Matériel et méthodes 170

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

III.1.4.2. Images cryo-MET 170
III.2. Nanoprécipitation du PHU à partir d'une solution de THF 175
III.2.1. Protocole expérimental 175
III.2.2. Nanoprécipitation dans le THF 176
III.2.2.1. Expériences et résultats 176
III.2.2.2. Discussions sur l'effet de l'évaporation du THF 178
III.2.2.3. Conclusion 181
III.2.3. Optimisation du procédé de nanoprécipitation à partir du THF 181
III.2.3.1. Expériences et résultats 182
III.2.3.2. Discussions 185
III.2.3.3. Etude approfondie de l'expérience t17 optimisée pour la nanoprécipitation à partir du THF 187
Conclusion 194
Références 196
CHAPITRE IV : PREPARATION DE NANOPARTICULES DE POLY(HYDROXY)URETHANE STIMULABLE 201
Introduction 203
IV.1. Synthèses et caractérisation des PHUs stimulables 205
IV.1.1. Synthèses et purifications 206
IV.1.2. Structure chimique des PHUs stimulables 208
IV.1.3. Masse molaire des PHUs stimulables 215
IV.1.4. Propriétés thermiques des PHUs stimulables 218
IV.1.5. Interactions entre les PHUs stimulables et le DMSO 224
IV.1.5.1. Détermination des coefficients de Huggins 225
IV.1.5.2. Calcul des paramètres de Flory 227
IV.1.5.3. Conclusion 228

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

IV.2. Nanoprécipitation de l'et-PHU, du prop-PHU et du pip-PHU 229

IV.2.1. Protocole expérimental 229

IV.2.2. Résultats 230

IV.2.3. Observations en cryo-MET 232

IV.3. Etude de la réponse des nanoparticules de PHUs stimulables à des variations de température et de pH 235

IV.3.1.1.1. Suivi par infrarouge de la réponse des PHUs stimulables à une variation en température 235

IV.3.2. Comportement des nanoparticules de PHUs stimulables en température. 241

IV.3.3. Comportement des nanoparticules de PHUs stimulables à différents pH au cours du temps 246

IV.3.4. Conclusion des études de variations de taille des nanoparticules de PHU stimulable avec le pH ou la température 252

Conclusion 254

Références 257

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES 263

ANNEXES 273

Chapitre II : Synthèse de poly(hydroxy)uréthane et préparation de nanoparticules par nanoprécipitation 275

Chapitre III : optimisation de la préparation des nanoparticules de poly(hydroxy)uréthane par nanoprécipitation 297

III.1. Mesures de taille et de PDI en DLS 297

III.2. Estimation de la quantité de SDS couvrant la surface des nanoparticules 298

III.2.1. Calcul dans le cas général 298

III.3. Suivi de l'évaporation du THF sous hotte au cours du temps 300

III.3.1. Tracé de la courbe de calibration 301

III.3.2. Suivi de l'évaporation dans des solutions aqueuses de THF 302

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

III.3.3. Vérification de l'efficacité de l'évaporation du THF présent dans les nanosuspensions 303

Chapitre IV : Préparation de nanoparticules de poly(hydroxy)uréthane stimulable 305

IV.1. Attribution des pics des spectres RMN ^{13}C 305

IV.2. Evaluation de l'élimination du DMSO par HPLC 310

IV.2.1. Tracé de la courbe de calibration 310

IV.2.2. Vérification de l'efficacité de la dialyse du DMSO présent dans les nanosuspensions 311

IV.3. Evolution du potentiel zêta d'une nanosuspension de pip-PHU soumise à différents pH en fonction du temps 312

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

INTRODUCTION GENERALE

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Les nanoparticules de polymère sont des objets dont la taille varie entre quelques nanomètres et plusieurs centaines de nanomètres[1]. Depuis quelques décennies, elles suscitent un intérêt croissant, du fait de leur potentiel pour des applications pharmaceutiques[2], mais aussi en cosmétique[3] ou en agrochimie[4]. Dans le domaine biomédical, les nanoparticules de polymères peuvent être utilisées pour encapsuler un principe actif médicamenteux afin d'améliorer son efficacité thérapeutique tout en réduisant ses effets secondaires. Les polymères biocompatibles et biodégradables exploitables en drug delivery sont nombreux et cette classe de matériaux présente l'avantage d'être polyvalente. En particulier, il est possible de concevoir des nanoparticules de polymères répondants à des stimuli physico-chimiques (température, pH ou lumière UV par exemple) afin de cibler un organe, un tissu ou des cellules encore plus sélectivement[5].

Les nanoparticules de polymère sont préparées selon deux types de procédés : par polymérisation in-situ en milieu dispersé (procédé chimique) ou à partir d'un polymère déjà synthétisé ou naturel (procédé physico-chimique)[6]. Dans le second cas, une modification de l'environnement physico-chimique d'un polymère en solution déclenche la précipitation de ce dernier sous forme de nanoparticules[7]. La nanosuspension ne contient donc pas de monomères résiduels ou des produits secondaires comme cela peut être le cas pour le procédé chimique. Parmi les techniques basées sur le procédé physico-chimique, la nanoprécipitation suscite un vif intérêt car c'est une méthode simple et peu coûteuse en énergie puisque le système colloïdal est obtenu par émulsification spontanée[8]. En pratique, le polymère est solubilisé dans un solvant organique miscible à l'eau puis la phase organique est versée au goutte-à-goutte dans une phase aqueuse. La diffusion du solvant et de l'eau provoque la précipitation du polymère. La nanoprécipitation permet l'obtention de nanoparticules mesurant une centaine de nanomètres de diamètre[9]. Les particules nanoprécipitées sont le plus souvent préparées à partir de polyesters (PLA, PCL ou PLGA).

Les polyuréthanes (PU) sont également utilisés dans le domaine biomédical[10]. Outre le fait qu'ils soient biocompatibles et biodégradables, leurs caractéristiques peuvent être adaptées en variant la nature des monomères utilisés pour leur synthèse. Le plus souvent, la préparation de nanoparticules de polyuréthane est réalisée par procédé chimique, les essais de nanoprécipitation étant peu rapportés dans la littérature[11]. Cependant, des synthèses alternatives sont développées afin de remplacer les diisocyanates par d'autres monomères moins toxiques. La voie la plus étudiée est la réaction de polyaddition par aminolyse de carbonates cycliques[12]. Cette réaction aboutit à la formation d'un poly(hydroxy)uréthane

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

(PHU). La présence de fonctions hydroxyles sur la chaîne polymère confère au poly(hydroxy)uréthane de nouvelles propriétés : hydrophilie accrue, ponts hydrogènes, post-fonctionnalisation possible.

Les carbonates cycliques les plus utilisés pour la synthèse de poly(hydroxy)uréthane présentent deux cycles de cinq atomes (bis-5-CC). A la sutie de la synthèse de poly(hydroxy)uréthanes, nous proposons de développer un protocole de préparation de nanoparticules de poly(hydroxy)uréthane par nanoprecipitation. A notre connaissance, une telle étude n'a encore jamais été publiée dans la littérature. Les objectifs de ce projet de thèse étaient donc de (1) synthétiser un poly(hydroxy)uréthane modèle, (2) réaliser des essais démontrant la faisabilité de sa nanoprécipitation et (3) optimiser la méthode de nanoprécipitation afin d'obtenir des nanoparticules monodisperses autour de 100 nm. Nous avions également pour but de (4) synthétiser des poly(hydroxy)uréthanes présentant des fonctions stimulables en pH et en température afin de (5) préparer des nanoparticules dont la taille serait susceptible de varier en jouant sur l'un de ces stimuli.

Le premier chapitre présente l'état de l'art sur les nanoparticules de polymères et détaille les différents procédés d'obtentions de nanosuspensions avant de se concentrer sur la méthode de nanoprécipitation. Les mécanismes proposés dans la littérature afin d'expliquer la formation de nanoparticules seront présentés. L'impact des conditions opératoires et des composants sur la taille et la dispersité des nanoparticules sera discuté afin de déterminer les paramètres significatifs pour notre étude. Après avoir présenté les polyuréthanes, nous listerons les voies de synthèse de polyuréthanes sans isocyanate (NIPU) puis nous nous focaliserons sur la réaction d'aminolyse de cycles carbonates. Le mécanisme réactionnel, la cinétique de la réaction, les conditions opératoires et les limites de la synthèse du poly(hydroxy)uréthane seront présentés. Enfin, de manière succincte, nous dresserons l'état de l'art dans le domaine des polymères et nanoparticules stimulables – en particulier en pH et en température.

Dans le second chapitre, nous décrirons la synthèse, la purification et la caractérisation d'un poly(hydroxy)uréthane modèle, le (SB-HM)-PHU. La préparation du monomère bis-(carbonate cyclique) (SB bis-CC) et du polymère sont inspirés de travaux antérieurs[13, 14]. La structure chimique du PHU issu de la réaction entre l'hexaméthylène diamine et le SB bis-CC sera étudiée par analyse élémentaire, infra-rouge, RMN et MALDI-TOF. La proportion d'hydroxyle primaire et secondaire formés lors de l'ouverture du cycle carbonate sera estimée par RMN. Les masses molaires moyennes en nombre et en masses seront quantifiés par SEC. Les températures de transition vitreuse et de dégradation seront déterminées par analyses

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

thermiques. Par la suite, une étude permettra de démontrer la faisabilité de la préparation de nanoparticules de ce polymère par nanoprécipitation. Les nanosuspensions seront caractérisées par diffusion dynamique de la lumière (DLS) et microscopie électronique en transmission (MET).

Dans le troisième chapitre, le procédé de nanoprécipitation à partir du DMSO sera optimisé par un plan d'expériences. Un plan factoriel complet permettra de déterminer l'influence de la concentration en polymère dans la phase organique, du volume d'eau et de la concentration en tensioactif dans la phase aqueuse sur la taille des nanoparticules et leur dispersité en taille. Il sera possible d'estimer les effets d'interactions entre plusieurs paramètres et de tracer les surfaces iso-réponse pour la réponse en taille. Après analyse des coefficients d'effets, les paramètres seront ajustés pour obtenir la taille et l'indice de polydispersité des nanoparticules minimaux. Une attention particulière sera portée sur la quantité de tensioactif présent dans l'échantillon afin de garantir la stabilité de la nanosuspension. A la suite du plan d'expérience, une étude de vieillissement des échantillons sera réalisée et les nanoparticules seront analysées par cryo-MET. Enfin, le DMSO sera remplacé par du THF, d'une part pour étudier l'effet du solvant sur la taille et la dispersité en taille des nanoparticules et d'autre part car ce solvant est plus facile à éliminer car plus volatile. Le nouveau protocole sera optimisé en prenant compte des informations apportées par le plan d'expérience. Le THF sera éliminé par évaporation puis dialyse. L'effet de l'étape d'élimination sur la stabilité de la nanosuspension sera étudié.

Le quatrième et dernier chapitre présente des PHUs et nanoparticules de PHUs pH- et thermosensibles. Il se divise en trois parties. Dans la première, l'hexaméthylène diamine sera remplacée par trois diamines stimulables en pH et en température. Les étapes de synthèse, de purification et de caractérisation des trois poly(hydroxy)uréthanes stimulables seront présentées de la même manière que dans le chapitre II. Ensuite, la réponse de ces polymères à des variations de pH et de température sera étudiée. Des analyses infra-rouge en mode transmission à différentes températures permettront d'observer l'évolution des liaisons hydrogènes au sein des polymères au cours du chauffage. Dans la troisième partie du chapitre, les trois polymères seront nanoprécipités de manière à obtenir des nanoparticules monodisperses de faible taille puis le solvant organique sera éliminé par dialyse. La réponse éventuelle des nanoparticules aux variations de pH et de température sera évaluée par DLS.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Références

1. Mora-Huertas, C. E.; Fessi, H.; Elaissari, A. *Int J Pharm* **2010,** 385, (1-2), 113-42.

2. El-Say, K. M.; El-Sawy, H. S. *Int. J. Pharm. (Amsterdam, Neth.)* **2017,** 528, (1-2), 675-691.

3. Lochhead, R.; Padman, V.; Anderson, L.; Wilgus, L. A.; McDaniel, P.; LaBeaud, L.; Davis, K.; Hoff, E.; Epler, J. *Household Pers. Prod. Ind.* **2010,** 47, (4), 71-76.

4. Perlatti, B.; Bergo, P. L. d. S.; Fernandes da Silva, M. F. d. G.; Fernandes, J. B.; Forim, M. R. In *Polymeric nanoparticle-based insecticides: a controlled release purpose for agrochemicals*, 2013; InTech: pp 521-548.

5. Mura, S.; Nicolas, J.; Couvreur, P. *Nat. Mater.* **2013,** 12, (11), 991-1003.

6. Vauthier, C.; Bouchemal, K. *Pharm. Res.* **2009,** 26, (5), 1025-1058.

7. Quintanar-Guerrero, D.; Allemann, E.; Fessi, H.; Doelker, E. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **1998,** 24, (12), 1113-1128.

8. Lepeltier, E.; Bourgaux, C.; Couvreur, P. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2014,** 71, 86-97.

9. Mora Huertas, C. Nanoparticle preparation from polymers : fundamental study and application to the development on nanocapsule for pediatric use. Université Claude Bernard - Lyon I, 2011.

10. Zdrahala, R. J.; Zdrahala, I. J. *J. Biomater. Appl.* **1999,** 14, (1), 67-90.

11. Basu, A.; Farah, S.; Kunduru, K. R.; Doppalapudi, S.; Khan, W.; Domb, A. J., 8 - Polyurethanes for controlled drug delivery. In *Advances in Polyurethane Biomaterials*, Cooper, S. L.; Guan, J., Eds. Woodhead Publishing: 2016; pp 217-246.

12. Nohra, B.; Candy, L.; Blanco, J.-F.; Guerin, C.; Raoul, Y.; Mouloungui, Z. *Macromolecules (Washington, DC, U. S.)* **2013,** 46, (10), 3771-3792.

13. Carre, C.; Bonnet, L.; Averous, L. *RSC Adv.* **2014,** 4, (96), 54018-54025.

14. Proempers, G.; Keul, H.; Hoecker, H. *Des. Monomers Polym.* **2005,** 8, (6), 547-569.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

CHAPITRE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

INTRODUCTION

Les travaux de cette thèse portent sur la préparation de nanoparticules de polyuréthane sans isocyanate (NIPU) par le procédé de nanoprécipitation. Ce chapitre bibliographique présente l'état de l'art sur la formation de nanoparticules de polymère et la synthèse de polyuréthane sans isocyanate, avant de terminer par un point sur les nanoparticules de polymère stimulable.

Après une brève définition des nanoparticules, nous présenterons les méthodes d'obtention de nanosuspensions et plus particulièrement la méthode de nanoprécipitation. Les aspects théoriques – mécanismes proposés – et pratiques – conditions expérimentales – seront détaillés. Les nanoparticules étant préparées à partir de polyuréthane, nous présenterons ce polymère par la suite. Après avoir listé les voies de synthèse du polyuréthane sans isocyanate, nous détaillerons la réaction de polyaddition par aminolyse d'un carbonate cyclique. Les aspects mécanistique et cinétique, les conditions expérimentales et les caractéristiques des poly(hydroxy)uréthanes seront abordés. Enfin, puisque des nanoparticules pH- et thermosensibles seront développées dans la dernière partie de nos travaux, nous présenterons succinctement les polymères et nanoparticules stimulables à la fin de ce chapitre.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

I.1. Nanoparticules de polymère

I.1.1. Définitions

Les nanoparticules de polymère sont des objets dont la taille varie entre quelques nanomètres et plusieurs centaines de nanomètres[1]. Dispersées dans un liquide, elles constituent une nanosuspension de polymère. Les nanoparticules se caractérisent notamment par leur morphologie interne. Parmi les différentes morphologies internes répertoriées, nous trouvons les nanosphères et les nanocapsules (figure 1).

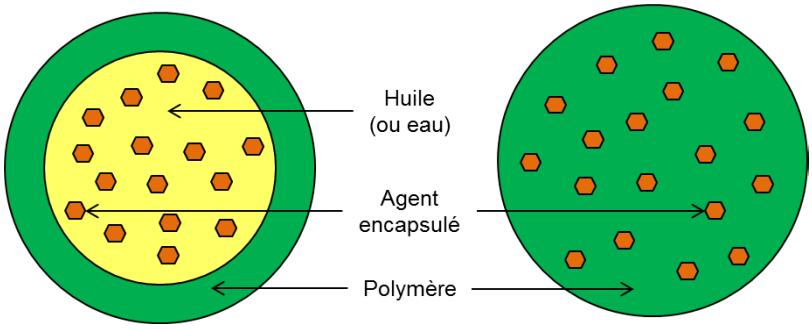


Figure 1. Représentation d'un agent encapsulé dans une nanocapsule (à gauche) et une nanosphère (à droite).

Les nanocapsules ont une structure de type cœur-écorce : le cœur est composé d'un (ou plusieurs) réservoir(s) pouvant contenir un liquide, un solide ou un gaz et l'écorce est composée de polymère[2]. Les nanosphères sont constituées d'une matrice polymère plus ou moins dense[3]. Nanocapsules et nanosphères peuvent contenir un principe actif encapsulé. Les nano-objets obtenus par auto-association, comme les polymersomes[4], les micelles de polymères[5] ou encore les dendrimères[6] font également partie de la grande famille des nanoparticules.

I.1.2. Procédés de préparation de nanoparticules de polymère

Les nanoparticules peuvent être préparées par polymérisation in-situ (voie chimique) ou dispersion d'un polymère déjà synthétisé (voie physico-chimique). Le choix de la méthode de préparation est basé sur des considérations stratégiques variables selon la nature du polymère, l'application des nanoparticules, la taille désirée et bien d'autres critères[7].

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

I.1.2.1. Procédés chimiques

La préparation de nanoparticules de polymère par polymérisation en milieu dispersé est généralement réalisée en deux étapes : la formation d'un template (émulsion, mini-émulsion ou microémulsion huile-dans-eau ou eau-dans-huile) suivie de la réaction de polymérisation dans ce template (dans les gouttes ou à la surface de celles-ci).

I.1.2.1.1. Formulation du système dispersé

Une émulsion est un mélange liquide hétérogène constitué d'une phase dispersée dans une autre sous forme de gouttes. Ces deux phases sont le plus souvent une phase organique et une phase aqueuse. Les gouttes de phase dispersée constituent les templates à partir desquels les nanoparticules se forment par la suite. Quatre types d'émulsions permettent la formation de nanoparticules[7] : l'émulsion conventionnelle, l'émulsion sans tensioactif, la miniémulsion et la microémulsion.

La polymérisation en émulsion conventionnelle est la méthode la plus fréquemment utilisée pour préparer des nanoparticules de polymères. La phase organique est constituée du ou des monomère(s) et d'un solvant (si les monomères ne sont pas liquides dans les conditions expérimentales) tandis que le tensioactif (à une concentration supérieure à sa CMC) est solubilisé dans la phase aqueuse. Le plus souvent, après mélange par agitation mécanique, une émulsion huile-dans-eau est formée. Les gouttes, dont le diamètre est compris entre 1 et 10 µm, constituent des réservoirs de monomère[8]. La polymérisation a lieu dans les micelles de tensioactifs gonflées de monomères. Les nanoparticules de polymère, mesurant autour de 100 nm, se forment selon le modèle de nucléation micellaire[9]. Des réactions de polymérisation radicalaire[10], radicalaire contrôlée[11], polycondensation[12] et polyaddition[13] peuvent être réalisées au sein d'émulsions conventionnelles.

La polymérisation en émulsion peut être réalisée sans tensioactif. Le procédé d'émulsion sans tensioactif est cependant moins développé que le procédé d'émulsion conventionnelle. Il permet de s'affranchir de l'étape longue et coûteuse de purification des nanoparticules[7]. La polymérisation en émulsion sans tensioactif est exclusivement radicalaire. Les nanoparticules de polymère se forment selon le modèle de nucléation homogène[14] : à partir d'un degré de polymérisation critique, les oligoradicaux amphiphiles forment des objets colloïdaux instables de quelques nanomètres appelés nuclei. Ces nuclei grossissent par gonflement puis par polymérisation ou floculation avec d'autres nuclei jusqu'à former des nanoparticules de polymère de quelques centaines de nanomètres. La plupart du temps, la stabilisation des

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

nanoparticules est assurée grâce aux fragments chargés de l'amorceur situés en bout de chaîne du polymère. Des réactions de polymérisation radicalaire[15] et radicalaire contrôlée[16] peuvent être réalisées au sein d'émulsions sans tensioactif.

Dans les miniémulsions, les gouttes dispersées mesurent entre 50 et 500 nm et elles jouent le rôle de nanoréacteurs. En plus du tensioactif (en quantité inférieure à la CMC), un co-stabilisant est présent dans la phase aqueuse. Le plus souvent, les miniémulsions sont préparées par ultrasonication[17], une méthode coûteuse en énergie. La réaction de polymérisation se produit directement dans les gouttes. Les avantages des miniémulsions résident dans la copie en taille 1:1 des particules par rapport aux gouttes initiales et leur grande stabilité cinétique, même lorsqu'elles sont soumises à des dilutions ou des changements de température[18]. Des réactions de polymérisation radicalaire[19], radicalaire contrôlée[20], polycondensation[21], polyaddition[22] et polymérisation anionique[23] peuvent être réalisées au sein des miniémulsions.

Pour la formation de nanoparticules par polymérisation en microémulsion, les gouttes mesurent quelques dizaines de nanomètres[24]. Le système thermodynamiquement stable est composé de tensioactif en quantité importante, de co-tensioactif, d'eau et de monomère solubilisé éventuellement dans un solvant organique. L'application industrielle des microémulsions est limitée par la concentration en polymère assez faible et la concentration en tensioactif très élevée. Des réactions de polymérisation radicalaire[25], polycondensation[26] et polyaddition[27] peuvent être réalisées au sein des microémulsions.

I.1.2.1.2. Réactions de polymérisation

Une fois le système dispersé préparé, la réaction de polymérisation est démarrée. La polymérisation peut avoir lieu en chaîne ou par étape.

- Polymérisation en chaîne :

Le plus souvent, le monomère liquide constitue la phase organique dispersée. La réaction de polymérisation radicalaire est amorcée par la décomposition d'un amorceur dissous dans la phase aqueuse[23, 28] (comme le persulfate de potassium) ou dans la phase organique (azobisisobutyronitrile)[29], ou bien sous l'effet de radiations (ultraviolets[19] ou rayons γ) ou d'ultrasons[30]. Les monomères acrylate[25, 31] et vinyle[15] sont les plus utilisés, mais ils ne sont pas les seuls[32]. La polymérisation radicalaire en émulsion permet la préparation de nanoparticules de polystyrène[10], de poly-méthacrylate de méthyle[33], de polychlorure de vinyle[34] ou de polycyanoacrylates d'alkyle[28]. Parmi les autres réactions par polymérisation en

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

chaîne, on compte aussi la polymérisation anionique[35] et la polymérisation catalysée par un complexe organométallique (comme le bis(1,5-cyclooctadiene)nickel (0))[36].

Les nanoparticules sont stabilisées par le tensioactif sous forme de micelles[37]. Le tensioactif le plus utilisé est le laurylsulfate de sodium (SDS)[23], mais on trouve d'autres tensioactifs comme le Span-80[38]. En absence de tensioactif, les nanoparticules sont stabilisées par la présence de l'amorceur de la réaction[31], d'un co-monomère ionique[15], d'un co-solvant[31, 39] ou d'argile (émulsions de Pickering)[40].

- Polymérisation par étape :

Pour des applications d'encapsulation, le risque d'endommager le principe actif encapsulé (par réaction avec l'amorceur) est le défaut majeur de la polymérisation radicalaire. C'est pourquoi les réactions de polyaddition[22] et de polycondensation[21] ont été développées. Ces polymérisations en émulsion ont permis la préparation de nanoparticules ou de nanocapsules de résine époxy réticulée[22] ou de polyuréthane[21]. Le SDS est le tensioactif principalement utilisé[23, 30, 37, 41].

- Polymérisation radicalaire contrôlée :

La polymérisation radicalaire contrôlée permet le contrôle de la masse molaire et de la distribution de masse molaire du polymère ainsi que celui de la structure chimique des fins de chaîne[42]. Ces caractéristiques conditionnent la taille, la polydispersité en taille et les propriétés de surfaces des nanoparticules. Trois méthodes de polymérisation radicalaire contrôlée sont développées[43] : la polymérisation radicalaire en présence de nitroxydes (nitroxide mediated polymerization, NMP)[44], la polymérisation radicalaire par transfert d'atomes (atom transfer radical polymerization, ATRP)[45] et la polymérisation radicalaire par transfert de chaîne réversible par addition-fragmentation (reversible addition-fragmentation chain transfert, RAFT)[46]. Une étape supplémentaire de purification des nanoparticules est nécessaire pour éliminer l'agent de transfert une fois la polymérisation terminée.

I.1.2.1.3. Cas de la polymérisation interfaciale

Dans les conditions de mini et microémulsion, la polymérisation peut être interfaciale, ce qui conduit la plupart du temps à la formation de nanocapsules. Ce type de polymérisation est particulièrement adapté aux polyuréthanes[47, 48]. Dans le cas de la polyaddition[49, 50] ou de la polycondensation[51, 52], la réaction a lieu entre un monomère solubilisé dans la phase dispersée et un monomère solubilisé dans la phase continue, à l'interface entre les deux phases[53]. Dans

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

le cas de polymérisation radicalaire[54, 55] ou ionique[56], la réaction a lieu entre les monomères solubilisés dans la phase dispersée. La polymérisation peut avoir lieu dans une émulsion eau-dans-huile[57] ou huile-dans-eau[58]. Il est aussi possible de provoquer une émulsification spontanée du système avec un solvant miscible à l'eau, le phénomène étant similaire à l'effet Ouzo[47].

I.1.2.2. Procédés physico-chimiques

Les nanoparticules peuvent être préparées à partir d'un polymère déjà synthétisé. Le polymère est solubilisé dans un solvant organique ou aqueux puis l'environnement physico-chimique du polymère est modifié (évaporation ou dilution du solvant dans un non-solvant, modification du pH ou de la température, etc.) afin provoquer sa précipitation sous forme de nanoparticules.

I.1.2.2.1. Evaporation de solvant

L'évaporation de solvant est la première méthode qui a été développée pour préparer des nanosuspensions à partir de polymère préformé[59]. Le polymère est solubilisé dans un solvant organique immiscible à l'eau. La phase organique est ensuite ajoutée à une phase aqueuse – constituée d'eau et parfois de tensioactifs – de manière à former une émulsion simple ou double. La diffusion puis l'évaporation du solvant conduisent à la formation de particules de polymère (figure 2)[17, 60]. L'émulsion est préparée par agitation mécanique ou ultrasonication. L'évaporation est réalisée sous agitation, sous pression réduite ou en augmentant la température. Les nanoparticules sont collectées par centrifugation, lavées à l'eau et lyophilisées. Les polymères couramment utilisés sont l'acide polylactique (PLA)[61], l'acide poly(lactique-co-glycolique) (PLGA)[62], la polycaprolactone (PCL)[63] ou l'éthylcellulose[64]. Les solvants chlorés comme le dichlorométhane ou chloroforme ont été progressivement remplacés par des solvants moins toxiques comme l'acétate d'éthyle[65].

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

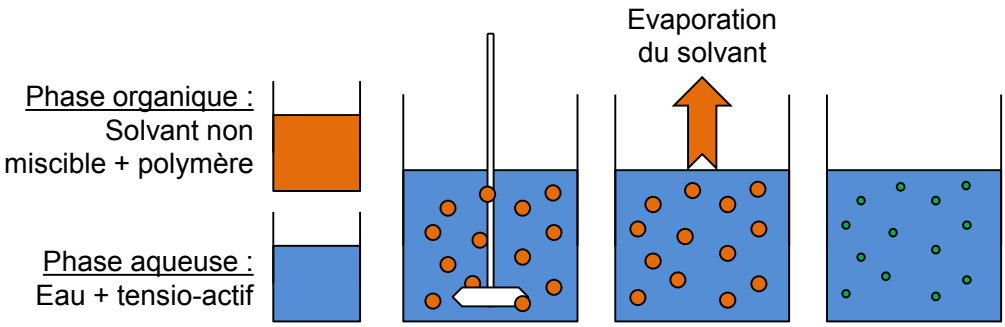


Figure 2. Représentation de la méthode d'émulsion-évaporation.

I.1.2.2.2. Salting-out

Le salting-out (ou relargage) est une méthode qui utilise des solvants organiques moins nocifs pour l'homme et son environnement que l'évaporation de solvant[66]. Le polymère est solubilisé dans un solvant organique miscible à l'eau en toute proportion. Un électrolyte est solubilisé dans l'eau afin de réduire la miscibilité entre le solvant et la phase aqueuse. La phase organique et la phase aqueuse sont émulsifiées sous agitation mécanique. L'addition d'eau entraîne la diffusion du solvant et la précipitation du polymère sous forme de nanoparticules (figure 3)[67]. Les électrolytes les plus courants sont le chlorure de magnésium[68] ou de calcium et l'acétate de magnésium[69]. Cette technique est applicable au PLA, au polyméthacrylate ou à l'éthylcellulose[70].

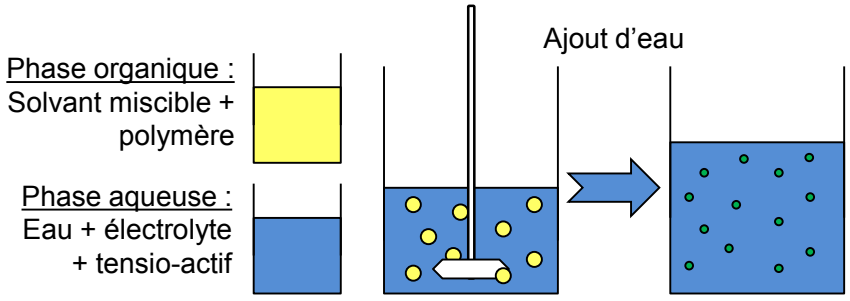


Figure 3. Représentation de la méthode de relargage.

I.1.2.2.3. Emulsion-diffusion

Ce procédé est similaire à celui du salting-out. Le solvant organique est cette fois-ci partiellement miscible à l'eau. Le polymère est solubilisé dans le solvant. Une quantité d'eau est ajoutée à la phase organique afin d'obtenir deux phases mutuellement saturées. Le mélange est émulsifié par agitation mécanique. Comme pour la méthode du relargage, l'ajout d'eau à l'émulsion rompt l'équilibre thermodynamique et permet la diffusion du solvant et la

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

précipitation du polymère sous la forme de nanoparticules (figure 4)[71]. Les principaux polymères utilisés en émulsion-diffusion sont le PLGA[71] et le PLA[72].

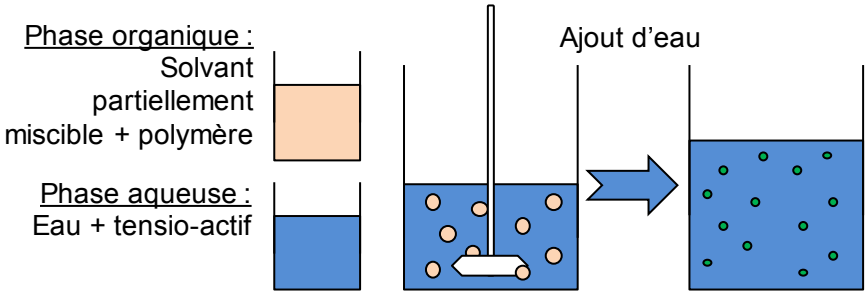


Figure 4. Représentation de la méthode d'émulsion-diffusion

I.1.2.2.4. Expansion rapide de fluide supercritique

Les fluides supercritiques comme le CO_2 ont pour avantage d'être plus respectueux de l'environnement que les solvants traditionnels[73]. Le polymère est solubilisé dans du CO_2 supercritique. La solution de polymère est conduite via un capillaire jusqu'à une buse. Cette sortie est connectée à une chambre remplie d'air (« Rapid Expansion of Supercritical Solution » ou RESS[74]) ou d'un liquide dans lequel le polymère n'est pas soluble (« Rapid Expansion of Supercritical Solution into Solvent » ou RESSOLV[75]). Dans les deux cas, l'expansion du CO_2 provoque une super-saturation de la solution polymère sous la forme de zones de nucléation homogènes à partir desquelles se forment les nanoparticules (figure 5). Le CO_2 peut être remplacé par du pentane ou de l'ammoniac par exemple[76], bien que ces fluides soient moins utilisés. Le défaut majeur de cette méthode est le nombre restreint de polymères solubles dans les fluides supercritiques. Le PLA est le principal polymère compatible avec l'utilisation de CO_2, mais on trouve aussi la PCL ou le polystyrène[77, 78].

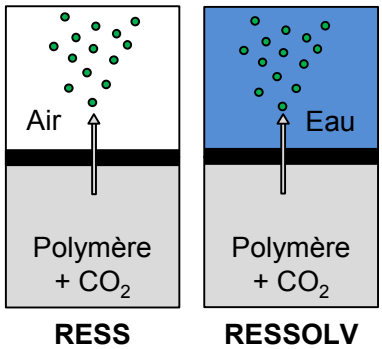


Figure 5. Représentation de la méthode d'expansion de CO_2 supercritique.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

I.1.2.2.5. Modification du pH ou de la température

Le procédé suivant est basé sur une diminution de la solubilité d'un polymère dans un solvant organique ou aqueux par modification de ses propriétés physico-chimiques, en jouant sur le pH ou la température (figure 6).

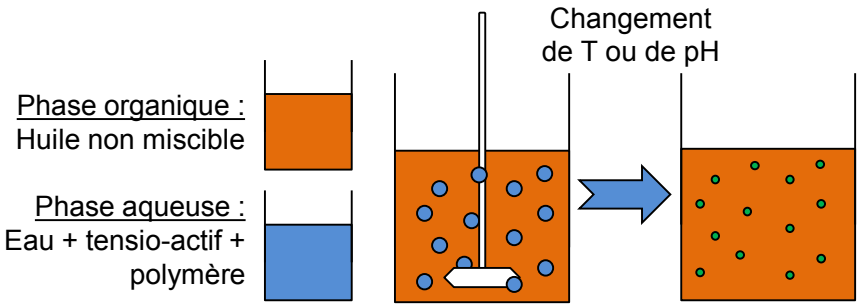


Figure 6. Représentation des méthodes de modification du pH ou de la température.

Ce procédé est indiqué pour les polymères d'origine naturelle comme l'albumine[79], la gélatine[80], l'alginate[81], le chitosane[82] ou l'agarose[83].

- Modification de la température du milieu

La gélatine, l'agarose et l'albumine sont trois polymères dont la solubilité dans l'eau varie avec la température : la gélatine et l'agarose sont solubles dans l'eau au-delà d'une certaine température, mais gélifient en refroidissant. A l'inverse, l'albumine est liquide et hydrosoluble à température ambiante et se solidifie à plus haute température par coagulation.

En exploitant la thermo-sensibilité de ces trois polymères, il est possible de préparer des nanoparticules : dans un premier temps, le polymère est solubilisé dans l'eau à une température adéquate ; une émulsion eau-dans-huile est ensuite formée par sonication ; puis une modification rapide de la température provoque la solidification des gouttes. Plus précisément, dans le cas de la gélatine[80] ou de l'agarose[83], les gouttes gélifient lorsque l'émulsion est refroidie dans un bain de glace[80], ou par addition d'huile froide[83]. Dans le cas de l'albumine, les gouttes coagulent lors du traitement de l'émulsion à 95-170°C[84] Après lavage, les nanoparticules de gélatine peuvent être réticulées avec un aldéhyde[80]. Le traitement thermique des gouttes d'albumine peut quant à lui être remplacé par un traitement chimique par réticulation avec un aldéhyde à température ambiante[79].

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

- Modification du pH du milieu

L'alginate et le chitosane sont deux polymères naturels dont la solubilité dans l'eau varie avec le pH : en milieu acide, l'alginate est insoluble dans l'eau. En revanche, en milieu basique, les charges négatives des fonctions carboxylate permettent sa solubilisation dans l'eau. De manière analogue, le chitosane est insoluble dans l'eau en milieu basique, mais soluble en milieu acide grâce à la protonation des fonctions amine.

La préparation de nanoparticules à partir de ces polymères est basée sur leur sensibilité au pH. Le polymère est solubilisé dans l'eau à un pH adéquat puis la phase aqueuse est dispersée dans une phase organique à l'aide d'un agitateur ultra-Turax. Une variation brusque du pH permet ensuite la précipitation du polymère dans les gouttes aqueuses. Dans le cas de l'alginate, le pH est diminué par ajout d'acide acétique dans la phase continue organique[81]. Dans le cas du chitosane, le pH est augmenté par ajout d'une émulsion eau-dans-huile d'hydroxyde de sodium dans l'émulsion de chitosane préparée auparavant[85].

La formation de nanoparticules est aussi possible par coacervation complexe de deux polymères (un polyanion, un polycation). (comme le tripolyphosphate, ou polyacide acrylique ou alginate) en modifiant le pH jusqu'à atteindre le pH isoélectrique[82]. La création de liaisons ioniques entre les différents groupes chargés assure la cohésion des nanoparticules.

I.1.2.2.6. Dépôt couche par couche

La méthode du dépôt couche par couche (layer-by-layer ou LbL) consiste à déposer des couches nanométriques successives de polymères ioniques de charges opposées jusqu'à formation de nanoparticules[86] (figure 7). Les couches sont déposées autour d'un cœur organique (nano gouttes d'huile[87]) ou inorganique sacrificiel (nanosphères de silice[88, 89]). Après préparation des nanoparticules, le cœur de silice peut être éliminé afin d'obtenir des nanocapsules creuses. A la fin de chaque étape de dépôt, le milieu doit être lavé par centrifugation afin d'éliminer l'excès de polymère ionique, ce qui peut être long et fastidieux[90]. Cette technique est compatible avec des polymères ioniques naturels[87] ou synthétiques[88]. Il est possible de préparer des nanosuspensions pH-sensibles par cette méthode puisque la cohésion des nanoparticules repose sur des interactions ioniques[88].

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

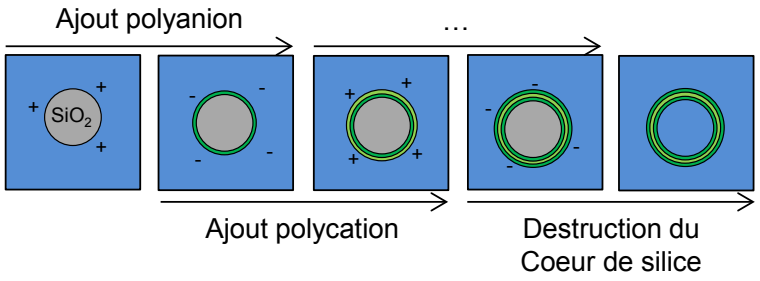


Figure 7. Représentation de la méthode de dépôt couche par couche à partir d'un cœur inorganique sacrificiel.

I.1.2.2.7. Nanoprécipitation

La nanoprécipitation (ou déplacement de solvant) consiste en l'addition progressive d'une phase organique – constituée d'un solvant miscible à l'eau en toute proportion et de polymère – dans une phase aqueuse sous agitation mécanique (barreau aimanté) (figure 8).

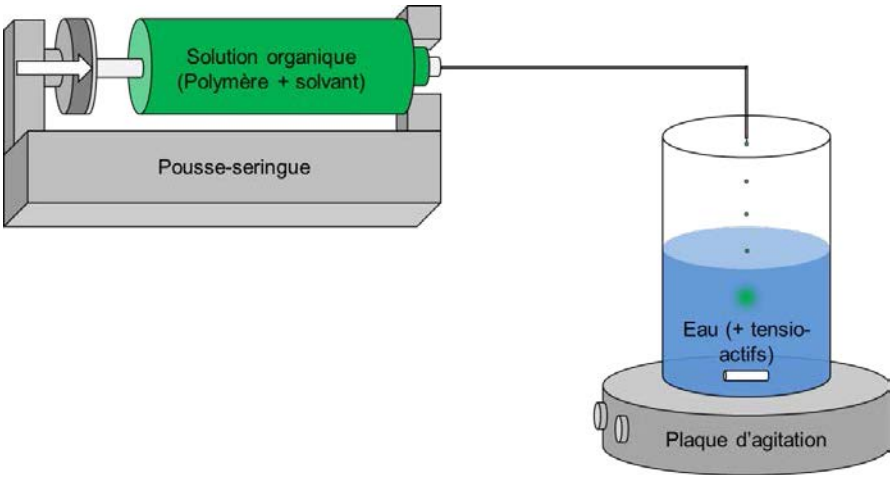


Figure 8. Protocole classique de nanoprécipitation.

Lorsque les phases organique et aqueuse sont mises en contact, les deux liquides diffusent l'un vers l'autre. La solubilité du polymère dans les gouttes diminue jusqu'à sa précipitation sous forme de nanoparticules. La phase aqueuse peut contenir un tensioactif qui stabilisera la nanosuspension, mais ce n'est pas systématique. L'ajout d'une huile végétale inerte dans la phase organique permet l'obtention de nanocapsules de polymères : les nano-gouttes d'huile sont dispersées dans le polymère pour former un système cœur-écorce mono ou pluricompatimental[91]. Un principe actif peut être encapsulé dans les nanoparticules s'il est solubilisé dans la phase organique avant nanoprécipitation. Le premier brevet présentant la nanoprécipitation remonte à 1988[92].

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

I.2. Préparation de nanosphères de polymère par nanoprécipitation

La méthode de nanoprécipitation s'appuie sur un polymère synthétisé et purifié avant usage. En conséquence, le risque d'encapsulation de traces de monomère, d'oligomère ou de réactifs pouvant être toxiques est évité[93]. D'autre part, au cours de la nanoprécipitation, la nanosuspension se forme spontanément, sans qu'une agitation mécanique soutenue soit nécessaire (comme c'est le cas pour les miniémulsions préparées par ultrasonication)[94]. Ce procédé permet donc une économie énergétique manifeste.

Les limitations de la nanoprécipitation sont inhérentes au système polymère/solvant/eau, le polymère devant être soluble dans le solvant, insoluble dans l'eau et le solvant miscible à l'eau. De plus, la nanoprécipitation produit peu de nano-objets car la solution de polymère est généralement diluée.

Afin de mieux comprendre les phénomènes d'inter-diffusion solvant/eau et de la précipitation simultanée du polymère, il est nécessaire de s'intéresser aux mécanismes de la nanoprécipitation présentés dans la littérature.

I.2.1. Mécanismes de formation des nanoparticules

La formation de nanoparticules de polymère par nanoprécipitation repose sur un équilibre entre le polymère, le solvant organique et l'eau. Sur un diagramme ternaire solvant/eau/polymère, la formation d'une nanosuspension de polymère apparaît dans une région métastable délimitée par la courbe de solubilité limite du polymère dans le milieu (courbe binodale) d'un côté, et la courbe de stabilité thermodynamique limite du polymère dans le milieu (courbe spinodale) de l'autre (figure 9)[95, 96].

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

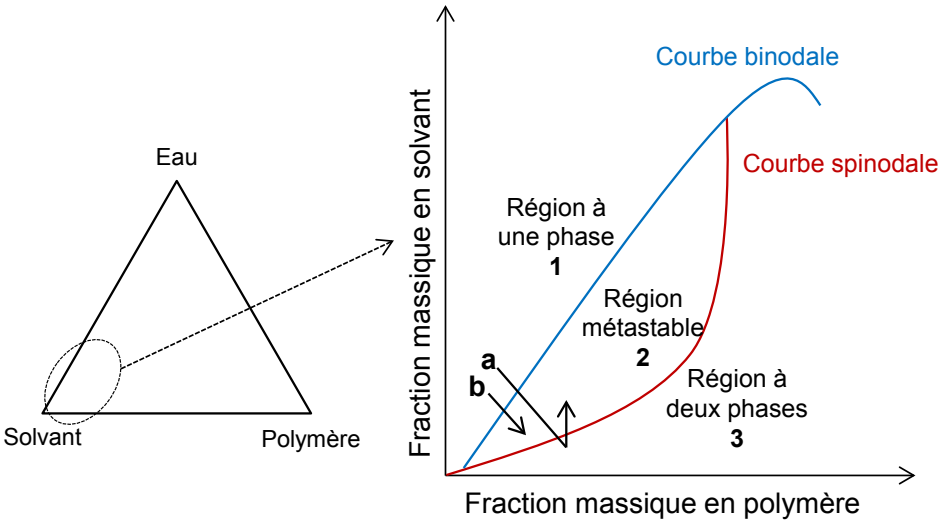


Figure 9. Evolution du système polymère/solvant/eau conduisant à la nanoprécipitation, selon le mécanisme de diffusion de solvant (chemin a) et mécanisme de nucléation-croissance (chemin b).

Lorsqu'une goutte de phase organique est ajoutée dans la phase aqueuse, le système se situe initialement dans une région **1** constituée d'une phase (la solution de polymère), puis dérive au fur et à mesure de la diffusion du solvant (la proportion d'eau augmente), jusqu'à franchir la courbe binodale. Le polymère n'est alors plus soluble dans le mélange solvant/eau. A partir de cette étape, deux hypothèses sont proposées pour expliquer que le système ne déphase pas macroscopiquement et forme une nanosuspension[1]. La première décrit un passage au travers de la région métastable (**2**), un franchissement de la courbe spinodale vers la région de séparation de phase (**3**) et finalement un retour vers la région métastable (**2**) (chemin a sur la figure 9). Cette hypothèse a été proposée par Quintanar *et al.*[70] en 1998. Leur explication du phénomène est basée sur la diffusion du solvant induite par un gradient de tension interfaciale. La seconde hypothèse stipule que le système reste dans la région métastable (**2**) où les nanoparticules vont se former par nucléation-croissance (chemin b sur la figure 9). Cette hypothèse a été proposée par Lince *et al.*[97] en 2008.

I.2.1.1. Diffusion du solvant

Conformément à l'effet Gibbs-Marangoni, le solvant organique – de tension superficielle plus faible que l'eau – diffuse plus rapidement dans l'eau que l'eau dans le solvant et provoque un gradient de tension interfaciale dans l'axe de la diffusion. Ce gradient est le moteur de la diffusion qui s'opère par pulsations erratiques à la surface de la goutte [98]. Ces turbulences interfaciales, plus ou moins amorties selon la viscosité du milieu, prennent la forme de

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

tourbillons qui entraînent des nano-gouttes organiques dans le milieu continu aqueux. Le solvant organique se libère des nano-gouttes par diffusion et le polymère insoluble dans l'eau précipite sous forme de nanoparticules (figure 10).

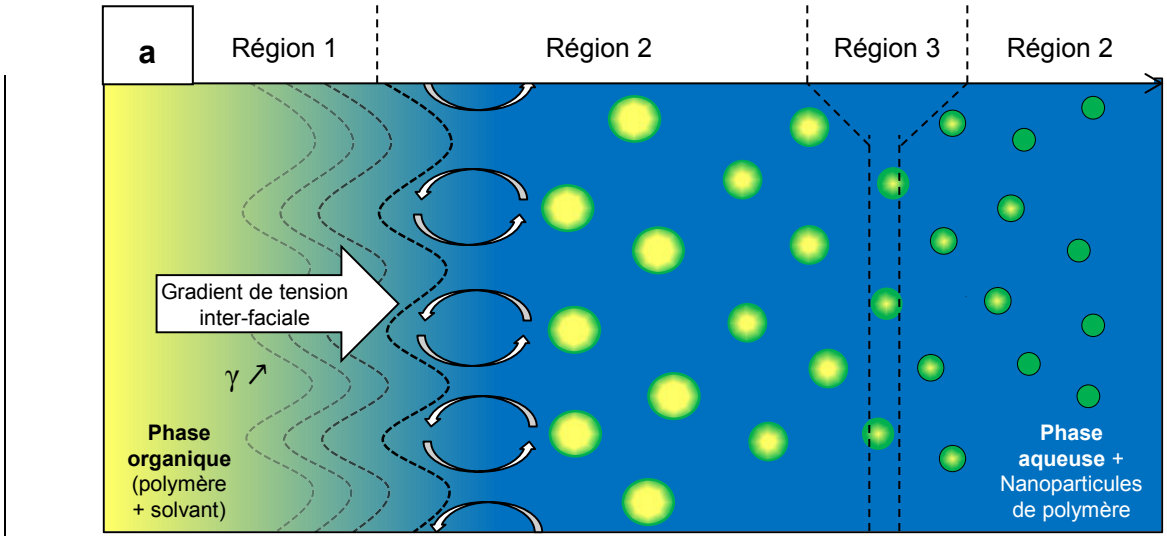


Figure 10. Mécanisme de nanoprécipitation basé sur la diffusion du solvant organique.

L'intensité du gradient de tension interfaciale peut être estimée à l'aide du nombre de Marangoni (Ma). La diffusion est permise lorsque Ma est supérieur à une valeur critique, spécifique au couple solvant/non-solvant[99]. Dans le cas d'un gradient de tension interfaciale lié à un gradient de concentration[100], Ma est exprimé par :

$$Ma = \frac{\Delta\gamma . \Delta C}{\eta . D} \qquad (1)$$

$\Delta\gamma$ est le gradient de tension interfaciale, . C le gradient de concentration en solvant, η la viscosité de la phase organique et D le coefficient de diffusion du solvant organique vers la phase aqueuse. Cette équation met en évidence le caractère inhibiteur de la viscosité sur la diffusion. D'autre part, plus le ratio volumique entre phase organique et phase aqueuse est grand, plus $\Delta\gamma$ est élevé[101], donc plus Ma est élevé. La diffusion du solvant à l'origine de la nanoprécipitation est aussi gouvernée par la convection naturelle – liée au gradient de concentration en solvant dans la solution – ou induite par une agitation[101].

I.2.1.2. Nucléation-croissance

La nanoprécipitation peut avoir lieu en présence[102] ou en absence[95] de tensioactifs. Cela suggère que l'effet Gibbs-Marangoni n'est pas prépondérant, puisque les tensioactifs abaissent la tension interfaciale du milieu et réduisent le gradient de tension interfaciale qui

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

est le moteur du mécanisme décrit précédemment[103]. Ainsi, au lieu de se baser sur la diffusion du solvant, Lince *et al.* se sont intéressés à la stabilité du polymère au cours du processus. Lorsque la phase organique est en contact avec la phase aqueuse, la concentration locale en polymère augmente progressivement jusqu'à atteindre la limite de solubilité du polymère. Quelques chaînes polymères s'agencent autour de points de nucléations pour former des proto-particules de quelques nanomètres. Chaque proto-particule croît par adsorption de chaînes polymères à sa surface. Enfin, les proto-particules entrent en collision et s'agrègent, ce qui conduit à la formation de particules de plusieurs dizaines ou centaines de nanomètres. Il s'agit d'un processus de nucléation-croissance en trois étapes (figure 11)[104]. La séparation de phase sous la forme de proto-particules est le scénario le plus favorable énergétiquement[105].

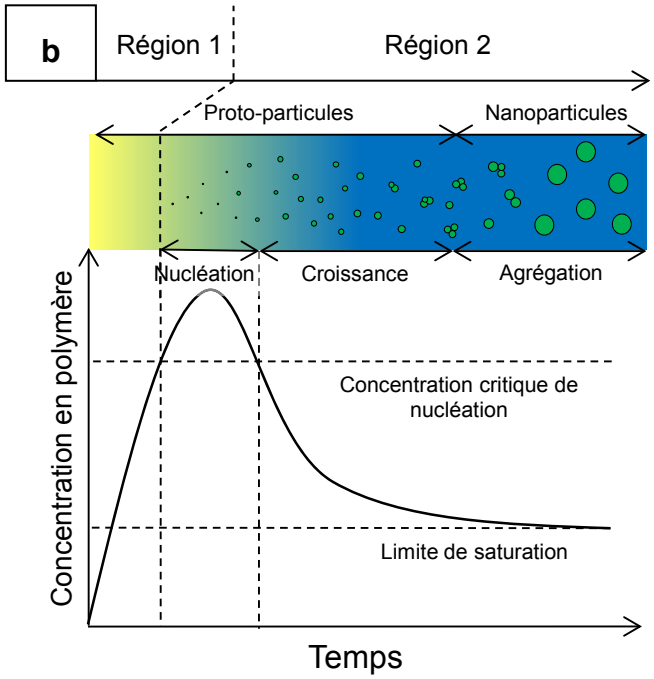


Figure 11. Mécanisme de nanoprécipitation basé sur la nucléation-croissance.

La nucléation est un phénomène gouverné par le taux de nucléation (J) définit selon l'équation 2 :

$$J = \frac{2.D}{d^5}.\exp\left(-\frac{16.\pi.\gamma^3.\tilde{v}}{3.{k_B}^3.T^3.[\ln(S)]^2}\right) \qquad (2)$$

D est la diffusion de la chaîne polymère dans le mélange solvant/eau local, d le diamètre hydrodynamique de cette chaîne polymère, k_B la constante de Boltzmann, T la température du système, γ la tension interfaciale entre la particule et la phase dispersante, $\tilde{v}$ le volume molaire

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

du polymère et S la super-saturation (ratio de la concentration effective de polymère et sa solubilité dans le mélange local solvant/eau). Lorsque la proto-particule dépasse un certain rayon critique (r*), sa croissance peut démarrer. r* est fonction de γ et de la différence d'enthalpie libre par unité de volume entre la particule et la phase dispersante (Δg_V)[105] :

$$r^* = -\frac{2.\gamma}{\Delta g_V} \quad (3)$$

La croissance (G) est fonction de la masse molaire moyenne en masse du polymère $\overline{M_w}$, sa densité ρ, sa concentration C dans la phase dispersante, son coefficient de transfert de masse k_m ainsi que de la super-saturation S[97] :

$$G = \frac{2.k_m.\overline{M_w}.C}{\rho}(S-1) \quad (4)$$

Au fur et à mesure de la croissance des proto-particules, la concentration en polymère dans le milieu de dispersion diminue, la super-saturation tend vers 1 et le phénomène de croissance laisse place à celui de l'agrégation. Pour Horn *et al*., l'agrégation s'opère par murissement d'Oswald[105], tandis que pour Lince *et al*., elle s'accomplit par collisions entre proto-particules[97], le taux d'agrégation (ratio entre le nombre de particules subissant une agrégation et le nombre total de particules) étant proportionnel au carré de la concentration en proto-particules. Les collisions sont en grande partie causées par le mouvement Brownien des particules (agrégation péri-cinétique)[106]. Pour deux particules A et B de rayons respectifs r_A et r_B, le taux d'agrégation (Agr) est défini par[107] :

$$Agr = \frac{8k_B.T}{3\eta}\frac{(r_A+r_B)^2}{r_A.r_B} \quad (5)$$

Avec T la température du système et η la viscosité de la phase dispersante.

Parmi toutes les collisions, seules certaines, dites efficaces, conduisent à l'agrégation de deux particules. La proportion de collisions efficaces varie selon l'équilibre des forces d'attraction et de répulsion qui agissent sur les deux particules, et la viscosité du fluide (majoritairement aqueux) à drainer pour permettre leur contact[97].

Le temps de mélange de la phase organique et de la phase aqueuse durant lequel se forment les nanoparticules par l'un des deux mécanismes est de l'ordre de quelques microsecondes à quelques millisecondes[95, 108].

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

I.2.2. Aspects expérimentaux de la nanoprécipitation

Après avoir décrit les mécanismes proposés pour expliquer la formation des nanoparticules par nanoprécipitation, nous allons aborder maintenant deux aspects pratiques du procédé : les composés (polymère, solvant, tensioactif) et les conditions opératoires (agitation de la phase aqueuse, ajout de la phase organique, élimination du solvant). En nous appuyant sur différents travaux sur la nanoprécipitation, nous présenterons les composés et conditions usuels tout en précisant leur influence sur la taille des nanoparticules préparées. Cette partie est importante pour l'élaboration et l'optimisation du procédé de nanoprécipitation qui seront décrits par la suite dans ce manuscrit.

I.2.2.1. Matériaux utilisés pour la nanosuspension

I.2.2.1.1. Polymère

De nombreux polymères sont compatibles avec la méthode de nanoprécipitation : polysaccharides (amidon[109], chitosane[110]), protéines (gélatine[111], albumine sérique bovine (BSA)[112]), polyesters (PLA[113, 114], PCL[115], PLGA[116]), polyéthers (polyéthylène glycol (PEG)[117]), polyméthacrylates (Eudragit®[118-120]). Parmi eux, les polyesters sont les polymères les plus étudiés[1].

La nature du polymère influence les caractéristiques de la nanosuspension. Un polymère amorphe (comme certains PLA ou PLGA) conduit à la formation de nanoparticules de taille plus faible qu'un polymère semi-cristallin (comme la PCL)[121] car la cristallinité favorise la nucléation de proto-particules plus larges[96].

Dans le cas de la PCL, la masse molaire du polymère n'a pas d'influence sur la taille de particules, le facteur cristallinité étant prépondérant d'après les auteurs[96, 122]. Cependant, dans d'autres études, l'augmentation de la masse molaire de la PCL induit une augmentation de la taille des particules[102]. Le phénomène inverse est observé dans le cas du PLGA[123]. Le fait que la nanoprécipitation d'un polymère de plus haute masse molaire aboutisse à la formation de nanoparticules de taille plus élevée peut s'expliquer en considérant la viscosité de la solution de polymère : d'après l'équation de Mark-Houwink[124] (équation 6), une augmentation de la masse molaire du polymère $\overline{M_v}$ induit une augmentation de la viscosité intrinsèque [η], donc du volume occupé par les pelotes de polymère (K et α sont deux constantes).

$$[\eta] = K.\overline{M_v}^{\alpha} \qquad (6)$$

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

L'augmentation de la viscosité de la phase organique induit une diminution de la vitesse de diffusion du solvant vers la phase aqueuse[125]. Ceci a deux effets : d'une part, les particules ont un temps de croissance plus long ; d'autre part, plus de chaînes polymères sont disponibles localement pour s'attacher à la surface de la particule en expansion. En conséquence, la taille des nanoparticules est plus élevée.

I.2.2.1.2. Concentration en polymère dans la phase organique

Un grand nombre de travaux indique qu'une augmentation de la concentration en polymère dans la phase organique induit une augmentation de la taille et de la distribution de taille des particules[97, 126, 127]. En effet, une concentration élevée en polymère entraîne une viscosité de la phase organique élevée et donc la diffusion moins rapide du solvant vers la phase aqueuse[128, 129]. Certaines études mentionnent une concentration critique en polymère C* au-delà de laquelle des agrégats de polymère se forment en plus des nanoparticules du fait de l'enchevêtrement des chaînes de polymères au sein de la phase organique[125, 130]. C'est pour cette raison que Legrand *et al.* recommandent de travailler avec des solutions diluées de polymère[125]. Selon les auteurs, l'augmentation de la taille de particules est proportionnelle à la concentration en polymère (pour le PLGA)[94] ou à la racine cubique de cette concentration (pour la PCL)[122].

I.2.2.1.3. Solvant

La nature du solvant conditionne ses interactions avec le polymère et avec l'eau. Ces dernières influencent la taille des nanoparticules préparées par nanoprécipitation.

Plus les interactions entre le solvant et l'eau sont fortes, plus le diamètre des nanoparticules est faible. Ces interactions peuvent être évaluées en comparant la polarité des deux liquides. Plus la différence de polarité est faible, plus les interactions entre le solvant et l'eau sont fortes. En comparant différents solvants, Bilati *et al.* rapportent que plus la constante diélectrique du solvant est élevée (c'est à dire proche de celle de l'eau), plus les tailles de particules mesurées sont faibles[131]. D'autre part, Thioune *et al.* montrent que l'ajout d'une petite quantité d'eau dans la phase organique permet de diminuer la différence de polarité entre la phase organique et la phase aqueuse, ce qui réduit la proportion de polymère agrégé durant la nanoprécipitation[129].

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Le paramètre d'interaction ($\chi_{s\text{-}w}$) permet de décrire quantitativement les interactions entre le solvant et l'eau[132, 133] :

$$\chi_{S-W} = \frac{V_{m.s}}{RT}(\delta_S - \delta_W)^2 \quad (7)$$

Avec $V_{m.s}$ le volume molaire du solvant, R la constante des gaz parfaits, T la température du système, δ_S et δ_W les paramètres de solubilité du solvant et de l'eau respectivement. Plus la valeur du paramètre $\chi_{s\text{-}w}$ est faible, meilleures sont les affinités chimiques entre le solvant et l'eau. Un solvant dont le paramètre $\chi_{s\text{-}w}$ est faible permet la préparation de nanoparticules de taille faible[131, 134]. Par exemple, dans le cas du PLGA, la taille des nanoparticules préparées à partir de différents solvants peut être classée selon la valeur du paramètre $\chi_{s\text{-}w}$ des solvants : DMSO < acétone < dioxane < THF[94].

De manière analogue, il est possible de décrire quantitativement les interactions entre le polymère et le solvant par le biais du paramètre d'interaction de Flory ($\chi_{s\text{-}p}$) :

$$\chi_{S-P} = \frac{V_{m.p}}{RT}(\delta_S - \delta_P)^2 \quad (8)$$

Avec δ_P le paramètre de solubilité du polymère et $V_{m.p}$ le volume molaire du polymère. Plus la valeur du paramètre de Flory est faible, meilleures sont les affinités chimiques entre le polymère et le solvant. La valeur du paramètre de Flory doit donc être suffisamment faible pour permettre au polymère d'être soluble dans le solvant. Cependant, plusieurs études rapportent que des nanoparticules de PLGA ou de PLA de taille faible sont obtenues lorsque le paramètre de Flory du polymère est élevé[131, 135] ($\chi_{s\text{-}p}$ variant de 0,5 à 2,5[131] ou de 0,4 à 1,2[135] selon les études). Les auteurs supposent que la diffusion du solvant vers la phase aqueuse est plus rapide lorsque l'affinité chimique entre le polymère et le solvant est faible[131]. Une autre explication repose sur le mécanisme de nucleation-croissance décrit en I.2.1.2 : dans un bon solvant, la solubilité du polymère est plus élevée donc la valeur de la super-saturation S est plus faible. Par conséquent, l'étape de croissance des proto-particules est plus longue et des nanoparticules de taille plus élevée sont formées[114].

Plusieurs auteurs indiquent que les solvants thêta sont les plus adaptés à la méthode de nanoprécipitation[95, 125, 134]. Dans un solvant thêta, le paramètre de Flory du polymère égal à 0,5. Les chaînes macromoléculaires se comportent comme des pelotes idéales[136], ce qui permet leur précipitation sous la forme de nanoparticules de faible taille. D'autre part, le

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

coefficient de Huggins (k) d'un solvant thêta est égal à 0,5. k est déterminé par l'équation de Huggins[137] :

$$\frac{\eta_{sp}}{C} = \frac{1}{C} \times \frac{\eta - \eta_0}{\eta_0} = [\eta] + k.[\eta]^2.C \qquad (9)$$

Avec η_{sp} la viscosité spécifique, η la viscosité cinématique de la solution de polymère à la concentration C, η_0 la viscosité cinématique du solvant et $[\eta]$ la viscosité intrinsèque de la solution de polymère. Comme le paramètre de Flory, le coefficient de Huggins permet d'évaluer la qualité du solvant pour un polymère donné : le solvant est bon pour $k < 0,5$, mauvais pour $k > 0,5$.

Pour un polymère donné à une concentration donnée, la viscosité de la phase organique est différente selon la nature du solvant utilisé. Moins la phase organique est visqueuse, plus la diffusion du solvant est rapide et plus les nanoparticules sont de taille faible[95, 125, 134].

I.2.2.1.4. Ratio volumique entre phase organique et phase aqueuse

Le ratio volumique entre phase organique et phase aqueuse est également un paramètre qui peut conditionner la vitesse de diffusion du solvant vers la phase aqueuse. D'après plusieurs études, plus ce ratio est faible, plus la diffusion est rapide, ce qui induit la formation de nanoparticules de faible taille[138, 139]. Cependant, lorsque le ratio est trop faible, la diffusion du solvant est si rapide que le polymère précipite instantanément sous forme d'agrégats[139]. En parallèle de ces résultats, d'autres auteurs indiquent qu'une diminution du ratio permet la formation de nanoparticules de taille faible car cela réduit l'écart de polarité de la solution dispersante entre le début et la fin de la nanoprécipitation[140], ce qui est cohérent avec l'étude réalisée par Bilati *et al.* sur la polarité du solvant organique[131] (voir début du paragraphe précédent).

Plusieurs auteurs notent que la variation du ratio volumique n'a pas d'influence sur la taille des nanoparticules obtenues[96, 128]. Leurs résultats peuvent être expliqués par le fait que ce ratio n'est pas le seul paramètre qui conditionne la vitesse de diffusion du solvant, comme nous le verrons plus loin (I.2.2.2.1 et I.2.2.2.2).

I.2.2.1.5. Tensioactif

La stabilisation de la nanosuspension est cruciale pour maintenir des particules de taille nanométrique car des phénomènes comme le murissement d'Oswald, la coalescence ou l'agrégation peuvent conduire à d'importants accroissements de taille et de polydispersité au

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

cours du temps[95]. Les tensioactifs classiques sont les agents stabilisants les plus utilisés. Cependant, les nanoparticules de polymère peuvent être aussi stabilisées par des polymères amphiphiles ou des polyélectrolytes[93].

Les tensioactifs génèrent une barrière stérique et/ou électrostatique à la surface des nanoparticules. Idéalement, cette barrière limite le rapprochement entre deux nanoparticules de polymère. Les tensioactifs permettent ainsi d'éviter les phénomènes de coalescence ou de floculation des nanoparticules. Les tensioactifs électrostatiques fournissent une meilleure protection aux nanoparticules que les tensioactifs stériques car ils génèrent des forces de répulsion à plus grande distance[141].

Lors de la nanoprécipitation de PCL solubilisée dans de l'acétone, Mora-Huertas *et al.* notent que l'utilisation de tensioactifs ioniques (SDS, bromure de cétrimonium (CTAB)) permet d'obtenir des nanoparticules de PCL de taille plus faible que l'utilisation de tensioactifs non ioniques (alcool polyvinylique (PVA), TWEEN 80)[96].

Certains protocoles de nanoprécipitation sont réalisés sans agent stabilisant[134, 142]. Ceci est justifié lorsque les nanoparticules sont constituées de copolymères dont les motifs hydrophiles génèrent un volume exclu autour des nanoparticules – occupé seulement par des molécules d'eau –[143] ou lorsqu'elles sont chargées (c'est-à-dire avec un potentiel zêta élevé)[144]. Dans le cas des nanoparticules chargées, Roger *et al.* montrent que la polydispersité en tailles des nanoparticules tend à diminuer au cours du temps car la coalescence des particules de tailles très différentes est favorisée[145].

Selon la théorie proposée par Lebouille *et al.*[122] et Lannibois *et al.*[146], il y aurait une compétition entre d'un côté la croissance et l'agrégation des proto-particules et de l'autre l'adsorption du tensioactif à la surface des nanoparticules. Au cours de la croissance des proto-particules, la surface de contact entre le polymère et le milieu de dispersion augmente et avec elle l'énergie interfaciale du système. Plus cette énergie est élevée, plus l'adsorption du tensioactif à la surface des nanoparticules est favorisée. Lorsque les nanoparticules sont entièrement couvertes par le tensioactif, leur croissance est stoppée (le système est cinétiquement gelé).

En outre, Lebouille *et al.* observent que les tensioactifs de faible masse molaire permettent la formation de nanoparticules de taille faible[122]. Selon les auteurs, ces tensioactifs ont une diffusivité plus élevée dans le milieu de dispersion, ils peuvent donc d'adsorber à la surface des nanoparticules plus rapidement et stopper leur croissance plus tôt.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

I.2.2.1.6. Concentration en tensioactif dans la phase aqueuse

Selon plusieurs auteurs, l'augmentation de la concentration en tensioactif dans la phase aqueuse permet d'obtenir des nanoparticules de taille et de distribution de tailles plus faibles[147-150]. Lebouille *et al.* observent que lorsque la concentration en tensioactif (Pluronic F127) est élevée, l'adsorption des molécules de tensioactif à la surface des nanoparticules est rapide, ce qui stoppe leur croissance plus tôt[122]. Les auteurs conseillent de travailler avec un excès de tensioactif : la quantité de tensioactif introduite dans la phase aqueuse doit être supérieure à la quantité de tensioactif nécessaire pour couvrir la surface totale des nanoparticules formées au cours de la nanoprécipitation. Cependant, plusieurs études indiquent que la concentration en tensioactif n'a pas d'effet significatif sur la taille des nanoparticules[93, 151]. Selon Mora-Huertas *et al*., le tensioactif n'intervient pas lors de la formation des nanoparticules de PCL[96].

Le cas du PVA de masse molaire élevée est particulier. Sa présence dans l'eau augmente significativement la viscosité de la phase aqueuse. De fait, l'augmentation de la concentration en PVA ($\overline{M_w}$ = 25 000 g/mol) ralentit la diffusion du solvant vers la phase aqueuse et augmente le temps de croissance et la taille des nanoparticules[139].

I.2.2.2. Conditions opératoires de la nanoprécipitation

I.2.2.2.1. Vitesse d'agitation de la phase aqueuse

Une vitesse d'agitation élevée accélère la diffusion du solvant vers la phase aqueuse et conduit à des nanoparticules de taille faible[152]. Au contraire, une agitation trop lente induit l'apparition de zones de saturations hétérogènes à partir desquelles les nanoparticules peuvent s'agréger[153]. Le temps de mélange – défini comme le temps nécessaire à l'inter-diffusion des phases organique et aqueuse – est un critère important. Selon Lebouille *et al*., un temps de mélange faible permet l'obtention de nanoparticules de taille et de distribution de tailles faibles[122].

I.2.2.2.2. Débit d'addition de la phase organique

La littérature présente des résultats contradictoires : augmentation[140, 154] ou diminution[97, 155] de la taille des particules suite à une augmentation du débit d'addition. Lors de l'addition au goutte-à-goutte de la phase organique dans la phase aqueuse, l'augmentation du débit d'addition a deux effets antagonistes : la diminution du diamètre des gouttes en sortie de l'aiguille (puisque une pression plus élevée est appliquée sur la phase organique dans la

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

seringue)[148] et l'augmentation du temps de mélange des deux phases[96]. Selon les auteurs, la diminution du diamètre des gouttes favoriserait la formation de nanoparticules de taille faible[148]. L'augmentation du temps de mélange augmente quant à elle le temps de croissance des proto-particules et favorise la formation de nanoparticules de taille élevée. Le second effet peut être contrebalancé en augmentant la vitesse d'agitation de la phase aqueuse.

I.2.2.2.3. Méthode d'addition de la phase organique

L'addition de la phase organique au goutte-à-goutte est la méthode d'addition la plus utilisée. L'injection de la phase organique directement dans la phase aqueuse permet cependant l'obtention de nanoparticules de taille plus faible[96]. Les auteurs supposent que lorsque l'aiguille est immergée dans la phase aqueuse, la goutte de phase organique subit une contrainte de cisaillement causée par l'agitation magnétique (200 rpm). Le cisaillement de la goutte favorise la diffusion rapide du solvant.

D'après Aubry *et al*., l'addition de la phase aqueuse dans la phase organique permet d'obtenir des nanoparticules de polyméthacrylate de méthyle (PMMA) de même taille que l'addition de la phase organique dans la phase aqueuse, à condition que cette addition soit effectuée au goutte-à-goutte[156].

Plusieurs auteurs ont réalisé des essais de nanoprécipitation flash[97, 157, 158]. Les phases organiques et aqueuses sont agitées dans deux réservoirs distincts puis pompées afin d'être mises en contact dans une intersection en T. En sortie, le mélange est versé dans un troisième réservoir. Ce procédé présente l'avantage d'être exploitable à l'échelle industrielle. La nanoprécipitation dans un mélangeur en T permet d'obtenir des nanoparticules de taille plus faible que la nanoprécipitation classique car le temps de mélange des deux phases (qui conditionne la croissance des particules) est mieux contrôlé. Cependant, la polydispersité en taille des nanosuspensions générées est plus élevée car les deux phases sont soumises à d'importantes turbulences au cours du mélange.

I.2.2.2.4. Elimination du solvant organique

L'élimination du solvant organique est une étape obligatoire pour des applications biomédicales[95]. D'autre part, elle permet d'améliorer la stabilité des nanoparticules puisque le mûrissement d'Oswald est atténué dans des dispersions sans solvant[159].

Les solvants volatils (comme le THF, l'acétone ou l'acétonitrile) peuvent être éliminés par évaporation à pression atmosphérique[103, 119, 127, 152, 155, 160] ou sous vide[85, 87, 88, 118, 120, 140] tandis

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

que les solvants peu volatils (comme le DMSO ou le DMF) peuvent être éliminé par dialyse[94, 159, 161-164] ou centrifugation[117, 131]. Il est possible d'utiliser plusieurs de ces méthodes d'élimination en série[154, 165]. L'évaporation des solvants volatils peut être accélérée par bullage d'azote[166]. Il est aussi possible de réaliser une évaporation flash – la solution dispersante est partiellement vaporisée sous pression réduite et le solvant est entraîné dans la phase gazeuse[159] – ou une extraction avec du CO_2 supercritique[167].

Il est possible de réaliser la nanoprécipitation et la dialyse simultanément[168]. Cette méthode de préparation de nanoparticules de polymère et d'élimination du solvant s'est développée en parallèle de la méthode de nanoprécipitation classique[7]. Elle est compatible avec de nombreux polymères, parmi lesquels le PLA[169], le PMMA[170] ou le PLGA[171].

Bien que l'élimination du solvant soit importante dans le procédé de nanoprécipitation, l'influence de cette étape sur la taille et la distribution de taille des nanoparticules est peu étudiée[95]. Selon Cortial *et al*., l'évaporation de l'acétone n'altère pas les caractéristiques des nanoparticules de PCL[151].

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

I.3. Polyuréthanes sans isocyanate

Dans la partie expérimentale de ce manuscrit, le procédé de nanoprécipitation sera appliqué à plusieurs polyuréthanes dont la synthèse sera réalisée sans isocyanate. Par conséquent, nous allons présenter ces polymères.

I.3.1. Les polyuréthanes

Les polyuréthanes (PU) sont traditionnellement synthétisés par polyaddition entre un polyisocyanate et un polyol[172-175] (figure 12). Ces polymères, dont la biocompatibilité[176] et la biodégradabilité[177, 178] ont été démontrées, sont de bons candidats pour des applications biomédicales en tant qu'implants[179] ou agents de libération de principes actifs[180].

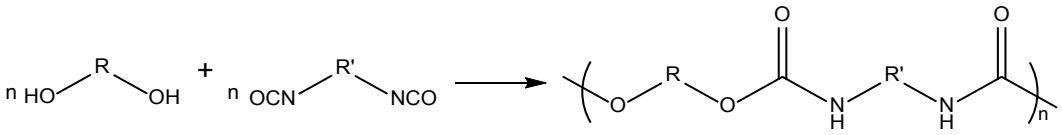


Figure 12. Synthèse d'un polyuréthane par polyaddition entre un diisocyanate et un diol.

Cependant, les isocyanates sont des molécules hautement toxiques[181, 182]. Elles sont synthétisées par condensation d'une amine et de phosgène, gaz lui-même très nocif[183]. D'autre part, les isocyanates sont sensibles à l'eau et l'humidité, leur hydrolyse produisant des polyurées et du dioxyde de carbone. Pour ces raisons, d'autres voies de synthèses de PU ont été développées depuis quelques années afin de s'affranchir des isocyanates[184]. La première synthèse alternative de PU remonte à 1957[185].

I.3.2. Les polyuréthanes sans isocyanate

Les polyuréthanes préparés sans isocyanate (NIPUs pour non-isocyanate polyurethanes) peuvent être préparés selon quatre voies de synthèse : polycondensation, réarrangement, polymérisation par ouverture de cycle et polyaddition[184, 186-191]. L'ensemble des voies de synthèse des NIPUs sont représentées sur la figure 13.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

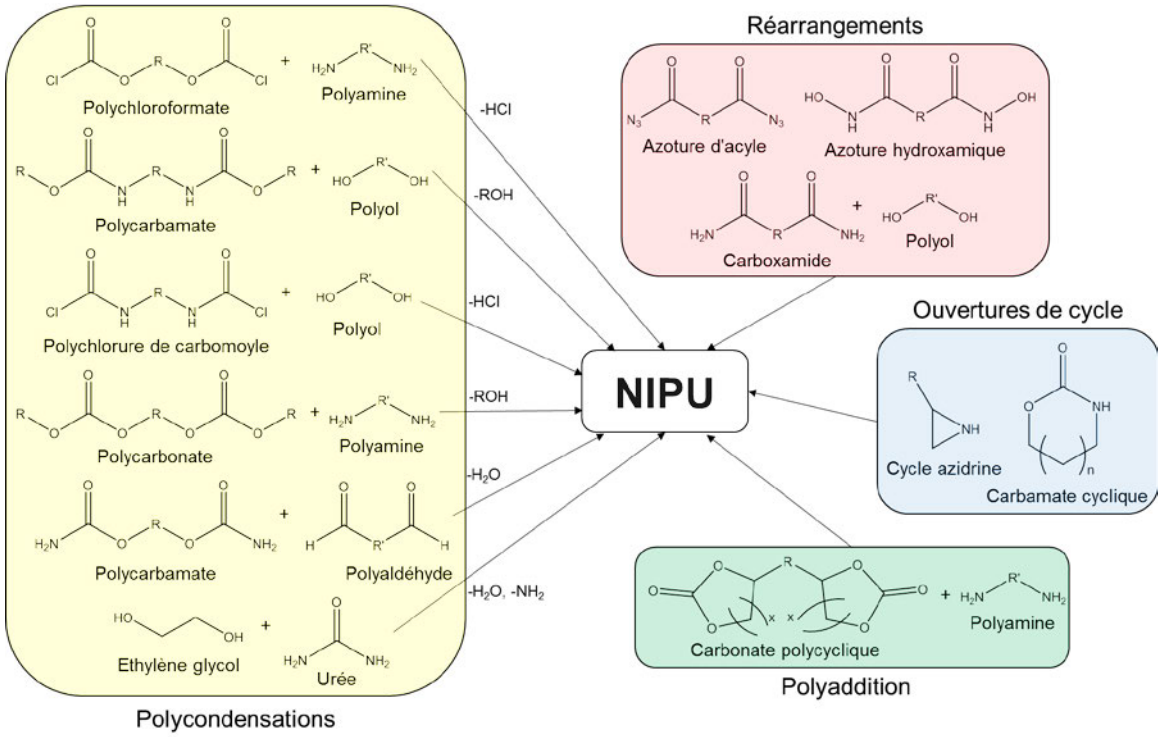


Figure 13. Voies de synthèse des NIPUs.

Les polycondensations décrites dans la littérature – entre un polychloroformate et une polyamine[192], un polycarbamate et un polyol, un polychlorure de carbomoyle et un polyol ou un polycarbonate et une polyamine – nécessitent l'utilisation de phosgène pour synthétiser les précurseurs chloroformates, carbamates ou chlorures de carbomoyle. Certains sous-produits de condensation comme l'acide chlorhydrique ou des alcools posent problème pour des applications industrielles. La polycondensation d'un polycarbamate et d'un polyaldéhyde ne nécessite pas de phosgène mais dégage de l'eau[193]. Malshe rapporte la synthèse de NIPU par polycondensation d'un polyol et d'une urée[184] mais cette réaction est susceptible d'engendrer la formation de multiples produits secondaires indésirables.

Les réarrangements d'azoture d'acyle (dits de Curtius)[194], de carboxamides (de Hoffman) ou d'azotures hydroxamiques (de Lossen) permettent la synthèse d'isocyanates in-situ, capables de réagir avec des polyols par la suite pour donner un PU. Bien que les isocyanates ne soient pas introduits en début de réaction, ils ne sont pas pour autant absents de la synthèse. Pire encore, les précurseurs à l'origine des réarrangements sont des substances très nocives.

La polymérisation par ouverture d'un cycle carbamate aliphatique[195] ou d'un cycle aziridine[196] est une troisième possibilité pour obtenir un NIPU. Cependant, l'obtention du cycle carbamate nécessite de nombreuses étapes réactionnelles. Quant à l'aziridine, il s'agit d'un composé hautement toxique.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Les NIPUs peuvent enfin être obtenus par polyaddition d'un carbonate cyclique et d'une diamine. Cette quatrième voie de synthèse n'utilise pas d'isocyanate ou de phosgène. Les carbonates cycliques, en plus d'être de moindre toxicité, ne sont pas sensibles à l'eau, contrairement aux diisocyanates[184]. A l'inverse des réactions de polycondensation, l'aminolyse du carbonate ne libère pas de composé organique volatil[187].

Un NIPU synthétisé par polyaddition d'un carbonate cyclique et d'une diamine est appelé un poly(hydroxy)uréthane (PHU), en référence aux fonctions hydroxyles primaires et secondaires présentes sur la chaîne principale de ce polymère. De toutes les voies de synthèses de NIPUs énoncées plus haut, la polyaddition apparait être à la fois la plus verte et la plus simple[191].

I.3.3. Les poly(hydroxy)uréthanes

Historiquement, le premier brevet déposé sur la synthèse de PHU date de 1957[197]. Depuis, l'intérêt des industriels pour ces polymères n'a cessé de croître, et avec lui le nombre de brevets et de publications relatifs à leur synthèse[198] (figure 14).

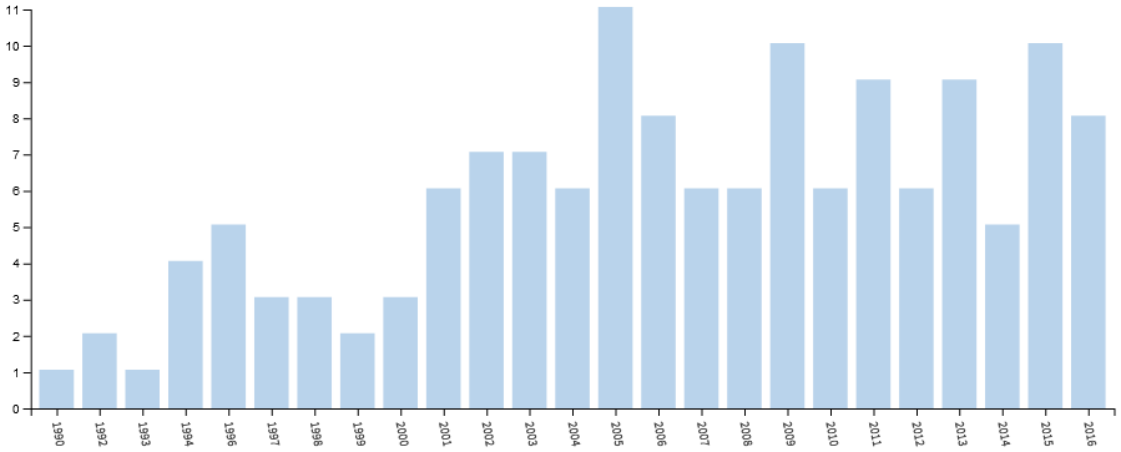


Figure 14. Evolution du nombre de publications portant sur les PHUs en fonction du temps (source : Web of Science, Mars 2018).

I.3.3.1. Synthèse du carbonate cyclique

I.3.3.1.1. Carbonate cyclique à cinq atomes

Les carbonates cycliques à cinq atomes (5CC) peuvent être préparés selon différents procédés, principalement à partir de diols ou d'oxiranes, mais aussi à partir d'autres précurseurs : oligocarbonates linéaires, halogénoalcools, oléfines, alcools propargyliques ou carbonates halogénés[188]. Les procédés de synthèse des 5CC sont représentés sur la figure 15.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

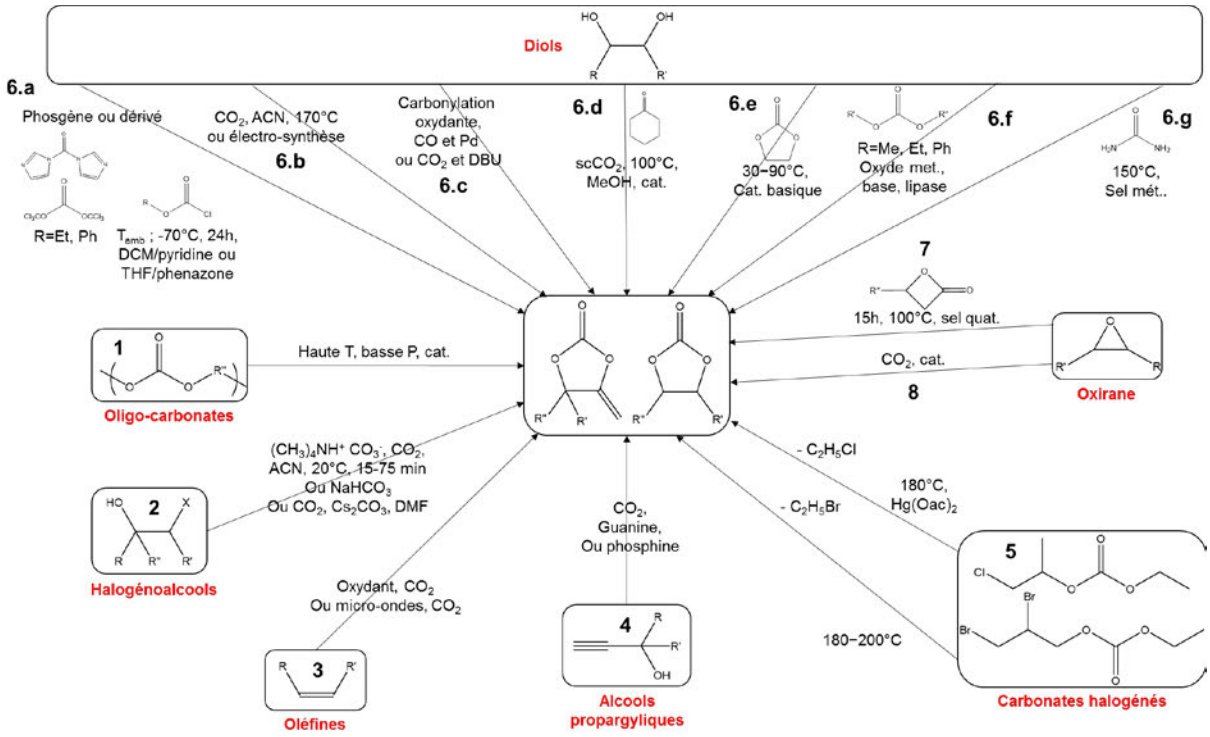


Figure 15. Récapitulatif des voies d'obtention des 5CC[199].

A haute température, à pression réduite et en présence de catalyseurs, la dépolymérisation d'oligocarbonates linéaires produit des 5CC[200] (figure 15.1). Les halogénoalcols réagissent avec du bicarbonate de sodium[201] ou du carbonate de césium[202] pour donner des 5CC (figure 15.2). Les carbonates cycliques sont synthétisables par carboxylation d'oléfines (figure 15.3) ou d'alcools propargyliques (figure 15.4) à l'aide de CO_2[203]. La réaction, catalysée par des guanidines[204] ou des phosphines[205], donne des 5CC. Enfin, les carbonates halogénés peuvent être convertis en carbonates cycliques à haute température[206] (figure 15.5).

Pour ce qui est des précurseurs diols, les 5CC peuvent être obtenus par phosgénation de ces derniers[207] (figure 15.6.a). Bien que de hauts rendements soient obtenus, la présence de phosgène reste problématique. Les diols peuvent réagir avec du CO_2, soit en présence de catalyseurs acétates métalliques[208] soit par électrosynthèse[209] (figure 15.6.b). La carbonylation des diols par du CO[210] est une autre option (figure 15.6.c). La réaction d'un diol comme l'éthylène glycol avec une cyclohexanone conduit à la formation d'un cétal qui, en réagissant avec du CO_2 forme un 5CC[211] (figure 15.6.d). Il est possible d'ajouter un ou plusieurs substituants à un carbonate d'éthylène par réaction avec un diol[212] (figure 15.6.e). La synthèse de 5CCs par réaction entre des diols et des esters de carbonates donne de bons rendements en présence de catalyseurs[213] (figure 15.6.f). Les diols peuvent aussi réagir avec de l'urée pour produire des 5CCs, réaction catalysée par divers oxydes[214] (figure 15.6.g).

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

La dernière voie d'obtention des 5CC utilise les époxy comme réactifs principaux. Bien que la réaction entre un oxirane et un β-butyrolactone ait été étudiée[215] (figure 15.7), ce sont les synthèses impliquant le CO_2 qui sont les plus répandues. L'utilisation de CO_2 dans les synthèses est un avantage écologique et économique considérable[216]. Cette réaction se déroule en température et à pression en CO_2 élevées, en présence d'un catalyseur (figure 15.8). Le CO_2 est à la fois un réactif et un solvant aprotique de la réaction[217]. Un grand nombre de catalyseurs a été développé pour cette synthèse, mais les halogénures d'ammonium quaternaires sont les plus communément utilisés[218-220]. En ce qui concerne le mécanisme réactionnel, il se décompose en trois étapes[221] : le cycle oxirane subit d'abord une attaque nucléophile de l'anion halogénure issu du catalyseur. L'oxygène du cycle attaque à son tour le carbone du CO_2 et le cycle oxirane s'ouvre. Enfin, le départ de l'halogénure permet la fermeture du cycle carbonate.

Un cas particulier parmi les carbonates cycliques à cinq atomes est le carbonate de glycérol, une molécule qui peut être biosourcée[222], ce qui représente un atout majeur pour des applications en chimie verte et ce qui en fait un candidat de choix dans la synthèse de NIPU.

I.3.3.1.2. Carbonates cycliques à plus de cinq atomes

Plusieurs synthèses de 6CCs, 7CCs voire 8CCs s'inspirent des méthodes de préparation des 5CCs citées dans le paragraphe précédent[184]. Par exemple, les halogénoalcools réagissent avec du CO_2 pour donner des 6CCs[202]. De même, la dépolymérisation d'oligocarbonates permet d'obtenir des 6CCs et 7CCs. Ces carbonates sont synthétisables à partir de 1,3-diols[223] ou 1,4-diols[224] en utilisant des dérivés phosgène ou du chloroformate d'éthyle. Les 1,3-diols peuvent réagir avec des esters de carbonate pour donner des 6CCs en présence de catalyseur[225]. Il est possible de partir du carbonate de glycérol, qui, ouvert par une attaque amine pour donner un 1,3-diol, peut réagir avec un carbonate de diméthyle et donner un 6CC[226]. Les diols peuvent aussi réagir avec du CO_2 pour donner un 6CC, la réaction étant catalysée par le dioxyde de cérium[227]. L'addition de CO_2 sur des oxétanes peut former des 6CCs mais la réaction analogue avec des oxiranes pour donner des 5CCs donne de bien meilleurs rendements[228].

I.3.3.1.3. Bis-carbonates cycliques

Le plus souvent, la polymérisation permettant l'obtention d'un PHU est une polyaddition de type AA + BB → AABB, c'est pourquoi le monomère carbonate doit comporter deux fonctions carbonates cycliques : on parle de bis-carbonates cycliques (bis-5CC). Le carbonate de glycérol est un précurseur de choix pour les raisons évoquées précédemment. Il peut

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

donner un bis-CC par réaction d'estérification avec un diacide[187, 229] (figure 16.1). Il peut aussi réagir avec un chlorure d'acyle[230] (figure 16.2). La fonction hydroxyle du carbonate de glycérol peut réagir avec un triméthylcarbonate (TMC). La polymérisation par ouverture de cycle du TMC aboutit à un polycarbonate se terminant par deux 5CC en bout de chaîne, c'est-à-dire à un bis-CC[231] (figure 16.3). Il est possible d'associer plusieurs carbonates cycliques insaturés par réaction avec des thiols[199, 232] (figure 16.4). Nohra *et al.* ont étudié la synthèse de bis-CC à partir de carbonate de glycérol, de carbonate de diméthyle et de diamine[226] (figure 16.5). De même que pour la synthèse de 5CC, la voie des oxiranes est utilisée pour les bis-CC, l'insertion du CO_2 s'appliquant à des bis-époxydes[233] ou des polyépoxydes[234] (figure 16.6). Récemment, un bisépoxyde issu de la vanilline a été utilisé pour préparer divers bis-CC par cette même voie[235] : la vanilline est d'abord oxydée afin d'obtenir un diol, puis réagit avec deux épichlorohydrines pour donner un bisépoxyde (figure 16.7). La voie des diols elle aussi est envisageable ; les synthèses impliquent des dérivés phosgènes[236], du carbonate de diéthyle[237] ou encore du carbonate d'éthylène[212] (figure 16.8).

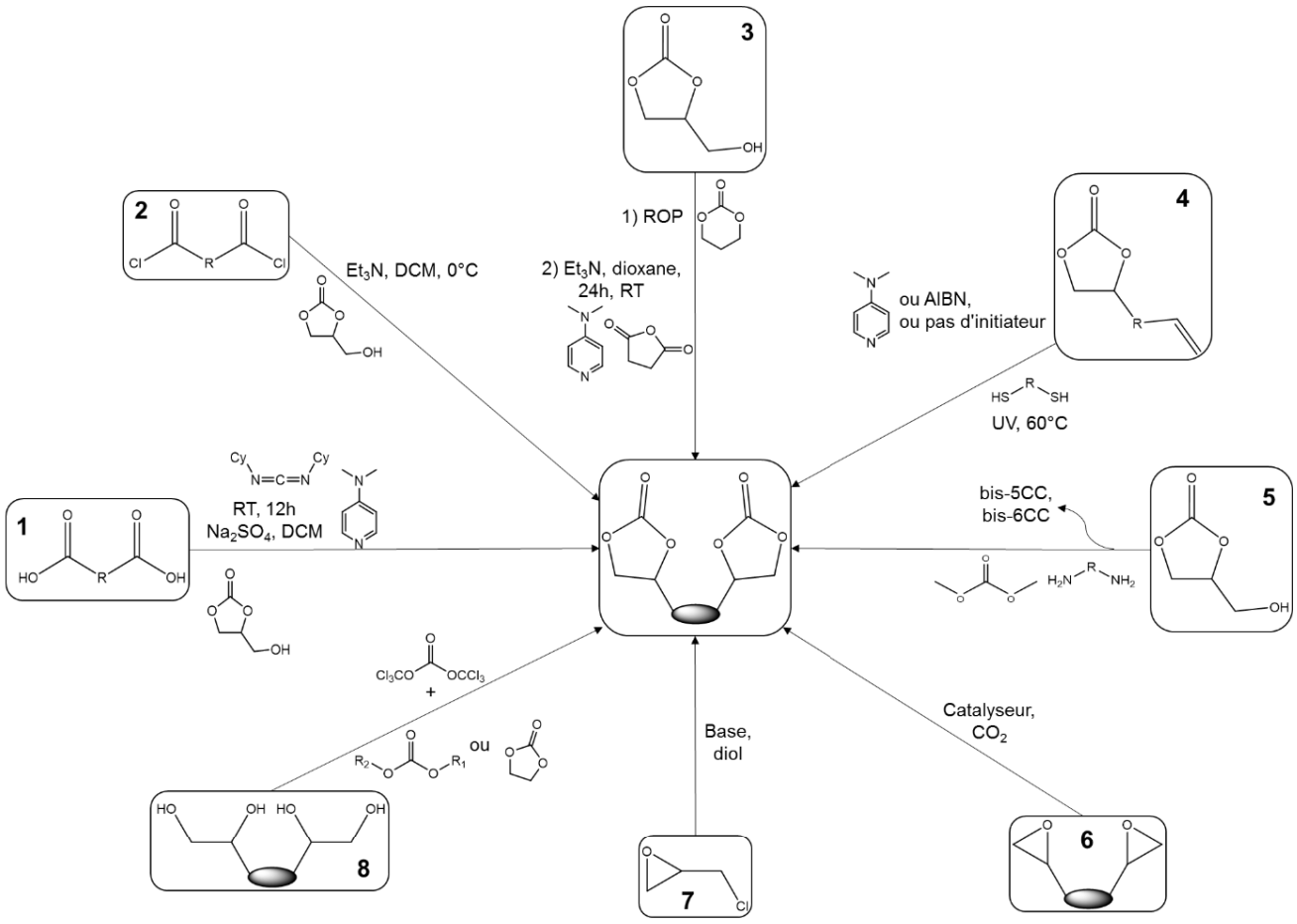


Figure 16. Récapitulatif des voies d'obtention de bis-CC.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

I.3.3.2. Mécanisme réactionnel de l'aminolyse du carbonate cyclique

Plusieurs auteurs ont décrit le mécanisme réactionnel de la réaction de polyaddition entre des carbonates cycliques et des diamines. Garipov *et al*. proposent un mécanisme d'ouverture du carbonate cyclique en trois étapes[238]. Le mécanisme est décrit en figure 17. Dans un premier temps, l'attaque nucléophile de l'amine sur le carbonyle du carbonate produit un intermédiaire tétraédrique. Dans un second temps, une seconde amine déprotone l'intermédiaire tétraédrique. Enfin, la rupture d'une des deux liaisons C–O initialement présentes (en rouge ou en bleu) conduit à la formation d'une fonction carbamate et d'une fonction hydroxyle en β : une fonction hydroxyuréthane est formée.

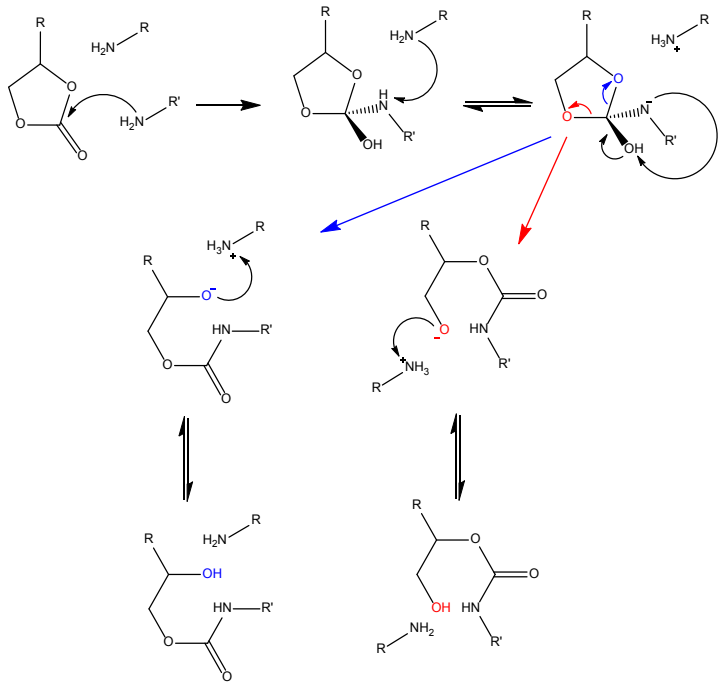


Figure 17. Mécanisme de la réaction entre un carbonate cyclique 5CC et une amine.

La seconde étape du mécanisme réactionnel révèle que l'amine n'agit pas seulement en tant que réactif, mais aussi comme catalyseur de la réaction[239].

I.3.3.3. Formation d'un hydroxyle primaire ou secondaire

Selon que l'une ou l'autre des liaisons C–O du carbonate est rompue, l'hydroxyle formé est primaire ou secondaire. En règle générale, l'hydroxyle secondaire est majoritaire[191]. Steblyanko *et al*. expliquent cette sélectivité en mettant en évidence que l'enthalpie de formation d'un uréthane contenant un hydroxyle secondaire est plus basse que celle d'un uréthane contenant un hydroxyle primaire ($\Delta H_{primaire}$ = -8,10 kcal/mol, $\Delta H_{secondaire}$ = -9,77 kcal/mol)[240].

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Tomita *et al*. attribuent quant à eux cette sélectivité à une différence d'ordre de liaison. L'ordre de liaison est un nombre qui donne une indication de la stabilité d'une liaison covalente. Plus il est élevé, plus la liaison est stable. L'ordre de liaison de la liaison C–O dont la rupture aboutit à un hydroxyle primaire (I = 0,97 – 0,99 en rouge sur la figure 18) est légèrement plus élevé que celui de la liaison C−O dont la rupture aboutit à un hydroxyle secondaire (I = 0,99 – 1,00 en bleu sur la figure 18)[241]. L'attaque de la liaison C−O dont la rupture aboutit à un hydroxyle secondaire par l'amine est donc plus favorable thermodynamiquement.

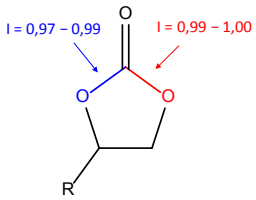


Figure 18. Ordres de liaisons des liaisons C−O d'un carbonate cyclique.

Selon la nature du substituant R attaché au carbonate cyclique, le ratio molaire du nombre de foncions hydroxyle primaire sur le nombre de fonctions secondaire est variable. Plus le substituant est électroattracteur, plus la proportion de fonctions hydroxyle secondaire est élevée[241]. Par exemple, le ratio secondaire sur primaire croit avec les substituants suivants : Me < Ph < $PhOCH_2$ < CF_3. L'effet inductif attracteur du substituant affecte plus l'oxygène attaché au carbone situé en alpha du substituant (oxygène bleu) que celui attaché au carbone en beta (oxygène rouge). La liaison entre cet oxygène (bleu) et le carbone du carbonyle sera donc plus faible.

Lors de la synthèse d'un hydroxyuréthane dans un solvant aprotique, Tomita *et al.* observent qu'une amine aliphatique conduit à un taux d'hydroxyle secondaire plus élevé qu'une amine aromatique. Par la suite, Nohra *et al*. indiquent que ce taux est plus élevé lorsque les diamines aliphatiques utilisées sont de plus courte chaîne[242]. Nous verrons plus loin (I.3.3.4.2) que les diamines aliphatiques de courte chaîne sont les plus réactives vis-à-vis des carbonates. Il semblerait que plus la réactivité de la diamine vis-à-vis du carbonate est élevée, plus la formation d'hydroxyles secondaires est favorisée, sans qu'aucune explication à ce phénomène ne soit rapportée dans la littérature.

I.3.3.4. Cinétique de l'aminolyse d'un carbonate cyclique

La réaction entre une amine et un carbonate cyclique obéit à une cinétique d'ordre deux par rapport aux concentrations en amine et en carbonate cyclique[241]. Ainsi, si C(t) est définie

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

comme la concentration en réactif (amine et carbonate) au temps t et C_0 la concentration initiale en réactif, alors il existe une constante de vitesse k_2 telle que :

$$\frac{1}{C(t)} = \frac{1}{C_0} + k_2 t \qquad (10)$$

La cinétique de l'aminolyse est plus rapide en masse qu'en solvant[243]. Plus la concentration en réactifs est importante, plus la réaction est rapide[244].

I.3.3.4.1. Influence de la nature du carbonate cyclique sur la cinétique

En ce qui concerne le substituant du carbonate cyclique (noté R sur la figure 17), plus ce dernier est électroattracteur, plus la constante de vitesse de la réaction augmente et plus la réaction est rapide[241].

La taille du cycle du carbonate joue un rôle prépondérant dans la cinétique de la réaction d'aminolyse. La réactivité des carbonates cycliques dont le cycle est composé de cinq, six ou sept atomes – nommés 5CC, 6CC et 7CC respectivement – a été étudiée par Endo *et al.*[224] Leurs travaux révèlent que la réactivité du carbonate augmente avec la taille du cycle, le 7CC étant particulièrement réactif. Plus le cycle carbonate est grand, plus les atomes du cycle sont soumis à une tension importante et plus l'ouverture du cycle est facilitée. L'énergie d'activation (Ea) est donc plus faible pour les cycles les plus grands (9,2 kJ/mol pour un bis-6CC et 24,9 kJ/mol pour un bis-5CC d'après une étude de Tomita *et al.*[245]). D'autre part, le taux de conversion et la masse molaire du PHU formé augmentent lorsque la taille du cycle carbonate augmente[245]. D'autres études comparatives ont été menées autour des 5CC et 6CC, aboutissant à la même conclusion, tant pour la réactivité[246, 247] que pour les différences de masses molaires du PHU synthétisé[248]. Plus récemment, il a été montré que la réactivité des 8CC était supérieure à celle des 5CC et 6CC[249].

Bien que les bis-6, -7 et -8CC soient plus réactifs que leur homologue à cinq atomes, leur synthèse nécessite plus d'étapes réactionnelles et implique parfois des réactifs très toxiques[250] (comme le triphosgène[224, 245, 249]) . Les carbonates cycliques à plus de cinq atomes sont en outre hydrolysables[188]. A l'inverse, les synthèses de bis-5CC sont plus simples et moins dangereuses et les monomères plus stables chimiquement. Ainsi, bien que les bis-5CC soient moins réactifs, ils restent les monomères les plus utilisés pour la synthèse de poly(hydroxy)uréthanes.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

I.3.3.4.2. Influence de la nature de l'amine sur la cinétique

La structure de l'amine a une grande influence sur sa réactivité vis-à-vis d'un carbonate cyclique donné dans un solvant donné[251]. Les deux paramètres importants pour l'amine sont sa nucléophilie et sa masse molaire. En ce qui concerne le premier paramètre, plus une amine est nucléophile, plus la première étape du mécanisme réactionnel est favorisée. Une amine primaire est donc plus réactive qu'une amine secondaire[252]. Une amine aliphatique est plus réactive qu'une amine aromatique, et ce d'autant plus que la chaîne aliphatique est linéaire. Une amine aromatique, primaire ou secondaire, n'est pas réactive à température ambiante vis-à-vis d'un carbonate. Un groupe électroattracteur positionné en alpha ou beta de l'amine favorise la nucléophilie de cette dernière. Par exemple, la présence de substituants imino ou amino sur une chaîne aliphatique favorise le caractère nucléophile de l'amine réactive en bout de chaîne[253]. En ce qui concerne la masse molaire de la diamine, plus elle est élevée, plus la gêne stérique à l'approche du carbonate sera grande. La figure 19 hiérarchise la réactivité de différentes amines vis-à-vis d'un même carbonate cyclique.

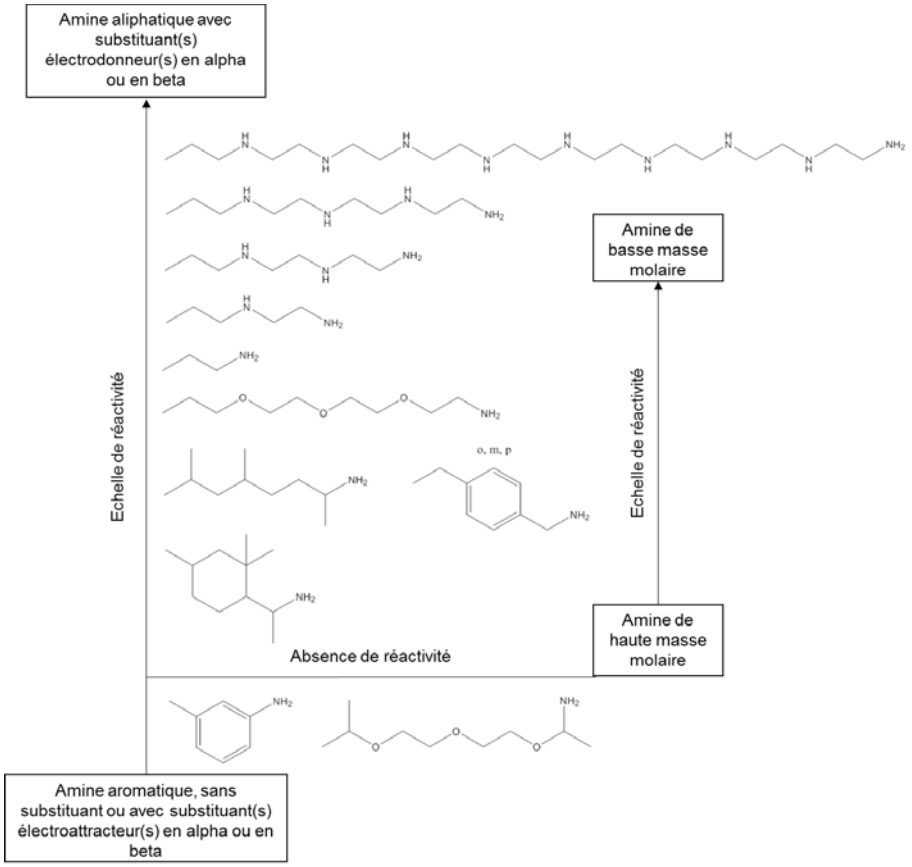


Figure 19. Réactivité de différentes amines vis-à-vis du même carbonate cyclique (laprolate-803)[251].

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

I.3.3.4.3. Catalyseurs de la réaction d'aminolyse d'un carbonate cyclique

L'élévation de la température permet d'accroître la réactivité des amines, mêmes des moins réactives (aromatiques ou avec un fort encombrement stérique)[252, 254, 255]. Cependant, elle favorise aussi des réactions parasites et la formation de produits secondaires comme des urées[246, 254-256]. En théorie, il existe trois moyens qui permettent d'accélérer la réaction d'aminolyse d'un carbonate cyclique : l'augmentation de l'électrophilie du carbonyle du carbonate cyclique, l'augmentation de la nucléophilie de l'amine, ou encore l'ouverture du cycle carbonate assistée par un catalyseur nucléophile[257]. Les bases fortes et nucléophiles comme le triazabicyclodécène (TBD) sont des catalyseurs très utilisés[258, 259]. Cette guanidine attaque le cycle carbonate et provoque son ouverture avant d'être remplacée par l'amine[260] (figure 20).

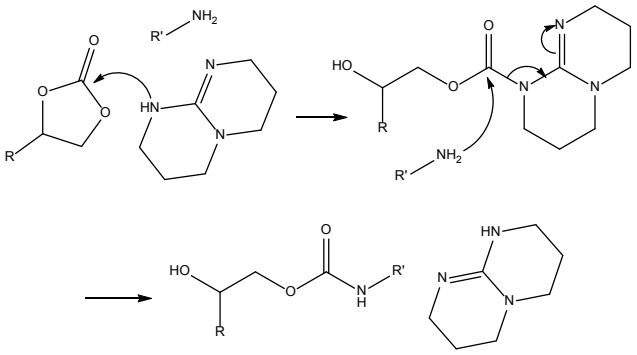


Figure 20. Aminolyse d'un cycle carbonate catalysée par la présence de TBD.

D'autres bases fortes sont également utilisées : MTBD, DBU[259], TEA[251], DABCO[261], etc. Les acides de Brönsted, forts ou faibles (acide acétique, acide méthylsulfonique) agissent aussi comme des catalyseurs[251]. Divers sels ou composés organométalliques peuvent être utilisés comme catalyseur. En tant qu'acide de Lewis, ils interagissent avec les oxygènes du carbonate et rendent le carbonyle du carbonate encore plus électrophile. Les sels dont le cation est un alcalin ou un ammonium et l'anion un hydroxyde, un carboxyl ou un halogénure ont été étudiés[251, 262-264], en particulier les sels de lithium[261, 265-267], mais aussi divers composés organométalliques[251, 267-269]. Ochai *et al.* rapportent des plus hautes masses molaires (35 000 g/mol au lieu de 20 000 g/mol) pour les PHUs préparés en présence de sels ou de composés organométalliques que sans catalyseur[267]. Les thio-urées sont une autre famille de catalyseur de type acide de Lewis[270].

Il est possible de combiner les effets de plusieurs catalyseurs. Une base nucléophile (TBD) et un acide de Lewis (LiOTf) peuvent être utilisés de manière coopérative[271] : l'acide de Lewis active le carbone du carbonate qui devient plus électrophile, facilitant l'attaque de la base

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

nucléophile, remplacée par l'amine en fin de réaction (figure 21). De tous les catalyseurs, le TBD et la phényl cyclohexyl thio-urée semblent être les plus efficaces[260].

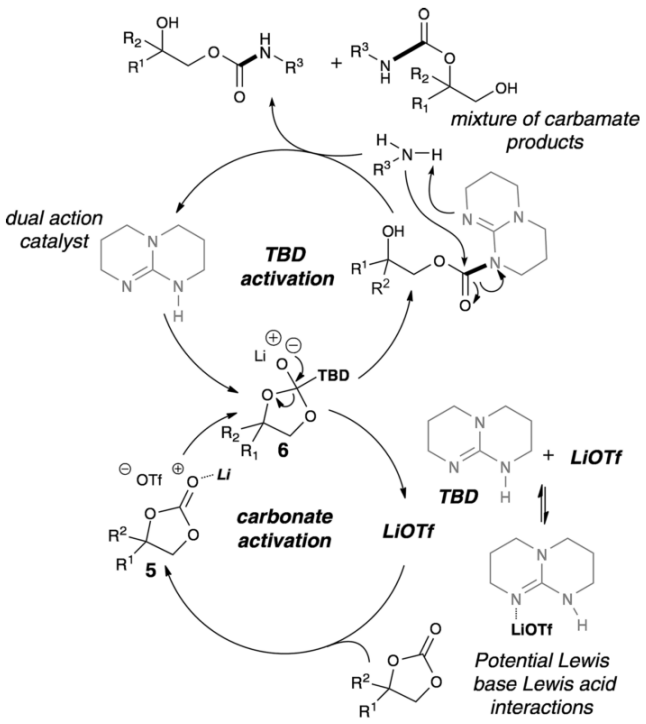


Figure 21. Exemple de catalyse coopérative entre un acide de Lewis et une base nucléophile[271].

I.3.3.5. Conditions opératoires de la synthèse

La synthèse de poly(hydroxy)uréthane est effectuée en masse ou dans un solvant organique. En ce qui concerne les synthèses en solvant, les solvants les plus utilisés sont aprotiques, de polarité variable : NMP[272, 273], DMSO[260, 274], DMF[275], DMAc[255, 276], THF[277]. Bien que la solubilité des PHUs soit relative à la nature de leurs unités monomères, ils sont moins solubles dans des solvants aprotiques que leurs homologues PUs de structure semblable, la présence d'hydroxyle jouant un rôle important[233]. Cela explique que les solvants aprotiques les plus polaires soient les plus utilisés. Les polyadditions étudiées par Prömpers *et al.* affichent cependant de plus hauts rendements et les masses molaires les plus élevées avec des solvants peu polaires (THF, y = 97%) qu'avec des solvants polaires (DMAc, y = 45%)[277]. Ochai *et al.* ont effectué des réactions de polyaddition dans l'eau avec des carbonates 5CC linéaires aliphatiques et aromatiques[278]. Cependant, l'hydrolyse des carbonates explique les faibles masses molaires obtenues. La même équipe montre que l'usage de liquides ioniques comme solvants conduit à des résultats similaires à ceux obtenus pour des réactions dans le DMSO, sauf en présence d'eau, où l'hydrolyse des carbonates est encore observée[279]. La

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

solubilité des monomères influence le rendement de la polyaddition : plus les monomères sont solubles dans un solvant donné, plus les rendements de la réaction augmentent[240].

Même s'ils sont moins courants, les solvants protiques ont été utilisés par certains auteurs. Garipov *et al.* emploient ainsi des alcools de longueur de chaîne variable (1-octanol, 1-hexanol, 2-butoxyethanol et 1-butanol)[238]. Ils observent que les polyadditions sont plus rapides dans des solvants protiques que dans des solvants aprotiques. Toujours selon eux, plus un solvant aprotique est polaire, plus la réaction est rapide, tandis que plus un solvant protique est polaire, moins la réaction est rapide. D'autres études corroborent les résultats de Garipov *et al*. en montrant que l'utilisation d'un solvant protique permet d'augmenter la vitesse de la réaction de polyaddition et le taux de conversion[280]. Dans un solvant protique, la première étape du mécanisme réactionnel (figure 22) est beaucoup plus rapide. En effet, des liaisons hydrogène peuvent se former entre les protons labiles du solvant et les oxygènes du carbonate, ce qui favorise l'électrophilie du carbone du carbonate et facilite donc l'attaque nucléophile de l'amine sur ce carbone. La seconde étape − déprotonation de l'intermédiaire tétraédrique – devient l'étape cinétiquement limitante[257].

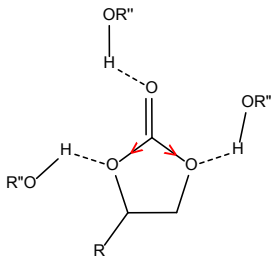


Figure 22. Augmentation de l'électrophilie d'un carbonate cyclique en présence d'un solvant protique[257].

La durée des réactions de polyaddition en solvant varie de 20 à 30h, pour une température entre 60 et 80°C[255, 260, 272-274, 276, 277]. En présence de catalyseur, les temps de réactions diminuent significativement (quelques heures) et la réaction peut être réalisée à température ambiante[255, 260].

La préparation de PHUs peut être réalisée en masse. La réaction est réalisée en atmosphère inerte afin d'éviter la carbonatation des diamines[230], sous agitation mécanique. Le temps de réaction est élevé (d'une dizaine d'heures[261, 281] jusqu'à plusieurs jours[230, 282]) de même que la température réactionnelle (de 75°C à 110°C) [230, 281, 283-286]. La réaction peut être prolongée dans une étuve sous vide à une température autour de 80°C[230, 285]. Le temps de réaction peut être réduit par la présence d'un catalyseur (une sytnhèse réalisée par Sheng *et al.* ne dure que

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

2h[284]). Van Velthoven *et al.* rapportent la synthèse de PHUs à 100°C en 5h sans catalyseur[283]. Dans tous les cas, l'augmentation de la température permet un accroissement du rendement de la réaction de synthèse des PHUs[255].

Pour les polymérisations en masse, l'augmentation de la viscosité du mélange au cours de la réaction, causée par la formation de liaisons hydrogène inter- et intramoléculaires, est une contrainte qui limite la conversion des monomères[261, 287]. Une augmentation de la température permet de diminuer la viscosité du polymère en formation et d'augmenter le rendement. Cependant, des réactions secondaires apparaissent au-delà d'une certaine température[246, 254-256].

I.3.3.6. Masses molaires des PHUs et réactions secondaires

Dans la majorité des étude, les PHUs sont de faibles masses molaires – de quelques milliers de grammes par mole jusqu'à entre 50 000 et 90 000 g/mol[231, 260, 277, 288] – et de dispersité variable – Đ allant de 1 à plus de 9[188]. Les analyses par chromatographie d'exclusion stérique (SEC) sont réalisées le plus souvent dans le DMF contenant du bromure de lithium (LiBr). Le THF[254, 285, 288] et le DMAc[283, 289, 290] sont également utilisés. Dans le DMF, la calibration conventionnelle est réalisée avec du polystyrène[224, 233, 240, 245, 255, 278, 291] ou du PMMA[256, 292, 293] et la détection est effectuée en indice de réfraction (RI)[224, 245, 256, 291, 292], en UV[233, 255] ou les deux[240]. A notre connaissance, aucune caractérisation d'un PHU par SEC en calibration universelle n'a été rapportée dans la littérature.

L'augmentation de la température (de 70 à 100°C [233]) ou des concentrations en monomères (de 0,1 à 0,2 mol/L[277]) permet d'obtenir des masses molaires plus élevées (20 000 à 30 000 g/mol[233] ou 60 000 à 90 000 g/mol[277]). Plus la diamine est soluble dans le solvant utilisé, plus la chaîne polymère est longue[240]. Les amines aromatiques conduisent à des PHUs de faibles masses molaires[294], ce qui s'explique d'après les auteurs par leur plus faible flexibilité et leur plus faible réactivité vis-à-vis du cycle carbonate[251, 252].

Les faibles masses molaires des PHUs sont un inconvénient majeur. Elles peuvent s'expliquer par des réactions parasites par rapport à l'aminolyse du carbonate cyclique.

Kihara *et al*. obtiennent des PHUs de plus faibles masses molaires lorsqu'ils utilisent l'éthylène diamine et la propylène diamine comparativement à des diamines aliphatiques de plus longue chaîne. Les auteurs envisagent la possibilité d'une réaction secondaire intramoléculaire par attaque nucléophile d'une fonction amine primaire de fin de chaine sur le carbonyle de la fonction carbamate[233] (figure 23).

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

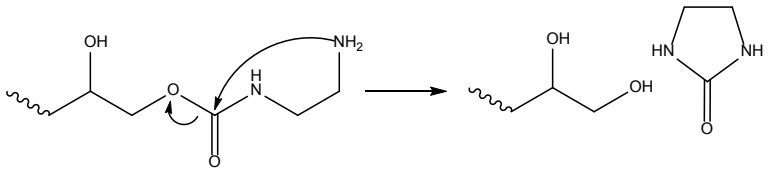


Figure 23. Formation d'urée par attaque intramoléculaire d'une fonction amine primaire sur le carbonyle d'un carbamate.

Cette réaction parasite forme une fonction urée. Elle a été étudiée dans d'autres études[246, 254, 256, 275] (figure 24.a). Bien que cette réaction soit favorisée à haute température[295], elle est observée à 80°C lors d'une réaction modèle entre l'hexaméthylène diamine et le carbonate de glycérol[255]. Cette réaction est favorisée lorsque la diamine est en excès[295].

Besse *et al*. mettent en évidence la formation d'oxazolidinones par réarrangement interne du motif hydroxyuréthane[256] (figure 24.b).

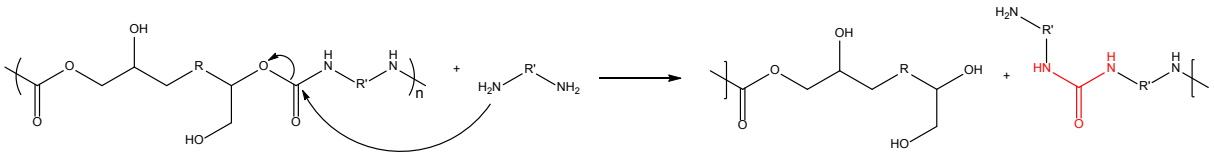
Si le bis-CC contient des fonctions esters, les fonctions amines peuvent aussi réagir avec celles-ci pour former des fonctions amides[230, 281] (figure 24.c). L'amidation n'est cependant pas observée de manière systématique[233, 240]. Carre *et al.* ont mis en évidence que cette réaction est favorisée lorsque l'amine est en excès[230], d'où la nécessité d'introduire les réactifs de manière stœchiométrique.

La transcarbonatation est une autre réaction secondaire possible : l'hydroxyle secondaire présent sur une chaîne de PHU peut attaquer la fonction carbamate de la même chaîne ou d'une autre chaîne PHU[240] (figure 24.d). Un moyen de vérifier si cette réaction a lieu est de déterminer l'évolution de la proportion d'hydroxyle secondaire en fonction de la température réactionnelle. La diminution de cette proportion en augmentant la température est révélatrice de la réaction de transcarbonatation[240, 250].

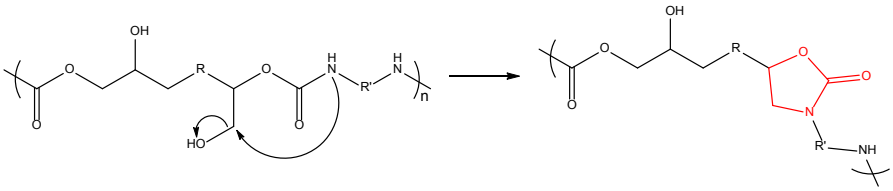
Une étude récente[250] invalide l'hypothèse selon laquelle les faibles masses molaires des PHUs seraient causées par la carbonatation des amines par le CO_2[296] (figure 24.e).

Un rapport d'Huntsman indique que l'amine peut réagir en attaquant non pas le carbonyle du carbonate mais le carbone non substitué en position alpha du carbonate[297], cette réaction produisant du CO_2 (figure 24.f). Cependant, ce carbone de charge partielle négative est bien moins susceptible d'être attaqué par l'amine que le carbone du carbonyle de charge partielle positive. D'autre part, la formation de bulles de CO_2 in situ n'est pas observée lors des polyadditions[250].

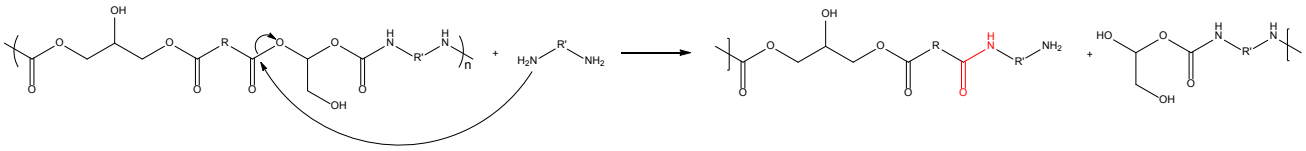
Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés



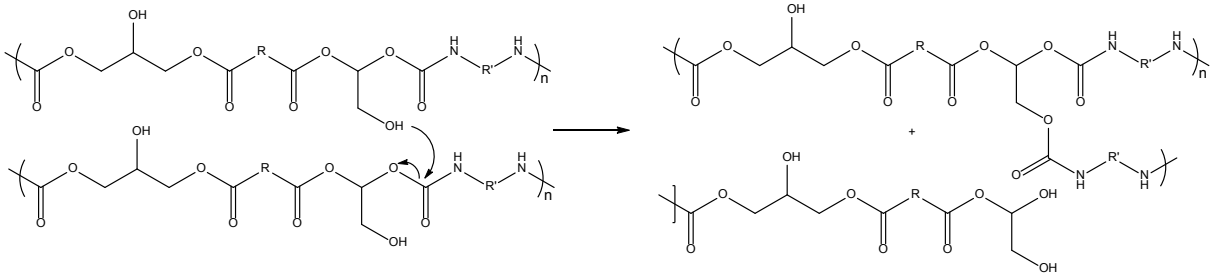
Rupture de chaine de PHU et formation d'urée par attaque nucléophile d'une fonction amine primaire sur le carbonyle de la fonction carbamate (a).



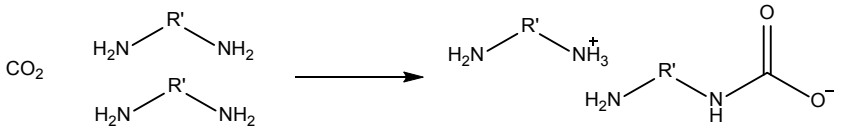
Formation d'une oxazolidinone (b).



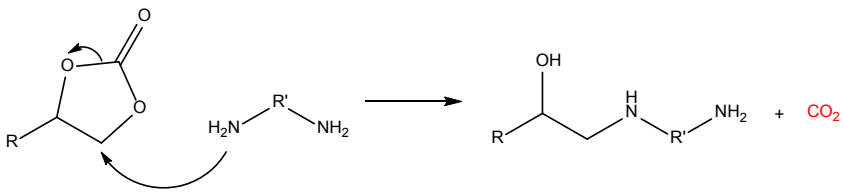
Rupture de chaine de PHU et formation d'amide (c).



Réaction intermoléculaire par attaque de l'hydroxyle secondaire sur le carbonyle de la fonction carbamate (d).



Carbonatation d'une amine (e).



Formation de dioxyde de carbone (f).

Figure 24. Réactions secondaires à l'aminolyse d'un carbonate cyclique donnant un PHU.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Les conditions expérimentales des synthèses de PHUs occasionnant des réactions secondaires sont détaillées dans le tableau suivant :

Réaction	Référence	Solvant	Temps de réaction	Température
Formation d'urée (figure 24.a)	Lamarzelle *et al.* 2016[245]	DMF	7 jours	70°C
	Bürgel *et al.* 1993[253]	DMSO	10h	80°C
	Besse *et al*. 2015[255]	DMF	6 jours	80°C
	Maisonneuve *et al.* 2014[274]	DMSO	1 à 2 jours	t.a. – 50°C (bis-6CC)
Formation d'oxazolidinone (figure 24.b)	Besse *et al.* 2015[255]	DMF	6 jours	80°C
Formation d'amide (figure 24.c)	Carre *et al.* 2014[229]	Masse	4 jours	75°C
	Boyer *et al.* 2010[280]	Masse	16h	70 – 110°C
Pas de formation d'amide	Kihara *et al*. 1993[232]	DMSO	24h	100°C
	Steblyanko *et al.* 2000[239]	DMF	72h	t.a.
Attaque de l'hydroxyle secondaire (figure 24.d)	Steblyanko *et al.* 2000[239]	DMF	72h	t.a.
Carbonatation de la diamine (figure 24.e)	Blain *et al.* 2017[250]	Ethanol	24h	80°C
Formation de CO_2 (figure 24.f)	Huntsman 2005[297]	Non spécifiés		> 100°C

Tableau 1. Conditions expérimentales des synthèses de PHUs occasionnant des réactions secondaires.

Une dernière hypothèse pour expliquer les faibles masses molaires observées est la présence de liaisons hydrogène. Les liaisons hydrogène inter- et intramoléculaires réduisent la mobilité des chaînes polymères en croissance et rendent de plus en plus difficile la conversion du carbonate cyclique[250]. Les auteurs proposent d'utiliser des solvants protiques ou des plastifiants protiques (di- ou triglycérol) pour limiter la formation de liaisons hydrogène entre les chaînes macromoléculaires de PHU lors de leur synthèse et atteindre des taux de conversions et des masses molaires plus élevés.

I.3.3.7. Propriétés des PHUs

Les PHUs présentent des caractéristiques physico-chimiques particulières par rapport aux PUs du fait de la présence de fonctions hydroxyle. Les fonctions hydroxyle forment des liaisons hydrogène intra- et intermoléculaires avec les fonctions carbamate, augmentant la résistance chimique des PHUs aux solvants non polaires[184, 186] et à l'hydrolyse[298]. Ces liaisons hydrogène justifient aussi le caractère hydrophile des PHUs[298]. La stabilité thermique des PHUs varie de 175 à 390°C selon la nature des monomères[298]. Selon certains auteurs, les liaisons hydrogène renforcent la stabilité thermique des PHUs[184, 299]. D'autres estiment que les PHUs sont moins stables thermiquement que leurs homologues PUs[300, 301] : les liaisons

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

hydrogène formées entre les hydroxyles et les carbamates fragiliseraient la liaison C–O des carbamates. En conséquence, cette dernière pourrait se rompre à plus basse température. Il n'y a pas consensus au sujet des propriétés hygroscopiques des PHUs. Des absorptions d'eau plus faibles[298] ou plus fortes[245] ont été mesurées pour les PHUs vis-à-vis de leurs homologues PUs. La présence de fonctions hydroxyle rend possible la modification des propriétés physico-chimiques des PHUs par post fonctionnalisation[302]. Les hydroxyles peuvent notamment réagir avec des chlorures d'acyles[87,272].

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

I.4. Nanoparticules de polymère stimulable

Un polymère stimulable voit ses propriétés physico-chimiques modifiées par la variation d'un paramètre physique ou chimique. Les polymères stimulables sont utilisés en agrochimie[303], en cosmétique[304] ou en médecine[305]. Sous la forme de nanoparticules, ils permettent la libération contrôlée et ciblée de principes actifs dans le corps humain. Les premiers travaux sur ce sujet remontent à 2001[306].

Lorsqu'elles sont soumises à une variation d'un paramètre physique ou chimique de leur environnement, les nanoparticules subissent des modifications chimiques (rupture des liaisons covalentes qui constituent les chaînes principales ou les nœuds de réticulation du polymère) ou physique (rupture de la membrane causée par une surpression interne (dans le cas des nanocapsules), fusion, changement de porosité, dégradation thermomécanique, rupture des liaisons intermoléculaires qui entraîne une diminution de la cohésion du polymère)[307] qui permettent la libération du principe actif qu'elles encapsulent.

I.4.1. Stimulation en température

Par définition, les polymères thermosensibles affichent un changement brutal de leurs propriétés physico-chimiques consécutif à une faible variation de la température[308]. Lorsqu'ils sont préparés sous forme de nanoparticules, les polymères thermosensibles peuvent constituer des systèmes de libération contrôlée de principes actifs médicamenteux dans le corps humain[309].

A une certaine température, les polymères thermosensibles présentent une transition de phase volumique. Dans l'eau, les nanoparticules peuvent se rétracter, gonfler, se solubiliser ou précipiter. Ces changements d'états résultent de l'équilibre entre d'une part les interactions hydrogène intra- et inter-macromoléculaires et d'autre part les interactions hydrogène entre le polymère et l'eau de la phase dispersante[310]. Dans le cas où un principe actif est encapsulé par les nanoparticules, la rupture des liaisons hydrogène intermoléculaires au sein du polymère, causée par le chauffage du système, permet la libération du principe actif.

Les polymères thermosensibles se divisent en deux catégories : un polymère insoluble dans l'eau au-delà d'une certaine température est un polymère à LCST (low critical solution temperature) ; un polymère insoluble dans l'eau en-dessous d'une certaine température est un polymère à UCST (upper critical solution temperature). Le poly(N-isopropylacrylamide)

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

(PNIPAM)[311, 312], le poly(N-vinylcaprolactame) (PNVCL)[164, 313] ou encore les poly(éthylènimine)s[314] sont des polymères à LCST utilisés en drug delivery (figure 25).

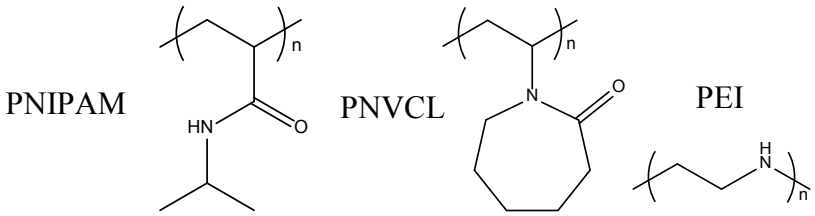


Figure 25. Polymères présentant une LCST.

Les polyuréthanes peuvent aussi présenter une LCST lorsque le diol utilisé comporte des fonctions oxyéthylène (comme c'est le cas pour le polyéthylène glycol (PEG))[315-319], amine tertiaire[320] ou acide carboxylique[321]. La présence de groupes tert-butoxycarbonyle (–Boc)[322] ou azo[323] sur l'unité de répétition d'un polyuréthane permet la rupture des chaînes de polymère au-delà d'une certaine température.

Plusieurs études décrivent la préparation de nanoparticules de polymère thermosensibles par nanopréciptation[163, 164, 316].

I.4.2. Stimulation en pH

Par définition, les polymères pH-sensibles présentent un changement de leur état d'ionisation suite à une variation du pH de la solution dans laquelle ils sont dispersés[324]. Ce changement est permis par la protonation ou la déprotonation d'acides ou de bases faibles présents sur les chaînes polymères. Il se traduit par une solubilisation, une précipitation, un gonflement ou une contraction du polymère. Préparés sous la forme de nanoparticules, les polymères pH-sensibles peuvent être utilisés pour des applications en drug delivery[325].

La plupart des polymères pH-sensibles comportent des fonctions acide carboxylique[326] (comme l'acide polyacrylique[306], l'acide polyméthacrylique[327] ou l'acide polyglutamique[328]) qui acquièrent des charges négatives en milieu basique, ou des fonctions amine[147] (comme le chitosane[328], la polyaspartamide[88] ou la polyhistidine[88]) qui acquièrent des charges positives en milieu acide. Dans les deux cas, les répulsions électrostatiques entre fonctions ionisées provoquent une augmentation du diamètre des nanoparticules qui favorise la libération du principe actif. Les polymères pH-sensibles peuvent aussi contenir des agents réticulants qui se décomposent à certains pH (pH labiles)[322, 329].

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Plusieurs études décrivent le comportement de nanoparticules de polyuréthane pH-sensible[326, 330, 331]. D'autres études décrivent la préparation de nanoparticules de polymère pH-sensible par nanoprécipitation[147, 326, 332].

I.4.3. Autres stimuli

Le pH et la température sont deux variables endogènes (c'est-à-dire dont les variations peuvent être provoquées par le corps humain). Un autre stimulus endogène utilisé pour la préparation de nanoparticules stimulables est le potentiel d'oxydoréduction[333].

Des nanoparticules sensibles à des stimuli exogènes (c'est-à-dire provoquées sur le corps humain par un opérateur extérieur) sont aussi développées. Parmi ces stimulations, on peut citer les photons[334], les ultrasons[335] et les ondes magnétiques[336] ou électriques[337].

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

CONCLUSION

Depuis quelques décennies, les nanoparticules de polymères suscitent un intérêt croissant, du fait de leur potentiel pour des applications pharmaceutiques[338], mais aussi en cosmétique[339] ou en agrochimie[340]. Ces objets, dont la taille varie entre quelques dizaines et quelques centaines de nanomètres, peuvent être obtenus par polymérisation in-situ ou à partir d'un polymère déjà formé[341].

Parmi les différents procédés de préparation, nous avons choisi la méthode de nanoprécipitation pour sa simplicité, son faible coût énergétique et l'absence de risque de pollution de la nanosuspension par des traces de monomères[92, 95]. Ce procédé peut être décrit par deux mécanismes distincts, basés soit sur la diffusion du solvant par gradient de tension interfaciale[70], soit sur la nucléation-croissance de proto-particules de polymère[97]. D'un point de vue pratique, nous avons vu que de nombreux facteurs influençaient la taille, la polydispersité et la stabilité des nanoparticules formées. En outre, un régime dilué[125] dans la phase organique, la sélection d'un solvant thêta pour le polymère[134], la présence d'un agent stabilisant[122] ou encore l'ajustement du débit d'addition et de la vitesse d'agitation permettant une rapide inter-diffusion[96] sont autant de critères à respecter afin de travailler dans des conditions optimales en terme de taille, de polydispersité en taille et de stabilité.

Biocompatibles, biodégradables, offrant de nombreux usages possibles, les polyuréthanes sont des candidats de choix pour des applications en drug delivery[342]. Cependant, la toxicité des isocyanates[181] est un défaut majeur de la synthèse de polyuréthanes. Pour pallier à ce problème, des synthèses alternatives sans isocyanate ont été développées, la polyaddition d'une diamine et d'un bis-(carbonate cyclique) étant la voie la plus étudiée[299]. En terme de mécanisme, nous avons vu que l'ouverture du cycle carbonate par attaque nucléophile de l'amine primaire conduit à la formation d'hydroxyles primaires (minoritaires) et secondaires (majoritaires)[241] en plus de la fonction carbamate. La cinétique de la réaction dépend de la nature du solvant, de la diamine et du carbonate[188]. En particulier, plus le cycle carbonate est grand, plus la cinétique est rapide. Cependant, les carbonates à cinq carbones sont souvent utilisés car leur synthèse est plus simple et moins nocive[250]. La réaction, effectuée en masse ou dans un solvant, avec ou sans catalyseur, forme des poly(hydroxy)uréthanes de faible masse molaire[250, 256]. La faible réactivité des monomères, les réactions parasites ou encore les liaisons hydrogène peuvent expliquer ce défaut majeur.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

En réponse à une stimulation (variation de pH ou de température, lumière UV, champ magnétique, etc.), certains polymères présentent des changements physico-chimiques brusques et importants[343]. Les nanoparticules préparées à partir de ces polymères dits stimulables sont capables de se gonfler, se contracter, se dissoudre ou précipiter. Ces propriétés sont exploitables pour la libération sélective de principes actifs[309, 344, 345].

Après cet état de l'art, nous allons maintenant présenter les résultats de nos travaux de thèse qui se sont organisés selon trois axes : la synthèse et la caractérisation de nouveaux poly(hydroxy)uréthanes, le développement et l'optimisation d'un procédé de nanoprécipitation permettant de préparer des nanoparticules à partir de ces polymères et l'introduction d'une sensibilité au pH ou à la température dans les nanosuspensions développées.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Références

1. Mora-Huertas, C. E.; Fessi, H.; Elaissari, A. *Int J Pharm* **2010,** 385, (1-2), 113-42.

2. Couvreur, P.; Dubernet, C.; Puisieux, F. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **1995,** 41, (1), 2-13.

3. Vauthier C., C. P., *Development of nanoparticles made of polysaccharides as novel drug carrier systems*. 2000; Vol. 220, p 179-180.

4. Mohammadi, M.; Ramezani, M.; Abnous, K.; Alibolandi, M. *Int. J. Pharm. (Amsterdam, Neth.)* **2017,** 519, (1-2), 287-303.

5. Hou, Z.-l.; Zhou, Y.-f.; Yan, D.-y. *Gaofenzi Tongbao* **2015**, (9), 5-20.

6. Zhang, W.; Xu, N.; Yao, Z.; Li, K.; Zhu, Y.; Chen, L.; Ye, W.; Deng, W. *Youji Huaxue* **2016,** 36, (9), 2039-2052.

7. Rao, J. P.; Geckeler, K. E. *Prog. Polym. Sci.* **2011,** 36, (7), 887-913.

8. Cottrell, T. L., *The Strengths of Chemical Bonds*. Butterworths: London, 1958.

9. Harkins, W. D. *Journal of the American Chemical Society* **1947,** 69, (6), 1428-1444.

10. Garay-Jimenez, J. C.; Gergeres, D.; Young, A.; Lim, D. V.; Turos, E. *Nanomedicine (N. Y., NY, U. S.)* **2009,** 5, (4), 443-451.

11. Claverie, J. P.; Zhong, W.; Das, P.; Alnasser, T. In *Hybrid core-shell nanoparticles prepared by RAFT emulsion polymerization*, 2010; American Chemical Society: pp MACRO-700.

12. Joensson, J. B.; Mullner, M.; Piculell, L.; Karlsson, O. J. *Macromolecules (Washington, DC, U. S.)* **2013,** 46, (22), 9104-9113.

13. Mueller, K.; Klapper, M.; Muellen, K. *Colloid Polym. Sci.* **2007,** 285, (10), 1157-1161.

14. Fitch, R. M.; Tsai, C. H. In *Particle formation in polymer colloids. III. Prediction of the number of particles by a homogeneous nucleation theory*, 1971; Plenum: pp 73-102.

15. Pang, S.-W.; Park, H.-Y.; Jang, Y.-S.; Kim, W.-S.; Kim, J.-H. *Colloids Surf., B* **2002,** 26, (3), 213-222.

16. Wu, J.; Jiang, H.; Zhang, L.; Cheng, Z.; Zhu, X. *Polym. Chem.* **2016,** 7, (14), 2486-2491.

17. Anton, N.; Benoit, J.-P.; Saulnier, P. *J Control Release* **2008,** 128, (3), 185-99.

18. Tadros, T.; Izquierdo, P.; Esquena, J.; Solans, C. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2004,** 108-109, 303-318.

19. Craparo, E. F.; Cavallaro, G.; Bondi, M. L.; Mandracchia, D.; Giammona, G. *Biomacromolecules* **2006,** 7, (11), 3083-92.

20. Tobita, H. *Polymers (Basel, Switz.)* **2011,** 3, (4), 1944-1971.

21. Li, C.-Y.; Chiu, W.-Y.; Don, T.-M. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2005,** 43, (20), 4870-4881.

22. Landfester, K.; Tiarks, F.; Hentze, H.-P.; Antonietti, M. *Macromol. Chem. Phys.* **2000,** 201, (1), 1-5.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

23. Mouran, D.; Reimers, J.; Schork, F. J. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **1996,** 34, (6), 1073-81.

24. Puig, J. *The polymeric materials encyclopedia. Synthesis, properties and applications* **1996,** 6.

25. Norakankorn, C.; Pan, Q.; Rempel, G. L.; Kiatkamjornwong, S. *J. Appl. Polym. Sci.* **2010,** 116, (3), 1291-1298.

26. Sharma, R. K.; Roy, I.; Maitra, A. *J. Sci. Conf. Proc.* **2009,** 1, (1), 48-53.

27. Texter, J.; Ziemer, P. *Macromolecules* **2004,** 37, (19), 7424.

28. El-Samaligy, M. S.; Rohdewald, P.; Mahmoud, H. A. *J. Pharm. Pharmacol.* **1986,** 38, (3), 216-18.

29. Landfester, K.; Bechthold, N.; Tiarks, F.; Antonietti, M. *Macromolecules* **1999,** 32, (16), 5222-5228.

30. Bradley, M. A.; Prescott, S. W.; Schoonbrood, H. A. S.; Landfester, K.; Grieser, F. *Macromolecules* **2005,** 38, (15), 6346-6351.

31. Bao, J.; Zhang, A. *J. Appl. Polym. Sci.* **2004,** 93, (6), 2815-2820.

32. Reddy, K. R.; Sin, B. C.; Yoo, C. H.; Sohn, D.; Lee, Y. *J. Colloid Interface Sci.* **2009,** 340, (2), 160-165.

33. Costa, C.; Santos, A. F.; Fortuny, M.; Araujo, P. H. H.; Sayer, C. *Mater. Sci. Eng., C* **2009,** 29, (2), 415-419.

34. Yoon, S.-J.; Chun, H.; Lee, M.-S.; Kim, N. *Synth. Met.* **2009,** 159, (5-6), 518-522.

35. Maitre, C.; Ganachaud, F.; Ferreira, O.; Lutz, J. F.; Paintoux, Y.; Hemery, P. *Macromolecules* **2000,** 33, (21), 7730-7736.

36. Tomov, A.; Broyer, J.-P.; Spitz, R. *Macromol. Symp.* **2000,** 150, (Polymers in Dispersed Media), 53-58.

37. Yildiz, U.; Landfester, K. *Polymer* **2008,** 49, (23), 4930-4934.

38. Leiza, J. R.; Sudol, E. D.; El-Aasser, M. S. *J. Appl. Polym. Sci.* **1997,** 64, (9), 1797-1809.

39. Camli, S. T.; Buyukserin, F.; Balci, O.; Budak, G. G. *J. Colloid Interface Sci.* **2010,** 344, (2), 528-532.

40. Fang, F. F.; Kim, J. H.; Choi, H. J.; Kim, C. A. *Colloid Polym. Sci.* **2009,** 287, (6), 745-749.

41. Qi, G.; Jones, C. W.; Schork, F. J. *Biomacromolecules* **2006,** 7, (11), 2927-2930.

42. Nicolas, J.; Charleux, B.; Guerret, O.; Magnet, S. *Macromolecules* **2005,** 38, (24), 9963-9973.

43. Braunecker, W. A.; Matyjaszewski, K. *Prog. Polym. Sci.* **2007,** 32, (1), 93-146.

44. Nicolas, J.; Ruzette, A.-V.; Farcet, C.; Gerard, P.; Magnet, S.; Charleux, B. *Polymer* **2007,** 48, (24), 7029-7040.

45. Li, W.; Matyjaszewski, K.; Albrecht, K.; Moller, M. *Macromolecules (Washington, DC, U. S.)* **2009,** 42, (21), 8228-8233.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

46. Rieger, J.; Zhang, W.; Stoffelbach, F.; Charleux, B. *Macromolecules (Washington, DC, U. S.)* **2010,** 43, (15), 6302-6310.

47. Bouchemal, K.; Briancon, S.; Perrier, E.; Fessi, H.; Bonnet, I.; Zydowicz, N. *Int. J. Pharm.* **2004,** 269, (1), 89-100.

48. Gaudin, F.; Sintes-Zydowicz, N. *Colloids Surf., A* **2011,** 384, (1-3), 698-712.

49. Taheri, S.; Baier, G.; Majewski, P.; Barton, M.; Foerch, R.; Landfester, K.; Vasilev, K. *J. Mater. Chem. B* **2014,** 2, (13), 1838-1845.

50. Du, Y.-Z.; Wang, L.; Dong, Y.; Yuan, H.; Hu, F.-Q. *Carbohydr. Polym.* **2010,** 79, (4), 1034-1039.

51. Alexandrino, E. M.; Wagner, M.; Landfester, K.; Wurm, F. R. *Macromol. Chem. Phys.* **2016,** 217, (17), 1941-1947.

52. Crespy, D.; Stark, M.; Hoffmann-Richter, C.; Ziener, U.; Landfester, K. *Macromolecules (Washington, DC, U. S.)* **2007,** 40, (9), 3122-3135.

53. Karode, S. K.; Kulkarni, S. S.; Suresh, A. K.; Mashelkar, R. A. *Chem. Eng. Sci.* **1998,** 53, (15), 2649-2663.

54. Liu, T.-q.; Zhao, D.; Li, X.-t.; Kang, Y.-y.; Shi, X.-d.; Lu, X.-h. *Gongneng Gaofenzi Xuebao* **2018,** 31, (2), 175-180.

55. Scott, C.; Wu, D.; Ho, C.-C.; Co, C. C. *J. Am. Chem. Soc.* **2005,** 127, (12), 4160-4161.

56. Tomcin, S.; Baier, G.; Landfester, K.; Mailaender, V. *Int. J. Nanomed.* **2014,** 9, 5471-5489.

57. Watnasirichaikul, S.; Davies, N. M.; Rades, T.; Tucker, I. G. *Pharm. Res.* **2000,** 17, (6), 684-689.

58. Al Khouri Fallouh, N.; Roblot-Treupel, L.; Fessi, H.; Devissaguet, J. P.; Puisieux, F. *Int. J. Pharm.* **1986,** 28, (2-3), 125-32.

59. Vanderhoff, J. W.; El-Aasser, M. S.; Ugelstad, J. Polymer emulsification. US4177177A, 1979.

60. Allemann, E.; Gurny, R.; Doelker, E. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **1993,** 39, (5), 173-91.

61. Gurny, R.; Peppas, N. A.; Harrington, D. D.; Banker, G. S. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **1981,** 7, (1), 1-25.

62. Tabata, Y.; Ikada, Y. *Pharm Res* **1989,** 6, (4), 296-301.

63. Gref, R.; Minamitake, Y.; Peracchia, M. T.; Trubetskoy, V.; Torchilin, V.; Langer, R. *Science (Washington, D. C., 1883-)* **1994,** 263, (5153), 1600-3.

64. Bodmeier, R.; Chen, H. *J. Controlled Release* **1990,** 12, (3), 223-33.

65. Nava-Arzaluz, M. G.; Pinon-Segundo, E.; Ganem-Rondero, A.; Lechuga-Ballesteros, D. *Recent Pat. Drug Delivery Formulation* **2012,** 6, (3), 209-223.

66. Doelker, E.; Bindschaedler, C.; Gurny, R. Preparing a powder of water-insoluble polymer which can be redispersed in a liquid phase, the resulting powder and utilization thereof. EP363549A1, 1990.

67. Matkovich, C. E.; Christian, G. D. *Anal. Chem.* **1973,** 45, (11), 1915-21.

68. De Jaeghere, F.; Allemann, E.; Leroux, J.-C.; Stevels, W.; Feijen, J.; Doelker, E.; Gurny, R. *Pharm. Res.* **1999,** 16, (6), 859-866.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

69. Allemann, E.; Gurny, R.; Doelker, E. *Int. J. Pharm.* **1992,** 87, (1-3), 247-53.

70. Quintanar-Guerrero, D.; Allemann, E.; Fessi, H.; Doelker, E. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **1998,** 24, (12), 1113-1128.

71. Yoo, H. S.; Oh, J. E.; Lee, K. H.; Park, T. G. *Pharm. Res.* **1999,** 16, (7), 1114-1118.

72. Perez, C.; Sanchez, A.; Putnam, D.; Ting, D.; Langer, R.; Alonso, M. J. *J. Controlled Release* **2001,** 75, (1-2), 211-224.

73. York, P. *Pharm. Sci. Technol. Today* **1999,** 2, (11), 430-440.

74. Chernyak, Y.; Henon, F.; Harris, R. B.; Gould, R. D.; Franklin, R. K.; Edwards, J. R.; DeSimone, J. M.; Carbonell, R. G. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2001,** 40, (26), 6118-6126.

75. Meziani, M. J.; Pathak, P.; Hurezeanu, R.; Thies, M. C.; Enick, R. M.; Sun, Y.-P. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2004,** 43, (6), 704-707.

76. Hutchenson, K. W. **2002**.

77. Shariati, A.; Peters, C. J. *Curr. Opin. Solid State Mater. Sci.* **2003,** 7, (4-5), 371-383.

78. Reverchon, E. *J. Supercrit. Fluids* **1999,** 15, (1), 1-21.

79. Patil, G. V. *Drug Dev. Res.* **2003,** 58, (3), 219-247.

80. Toshio, Y.; Mitsuru, H.; Shozo, M.; Hitoshi, S. *International Journal of Pharmaceutics* **1981,** 8, (2), 131-141.

81. Reis, C. P.; Neufeld, R. J.; Ribeiro, A. J.; Veiga, F. *Chem. Ind. Chem. Eng. Q.* **2006,** 12, (1), 47-52.

82. Calvo, P.; Remunan-Lopez, C.; Vila-Jato, J. L.; Alonso, M. J. *Pharm. Res.* **1997,** 14, (10), 1431-1436.

83. Wang, N.; Wu, X. S. *Pharm. Dev. Technol.* **1997,** 2, (2), 135-142.

84. Widder, K.; Flouret, G.; Senyei, A. *J Pharm Sci* **1979,** 68, (1), 79-82.

85. Tokumitsu, H.; Ichikawa, H.; Fukumori, Y.; Block, L. H. *Chem. Pharm. Bull.* **1999,** 47, (6), 838-842.

86. Richardson, J. J.; Bjoernmalm, M.; Caruso, F. *Science (Washington, DC, U. S.)* **2015,** 348, (6233), 411.

87. Chai, F.; Sun, L.; He, X.; Li, J.; Liu, Y.; Xiong, F.; Ge, L.; Webster, T. J.; Zheng, C. *Int. J. Nanomed.* **2017,** 12, 1791-1802.

88. Gu, X.; Wang, J.; Wang, Y.; Wang, Y.; Gao, H.; Wu, G. *Colloids Surf., B* **2013,** 108, 205-211.

89. Anandhakumar, S.; Sasidharan, M.; Tsao, C.-W.; Raichur, A. M. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2014,** 6, (5), 3275-3281.

90. Caruso, F.; Caruso, R. A.; Moehwald, H. *Science (Washington, D. C.)* **1998,** 282, (5391), 1111-1114.

91. Ammoury, N.; Fessi, H.; Devissaguet, J. P.; Dubrasquet, M.; Benita, S. *Pharm. Res.* **1991,** 8, (1), 101-5.

92. Fessi, H.; Devissaguet, J. P.; Puisieux, F. Preparation of dispersible colloidal systems of a material as a nanocapsule. FR2608942A1, 1988.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

93. Fessi, H.; Puisieux, F.; Devissaguet, J. P.; Ammoury, N.; Benita, S. *Int. J. Pharm.* **1989,** 55, (1), R1-R4.

94. Beck-Broichsitter, M.; Nicolas, J.; Couvreur, P. *Nanoscale* **2015,** 7, (20), 9215-9221.

95. Lepeltier, E.; Bourgaux, C.; Couvreur, P. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2014,** 71, 86-97.

96. Mora-Huertas, C. E.; Fessi, H.; Elaissari, A. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2011,** 163, (2), 90-122.

97. Lince, F.; Marchisio, D. L.; Barresi, A. A. *J. Colloid Interface Sci.* **2008,** 322, (2), 505-515.

98. Rideal, J. T. D. a. E. K., *Interfacial Phenomena*. Accademic press: 1961.

99. Miller, C. A.; Neogi, P., *Surfactant Science Series, Vol. 17: Interfacial Phenomena: Equilibrium and Dynamic Effects*. Marcel Dekker, Inc.: 1985; p 354 pp.

100. Pantokratoras, A. *Int. Commun. Heat Mass Transfer* **2018,** 91, 282.

101. Ostrovsky, M. V.; Ostrovsky, R. M. *J. Colloid Interface Sci.* **1983,** 93, (2), 392-401.

102. Limayem, B. I.; Charcosset, C.; Sfar, S.; Fessi, H. *Int J Pharm* **2006,** 325, (1-2), 124-31.

103. Beck-Broichsitter, M.; Rytting, E.; Lebhardt, T.; Wang, X.; Kissel, T. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2010,** 41, (2), 244-253.

104. Miller, C. A. *Surfactant Sci. Ser.* **2006,** 132, (Emulsions and Emulsion Stability (2nd Edition)), 107-126.

105. Horn, D.; Rieger, J. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2001,** 40, (23), 4330-4361.

106. Jones, R. A., *Soft condensed matter*. Oxford University Press: 2002; Vol. 6.

107. Gregory, J. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2009,** 147-148, 109-123.

108. Martinez Rivas, C. J.; Tarhini, M.; Badri, W.; Miladi, K.; Greige-Gerges, H.; Nazari, Q. A.; Galindo Rodriguez, S. A.; Roman, R. A.; Fessi, H.; Elaissari, A. *Int. J. Pharm. (Amsterdam, Neth.)* **2017,** 532, (1), 66-81.

109. Qin, Y.; Liu, C.; Jiang, S.; Xiong, L.; Sun, Q. *Ind. Crops Prod.* **2016,** 87, 182-190.

110. Luque-Alcaraz, A. G.; Lizardi-Mendoza, J.; Goycoolea, F. M.; Higuera-Ciapara, I.; Arguelles-Monal, W. *RSC Adv.* **2016,** 6, (64), 59250-59256.

111. Han, S.; Li, M.; Liu, X.; Gao, H.; Wu, Y. *Colloids Surf., B* **2013,** 102, 833-841.

112. Ge, J.; Neofytou, E.; Lei, J.; Beygui, R. E.; Zare, R. N. *Small* **2012,** 8, (23), 3573-3578.

113. Bazylinska, U.; Lewinska, A.; Lamch, L.; Wilk, K. A. *Colloids Surf., A* **2014,** 442, 42-49.

114. Chebil, A.; Leonard, M.; Six, J.-L.; Nouvel, C.; Durand, A. *Colloids Surf., B* **2018,** 162, 351-361.

115. Mazzarino, L.; Travelet, C.; Ortega-Murillo, S.; Otsuka, I.; Pignot-Paintrand, I.; Lemos-Senna, E.; Borsali, R. *J. Colloid Interface Sci.* **2012,** 370, (1), 58-66.

116. Siqueira-Moura, M. P.; Primo, F. L.; Espreafico, E. M.; Tedesco, A. C. *Mater. Sci. Eng., C* **2013,** 33, (3), 1744-1752.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

117. Simsek, S.; Eroglu, H.; Kurum, B.; Ulubayram, K. *J. Microencapsulation* **2013,** 30, (1), 10-20.

118. Averina, E.; Allemann, E. *LWT--Food Sci. Technol.* **2013,** 53, (1), 271-277.

119. Katara, R.; Majumdar, D. K. *Colloids Surf., B* **2013,** 103, 455-462.

120. Kumar, S.; Kesharwani, S. S.; Mathur, H.; Tyagi, M.; Bhat, G. J.; Tummala, H. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2016,** 82, 86-96.

121. Leroueil-Le Verger, M.; Fluckiger, L.; Kim, Y.-I.; Hoffman, M.; Maincent, P. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **1998,** 46, (2), 137-143.

122. Lebouille, J. G. J. L.; Stepanyan, R.; Slot, J. J. M.; Cohen Stuart, M. A.; Tuinier, R. *Colloids Surf., A* **2014,** 460, 225-235.

123. Martin-Banderas, L.; Alvarez-Fuentes, J.; Duran-Lobato, M.; Prados, J.; Melguizo, C.; Fernandez-Arevalo, M.; Holgado, M. A. *Int. J. Nanomed.* **2012,** 7, 5793-5806.

124. Flory, P. J., *Principles of polymer chemistry*. Cornell University Press: 1953.

125. Legrand, P.; Lesieur, S.; Bochot, A.; Gref, R.; Raatjes, W.; Barratt, G.; Vauthier, C. *Int. J. Pharm.* **2007,** 344, (1-2), 33-43.

126. Contado, C.; Vighi, E.; Dalpiaz, A.; Leo, E. *Anal. Bioanal. Chem.* **2013,** 405, (2-3), 703-711.

127. Dong, Y.; Feng, S.-S. *Biomaterials* **2004,** 25, (14), 2843-2849.

128. Chorny, M.; Fishbein, I.; Danenberg, H. D.; Golomb, G. *J. Controlled Release* **2002,** 83, (3), 389-400.

129. Thioune, O.; Fessi, H.; Devissaguet, J. P.; Puisieux, F. *Int. J. Pharm.* **1997,** 146, (2), 233-238.

130. Galindo-Rodriguez, S.; Allemann, E.; Fessi, H.; Doelker, E. *Pharm. Res.* **2004,** 21, (8), 1428-1439.

131. Bilati, U.; Allemann, E.; Doelker, E. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2005,** 24, (1), 67-75.

132. Sudduth, R. D. *Pigm. Resin Technol.* **2013,** 42, (6), 394-405.

133. Pouchly, J.; Zivny, A.; Solc, K. *J. Polym. Sci., Part C.* **1968,** No. 23, (Pt. 1), 245-56.

134. Ganachaud, F.; Katz, J. L. *ChemPhysChem* **2005,** 6, (2), 209-216.

135. Choi, S.-W.; Kwon, H.-Y.; Kim, W.-S.; Kim, J.-H. *Colloids Surf., A* **2002,** 201, (1-3), 283-289.

136. Flory, P. J.; Volkenstein, M. *Biopolymers* **1969,** 8, (5), 699-700.

137. Huggins, M. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1942,** 64, 2716-18.

138. Fonseca, C.; Simoes, S.; Gaspar, R. *J. Controlled Release* **2002,** 83, (2), 273-286.

139. Budhian, A.; Siegel, S. J.; Winey, K. I. *Int. J. Pharm.* **2007,** 336, (2), 367-375.

140. Stainmesse, S.; Orecchioni, A. M.; Nakache, E.; Puisieux, F.; Fessi, H. *Colloid Polym. Sci.* **1995,** 273, (5), 505-11.

141. Zhu, Z.; Margulis-Goshen, K.; Magdassi, S.; Talmon, Y.; Macosko, C. W. *J. Pharm. Sci.* **2010,** 99, (10), 4295-4306.

142. Hirsjaervi, S.; Peltonen, L.; Hirvonen, J. *Int. J. Pharm.* **2008,** 348, (1-2), 153-160.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

143. Johnson, B. K.; Prud'homme, R. K. *Phys. Rev. Lett.* **2003,** 91, (11), 118302/1-118302/4.

144. Becher, P. *J. Dispersion Sci. Technol.* **1998,** 19, (1), 139-140.

145. Roger, K.; Botet, R.; Cabane, B. *Langmuir* **2013,** 29, (19), 5689-5700.

146. Lannibois, H.; Hasmy, A.; Botet, R.; Chariol, O. A.; Cabane, B. *J. Phys. II* **1997,** 7, (2), 319-342.

147. Arizaga, A.; Ibarz, G.; Pinol, R. *J. Colloid Interface Sci.* **2010,** 348, (2), 668-672.

148. Singh, Y.; Ojha, P.; Srivastava, M.; Chourasia, M. K. *J Microencapsul* **2015,** 32, (1), 75-85.

149. Giannavola, C.; Bucolo, C.; Maltese, A.; Paolino, D.; Vandelli, M. A.; Puglisi, G.; Lee, V. H. L.; Fresta, M. *Pharm. Res.* **2003,** 20, (4), 584-590.

150. Sharma, D.; Gabrani, R.; Sharma, S. K.; Dang, S.; Sharma, R. K.; Sharma, N.; Ali, J. *AAPS PharmSciTech* **2015,** 16, (5), 1108-21.

151. Cortial, A.; Vocanson, M.; Bourdon, M.; Agusti, G.; Briancon, S. *J. Colloid Sci. Biotechnol.* **2015,** 4, (2), 160-169.

152. Asadi, H.; Rostamizadeh, K.; Salari, D.; Hamidi, M. *J. Microencapsulation* **2011,** 28, (5), 406-416.

153. Dhumal, R. S.; Biradar, S. V.; Yamamura, S.; Paradkar, A. R.; York, P. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2008,** 70, (1), 109-115.

154. Nehilla, B. J.; Bergkvist, M.; Popat, K. C.; Desai, T. A. *Int. J. Pharm.* **2008,** 348, (1-2), 107-114.

155. Guhagarkar, S. A.; Malshe, V. C.; Devarajan, P. V. *AAPS PharmSciTech* **2009,** 10, (3), 935-42.

156. Aubry, J.; Ganachaud, F.; Cohen, A. J.-P.; Cabane, B. *Langmuir* **2009,** 25, (4), 1970-9.

157. Galindo-Rodriguez, S. A.; Puel, F.; Briancon, S.; Allemann, E.; Doelker, E.; Fessi, H. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2005,** 25, (4-5), 357-367.

158. Cheng, R.; Meng, F.; Deng, C.; Klok, H.-A.; Zhong, Z. *Biomaterials* **2013,** 34, (14), 3647-3657.

159. Kumar, V.; Prud'homme, R. K. *Chem. Eng. Sci.* **2009,** 64, (6), 1358-1361.

160. Beck-Broichsitter, M. *Int. J. Pharm. (Amsterdam, Neth.)* **2016,** 511, (1), 262-266.

161. Kim, D. H.; Kim, M.-D.; Choi, C.-W.; Chung, C.-W.; Ha, S. H.; Kim, C. H.; Shim, Y.-H.; Jeong, Y.-I.; Kang, D. H. *Nanoscale Res. Lett.* **2012,** 7, (1), 91, 6 pp.

162. Kim, S. Y.; Lee, Y. M. *Biomaterials* **2001,** 22, (13), 1697-1704.

163. Constantin, M.; Bucatariu, S.; Stoica, I.; Fundueanu, G. *Int J Biol Macromol* **2017,** 94, (Pt A), 698-708.

164. Liu, F.; Kozlovskaya, V.; Medipelli, S.; Xue, B.; Ahmad, F.; Saeed, M.; Cropek, D.; Kharlampieva, E. *Chem. Mater.* **2015,** 27, (23), 7945-7956.

165. Yu, Y.; Chen, C.-K.; Law, W.-C.; Weinheimer, E.; Sengupta, S.; Prasad, P. N.; Cheng, C. *Biomacromolecules* **2014,** 15, (2), 524-532.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

166. Heald, C. R.; Stolnik, S.; Kujawinski, K. S.; De Matteis, C.; Garnett, M. C.; Illum, L.; Davis, S. S.; Purkiss, S. C.; Barlow, R. J.; Gellert, P. R. *Langmuir* **2002,** 18, (9), 3669-3675.

167. Campardelli, R.; Della Porta, G.; Reverchon, E. *J. Supercrit. Fluids* **2012,** 70, 100-105.

168. Zhang, C.; Chung, J. W.; Priestley, R. D. *Macromol. Rapid Commun.* **2012,** 33, (20), 1798-1803.

169. Zhang, Z.; Lee, S. H.; Gan, C. W.; Feng, S.-S. *Pharm. Res.* **2008,** 25, (8), 1925-1935.

170. Hornig, S.; Heinze, T. *Biomacromolecules* **2008,** 9, (5), 1487-1492.

171. Errico, C.; Bartoli, C.; Chiellini, F.; Chiellini, E. *J. Biomed. Biotechnol.* **2009**, No pp. given.

172. Hong, K.; Park, S. *Polym. Test.* **2000,** 19, (8), 975-984.

173. Hong, K.; Park, S. *React. Funct. Polym.* **1999,** 42, (3), 193-200.

174. Mizuno, K.; Taguchi, Y.; Tanaka, M. *J. Chem. Eng. Jpn.* **2005,** 38, (1), 45-48.

175. Kima, M. D.; Iskakova, R. M.; Batyrbekova, E. O.; Zhubanova, B. A.; Perichaudb. *Vysokomol. Soedin., Ser. A Ser. B* **2006,** 48, (12), 2122-2128.

176. Lelah, M. D.; Lambrecht, L. K.; Young, B. R.; Cooper, S. L. *J. Biomed. Mater. Res.* **1983,** 17, (1), 1-22.

177. Chandra, R.; Rustgi, R. *Prog. Polym. Sci.* **1998,** 23, (7), 1273-1335.

178. Santerre, J. P.; Woodhouse, K.; Laroche, G.; Labow, R. S. *Biomaterials* **2005,** 26, (35), 7457-7470.

179. Kim, S.; Liu, S. *ACS Biomater. Sci. Eng.* **2018**, Ahead of Print.

180. Cherng, J. Y.; Hou, T. Y.; Shih, M. F.; Talsma, H.; Hennink, W. E. *Int. J. Pharm. (Amsterdam, Neth.)* **2013,** 450, (1-2), 145-162.

181. Karol, M. H.; Kramarik, J. A. *Toxicol. Lett.* **1996,** 89, (2), 139-146.

182. Gupta, S.; Upadhyaya, R. *Int. J. Pharm. Res. Bio-Sci.* **2014,** 3, (6), 20-28.

183. Diller, W. F. *Toxicol. Ind. Health* **1985,** 1, (2), 7-15.

184. Kathalewar, M. S.; Joshi, P. B.; Sabnis, A. S.; Malshe, V. C. *RSC Adv.* **2013,** 3, (13), 4110-4129.

185. Dyer, E.; Scott, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1957,** 79, 672-5.

186. Figovsky, O.; Shapovalov, L.; Leykin, A.; Birukova, O.; Potashnikova, R. *PU Magazine* **2013,** 10, (4), 1-9.

187. Delebecq, E.; Pascault, J.-P.; Boutevin, B.; Ganachaud, F. *Chem. Rev. (Washington, DC, U. S.)* **2013,** 113, (1), 80-118.

188. Maisonneuve, L.; Lamarzelle, O.; Rix, E.; Grau, E.; Cramail, H. *Chem. Rev. (Washington, DC, U. S.)* **2015,** 115, (22), 12407-12439.

189. Rokicki, G.; Parzuchowski, P. G.; Mazurek, M. *Polymers for Advanced Technologies* **2015,** 26, (7), 707-761.

190. Blattmann, H.; Fleischer, M.; Bähr, M.; Mülhaupt, R. *Macromolecular Rapid Communications* **2014,** 35, (14), 1238-1254.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

191. Cornille, A.; Auvergne, R.; Figovsky, O.; Boutevin, B.; Caillol, S. *Eur. Polym. J.* **2017,** 87, 535-552.

192. Ubaghs, L.; Novi, C.; Keul, H.; Hoecker, H. *Macromol. Chem. Phys.* **2004,** 205, (7), 888-896.

193. Argyropoulos, J. N.; Anderson, J. R.; Kamber, N. E.; Ortiz, R. S. Ambient temperature curable isocyanate-free compositions for preparing crosslinked polyurethanes. EP3075755A1, 2016.

194. Ghatge, N. D.; Jadhav, J. Y. *J. Polym. Sci., Polym. Chem. Ed.* **1983,** 21, (7), 1941-50.

195. Neffgen, S.; Keul, H.; Hoecker, H. *Macromolecules* **1997,** 30, (5), 1289-1297.

196. Soga, K.; Chiang, W.-Y.; Ikeda, S. *J. Polym. Sci., Polym. Chem. Ed.* **1974,** 12, (1), 121-31.

197. Grozos, S. J.; Drechsel, E. K. Polyurethans. US2802022, 1957.

198. Figovsky, O.; Leykin, A.; Shapovalov, L. *Al'tern. Energ. Ekol.* **2016**, (3-4), 95-108.

199. Tang, C. N.; Nulwala, H. B.; Damodaran, K.; Kaur, P.; Luebke, D. R. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2011,** 49, (9), 2024-2032.

200. Carothers, W. H.; Van Natta, F. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1930,** 52, 314-26.

201. Whelan, J. M., Jr.; Samuels, W. P., Jr. Multiple cyclic carbonate polymers from erythritol dicarbonate. US2935494, 1960.

202. Reithofer, M. R.; Sum, Y. N.; Zhang, Y. *Green Chem.* **2013,** 15, (8), 2086-2090.

203. Sun, J.; Liang, L.; Sun, J.; Jiang, Y.; Lin, K.; Xu, X.; Wang, R. *Catal. Surv. Asia* **2011,** 15, (1), 49-54.

204. Della Ca, N.; Gabriele, B.; Ruffolo, G.; Veltri, L.; Zanetta, T.; Costa, M. *Adv. Synth. Catal.* **2011,** 353, (1), 133-146.

205. Bruneau, C.; Dixneuf, P. H. *J. Mol. Catal.* **1992,** 74, (1-3), 97-107.

206. Pews, R. G. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1974**, (4), 119.

207. Burk, R. M.; Roof, M. B. *Tetrahedron Lett.* **1993,** 34, (3), 395-8.

208. Huang, S.-y.; Liu, S.-g.; Li, J.-p.; Zhao, N.; Wei, W.; Sun, Y.-h. *Ranliao Huaxue Xuebao* **2007,** 35, (6), 701-705.

209. Wang, H.; Wu, L.-X.; Lan, Y.-C.; Zhao, J.-Q.; Lu, J.-X. *Int. J. Electrochem. Sci.* **2011,** 6, (9), 4218-4227.

210. Pearson, D. M.; Conley, N. R.; Waymouth, R. M. *Adv. Synth. Catal.* **2011,** 353, (16), 3007-3013.

211. Aresta, M.; Dibenedetto, A.; Dileo, C.; Tommasi, I.; Amodio, E. *J. Supercrit. Fluids* **2003,** 25, (2), 177-182.

212. Komura, H.; Yoshino, T.; Ishido, Y. *Bull. Chem. Soc. Jap.* **1973,** 46, (2), 550-3.

213. Takagaki, A.; Iwatani, K.; Nishimura, S.; Ebitani, K. *Green Chem.* **2010,** 12, (4), 578-581.

214. Bhanage, B. M.; Fujita, S.-i.; Ikushima, Y.; Arai, M. *Green Chem.* **2003,** 5, (4), 429-432.

215. Nishikubo, T.; Iizawa, T.; Iida, M.; Isobe, N. *Tetrahedron Lett.* **1986,** 27, (32), 3741-4.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

216. Olah, G. A.; Prakash, G. K. S.; Goeppert, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2011,** 133, (33), 12881-12898.

217. Beckman, E. J. *J. Supercrit. Fluids* **2004,** 28, (2-3), 121-191.

218. Dai, W.-L.; Luo, S.-L.; Yin, S.-F.; Au, C.-T. *Appl. Catal., A* **2009,** 366, (1), 2-12.

219. Sun, J.; Fujita, S.-i.; Arai, M. *J. Organomet. Chem.* **2005,** 690, (15), 3490-3497.

220. North, M.; Pasquale, R.; Young, C. *Green Chem.* **2010,** 12, (9), 1514-1539.

221. Clements, J. H. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2003,** 42, (4), 663-674.

222. Sonnati, M. O.; Amigoni, S.; Taffin de Givenchy, E. P.; Darmanin, T.; Choulet, O.; Guittard, F. *Green Chem.* **2013,** 15, (2), 283-306.

223. Tomita, H.; Sanda, F.; Endo, T. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2000,** 39, (1), 162-168.

224. Tomita, H.; Sanda, F.; Endo, T. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2001,** 39, (23), 4091-4100.

225. Rokicki, G. *Prog. Polym. Sci.* **2000,** 25, (2), 259-342.

226. Nohra, B.; Candy, L.; Blanco, J.-F.; Raoul, Y.; Mouloungui, Z. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2013,** 115, (1), 111-122.

227. Honda, M.; Tamura, M.; Nakao, K.; Suzuki, K.; Nakagawa, Y.; Tomishige, K. *ACS Catal.* **2014,** 4, (6), 1893-1896.

228. Baba, A.; Kashiwagi, H.; Matsuda, H. *Tetrahedron Lett.* **1985,** 26, (10), 1323-4.

229. Benyahya, S.; Habas, J.-P.; Auvergne, R.; Lapinte, V.; Caillol, S. *Polym. Int.* **2012,** 61, (11), 1666-1674.

230. Carre, C.; Bonnet, L.; Averous, L. *RSC Adv.* **2014,** 4, (96), 54018-54025.

231. Helou, M.; Carpentier, J.-F.; Guillaume, S. M. *Green Chem.* **2011,** 13, (2), 266-271.

232. Benyahya, S.; Desroches, M.; Auvergne, R.; Carlotti, S.; Caillol, S.; Boutevin, B. *Polym. Chem.* **2011,** 2, (11), 2661-2667.

233. Kihara, N.; Endo, T. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **1993,** 31, (11), 2765-73.

234. Brocas, A.-L.; Cendejas, G.; Caillol, S.; Deffieux, A.; Carlotti, S. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2011,** 49, (12), 2677-2684.

235. Fache, M.; Darroman, E.; Besse, V.; Auvergne, R.; Caillol, S.; Boutevin, B. *Green Chem.* **2014,** 16, (4), 1987-1998.

236. Sprott, K. T.; Corey, E. J. *Org Lett* **2003,** 5, (14), 2465-7.

237. Rannard, S. P.; Davis, N. J. *Org. Lett.* **1999,** 1, (6), 933-936.

238. Garipov, R.; Sysoev, V.; Mikheev, V.; Zagidullin, A.; Deberdeev, R. Y.; Irzhak, V.; Berlin, A. A. In *Reactivity of cyclocarbonate groups in modified epoxy–amine compositions*, Doklady Physical Chemistry, 2003; Springer: pp 289-292.

239. Zabalov, M. V.; Tiger, R. P.; Berlin, A. A. *Russ. Chem. Bull.* **2012,** 61, (3), 518-527.

240. Steblyanko, A.; Choi, W.; Sanda, F.; Endo, T. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2000,** 38, (13), 2375-2380.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

241. Tomita, H.; Sanda, F.; Endo, T. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2001,** 39, (21), 3678-3685.

242. Nohra, B.; Candy, L.; Blanco, J.-F.; Raoul, Y.; Mouloungui, Z. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2012,** 89, (6), 1125-1133.

243. Couvret, D.; Brosse, J. C.; Chevalier, S.; Senet, J. P. *Die Makromolekulare Chemie* **1990,** 191, (6), 1311-1319.

244. Nemirovskii, V. D.; Skorokhodov, S. S. *J. Polym. Sci., Polym. Symp.* **1967,** No. 16, (Pt. 3), 1471-8.

245. Tomita, H.; Sanda, F.; Endo, T. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2001,** 39, (6), 860-867.

246. Lamarzelle, O.; Durand, P.-L.; Wirotius, A.-L.; Chollet, G.; Grau, E.; Cramail, H. *Polym. Chem.* **2016,** 7, (7), 1439-1451.

247. He, Y.-C.; Keul, H.; Moeller, M. *React. Funct. Polym.* **2011,** 71, (2), 175-186.

248. Besse, V.; Foyer, G.; Auvergne, R.; Caillol, S.; Boutevin, B. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2013,** 51, (15), 3284-3296.

249. Yuen, A.; Bossion, A.; Gomez-Bengoa, E.; Ruiperez, F.; Isik, M.; Hedrick, J. L.; Mecerreyes, D.; Yang, Y. Y.; Sardon, H. *Polym. Chem.* **2016,** 7, (11), 2105-2111.

250. Blain, M.; Cornille, A.; Boutevin, B.; Auvergne, R.; Benazet, D.; Andrioletti, B.; Caillol, S. *J. Appl. Polym. Sci.* **2017**, Ahead of Print.

251. Diakoumakos, C. D.; Kotzev, D. L. *Macromol. Symp.* **2004,** 216, (Contributions from 8th Pacific Polymer Conference, 2003), 37-46.

252. Tabushi, I.; Oda, R. *Nippon Kagaku Zasshi* **1963,** 84, (2), 162-7.

253. Webster, D. C.; Crain, A. L. *Prog. Org. Coat.* **2000,** 40, (1-4), 275-282.

254. Buergel, T.; Fedtke, M.; Franzke, M. *Polym. Bull. (Berlin)* **1993,** 30, (2), 155-62.

255. Kihara, N.; Kushida, Y.; Endo, T. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **1996,** 34, (11), 2173-2179.

256. Besse, V.; Camara, F.; Mechin, F.; Fleury, E.; Caillol, S.; Pascault, J.-P.; Boutevin, B. *Eur. Polym. J.* **2015,** 71, 1-11.

257. K, A. V.; Jadhav, S. A.; Rane, A. V. *Moroccan J. Chem.* **2016,** 4, (2), 361-383.

258. Duval, C.; Kebir, N.; Jauseau, R.; Burel, F. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2016,** 54, (6), 758-764.

259. Blain, M.; Jean-Gerard, L.; Auvergne, R.; Benazet, D.; Caillol, S.; Andrioletti, B. *Green Chem.* **2014,** 16, (9), 4286-4291.

260. Lambeth, R. H.; Henderson, T. J. *Polymer* **2013,** 54, (21), 5568-5573.

261. Fleischer, M.; Blattmann, H.; Muelhaupt, R. *Green Chem.* **2013,** 15, (4), 934-942.

262. Hoenel, M.; Ziegler, P.; Foedde, H. Electrophoretic coating binders based on reaction products of 2-oxo-1,3-dioxalone-group-containing polymers and diamines. DE3726497A1, 1989.

263. Hoenel, M.; Ziegler, P.; Sprenger, W.; Wendt, W. Preparation of cationic resins as carriers for pigment pastes. EP350618A2, 1990.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

264. Anderson, A. G. Preparation of hydroxy urethanes by the reaction of primary amines with cyclic carbonates in the presence of bases. WO9850345A1, 1998.

265. Van Holen, J. Process using a cyclic carbonate reactant and beta-hydroxyurethanes thereby obtained. EP1471053A2, 2004.

266. Van Holen, J. Process using a cyclic carbonate reactant for the preparation of urethane group-containing compounds. WO2003066580A1, 2003.

267. Ochiai, B.; Inoue, S.; Endo, T. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2005,** 43, (24), 6282-6286.

268. Gurgiolo, A. E. Carbamates from aromatic amines and organic carbonates. US4268684A, 1981.

269. Soules, A.; Caillol, S.; Joubert, J.-P.; Martins, J.; Boutevin, B. Method for preparing a compound comprising at least one β-hydroxy-urethane unit and/or at least one β-hydroxy-urethane unit. WO2013060950A1, 2013.

270. Blain, M.; Yau, H.; Jean-Gerard, L.; Auvergne, R.; Benazet, D.; Schreiner, P. R.; Caillol, S.; Andrioletti, B. *ChemSusChem* **2016,** 9, (16), 2269-2272.

271. Lombardo, V. M.; Dhulst, E. A.; Leitsch, E. K.; Wilmot, N.; Heath, W. H.; Gies, A. P.; Miller, M. D.; Torkelson, J. M.; Scheidt, K. A. *Eur. J. Org. Chem.* **2015,** 2015, (13), 2791-2795.

272. Ochiai, B.; Inoue, S.; Endo, T. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2005,** 43, (24), 6613-6618.

273. Wei, R.-j.; Zhang, X.-h.; Du, B.-y.; Fan, Z.-q.; Qi, G.-r. *RSC Adv.* **2013,** 3, (38), 17307-17313.

274. Chen, Q.; Gao, K.; Peng, C.; Xie, H.; Zhao, Z. K.; Bao, M. *Green Chem.* **2015,** 17, (9), 4546-4551.

275. Maisonneuve, L.; Wirotius, A.-L.; Alfos, C.; Grau, E.; Cramail, H. *Polym. Chem.* **2014,** 5, (21), 6142-6147.

276. Anders, T.; Keul, H.; Moeller, M. *Des. Monomers Polym.* **2011,** 14, (6), 593-608.

277. Proempers, G.; Keul, H.; Hoecker, H. *Des. Monomers Polym.* **2005,** 8, (6), 547-569.

278. Ochiai, B.; Satoh, Y.; Endo, T. *Green Chem.* **2005,** 7, (11), 765-767.

279. Ochiai, B.; Satoh, Y.; Endo, T. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2009,** 47, (18), 4629-4635.

280. Cornille, A.; Blain, M.; Auvergne, R.; Andrioletti, B.; Boutevin, B.; Caillol, S. *Polym. Chem.* **2017,** 8, (3), 592-604.

281. Boyer, A.; Cloutet, E.; Tassaing, T.; Gadenne, B.; Alfos, C.; Cramail, H. *Green Chem.* **2010,** 12, (12), 2205-2213.

282. Maisonneuve, L.; More, A. S.; Foltran, S.; Alfos, C.; Robert, F.; Landais, Y.; Tassaing, T.; Grau, E.; Cramail, H. *RSC Adv.* **2014,** 4, (49), 25795-25803.

283. van Velthoven, J. L. J.; Gootjes, L.; van Es, D. S.; Noordover, B. A. J.; Meuldijk, J. *Eur. Polym. J.* **2015,** 70, 125-135.

284. Sheng, X.; Ren, G.; Qin, Y.; Chen, X.; Wang, X.; Wang, F. *Green Chem.* **2015,** 17, (1), 373-379.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

285. Baehr, M.; Bitto, A.; Muelhaupt, R. *Green Chem.* **2012,** 14, (5), 1447-1454.

286. Carre, C.; Bonnet, L.; Averous, L. *RSC Adv.* **2015,** 5, (121), 100390-100400.

287. Benyahya, S.; Boutevin, B.; Caillol, S.; Lapinte, V.; Habas, J.-P. *Polym. Int.* **2012,** 61, (6), 918-925.

288. Annunziata, L.; Diallo, A. K.; Fouquay, S.; Michaud, G.; Simon, F.; Brusson, J.-M.; Carpentier, J.-F.; Guillaume, S. M. *Green Chem.* **2014,** 16, (4), 1947-1956.

289. Proempers, G.; Keul, H.; Hoecker, H. *Green Chem.* **2006,** 8, (5), 467-478.

290. Ubaghs, L.; Fricke, N.; Keul, H.; Hoecker, H. *Macromol. Rapid Commun.* **2004,** 25, (3), 517-521.

291. Tomita, H.; Sanda, F.; Endo, T. *Macromolecules* **2001,** 34, (22), 7601-7607.

292. Besse, V.; Auvergne, R.; Carlotti, S.; Boutevin, G.; Otazaghine, B.; Caillol, S.; Pascault, J.-P.; Boutevin, B. *React. Funct. Polym.* **2013,** 73, (3), 588-594.

293. Keul, H.; Mommer, S.; Moeller, M. *Eur. Polym. J.* **2013,** 49, (4), 853-864.

294. Kim, M.-R.; Kim, H.-S.; Ha, C.-S.; Park, D.-W.; Lee, J.-K. *J. Appl. Polym. Sci.* **2001,** 81, (11), 2735-2743.

295. Lu, Q.-W.; Hoye, T. R.; Macosko, C. W. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2002,** 40, (14), 2310-2328.

296. da Silva, E. F.; Svendsen, H. F. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2004,** 43, (13), 3413-3418.

297. *Huntsman Technical Bulletin* **2005**.

298. Nohra, B.; Candy, L.; Blanco, J.-F.; Guerin, C.; Raoul, Y.; Mouloungui, Z. *Macromolecules (Washington, DC, U. S.)* **2013,** 46, (10), 3771-3792.

299. Figovsky, O.; Shapovalov, L.; Leykin, A.; Birukova, O.; Potashnikova, R. *Chem. Chem. Technol.* **2013,** 7, (1), 79-87.

300. Cornille, A.; Guillet, C.; Benyahya, S.; Negrell, C.; Boutevin, B.; Caillol, S. *European Polymer Journal* **2016,** 84, 873-888.

301. Shapovalov, L.; Figovsky, O. *Sci. Isr.--Technol. Advantages* **2004,** 6, (3-4), 45-52.

302. Hahn, C.; Keul, H.; Moeller, M. *Polym. Int.* **2012,** 61, (7), 1048-1060.

303. Friedman, S. P.; Mualem, Y. *Fert. Res.* **1994,** 39, (1), 19-30.

304. Kromidas, L.; Perrier, E.; Flanagan, J.; Rivero, R.; Bonnet, I. *Int. J. Cosmet. Sci.* **2006,** 28, (2), 103-108.

305. Qi, W.; Yan, X.; Fei, J.; Wang, A.; Cui, Y.; Li, J. *Biomaterials* **2009,** 30, (14), 2799-2806.

306. Sauer, M.; Streich, D.; Meier, W. *Adv. Mater. (Weinheim, Ger.)* **2001,** 13, (21), 1649-1651.

307. Esser-Kahn, A. P.; Odom, S. A.; Sottos, N. R.; White, S. R.; Moore, J. S. *Macromolecules (Washington, DC, U. S.)* **2011,** 44, (14), 5539-5553.

308. Hoffman, A. S. *Macromol. Symp.* **1995,** 98, (35th IUPAC International Symposium on Macromolecules, 1995), 645-64.

309. Priya James, H.; John, R.; Alex, A.; Anoop, K. R. *Acta Pharmaceutica Sinica B* **2014,** 4, (2), 120-127.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

310. Klouda, L. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2015,** 97, (Part_B), 338-349.

311. Deshpande, S.; Sharma, S.; Koul, V.; Singh, N. *ACS Omega* **2017,** 2, (10), 6455-6463.

312. Hiruta, Y.; Shimamura, M.; Matsuura, M.; Maekawa, Y.; Funatsu, T.; Suzuki, Y.; Ayano, E.; Okano, T.; Kanazawa, H. *ACS Macro Lett.* **2014,** 3, (3), 281-285.

313. Medeiros, S. F.; Lara, B. R.; Oliveira, P. F. M.; Moraes, R. M.; Alves, G. M.; Elaissari, A.; Santos, A. M. *J. Colloid Sci. Biotechnol.* **2013,** 2, (3), 180-194.

314. Choi, S. H.; Lee, S. H.; Park, T. G. *Biomacromolecules* **2006,** 7, (6), 1864-1870.

315. Polo Fonseca, L.; Bergamo Trinca, R.; Isabel Felisberti, M. *Journal of Applied Polymer Science* **2016,** 133, (25).

316. Fu, H.; Gao, H.; Wu, G.; Wang, Y.; Fan, Y.; Ma, J. *Soft Matter* **2011,** 7, (7), 3546-3552.

317. Sun, X.; Gao, H.; Wu, G.; Wang, Y.; Fan, Y.; Ma, J. *Int J Pharm* **2011,** 412, (1-2), 52-8.

318. Chen, S.-H.; Tsao, C.-T.; Chang, C.-H.; Wu, Y.-M.; Liu, Z.-W.; Lin, C.-P.; Wang, C.-K.; Hsieh, K.-H. *Carbohydrate polymers* **2012,** 88, (4), 1483-1487.

319. Du, X.; Song, N.; Yang, Y.-W.; Wu, G.; Ma, J.; Gao, H. *Polym. Chem.* **2014,** 5, (18), 5300-5309.

320. Wang, A.; Gao, H.; Sun, Y.; Sun, Y.-l.; Yang, Y.-W.; Wu, G.; Wang, Y.; Fan, Y.; Ma, J. *Int J Pharm* **2013,** 441, (1-2), 30-9.

321. Zhou, H.; Xun, R.; Wu, K.; Zhou, Z.; Yu, B.; Tang, Y.; Li, N. *Macromol. Res.* **2015,** 23, (1), 94-99.

322. Siebert, J. M.; Baier, G.; Landfester, K. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2012,** 50, (1), 80-88.

323. Rosenbauer, E.-M.; Wagner, M.; Musyanovych, A.; Landfester, K. *Macromolecules (Washington, DC, U. S.)* **2010,** 43, (11), 5083-5093.

324. Schmaljohann, D. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2006,** 58, (15), 1655-1670.

325. Gao, W.-W.; Chan, J. M.; Farokhzad, O. C. *Mol. Pharmaceutics* **2010,** 7, (6), 1913-1920.

326. Nabid, M. R.; Omrani, I. *Materials Science and Engineering: C* **2016,** 69, 532-537.

327. Loiko, O. P.; van Herk, A. M.; Ali, S. I.; Burkeev, M. Z.; Tazhbayev, Y. M.; Zhaparova, L. Z. *e-Polym.* **2013,** 13, (1), 018.

328. Imoto, T.; Kida, T.; Matsusaki, M.; Akashi, M. *Macromol. Biosci.* **2010,** 10, (3), 271-277.

329. Aryal, S.; Hu, C.-M. J.; Zhang, L. *ACS Nano* **2010,** 4, (1), 251-258.

330. Shoaib, M.; Bahadur, A.; Saif ur Rahman, M.; Iqbal, S.; Arshad, M. I.; Tahir, M. A.; Mahmooda, T. *J. Drug Delivery Sci. Technol.* **2017,** 39, 277-282.

331. Kim, S.; Chen, Y.; Ho, E. A.; Liu, S. *Acta Biomaterialia* **2017,** 47, 100-112.

332. Wang, Y.; Heinze, T.; Zhang, K. *Nanoscale* **2016,** 8, (1), 648-657.

333. Wang, Y.-C.; Wang, F.; Sun, T.-M.; Wang, J. *Bioconjugate Chem.* **2011,** 22, (10), 1939-1945.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

334. Lu, J.; Choi, E.; Tamanoi, F.; Zink, J. I. *Small* **2008,** 4, (4), 421-426.

335. Schroeder, A.; Honen, R.; Turjeman, K.; Gabizon, A.; Kost, J.; Barenholz, Y. *J. Controlled Release* **2009,** 137, (1), 63-68.

336. Hua, M.-Y.; Liu, H.-L.; Yang, H.-W.; Chen, P.-Y.; Tsai, R.-Y.; Huang, C.-Y.; Tseng, I. C.; Lyu, L.-A.; Ma, C.-C.; Tang, H.-J.; Yen, T.-C.; Wei, K.-C. *Biomaterials* **2010,** 32, (2), 516-527.

337. Ge, J.; Neofytou, E.; Cahill, T. J., III; Beygui, R. E.; Zare, R. N. *ACS Nano* **2012,** 6, (1), 227-233.

338. El-Say, K. M.; El-Sawy, H. S. *Int. J. Pharm. (Amsterdam, Neth.)* **2017,** 528, (1-2), 675-691.

339. Lochhead, R.; Padman, V.; Anderson, L.; Wilgus, L. A.; McDaniel, P.; LaBeaud, L.; Davis, K.; Hoff, E.; Epler, J. *Household Pers. Prod. Ind.* **2010,** 47, (4), 71-76.

340. Perlatti, B.; Bergo, P. L. d. S.; Fernandes da Silva, M. F. d. G.; Fernandes, J. B.; Forim, M. R. In *Polymeric nanoparticle-based insecticides: a controlled release purpose for agrochemicals*, 2013; InTech: pp 521-548.

341. Vauthier, C.; Bouchemal, K. *Pharm. Res.* **2009,** 26, (5), 1025-1058.

342. Rocas, P.; Cusco, C.; Rocas, J.; Albericio, F. *Curr. Drug Delivery* **2018,** 15, (1), 37-43.

343. Bernard, L. N.; Patrick, C. *Techniques de l'ingénieur Innovations en matériaux avancés* **2009,** base documentaire : TIB186DUO, (ref. article : in69).

344. Neumann, K.; Lilienkampf, A.; Bradley, M. *Polym. Int.* **2017,** 66, (12), 1756-1764.

345. Liu, X.; Yang, Y.; Urban, M. W. *Macromol. Rapid Commun.* **2017,** 38, (13), n/a.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

CHAPITRE II : SYNTHESE DE POLY(HYDROXY)URETHANE ET PREPARATION DE NANOPARTICULES PAR NANOPRECIPITATION

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

INTRODUCTION

L'objectif du chapitre est la préparation de nanoparticules de polyuréthane sans isocyanate. Un poly(hydroxy)uréthane (PHU) est synthétisé par polyaddition d'une diamine et d'un bis-(carbonate cyclique) (cycle à cinq atomes) (bis-5CC). La faible réactivité de ces deux monomères permet difficilement de préparer les nanoparticules par polymérisation interfaciale in-situ comme c'est le cas pour les polyuréthanes traditionnels[1]. Au lieu de cela, l'élaboration des nanoparticules est divisée en deux étapes : la synthèse du PHU suivie de sa nanoprécipitation.

Les monomères que nous avons sélectionnés sont une diamine aliphatique de faible masse molaire – l'hexaméthylène diamine (HMDA) – et un bis-5CC dont l'utilisation pour la synthèse d'autres PHUs est rapportée dans la littérature[2] – le bis-(carbonate cyclique) sébacique (SB bis-CC). Le SB bis-CC est synthétisé à partir de deux molécules bio-sourcées, le carbonate de glycérol[3] et le chlorure de sébacoyle[4], ce qui constitue un avantage supplémentaire[2]. A notre connaissance, la préparation de nanoparticules par nanoprécipitation n'a jamais été appliquée à un poly(hydroxy)uréthane. Cependant, au moins une étude montre que ce procédé est compatible avec des polyuréthanes[5].

Ce chapitre est rédigé sous la forme d'une publication. Nous décrivons la synthèse et la purification du SB bis-CC puis du (SB-HM)-PHU avant de caractériser le polymère afin de déterminer sa structure chimique et ses propriétés thermiques. Le (SB-HM)-PHU a été synthétisé dans un solvant, sans catalyseur. Le protocole développé doit permettre de fournir un PHU suffisamment pur et de manière reproductible.

Par la suite, le (SB-HM)-PHU a été soumis à des essais de nanoprécipitation afin de démontrer la faisabilité de la préparation de nanoparticules par cette méthode. Nous avons caractérisé les nanosuspensions ainsi obtenues par diffusion dynamique de la lumière et microscopie électronique à transmission. Plusieurs essais ont été réalisés en faisant varier la nature du solvant organique, la concentration en polymère, et le ratio entre phase organique et phase aqueuse, afin de déterminer leur influence sur la taille et la polydispersité des nanoparticules. La stabilité des nanosuspensions dans le temps a été également suivie.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Non-isocyanate Polyurethane Nanoparticles Prepared by Nanoprecipitation

Thomas Quérette[1,2], Etienne Fleury[2], Nathalie Sintes-Zydowicz[1]*

[1] Université de Lyon, IMP, CNRS 5223, Université Lyon1, Villeurbanne, F-69622, France

[2] Université de Lyon, IMP, CNRS 5223, INSA de Lyon, Villeurbanne, F-69621, France

Abstract: The present study describes the preparation of non-isocyanate polyurethane nanoparticles by nanoprecipitation. The protocol consists in the dropwise addition of a previously prepared poly(hydroxy)urethane (PHU) organic solution into permuted water. PHU synthesis was performed by polyaddition reaction between a bio-based bis-(cyclic carbonate) monomer and a diamine, in solution and without catalyst, in a reproductible manner. The control of the polymer purity was crucial for the nanoprecipitation step and final nanoparticle characteristics. PHU chemical structure was thoroughly examined by ^{1}H and ^{13}C NMR. Molar masses were determined by MALDI-TOF and SEC. PHU thermal behaviour was investigated by TGA and DSC. Size and size distribution of nanoparticles obtained by nanoprecipitation were determined by DLS. The effect of polymer concentration in the organic phase, nature of the organic solvent and solvent-to-water volume ratio on the colloidal characteristics was investigated. PHU nanoparticle ageing behaviour was also studied.

1. Introduction

Nanoparticles (NPs) have applications in various industrial fields such as cosmetics[6], pharmacy[7] and agro chemistry[8] because they allow the protection and targeted release of an active ingredient. These colloidal polymeric systems can be manufactured through different processes based either on in situ polymerization reactions or on a preformed polymer[9]. Nanoprecipitation (i.e. solvent shifting or solvent displacement) is a straightforward process to obtain nanometer-sized particles from preformed polymer[10]. In practice, the polymer is solubilized into a semi-polar organic solvent and the organic solution is added to a non-solvent of the polymer (most often water) with which the organic solvent is miscible. NPs form instantaneously by polymer precipitation after solvent and non-solvent interdiffusion. Under appropriate conditions, it is possible to obtain small NPs in the 50-300 nm range with a narrow size distribution. Nanoprecipitation main practical limitation lies in possible particle flocculation and formation of large polymer aggregates, leading to low effective NP yield. Numerous studies were intended to identify the most relevant experimental parameters

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

controlling NP size and size distribution[10-12]. These key procedure variables are associated with the organic phase addition rate[13, 14], mixing time[6], solvent-to-water volume ratio[15, 16], polymer concentration in the organic phase[17, 18] and polymer-organic solvent-water interactions[11, 12]. Polymers commonly used for nanoprecipitation are biodegradable polyesters such as poly(lactic acid), poly-ε-caprolactone and poly(lactic-co-glycolic acid)[9, 10].

Polyurethane NPs have attracted growing interest as emergent nanomaterials for biomedical applications due to their synthetic versatility, excellent mechanical properties and good biocompatibility[19, 20]. Polyurethanes are traditionally prepared by polyaddition of polyols and diisocyanates[21]. However, for a few decades, the trend toward green chemistry has encouraged research projects on non-isocyanate polyurethanes (NIPU)[22]. The synthesis of these alternative polyurethanes avoid the handling of harmful isocyanates whose preparation requires the use of noxious substances such as phosgene. Different NIPU synthesis routes have been investigated[23], including the transesterification reaction between an urea and a diol[24], or the transurethanization reaction between a diol and a carbamate – prepared from a diamine and two ethylene carbonates[25]. Cyclic carbonate aminolysis resulting in poly(hydroxy)urethane (PHU) is the most promising way to produce NIPU because this straightforward synthesis route is based on the use of less toxic reagents[26-28]. Cyclic carbonate ring opening leads to the formation of a primary or a secondary hydroxyl group hanging off the polymer chain[28-30]. Hydroxyl groups provide particular properties to NIPUs compared to conventional PU[31], and enable polymer post-functionalization or crosslinking[32-34]. Nevertheless, PHU synthesis has two major problems: slow kinetics and low molar masses of the final polymer[2]. Temperature [27], type of solvent [34-40], type of monomers and initial monomers concentration[34] were reported to influence the reaction rate of cyclic carbonate aminolysis. Four kinds of cyclic carbonates were particularly investigated: five-membered (C5), six-membered (C6), seven-membered (C7) and eight-membered (C8) cyclic carbonates[41]. The amine reactivity towards the carbonate function increases with the size of the carbonate ring[27, 42]. However, five-membered bis-(cyclic carbonate)s are usually preferred since their synthesis is less complex[2]. The chemical structure of the amine monomer also influences the reaction rate: low molar mass aliphatic primary amines with strong electron withdrawing groups in α or β position with respect to the reactive amino group are more reactive[26]. Moreover, various side-reactions, kinetically and thermodynamically favoured by an increase of the temperature, have been observed during PHU synthesis. These side-reactions may explain PHU low molar masses[43].

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

The aim of the present study is the catalyst-free synthesis of novel PHUs from aliphatic diamines – hexamethylene diamine and tetramethylene diamine – and a bio-based bis-(cyclic carbonate) monomer – sebacic bi-(cyclic carbonate). The effect of the type of amine monomer and solvent on PHU chemical structure and molar masses was investigated. Microwave-assisted synthesis of PHU from sebacic bis-(cyclic carbonate) and hexamethylene diamine was also carried out. In that frame, the PHUs were thoroughly characterized by elemental analysis, FTIR-ATR, NMR, MALDI-TOF, TG and DSC analyses, and the PHUs synthesis repeatability was examined. Finally, PHU NPs were prepared by nanoprecipitation using with different solvents, polymer concentrations and solvent-to-water volume ratio. NPs were characterized by DLS analyses and TEM images. The influence of the type of solvent and of its elimination from the nanosuspension dispersing phase on NPs size, size distribution and stability over time was investigated.

2. Experimental section

2.1. Materials

Dichloromethane (99 %, Fischer Scientific), sebacoyle chloride (99 %, Sigma-Aldrich), triethylamine (99 %, Sigma-Aldrich), tetrahydrofuran (THF) (anhydrous, for analysis, stabilized with BHT, Carlo Erba), hexamethylene diamine (HMDA) (98 %, Sigma-Aldrich), dimethylsulfoxide (DMSO) (99.8 %, Carlo Erba), ethanol (EtOH) (absolute anhydrous, 99.9 %, Carlo Erba), deuterated dimethylsulfoxide (DMSO-*d*6) (99.9 %, Sigma-Aldrich) were purchased and used as received. Glycerol carbonate (Jeffsol glycerine carbonate) was kindly supplied by Huntsman and used as received.

2.2. Syntheses

2.2.1. Synthesis of sebacic bis-(cylic carbonate) (SB bis-CC)

Glycerol carbonate (10.9 g, 92 mmol) was mixed with dichloromethane (40 ml) in a 100 ml round-bottom flask. Triethylamine (4.6 g, 46 mmol) was added to the mixture under a light stream of nitrogen gas. The flask was cooled down with an ice bath. Sebacoyl chloride (10 g, 42 mmol) was added dropwise to the stirred reaction mixture. After an overnight reaction, triethylamine hydrochloride was removed by filtration. The filtrate was washed with 3 × 50 ml of a 5 wt. % hydrochloric acid solution. The organic phase was then dried with anhydrous sodium sulfate. Dichloromethane was removed under vacuum and 16.36 g of a white powder was obtained. A further purification was performed to ensure optimal purity of monomer SB bis-CC. The monomer was recrystallized in the following manner: SB bis-CC in 200 ml of

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

methanol was heated under reflux to ensure complete dissolution. The mixture was then slowly cooled down to room temperature, and then stored in a fridge overnight. The powder was taken out by filtration, washed with cold methanol and then dried under vacuum. 9.53 g of SB bis-CC were recovered and purified a second time by recrystallization with 100 ml of methanol. At the end of the work up, 8.32 g of SB bis-CC (yield = 49%) was obtained as a white and fine powder. ^{1}H NMR (400 mHz, DMSO-*d*6, ppm): δ = 1.25 (8H, –OCO–CH_2–CH_2–*CH_2*–), 1.52 (4H, –OCO–CH_2–*CH_2*–CH_2–), 2.33 (4H, –OCO–*CH_2*–CH_2–CH_2–), 4.25, 4.57 (6H, –OCOO–*CH_2*–CH–*CH_2*–O–), 5.03 (2H, –OCOO–CH_2–*CH*–CH_2–). ^{13}C NMR (400 mHz, DMSO-*d*6, ppm): δ = 24.25 (–OCO–CH_2–*CH_2*–CH_2–), 28.25 (–OCO–CH_2–CH_2–*CH_2*–), 33.21 (–OCO–*CH_2*–CH_2–CH_2–), 63.17 (–OCOO–*CH_2*–CH–CH_2–O–), 65.97 (–OCOO–CH_2–CH–*CH_2*–O–), 74.23 (–OCOO–CH_2–*CH*–CH_2–O–), 154.61 (–O*C*OO–CH_2–CH–CH_2–O–), 172.52 (–O*C*O–CH_2–CH_2–CH_2–). FTIR-ATR (cm^{-1}): 1733 (C=O stretching of ester), 1779 (C=O stretching of cyclic carbonate), 2852, 2928 (CH_2 stretching).

2.2.2. Synthesis of (SB-HM)-PHU

In a 250 ml round-bottom flask equipped with a stirring bar, SB bis-CC (2.00 g, 4.97 mmol) and HMDA (0.577 g, 4.97 mmol) were suspended into 75 ml of THF. The mixture was stirred and heated under reflux at 80°C for 48 hours. THF was evaporated under reduced pressure. The remaining paste was dissolved in the minimum amount (5 ml) of N,N-dimethylformamide and a large of excess (150 ml) of diethyl ether was added to ensure the precipitation of the solution. The flask was then stored in the fridge for 2 days. The liquid was taken out of the flask. A whitish paste appearing at the bottom of the flask and white grains deposited on the walls of the flask were observed. The grains, identified as remaining SB bis-CC by IR analysis, were taken out and the paste was washed with a small amount of dichloromethane to remove SB bis-CC traces. (SB-HM)-PHU was then dried under vacuum at 70°C for 24 hours. The synthesis was performed in triplicate ((SB-HM)-PHU-1, (SB-HM)-PHU-2, (SB-HM)-PHU-3).

^{1}H NMR (400 mHz, DMSO-*d*6, ppm): δ = 1.25 (12H, H_{3SB}, H_{3HM}), 1.37 (4H, H_{2HM}), 1.51 (4H, H_{2SB}), 2.29 (4H, H_{1SB}), 2.93 (4H, H_{1HM}), 3.48 (H_{6prim}), 3.82 (H_{5sec}), 3.89, 3.97 (H_{4sec}, H_{7sec}), 4.07 (H_{4prim}), 4.77, 4.88 (H_{5prim}), 5.15 (H_{8sec}), 7.10 (H_9). ^{13}C NMR (400 mHz, DMSO-*d*6, ppm): δ = 24.34 (C_{2SB}), 25.89 (C_{3HM}), 28.35, 28.51 (C_{3SB}), 29.29 (C_{2HM}), 33.34 (C_{1SB}), 40.12 (C_{1HM}), 59.79 (C_{6prim}), 62.77 (C_{4prim}), 64.71, 64.96 (C_{4sec}, C_{7sec}), 66.52 (C_{5sec}), 71.63, 72.43 (C_{5prim}), 155.99 (C_9), 172.77 (C_8). FTIR-ATR (cm^{-1}): 1531 (N–H bending), 1691 (C=O

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

stretching of urethane and ester, broad), 1796 (C=O stretching of cyclic carbonate), 2856, 2929 (C–H stretching), 3331 (O–H and N–H stretching).

Anal. Calcd for (SB-HM)-PHU: C, 55.58; H, 8.16; N, 5.40; O, 30.85. Found: 54.62 and 54.30 H, 7.91 and 8.17; N, 5.19 and 5.31; O, 31.33 and 31.34.

2.2.3. Synthesis of (SB-TM)-PHU

The synthesis of (SB-TM)-PHU was identical to the synthesis of (SB-HM)-PHU in THF, except that hexamethylene diamine was replaced with tetramethylene diamine. The same work up was followed for polymer purification.

2.2.4. Microwave synthesis of (SB-TM)-PHU

Microwave synthesis was performed with an Initiator + microwave oven from Biotage (mid. power, 50 W). 500 mg (1.24 mmol) of SB bis-CC and 144 mg (1.24 mmol) of HMDA were poured into a microwave vial equipped with a triangular stirring bar. 2.5 ml of THF was added and the tube was sealed. The sample was inserted in the microwave oven and heated at 100°C (50 W) for 30 minutes. The pressure around 3 bars remained stable.

THF was evaporated. The remaining solid was dissolved in 1 ml of DMF and precipitated in 75 ml of Et_2O. The mixture was stored in the freezer overnight. The liquid was removed; the precipitate was washed with Et_2O and dried over vacuum (50°C, 1h30).

Anal. Calcd for (SB-HM)-PHU_{MW}: C, 55.58; H, 8.16; N, 5.40; O, 30.85. Found: 54.58; H, 8.24; N, 5.12; O, 31.00.

2.3. Preparation of PHU nanoparticles by the nanoprecipitation method

In a typical procedure, 50 mg of (SB-HM)-PHU were dissolved into 25 ml of DMSO in a 60 ml vial. After a night at room temperature, the solution was filled up into a 60 ml syringe equipped with a needle. 50 ml of permuted water was poured into a 250 ml jacketed reactor and stirred at 300 rpm. The temperature of the organic phase, aqueous phase and the air under the fume hood remained constantly equal to 24°C during the whole experiment. The organic phase was added dropwise to the aqueous phase at a rate of 35 ml/h with a syringe pump. The needle tip was adjusted just above the reactor so that the needle pointed downwards. The samples were named according to the experimental conditions as P*X*-*D*-V*Y* or *PX*-*Et*-*VY* where *X* corresponds to the polymer concentration in the organic phase, *Y* the volume of aqueous solution, *D* and *Et* correspond to DMSO and Ethanol respectively (Table 4). The volume of the organic phase was equal to 25 ml.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Dialysis was performed with Biotech CE tubings (MWCO: 100–500 D) from SpectrumLabs. Tubings, wet in sodium azide, were rinsed with permuted water prior to handling. For each experiment, 20 ml of nanosuspension was loaded into a tubing sealed at each end with two plastic clamps. The dialysis bag was then immersed into 1L permuted water and stirred. Permuted water was renewed four times, every hour. Afterwards, an overnight dialysis of the dispersion was performed.

2.4. Characterization

Elemental analysis of PHU were performed for CH, N and O on the corresponding micro analyzers at the Institut des Sciences Analytiques (ISA, UMR CNRS 5280), designed and manufactured by the instrumentation service of this institute. For CH analyses, the samples were completely combusted at 1050°C under oxygen flow. Carbon and hydrogen were transformed into CO_2 and H_2O respectively and quantified by specific infrared detectors. For N analyses, the samples were completely combusted at 1050°C under helium and oxygen flow. Nitrogen was transformed into various nitrogen oxides and reduced into molecular nitrogen. CO_2 and H_2O were trapped on ascarite® and magnesium perchlorate. Nitrogen was subsequently quantified by thermal conductivity detectors. For O analyses, the samples were completely combusted at 1080°C under nitrogen flow. The pyrolysis gases, in contact with active carbon were transformed into CO at 1120°C. CO was quantified by an infrared detector.

Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy analyses were performed using a Thermo Scientific Nicolet iS10 infrared spectrometer equipped with a MCT/A detector in the Attenuated Total Reflectance (ATR) mode with a diamond crystal (128 scans, wavenumber range: 650 to 4000 cm^{-1}).

Quantitative ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of SB bis-CC, HMDA and PHU samples as well as 2D correlation (COSY) and heteronuclear single-quantum coherence (HSQC) spectra were recorded on a Bruker Avance II 400 MHz spectrometer (400 MHz for ^{1}H) in DMSO-*d6*, at 298K (^{1}H: pulse angle: 30°, delay time: 2s; ^{13}C: pulse angle: 70°, delay time: 10s).

MALDI-ToF analyses were performed with a Bruker Daltonics: Ultraflex III mass spectrometer set to positive reflectron mode. The ionization source was a Smartbeam laser. The polymer samples were solubilized into THF (10 mg/ml). Dithranol into THF (10 mg/ml) was used as a matrix solution. NaI into acetone (10 mg/ml) was used as a cationization salt. Solution mixing was carried out with a ratio 10 (matrix)/1 (sample)/1 (salt).

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Size exclusion chromatography (SEC) analyses of (SB-HM)-PHU were performed in DMSO, THF and DMF. The same batch of polymer was used for all the analyses (DMSO, THF and DMF). SEC analyses of the samples filtrated with a 0.45 µm filter, were performed at 70°C in DMSO with 0.1 wt% $NaNO_3$ on a 350 A high temperature gel permeation chromatography (HT-GPC) Malvern apparatus equipped with refractive index and light scattering detectors, three PSS GRAM columns (polyester copolymer network, 8mm×300mm×10µm, from 100 to 1,000,000 Da) and one pre-column. SEC analysis in THF was performed at 30°C on a HT-GPC from Waters equipped with a refractive index detector (RI 2414 from Waters), a viscosimetry detector (ViscoSTAR from Wyatt). Two PSS SDV columns (100 to 1,000,000 Da) and one pre-column (PSS SDV) were used for the elution. Universal calibration was done using polystyrene standards. SEC analysis in DMF was performed at 40°C on a Waters 2489 apparatus equipped with refractive index and UV/vis detectors and an Agilent Polargel M column (300×7.5 mm).

PHU samples were analysed by thermal gravimetric analysis. A sample weighing 5–20 mg was heated from 25 to 700°C at a rate of 10°C.min^{-1} in a stream of helium in the microbalance of a TGA Q500 thermal gravimetric analyser from TA Instruments.

Scanning differential calorimetry analysis of PHU samples was performed on a DSC Q200 analyser from TA Instruments. Samples weighing 5–10 mg in a sealed capsule were submitted to temperatures from −75 to 200°C, with heating and cooling speeds equal to 10°C/min, under a stream of helium.

PHU NP size distribution was determined by Dynamic Laser Light Scattering on a Nanosizer ZS (Malvern Instruments). Z-average diameter was calculated from the correlation function, according to the cumulant method. Samples were analysed as such, without dilution, within an hour after the preparation. The dynamic viscosity value of the suspension was set according to the water/DMSO ratio.

The transmission electron microscopy (TEM) specimens were observed under a Philips CM 120 transmission electron microscope operating at 120 kV with low-dose scanning and under reduced pressure. A drop of nanoparticles suspension was placed onto an advanced holey carbon film (Quantifoil, EMS) coated copper grid and dried before measurement. The sample was inserted into the TEM microscope vacuum column. The accelerating voltage used for the observation was 120 kV.

3. Results and discussions

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

3.1. PHU synthesis and chemical characterization

The ultimate purpose of this work was the preparation of NIPU NPs. To the best of our knowledge, such work has not been reported in the literature yet. Cyclic carbonate aminolysis resulting in PHU is one of the most studied isocyanate-free routes to PU[31]. Cyclic carbonates with the largest rings are the most reactive monomers. Yet, bis-5-membered cyclic carbonates are most frequently used for the preparation of PHUs. The reaction between glycerol carbonate – a cheap and widely available bio-based building block[3] – and sebacoyl chloride – obtainable from castor oil based ricin oleic acid[4] – is a straightforward route to produce a five-membered bis-(cyclic carbonate): sebacic bis-(cyclic carbonate) (SB bis-CC). SB bis-CC was synthesized according to a procedure reported by Carré *et al.*[2] The formation of SB bis-CC and absence of remaining reactant or by-product were confirmed by the presence of the characteristic IR C=O stretching vibration bands from the carbonate group – at 1790 cm^{-1} – and the ester group – at 1730 cm^{-1} (figure S1). Moreover, SB bis-CC ^{1}H and ^{13}C NMR spectra were consistent with the NMR identifications carried out by Averous *et al.*[2] (figure S2 and S3).

3.1.1. (SB-HM)-PHU

Once SB bis-CC chemical structure was validated, polymerization attempts were carried out in bulk. Reactions were not reproducible probably because of the improper stirring. For that reason, (SB-HM)-PHU synthesis was performed in THF at 80°C for 48 hours, in duplicate (Scheme 1). Hexamethylene diamine appeared to be a good amine monomer candidate in term of chemical structure and reactivity relationship[26]. The reproducibility of (SB-HM)-PHU synthesis in THF was confirmed by the very similar results obtained by elemental analysis performed on the duplicate (SB-HM)-PHU samples. Furthermore, calculated and experimental values were in very good agreement.

(SB-HM)-PHU was analysed by FTIR-ATR spectroscopy. FTIR spectra revealed the specific stretching bands of the urethane group[44, 45]: C=O stretching at 1690 cm^{-1} and N–H bending at 1535 cm^{-1} (figure S4 and S5). N–H stretching band at 3300-3400 cm^{-1} was somewhat overlapped with the hydroxyl group vibration band at 3500 cm^{-1} resulting from the carbonate ring opening. Previous studies of hydrogen bonding in PUs have investigated shifts associated with carbonyl absorbance and concluded that vibration bands at ~ 1700 cm^{-1} and ~ 1730 cm^{-1} are associated with hydrogen bonded carbonyl and free carbonyl respectively[46]. The same vibration bands were used for the analysis of PHUs. Nevertheless, in our case, the peak at 1690 cm^{-1} merged with the C=O stretching peak of the ester group from the cyclic carbonate

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

monomer at 1730 cm^{-1}. Consequently, no information related to PHU hydrogen bonding could be deduced from the FTIR spectra. Weak C=O stretching peak at 1790 cm^{-1} may correspond to the unreacted cyclic carbonates at the end of the polymer chains, as well as the peak at 777 cm^{-1} [45]. In recent works dealing with PU synthesis through a carbonate route, some authors reported the occurrence of a side reaction between diamines and ester groups of vegetal oils[2, 45]. Boyer *et al.* observed that the reaction was not observed with secondary amine. On the other hand, the increase of the polymerization temperature in the range 70°C-100°C or the addition of excess diamine reagent promoted ester group aminolysis. Ester group Aminolysis was observed by Carré *et al.* during the reaction between SB-bisCC and a bio-sourced dimer-based diamine conducted in bulk at 75°C during 2 hours[2]. In the present study, no amide peak was observed at 1650 cm^{-1}. However, when the reaction time was increased from 48h to 72h, (SB-HM)-PHU FTIR spectrum clearly evidenced the amide peak at 1661 cm^{-1} (figure S6). This peak was even stronger than the urethane vibration band at 1700 cm^{-1}. This observation may suggest that ester aminolysis can be favoured by longer reaction time. To the best of our knowledge, this point was not yet reported in the literature. Concurrently, C=O stretching peak of carbonate groups at 1790 cm^{-1} was also noticeable and its intensity appeared to be not influenced by the reaction time.

^{1}H NMR spectroscopy has been widely used for the examination of PHU chemical structure[2, 47, 48]. In order to implement the structural information provided by the ^{1}H NMR spectrum of (SB-HM)-PHU (Figure S7), (SB-HM)-PHU was also analysed by ^{13}C NMR (Figure 1a-c). For a clear understanding, a specific terminology was adopted for the identification of the different protons and carbons of the macromolecule on the spectra (Table 1). The assignment of ^{1}H and ^{13}C NMR resonances (Table 2) was achieved thanks to the thorough examination of COSY and HSQC 2D NMR as well as DEPT 135 spectra (Figure S8-S12). Further details on the assignment of ^{13}C NMR resonances are given in Supporting Information (S13, S14). The use of a higher spectral resolution, the suppression of Nuclear Overhauser effect and the respect of the longitudinal relaxation time T_1 enabled the acquisition of a quantitative ^{13}C NMR spectrum which allowed an accurate characterization of PHU chemical structure. Two major pieces of information were deduced from (SB-HM)-PHU ^{13}C NMR spectrum: the molar secondary/primary hydroxyl ratio (Scheme 2) and the average-number molar mass.

Two main regions could be observed on the ^{13}C NMR spectrum: one corresponding to the aliphatic carbons (75-20 ppm, Figures 1 b.c), the other to the carbonyl carbons (173-153 ppm, Figure 1a). The aliphatic region exhibited numerous resonances from the repeat unit carbons

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

(Table 1, Figure 1), resonances from residual DMF and resonances from the end chain groups. Resonances from the end group carbonate cycle carbons were clearly evidenced (D-G, Figure 1a and 1b). On the contrary, peaks from the carbonate end group SB moiety carbons did not appear explicitly and their integration was more difficult (Figure 1c, table 1). The same feature was observed for the amine end group carbons, i.e. Cγ (26.3 ppm), Cβ (33.4 ppm) and Cα (41.6 ppm) corresponding to carbons in γ, β and α position to NH_2 groups respectively. Figure 1b shows the aliphatic deshielded resonances from methylene and methyne carbons in α position of ether or hydroxyl groups (Table1). 5sec, 6sec and 7sec carbons exhibited one peak respectively, but surprisingly, two resonances were observed for 5 prim, 6prim and 7prim. 5 prim is an asymmetric carbon with R or S configuration, and may be characterized by two different chemical shifts. According to the configuration of 5prim, both 6prim and 7prim carbons also exhibited two resonances. Surprisingly, this feature has never been reported in the literature on (hydroxyl)urethane models[43, 49-53] nor poly(hydroxy)urethanes[2, 54]. The secondary/primary hydroxyl ratio of (SB-HM)-PHU was calculated from the integrals of the secondary and primary carbons resonances according to Eq.1:

$$\frac{Sec}{Prim} = \frac{I_{5sec} + I_{6sec} + I_{7sec}}{I_{5prim} + I_{6prim} + I_{7prim}} \qquad \text{Eq.1}$$

The ratio calculated for the duplicate samples appeared similar and close to 2 (Table 2), corresponding to 75mol% of secondary hydroxyl groups, in accordance with the general trend reported in the literature[28, 55, 56].

The carbonyl region (174-153 ppm, Figure 1a) confirmed the presence of PHU carbamate groups (156.0 ppm). The resonance from end group carbonate carbonyls (G) was clearly identified at 154.6 ppm, in accordance to the observations of aliphatic end groups carbons (Figure 1b). The resonances of the SB moities ester functions (172.8 ppm) were also assigned. Both urethane and ester carbonyls signals were composed of a major peak and minor resonances. This splitting could be due to the cis/trans configuration of the C-N bound – as it was observed in amide and urethane groups[57] – and the effect of the end chain proximity on the urethane carbonyl chemical shift. The latter hypothesis may be confirmed by the similar form of ester carbonyl signals. This feature may suggest the presence of low molar mass macromolecular chains. The integral of the ester carbonyl signal (I = 2.23) was found close to the sum of the integrals of the urethane one (I = 2.00) and of the carbonate end group carbonyl one (I=0.11). Assuming that the end chains were both carbonate and amine groups in

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

equal amount, the number-average degree of polymerization of the polymer ($\overline{DP_n}$) was deduced from the integral values of C_9 and C_{end} resonances, according to Eq.2:

$$\overline{DP_n} = 2\left(\frac{C_9}{2C_{end}} + 1\right) \quad \text{Eq.2}$$

With C_9 the integral value of the carbonyl C_9 resonance and C_{end} the mean value of C_D, C_E, C_F, and C_G resonances from carbonate end groups.

$\overline{DP_n}$ was calculated for the three samples. The results were comprised between 18 and 27 (Table 2). Finally $\overline{M_n}$ was calculated from $\overline{DP_n}$ (Eq.3) where 518 corresponded to the molar mass of both the repeating unit of PHU and PHU end groups:

$$\overline{M_n} = \frac{\overline{DP_n}}{2} \times 518 + 518 \quad \text{Eq.3}$$

Depending on the values of $\overline{DP_n}$, the number-average molar masses varied from 5 200 to 7 500 g/mol.

SEC analyses of PHUs are generally performed with DMF[44, 58] and THF[45, 59] as elution solvent, with PS as standards and RI detector. (SB-HM)-PHU-3 was analysed under three different analysis conditions with DMSO, THF or DMF as solvent and LLS, viscosimetric or refractive index detectors respectively (Table 3). The $\overline{M_n}$ value obtained with THF was found equal to 6 450 g/mol. This value corresponded to the absolute mass since universal calibration was used for the analysis. To the best of our knowledge, no determination of PHU absolute mass has been reported in the literature. Furthermore, this result confirmed the $\overline{M_n}$ value determined by ^{13}C NMR (7 500 g/mol) . The $\overline{M_n}$ value obtained in DMSO and LLS detector was quite similar (8 900 g/mol), whereas the $\overline{M_n}$ value provided by RI with DMF as solvent and PS as standards was unsurprisingly higher (11 340 g/mol).

MALDI-ToF MS analysis was performed to complete the investigation of the (SB-HM)-PHU chemical structure. The spectrum showed a molar mass distribution ranging between 600 and 3 000 Da (Figure 2). This mass range appeared quite surprising compared to the previous NMR and SEC results, even though MALDI ToF is known to underestimate the molar masses of synthetic polymers especially in the case of broad mass distributions[60]. The accurate examination of the spectrum provided additional information on the type of end chains. Three PHU species were observed depending on the amine and/or carbonate ending groups with DP ranging from 2 to 11 (Table S1).

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

(SB-HM)-PHU synthesized in THF during 72 hours was also analysed by ^{1}H NMR (Figure S13). The corresponding spectrum exhibited no significant difference with that of (SB-HM)-PHU synthesized during 48h. In contrast to the FTIR data (Figure S6), NMR results did not clearly evidence ester aminolysis: both the two ^{1}H NMR spectra (Figures S7 and S13) exhibited a very small resonance at 2.1 ppm that could be related to SB_1 protons of amide groups[45], in very low amount (2mol%)[61].

3.1.2. (SB-TM)-PHU

(SB-TM)-PHU was synthesized under the same experimental conditions as (SB-HM)-PHU. Since both TMDA[62] and SB bis-CC[2] monomers can be bio-sourced, (SB-TM)-PHU can be labelled as a biobased polymer. (SB-TM)-PHU chemical structure of was accurately examined by ^{13}C NMR (Figure S14). Secondary/primary hydroxyl ratio was calculated and found equal to 2.3 (Table 2), very close to the value obtained for (SB-HM)-PHU. The number average degree of polymerization $\overline{DP_n}$ and molar mass $\overline{M_n}$ were equal to 7 and 2 400 g/mol respectively. Surprisingly, these values were significantly lower than those of (SB-HM)-PHU. PHU molar mass is expected to be higher when lower molar mass diamines are used[26, 63]. However, Kihara *et al.* reported very low PHU molar masses while using ethylene and propylene diamines[64]. They attributed these results to an intramolecular side reaction between the end chain amine and the nearest carbamate function. This reaction yielded a five- or six-membered cyclic urea. In the case of (SB-TM)-PHU, cyclic ureas were detected neither by NMR nor FTIR. Another hypothesis explaining low $\overline{DP_n}$ and $\overline{M_n}$ may be the incomplete removal of unreacted SB bis-CC during the purification step.

(SB-TM)-PHU was analysed by MALDI-ToF spectroscopy (Figure S15). Oligomer molar mass distribution ranged from 900 to 3 300 Da and DP from 1 to 5. Amines and cyclic carbonates were identified as the two end chain functions of (SB-TM)-PHU. Oligomers were terminated by a cyclic carbonate function and an amine function or two cyclic carbonate functions. Unlike (SB-HM)-PHU spectrum, no oligomer terminated by two amine functions could be identified.

3.1.3. (SB-HM)-PHU_{MW}

Microwave technology has become increasingly important for polymer synthesis and reactions on polymers[65]. Higher yields, higher kinetics and greater product purity are the main advantages of microwave technology. Then in order to accelerate the reaction rate to reduce the reaction duration (48h), we performed the synthesis of (SB-HM)-PHU through

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

microwave-assisted polymerization at 100°C for 30 minutes ((SB-HM)-PHU_{MW}-1 and (SB-HM)-PHU_{MW}-2). ^{1}H NMR, ^{13}C NMR (Figures S17 and S18, (SB-HM)-PHU_{MW}-1) were very similar to those of (SB-HM)-PHU. According to Eq.1 and Eq.2, secondary/primary hydroxyl ratio, $\overline{DP_n}$ and $\overline{M_n}$ were found equal to 1.8, 17 and 5 000 g/mol respectively for (SB-HM)-PHU_{MW}-1 and 2.7, 35 and 9 700 g/mol for (SB-HM)-PHU_{MW}-2 (table 2). The difference in the values obtained for the two runs could be explained by the fact that SB bis-CC and HMDA monomers were not soluble in THF at room temperature, and for (SB-HM)-PHU_{MW}-1, a fraction of these monomers could not be totally solubilized during the quick reaction (t = 30min). Nevertheless, (SB-HM)-PHU_{MW} exhibited equal or higher values of M_n than (SB-HM)-PHU, confirming the advantages provided by microwave technology in terms of reaction time and molar mass.

3.2. Thermal properties

Thermal properties of (SB-HM)-PHU were assessed by TGA and DSC to better understand the polymer structure and behaviour. Generally speaking, polyurethanes are known to have a relatively low thermal stability because of the reversibility of the urethane bond[66], as well as complex multi-step degradation process[67]. The thermal decomposition of (SB-HM)-PHU under helium started at 230°C after a slight weight decrease of about 2 % between 30°C and 200°C caused by the evaporation of water and solvents entrapped in the polymer (Figure 3). These results were in accordance with the data from literature[2, 34, 61, 68, 69]: PHUs exhibit initial thermal degradation temperature between 200 and 250°C depending on their chemical structure, while conventional polyurethanes start decomposing above 300°C[67, 70]. The temperature derivative on the TGA curve revealed three degradation steps. The first step (local maximum of the derivative function at 296°C), associated with 40.0 % of weight loss between 220°C and 340°C, could be attributed to the degradation of urethane bonds[61, 71, 72]. The second and third steps (local maximum at 406°C and 440°C respectively) associated with 56.7 % of weight loss between 340°C and 480°C, could be attributed to the degradation of ester bonds and hydrocarbon chains, respectively[68].

(SB-HM)-PHU phase transition behaviour of was investigated by DSC (Figure 4a and b). A glass transition phenomenon was observed on the (SB-HM)-PHU DSC thermogram. The glass transition temperature was expressed from the onsets of the transition phenomenon. T_g was found equal to -8.2°C and -7.7°C upon the first and the second heating run respectively. These low T_g values were consistent with the aliphatic chemical structure of (SB-HM)-PHU and similar to the values reported in the literature for similar chemical structures[2]. The

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

absence of endothermic signal after the first heating run demonstrated the amorphous nature of (SB-HM)-PHU. (SB-HM)-PHU duplicates were also analysed by TGA and DSC and exhibited very similar thermal properties which confirmed the reproducibility of the synthesis. (SB-TM)-PHU was also analysed by TGA and DSC (figures S16 and S17). T_g was found equal to -16.1°C upon the second heating run. This low value was consistent with the fact that (SB-TM)-PHU had a lower $\overline{M_n}$ than (SB-HM)-PHU. Degradation profiles of (SB-TM)-PHU and (SB-HM)-PHU were similar.

3.3. (SB-HM)-PHU nanoparticles

During the last decades, PU-based nanosystems have emerged as a promising platform for the controlled delivery of a wide range of drugs[73]. PU nanoparticles are generally prepared by in-situ polyaddition reaction between a diol and a diisocyanate[74]. Unfortunately, the side reaction between isocyanates and water represents a major obstacle for the preparation of pure polyurethane nanoparticles[75]. In addition, the toxicity of isocyanate monomers hinders the development of eco-friendly nanoparticles. In this context, the development of non-isocyanate polyurethane (NIPU) is very challenging. Recently, Bossion *et al.*[75] developed a protocol to prepare NIPU nanocapsuless by interfacial polymerization. This technique is commonly used to prepare polyurethane nanocapsules[76]. This route appeared unsuitable to the formation of (SB-HM)-PHU nanocapsules despite several attempts based on butyl benzoate, benzyl benzoate, 2-phenoxy ethanol and 1,1,2-trichoroethane as organic solvents and different monomer concentrations (SB bis-CC: from 10^{-3} M up to 0.20 M and HMDA: from 2.9×10^{-3} M up to 1 M). No polymeric membrane was built at the interface because of the low reactivity of bis-CC towards HMDA[23] in the restrictive interfacial polymerization conditions[77].

Among the techniques leading to the formation of nanoparticles and the encapsulation of active agents, nanoprecipitation is one of the most commonly used approaches since it is rapid, simple, reproducible and low energy consuming[78]. The nanoprecipitation technique consists in the dropwise addition of an organic phase composed of a polymer dissolved in a solvent miscible with water in all proportions, in an aqueous phase sometimes containing a surfactant, under magnetic stirring. While solvent and water inter-diffuse, the polymer solubility decreases until its precipitation, leading to the formation of particles in the 100–200 nm range with a narrow size distribution[13].

For a given polymer/solvent/water system, the formation of NPs can take place in a metastable region delimited by the binodal curve and the spinodal curve[10]. On this basis, two

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

theories have been proposed to explain the nanoprecipitation phenomenon: the mechanical approach and the nucleation approach. In the mechanical approach, diffusion is governed by the presence of a surface tension gradient, according to the Marangoni effect[79]. Diffusion proceeds by erratic pulsations at the organic/aqueous interface[80]. These interfacial turbulences break down the organic phase into smaller and smaller droplets until submicron droplets are formed. The solvent is drained out of the droplets causing the polymer to precipitate in the form of NPs. The nucleation approach relies on the polymer chemical instability[81]. While the solvent is diffusing into water, the local polymer concentration increases until it reaches a solubility limit. Polymer chains will spontaneously migrate towards nucleation sites to form proto-particles that will grow with time. These proto-particles will then collide and aggregate, leading to NPs[82].

The nanoprecipitation technique is often performed on polyesters such as polylactic acid (PLA), polycaprolactone (PCL) or poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA)[13]. To our best knowledge, very few studies have reported the preparation of PU NPs by nanoprecipitation[5]. In this section, we present the preparation and characterization of (SM-HM)-PHU NPs using this technique.

3.3.1. Study of the formulation parameters on the nanoprecipitation process

(SB-HM)-PHU nanoprecipitation experiments were performed using DMSO or ethanol that are both fully miscible with water and able to solubilize the polymer.

The nature of the solvent[11, 12, 18, 83], the polymer concentration[18, 81, 83-85] and the organic-to-aqueous phase ratio[15, 16] are parameters that have a significant influence on the NPs size and size distribution. A set of experiments were performed by varying these parameters (Table 4), and the size and size distribution of the resulting nanoparticles were measured by dynamic light scattering (Table 5). It is worth noting that the experiments were performed without surfactant. By the way, nanoprecipitation does not require the presence of surfactant, even if a small amount of a stabilizer may prevent nanoparticle growth and help to their stabilisation[86, 87 86, 88].

The reproducibility of the nanoprecipitation process independently of the solvent type, was pointed out through the examination of DLS curves of **P2–Et–V50** and **P2–D–V50** similar to those of **P2–Et–V50–b** and **P2–D–V50–b** respectively (Figures 5a and 5b).

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

NPs prepared with ethanol were smaller (z-average around 90 nm) than the ones prepared with DMSO (around 135 nm) whereas PDI of **P2-Et-V50** (0.21) was slightly higher than that of **P2-D-V50** (0.13).

The influence of organic solvent nature on NP size and size distribution has been extensively described in the literature. Solvents with higher polarity[17] (i.e. solvent dielectric constant as close as possible to water dielectric constant[11, 16, 83]), higher water miscibility[89] (i.e. lower value of the solvent-water interaction parameter $\chi_{s\text{-}w}$[11, 90]) and lower chemical affinity with the polymer (i.e. higher value of the solvent-polymer interaction parameter $\chi_{s\text{-}p}$[11, 91 17, 86]) promote faster diffusion and more uniform supersaturation leading to the formation of smaller NPs.

The higher water miscibility of ethanol compared to that of DMSO ($\delta_{ethanol}$ = 27.0 $MPa^{1/2}$, δ_{DMSO} = 28.7 $MPa^{1/2}$) may explain the smaller nanoparticles obtained with ethanol as organic solvent. Galindo-Rodriguez *et al.* observed the same trend for the nanoprecipitation of Eudragit[90].

According to Legrand *et al.*, the higher the solvent polarity the smaller the NPs[17]. However, the opposite conclusion could be drawn from the (SB-HM)-PHU nanoprecipitation experiments, since DMSO (ε = 46.7 and μ = 3.9 D) is more polar than ethanol (ε = 24.5 and μ = 1.7 D).

Beck-Broichsitter *et al.* indicated that organic solvents able to diffuse faster towards the aqueous phase enabled the formation of smaller NPs[92]. Yet, although DMSO displays a higher diffusion coefficient towards water than ethanol ($D_D = 1.41\times10^{-5}$ cm^2/s > $D_{Et} = 1.23\times10^{-5}$ cm^2/s at 25°C[93]), smaller (SB-HM)-PHU NPs were obtained using ethanol.

All these results pointed out the complexity of the nanoprecipitation process that involves many physicochemical parameters. The comparison of DMSO and ethanol physio-chemical parameters (i.e. miscibility, polarity and diffusion) did not allow to fully understand how the organic solvent nature affects the size and size distribution of (SB-HM)-PHU NPs. The investigation of the polymer-solvent interactions may be helpful in that regard[11, 17, 86, 91]. These interactions are not discussed in this study but will be examined in a forthcoming paper.

The z-average values of the **P2-D-V50** (137 nm) and **P4-D-V50** (150 nm) illustrated the fact that the size of nanoparticles increases with the increase of polymer concentration[17, 81, 84, 85, 92] (Table 5). A higher polymer concentration results in a more viscous organic phase and a

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

slower solvent-to-water diffusion[18, 83]. Consequently, particle growth is favoured with respect to particle nucleation, resulting in larger NPs[81].

The increase of water volume from 50 to 100 ml did not result in a significant change in NP size or size distribution (Table 5). Similar results have been reported in the case of PCL[13] and PLA[18] nanoprecipitation. However, there is no consensus on the influence of the aqueous-to-phase ratio on NP size. Some authors have observed a decrease of PLGA[15, 94] NP size following the increase of water volume while others have noticed the aggregation of PLGA[15] or PCL[95] NP beyond a certain volume of water. The increase of water volume may result in a faster solvent-to-water diffusion and therefore in smaller NPs[94]. Above a certain water volume, diffusion may become so rapid that the polymer directly precipitates, producing larger aggregates[15].

3.3.2. Ageing study

Sample **P2–D–V50–b** was stored at room temperature for 28 days. NPs size and size distribution were measured after preparation as well as 2, 6, 12, 16 and 28 days later (Table 5). Size and size distribution remained stable the first 16 days. The significant size increase at day 28 (from 136 – 139 nm to 416 nm) reflected NP aggregation. This ageing study points out the relatively good stability of sample **P2–D–V50–b**, considering that the nanosuspension was surfactant-free / prepared without surfactant. In the absence of surfactant, NP stability may be ensured by polymer surface active properties such as surface charge (creating an electrostatic barrier)[96] or hydrophilicity (steric barrier)[97]. For instance, Legrand *et al.* explained that the stability of surfactant-free PLA NPs could be enabled by the presence of polar end chain functions[17]. In the case of (SB-HM)-PHU, polar primary amine and carbonate functions at the end of each polymer chain were relatively numerous due to the low polymer molar mass. These functions could contribute to the polymer amphiphilicity which helped stabilize NPs.

Ageing study was also conducted on sample **P2–Et–V50**. NP size and size distribution were measured 28 days after sample preparation (Table 5). Results revealed that NP aggregation was more important when (SB-HM)-PHU was nanoprecipitated from ethanol than from DMSO. The difference in stability of the two samples may be attributed to the fact that sample **P2–D–V50** had a lower PDI (0.13) than sample **P2–Et–V50** (0.21) at t = 0. Indeed, nanosuspension destabilization is less likely to happen when NPs have similar sizes because the energy barrier for particle collision is significantly higher[12, 98]. In addition, it has been reported that it was possible to reduce aggregation of PCL NPs by increasing the polarity of

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

the final dispersant medium[99]. The disparities in NP stability could therefore be explained by the fact that DMSO has a higher polarity (ε = 46.7) than ethanol (ε = 24.5).

3.3.3. Solvent elimination by dialysis

Solvent elimination is mandatory for biomedical applications[10]. Moreover, this step improves NP stability since Oswald ripening is attenuated in solvent-free dispersions[100]. Solvents with high volatility (THF, acetone or acetonitrile) can be removed by evaporation under atmospheric[85, 92, 101-104] or reduced pressure[12, 18, 84, 105-107], while solvents with low volatility (DMSO or DMF) can be removed by dialysis[12, 100, 108-111]. Blowing nitrogen through the suspension can accelerate solvent evaporation[112]. Centrifugation[11, 113], continuous supercritical extraction[114] or flash evaporation[100] are less common solvent elimination techniques. The influence of solvent elimination on NP size and size distribution has been seldom studied in the literature[10]. Cortial *et al.* certified that acetone evaporation did not alter PCL NP properties[106].

In this section, we propose to study the effect of solvent removal on (SB-HM)-PHU NP size and size distribution. DMSO and ethanol were eliminated by dialysis. Two samples were prepared (**P2–D–V50nd** and **P2–Et–V50nd**) and subsequently dialyzed (**P2–D–V50d** and **P2–Et–V50d**). NP size and size distribution of the four samples was then measured after preparation and dialysis as well as 7, 14 and 28 days later (Table 6).

Dialyzed and undialyzed NPs prepared with DMSO displayed the same z-average diameter and PDI during the first 14 days. Within that period, these values remained constant (z-ave ≃ 150 nm and PDI ≃ 0.10). 28 days after preparation, undialyzed NPs aggregated while dialyzed NPs remained stable.

In the case of ethanol, undialyzed NP size increased over time and aggregation was observed after 28 days. On the contrary, dialyzed NPs remain more stable. Surprisingly, the four samples exhibited relatively low PDI throughout the study.

In conclusion, the effect of dialysis on NP size and size distribution could be observed in the case of DMSO since the dialysis step prevented sample **P2–D–V50d** from aggregating. In the case of ethanol, this effect is less clear because NP size significantly increased with and without solvent elimination step.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

3.3.4. TEM analysis

Samples **P2–D–V50** and **P2–Et–V50** were observed by TEM. The poor quality of TEM images (Figure 6a) may be attributed to the presence of organic solvent in the medium. Solvent elimination improved the quality of TEM images (Figure 6b and 6c). Spherical NPs could be observed. The size of NPs observed by TEM was consistent with DLS measurements.

Sample **P2–D–V50** was submitted to TEM observation 28 days after preparation (Figure 6d). NPs were gathered together to form 200 – 800 nm clusters, confirming sample aggregation revealed by DLS measurements.

4. Conclusion

A catalyst-free method to produce linear aliphatic isocyanate-free polyurethane was developed in a reproducible manner. After synthesis in THF and purification, pure poly(hydroxy)urethane was fully characterized. The presence of pendant hydroxyl functions – predominantly secondary ones – was evidenced. Low molar masses around 7 000 g/mol were obtained. Polymer decomposition started at 230°C with urethane bond breaking followed by ester bond and hydrocarbon chain breaking. Polymer was amorphous with transition phase temperature around -8°C. Reaction time could be significantly reduced – from 48h to 30min – using a microwave oven. However, microwave heating did not promote higher polymer molar masses. The use of the bio-sourced tetramethylene diamine led to the synthesis of a low molar mass poly(hydroxy)urethane ($\overline{M_n}$ = 2 400 g/mol).

100 – 200 nm poly(hydroxy)urethane nanoparticles were successfully prepared by nanoprecipitation in a reproducible manner. The use of DMSO to solubilize the polymer led to larger but more monodisperse nanoparticles than the use of ethanol. The increase of polymer concentration favoured the formation of larger nanoparticles whereas the effect of water volume was insignificant. Ageing study revealed that nanoparticles prepared with ethanol rapidly aggregated while nanoparticles prepared with DMSO were stable for 16 days. Solvent was successfully eliminated from the samples by dialysis. Dialysis did not affect the properties of nanoparticles prepared with DMSO. However, it provoked the aggregation of the ones prepared with ethanol. These preliminary results encourage the use of DMSO as the organic solvent for the nanoprecipitation step. On another note, the use of a surfactant in the aqueous phase may be considered to improve poly(hydroxy)urethane nanoparticle stability.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Captions for figures

Figure 1: ^{13}C NMR spectrum of (SB-HM)-PHU in DMSO-*d6* (carbonyl region (a), deshielded aliphatic carbons region (b) and aliphatic carbons region (c)).

Figure 2: MALDI-ToF Spectrum of (SB-HM)-PHU.

Figure 3: TGA and DTGA curves of (SB-HM)-PHU.

Figure 4: DSC thermogram of (SB-HM)-PHU during the first run (25°C → −75°C → 150°C) (a), during the second run (150°C → −75°C → 150°C) (b) with heating/cooling rate equal to 10°C/min.

Figure 5a: DLS curves of P2-D-V50 (···) and P2-D-V50-b (–) nanoparticles.

Figure 5b: DLS curves of P2-Et-V50 (···) and P2-Et-V50-b (–) nanoparticles.

Figure 6a: TEM pictures of P2-D-V50 nanoparticles.

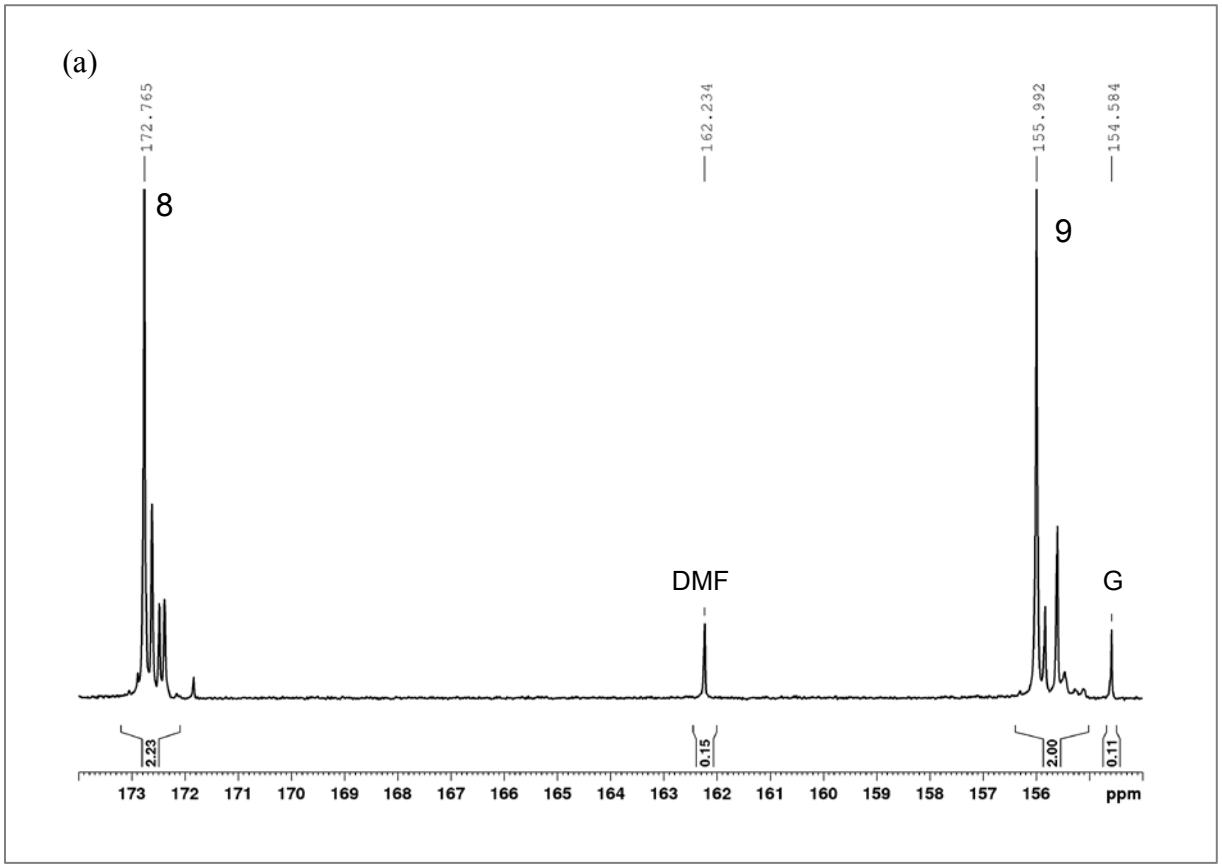
Figure 6b: TEM pictures of P2-D-V50 nanoparticles after dialysis.

Figure 6c: TEM pictures of P2-Et-V50 nanoparticles after dialysis.

Figure 6d: TEM pictures of 28 days aged P2-D-V50 nanoparticles.

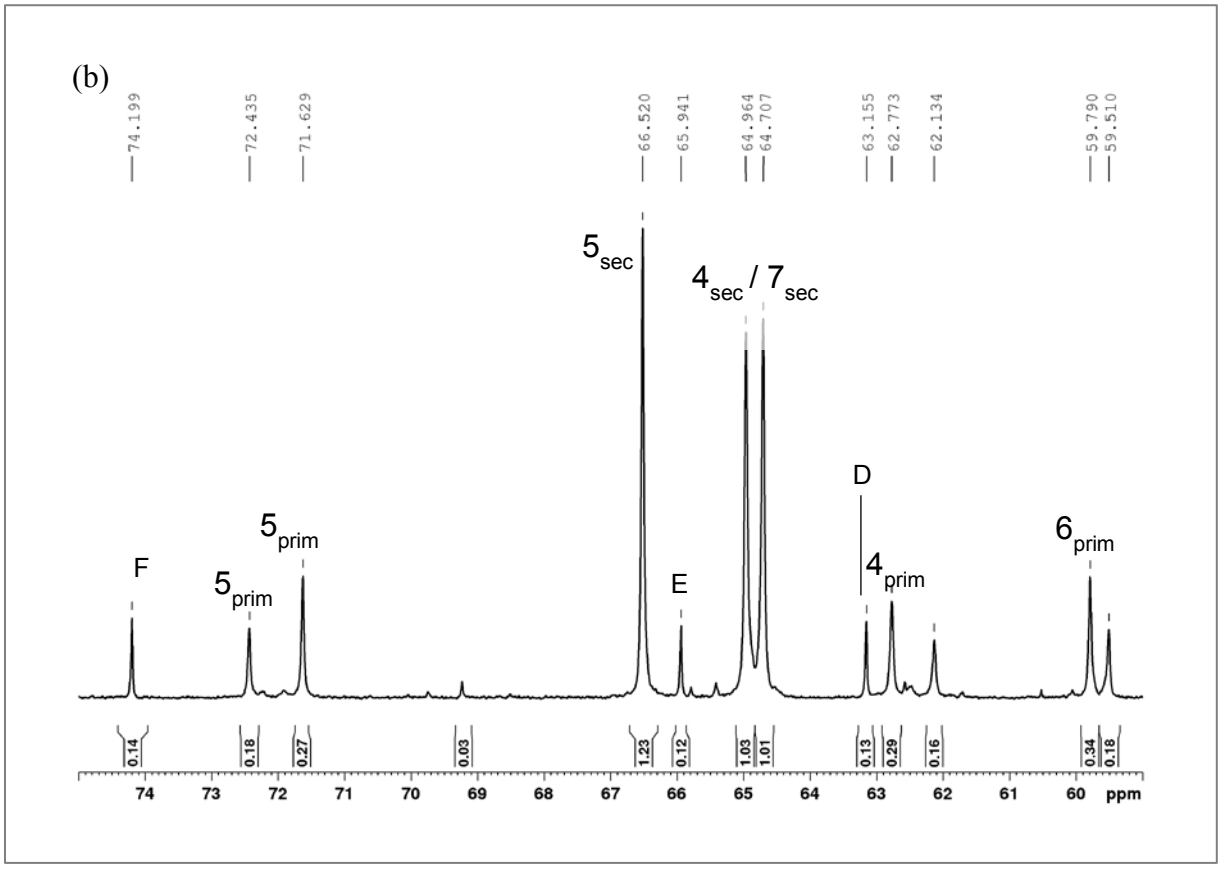
Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Figure 1a



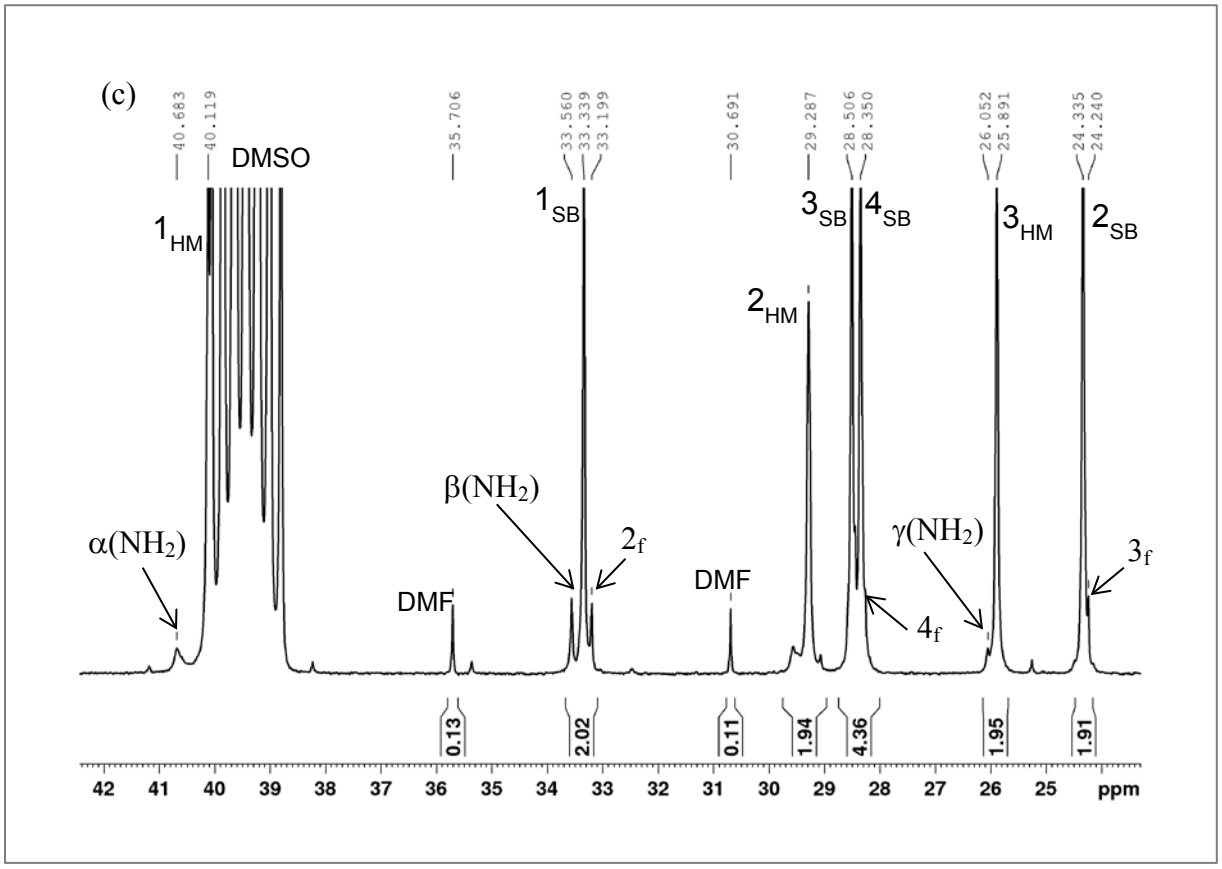
Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Figure 1b



Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

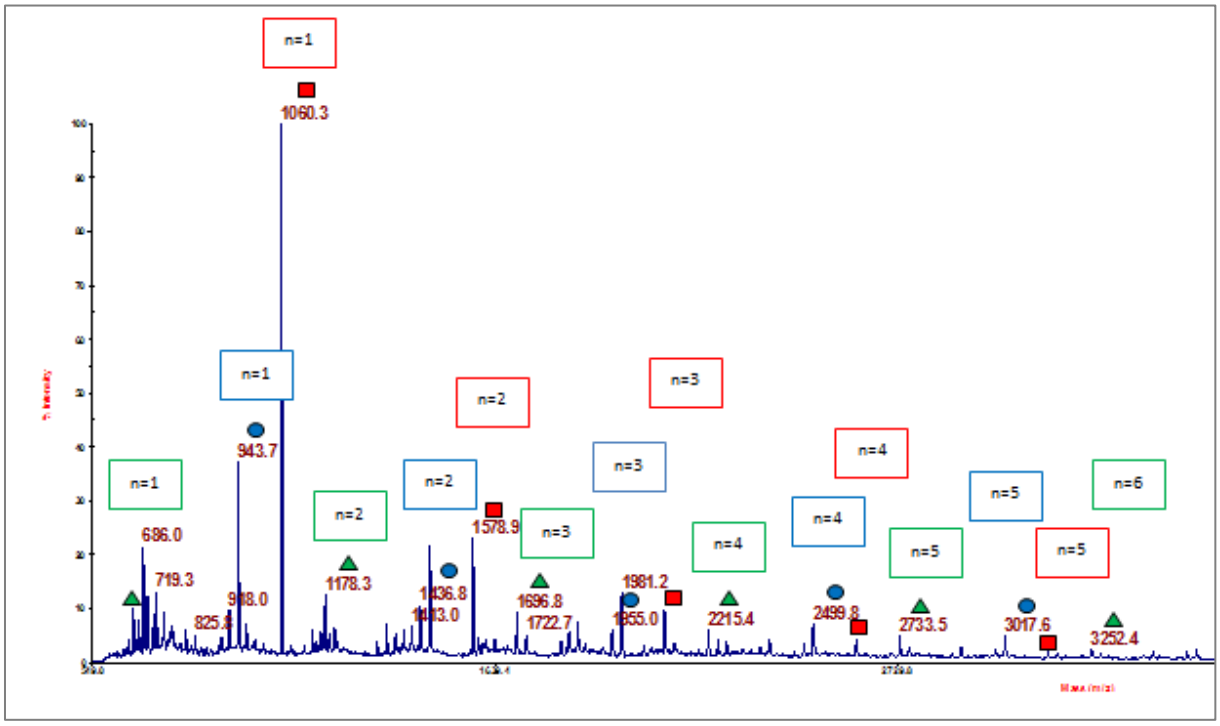
Figure 1c



Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

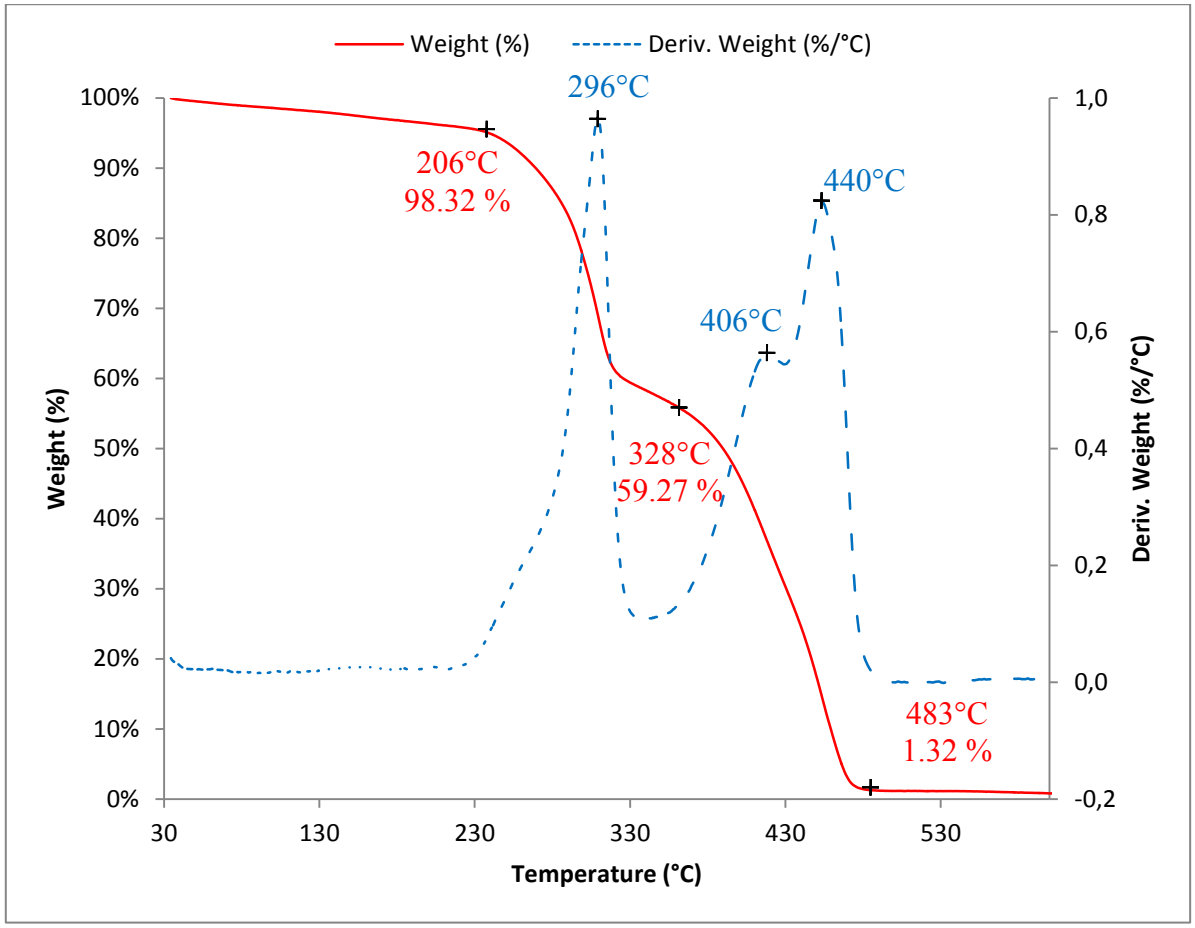
Figure 2

A' –$(B–A)_n$ – B', ■; B' – $(A–B)_n$ – A – B', ●; A' –$(B–A)_n$ – B – A', ▲



Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Figure 3



Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Figure 4a

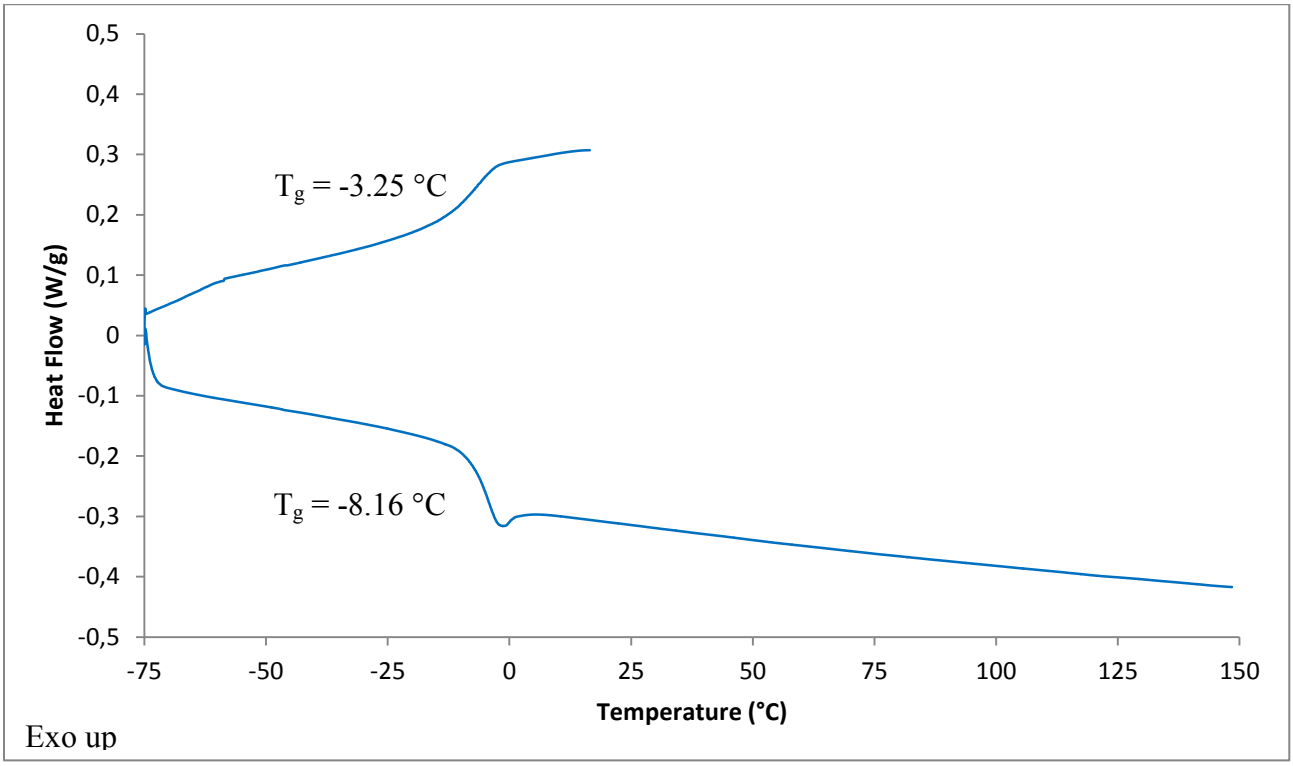
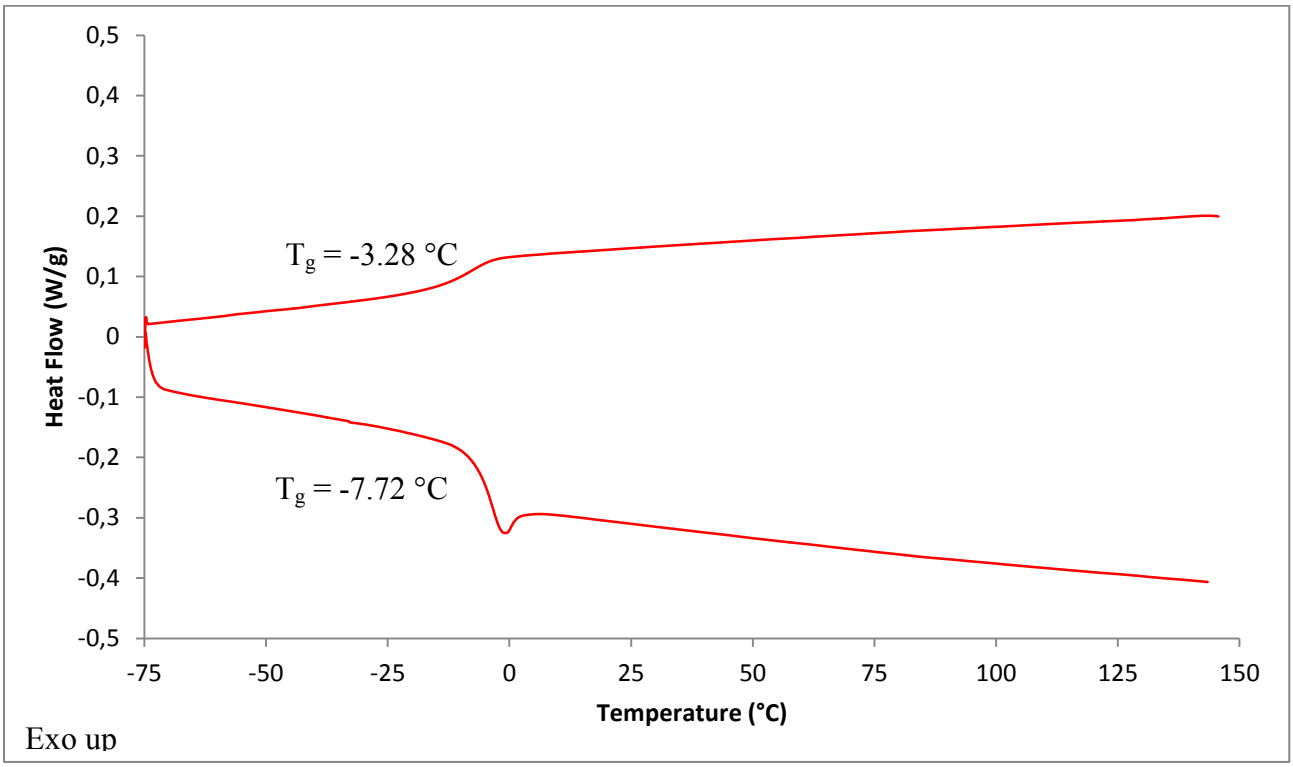


Figure 4b



Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Figure 5a

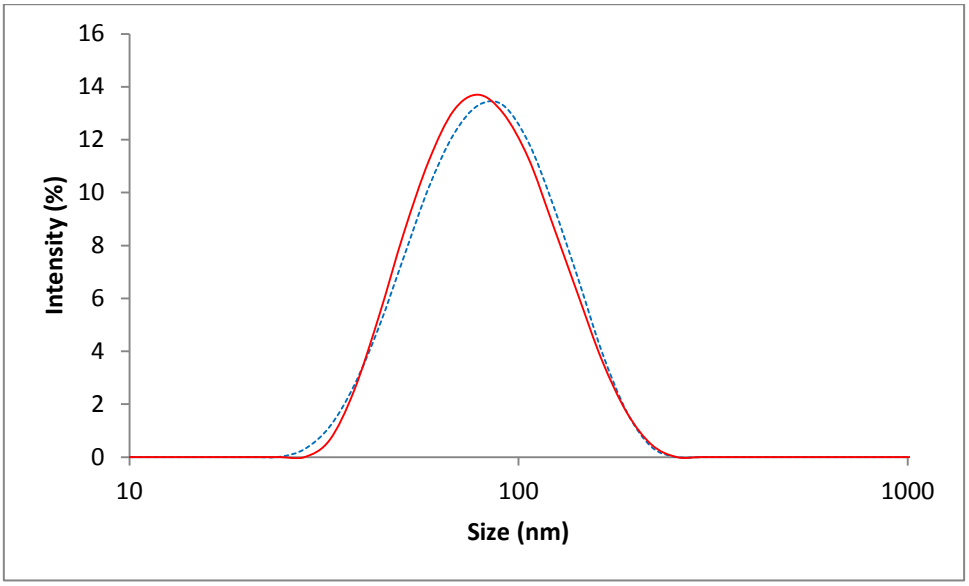
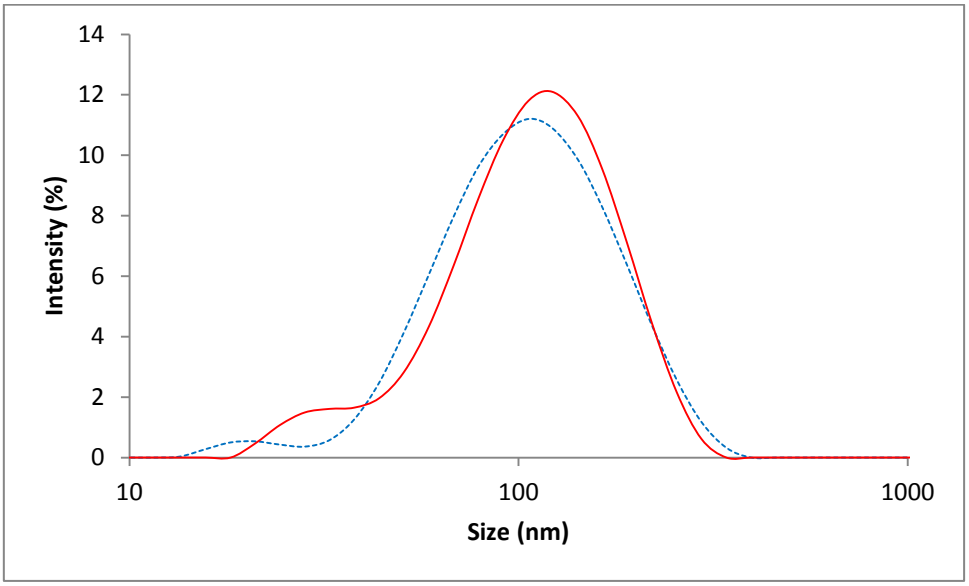


Figure 5b



Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Figure 6a

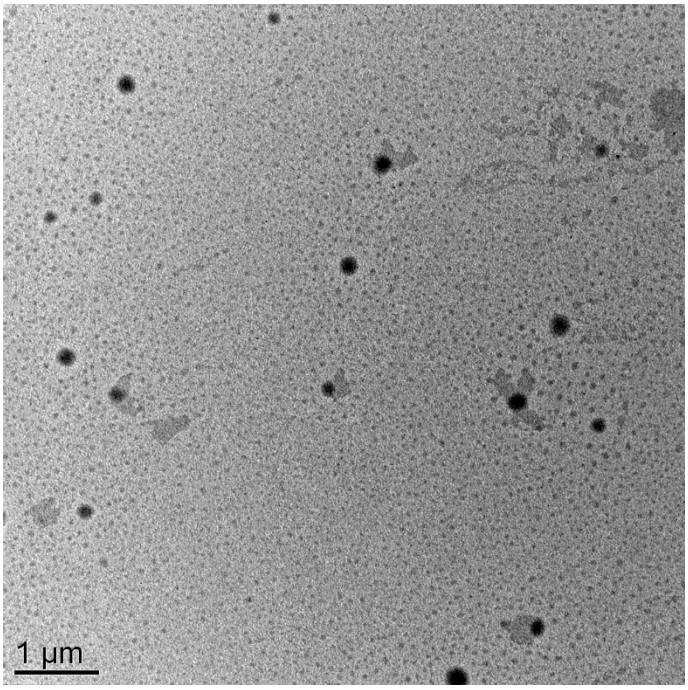
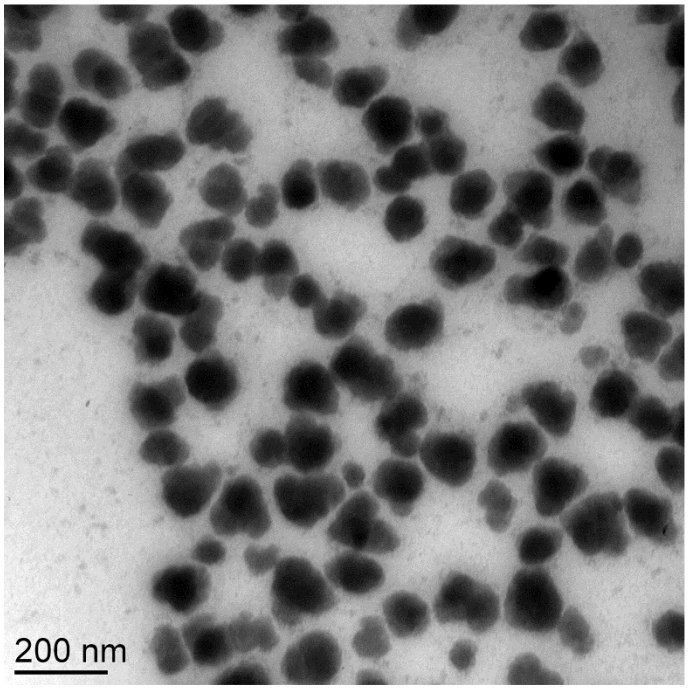


Figure 6b



Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Figure 6c

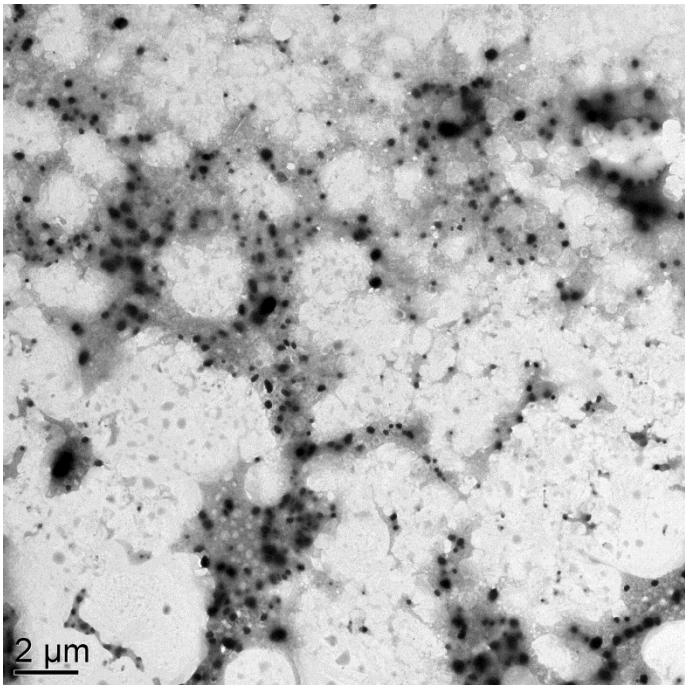
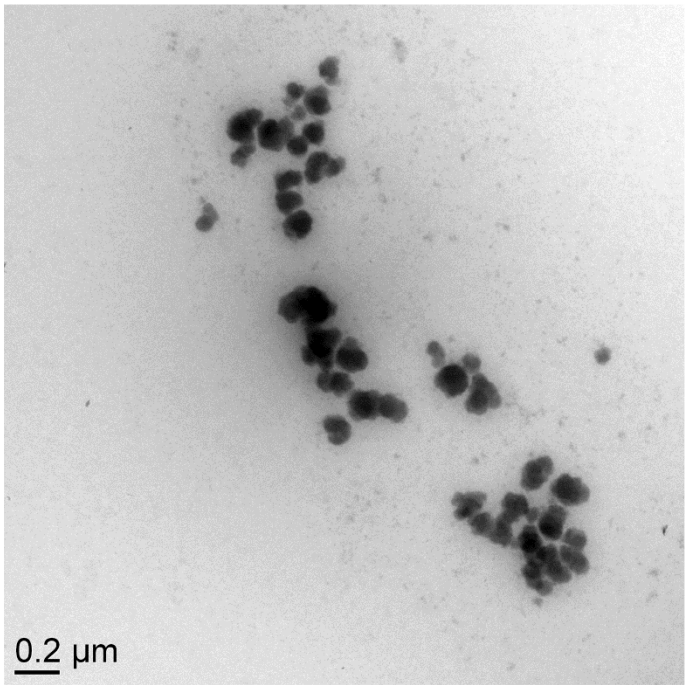
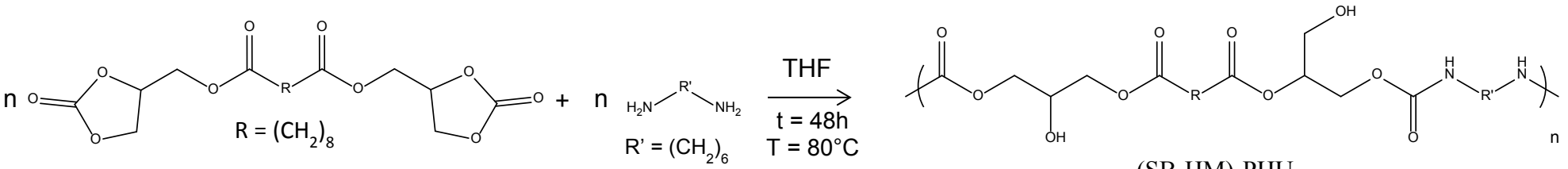


Figure 6d



Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Scheme 1. Polyaddition of sebacic bis-(cyclic carbonate) (SB bis-CC) and hexamethylenediamine (HMDA) in THF in stoichiometric ratio.



SB bis-CC
Sebacic bis-(cyclic carbonate)

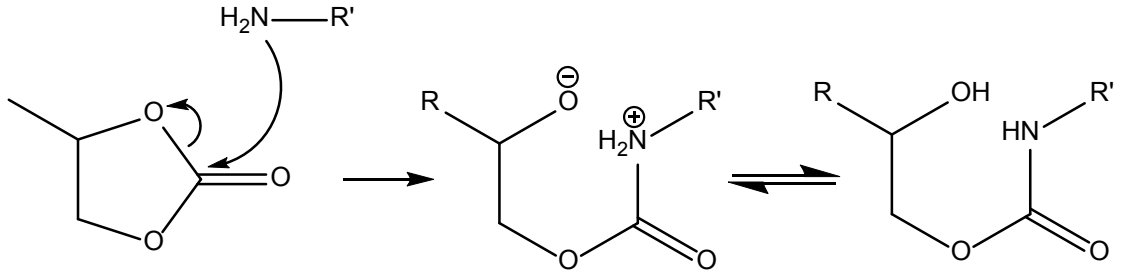
HMDA
Hexamethylene diamine
R' = $(CH_2)_4$
TMDA
Tetramethylene diamine

(SB-HM)-PHU

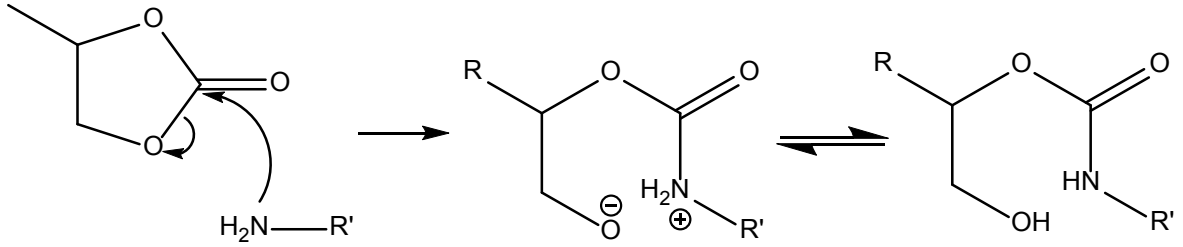
Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Scheme 2: Carbonate ring opening leading to a carbamate function β-substituted by either a primary (a) or a secondary (b) hydroxyl group.

a)

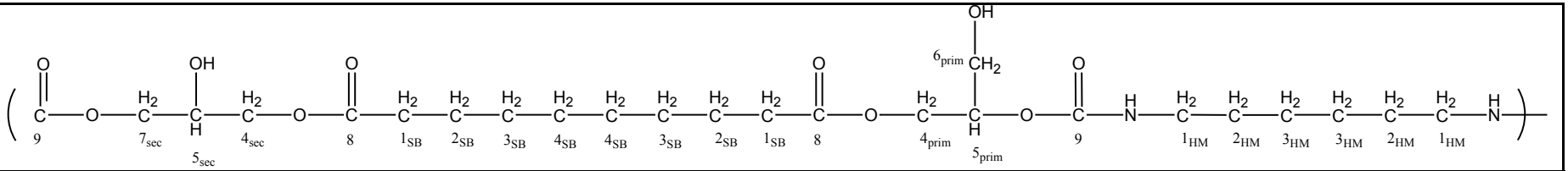
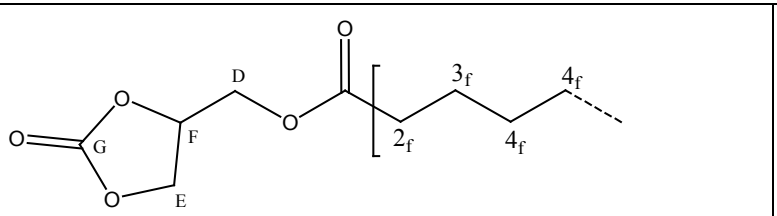
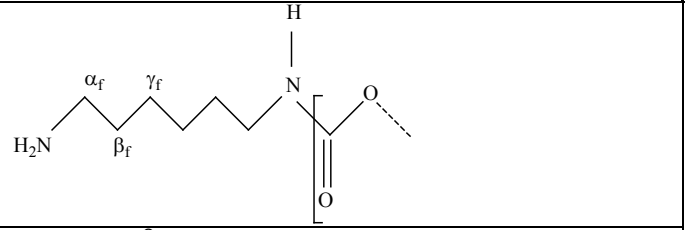
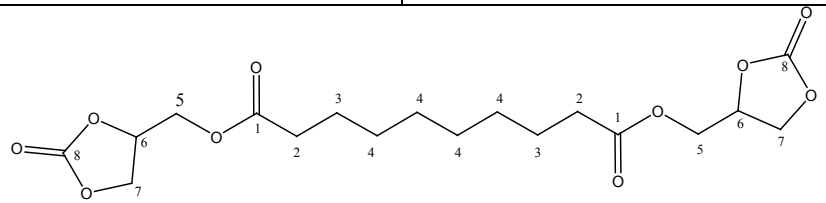
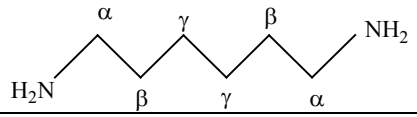


b)



Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Table 1. Designation of carbons of (SB-HM)-PHU repeat unit (a), (SB-HM)-PHU end chains (b) and SB bis-CC (c) and HMDA (d) monomers.

a	
b	 
c	
d	

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Table 2. secondary to primary hydroxyl ratio and $\overline{DP_n}$ for PHU samples, determined from ^{13}C NMR spectra.

Sample	Monomers	Reaction conditions	$\frac{Sec}{Prim}$	$\overline{DP_n}$	$\bar{M}_n$ (g/mol)
(SB-HM)-PHU-1	SB bis-CC HMDA	T = 80°C, t = 48h, heating plate	2.2	24	6 800
(SB-HM)-PHU-2	SB bis-CC HMDA	T = 80°C, t = 48h, heating plate	2.3	18	5 200
(SB-HM)-PHU-3	SB bis-CC HMDA	T = 80°C, t = 48h, heating plate	2.4	27	7 500
(SB-TM)-PHU	SB bis-CC TMDA	T = 80°C, t = 48h, heating plate	2.3	7	2 400
(SB-HM)-PHUMW-1	SB bis-CC HMDA	T = 100°C, t = 30min, microwave oven	1.8	17	5 000
(SB-HM)-PHUMW-2	SB bis-CC HMDA	T = 100°C, t = 30min, microwave oven	2.7	35	9 700

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Table 3. Molar masses and dispersities of (SB-HM)-PHU-3 obtained by SEC.

	Conditions 1[a]	Conditions 2[b]	Conditions 3[c]
$\bar{M}_n$ (g/mol)	8 900	6 450	11 340
$\bar{M}_w$ (g/mol)	17 300	7 930	46 050
Đ	1.94	1.3	4.1

[a] Conditions 1: solvent: DMSO, detector: LLS, calibration: PMMA.
[b] Conditions 2: solvent: DMSO, detector: viscosimetry, calibration: universal.
[c] Conditions 3: solvent: DMF, detector: RI, calibration: PS.

Table 4. Experimental nanoprecipitation conditions of (SB-HM)-PHU-1.

Sample	Polymer	Polymer concentration (organic phase) (mg/ml)	Solvent	Water volume (ml)
P2–D–V50	(SB-HM)-PHU-1	2	DMSO	50
P4–D–V50	(SB-HM)-PHU-1	4	DMSO	50
P2–D–V100	(SB-HM)-PHU-1	2	DMSO	100
P2–Et–V50	(SB-HM)-PHU-1	2	Ethanol	50
P2–Et–V100	(SB-HM)-PHU-1	2	Ethanol	100

Table 5. size characteristics of (SB-HM)-PHU-1 nanoparticles obtained by nanoprecipitation.

Age (days)	**Sample**	**z-average diameter (nm)**	**Standard deviation (nm)**	**PDI**	**PDI Standard deviation**
0	P2–Et–V50	91	0.4	0.21	0.02
0	P2–Et–V50–b	92	0.7	0.22	0.02
0	P2–D–V50	137	2.1	0.13	0.02
0	P2–D–V50–b	136	1.3	0.14	0.01
0	P2–D–V100	133	2.2	0.11	0.02
0	P4–D–V50	150	0.9	0.11	0.03
2	P2–D–V50–b	137	1.3	0.14	0.02
6	P2–D–V50–b	136	0.9	0.13	0.02
12	P2–D–V50–b	137	0.8	0.14	0.01
16	P2–D–V50–b	139	0.9	0.11	0.01
28	P2–D–V50–b	416	5.9	0.14	0.05
28	P2–Et–V50	1460	244.6	1	0

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Table 6. Effect of the dialysis on the size and size distribution of (SB-HM)-PHU-1 nanoparticles.

Sample	Age (days)	Dialysis	z-average diameter (nm)	Mean size error (+/-, nm)	PDI	PDI error (+/-)
P2–D–V50nd	0	No	137.0	2.1	0.13	0.02
P2–D–V50d	2	Yes	139.6	1.8	0.12	0.01
P2–D–V50nd	7	No	137.6	0.7	0.12	0.04
P2–D–V50d	7	Yes	141.7	0.7	0.10	0.02
P2–D–V50nd	14	No	134.4	1.9	0.12	0.01
P2–D–V50d	14	Yes	146.8	0.6	0.10	0.01
P2–D–V50nd	28	No	Aggregation	-	-	-
P2–D–V50d	28	Yes	187.2	0.9	0.08	0.04
P2–Et–V50nd	0	No	91.4	0.4	0.21	0.02
P2–Et–V50d	2	Yes	175.5	0.3	0.17	0.02
P2–Et–V50nd	7	No	147.6	2.3	0.09	0.01
P2–Et–V50d	7	Yes	342.2/1720*	2.3	0.31*	0.01
P2–Et–V50nd	14	No	371.7	8.4	0.07	0.02
P2–Et–V50d	14	Yes	271.2	1.5	0.121	0.01
P2–Et–V50nd	28	No	Aggregation			
P2–Et–V50d	28	Yes	216.5	2.4	0.11	0.01

*: bimodal distribution.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

CONCLUSION

L'objectif de ce chapitre était la synthèse d'un poly(hydroxy)uréthane modèle et la préparation de nanoparticules de ce polymère par la méthode de nanoprécipitation.

Les synthèses du monomère bis-(carbonate cyclique) sébacique et du poly(hydroxy)uréthane ont été développées de manière reproductible afin d'obtenir les produits les plus purs et homogènes. De cette façon, les résultats de la nanoprécipitation n'ont pas été influencés par le lot ou la portion du lot de polymère utilisé.

En ce qui concerne la préparation du SB bis-CC, nous avons ajouté une étape de purification par recristallisation dans du méthanol à chaud afin d'éliminer les impuretés détectées en RMN du proton. L'hexaméthylène diamine (HMDA) fournie par Sigma-Aldrich est utilisée telle qu'elle.

Nous avons observé que la synthèse du (SB-HM)-PHU dans le THF par chauffage à reflux aboutit, après purification, à un polymère plus pur et plus homogène que la synthèse en masse sous atmosphère inerte. Les résultats insatisfaisants de la synthèse en masse peuvent s'expliquer par la médiocre homogénéisation par agitation mécanique des monomères fondus. L'étape de séchage en étuve sous vide a permis l'élimination du DMF utilisé durant la purification. Le (SB-HM)-PHU obtenu a été caractérisé par analyse élémentaire, par spectroscopie FTIR-ATR, RMN et MALDI-ToF, par chromatographie et par analyses thermiques. Il s'agit d'un polymère amorphe, linéaire, en grande partie aliphatique, comprenant des fonctions uréthanes et esters, des hydroxyles primaires (minoritaires) et secondaires (majoritaire) et des fins de chaînes amines et carbonates cycliques. Sa masse molaire est faible ($\overline{M_n}$ ≃ 8.900 g/mol et $\overline{M_w}$ = 17.300 g/mol) et sa température de transition vitreuse est autour de -8°C.

Il a été possible de réduire considérablement le temps de réaction en remplaçant le chauffage thermique par des micro-ondes (30 minutes au lieu de 48h). L'utilisation de micro-ondes n'a cependant pas permis l'obtention de PHU de masse molaire plus élevée. Enfin, nous avons pu préparer un PHU en remplaçant la HMDA par la tétraméthylène diamine (TMDA) – une diamine pouvant être biosourcée[62]. La masse molaire du polymère obtenue est cependant beaucoup plus faible ($\overline{M_n}$ ≃ 2.500 en RMN ^{13}C).

Les essais de nanoprécipitation réalisés sur le (SB-HM)-PHU ont permis l'obtention de nanoparticules entre 100 et 200 nm de manière reproductible. Le DMSO et l'éthanol ont été utilisés comme solvants organiques. Les nanoparticules les plus monodisperses ont été

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

obtenues avec le premier, les nanoparticules de plus faible taille avec le second. Nous avons observé d'une part que l'augmentation de la concentration en polymère induit une augmentation de la taille des nanoparticules, et d'autre part que le volume d'eau n'a pas d'effet sur leur taille ou leur distribution de taille. Les nanoparticules préparées en utilisant du DMSO ont montré une meilleure stabilité dans le temps, ce qui est probablement lié à leur plus faible PDI. L'élimination du solvant a été réalisée par dialyse. Cette étape n'a pas affecté la taille ou la distribution de taille des nanoparticules préparées en utilisant du DMSO. Au contraire, les nanoparticules préparées en utilisant de l'éthanol ont été déstabilisées peu après leur dialyse. Les résultats des échantillons préparés en utilisant du DMSO sont les plus encourageants en termes de polydispersité et de stabilité. Par ailleurs, il devrait être possible d'améliorer ces résultats en ajoutant un tensioactif dans la phase aqueuse.

Ce chapitre a permis d'ouvrir la voie vers la production de nanoparticules de polyuréthane sans isocyanate. Le protocole de nanoprécipitation doit être optimisé de manière à mieux contrôler la taille, la polydispersité et la stabilité des nanoparticules obtenues. Une étude approfondie de cette méthode est proposée dans le chapitre suivant.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Références

1. Gaudin, F. Synthèse de nanocapsules de polyuréthane par polyaddition interfaciale en miniémulsion. Université Claude Bernard Lyon 1, , 2009.

2. Carre, C.; Bonnet, L.; Averous, L. *RSC Adv.* **2014,** 4, (96), 54018-54025.

3. Sonnati, M. O.; Amigoni, S.; Taffin de Givenchy, E. P.; Darmanin, T.; Choulet, O.; Guittard, F. *Green Chem.* **2013,** 15, (2), 283-306.

4. Naughton, F. C. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* **1974,** 51, (3), 65-71.

5. Fu, H.; Gao, H.; Wu, G.; Wang, Y.; Fan, Y.; Ma, J. *Soft Matter* **2011,** 7, (7), 3546-3552.

6. Lochhead, R.; Padman, V.; Anderson, L.; Wilgus, L. A.; McDaniel, P.; LaBeaud, L.; Davis, K.; Hoff, E.; Epler, J. *Household Pers. Prod. Ind.* **2010,** 47, (4), 71-76.

7. El-Say, K. M.; El-Sawy, H. S. *Int. J. Pharm. (Amsterdam, Neth.)* **2017,** 528, (1-2), 675-691.

8. Perlatti, B.; Bergo, P. L. d. S.; Fernandes da Silva, M. F. d. G.; Fernandes, J. B.; Forim, M. R. In *Polymeric nanoparticle-based insecticides: a controlled release purpose for agrochemicals*, 2013; InTech: pp 521-548.

9. Mora-Huertas, C. E.; Fessi, H.; Elaissari, A. *Int J Pharm* **2010,** 385, (1-2), 113-42.

10. Lepeltier, E.; Bourgaux, C.; Couvreur, P. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2014,** 71, 86-97.

11. Bilati, U.; Allemann, E.; Doelker, E. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2005,** 24, (1), 67-75.

12. Beck-Broichsitter, M.; Nicolas, J.; Couvreur, P. *Nanoscale* **2015,** 7, (20), 9215-9221.

13. Mora-Huertas, C. E.; Fessi, H.; Elaissari, A. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2011,** 163, (2), 90-122.

14. Singh, Y.; Ojha, P.; Srivastava, M.; Chourasia, M. K. *J Microencapsul* **2015,** 32, (1), 75-85.

15. Budhian, A.; Siegel, S. J.; Winey, K. I. *Int. J. Pharm.* **2007,** 336, (2), 367-375.

16. Stainmesse, S.; Orecchioni, A. M.; Nakache, E.; Puisieux, F.; Fessi, H. *Colloid Polym. Sci.* **1995,** 273, (5), 505-11.

17. Legrand, P.; Lesieur, S.; Bochot, A.; Gref, R.; Raatjes, W.; Barratt, G.; Vauthier, C. *Int. J. Pharm.* **2007,** 344, (1-2), 33-43.

18. Chorny, M.; Fishbein, I.; Danenberg, H. D.; Golomb, G. *J. Controlled Release* **2002,** 83, (3), 389-400.

19. Zdrahala, R. J.; Zdrahala, I. J. *J. Biomater. Appl.* **1999,** 14, (1), 67-90.

20. Morral-Ruíz, G.; Melgar-Lesmes, P.; Solans, C.; García-Celma, M. J., 7 - Polyurethane nanoparticles, a new tool for biomedical applications? In *Advances in Polyurethane Biomaterials*, Cooper, S. L.; Guan, J., Eds. Woodhead Publishing: 2016; pp 195-216.

21. Bayer, O. *Angew. Chem.* **1947,** A59, 257-72.

22. Kathalewar, M. S.; Joshi, P. B.; Sabnis, A. S.; Malshe, V. C. *RSC Adv.* **2013,** 3, (13), 4110-4129.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

23. Maisonneuve, L.; Lamarzelle, O.; Rix, E.; Grau, E.; Cramail, H. *Chem. Rev. (Washington, DC, U. S.)* **2015,** 115, (22), 12407-12439.

24. Malshe, V. *Paintindia* **1992,** 42, (1), 7-9.

25. Rokicki, G.; Piotrowska, A. *Polymer* **2002,** 43, (10), 2927-2935.

26. Diakoumakos, C. D.; Kotzev, D. L. *Macromol. Symp.* **2004,** 216, (Contributions from 8th Pacific Polymer Conference, 2003), 37-46.

27. Tomita, H.; Sanda, F.; Endo, T. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2001,** 39, (6), 860-867.

28. Tomita, H.; Sanda, F.; Endo, T. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2001,** 39, (21), 3678-3685.

29. Garipov, R.; Sysoev, V.; Mikheev, V.; Zagidullin, A.; Deberdeev, R. Y.; Irzhak, V.; Berlin, A. A. In *Reactivity of cyclocarbonate groups in modified epoxy–amine compositions*, Doklady Physical Chemistry, 2003; Springer: pp 289-292.

30. Zabalov, M. V.; Tiger, R. P.; Berlin, A. A. *Russ. Chem. Bull.* **2012,** 61, (3), 518-527.

31. Jalilian, S.; Yeganeh, H. *Polymer Bulletin* **2015,** 72, (6), 1379-1392.

32. Beniah, G.; Liu, K.; Heath, W. H.; Miller, M. D.; Scheidt, K. A.; Torkelson, J. M. *Eur. Polym. J.* **2016,** 84, 770-783.

33. Hahn, C.; Keul, H.; Moeller, M. *Polym. Int.* **2012,** 61, (7), 1048-1060.

34. Proempers, G.; Keul, H.; Hoecker, H. *Des. Monomers Polym.* **2005,** 8, (6), 547-569.

35. Lambeth, R. H.; Henderson, T. J. *Polymer* **2013,** 54, (21), 5568-5573.

36. Chen, Q.; Gao, K.; Peng, C.; Xie, H.; Zhao, Z. K.; Bao, M. *Green Chem.* **2015,** 17, (9), 4546-4551.

37. Anders, T.; Keul, H.; Moeller, M. *Des. Monomers Polym.* **2011,** 14, (6), 593-608.

38. Ochiai, B.; Inoue, S.; Endo, T. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2005,** 43, (24), 6613-6618.

39. Wei, R.-j.; Zhang, X.-h.; Du, B.-y.; Fan, Z.-q.; Qi, G.-r. *RSC Adv.* **2013,** 3, (38), 17307-17313.

40. Kihara, N.; Kushida, Y.; Endo, T. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **1996,** 34, (11), 2173-2179.

41. Cotter, R. J.; Whelan, J. J. M., Multiple cyclic carbonate polymers. Google Patents: 1963.

42. Tomita, H.; Sanda, F.; Endo, T. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2001,** 39, (23), 4091-4100.

43. Besse, V.; Camara, F.; Mechin, F.; Fleury, E.; Caillol, S.; Pascault, J.-P.; Boutevin, B. *Eur. Polym. J.* **2015,** 71, 1-11.

44. Maisonneuve, L.; More, A. S.; Foltran, S.; Alfos, C.; Robert, F.; Landais, Y.; Tassaing, T.; Grau, E.; Cramail, H. *RSC Adv.* **2014,** 4, (49), 25795-25803.

45. Boyer, A.; Cloutet, E.; Tassaing, T.; Gadenne, B.; Alfos, C.; Cramail, H. *Green Chem.* **2010,** 12, (12), 2205-2213.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

46. Serri, C.; Argiro, M.; Piras, L.; Mita, D. G.; Saija, A.; Mita, L.; Forte, M.; Giarra, S.; Biondi, M.; Crispi, S.; Mayol, L. *Int. J. Pharm. (Amsterdam, Neth.)* **2017,** 520, (1-2), 21-28.

47. Maisonneuve, L.; Wirotius, A.-L.; Alfos, C.; Grau, E.; Cramail, H. *Polym. Chem.* **2014,** 5, (21), 6142-6147.

48. G. Hua, K. O. *Macromolecular Bioscience* **2017,** 17, (11), n/a.

49. Nohra, B.; Candy, L.; Blanco, J.-F.; Raoul, Y.; Mouloungui, Z. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2012,** 89, (6), 1125-1133.

50. Buergel, T.; Fedtke, M. *Polym. Bull. (Berlin)* **1991,** 27, (2), 171-7.

51. Tomita, H.; Sanda, F.; Endo, T. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2001,** 39, (6), 851-859.

52. Cornille, A.; Blain, M.; Auvergne, R.; Andrioletti, B.; Boutevin, B.; Caillol, S. *Polym. Chem.* **2017,** 8, (3), 592-604.

53. Ochiai, B.; Sato, S.-I.; Endo, T. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2007,** 45, (15), 3408-3414.

54. He, Y.-C.; Keul, H.; Moeller, M. *React. Funct. Polym.* **2011,** 71, (2), 175-186.

55. Steblyanko, A.; Choi, W.; Sanda, F.; Endo, T. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2000,** 38, (13), 2375-2380.

56. Cornille, A.; Auvergne, R.; Figovsky, O.; Boutevin, B.; Caillol, S. *Eur. Polym. J.* **2017,** 87, 535-552.

57. Rudolph-Boehner, S.; Krueger, M.; Oesterhelt, D.; Moroder, L.; Naegele, T.; Wachtveitl, J. *J. Photochem. Photobiol., A* **1997,** 105, (2-3), 235-248.

58. Kishikawa, Y.; Wiegand, S.; Kita, R. *Biomacromolecules* **2010,** 11, (3), 740-747.

59. Carre, C.; Zoccheddu, H.; Delalande, S.; Pichon, P.; Averous, L. *Eur. Polym. J.* **2016**, Ahead of Print.

60. Montaudo, G.; Samperi, F.; Montaudo, M. S. *Prog. Polym. Sci.* **2006,** 31, (3), 277-357.

61. van Velthoven, J. L. J.; Gootjes, L.; van Es, D. S.; Noordover, B. A. J.; Meuldijk, J. *Eur. Polym. J.* **2015,** 70, 125-135.

62. Qian, Z.-G.; Xia, X.-X.; Lee, S. Y. *Biotechnol. Bioeng.* **2009,** 104, (4), 651-662.

63. Zhang, L.; Luo, X.; Qin, Y.; Li, Y. *RSC Adv.* **2017,** 7, (1), 37-46.

64. Kihara, N.; Endo, T. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **1993,** 31, (11), 2765-73.

65. Bardts, M.; Gonsior, N.; Ritter, H. *Macromol. Chem. Phys.* **2008,** 209, (1), 25-31.

66. Delebecq, E.; Pascault, J.-P.; Boutevin, B.; Ganachaud, F. *Chem. Rev. (Washington, DC, U. S.)* **2013,** 113, (1), 80-118.

67. Bueno-Ferrer, C.; Hablot, E.; Garrigos, M. d. C.; Bocchini, S.; Averous, L.; Jimenez, A. *Polym. Degrad. Stab.* **2012,** 97, (10), 1964-1969.

68. Yadav, S.; Zafar, F.; Hasnat, A.; Ahmad, S. *Prog. Org. Coat.* **2009,** 64, (1), 27-32.

69. Rix, E.; Grau, E.; Chollet, G.; Cramail, H. *Eur. Polym. J.* **2016**, Ahead of Print.

70. Liu, X.; Xu, K.; Liu, H.; Cai, H.; Fu, Z.; Guo, Y.; Chen, M. *Macromol. Res.* **2012,** 20, (6), 642-649.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

71. Besse, V.; Auvergne, R.; Carlotti, S.; Boutevin, G.; Otazaghine, B.; Caillol, S.; Pascault, J.-P.; Boutevin, B. *React. Funct. Polym.* **2013,** 73, (3), 588-594.

72. Duval, C.; Kebir, N.; Charvet, A.; Martin, A.; Burel, F. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2015,** 53, (11), 1351-1359.

73. Rocas, P.; Cusco, C.; Rocas, J.; Albericio, F. *Curr. Drug Delivery* **2018,** 15, (1), 37-43.

74. Basu, A.; Farah, S.; Kunduru, K. R.; Doppalapudi, S.; Khan, W.; Domb, A. J., 8 - Polyurethanes for controlled drug delivery. In *Advances in Polyurethane Biomaterials*, Cooper, S. L.; Guan, J., Eds. Woodhead Publishing: 2016; pp 217-246.

75. Bossion, A.; Jones, G. O.; Taton, D.; Mecerreyes, D.; Hedrick, J. L.; Ong, Z. Y.; Yang, Y. Y.; Sardon, H. *Langmuir* **2017**, Ahead of Print.

76. Gaudin, F.; Sintes-Zydowicz, N. *Colloids Surf., A* **2011,** 384, (1-3), 698-712.

77. Piradashvili, K.; Alexandrino, E. M.; Wurm, F. R.; Landfester, K. *Chem. Rev. (Washington, DC, U. S.)* **2016,** 116, (4), 2141-2169.

78. Martinez Rivas, C. J.; Tarhini, M.; Badri, W.; Miladi, K.; Greige-Gerges, H.; Nazari, Q. A.; Galindo Rodriguez, S. A.; Roman, R. A.; Fessi, H.; Elaissari, A. *Int. J. Pharm. (Amsterdam, Neth.)* **2017,** 532, (1), 66-81.

79. Quintanar-Guerrero, D.; Allemann, E.; Fessi, H.; Doelker, E. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **1998,** 24, (12), 1113-1128.

80. Rideal, J. T. D. a. E. K., *Interfacial Phenomena*. Accademic press: 1961.

81. Lince, F.; Marchisio, D. L.; Barresi, A. A. *J. Colloid Interface Sci.* **2008,** 322, (2), 505-515.

82. Miller, C. A. *Surfactant Sci. Ser.* **2006,** 132, (Emulsions and Emulsion Stability (2nd Edition)), 107-126.

83. Thioune, O.; Fessi, H.; Devissaguet, J. P.; Puisieux, F. *Int. J. Pharm.* **1997,** 146, (2), 233-238.

84. Contado, C.; Vighi, E.; Dalpiaz, A.; Leo, E. *Anal. Bioanal. Chem.* **2013,** 405, (2-3), 703-711.

85. Dong, Y.; Feng, S.-S. *Biomaterials* **2004,** 25, (14), 2843-2849.

86. Ganachaud, F.; Katz, J. L. *ChemPhysChem* **2005,** 6, (2), 209-216.

87. Carre, C.; Zoccheddu, H.; Delalande, S.; Pichon, P.; Averous, L. *Eur. Polym. J.* **2016,** 84, 759-769.

88. Hirsjaervi, S.; Peltonen, L.; Hirvonen, J. *Int. J. Pharm.* **2008,** 348, (1-2), 153-160.

89. Cheng, J.; Teply, B. A.; Sherifi, I.; Sung, J.; Luther, G.; Gu, F. X.; Levy-Nissenbaum, E.; Radovic-Moreno, A. F.; Langer, R.; Farokhzad, O. C. *Biomaterials* **2006,** 28, (5), 869-876.

90. Galindo-Rodriguez, S.; Allemann, E.; Fessi, H.; Doelker, E. *Pharm. Res.* **2004,** 21, (8), 1428-1439.

91. Choi, S.-W.; Kwon, H.-Y.; Kim, W.-S.; Kim, J.-H. *Colloids Surf., A* **2002,** 201, (1-3), 283-289.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

92. Beck-Broichsitter, M.; Rytting, E.; Lebhardt, T.; Wang, X.; Kissel, T. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2010,** 41, (2), 244-253.

93. Rah, K.; Kwak, S.; Eu, B. C.; Lafleur, M. *J. Phys. Chem. A* **2002,** 106, (48), 11841-11845.

94. Fonseca, C.; Simoes, S.; Gaspar, R. *J. Controlled Release* **2002,** 83, (2), 273-286.

95. Limayem, B. I.; Charcosset, C.; Sfar, S.; Fessi, H. *Int J Pharm* **2006,** 325, (1-2), 124-31.

96. Becher, P. *J. Dispersion Sci. Technol.* **1998,** 19, (1), 139-140.

97. Johnson, B. K.; Prud'homme, R. K. *Phys. Rev. Lett.* **2003,** 91, (11), 118302/1-118302/4.

98. Zhang, C.; Pansare, V. J.; Prud'homme, R. K.; Priestley, R. D. *Soft Matter* **2012,** 8, (1), 86-93.

99. Stainmesse, S. Étude galénique d'un nouveau procédé d'obtention des vecteurs colloïdaux submicroniques à partir d'une protéine ou d'un polymère synthétique Université de Paris-Sud, , 1990.

100. Kumar, V.; Prud'homme, R. K. *Chem. Eng. Sci.* **2009,** 64, (6), 1358-1361.

101. Asadi, H.; Rostamizadeh, K.; Salari, D.; Hamidi, M. *J. Microencapsulation* **2011,** 28, (5), 406-416.

102. Beck-Broichsitter, M. *Int. J. Pharm. (Amsterdam, Neth.)* **2016,** 511, (1), 262-266.

103. Guhagarkar, S. A.; Malshe, V. C.; Devarajan, P. V. *AAPS PharmSciTech* **2009,** 10, (3), 935-42.

104. Katara, R.; Majumdar, D. K. *Colloids Surf., B* **2013,** 103, 455-462.

105. Ammoury, N.; Fessi, H.; Devissaguet, J. P.; Dubrasquet, M.; Benita, S. *Pharm. Res.* **1991,** 8, (1), 101-5.

106. Cortial, A.; Vocanson, M.; Bourdon, M.; Agusti, G.; Briancon, S. *J. Colloid Sci. Biotechnol.* **2015,** 4, (2), 160-169.

107. Fessi, H.; Puisieux, F.; Devissaguet, J. P.; Ammoury, N.; Benita, S. *Int. J. Pharm.* **1989,** 55, (1), R1-R4.

108. Kim, D. H.; Kim, M.-D.; Choi, C.-W.; Chung, C.-W.; Ha, S. H.; Kim, C. H.; Shim, Y.-H.; Jeong, Y.-I.; Kang, D. H. *Nanoscale Res. Lett.* **2012,** 7, (1), 91, 6 pp.

109. Kim, S. Y.; Lee, Y. M. *Biomaterials* **2001,** 22, (13), 1697-1704.

110. Constantin, M.; Bucatariu, S.; Stoica, I.; Fundueanu, G. *Int J Biol Macromol* **2017,** 94, (Pt A), 698-708.

111. Liu, F.; Kozlovskaya, V.; Medipelli, S.; Xue, B.; Ahmad, F.; Saeed, M.; Cropek, D.; Kharlampieva, E. *Chem. Mater.* **2015,** 27, (23), 7945-7956.

112. Heald, C. R.; Stolnik, S.; Kujawinski, K. S.; De Matteis, C.; Garnett, M. C.; Illum, L.; Davis, S. S.; Purkiss, S. C.; Barlow, R. J.; Gellert, P. R. *Langmuir* **2002,** 18, (9), 3669-3675.

113. Simsek, S.; Eroglu, H.; Kurum, B.; Ulubayram, K. *J. Microencapsulation* **2013,** 30, (1), 10-20.

114. Campardelli, R.; Della Porta, G.; Reverchon, E. *J. Supercrit. Fluids* **2012,** 70, 100-105.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

CHAPITRE III : OPTIMISATION DE LA PREPARATION DES NANOPARTICULES DE POLY(HYDROXY)URETHANE PAR NANOPRECIPITATION

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

INTRODUCTION

Dans le chapitre II, nous avons décrit la préparation de nanoparticules de (SB-HM)-PHU par nanoprécipitation. Le solvant organique utilisé était le DMSO. Nous allons décrire ici d'autres expériences de nanoprécipitation réalisées avec le DMSO mais aussi le THF, un solvant plus volatil qui peut être éliminé par évaporation. Dans la suite du chapitre, le (SB-HM)-PHU sera nommé PHU. Les objectifs du chapitre sont :

- L'optimisation du procédé de nanoprécipitation dans le but d'obtenir des nanoparticules de PHU de taille la plus faible possible, monodisperses et stables dans le temps en utilisant le DMSO comme solvant organique,
- La transposition du procédé de nanoprécipitation avec le THF comme solvant organique.

Le chapitre se divise en trois parties. La première partie présente plusieurs études préliminaires aux expériences de nanoprécipitation. Elles décrivent le système polymère/solvant/eau/tensioactif caractéristique des nanosuspensions qui sont formulées. Nous avons déterminé notamment la concentration micellaire critique du tensioactif dans des mélanges eau/solvant analogues aux solutions dans lesquelles sont dispersées les nanoparticules. D'autre part, nous avons estimé les interactions polymère-solvant par des mesures de viscosité capillaire afin de discuter l'effet du solvant sur la taille de particules.

Dans la seconde partie, nous décrirons l'optimisation de procédé de nanoprécipitation du PHU développé dans le chapitre II par le biais d'un plan d'expériences en vue de déterminer l'influence de plusieurs paramètres expérimentaux et de leurs interactions sur les caractéristiques des nanosuspensions du PHU. Nous décrirons ensuite une étude du vieillissement des échantillons puis analyserons certains échantillons par cryo-MET. Dans la troisième partie, nous adapterons le procédé de nanoprécipitation en utilisant du THF comme solvant organique.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

III.1. Caractérisation du système polymère / solvant / eau / tensioactif

Le polymère nanoprécipité est le PHU caractérisé dans le chapitre précédent. Les solvants organiques utilisés sont le DMSO (99,8 %, Carlo Erba) et le THF (99 %, grade HPLC, sans inhibiteur, Sigma-Aldrich). Le tensioactif est le laurylsulfate de sodium ou SDS (98,5 %, Sigma-Aldrich). Afin de pouvoir comprendre les phénomènes observés lors des expériences de nanoprécipitation, nous avons réalisé plusieurs études préliminaires.

Le comportement du SDS dans des solutions aqueuses en présence de DMSO ou de THF est peu décrit dans la littérature. Or, il est connu que la formation de micelles de SDS peut avoir un effet déstabilisant sur des particules en suspensions dans un liquide[1]. C'est pourquoi nous avons déterminé la concentration micellaire critique du SDS dans des mélanges d'eau et de DMSO ou de THF.

Nous avons également étudié les interactions PHU-DMSO et PHU-THF par la détermination de la viscosité intrinsèque et du paramètre de Huggins de solutions de PHU dans ces solvants. Nous avons également estimé les interactions polymère-solvant par le calcul du paramètre de Flory dans le cas du DMSO et du THF. Les interactions entre polymère et solvant jouent un rôle important sur la taille des nanoparticules obtenues par nanoprécipitation[2-4].

III.1.1. Mesure de la concentration micellaire critique du SDS dans des solutions aqueuses de solvants organiques

La concentration micellaire critique (CMC) d'un tensioactif dans un liquide est la concentration au-delà de laquelle les molécules de tensioactif s'organisent spontanément pour former des micelles. En dessous de la CMC, les molécules de tensioactifs se partagent entre le volume et la surface du liquide. En solution aqueuse, les molécules de tensioactif situées à la surface du liquide orientent leur partie hydrophobe vers l'air afin de minimiser leur énergie superficielle. Au-dessus de la CMC, les molécules de tensioactif s'auto-associent sous forme de micelles dont le cœur est constitué des parties hydrophobes tandis que les parties polaires sont orientées vers la phase continue.

Le tensioactif utilisé dans cette étude est le dodécylsulfate de sodium (SDS). Son comportement dans l'eau est bien connu. Sa CMC varie, selon les études, entre 6[5] et 8[6] mmol/l pour des températures comprises entre 22 et 25°C. La CMC du SDS dans des solutions aqueuses contenant des solvants organiques – comme le DMSO ou le THF – est

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

cependant beaucoup moins étudiée. Or, les nanoparticules une fois formées par nanoprécipitation sont en suspension dans de tels mélanges tant que le solvant n'est pas éliminé. La présence de micelles dans une émulsion ou une dispersion est problématique car elle peut induire la déstabilisation de l'émulsion ou de la dispersion[1]. Au-delà d'une certaine concentration, les micelles de tensioactifs appliquent une force de déplétion sur les particules qui tendent à se rapprocher les unes des autres, puis s'agréger ou coalescer[7]. Il convient donc de déterminer la CMC du SDS dans l'eau en présence de DMSO ou de THF.

La CMC d'un tensioactif anionique comme le SDS dans une solution aqueuse contenant un solvant organique peut être déterminée par tensiométrie[8], électrophorèse[9], spectroscopie de corrélation de fluorescence (FCS)[10], diffusion de neutrons aux petits angles (SANS)[11], viscosimétrie[12] ou par conductivité[13]. Steflova *et al.* indiquent cependant que la méthode conductimétrique peut ne pas être appropriée à la mesure de la CMC du SDS lorsque la concentration en solvant organique est trop importante (supérieure à 5% vol. dans le cas du mélange eau/acétonitrile qu'ils étudient[14]).

III.1.1.1. CMC du SDS dans l'eau et dans des mélanges eau/DMSO

La CMC du SDS dans l'eau permutée et dans des solutions eau/DMSO a été déterminée par des mesures de tension de surfaces à 24°C. Trois mélanges aqueux contenant 1/3, 1/4 et 1/7 volumique de DMSO ont ainsi été étudiés. La composition de ces solutions est similaire à celle des milieux de dispersion des nanoparticules de PHU (25 ml de DMSO et 50, 100 ou 150 ml d'eau permutée ont été utilisés pour préparer les échantillons du plan d'expériences, comme nous le verrons plus tard en III.2.1.3.2). Les tensions superficielles ont été mesurées avec une lame de Wilhelmy (tensiomètre Kruss K100) (figure 1).

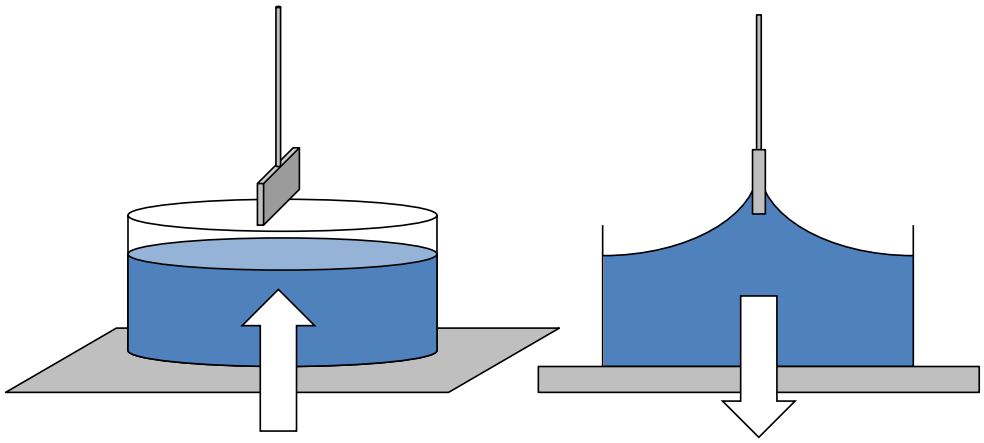


Figure 1. Tensiomètre à lame de Wilhelmy.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Pour ce faire, dans les quatre cas de figure, une solution mère concentrée à 0,1 M en SDS est préparée puis filtrée (filtre en ester de cellulose, 0,45 µm). La solution est versée dans un cristallisoir préalablement dégraissé avec de l'acétone. La solution est crémée : du papier joseph est immergé à sa surface pour retirer les impuretés et poussières. Le cristallisoir est positionné sur un élévateur. La lame de Wilhelmy est nettoyée à l'acétone, séchée avec du papier joseph puis légèrement chauffée au chalumeau avant d'être suspendue au-dessus du cristallisoir. Après deux minutes, la procédure est déclenchée manuellement. L'élévateur soulève le cristallisoir jusqu'à immersion de la plaque. La mesure démarre lorsque le cristallisoir redescend jusqu'à la rupture du film de liquide formé entre le liquide et la plaque. Dix mesures de tension superficielle sont réalisées durant ce laps de temps et la moyenne est enregistrée. Chaque mesure est réalisée trois fois et la lame est nettoyée à chaque fois. Les solutions mères sont ensuite diluées afin de réaliser des mesures à différentes concentrations en SDS. Le tracé de la tension superficielle de la solution en fonction du logarithme de la concentration en SDS est représenté sur la figure 2 dans le cas de l'eau permutée et sur la figure 3 dans le cas des trois solutions de DMSO/eau.

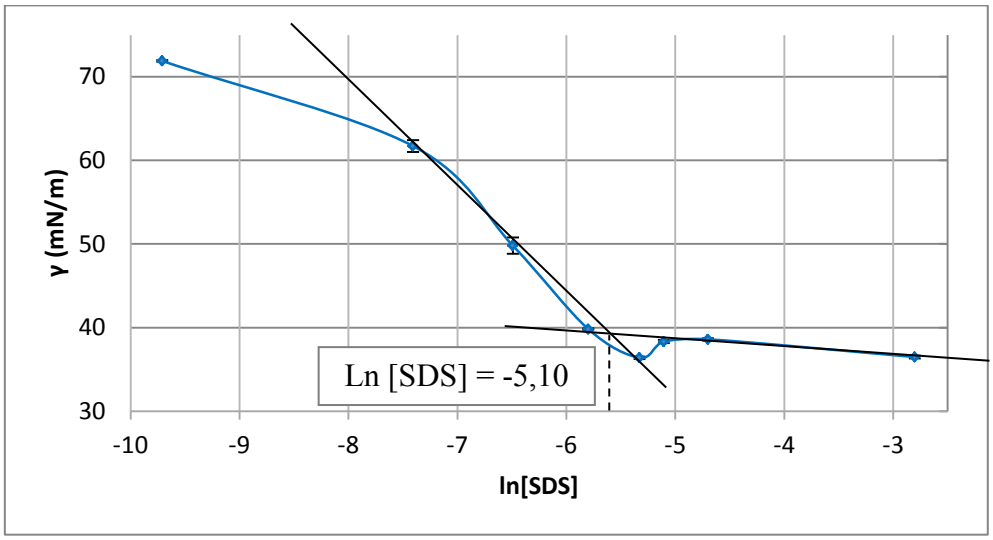


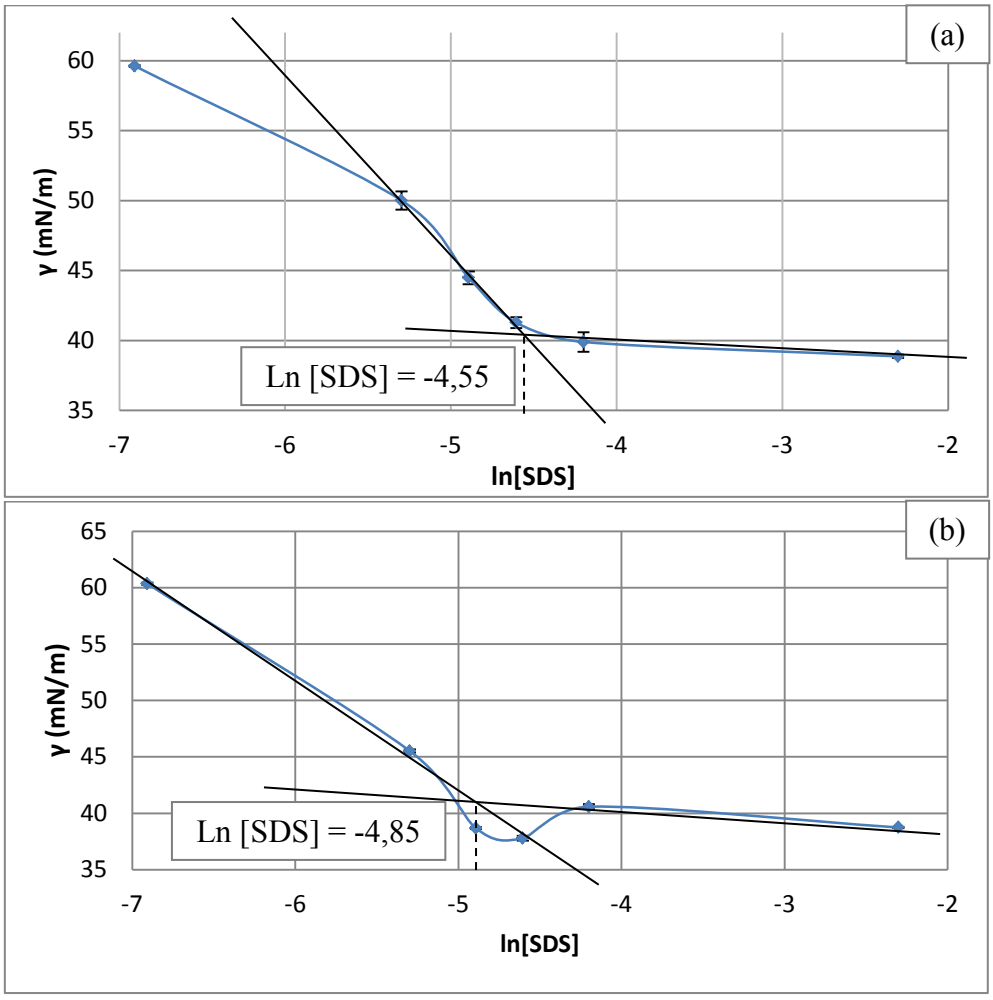
Figure 2. Evolution de la tension de surface de la solution eau-SDS en fonction de la concentration en SDS (T = 24°C).

A faible concentration en SDS, la tension superficielle de la solution aqueuse diminue au fur et à mesure que la concentration en SDS augmente. Lorsque la concentration en SDS atteint la CMC, une rupture de pente apparaît, la tension superficielle augmente puis diminue très légèrement lorsque la concentration en SDS augmente. La CMC du SDS, déterminée par le point d'intersection des deux tangentes de la courbe, est égale à 6,0 mmol/L. Cette valeur est conforme aux données de la littérature[5, 6].

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Le minimum de tension superficielle observée pour une concentration en SDS de 8,0 mmol/L est attribuable à la présence d'alcool dodécylique, une impureté présente dans le SDS commercial (le SDS n'étant pur qu'à 99%)[15] qui diminue la tension superficielle de la solution aqueuse à une valeur inférieure à celle correspondant à la CMC du SDS[16]. Lors de la formation de micelles de SDS, l'alcool dodécylique est solubilisé dans les micelles, sa concentration dans la solution diminue, ce qui a pour effet d'augmenter légèrement la tension superficielle de la solution jusqu'à ce qu'elle atteigne la valeur qu'elle aurait eu sans la présence d'impureté.

La CMC du SDS est déterminée pour les trois solutions DMSO/eau par la même méthode et à la même température (figure 3).



Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

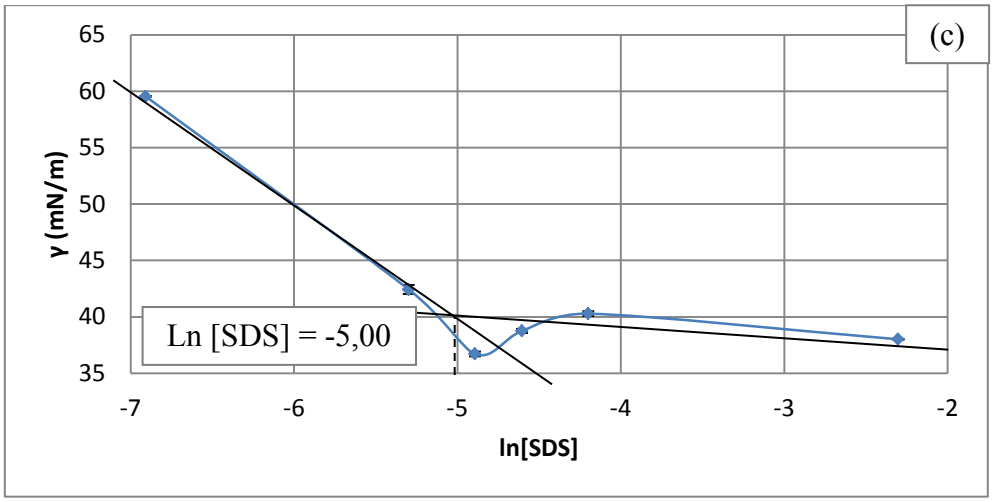


Figure 3. Evolution de la tension de surface de la solution eau-SDS-DMSO en fonction de la concentration en SDS pour un ratio volumique DMSO/eau de 1:2 (a), 1:4 (b) ou 1:6 (c) (T = 24°C).

La CMC du SDS est de 6,7 mmol/L, 7,8 mmol/L et 10,6 mmol/L pour les mélanges DMSO/eau de ratio égal à 1:6, 1:4 et 1:2 respectivement. Elle augmente linéairement en fonction de la proportion de DMSO dans le mélange. Harutyunyan et Markarian observent des résultats similaires[10]. Dans une note technique de la société Kibron, la même tendance est rapportée[8]. D'autre part, l'augmentation de la CMC du bromure de cétrimonium (CTAB) est elle aussi observée lors de l'addition de DMSO[17]. Ces travaux mis à part, peu d'études rapportent les effets de la présence du DMSO sur la CMC du SDS dans des solutions aqueuses.

Ce phénomène n'est pas limité au DMSO, il apparait de manière similaire avec d'autres solvants organiques comme l'acétonitrile[14] ou l'urée[11]. Rosen *et al.* ont étudié le phénomène de micellisation des tensioactifs et l'effet d'additifs organiques sur leur CMC[17].

Selon eux, les additifs organiques se divisent en deux classes : les premiers diminuent la CMC (classe I) tandis que les seconds diminuent ou augmentent la CMC en modifiant la structure ou les propriétés de l'eau (constante diélectrique, paramètre de solubilité), ce qui a pour effet de modifier les interactions entre l'eau et les tensioactifs sous forme de micelles (classe II). Un composé de classe I peut être adsorbé par les micelles, ce qui diminue le travail nécessaire à la micellisation du tensioactif. Dans le cas d'un tensioactif ionique, les composés de classe I peuvent aussi réduire les répulsions entre les têtes ioniques des molécules de tensioactif.

Pour un composé de classe II, une augmentation de la CMC peut être causée par la formation d'hydrates [eau-solvant-partie hydrophile du tensioactif][18] : les tensioactifs engagés dans les

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

hydrates ne sont plus disponibles pour former des micelles, ce qui entraîne l'augmentation de la CMC. Une autre possibilité est que les composés organiques altèrent les propriétés de l'eau vis-à-vis des tensioactifs. Leur présence peut induire une diminution du paramètre de solubilité du mélange aqueux[18] et donc favoriser la solubilisation des tensioactifs hydrophiles comme le SDS (HLB = 40[19]). D'autre part, en particulier dans le cas des tensioactifs ioniques comme le SDS, la diminution de la constante diélectrique du milieu en présence du composé organique peut favoriser la répulsion entre les têtes chargées des tensioactifs au sein des micelles. Cette répulsion défavorable à la micellisation induit une augmentation de la CMC du tensioactif[17].

Le DMSO est un composé de classe II, sa présence dans l'eau entraine l'augmentation de la CMC. En effet, la constante diélectrique du milieu diminue en présence de DMSO (dans l'eau pure ε = 80,4, dans un mélange DMSO/eau ε = 77,9 pour un ratio 1:6 ou 1:4 et 76,4 pour un ratio 1:2[20]). D'autre part, le paramètre de solubilité du milieu diminue, celui du DMSO (26,7 $(J/cm^3)^{1/2}$) étant inférieur à celui de l'eau (48,1 $(J/cm^3)^{1/2}$) [21]. Enfin, la formation d'hydrates est rapportée pour un système eau/DMSO[22, 23] (figure 4).

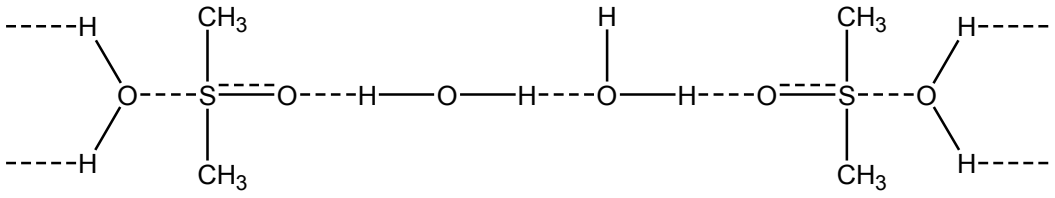


Figure 4. Hydrate formé entre le DMSO et l'eau[24].

III.1.1.2. CMC du SDS dans des mélanges eau/THF

Nous avons également déterminé la CMC du SDS pour des solutions aqueuses de THF à 24°C. Les courbes de tension de surface en fonction de la concentration en SDS sont présentées sur la figure 5. La concentration des solutions mères en SDS est de 1,0 M.

Pour les trois mélanges eau/THF, la tension superficielle des solutions diminue de manière linéaire lorsque la concentration en SDS augmente – malgré quelques oscillations de la tension superficielle autour de ln[SDS] = –5 attribuables aux incertitudes de mesure. Aucune rupture de pente n'est observée sur les courbes, ce qui implique que pour un ratio THF/eau de 1:6, 1:4 ou 1:2 – soit 14, 20 ou 33 % volumique de THF – la CMC du SDS est supérieure à 1,0 mol/L.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

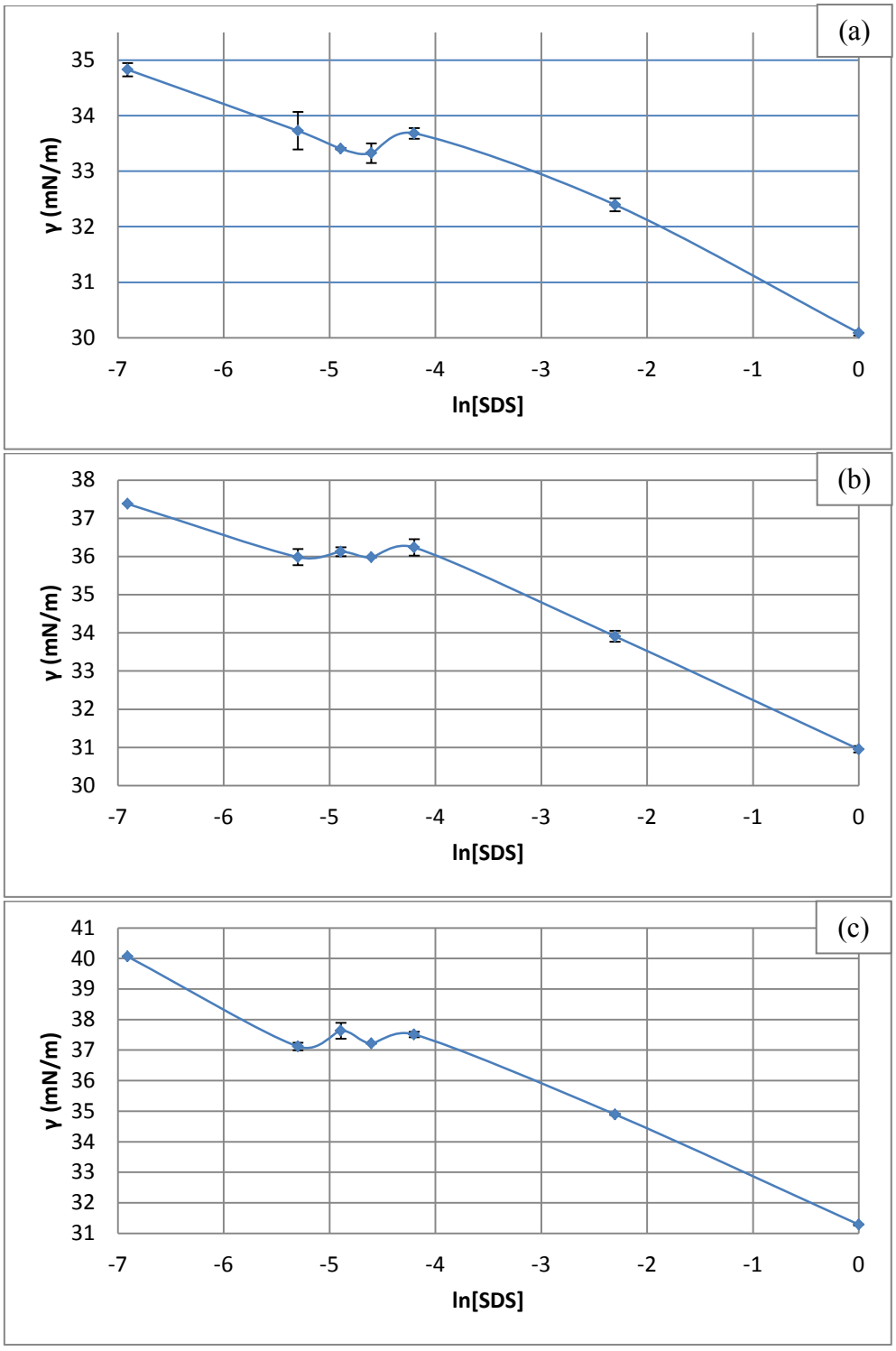


Figure 5. Evolution de la tension de surface de la solution eau-SDS-THF en fonction de la concentration en SDS pour un ratio volumique THF/eau de 1:2 (a), 1:4 (b) ou 1:6 (c) (T = 24°C).

Misra *et al.* ont déterminé la variation de la CMC du SDS en fonction de la proportion de THF dans de l'eau par conductimétrie[13]. Ils observent que la CMC augmente quand la proportion de THF augmente. Elle est égale à 30,0 mM pour 16 % volumique de THF, et 8,2

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

mM dans l'eau pure. La mesure de la CMC par conductimétrie devient impossible pour une proportion de 20 % en volume de THF. Les mêmes auteurs observent aussi une augmentation de la CMC du CTAB en ajoutant du THF dans de l'eau.

Pan *et al.* expliquent que pour une proportion dans l'eau en THF supérieure à 10 % volumique, la micellisation du SDS est rendue impossible par la formation d'hydrates de THF[12]. Les auteurs mettent en évidence la présence des hydrates par conductimétrie. Sous l'effet du champ électrique produit lors des mesures, ils observent en effet une augmentation anormale de la conductivité molaire des échantillons. Selon eux, ce phénomène traduit les sauts des ions laurylsulfates d'hydrate en hydrate (figure 6). Par la suite, ils réalisent des analyses en SANS qui semblent confirmer leur hypothèse.

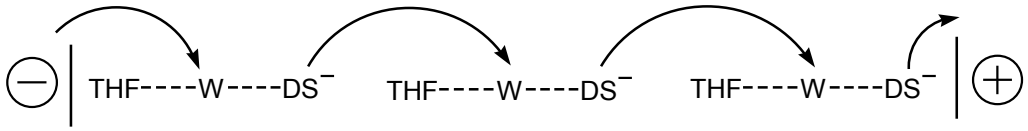


Figure 6. Sauts d'ions laurylsuftates (DS^-) d'hydrate en hydrate induits par un champ électrique.

En outre, le THF est un additif organique de classe II selon la classification de Rosen, tout comme le DMSO. En effet, la constante diélectrique du milieu diminue en présence de THF (dans l'eau pure $\varepsilon = 80,4$, dans un mélange THF/eau $\varepsilon = 68,2$ pour un ratio 1:6, $\varepsilon = 64,6$ pour un ratio 1:4 et $\varepsilon = 60,4$ pour un ratio 1:2)[25]. D'autre part, le paramètre de solubilité du milieu diminue, celui du THF (19,5 $(J/cm^3)^{1/2}$)[2] étant inférieur à celui de l'eau (48,1 $(J/cm^3)^{1/2}$).

La présence de DMSO retarde la micellisation du SDS. La présence de THF – au-delà d'une certaine proportion (10^{12} à 20^{13} % vol.) – ne permet pas l'organisation du SDS sous forme de micelles.

III.1.2. Estimation des interactions PHU-solvant par viscosimétrie

Les interactions entre le solvant et le polymère ont une grande influence sur le déroulement de la nanoprécipitation pour un système polymère/solvant/eau/tensioactif donné[2, 3]. Elles conditionnent la vitesse de diffusion du solvant vers l'eau et la durée de l'étape de croissance des nanoparticules[4].

Initialement, nous souhaitions étudier les interactions PHU-solvant par diffusion statique de la lumière (SLS) en déterminant le second coefficient du viriel (A_2) des solutions de PHU dans

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

le DMSO ou dans le THF. Cependant, la faible masse molaire et l'indice de polydispersité élevé du PHU n'ont pas permis le tracé de diagrammes de Zimm.

Nous avons donc mesuré la viscosité cinématique de solutions de PHU dans le DMSO et dans le THF à différentes concentrations afin de déterminer la viscosité intrinsèque et le coefficient de Huggins du PHU pour ces deux couples polymère-solvant. Ces données renseignent sur les interactions PHU-DMSO et PHU-THF et permettent d'estimer la mobilité du solvant lors de sa diffusion vers la phase aqueuse au cours de la nanoprécipitation[2]. En particulier, le paramètre de Huggins indique la qualité du solvant vis-à-vis d'un polymère : une valeur comprise entre 0 et 0,5 est attribuée à un bon solvant, une valeur supérieure à 0,5 est attribuée à un mauvais solvant, et une valeur de 0,5 est attribuée à un solvant thêta[26]. Plusieurs auteurs indiquent que les solvants thêta sont les plus adaptés à la méthode de nanoprécipitation[2, 27, 28]. Lors de la nanoprécipitation, la diffusion d'un solvant thêta vers la phase aqueuse est rapide, ce qui permet une étape de croissance des proto-particules rapide et la formation de nanoparticules de petite taille.

III.1.2.1. Méthode expérimentale

La viscosité cinématique des solutions de PHU est mesurée à l'aide d'un viscosimètre capillaire Ubbelohde de dilution (figure 7).

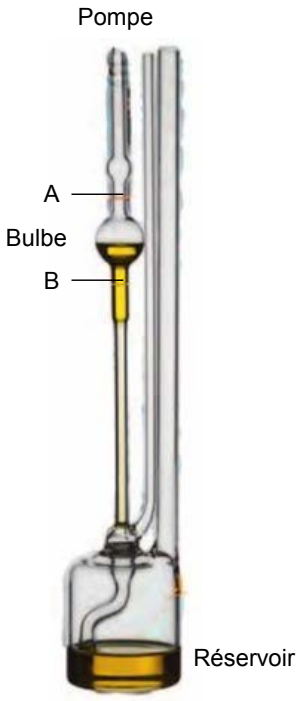


Figure 7. Viscosimètre capillaire Ubbelohde de dilution.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Les caractéristiques des capillaires utilisés dans le cas du DMSO et dans le cas du THF sont indiquées dans le tableau 1.

Solvant utilisé	DMSO	THF
Type de capillaire	I	0c
Marque, modèle	LAUDA, modèle : EGV-923	LAUDA, modèle : EGV-921
Diamètre	Ø = 0,63 mm	Ø = 0,47 mm
Constante capillaire	K = 0,0119 ± 9,5×10^{-5} mm²/s²	K = 0,0036 ± 2,9×10^{-5} mm²/s²

Tableau 1. Caractéristiques des capillaires utilisés.

Les capillaires sont plongés dans un bain marie à 25,0 ± 0,1°C. Des solutions mères à la concentration C en PHU sont préparées, filtrées (filtre 0,45 µm en PTFE hydrophile pour le DMSO et hydrophobe pour le THF) puis introduites dans le réservoir du capillaire. Chaque solution est pompée jusqu'à ce que le ménisque dépasse le point A situé au-dessus du bulbe du capillaire puis s'écoule le long du capillaire par gravité. Le temps t nécessaire au déplacement de la surface du liquide entre le point A et un point B situé en dessous du bulbe est mesuré. La mesure est réalisée trois fois. La viscosité cinématique η de la solution est calculée à partir de ce temps et de la constante du capillaire K (en supposant que la masse volumique de la solution est constante et égale à celle du solvant pur) :

$$\eta = K \times t \tag{1}$$

Les viscosités des solutions de concentration inférieures à la concentration mères sont mesurées par dilution directement dans le viscosimètre. Il est nécessaire d'attendre que les solutions soient homogènes avant de commencer chaque mesure.

La viscosité intrinsèque [η] peut être déterminée de deux manières : à partir de la viscosité réduite η_{red} ou de la viscosité inhérente η_{inh}. Dans le premier cas, la viscosité réduite est d'abord calculée :

$$\eta_{red} = \frac{1}{\mathrm{C}} \times \frac{\eta - \eta_0}{\eta_0} \tag{2}$$

Ensuite, à l'aide de l'équation de Huggins[29], la viscosité intrinsèque [η] et le coefficient de Huggins k sont déterminés par régression linéaire :

$$\eta_{red} = [\eta] + \mathrm{k} \times [\eta]^2 \times \mathrm{C} \tag{3}$$

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Dans le second cas, la viscosité inhérente est d'abord calculée :

$$\eta_{inh} = \frac{1}{C} \times \ln\left(\frac{\eta}{\eta_0}\right) \quad (4)$$

Enfin, à l'aide de l'équation de Kraemer[30], la viscosité intrinsèque [η] et le coefficient de Kraemer k' sont déterminés par régression linéaire :

$$\eta_{inh} = [\eta] + k' \times [\eta]^2 \times C \quad (5)$$

III.1.2.2. Résultats et discussions

L'évolution des viscosités réduite et inhérente en fonction de la concentration en PHU est représentée sur la figure 8 dans le cas du DMSO et sur la figure 9 dans le cas du THF. La courbe de la viscosité réduite est approximée par une droite définie par l'équation 3. La courbe de la viscosité inhérente est approximée par une droite définie par l'équation 5. Le coefficient de détermination R^2 de chaque droite est supérieur à 0,98.

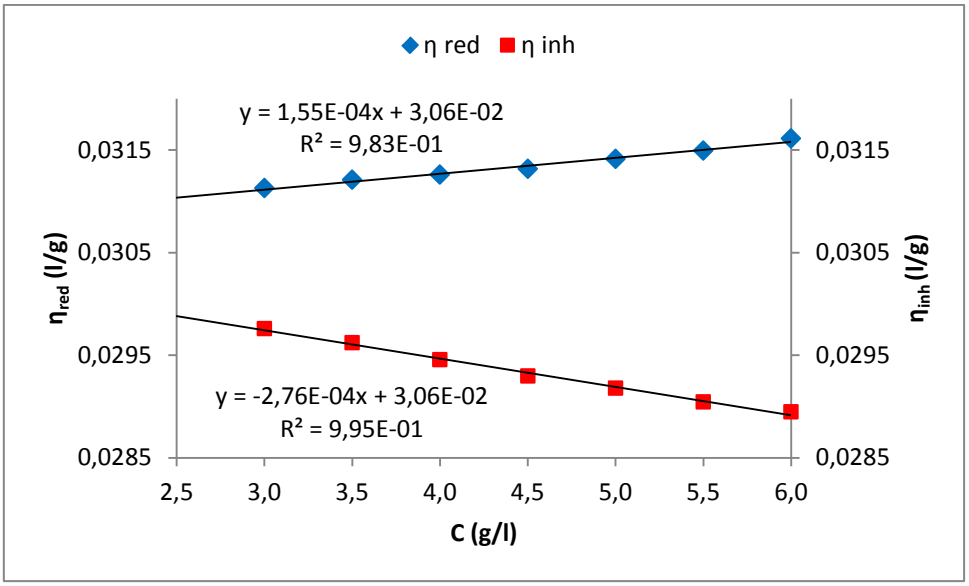


Figure 8. Evolution des viscosités réduite et inhérente de la solution de PHU dans le DMSO en fonction de la concentration en PHU.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

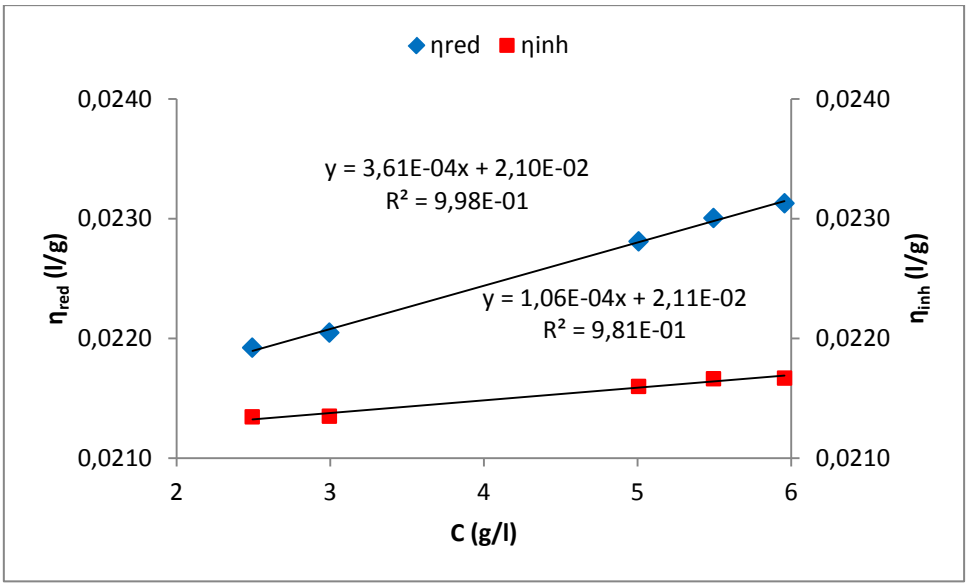


Figure 9. Evolution des viscosités réduite et inhérente de la solution de PHU dans le THF en fonction de la concentration en PHU.

Les valeurs des viscosités intrinsèques [η] et des différents coefficients k et k' sont présentés dans le tableau 2.

	A partir de η_{red}		A partir de η_{inh}	
Solvant	[η] (dl/g)	k	[η] (dl/g)	k'
DMSO	0,306	0,17	0,306	-0,29
THF	0,210	0,82	0,210	0,24

Tableau 2. Résultats des mesures en viscosimétrie capillaire (T =25°C).

Dans le cas du DMSO, le coefficient de Huggins k est inférieur à 0,5 et le coefficient de Kraemer k' est négatif, ce qui signifie que c'est un bon solvant du PHU[26, 31]. Dans le cas du THF, le coefficient de Huggins k est supérieur à 0,5 et le coefficient de Kraemer k' est positif, ce qui signifie que c'est un mauvais solvant du PHU[27, 32]. Aucun solvant n'est un solvant thêta du PHU à 25°C.

La viscosité intrinsèque [η] de la solution de PHU dans le DMSO est supérieure à celle de la solution de PHU dans le THF. Dans une étude sur la nanoprécipitation du PLA à partir du THF ou de l'acétone, Legrand *et al.* observent que la taille des nanoparticules est plus élevée lorsque la viscosité intrinsèque de la phase organique est plus élevée[2]. La viscosité intrinsèque rend compte du volume hydrodynamique des pelotes de polymères dans le solvant en régime dilué. Plus ce dernier est important, plus la mobilité du solvant entre les pelotes lors de sa diffusion dans la phase aqueuse est lente, et plus l'étape de croissance des proto-particules est

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

lente. Les valeurs des viscosités intrinsèques sont cohérentes avec les valeurs des paramètres de Huggins et de Kraemer.

Cette étude suggère qu'en régime dilué, la taille des nanoparticules de PHU devrait être plus élevée dans le cas du DMSO que dans le cas du THF.

III.1.3. Estimation des interactions PHU-solvant et solvant-eau par le calcul

Les mesures de viscosité capillaire permettent de caractériser expérimentalement les interactions PHU-solvant. Il existe d'autres méthodes basées sur le calcul pour estimer ces interactions ainsi que les interactions solvant-eau.

III.1.3.1. Paramètres d'interaction PHU-solvant

Le paramètre d'interaction entre solvant et polymère, ou paramètre de Flory $\chi_{s\text{-}p}$, permet de donner une estimation quantitative des interactions PHU-solvant. Ce paramètre est donné par la relation suivante :

$$\chi_{PHU-S} = \frac{V_{mol}}{RT}(\delta_S - \delta_{PHU})^2 \quad (6)$$

Avec V_{mol} le volume molaire du PHU, R la constante des gaz parfaits, T la température (24°C), δ_{PHU} et δ_s les paramètres de solubilité du PHU et du solvant respectivement. Les valeurs des paramètres de solubilité du DMSO (26,7 $(J/cm^3)^{1/2}$) et du THF (19,5 $(J/cm^3)^{1/2}$) sont données dans des tables[32]. Le volume molaire du PHU peut être calculé par approximation en sommant les volumes molaires des groupes constituant l'unité de répétition du PHU. Ces volumes molaires ont été déterminés par Fedors[33].

$$V_{mol} = 18V_{mol.CH_2} + 2V_{mol.CH} + 2V_{mol.COO} + 2V_{mol.OH} + 2V_{mol.NHCOO}$$
$$= 18 \times 16{,}1 - 2 \times 1{,}0 + 2 \times 18{,}0 + 2 \times 10{,}0 + 2 \times 18{,}5 = 380{,}8\ cm^3/mol \quad (7)$$

Le paramètre de solubilité du PHU est quant à lui calculé à partir des contributions F_{di}, F_{pi} et E_{hi} de groupes constituant l'unité de répétition. Ces contributions ont été déterminées par la méthode de Hoftyzer-Van Krevelen[34] :

$$\delta_d = \frac{\sum F_{di}}{V_{mol}} = 19{,}2\ (\mathrm{J/cm^3})^{1/2} \quad (8)$$

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

$$\delta_p = \frac{\sqrt{\sum {F_{pi}}^2}}{V_{mol}} = 3{,}3\ (\mathrm{J/cm^3})^{1/2} \quad (9)$$

$$\delta_h = \sqrt{\frac{\sum E_{hi}}{V_{mol}}} = 14{,}0\ (\mathrm{J/cm^3})^{1/2} \quad (10)$$

$$\delta = \sqrt{{\delta_d}^2 + {\delta_p}^2 + {\delta_h}^2} = 24{,}0\ (\mathrm{J/cm^3})^{1/2} \quad (11)$$

Avec δ_d, δ_p, δ_h les contributions des interactions dispersives, polaires et hydrogènes au paramètre de solubilité respectivement.

Le paramètre d'interaction du PHU avec le DMSO et le THF est donc égal à 1,12 et 3,15 respectivement. D'après ces résultats, aucun des deux solvants ne peut être considéré comme un bon solvant du PHU.

En variant le solvant utilisé pour nanoprécipiter du PLA ou du PLGA, les équipes de Bilati[3] et Choi[4] mettent en évidence que les paramètres d'interaction élevés (entre 1,20 et 2,53) permettent d'obtenir des nanoparticules de taille faible. En conséquence, l'étude du paramètre d'interaction réalisée dans ce paragraphe suggère que, dans les mêmes conditions expérimentales, la taille des nanoparticules de PHU devrait être plus élevée dans le cas du DMSO que dans le cas du THF. Ce résultat est cohérent avec le résultat de l'étude viscosimétrique.

III.1.3.2. Paramètres d'interaction solvant-eau

Les interactions entre polymère et solvant ne sont cependant pas le seul paramètre physico-chimique à impacter la taille des particules, les interactions entre solvant et eau sont toutes aussi importantes. Ces interactions doivent être les plus grandes possibles pour favoriser la diffusion rapide du solvant dans la phase aqueuse et permettre une croissance rapide des nanoparticules[3, 27]. Les interactions solvant-eau peuvent être estimées à partir du paramètre d'interaction solvant-eau :

$$\chi_{S-W} = \frac{V_{molS}}{RT}(\delta_S - \delta_W)^2 \quad (12)$$

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Avec δ_w le paramètre de solubilité de l'eau et V_{molS} le volume molaire du solvant. Les paramètres valent donc $\chi_{DMSO\text{-}eau}$ = 13,3[35] et $\chi_{THF\text{-}eau}$ = 26,9. L'eau a une meilleure affinité chimique avec le DMSO qu'avec le THF[36]. L'étude du paramètre d'interaction entre eau et solvant suggère que les nanoparticules de PHU devraient être plus petites lorsqu'elles sont formulées à partir du DMSO.

Ce résultat est différent des résultats obtenus à partir des paramètres de Huggins et de Flory, ce qui indique que la prévision de la taille des nanoparticules après nanoprécipitation est complexe. S'agissant d'un système ternaire polymère/solvant/eau, il y a compétition entre l'affinité du polymère et du solvant et l'affinité du solvant et de l'eau. Il est nécessaire de réaliser des expériences de nanoprécipitation et de comparer les tailles de particules de PHU préparées à partir du DMSO et du THF.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

III.2. Optimisation de la nanoprécipitation du PHU à partir du DMSO par plan d'expériences

Dans le chapitre II, nous avons présenté plusieurs expériences de nanoprécipitation du PHU sans tensioactif en variant la nature du solvant organique, la concentration en polymère dans la phase organique et le ratio entre phase organique et phase aqueuse. Nous avons ainsi démontré la faisabilité de la nanoprécipitation du PHU. Cependant, cette étude préliminaire ne nous a pas permis de définir précisément l'influence des différents paramètres sur la taille et la distribution de taille des nanoparticules préparées. D'autre part, l'étude de vieillissement a révélé l'agrégation des nanoparticules quelques jours après leur préparation. L'ajout d'un tensioactif dans la phase aqueuse nous est apparu donc nécessaire afin d'assurer la stabilité des nanosuspensions. Le solvant organique utilisé dans cette étude pour la nanoprécipitation du PHU est le DMSO. Les objectifs de ce paragraphe sont les suivants :

- La détermination de l'influence des paramètres principaux du procédé sur les caractéristiques de la nanosuspension (polydispersité en taille, taille, stabilité dans le temps).
- L'optimisation du procédé de nanoprécipitation afin d'obtenir des nanoparticules monodisperses (PDI < 0,2) et de faible taille (autour de 100 nm).

Afin d'atteindre ces objectifs, nous avons réalisé un plan d'expériences. Le plan d'expériences permet d'obtenir d'avantage d'informations qu'une étude paramètre par paramètre pour un même nombre d'expériences réalisées. De plus, il permet de mettre en évidence les interactions entre les paramètres pour chaque réponse.

III.2.1. Détermination du plan d'expériences

Nous avons déterminé les caractéristiques du plan d'expériences afin de définir la série d'expériences à réaliser : nombre de réponses étudiées, valeur optimale pour chaque réponse, nombre de paramètres étudiés, type de plan d'expériences et domaine d'étude.

III.2.1.1. Choix des réponses

La première étape de l'élaboration d'un plan d'expériences est de définir les réponses qui seront mesurées pour chaque expérience. Ces réponses doivent être pertinentes, quantifiables et représentatives du procédé. C'est à partir des variations des réponses qu'il est possible d'estimer l'influence des paramètres du procédé. La taille moyenne des particules et la

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

polydispersité de la nanosuspension, mesurées par diffusion dynamique de la lumière (DLS), sont des caractéristiques essentielles pour les colloïdes et leurs applications (notamment dans le domaine pharmaceutique[37]). Ces deux réponses ont donc été retenues pour le plan d'expériences.

- Indice de polydispersité

L'indice de polydispersité (PDI) est un nombre sans dimension, compris entre 0 et 1, qui traduit la largeur de la distribution de tailles des particules de la nanosuspension. Plus le PDI est grand, plus la distribution de taille est large. Le PDI est obtenu par diffusion dynamique de la lumière (DLS). L'appareil de DLS n'est pas approprié pour caractériser les objets étudiés lorsque le PDI est supérieur à 0,7[38]. La limite basse de détection de l'appareil est de 0,05[38]. Le PDI est calculé par la méthode des cumulants[39]. Lors d'une analyse en DLS, la fonction d'autocorrélation G(t) est enregistrée en fonction du temps. Elle est définie comme la probabilité pour que chaque particule reste immobile entre deux instants t et t+dt. Le logarithme décimal de la fonction d'autocorrélation G(t) peut être décrit comme une fonction polynomiale du temps t[39] :

$$\log G(t) = a + b.t + c.t^2 \qquad (13)$$

a, b et c étant des coefficients de la mesure obtenus par régression non linéaire (« non-negative least squares » NNLS) sur la courbe représentant log G(t). b est le diamètre moyen en z – ou z-average diameter – c'est-à-dire la taille mesurée des particules en supposant qu'elles sont sphériques et monodisperses (PDI inférieur à 0,2, limite que nous avons estimé correcte pour cette étude[38]) et constituent une population unimodale (une seule population en taille). Le PDI est déterminé à partir de l'équation 14 :

$$PDI = \frac{2.c}{b^2} \qquad (14)$$

Le PDI est la réponse la plus importante car une polydispersité faible permet d'assurer la stabilité de la nanosuspension dans le temps[36, 40]. En effet, plus la distribution de taille d'un échantillon est étroite, plus la barrière énergétique à dépasser pour permettre le contact entre deux nanoparticules est élevée. D'autre part, un PDI faible permet la connaissance précise de la taille des nanoparticules car il indique une distribution en taille monodisperse. A l'inverse, les fortes valeurs de PDI peuvent correspondre à deux cas de figures : des distributions de taille larges mais unimodales ou des distributions multimodales. Cet indicateur peut donc

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

plutôt être considéré comme une variable qualitative, l'objectif de l'étude expérimentale étant pour nous d'identifier les facteurs expérimentaux impactant cette réponse et de déterminer des conditions opératoires conduisant à des nanosuspensions monodisperses.

Taille des particules

La seconde réponse de ce plan d'expériences est la taille des nanoparticules. Elle est mesurée par DLS. Nous estimons que pour un PDI inférieur ou égal à 0,2, la taille des particules est équivalente au diamètre moyen en z (z-average) – constante b de l'équation 14. Pour un PDI supérieur à 0,2 et lorsqu'une population multimodale est observée, la taille des particules est donnée par le diamètre moyen (D_{min}) de chaque population, c'est-à-dire le diamètre associé au maximum d'intensité de chaque population.

La taille des nanoparticules est très importante pour des applications pharmaceutiques. En effet, la taille de nanoparticules détermine (avec les propriétés de surface) l'organe ou le tissu du corps humain ciblé par le principe actif qui est encapsulé[37]. Les nanoparticules de quelques dizaines de nanomètres de diamètres peuvent par exemple pénétrer les cellules par endocytose[41]. D'autre part, les nanoparticules doivent être suffisamment petites pour ne pas être détectées par le système immunitaire, une valeur indicatrice limite de 250 nm ayant été donnée dans la littérature[41, 42]. La taille des nanoparticules détermine aussi la cinétique de libération du principe actif qu'elles encapsulent.

- Objectifs vis-à-vis des réponses

Nous cherchons à formuler une nanosuspension monodisperse pour laquelle la taille des particules est bien définie et stable dans le temps. A l'issue du plan d'expériences, l'objectif est de déterminer l'influence des différents paramètres sur la taille et le PDI et de pouvoir ajuster ces paramètres de manière à obtenir une valeur optimale de la réponse en PDI et en taille : le PDI doit être très inférieur à 0,20 et la taille autour d'une centaine de nanomètres. Les réponses correspondant à la mesure du PDI et de la taille moyenne des particules sont nommées Y_1 et Y_2 respectivement.

III.2.1.2. Choix des paramètres

De nombreux paramètres ont une influence directe ou indirecte sur la taille des nanoparticules et la polydispersité en taille de la nanosuspension (voir chapitre I.2.2). Ces paramètres sont liés à la nature et la concentration ou le volume des matériaux utilisés – polymère, solvant, principe actif et huile inerte (les deux derniers étant optionnels) dans la phase organique ; eau

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

et agent stabilisant (le dernier étant optionnel) dans la phase aqueuse. Ce sont des paramètres de formulation. D'autres paramètres sont liés aux conditions opératoires du procédé de nanoprécipitation – débit d'addition de la phase organique dans la phase aqueuse, vitesse d'agitation de la phase aqueuse, température, type d'aiguille, distance entre la pointe de l'aiguille et la surface de la phase aqueuse, géométrie du bécher contenant la phase aqueuse. Ce sont des paramètres de procédé. Parmi tous ces paramètres, il est nécessaire d'en sélectionner plusieurs qui soient facilement quantifiables, ajustables, indépendants les uns des autres et enfin qui puissent générer une variation significative des réponses mesurées. Nous avons voulu travailler avec le même lot de PHU durant toute la durée du plan d'expériences – afin de s'affranchir des caractéristiques du polymère, bien que nous ayons vérifié la répétabilité de la synthèse du PHU. Or quelques grammes seulement de polymère sont obtenus après purification et caractérisation, ce qui limite le nombre d'expériences que nous pouvons réaliser. Après avoir analysé les résultats des expériences de nanoprécipitation préliminaires détaillées dans le chapitre II, nous avons identifié trois paramètres qui nous ont paru primordiaux pour la formation des nanoparticules : la concentration en PHU dans la phase organique – dont la variable associée est X_1, le volume d'eau – X_2 – et la concentration en SDS dans la phase aqueuse – X_3. Les autres paramètres qui sont fixes d'une expérience à l'autre au cours de ce plan d'expériences sont listés dans le tableau suivant :

Paramètres liés aux matériaux	Phase organique	Nature du polymère	PHU
		Nature du solvant	DMSO
		Volume du solvant	25 ml
	Phase aqueuse	Nature du tensioactif	SDS
Paramètres liés aux conditions opératoires	Mode d'addition	Phase organique dans phase aqueuse, goutte-à-goutte, aiguille non immergée	
		Débit d'addition de la phase organique	35 ml/h
		Vitesse d'agitation de la phase aqueuse	500 rpm
		Température des deux phases	24°C

Tableau 3. Paramètres invariables du procédé de nanoprécipitation.

- Concentration en polymère dans la phase organique

La concentration en polymère est l'un des paramètres les plus étudiés dans la littérature. Divers travaux rapportent une augmentation de la taille des particules et de la polydispersité de la nanosuspension quand la concentration en polymère augmente[42-44]. La raison communément invoquée pour expliquer ce phénomène est l'augmentation de la viscosité de la phase organique qui rend plus difficile la diffusion du solvant et donc plus longue la période

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

de croissance des nanoparticules[45, 46]. Les concentrations en polymère dans la phase organique vont de quelques milligrammes à quelques dizaines de milligrammes par millilitre de solvant (régime dilué)[47]. Il nous est apparu essentiel d'inclure ce paramètre à notre étude pour vérifier cette tendance dans le cas d'un poly(hydroxy)uréthane. D'autre part, notre objectif est de révéler d'éventuelles interactions entre ce paramètre et les autres paramètres étudiés dans ce plan d'expériences.

- Volume d'eau

A volume de solvant organique constant, la variation du volume d'eau de la phase aqueuse équivaut à la variation du ratio volumique entre phase organique et phase aqueuse. Le volume d'eau utilisé pour la nanoprécipitation est en général une à dix fois plus important que le volume de solvant[47].

La littérature présente des résultats différents selon les études : diminution de la taille des particules suite à une augmentation du volume d'eau pour certains auteurs[48], aucun effet pour d'autres[45, 47]. Le volume d'eau influence la vitesse de diffusion du solvant et donc la taille des particules[49]. Cependant, ce n'est pas le seul paramètre : la vitesse d'agitation de la phase aqueuse [50] et le débit d'addition de la phase organique [47] influencent aussi cette vitesse de diffusion. Cela peut expliquer que les études de la littérature ne soient pas concordantes.

Ce plan d'expériences nous permettra de déterminer l'effet du volume d'eau dans le cas spécifique du procédé que nous avons développé pour la nanoprécipitation du PHU.

- Concentration en tensioactif dans la phase aqueuse

Les tensioactifs permettent la stabilisation des émulsions et dispersions dans le temps[51]. La quantité de tensioactif ajoutée à la phase aqueuse varie de quelques pourcents à quelques dixièmes de pourcents en masse par rapport à la quantité d'eau[47]. Les tensioactifs les plus utilisés sont des tensioactifs non ioniques comme les Poloxamers (PLX)[47, 52], le polyvinylalcool (PVA)[47] et les polysorbates[52]. Le SDS, moins courant, a néanmoins été utilisé durant la nanoprécipitation du PLGA[53], de la PCL, du PLA[54], de la polyvinylpyrrolidone (PVP)[55], du PS-PEG ou encore du PCL-PEG[56].

Nous avons choisi le SDS comme tensioactif car il s'est avéré très efficace pour stabiliser des nanoparticules de polyuréthane aliphatique – obtenues par polyaddition interfaciale en miniémulsion[57] – dont la structure chimique est proche de celle des poly(hydroxy)uréthanes développés durant ce projet de thèse.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

III.2.1.3. Choix du plan d'expériences

Le plan d'expériences est un ensemble d'expériences où – en entrée – seuls les trois paramètres que nous avons sélectionnés (concentration en PHU dans la phase organique X_1, volume d'eau X_2 et concentration en SDS dans la phase aqueuse X_3) varient d'une expérience à l'autre et où – en sortie – les deux réponses sélectionnées (indice de polydispersité de la nanosuspension Y_1 et taille des nanoparticules Y_2) sont mesurées. La relation entre paramètre et réponse est formalisée à l'aide d'un modèle polynomial.

III.2.1.3.1. Plans d'expériences

Les informations apportées par un plan d'expériences dépendent du type de plan. Les expériences à réaliser et les conclusions qui peuvent être tirées varient d'un plan d'expériences à un autre. Les avantages et inconvénients majeurs des différents plans d'expériences sont listés dans le tableau 4[58].

Type de plan	Information	Matrice d'expériences	Avantage(s)	Inconvénient(s)
Plan de criblage	Influence d'un grand nombre de paramètres	Matrice d'Hadamard	Beaucoup de paramètres étudiés pour peu d'expériences ; Classement possible des paramètres par ordre d'influence	Pas d'information sur les interactions entre paramètres Modèle simple du premier degré
Plans factoriels	Influence quantitative de paramètres indépendants et de leurs interactions	Matrice factorielle	Modèles synergiques de degré deux ou plus (effets principaux et interactions)	Modèles non prédictifs si le phénomène étudié subit une courbure forte dans le domaine expérimental
Surfaces de réponse	Conditions optimales pour des paramètres indépendants	Matrice composite centrée	Réalisable à la suite d'un plan factoriel en rajoutant des expériences (points axiaux) ; modèle quadratique : les fortes courbures sont prises en compte	Nombre d'expériences plus important
Plans de mélange	Etude de formulations composées de plusieurs constituants	Matrice de mélange	Détermination d'une formulation optimale	Nombre d'expériences important selon les contraintes appliquées à la composition

Tableau 4. Avantages et inconvénients de différents types de plans d'expériences.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Notre objectif est l'étude des effets et interactions des trois paramètres sélectionnés – concentration en PHU dans la phase organique, volume d'eau et concentration en SDS dans la phase aqueuse – sur la distribution de taille (Y_1) et la taille (Y_2) des nanoparticules de PHU obtenues par nanoprécipitation afin de comprendre leur formation et de déterminer les conditions conduisant à une taille et une distribution de tailles minimales.

Nous avons décidé de choisir un plan factoriel complet à deux réponses. Le plan factoriel complet permet de quantifier l'effet des paramètres ainsi que l'effet d'interactions entre deux ou trois paramètres sur les réponses étudiées. Dans certaines conditions (que nous détaillerons dans le paragraphe III.2.2.3), un plan factoriel complet permet aussi le tracé de courbes iso-réponse. Dans le domaine d'étude, les courbes iso-réponse représentent, dans un plan horizontal et de manière continue, la réponse prédite par le modèle en fonction de la variation de deux paramètres, le troisième étant fixé.

III.2.1.3.2. Choix du domaine expérimental : définition des niveaux des facteurs

Pour chaque paramètre étudié, on définit un domaine expérimental dont on fait correspondre les bornes aux niveaux codés -1 et +1. En plan d'expériences, ce codage permet de s'affranchir des gammes de variation et des unités de chaque facteur. Ainsi, les coefficients du modèle de régression obtenu à partir des variables codées peuvent être comparés directement car ils correspondent aux poids (ou effets) des facteurs. Avec ce codage, les conditions opératoires correspondant au centre du domaine expérimental sont codées 0. Pour choisir les valeurs correspondant aux niveaux (-1) et (+1), nous nous sommes inspirés des valeurs rapportées dans la littérature.

Dans une revue sur les procédés de fabrication de nanocapsules de polymère, Mora-Huertas *et al*. décrivent les quantités ou volumes de chaque constituant permettant l'obtention des nanoparticules de plus faible taille et les plus monodisperses[52] : solvant, non solvant, polymère, tensioactif, principe actif et huile inerte. Selon eux, pour un volume de solvant de 25 ml et un volume de non-solvant de 50 ml, la quantité de polymère doit être de 0,2 à 0,5 % massique par rapport à la masse de solvant, ce qui correspond dans le cas du DMSO utilisé dans cette étude à une concentration comprise entre 2 et 5 g/l. Cette gamme de concentration en polymère permet d'obtenir un régime dilué dans la phase organique[2]. Nous avons choisi des concentrations de PHU égales à 1, 3 et 5 g/l. De la même manière, nous avons choisi une gamme de volume d'eau standard – 50, 100 et 150 ml. Pour ce qui est du SDS, nous voulions

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

étudier les changements liés à l'absence de tensioactif ainsi que l'influence de la concentration. Le niveau bas pour la concentration en SDS a donc été fixé à 0 mmol/l. Les deux autres valeurs sont ajustées à 12,5 et 25,0 mmol/l, soit 0,36 et 0,72 % massique par rapport à la masse d'eau. Ces valeurs sont en accord avec celles recommandées par Mora-Huertas[52] : entre 0,2 et 0,5 % massique par rapport à la masse de non-solvant.

Les valeurs des paramètres que nous avons choisies sont listées dans le tableau 5.

			Niveaux		
Variable	Paramètre		-1	0	+1
X_1	Concentration en PHU dans la phase organique (g/l)	[PHU]	1	3	5
X_2	Volume d'eau (ml)	V_{eau}	50	100	150
X_3	Concentration en SDS dans la phase aqueuse (mmol/l)	[SDS]	0	12,5	25
			Quantités		

Tableau 5. Variables du procédé de nanoprécipitation.

III.2.1.3.3. Présentation du plan factoriel complet

Le plan factoriel complet permet de relier les variables X_1, X_2 et X_3 aux réponses Y_1 et Y_2 à l'aide d'un modèle de régression. Le modèle synergique de degré trois utilisé[59] est le suivant :

$$\hat{Y} = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3 + b_{123}X_1X_2X_3 \qquad (15)$$

Chaque réponse Y est modélisée par une réponse $\hat{Y}$ selon le modèle de régression. Le plan factoriel renseigne sur les effets principaux b_1, b_2 et b_3 des trois paramètres étudiés, les trois effets d'interactions b_{12}, b_{13} et b_{23} entre deux paramètres distincts, et l'effet d'interactions b_{123} entre les trois paramètres. Le plan factoriel complet est composé de $2^3 = 8$ expériences ou essais – deux réponses et trois variables. Ces essais sont répertoriés de d1 à d8 (la lettre d se rapportant au DMSO utilisé comme solvant organique durant ce plan d'expériences).

Dans un espace à trois dimensions de coordonnées (X_1, X_2, X_3), le domaine expérimental est représenté par un cube dont chaque sommet correspond à une expérience du plan factoriel complet (figure 10). Les points situés au centre du cube correspondent aux expériences répétées dans les conditions opératoires du centre du domaine d'étude : ces points ont pour objectif non seulement d'estimer l'erreur expérimentale associée aux deux réponses mesurées mais aussi d'évaluer la courbure du phénomène au centre du domaine et donc la validité du modèle synergique postulé. Nous avons décidé de réaliser quatre répétions, ceux sont les essais dA, dB, dC et dD.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

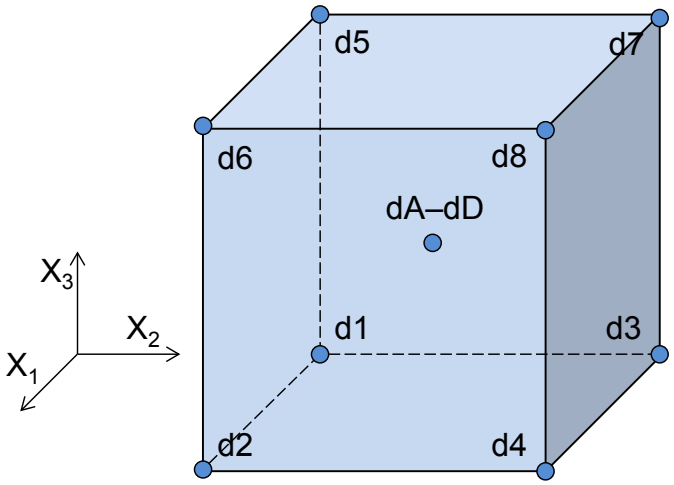


Figure 10. Expériences de la matrice cubique centrée dans le domaine expérimental.

Nous avons donc 8 + 4 = 12 expériences à réaliser, dont les variables sont représentées dans une matrice sous forme codée dans le tableau 6 et sous forme naturelle dans le tableau 7. Les expériences sont réalisées dans un ordre aléatoire, ce qui permet de compenser l'effet des variables cachées (c'est à dire qui ne peuvent pas être contrôlées ; par exemple, la manière dont est exécuté le protocole expérimental par l'opérateur ou encore les fluctuations de température (± 3°C)).

	Essai	Randomisation	X_1	X_2	X_3
Côtés du cube 3D	d1	r6	-1	-1	-1
	d2	r4	1	-1	-1
	d3	r8	-1	1	-1
	d4	r11	1	1	-1
	d5	r3	-1	-1	1
	d6	r2	1	-1	1
	d7	r9	-1	1	1
	d8	r7	1	1	1
Centre du cube 3D	dA	r1	0	0	0
	dB	r5	0	0	0
	dC	r10	0	0	0
	dD	r15	0	0	0

Tableau 6. Matrice du plan factoriel complet, variables codées.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

	Essai	Random	Concentration en PHU (g/l)	Volume d'eau (ml)	Concentration en SDS (mmol/l)
Côtés du cube 3D	d1	r6	1	50	0,0
	d2	r4	5	50	0,0
	d3	r8	1	150	0,0
	d4	r11	5	150	0,0
	d5	r3	1	50	25,0
	d6	r2	5	50	25,0
	d7	r9	1	150	25,0
	d8	r7	5	150	25,0
Centre du cube 3D	dA	r1	3	100	12,5
	dB	r5	3	100	12,5
	dC	r10	3	100	12,5
	dD	r15	3	100	12,5
			X_1	X_2	X_3

Tableau 7. Matrice du plan factoriel complet, variables naturelles.

III.2.1.3.4. Calcul des coefficients des effets

Les coefficients ou effets des facteurs peuvent être calculés pour chaque réponse Y_k (k = 1 – 2). Pour chaque variable X_i (i = 1 – 3), l'effet principal b_i correspondant est calculé à partir de chaque réponse $Y_{k,n}$ déterminée pour chaque essai n (n = 1 – 8) :

$$b_{k,i} = \sum_{n=1}^{n=8} \frac{X_{i,n} \times Y_{k,n}}{8} \quad (16)$$

L'effet d'interactions b_{ij} du couple de variables X_i et X_j est calculé :

$$b_{k,ij} = \sum_{n=1}^{n=8} \frac{X_{i,n} \times X_{j,n} \times Y_{k,n}}{8} \quad (17)$$

L'effet d'interactions b_{123} entre les trois variables X_1, X_2 et X_3 est calculé :

$$b_{k,123} = \sum_{n=1}^{n=8} \frac{(X_{1,n} \times X_{2,n} \times X_{3,n}).Y_{k,n}}{8} \quad (18)$$

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Enfin, la constante du modèle de régression b_0 est aussi calculé :

$$b_{k,0} = \sum_{n=1}^{n=8} \frac{Y_{k,n}}{8} \quad (19)$$

III.2.1.3.5. Calcul des intervalles de confiance

- Pour les réponses (Y_k)

L'intervalle de confiance ΔY_k est déterminé pour chaque réponse Y_k (k= 1 – 2). ΔY_k est calculé à l'aide de l'écart-type σ_k qui est estimé à partir des répétitions au centre du domaine (dA – dD) et éventuellement d'autres essais répétés ailleurs dans le domaine expérimental :

$$\sigma_k = \sqrt{\frac{3 \times \mathrm{Var}\left(Y_{k,dA}; Y_{k,dB}; Y_{k,dC}; Y_{k,dD}\right) + \sum_n [ddl_n \times Var(Y_{k,n,1}; \ldots; Y_{k,n,p})]}{3 + \sum_n ddl_n}} \quad (20)$$

L'indice n correspond à une expérience répétée parmi les expériences d1 à d8, l'indice p correspond au nombre de répétition de cette expérience. Var représente la variance. Ainsi, si l'on considère une expérience n répétée p fois et donnant pour la réponse Y_k les valeurs $Y_{k,n,1}$, ..., $Y_{k,n,i}$, …, $Y_{k,n,p}$ dont la moyenne vaut Moy ($Y_{k,n,1}$; … ; $Y_{k,n,p}$), alors la formule de la variance est la suivante :

$$Var\left(Y_{k,n,1}; \ldots; Y_{k,n,p}\right) = \frac{1}{ddl_n} \sum_{i=1}^{i=p} \left[Y_{k,n,i} - Moy(Y_{k,n,1}; \ldots; Y_{k,n,p})\right]^2 \quad (21)$$

ddl_n est le degré de liberté pour l'expérience n. Si l'expérience n est répétée p fois, alors :

$$ddl_n = p - 1 \quad (22)$$

Y_k étant une mesure expérimentale, elle suit une distribution de type loi nomale et l'intervalle de confiance à 95% (soit un risque de 5%) ΔY_k qui lui est associé est alors égal à :

$$\Delta Y_k = 2 \times \sigma_k \quad (23)$$

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

- Pour les coefficients (b_i, b_{ij} et b_{123})

Compte tenu des propriétés mathématiques des plans factoriels complets, l'intervalle de confiance à 95% de chaque coefficient du modèle s'écrit :

$$\Delta b_i = t_{th} \times \sigma_{b_i} \text{ , avec } \sigma_{b_i} = \frac{\sigma_k}{\sqrt{8}} \quad (24)$$

Avec t_{th} la valeur du t de Student théorique obtenue pour un risque de 5%. Lorsque les effets sont siginificatifs ($|bi| > \Delta b_i$), les coefficients correspondant peuvent être classés par ordre décroissant en valeur absolue en fonction de leur importance sur le procédé de nanoprécipitation en termes de PDI et de taille de particules[61].

III.1.1.2. Protocole expérimental

Le protocole expérimental de nanoprécipitation du PHU est le suivant : le PHU est solubilisé dans 25 ml de DMSO pendant une nuit à température ambiante afin d'obtenir une phase organique de concentration [PHU] en polymère. Le SDS est ajouté dans un volume V_{eau} d'eau permutée afin d'obtenir une phase aqueuse de concentration [SDS] en tensioactif. A 24°C, la phase organique est prélevée dans une seringue (BD Plastipak, H 851 ES, 50 ml) puis versée au goutte-à-goutte dans un bécher de 200 ml contenant la phase aqueuse sous agitation magnétique à 500 rpm. Le débit d'addition est fixé à 35 ml/h à l'aide d'un pousse-seringue.

Une fois que toute la phase organique a été versée dans le bécher, 50 ml de l'échantillon sont prélevés puis versés dans un vial en verre de 100 ml. La nanosuspension est analysée en DLS (voir détails en annexe III.4.1). Le PDI et la taille des particules (égale au z-average si PDI < 0,2 ou au D_{min} si PDI > 0,2) sont relevés.

III.2.2. Résultats du plan d'expériences

Le tableau 8 présente les résultats des 12 expériences du plan factoriel complet avec les réponses en PDI (Y_1) et en taille de particules (Y_2) et les paramètres concentration en PHU dans la phase organique (X_1), volume d'eau (X_2) et concentration en SDS dans la phase aqueuse (X_3). On observe une variation significative des réponses avec les conditions opératoires puisque le PDI évolue de 0,10 à 0,52 et la taille moyenne des particules de 55 à 179 nm.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Essai	X_1	X_2	X_3	Y_1	Y_2 (nm)
d1	-1	-1	-1	0,28	103
d2	1	-1	-1	0,27	110
d3	-1	1	-1	0,15	87
d4	1	1	-1	0,26	101
d5	-1	-1	1	0,15	55
d6	1	-1	1	0,10	88
d7	-1	1	1	0,52	179
d8	1	1	1	0,20	81
dA	0	0	0	0,12	102
dB	0	0	0	0,13	86
dC	0	0	0	0,13	93
dD	0	0	0	0,13	93

Tableau 8. Résultats du plan d'expériences pour la nanoprécipitation du PHU avec le DMSO comme solvant organique.

Les essais d3, d5 et d6, présentant une valeur du PDI inférieur à 0,2 et un z-average inférieur à 100 nm sont répétés une à deux fois. Un quatrième essai présentant une valeur du PDI supérieure à 0,2 – l'essai d4 – est aussi répété (tableau 9).

Essai	X_1	X_2	X_3	Y_1	Y_2
d3'	-1	1	-1	0,20	88
d3''	-1	1	-1	0,25	118
d4'	1	1	-1	0,28	137
d4''	1	1	-1	0,29	110
d5'	-1	-1	1	0,14	55
d6'	1	-1	1	0,10	90
d6''	1	-1	1	0,12	86

Tableau 9. Répétition des expériences d3, d4, d5 et d6.

Les coefficients des effets principaux et d'interactions, calculés à l'aide des équations 16 à 19 sont rassemblés dans le tableau 10.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Effets	b_0	b_1	b_2	b_3	b_{12}	b_{13}	b_{23}	b_{123}
Y_1	0,24	-0,03	0,04	0,00	-0,02	-0,06	0,07	-0,05
Y_2 (nm)	101	-6	12	0	-15	-11	18	-17

Tableau 10. Effets principaux et d'interactions pour les réponses en PDI (Y_1) et taille (Y_2).

Une fois les coefficients des effets principaux et d'interactions calculés, il est possible de relier les réponses Y_1 et Y_2 aux variables X_1, X_2 et X_3 selon le modèle de régression présenté dans l'équation 15 :

$$\hat{Y}_1 = 0{,}24 - 0{,}03 \times X_1 + 0{,}04 \times X_2 - 0{,}02 \times X_1 \times X_2 - 0{,}06 \times X_1 \times X_3 + 0{,}07 \times X_2 \times X_3 - 0{,}05 \times X_1 \times X_2 \times X_3 \quad (25)$$

$$\hat{Y}_2 = 101 - 6 \times X_1 + 12 \times X_2 - 15 \times X_1 \times X_2 - 11 \times X_1 \times X_3 + 18 \times X_2 \times X_3 - 17 \times X_1 \times X_2 \times X_3 \quad (26)$$

Le signe d'un coefficient définit si son impact sur les réponses $\hat{Y}_1$ et $\hat{Y}_2$ calculées à partir des équations 25 et 26 est positif ou négatif. Une valeur négative réduit la valeur finale de la réponse, une valeur positive l'augmente[61]. La différence entre les réponses Y obtenues expérimentalement et les réponses $\hat{Y}$ prédites par le modèle de régression est l'erreur résiduelle ε (tableau 11).

Essai	X_1	X_2	X_3	Y_1	$\hat{Y}_1$	ε_1	Y_2	$\hat{Y}_2$	ε_2
	[PHU]	V_{eau}	[SDS]	PDI			Taille		
d1	-1	-1	-1	0,28	0,27	0,01	103	104	1
d2	1	-1	-1	0,27	0,27	0,00	110	110	0
d3	-1	1	-1	0,15	0,15	0,00	87	88	1
d4	1	1	-1	0,26	0,27	0,01	101	102	1
d5	-1	-1	1	0,15	0,15	0,00	55	56	1
d6	1	-1	1	0,10	0,11	0,01	88	86	2
d7	-1	1	1	0,52	0,51	0,01	179	180	1
d8	1	1	1	0,20	0,19	0,01	81	82	1
dA–dD	0	0	0	0,13*	0,24	0,11	94*	101	8

Tableau 11. Réponses expérimentales Y et calculées $\hat{Y}$ ainsi que leur différence ε. Les réponses comportant une * correspondent aux moyennes (dA–dD).

Les intervalles de confiance ΔY_1 et ΔY_2 associés respectivement aux réponses Y_1 et Y_2 sont calculés à l'aide des équations 20 à 23. Les écart-types σ_1 etσ_2 sont calculés à partir des essais répétés au centre du domaine (dA – dD) (tableau 8) et des autres essais répétés (d3, d4, d5 et d6) (tableau 9) :

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

$$\sigma_k = \sqrt{\frac{3 \times \mathrm{Var}(Y_{k,dA}; Y_{k,dB}; Y_{k,dC}; Y_{k,dD}) + 2 \times \mathrm{Var}(Y_{k,d3}; Y_{k,d3'}; Y_{k,d3''}) + 2 \times \mathrm{Var}(Y_{k,d4}; Y_{kd,4'}; Y_{k,d4''}) + 1 \times \mathrm{Var}(Y_{k,d5}; Y_{k,d5'}) + 2 \times \mathrm{Var}(Y_{k,d6}; Y_{k,d6'}; Y_{k,d6''})}{10}} \quad (27)$$

Après calcul, nous obtenons $\sigma_1 = 0{,}02$ et $\sigma_2 = 13$ nm. Avec un degré de liberté total de 10, la valeur du t théorique de Student est égal à $t_{95\%} = 2{,}22$ pour un risque de 5%[62]. A partir de l'équation 23, les intervalles de confiance à 95% sont ensuite calculés : $\Delta Y_1 = 0{,}04$ et $\Delta Y_2 = 24$ nm. On en déduit les intervalles de confiance à 95% des coefficients des modèles développés pour les 2 réponses : $\Delta b_1 = 0{,}02$ et $\Delta b_2 = 10$ nm. Les coefficients supérieurs en valeur absolue à ces intervalles sont considérés statistiquement significatifs pour un risque de 5%.

III.2.2.1. Analyse des effets pour la réponse Y_1 (PDI)

Les coefficients du modèle obtenu pour la réponse Y_1 sont représentés sur la figure 11. Sur cet histogramme apparaissent deux lignes en pointillés qui délimitent l'intervalle de confiance à 95% pour chaque coefficient Δb_i. Les effets sont significatifs lorsque les coefficents correspondants sont supérieurs à l'intervalle de confiance. Nous avons analysé l'importance des effets en fonction de la valeur des coefficients. Il s'avère que certains effets d'interactions sont plus importants que les effets principaux : $b_{23} > b_{13} > b_{123} > b_2 > b_1 > b_{12} > b_3$.

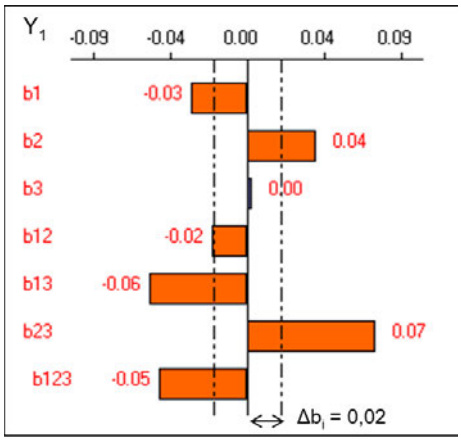


Figure 11. Valeurs des coefficients pour la réponse Y_1 (PDI).

Le coefficient b_3 est nul ce qui signifie que la concentration en SDS dans la phase aqueuse n'a pas d'effet significatif sur le PDI.

Les coefficients b_1 et b_2 sont égaux à -0,03 et 0,04 respectivement donc les effets principaux de la concentration en PHU et du volume d'eau sont significatifs. Sur la base de l'équation 25 et du signe du coefficient b_1, il apparait que la valeur minimale de $\hat{Y}_1$ est obtenue lorsque X_1

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

= +1 ([PHU] = 5 g/l). En suivant le même raisonnement pour le volume d'eau, $\hat{Y}_1$ est minimisée lorsque X_2 = -1 (V_{eau} = 50 ml).

Nous avons ensuite déterminé quels effets d'interactions sont significatifs (Figure 11). Le coefficient b_{12} (-0,02) est quasiment égal à l'intervalle de confiance Δb_i. Nous avons donc jugé que l'effet de l'interaction entre la concentration en PHU et le volume d'eau n'était pas significatif. L'effet de l'interaction entre le volume d'eau et la concentration en SDS (b_{23} = 0,07) et celui de l'interaction entre la concentration en PHU et la concentration en SDS (b_{13} = 0,06) sont significatifs. Ils ont été analysés à partir des croix d'interactions représentées ci-dessous (figure 12).

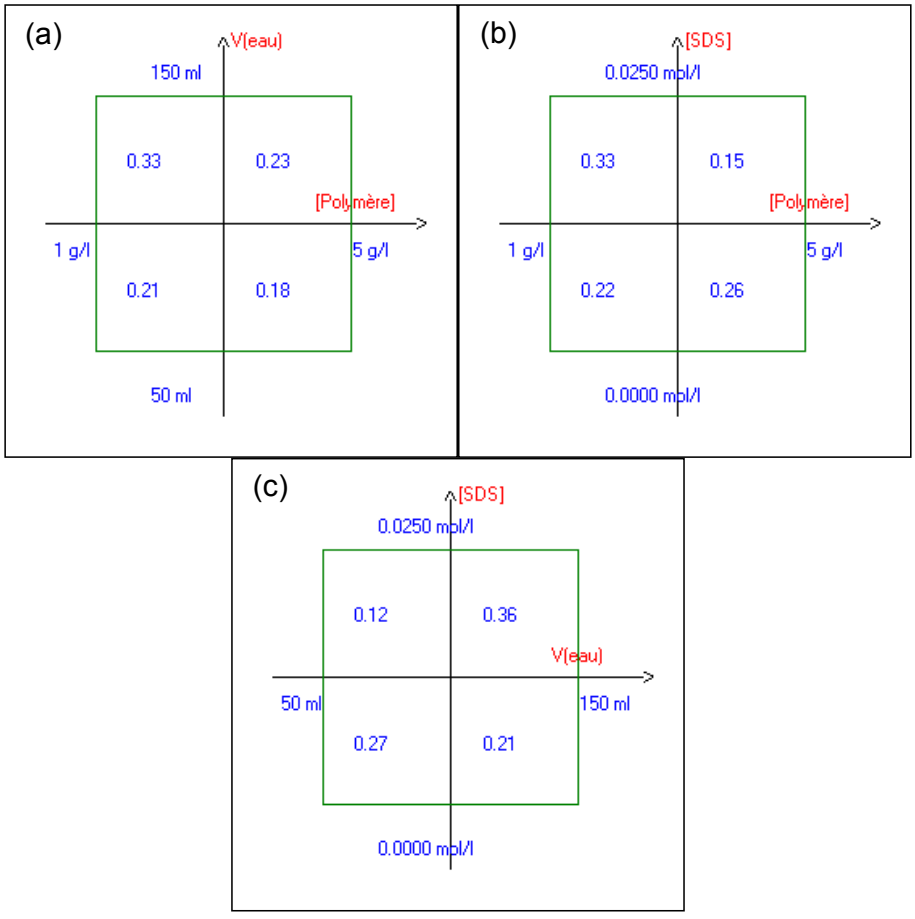


Figure 12. Représentation (croix) d'interactions entre X_1 et X_2 (a), X_1 et X_3 (b) X_2 et X_3 (c) pour la réponse Y_1 (PDI) (X_1 = [PHU], X_2 = V_{eau}, X_3 = [SDS]).

Chaque croix indique quatre valeurs moyennes du PDI suivant quatre combinaisons possibles pour le couple de variable étudié (-1 et -1 ; -1 et +1 ; +1 et -1 ; +1 et +1). Par exemple, pour la combinaison (-1 et -1) des deux premières variables, le PDI est calculé à partir de la

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

moyenne des PDI des essais (-1 ; -1 ; -1) et (-1 ; -1 ; +1). Les trois autres valeurs sont calculées de la même manière.

En ce qui concerne l'interaction entre le volume d'eau et la concentration en SDS (b_{23}), la valeur la plus basse du PDI (0,12) est obtenue lorsque le volume d'eau est faible et la concentration en SDS élevée (figure 12.c). Le volume d'eau élevé et la concentration en SDS élevée conduisent au contraire au PDI le plus élevé (0,36). En absence de SDS, le volume d'eau élevé permet d'obtenir le PDI le plus faible (0,21 contre 0,27). L'effet du volume d'eau sur le PDI dépend donc de la quantité de SDS fixée ce qui témoigne d'une interaction entre ces deux paramètres.

Pour l'interaction entre la concentration en PHU et la concentration en SDS (b_{13}), la valeur la plus basse du PDI (0,15) est obtenue lorsque les concentrations en PHU et SDS sont élevées (figure 12.b). A concentration en SDS élevée, le PDI augmente fortement en diminuant la concentration en PHU, tandis qu'en absence de SDS, le PDI diminue légèrement en diminuant la concentration en PHU. Ici encore, l'effet de la concentration en polymère dépend de la quantité de SDS prouvant la synergie existant entre ces deux facteurs expérimentaux.

La valeur du PDI est donc minimale lorsque $X_1 = +1$ (concentration en PHU égale à 5 g/l), $X_2 = -1$ (volume d'eau égal à 50 ml) et $X_3 = +1$ (concentration en SDS égale à 25,0 mmol/L). Ces résultats concordent avec les conclusions issues des effets principaux ($X_1 = +1$, $X_2 = -1$).

Pour ce qui est de l'effet d'interactions d'ordre 2 (b_{123}) (figure 13), la valeur du PDI la plus faible (0,10) est obtenue avec le triplet (+1 ; -1 ; +1), ce qui est cohérent avec l'analyse précédente. Le PDI est également faible (0,15) lorsque la concentration en SDS est élevée et les concentrations en PHU et le volume d'eau sont faibles (figure 13.b). Sans SDS (figure 13.a), la concentration en PHU faible et le volume d'eau élevé conduisent à un PDI égal à 0,15. Le PDI est maximal (0,52) lorsque la concentration en SDS est élevée, le volume d'eau élevé et la concentration en PHU faible.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

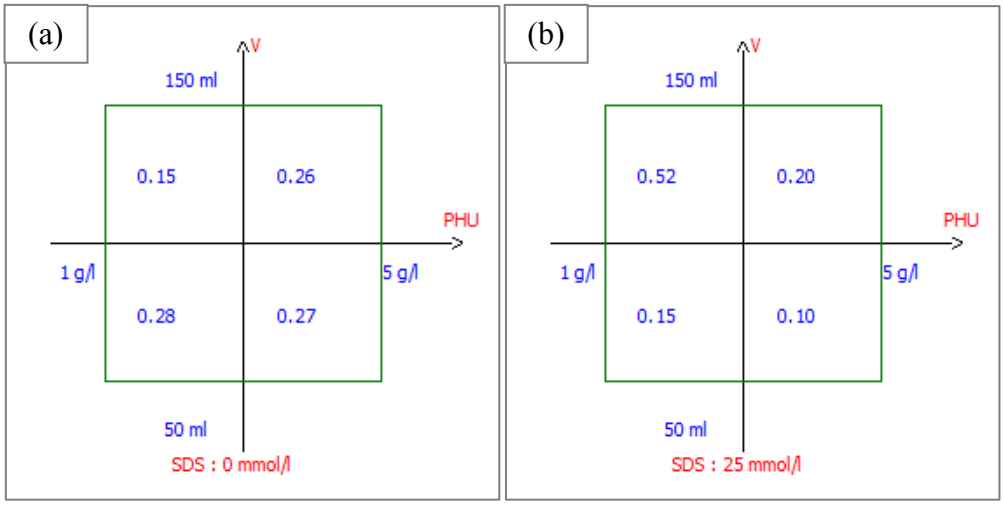


Figure 13. Représentation de l'interaction d'ordre 2 X_1 X_2 X_3 pour la réponse Y_1 (PDI) lorsque $X_3 = -1$ (a) et $X_3 = +1$ (b) (X_1 = [PHU], $X_2 = V_{eau}$, X_3 = [SDS]).

Nous pouvons donc conclure que la concentration en PHU dans la phase organique égale à 5 g/l, le volume d'eau égal à 50 ml et la concentration en SDS dans la phase aqueuse égale à 25,0 mmol/L permettent d'obtenir la nanosuspension la plus monodisperse. A l'inverse, la concentration en PHU égale à 1 g/l, le volume d'eau égal à 150 ml et la concentration en SDS égale à 25,0 mmol/L aboutissent à une nanosuspension polydisperse.

III.2.2.2. Analyse des effets pour la réponse Y_2 (taille des particules)

Les coefficients du modèle obtenu pour la réponse Y_2 sont représentés sur la figure 14. La plupart des coefficients d'interactions sont plus élevés que les effets principaux : $b_{23} > b_{123} > b_{12} > b_2 > b_{13} > b_1 > b_3$.

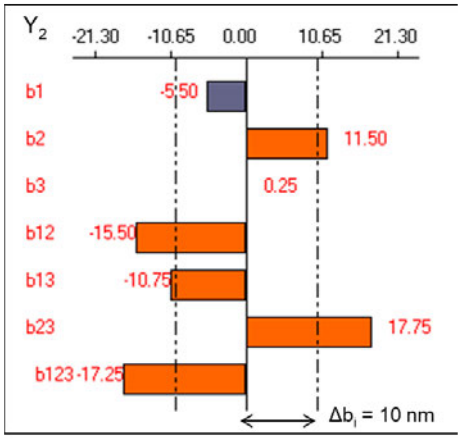


Figure 14. Histogramme des coefficients pour la réponse Y_2 (taille des particules).

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Les effets principaux de la concentration en PHU (b_1 = -5,50 nm) et de la concentration en SDS (b_3 = 0,25 nm) ne pas sont pas significatifs. Le coefficient b_2 (11,50 nm) étant de l'ordre de l'intervalle de confiance Δb_i, nous avons donc jugé que l'effet principal du volume d'eau était négligeable.

Nous avons ensuite déterminé quels effets d'interactions sont significatifs (figure 14). Le coefficient b_{13} (-10,75) est de l'ordre de l'intervalle de confiance Δb_i, nous avons donc jugé que l'effet de l'interaction entre la concentration en PHU et la concentration en SDS n'était pas significatif. L'effet de l'interaction entre la concentration en PHU et le volume d'eau (b_{12} = -15,50 nm), et celui de l'interaction entre le volume d'eau et la concentration en SDS (b_{23} = 17,75 nm) sont significatifs. Ils ont été analysés à partir des croix d'interactions (figure 15).

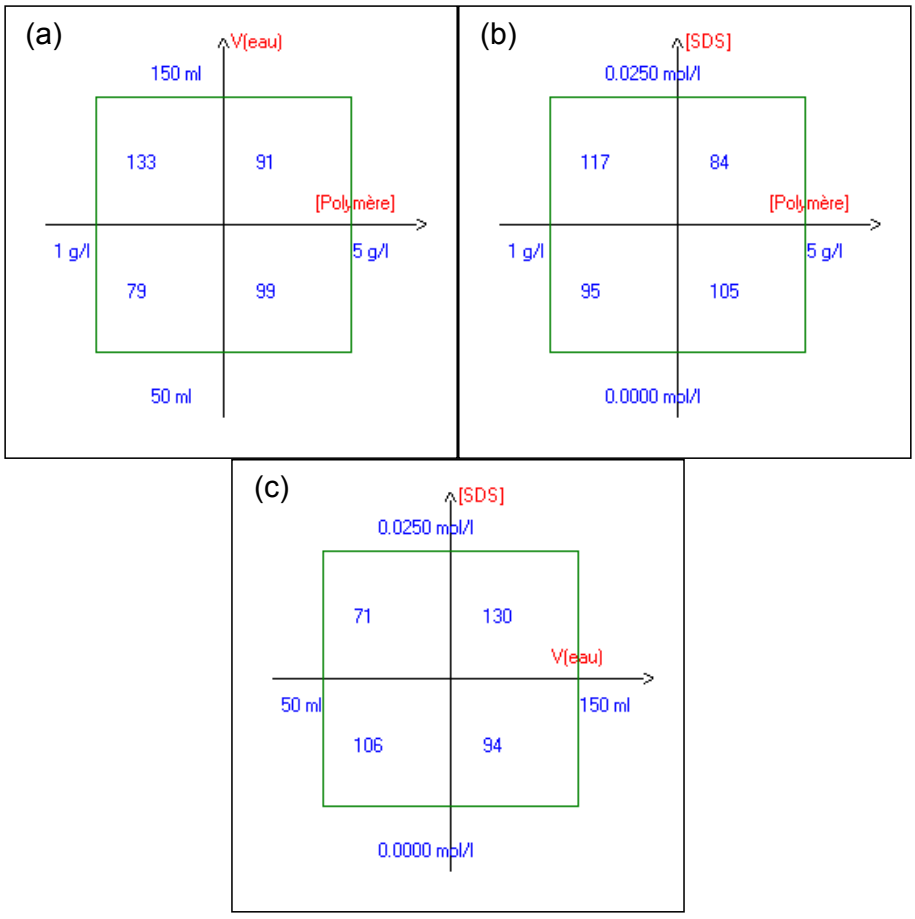


Figure 15. Représentation (croix) des interactions entre X_1 et X_2 (a), X_1 et X_3 (c) pour la réponse Y_2 (taille des particules) (X_1 = [PHU], X_2 = V_{eau}, X_3 = [SDS]).

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

En ce qui concerne l'interaction entre le volume d'eau et la concentration en SDS (b_{13}), on observe que l'effet du volume d'eau dépend de la quantité de SDS utilisée (figure 15 c). La valeur de taille la plus faible est obtenue lorsque le volume d'eau est faible et la concentration en SDS est élevée (71 nm). Néanmoins, cette valeur est proche de celle obtenue lorsque le volume d'eau est élevé et la concentration en SDS est faible (94 nm). A ce stade, nous ne pouvons donc pas déterminer le niveau des variables X_2 et X_3.

L'effet du volume d'eau dépend également de la quantité de polymère : il est important à la concentration basse en PHU et négligeable pour la concentration forte (figure 15 a). La taille la plus faible (79 nm) est obtenue lorsque la concentration en PHU et le volume d'eau sont faibles.

Pour ce qui est de l'effet d'interactions d'ordre 2 (b_{123}), la valeur de la taille la plus faible (55 nm) est obtenue avec le triplet (-1 ; -1 ; +1) (figure 16). D'autre part, le volume d'eau a une grande influence sur la taille (valeurs variant de 55 à 179 nm) lorsque la concentration en PHU est faible et la concentration en SDS est élevée.

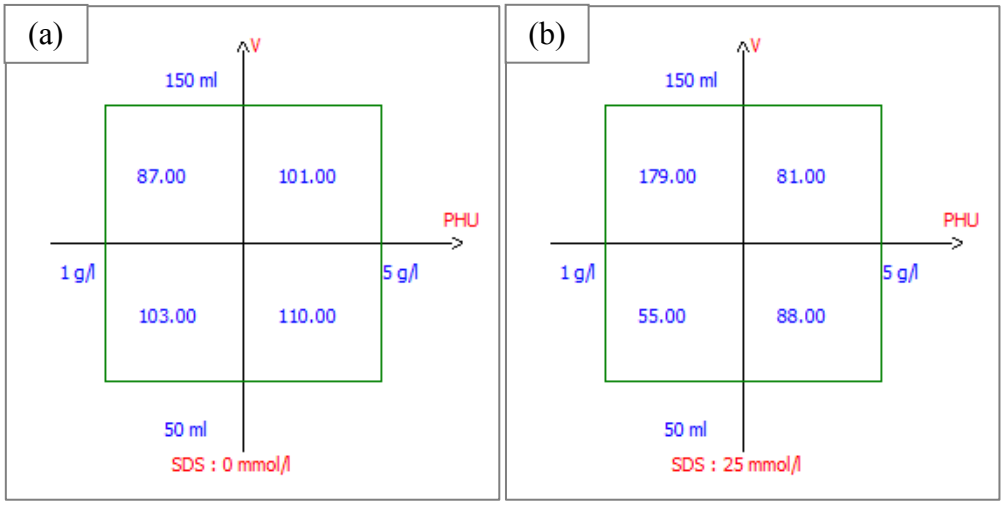


Figure 16. Représentation de l'interaction d'ordre 2 X_1 X_2 X_3 pour la réponse Y_2 (taille des particules) lorsque X_3 = -1 (a) et X_3 = +1 (b) (X_1 = [PHU], X_2 = V_{eau}, X_3 = [SDS]).

Ces résultats sont cohérents avec les résultats issus des analyses des effets principaux et des interactions d'ordre 1 car le triplet (-1 ; -1 ; +1) permet d'obtenir une taille moyenne de 79 nm d'après la croix d'interaction de la figure 15.a et une taille de 71 nm d'après celle de la figure 15.c.

Nous pouvons donc conclure que la concentration en PHU dans la phase organique égale à 1 g/l, le volume d'eau égal à 50 ml et la concentration en SDS dans la phase aqueuse égale à

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

25,0 mmol/L permettent d'obtenir les nanoparticules de plus faible taille. A l'inverse, les nanoparticules de tailles les plus élevées sont obtenues lorsque la concentration en PHU est égale à 1 g/l, le volume d'eau est égal à 150 ml et la concentration en SDS est égale à 25,0 mmol/L.

III.2.2.3. Analyse de la taille des particules (Y_2) par les courbes iso-réponse

Les courbes iso-réponse fournissent une vue d'ensemble des résultats du plan d'expériences dans le domaine d'étude[63]. Comme les cartes topographiques, elles représentent de manière continue et dans un plan horizontal (qui correspond au domaine étudié) la réponse prédite par le modèle en fonction de la variation de deux paramètres, le troisième étant fixé. Dans le cas d'un plan factoriel complet, il est possible de les tracer lorsque le modèle est validé au centre du domaine expérimentale, c'est-à-dire lorsque l'erreur résiduelle ε_0 (différence entre la valeur expérimentale et la valeur prédite au centre) est inférieure à l'intervalle de confiance ΔY. Les valeurs de Y_0, $\hat{Y}_0$ et ε_0 sont données dans le tableau 11. Pour la réponse en PDI (Y_1), on a :

$$\varepsilon_0 = \left| Y_0 - \hat{Y}_0 \right| = \left| Y_0 - b_0 \right| = \left| 0{,}13 - 0{,}24 \right| = 0{,}11 \qquad (28)$$

Pour la réponse en taille de particules (Y_2), on a :

$$\varepsilon_0 = \left| Y_0 - \hat{Y}_0 \right| = \left| Y_0 - b_0 \right| = \left| 93 - 101 \right| = 8\ nm \qquad (29)$$

L'erreur résiduelle ε_0 est supérieure à l'intervalle de confiance pour la réponse en PDI (ΔY_1 = 0,04) ce qui indique une courbure forte du phénomène au centre du domaine et donc que le modèle synergique postulé n'est pas suffisant pour prédire le PDI. Ce résultat n'est pas problématique dans la mesure où, comme mentionné précédemment, cette réponse est plutôt de type qualitatif. L'expérimentation a bien permis d'identifier les effets influençant de manière significative cette réponse et les conditions opératoires permettant d'obtenir des suspensions monodisperses, ce qui étaient les principaux objectifs. Dans le cas de la réponse en taille, l'erreur résiduelle ε_0 étant inférieure à l'intervalle de confiance (ΔY_2 = 24 nm), le modèle développé est validé et il est alors possible de tracer les courbes iso-réponse correspondantes. Ces courbes été tracées à l'aide du logiciel MODDE (Umetrics, Sartorius Stedim Biotech) (figure 17).

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

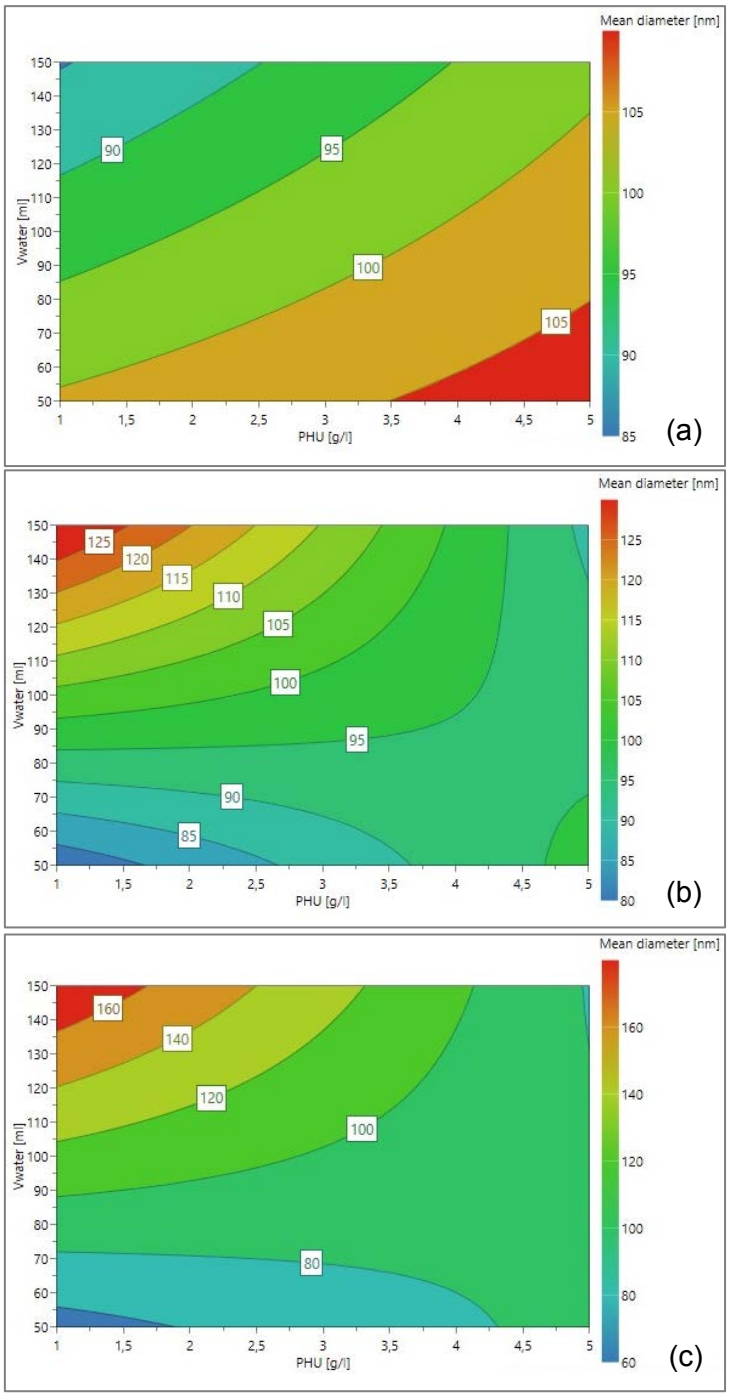


Figure 17. Courbes iso-réponse en taille (Y_2) en fonction de la concentration en PHU (X_1) et du volume d'eau (X_2) pour une concentration en SDS (X_3) de 0 (a), 12,5 (b) et 25,0 mmol/l (c).

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Chaque courbe présente la variation de la réponse en taille Y_1 en fonction de la concentration en PHU X_1 et du volume d'eau X_2 lorsque la concentration en SDS X_3 est fixe (figure 17.a : pas de SDS, figure 17.b : [SDS] = 12,5 mmol/l, figure 17.c : [SDS] = 25,0 mmol/l).

En absence de SDS, la taille de particules varie entre 85 nm (faible concentration en PHU et volume d'eau élevé) et 105 nm (concentration en PHU élevée et volume d'eau faible). Ces résultats sont cohérents avec la littérature : la viscosité de la phase organique est plus faible à faible concentration en polymère[45, 46], ce qui favorise la diffusion rapide du solvant vers la phase aqueuse et accélère la précipitation du polymère. Un ratio phase organique/phase aqueuse plus faible pourrait favoriser lui aussi la diffusion du solvant[49]. En effet, conformément à la loi de Fick, la vitesse de diffusion du solvant est élevée lorsque le gradient de concentration en solvant dans l'eau est élevé[64]. Cependant, la variation de taille entre les deux extrêmes n'est que de 20 nm soit un peu moins que l'intervalle de confiance (ΔY_2 = 24 nm). L'influence couplée de la concentration en PHU et du volume d'eau n'est donc pas véritablement significative, du moins dans le domaine d'étude. Ceci est cohérent avec l'étude des interactions d'ordre 2 présentée précédemment (figure 16.a) : en absence de SDS, la taille varie peu (entre 87 et 110 nm) en fonction de la concentration en PHU et du volume d'eau.

En présence de SDS, l'allure des courbes iso-réponses est la même quelle que soit la concentration en SDS. Les plus faibles tailles de particules sont obtenues lorsque la concentration en PHU et le volume d'eau sont faibles : 75 nm lorsque la concentration en SDS est de 25,0 mmol/l et 80 nm lorsque la concentration en SDS est de 12,5 mmol/l. Les tailles de particules les plus élevées sont obtenues lorsque la concentration en PHU est faible et le volume d'eau élevé : 160 nm lorsque la concentration en SDS est de 25,0 mmol/l et 125 nm lorsque la concentration en SDS est de 12,5 mmol/l. L'importance de l'effet du volume d'eau sur la taille des particules est très grande lorsque la concentration en PHU est faible (1 g/l) puis s'amoindrit au fur et à mesure que la concentration en PHU augmente. A concentration en PHU élevée (5 g/l), l'effet du volume d'eau sur la taille des particules devient négligeable, celle-ci étant située entre 90 et 100 nm. La comparaison avec les figures 17.b et 17.c permet de déduire que plus la concentration en SDS est élevée, plus l'influence du volume d'eau sur la taille des particules est grande lorsque la concentration en PHU est faible. La taille des particules varie entre 80 et 125 nm lorsque la concentration en SDS est égale à 12,5 mmol/l et entre 75 et 160 nm lorsque la concentration en SDS est égale à 25,0 mmol/l.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

III.2.2.4. Discussions

III.2.2.4.1. Conditions expérimentales optimales

L'analyse des coefficients des effets principaux et d'interactions permet de déterminer l'ajustement des paramètres pour les valeurs de PDI et de taille de particules minimales. Le PDI le plus faible (0,10) est obtenu avec la concentration en PHU élevée (5 g/l), le volume d'eau faible (50 ml) et la concentration en SDS élevée (25,0 mmol/l). Comme attendu, la taille de particules la plus faible (55 nm) est obtenue avec la concentration en PHU faible (1 g/l), le volume d'eau faible (50 ml) et la concentration en SDS élevée (25,0 mmol/l). On peut également observer ce résultat en considérant les courbes iso-réponses correspondantes (figure 17.c) : la taille minimale (< 60 nm, zone bleu foncé) est obtenue lorsque la concentration en SDS est élevée (25,0 mmol/L) et le volume d'eau et la concentration en PHU sont faibles (50 ml et 1 g/l respectivement).

Les réponses prédites à partir des modèles de régression (équations 24 et 25) sont égales à $\hat{Y}_1 = 0{,}11$ – lorsque $X_1 = +1$, $X_2 = -1$ et $X_3 = +1$ – et $\hat{Y}_2 = 56$ nm – lorsque $X_1 = -1$, $X_2 = -1$ et $X_3 = +1$. Ces valeurs sont très proches des réponses mesurées : la taille de particule minimale (z-ave = 55 nm, PDI = 0,15) est obtenue pour l'essai d5 tandis que le PDI minimal (z-ave = 88 nm, PDI = 0,10) est obtenu pour l'essai d6. Le modèle présente donc une bonne qualité prévisionnelle. Les expériences correspondant aux essais d5 et d6 ont été répétées plusieurs fois. Les résultats attestent de la répétabilité du procédé de nanoprécipitation (figures 18 et 19).

Cependant, en dehors de ces conditions expérimentales, la répétabilité du procédé de nanoprécipitation est discutable. En effet, les trois répétitions des essais d3 et d4 affichent un écart-type de 0,05 et 0,02 en PDI et 18 et 19 nm en taille respectivement (tableau 9). Ces écart-types sont élevés par rapport aux intervalles de confiance ($\Delta Y_1 = 0{,}04$ pour le PDI et $\Delta Y_2 = 24$ nm pour la taille). Nous pouvons attribuer la non répétabilité des essais d3 et d4 à l'absence de tensioactif dans les échantillons correspondants. En effet, il est probable que la déstabilisation des nanosuspensions ne se produise pas de manière identique d'un échantillon à l'autre.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

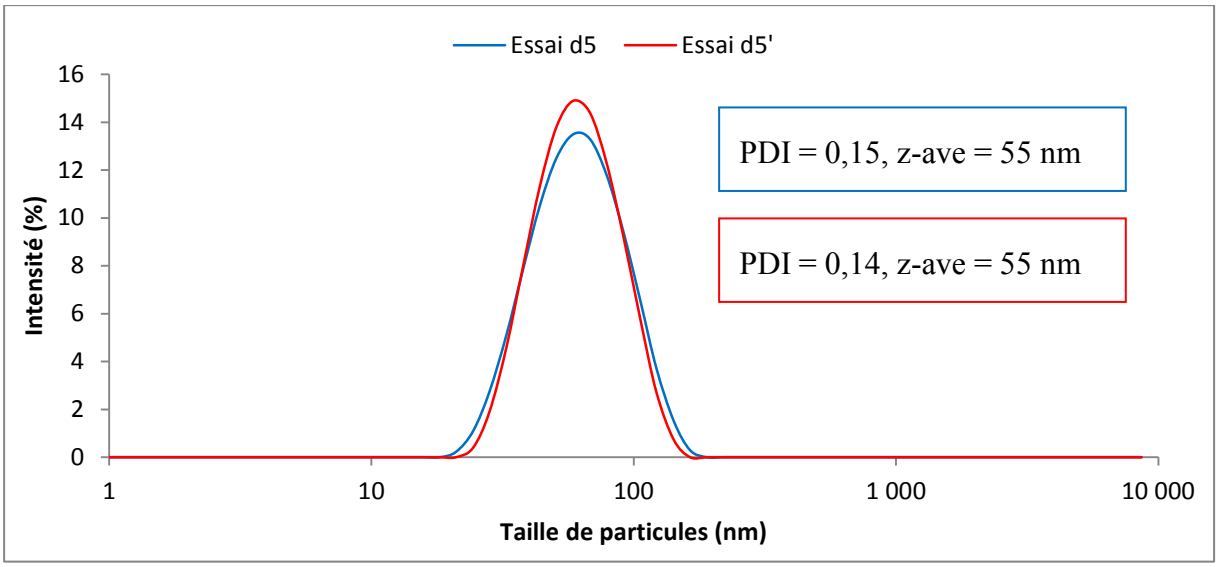


Figure 18. Distributions de taille des nanoparticules obtenues lors des essais d5 et d5' ([PHU] = 1 g/l, V_{eau} = 50 ml, [SDS] = 25,0 mmol/L).

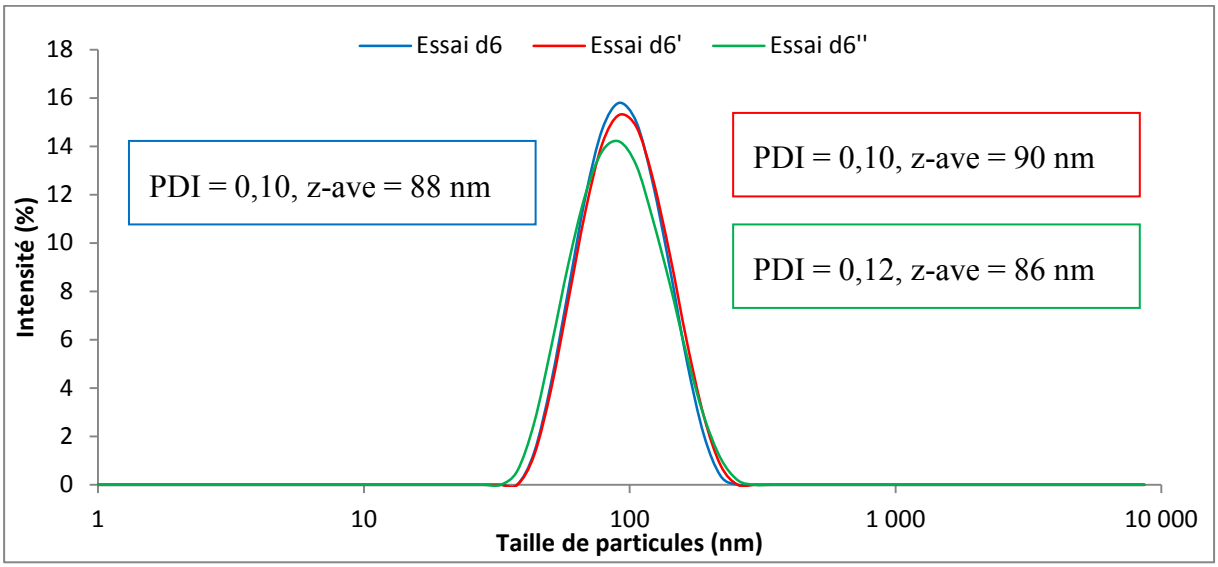


Figure 19. Distributions de taille des nanoparticules obtenues lors des essais d6, d6' et d6'' ([PHU] = 5 g/l, V_{eau} = 50 ml, [SDS] = 25,0 mmol/L).

En conclusion de cette étude, les valeurs de PDI et de taille sont minimales lorsque le volume d'eau est faible et la concentration en SDS élevée. L'ajustement de la concentration en PHU permet d'obtenir soit un PDI faible (lorsque X_1 = +1) soit une taille de particules faible (lorsque X_1 = -1). Afin de mieux comprendre le rôle du volume d'eau et de la concentration en SDS, nous nous sommes intéressés à l'étude de la distribution de taille des nanosuspensions préparées sans tensioactif (d1 à d4) et celles formulées avec une grande quantité de tensioactif (d7 et d8).

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

III.2.2.4.2. Influence du tensioactif

- Echantillons sans tensioactif

Les essais d1, d2, d3 et d4 réalisés sans tensioactifs présentent une distribution de taille polydisperse et unimodale (figure 20) à l'exception de l'essai d3 (PDI = 0,15, z-ave = 87 nm) (les répétitions d3' et d3'' suivant la tendance générale).

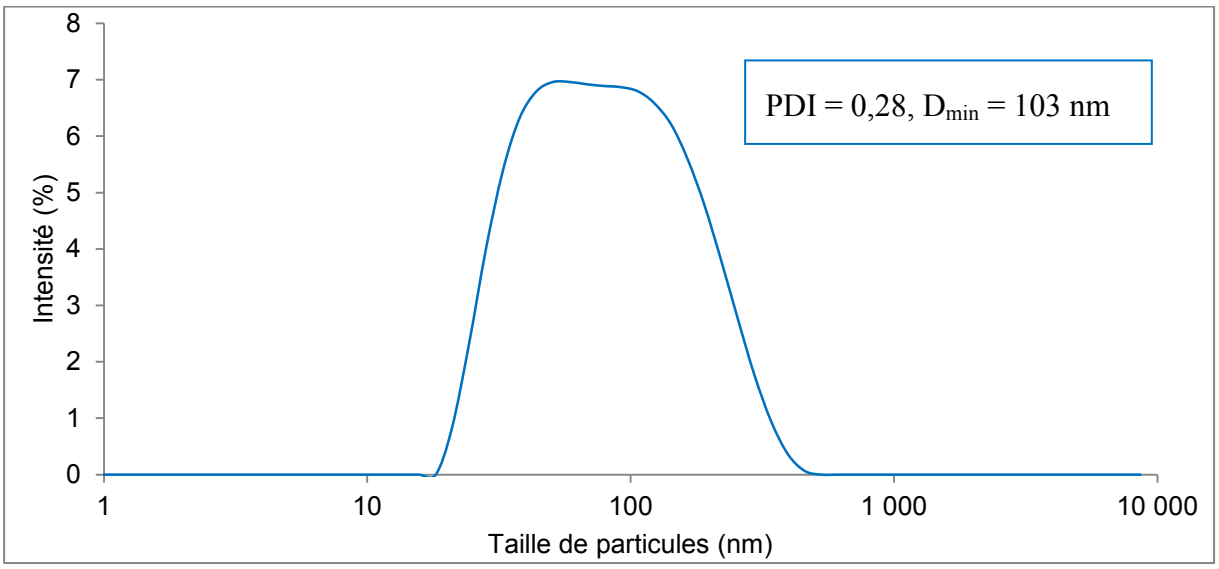


Figure 20. Distributions de taille des nanoparticules obtenues lors de l'essai d1 ([PHU] = 1 g/l, V_{eau} = 50 ml, [SDS] = 0 mmol/L).

En absence de tensioactif, les nanoparticules ne sont pas protégées contre les phénomènes d'agrégation et de coalescence. D'autre part, nous supposons que le DMSO peut diffuser de la solution dispersante vers les particules de polymère, ce qui peut occasionner un changement du volume des nanoparticules. Nous supposons d'autre part que les phénomènes d'agrégation, de coalescence, de gonflement ou de déplétion n'impactent pas toutes les particules de la même manière, ce qui favorise une augmentation du PDI. En conclusion, la présence de SDS s'avère nécessaire pour garantir un PDI faible.

- Echantillons concentrés en tensioactif

Les essais d7 et d8 ont été préparés avec un volume d'eau et une concentration en SDS élevés (X_2 = +1, X_3 = +1). Pour ces expériences, la quantité de SDS dans la phase aqueuse est importante ([SDS] = 25,0 mmol/L pour V_{eau} = 150 ml, soit 1080 mg de SDS). A titre comparatif, d'autres études de nanoprécipitation rapportent des concentrations en SDS beaucoup plus faibles (inférieures à 1 mmol/L[53-55]).

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

La distribution de taille des nanoparticules obtenues lors de l'essai d7 présente quatre populations (figure 21) : la première à 3 nm (A), la seconde à 28 nm (B), la troisième à 190 nm (C) et la quatrième au-delà de 2 µm (D). Nous pouvons attribuer le pic A à la présence de micelles des SDS. La taille des micelles de SDS décrite dans la littérature avoisine les 3 – 4 nm[65, 66]. Les pics B et C correspondent à deux populations de taille de nanoparticules de PHU. Le pic D correspond à la présence d'agrégats de nanoparticules de PHU.

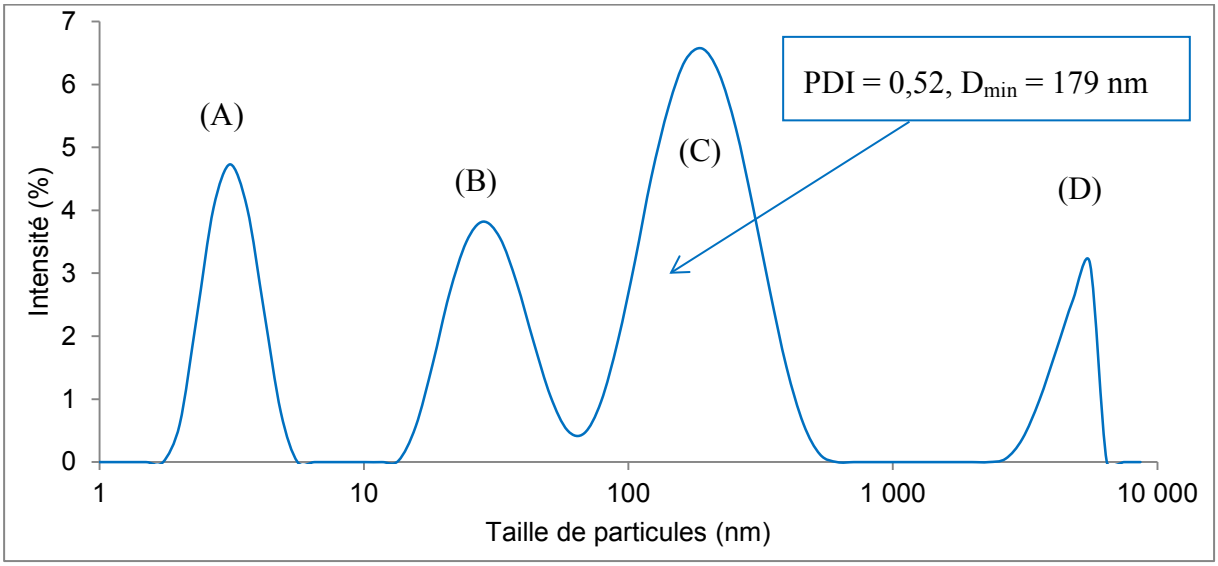


Figure 21. Distributions de taille des nanoparticules obtenues lors de l'essai d7 ([PHU] = 1 g/l, V_{eau} = 150 ml, [SDS] = 25,0 mmol/L).

La déstabilisation de la nanosuspension de l'essai d7 est très probablement due aux forces de déplétion exercées par les micelles de SDS[1, 7, 67]. Lorsque la distance entre deux nanoparticules est inférieure au diamètre d'une micelle de SDS, les micelles sont exclues du volume compris entre ces deux nanoparticules. Elles appliquent une force de déplétion à la surface des nanoparticules afin de combler ce volume exclu. La pression résultant de cette force de déplétion est définie par[7] :

$$P = k.T.[SDS_m] \quad (30)$$

Avec k la constante de Boltzmann, T la température du système et $[SDS_m]$ la concentration en micelles de SDS. Les forces de déplétion sont illustrées sur la figure 22.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

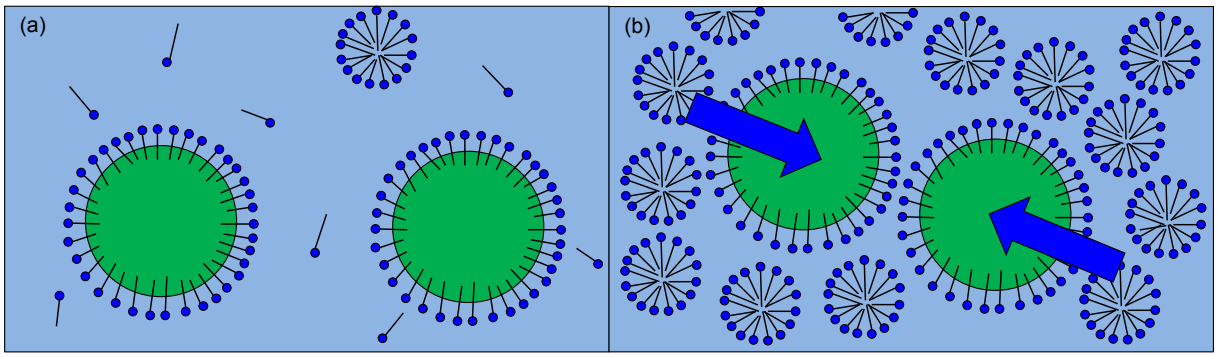


Figure 22. Nanosuspension de PHU en présence de SDS ([SDS] ≤ CMC) (a). Forces de déplétion exercées par les micelles de SDS ([SDS] >> CMC) (b).

Nous avons voulu expliquer la présence éventuelle de micelles de SDS dans les différents échantillons à partir des valeurs de CMC déterminées précédemment (paragraphe III.1.1.1 et figure 3) pour les ratios volumiques DMSO/eau égaux à 1:6, 1:4 et 1:2. Pour cela, nous avons dû considérer l'aire interfaciale développée par les nanoparticules de PHU sur laquelle les molécules de SDS sont susceptibles de s'adsorber (A_{tot}).

Pour chaque essai du plan d'expériences, nous avons calculé la quantité totale de SDS présent dans la nanosuspension (n), la quantité de SDS susceptible de s'adsorber à la surface des nanoparticules (n_0), la quantité de SDS au-dessus de laquelle la première micelle de SDS peut se former (n_{cmc}) et l'excès de SDS par rapport à la CMC ($n - (n_0 + n_{cmc})$), c'est-à-dire la quantité de SDS disponible dans le milieu pour former plus d'une micelle. n_0, n et n_{CMC} sont calculés à l'aide des équations suivantes :

$$n_0 = \frac{6 \times m}{d \times \rho \times A_0} \quad (31)$$

$$n = [SDS] \times V_{eau} \quad (32)$$

$$n_{CMC} = CMC \times (V_{DMSO} + V_{eau}) \quad (33)$$

A_0 est la surface couverte par mole de SDS (en m²/mol), ρ la masse molaire du PHU (1403 kg/m^3), d le diamètre des nanoparticules (m) et m la masse de PHU (kg). Le volume de DMSO est V_{DMSO} = 25 ml.

Les calculs qui ont permis d'aboutir à l'équation 31 sont présentés en annexe (III.4.2). Dans ces calculs, nous négligeons l'équilibre entre la quantité de SDS adsorbé à la surface des nanoparticules et la quantité de SDS libre dans le milieu dispersant. Autrement dit, nous supposons que la totalité du SDS couvre la surface développée par les nanoparticules de PHU.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

La CMC du SDS (équation 33) a été déterminée en l'absence de nanoparticules de PHU dans des solutions aqueuses de DMSO (III.1.1.1). Nous supposons que la présence de nanoparticules de PHU ne modifie pas cette valeur de la CMC et que le DMSO ajouté à la phase aqueuse lors de la nanoprécipitation a entièrement diffusé dans l'eau.

Les quantités n, n_0 et n_{cmc} calculées sont présentées dans le tableau 12.

Essai	[PHU]	V_{eau}	CMC	[SDS]	d	n	n_0	n_{cmc}	$n-(n_0+n_{cmc})$	$\frac{n-(n_0+n_{CMC})}{n_{CMC}}$
	g/l	ml	mmol/l	mmol/l	nm	mol	mol	mol	mol	
d5	1	50	6,7	25	55	1,25E-03	1,02E-05	7,95E-04	4,45E-04	0,56
d6	5	50	6,7	25	88	1,25E-03	3,20E-05	7,95E-04	4,23E-04	0,53
d7	1	150	10,6	25	179	3,75E-03	2,46E-06	1,17E-03	2,58E-03	2,20
d8	5	150	10,6	25	81	3,75E-03	2,72E-05	1,17E-03	2,55E-03	2,18
dA	3	100	7,8	12,5	102	1,25E-03	1,27E-05	9,75E-04	2,62E-04	0,27
dB	3	100	7,8	12,5	86	1,25E-03	1,50E-05	9,75E-04	2,60E-04	0,27
dC	3	100	7,8	12,5	93	1,25E-03	1,39E-05	9,75E-04	2,61E-04	0,27
dD	3	100	7,8	12,5	93	1,25E-03	1,39E-05	9,75E-04	2,61E-04	0,27

Tableau 12. Valeurs de n, n_0 et n_{cmc} déterminées pour chaque échantillon contenant du SDS.

Pour les échantillons dA, dB, dC et dD, l'excès de SDS par rapport à la CMC est faible, ce qui est cohérent avec la distribution de taille unimodale et monodisperse de ces quatre échantillons. L'excès de SDS par rapport à la CMC est plus élevé pour d7, ce qui est cohérent avec la population observée à 3 nm sur la courbe DLS (figure 21).

Bien que l'excès de SDS par rapport à la CMC soit plus élevé pour l'échantillon d8, la distribution de taille de l'échantillon d8 est unimodale et presque monodisperse (PDI = 0,20, z-ave = 81 nm). La seule différence dans les conditions expérimentales entre d7 et d8 est la concentration en PHU qui est cinq fois plus élevée pour d8 ([PHU] = 5 g/l) que pour d7 ([PHU] = 1 g/l).

III.1.2.4.3. Influence de la concentration en PHU

La surface totale des nanoparticules de PHU (A_{tot}) est calculée à partir de l'équation suivante (voir détails en annexe III.4.2) :

$$A_{tot} = n_0 \times A_0 = \frac{6 \times m}{d \times \rho} \quad (34)$$

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

A volume de DMSO, volume d'eau et concentration en SDS fixés, l'augmentation de la concentration en PHU induit une augmentation de la masse de PHU (m). D'autre part, nous avons vu que l'effet de la concentration en PHU sur le diamètre des nanoparticules (d) était négligeable à volume d'eau et concentration en SDS fixés (b_1 = -5,50 nm, voir figure 14). Ainsi, en reprenant l'équation 34, nous pouvons supposer que l'augmentation de la concentration en PHU provoque l'augmentation de la surface totale des nanoparticules (A_{tot}).

Les surfaces totales ont été calculées pour chaque essai (tableau 13).

Essai	[PHU]	V_{eau}	[SDS]	d	A_{tot}
	g/l	ml	mmol/l	nm	m²
d5	1	50	25	55	1,94
d6	5	50	25	88	6,07
d7	1	150	25	179	0,60
d8	5	150	25	81	6,60
dA	3	100	12,5	102	3,14
dB	3	100	12,5	86	3,73
dC	3	100	12,5	93	3,45
dD	3	100	12,5	93	3,45

Tableau 13. Surface totale développée par les nanoparticules (A_{tot}) de PHU pour chaque essai.

La comparaison des essais d5 et d6 d'une part et les essais d7 et d8 d'autre part permet de valider notre hypothèse : une concentration en PHU cinq fois plus élevée permet la formation de nanoparticules dont la surface développée est 3 à 11 fois plus élevée.

Pour un nombre de micelles de SDS équivalent, plus le nombre de nanoparticules de PHU est élevé, moins l'intensité des forces de déplétion appliquée à chaque nanoparticule de PHU est importante. Ce raisonnement permet d'expliquer la raison pour laquelle la courbe DLS de l'échantillon d8 est unimodale et monodisperse tandis que celle de l'échantillon d7 est multimodale et polydisperse.

En ce qui concerne les résultats optimaux, nous avons vu qu'à volume d'eau faible et concentration en SDS élevée, la concentration en PHU élevée permettait d'obtenir le PDI minimal (0,11) tandis que la concentration en PHU faible permettait d'obtenir la taille de particules minimale (56 nm) (voir paragraphe III.2.2.4.1). Ces résultats peuvent maintenant être expliqués.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

A volume d'eau et concentration en SDS fixés, l'augmentation de la concentration en PHU induit une diminution de l'intensité des forces de déplétion appliquées sur chaque nanoparticule de PHU par les micelles de SDS. A contrario, à volume d'eau et concentration en SDS fixés, la diminution de la concentration en PHU permet d'atteindre un régime plus dilué[2]. La phase organique, moins visqueuse, favorise la diffusion rapide du solvant dans la phase aqueuse lors de la nanoprécipitation[45, 46]. Les proto-particules (décrites dans le modèle dit de nucléation-croissance[42] présenté dans le chapitre I.2.1) ont un temps de croissance plus court, durant lequel moins de macromolécules peuvent s'adsorber leur surface. Les nanoparticules finales sont donc de taille plus faible. Ces deux scénarios ne sont valables qu'en présence de SDS.

III.2.2.5. Conclusion de l'étude par plan d'expériences

Le plan d'expériences que nous avons réalisé nous permet d'optimiser le procédé de nanoprécipitation du PHU avec le DMSO comme solvant du PHU : le PDI le plus faible est obtenu lorsque la concentration en PHU est élevée (5 g/l), le volume d'eau faible (50 ml) et la concentration en SDS élevée (25,0 mmol/l), ce qui correspond à l'essai d6 (PDI = 0,10). La taille de particule la plus faible est obtenue lorsque la concentration en PHU est faible (1 g/l), le volume d'eau faible (50 ml) et la concentration en SDS élevée (25,0 mmol/l), ce qui correspond à l'essai d5 (z-ave = 55 nm). Les résultats de l'analyse des coefficients pour la réponse en taille et les surfaces iso-réponse pour la réponse en taille sont cohérents.

La présence de SDS assure la stabilité des nanoparticules à condition que l'excès de SDS par rapport à la CMC soit suffisamment faible. La proposition formulée par plusieurs auteurs selon laquelle plus la quantité de tensioactif est élevée, mieux les nanoparticules sont stabilisées[69, 70] est fausse dans le cas présent. La quantité de SDS optimale est définie en fonction du volume d'eau et de la concentration en SDS, ces deux paramètres ont donc un effet d'interactions déterminant sur le PDI (b_{23} = 0,07) et la taille des particules (b_{23} = 18 nm). A volume d'eau et concentration en SDS fixés, la concentration en PHU conditionne la valeur de la surface totale déployée par les nanoparticules et donc la quantité de SDS susceptible de s'adsorber à la surface de ces nanoparticules (n_0). Il est donc possible de réduire la quantité de micelles formées en augmentant la concentration en PHU, ce qui a pour effet de diminuer le risque de déstabilisation des nanosuspensions.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Les nanosuspensions préparées lors de ce plan d'expériences sont des systèmes colloïdaux dont la stabilité peut varier avec le temps. Nous avons donc étudié la stabilité des échantillons au cours du temps à température ambiante.

III.2.3. Etude du vieillissement des nanosuspensions

Les échantillons, stockés à température ambiante, ont été analysés en DLS après 17, 27, 47 et 214 jours (tableau 14). Les échantillons dA, dB et dC, correspondant aux points situés au centre du cube, sont stables jusqu'à 214 jours après leur préparation avec un PDI compris entre 0,11 et 0,14. L'échantillon d6 ([PHU] = 5 g/l ; V_{eau} = 50 ml, [SDS] = 25,0 mmol/l) reste stable malgré une légère augmentation du PDI (de 0,10 à 0,13) et du z-average (de 88 à 113 nm) au cours des 17 premiers jours de vieillissement.

Ces quatre échantillons sont caractérisés par leur valeur de PDI initial faible. La valeur du PDI initial des nanoparticules s'avère être le critère majeur de stabilité. La déstabilisation des particules est moins probable lorsque la suspension est monodisperse. En effet, de manière générale, plus la distribution de taille d'un échantillon est étroite, plus la barrière énergétique à dépasser pour permettre leur contact est élevée[36, 40]. D'autre part ; les quatre échantillons ont été préparés en présence de SDS. Ce tensioactif participe à la stabilité des échantillons car il génère une barrière électrostatique à la surface des nanoparticules qui empêche les phénomènes d'agrégation ou de coalescence[28].

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Essai	[PHU] (g/l)	V_{eau} (ml)	[SDS] (mmol/l)	d (nm)	±	PDI	±	d (nm)	±	PDI	±	d (nm)	±	PDI	±	d (nm)	±	PDI	±	d (nm)	±	PDI	±
Age (jours)				0				17				27				47				214			
Echantillons correspondant aux essais du centre du cube																							
dA	3	100	12,5	102	1	0,12	0,02	97	0	0,12	0,02	97	1	0,11	0,01	98	1	0,13	0,00	97	0	0,14	0,01
dB	3	100	12,5	86	1	0,13	0,01	80	1	0,12	0,01	81	1	0,12	0,02	80	0	0,12	0,01	82	1	0,14	0,01
dC	3	100	12,5	93	1	0,13	0,02	85	0	0,13	0,01	85	0	0,13	0,01	86	0	0,12	0,01	87	0	0,13	0,01
Echantillon avec le PDI minimal																							
d6	5	50	25	88	1	0,10	0,01	113	1	0,13	0,02	111	3	0,14	0,07	106	1	0,13	0,02	103	0	0,16	0,01
Echantillon avec la taille minimale																							
d5	1	50	25	55	1	0,15	0,01	59	10	0,14	0,01	60	0	0,15	0,01	**77**	**4**	**0,22**	**0,01**	**104**	**46**	**0,91**	**0,10**
Echantillon avec un excès de tensioactif																							
d7	1	150	25	**179**	**25**	**0,52**	**0,14**	**152**	**15**	**0,35**	**0,05**	**105**	**32**	**0,48**	**0,32**	**113**	**8**	**0,19**	**0,04**	**136**	**76**	**0,27**	**0,10**
d8	5	150	25	81	0	0,2	0,01	**85**	**10**	**0,89**	**0,12**	**115**	**9**	**0,99**	**0,02**	**100**	**12**	**0,60**	**0,20**	**81**	**25**	**0,39**	**0,14**
Echantillons sans tensioactif																							
d1	1	50	0	**103**	**3**	**0,28**	**0,01**	**105**	**5**	**0,23**	**0,01**	94	2	0,18	0,01	119	0	0,05	0,05	**262**	**65**	**1,00**	**0**
d2	5	50	0	**110**	**4**	**0,27**	**0,01**	97	0	0,17	0,02	99	1	0,17	0,01	117	0	0,06	0,02	**227**	**23**	**0,75**	**0,13**
d3	1	150	0	87	0	0,15	0,01	**602**	44	**0,29**	0,04	**160**	**41**	**1,00**	**0,00**	**183**	**26**	**0,87**	**0,23**	**298**	**35**	**1,00**	**0**
d4	5	150	0	**101**	**3**	**0,26**	**0,01**	90	0	0,12	0,01	144	1	0,04	0,01	427	2	0,03	0,01	**259**	**60**	**0,99**	**0,03**

Tableau 14. PDI et taille des particules (et écart-types) des échantillons au cours du temps (en gras les distributions polydisperses, en souligné les distributions multimodales – les valeurs des tailles affichées correspondent alors au diamètre moyen des nanoparticules).

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Les échantillons d7 ([PHU] = 1 g/l ; V_{eau} = 150 ml, [SDS] = 25,0 mmol/l) et d8 ([PHU] = 5 g/l ; V_{eau} = 150 ml, [SDS] = 25,0 mmol/l) sont déstabilisés à t = 0 et t = 17 jours respectivement. Pour ces deux échantillons, la quantité de SDS disponible pour former des micelles ($n - (n_0 + n_{cmc})$) est supérieure à la quantité de SDS au-dessus de laquelle la première micelle de SDS peut se former (n_{cmc}) (voir tableau 12). La concentration élevée en SDS dans ces échantillons permet la formation de nombreuses micelles. Ces micelles déstabilisent les nanosuspensions en appliquant des forces de déplétion aux nanoparticules.

La déstabilisation de la nanosuspension d8 apparaît plusieurs jours après celle de la nanosuspension d7 car pour cet échantillon, la concentration en PHU plus élevée induit une surface totale développée par les nanoparticules plus élevée (voir tableau 13) et donc une plus faible intensité des forces de déplétions.

Une surface de nanoparticules plus élevée est à couvrir par la même quantité de molécules de SDS, ce qui implique qu'un nombre plus faible de micelles de SDS se forme dans l'échantillon d8.

En absence de SDS (essais d1 à d4), la taille des nanoparticules et/ou le PDI de ces échantillons fluctuent grandement dès le début du vieillissement et toutes les nanosuspensions sont déstabilisées et agrégées (PDI > 0,7) après 214 jours. L'agrégation des particules est évidente dès le 17ème jour pour l'essai d3. Le PDI des essais d1, d2 et d4 diminue entre t = 0 et t = 47 jours, atteignant une valeur anormalement faible à t = 47 jours (entre 0,03 et 0,06, la limite de détection en PDI étant de 0,05). De plus, la taille des particules de l'essai d4 augmente fortement au-delà du 17ème jour (passant de 90 à 427 nm). Les phénomènes d'agrégation, de coalescence, de gonflement et de déplétion sont permis car les nanoparticules ne sont pas protégées par un tensioactif. Nous ne pouvons pas décrire clairement l'influence de la concentration en PHU ou du volume d'eau sur l'occurrence de ces phénomènes.

La nanosuspension de l'essai d5 ([PHU] = 1 g/l ; V_{eau} = 50 ml, [SDS] = 25,0 mmol/l), dont la taille à t = 0 est minimale (55 nm), affiche une réponse stable en PDI et en taille au moins jusqu'au 27ème jour. Une hausse du PDI (0,22) au 47ème jour traduit le début de l'agrégation de la nanosuspension, marquée par la présence d'un pic autour de 5 µm sur la distribution de tailles (figure 23). A 214 jours, l'agrégation a continué et un PDI de 0,91 est mesuré.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

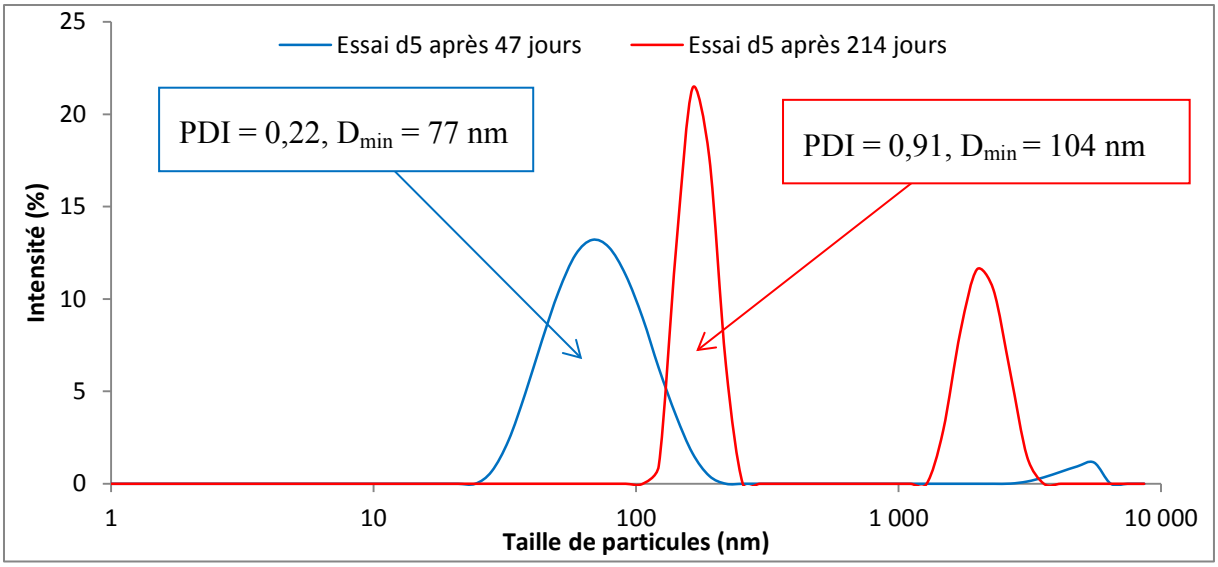


Figure 23. Distributions de taille des nanoparticules obtenues lors de l'essai d5 ([PHU] = 1 g/l, V_{eau} = 50 ml, [SDS] = 25,0 mmol/L) après 47 jours (bleu) et 214 jours (rouge).

La quantité de SDS disponible pour former des micelles est à peu près la même pour les essais d5 ($4{,}5\times10^{-4}$ mol) et d6 ($4{,}2\times10^{-4}$ mol). Cependant, la surface totale des nanoparticules est plus importante pour l'échantillon d6 (A_{tot} = 6,1 m²) que pour l'échantillon d5 (A_{tot} = 1,9 m²) pour lequel la concentration en PHU est moins élevée. Ceci peut expliquer que l'échantillon d5 soit déstabilisé après 214 jours tandis que le PDI et la taille de l'échantillon d6 restent stables.

L'évolution de la taille de l'échantillon d5 dans le temps montre une nouvelle fois qu'un PDI faible est le critère le plus important pour assurer la stabilité d'une nanosuspension dans le temps. D'autre part, elle indique aussi qu'une taille de nanoparticule faible ne garantit pas la stabilité de l'échantillon.

III.1.4. Observations en cryo-MET

Ce paragraphe présente les principales observations microscopiques à transmission en mode cryo effectuées sur les nanoparticules de PHU préparées au cours du plan d'expériences. Cette méthode de caractérisation permet de déterminer la taille et éventuellement la morphologie des nanoparticules en limitant la dégradation des objets causée par le faisceau d'électrons[68, 69]. La cryo-microscopie permet de réduire d'un facteur 3 à 10 les dommages causés par les électrons en MET classique[68]. D'autre part, la présence de DMSO dans les nanoparticules rend difficile leur observation en MET, ce qui n'est pas le cas en mode cryo.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

III.1.4.1. Matériel et méthodes

Le microscope électronique à transmission utilisé est le modèle CM 120 de la marque Philips. Les observations ont été réalisées en mode « low dose scanning » sous pression réduite. Pour chaque échantillon observé, une goutte de 5 µl de la nanosuspension est déposée sur une grille de cuivre couverte d'un film de carbone percé (Quantifoil, EMS). L'excès d'échantillon est épongé durant une seconde à l'aide d'un papier filtre (Whatman, n° 1) afin de laisser une couche mince de liquide sur la grille. Après une seconde, la grille est plongée dans de l'éthane liquide à -178°C. Afin d'atteindre cette température de consigne, l'éthane est refroidi avec de l'azote liquide et réchauffé avec de l'azote gazeux dans une station automatique de congélation (Cryo Plunge). L'échantillon vitrifié est inséré dans un étui (Gatan) refroidi à l'azote liquide. L'étui est introduit dans la colonne de vide du MET maintenue à la température de l'azote liquide. Le voltage est fixé à 120 kV pour les observations. Les temps d'épongeage et d'attente avant vitrification (une seconde tous les deux) ont été sélectionnés de manière à obtenir une couche d'échantillon vitrifiée d'épaisseur optimale et à éviter la formation de trop de givre.

III.1.4.2. Images cryo-MET

Les échantillons dB (0, 0, 0) (point au centre), d6 (+1, -1, +1) (PDI minimal), d4 (+1, +1, -1) (échantillon sans tensioactif) et d8 (+1, +1, +1) (excès de tensioactif) ont été observés en cryo-MET 55, 57, 38 et 57 jours après leur préparation respectivement (figures 24 à 27).

Sur ces images, les cercles clairs correspondent aux trous dans le film de carbone et les zones sombres au carbone lui-même. Les petites taches sphériques grises et peu contrastées dans et hors des trous correspondent aux nanoparticules. Les taches sphériques beaucoup plus contrastées et parfois agencées en grappes (présentes par exemple sur la figure 26) correspondent au givre formé lors de la préparation des échantillons. Il y a peu de nanoparticules sur les différentes images car le volume de la goutte déposée sur la grille de cuivre est très faible (0,45 µl) et la concentration en PHU dans la dispersion finale est elle aussi très faible (de 0,14 à 1,67 g/l).

Les nanoparticules de l'essai dB (figure 24) mesurent entre 50 et 75 nm. Elles sont sphériques et de tailles similaires. Ces observations en cryo-TEM sont assez proches des mesures en DLS (z-ave = 80 nm, PDI = 0,12 après 47 jours).

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

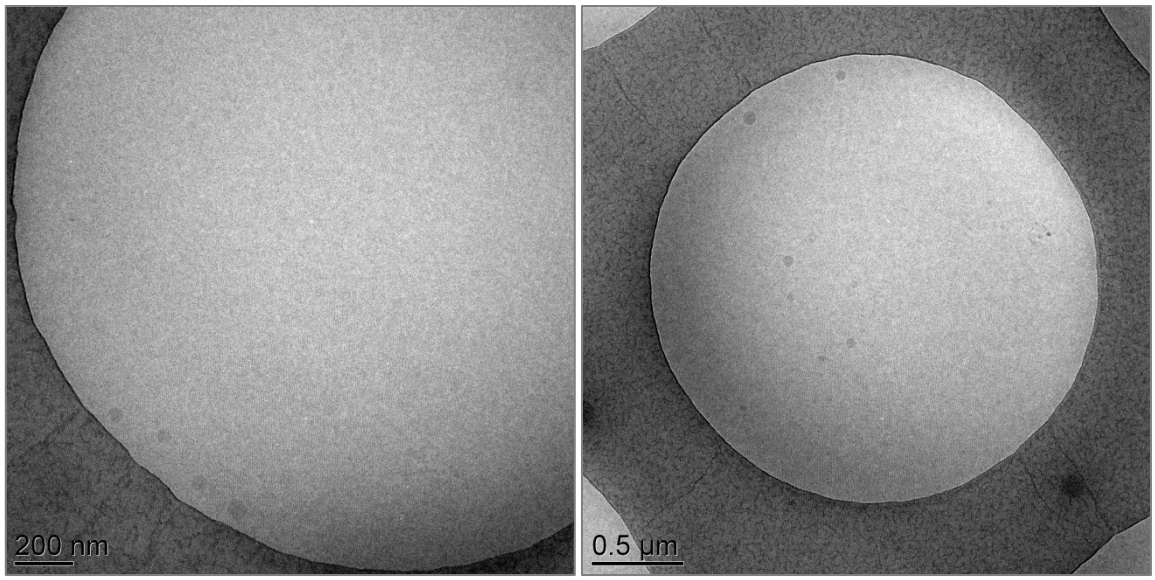


Figure 24. Observation cryo-MET de l'échantillon dB ([PHU] = 3 g/l ; V_{eau} = 100 ml ; [SDS] = 12,5 mmol/l) après 55 jours.

La taille des nanoparticules de l'échantillon d6 est comprise entre 30 et 100 nm (figure 25). Ces observations sont en accord avec les analyses en DLS (après 47 jours le PDI est de 0,13 et le Z-average de 106 nm).

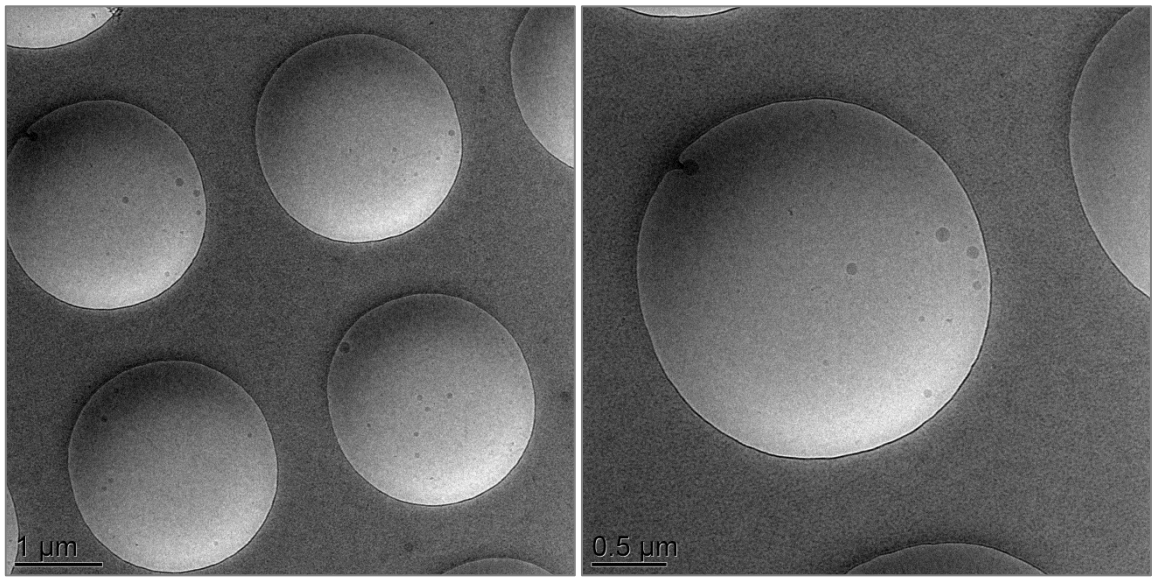


Figure 25. Observation cryo-MET de l'échantillon d6 ([PHU] = 5 g/l ; V_{eau} = 50 ml ; [SDS] = 25,0 mmol/l) après 57 jours.

La plupart des nanoparticules de l'échantillon d4 mesurent entre 200 et 300 nm. Une particule présente sur la figure 26.a mesure 1 µm de diamètre tandis qu'une autre sur la figure 26.b mesure 400 nm (cercles rouges). Ces objets ont un contour moins net que les particules de plus petite taille. Il est possible que ces nanoparticules soient gonflées par du DMSO. Lors de

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

l'étude du vieillissement, le suivi par DLS de cet échantillon initialement polydisperse (PDI = 0,26) avait montré une augmentation de la taille (de 90 nm à 427 nm) et une diminution du PDI (de 0,26 à 0,03).

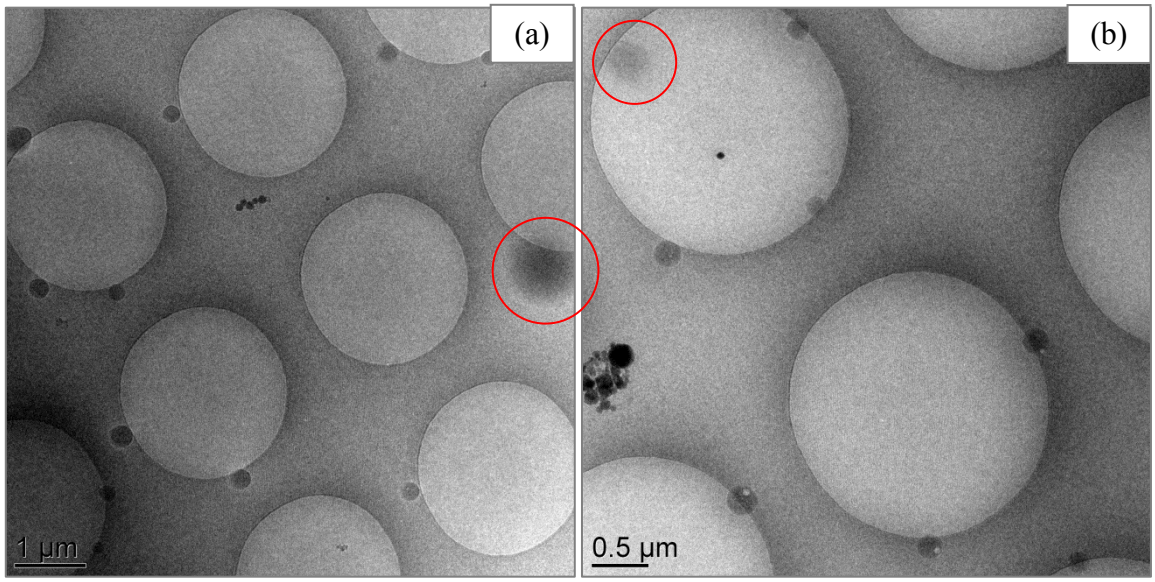


Figure 26. Observation cryo-MET de l'échantillon d4 ([PHU] = 5 g/l ; V_{eau} = 150 ml ; [SDS] = 0 mmol/l) après 38 jours.

La taille des nanoparticules de l'essai d8 varient entre 60 et 80 nm (figure 27.a). Les nanoparticules sont regroupées en une tache sombre de presque 2 µm de diamètre. Ces tailles de particules sont similaires aux tailles mesurées en DLS après 47 jours : PDI = 0,60, D_{min} = 100 nm. La figure 27.b, montre la présence d'agrégats de 200 à 700 nm de diamètre. Les deux images confirment l'agrégation des nanoparticules lorsque l'échantillon contient un nombre important de micelles de SDS (et donc à [SDS] élevée).

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

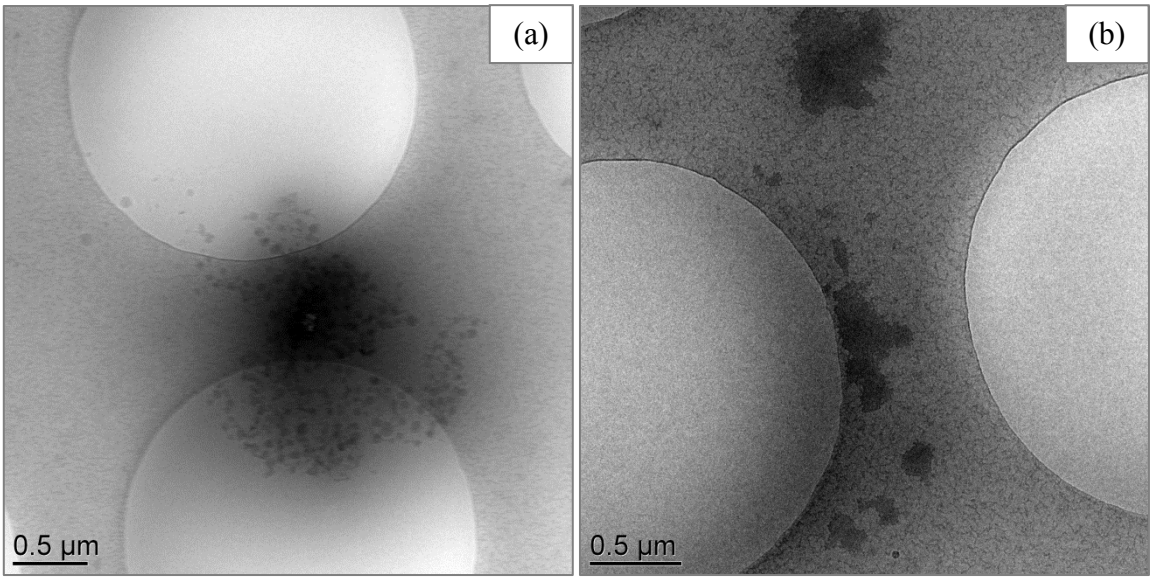


Figure 27. Observation cryo-MET de l'essai d8 ([PHU] = 5 g/l ; V_{eau} = 150 ml ; [SDS] = 25,0 mmol/l) après 57 jours.

Malgré les précautions prises pour préserver les nanoparticules du faisceau d'électrons (méthode cryo-MET, voltage fixé à 120 kV et lentilles condenseur ajustées au spot n° 5 de manière à réduire l'intensité et le diamètre du faisceau d'électrons), nous avons observé la dégradation de nanoparticules en zoomant sur certaines régions des échantillons d4 et d6 (figure 28). Cette dégradation se traduit par un blanchissement progressif des nanoparticules.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

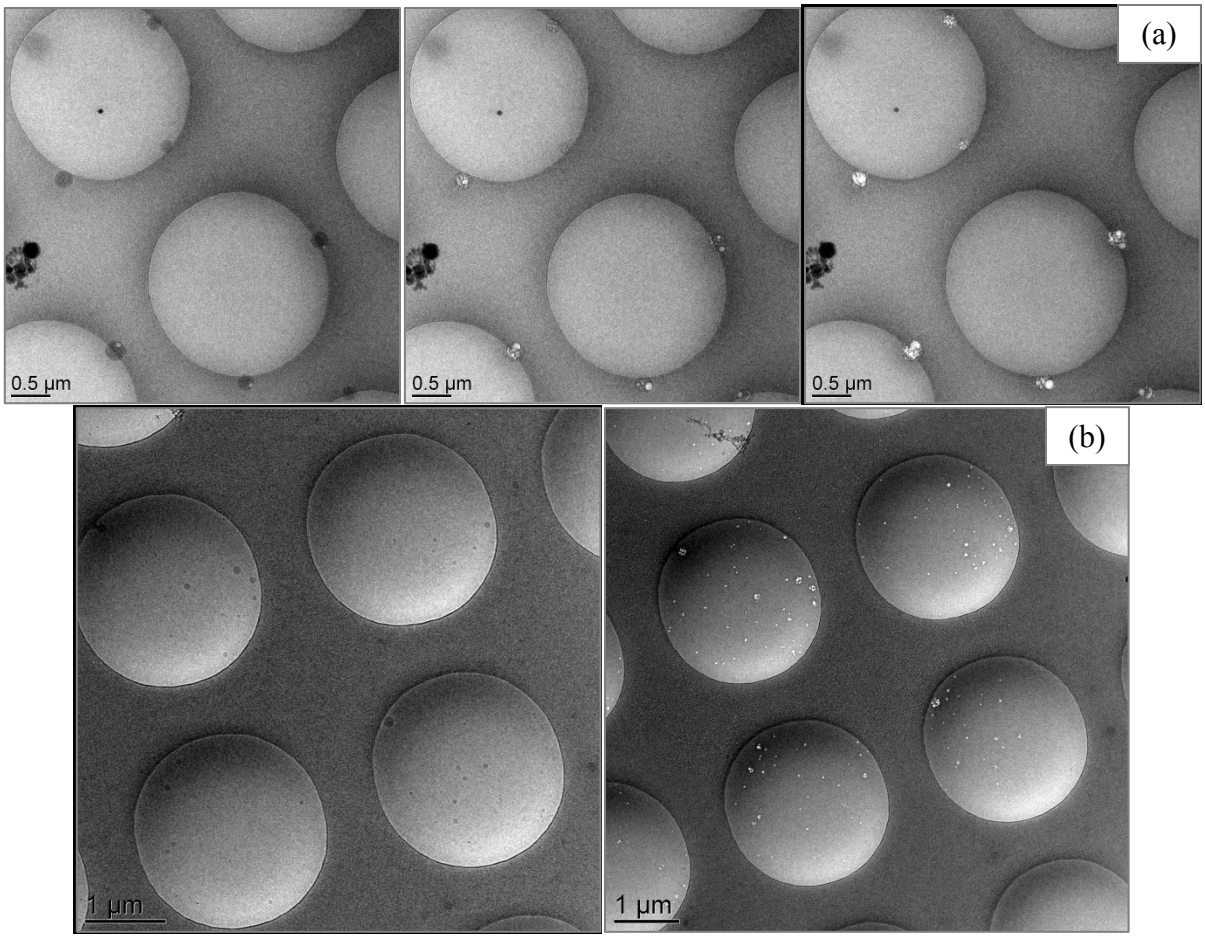


Figure 28. Dégradation en quelques secondes des nanoparticules de PHU sous l'effet du faisceau d'électrons : essai d4 après 38 jours (a) ; essai d6 après 57 jours (b).

Diverses études décrivent les phénomènes de dégradation de polymère provoquées par le faisceau d'électrons, tels que les scissions de chaînes ou la réticulation[70] et les modifications des propriétés physico-chimiques du polymère[71]. Dans le cas des nanoparticules de PHU, il est probable que l'apport d'énergie transférée par les électrons entraîne la rupture des liaisons hydrogène intra- et intermoléculaires, et altère la cohésion entre les macromolécules présentes dans chaque particule.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

III.2. Nanoprécipitation du PHU à partir d'une solution de THF

Le PHU est soluble dans le THF à température ambiante. Aussi, nous avons appliqué le protocole de nanoprécipitation (chapitre II et III.2.1.4) en remplaçant le DMSO par du THF. Le THF présente un avantage par rapport au DMSO : il est volatil (T_{eb} = 66°C) et peut être éliminé par évaporation sous hotte[40, 50, 72, 73]. Avec le THF, il est donc possible d'obtenir des nanoparticules de PHU dispersées dans l'eau.

Dans les paragraphes III.1.2.2 et III.1.3, la comparaison des viscosités intrinsèques et des paramètres de Huggins du PHU dans le DMSO et dans le THF (à 25°C) et des paramètres de Flory (moins précise car basée sur un calcul) pour les couples (PHU, DMSO) et (PHU, THF) laissait supposer que les tailles de particules de PHU devaient être plus élevées avec le DMSO. La comparaison des paramètres d'interaction DMSO-eau et THF-eau conduisait à l'hypothèse inverse. Les résultats de nanoprécipitation du PHU dans le THF devraient permettre de définir quelle interaction a un effet prépondérant sur la formation des nanoparticules.

III.2.1. Protocole expérimental

Le protocole expérimental de nanoprécipitation du PHU solubilisé dans du THF est similaire à celui que nous avons suivi avec le DMSO. Cependant, la seringue utilisée ici est en verre (B. Braun, 50 ml). Le PHU est solubilisé dans 25 ml de THF (sans inhibiteur, grade HPLC, 99 %, Sigma-Aldrich) dans un flacon fermé, pendant une nuit à température ambiante. Après analyse en DLS, 50 ml de la nanosuspension sont prélevés et versés dans un Vial en verre de 100 ml. Le Vial est laissé sans bouchon sous une hotte aspirante durant 48 heures pour permettre l'évaporation du THF. Cette méthode d'élimination du solvant organique du milieu de dispersion des nanoparticules est couramment utilisée pour le THF[40, 50, 72, 73] bien que l'évaporation à l'aide d'un évaporateur rotatif[2], par bullage d'azote gazeux[74] ou par évaporation flash[75] puissent être aussi utilisées. L'efficacité de la méthode d'élimination du THF a été vérifiée par HPLC (voir annexe III.4.3). Le numéro de chaque échantillon est précédé de la lettre t qui se rapporte au THF utilisé comme solvant organique.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

III.2.2. Nanoprécipitation dans le THF

III.2.2.1. Expériences et résultats

Nous avons réalisé dix expériences de nanoprécipitation avec le THF en appliquant les mêmes conditions expérimentales que dans le plan d'expériences réalisé avec le DMSO (tableau 15). Les mesures en DLS ont été effectuées sur les nanosuspensions obtenues avant et après évaporation du THF (sous hotte pendant 48h), le jour de la préparation et 21 jours plus tard.

Essai	[PHU] (g/l)	V_{eau} (ml)	[SDS] (mM)	DMSO		THF (t = 0)				THF (t = 21 jours)			
						Avant évaporation		Après évaporation		Sans évaporation		Avec évaporation	
				PDI	d (nm)	PDI	d (nm)	PDI	d (nm)	PDI	d (nm)	PDI	d (nm)
Echantillons sans tensioactif													
d1, t1	1	50	0	**0,28**	**103**	0,05	142	**0,28**	**157**	0,02	108	**0,32**	**158**
d2, t2	5	50	0	**0,27**	**110**	0,06	126	**0,30**	**173**	**0,95**	**91**	**0,24**	**116**
d3, t3	1	150	0	0,15	87	**0,72**	**1442**	**0,26**	**132**	**0,37**	**131**	0,10	195
d4, t4	5	150	0	**0,26**	**101**	0,14	86	**0,34**	**154**	**0,96**	**159**	0,08	219
Echantillons contenant du SDS													
d5, t5	1	50	25	0,15	55	0,01	142	**0,87**	**71**	0,12	110	**0,64**	**134**
d6, t6	5	50	25	0,10	88	0,13	199	**0,31**	**326**	0,07	235	**0,39**	**304**
d7, t7	1	150	25	**0,52**	**179**	0,13	92	**0,76**	**73**	0,14	74	**0,46**	**176**
d8, t8	5	150	25	0,20	81	0,13	139	**0,93**	**79**	0,13	110	**0,95**	**154**
dA, tA	3	100	12,5	0,12	102	0,10	164	**0,81**	**87**	0,10	130	**0,71**	**177**
dB, tB	3	100	12,5	0,13	86	0,10	146	**0,94**	**82**	0,12	111	**0,85**	**154**
dC	3	100	12,5	0,13	93								
dD	3	100	12,5	0,13	93								

Tableau 15. Taille des particules et PDI obtenues par nanoprécipitation du PHU à partir du DMSO et du THF (les distributions polydisperses sont en gras, les distributions multimodales en souligné).

Afin de vérifier ou non la répétabilité de la nanoprécipitation du PHU dans le THF comme solvant organique, les essais t3, t4, t5 et t7 ont été répétés (tableau 16).

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Essai	[PHU] (g/l)	V_{eau} (ml)	[SDS] (mM)	t = 0				t = 21 jours			
				Avant évaporation		Après évaporation		Sans évaporation		Avec évaporation	
				PDI	d (nm)	PDI	d (nm)	PDI	d (nm)	PDI	d (nm)
Echantillons sans tensioactif											
t3	1	150	0	**0,72**	**1442**	**0,26**	**132**	**0,37**	**131**	0,10	195
t3'				**0,42**	**732**	0,07	147	**1,00**	**171**	Floculation	
t4	5	150	0	0,14	86	**0,34**	**154**	**0,96**	**159**	0,08	219
t4'				0,13	163	**0,24**	**160**	0,15	154	**1,00**	**112**
Echantillons contenant du SDS											
t5	1	50	25	0,01	142	**0,87**	**71**	0,12	110	**0,64**	**134**
t5'				0,09	155	**0,35**	**139**	**0,22**	**106**	**0,74**	**119**
t7	1	150	25	0,13	92	**0,76**	**73**	0,14	74	**0,46**	**176**
t7'				0,11	105	**0,83**	**200**	0,12	86	**0,85**	**130**

Tableau 16. Répétition de certains essais réalisés avec du THF (en gras les distributions polydisperses, en souligné les distributions multimodales).

Les résultats des mesures en DLS montrent que la nanoprécipitation du PHU à partir du THF dans ces conditions n'est pas répétable. En effet, les résultats diffèrent d'un échantillon à l'autre, notamment sans évaporation pour les t4 et t5 après 21 jours, et avec évaporation pour les essais t3 à t = 0 et pour les essais t3 et t4 à t = 21 jours. En particulier, les essais t3 et t4 qui apparaissent comme stables après évaporation du THF et après 21 jours (tableau 15) ne sont pas répétables.

Il s'avère que les conditions expérimentales permettant d'obtenir les valeurs du PDI et de la taille de particules minimales dans le cas du DMSO (essai d6 : PDI = 0,10, [PHU] = 5 g/l, V_{eau} = 50 ml, [SDS] = 25 mmol/l ; essai d5 : z-ave = 55 nm, [PHU] = 1 g/l, V_{eau} = 50 ml, [SDS] = 25 mmol/l) ne prévalent pas dans le cas du THF. Les échantillons préparés avec du THF ont un PDI plus faible que leurs homologues préparés avec du DMSO, mis à part t3 (PDI = 0,72) et t6 (PDI = 0,13). Les distributions de taille des échantillons préparés avec du THF sont unimodales, mise à part celle de t3.

Les échantillons préparés avec du THF ont une taille de particules plus élevée que leurs homologues préparés avec du DMSO, mis à part t4 et t7. Il semble donc que le mécanisme de formation des nanoparticules soit régi davantage par les interactions solvant-eau (III.1.3) que par les interactions polymère-solvant (III.1.3) et la viscosité de la phase organique (III.1.2).

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Les distributions de taille des échantillons contenant du SDS mesurées 21 jours après leur préparation restent unimodales et monodisperses. La taille de particules de l'échantillon t6 augmente dans le temps tandis que les tailles de particules des autres échantillons contenant du SDS diminuent. Les distributions de taille des échantillons sans SDS mesurées 21 jours après leur préparation restent unimodales mais deviennent polydisperses.

Après évaporation du THF, toutes les nanosuspensions sont polydisperses. En outre, les distributions de tailles des échantillons contenant du SDS sont multimodales (sauf l'échantillon t5). Elles révèlent la présence de micelles de SDS d'une taille comprise entre 2 et 4 nm et d'agrégats de PHU de plusieurs micromètres de diamètre.

III.2.2.2. Discussions sur l'effet de l'évaporation du THF

- Echantillons contenant du SDS

Avant évaporation du THF, la distribution de taille de particules des échantillons t5, t6, t7, t8, tA et tB est monodisperse et unimodale (exemple avec l'essai t7 : figure 29, courbe en trait plein). Nous supposons que le SDS présent dans ces échantillons est capable de stabiliser les nanoparticules sans s'organiser sous forme de micelles. En effet, dans le paragraphe III.1.1.2, nous avons observé l'absence de CMC du SDS dans des solutions aqueuses contenant 14, 20 ou 33 % volumique de THF. La déstabilisation des nanoparticules causée par les forces de déplétions n'a donc pas lieu.

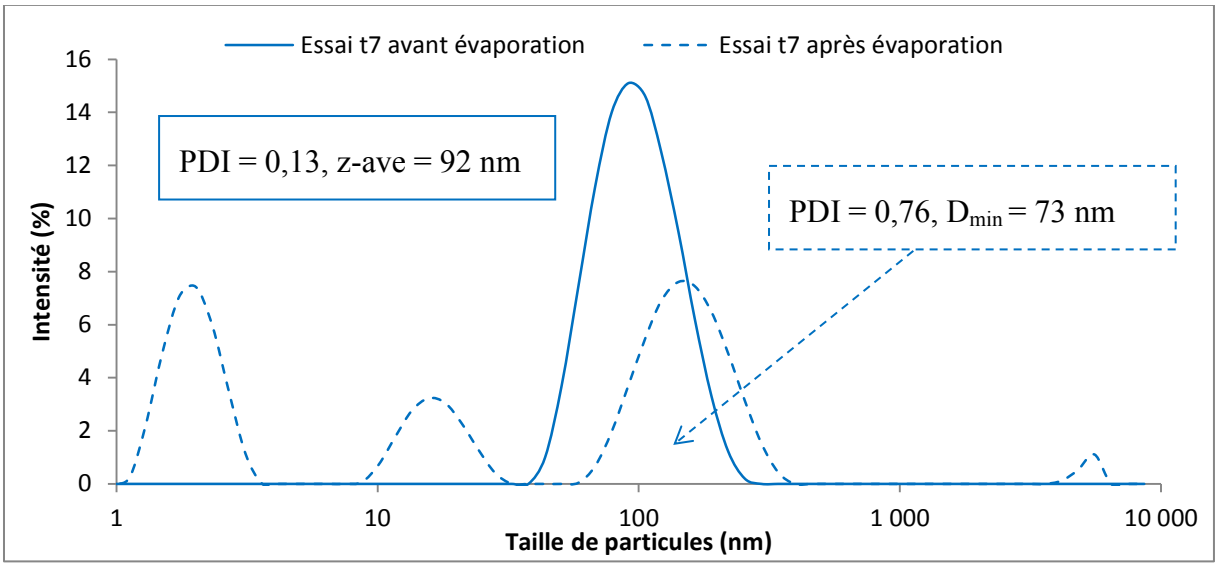


Figure 29. Distributions de taille des nanoparticules préparées lors de l'essai t7 ([PHU] = 5 g/l ; V_{eau} = 150 ml ; [SDS] = 25,0 mmol/l) avant et après évaporation.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Après évaporation du THF, la distribution de taille de particules des échantillons présente un pic autour de 2 – 3 nm (exemple avec l'essai t7 : figure 29, courbe en pointillés) correspondant vraisemblablement à des micelles de SDS.

Les nanoparticules de PHU sont dispersées dans une solution constituée quasiment exclusivement d'eau ([THF] < 0,2 % vol., voir annexe III.4.3.3) dans laquelle la micellisation du SDS est permise. Pour chaque essai, nous avons calculé la surface totale des nanoparticules (A_{tot}), la quantité totale de SDS présent dans la nanosuspension (n), la quantité de SDS susceptible de s'adsorber à la surface des nanoparticules (n_0), la quantité de SDS au-dessus de laquelle la première micelle de SDS peut se former (n_{cmc}) et l'excès de SDS par rapport à la CMC ($n - (n_0 + n_{cmc})$) (tableau 17).

Essai	[PHU]	V_{eau}	[SDS]	d	CMC	A_{tot}	n	n_0	n_{cmc}	$n-(n_0+n_{cmc})$	$\frac{n - (n_0 + n_{CMC})}{n_{CMC}}$
	g/l	ml	mmol/l	nm	mmol/l	m²	mol	mol	mol	mol	
t5	1	50	25,0	71	6,0	0,87	1,25E-03	7,86E-06	3,00E-04	9,42E-04	3,14
t6	5	50	25,0	326	6,0	0,31	1,25E-03	8,56E-06	3,00E-04	9,41E-04	3,14
t7	1	150	25,0	73	6,0	0,76	3,75E-03	7,65E-06	9,00E-04	2,84E-03	3,16
t8	5	150	25,0	79	6,0	0,93	3,75E-03	3,53E-05	9,00E-04	2,81E-03	3,13
tA	3	100	12,5	87	6,0	0,81	1,25E-03	1,93E-05	6,00E-04	6,31E-04	1,05
tB	3	100	12,5	82	6,0	0,94	1,25E-03	2,04E-05	6,00E-04	6,30E-04	1,05

Tableau 17. Valeurs de A_{tot}, n, n_0 et n_{cmc} déterminées pour chaque essai après évaporation du THF.

Pour tous les échantillons, l'excès de SDS par rapport à la CMC est élevé ($(n - (n_0 + n_{cmc})) / n_{cmc} > 1$). D'autre part, la surface totale développée par les nanoparticules est relativement faible (inférieure à 1 m²). Ces calculs permettent de valider l'hypothèse selon laquelle de nombreuses micelles sont présentes dans les échantillons. La population de taille autour de 5 µm (figure 29, courbe en pointillés) correspond à des agrégats de PHU formés sous l'effet de forces de déplétions.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

- Echantillons sans SDS

Les distributions de taille unimodales et polydisperses des échantillons t1 à t4 ne contenant pas de SDS après évaporation du THF suggèrent que les nanoparticules ont été déstabilisées au cours de l'élimination du solvant, soit par agrégation, soit par coalescence. Nous avons analysé les échantillons t3 et t4 42 jours après leur préparation (figures 30 et 31) en microscopie électronique à transmission (MET). La préparation des échantillons est similaire à celle présentée dans le paragraphe III.2.4.1 (observations en cryo-MET) à la différence de l'étape de vitrification de la grille qui n'est pas réalisée ici.

Les deux échantillons présentent des objets sphériques polydisperses. La nette démarcation entre des zones couvertes de nanoparticules et les zones vides caractérise la présence d'un front de solution aqueuse qui n'a pas totalement adhéré à la grille de carbone. Pour l'essai t3 (figure 30), des nanoparticules de 300 à 400 nm peuvent être observées. Certaines nanoparticules présentent une forme non sphérique résultant vraisemblablement de la coalescence de nanoparticules plus petites (en rouge sur la figure). Les particules d'une taille proche de 100 nm sont plus nombreuses. Pour l'essai t4 (figure 31), la plupart des particules mesurent entre 50 et 150 nm. Quelques-unes, présentes principalement au niveau du front de solvant, atteignent 300 à 400 nm.

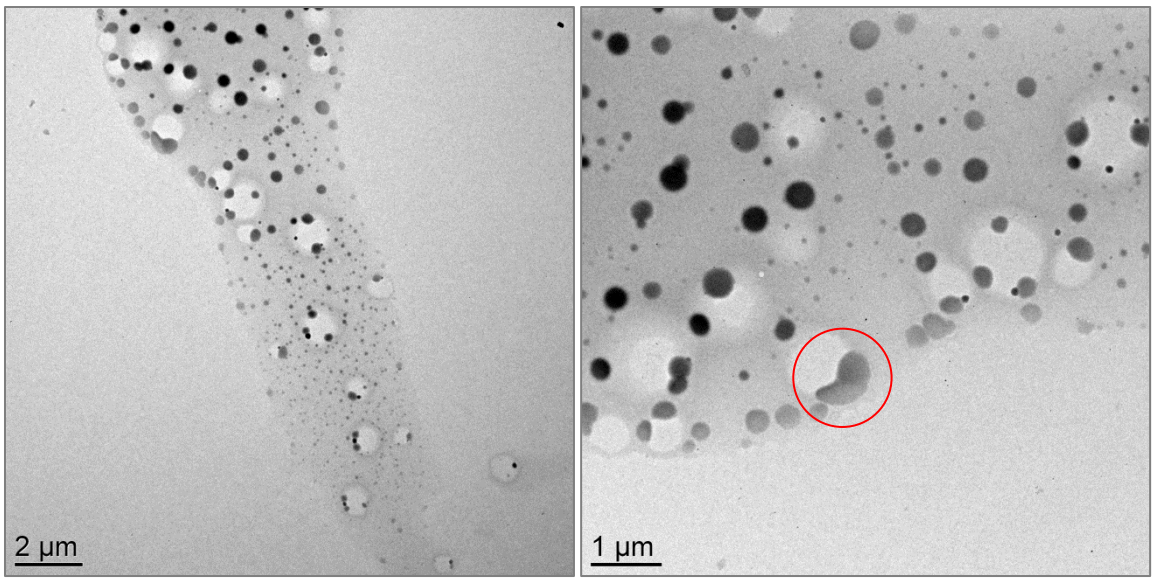


Figure 30. Observation MET de l'échantillon t3 ([PHU] = 1g/l ; V_{eau} = 150 ml ; [SDS] = 0 mmol/l) après évaporation, après 42 jours.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

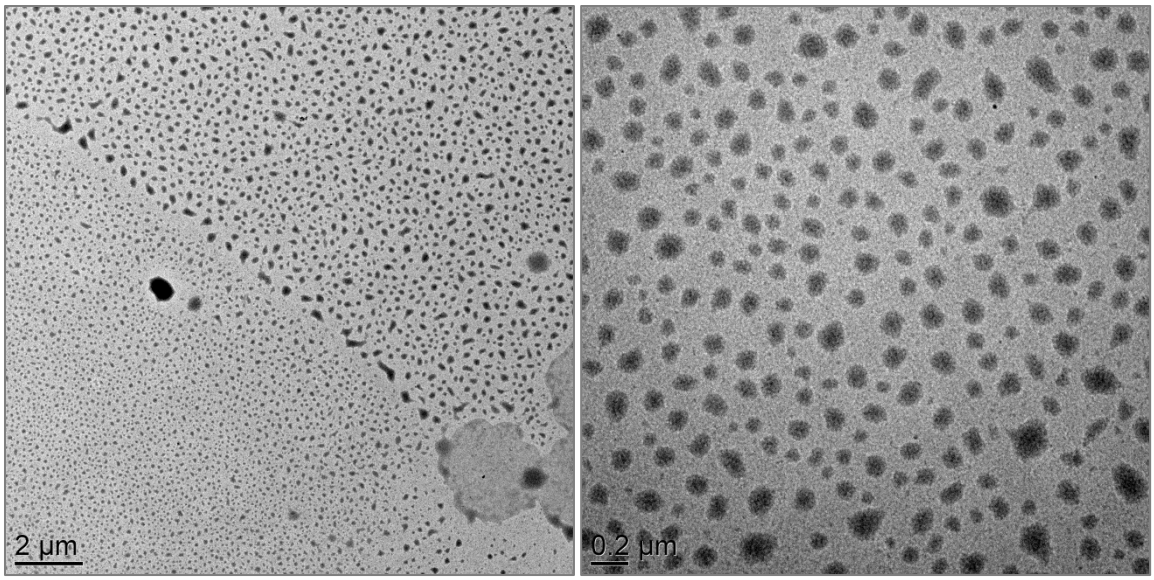


Figure 31. Observation MET de l'échantillon t4 ([PHU] = 5g/l ; V_{eau} = 150 ml ; [SDS] = 0 mmol/l) après évaporation, après 42 jours.

Ces résultats confirment bien que les échantillons préparés sans SDS sont instables à cause de phénomènes de coalescence.

III.2.2.3. Conclusion

Les résultats obtenus par DLS et TEM ont montré que la présence de SDS était nécessaire pour éviter la déstabilisation des nanosuspensions de PHU préparées avec du THF, après évaporation de celui-ci. Cependant, la quantité de SDS ajoutée dans la phase aqueuse doit être ajustée afin d'éviter après évaporation du THF, la formation de micelles qui, lorsqu'elles sont nombreuses, favorisent la déstabilisation des nanosuspensions.

III.2.3. Optimisation du procédé de nanoprécipitation à partir du THF

Notre objectif était de préparer des nanoparticules de PHU de faible taille et PDI par nanoprécipitation en remplaçant le DMSO par du THF tout en gardant le même domaine d'étude que celui que nous avions défini avec le DMSO ([PHU] = 1 – 5 g/l ; V_{eau} = 50 – 150 ml ; [SDS] = 0 – 25,0 mmol/l). Or, il s'avère que ce domaine d'étude n'est pas adapté aux expériences de nanoprécipitation à partir du THF. Il est en effet nécessaire d'ajuster la quantité de SDS ajouté dans la phase aqueuse afin d'éviter la formation de trop nombreuses micelles dans les nanosuspensions après élimination du THF.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

III.2.3.1. Expériences et résultats

Lors de l'optimisation du procédé de nanoprécipitation à partir du THF, nous avons fixé la concentration en PHU à 1 g/l et le volume de THF à 25 ml. Nous avons d'abord réalisé deux essais avec une concentration en SDS de 6,25 mmol/l (valeur proche de la CMC du SDS dans l'eau) : t11, dont le volume d'eau est de 50 ml, et t12, dont le volume d'eau est de 150 ml.

Le PDI et la taille moyenne de particules de ces deux échantillons sont faibles avant et après évaporation du THF (figure 32). Cependant, après évaporation du THF, nous avons pu observer des agrégats de polymère d'un à deux millimètres de diamètre à l'œil nu. Ces agrégats sont trop grands pour être détectés en DLS. Nous avons supposé que la quantité de SDS apportée au système était insuffisante pour permettre la couverture complète des nanoparticules fraîchement formées.

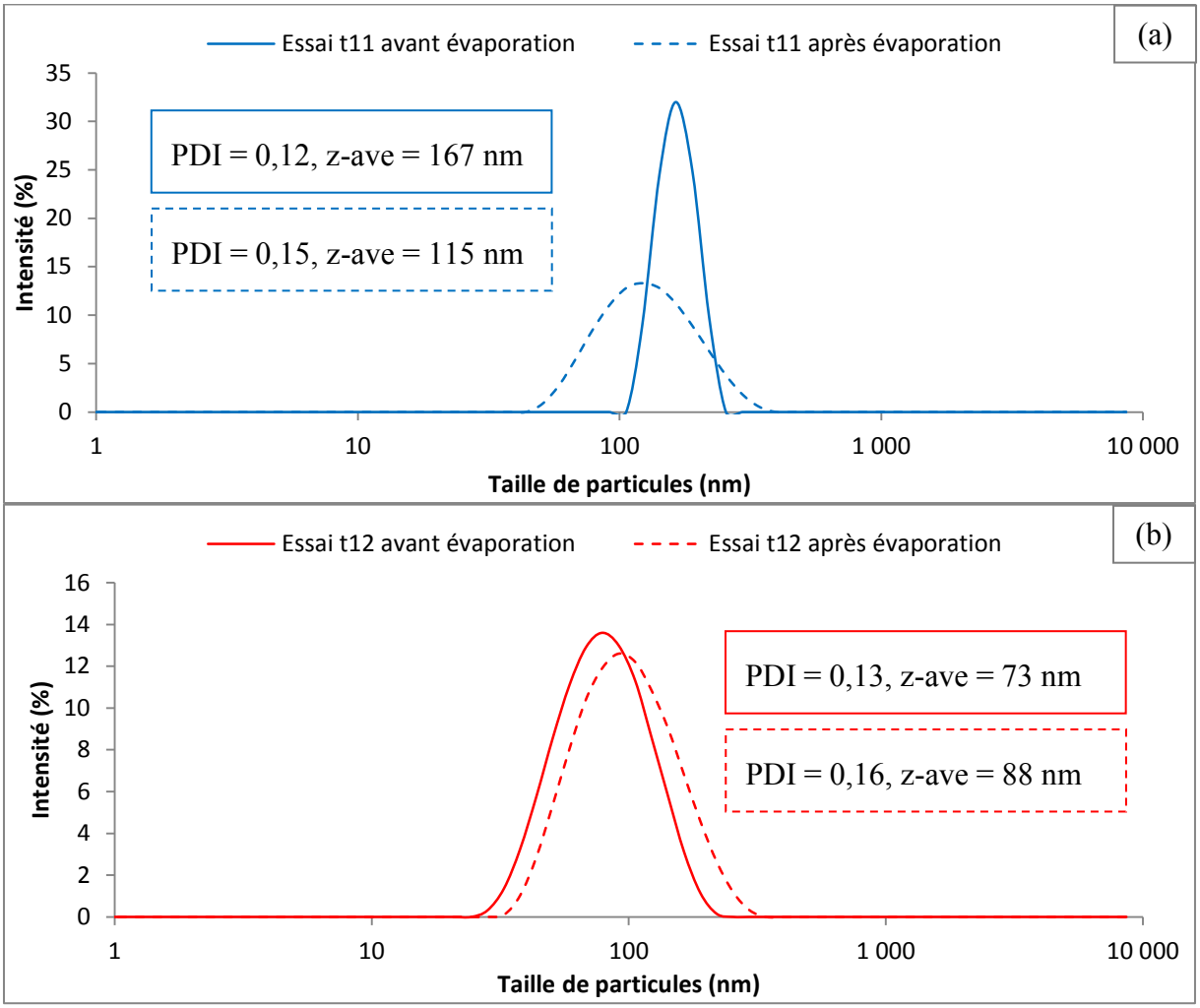
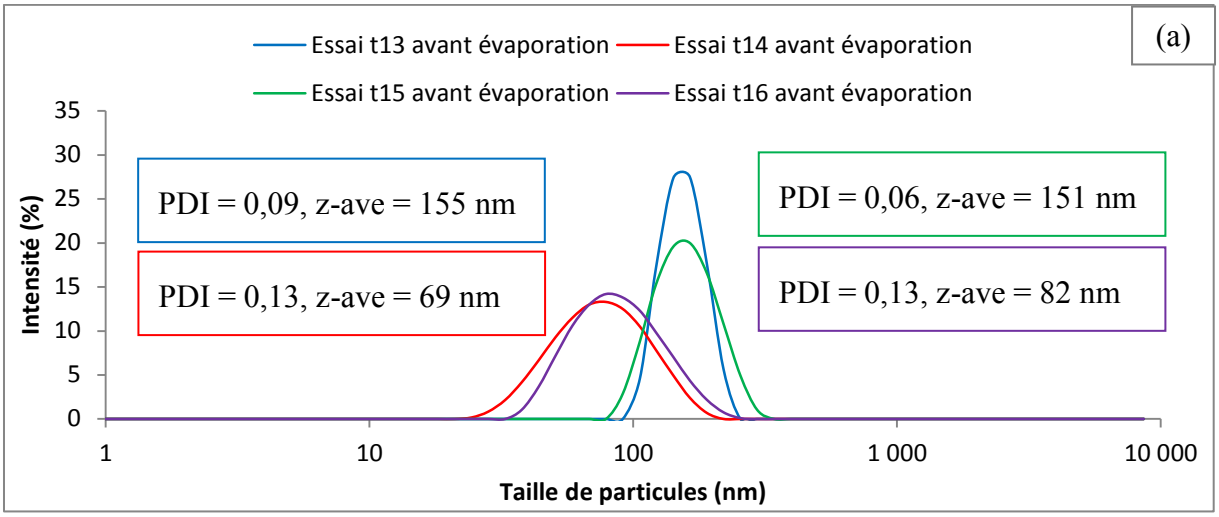


Figure 32. Distributions de taille des nanoparticules obtenues lors des essais t11 (V_{eau} = 50 ml) (a) et t12 (V_{eau} = 150 ml) (b) avant et après évaporation.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Nous avons donc réalisé deux essais avec une concentration en SDS de 8,00 mmol/l : t13, dont le volume d'eau est de 50 ml, et t14, dont le volume d'eau est de 150 ml ; puis deux autres, avec une concentration en SDS de 10,00 mmol/l : t15, dont le volume d'eau est de 50 ml, et t16, dont le volume d'eau est de 150 ml.

Avant évaporation du THF, nous observons qu'une augmentation du volume d'eau induit une diminution de la taille des particules et une augmentation du PDI (figure 33.a). Ceci peut s'expliquer par la diffusion du THF qui est plus rapide lorsque le volume d'eau est plus élevé[49]. Après évaporation du THF, contrairement aux échantillons t11 et t12, les échantillons t13, t14, t15 et t16 sont limpides. Cependant, les distributions de tailles des échantillons t14, t15 et t16 sont multimodales et polydisperses. Elles révèlent la présence de micelles de SDS et d'agrégats de PHU. La distribution de taille de l'échantillon t13 est unimodale et polydisperse (figure 33.b, courbe bleue en pointillés). Les micelles de SDS ne sont pas détectées dans cet échantillon.



Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

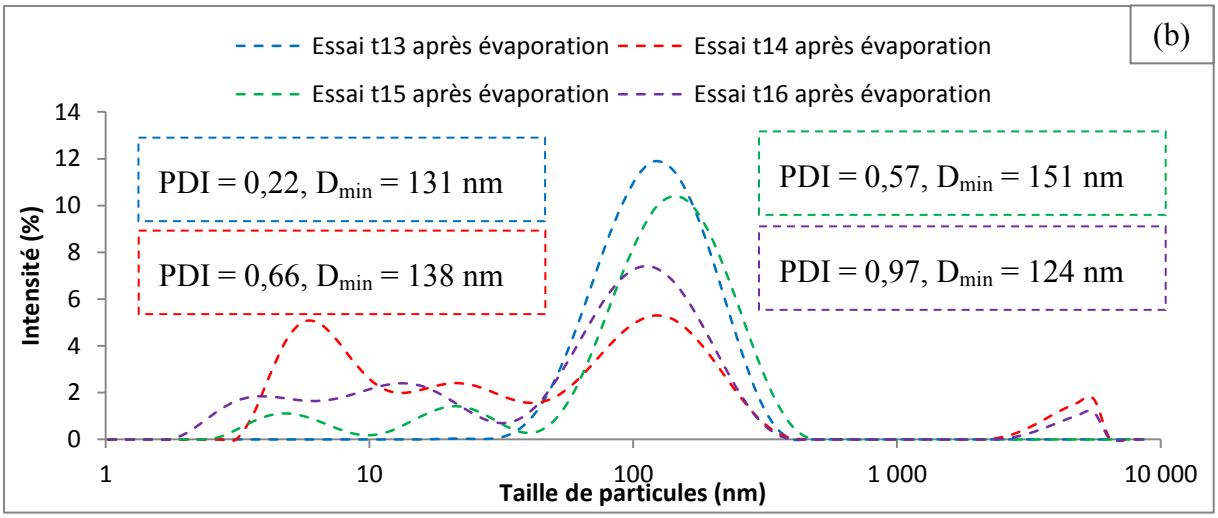


Figure 33. Distributions de taille des nanoparticules obtenues lors des essais t13 ([SDS] = 8,00 mmol/L ; V_{eau} = 50ml), t14 ([SDS] = 8,00 mmol/L ; V_{eau} = 150ml), t15 ([SDS] = 10,00 mmol/L ; V_{eau} = 50ml) et t16 ([SDS] = 8,00 mmol/L ; V_{eau} = 150ml) avant (a) et après (b) évaporation.

Parmi les six échantillons étudiés, le t13 semble se rapprocher le plus des conditions optimales pour obtenir un PDI et une taille de particules faibles après évaporation du THF. Nous avons donc réalisé l'échantillon t17 dans les mêmes conditions que l'échantillon t13 en augmentant la concentration en PHU de 1 à 5 g/l dans le but d'augmenter la surface totale générée par les nanoparticules (A_{tot}) et donc de réduire l'intensité des forces de déplétion des micelles de SDS susceptibles de déstabiliser les nanoparticules de PHU.

Le PDI et la taille moyenne de particules de l'échantillon t17 sont faibles avant et après évaporation du THF (figure 34). L'étape d'évaporation induit une légère diminution de la taille des nanoparticules qui peut être causée par la diffusion du THF résiduel présent dans nanoparticules hors de celles-ci.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

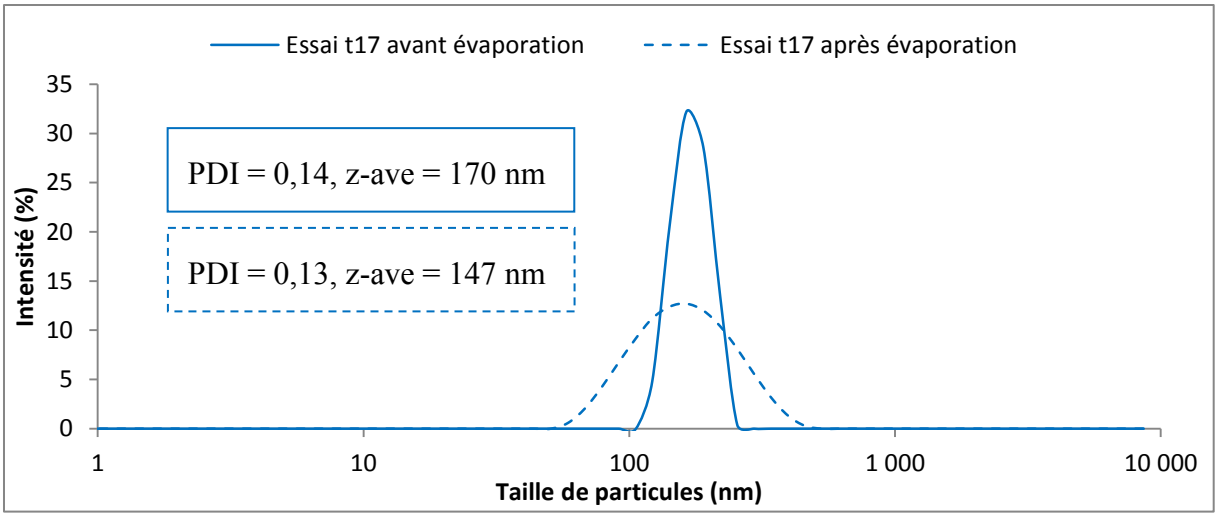


Figure 34. Distributions de taille des nanoparticules obtenues lors de l'essai t17 avant et après évaporation.

III.2.3.2. Discussions

Afin d'expliquer les résultats présentés plus haut, nous avons calculé pour chaque essai la surface totale des nanoparticules (A_{tot}), la quantité totale de SDS présent dans la nanosuspension (n), la quantité de SDS susceptible de s'adsorber à la surface des nanoparticules (n_0), la quantité de SDS au-dessus de laquelle la première micelle de SDS peut se former (n_{cmc}) et l'excès de SDS par rapport à la CMC ($n - (n_0 + n_{cmc})$) (tableau 18). Les calculs ont été effectués pour une CMC égale à 6,0 mM.

Essai	[PHU]	V_{eau}	[SDS]	d	PDI	A_{tot}	n	n_0	n_{cmc}	$n-(n_0+n_{cmc})$	$\frac{n-(n_0+n_{CMC})}{n_{CMC}}$
	g/l	ml	mmol/l	nm		m²	mol	mol	mol	mol	
t11	1	50	6,25	115	0,15	0,93	3,10E-04	4,85E-06	3,00E-04	5,15E-06	0,02
t12	1	150	6,25	88	0,16	1,21	9,30E-04	6,34E-06	9,00E-04	2,37E-05	0,03
t13	1	50	8,0	131	**0,22**	0,82	4,00E-04	4,26E-06	3,00E-04	9,57E-05	0,32
t14	1	150	8,0	138	**0,66**	0,77	1,20E-03	4,05E-06	9,00E-04	2,96E-04	0,33
t15	1	50	10,0	151	**0,57**	0,71	5,00E-04	3,70E-06	3,00E-04	1,96E-04	0,65
t16	1	150	10,0	124	**0,97**	0,86	1,52E-03	4,50E-06	9,00E-04	6,10E-04	0,66
t17	5	50	8,0	147	0,13	3,64	4,00E-04	1,90E-05	3,00E-04	8,10E-05	0,27

Tableau 18. Valeurs de A_{tot}, n, n_0 et n_{cmc} déterminées pour chaque échantillon après évaporation du THF.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Pour tous les échantillons, après évaporation du THF, l'excès de SDS par rapport à la CMC est faible ($(n - (n_0 + n_{cmc})) / n_{cmc} < 1$). D'après les calculs, aucun échantillon ne devrait donc comporter de micelles. Or, nous avons vu qu'après évaporation du THF, des micelles sont présentes dans les échantillons t14, t15 et t16.

Il est possible que l'hypothèse selon laquelle toutes les molécules de SDS sont aux interfaces soit fausse pour les échantillons t11 à t17. Il y aurait alors une quantité non négligeable de SDS dans le milieu dispersant qui ne s'est pas adsorbé aux interfaces nanoparticule/milieu dispersant comme le prévoyaient nos calculs.

Pour les échantillons t11 et t12, l'excès de SDS par rapport à la CMC est beaucoup plus faible ($(n - (n_0 + n_{cmc})) / n_{cmc}$ vaut 0,02 ou 0,03) que pour les autres échantillons ($(n - (n_0 + n_{cmc})) / n_{cmc}$ est compris entre 0,30 et 0,60). Cette comparaison peut expliquer l'absence de micelles dans les échantillons t11 et t12.

Pour les échantillons t11 et t12, la quantité totale de SDS présent dans la nanosuspension (n) est supérieure à la quantité de SDS nécessaire pour couvrir la surface des nanoparticules (n_0). D'après les calculs, la quantité de SDS présent dans les échantillons t11 et t12 devrait être suffisante pour stabiliser les nanoparticules et éviter la formation d'agrégats macroscopiques. Cette incohérence entre les résultats théoriques et expérimentaux peut être expliquée une nouvelle fois par le fait que le ratio d'adsorption du SDS aux interfaces nanoparticule/milieu dispersant puisse être inférieur à 100%.

L'excès de SDS par rapport à la CMC dans l'échantillon t13 ($9,6\times10^{-5}$ mol) est inférieur à l'excès de SDS dans les échantillons t14, t15 et t16 (compris entre $2,0\times10^{-4}$ et $6,1\times10^{-4}$ mol), ce qui peut expliquer que la distribution de taille de particules de l'échantillon t13 soit polydisperse unimodale tandis que celle des échantillons t14, t15 et t16 sont polydisperses multimodales.

L'excès de SDS par rapport à la CMC est à peu près le même dans les échantillons t13 ($9,6\times10^{-5}$ mol) et t17 ($8,1\times10^{-5}$ mol). Cependant, la surface totale des nanoparticules (A_{tot}) est 4 fois plus élevée pour l'échantillon t17 (3,64 m²) que pour l'échantillon t13 (0,82 m²). Comme nous l'avons supposé dans le paragraphe III.3.3.1, l'augmentation de la concentration en PHU permet d'augmenter la surface des nanoparticules et de diminuer l'intensité des forces de déplétion, ce qui se traduit par une diminution du PDI.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

III.2.3.3. Etude approfondie de l'expérience t17 optimisée pour la nanoprécipitation à partir du THF

Les résultats de l'essai t17 après évaporation du THF sont satisfaisants en termes de PDI (0,13) et de taille (147 nm). La répétabilité de cet essai a donc été vérifiée en réalisant trois autres expériences de manière identique : t17b, t17c et t17d (figure 35).

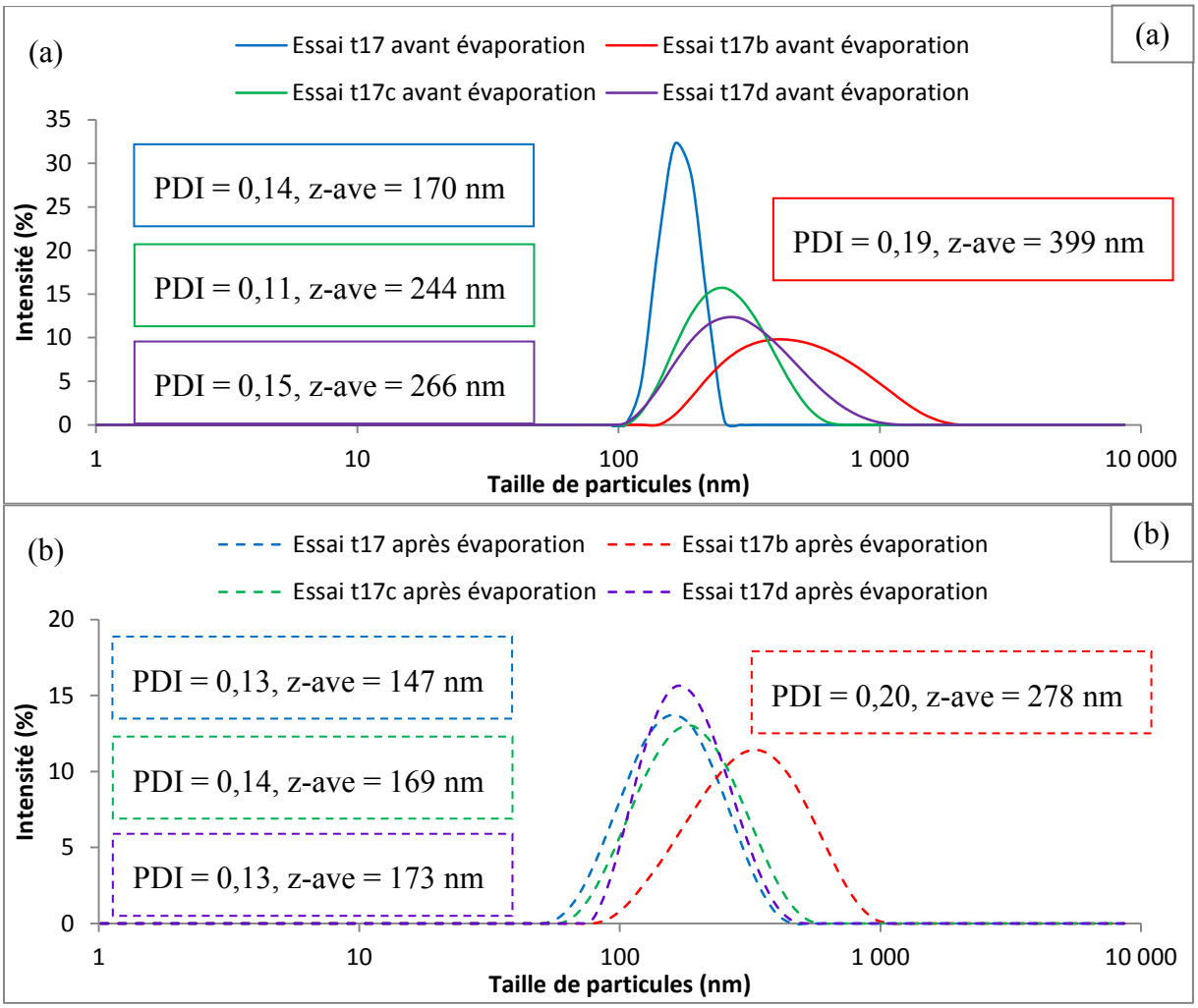


Figure 35. Distributions de taille des nanoparticules des échantillons t17, t17b, t17c et t17d [PHU] = 5 g/l ; V_{eau} = 50 ml ; [SDS] = 8,00 mmol/L) avant (a) et après (b) évaporation.

Avant et après évaporation, les quatre nanosuspensions sont monodisperses (PDI < 0,2). Les échantillons t17, t17c et t17d affichent des tailles moyennes et des PDI semblables tandis que l'échantillon t17b affiche une taille et un PDI plus élevés (de 170 nm et 0,06 respectivement). Tout comme pour l'essai t17, l'évaporation du THF entraîne une diminution de la taille des nanoparticules pour les échantillons t17b, t17c et t17d.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Les valeurs similaires de la taille et du PDI des échantillons t17, t17c et t17d démontrent la répétabilité du procédé de nanoprécipitation du PHU dans ces conditions.

Une étude du vieillissement des nanoparticules est effectuée sur les quatre échantillons (figure 36).

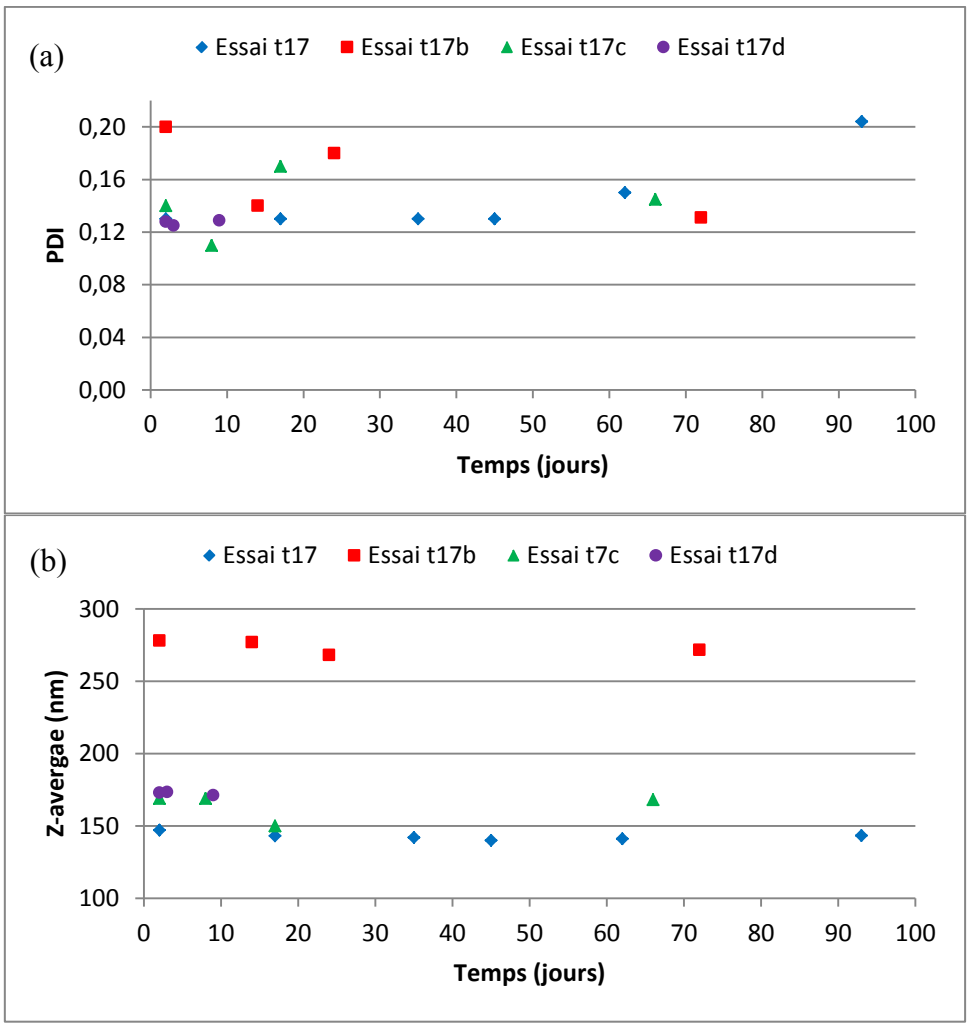


Figure 36. Evolution au cours du temps du PDI (a) et de la taille (b) des essais t17, t17b, t17c et t17d après évaporation.

La taille des particules varie très peu au cours du temps. La variation de PDI est relativement élevée pour les échantillons t17b et t17c (variation maximale de 0,07 pour le PDI de l'essai t17b). L'échantillon t17 reste monodisperse les 62 premiers jours, mais son PDI dépasse le seuil de 0,2 après 93 jours et le début de l'agrégation de l'échantillon apparait à la fois en DLS et à l'œil nu. L'étude de vieillissement permet d'attester la stabilité des nanosuspensions 60 jours après leur préparation et l'évaporation du THF.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

III.2.3.4. Dialyse des nanosupensions

Afin d'éliminer les traces de THF restant dans les nanosupensions après évaporation, les échantillons t17c et t17d (dont les tailles de particules (169 – 173 nm) et PDI (0,13 – 0,14) sont faibles et similaires) ont été dialysés 9 et 2 jours après leur préparation respectivement. Lors de la dialyse, le solvant organique mais aussi une grande partie du SDS sont éliminés. Si la dialyse est une méthode d'élimination du solvant couramment utilisée pour les solvants organiques peu volatils[36, 76], elle l'est aussi pour des solvants plus volatils[76, 77]. Il est possible de réaliser les étapes d'évaporation et de dialyse à la suite afin d'éliminer la totalité du solvant organique[78-80].

Des membranes de dialyse en cellulose régénérée (RC Spectrum Labs, porosité : 1.000 g/mol) ont été utilisées pour la dialyse des échantillons car la cellulose régénérée est une matière résistante vis-à-vis des solvants organiques comme le THF ou le DMSO. Avant utilisation, les membranes de dialyse sont trempées 30 minutes dans un cristallisoir rempli d'eau permutée puis rincées avec de l'eau permutée. Chaque échantillon est ensuite versé dans un sac de dialyse fermé à chaque extrémité par une pince. Les sacs de dialyse sont immergés dans 5L d'eau permutée sous agitation magnétique. Les bains de dialyse sont changés trois fois : après 5h, 10 heures et 24 heures.

Après dialyse, les distributions de taille des échantillons t17c et t17d sont identiques (figure 37). Les mesures en HPLC n'indiquent plus de trace de THF, le solvant a donc été complètement éliminé des nanosuspensions. De manière surprenante, l'élimination d'une partie du SDS n'entraîne pas de modification de taille ou de PDI.

Des mesures en DLS ont été réalisées sur les échantillons t17c et t17d plusieurs jours après l'étape de dialyse. Elles indiquent que les échantillons restent stables au moins 30 jours après la dialyse (le PDI varie entre 0,12 et 0,18 ; le z-average entre 150 et 175 nm).

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

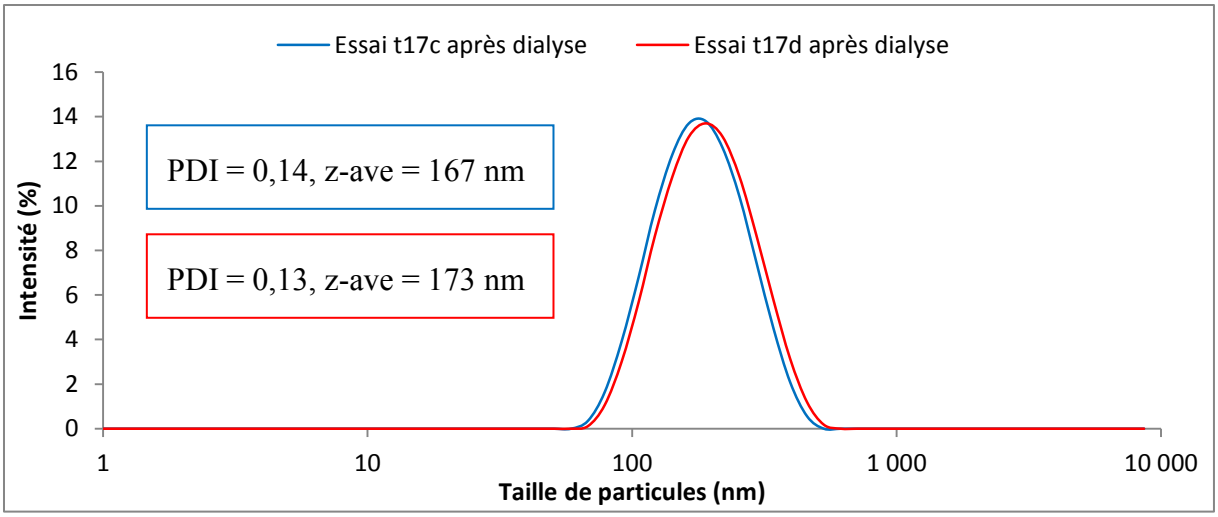


Figure 37. Distributions de taille des nanoparticules préparées lors des essais t17c et t17d après évaporation puis dialyse.

Les nanoparticules de l'échantillon t17d ont été observées en cryo-MET 10 jours après leur préparation, avec (figure 38) et sans (figure 39) étape de dialyse. Lors de la préparation des échantillons, nous avons dû augmenter le temps d'épongeage de la plaque (deux secondes au lieu d'une) qui précède l'étape de vitrification afin de diminuer l'épaisseur du film de suspension. Sans cela, les échantillons sont opaques sous le faisceau d'électron.

Afin d'expliquer ce phénomène, il est nécessaire de considérer que le film de glace vitreuse déposé sur la grille de cuivre doit mesurer entre 80 et 100 nm d'épaisseur afin que l'échantillon puisse être observé correctement[81]. Or, après évaporation du THF, les nanoparticules de l'échantillon t17d ont un diamètre de 173 nm ce qui peut impliquer une augmentation de l'épaisseur du film de glace. Un temps d'épongeage plus long est donc nécessaire.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

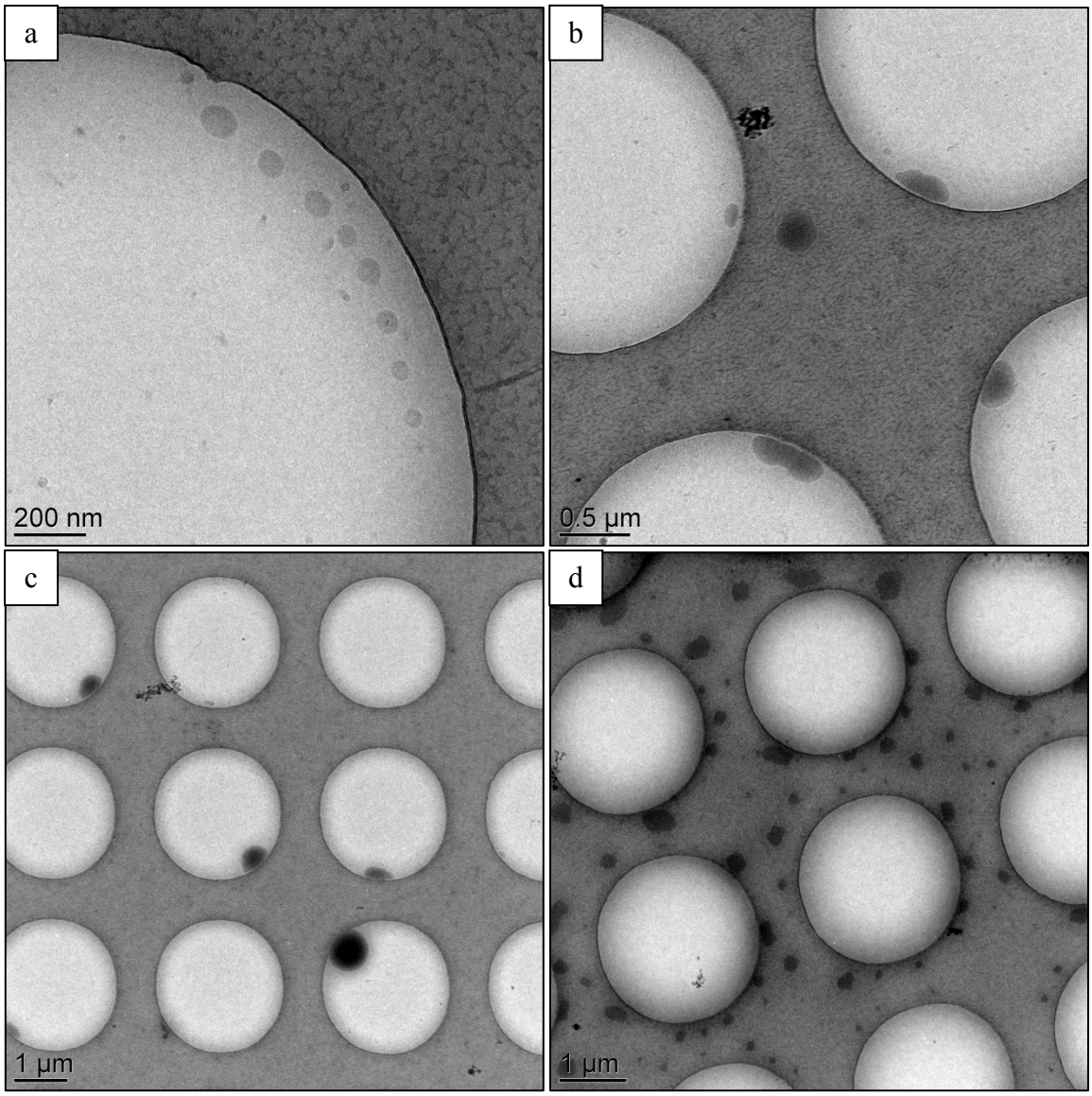


Figure 38. Observation cryo-MET de l'essai t17d après évaporation du THF, 10 jours après préparation.

Les observations en cryo-MET de l'échantillon t17d après évaporation du THF révèlent la présence de nanoparticules de taille très variable. Certaines, d'une taille comprise entre 60 et 100 nm sont rassemblées à la périphérie des trous de la grille de carbone (figure 38.a). Dans d'autres trous de la grille, des nanoparticules de forme sphérique ou ovoïde ont un diamètre variant de 200 à 500 nm, certaines atteignant 700 nm (figure 38.b et c). Enfin, des objets sombres d'un diamètre de 400 à 500 nm sont présents entre les trous de la grille (figure 38.d). Leur dégradation rapide sous un faisceau intense d'électrons permet d'établir qu'il s'agit bien de nanoparticules de PHU et non de givre.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

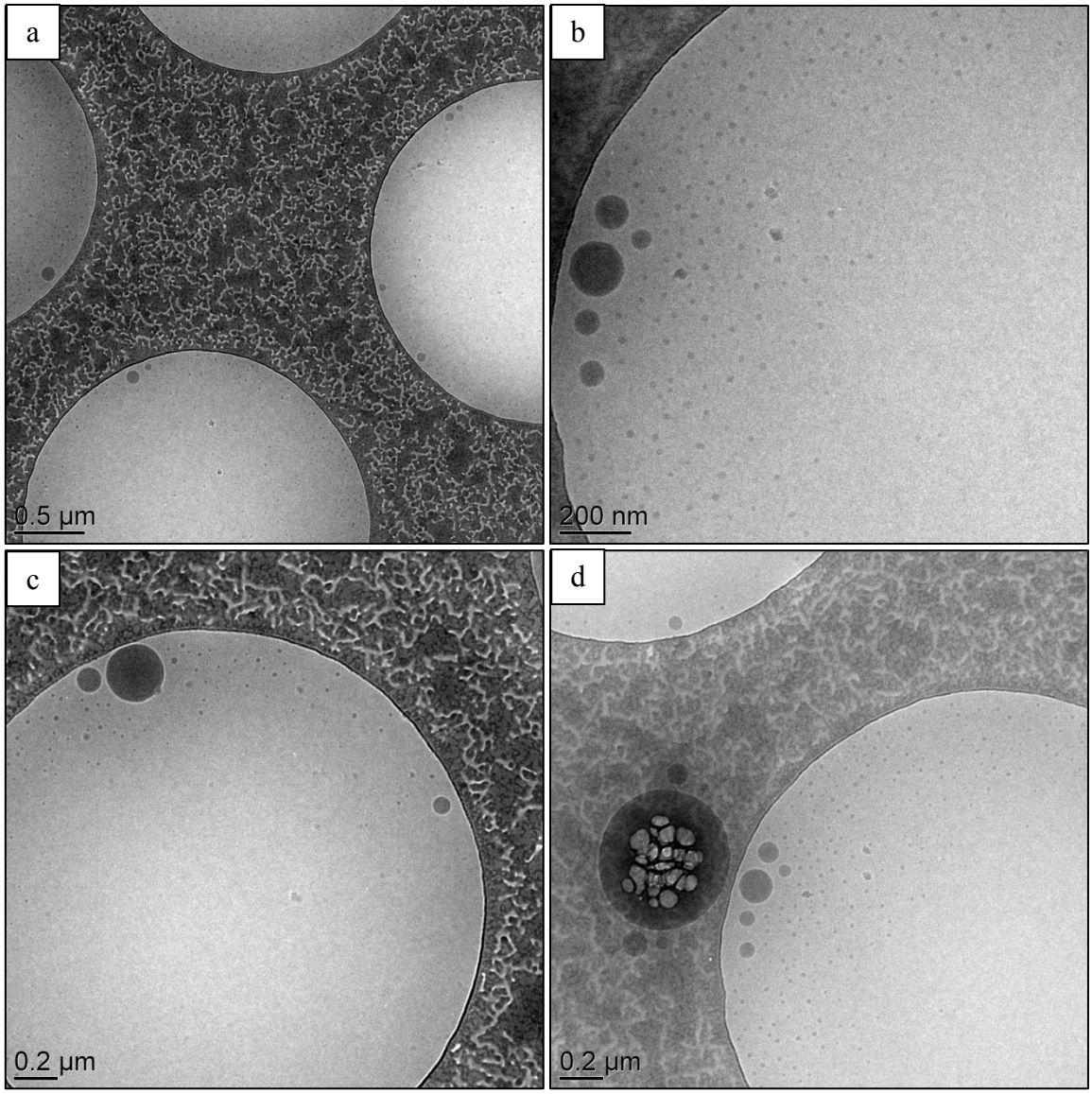


Figure 39. Observation cryo-MET de l'essai t17d après évaporation du THF et dialyse, 10 jours après préparation.

Les images cryo-MET des échantillons ayant été dialysés révèlent de nouveau des tailles de particule variables, celles-ci conservant toutes cependant une forme sphérique (figure 39). Trois tailles d'objets peuvent être distinguées : des particules de taille comprise entre 80 et 120 nm, le plus souvent regroupées (figure 39.a et b) ; de plus grosses particules, entre 300 et 600 nm, présentes à proximité des premières, qui ont pu être formées par la coalescence des nanoparticules de taille plus faible (figure 39.c et d) ; de toutes petites particules (inférieures à 30 nm) (figure 39.b, c et d). Les particules de taille inférieure à 30 nm n'ont ni l'aspect, ni le contraste, ni l'organisation du givre, mais elles sont beaucoup plus résistantes au faisceau d'électrons que les autres nanoparticules de PHU de taille supérieure à 80 nm. La dégradation d'une nanoparticule de 600 nm de diamètre est observée sur la figure 42.d. Lors des

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

observations, nous notons qu'une nanoparticule de PHU se dégrade d'autant plus rapidement qu'elle est de taille élevée.

Les tailles et distributions de taille de particule mesurées en DLS pour l'échantillon t17d 10 jours après évaporation du THF, avec ou sans dialyse (150 – 175 nm) sont différentes des tailles mesurées lors des observations en cryo-MET (figures 38 et 39). Nous pouvons mettre en lien cette différence de taille et les conditions de préparation des échantillons cryo-MET : il est possible que les nanoparticules de PHU (dont le diamètre excède l'épaisseur standard du film de glace) aient été déformées au cours de l'étape d'épongeage ou de vitrification (figure 40).

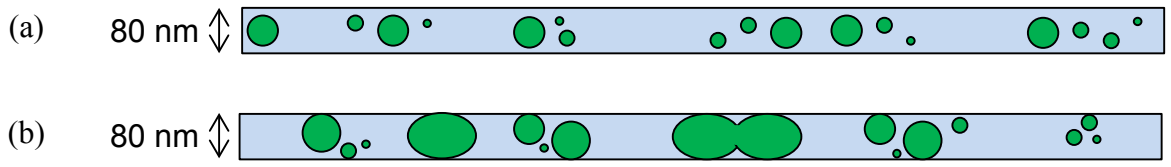


Figure 40. Schéma en coupe transverse d'un film de glace vitreuse contenant des nanoparticules de diamètre inférieur ou égal à 80 nm (a) ou très supérieur à 80 nm (b).

Certaines nanoparticules aplaties ont un diamètre apparent supérieur à leur diamètre réel. La forme des nanoparticules peut aussi être modifiée, ce qui explique la présence d'objets de forme ovoïde. Il est possible que sous la contrainte, des particules se divisent en particules plus petites. Les nanoparticules semblent plus déformées lorsque l'échantillon n'a pas été dialysé. Cela pourrait s'expliquer par la présence de traces THF (environ 0,07 % vol. soit 0,03 mg de THF pour 50 ml de suspension et 125 mg de PHU) qui pourrait plastifier les nanoparticules.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

CONCLUSION

L'objectif de ce chapitre était l'optimisation de la préparation par nanoprécipitation de nanoparticules de PHU stables dans le temps et caractérisées par des valeurs de PDI et de taille les plus faibles possibles (PDI proche de 0,1 et z-average inférieur ou égal à 100 nm).

La réalisation d'un plan d'expériences de type factoriel complet décrivant l'influence de la concentration en PHU dans la phase organique, le volume d'eau et la concentration en SDS dans la phase aqueuse sur le PDI et la taille des nanoparticules a permis de déterminer les conditions optimales du procédé par rapport à notre objectif : une concentration en PHU élevée (5 g/l), un volume d'eau faible (50 ml) et une concentration en SDS élevée (25,0 mmol/l) conduisent au PDI le plus faible (0,10) alors qu'une concentration en PHU faible (1 g/l), un volume d'eau faible (50 ml) et une concentration en SDS élevée (25,0 mmol/l) aboutissent à la plus faible taille de particules (55 nm). En outre, les courbes iso-réonse permettent la prévision de la taille des nanoparticules en fonction des contions expérimentales de manière continue dans le domaine d'étude.

La présence de tensioactif est nécessaire pour éviter la déstabilisation des nanoparticules par agrégation, coalescence, gonflement ou contraction – les deux derniers étant causés par la diffusion du DMSO entre la phase continue et les particules de polymère. Cependant, lorsque la différence entre la quantité totale de SDS et la quantité de SDS susceptible de s'adsorber à la surface des nanoparticules est supérieure à la quantité de SDS correspondant à sa CMC dans la nanosuspension, la présence de nombreuses micelles déstabilise la nanosuspension par déplétion. A l'inverse, les nanosuspension ne comportant pas de micelles sont stables – jusqu'à sept mois pour l'échantillon d6 présentant le PDI le plus faible ([PHU] = 1 g/l, V_{eau} = 50 ml, [SDS] = 25,0 mM). Les observations en cryo-TEM confirment ces résultats en PDI et en taille de particules obtenus en DLS durant l'étude de vieillissement.

Le procédé de nanoprécipitation du PHU a été transposé en utilisant le THF comme solvant organique afin de permettre l'élimination du solvant par évaporation et d'obtenir des nanosuspensions en milieu aqueux. L'élimination de la quasi-totalité du solvant par évaporation sous hotte durant 48 h après la nanoprécipitation a été vérifiée par HPLC. L'ensemble des expériences du plan d'expérience ont été réalisées en utilisant le THF à la place du DMSO. Des différences majeures entre le PDI et la taille de particules ont été observées en comparant les nanosuspensions préparées avec DMSO (z-ave ≃ 100 nm) et le THF (z-ave ≃ 150 – 300 nm). De manière générale, la taille des particules est plus élevée

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

avec le THF. Il semble que le mécanisme de formation des nanoparticules soit régi davantage par les interactions solvant-eau que les interactions polymère-solvant et la viscosité de la phase organique.

La polydispersité élevée des échantillons après évaporation du THF indique que le domaine d'étude (concentration en PHU, volume d'eau et concentration en SDS) déterminé pour la nanoprécipitation du PHU avec le DMSO n'est pas adapté au THF. Il a fallu diminuer la quantité de SDS car sa CMC dans la phase dispersante après évaporation du THF (6,0 mM) est inférieure à la CMC du SDS dans un mélange eau/DMSO (CMC comprise entre 6,7 et 10,6 mM selon la proportion en DMSO). Une fois les paramètres ajustés ([PHU] = 5 g/l, V_{eau} = 50 ml, [SDS] = 8,0 mM), il a été possible de préparer une nanosuspension monodisperse (0,11 – 0,18), avec des nanoparticules de faibles tailles (140 – 175 nm) après évaporation du THF. Nous avons établi qu'il était possible de dialyser les nanosuspensions après évaporation sans modifier le PDI ou la taille des nanoparticules, ce qui permet d'éliminer la totalité du THF. La stabilité d'une nanosuspension après évaporation puis dialyse est au moins égale à un mois.

Pour conclure, ce chapitre a permis de maîtriser le procédé de nanoprécipitation du PHU en utilisant deux solvants, le DMSO et le THF. Bien que la nanoprécipitation soit un procédé simple à mettre en application, nous avons vu que l'ajustement des paramètres expérimentaux est une tâche complexe car il peut être très différent d'un solvant organique à l'autre. Dans la suite du manuscrit, nous nous sommes intéressés à la préparation de nanoparticules de PHU bien définies en termes de taille et PDI et capables de répondre à une variation de pH ou de température et de caractériser l'influence de ces stimuli sur leur taille.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Références

1. Ma, C. *Colloids Surf.* **1987,** 28, (1), 1-7.

2. Legrand, P.; Lesieur, S.; Bochot, A.; Gref, R.; Raatjes, W.; Barratt, G.; Vauthier, C. *Int. J. Pharm.* **2007,** 344, (1-2), 33-43.

3. Bilati, U.; Allemann, E.; Doelker, E. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2005,** 24, (1), 67-75.

4. Choi, S.-W.; Kwon, H.-Y.; Kim, W.-S.; Kim, J.-H. *Colloids Surf., A* **2002,** 201, (1-3), 283-289.

5. Ma, H.; Luo, M.; Dai, L. L. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2008,** 10, (16), 2207-2213.

6. Wydro, P. *Pol. J. Chem.* **2007,** 81, (12), 2157-2169.

7. Bibette, J.; Roux, D.; Pouligny, B. *J. Phys. II* **1992,** 2, (3), 401-24.

8. Christoffer Johans, P. S., Delta-8 multichannel microtensiometer:

Influence of DMSO on the CMC of SDS. In *Technical note*, Kibron Inc.: 2004.

9. Lin, J. M.; Nakagawa, M.; Uchiyama, K.; Hobo, T. *Chromatographia* **1999,** 50, (11/12), 739-744.

10. Harutyunyan, L. R.; Markarian, S. A. *Colloid J.* **2007,** 69, (4), 407-410.

11. Kumar, S.; Parveen, N.; Kabir ud, D. *J. Phys. Chem. B* **2004,** 108, (28), 9588-9592.

12. Pan, A.; Naskar, B.; Prameela, G. K. S.; Phani Kumar, B. V. N.; Aswal, V. K.; Bhattacharya, S. C.; Mandal, A. B.; Moulik, S. P. *Soft Matter* **2014,** 10, (31), 5682-5694.

13. Misra, P. K.; Mishra, B. K.; Behera, G. B. *Colloids Surf.* **1991,** 57, (1-2), 1-10.

14. Steflova, J.; Stefl, M.; Walz, S.; Knop, M.; Trapp, O. *Electrophoresis* **2016,** 37, (10), 1287-1295.

15. Umlong, I. M.; Ismail, K. *Colloids Surf., A* **2007,** 299, (1-3), 8-14.

16. Miles, G. D. *J. Phys. Chem.* **1945,** 49, 71-6.

17. Rosen, M. J.; Kunjappu, J. T., Micelle Formation by Surfactants. In *Surfactants and Interfacial Phenomena*, John Wiley & Sons, Inc.: 2012; pp 123-201.

18. Schick, M. J.; Gilbert, A. H. *J. Colloid Sci.* **1965,** 20, (5), 464-72.

19. *Cray Valley - Total* **2010**.

20. Wohlfarth, C., Dielectric constant of the mixture (1) water;(2) dimethylsulfoxide. In *Supplement to IV/6*, Springer: 2008; pp 524-526.

21. MacGregor, W. S. *Ann N Y Acad Sci* **1967,** 141, (1), 3-12.

22. Schott, H. *J. Pharm. Sci.* **1969,** 58, (8), 946-8.

23. Lu, Z.; Manias, E.; Lanagan, M.; MacDonald, D. D. *ECS Trans.* **2010,** 28, (18, Physical and Analytical Electrochemistry (General)--217th ECS Meeting, 2010), 11-21.

24. Ionescu, L. G.; Tokuhiro, T.; Czerniawski, B. J.; Smith, E. S. In *Formation of micelles of cetyltrimethylammonium bromide in water-dimethyl sulfoxide solutions*, 1979; Plenum: pp 487-96.

25. Critchfield, F. E.; Gibson, J. A., Jr.; Hall, J. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1953,** 75, 6044-5.

26. *Journal of the American Chemical Society* **2008,** 130, (14), 5000-5000.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

27. Ganachaud, F.; Katz, J. L. *ChemPhysChem* **2005,** 6, (2), 209-216.

28. Lepeltier, E.; Bourgaux, C.; Couvreur, P. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2014,** 71, 86-97.

29. Huggins, M. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1942,** 64, 2716-18.

30. Kraemer, E. O. *Ind. Eng. Chem.* **1938,** 30, 1200-3.

31. HG. Barth, M. M. **1991**, 231.

32. Hansen, C. M., *The three dimensional solubility parameter and solvent diffusion coefficient: their importance in surface coating formulation*. 1967.

33. Fedors, R. F. *Polym. Eng. Sci.* **1974,** 14, (2), 147-54.

34. van Krevelen, D. W.; Editor, *Properties of Polymers: Their Correlation with Chemical Structure; Their Numerical Estimation and Prediction from Additive Group Contributions, Third Completely Revised Edition*. Elsevier: 1997; p 898 pp.

35. Galindo-Rodriguez, S.; Allemann, E.; Fessi, H.; Doelker, E. *Pharm. Res.* **2004,** 21, (8), 1428-1439.

36. Beck-Broichsitter, M.; Nicolas, J.; Couvreur, P. *Nanoscale* **2015,** 7, (20), 9215-9221.

37. Beck-Broichsitter, M.; Nicolas, J.; Couvreur, P. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2015,** 97, (Part_B), 304-317.

38. Malvern, I. *Worcestershire, UK* **2011**.

39. Stepanek, P. In *Data analysis in dynamic light scattering*, 1993; Oxford Univ. Press: pp 177-241.

40. Zhang, C.; Pansare, V. J.; Prud'homme, R. K.; Priestley, R. D. *Soft Matter* **2012,** 8, (1), 86-93.

41. Riley, T.; Govender, T.; Stolnik, S.; Xiong, C. D.; Garnett, M. C.; Illum, L.; Davis, S. S. *Colloids Surf., B* **1999,** 16, (1-4), 147-159.

42. Lince, F.; Marchisio, D. L.; Barresi, A. A. *J. Colloid Interface Sci.* **2008,** 322, (2), 505-515.

43. Contado, C.; Vighi, E.; Dalpiaz, A.; Leo, E. *Anal. Bioanal. Chem.* **2013,** 405, (2-3), 703-711.

44. Dong, Y.; Feng, S.-S. *Biomaterials* **2004,** 25, (14), 2843-2849.

45. Chorny, M.; Fishbein, I.; Danenberg, H. D.; Golomb, G. *J. Controlled Release* **2002,** 83, (3), 389-400.

46. Thioune, O.; Fessi, H.; Devissaguet, J. P.; Puisieux, F. *Int. J. Pharm.* **1997,** 146, (2), 233-238.

47. Mora-Huertas, C. E.; Fessi, H.; Elaissari, A. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2011,** 163, (2), 90-122.

48. Fonseca, C.; Simoes, S.; Gaspar, R. *J. Controlled Release* **2002,** 83, (2), 273-286.

49. Budhian, A.; Siegel, S. J.; Winey, K. I. *Int. J. Pharm.* **2007,** 336, (2), 367-375.

50. Asadi, H.; Rostamizadeh, K.; Salari, D.; Hamidi, M. *J. Microencapsulation* **2011,** 28, (5), 406-416.

51. Zhu, Z.; Margulis-Goshen, K.; Magdassi, S.; Talmon, Y.; Macosko, C. W. *J. Pharm. Sci.* **2010,** 99, (10), 4295-4306.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

52. Mora-Huertas, C. E.; Fessi, H.; Elaissari, A. *Int J Pharm* **2010,** 385, (1-2), 113-42.

53. Nehilla, B. J.; Bergkvist, M.; Popat, K. C.; Desai, T. A. *Int. J. Pharm.* **2008,** 348, (1-2), 107-114.

54. Boehm, A. L.; Martinon, I.; Zerrouk, R.; Rump, E.; Fessi, H. *J. Microencapsulation* **2003,** 20, (4), 433-441.

55. Pandya, V. M.; Patel, J. K.; Patel, D. J. *Pharm. Lett.* **2011,** 3, (2), 129-140.

56. Lu, H. D.; Ristroph, K. D.; Dobrijevic, E. L. K.; Feng, J.; McManus, S. A.; Zhang, Y.; Mulhearn, W. D.; Ramachandruni, H.; Patel, A.; Prud'homme, R. K. *ACS Infect Dis* **2018**.

57. Gaudin, F. Synthèse de nanocapsules de polyuréthane par polyaddition interfaciale en miniémulsion. Université Claude Bernard Lyon 1, , 2009.

58. Lejeune, J. Développement de nanocapsules supramoléculaires de bis-urée par addition interfaciale en miniémulsion : optimisation du procédé et caractérisations chimique et morphologique. INSA de Lyon, , 2014.

59. Goupy, J., *Les Plans d'Expériences - Optimisation du choix des essais et de l'interprétation des résultats*. L'Usine Nouvelle: 2013.

60. Zar, J. H. *Prentice Hall International* **1984**, pp 43-45.

61. Awasthi, R.; Kulkarni, G. T.; Pawar, V. K.; Garg, G. *AAPS PharmSciTech* **2012,** 13, (1), 85-93.

62. Student. *Biometrika* **1908,** 6, 1-25.

63. Borkowski, J. *J. Am. Stat. Assoc.* **2010,** 105, (490), 879.

64. Lemonde, H. *J. Phys. Radium* **1936,** 7, (9), 371-378.

65. Bruce, C. D.; Berkowitz, M. L.; Perera, L.; Forbes, M. D. E. *J. Phys. Chem. B* **2002,** 106, (15), 3788-3793.

66. Molero, M.; Andreu, R.; Gonzalez, D.; Calvente, J. J.; Lopez-Perez, G. *Langmuir* **2001,** 17, (2), 314-322.

67. James, G. K.; Walz, J. Y. *J. Colloid Interface Sci.* **2014,** 418, 283-291.

68. Egerton, R. F. *Microsc Res Tech* **2012,** 75, (11), 1550-6.

69. Shen, P. S. *Anal. Bioanal. Chem.* **2018,** 410, (8), 2053-2057.

70. Bhadra, S.; Khastgir, D. *Polym. Degrad. Stab.* **2007,** 92, (10), 1824-1832.

71. Kumar, S.; Adams, W. W. *Polymer* **1990,** 31, (1), 15-19.

72. Guhagarkar, S. A.; Malshe, V. C.; Devarajan, P. V. *AAPS PharmSciTech* **2009,** 10, (3), 935-42.

73. Beck-Broichsitter, M.; Rytting, E.; Lebhardt, T.; Wang, X.; Kissel, T. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2010,** 41, (2), 244-253.

74. Heald, C. R.; Stolnik, S.; Kujawinski, K. S.; De Matteis, C.; Garnett, M. C.; Illum, L.; Davis, S. S.; Purkiss, S. C.; Barlow, R. J.; Gellert, P. R. *Langmuir* **2002,** 18, (9), 3669-3675.

75. Kumar, V.; Prud'homme, R. K. *Chem. Eng. Sci.* **2009,** 64, (6), 1358-1361.

76. Sanson, C.; Schatz, C.; Le Meins, J.-F.; Brulet, A.; Soum, A.; Lecommandoux, S. *Langmuir* **2010,** 26, (4), 2751-2760.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

77. Rode, G. T.; Garcia, A. A.; Lalloz, A.; Lacasse, F. X.; Hildgen, P.; Rabanel, J.-M.; Banquy, X. *Langmuir* **2018**.

78. Liu, F.; Kozlovskaya, V.; Medipelli, S.; Xue, B.; Ahmad, F.; Saeed, M.; Cropek, D.; Kharlampieva, E. *Chem. Mater.* **2015,** 27, (23), 7945-7956.

79. Zeng, Y.-B.; He, Y.-N.; Zhang, T.; Du, L.-B.; Wang, W.-Q.; Yu, Z.-C.; Dong, Y.-M.; Chen, H.-W.; Zhang, Y.-Y. *Acta Pharmacol Sin* **2018,** 39, (2), 261-274.

80. Yu, Y.; Chen, C.-K.; Law, W.-C.; Weinheimer, E.; Sengupta, S.; Prasad, P. N.; Cheng, C. *Biomacromolecules* **2014,** 15, (2), 524-532.

81. Durrieu, V. Synthèse et caractérisation de dispersions aqueuses de polyuréthane. Institut National Polytechnique de Grenoble, 2002.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

CHAPITRE IV : PREPARATION DE NANOPARTICULES DE POLY(HYDROXY)URETHANE STIMULABLE

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

INTRODUCTION

Un polymère stimulable voit ses propriétés physico-chimiques modifiées par la variation d'un paramètre physique ou chimique. De nombreux stimuli peuvent être exploités : potentiel d'oxydoréduction[1], photons[2], onde magnétique[3] ou électriques[4], etc. Dans le domaine pharmaceutique, les stimulations en pH et en température sont les plus étudiées[5]. La variation d'un de ces paramètres peut provoquer le gonflement ou la contraction des nanoparticules de polymère stimulable. Ce phénomène peut être utilisé pour permettre la libération ciblée et contrôlée d'un principe actif dans le corps humain. Plusieurs travaux décrivent la préparation de nanoparticules de polyuréthane pH-sensible présentant des fonctions éther[6], amine[7, 8] (ionisables en milieu acide) ou acide carboxylique[9] (ionisables en milieu basique). D'autres travaux montrent que ces mêmes fonctions éther[10-14], amine[8] et acide carboxylique[15] peuvent aussi rendre les nanoparticules de polyuréthane thermosensibles. A notre connaissance, aucune étude ne rapporte la préparation de nanoparticules de PHU pH- ou thermosensible.

Trois nouveaux poly(hydroxy)uréthanes stimulables ont été étudiés dans ce chapitre. Ils ont une structure chimique proche du (SB-HM)-PHU caractérisé dans le chapitre II, mais se distinguent de ce dernier par la présence d'amines tertiaires sur leur unité de répétition. Ces fonctions, apportées par les monomères utilisés à la place de la HMDA, sont ionisables en milieu acide. D'autre part, sous leur forme moléculaire, elles peuvent participer à la création de liaisons hydrogène intra- ou intermoléculaires. Il devrait être possible de modifier les propriétés physico-chimiques des trois polymères en variant le pH ou la température du milieu et provoquer une modification de la taille des nanoparticules préparées à partir de ces polymères.

Dans un premier temps, comme dans le chapitre II, nous décrirons la synthèse des PHUs stimulables ainsi que leur caractérisation par analyse élémentaire, spectroscopies, chromatographie d'exclusion stérique et analyses thermiques. Nous étudierons leurs interactions chimiques avec le solvant DMSO.

Le protocole de nanoprécipitation à partir du DMSO présenté dans le chapitre III sera optimisé pour chaque PHU stimulable de manière à obtenir, une fois le DMSO éliminé par dialyse, des nanosuspensions monodisperses (PDI < 0,2) de taille réduite (autour de 100 nm). Les nanoparticules seront caractérisées par des mesures en DLS et des observations en cryo-MET puis leur stabilité dans le temps sera étudiée.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Dans l'optique de caractériser la réponse en température des PHUs stimulables, des analyses infra-rouge en transmission seront réalisées à différentes températures sur des films de PHUs stimulables. Ces analyses permettront d'observer la rupture éventuelle des liaisons hydrogène intra- et intermoléculaires. Enfin, les nanosuspensions dialysées seront soumises à différentes températures et différentes valeurs de pH afin d'observer les éventuelles variations de taille et de PDI des nanoparticules.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

IV.1. Synthèses et caractérisation des PHUs stimulables

Les polymères stimulables sont utilisés en génie tissulaire[16] ou pour la libération de principes actifs[17] afin de traiter spécifiquement un organe, un tissu ou un groupe de cellules. Les stimulations en pH ou en température sont les plus étudiées[18] : d'une part, certaines pathologies induisent une variation locale du pH ; d'autre part, il est possible d'augmenter localement la température du corps humain à l'aide de rayonnements infra-rouge. Les polymères thermosensibles sont le plus souvent préparés à l'aide des monomères N-isopropylacrylamide (NIPAM)[19, 20] et N-vinylcaprolactame (NVCL)[21] tandis que la présence de fonctions acide carboxylique[15, 19, 21] ou amine[8, 20] induisent une réponse aux variations de pH. Les polyuréthanes pH- ou thermosensibles possèdent quant à eux des fonctions éther[6, 10-14], amine[7, 8 22] ou acide carboxylique[9, 15].

Wang *et al.* montrent que l'incorporation de fonctions amine tertiaire sur l'unité de répétition d'un polyuréthane aliphatique linéaire induit une réponse en pH et en température (gonflement des nanoparticules lorsque le pH est supérieur à 4,5 – 7,0 selon les échantillons ou lorsque la température augmente progressivement de 20 à 60°C)[8]. Aussi, nous avons souhaité introduire des fonctions amine tertiaire similaires sur l'unité de répétition de notre PHU. Théoriquement, de telles fonctions peuvent être apportées au polymère de trois manières : les fonctions amine tertiaire peuvent être soit portées par le monomère bis-(carbonate cyclique) ou le monomère diamine, soit ajoutées par post-fonctionnalisation des fonctions hydroxyles du PHU. Nous avons opté pour l'utilisation de monomères diamine fonctionnalisés par une amine tertiaire, car ces monomères sont disponibles commercialement. Ces diamines sont la N-méthyl-2,2'-diaminodiéthylamine (a), la 3,3'-diamino-N-méthyldipropylamine (b) et la 1,4-bis(3-aminopropyl)pipérazine (c) que nous nommerons par la suite l'et-DA, la prop-DA et la pip-DA respectivement (figure 1). Ces trois diamines, respectivement pures à 95, 98 et 98 %, ont été fournies par TCI.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

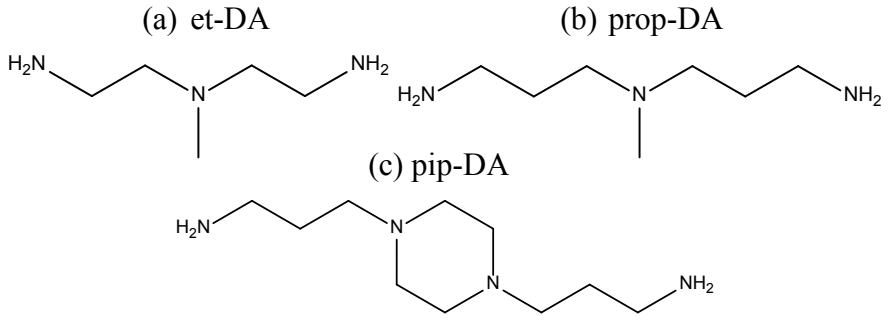
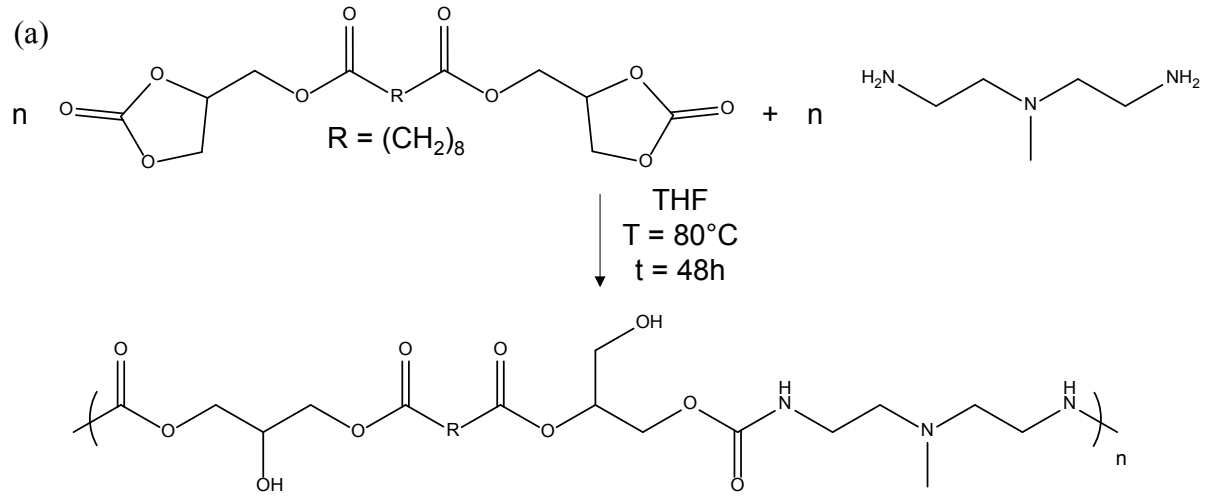


Figure 1. Diamines et-DA (a), prop-DA (b) et pip-DA (c) utilisées pour la synthèse de poly(hydroxy)uréthanes stimulables.

IV.1.1. Synthèses et purifications

Les synthèses des poly(hydroxy)uréthanes stimulables sont identiques à celle du (SB-HM)-PHU (décrite au chapitre II) à la différence de l'hexaméthylène diamine qui est remplacée par l'et-DA, la prop-DA ou la pip-DA. La polyaddition du SB bis-CC avec l'et-DA, la prop-DA ou la pip-DA aboutit à l'obtention d'un poly(hydroxy)uréthane que nous nommerons l'et-PHU, le prop-PHU ou le pip-PHU selon la diamine impliquée dans la synthèse. Les schémas réactionnels des synthèses de l'et-PHU, du prop-PHU et du pip-PHU sont représentés sur la figure 2.



Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

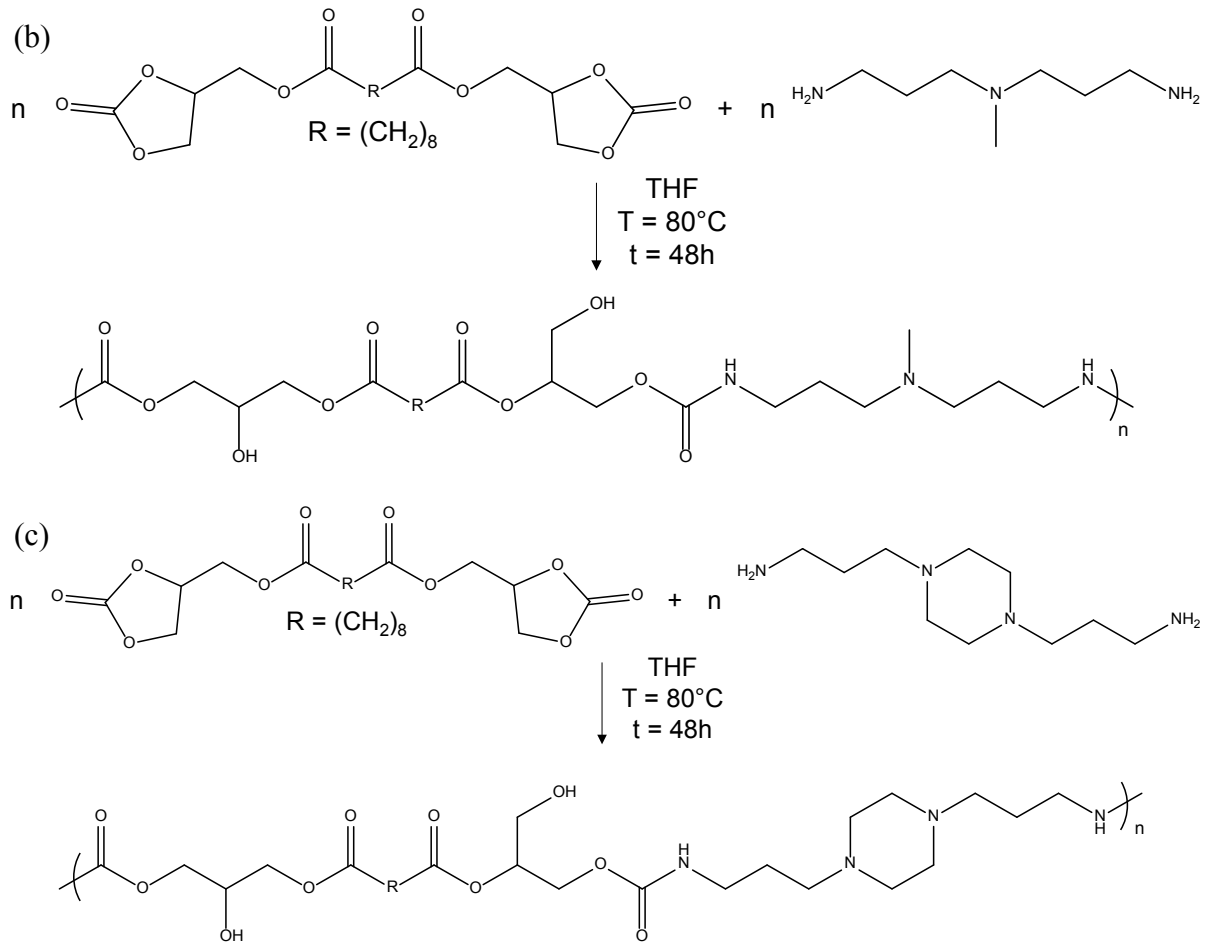


Figure 2. Synthèses de l'et-PHU (a), du prop-PHU (b) et du pip-PHU (c).

Pour chaque synthèse, 1,00 g (2,49 mmol) de SB bis-CC (synthèse décrite au chapitre II) et 2,49 mmol de diamine sont introduits dans un ballon puis solubilisés dans 40 ml de THF (inhibitor free HPLC grade, 99 %, Sigma-Aldrich) sous agitation. Un dispositif de chauffage à reflux est installé puis la température est ajustée à 80°C. La réaction dure 48h.

Une fois la réaction terminée, le THF est évaporé sous pression réduite. Le solide est solubilisé dans un volume minimum de DMF – 2 ml. La solubilisation peut être accélérée en chauffant le mélange à 50°C à l'aide d'un pistolet thermique. Un large volume d'éther diéthylique – 75 ml – est versé dans la solution provoquant la précipitation progressive du polymère tandis que les monomères résiduels et les oligomères de très faible masse molaire restent solubilisés dans le mélange DMF/Et_2O[23]. Le ballon est ensuite laissé à 8°C durant une nuit. Le liquide est séparé du polymère avant que ce dernier ne soit lavé avec 2×50 ml d'éther diéthylique. Les solvants sont évaporés sous pression réduite puis le polymère est déposé dans un cristallisoir couvert d'une feuille de téflon avant d'être séché dans une étuve sous vide à 80°C durant deux jours.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Deux lots de chaque polymère ont été synthétisés. Le premier (lot 1) a été réalisé en utilisant 1,00 g de SB bis-CC et en suivant le protocole expérimental détaillé ci-dessus. Pour le second (lot 2), les masses du SB bis-CC et de la diamine ont été doublées, ainsi que les volumes de solvants de synthèse et de purification. Le lot 1 a été synthétisé dans un ballon de 100 ml, le lot 2 dans un ballon de 250 ml. Le lot 2 a été synthétisé deux mois après le lot 1.

Une fois les synthèses et purifications réalisées, les polymères ont été caractérisés.

IV.1.2. Structure chimique des PHUs stimulables

- Analyses élémentaires

Dans un premier temps, une analyse élémentaire a été réalisée sur les trois PHUs pour le lot 1 et le lot 2 afin de vérifier que les produits des synthèses (décrites en IV.1.1) présentent les proportions attendues en carbone, en hydrogène, en azote et en oxygène (tableau 1). Les pourcentages en carbone, hydrogène, azote et oxygène théoriques ont été calculés en ne comptabilisant que les atomes de l'unité de répétition ($[C_{23}H_{41}N_3O_{10}]_n$ pour l'et-PHU, $[C_{25}H_{45}N_3O_{10}]_n$ pour le prop-PHU et $[C_{28}H_{50}N_4O_{10}]_n$ pour le pip-PHU). Ces calculs sont donc effectués en négligeant les fins de chaîne.

	% C	% H	% N	% O	% total
et-PHU théorique	*53,2*	*8,0*	*8,1*	*30,8*	*100,0*
et-PHU lot 1	53,6	8,1	7,7	31,3	100,7
et-PHU lot 2	52,6	8,0	8,1	31,9	100,6
Ecart-type	0,7	0,1	0,3	0,4	0,1
prop-PHU théorique	*54,8*	*8,3*	*7,7*	*29,2*	*100,0*
prop-PHU lot 1	54,4	8,4	7,4	28,8	99,0
prop-PHU lot 2	55,1	8,5	7,4	26,9	97,9
Ecart-type	0,5	0,1	0,0	1,3	0,8
pip-PHU théorique	*55,8*	*8,4*	*9,3*	*26,6*	*100,0*
pip-PHU lot 1	55,6	8,5	9,3	26,2	99,6
pip-PHU lot 2	55,6	8,4	9,1	26,8	99,9
Ecart-type	0,0	0,0	0,2	0,4	0,2

Tableau 1. Analyse élémentaire des polymères de l'et-PHU, du prop-PHU et du pip-PHU.

La différence entre les valeurs mesurées et les valeurs théoriques (en italique) est bien inférieure à 1,0 % sauf pour l'oxygène du lot 2 de prop-PHU (Δ% O = 2,3 % ; % total = 97,9 %). Cette différence peut s'expliquer par le fait que les fins de chaînes de type amine seraient moins nombreuses que les fins de chaîne de type carbonate. Pour chaque atome considéré, les

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

écart-types entre les valeurs des lots 1 et 2 sont inférieurs à 1,0 % sauf dans le cas de l'oxygène pour les deux prop-PHUs (en rouge sur le tableau 1).

- Infra-rouge

Les trois polymères ont été analysés en FTIR-ATR (figure 3). De la même manière que pour le (SB-HM)-PHU caractérisé dans le chapitre II, les spectres FTIR-ATR mettent en évidence que les réactions d'aminolyse de la fonction carbonate du SB bis-CC par les différentes diamines ont bien eu lieu.

Comme pour le (SB-HM)-PHU, les bandes C=O (1700 cm^{-1}) et N-H (1530 cm^{-1}) de la fonction uréthane[24, 25] apparaissent sur les spectres. La bande C=O (1730 cm^{-1}) de la fonction ester ne permet pas d'affirmer si des fonctions uréthane libres[26-28] [27, 28] sont présentes au sein des PHUs stimulables. La bande peu intense à 1790 cm^{-1} est attribuée au C=O de la fonction carbonate des fins de chaîne polymère[25]. Entre 3000 et 3700 cm^{-1}, la bande d'élongation N-H de la fonction uréthane est confondue avec la bande d'élongation O–H. La liaison C–H de la chaîne aliphatique des polymères est associée aux bandes à 2930, 2855 et 1465 cm^{-1}.

Aucune bande d'absorption n'est observée à 1650 cm^{-1}. La liaison C=O de la fonction amide – qui peut être produite par aminolyse de la fonction ester[13, 17, 18] – n'est donc pas détectée. Comme pour le (SB-HM)-PHU, cela tend à prouver que cette réaction parasite ne s'est pas produite au cours des synthèses.

Les spectres des trois polymères sont similaires. La seule différence notable se situe au niveau de la bande d'absorption entre 2840 et 2500 cm^{-1}, avec un pic à 2820 cm^{-1} plus intense pour le pip-PHU. Cette bande, qui n'est pas présente dans le spectre FTIR-ATR du (SB-HM)-PHU, est associée à l'élongation de la liaison C-H dont le carbone est en position alpha par rapport à l'amine tertiaire[29]. Deux fois plus de carbone de ce type sont présents sur l'unité de répétition du pip-PHU que sur les unités de l'et-PHU ou du prop-PHU (figure 2). C'est pour cette raison que la bande correspondante est plus intense pour le pip-PHU.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

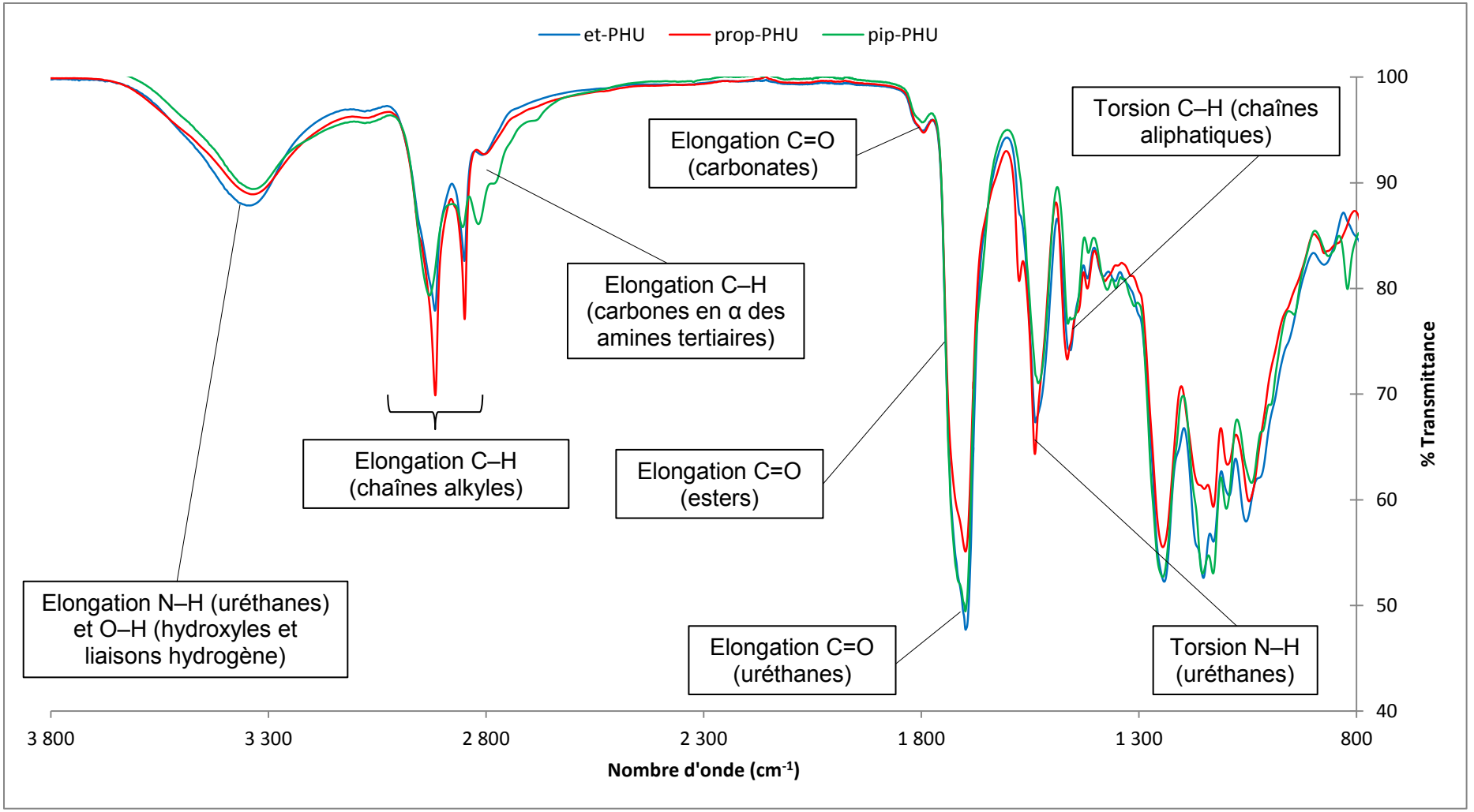


Figure 3. Spectres FTIR-ATR de l'et-PHU (en bleu), du prop-PHU (en rouge) et su pip-PHU (en vert) (lot 2).

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

- Résonance magnétique nucléaire

Les trois PHUs stimulables ont été analysés en RMN ^{13}C (figures 1, 2 et 3 de l'annexe du chapitre). La notation utilisée pour les différents carbones de l'et-PHU, du prop-PHU et du pip-PHU est présentée sur la figure 4.

En comparant le spectre RMN ^{13}C du (SB-HM)-PHU étudié au chapitre II avec ceux des trois PHUs stimulables, nous avons attribué les déplacements chimiques des carbones du motif de répétition et des fins de chaîne carbonate. Les résonances des carbones des unités monomères diamine ont été également attribuées (détails en annexe IV.3.1).

La résonnance correspondant au carbone C_8 (carbone de l'ester, δ = 172,7 ppm) se présente sous la forme de deux pics et non d'un seul (voir annexe). L'intégrale correspondant à ce carbone (2,18 pour l'et-PHU, 2,13 pour le prop-PHU et 2,09 pour le pip-PHU) est légèrement supérieure à la valeur théorique ($\simeq$ 2,00). Il est possible que cette intégrale corresponde à la fois au déplacement chimique des carbones de l'ester présents sur le motif de répétition et à celui des carbones des esters présents sur les fins de chaîne.

La résonnance correspondant au carbone C_9 (carbone de l'uréthane, δ = 156,0 ppm) se présente sous la forme d'un massif et non d'un pic unique (voir annexe). Ceci peut s'expliquer par la possibilité de deux conformations pour la liaison C–N – cis et trans – pour lesquelles le déplacement chimique du carbone C_9 n'est pas identique. Il est aussi possible que le déplacement chimique du carbone C_9 varie en fonction de sa proximité avec les fins de chaînes du polymère.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

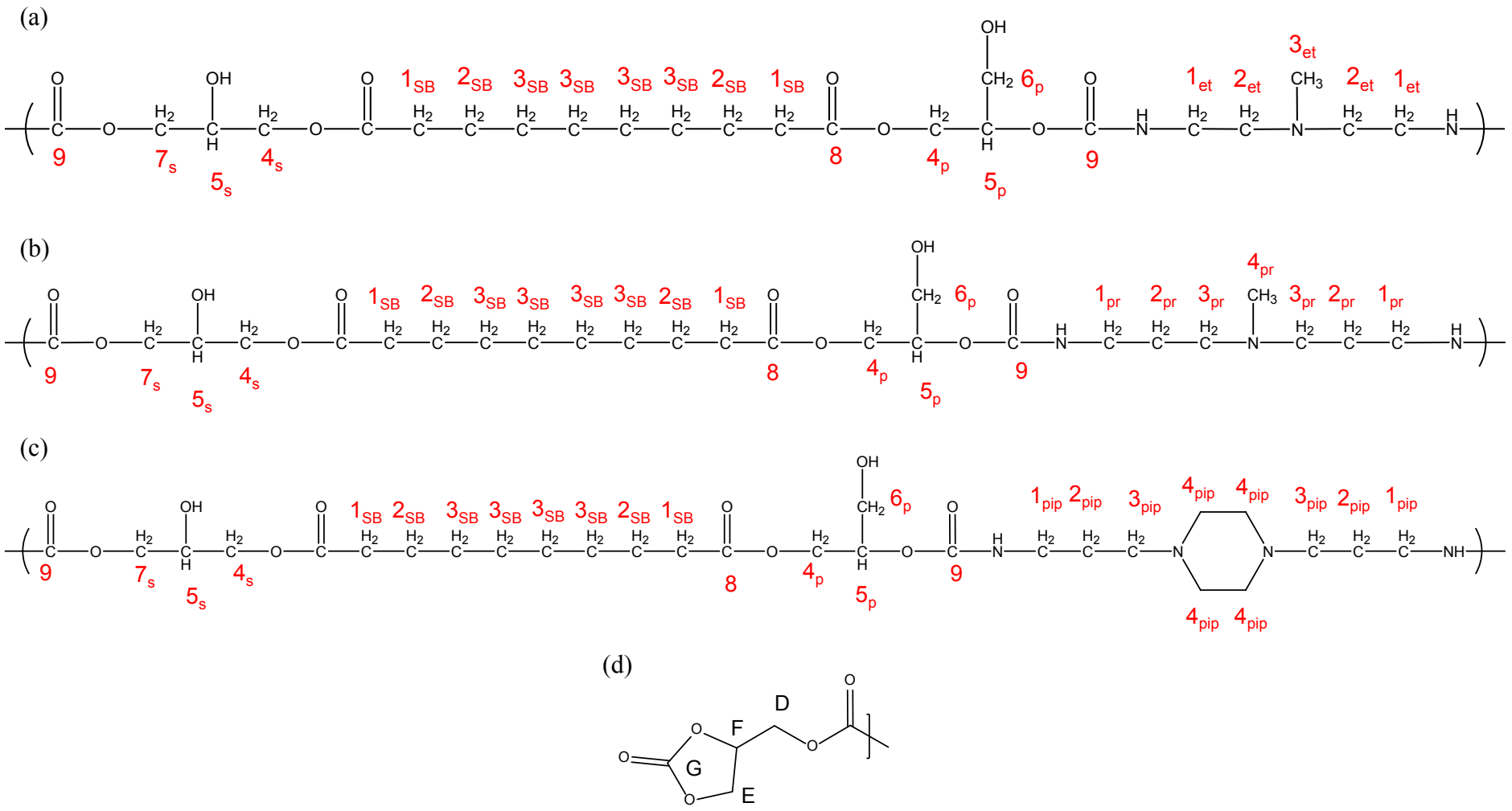


Figure 4. Annotations utilisées en RMN ^{13}C pour caractériser les carbones de l'unité de répétition de l'et-PHU (a), du prop-PHU (b) et du pip-PHU (c) ainsi que de leurs fins de chaînes (d).

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Une fois toutes les résonances attribuées, nous avons calculé le ratio entre fonctions hydroxyle secondaires et primaires formées lors de l'ouverture des cycles carbonates du SB bis-CC selon l'équation 1 du chapitre II :

$$\frac{OH_s}{OH_p} = \frac{C_{4s} + C_{5s} + C_{7s}}{C_{4p} + C_{5p} + C_{6p}} \quad (1)$$

Puisque les monomères ont été ajoutés en proportions stœchiométriques, nous supposons que les extrémités des chaînes polymères sont de type carbonate et amine. En supposant qu'il ne reste plus de trace de monomère SB bis-CC après purification, les intégrations des signaux des carbones C_D, C_E, C_F et C_G des fins de chaîne polymère permettent le calcul du $\overline{DP_n}$ des polymères selon l'équation 2 du chapitre II :

$$\overline{DP_n} = 2 \times (\frac{C_8}{2 \times C_{fin\ CC}} - 1) \quad (2)$$

Avec $C_{fin\ CC}$ la moyenne des intégrations des carbones C_D, C_E, C_F et C_G du carbonate en fin de chaîne polymère. La calibration des spectres a été réalisée à partir du signal du carbone C_8 (C_8 = 2,00 puisque deux carbones C_8 sont présents sur chaque unité de répétition) en raison de la qualité du pic correspondant. C'est pourquoi l'intégration C_8 a été choisie pour le calcul du $\overline{DP_n}$. La valeur du $\overline{DP_n}$ permet à son tour le calcul de $\overline{M_n}$ pour l'et-PHU:

$$\overline{M_n} = \frac{\overline{DP_n}}{2} \times M_{UR} + (M_{SB\ bis-CC} + M_{et-DA}) = \frac{\overline{DP_n}}{2} \times 519 + 519 \quad (3)$$

Pour le prop-PHU :

$$\overline{M_n} = \frac{\overline{DP_n}}{2} \times M_{UR} + (M_{SB\ bis-CC} + M_{prop-DA}) = \frac{\overline{DP_n}}{2} \times 548 + 548 \quad (4)$$

Et pour le pip-PHU :

$$\overline{M_n} = \frac{\overline{DP_n}}{2} \times M_{UR} + (M_{SB\ bis-CC} + M_{pip-DA}) = \frac{\overline{DP_n}}{2} \times 603 + 603 \quad (5)$$

Avec M_{UR} la masse molaire de l'unité de répétition de chaque polymère, $M_{SB\ bis\text{-}CC}$ la masse molaire du monomère SB bis-CC, $M_{et\text{-}DA}$, $M_{prop\text{-}DA}$ et $M_{pip\text{-}DA}$ les masses molaires respectives des monomères et-DA, prop-DA et pip-DA. Les valeurs des ratios hydroxyle primaire sur

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

secondaire, des $\overline{DP_n}$ et des $\overline{M_n}$ sont données dans le tableau 2 pour lots 1 et 2 de chaque polymère synthétisé.

	et-PHU		prop-PHU		pip-PHU	
	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2
Ratio OH_s / OH_p	1,7	2,0	1,7	1,3	1,7	1,6
$\overline{DP_n}$ RMN	18	34	23	28	38	48
$\overline{M_n}$ RMN (g/mol)	5 200	9 400	6 900	8 200	12 100	15 100

Tableau 2. Caractéristiques moléculaires des PHUs stimulables obtenues à partir des spectres RMN ^{13}C.

Le calcul des ratios permet d'établir que l'ouverture du cycle carbonate aboutit toujours à la formation majoritaire d'un hydroxyle secondaire – en moyenne 1,7 fois plus présent que son pendant primaire – que ce soit après l'attaque de l'et-DA, de la prop-DA ou de la pip-DA. Ces résultats sont cohérents avec les différentes études sur le sujet[30-32]. Cependant, ces ratios sont tous légèrement inférieurs à celui déterminé pour le (SB-HM)-PHU (toujours supérieur à 2). Cette différence pourrait s'expliquer par la longueur de chaine de la diamine aliphatique qui est plus faible dans le cas des PHUs stimulables que dans le cas du (SB-HM)-PHU. Nohra *et al.* ont observé que plus la chaîne de la diamine aliphatique est courte, plus la formation de l'hydroxyle primaire est favorisée[33].

Les masses molaires de l'et-PHU et du prop-PHU calculées par RMN sont du même ordre de grandeur que celle du (SB-HM)-PHU ($\overline{M_n}$ = 6 800 g/mol, $\overline{DP_n}$ = 24) tandis que les masses molaires du pip-PHU sont plus élevées. Des masses molaires similaires ont été rapportées dans une revue de Maisonneuve *et al.* sur les poly(hydroxy)uréthanes[34]. Ces masses molaires sont relativement faibles, ce qui est caractéristique de cette famille de polymères[35, 36].

Les masses molaires du lot 2 sont systématiquement plus élevées que celles du lot 1, indépendamment du PHU stimulable considéré, alors que la concentration en monomère est constante. La différence est particulièrement importante pour l'et-PHU.

Les lots 1 et 2 des trois PHUs stimulables ont été analysés en RMN ^{1}H. D'après Boyer *et al.*, la présence d'une fonction amide – produite par la réaction parasite d'aminolyse d'une fonction ester – sur l'unité de répétition d'un poly(hydroxy)uréthane est caractérisée par l'apparition d'un pic à 2,1 ppm[25]. Les spectres des PHUs stimulables ne révèlent pas la présence de cette résonnance, ce qui confirme que la réaction d'aminolyse des esters n'a pas eu lieu durant les synthèses.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

IV.1.3. Masse molaire des PHUs stimulables

Les masses molaires déterminées par RMN ont été comparées à celles déterminées par chromatographie d'exclusion stérique (SEC). Les analyses SEC des poly(hydroxy)uréthanes sont réalisées le plus souvent dans le DMF contenant du LiBr, la calibration étant réalisée avec du polystyrène[31, 37-42] ou du PMMA[36, 43, 44]. Le THF[45-47] et le DMAc[48-50] peuvent aussi être utilisés en tant qu'éluant et solvant du polymère.

Nous avons réalisé trois types d'analyses SEC en utilisant différentes conditions (tableau 3) : DMSO ou DMF comme solvant ; calibration universelle ou conventionnelle (étalonnage PS ou PMMA) ; détecteur UV, réfractomètre, diffusion de la lumière et viscosimétrique ; 40 ou 70°C. Avant chaque analyse, les solutions de polymères ont été filtrées (filtre 0,45 µm hydrophile en ester de cellulose).

	Conditions 1	Conditions 2	Conditions 3
Eluant	DMSO	DMSO	DMF
Sel ajouté	$NaNO_3$ 0,1%	$NaNO_3$ 0,1%	LiBr 0,05 M
Température colonne	70°C	70°C	40°C
Appareil/modèle	Agilent Technologies ; 1260 Infinity	Malvern ; 350 A HT-GPC	Waters
Pré-colonne	–	Oui	–
Colonne(s)	2×PSS GRAM (PE copo network, 8mm×300mm×10µm, 10-1.000 A)	3×PSS GRAM (Polyester copo network, 8mm×300mm×10µm, 100-1.000.000 Da)	Agilent Polargel M 300×7,5 mm
Détection UV	Oui	–	Oui
Détection RI	Oui	Oui	Oui
Détection LS	–	Oui	–
Détection Visco	–	Oui	–
Calibration		Triple détection et calibration universelle	
Standard utilisé	PMMA	PMMA	PS

Tableau 3. Conditions d'analyse en SEC.

Les résultats des analyses SEC sont présentés dans le tableau 4. Lorsque les résultats sont absents, cela signifie soit que les polymères n'ont pas pu être solubilisés (c'est le cas du premier lot de prop-PHU dans le DMSO/$NaNO_3$ et dans le DMF/LiBr – traits en gras), soit que les valeurs de Đ sont aberrantes car trop élevées (traits fins). Les résultats aberrants peuvent s'expliquer soit par les interactions entre les polymères et la colonne qui retardent

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

leur élution (le pic s'apparente alors à une traînée sur le chromatogramme), soit par un phénomène de gélification du polymère dans le solvant.

		et-PHU		prop-PHU		pip-PHU	
		Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2
SEC dans le DMSO (conditions 1)	$\overline{M_n}$	9 900	9 900	7 400	7 300	18 900	15 600
	$\overline{M_w}$	37 700	54 000	41 400	108 300	88 800	157 200
	Đ	3,8	5,5	5,6	14,7	4,7	10,1
SEC dans le DMSO (conditions 2)	$\overline{M_n}$	5 600	–	–	12 300	15 500	–
	$\overline{M_w}$	27 800	–	–	44 500	99 300	–
	Đ	4,9	–	–	3,6	6,4	–
SEC dans le DMF (conditions 3)	$\overline{M_n}$	5 600	8 600	–	5 600	10 800	10 500
	$\overline{M_w}$	21 000	32 900	–	79 500	78 900	139 000
	Đ	3,8	3,9	–	28,7	7,3	13,3
$\overline{M_n}$ RMN (g/mol)		5 200	9 400	6 900	8 200	12 100	15 100

Tableau 4. Résultats obtenus en SEC.

Seules les valeurs de $\overline{M_n}$ déterminées en SEC dans les conditions 2 (calibration universelle, solvant : DMSO) peuvent être comparées aux valeurs de $\overline{M_n}$ issues des analyses RMN. Les valeurs de $\overline{M_n}$ déterminées en SEC et en RMN sont similaires (tableau 4). Cependant, les données ne permettent de comparer les trois PHUs stimulables du lot 1 avec ceux du lot 2.

Dans les conditions 2, la dispersité des polymères est élevée (entre 3,6 et 6,4) en comparaison avec celle du (SB-HM)-PHU (Đ = 2,3). Il est difficile de dire si ces valeurs élevées sont caractéristiques des polymères ou inhérentes aux conditions d'analyses. Dans le premier cas, elles peuvent être expliquées par la présence de plusieurs populations de masse molaire. Dans le second, elles peuvent être expliquées par la présence d'oligomères pouvant interagir avec la colonne[43] (et ce malgré l'étape de purification censée en éliminer une grande partie[23]).

Un chromatogramme type des trois polymères (lot 2, conditions 3, détection en indice de réfraction RI) est présenté sur la figure 5. Les pics présents pour des volumes d'élution supérieurs à 8,5 ml peuvent être attribués à des oligomères. Le chromatogramme violet indique que des oligomères sont présents dans le (SB-HM)-PHU malgré sa faible dispersité (Đ = 3,9). La dispersité élevée des PHUs stimulables n'est donc pas liée à la présence d'oligomères mais plutôt à la présence de plusieurs populations de masse molaire (et donc plusieurs pics), comme cela est visible pour le prop-PHU (Đ = 28,7) et le pip-PHU (Đ = 13,3).

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

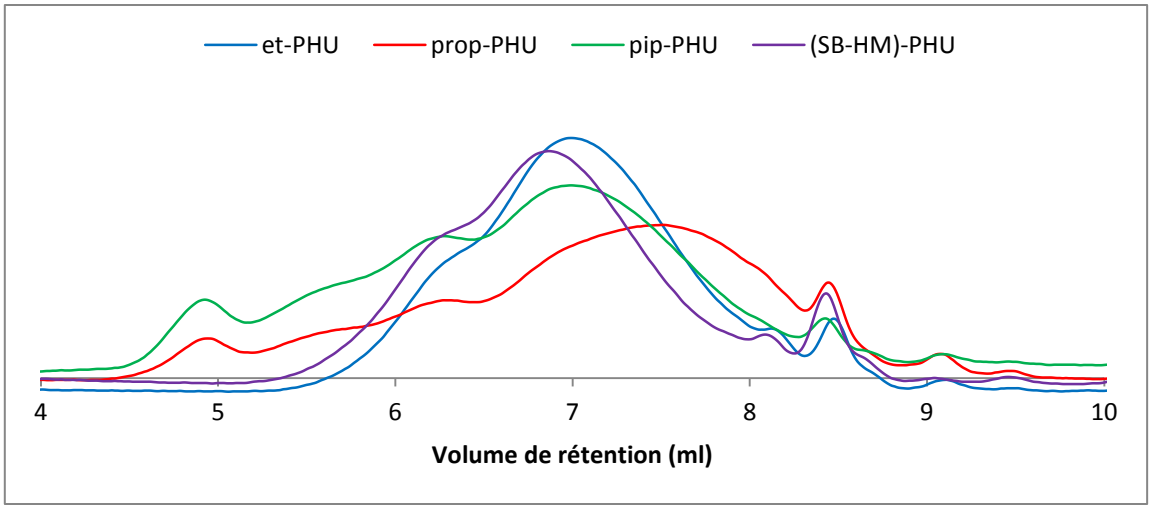


Figure 5. Chromatogrammes typiques de l'et-PHU, du prop-PHU, du pip-PHU (lot 2) et du (SB-HM)-PHU (éluant : DMF/LiBr, détecteur RI, conditions 3).

Pour un même lot et un même polymère, les valeurs de $\overline{M_n}$ et $\overline{M_w}$ sont différentes d'une condition d'analyse à l'autre, ce qui n'est pas surprenant. De manière générale, les valeurs de $\overline{M_n}$ et $\overline{M_w}$ sont plus élevée dans les conditions 1 (solvant : DMSO) que dans les conditions 3 (solvant : DMF). Dans les conditions 1 et 3, les valeurs de $\overline{M_w}$ obtenues en SEC sont beaucoup plus élevées pour les polymères du lot 2 que pour ceux du lot 1, ce qui semble indiquer que plus la quantité de monomères est élevée en début de réaction, plus la $\overline{M_w}$ du polymère est élevée. Cependant, la fiabilité de ce résultat est discutable du fait des possibles interactions polymère-colonne que nous avons évoquées plus tôt.

En s'appuyant sur les résultats présents dans la littérature, il est possible d'expliquer pourquoi l'et-PHU a une masse molaire inférieure à celles du prop-PHU ou du pip-PHU.

La réactivité des différentes diamines vis-à-vis du SB bis-CC pourrait expliquer les valeurs de masse molaire des PHUs stimulables. De manière générale, la réactivité d'une diamine augmente avec sa nucléophilie[51]. A priori, la prop-DA et la pip-DA sont plus nucléophiles que l'et-DA et donc plus réactive car pour cette dernière molécule, l'atome d'azote de la fonction amine tertiaire – qui est un groupe inductif attracteur – est plus proche des deux amines primaires.

D'autre part, la diamine joue aussi le rôle de catalyseur basique[52] dans le mécanisme d'attaque nucléophile et d'ouverture du cycle carbonate. Nous pouvons donc comparer le pKa de la fonction amine tertiaire des trois diamines en utilisant le logiciel ACD/labs :

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

$$\mathrm{pKa\ (et-Da)\ =\ 9{,}9\ \pm\ 0{,}1} \quad (6)$$

$$\mathrm{pKa\ (prop-Da)\ =\ 10{,}5\ \pm\ 0{,}1} \quad (7)$$

$$\mathrm{pKa\ (pip-Da)\ =\ 10{,}7\ \pm\ 0{,}1} \quad (8)$$

La pip-DA et la prop-DA sont légèrement plus basiques que l'et-DA. Il est donc possible que ces diamines favorisent davantage la réaction d'aminolyse et la formation de chaines macromoléculaires de masses élevées.

IV.1.4. Propriétés thermiques des PHUs stimulables

- Analyse thermogravimétrique

Les trois PHUs stimulables ont été analysés en analyse thermogravimétrique de la même manière que le (SB-HM)-PHU (chapitre II). Les thermogrammes annotés du lot 2 des trois polymères sont présentés sur les figures 6 à 8. Les courbes en rouge représentent l'évolution du pourcentage massique d'échantillon dans la nacelle en fonction de la température. Les courbes en noir représentent la dérivée première de cette fonction par rapport à la température.

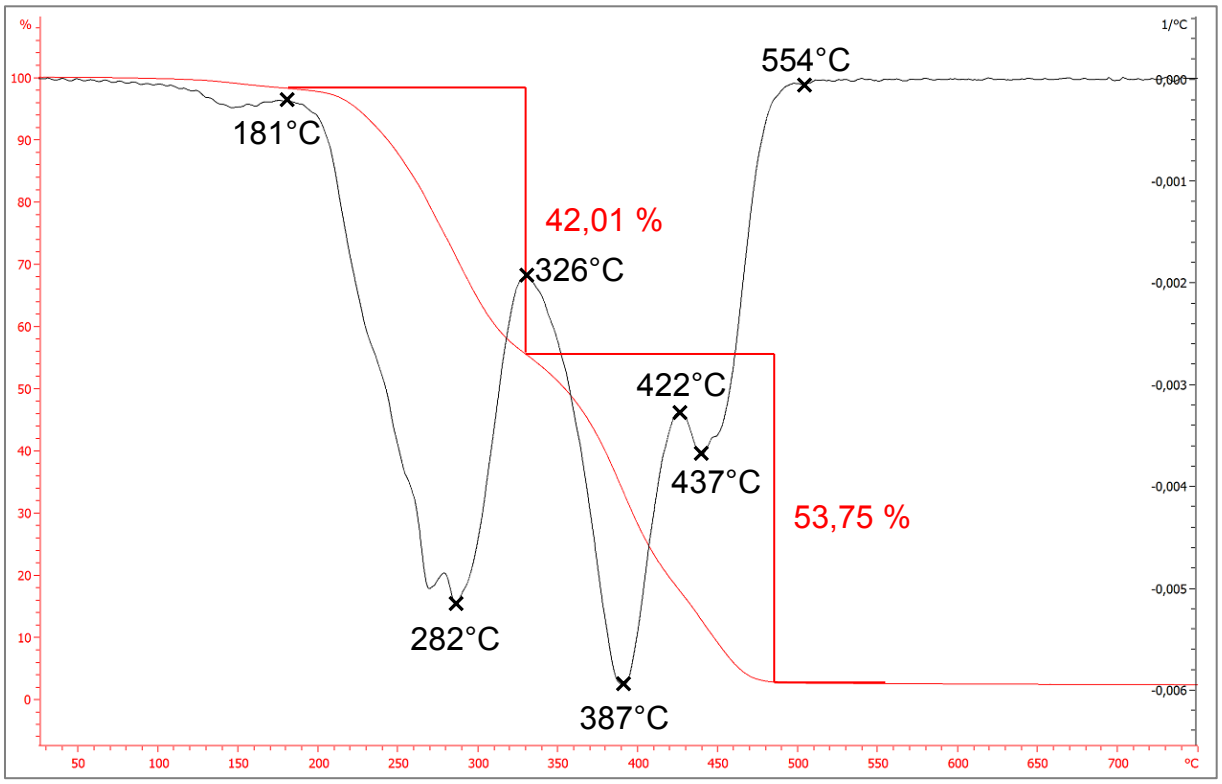


Figure 6. Spectre ATG de l'et-PHU (lot 2).

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

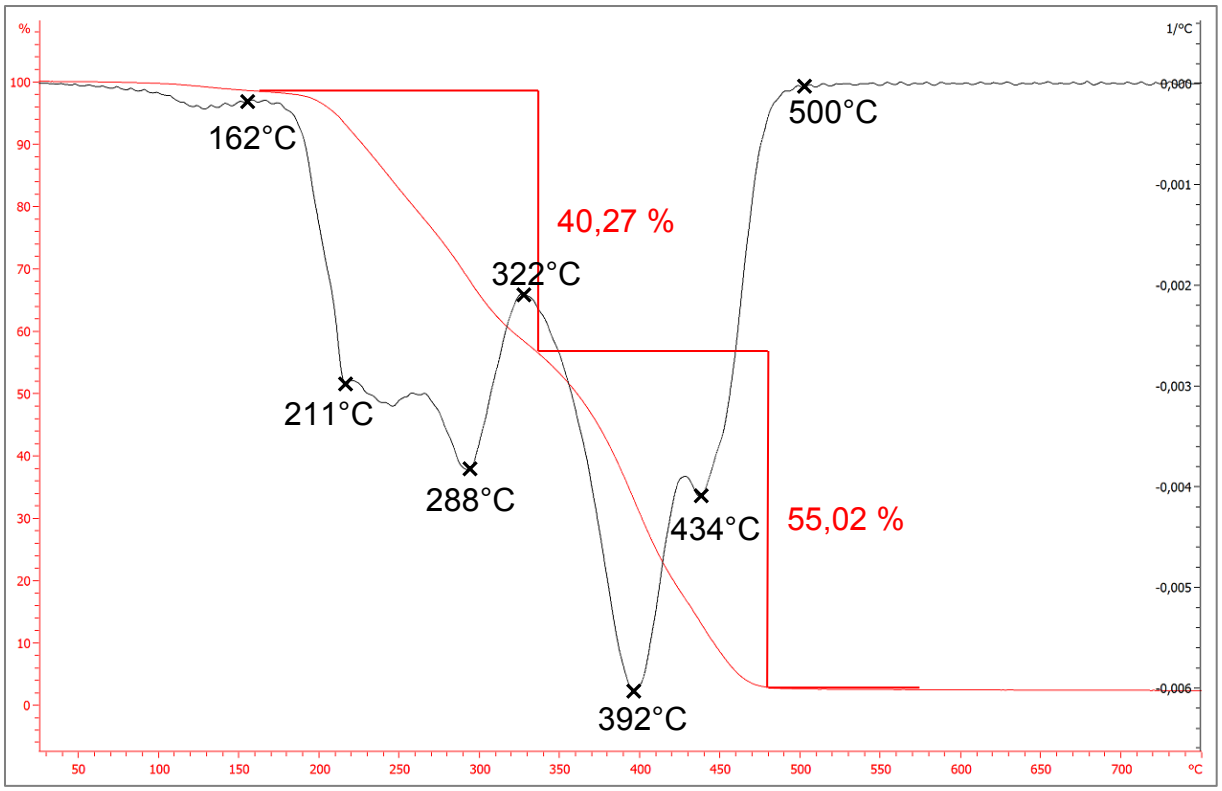


Figure 7. Spectre ATG du prop-PHU (lot 2).

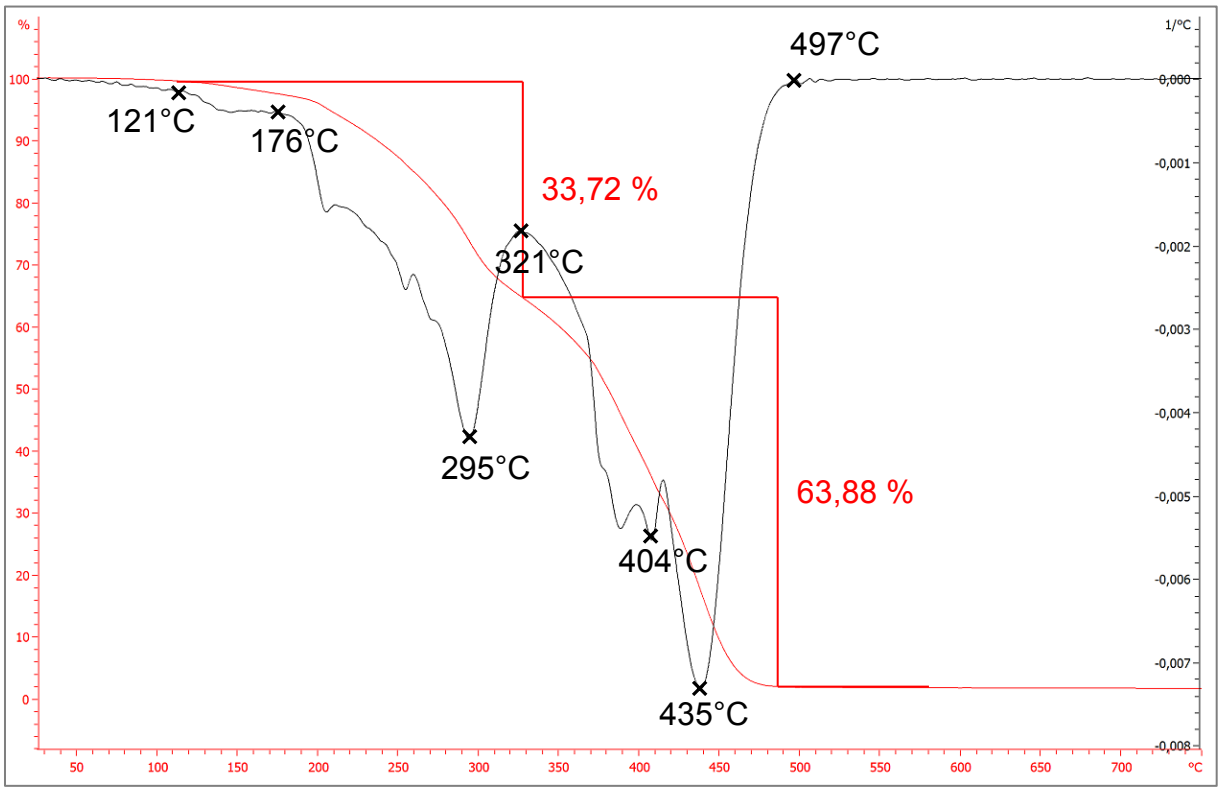


Figure 8. Spectre ATG du pip-PHU (lot 2).

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

La perte de masse − entre 4 et 5 % − qui a lieu avant le début de la dégradation des polymères correspond à l'évaporation des traces de solvants (en particulier le DMF qui est peu volatil) et d'eau (les trois polymères étant relativement hygroscopiques).

La dégradation des trois polymères intervient aux mêmes températures : on observe deux minimums sur la courbe de la dérivée première (le premier minimum entre 280°C et 295°C, le second entre 390°C et 435°C). Comme pour le (SB-HM)-PHU, la première dégradation des PHUs stimulables correspond à la rupture de la liaison uréthane[43, 48, 53], tandis que la seconde correspond à la rupture des fonctions carbonate et ester[54]. La dégradation de l'et-PHU a lieu entre 180 et 550°C, celle du prop-PHU entre 160 et 500°C et celle du pip-PHU entre 175 et 500°C. La dégradation débute à peu près à la même température pour les trois polymères. Des valeurs similaires sont rapportées pour d'autres PHUs aliphatiques étudiées dans la littérature[31, 49]. Cependant, la dégradation du (SB-HM)-PHU (étudiée au chapitre II) commence à plus haute température, vers 220°C. Cette différence peut s'expliquer par la présence des fonctions amine tertiaire sur les chaînes polymères, car l'énergie de dissociation de la fonction C–N est inférieure (147 kJ/mol[55]) à celle de la liaison C–C (305 kJ/mol[55]).

Nous n'avons pas réalisé d'analyse ATG-GC-MS ou ATG-GC-FTIR pour déterminer la nature des produits formés lors de la dégradation des PHUs stimulables. Néanmoins, Besse *et al.* ont montré par ATG-IR que la dégradation d'un poly(hydroxy)uréthane produit à partir d'un bis-CC issu de l'isosorbide et d'une diamine aromatique dégage seulement du CO_2, des amines secondaires et des alcanes ; aucun isocyanate, alcool ou alcène n'est détecté[43]. Ubagh soutient quant à lui que dans le cas d'un NIPU sans hydroxyle obtenu par polycondensation catalysée d'un carbamate et d'un glycérol, la dégradation de la fonction uréthane produit des isocyanates lorsque le 1,4-diaminobutane, le 1,5-diaminopentane, ou le 1,6-diaminohexane sont utilisés[56].

En comparant les trois thermogrammes à celui obtenu pour le (SB-HM)-PHU (figure 4 du chapitre II), nous observons sur les courbes dérivées que la première dégradation n'apparait pas sous la forme d'un pic bien défini, mais sous la forme de deux pics très proches pour l'et-PHU (270°C et 280°C), de deux pics plus éloignés pour le prop-PHU (210°C et 290°C) et d'un massif pour le pip-PHU (de 175°C à 295°C). Ces pics supplémentaires présents sur les thermogrammes des PHUs stimulables correspondent certainement à la rupture des liaisons C–N des fonctions amine tertiaire.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

- Calorimétrie différentielle à balayage

Les transitions de phases des lots 1 et 2 des trois PHUs stimulables ont été étudiées en calorimétrie différentielle à balayage (DSC). Les conditions expérimentales des analyses sont les mêmes que celles qui ont été décrites dans le chapitre II. Les températures de transition de phase T_g ont été déterminées en utilisant la fonction « onset point » du logiciel TA Universal Analysis. Les thermogrammes des PHUs stimulables du lot 2 sont présentés sur les figures 9 à 11.

Les trois polymères sont amorphes – puisqu'aucun pic endothermique ou exothermique n'est observé – et ont une température de transition vitreuse T_g basse (entre -10°C et 0°C). Leur comportement thermique est similaire au (SB-HM)-PHU, ou encore au poly(hydroxy)uréthane aliphatique synthétisé par Carre *et al.*[57] Lors du second cycle thermique, la transition vitreuse est plus marquée durant le chauffage, avec un léger endotherme attribuable au vieillissement thermique subi par les échantillons lors du premier cycle[58].

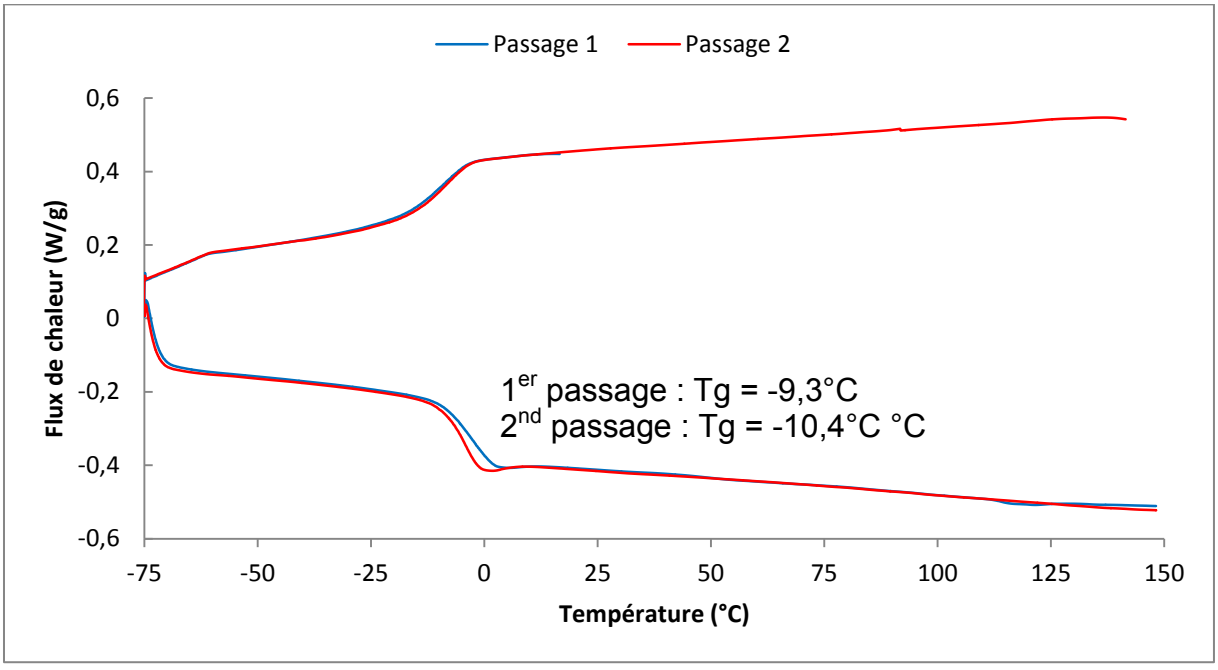


Figure 9. Spectre DSC de l'et-PHU (lot 2).

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

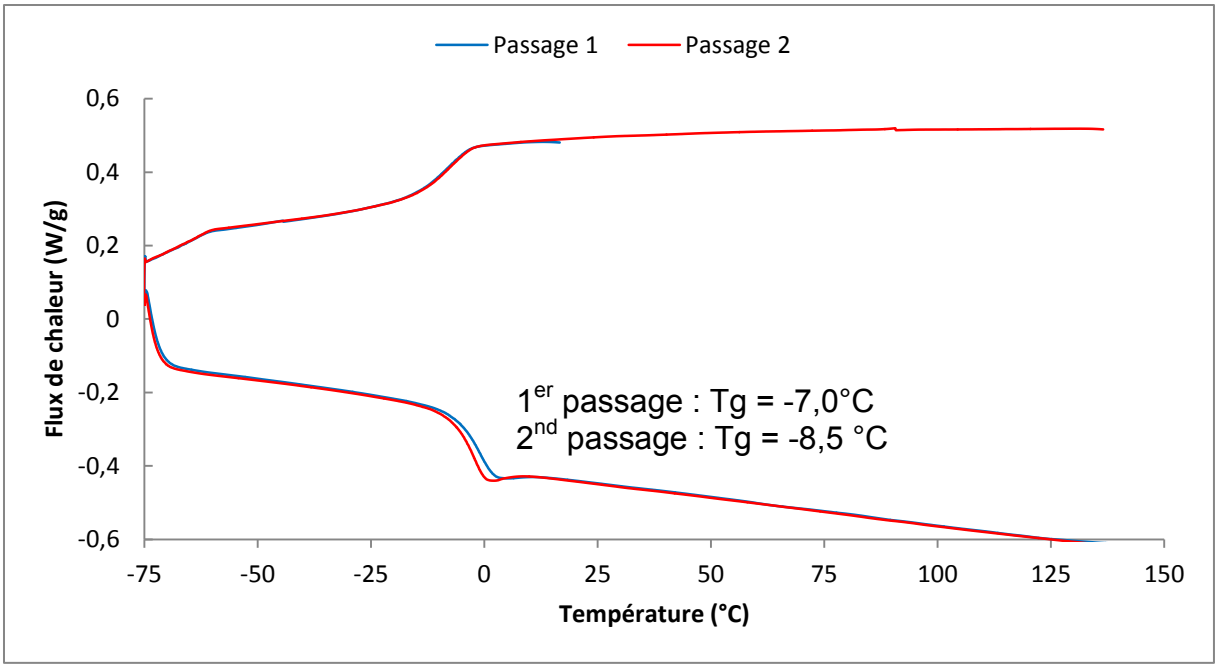


Figure 10. Spectre DSC du prop-PHU (lot 2).

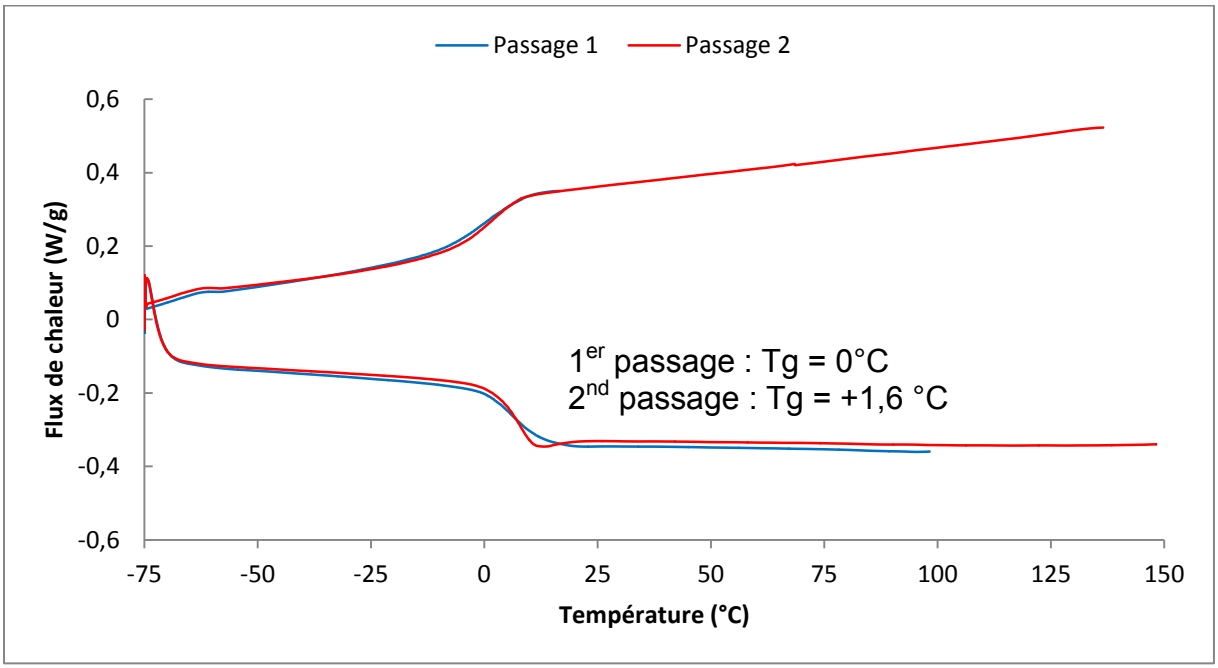


Figure 11. Spectre DSC du pip-PHU (lot 2).

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Les températures de transition vitreuse ont été mesurées deux fois pour chaque polymère du lot 1 et du lot 2. Les moyennes et écart-types des deux valeurs sont affichées dans le tableau 6.

	et-PHU		prop-PHU		pip-PHU	
	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2
T_g (°C)	-6,8 ± 3,2	-10,9 ± 1,1	-14,1 ± 1,7	-8,5 ± 0,9	5,0 ± 1,8	0,3 ± 1,1
$\overline{M_n}$ RMN (g/mol)	5 200	9 400	6 900	8 200	12 100	15 100

Tableau 5. Valeurs des T_g obtenues en DSC pour les lots 1 et 2.

Quel que soit le lot, la T_g du pip-PHU est toujours plus élevée que celle de l'et-PHU ou du prop-PHU. La T_g du lot 1 de l'et-PHU et du pip-PHU est supérieure à celle du lot 2, mais celle du lot 1 du prop-PHU est inférieure à celle du lot 2. La T_g de l'et-PHU est supérieure à celle du prop-PHU pour le lot 1 mais inférieure pour le lot 2. Les T_g du lot 2 d'et-PHU et de prop-PHU sont néanmoins très proches, ce qui rend la comparaison plus difficile.

Nous avons essayé d'expliquer les différentes valeurs de T_g pour les trois polymères d'une part et pour les deux lots de chaque polymère d'autre part. De manière générale, une augmentation de la masse molaire d'un polymère induit une augmentation de sa température de transition vitreuse[59]. Nous observons bien une augmentation de la T_g du prop-PHU avec $\overline{M_n}$, mais le phénomène inverse est observé pour l'et-PHU.

A masse molaire égale, l'augmentation de la rigidité d'un polymère et de la longueur de la chaine alkyle de l'unité monomère induisent une augmentation de la T_g[60, 61]. Ces observations sont vérifiées dans le cas des poly(hydroxy)uréthanes[31, 50, 62]. Le pip-PHU est plus rigide que les deux autres polymères par la présence du cycle aliphatique.

La densité de liaisons hydrogène (d_h) influence également la valeur de T_g[63]. Plus elle est élevée, plus la T_g est élevée. d_h est définie par :

$$d_h = \frac{N_h}{M} \quad (9)$$

Avec N_h le nombre de donneurs et d'accepteurs de liaisons hydrogène par unité de répétition et M la masse molaire de l'unité de répétition du polymère. d_h est égale à 0,024 pour l'et-PHU, 0,023 pour le prop-PHU, 0,023 pour le pip-PHU et 0,023 pour le (SB-HM)-PHU. La densité de liaisons hydrogène est légèrement plus élevée pour l'et-PHU que pour le prop-PHU

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

donc la T_g de l'et-PHU devrait être supérieure à celle du prop-PHU. Expérimentalement, ceci est le cas pour le lot 1.

La différence de T_g entre les deux lots de pip-PHU pourrait s'expliquer par les différentes conformations possibles du groupe dérivé de la pipérazine (figure 12).

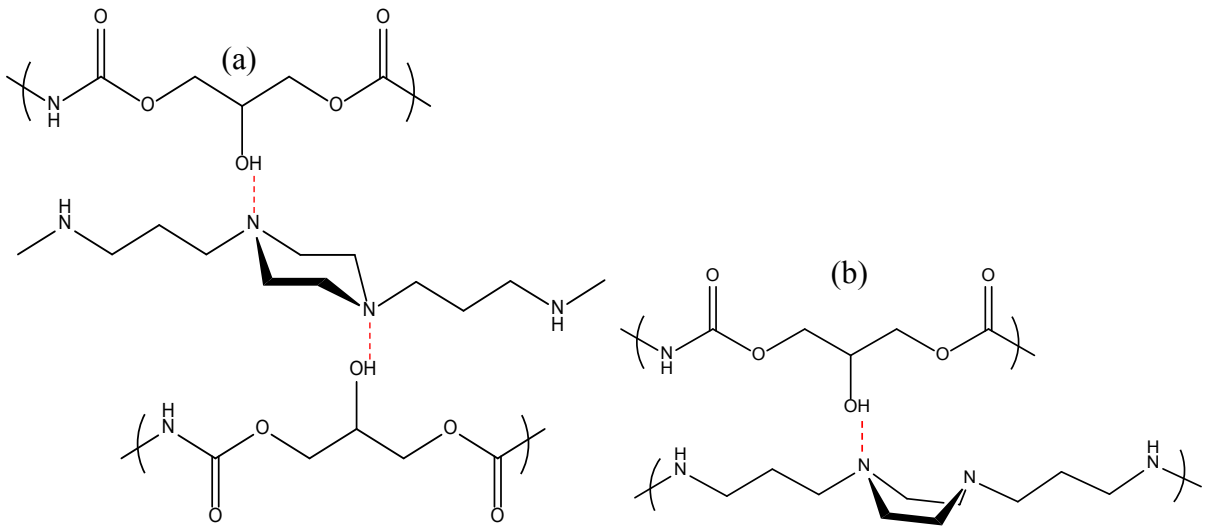


Figure 12. Liaisons hydrogène entre des fonctions hydroxyles et une fonction pipérazine en conformation chaise (a) ou en conformation bateau (b).

La conformation 'chaise' permettrait de créer deux fois plus de liaisons hydrogène que la conformation 'bateau'. Nous pouvons supposer que la conformation 'chaise' est plus présente dans le lot 1 de pip-PHU que dans le lot 2 sans pouvoir expliquer ce résultat.

IV.1.5. Interactions entre les PHUs stimulables et le DMSO

Comme nous le verrons plus loin, le solvant organique choisi pour la nanoprécipitation de l'et-PHU, du prop-PHU et du pip-PHU est le DMSO. De la même manière que dans le chapitre III.1.2, il est possible d'estimer les interactions entre ces polymères et le DMSO en déterminant la viscosité intrinsèque et le paramètre de Huggins des solutions correspondantes. Les interactions solvant-polymère peuvent permettre de prévoir les caractéristiques des nanoparticules obtenues par nanoprécipitation de ces polymères.

Des solutions d'et-PHU, de prop-PHU et de pip-PHU dans du DMSO ont été caractérisées par viscosimétrie. La méthode expérimentale est identique à celle détaillée lors de la caractérisation des solutions de (SB-HM)-PHU dans du DMSO ou du THF (chapitre III.1.2.1). Le capillaire utilisé est le capillaire de type I.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

IV.1.5.1. Détermination des coefficients de Huggins

L'évolution des viscosités réduite et inhérente en fonction de la concentration en et-PHU, prop-PHU et pip-PHU est présentée sur les figures 13, 14 et 15 respectivement. Les courbes de la viscosité réduite η_{red} sont approximées par des droites définies par l'équation de Huggins[64] (équation 3 du chapitre III) tandis que les courbes de la viscosité inhérente η_{inh} sont approximées par des droites définies par l'équation de Kraemer[65] (équation 5 du chapitre III).

Les six droites sont obtenues avec un coefficient de détermination R^2 supérieur à 0,92.

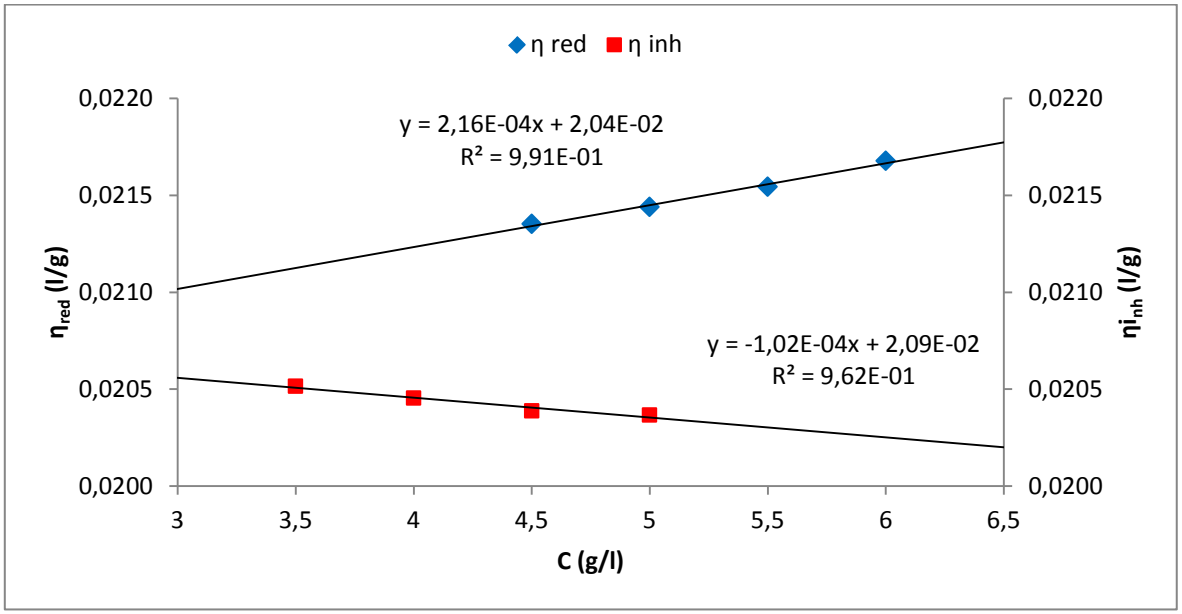


Figure 13. Evolution des viscosités réduite et inhérente de la solution d'et-PHU dans le DMSO en fonction de la concentration en et-PHU (T = 25°C).

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

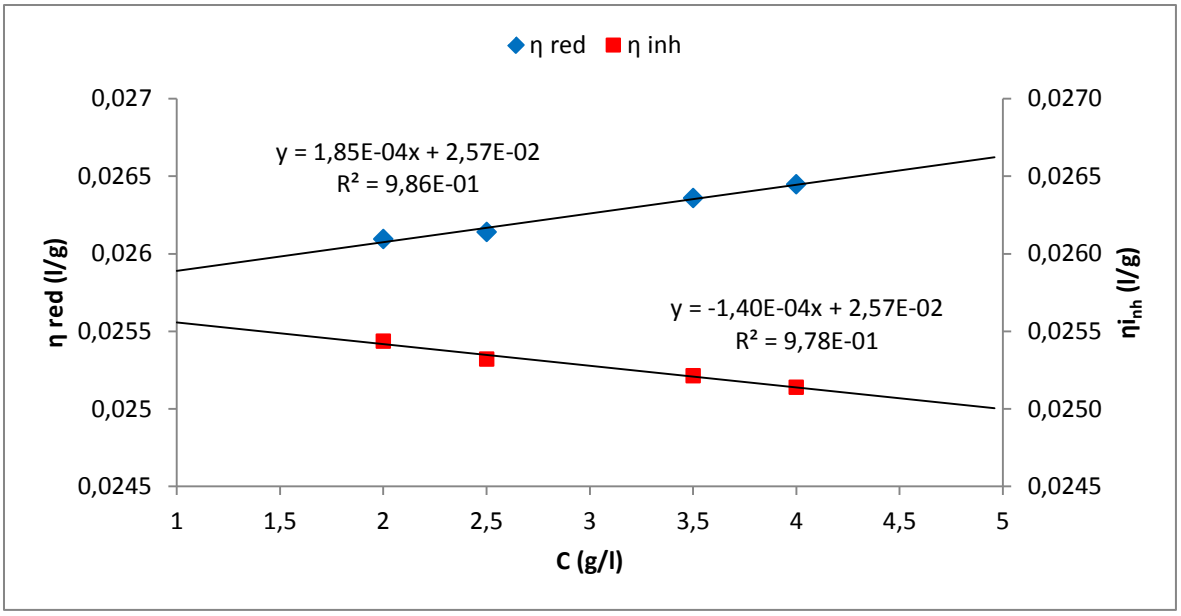


Figure 14. Evolution des viscosités réduite et inhérente de la solution du prop-PHU dans le DMSO en fonction de la concentration en prop-PHU (T = 25°C).

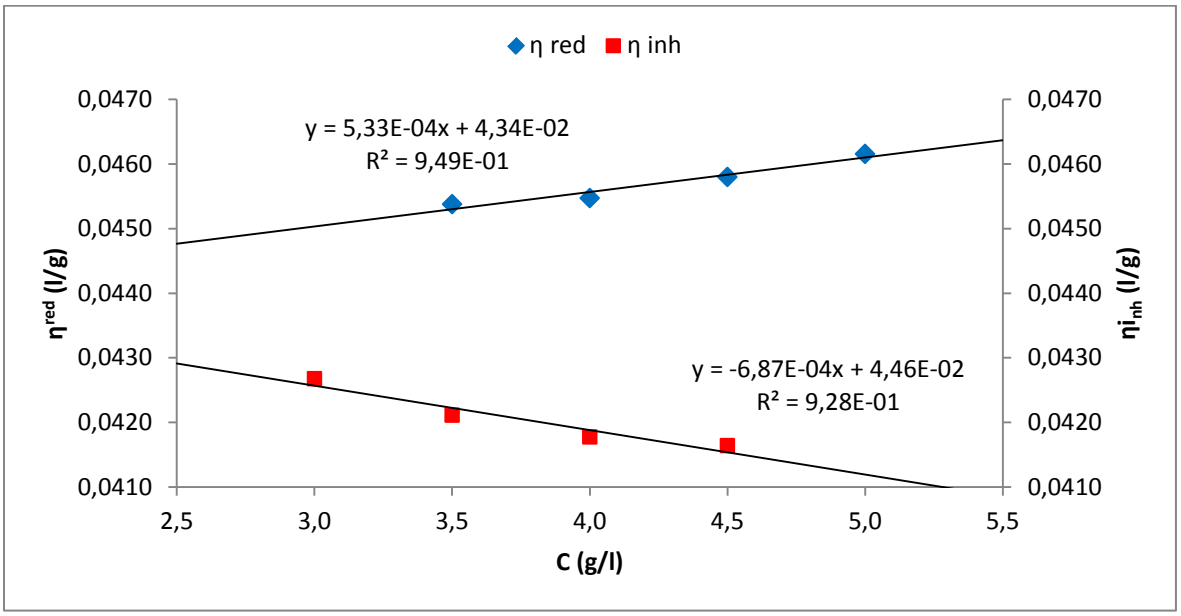


Figure 15. Evolution des viscosités réduite et inhérente de la solution du pip-PHU dans le DMSO en fonction de la concentration en pip-PHU (T = 25°C).

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Les valeurs des viscosités intrinsèques [η] et des différents coefficients k et k' sont présentés dans le tableau 7.

		et-PHU	prop-PHU	pip-PHU
Valeurs obtenues à partir de η_{red}	[η] (dl/g)	0,204	0,257	0,434
	k	0,51	0,28	0,28
Valeurs obtenues à partir de η_{inh}	[η] (dl/g)	0,209	0,257	0,446
	k'	0,23	0,22	0,35

Tableau 6. Viscosité intrinsèque et coefficient de Huggins des PHUs stimulables.

Etant donné que les trois PHUs stimulables ont des masses molaires différentes, il est inutile de comparer les valeurs de leur viscosité intrinsèque. L'étude du comportement de ces polymères dans le DMSO a donc été réalisée à partir des valeurs du paramètre de Huggins k.

Au vu des valeurs de k, à 25°C, le DMSO apparaît être un bon solvant du prop-PHU et du pip-PHU et un solvant thêta de l'et-PHU. D'après Legrand *et al*., un solvant thêta d'un polymère permet l'obtention des nanoparticules de plus faible taille dans les mêmes conditions expérimentales de nanoprécipitation[66]. Le DMSO est donc un solvant particulièrement adapté pour la nanoprécipitation de l'et-PHU.

IV.1.5.2. Calcul des paramètres de Flory

Le paramètre de Flory permet également d'estimer les interactions entre polymère et solvant. Il peut être calculé pour chaque couple PHU stimulable-DMSO. Les paramètres de Flory des trois polymères, calculés à partir de l'équation 6 du paragraphe III.1.3.1, sont présentés dans le tableau suivant :

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

	et-PHU	prop-PHU	pip-PHU
Contribution dispersive δ_d $(J/cm^3)^{1/2}$	19,4	19,1	20,7
Contribution polaire δ_p $(J/cm^3)^{1/2}$	4,0	3,7	3,9
Contribution hydrogène δ_h $(J/cm^3)^{1/2}$	14,6	14,0	14,0
Paramètre de solubilité δ $(J/cm^3)^{1/2}$	24,5	24,0	25,4
Paramètre de Flory $\chi_{polymère\text{-}DMSO}$	0,69	1,19	0,30

Tableau 7. Paramètres de solubilité et de Flory des trois PHUs stimulables.

Au vu des valeurs du paramètre de Flory des trois PHUs stimulables, il semble que le DMSO soit un bon solvant pour le pip-PH et un mauvais solvant pour l'et-PHU et le prop-PHU. En comparant la nanoprécipitation de plusieurs polymères dans un même solvant, plusieurs auteurs[67, 68] ont rapporté qu'une augmentation du paramètre de Flory induisait une diminution de la taille des particules. En suivant ce raisonnement, nous pouvons supposer que la nanoprécipitation du prop-PHU conduit à la formation de nanoparticules de plus faible taille tandis que celle du pip-PHU aboutit aux nanoparticules de tailles plus élevées.

IV.1.5.3. Conclusion

La comparaison des paramètres de Flory nous permet de supposer que les nanoparticules de taille la plus faible seront obtenues par nanoprécipitation du prop-PHU. En revanche, en nous basant sur la comparaison et des paramètres de Huggins, nous pouvons supposer que dans les mêmes conditions de nanoprécipitation, les nanoparticules de plus faible taille seront obtenues à partir d'et-PHU. Cette seconde hypothèse est plus fiable que celle basée sur la comparaison des paramètres de Flory car elle s'appuie sur des résultats expérimentaux et non des calculs théoriques indicatifs.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

IV.2. Nanoprécipitation de l'et-PHU, du prop-PHU et du pip-PHU

Nous avons préparé des nanosuspensions d'et-PHU, de prop-PHU et de pip-PHU en exploitant les résultats obtenus dans le chapitre III (III.2.2.4.1). Le solvant organique utilisé est le DMSO. Les paramètres expérimentaux – en particulier la concentration de SDS dans la phase aqueuse – ont été ajustés de manière à obtenir des nanoparticules monodisperses (PDI < 0,2) et de taille au moins inférieure à 200 nm. Après élimination du DMSO par dialyse, nous avons étudié la réponse en taille des nanoparticules à des variations de pH ou de température.

IV.2.1. Protocole expérimental

La quantité de polymères issus des lots 1 n'étant pas suffisante, ce sont les trois polymères des lots 2 qui ont été utilisés pour la nanoprécipitation, Le protocole expérimental de nanoprécipitation d'et-PHU, de prop-PHU et de pip-PHU est basé sur celui développé durant le plan d'expériences décrit dans le chapitre III (III.2.1.4). Une masse *m* de polymère est solubilisée dans 25 ml de DMSO durant une nuit afin d'obtenir une phase organique de concentration *C* en polymère. Une masse m_{sds} de SDS est solubilisé dans de l'eau permutée afin d'obtenir une phase aqueuse de concentration *[SDS]* en tensio-actif. A 24°C, la phase organique est chargée dans une seringue (BD Plastipak, H 851 ES, 50 ml) puis versée au goutte-à-goutte dans un bécher de 200 ml contenant la phase aqueuse sous agitation magnétique à 500 rpm. Le débit d'addition est fixé à 35 ml/h à l'aide d'un pousse-seringue.

Le DMSO est éliminé par dialyse. La nanosuspension est introduite dans un sac de dialyse en cellulose régénérée (RC Spectrum Labs, porosité : 1 000 g/mol), fermé aux deux extrémités à l'aide de pinces de dialyses. Le sac est immergé dans un bécher de 5L sous agitation magnétique. Le bain de dialyse est changé trois fois : les deux premières fois après 5h, la troisième fois après une nuit (14h). L'efficacité de la méthode d'élimination du DMSO a été vérifiée par HPLC (voir annexe IV.3.1).

Nous avons fixé le volume d'eau à 50 ml pour toutes les expériences afin d'obtenir une concentration de nanoparticules élevée dans la nanosuspension. Nous avons réalisé plusieurs expériences de nanoprécipitation en conservant une concentration en polymère de 1 ou 2 g/l et en ajustant la concentration en SDS dans la phase aqueuse de manière à éviter la formation de micelles dans la phase dispersante. Pour chaque polymère, l'essai de nanoprécipitation a été

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

réalisé trois fois. Le numéro de chaque échantillon est précédé des lettres et, pr ou pip selon que le polymère utilisé est l'et-PHU, le prop-PHU ou le pip-PHU respectivement.

IV.2.2. Résultats

Les résultats des expériences de nanoprécipation de l'et-PHU, du prop-PHU et du pip-PHU sont présentés dans le tableau 8.

Essai	Polymère	Dialyse	Concentration en polymère (g/l)	Volume d'eau (ml)	Concentration en SDS (mmol/L)	PDI	Z-average (nm)
et1	Et-PHU	Avant	1	50	10,4	0,13	73
		Après				0,20	49
et2		Avant				0,12	75
		Après				0,16	54
et3		Avant				0,15	68
		Après				0,15	54
pr1	Prop-PHU	Avant	2	50	10,4	0,16	78
		Après				0,18	74
pr2		Avant				0,15	98
		Après				0,14	103
pr3		Avant				0,18	83
		Après				0,16	88
pip1	Pip-PHU	Avant	1	50	6,9	0,13	89
		Après				0,14	87
pip2		Avant				0,11	101
		Après				0,14	93
pip3		Avant				0,13	112
		Après				0,18	102
pip4		Avant				0,17	98
		Après				0,17	88

Tableau 8. Z-average et PDI des nanosuspensions d'et-PHU, de prop-PHU et de pip-PHU.

Le PDI de tous les échantillons est inférieur à 0,2 et varie peu au cours de l'étape de dialyse. Les nanoparticules sont donc monodisperses. L'étape de dialyse n'induit pas de modification significative de la taille des nanoparticules des échantillons pr1, pr2, pr3, pip1 et pip2.Elle induit cependant une diminution de la taille des nanoparticules pour les échantillons et1, et2, et3, pip3 et pip4 (entre 10 et 24 nm) et une augmentation de la taille des nanoparticules pour l'échantillon pr3 (de 20 nm). Afin d'expliquer la diminution de la taille des nanoparticules dans la plupart des échantillons, nous proposons l'hypothèse suivante : avant la dialyse, le

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

DMSO se partage entre le milieu dispersant et les nanoparticules et provoque leur gonflement. Lors de la dialyse, l'élimination du DMSO provoque la déplétion des nanoparticules.

Avant ou après la dialyse, les nanoparticules de plus faibles tailles sont celles d'et-PHU (environ 75 nm avant dialyse et 50 nm après) tandis que les nanoparticules de prop-PHU et de pip-PHU sont de tailles similaires plus élevées (entre 80 et 100 nm). Ces résultats sont en accord avec les valeurs du coefficient de Huggins (IV.1.7) qui indiquaient que le DMSO est un solvant thêta de l'et-PHU à 25°C et un bon solvant pour les deux autres PHU stimulables.

Les échantillons et3, pr3 et pip3 ont été soumis à des mesures de potentiel zêta. Les valeurs obtenues sont de -42,3 mV, -39,4 mV et -41,2 mV respectivement. Cela indique qu'après dialyse des échantillons, la surface des nanoparticules d'et-PHU, de prop-PHU et de pip-PHU est encore couverte de molécules de SDS adsorbées.

La taille et le PDI des nanoparticules des échantillons et3, pr3 et pip3 dialysés ont été suivies en DLS durant 1 mois. Les mesures ont été réalisées tous les cinq jours (figure 16).

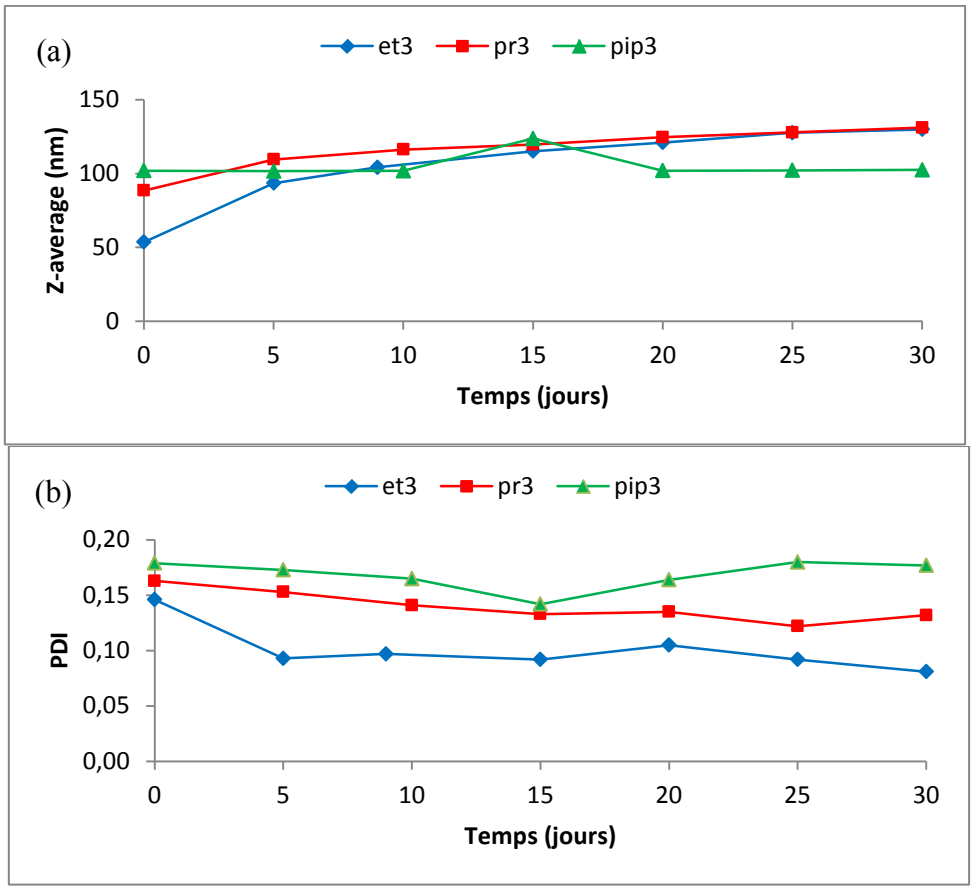


Figure 16. Evolution de la taille des nanoparticules (a) et du PDI (b) des échantillons et3, pr3 et pip3 dialysés.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Au cours des 30 jours qui suivent leur préparation, les trois échantillons conservent un PDI stable et inférieur à 0,20. Les nanoparticules n'ont donc pas subi d'agrégation. La taille des nanoparticules de pip-PHU reste constante au cours du temps. En revanche, celle des nanoparticules d'et-PHU et de prop-PHU augmente progressivement, passant de 88 à 131 nm pour le prop-PHU et de 54 à 128 nm pour l'et-PHU. Nous supposons que l'augmentation de la taille des nanoparticules d'et-PHU et de prop-PHU est due au gonflement des nanoparticules par les molécules d'eau.

IV.2.3. Observations en cryo-MET

Une fois dialysées, les nanoparticules des nanosuspensions et1 (et-PHU), pr1 (prop-PHU) et pip2 (pip-PHU) ont été observées en cryo-microscopie électronique à transmission. Le protocole de préparation des échantillons sur la grille de cuivre avant l'observation est décrit au chapitre III (III.2.4.1). Les images cryo-MET sélectionnées sont présentées dans les figures 17 à 19.

Toutes les nanoparticules observées ont une forme sphérique. Nous notons que les nanoparticules des trois échantillons sont légèrement plus résistantes au faisceau d'électrons que les nanoparticules de (SB-HM)-PHU des échantillons dB, d6, d4 et d8 qui ont été étudiées au chapitre précédent. L'élimination du DMSO pourrait expliquer cette différence. Les interactions hydrophobes et les liaisons hydrogène qui assurent la cohésion des nanoparticules sont plus nombreuses en l'absence de solvant organique dans la solution dispersante.

Les nanoparticules présentes sur les clichés de et1 (figure 17) mesurent entre 60 et 90 nm et sont plutôt monodisperses. Ces observations en cryo-TEM sont cohérentes avec les mesures en DLS (un z-average de 90 nm pour un PDI de 0,11 après 5 jours).

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

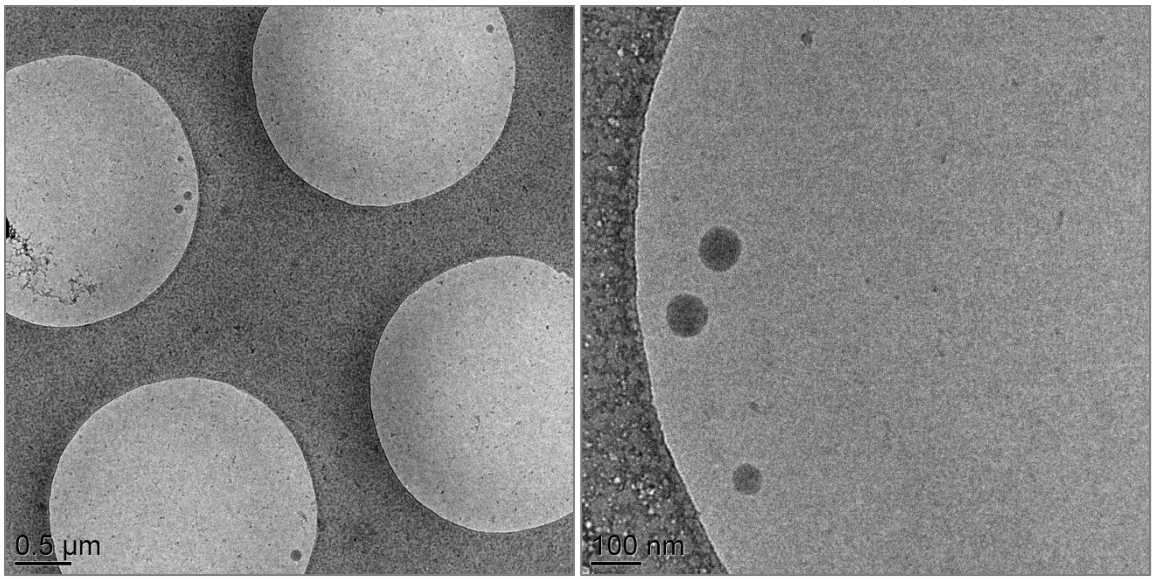


Figure 17. Images cryo-MET de la nanosuspension et1 (et-PHU) (âge : 7 jours).

En ce qui concerne l'échantillon pr1, des nanoparticules de 50 à 80 nm sont présentes en périphérie des trous de la grille de carbone tandis que d'autres, autour de 20 nm, apparaissent plus au centre (figure 18). En DLS, nous avons mesuré une taille de 90 nm pour un PDI de 0,17 après 3 jours, ce qui semble correspondre à la première population de taille de particules observées en MET.

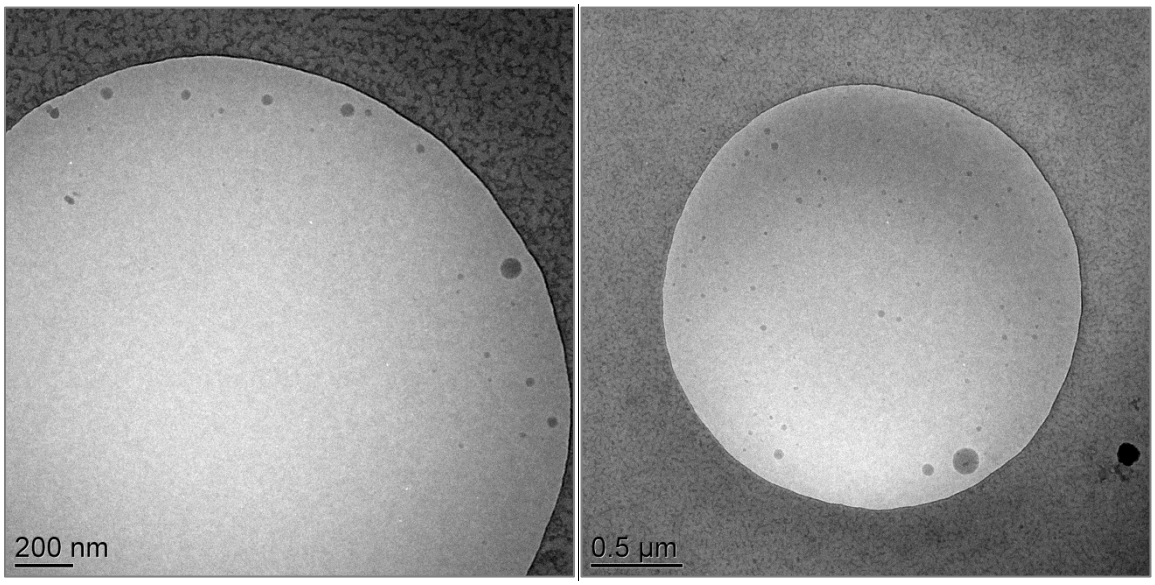


Figure 18. Images cryo-MET de la nanosuspension pr1 (prop-PHU) (âge : 6 jours).

Les nanoparticules de pip-PHU se positionnent en périphérie des trous du film de carbone (figure 19). Leur taille varie entre 40 et 80 nm. Ces observations sont proches des mesures en DLS effectuées après préparation (PDI = 0,14 et z-average = 93 nm).

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

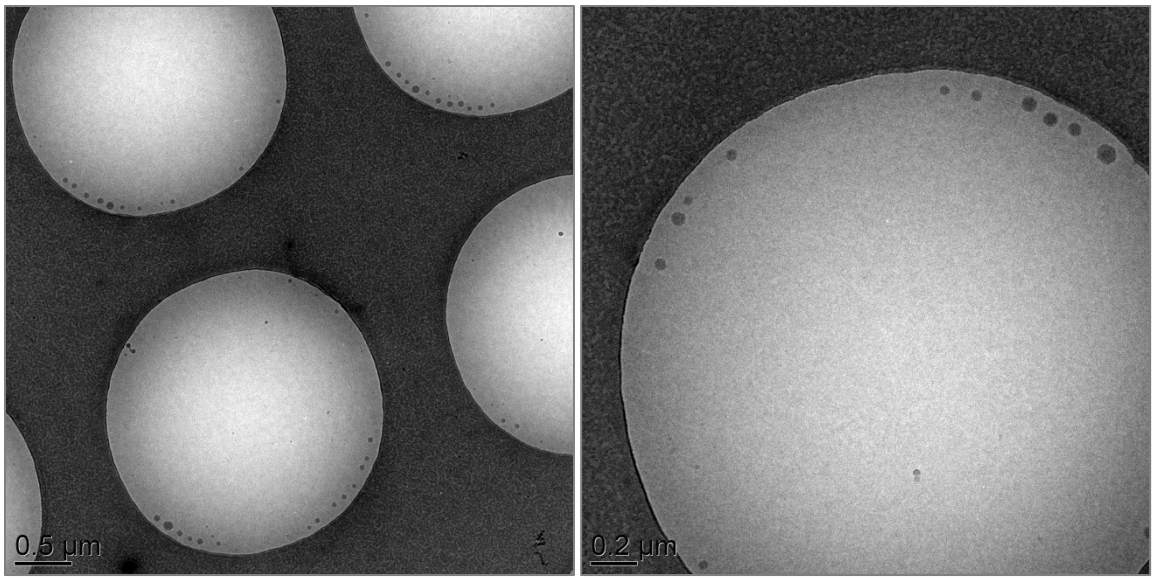


Figure 19. Images cryo-MET de la nanosuspension pip2 (pip-PHU) (âge : 1 jours).

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

IV.3. Etude de la réponse des nanoparticules de PHUs stimulables à des variations de température et de pH

Dans cette troisième partie du chapitre, nous présentons les résultats concernant l'étude du caractère thermo- et pH-stimulable des trois PHUs. En ce qui concerne la réponse en température, nous avons d'abord étudié par spectroscopie infrarouge en transmission les phénomènes de rupture de liaisons hydrogène sur des films de PHUs stimulables. Par la suite, nous avons étudié la réponse des nanosuspensions de PHUs stimulables préparées par nanoprécipitation puis dialysées lors du chauffage progressif de 20 à 60°C ou de l'isotherme à 60°C. L'évolution de la taille des nanoparticules dialysées dans différentes conditions de pH (pH 4,00, pH 7,50 ou eau permutée à 37°C) a également été suivie.

IV.3.1. Suivi par infrarouge de la réponse des PHUs stimulables à une variation en température

La spectroscopie infra-rouge peut permettre de suivre la réponse des polymères à la variation de température. C'est par cette méthode, entre autres, que la transition de phase du polyNIPAm a pu être caractérisée[69]. Dans le cas des polyuréthanes, une élévation de la température entraine une diminution du nombre de liaisons C=O (1690 cm^{-1}) et N−H (3300 cm^{-1}) de la fonction uréthane impliquées dans des liaisons hydrogène[70]. L'évolution de l'intensité de ces bandes d'absorption avec la température est progressive et réversible.

Nous pouvons supposer que les poly(hydroxy)uréthanes se comportent de manière similaire. La différence notable est la participation des fonctions hydroxyle aux liaisons hydrogène intra- et intermoléculaires (figure 20).

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

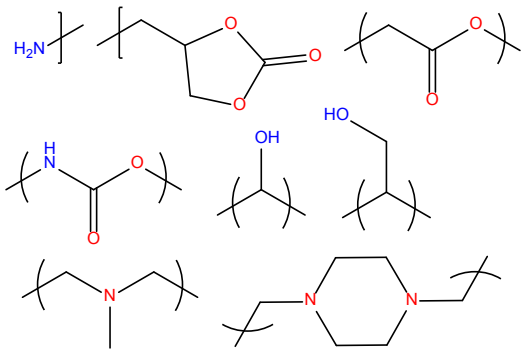


Figure 20. Fonctions présentes dans les PHUs pouvant participer à des interactions hydrogène, en tant que donneur de liaison (rouge) ou accepteur (bleu).

Nous avons voulu vérifier le phénomène de rupture progressif des liaisons hydrogène par infra-rouge en transmission sur des films de (SB-HM)-PHU, d'et-PHU, de prop-PHU et de pip-PHU à différentes températures. Pour ce faire, les quatre polymères ont été solubilisés dans du THF durant une nuit afin d'obtenir quatre solutions à 10 g/l. Quelques gouttes de chaque solution ont été déposées sur une pastille de KBr. L'évaporation du solvant sous hotte permet la formation d'un film de polymère à la surface de la pastille. Chaque pastille a été analysée par FTIR en transmission à différentes températures (25 – 125°C) dans un spectromètre Thermo Scientific Nicolet iS10 équipé d'un module chauffant. Les spectres infrarouge de chaque polymère sont présentés sur les figures 21 à 24. Malheureusement, seuls les échantillons de (SB-HM)-PHU et de prop-PHU ont pu être analysés sur la plage de température [25°C – 125 °C]. A cause de problèmes liés au système d'analyse, l'échantillon d'et-PHU a été analysé sur la plage [65 – 125°C], celui de pip-PHU sur la plage [32 – 63°C].

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

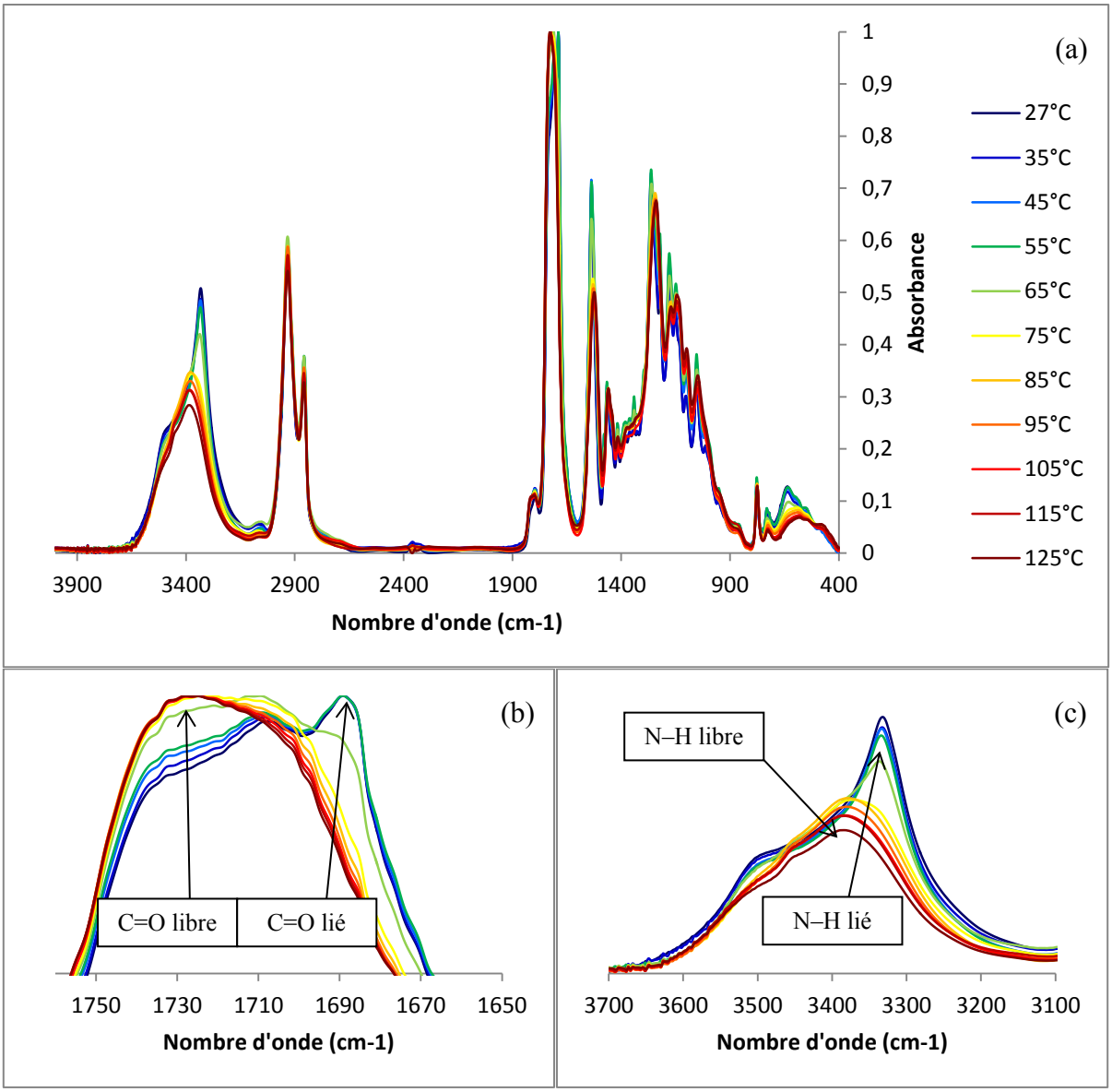


Figure 21. Spectres FTIR en transmission du (SB-HM)-PHU à différentes températures (a), agrandissements sur la zone de la liaison C=O uréthane (b) et de la liaison O–H/N–H (c).

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

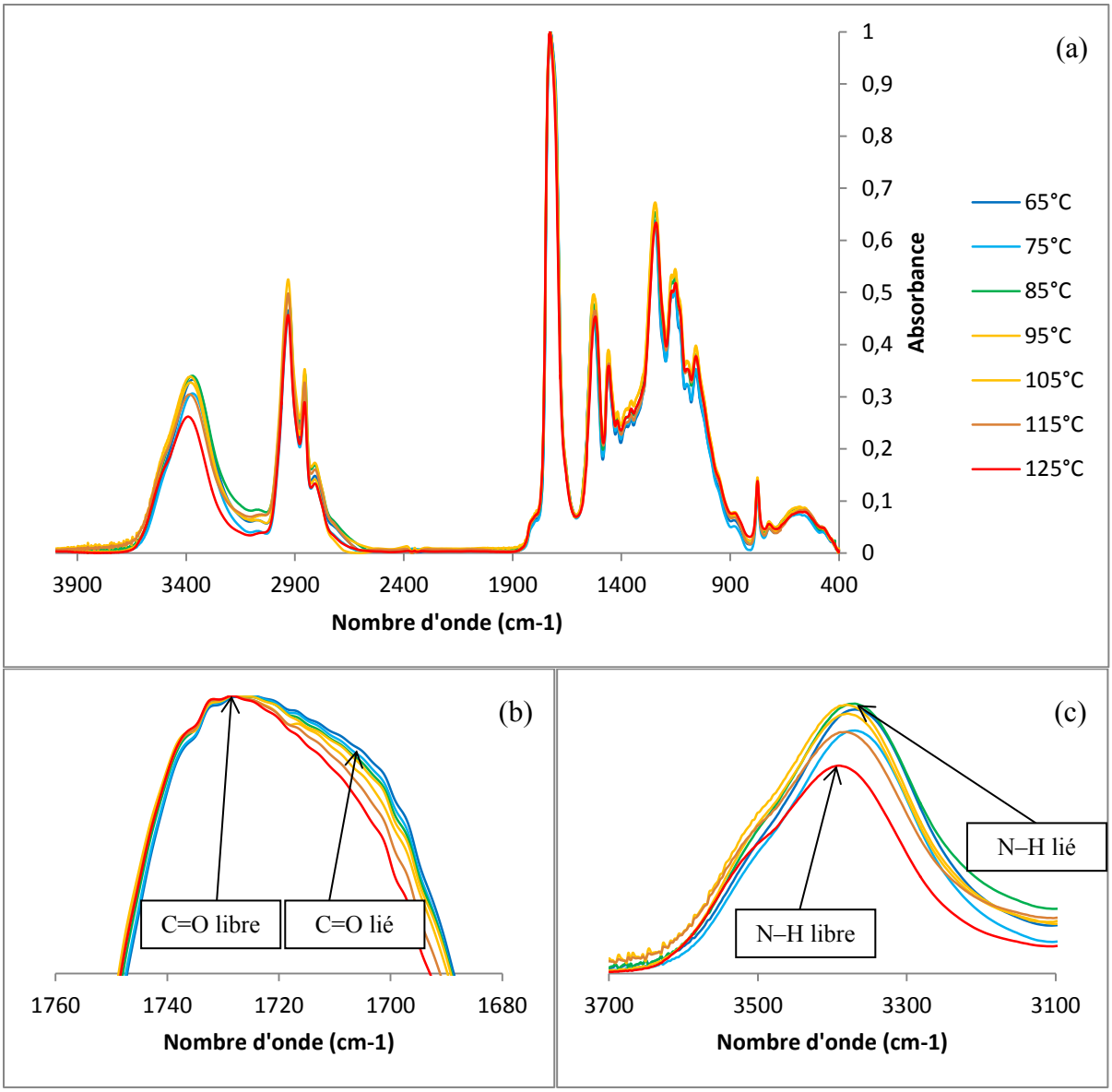


Figure 22. Spectres FTIR en transmission de l'et-PHU à différentes températures (a), agrandissements sur la zone de la liaison C=O uréthane (b) et de la liaison O–H/N–H (c).

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

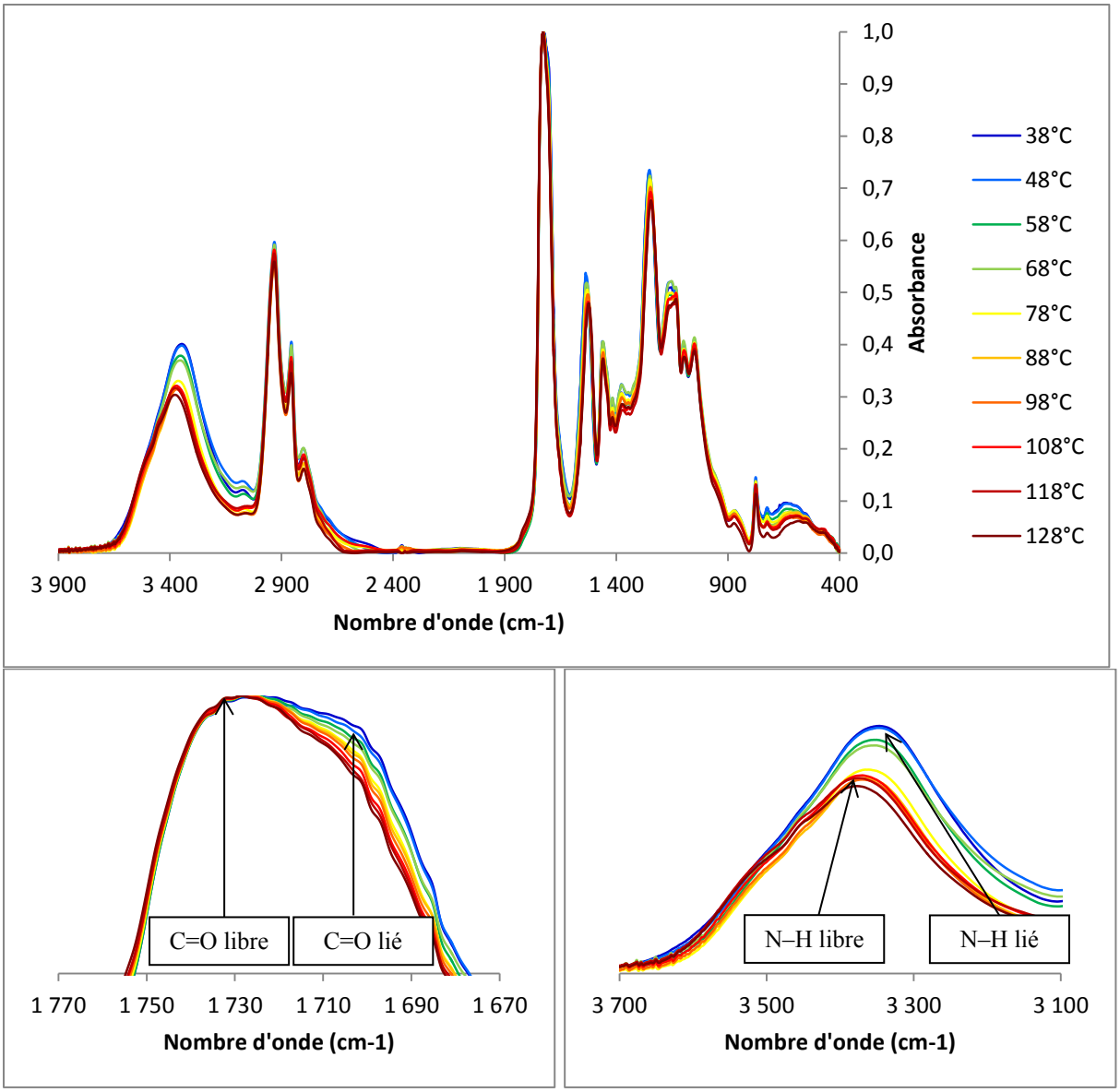


Figure 23. Spectres FTIR en transmission du prop-PHU à différentes températures (a), agrandissements sur la zone de la liaison C=O uréthane (b) et de la liaison O–H/N–H (c).

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

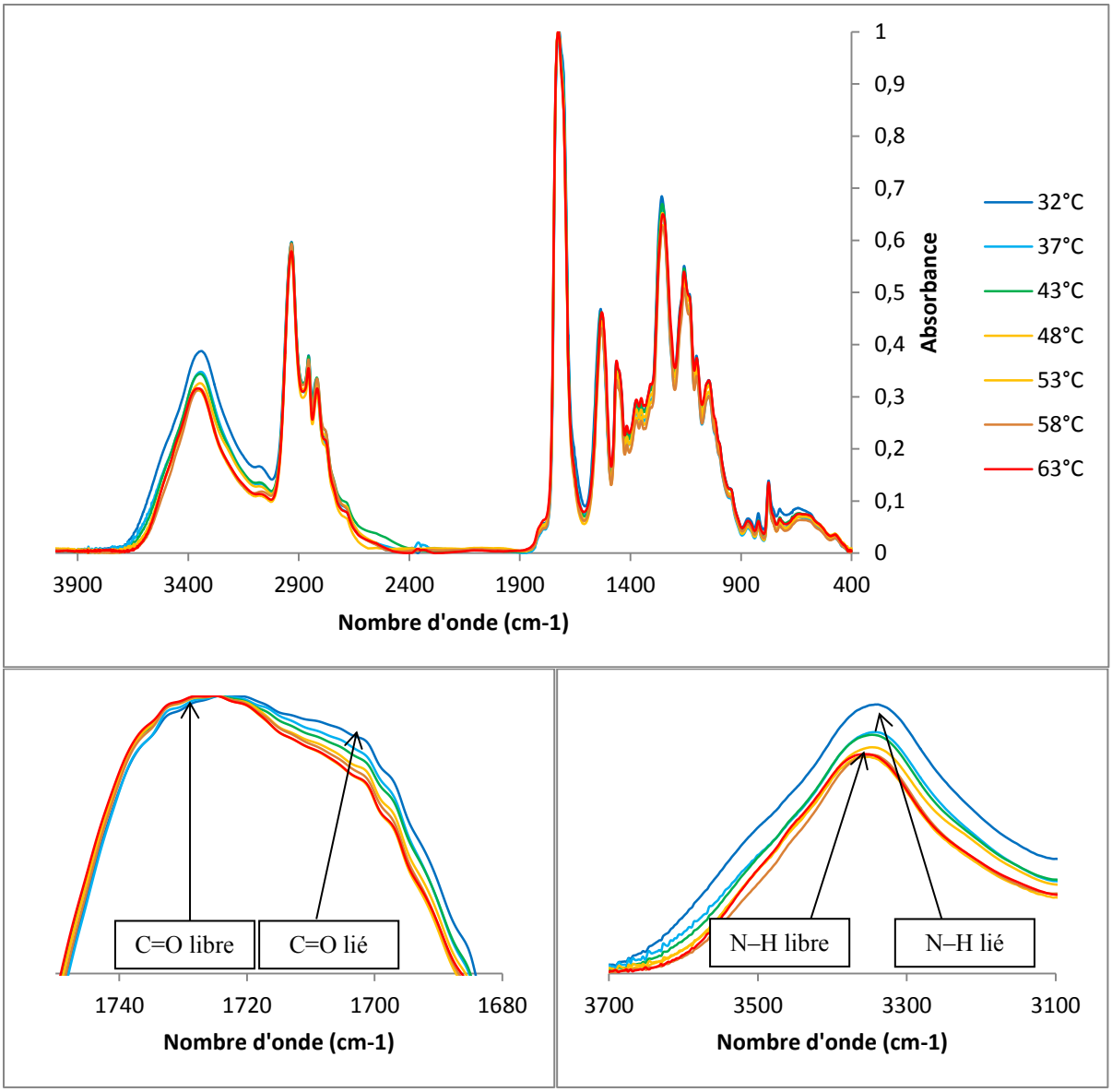


Figure 24. Spectres FTIR en transmission du pip-PHU à différentes températures (a), agrandissements sur la zone de la liaison C=O uréthane (b) et de la liaison O–H/N–H (c).

Pour les quatre polymères, lors du chauffage des polymères , les agrandissements entre 1680 et 1750 cm^{-1} (b) permettent d'observer une diminution de l'intensité de la bande à 1690−1700 cm^{-1} qui correspond à la liaison C=O de la fonction uréthane liée[15, 16], ainsi qu'une légère augmentation de l'intensité de la bande à 1730 cm^{-1} qui correspond à la liaison C=O de la fonction uréthane libre[27, 28]. D'autre part, les agrandissements entre 3100 et 3700 cm^{-1} (c) permettent d'observer la diminution de l'intensité de la bande d'absorption à 3300 cm^{-1} attribuée aux liaisons N−H liées[70]. Lors du chauffage, cette bande semble se décaler de 3300 vers 3400 cm^{-1}, zone attribuable aux liaisons N−H libres[70]. De manière surprenante, les deux

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

phénomènes sont plus beaucoup plus marqués pour le (SB-HM)-PHU que pour le prop-PHU (le seul PHU stimulable analysé sur la même plage de température que le (SB-HM)-PHU).

Ainsi, nous pouvons affirmer que l'augmentation de la température induit la rupture des liaisons hydrogène présentes dans le (SB-HM)-PHU (entre 27 et 125°C), l'et-PHU (65 et 125°C), le prop-PHU (38 et 128°C) et le pip-PHU (32 et 63°C). Ce phénomène est progressif et aucune température de transition de phase nette ne peut être observée. Il semble plus marqué pour le (SB-HM)-PHU (si l'on compare ce polymère avec le pip-PHU sur la gamme 30 – 65°C, avec l'et-PHU sur la gamme 65 – 125°C ou avec le prop-PHU sur la gamme 40 – 125°C), alors que ce polymère ne présente pas de fonctions amine tertiaire. Nous pouvons donc supposer que la présence des fonctions ester, uréthane et hydroxyle est suffisante pour induire la réponse d'un poly(hydroxy)uréthane à des variations de température. Les amines tertiaires semblent moins sensibles aux changements de température que ces trois types de fonctions.

IV.3.2. Comportement des nanoparticules de PHUs stimulables en température

Par définition, les polymères thermosensibles affichent un changement net de leurs propriétés physico-chimiques consécutif à une faible variation de la température[71]. Lorsqu'ils sont préparés sous forme de nanoparticules, les polymères thermosensibles peuvent constituer des systèmes de libération contrôlée de principes actifs médicamenteux dans le corps humain[72].

A une certaine température, les polymères thermosensibles présentent une transition de phase volumique. Dans l'eau, les nanoparticules peuvent se rétracter ou gonfler, se solubiliser ou précipiter. Ces modifications résultent de l'équilibre entre les liaisons hydrogène intra- et inter-macromoléculaires d'une part et les liaisons hydrogène eau-polymère d'autre part[73]. Les gels physiques se divisent en deux catégories : si un polymère est insoluble dans l'eau au-delà d'une certaine température, c'est un polymère à LCST (low critical solution temperature) ; si c'est en dessous d'une certaine température, c'est un polymère à UCST (upper critical solution temperature). Le poly(N-isopropylacrylamide) (PNIPAM)[74, 75], le poly(N-vinylcaprolactame) (PNVCL)[21, 76] ou encore les poly(éthylène-imine)s[77] sont des polymères à LCST utilisés en drug delivery (figure 25).

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

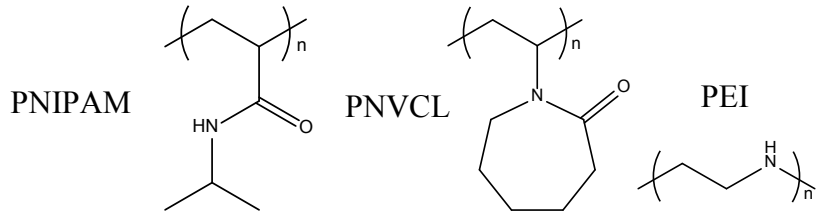


Figure 25. Polymères présentant une LCST.

Les polyuréthanes peuvent aussi présenter une LCST lorsque le diol utilisé comporte des fonctions oxyéthylène (comme c'est le cas pour le polyéthylène glycol (PEG))[10-14], amine tertiaire[8] ou acide carboxylique[15]. La présence de groupes tert-butoxycarbonyles (–Boc)[78] ou azos[79] sur l'unité de répétition d'un polyuréthane permet la rupture des chaînes de polymère au-delà d'une certaine température. Plusieurs études décrivent la préparation de nanoparticules de polymère thermosensible par nanoprécipitation[11, 76, 80].

Le (SB-HM)-PHU, l'et-PHU, le prop-PHU et le pip-PHU sont potentiellement thermosensibles puisque la cohésion des nanoparticules constituées de ces polymères est en partie permise grâce aux liaisons hydrogène intermoléculaires (via les fonctions hydroxyle, uréthane, ester, carbonate, amine primaire et tertiaire) et qu'il est possible de rompre ces liaisons hydrogène progressivement en chauffant les polymères – le phénomène se produisant entre 30°C et 60°C et/ou entre 60°C et 125°C – comme nous l'avons vu dans le paragraphe IV.3.1.

Nous avons réalisé deux types d'expériences sur les différentes nanosuspensions dialysées. Dans un premier temps, nous avons suivi l'évolution de la taille des nanoparticules d'et-PHU, de prop-PHU et de pip-PHU (échantillons et3, pr3, pip3 dialysés) au cours de l'augmentation de la température (de 24 à 60°C, à raison de 2°C toutes les 30 minutes) (figure 26). Dans un second temps, nous avons fixé la température à 60°C et déterminé l'évolution de la taille des nanoparticules d'et-PHU, de prop-PHU, de pip-PHU et de (SB-HM)-PHU (échantillons et3, pr3, pip3 dialysés, t17d après évaporation puis dialyse) au cours de temps (une mesure toutes les 1h30) (figure 27). Durant ces deux types d'analyses en DLS, le PDI des nanosuspensions reste constant, il est égal à la valeur notée en légende.

Les expériences réalisées en augmentant progressivement la température ou en isotherme à 60°C ont été réalisés à l'aide de la fonction 'trend' du Nanosizer qui permet soit de fixer la température et de réaliser des mesures à intervalles de temps donnés, soit de chauffer progressivement l'échantillon et de réaliser des mesures à différents intervalles de temps et de température. Chaque analyse a été répétée une seconde fois avec des résultats identiques.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

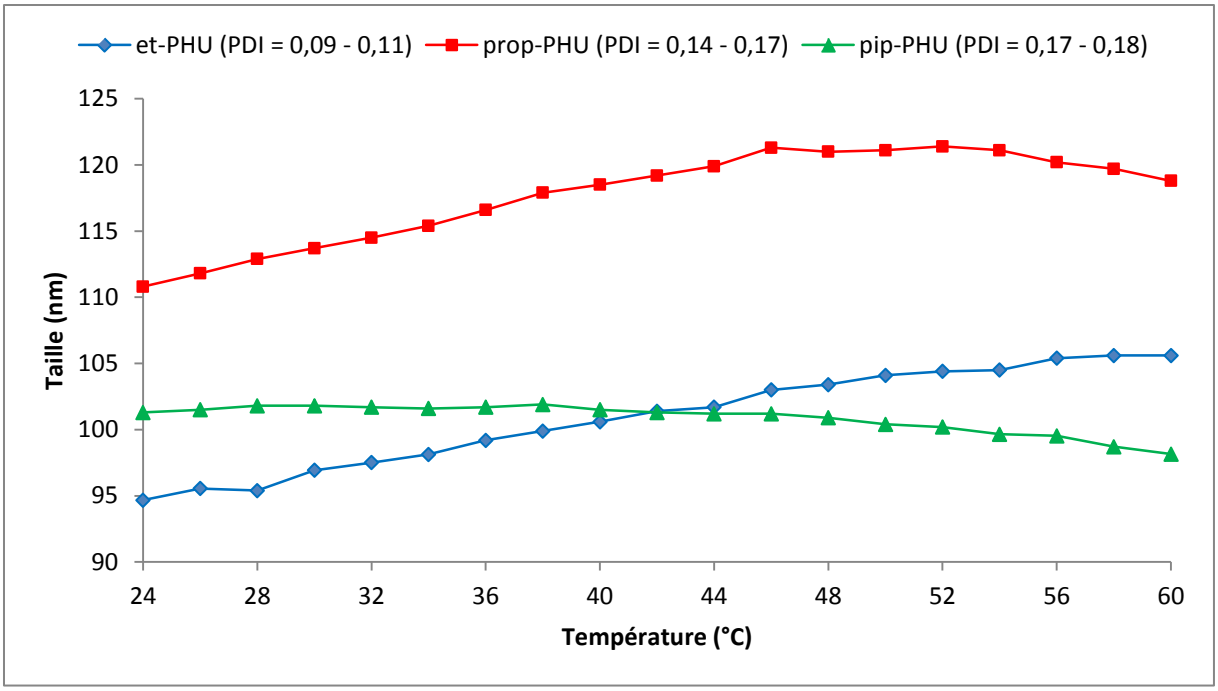


Figure 26. Evolution de la taille des nanoparticules d'et-PHU (et3) (âge : 5j), de prop-PHU (pr3) (6j) et de pip-PHU (pip3) (7j) au cours de l'augmentation de la température (mesure toutes les 30 min, tous les 2°C).

Au cours du chauffage des échantillons (figure 26), nous observons une augmentation légère et progressive de la taille des nanoparticules d'et-PHU (de 95 à 106 nm), une augmentation progressive (de 111 à 121 nm) jusqu'à 46°C suivie d'un plateau de la taille des nanoparticules de prop-PHU. La taille des nanoparticules de pip-PHU ne varie pas significativement (entre 102 et 98 nm).

Sur la figure 27, en isotherme à 60°C, nous observons une augmentation progressive au cours du temps de la taille des nanoparticules d'et-PHU (de 90 à 139 nm) et de prop-PHU (de 100 à 120 nm) tandis que la taille des nanoparticules de pip-PHU (98 – 99 nm) et de (SB-HM)-PHU (168 – 169 nm) reste constante.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

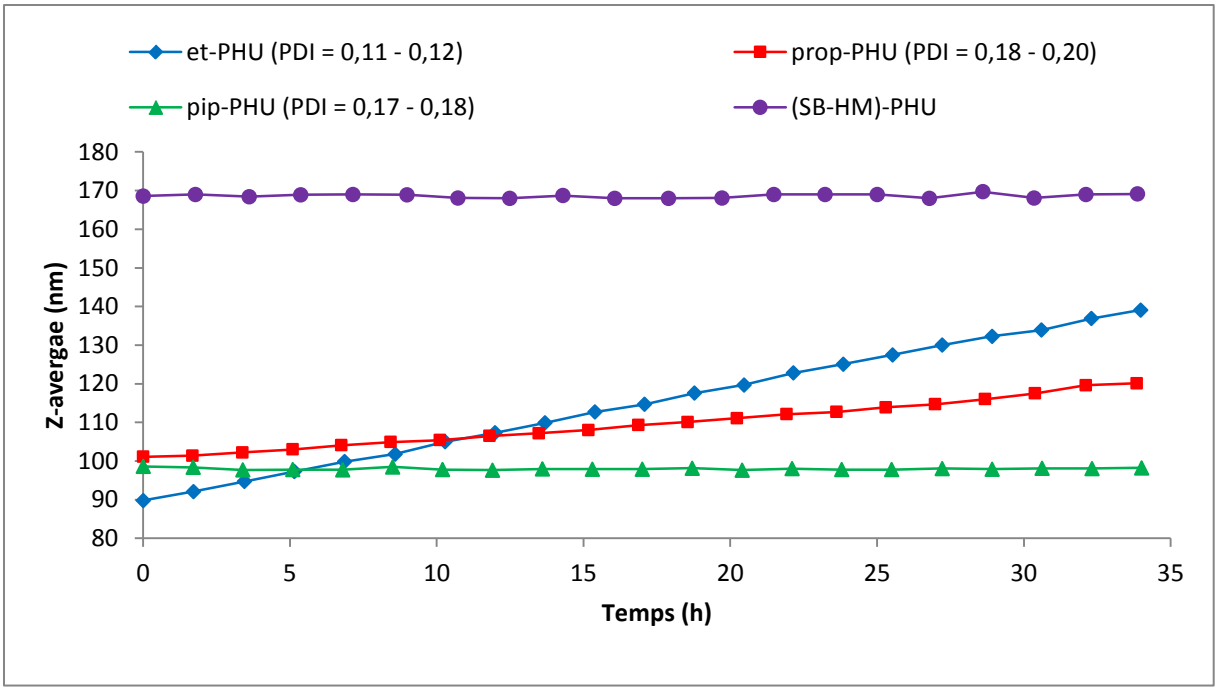


Figure 27. Evolution de la taille des nanoparticules de (SB-HM)-PHU (t17d) (âge : 16j), et-PHU (et3) (5j), prop-PHU (pr3) (2j) et pip-PHU (pip3) (4j) en fonction du temps à T = 60°C.

Les deux expériences montrent que les nanoparticules d'et-PHU présentent une légère sensibilité à la température, de même que celles de prop-PHU dans une moindre mesure. En revanche, la taille des nanoparticules de pip-PHU et de (SB-HM)-PHU ne varie ni avec la température, ni avec le temps en isotherme à 60°C. Ces résultats ne concordent pas avec les résultats obtenus lors des analyses des films de PHU par infra-rouge en transmission (IV.3.1). En effet, nous avions pu déterminer qu'il y avait une rupture progressive des liaisons hydrogène présentes dans le (SB-HM)-PHU, l'et-PHU, le prop-PHU et le pip-PHU lors du chauffage de ces polymères – sur une gamme 30°C – 60°C et/ou sur une gamme 60°C – 125°C.

Bien que les nanoparticules d'et-PHU et de prop-PHU soient thermosensibles, nous n'observons pas de température de transition de phase volumique critique de type UCST, mais plutôt un gonflement progressif des nanoparticules sous l'effet de la température.

Le comportement des nanoparticules étudiées dans ce chapitre est très différent de celui des nanoparticules de PU analogues préparées par l'équipe de Wang *et al.*[8] dont la taille passe de 200 à 1 000 nm entre 20 et 60°C. Il existe deux différences notables entre ces deux groupes de nanoparticules : d'une part, les fonctions ester et hydroxyles sont présentes dans les PHUs et

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

absentes dans les PUs ; d'autre part, les nanosuspensions préparées par Wang *et al.* ne comportent pas de tensioactif.

La présence de SDS pourrait altérer la réponse des nanoparticules aux variations de température. En effet, le comportement des polymères thermosensibles en milieu aqueux dépend des interactions développées par les chaines macromoléculaires et l'eau. En présence de tensioactif, les macromolécules n'établissent pas les mêmes interactions avec les molécules d'eau du milieu dispersant puisque les molécules de tensioactif forment un film à la surface des particules[81].

Dans le cas des nanoparticules de PNIPAM, l'augmentation de la concentration en SDS induit une augmentation de la LCST[82]. Au-delà d'une certaine concentration en SDS, la contraction des nanoparticules de NIPAM n'est plus observée[83]. Des auteurs supposent qu'après adsorption du SDS à la surface du PNIPAM (par le biais d'interactions hydrophobes), les répulsions électrostatiques entre les groupes sulfates défavorisent la contraction des pelotes de polymère lors du passage au-dessus de la LCST[84] (figure 28.c). L'augmentation de la LCST de nanoparticules de PNVCL est aussi observée lorsque la concentration en SDS est augmentée[85]. Cependant, en dessous de la LCST et pour des concentrations faibles en SDS, la taille des nanoparticules de polymères gonflées diminue lors de l'ajout de SDS. Afin d'expliquer ce phénomène, les auteurs supposent que le SDS agit comme un agent de réticulation non-covalente sur le PNVCL (figure 28.d). Cette réticulation permettrait d'expliquer la diminution du volume des nanoparticules.

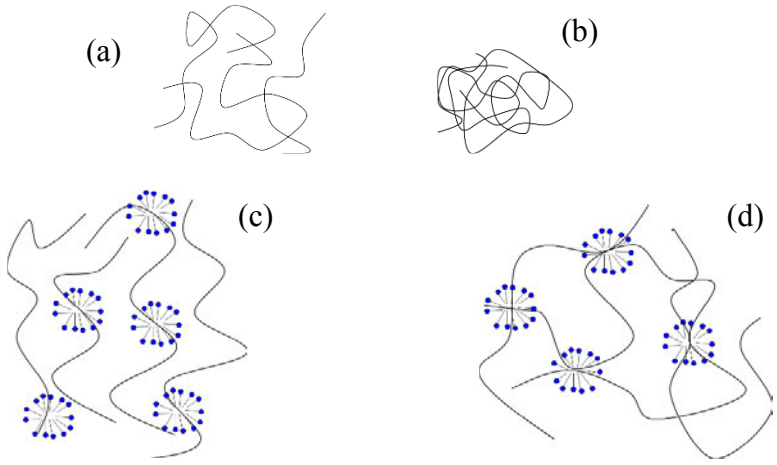


Figure 28. Polymère à LCST en dessous (a) et au-dessus (b) de sa température de transition. PNIPAM (c) et PNVCL (d) en présence de SDS en dessous de leur température de transition[85].

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

A notre connaissance, l'influence des tensioactifs ioniques sur le comportement des nanoparticules de polymères à UCST n'a pas été étudiée. Cependant, plusieurs auteurs indiquent que les polymères non ioniques présentant une transition de phase de type UCST sont sensibles à la présence d'impuretés ioniques (introduites durant la synthèse du polymère par exemple)[86]. Certains composés ioniques peuvent diminuer la température de transition, voire la supprimer[87].

Dans le cas présent, mise à part l'absence de transition de phase volumique nette, les polymères que nous étudions sont similaires aux polymères à UCST. Il est donc possible que la présence de SDS réduise l'amplitude de la variation de taille consécutive à l'augmentation de la température.

IV.3.3. Comportement des nanoparticules de PHUs stimulables à différents pH au cours du temps

Préparés sous la forme de nanoparticules, les polymères pH-sensibles peuvent être utilisés pour des applications en drug delivery[88]. La plupart des polymères pH-sensibles comportent des acides carboxyliques[9] (qui deviennent des ions carboxylate en milieu basique) ou des amines secondaires ou tertaires[89] (ions ammonium en milieu acide). Dans les deux cas, les répulsions électrostatiques entre les fonctions ionisées provoquent une augmentation du diamètre des nanoparticules qui favorise la libération du principe actif. Plusieurs études décrivent le comportement de nanoparticules de polyuréthane pH-sensible[6, 7, 9]. D'autres études présentent la préparation de nanoparticules de polymère pH-sensible par nanoprécipitation[9, 89, 90].

Nous avons vérifié si les nanoparticules de PHU stimulable préparées par nanoprécipitation présentaient des variations de taille en fonction du pH du milieu dispersant. En milieu acide, la protonation des fonctions amine primaire et tertiaire présentes sur les PHUs stimulables devrait conduire à l'apparition de forces de répulsion électrostatique entre les chaînes polymères et donc à l'augmentation de la taille des nanoparticules. En outre, des interactions attractives de type ion-dipole entre l'eau et les groupes amino sont attendues[91]. Les fonctions hydroxyle ne sont quant à elles pas concernées par la variation du pH dans la gamme étudiée.

Le PDI et la taille des nanoparticules d'et-PHU, de prop-PHU et de pip-PHU ont été mesurés par DLS à différents instants après immersion dans des solutions tampons à pH 4,00 et 7,50 ou dans de l'eau permutée. En ce qui concerne la solution acide, nous avons choisi un pH égal à 4,00 afin d'éviter les réactions d'hydrolyse des fonctions ester et carbonate, ce qui a été

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

vérifié en RMN ^{13}C. En ce qui concerne la solution tampon à pH 7,5, son pH est proche de celui des solutions physiologiques couramment utilisées pour des tests de libération de principes actifs in vitro[92]. A ce pH, les fonctions amine tertiaire des PHUs stimulables devraient être déprotonées[90].

La solution tampon acétate à pH 4,00 a été préparée en mélangeant solution d'acide acétique (AcOH) à 0,2 mol/l (82,0 % vol.) avec une solution d'acétate de sodium (NaAcO) à 0,2 mol/l (18,0 % vol.). La solution tampon phosphate à pH 7,50 a été préparée en mélangeant une solution de phosphate de sodium monobasique (NaH_2PO_4) à 0,2 mol/l (16,0 % vol.) avec une solution de phosphate de sodium dibasique (Na_2HPO_4) à 0,2 mol/l (84,0 % vol.).

Le protocole que nous avons suivi est le suivant[9] : trois solutions de 600 ml ont été préparées, la première contenant de l'eau permutée, les deux autres contenant 300 ml de tampon acétate ou phosphate dilué dans de l'eau permutée. Les trois solutions ont été chauffées à 37°C sous agitation magnétique. Un sac de dialyse contenant 20 ml d'une nanosuspension de PHU stimulable (et1, pr1 ou pip4) préalablement dialysée a ensuite été immergé dans chaque solution (tampon à pH 4,0, tampon à pH 7,5, eau permutée). A différents intervalles de temps, un millilitre de suspension est récupéré de chaque boudin de dialyse et analysé en DLS. Entre les différentes mesures, les béchers ont été couverts par de l'aluminium afin d'éviter une évaporation trop importante. Ces expériences ont été réalisées 1 à 3 jours après la préparation des nanosupensions. Elles n'ont été réalisées qu'une seule fois, nous ne pouvons donc pas déterminer si les résultats obtenus sont répétables. Les mesures en DLS sont affichées sur les figures 29 et 30 pour l'et-PHU, 31 et 32 pour le prop-PHU, 33 et 34 pour le pip-PHU.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

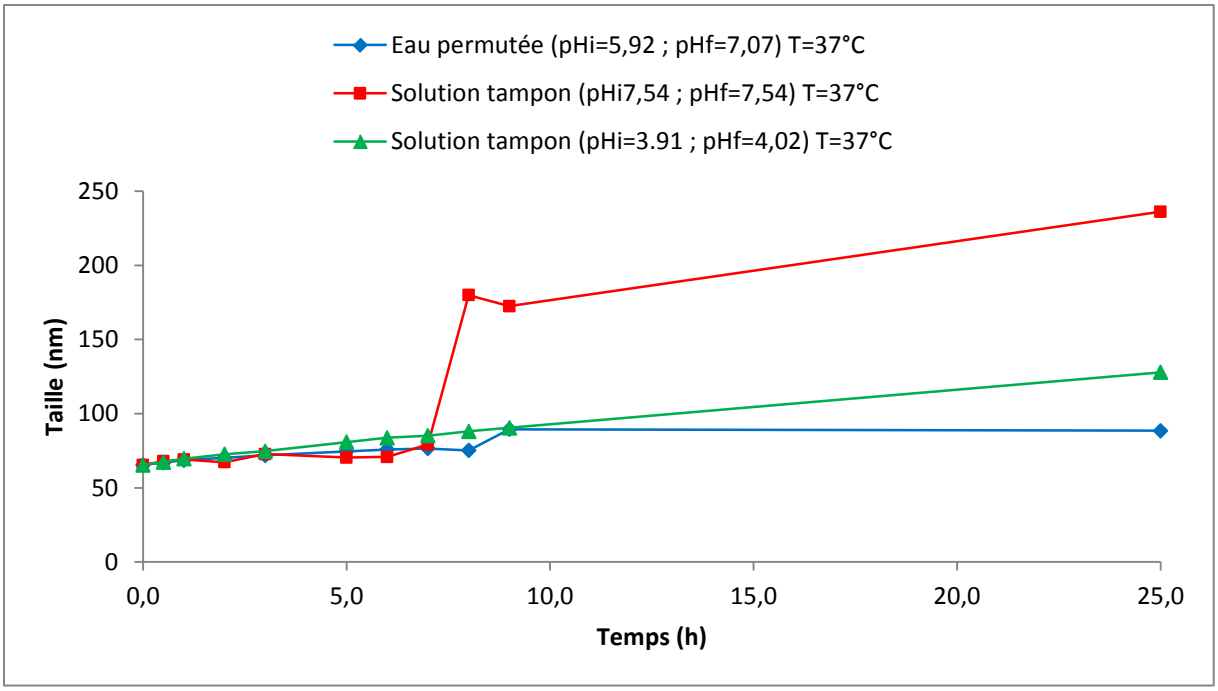


Figure 29. Evolution de la taille des nanoparticules d'et-PHU (et1) à différents pH en fonction du temps.

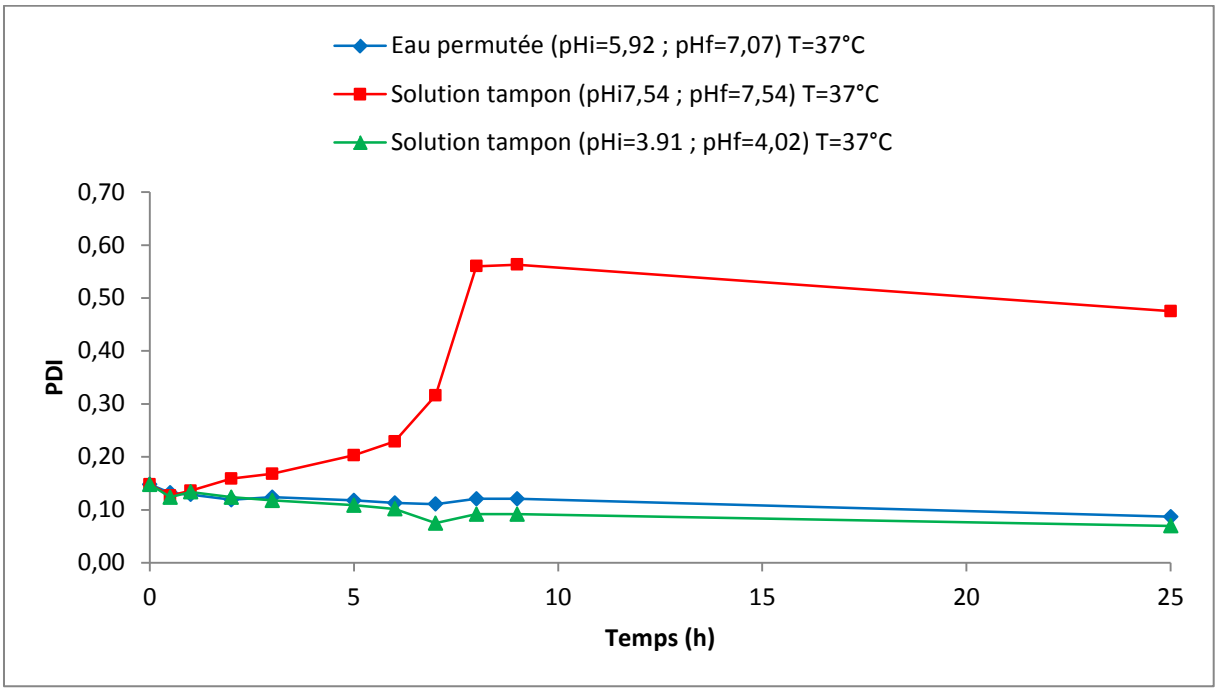


Figure 30. Evolution du PDI des nanoparticules d'et-PHU (et1) à différents pH en fonction du temps.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

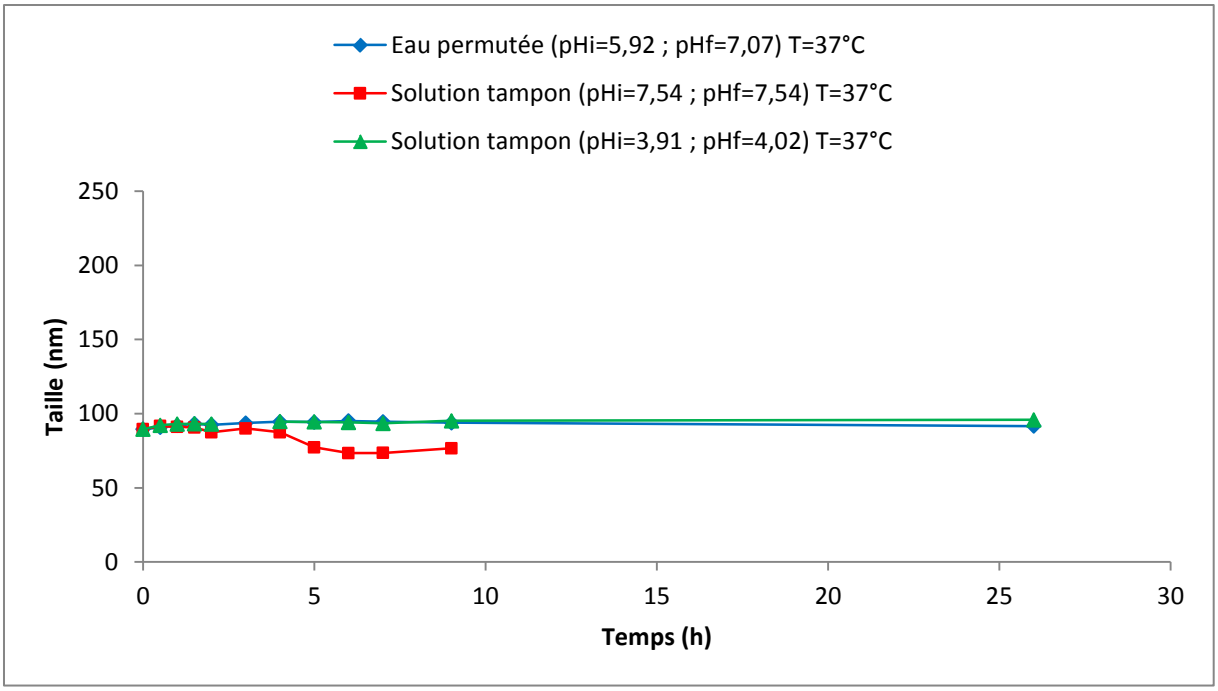


Figure 31. Evolution de la taille des nanoparticules de prop-PHU (pr1) à différents pH en fonction du temps.

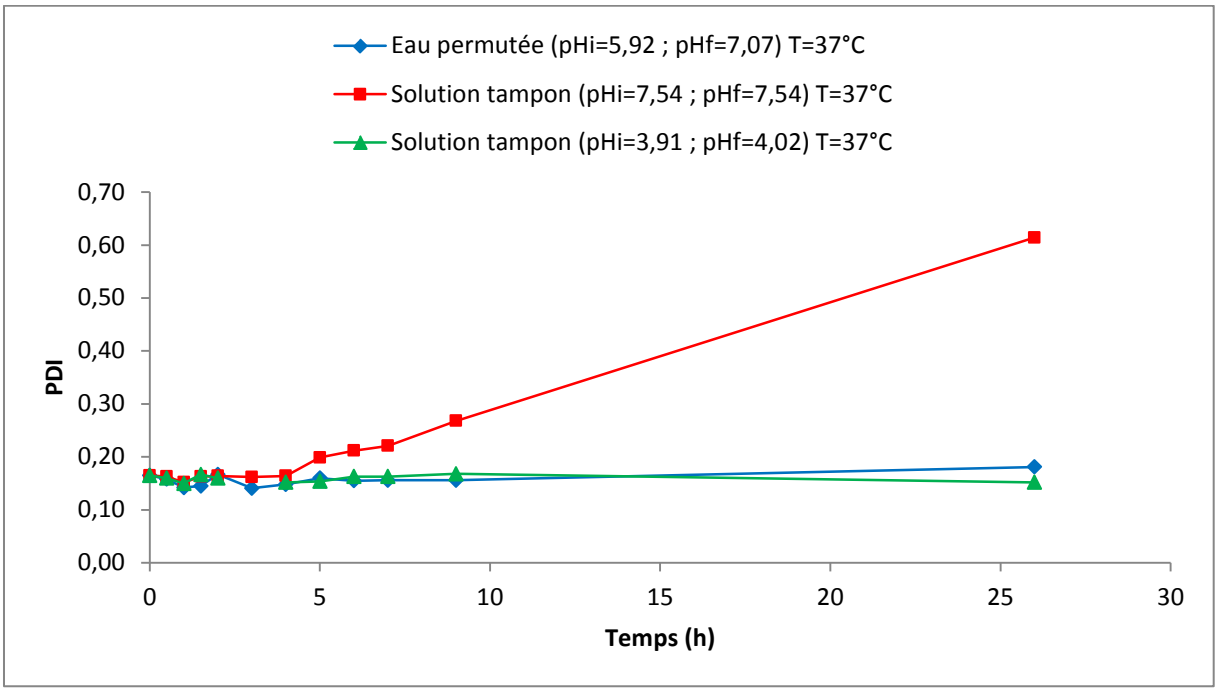


Figure 32. Evolution du PDI des nanoparticules de prop-PHU (pr1) à différents pH en fonction du temps.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

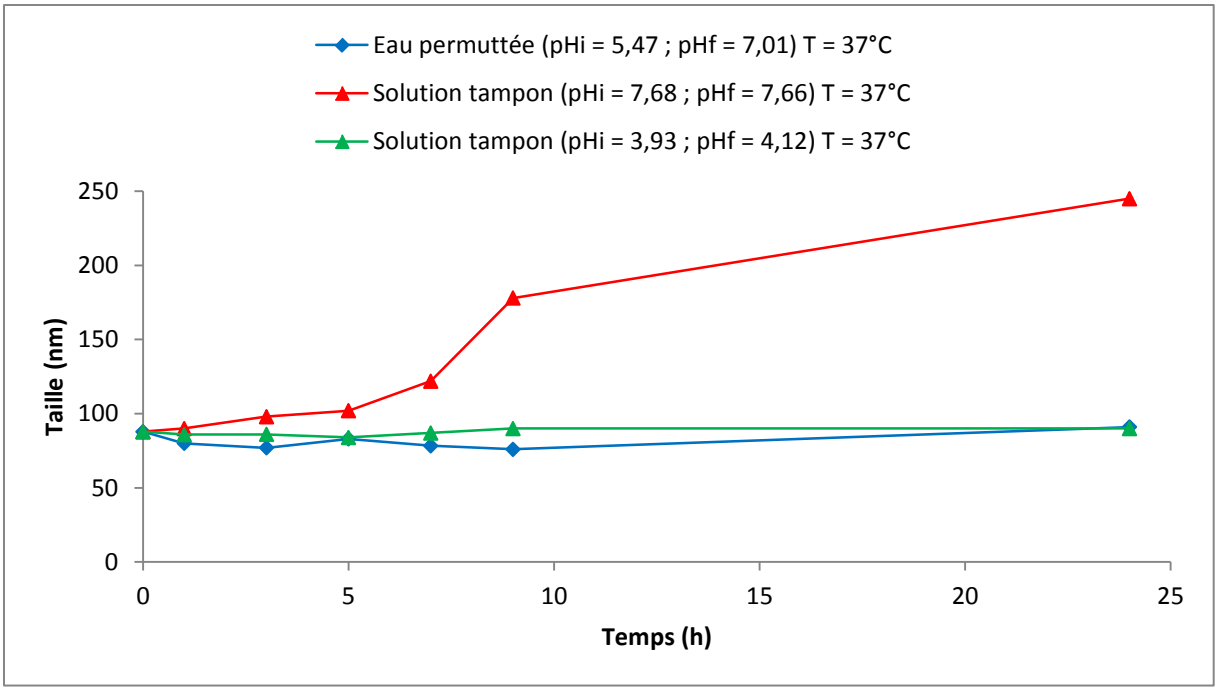


Figure 33. Evolution de la taille des nanoparticules de pip-PHU (pip4) à différents pH en fonction du temps.

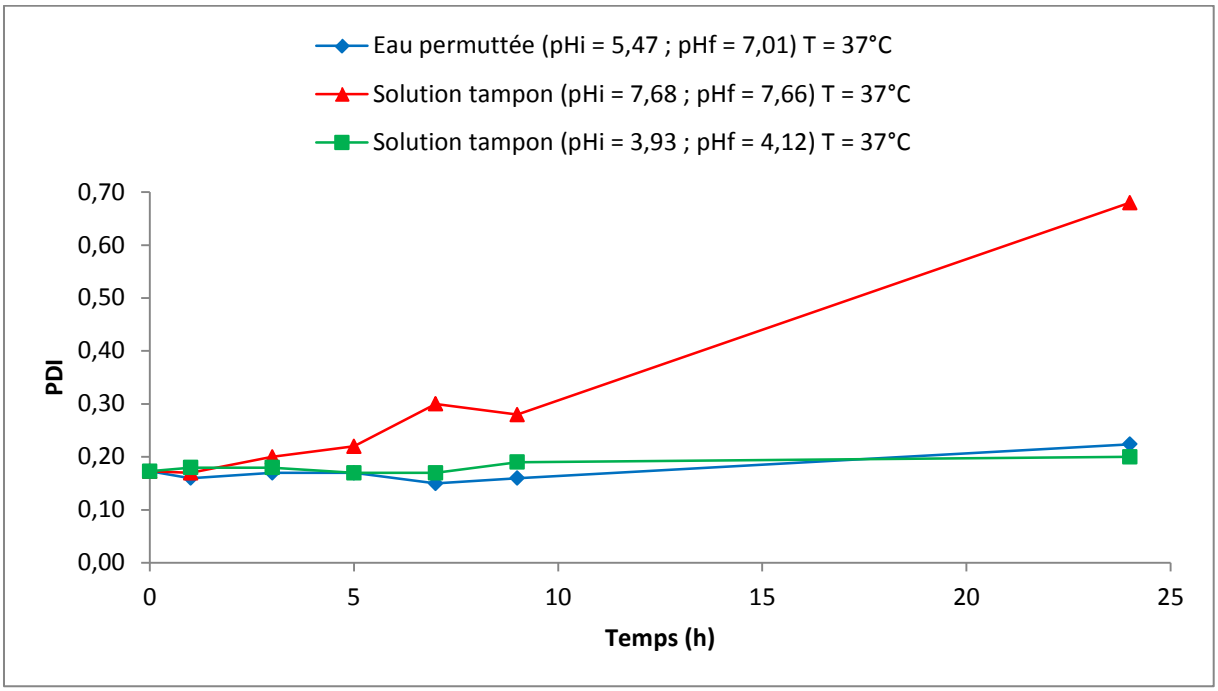


Figure 34. Evolution du PDI des nanoparticules de pip-PHU (pip4) à différents pH en fonction du temps.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Les valeurs de pH_i et pH_f mentionnées dans la légende des figures correspondent aux pH des solutions dans lesquelles les nanosuspensions ont été dialysées. Elles ont été mesurées à t = 0 et t = 25h respectivement. Entre le début et la fin des expériences, le pH des solutions tampon n'a pas varié de manière significative, tandis que le pH de la solution d'eau permutée a augmenté entre 0,57 et 1,54 unités. Cette augmentation est sans doute causée par le caractère basique des amines tertiaires.

En ce qui concerne la nanosuspension d'et-PHU, dans le tampon acétate, la taille des nanoparticules a augmenté progressivement (de 65 à 128 nm) et le PDI a diminué progressivement (de 0,15 à 0,07) au cours du temps. Dans l'eau permutée, la taille des nanoparticules a augmenté progressivement (de 65 à 90 nm) et le PDI a diminué progressivement (de 0,15 à 0,09) au cours du temps. En ce qui concerne la nanosuspension de prop-PHU, dans le tampon acétate ou l'eau permutée, les valeurs du PDI (autour de 0,15) et de la taille des nanoparticules (autour de 90 nm) n'ont pas varié au cours du temps. En ce qui concerne la nanosuspension de pip-PHU, que le sac de dialyse ait été immergé dans la solution d'eau permutée ou le tampon acétate, les valeurs du PDI (entre 0,18 et 0,2) et de la taille des nanoparticules (entre 76 et 90 nm) ont très peu varié au cours du temps.

Dans le tampon phosphate, les nanosuspensions d'et-PHU, de prop-PHU et de pip-PHU ont été déstabilisées après 5h – 7h. D'autre part, dans le cas des nanoparticules de prop-PHU l'agrégation des nanoparticules n'a pas permis la mesure de taille de particules au-delà de 9h. Le phénomène d'agrégation progressive des nanoparticules dans le tampon phosphate peut s'expliquer par la force ionique élevée de cette solution (I = 0,226 mol/l). Les électrolytes peuvent déstabiliser la nanosuspension et favoriser l'agrégation des nanoparticules[93]. La déstabilisation de la nanosuspension n'est pas observée dans le tampon acétate car la force ionique de cette solution est beaucoup plus faible (I = 0,018 mol/l). En parallèle des mesures de taille et de PDI effectuées sur l'échantillon pip4 (figures 33 et 34), nous avons relevé plusieurs valeurs du potentiel zêta (voir annexe IV.3). A pH 7,5, le potentiel zêta (en valeur absolue) des nanoparticules a progressivement diminué (de -37,1 mV à t = 0 à -4,5 mV à t = 25h), ce qui confirme la déstabilisation de l'échantillon[94] en présence du tampon phosphate. Dans l'eau permutée ou dans le tampon acétate, la valeur du potentiel zêta a très peu varié au cours du temps (allant de -40,9 mV à -36,2 mV).

La diminution du pH à une valeur de 4,0 n'entraîne pas de modification significative de la taille des nanoparticules de prop-PHU ou de pip-PHU – ces nanoparticules ne sont donc pas pH-stimulables. Cette absence de variation de taille pourrait s'expliquer par la présence du

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

SDS. Il est possible que les ions sulfate du SDS – présent dans les nanosuspensions étudiées dans cette étude – écrantent les charges portées par les PHUs stimulables, ce qui entraîne la diminution de la répulsion électrostatique entre les ions ammonium (figure 44).

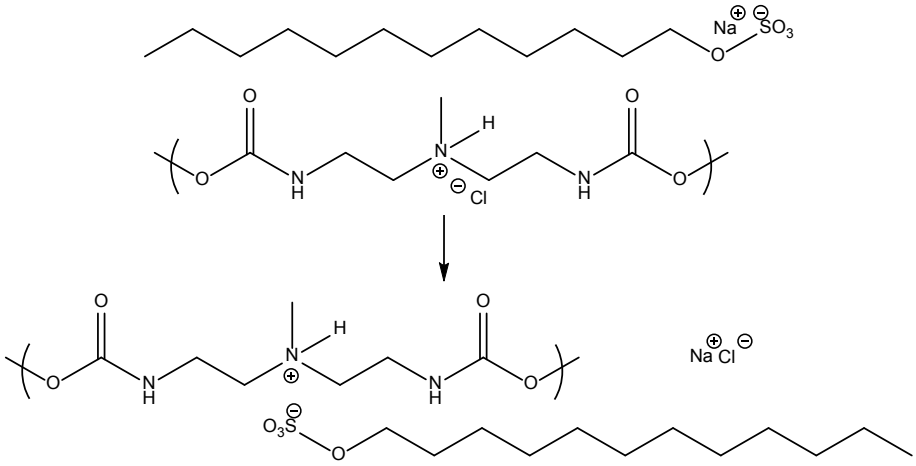


Figure 35. Formation d'une interaction ionique entre une amine protonée de l'et-PHU et le sulfate du SDS (même phénomène pour le prop-PHU ou le pip-PHU).

Riley *et al.* ont observé ce type de comportement en étudiant des nanoparticules de polymère pH-stimulable (poly(2-(diméthylamino)-éthyl-méthacrylate) (PDMAEMA) greffé sur des nanoparticules de silice) en présence de SDS[95]. Ils montrent qu'en milieu acide (pH = 5), la taille des nanoparticules gonflées diminue en ajoutant du SDS. Au-delà de 0,05 mmol/l de SDS, la taille des nanoparticules est la même en milieu acide et en milieu basique. A notre connaissance, les travaux de Riley *et al.* sont les seuls à décrire un tel comportement de nanoparticules pH-sensibles en présence de SDS. Ceci peut s'expliquer par le fait que très souvent aucun tensioactif n'est utilisé pour la nanoprécipitation de polymères pH-stimulables[90, 96, 97] ou que des tensioactifs utilisés sont non ioniques[9, 89, 92].

IV.3.4. Conclusion des études de variations de taille des nanoparticules de PHU stimulable avec le pH ou la température

Les nanoparticules d'et-PHU présentent un léger caractère thermo- et pH-stimulable (à 60°C, augmentation de taille de 90 à 140 nm en 35h ; à pH 4,0, augmentation de taille de 65 à 130 nm en 24h), les nanoparticules de prop-PHU sont seulement thermo-stimulables (à 60°C, augmentation de taille de 110 à 120 nm en 35h) et les nanoparticules de pip-PHU ne sont stimulables ni en température ni en pH. Nous avons supposé que le SDS altérait le comportement des nanoparticules de PHUs stimulables. Cependant, il n'altère pas de la même manière le comportement des nanoparticules d'et-PHU, de prop-PHU ou de pip-PHU

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

lorsqu'elles sont soumises à des variations de température ou de pH. Afin de pouvoir expliquer les différences notables entre les nanoparticules d'et-PHU, de prop-PHU et de pip-PHU, il serait intéressant de comparer les interactions SDS-nanoparticule pour chacun des trois PHUs stimulables. Pour ce faire, il serait nécessaire de déterminer les isothermes d'adsorption du SDS à l'interface polymère-milieu dispersant pour chaque PHU stimulable. Ces données peuvent être déterminées en utilisant différentes techniques – par tensiométrie[98, 99] ou conductimétrie[100] par exemple.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

CONCLUSION

L'objectif du chapitre était la préparation de nanoparticules de poly(hydroxy)uréthane en suspension aqueuse capables de répondre à une variation de température ou de pH par un changement de taille.

Dans un premier temps, des fonctions amine tertiaire pH- et thermo-stimulables ont été intégrées au motif de répétition de trois poly(hydroxy)uréthanes : l'et-PHU, le prop-PHU et le pip-PHU. Pour ce faire, la HMDA a été remplacée par trois diamines présentant ces fonctions amine tertiaire. Les réactions de polyaddition entre le SB bis-CC et les différentes diamines ont été réalisées en suivant le protocole décrit dans le chapitre II. La caractérisation des polymères synthétisés a permis de mettre en évidence qu'il s'agissait bien de poly(hydroxy)uréthanes présentant la structure chimique attendue. La spectroscopie RMN ^{13}C a permis de mettre en évidence la présence des fonctions hydroxyle primaire et secondaire et l'absence de produits de réactions secondaires tels que les amides ou les urées. Après attribution complète des résonances des spectres, les rapports hydroxyle secondaire sur primaire, les $\overline{DP_n}$ et les $\overline{M_n}$ des trois polymères ont été quantifiés. Comme prévu, l'hydroxyle secondaire est toujours majoritaire. Il est cependant moins présent que dans le cas du (SB-HM)-PHU, confirmant l'influence de la nature de la diamine sur le mécanisme d'ouverture du cycle carbonate. Les $\overline{M_n}$ des polymères varient entre 5 000 et 10 000 g/mol. Ces faibles valeurs sont caractéristiques des poly(hydroxy)uréthanes. Les écarts de masses molaires déterminées par RMN entre le lot 1 et le lot 2 d'et-PHU et de prop-PHU sont élevés, mais cette différence est moins importante en chromatographie d'exclusion stérique. La dispersité en masse est élevée. Les analyses thermiques indiquent que les trois polymères se décomposent à plus basse température que le (SB-HM)-PHU (entre 160 et 180°C au lieu de 200°C), à cause de la présence des fonctions amine tertiaire. Les trois polymères sont amorphes. La transition vitreuse plus élevée du pip-PHU peut être expliquée par une rigidité plus importante de ce polymère. Bien que le lot 1 et le lot 2 présentent des résultats similaires en analyse élémentaire, nous observons que la masse molaire et les propriétés thermiques des polymères ne sont pas les mêmes d'un lot à l'autre. Cette étude ne permet pas de déterminer si les synthèses de l'et-PHU, du prop-PHU et du pip-PHU sont reproductibles. Pour ce faire, il serait nécessaire de répéter les trois synthèses du lot 1 ou du lot 2.

En suivant le protocole décrit et optimisé au chapitre III, nous avons préparé des nanoparticules d'et-PHU, de prop-PHU et de pip-PHU par nanoprécipitation à partir du

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

DMSO. La concentration en polymère dans la phase organique, le volume d'eau et la concentration en SDS dans la phase aqueuse ont été ajustés de manière à obtenir des nanoparticules monodisperses (PDI < 0,2) de taille réduite (entre 50 et 100 nm). Une attention particulière a été portée sur la concentration en tensioactif afin d'éviter la présence de micelles déstabilisantes en trop grande concentration dans les nanosuspensions. Les nanoparticules d'et-PHU présentent les tailles les plus faibles – ce qui confirme la qualité de solvant thêta du DMSO pour ce polymère, démontrée par viscosimétrie. Après élimination du solvant par dialyse, les nanoparticules ont été caractérisées en DLS et en cryo-MET. Leur stabilité au cours du temps a été étudiée. Nous avons pu vérifier que les nanoparticules dialysées restaient stables au moins un mois après leur préparation.

L'étude des films de polymères par infra-rouge en transmission a montré qu'une augmentation de la température induit la rupture des liaisons hydrogène présentes dans le (SB-HM)-PHU (entre 25 et 125°C), l'et-PHU (entre 65 et 125°C), le prop-PHU (entre 25 et 125°C) et le pip-PHU (entre 25 et 65°C). Ce phénomène met en évidence le caractère thermosensible des quatre polymères, les trois PHUs stimuables n'étant pas plus sensibles à la température que le (SB-HM)-PHU. En soumettant les nanosupensions à une température de 60°C, nous avons observé un gonflement progressif des nanoparticules d'et-PHU et de prop-PHU. De manière surprenante, les nanoparticules de (SB-HM)-PHU et de pip-PHU conservent une taille constante aux cours des analyses. Nous supposons que la faible amplitude de la variation de la taille des nanoparticules d'et-PHU et de prop-PHU et l'absence de réponse des nanoparticules de (SB-HM)-PHU et de pip-PHU est – du moins en partie – causée par la présence de SDS à la surface des nanoparticules. En ce qui concerne les études de la réponse des polymères nanoprécipités à une variation du pH, nous avons observé que la taille des nanoparticules d'et-PHU a augmenté en milieu acide (de 70 à 130 nm, en 24h, à pH 4,0), et elle est resté constante dans le cas du prop-PHU ou du pip-PHU. Nous supposons que la présence du SDS réduit ou annule l'effet de l'ionisation des polymères en milieu acide. Ce tensioactif anionique serait capable d'interagir avec les ions ammonium des polymères à pH acide en écrantant les charges portées par les chaines macromoléculaires, ce qui entrainerait la diminution des répulsions électrostatiques entre chaînes et donc limiterait le gonflement des nanoparticules.

Au terme de notre étude, nous avons déterminé que les nanoparticules d'et-PHU présentaient un léger caractère thermo- et pH-stimulable, que les nanoparticules de prop-PHU étaient seulement thermo-stimulables et que les nanoparticules de pip-PHU n'étaient stimulables ni

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

en température ni en pH. Ainsi, il semble que le SDS n'altère pas de la même manière le comportement des nanoparticules d'et-PHU, de prop-PHU ou de pip-PHU lorsqu'elles sont soumises à des variations de température ou de pH.

La nature du PHU peut avoir une influence significative sur les interactions SDS-nanoparticule, en particulier sur le taux d'adsorption du SDS à l'interface entre les nanoparticules et le milieu dispersant, ce qui expliquerait les différences observées entre les différents échantillons. Il serait nécessaire de déterminer puis de comparer les isothermes d'adsorption du SDS à la surface des nanoparticules d'et-PHU, de prop-PHU et de pip-PHU afin de vérifier cette hypothèse. Ces données peuvent être obtenues en utilisant différentes techniques, par tensiométrie[98, 99] ou conductimétrie[100] par exemple.

Afin de pallier à la perturbation de la réponse des polymères aux variations de pH ou de température causée par le SDS, nous proposons de remplacer ce tensioactif par un tensioactif non ionique insensible aux variations de température ou de pH. Dans cette optique, les tensioactifs dérivés des polysaccharides sont des candidats prometteurs, moins toxiques et plus respectueux de l'environnement que le SDS.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Références

1. Wang, Y.-C.; Wang, F.; Sun, T.-M.; Wang, J. *Bioconjugate Chem.* **2011,** 22, (10), 1939-1945.

2. Lu, J.; Choi, E.; Tamanoi, F.; Zink, J. I. *Small* **2008,** 4, (4), 421-426.

3. Hua, M.-Y.; Liu, H.-L.; Yang, H.-W.; Chen, P.-Y.; Tsai, R.-Y.; Huang, C.-Y.; Tseng, I. C.; Lyu, L.-A.; Ma, C.-C.; Tang, H.-J.; Yen, T.-C.; Wei, K.-C. *Biomaterials* **2010,** 32, (2), 516-527.

4. Ge, J.; Neofytou, E.; Cahill, T. J., III; Beygui, R. E.; Zare, R. N. *ACS Nano* **2012,** 6, (1), 227-233.

5. Schmaljohann, D. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2006,** 58, (15), 1655-1670.

6. Shoaib, M.; Bahadur, A.; Saif ur Rahman, M.; Iqbal, S.; Arshad, M. I.; Tahir, M. A.; Mahmooda, T. *J. Drug Delivery Sci. Technol.* **2017,** 39, 277-282.

7. Kim, S.; Chen, Y.; Ho, E. A.; Liu, S. *Acta Biomaterialia* **2017,** 47, 100-112.

8. Wang, A.; Gao, H.; Sun, Y.; Sun, Y.-l.; Yang, Y.-W.; Wu, G.; Wang, Y.; Fan, Y.; Ma, J. *Int J Pharm* **2013,** 441, (1-2), 30-9.

9. Nabid, M. R.; Omrani, I. *Materials Science and Engineering: C* **2016,** 69, 532-537.

10. Polo Fonseca, L.; Bergamo Trinca, R.; Isabel Felisberti, M. *Journal of Applied Polymer Science* **2016,** 133, (25).

11. Fu, H.; Gao, H.; Wu, G.; Wang, Y.; Fan, Y.; Ma, J. *Soft Matter* **2011,** 7, (7), 3546-3552.

12. Sun, X.; Gao, H.; Wu, G.; Wang, Y.; Fan, Y.; Ma, J. *Int J Pharm* **2011,** 412, (1-2), 52-8.

13. Chen, S.-H.; Tsao, C.-T.; Chang, C.-H.; Wu, Y.-M.; Liu, Z.-W.; Lin, C.-P.; Wang, C.-K.; Hsieh, K.-H. *Carbohydrate polymers* **2012,** 88, (4), 1483-1487.

14. Du, X.; Song, N.; Yang, Y.-W.; Wu, G.; Ma, J.; Gao, H. *Polym. Chem.* **2014,** 5, (18), 5300-5309.

15. Zhou, H.; Xun, R.; Wu, K.; Zhou, Z.; Yu, B.; Tang, Y.; Li, N. *Macromol. Res.* **2015,** 23, (1), 94-99.

16. Oliveira, M. B.; Mano, J. F. In *Natural-based and stimuli-responsive polymers for tissue engineering and regenerative medicine*, 2015; John Wiley & Sons, Inc.: pp 49-90.

17. Neumann, K.; Lilienkampf, A.; Bradley, M. *Polym. Int.* **2017,** 66, (12), 1756-1764.

18. Cheng, R.; Meng, F.; Deng, C.; Klok, H.-A.; Zhong, Z. *Biomaterials* **2013,** 34, (14), 3647-3657.

19. Mu, B.; Liu, P. *React. Funct. Polym.* **2012,** 72, (12), 983-989.

20. Cao, Z.; Landfester, K.; Ziener, U. *Langmuir* **2012,** 28, (2), 1163-1168.

21. Medeiros, S. F.; Lara, B. R.; Oliveira, P. F. M.; Moraes, R. M.; Alves, G. M.; Elaissari, A.; Santos, A. M. *J. Colloid Sci. Biotechnol.* **2013,** 2, (3), 180-194.

22. Ding, M.; Li, J.; Fu, X.; Zhou, J.; Tan, H.; Gu, Q.; Fu, Q. *Biomacromolecules* **2009,** 10, (10), 2857-2865.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

23. Proempers, G.; Keul, H.; Hoecker, H. *Des. Monomers Polym.* **2005,** 8, (6), 547-569.

24. Maisonneuve, L.; More, A. S.; Foltran, S.; Alfos, C.; Robert, F.; Landais, Y.; Tassaing, T.; Grau, E.; Cramail, H. *RSC Adv.* **2014,** 4, (49), 25795-25803.

25. Boyer, A.; Cloutet, E.; Tassaing, T.; Gadenne, B.; Alfos, C.; Cramail, H. *Green Chem.* **2010,** 12, (12), 2205-2213.

26. Sheth, J. P.; Klinedinst, D. B.; Pechar, T. W.; Wilkes, G. L.; Yilgor, E.; Yilgor, I. *Macromolecules* **2005,** 38, (24), 10074-10079.

27. Leitsch, E. K.; Beniah, G.; Liu, K.; Lan, T.; Heath, W. H.; Scheidt, K. A.; Torkelson, J. M. *ACS Macro Lett.* **2016,** 5, (4), 424-429.

28. Beniah, G.; Liu, K.; Heath, W. H.; Miller, M. D.; Scheidt, K. A.; Torkelson, J. M. *Eur. Polym. J.* **2016,** 84, 770-783.

29. Smith, B. C., *Infrared spectral interpretation : a systematic approach*. 1998.

30. Tomita, H.; Sanda, F.; Endo, T. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2001,** 39, (21), 3678-3685.

31. Steblyanko, A.; Choi, W.; Sanda, F.; Endo, T. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2000,** 38, (13), 2375-2380.

32. Cornille, A.; Auvergne, R.; Figovsky, O.; Boutevin, B.; Caillol, S. *Eur. Polym. J.* **2017,** 87, 535-552.

33. Nohra, B.; Candy, L.; Blanco, J.-F.; Raoul, Y.; Mouloungui, Z. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2012,** 89, (6), 1125-1133.

34. Maisonneuve, L.; Lamarzelle, O.; Rix, E.; Grau, E.; Cramail, H. *Chem. Rev. (Washington, DC, U. S.)* **2015,** 115, (22), 12407-12439.

35. Blain, M.; Cornille, A.; Boutevin, B.; Auvergne, R.; Benazet, D.; Andrioletti, B.; Caillol, S. *J. Appl. Polym. Sci.* **2017**, Ahead of Print.

36. Besse, V.; Camara, F.; Mechin, F.; Fleury, E.; Caillol, S.; Pascault, J.-P.; Boutevin, B. *Eur. Polym. J.* **2015,** 71, 1-11.

37. Kihara, N.; Endo, T. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **1993,** 31, (11), 2765-73.

38. Kihara, N.; Kushida, Y.; Endo, T. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **1996,** 34, (11), 2173-2179.

39. Tomita, H.; Sanda, F.; Endo, T. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2001,** 39, (6), 860-867.

40. Tomita, H.; Sanda, F.; Endo, T. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2001,** 39, (23), 4091-4100.

41. Tomita, H.; Sanda, F.; Endo, T. *Macromolecules* **2001,** 34, (22), 7601-7607.

42. Ochiai, B.; Satoh, Y.; Endo, T. *Green Chem.* **2005,** 7, (11), 765-767.

43. Besse, V.; Auvergne, R.; Carlotti, S.; Boutevin, G.; Otazaghine, B.; Caillol, S.; Pascault, J.-P.; Boutevin, B. *React. Funct. Polym.* **2013,** 73, (3), 588-594.

44. Keul, H.; Mommer, S.; Moeller, M. *Eur. Polym. J.* **2013,** 49, (4), 853-864.

45. Buergel, T.; Fedtke, M.; Franzke, M. *Polym. Bull. (Berlin)* **1993,** 30, (2), 155-62.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

46. Annunziata, L.; Diallo, A. K.; Fouquay, S.; Michaud, G.; Simon, F.; Brusson, J.-M.; Carpentier, J.-F.; Guillaume, S. M. *Green Chem.* **2014,** 16, (4), 1947-1956.

47. Baehr, M.; Bitto, A.; Muelhaupt, R. *Green Chem.* **2012,** 14, (5), 1447-1454.

48. van Velthoven, J. L. J.; Gootjes, L.; van Es, D. S.; Noordover, B. A. J.; Meuldijk, J. *Eur. Polym. J.* **2015,** 70, 125-135.

49. Proempers, G.; Keul, H.; Hoecker, H. *Green Chem.* **2006,** 8, (5), 467-478.

50. Ubaghs, L.; Fricke, N.; Keul, H.; Hoecker, H. *Macromol. Rapid Commun.* **2004,** 25, (3), 517-521.

51. Diakoumakos, C. D.; Kotzev, D. L. *Macromol. Symp.* **2004,** 216, (Contributions from 8th Pacific Polymer Conference, 2003), 37-46.

52. Zabalov, M. V.; Tiger, R. P.; Berlin, A. A. *Russ. Chem. Bull.* **2012,** 61, (3), 518-527.

53. Duval, C.; Kebir, N.; Charvet, A.; Martin, A.; Burel, F. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2015,** 53, (11), 1351-1359.

54. Yadav, S.; Zafar, F.; Hasnat, A.; Ahmad, S. *Prog. Org. Coat.* **2009,** 64, (1), 27-32.

55. Cottrell, T. L., *The Strengths of Chemical Bonds*. Butterworths: London, 1958.

56. Ubaghs, L. Isocyanate-free synthesis of (Functional) polyureas, polyurethanes, and urethane-containing copolymers. Bibliothek der RWTH Aachen, 2005.

57. Carre, C.; Bonnet, L.; Averous, L. *RSC Adv.* **2014,** 4, (96), 54018-54025.

58. Thomas, L. C., Interpreting Unexpected Event and Transitions in DSC Results. TA Instruments.

59. Blanchard, L. P.; Hesse, J.; Malhotra, S. L. *Can. J. Chem.* **1974,** 52, (18), 3170-5.

60. Schneider, H. A. *J. Appl. Polym. Sci.* **2003,** 88, (6), 1590-1599.

61. Privalko, V. P.; Lipatov, Y. S. *J. Macromol. Sci., Phys.* **1974,** 9, (3), 551-64.

62. Benyahya, S.; Boutevin, B.; Caillol, S.; Lapinte, V.; Habas, J.-P. *Polym. Int.* **2012,** 61, (6), 918-925.

63. van der Sman, R. G. M. *J. Phys. Chem. B* **2013,** 117, (50), 16303-16313.

64. Huggins, M. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1942,** 64, 2716-18.

65. Kraemer, E. O. *Ind. Eng. Chem.* **1938,** 30, 1200-3.

66. Legrand, P.; Lesieur, S.; Bochot, A.; Gref, R.; Raatjes, W.; Barratt, G.; Vauthier, C. *Int. J. Pharm.* **2007,** 344, (1-2), 33-43.

67. Bilati, U.; Allemann, E.; Doelker, E. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2005,** 24, (1), 67-75.

68. Choi, S.-W.; Kwon, H.-Y.; Kim, W.-S.; Kim, J.-H. *Colloids Surf., A* **2002,** 201, (1-3), 283-289.

69. Futscher, M. H.; Philipp, M.; Müller-Buschbaum, P.; Schulte, A. *Scientific Reports* **2017,** 7, (1), 17012.

70. Coleman, M. M.; Lee, K. H.; Skrovanek, D. J.; Painter, P. C. *Macromolecules* **1986,** 19, (8), 2149-2157.

71. Hoffman, A. S. *Macromol. Symp.* **1995,** 98, (35th IUPAC International Symposium on Macromolecules, 1995), 645-64.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

72. Priya James, H.; John, R.; Alex, A.; Anoop, K. R. *Acta Pharmaceutica Sinica B* **2014,** 4, (2), 120-127.

73. Klouda, L. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2015,** 97, (Part_B), 338-349.

74. Deshpande, S.; Sharma, S.; Koul, V.; Singh, N. *ACS Omega* **2017,** 2, (10), 6455-6463.

75. Hiruta, Y.; Shimamura, M.; Matsuura, M.; Maekawa, Y.; Funatsu, T.; Suzuki, Y.; Ayano, E.; Okano, T.; Kanazawa, H. *ACS Macro Lett.* **2014,** 3, (3), 281-285.

76. Liu, F.; Kozlovskaya, V.; Medipelli, S.; Xue, B.; Ahmad, F.; Saeed, M.; Cropek, D.; Kharlampieva, E. *Chem. Mater.* **2015,** 27, (23), 7945-7956.

77. Choi, S. H.; Lee, S. H.; Park, T. G. *Biomacromolecules* **2006,** 7, (6), 1864-1870.

78. Siebert, J. M.; Baier, G.; Landfester, K. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2012,** 50, (1), 80-88.

79. Rosenbauer, E.-M.; Wagner, M.; Musyanovych, A.; Landfester, K. *Macromolecules (Washington, DC, U. S.)* **2010,** 43, (11), 5083-5093.

80. Constantin, M.; Bucatariu, S.; Stoica, I.; Fundueanu, G. *Int J Biol Macromol* **2017,** 94, (Pt A), 698-708.

81. Gandhi, A.; Paul, A.; Sen, S. O.; Sen, K. K. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences* **2015,** 10, (2), 99-107.

82. Meewes, M.; Ricka, J.; De Silva, M.; Nyffenegger, R.; Binkert, T. *Macromolecules* **1991,** 24, (21), 5811-16.

83. Zhang, Z.; Zheng, P.; Cai, D.; An, X.; Shen, W. *J. Dispersion Sci. Technol.* **2014,** 35, (5), 695-705.

84. Huang, J.; Wu, X. Y. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **1999,** 37, (14), 2667-2676.

85. Makhaeva, E. E.; Tenhu, H.; Khokhlov, A. R. *Macromolecules* **1998,** 31, (18), 6112-6118.

86. Liu, F.; Agarwal, S. *Macromol. Chem. Phys.* **2015,** 216, (4), 460-465.

87. Seuring, J.; Agarwal, S. *Macromol. Rapid Commun.* **2012,** 33, (22), 1898-1920.

88. Gao, W.-W.; Chan, J. M.; Farokhzad, O. C. *Mol. Pharmaceutics* **2010,** 7, (6), 1913-1920.

89. Arizaga, A.; Ibarz, G.; Pinol, R. *J. Colloid Interface Sci.* **2010,** 348, (2), 668-672.

90. Wang, Y.; Heinze, T.; Zhang, K. *Nanoscale* **2016,** 8, (1), 648-657.

91. Lopes Jesus, A. J.; Redinha, J. S. *Comput. Theor. Chem.* **2013,** 1023, 74-82.

92. Yu, Y.; Chen, C.-K.; Law, W.-C.; Weinheimer, E.; Sengupta, S.; Prasad, P. N.; Cheng, C. *Biomacromolecules* **2014,** 15, (2), 524-532.

93. Bizmark, N.; Ioannidis, M. A. *Langmuir* **2015,** 31, (34), 9282-9289.

94. Mandzy, N.; Grulke, E.; Druffel, T. *Powder Technol.* **2005,** 160, (2), 121-126.

95. Riley, J. K.; An, J.; Tilton, R. D. *Langmuir* **2015,** 31, (51), 13680-13689.

96. Huang, X.; Appelhans, D.; Formanek, P.; Simon, F.; Voit, B. *ACS Nano* **2012,** 6, (11), 9718-9726.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

97. Anandhakumar, S.; Nagaraja, V.; Raichur, A. M. *Colloids Surf., B* **2010,** 78, (2), 266-274.

98. Paxton, T. R. *J. Colloid Interface Sci.* **1969,** 31, (1), 19-30.

99. Vale, H. M.; McKenna, T. F. *Colloids Surf., A* **2005,** 268, (1-3), 68-72.

100. Zwetsloot, J. P. H.; Leyte, J. C. *J. Colloid Interface Sci.* **1995,** 175, (1), 1-5.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Le développement des nanoparticules de polymère remonte au début des années 80. Depuis, elles sont utilisées pour des applications de plus en plus nombreuses. Parmi les polymères exploitables sous forme de nanoparticules, le polyuréthane possède des propriétés physico-chimiques avantageuses. Son principal inconvénient étant la toxicité des diisocyanates utilisées pour sa synthèse, des préparations sans isocyanate ont été développées. Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à l'étude de nanoparticules de polyuréthane sans isocynate obtenues par nanoprécipitation.

Dans le premier chapitre de ce manuscrit, nous avons présenté l'état de l'art sur la nanoprécipitation et les polyuréthanes sans isocyanate. La nanoprécipitation permet de former des nanoparticules de quelques centaines de nanomètres de diamètre à partir d'un polymère préformé. Lors de l'ajout d'une solution organique de polymère dans une phase aqueuse, la diffusion du solvant entraîne la précipitation du polymère sous forme de nanoparticules. Le phénomène est décrit par deux mécanismes : le premier est basé sur l'effet Marangoni, le second sur la nucléation-croissance de proto-particules. Bien que le procédé soit simple à mettre en application, de nombreux paramètres doivent être pris en compte pour assurer le contrôle de la taille et de la polydispersité des nanoparticules. La concentration du polymère, le ratio solvant/eau et la présence d'un tensioactif font partie des principaux paramètres.

Bien que les polyuréthanes soient de bons candidats pour des applications biomédicales, l'utilisation de diisocyanates au cours de leur synthèse est problématique. Depuis les années 60, des synthèses de polyuréthane sans isocyanate ont donc été développées, parmi lesquelles la polyaddition entre une diamine et un bis-(carbonate cyclique) qui suscite un intérêt croissant depuis les années 2000. Les polymères obtenus dans ce cas sont appelés poly(hydroxy)uréthanes car l'ouverture du cycle carbonate produit un hydroxyle – le plus souvent secondaire – sur sa chaîne principale. Les propriétés de ces polymères diffèrent quelque peu de celles des polyuréthanes par la présence des fonctions hydroxyle qui peuvent en outre être post-fonctionnalisées. La cinétique de l'aminolyse du carbonate peut être accélérée lorsque la diamine utilisée est aliphatique et de faible masse molaire, lorsque le cycle du carbonate est grand ou en présence d'un catalyseur. Le plus souvent, la réaction est réalisée à haute température (60 – 110°C), en masse ou dans un solvant (souvent aprotique) et dure plusieurs heures voire plusieurs jours. Des réactions secondaires et des interactions hydrogène inter-chaîne peuvent expliquer les faibles masses molaires des poly(hydroxy)uréthanes en comparaison avec leurs homologues polyuréthanes.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

La dernière partie du chapitre bibliographique apporte quelques informations sur les polymères stimulables qui se caractérisent par une réponse généralement brutale à la variation d'un paramètre physico-chimique. Lorsque ces polymères sont en milieu aqueux, cette réponse peut se manifester par la modification du volume du polymère, pouvant aller jusqu'à sa solubilisation ou sa précipitation.

Dans le deuxième chapitre, nous avons étudié la synthèse d'un poly(hydroxy)uréthane modèle suivie de sa nanoprécipitation. Le PHU a été obtenu de manière répétable par réaction entre le bis-(carbonate cyclique) sébacique et l'hexaméthylène diamine dans du THF à 80°C durant 48h sans catalyseur. La caractérisation du polymère par RMN a montré la présence de fonctions hydroxyle majoritairement secondaires. Le PHU est de faible masse molaire ($\overline{M_{n\,(\mathrm{RMN})}}$ entre 5 200 et 8 900 g/mol, Đ ≃ 1,5), amorphe (T_g ≃ -8°C), avec des fins de chaîne amine et carbonate. La réaction parasite d'aminolyse des esters n'est observée en infra-rouge que lorsque le temps de réaction est de 72h. L'utilisation de micro-ondes pour la synthèse du PHU a permis de réduire considérablement le temps de réaction (30min au lieu de 48h) mais elle n'a pas permis d'obtenir des masses molaires plus élevées. L'utilisation de la tetraméthylène diamine comme monomère bio-sourcé a fourni un poly(hydroxy)uréthane de très faible masse molaire ($\overline{M_n}$ = 2 400 g/mol).

Des nanoparticules de PHU ont été obtenues de manière répétable par nanoprécipitation sans tensioactif. L'utilisation de l'éthanol comme solvant organique a permis d'obtenir les nanoparticules de taille plus faible (90 nm, PDI = 0,2) tandis que l'utilisation du DMSO a conduit aux nanoparticules les plus monodisperses (140 nm, PDI = 0,1). Nous avons observé que la taille des nanoparticules augmentait avec l'augmentation de la concentration en polymère. La variation du volume d'eau n'a eu aucun d'effet sur la taille ou la distribution de taille des nanoparticules. Les nanoparticules préparées avec du DMSO sont restées stables durant 16 jours, tandis que celles préparées avec de l'éthanol (dont le PDI était plus élevé) se sont rapidement déstabilisées. L'élimination de l'éthanol par dialyse a entrainé l'agrégation des nanoparticules, tandis que la dialyse du DMSO n'a pas affecté les caractéristiques des nanoparticules. Le DMSO a permis d'obtenir de meilleurs résultats que l'éthanol en termes de polydispersité en taille et de stabilité, c'est donc ce solvant que nous avons retenu pour l'étude du chapitre suivant. Nous avons observé l'agrégation progressive des nanoparticules sans tensioactif au cours du temps et nous supposons que l'utilisation d'un tensioactif soit nécessaire pour améliorer la stabilité des nanoparticules au cours du temps.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

L'objectif du troisième chapitre était l'optimisation du procédé de nanoprécipitation du PHU afin d'obtenir des nanoparticules de taille et de distribution de taille minimales. Dans une étude préliminaire, la CMC du SDS, qui a été choisi comme tensioactif pour le procédé de nanoprécipitation, a été déterminée dans des solutions aqueuses de DMSO et de THF de compositions similaires à la phase continue des nanosuspensions décrites dans la suite du chapitre. La CMC du SDS augmente lorsque la proportion en DMSO dans la solution est plus élevée. Nous n'avons pas observé de CMC en présence de THF. D'autre part, une étude viscosimétrique sur des solutions de PHU dans le DMSO et dans le THF a permis d'estimer les interactions entre polymère et solvant. Les valeurs de viscosité intrinsèque et le paramètre de Huggins déterminés pour les couples (PHU-DMSO) et (PHU-THF) ont indiqué que la nanoprécipitation du PHU solubilisé dans le DMSO devait conduire à des tailles de nanoparticules plus élevées lorsque le THF était utilisé. Les valeurs du paramètre de Flory pour les couples PHU-DMSO et PHU-THF calculées à partir des paramètres d'Hildebrandt sont en accord avec les résultats obtenus par viscosimétrie, tandis que les valeurs calculées du paramètre d'interaction solvant-eau pour le DMSO et le THF indiquent le contraire. Il semble donc qu'il y ait compétition entre les affinités chimiques entre le solvant et le PHU d'une part et entre le solvant et l'eau d'autre part.

L'optimisation du procédé de nanoprécipitation du PHU solubilisé dans le DMSO en vue de former des nanoparticules de PDI inférieur à 0,2 et de taille la plus faible possible a été réalisée à l'aide d'un plan factoriel complet. Les effets principaux et d'interaction de la concentration en PHU, du volume d'eau et de la concentration en SDS dans la phase aqueuse sur la taille et la distribution de taille des nanoparticules ont été étudiés. Dans le domaine d'étude sélectionné, l'analyse des coefficients principaux et d'interaction a permis de définir que le PDI minimum (0,10) était obtenu pour une concentration en PHU de 5 g/l, un volume d'eau de 50 ml et une concentration en SDS de 25,0 mmol/l tandis que la taille minimale (55 nm) était obtenue pour une concentration en PHU de 1 g/l, un volume d'eau de 50 ml et une concentration en SDS de 25,0 mmol/l. Ces résultats sont cohérents avec l'analyse des courbes iso-réponse pour la taille : en absence de SDS, la taille de particules ($\simeq$ 90 nm) est indépendante des variations de la concentration en PHU et du volume d'eau ; en présence de SDS, à faible concentration en PHU, le volume d'eau le plus faible permet d'obtenir la taille la plus faible ($\simeq$ 70 nm) et à concentration en PHU élevée, la taille des particules ($\simeq$ 100 nm) est indépendante des variations de volume d'eau. La répétition des essais conduisant à la taille

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

ou au PDI optimal a permis de valider la répétabilité du procédé de nanoprécipitation dans les conditions optimales. Si la présence de SDS garantit la stabilisation des nanoparticules dans le temps, la présence de nombreuses micelles déstabilise la nanosuspension. Pour une quantité de SDS donnée inférieure à 25 mM, l'augmentation de la concentration en PHU permet de réduire l'intensité des forces de déplétion des micelles de SDS et améliore la stabilité des nanoparticules dans le temps. La diminution de la concentration en PHU permet d'atteindre un régime plus dilué dans la phase organique et favorise la formation de nanoparticules de taille plus faible. L'étude du vieillissement des échantillons a mis en évidence qu'une distribution de taille faible des nanoparticules assure la stabilité de la nanosuspension sur une longue période (7 mois). L'observation des nanoparticules en cryo-MET a confirmé le phénomène d'agrégation des nanoparticules causé par la présence des micelles de SDS.

Des essais de nanoprécipitation du PHU ont été réalisés avec le THF comme solvant organique. La faible température d'ébullition du THF a permis son élimination par évaporation sous hotte. La transposition des conditions expérimentales optimales avec le DMSO aux essais réalisés avec le THF conduit à des résultats différents : l'évaporation du THF entraine la déstabilisation des nanosuspensions à cause de la quantité excessive de SDS utilisé. De manière générale, pour des conditions expérimentales identiques, les nanoparticules obtenues avec le THF sont de taille plus élevée que lorsque le DMSO est utilisé. Ceci semble indiquer que la taille des nanoparticules obtenues par nanoprécipitation du PHU est plus influencée par les interactions solvant-eau que les interactions polymère-solvant. En ajustant la quantité de SDS, il a été possible, de manière répétable, d'obtenir des nanoparticules de faible taille (170 nm) et PDI (0,15) après évaporation du THF. La dialyse des nanoparticules effectuée après évaporation du THF ne modifie pas leurs tailles et leur distribution de taille.

Dans le dernier chapitre nous avons synthétisé des poly(hydroxy)uréthanes stimulables et nous avons étudié la réponse aux variations de température et de pH des nanoparticules préparées par nanoprécipitation à partir de ces polymères. En remplaçant l'hexamethylène diamine par la N-méthyl-2,2'-diaminodiéthylamine (et-DA), la diamino-N-méthyldipropylamine (prop-DA) ou la 1,4-bis(3-aminopropyl)pipérazine (pip-DA), nous avons synthétisé l'et-PHU, le prop-PHU ou le pip-PHU, trois polymères comportant une fonction amine tertiaire. La caractérisation des polymères par RMN a mis en évidence que l'hydroxyle secondaire était majoritaire, mais en proportion plus faible que pour le PHU obtenu avec l'hexaméthylène diamine. Des masses molaires similaires ont été obtenues en

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

RMN et en SEC (entre 5 000 et 9 500 g/mol pour l'et-PHU et le prop-PHU, entre 12 000 et 15 000 g/mol pour le pip-PHU). La dispersité particulièrement élevée de ces polymères (Đ très supérieure à 3) peut être due à des affinités entre les polymères et la colonne ou à la présence d'oligomères. Les polymères sont amorphes et se dégradent à des températures inférieures à la température de dégradation du PHU (entre 160 et 180°C contre 220°C). La T_g du pip-PHU (entre 0 et 5°C contre -8°C pour le PHU) est la plus élevée car ce polymère est le plus rigide.

Par la suite, des nanoparticules d'et-PHU, de prop-PHU et de pip-PHU ont été préparées par nanoprécipitation. Après élimination du DMSO par dialyse, des particules de taille et de distribution de taille faibles ($\simeq$ 100 nm, PDI < 0,2), stables au moins un mois, ont été obtenues de manière répétable. La taille des nanoparticules d'et-PHU est la plus faible (autour de 50 nm) tandis que les nanoparticules de prop-PHU et de pip-PHU ont une taille similaire (entre 80 et 100 nm). Ces résultats sont cohérents avec la valeur du paramètre de Huggins déterminé pour les trois polymères dans le DMSO qui s'avère être un solvant thêta de l'et-PHU à température ambiante.

Une étude infra-rouge en transmission sur des films de PHU, d'et-PHU, de prop-PHU et de pip-PHU a permis d'observer la rupture progressive des liaisons hydrogène intra- et intermoléculaires consécutive au chauffage des quatre polymères. Les trois PHUs stimulables n'ont pas semblé être plus sensibles à l'élévation de température que le PHU modèle.

Nous avons soumis les nanosuspensions de PHUs stimulables dialysées à des variations de température – chauffage progressif de 20 à 60°C ou isotherme à 60°C – et en pH – dialyse des échantillons dans des solutions à pH 4,0, 7,5 ou dans de l'eau permutée à 37°C – afin d'observer leur réponse en termes de variation de taille et/ou de PDI. En ce qui concerne la réponse en température, à 60°C, la taille des nanoparticules d'et-PHU a progressivement augmenté (de 90 à 140 nm en 35h), celle des nanoparticules de prop-PHU aussi, dans une moindre mesure (de 100 à 120 nm), ce qui valide leur caractère thermo-stimulable. A l'inverse, la taille des nanoparticules de pip-PHU n'a pas évolué au cours du temps. En ce qui concerne la réponse en pH, à pH 4,0, nous avons seulement observé une évolution de taille pour les nanoparticules d'et-PHU (de 65 à 130 nm en 24h). Les nanoparticules de prop-PHU et pip-PHU ne semblent pas pH-stimulables. En présence du tampon phosphate (pH 7,5), la force ionique élevée du milieu de dispersion permet d'expliquer la déstabilisation de toutes les nanosuspensions étudiées.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Il est possible que la présence de SDS dans les nanosuspensions limite la réponse des nanoparticules en pH ou en température : dans le cas de la température, la présence de SDS peut modifier l'équilibre hydrophile/hydrophile des nanoparticules et réduire l'effet de la rupture de liaisons hydrogène sur cet équilibre. Dans le cas du pH, les ions sulfates pourraient écranter les charges des ions ammonium tertiaire et diminuer la répulsion électrostatique entre charges positives à l'origine du gonflement des nanoparticules.

Plusieurs perspectives peuvent être proposées à la suite de ces différentes études. En ce qui concerne la nanoprécipitation du poly(hydroxy)uréthane, le système d'addition au goutte-à-goutte pourrait être remplacé par le mélangeur de phases en T utilisé en nanoprécipitation flash, ce dernier permettant un meilleur contrôle du temps de mélange des deux phases et une transposition du procédé à l'échelle semi-industrielle.

Afin de mieux comprendre les résultats concernant la réponse des nanoparticules stimulables en présence de SDS aux variations de température et de pH et d'expliquer les différences notables entre et-PHU, prop-PHU et pip-PHU, il serait intéressant d'étudier les interactions SDS-nanoparticule, notamment en déterminant les isothermes d'adsorption du SDS à l'interface polymère-milieu dispersant.

Le remplacement du SDS par un tensioactif non ionique – dérivé d'un polysaccharide par exemple – permettrait de réduire la toxicité des nanoparticules pour des applications biomédicales. D'autre part, cela permettrait de vérifier que l'absence de réponse en pH et/ou en température de certaines nanosuspensions étudiées est bien causée par la présence de SDS.

L'ajout d'une huile inerte à la phase organique permettrait d'obtenir des nanocapsules à cœur huileux. Des essais (non présentés dans ce manuscrit) avec de l'acide oléique et de l'huile de ricin ont donné des résultats prometteurs.

Il serait intéressant de réaliser des essais d'encapsulation d'un principe actif, sa libération pouvant être déclenchée par une variation du pH ou de la température dans le cas des nanoparticules d'et-PHU. Le paramètre de solubilité de l'ibuprofen laisse supposer que ce principe actif modèle est adapté au système poly(hydroxy)uréthane/DMSO/eau, ce qui en fait un candidat de choix pour de futurs essais.

L'incorporation de fonctions pH- et thermo-stimulables dans le motif du poly(hydroxy)uréthane a été réalisée en utilisant une diamine fonctionnalisée. Elle peut aussi être réalisée en utilisant un bis-(carbonate cyclique) fonctionnalisé, ou en post-

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

fonctionnalisant les fonctions hydroxyle du poly(hydroxy)uréthane. L'utilisation de réacteurs sous haute pression en CO_2 permettrait la synthèse catalysée de nouveaux bis-(carbonate cyclique)s à partir de bis-époxydes.

Enfin, dans le premier chapitre, nous avions indiqué que la trop faible réactivité des monomères bis-(carbonate cyclique)s vis-à-vis des diamines ne permettait pas la préparation de nanoparticules ou nanocapsules de poly(hydroxy)uréthane par polyaddition interfaciale. Cependant, il a été montré que la préparation de nanoparticules de poly(hydroxy)uréthane par polyaddition (diamine et bis-5CC aliphatiques) à l'intérieur des gouttes d'une miniémulsion était faisable. Il serait intéressant de développer cette voie de synthèse, notamment en l'adaptant à la production de nanoparticules de poly(hydroxy)uréthane stimulable pour l'encapsulation de principes actifs.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

ANNEXES

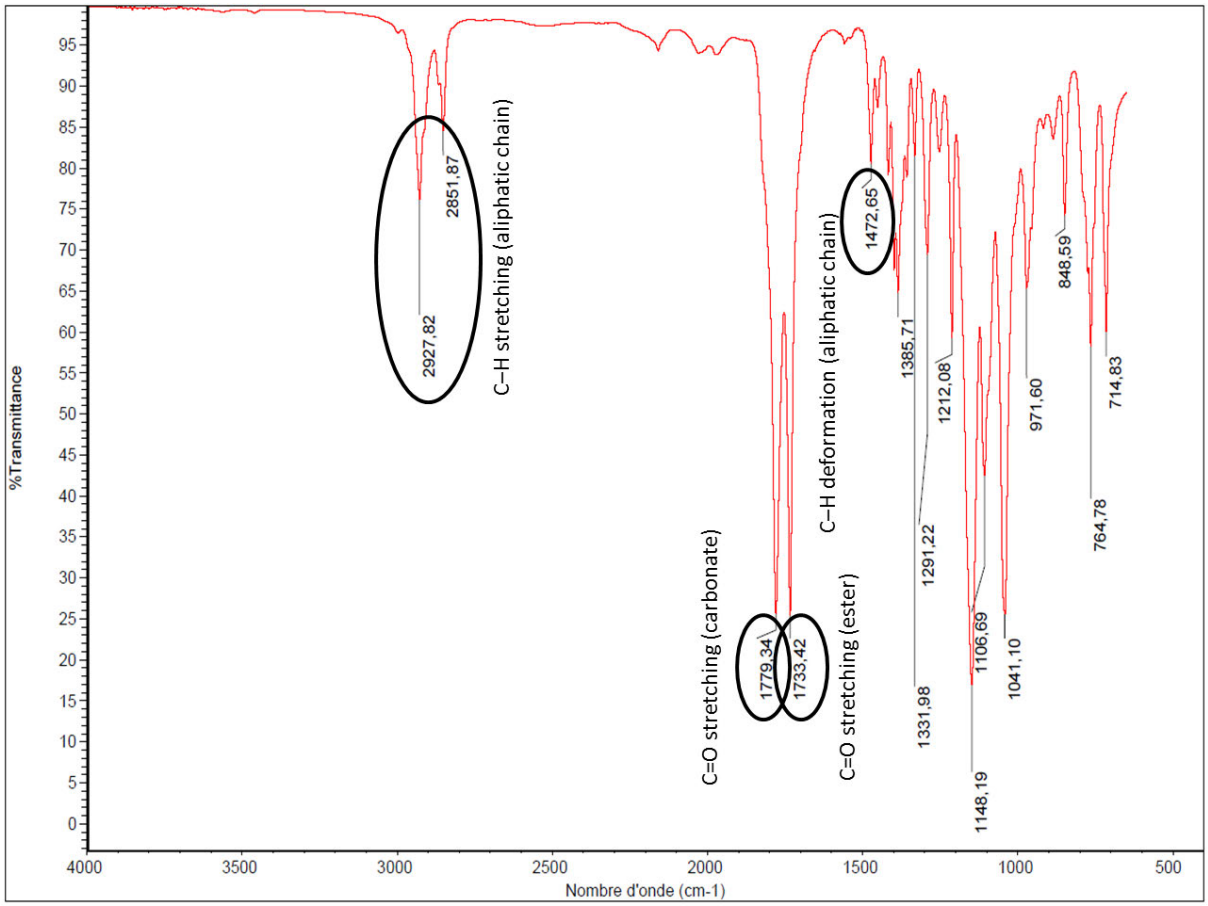
Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Chapitre II : Synthèse de poly(hydroxy)uréthane et préparation de nanoparticules par nanoprécipitation

Supporting information

Figure S1: FTIR-ATR spectrum of SB bis-CC.



Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Figure S2: ^{1}H NMR spectrum of SB bis-CC in DMSO-*d*6.

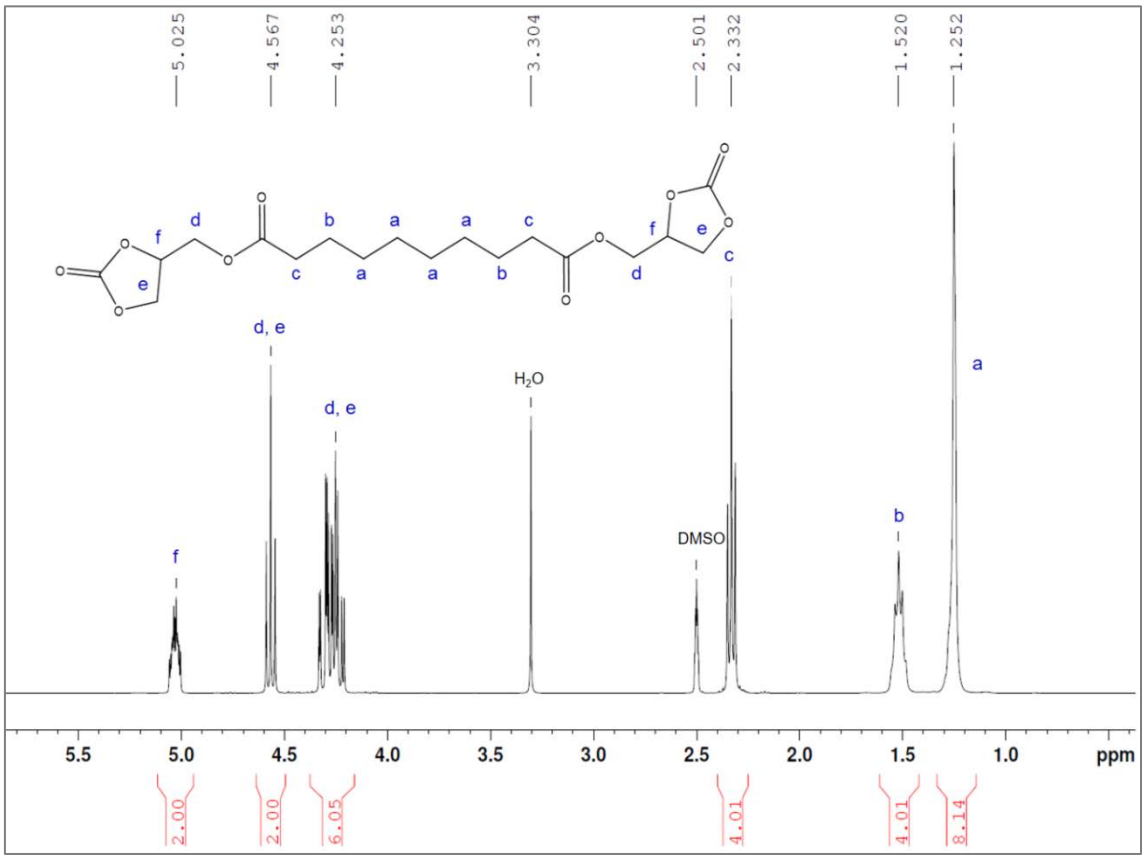
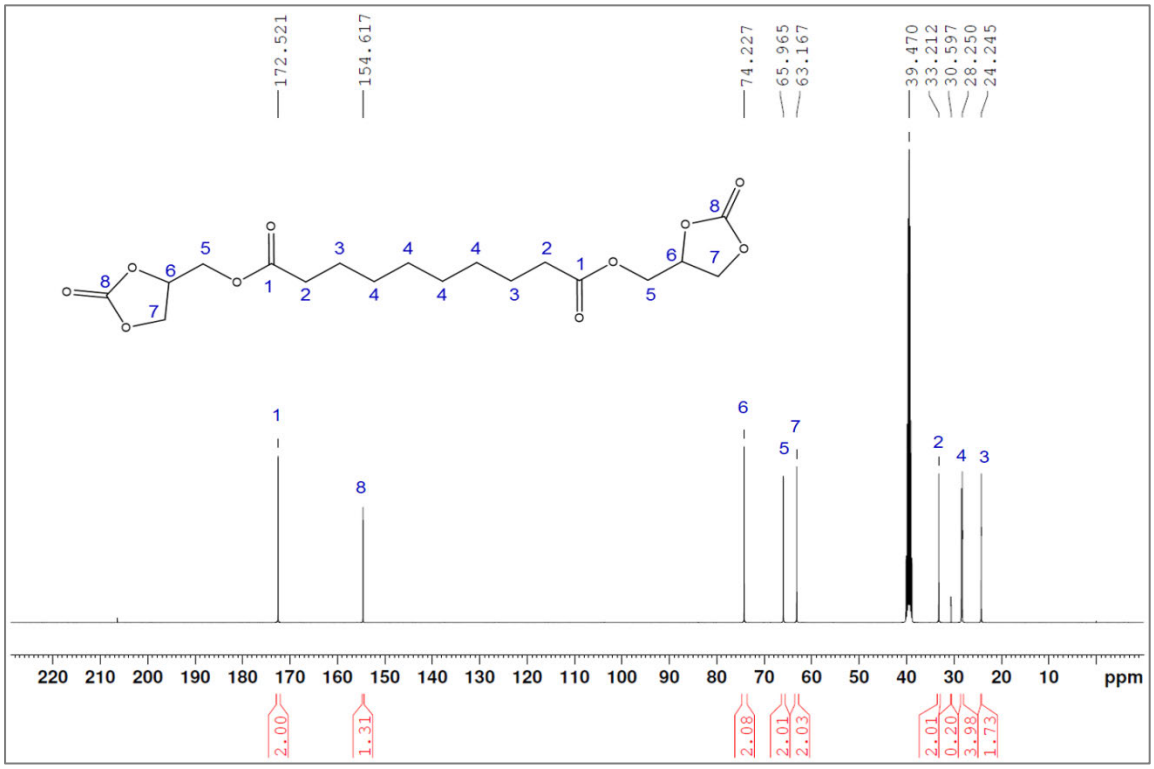


Figure S3: ^{13}C NMR spectrum of SB bis-CC in DMSO-d6.



Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Figure S4: FTIR-ATR spectrum of (SB-HM)-PHU-1.

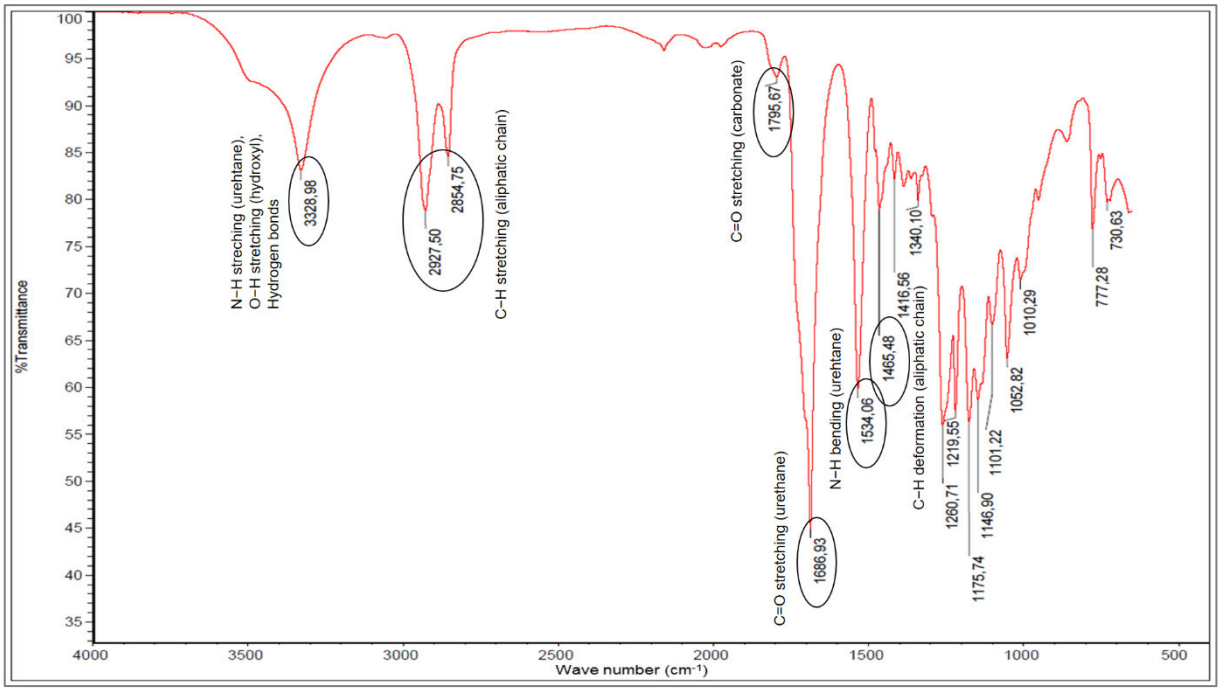
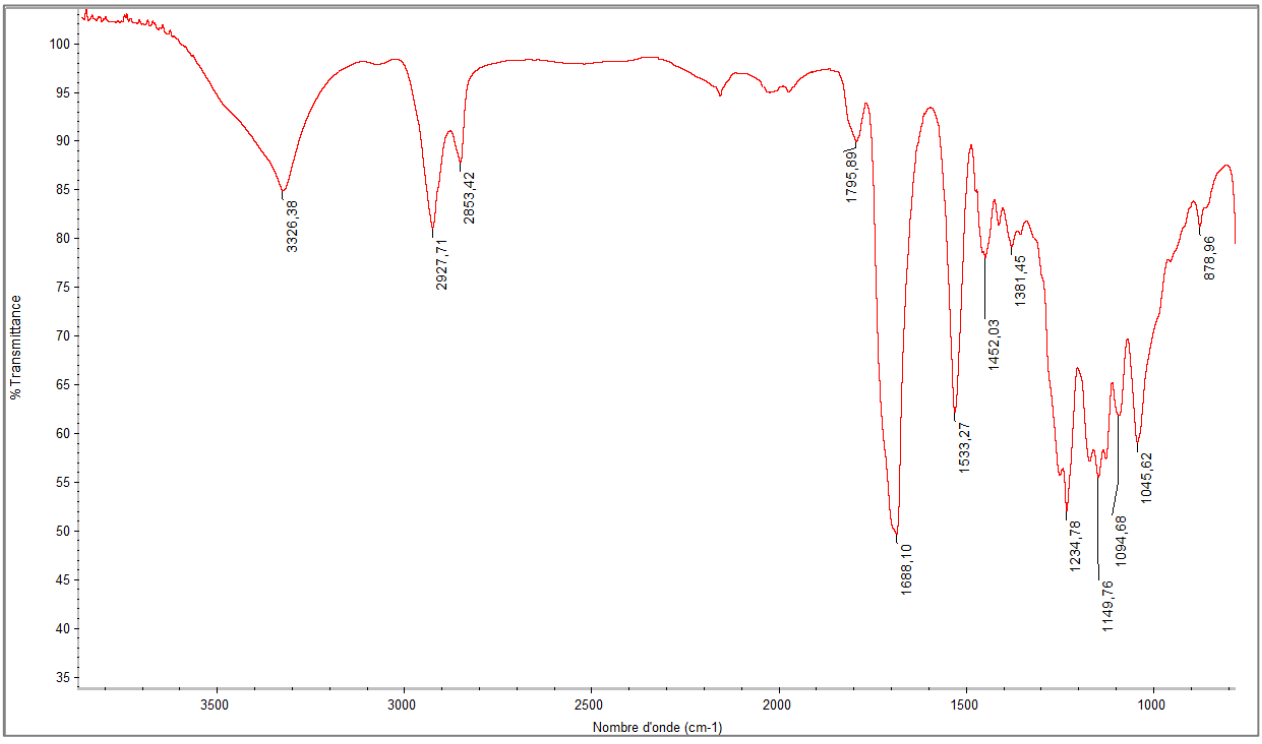


Figure S5: FTIR-ATR spectrum of (SB-HM)-PHU-2.



Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Figure S6: FTIR-ATR spectrum of (SB-HM)-PHU t = 72h.

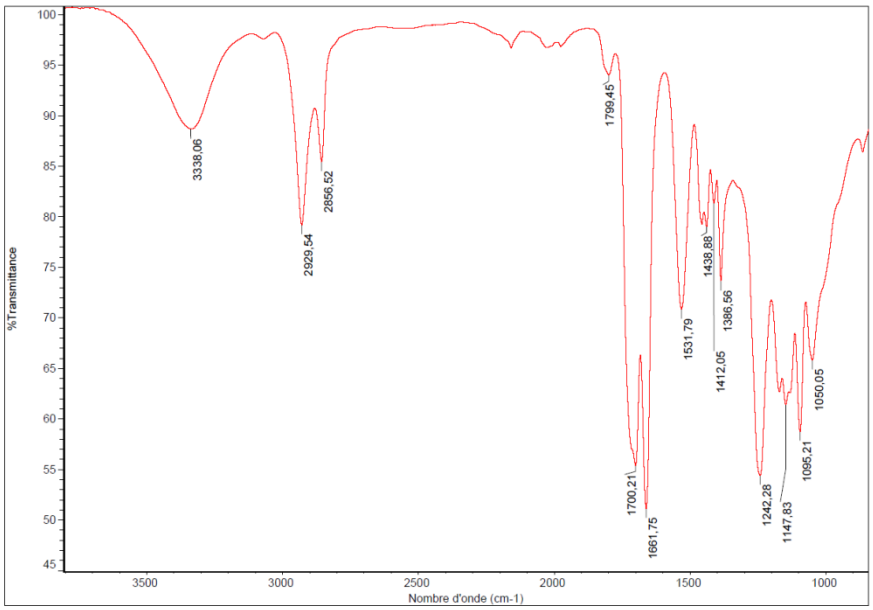
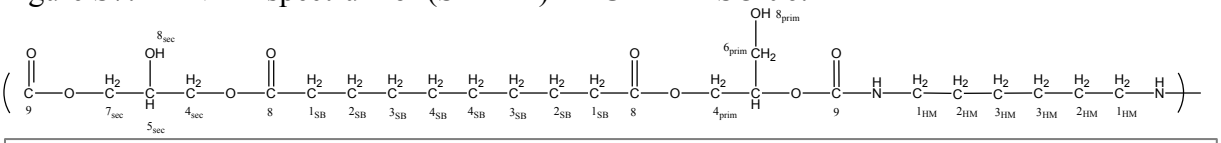
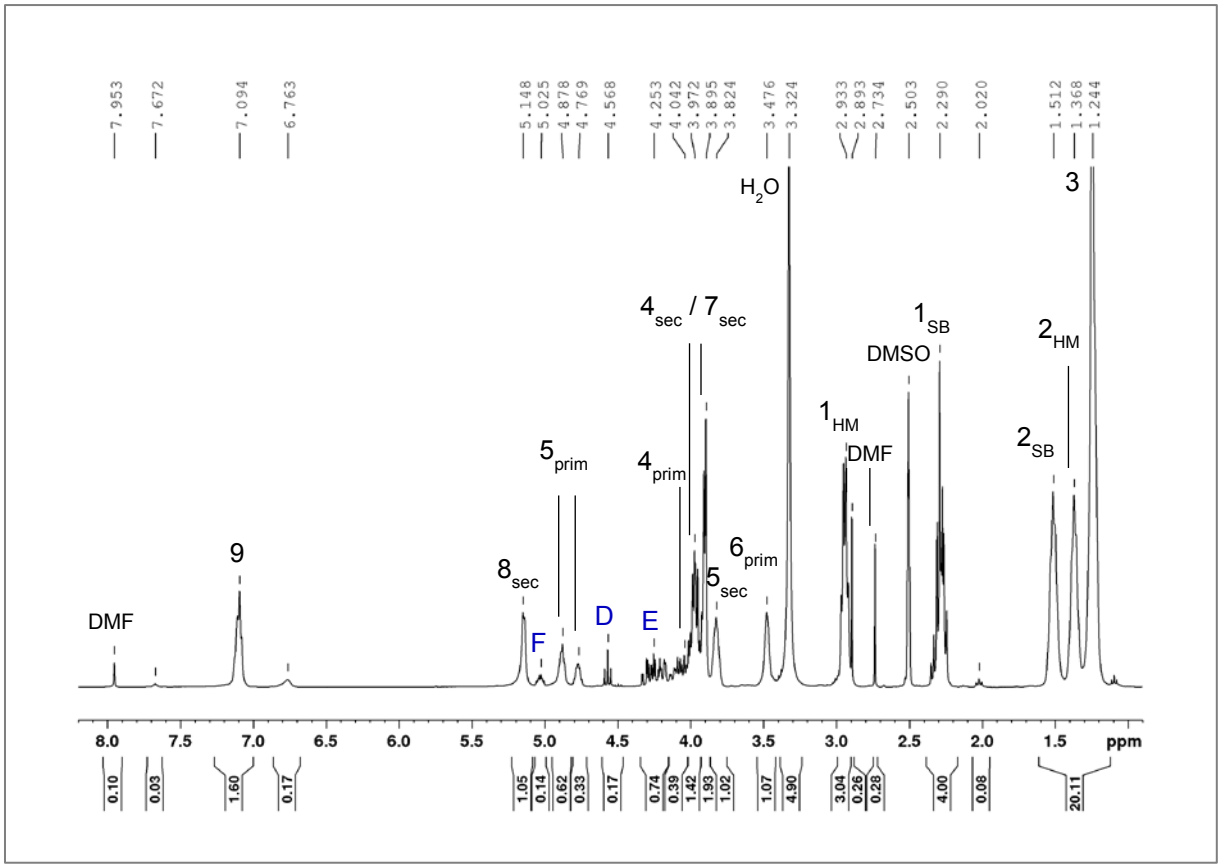


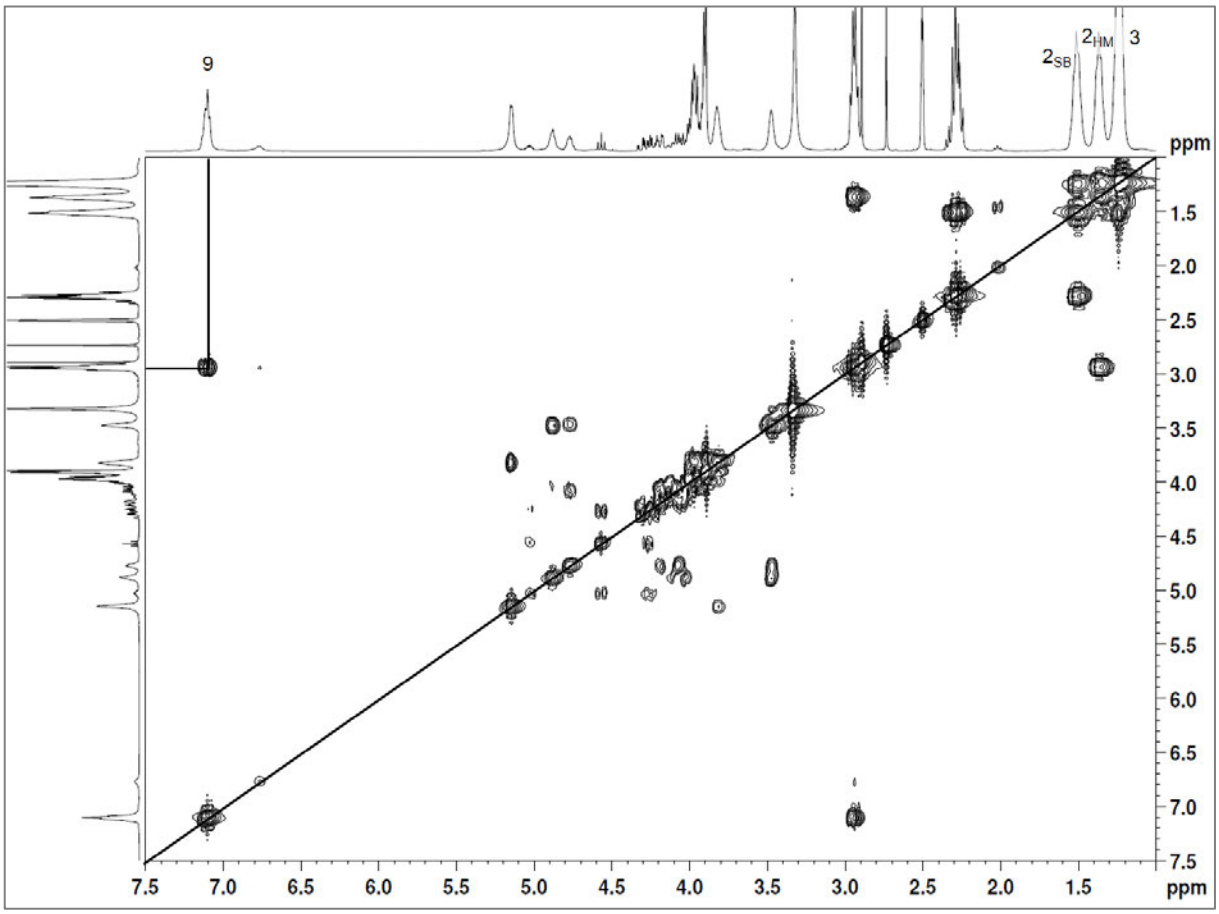
Figure S7: ^{1}H NMR spectrum of (SB-HM)-PHU in DMSO-*d6*.





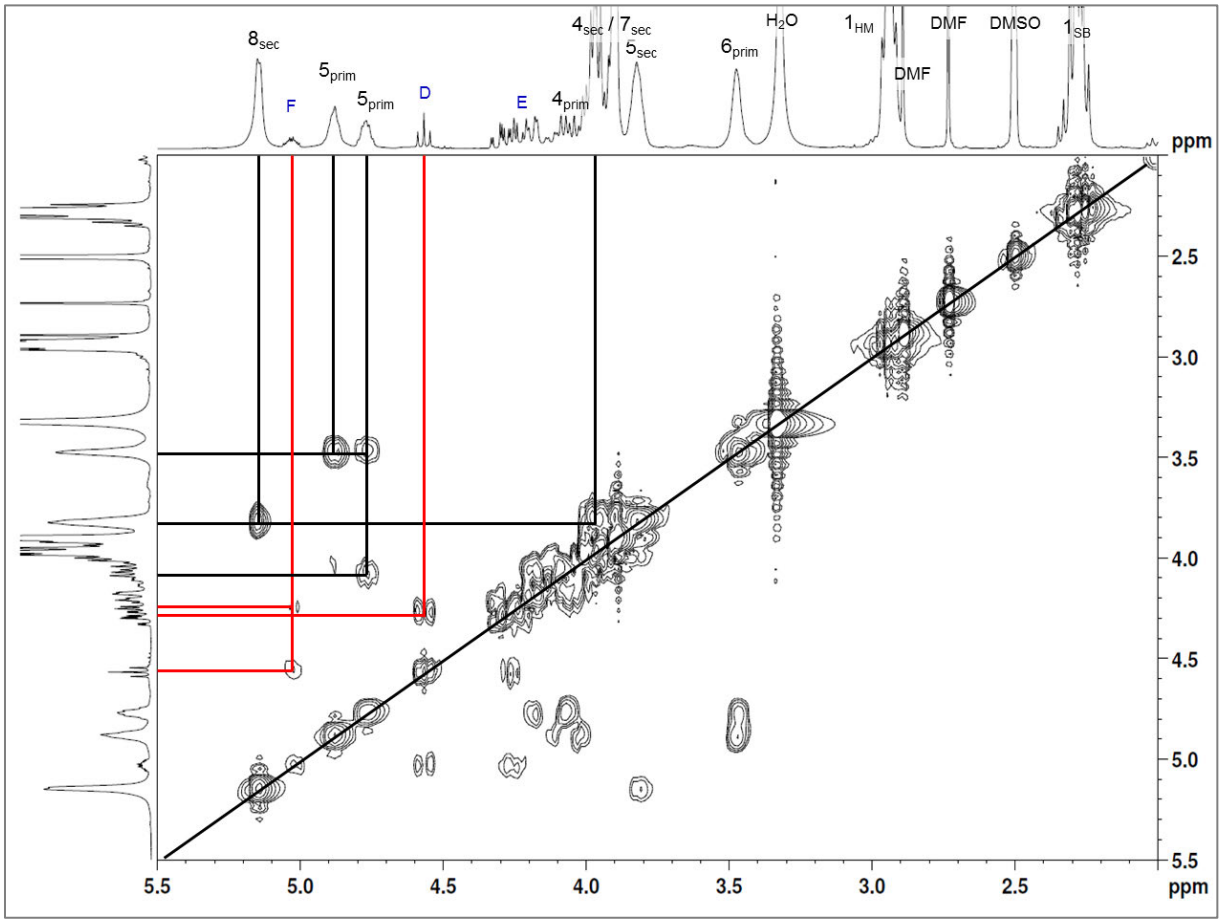
Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Figure S8: COSY NMR spectrum of (SB-HM)-PHU in DMSO-d6.



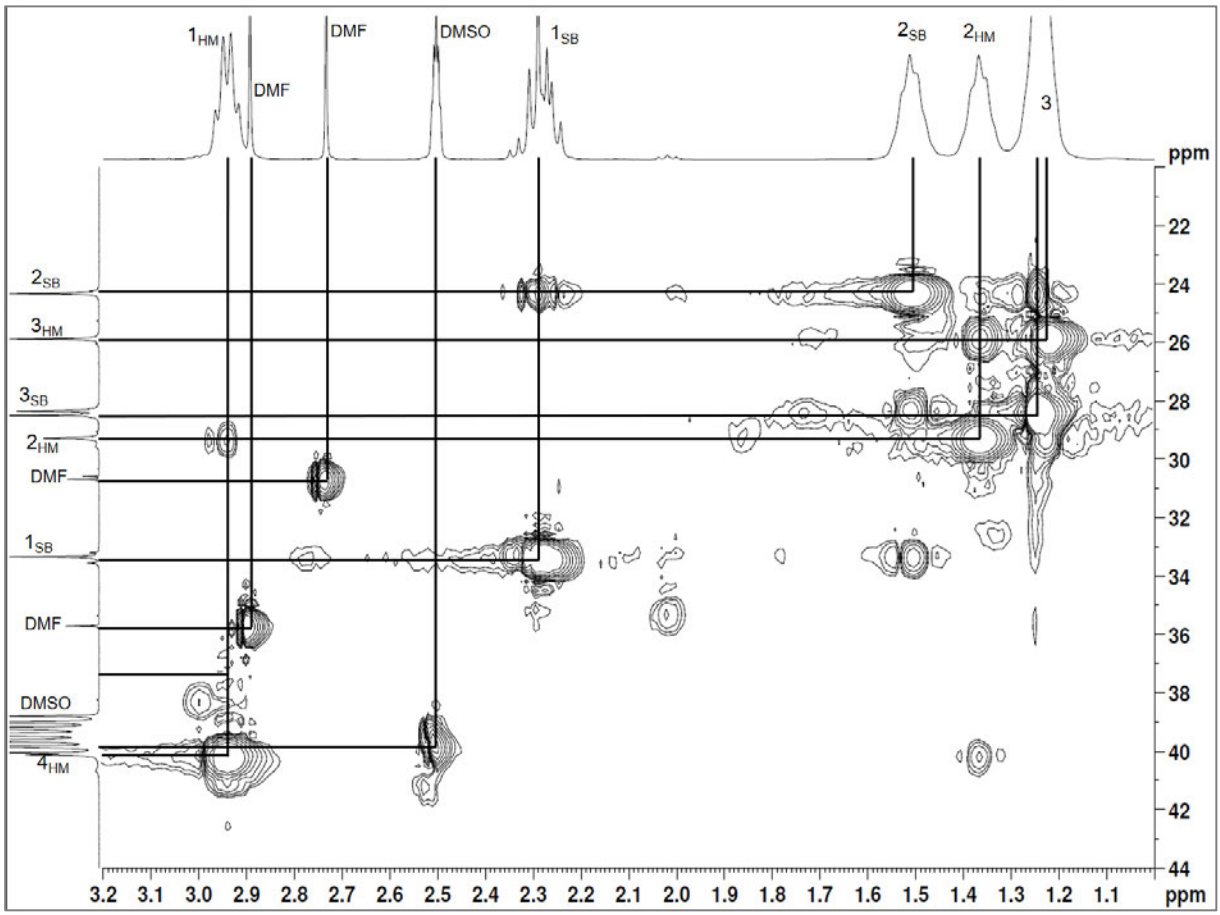
Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Figure S9: Enlargement (2–5.5 ppm) COSY NMR spectrum of (SB-HM)-PHU in DMSO-*d*6



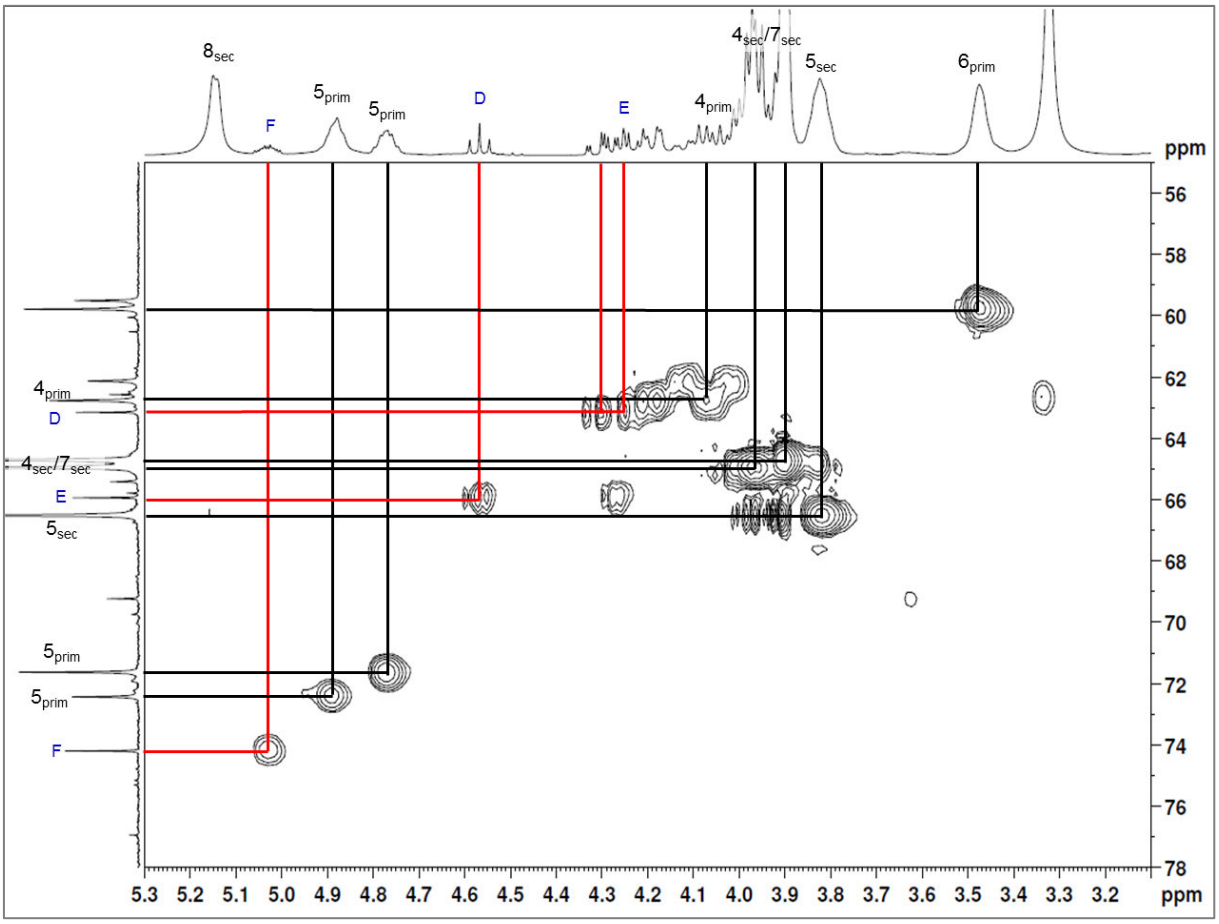
Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Figure S10: HSQC NMR spectrum of (SB-HM)-PHU in DMSO-*d*6 (^{13}C: 20–44 ppm, ^{1}H: 1.0–3.2 ppm).



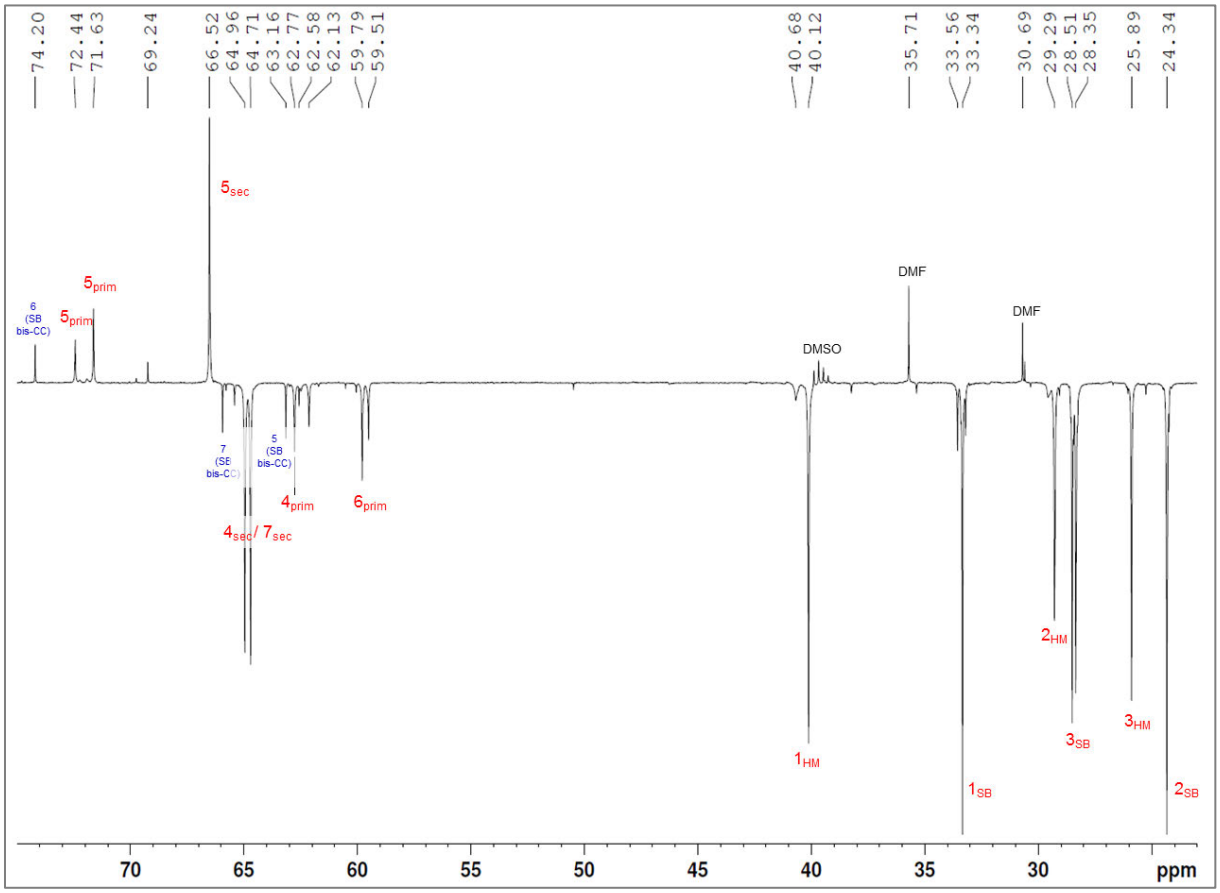
Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Figure S11: Enlargement (^{13}C: 55–78 ppm, ^{1}H: 3.1–5.3 ppm) HSQC NMR spectrum of (SB-HM)-PHU in DMSO-*d*6.



Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Figure S12: DEPT 135 NMR spectrum of (SB-HM)-PHU in DMSO-*d6*.



Assignment procedure of (SB-HM)-PHU ^{1}H and ^{13}C resonances

SB bis-CC ^{1}H and ^{13}C NMR characterization (Figure S2 and S3) is based on a study from Avérous *et al*. These two spectra enable the determination of protons H_{3SB} (1.24 ppm), H_{2SB} (1.51 ppm) and H_{1SB} (2.29 ppm) which are the counterparts of protons H_a, H_b et H_c from SB bis-CC. Similarly, carbons C_{2SB} (24.34 ppm), C_{3SB} (28.51 ppm) and C_{1SB} (33.34 ppm) are analogous to carbons C_3, C_4 et C_2 from SB bis-CC.

Chemical shifts of protons H_E (4.25 ppm), H_D (4.57 ppm) et H_F (5.03 ppm) from the PHU chain ends are analogous to protons H_e, H_d et H_f from SB bis-CC. Similarly, chemical shifts of carbons C_D (63.16 ppm), C_E (65.94 ppm), C_F (74.20 ppm) and C_G (154.58 ppm) from the PHU end chains are analogous to carbons C_7, C_5, C_6 et C_8 from SB bis-CC.

C_{3HM} (25.89 ppm), C_{2HM} (29.29 ppm) and C_{1HM} (40.12 ppm) are carbons from the hexamethylene diamine monomer (data not shown).

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

HSQC spectrum (Figure S10 and S11) reveals coupling between carbons C_{3HM}, C_{2HM}, C_{1HM} and protons H_{3HM} (1.24 ppm), H_{2HM} (1.51 ppm) and H_{1HM} (2.93 ppm) respectively. Protons H_{3SB} and H_{3HM} have an identical shift, that is why they have both been named H_3.

COSY Spectrum (figure 8 and 9) reveals the coupling between protons H_{2HM}, H_{1HM} and H_9 (7.10 ppm). Protons H_{2SB} and H_{1SB} are also coupled with each other. Protons H_D, H_E and H_F are also coupled with one another.

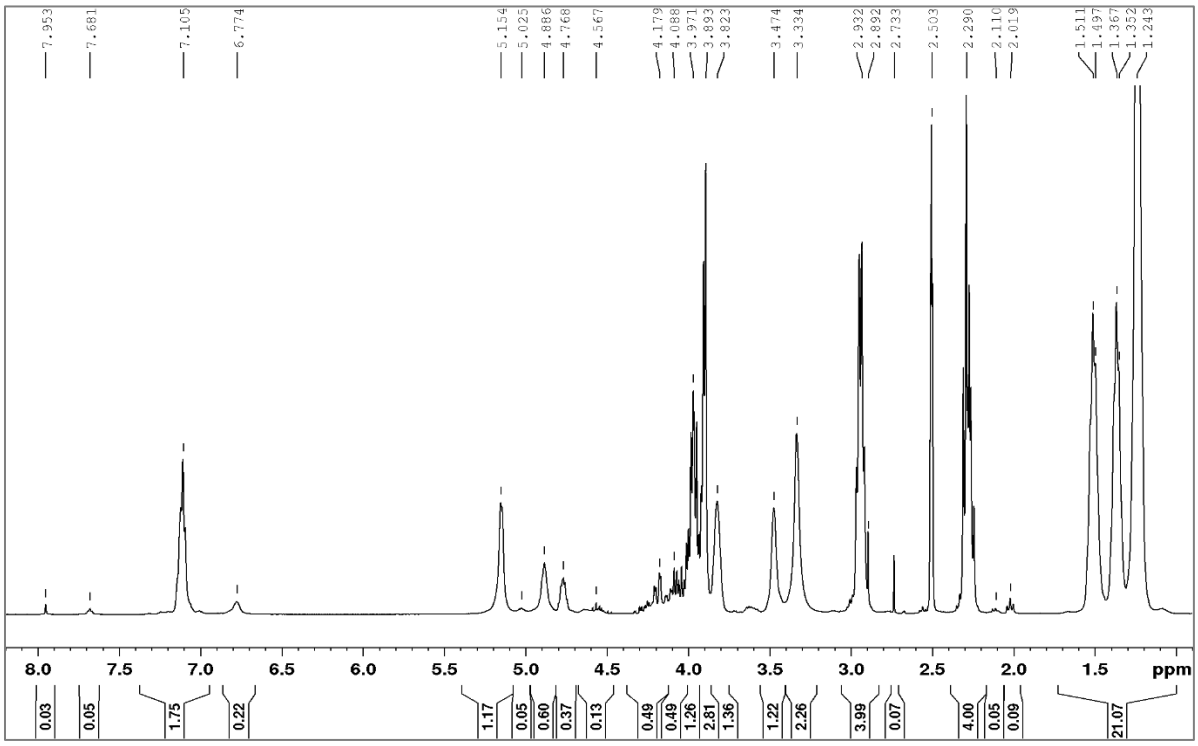
HSQC spectrum reveals that the proton at 5.15 ppm is coupled with no carbon. Thus, this proton belongs to a hydroxyl group. Dept-135 (figure S12) reveals that the carbon coupled with this proton is also coupled with a tertiary carbon, which implies that the proton at 5.15 ppm is H_{8s}. H_{8s} is coupled with H_{5sec} (3.82 ppm) (COSY spectrum, figure S8 and S9). H_{5sec} is coupled with H_{4sec} and H_{7sec} (3.90 ppm and 3.97 ppm).

By deduction, the four primary hydroxyl protons (H_{4p}, H_{5p}, H_{6p} H_{8p}) could be attributed to the shifts at 3.48, 4.07, 4.77 and 4.88 ppm (COSY spectrum, figure S8 and S9). Protons at 3.48 and 4.07 ppm are coupled with secondary carbons (HSQC and dept-135); therefore, these protons are H_{4p} and H_{6p}. H_{4p} is more deshielded that H_{6p} because it isclose to an ester group. Therefore, the shift of H_{4p} is 4.07 ppm and the shift of H_{6p} is 3.48 ppm. Protons at 4.77 and 4.88 ppm are both coupled with carbons (HSQC); therefore, none of them can be attributed to H_{5p}. The two shifts at 4.77 and 4.88 ppm can be associated to the same proton H_{5p} because this proton is attached to an asymmetric carbon (C_{5p}).

Quaternary carbons C_8 (ester group) and C_9 (urethane group) do not appear on the dept-135 spectrum; they are assigned to the shifts at 172.77 and 155.99 ppm respectively. The remaining shifts from the ^{13}C spectrum are assigned to their corresponding carbons using the HSCQ spectrum.

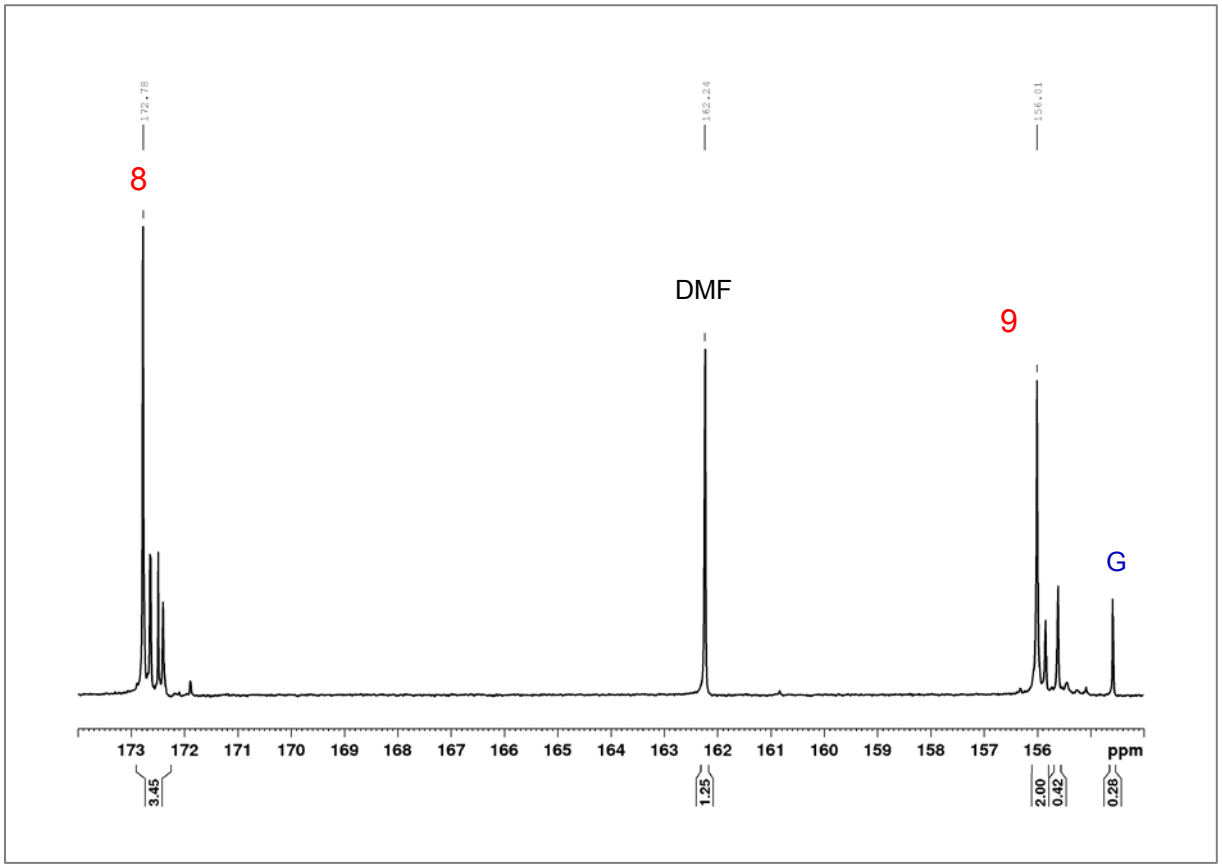
Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

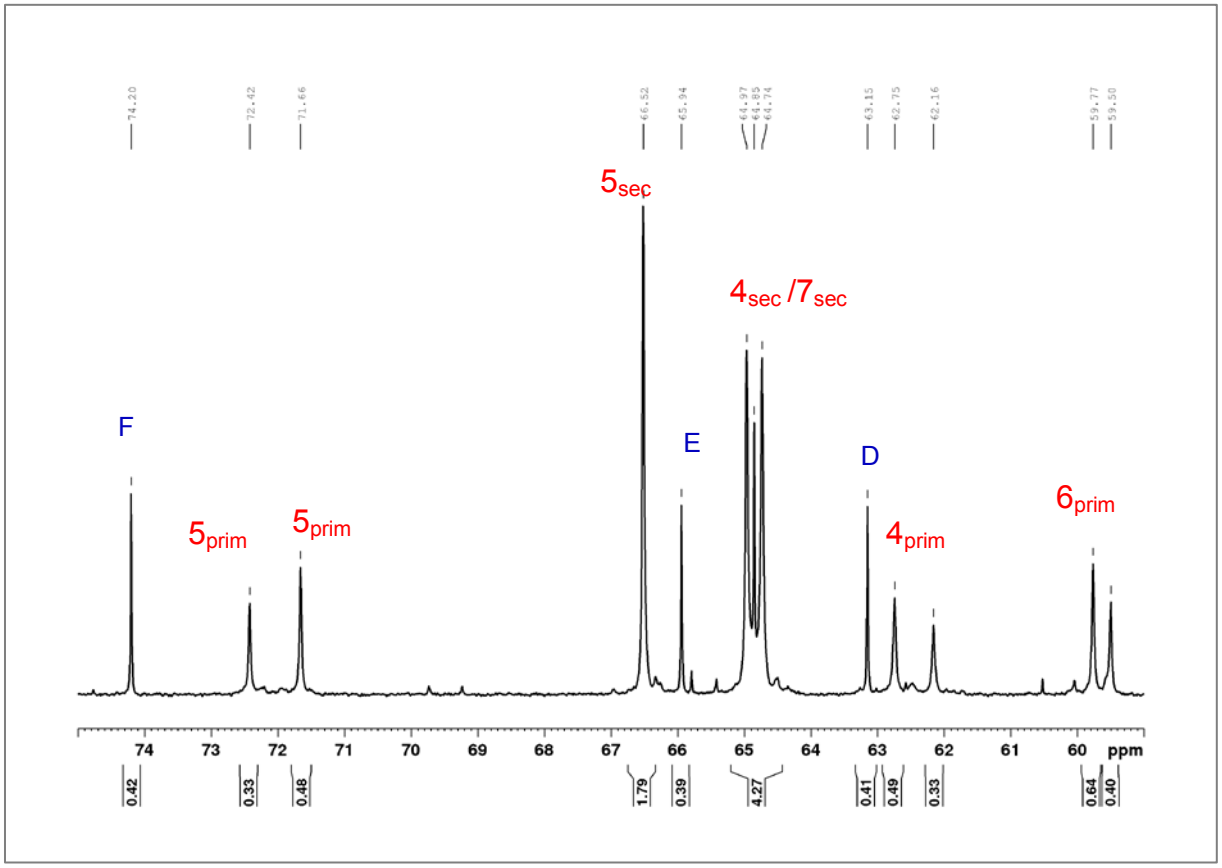
Figure S13: ^{1}H NMR spectrum of (SB- HM)-PHU synthesized in THF during 72 hours in DMSO-*d*6.



Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Figure S14: ^{13}C NMR spectrum of (SB-TM)-PHU in DMSO-*d*6.





Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

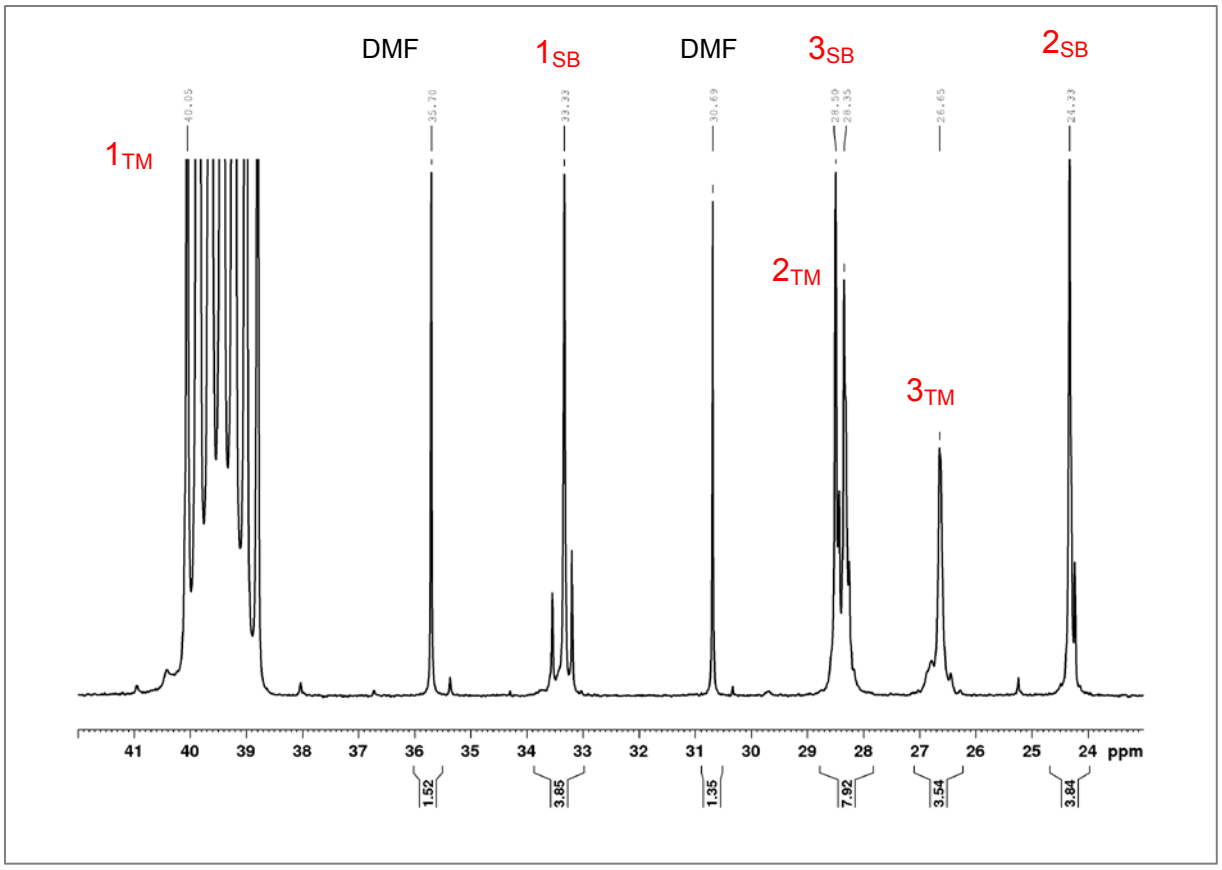
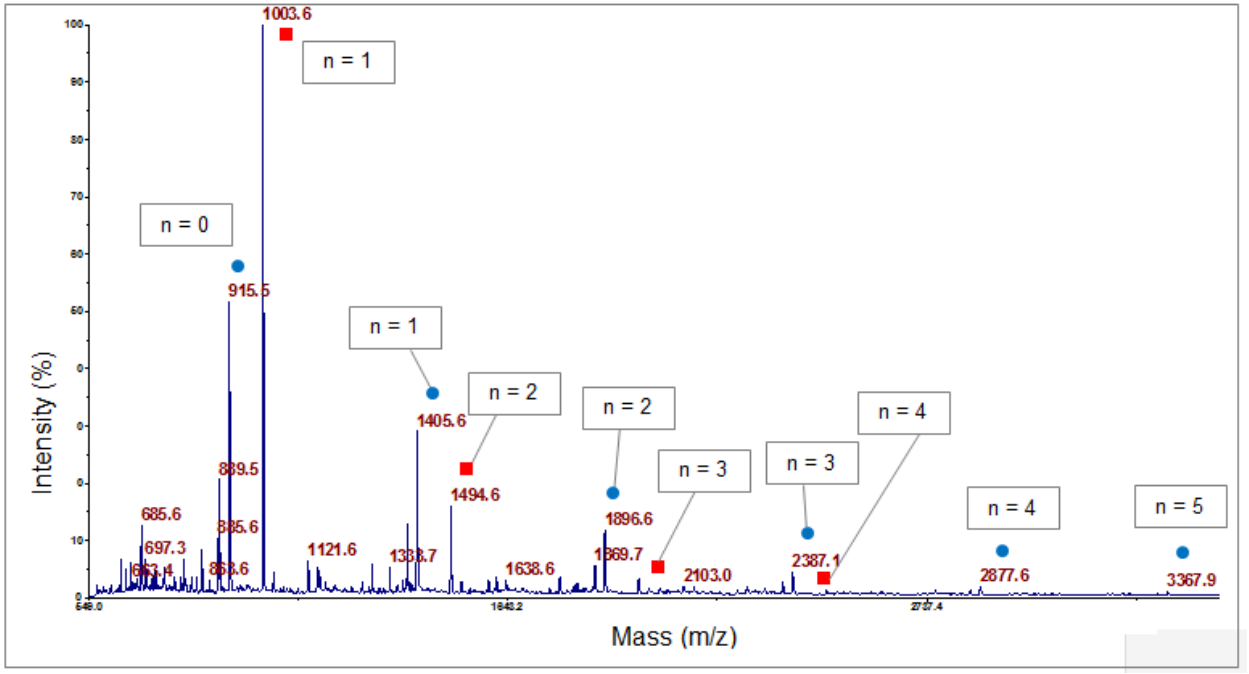


Figure S15: MALDI-ToF spectrum of (SB-TM)-PHU.

Chain ends: amine and amine →▲; amine and carbonate →■; carbonate and carbonate →●



Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Figure S16: TGA and DTGA curves of (SB-TM)-PHU.

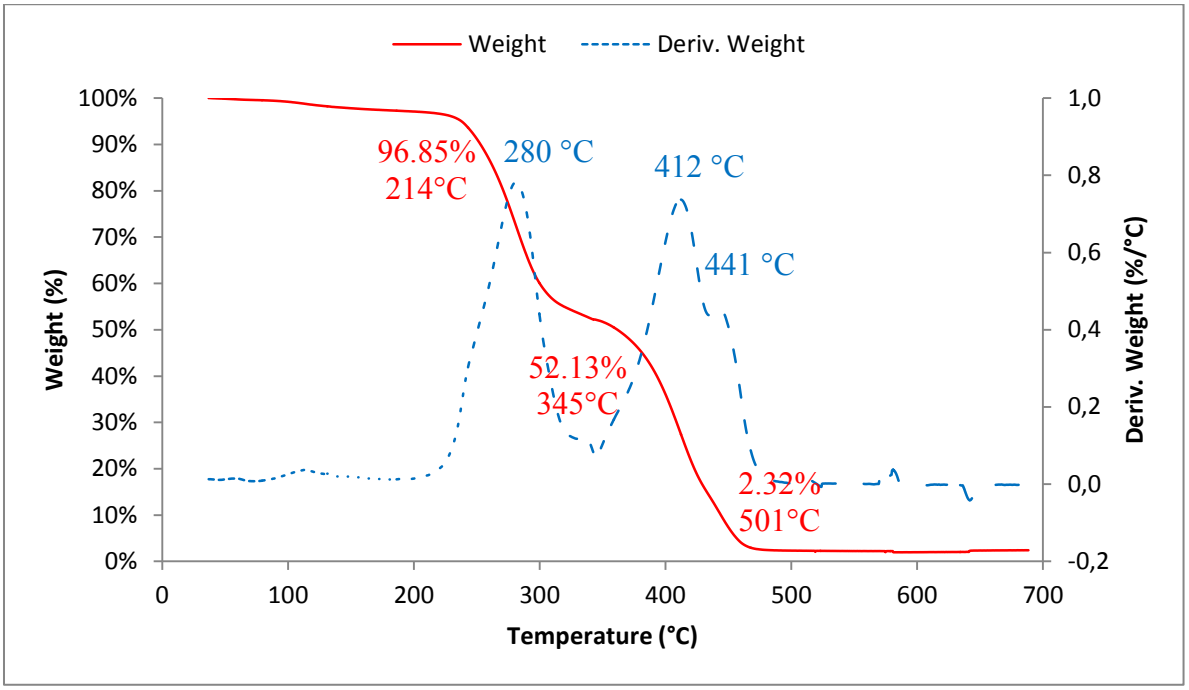
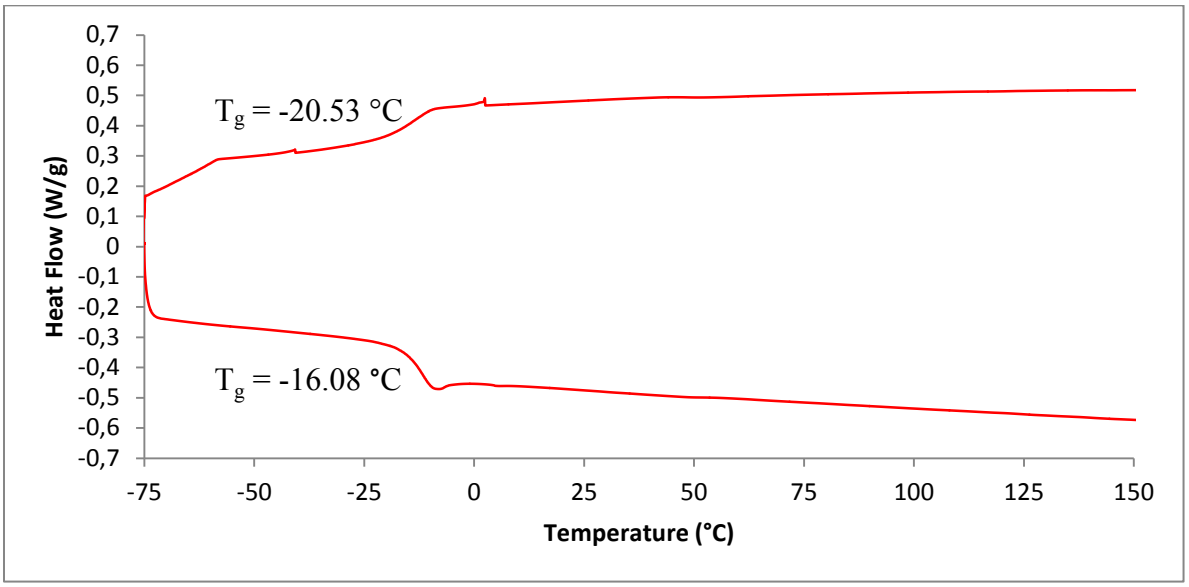
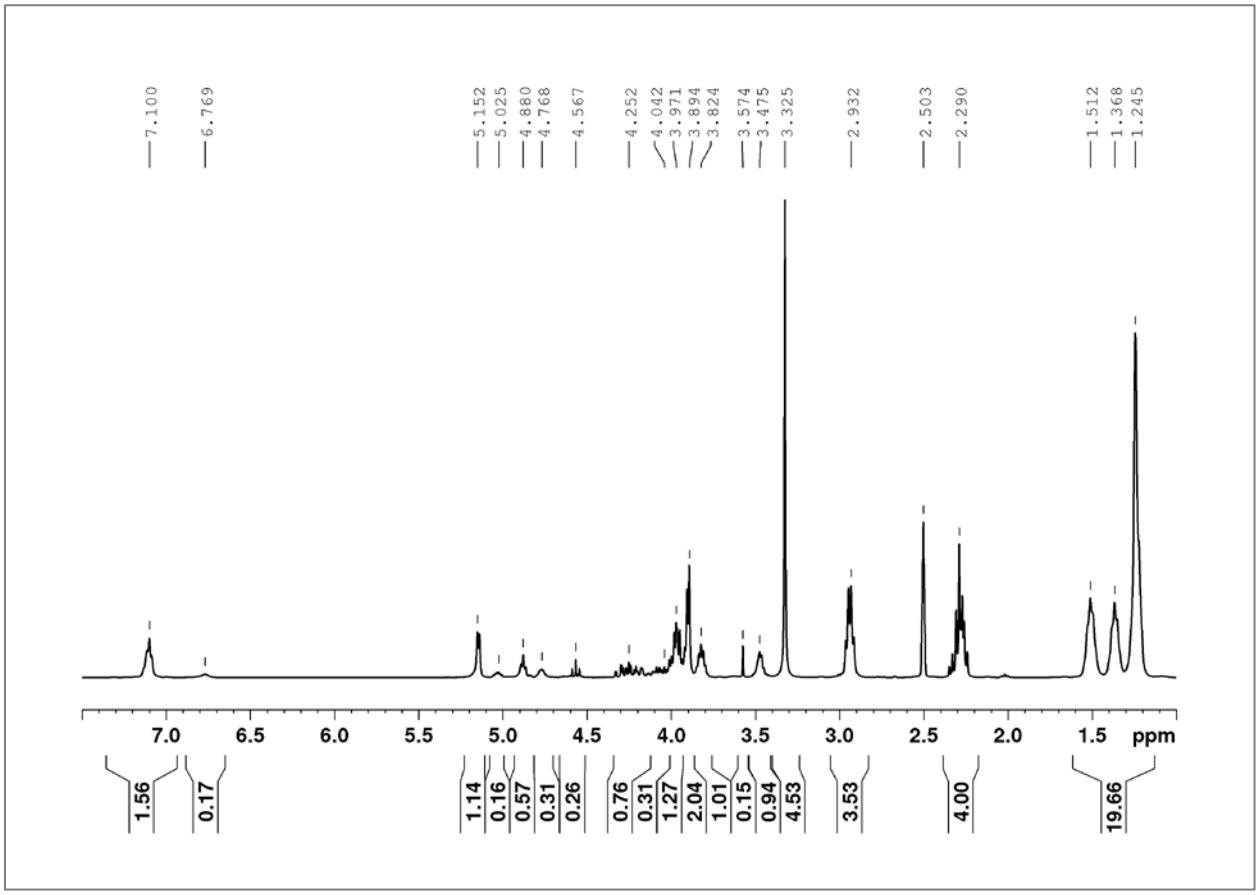


Figure S17: Thermogramm of (SB-TM)-PHU during the second run (cooling/heating rate equal to 10°C/min).



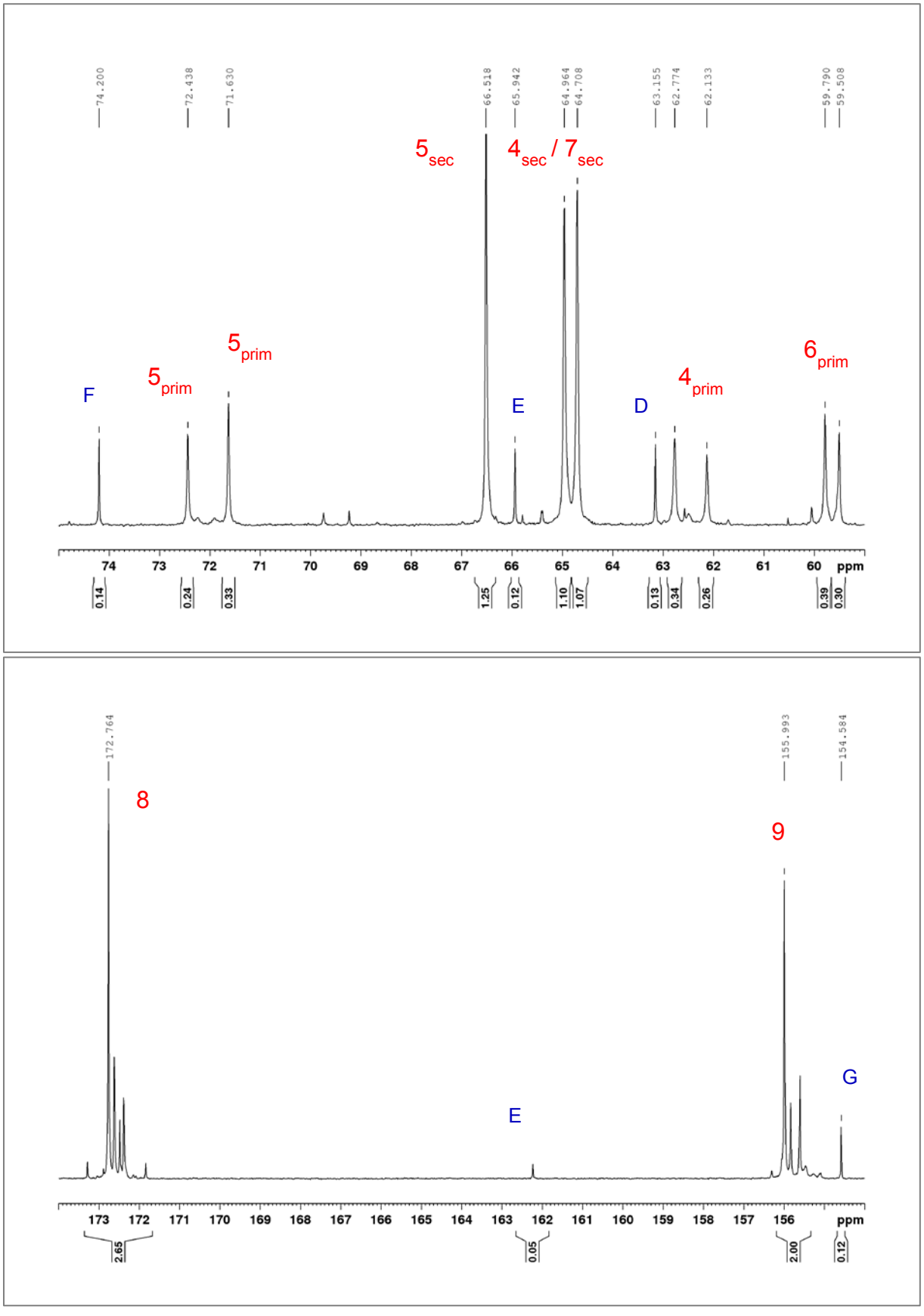
Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Figure S18: ^{1}H NMR spectrum of (SB-HM)-PHU_{MW}-1 synthesized in THF (DMSO-d6).

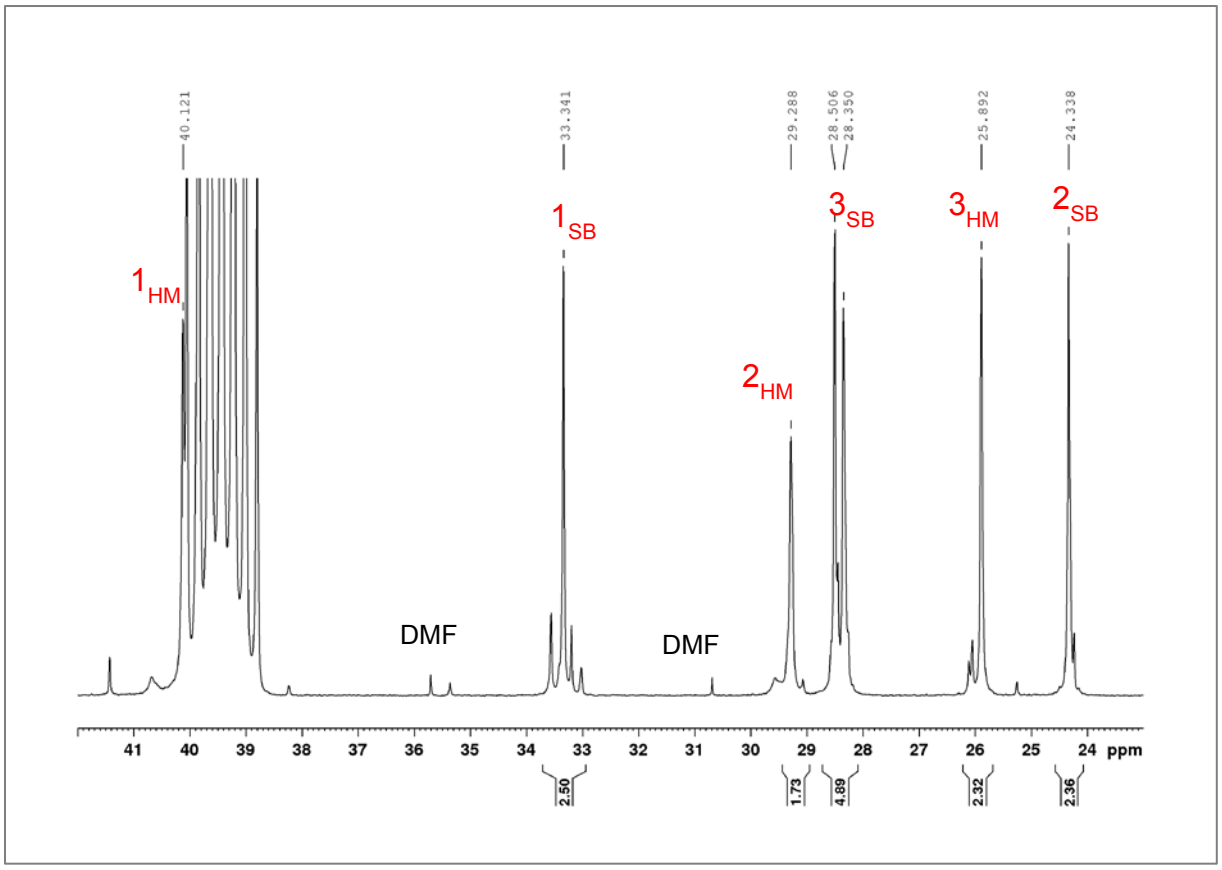


Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Figure S19: ^{13}C NMR spectrum of (SB-HM)-PHU_{MW}-1 synthesized in THF in DMSO-*d*6.

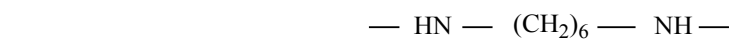
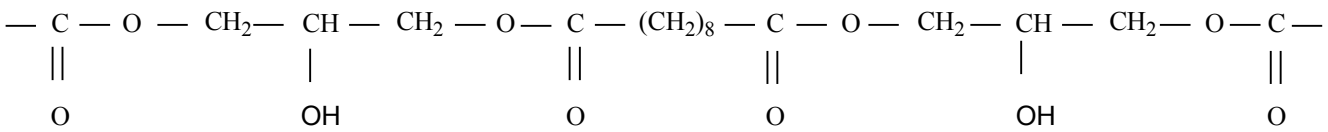
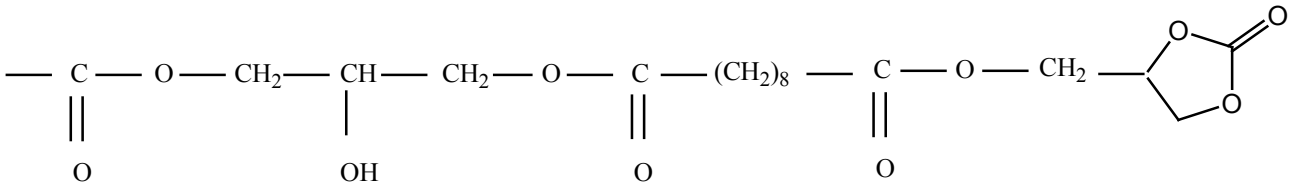


Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés



Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Table S1: Calculated and experimental masses of the cationized oligomers (MNa+) of (SB-HM)-PHU.

	Species	n	Calculated MNa^+ (Da)	Experimental MNa^+ (Da)
A			114.1157	
A'			115.1235	
B			404.1682	
B'			403.1604	
	A' – B'		541.2737	541.2
●	B' – A – B'		943.4263	943.7

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

▲	A’ – B – A’		657.4050	-
■	A’ –$(B–A)_n$ – B’	1	1059.5576	1060.3
●	B’ – $(A–B)_n$ – A – B’	1	1461.7102	1462.6
▲	A’ –$(B–A)_n$ – B – A’	1	1175.6889	1178.3
■	A’ – $(B-A)_n$ – B’	2	1577.8415	1578.9
●	B’ – $(A–B)_n$– B’	2	1979.9941	1979.8
▲	A’ – $(BA)_n$ – B- A’	2	1693.9728	1696.9
■	A’ – $(B-A)_n$ – B’	3	2096.1254	2097.5
●	B’ – $(A–B)_n$– B’	3	2498.278	2499.8
▲	A’ – $(BA)_n$ – B- A’	3	2212.2567	2215.6
■	A’ – $(B-A)_n$ – B’	4	2614.4093	
●	B’ – $(A–B)_n$– B’	4	3016.5619	3017.6
▲	A’ – $(B-A)_n$ – B- A’	4	2730.5406	2733.5

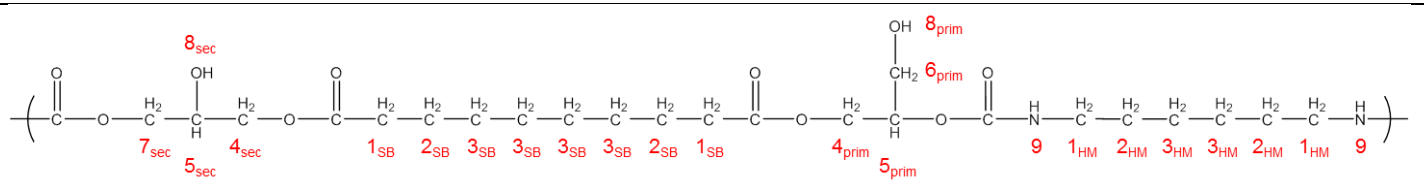
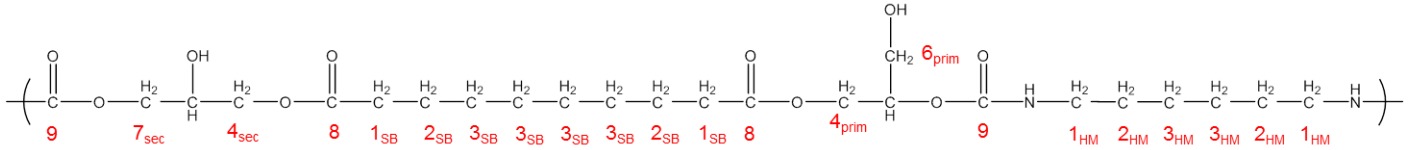
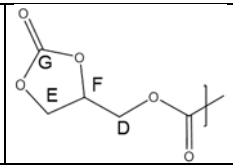
Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Table S2: ^{13}C chemical shifts of (SB-HM)-PHU in DMSO-d6.

Carbon	Assigned chemical shift (ppm)
3f	24.24
3_{HM}	25.89
γ (NH_2)	26.05
4_{SB} and 4f	28.35
3_{SB}	28.51
2_{HM}	29.29
2_{SB}	24.34
2f	33.19
1_{SB}	33.34
β (NH_2)	33.56
1_{HM}	40.12
α(NH_2)	40.68
6_{prim}	59.79
5_{sec}	66.52
4_{sec}, 7_{sec}	94.71, 64.96
4_{prim}	62.77
E	65.94
D	63.15
5_{prim}	71.63, 72.43
F	74.20
-	-
-	-
G	154.58
8	172,77
9	155,99

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Table S3: Attribution of the different proton and carbon chemical shifts to the corresponding protons and carbons from (SB-HM)-PHU.

Proton	
Carbon	
End chain (proton and carbon)	

Proton		**Corresponding carbon**	
Attribution	**Attributed chemical shift (ppm)**	**Attribution**	**Attributed chemical shift (ppm)**
3_{SB}, 3_{HM}	1.25	3_{HM}	25.89
		3_{SB}	28.35, 28.51
2_{HM}	1.37	2_{HM}	29.29
2_{SB}	1.51	2_{SB}	24.34
1_{SB}	2.29	1_{SB}	33.34
1_{HM}	2.93	1_{HM}	40.12
6_{prim}	3.48	6_{prim}	59.79
5_{sec}	3.82	5_{sec}	66.52
4_{sec}, 7_{sec}	3.89, 3.97	4_{sec}, 7_{sec}	94.71, 64.96
4_{prim}	4.07	4_{prim}	62.77
E	4.25	E	65.94

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

D	4.57	D	63.15
5_{prim}	4.77, 4.88	5_{prim}	71.63, 72.43
F	5.03	F	74.20
8_{sec}	5.15	-	-
9	7.10	-	-
		G	154.58
-	-	8	172,77
-	-	9	155,99

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Chapitre III : optimisation de la préparation des nanoparticules de poly(hydroxy)uréthane par nanoprécipitation

III.1. Mesures de taille et de PDI en DLS

Lors de l'analyse d'une nanosuspension en DLS, 1 ml de l'échantillon est introduit dans une cuve à usage unique en polystyrène (Rotilabo). La cuve est positionnée dans le porte échantillon du Nanosizer (Malvern Instruments). Le boitier est refermé afin que l'échantillon soit dans l'obscurité totale. Les valeurs de la constante diélectrique, de la viscosité dynamique et de l'indice de réfraction de la solution dans laquelle les nanoparticules sont dispersées (eau, solution aqueuse de DMSO ou de THF) sont entrées dans le logiciel (Zetasizer software). Ces valeurs, issues de plusieurs études de la littérature[18, 1, 2], sont présentés dans le tableau suivant :

Solution	Constante diélectrique ε	Viscosité dynamique η (cP)	Indice de refraction
eau	78,5	1,00	1,333
DMSO/eau 1:6	77,9	1,18	1,353
DMSO/eau 1:4	77,9	1,34	1,360
DMSO/eau 1:2	76,4	1,93	1,383
THF/eau 1:6	68,2	1,38	1,358
THF/eau 1:4	64,6	1,34	1,353
THF/eau 1:2	60,6	1,00	1,348

Tableau 1 : Constante diélectrique, viscosité dynamique et indice de réfraction de différentes solutions dans lesquelles sont dispersées les nanoparticules étudiées.

La température est ajustée à 24,0 ± 0,1°C. Après un délai de 240 secondes, le nanosizer effectue cinq séries de dix à vingt mesures. Pour chaque série de mesure, une valeur moyenne du PDI est enregistrée. Lorsque le PDI est inférieur à 0,2, la taille de particule est égale au z-average déterminé par la méthode des cumulants. Lorsque le PDI est supérieur à 0,2, la taille de particule est égale au diamètre moyen D_{min}. La moyenne des PDI et tailles de particules est effectuée sur les cinq séries de mesures.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

III.2. Estimation de la quantité de SDS couvrant la surface des nanoparticules

III.2.1. Calcul dans le cas général

Il est possible de calculer approximativement la quantité n_0 de SDS nécessaire pour couvrir la surface des nanoparticules de PHU formées. En supposant que toutes les nanoparticules mesurent le même diamètre d = z-average – cette hypothèse est valable lorsque le PDI est bien inférieur à 0,2 – le volume d'une nanoparticule V_{part} est donné par :

$$V_{part} = \frac{1}{6}\pi d^3 \quad (1)$$

Lorsque la concentration en PHU est égale à [PHU] et le volume de DMSO est égal à V_{DMSO} (= 25 ml), la masse totale de PHU m utilisé pour la nanoprécipitation est égale à :

$$m = [PHU] \times V_{DMSO} \quad (2)$$

Le volume total du PHU introduit dans la phase organique avant nanoprécipitation V_{tot} est donné par :

$$V_{tot} = \frac{m}{\rho} \quad (3)$$

Avec ρ la masse volumique du PHU. ρ est calculée à partir de la masse molaire du motif PHU M et du volume molaire du motif PHU V_{mol} :

$$\rho = \frac{M}{V_{mol}} \quad (4)$$

M est calculée à partir de la masse molaire des atomes constituant l'unité de répétition du PHU (figure 1). La formule brute de l'unité de répétition du PHU est $-(C_{24}H_{42}N_2O_{11})-$. La masse molaire du motif PHU M est donc égale à 534,61 g/mol.

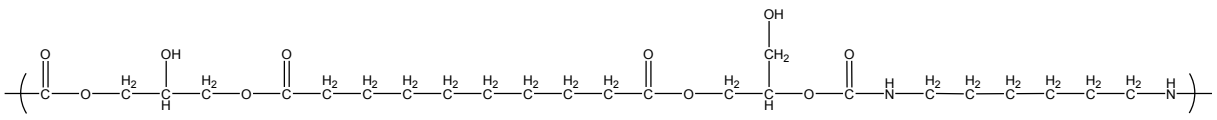


Figure 1 : Unité de répétition du PHU.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

En ce qui concerne le volume molaire du PHU V_{mol}, de la même manière que pour M, il peut être calculé en sommant les volumes molaires des groupes constituant l'unité de répétition. Ces volumes molaires ont été déterminé par Fedors[3].

$$V_{mol} = 18V_{mol.CH_2} + 2V_{mol.CH} + 2V_{mol.COO} + 2V_{mol.OH} + 2V_{mol.NHCOO}$$
$$= 18 \times 16{,}1 - 2 \times 1{,}0 + 2 \times 18{,}0 + 2 \times 10{,}0 + 2 \times 18{,}5 = 380{,}8\ cm^3/mol \quad (5)$$

Ainsi, il est possible de calculer la masse molaire du PHU en reprenant l'équation 4 : ρ = 1404 kg/m^3. Le nombre total de nanoparticules est calculé à partir du quotient du volume total de PHU sur le volume de chaque particule :

$$N_{part} = \frac{V_{tot}}{V_{part}} = \frac{6 \times m}{\pi \times d^3 \times \rho} \quad (6)$$

La surface de chaque nanoparticule de PHU A_{part} est égale à :

$$A_{part} = \pi \times d^2 \quad (7)$$

La surface totale des nanoparticules de PHU A_{tot} est égale à :

$$A_{tot} = N_{part} \times A_{part} = \frac{6 \times m}{d \times \rho} \quad (8)$$

Notons A_0 la surface moyenne de nanoparticule de PHU couverte par une molécule de SDS. Nous supposons que cette surface est égale à l'aire superficielle occupée par une molécule de SDS. Nous supposons aussi que le ratio d'adsorption du SDS est de 100%. En reprenant les courbes de tension superficielle présentées dans les figures 2 et 3 du paragraphe III.1.1, nous pouvons calculer A_0 à partir de l'excès de surface de Gibbs Γ. L'équation dans le cas d'un tensioactif anionique comme le SDS[4-6] est la suivante :

$$A_0 = \frac{1}{\Gamma} = -2RT \Big/ \left(\frac{\partial \gamma}{\partial \ln C_{SDS}}\right)_{cmc,T} \quad (9)$$

Avec R la constante de gaz parfaits, T la température du système, γ la tension superficielle et C_{sds} la concentration de SDS dans l'eau ou bien dans une solution aqueuse de DMSO. Pour une température de 24°C, les différentes valeurs de A_0 sont présentées dans le tableau suivant :

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Solution	$\left(\frac{\partial\gamma}{\partial \ln C_{SDS}}\right)_{cmc,T}$	Γ (1/Å)	A_0 (Å²/molecule)	A_0 (m²/mol)
Eau	-12,532	0,0314	31,8	$1,92\times10^4$
Mélange DMSO/eau 1:6	-9,911	0,0248	40,3	$2,43\times10^4$
Mélange DMSO/eau 1:4	-9,694	0,0243	41,2	$2,48\times10^4$
Mélange DMSO/eau 1:2	-12,668	0,0317	31,5	$1,89\times10^4$

Tableau 2 : Calcul du A_0 dans l'eau permutée et dans des solutions aqueuses de DMSO.

La quantité de SDS nécessaire pour couvrir la totalité de la surface des nanoparticules de PHU formées par nanoprécipitation est donc égale à :

$$n_0 = \frac{A_{tot}}{A_0} = \frac{6 \times m}{d \times \rho \times A_0} \quad (10)$$

Cette quantité correspond à la concentration $[SDS]_0$ dans la nanosuspension finale :

$$[SDS]_0 = \frac{n_0}{V_{eau} + V_{DMSO}} \quad (11)$$

Avec V_{eau} le volume d'eau. La quantité de SDS introduite dans la phase aqueuse n est quant à elle égale à :

$$n = V_{eau} \times [SDS] \quad (12)$$

Avec [SDS] la concentration de SDS dans la phase aqueuse.

ρ, A_0, V_{DMSO} sont des constantes connues. n_0, $[SDS]_0$ et n peuvent être calculés pour chaque essai en fonction des valeurs de d, m, V_{eau} et [SDS].

III.3. Suivi de l'évaporation du THF sous hotte au cours du temps

Afin de vérifier quantitativement l'efficacité de la méthode d'élimination du THF, la proportion volumique de THF dans les échantillons a été déterminée par HPLC (colonne RP18 Agilent) couplée à un détecteur RI (Shimazu RID-10A) et un détecteur ultra-violet (Shimazu SPD-10A ajusté à λ = 210 nm). L'éluant est un mélange acétonitrile/eau 70:30 (débit de 1 ml/min). Pour chaque mesure, 20 µl d'échantillon sont injectés après avoir été filtrés (filtre en ester de cellulose, 0,45 µm). Le THF est détecté par le détecteur RI. Le chromatogramme type présente deux pics : le premier pic (entre 2,0 et 2,5 min) est celui de l'eau, le second (entre 3,0 et 3,5 min) celui du THF (figure 2).

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

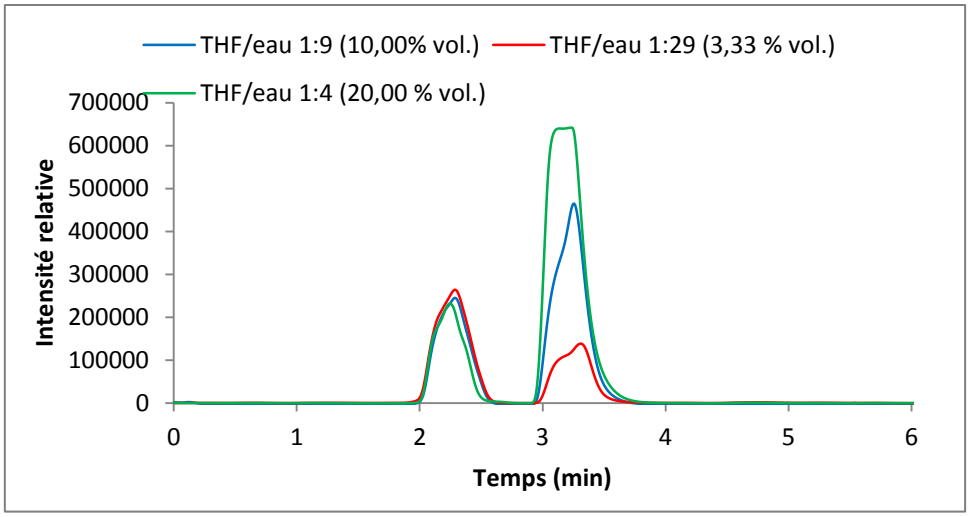


Figure 2 : Chromatogrammes HPLC en détection infra-rouge de trois mélanges THF/eau.

III.3.1. Tracé de la courbe de calibration

L'appareil HPLC fournit l'aire du pic de THF. Afin d'en déduire la proportion volumique de THF, une courbe de calibration doit être tracée. Pour ce faire, une gamme de mélanges THF/eau dont la proportion volumique en THF est connue est préparée puis passée en HPLC. L'aire du pic de THF de chaque mélange est enregistrée puis la courbe décrivant l'évolution de l'aire du pic de THF en fonction de la proportion volumique de THF est tracée (figure 3). Les mélanges ont une teneur faible en THF (10 % vol. maximum) car ce sont des valeurs proches de 0 % vol. que nous souhaitons mesurer avec précision lorsqu'il sera question de déterminer la quantité de THF restant dans les nanosuspensions après évaporation. D'autre part, nous avons observé une saturation du pic de THF pour des proportions supérieures à 10 % vol. ce qui fausse le résultat pour l'aire correspondante (courbe verte sur la figure 2).

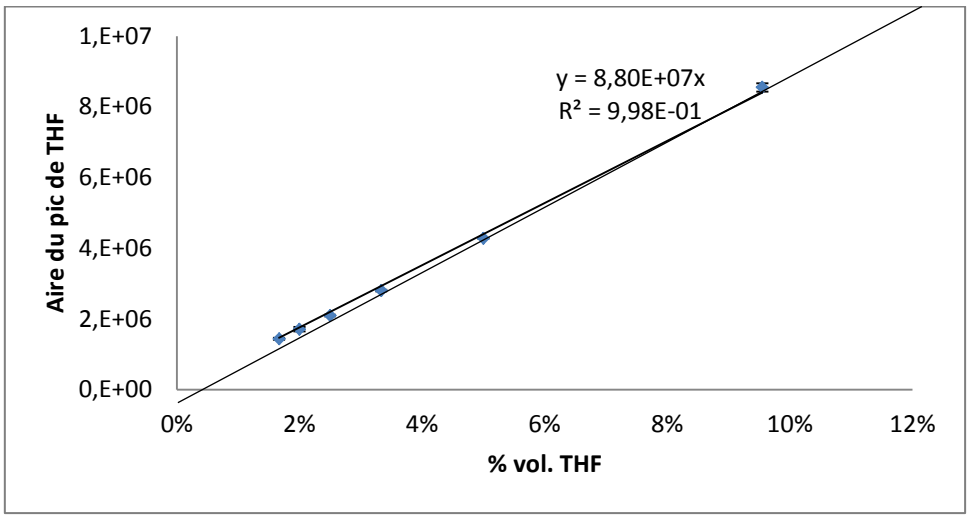


Figure 3 : Courbe de calibration HPLC représentant l'aire du pic de THF en fonction du pourcentage volumique de THF dans la solution aqueuse.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

La courbe peut être approximée par une droite dont la pente vaut $8{,}80\times10^{7}$. Cette pente nous permet de faire correspondre à chaque valeur de l'aire mesurée du pic de THF la proportion volumique de THF – si tant est que cette dernière est comprise entre 0 et 10 % vol.

III.3.2. Suivi de l'évaporation dans des solutions aqueuses de THF

Après avoir tracé la droite d'étalonnage, nous avons suivi la composition en THF de trois échantillons (Ech14, Ech20 et Ech33) composés de 14, 20 et 33 % volumique de THF au cours du temps. La proportion de THF dans ces trois échantillons correspond à celle des nanosuspensions décrites dans le paragraphe III.3 (tous les échantillons dont le numéro est précédé d'un 't') avant élimination du THF par évaporation. L'élimination du THF présent dans ces trois échantillons s'effectue dans les mêmes conditions que pour les nanosuspensions.

Quelques millilitres sont prélevés de chaque échantillon, filtrés puis passés en HPLC à différents instants. L'évolution de la proportion volumique du THF dans les trois échantillons au cours de l'évaporation est représentée sur la figure 4.

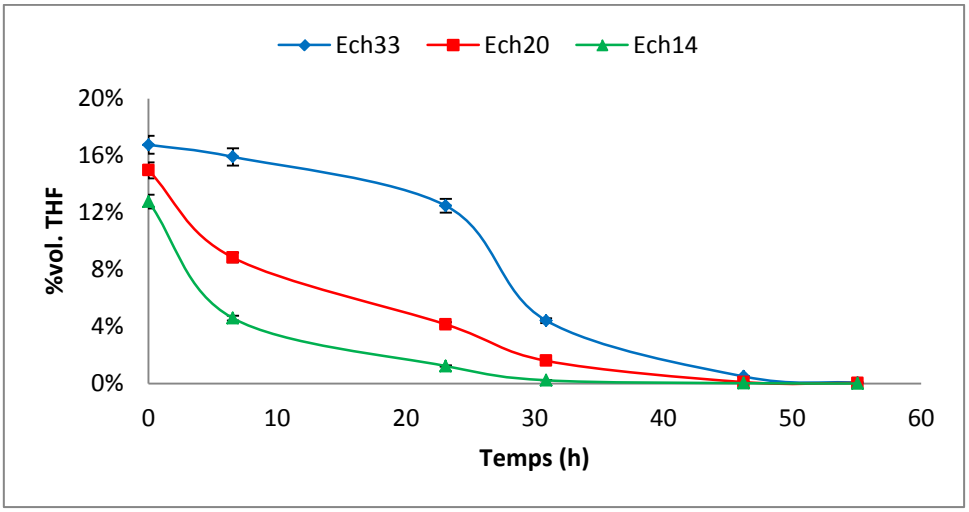


Figure 4 : Evolution du pourcentage volumique de THF en fonction du temps au cours de l'évaporation sous hotte du THF des échantillons THF/eau Ech33 (ratio THF/eau = 1:2), Ech20 (1:4) et Ech14 (1:6).

Les valeurs supérieures à 10 % volumique ne sont pas représentatives des pourcentages volumiques de THF réellement présents dans les solutions. En effet nous avons observé que le signal du pic du THF sature pour des teneurs supérieures à 10% volumique. C'est d'ailleurs pour cette raison que le dernier point mesuré de la courbe de calibration correspond à une teneur en THF égale à 9.55% volumique.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Le résultat important de ces expériences est la mise en évidence de l'élimination quasi complète du THF deux jours environ après le début de l'évaporation (à t = 46h, 0,51 % volumique de THF pour l'échantillon Ech33, 0,11 % vol. pour Ech20 et 0,04 % pour Ech14). Ces résultats permettent de supposer que la quantité de THF résiduelle dans les nanosuspensions est négligeable.

III.3.3. Vérification de l'efficacité de l'évaporation du THF présent dans les nanosuspensions

La proportion volumique de THF a été mesurée en HPLC pour les essais t1 à t8, tA et tB (tableau 3) après évaporation sous hotte durant deux jours. Mis à part pour l'essai t1, plus de 99,7 % du THF initialement présent est éliminé pour tous les essais.

Essai	[PHU] (g/l)	V_{eau} (ml)	[SDS] (mM)	% vol. THF avant évaporation	% vol. THF après évaporation
t1	1	50	0	33,33%	1,87%
t2	5	50	0	33,33%	0,00%
t3	1	150	0	14,29%	0,14%
t4	5	150	0	14,29%	0,02%
t5	1	50	25	33,33%	0,23%
t6	5	50	25	33,33%	0,00%
t7	1	150	25	14,29%	0,03%
t8	5	150	25	14,29%	0,00%
tA	3	100	12,5	20,00%	0,00%
tB	3	100	12,5	20,00%	0,00%

Tableau 3 : Proportion volumique de THF restant dans les échantillons après l'étape d'évaporation (mesurée par HPLC).

De la même manière, la proportion volumique de THF a été mesurée en HPLC pour les essais t11 à t17 (tableau 4) après évaporation sous hotte durant deux jours. Plus de 99,7 % du THF initialement présent est éliminé pour tous les essais. Cette série d'expériences met en évidence l'élimination du THF à plus de 99,7 % après deux jours d'évaporation sous hotte.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Essai	[PHU] (g/l)	V_{eau} (ml)	[SDS] (mM)	% vol. THF avant évaporation	% vol. THF après évaporation
t11	1	50	6,2	33,33%	0,28%
t12	1	150	6,2	14,29%	0,00%
t13	1	50	8,0	33,33%	0,24%
t14	1	150	8,0	14,29%	0,00%
t15	1	50	10,0	33,33%	0,09%
t16	1	150	10,1	14,29%	0,11%
t17	5	50	8,0	33,33%	0,07%

Tableau 4 : Proportion volumique de THF restant dans les échantillons après l'étape d'évaporation (mesurée par HPLC).

Références

1. Critchfield, F. E.; Gibson, J. A., Jr.; Hall, J. L., Dielectric constant and refractive index from 20 to 35° and density at 25° for the system tetrahydrofuran-water. *J. Am. Chem. Soc.* **1953,** *75*, 6044-5.

2. Nayak, J. N.; Aralaguppi, M. I.; Naidu, B. V. K.; Aminabhavi, T. M., Thermodynamic Properties of Water + Tetrahydrofuran and Water + 1,4-Dioxane Mixtures at (303.15, 313.15, and 323.15) K. *J. Chem. Eng. Data* **2004,** *49*, 468-474.

3. Fedors, R. F., Method for estimating both the solubility parameters and molar volumes of liquids. *Polym. Eng. Sci.* **1974,** *14*, 147-54.

4. Prosser, A. J.; Franses, E. I., Adsorption and surface tension of ionic surfactants at the air-water interface: review and evaluation of equilibrium models. *Colloids Surf., A* **2001,** *178*, 1-40.

5. Umlong, I. M.; Ismail, K., Micellization behavior of sodium dodecyl sulfate in different electrolyte media. *Colloids Surf., A* **2007,** *299*, 8-14.

6. Rehfeld, S. J., Adsorption of sodium dodecyl sulfate at various hydrocarbon-water interfaces. *J. Phys. Chem.* **1967,** *71*, 738-45.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

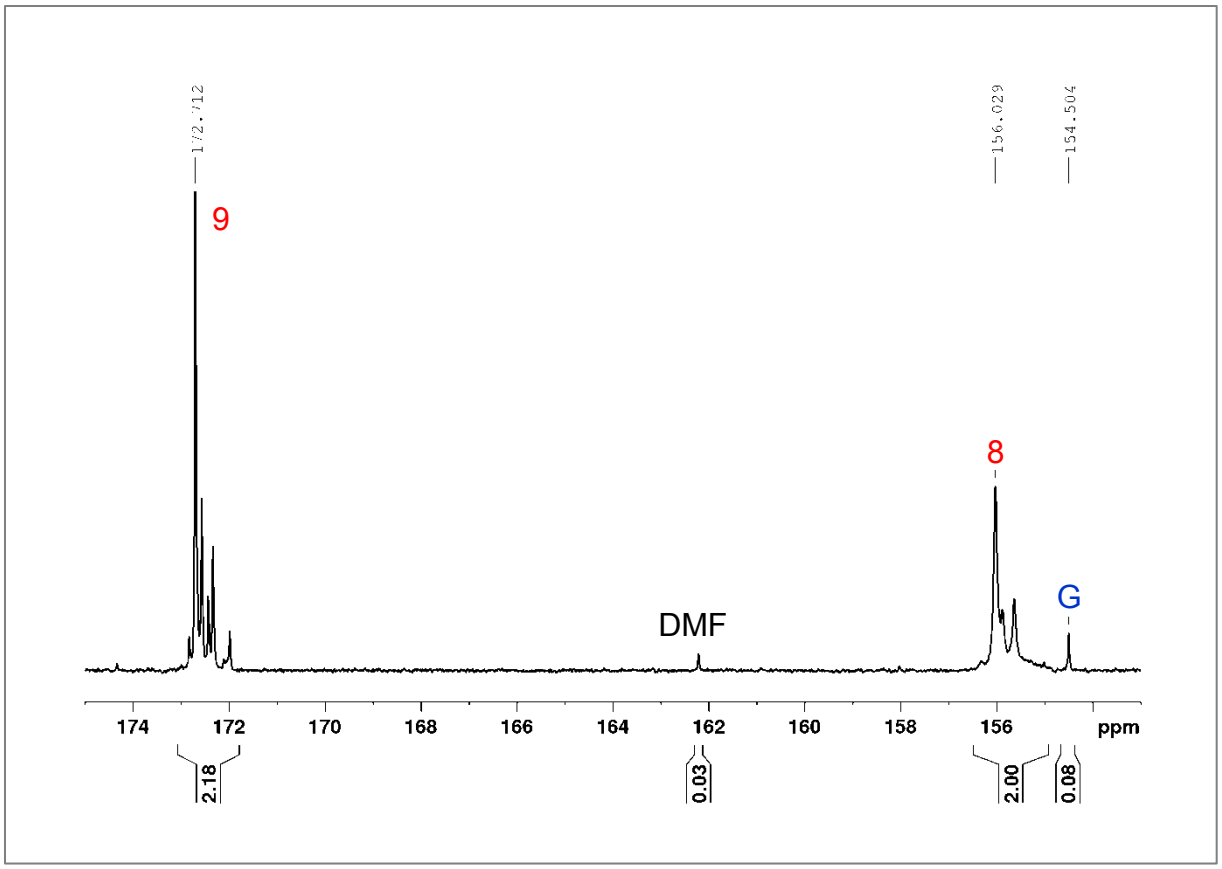
Chapitre IV : Préparation de nanoparticules de poly(hydroxy)uréthane stimulable

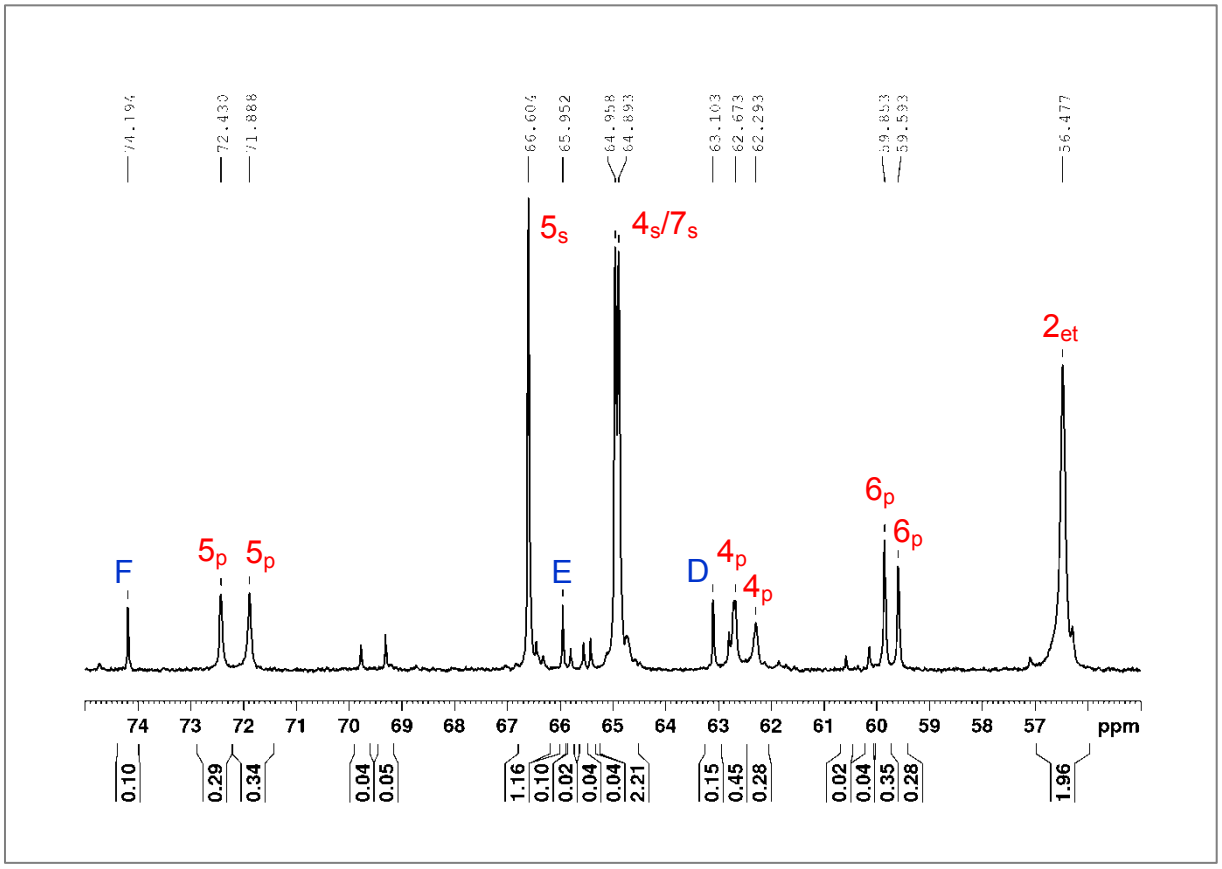
IV.1. Attribution des pics des spectres RMN ^{13}C

Les spectres RMN ^{13}C du premier lot d'et-PHU, de prop-PHU et de pip-PHU sont présentés sur les figures 1, 2 et 3 respectivement. Les déplacements chimiques des carbones des unités monomères issues des diamines (C_{1et}, C_{2et}, C_{3et}, C_{1pr}, C_{2pr}, C_{3pr}, C_{4pr}, C_{1pip}, C_{2pip}, C_{3pip} et C_{4pip}) ont été attribués de la manière suivante.

En ce qui concerne l'et-PHU (figure 1), dans la zone où apparaissent les résonnances correspondant aux carbones de l'unité monomère sébacique, nous observons trois pics correspondant aux carbones de l'unité monomère diamine Et. Le pic à 41,77 ppm peut être attribué au carbone C_{3et} puisque son intégration est égale à la moitié de celle des deux autres pics non attribués. Le pic à 38,33 ppm est attribué aux carbones C_{1et} dont l'environnement chimique est assez proche de celui du carbone C_{1HM} du (SB-HM)-PHU (dont le déplacement est de 40,12 ppm ; voir chapitre II). Enfin, le pic à 56,48 ppm correspond aux deux carbones secondaires – les plus déblindés – en alpha de la fonction amine. En ce qui concerne le prop-PHU (figure 2), le pic à 45,56 ppm peut être attribué au carbone C_{4pr} puisque son intégration est égale à la moitié de celle des trois autres pics candidats. Les carbones C_{2pr} sont les plus blindés puisqu'ils sont au centre des groupes propyle, ils sont donc associés au pic à 27,11 ppm. De la même manière que pour le carbone C_{1et}, le pic à 38,69 ppm est attribué aux carbones C_{1pr}. Enfin, le pic à 54,69 ppm est attribué aux carbones déblindés C_{3pr} en alpha de l'amine tertiaire. En ce qui concerne le pip-PHU (figure 3), la comparaison des intégrales des différents signaux nous permet d'attribuer le pic à 52,77 ppm correspondant aux quatre carbones C_{4pip}. Les carbones C_{2pip} au centre des groupes propyle ont pour déplacement 26,60 ppm. Les carbones C_{1pip}, analogues aux carbones C_{1HM} du PHU, sont associés au pic à 38,79 ppm. Enfin, le pic à 55,33 ppm est attribué aux carbones C_{3pip} des groupes propyle en alpha des amines tertiaires.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés





Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

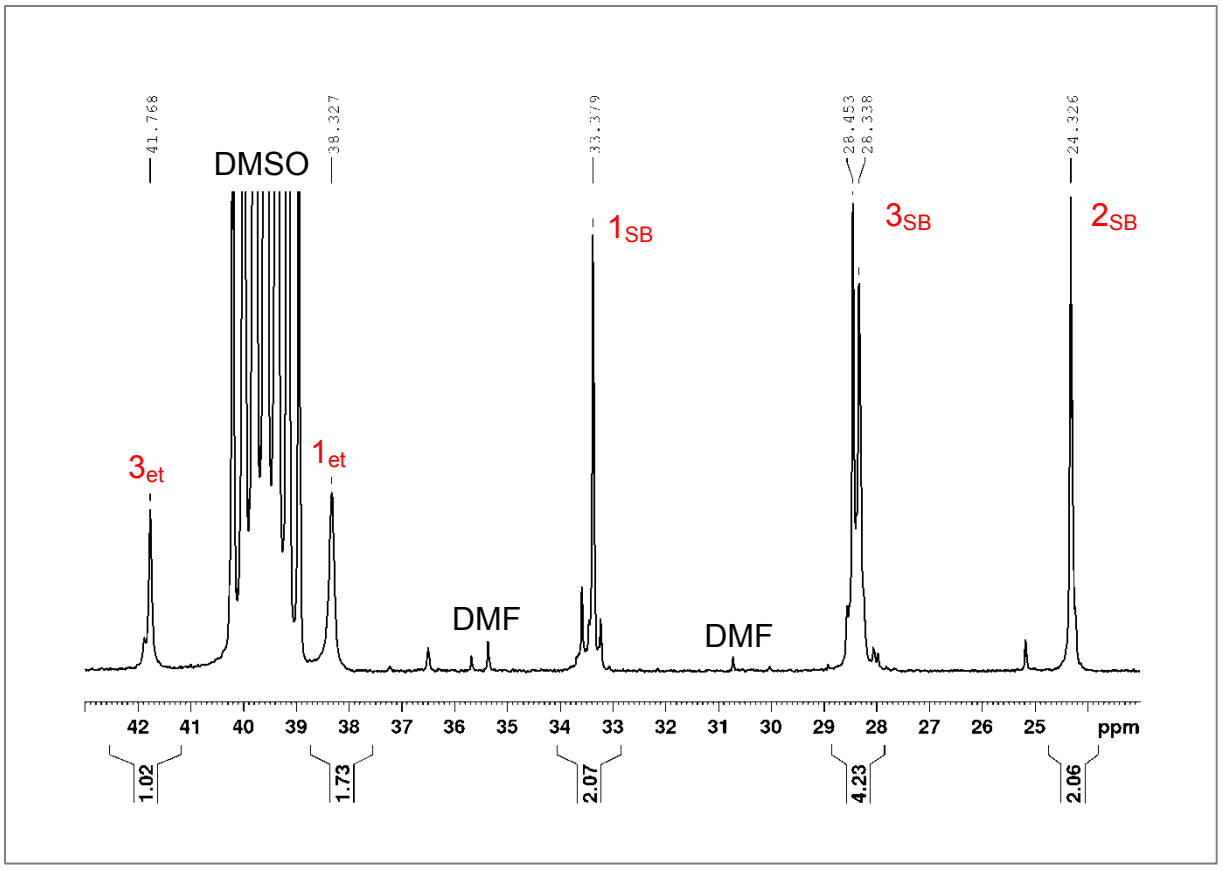
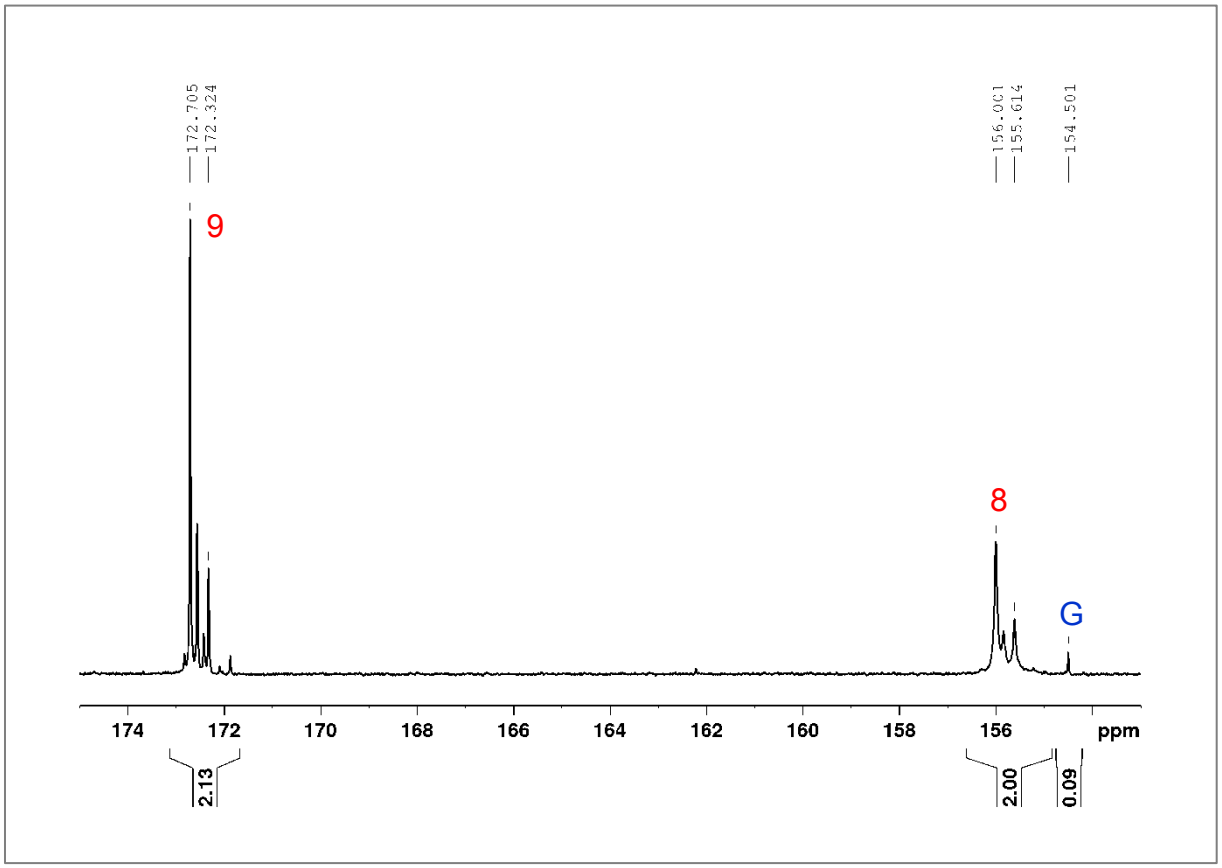


Figure 1 : Spectre RMN ^{13}C de l'et-PHU dans le DMSO-*d6* (lot 1).



Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

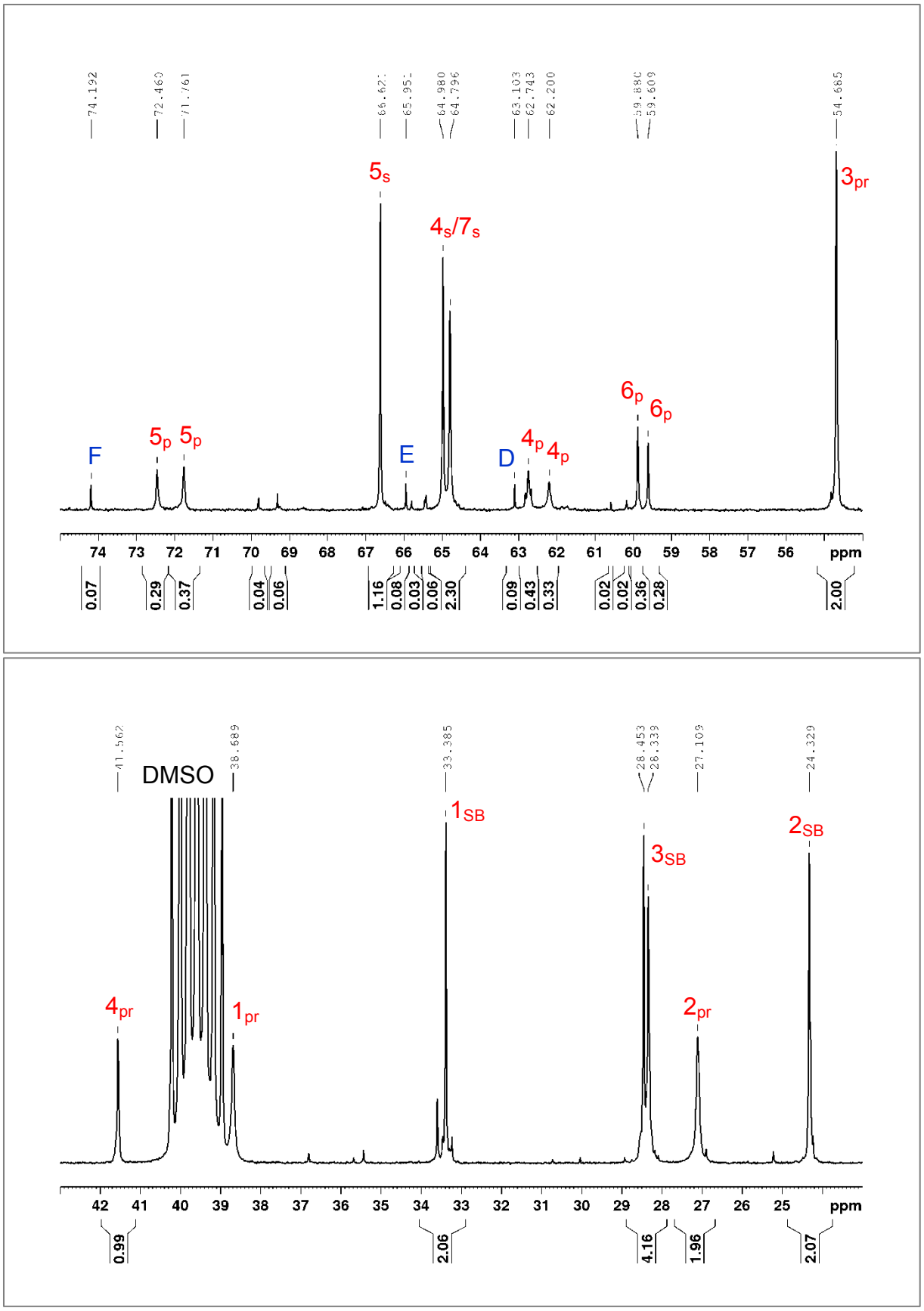
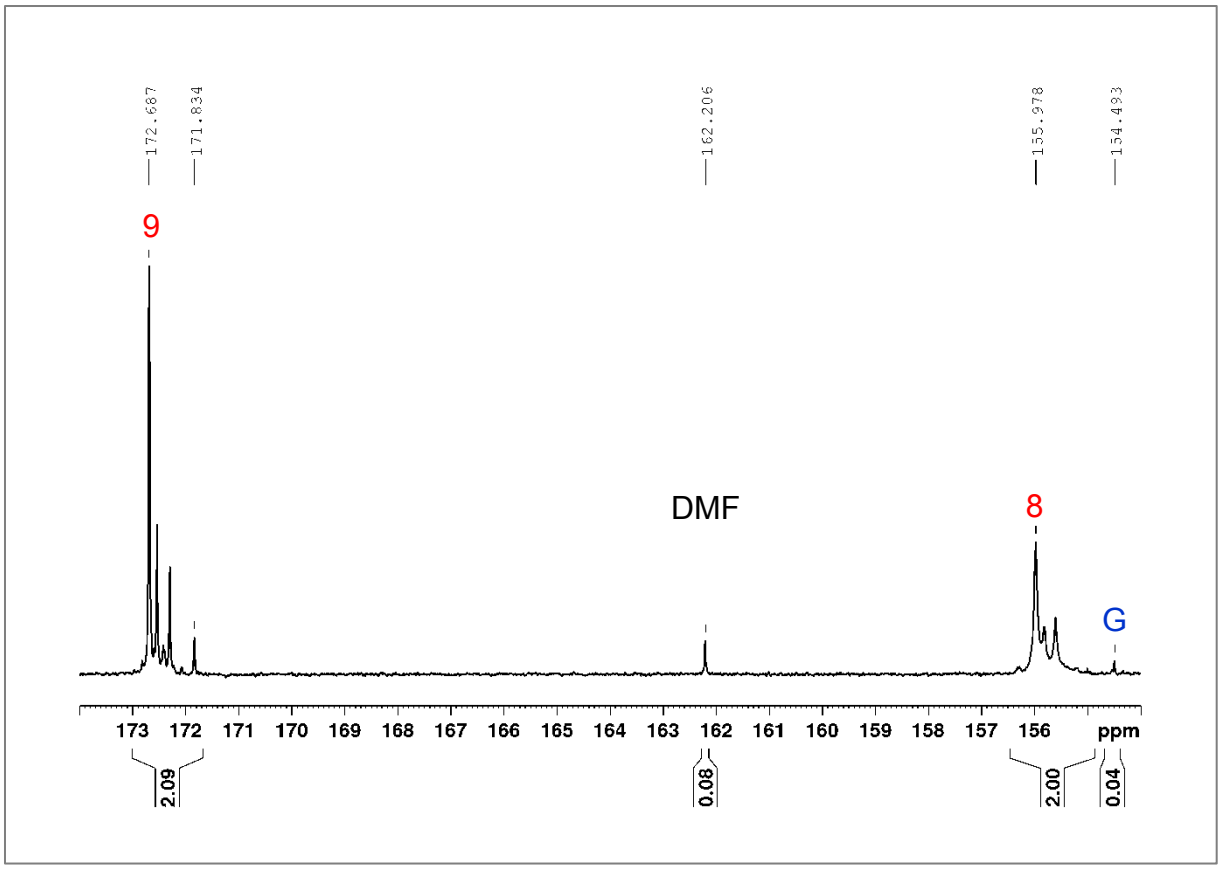
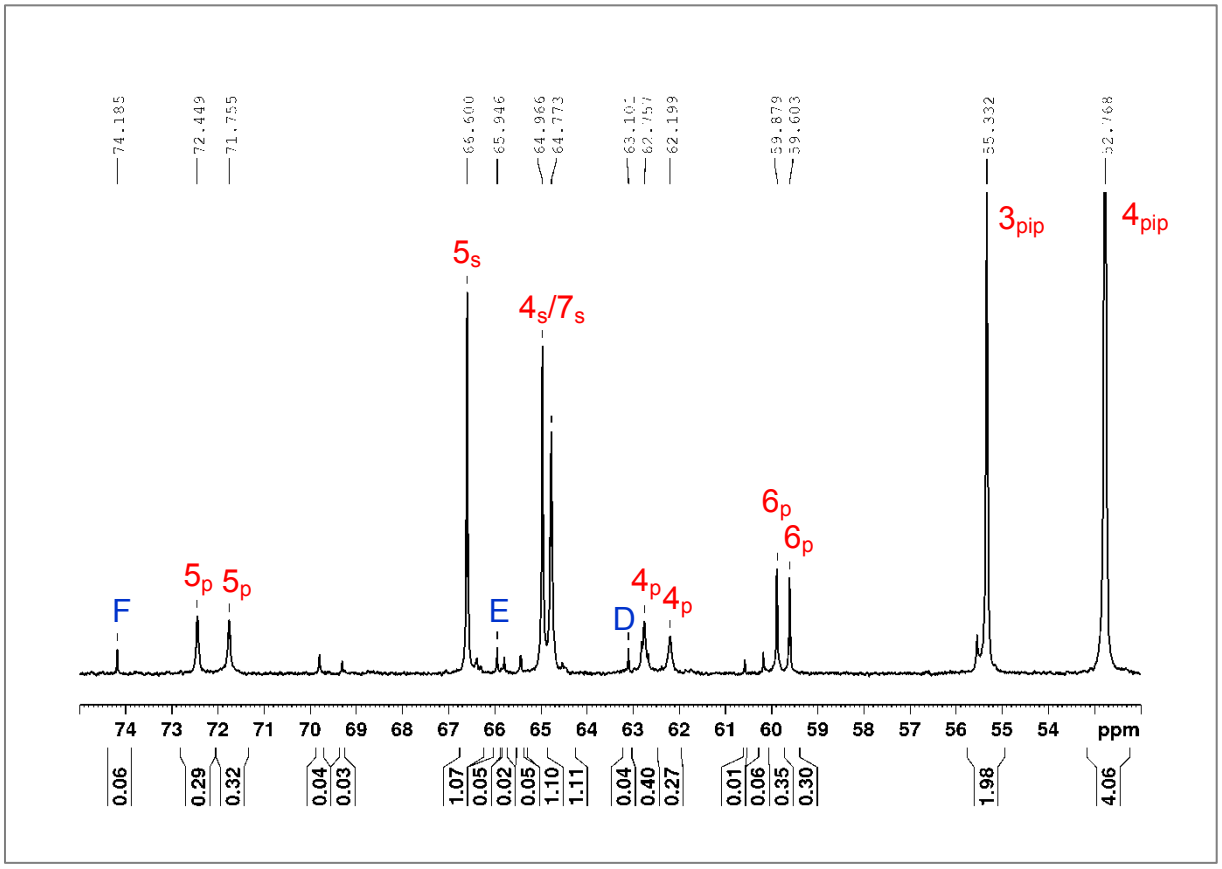


Figure 2 : Spectre RMN ^{13}C du prop-PHU dans le DMSO-*d6* (lot 1).

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés





Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

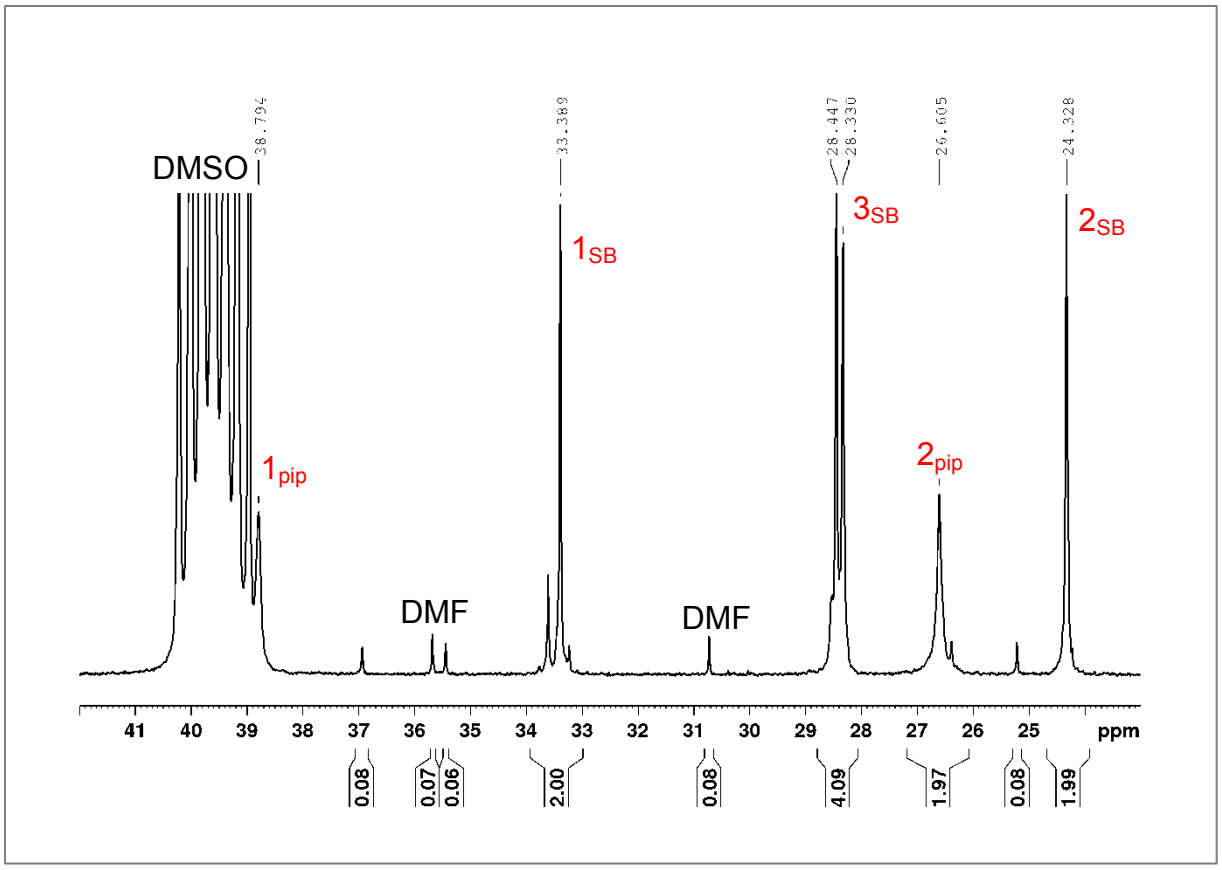


Figure 3 : Spectre RMN ^{13}C du pip-PHU dans le DMSO-*d*6 (lot 1).

IV.2. Evaluation de l'élimination du DMSO par HPLC

Le pourcentage volumique de THF restant dans les nanosuspensions de (SB-HM)-PHU a été quantifié par HPLC (paragraphe III.4.3). Ici, nous proposons la même méthode d'analyse pour mesurer la quantité de DMSO restant dans les nanosuspensions d'et-PHU, de prop-PHU et de pip-PHU après l'étape de dialyse. Le DMSO est détecté par le détecteur UV (λ = 210 nm).

IV.2.1. Tracé de la courbe de calibration

Le chromatogramme type ne présente qu'un seul pic attribué au DMSO (figure 4).

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

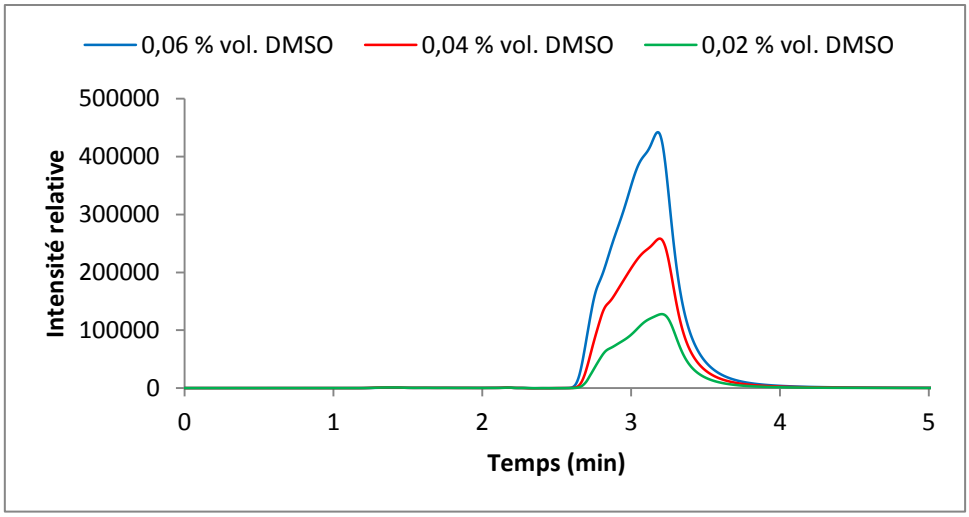


Figure 4 : Chromatogrammes HPLC en détection UV (λ = 210 nm) de trois mélanges DMSO/eau.

Après analyse d'une gamme de mélanges DMSO/eau (de 0,01 à 0,1 % volumique de DMSO) en HPLC, une courbe de calibration est tracée (figure 5). La courbe peut être approximée par une droite dont la pente vaut $2{,}08\times10^{8}$. Ce coefficient directeur nous permet de faire correspondre à chaque valeur de l'aire mesurée du pic de DMSO la proportion volumique de DMSO.

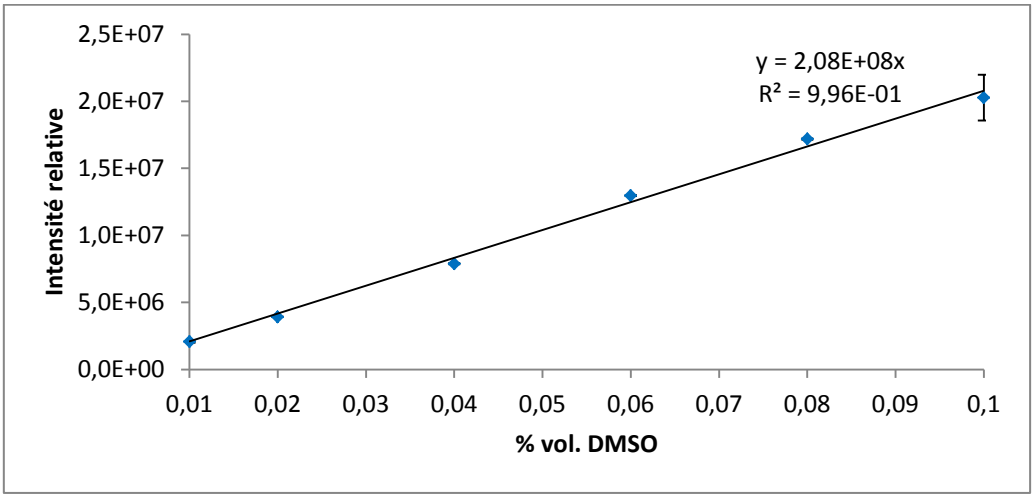


Figure 5 : Courbe de calibration HPLC représentant l'aire du pic de THF en fonction du pourcentage volumique de THF dans la solution aqueuse.

IV.2.2. Vérification de l'efficacité de la dialyse du DMSO présent dans les nanosuspensions

La proportion volumique de DMSO a été mesurée en HPLC pour les échantillons présentés dans ce chapitre (tableau 1) après dialyse.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Essai	[PHU] (g/l)	Veau (ml)	[SDS] (mM)	% vol. DMSO avant dialyse	% vol. DMSO après dialyse
et1	1	50	10,4	33,33%	0,014%
et2	1	50	10,4	33,33%	0,007%
et3	1	50	10,4	33,33%	0,012%
pr1	2	50	10,4	33,33%	0,017%
pr2	2	50	10,4	33,33%	0,008%
pr3	2	50	10.4	33,33%	0,004%
pip1	1	50	6,9	33,33%	0,007%
pip2	1	50	6,9	33,33%	0,003%
pip3	1	50	6,9	33,33%	0,010%

Tableau 1 : Proportion volumique de DMSO dans les échantillons après l'étape de dialyse (mesurée par HPLC).

Cette série d'expérience met en évidence l'élimination quasi complète du DMSO après dialyse des nanosuspensions.

IV.3. Evolution du potentiel zêta d'une nanosuspension de pip-PHU soumise à différents pH en fonction du temps

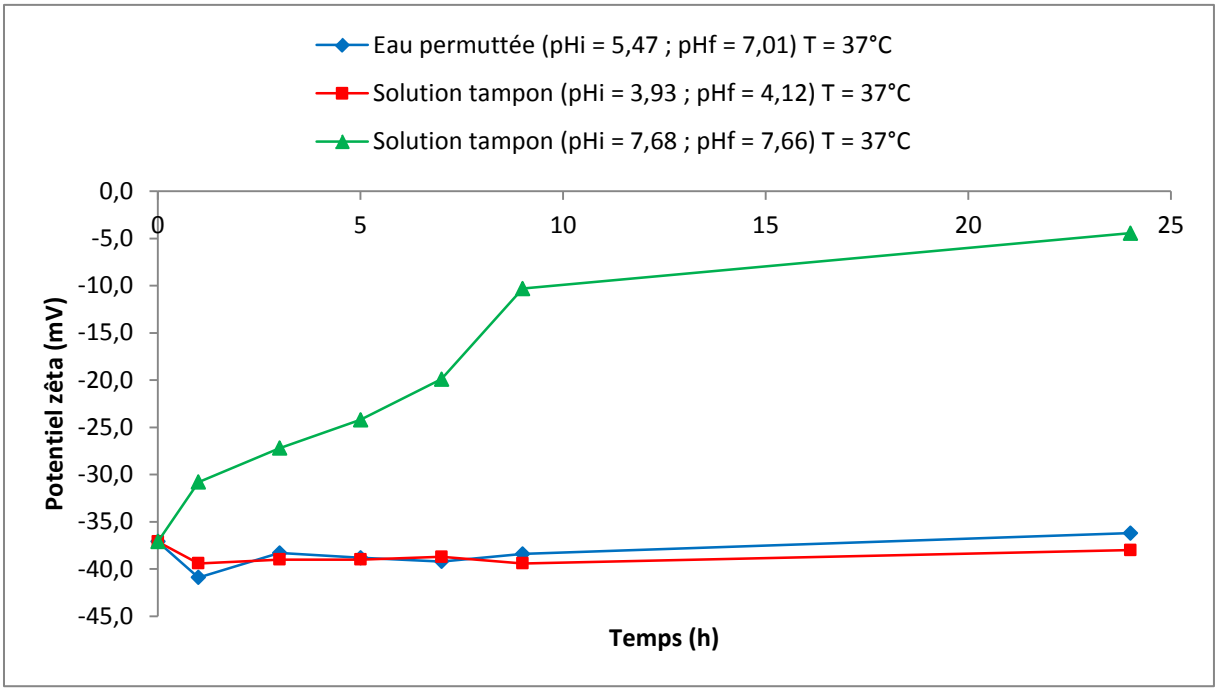


Figure 6 : Evolution du potentiel zêta des nanoparticules de pip-PHU (pip4) à différents pH en fonction du temps.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

Références

1. Critchfield, F. E.; Gibson, J. A., Jr.; Hall, J. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1953,** 75, 6044-5.

2. Nayak, J. N.; Aralaguppi, M. I.; Naidu, B. V. K.; Aminabhavi, T. M. *J. Chem. Eng. Data* **2004,** 49, (3), 468-474.

3. Fedors, R. F. *Polym. Eng. Sci.* **1974,** 14, (2), 147-54.

4. Prosser, A. J.; Franses, E. I. *Colloids Surf., A* **2001,** 178, (1-3), 1-40.

5. Umlong, I. M.; Ismail, K. *Colloids Surf., A* **2007,** 299, (1-3), 8-14.

6. Rehfeld, S. J. *J. Phys. Chem.* **1967,** 71, (3), 738-45.

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés

FOLIO ADMINISTRATIF

THESE DE L'UNIVERSITE DE LYON OPEREE AU SEIN DE L'INSA LYON

NOM : QUERETTE DATE de SOUTENANCE : 10/12/2018

Prénoms : Thomas

TITRE : Développement de nanoparticules de poly(hydroxy)uréthane pH- et thermo-stimulable par nanoprécipitation

NATURE : Doctorat Numéro d'ordre : 2018LYSEI075

Ecole doctorale : ED34 Matériaux

Spécialité : Matériaux

RESUME : L'utilisation de nanoparticules de polymère pour l'encapsulation de substances utilisées en médecine, en cosmétique ou en agrochimie suscite un intérêt croissant. Parmi les polymères préparés sous forme de nanoparticules, le polyuréthane présente l'avantage d'être biocompatible, biodégradable et adaptable à de nombreuses applications. L'utilisation de diisocyanates pour sa synthèse pose néanmoins un problème sanitaire et environnemental majeur. Ce travail de thèse consiste en la synthèse d'un polyuréthane sans isocyanate, le poly(hydroxy)uréthane (PHU), puis en la préparation de nanoparticules par nanoprécipitation de ce polymère. Un objectif supplémentaire est le développement de nanoparticules de PHU thermo- et pH-stimulable. Dans une première partie, un PHU modèle a été synthétisé et caractérisé. Ce polymère a été nanoprécipité en l'absence de tensioactif afin de valider la faisabilité du procédé. La seconde partie se focalise sur l'étude approfondie et l'optimisation de la nanoprécipitation du PHU modèle en présence de tensioactif. Afin de caractériser le système polymère-solvant-eau-tensioactif, la micellisation du tensioactif et les interactions polymère-solvant ont été étudiées. Un plan factoriel complet a été réalisé afin d'optimiser le procédé de nanoprécipitation utilisant le DMSO comme solvant. Les effets principaux et d'interactions de la concentration en polymère, du volume d'eau et de la concentration en tensioactif sur la taille et la distribution de taille des nanoparticules ont été déterminés. Afin de permettre l'élimination du solvant par évaporation, la nanoprécipitation du PHU a aussi été réalisée en utilisant du THF comme solvant organique. Dans une troisième partie, trois poly(hydroxy)uréthanes pH- et thermo-stimulables ont été synthétisés et caractérisés. Des nanoparticules de faible taille et distribution de taille ont ensuite été préparées par nanoprécipitation. Une fois le solvant organique éliminé par dialyse, la réponse des nanoparticules de PHUs stimulables à des variations de température et de pH a été étudiée.

MOTS-CLÉS : nanoprécipitation, poly(hydroxy)uréthane, nanoparticule, stimulable.

Laboratoire(s) de recherche : Laboratoire de l'Institut des Matériaux Polymères (IMP), sites Lyon 1 et INSA de Lyon.

Directrice de thèse : MME Nathalie SINTES Co-directeur de thèse : M. Etienne FLEURY

Président de jury : M. Jean-Paul CHAPEL

Composition du jury : MME Claire BORDES,
M. Alain DURAND,
M. Jean-Paul CHAPEL,
M. Henri CRAMAIL,
M. Etienne FLEURY,
MME Nathalie SINTES

Cette thèse est accessible à l'adresse : http://theses.insa-lyon.fr/publication/2018LYSEI075/these.pdf
© [T. Querette], [2018], INSA Lyon, tous droits réservés