

Jeunes chimistes en Rhône-Alpes

La section régionale Rhône-Alpes de la Société Française de Chimie organise tous les ans une journée de conférences pour réunir les chimistes de la région. Comme l'an passé (voir *L'Act. Chim.*, 283, 2005, p. 28), nous présentons dans ce dossier les travaux de jeunes chercheurs qui y ont été primés.

Compte rendu de la journée de printemps de la section régionale Rhône-Alpes de la SFC du 16 juin 2005 à l'université de Savoie

Alain Pierre et Christian Pétrier

Cette journée s'est déroulée dans les locaux de l'université de Savoie, sur le campus universitaire du Bourget du Lac. La qualité de son organisation, par les membres du Bureau de la section Rhône-Alpes et surtout par les membres locaux de l'université de Savoie que nous remercions vivement, a joué un rôle essentiel dans le succès de cette journée. En particulier, l'organisation d'un déjeuner buffet a permis aux jeunes chercheurs et à leurs encadrants de discuter de leur recherche en face de leurs affiches.

Un premier objectif de la journée était de donner aux doctorants et post-doctorants de la région (âgés au maximum de 30 ans) la possibilité d'acquérir une expérience dans la présentation de leurs travaux devant un auditoire, à un échelon intermédiaire entre les grandes conférences internationales et les séminaires localisés au sein des laboratoires. Un second objectif était d'élargir l'horizon de ces jeunes chercheurs à l'ensemble de la chimie. Cet aspect est particulièrement important puisque leur carrière scientifique ne fait que commencer et qu'une telle journée offre la possibilité de confronter leur domaine d'activité en thèse aux autres spécialités de la chimie, dans une atmosphère conviviale. Un troisième objectif était enfin de faciliter les échanges entre les chercheurs des trois principaux centres géographiques de recherches de la région qui n'ont pas souvent l'opportunité de se rencontrer : Chambéry, Grenoble et Lyon.

Les présentations scientifiques se sont réparties tout au long de la journée : conférence plénière, conférences invitées, communications orales et communications par affiches de doctorants. La conférence plénière d'Alexandre Alexakis (Département de Chimie organique, Université de Genève) portait sur de « Nouvelles diamines chirales en tant que ligands et organocatalyseurs ». Les conférences invitées de Serge Cosnier (Laboratoire ICMG, UMR 5630, Université Joseph Fournier Grenoble 1) et de Philippe Miele (Laboratoire des multimatériaux et interfaces, UMR CNRS 5615, Université Claude Bernard Lyon 1) avaient respectivement pour titres : « Bio-interfaces nanostructurées : applications

aux biocapteurs électrochimiques et optiques » et « Des polymères inorganiques aux céramiques avancées ».

La multidisciplinarité des présentations invitées s'est retrouvée lors des communications orales ou par affiches des étudiants qui traitaient de biochimie, chimie organique, chimie inorganique, chimie de matériaux, catalyse, chimie-physique et génie chimique. Les résumés de toutes ces communications ont été regroupés dans un recueil distribué aux participants et dans un fichier « pdf » téléchargeable depuis le site web de la SFC. Les étudiants disposent ainsi d'une référence qu'ils peuvent citer.

Plus de 70 participants se sont impliqués dans cette journée, ce qui constitue un succès dans notre région compte tenu de la compétition des autres manifestations scientifiques. L'attribution de prix par un jury désigné par le Bureau régional a contribué à ce succès. Les affiches ont été évaluées sur leur contenu scientifique, leur clarté et les réponses de l'auteur aux questions des jurés. Ainsi, le prix de la meilleure affiche a été décerné à Sébastien Carret (LEDSS, Université Joseph Fourier) pour « Une nouvelle approche efficace aux azulènes et guaianolides ». Trois autres prix ont été décernés : Maxime Montillet (IFP, Vernaison) pour son affiche sur l'« Étude des réactions catalytiques en milieu supercritique : influence de la pression », Étienne Quivet (Laboratoire des sciences analytiques, UMR 5180, Université Claude Bernard Lyon 1) pour son affiche sur la « Comparaison des comportements hydrolytique et photolytique de deux pesticides de la famille des imidazolinones, l'imazamox et l'imazapyr », et Caroline Creuzet (CERMAV-CNRS, Grenoble) pour sa communication « Synthèse et étude d'hydrogels thermoréversibles obtenus par modification chimique contrôlée du chitosane ».

Le succès recueilli par cette nouvelle formule avec pause déjeuner-affiches et prix de la meilleure affiche conduit à son renouvellement.

Rendez-vous pour la prochaine journée annuelle en 2006 à Lyon !!

Synthèse totale de terpénoïdes naturels possédant le squelette bicyclo[5.3.0]décane

Sébastien Carret, Yoann Coquerel, Audrey Giannini, Thomas Sainte-Luce Banchelin et Jean-Pierre Deprés

Résumé

Plus de 2 500 produits naturels contenant le squelette bicyclo[5.3.0]décane ont été isolés à partir de plantes. Beaucoup de ces composés montrent des activités biologiques très intéressantes, mais sont rares ou

épuisés. Bien souvent, ils ne peuvent être obtenus que par synthèse totale pour continuer leur évaluation biologique. Nous proposons ici une approche synthétique exceptionnellement directe et générale de ces molécules qui devrait avoir un impact très positif sur leur développement comme candidat médicament.

Mots-clés

Synthèse totale, terpènes, bicyclo[5.3.0]décane, guaïanes, sélectivité.

Abstract

Total synthesis of natural terpenoids containing the bicyclo[5.3.0]decane skeleton

Over 2500 natural products containing the bicyclo[5.3.0]decane skeleton have been isolated from plants. Many of these compounds show highly interesting biological properties but are scarce or depleted. Often, they can only be accessed by total synthesis for further biological evaluation. Herein, we propose an exceptionally direct and general access to these molecules, which should have a very beneficial impact on their development as drug lead.

Keywords

Total synthesis, terpenes, bicyclo[5.3.0]decane, guaïanes, selectivity.

Le squelette bicyclo[5.3.0]décane est présent dans un très grand nombre de produits naturels, répartis principalement en deux grandes familles : les sesquiterpènes (15 atomes de carbone) [1] et les diterpènes (20 atomes de carbone) [2]. Actuellement, plus de 2 500 de ces composés ont été isolés et caractérisés. Par exemple, les deux familles de sesquiterpènes les plus importantes sont les guaïanes (et guaïanolides) et les pseudoguaïanes (et pseudoguaïanolides) dont le squelette ne varie que par la position d'un seul atome de carbone (*figure 1*). On rencontre également le squelette bicyclo[5.3.0]décane dans d'autres familles de sesquiterpènes naturels plus rares, comme par exemple les aromadendranes, les carotanes et les lactaranes, et de nombreux diterpènes possèdent ce squelette inclus dans une structure polycyclique (*figure 1*).

vages reconnaissent le potentiel thérapeutique de plantes contenant des STL, en les utilisant comme agents anti-infectieux lors d'attaques parasitaires [4]. D'autre part, les azulènes (dont la majorité appartiennent à la famille des guaïanes) sont des composés aromatiques, de couleur bleue très intense, qui présentent de nombreuses propriétés intéressantes, dues aussi bien à leur large champ d'activités biologiques (anti-inflammatoire, bactériostatique, antiallergique...), qu'à leur structure électronique particulière (nouveaux polymères conducteurs, électrophotographie, optique non linéaire). Actuellement, ces composés sont essentiellement utilisés en cosmétologie et en médecine. Par exemple, le guaiazulène est employé comme anti-inflammatoire dans plusieurs médicaments commercialisés en Europe. Mais c'est probablement chez les diterpènes que l'on rencontre les propriétés

biologiques les plus importantes. Par exemple, certains esters dérivés du phorbol (tigliane) ou de l'ingénol (ingénane) sont actuellement très étudiés comme puissants promoteurs de tumeurs, agents anti-leucémiques, ou encore inhibiteurs de réplication virale pour l'immunodéficience humaine. Certains guanacastépènes possèdent des activités antibiotiques très fortes contre des bactéries présentant des phénomènes de résistance aux antibiotiques actuels. En effet, la résistance microbienne contre les antibiotiques n'a jamais été aussi forte, d'où la nécessité de découvrir de nouveaux composés bioactifs.

Parmi tous les produits déjà isolés, beaucoup n'ont pas encore fait l'objet d'études biologiques suffisamment approfondies, principalement à cause du manque de composé. En effet, ces produits, généralement issus de la flore, peuvent selon les cas, n'être isolés qu'à l'échelle du milligramme, même à partir d'une grande quantité (plusieurs kilogrammes) de matière végétale brute, pouvant conduire à des désastres écologiques. La synthèse totale devient alors le seul moyen d'accéder au produit pour continuer son étude. Si l'on admet que les produits naturels sont avant tout les défenses chimiques des plantes contre leur environnement, on réalise que la Nature représente un formidable réservoir de futurs candidats médicaments qui doit être exploré et protégé. Un autre point d'importance considérable réside en la capacité du chimiste de synthèse à produire des analogues supérieurs de molécules actives (meilleure activité, moindre

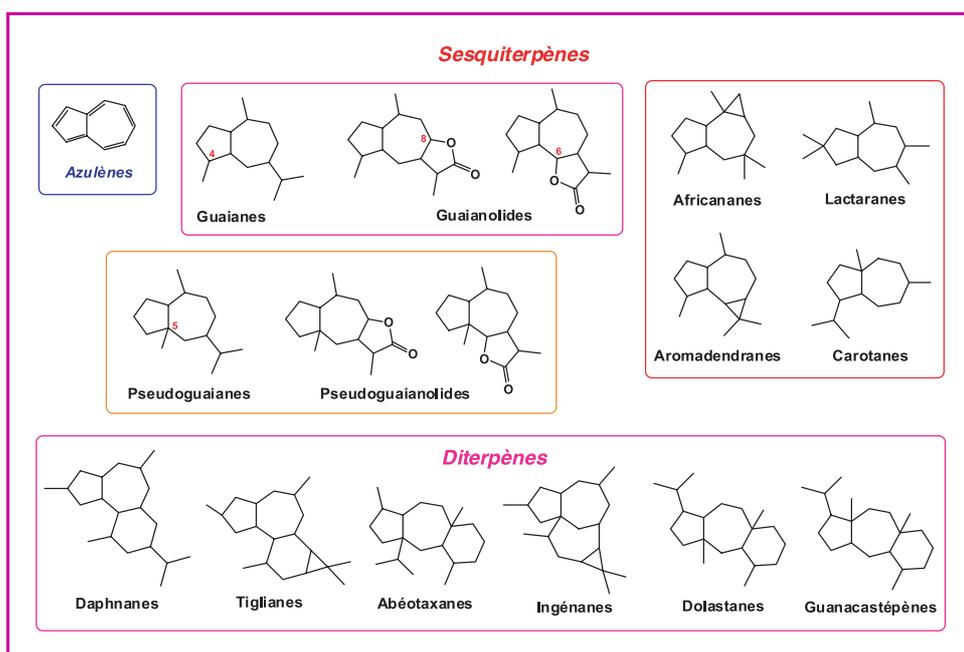


Figure 1 - Différentes familles de produits naturels.

Un grand nombre de ces produits naturels ont des activités variées et importantes, et certains d'entre eux sont couramment utilisés en médecine ou en recherche médicale. Par exemple, les guaïanolides et les pseudoguaïanolides qui appartiennent à la classe des sesquiterpènes lactones (STL), sont reconnus depuis longtemps comme une source presque inépuisable de composés présentant des activités remarquables [3]. Ils ont très tôt été utilisés à des fins médicinales, probablement depuis la naissance de la pharmacothérapie primitive. En effet, il a été montré que des chimpanzés sau-

toxicité...), et le cas échéant, de les produire à l'échelle industrielle. Pour preuve, environ trois quarts des anticancéreux utilisés en médecine aujourd'hui sont des produits naturels, des analogues de produits naturels ou des mimétiques de produits naturels [5]. La synthèse totale de produits naturels possédant des activités biologiques intéressantes, et celles de leurs analogues, est une réponse adaptée aux graves problèmes de santé mondiaux.

Mais la synthèse totale est une science difficile, exigeante et de longue haleine, qui demande de l'imagination et une grande compétence, associée à beaucoup d'enthousiasme. Elle est même parfois reconnue comme un art [6]. Aujourd'hui, il est clair que la synthèse totale de produits naturels ne doit pas se faire dans n'importe quelles conditions. Une synthèse totale trop longue et peu sélective ne permettra en aucun cas de trouver et de développer de nouveaux médicaments. C'est pourquoi le chimiste de synthèse se trouve devant un défi difficile à relever : réaliser les synthèses les plus courtes possibles, hautement sélectives et efficaces, mais aussi écologiquement viables. Ces contraintes obligent donc le chimiste à développer de nouvelles réactions totalement chimio-, régio- et stéréosélectives. Par exemple, repenser chimiosélectivement une stratégie d'approche peut permettre d'éviter une protection de fonction, qui rallonge la synthèse de deux étapes. Néanmoins, si la synthèse totale vise des objectifs bien précis et ambitieux pour la mise au point de nouveaux médicaments plus efficaces et sélectifs, elle ne doit en aucun cas être dissociée de la recherche fondamentale en chimie organique. En effet, la meilleure façon de pouvoir découvrir une nouvelle réaction ou encore de mettre au point une nouvelle méthodologie efficace est certainement d'être confronté à un problème synthétique afin de respecter sa stratégie d'approche. A l'inverse, trouver de nouvelles réactions ou mettre au point de nouvelles méthodologies utiles a moins de chance d'aboutir hors du contexte de synthèses totales exigeantes. Même si c'était le cas, ces découvertes risqueraient de n'être jamais appliquées, parce que mal adaptées.

C'est dans cet esprit que nous avons décidé d'entreprendre une nouvelle approche générale et sélective de produits naturels possédant le squelette bicyclo[5.3.0]décane. Pour nous, l'objectif est d'accéder efficacement au plus grand nombre de produits naturels aussi diversifiés que possible. Comme les guaïanes, les guaïanolides, les pseudoguaïanolides et les azulènes représentent à eux seuls près de la moitié des produits naturels possédant le squelette bicyclo[5.3.0]décane, en combinant une très grande diversité structurale avec un large champ d'activités biologiques, c'est vers ces familles que nous avons tout naturellement orienté nos études initiales. La flexibilité d'une telle approche implique l'utilisation d'un intermédiaire clé simple et unique qui peut être obtenu en très peu d'étapes, à partir d'une matière première peu coûteuse comme le cycloheptatriène, directement issu du craquage du pétrole. Ainsi, grâce à une métho-

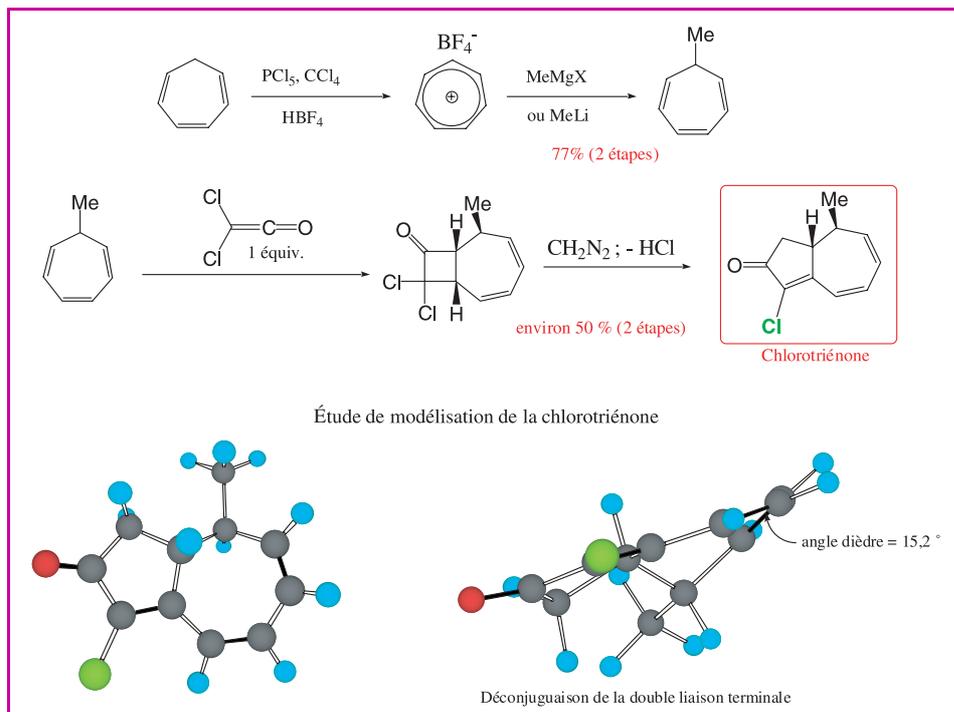


Figure 2 - Synthèse de l'intermédiaire clé.

dologie très efficace mise au point au laboratoire il y a déjà de nombreuses années [7], on peut obtenir l'intermédiaire clé (sous forme racémique) qui possède le squelette bicyclo[5.3.0]décane en seulement quatre étapes (figure 2). En effet, grâce à une réaction chimio-, régio- et stéréosélective de cycloaddition [2+2] du dichlorocétène sur le 7-méthylcycloheptatriène, on peut construire le squelette attendu hautement fonctionnalisé, en contrôlant parfaitement les deux centres stéréogènes. Cet intermédiaire clé (chlorotriénone), possédant trois doubles liaisons conjuguées avec un groupe carbonyle, présente une réactivité tout à fait particulière, due à la fois à la présence d'un atome de chlore sur le cycle à cinq atomes de carbone et à une déconjugaison partielle de la double liaison terminale du système, confirmée par des calculs de coefficients orbitaux et une étude de modélisation [8] (figure 2).

Ainsi, de façon remarquable, toute une série de réactions hautement chimio-, régio- et stéréosélectives peuvent être réalisées à partir de la chlorotriénone (figure 3) [9]. La réaction la plus importante et la plus significative est une addition-1,6 conjuguée, de type Michael, hautement stéréosélective, réalisée avec une grande variété de réactifs comme des organocuprates [8] et organozinciques [10], ou mieux encore, avec des cétène-acétals [10-11]. En effet, l'utilisation de cétène-acétals permet de fonctionnaliser directement le squelette toujours avec la stéréochimie requise pour atteindre efficacement les cibles. De plus, après cette addition-1,6 conjuguée, il est encore possible d'introduire, grâce à une addition-1,4 conjuguée, un groupement méthyle en jonction de cycle, avec la bonne stéréochimie relative, permettant ainsi d'accéder aux pseudoguaïanolides. Comme nous pouvons le voir (figure 3), beaucoup d'autres transformations hautement sélectives sont réalisables à partir de l'intermédiaire clé (chlorotriénone), comme des époxydations régio- et stéréosélectives, une hydrogénation sélective de la double liaison terminale, une protection des doubles liaisons du cycle à sept chaînons, une aromatisation directe en azulène et une

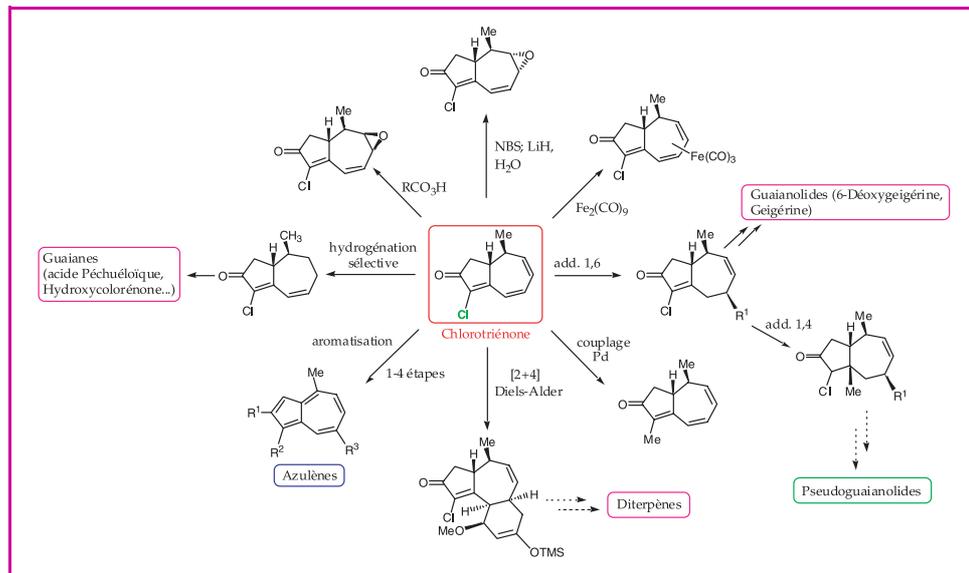


Figure 3 - Transformation de l'intermédiaire clé.

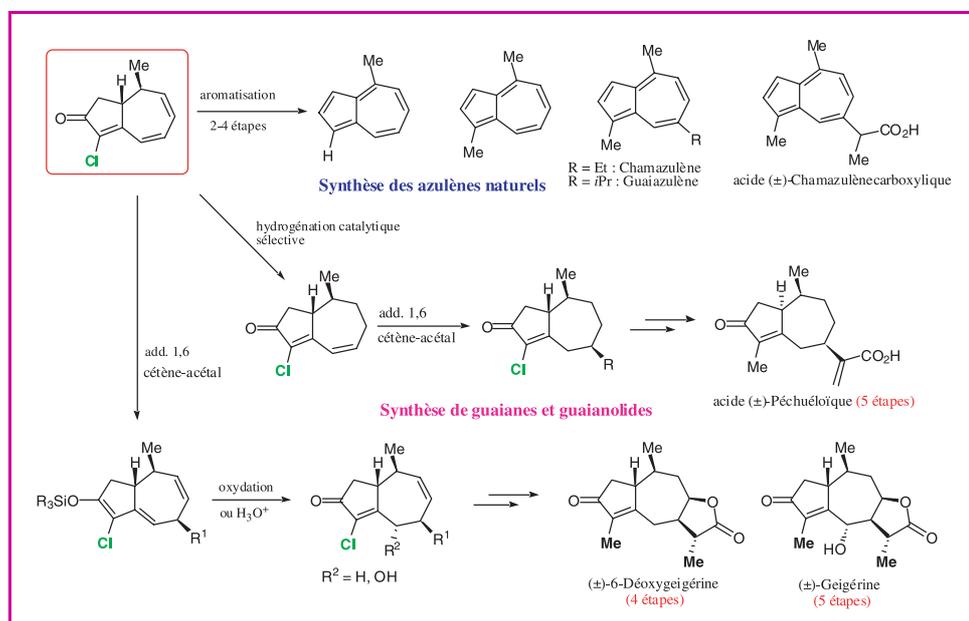


Figure 4 - Synthèses totales de différents produits naturels.

réaction de Diels-Alder chimio-, régio- et stéréosélective, ouvrant une voie directe aux diterpènes. Mais dans la plupart des transformations réalisées, la présence de l'atome de chlore est nécessaire (réactivité et stéréosélectivité). Néanmoins, nombre de nos cibles synthétiques possèdent un groupement méthyle dans la même position. Par conséquent, pour généraliser notre nouvelle approche synthétique et la rendre compétitive, il nous fallait absolument résoudre le remplacement tardif de cet atome de chlore par un groupement méthyle. Ceci a pu être réalisé directement, par une réaction de couplage, catalysée par le palladium dans des conditions relativement douces, compatibles avec différentes fonctions comme par exemple une lactone, présente dans les guaianolides (STL).

Les nombreuses transformations sélectives de notre intermédiaire clé permettent d'envisager l'accès rapide à toute une variété de cibles naturelles. Par cette approche, nous avons déjà réalisé les synthèses totales exceptionnel-

lement courtes et directes de nombreux azulènes [10], de guaianes [8, 11] et de guaianolides [8, 10]. Ainsi, à partir de la chlorotrienone, la grande majorité des azulènes naturels, mais également non naturels, peuvent maintenant être synthétisés avec une très grande flexibilité (figure 4) [12]. De même, les guaianes (\pm)-hydroxycolorénone, (\pm)-8-désangeloyoxytoriline [9] et l'acide (\pm)-péchuéloïque [11] ont été synthétisés en cinq étapes, et le guaianolide (\pm)-6-déoxygeigérine, initialement obtenu en huit étapes [9], est maintenant accessible en quatre étapes [10]. Enfin, la (\pm)-geigérine, jamais synthétisée jusqu'alors, peut être obtenue en seulement cinq-six étapes, et ainsi en neuf-dix étapes à partir du cycloheptatriène [10]. Notons qu'une autre approche de ce composé montre qu'un intermédiaire, obtenu en seize étapes (à partir d'un produit non commercial), n'a jamais pu conduire à la cible, même avec de nombreuses étapes supplémentaires [13]. Certains pseudoguaianolides devraient être synthétisés très prochainement au laboratoire par notre nouvelle approche [14], et la préparation de diterpènes est actuellement étudiée, notamment en exploitant la réaction de Diels-Alder sur une chlorotrienone (figure 3).

Bien sûr, comme tous les produits naturels existent pratiquement toujours sous forme d'un seul énantiomère et donc optiquement actif, nous devons réaliser les synthèses de façon asymétrique. Ceci est impératif, compte tenu que les activités biologiques peuvent être très différentes d'un énantiomère à l'autre, et qu'actuellement tout médicament mis sur le marché doit être optiquement pur. Le dédoublement des énantiomères à partir du mélange racémique est une solution en synthèse asymétrique. Nous avons déjà étudié la résolution de l'intermédiaire clé (chlorotrienone, figure 2) sur une colonne chirale, mais nous perdons ainsi au minimum 50 % de matière. De manière plus attractive et plus intéressante, nous étudions actuellement la formation du cycloadduit (dichlorocyclobutanone, figure 2) de façon asymétrique.

Conclusion

Plus de 60 % des médicaments utilisés actuellement proviennent ou sont dérivés de produits naturels. Chaque mois, de nouveaux produits naturels possédant le squelette bicyclo[5.3.0]décane sont isolés et attendent d'être testés. Avec notre nouvelle approche générale, efficace et très flexible de ces composés, nous espérons permettre l'accès facile par voie synthétique à ces différentes molécules, mais également à des analogues très diversifiés, afin de découvrir de nouvelles activités biologiques.

Cet article est dédié au professeur André Rassat⁽¹⁾, décédé en juillet 2005, fondateur du laboratoire LEDSS.

Notes et références

- (1) Un hommage lui a été rendu dans nos colonnes : Giroud A.-M., Rey P., Verdaguer M., André Rassat, un chimiste curieux, *L'Act. Chim.*, 290-291, 2005, p. 132). Vous pouvez télécharger le pdf sur le site : http://www.lactualitechimique.org/larevue_article.php?cle=1392
- [1] Fraga B.M., *Nat. Prod. Rep.*, **2005**, *22*, p. 465.
 [2] Hanson J.R., *Nat. Prod. Rep.*, **2005**, *22*, p. 594.
 [3] a) Schmidt T.J., *Cur. Org. Chem.*, **1999**, *3*, p. 577 ; b) Guido F., Passrieter C.M., *Phytotherapy Reseach*, **2004**, *18*, p. 184.
 [4] Ohigashi H. et al., *J. Chem. Ecol.*, **1994**, *20*, p. 541.
 [5] Newman D.J., Cragg G.M., Snader K.M., *J. Nat. Prod.*, **2003**, *66*, p. 1022.
 [6] Nicolaou K.C., Vourloumis D., Winssinger N., Baran P.S., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2000**, *39*, p. 44.
 [7] Deprés J.-P., Greene A.E., *J. Org. Chem.*, **1980**, *45*, p. 2036.
 [8] Coquerel Y., *Nouvelle approche générale et sélective de produits naturels possédant le squelette bicyclo[5.3.0]décane : applications synthétiques*, thèse de doctorat, Université Joseph Fourier, Grenoble, **2001**.
 [9] Coquerel Y., Greene A.E., Deprés J.-P., *Org. Lett.*, **2003**, *5*, p. 4453.
 [10] Carret S., *Approche générale, efficace et sélective de produits naturels possédant le squelette bicyclo[5.3.0]décane : synthèse d'azulènes et de guaianolides*, thèse de doctorat, Université Joseph Fourier, Grenoble, **2005**. Résultats sur les guaianolides non encore publiés.
 [11] Giannini A., *Synthèse générale, efficace et stéréosélective de guaianes et guaianolides naturels*, thèse de doctorat, Université Joseph Fourier, Grenoble, **2005**. Résultats non encore publiés.
 [12] Carret S., Blanc A., Coquerel Y., Berthod M., Greene A.E., Deprés J.-P., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2005**, *44*, p. 5130.
 [13] Jacobi P.A., Touchette K.M., Selnick H.G., *J. Org. Chem.*, **1992**, *57*, p. 6305.
 [14] Sainte-Luce Banchelin T., *Synthèse efficace et stéréosélective de pseudoguaianolides*, thèse de doctorat, Université Joseph Fourier, Grenoble, en cours. Résultats non encore publiés.



J.-P. Deprés



Y. Coquerel

Jean-Pierre Deprés

est professeur à l'Université Joseph Fourier de Grenoble, Laboratoire LEDSS*.

Sébastien Carret

est docteur de l'Université Joseph Fourier (LEDSS, 2005), actuellement en stage postdoctoral au Canada.

Yoann Coquerel

est chargé de recherche au CNRS, Laboratoire SymbIO**.

Audrey Giannini

est docteur de l'Université Joseph Fourier (LEDSS, 2005), actuellement en stage postdoctoral à Zurich.

Thomas Sainte-Luce Banchelin

est doctorant à l'Université Joseph Fourier, Laboratoire LEDSS.

* Laboratoire LEDSS, UMR CNRS 5616, Bât. C Chimie Recherche, 301 rue de la Chimie, 38041 Grenoble Cedex 09.

Tél. : 04 76 51 43 45. Fax : 04 76 51 49 82.

Courriel : Jean-Pierre.Depres@ujf-grenoble.fr

** Laboratoire SymbIO, UMR-CNRS 6178, Université Paul Cézanne d'Aix-Marseille, Faculté des sciences de Saint-Jérôme, Boîte D12, 13397 Marseille Cedex 20.



S. Carret



A. Giannini



T. S.-L. Banchelin

Étude des réactions catalytiques en milieu supercritique Influence de la pression

Maxime Montillet, Denis Guillaume et Nadine Essayem

Résumé

Les fluides supercritiques sont caractérisés par de bonnes propriétés d'extraction : densité, compressibilité isotherme et coefficient de diffusion élevés, et viscosité faible. Ces propriétés sont sujettes à des variations importantes en fonction de la pression autour du point critique. L'objectif de ces travaux est d'étudier l'influence de la pression, au voisinage du point critique, sur les performances du catalyseur (zéolithe Béta) dans le cas de la réaction d'alkylation de l'isobutane par le cis-butène. Au voisinage du point critique (~ 140 °C, ~ 4 MPa), l'augmentation de pression entraîne un accroissement important de la densité et une baisse modérée du coefficient de diffusion. Les résultats catalytiques font apparaître une nette augmentation de la durée de vie du catalyseur en milieu supercritique (140 °C, > 4 MPa) par rapport à la phase liquide (80 °C, 3 MPa), malgré une baisse de la qualité de l'alkylat, en grande partie liée au craquage, favorisé à haute température. L'ensemble des résultats montre que le milieu supercritique a un effet bénéfique sur l'alkylation aliphatique catalysée par un solide acide, et que l'augmentation de pression est favorable à l'extraction des produits d'alkylation (triméthylpentane) et des précurseurs de coke de la surface du catalyseur solide, limitant ainsi les réactions secondaires.

Mots-clés

Supercritique, alkylation, zéolithe Béta, isobutane.

Abstract

Study of catalytic reactions under supercritical conditions: pressure impact

The supercritical fluids can be characterised mainly by their high extraction properties: high density, high compressibility and diffusivity, and low viscosity index. These properties can be affected by the evolution of the pressure near the critical point. This work aims to study the influence of the pressure to the performances of the solid catalyst (Beta zeolite) during the reaction of isobutane/butene alkylation. Near the critical point (~ 140°C, ~ 4 MPa), an increase of the pressure leads to a higher density and to a decrease of the diffusivity of the reaction medium. Experiments have shown a significant improvement of the catalyst life time under supercritical conditions (140 °C, > 4 MPa) as regard to the liquid phase conditions (80 °C, 3 MPa). However, under supercritical conditions, the quality of the alkylate was poorer mainly due to the cracking reactions favoured under high temperatures. Our study demonstrates a positive effect of the pressure on the alkylation reaction catalysed by a solid acid under supercritical conditions. The increase of the pressure near the critical point favours the extraction of the alkylation products (trimethylpentane) and the coke precursors from the catalytic surface but also reduces the occurrence of secondary reactions.

Keywords

Supercritical, alkylation, Beta zeolite, isobutane.

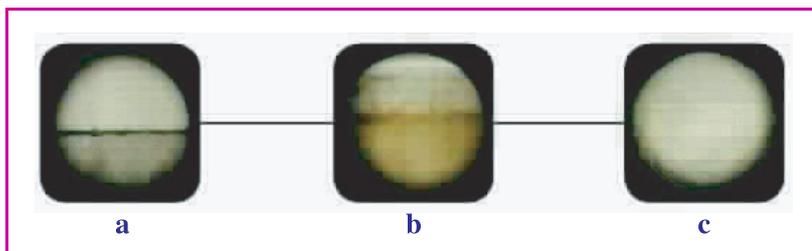


Figure 1 - **Changement de phase du CO₂.**

Les phases gaz et liquide séparées par un ménisque sont bien distinctes (a) ; en se rapprochant du point critique, le milieu devient trouble (b) pour devenir une phase unique au-delà du point critique (c).

© <http://www.criticalprocesses.com/SCFmore.html>

L'un des objectifs actuels de la chimie moderne est de développer de nouveaux produits, matériaux et procédés, plus sûrs et respectueux de l'environnement. L'introduction dans certains procédés de fluides supercritiques s'est avérée une solution viable pour développer une chimie plus propre. Dans l'industrie agroalimentaire, le procédé d'extraction de la caféine par le CO₂ en condition supercritique est un exemple d'application industrielle de ces milieux [1].

Les fluides supercritiques présentent des propriétés intermédiaires entre celles d'un liquide (densité élevée) et celles d'un gaz (diffusivité élevée et faible viscosité) ; de telles propriétés en font d'excellents agents d'extraction. Quand un système biphasique gaz/liquide est amené par variation de la pression et de la température au-delà du point critique, les états liquide et gazeux ne sont plus distincts et le système devient monophasique (figure 1). Cela peut être une caractéristique intéressante dans le cas de procédés limités par des problèmes de transfert aux interfaces liquide/gaz.

Ces propriétés spécifiques des fluides supercritiques peuvent être mises à profit dans le contexte des réactions conduites en catalyse hétérogène, avec le plus souvent pour objectif d'améliorer la stabilité des catalyseurs via une désorption et une extraction des précurseurs de coke plus efficace [2-4]. L'augmentation de la stabilité de systèmes réactionnels mis en œuvre en catalyse hétérogène peut être un moyen de moderniser certains vieux procédés, comme par exemple des procédés de production des bases carburants (ensemble des produits constituant un carburant) qui utilisent aujourd'hui encore des catalyseurs à l'état liquide, c'est le cas notamment du procédé d'alkylation.

Le procédé d'alkylation permet de produire des essences paraffiniques à haut indice d'octane, respectant les spécifications les plus sévères : absence d'aromatique, très faible teneur en soufre [5]. La réaction d'alkylation aliphatique est catalysée par des acides liquides de Brønsted. Industriellement, on utilise exclusivement HF ou H₂SO₄ depuis plus de 50 ans. Il est évident que la mise au point d'un procédé d'alkylation utilisant un catalyseur hétérogène dans des conditions économiquement attractives sera un progrès majeur du point de vue opérabilité, du fait de l'élimination de ces acides liquides corrosifs dont la manipulation s'accompagne de précautions particulières.

La difficulté majeure rencontrée pour le développement d'un procédé d'alkylation en catalyse hétérogène est la faible durée de vie des catalyseurs (quelques heures). Cette désactivation rapide est due à la formation d'oligomères d'oléfines qui bloquent la porosité des catalyseurs, et donc l'accès aux

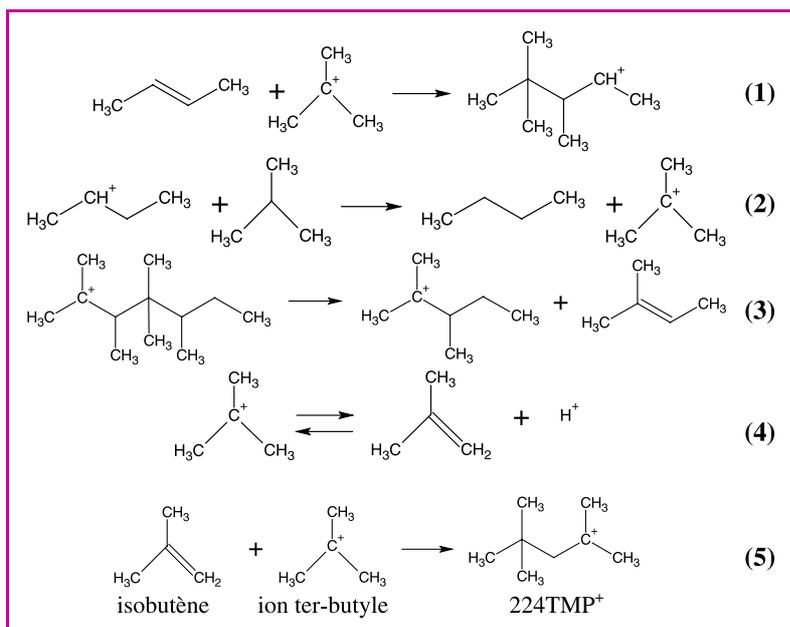
sites acides. L'utilisation de milieu supercritique pourrait être un excellent moyen pour faciliter l'extraction en continu de ces oligomères, et allonger ainsi la durée de vie du catalyseur [6-9].

Dans cette étude, le système réactionnel isobutane/butène a été examiné en conditions supercritiques, et l'effet de certains paramètres comme la pression totale au voisinage du point critique a été précisé du point de vue des sélectivités et de la stabilité du système.

Étapes élémentaires de l'alkylation aliphatique [10-12]

Alkylation

La réaction d'alkylation (1) est une réaction d'addition électrophile du carbocation tert-butyle sur la molécule de butène. Un carbocation iso-octyle est formé comme intermédiaire et donnera le 223 triméthylpentane (223TMP), par transfert d'hydrure. C'est le produit primaire de l'alkylation. Le carbocation tertio-butyle est lui-même formé par transfert d'hydrure entre le carbocation sec-butyle (formé par protonation du butène : étape d'initiation) et une molécule d'isobutane (2). Cette réaction d'alkylation est favorisée par une concentration élevée en carbocation tertio-butyle, de façon à favoriser l'addition du butène sur ces carbocations au détriment de la réaction de dimérisation, voire trimérisation du butène.



Réactions secondaires

En alkylation aliphatique, on distingue essentiellement trois types de réactions secondaires : oligomérisation, craquage et auto-alkylation.

• L'oligomérisation

La vitesse d'oligomérisation augmente avec le degré de ramification des oléfines. L'oligomérisation affecte l'indice d'octane et entraîne une désactivation du catalyseur. L'oligomérisation de l'oléfine devient prépondérante sur l'alkylation lorsque la vitesse d'addition d'une molécule de butène sur le cation sec-butyle est supérieure à la vitesse de transfert d'hydrure entre la molécule d'isobutane et le cation sec-butyle (2) (figure 2).

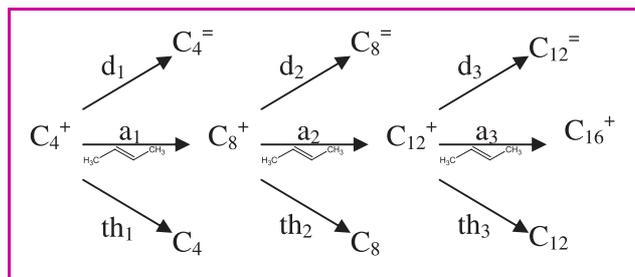


Figure 2.

d : déprotonation, a : addition de l'oléfine, th : transfert d'hydrure.

• Réactions de craquage

Le craquage est consécutif à l'oligomérisation. Les carbocations lourds formés vont se craquer par β -scission en donnant des carbocations et des oléfines (3). Une certaine quantité d'isomères de l'octane est produite par réactions d'oligomérisation-craquage ou par alkylation multiple-craquage : c'est une des voies de formation des isomères du diméthylhexane (DMH).

• L'auto-alkylation

La réaction d'auto-alkylation est fortement pénalisante car elle entraîne une surconsommation de l'isobutane. Cette réaction dépend du type de catalyseur, de la nature de l'oléfine et de la température ((4) et (5)).

Le procédé d'alkylation de l'isobutane en conditions supercritiques

Pour atteindre la phase supercritique avec le mélange réactionnel isobutane-butène, il faut travailler au-delà du point critique, à environ 136 °C et 3,7 MPa. Il est possible toutefois de contrôler les conditions opératoires en ajoutant un solvant (inerte) aux réactifs. En effet, l'utilisation d'un solvant adapté tel que le dioxyde de carbone ou l'éthane, qui ont tous deux des faibles températures critiques (~ 30 °C), pourrait permettre d'abaisser le point critique du mélange réactionnel. Les conditions opératoires pourraient ainsi être ajustées en jouant sur la dilution [13].

L'ajout de solvant peut aussi être un bon moyen pour comparer les performances en milieu supercritique et en phase liquide. En absence de solvant, les tests devront être conduits aux alentours de 140 °C en phase supercritique et de 80 °C en phase liquide. Il semblera difficile d'attribuer les résultats obtenus en milieu supercritique uniquement au changement de phase en s'affranchissant des variations de température. Cependant en utilisant un solvant, il sera possible de travailler à même température en phase liquide et supercritique, ce qui entraînera des comparaisons plus pertinentes.

L'objectif de cette étude est de voir l'influence de la pression au-delà du point critique sur les performances du catalyseur. L'utilisation d'un solvant ne semble donc pas justifiée.

Effet de la pression sur les propriétés physico-chimiques des réactifs en milieu supercritique

En milieu supercritique, les propriétés physico-chimiques sont intermédiaires entre celles d'un liquide et d'un gaz : densité élevée (liquide), diffusivité forte et viscosité faible (gaz) [14]. Ces propriétés sont ajustables en jouant sur la pression [15-16]. Des calculs *via* le logiciel Proll de SIMSCI ont permis de déterminer l'évolution de la densité du mélange de réactifs isobutane-butène avec la pression

(figure 3). Il apparaît qu'une faible augmentation de pression entraîne un accroissement important de la densité au voisinage du point critique, ce point se présentant comme un point d'inflexion.

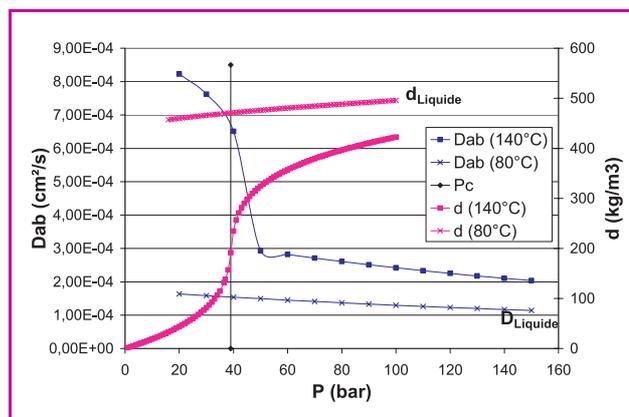


Figure 3 - Évolution de la densité (d) et de la diffusivité (Dab) du mélange isobutane-butène (isobutane/butène = 100 mol/mol) avec la pression pour T = 140 °C (~ Tc) et pour T = 80 °C (phase liquide).

Les variations du coefficient de diffusion ont été estimées en utilisant le modèle proposé par He et Yu [17], valable en milieu supercritique. Le coefficient de diffusion diminue avec la pression, mais reste supérieur dans la phase supercritique dans la gamme de pression étudiée. Un accroissement de la pression pourrait favoriser la désorption des produits à la surface du catalyseur (densité forte), mais réduira les propriétés de transport de ces derniers au sein de la porosité (coefficient de diffusion faible). Le choix de la pression sera donc un compromis entre le pouvoir solvant et le transfert de matière, afin d'extraire au mieux les produits du catalyseur.

Conditions opératoires

Le catalyseur choisi pour cette étude est une zéolithe Béta, connue pour promouvoir les réactions d'alkylation dans une gamme de conditions opératoires (température/pression) compatible avec les objectifs de cette étude. Un réacteur continu à lit fixe de 15 cm³ a été utilisé pour l'acquisition des données expérimentales. La réaction d'alkylation a été réalisée en utilisant un large excès d'isobutane par rapport à l'oléfine (butène-2) : $iC_4/C_4 = 100$ mol/mol, à une température proche de la température critique du mélange réactionnel (140 °C) et pour une plage de pression variant de 3 à 6 MPa. Le réacteur est alimenté par une pompe de type HPLC délivrant un débit permettant d'assurer une vitesse spatiale horaire, exprimée en poids comme le débit massique de butène ramené au poids de catalyseur et par heure (pph) de 0,4 h⁻¹. Un système composé de deux chromatographes en phase vapeur équipés de détecteurs FID permet d'analyser en ligne les effluents en aval du réacteur. Les conditions opératoires permettant d'opérer en condition supercritique compte tenu de la composition du mélange et de l'avancement de la réaction ont été estimées au préalable avec les équations d'état de Peng-Robinson.

Résultats et discussion

Les résultats obtenus dans le cadre de cette étude mettent en évidence une augmentation de la durée de vie du catalyseur quand la réaction est conduite dans des conditions supercritiques. La figure 4 illustre l'évolution de la conversion

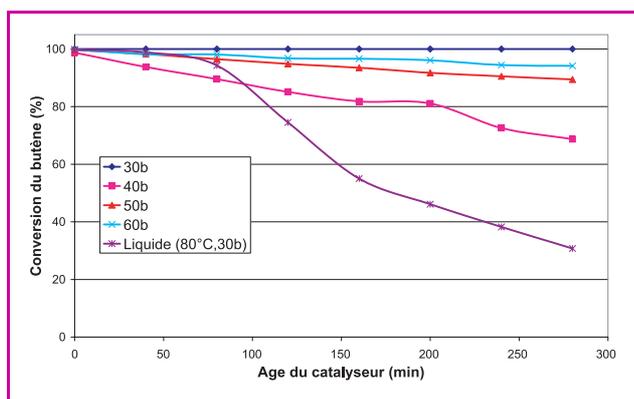


Figure 4 - Évolution de la conversion de l'oléfine avec l'âge du catalyseur.

Alkylation de l'isobutane par le butène : $iC_4/C_4^- = 100$ mol/mol, pph = $0,4 h^{-1}$; essais réalisés en phase liquide ($80^\circ C$, 3 MPa), « near critical » ($140^\circ C$, 3 MPa) et supercritique ($140^\circ C$, 40, 50 et 6 MPa).

de l'oléfine avec le temps pour différents types de phases : phase liquide ($80^\circ C$, 3 MPa), proche du point critique – les anglo-saxons parlent de l'état « near-critical » – ($140^\circ C$, 3 MPa), au point critique ($140^\circ C$, 4 MPa) et supercritique haute pression ($140^\circ C$, 5 et 6 MPa). On observe que la désactivation est nettement ralentie en milieu supercritique (quelle que soit la pression) par rapport à la phase liquide.

L'augmentation de pression en condition supercritique s'accompagne d'une nette augmentation de la stabilité du catalyseur. A 6 MPa, la conversion du butène reste supérieure à 95 % après 6 h de réaction, au lieu de 50 % à 4 MPa (point critique), et inférieure à 25 % en phase liquide ($80^\circ C$, 3 MPa).

L'examen de l'évolution du rendement de la réaction exprimé en masse de C_5^+ produits par masse de C_4^- convertis (gC_5^+/gC_4^-), appelé aussi indice d'alkylation, permet de faire une analyse de l'impact du milieu supercritique sur les mécanismes réactionnels.

Dans le cas théorique où il n'y a pas de réactions secondaires, ce rendement est égal à 204 %, c'est-à-dire qu'une mole d'isobutane réagit avec une mole de butène selon :

$$\text{rendement}_{\text{théorique-de-alkylation}} = \frac{m_{\text{produit}}}{m_{\text{butène consommé}}} \times 100$$

$$= \frac{M_{\text{isobutane}} + M_{\text{butène}}}{M_{\text{butène}}} \times 100 = 204\%$$

Un rendement observé expérimentalement supérieur à 204 % indique que la réaction d'auto-alkylation de l'isobutane est prépondérante ; quand il est compris entre 150 et 204 %, l'alkylation domine, et lorsqu'il est inférieur à 150 %, ce sont les réactions d'oligomérisation qui sont majoritaires.

Le tableau I rassemble les résultats relatifs aux rendements et sélectivités obtenus dans les différentes conditions

étudiées. Le rendement de la réaction conduite dans des conditions proches du point critique (153 %) est inférieur à celui observé en phase liquide (173 %). L'examen de la distribution des produits montre aussi qu'il y a formation de plus de composés légers (C_5-C_7) en supercritique (30-40 %) qu'en phase liquide (20 %), au détriment des C_8 (produits de l'alkylation).

La température plus élevée et égale à $140^\circ C$, nécessaire pour que le milieu soit en conditions supercritiques, favorise les réactions de craquage et affecte la qualité de l'alkylat. L'indice d'octane recherche (RON) (voir encadré), passe de 88 en phase liquide à 75-82 en phase supercritique. Le rendement en composés recherchés (triméthylpentanes) diminue avec la température, qui favorise l'isomérisation des C_8 tribranchés en C_8 dibranchés (voire monobranchés), entraînant une baisse de l'indice d'octane.

Le choix initial de ne pas utiliser de composés différents de l'isobutane et du butène, c'est-à-dire de ne pas ajouter de solvant au système étudié, rend l'exploitation plus délicate, eu égard à la comparaison de résultats obtenus dans des conditions opératoires différentes (température en particulier). Cependant, l'étude de l'effet de la pression totale à isotherme est possible. L'un des objectifs principaux de ces travaux est de comprendre quelles sont les caractéristiques (densité...) de ce milieu supercritique sur le couple sélectivité/stabilité.

Tableau I - Rendement de la réaction, distribution des produits et indice d'octane recherche (RON) à 80 % de conversion.

Alkylation de l'isobutane par le butène : $iC_4/C_4^- = 100$ mol/mol, pph = $0,4 h^{-1}$.

	Liquide ($80^\circ C$, 3 MPa)	« Near critical » ($140^\circ C$, 3 MPa)	Point critique ($140^\circ C$, 4 MPa)	Supercritique ($140^\circ C$, 5 MPa)	Supercritique ($140^\circ C$, 6 MPa)
$100gC_5^+/gC_4^-$	173 %	159 %	153 %	162 %	187 %
C_5-C_7/C_5^+	20	78	33	37	35
C_8/C_5^+	63	20	53	54	57
C_9^+/C_5^+	17	2	14	9	8
TMP/ C_8	74	26	30	38	38
DMH/ C_8	23	47	46	45	46
MC ₇ / C_8	2	26	15	11	11
C_8^-/C_8	1	1	9	6	5
RON	88	68	75	80	82

L'indice d'octane recherche (RON) caractérise l'aptitude du carburant à brûler correctement dans un moteur à allumage commandé et notamment sa résistance au cliquetis. La mesure de l'indice d'octane est effectuée sur un moteur normalisé CFR (« cooperative fuel research »). Par définition, l'indice d'octane d'un carburant est donné par le pourcentage volumique d'iso-octane dans le mélange étalon n-heptane et iso-octane, provoquant le même cliquetis que ce carburant. Si la mesure est effectuée à bas régime, on parle d'indice d'octane recherche RON (« research octane number »), et à haut régime, d'indice octane moteur MON (« motor octane number »).

L'augmentation de pression en milieu supercritique est favorable à la réaction d'alkylation. La qualité de l'alkylat est meilleure : la concentration des paraffines à huit atomes de carbone augmente avec la pression ainsi que la sélectivité en triméthylpentanes dans la coupe C_8 (tableau I). On peut aussi noter la baisse de la proportion des lourds et la diminution de la teneur en octènes parmi les C_8 formés.

En ce qui concerne les résultats en « near critical » (3 MPa, 140 °C), la durée de vie du catalyseur est significativement augmentée (100 % de conversion après 6 h de réaction), mais avec une concentration de composés légers dans les produits très élevée (78 %). La phase « near critical » est située en dessous et à droite du point critique ($T = T_c$, $P < P_c$), cette phase est donc une phase gaz.

La faible densité de ce milieu phase gaz (90 kg/m³) rend difficile la désorption des produits formés de la surface du catalyseur, ce qui conduit à des réactions consécutives de craquage, d'où l'obtention d'alkylat peu ramifié, d'un faible indice d'octane (RON = 68) et d'une forte concentration de légers.

L'augmentation de pression au voisinage du point critique s'accompagne d'une variation importante des propriétés du milieu, et notamment de la densité. L'« effet physique » attendu d'un fluide de densité élevée qui est d'accélérer l'extraction des produits semble être renforcé par un « effet chimique » : un milieu iC₄ supercritique de densité élevée semble favoriser les réactions bimoléculaires, en particulier la réaction entre les carbocations iso-octyles adsorbés et l'isobutane (transfert d'hydrure) qui conduit à la désorption des produits (isooctanes). Les intermédiaires formés sont vraisemblablement « évacués » plus rapidement de la surface du catalyseur en phase iC₄ supercritique de haute densité. Le temps de résidence des cations iso-octyles intermédiaires est donc réduit, ce qui contribue à limiter les réactions secondaires (oligomérisation, polyalkylation, craquage).

Conclusion

Cette étude, menée sur un système réactionnel relativement simple (isobutane + butène), sans utilisation de solvant, a permis d'avancer dans la compréhension de l'impact d'une mise en œuvre en conditions supercritiques, en dégageant l'influence spécifique de certains paramètres comme la densité du milieu.

Les résultats obtenus permettent de confirmer les effets promoteurs du milieu supercritique en alkylation. Le principal résultat est une augmentation de la stabilité du catalyseur en conditions supercritiques. Au voisinage du point critique, l'accroissement de pression a un effet positif sur les sélectivités et sur la stabilité. La combinaison d'une augmentation de la densité et d'un coefficient de diffusivité assez fort conduit à conclure que l'utilisation de conditions supercritiques devrait permettre également de contrôler les sélectivités.

Références

- [1] Beckman E.J. *et al.*, Green chemical processing using CO₂, *Ind. Eng. Chem. Res.*, **2003**, *42*, p. 1598.
- [2] Ginosa D.M., Subramaniam B., Olefinic oligomer and cosolvent effects on the coking and activity of a reforming catalyst in supercritical reaction mixtures, *J. Catal.*, **1995**, *152*, p. 31.
- [3] Grunwaldt J.-D., Wandeler R., Baiker A., Supercritical fluids in catalysis: opportunities of in situ spectroscopic studies and monitoring phase behaviour, *Catal. Rev.*, **2003**, *145*, p. 1.
- [4] Subramaniam B., Enhancing the stability of porous catalysts with supercritical reaction media, *Appl. Catal. A*, **2000**, *212*, p. 199.
- [5] Travers C., Clause O., Le raffinage du pétrole brut, *L'Act. Chim.*, mai-juin **2002**, p. 16.
- [6] Gayraud P.-Y., Alkylation isobutane-butènes en présence de zirconie sulfatée et d'hétéropolyacides en phase liquide et supercritique, thèse de doctorat, IRC Lyon, **2000**.
- [7] Husain A., Isoparaffin-olefin alkylation with MCM microporous material, brevet WO 94/03415, **1994**.
- [8] Subramaniam B., Final report: Coking and activity of solid acid alkylation catalysts in supercritical reaction media, *Ind. Eng. Chem. Res.*, **1998**, *37*, p. 1243.
- [9] Mota Salinas A.L., Kong D., Tâarit Y.B., Essayem N., Continuous iC₄/C₄= alkylation under iC₄ supercritical conditions over K_{2.5}H_{0.5}PW₁₂O₄₀ and H-Beta solid acids, *Ind. Eng. Chem. Res.*, **2004**, *43(20)*, p. 6355.
- [10] Feller A., Reaction mechanism and deactivation pathways in zeolithe catalysed: isobutane/2-butene alkylation, thèse de doctorat, Universität München, **2003**.
- [11] Ertl G., Knözinger H., Weitkamp J., Alkylation of isobutane with alkenes on solid catalysts, *Handbook of Heterogeneous Catalysis*, vol. 4, **1997**.
- [12] Albright L.F., Alkylation of isobutane with C₃-C₅ olefins to produce high-quality gasolines: physicochemical sequence of events, *Ind. Eng. Chem. Res.*, **2003**, *42*, p. 4283.
- [13] Subramaniam B., Improved solid acid supercritical alkylation reactions using carbon dioxide and/or other co-solvent, brevet WO 98/56739, **1998**.
- [14] Baiker A., Supercritical fluids in heterogeneous catalysis, *Chem. Rev.*, **1999**, *99*, p. 453.
- [15] Hyde J.R., Licence P., Carter D., Poliakov M., Continuous catalytic reactions in supercritical fluids, *Appl. Catal. A*, **2001**, *222*, p. 119.
- [16] Tucker S.C., Solvent density inhomogeneities in supercritical fluids, *Chem. Rev.*, **1999**, *99*, p. 391.
- [17] Poling B.E., Prausnitz J.M., O'Connell J.P., *The properties of gases and liquids*, 5th ed, Mc Graw Hill, **2000**, p. 11-18.



M. Montillet

Maxime Montillet¹ est doctorant et **Denis Guillaume**² est ingénieur de recherche à IFP/ENS-Lyon*.

Nadine Essayem est chargée de recherche CNRS à l'Institut de Recherche sur la Catalyse**.

* Institut Français du Pétrole, BP3 69390 Vernaison.

¹ Tél. : 04 78 02 20 20.

Courriel : maxime.montillet@ifp.fr

² Tél. : 04 78 02 26 67.

Courriel : denis.guillaume@ifp.fr

** IRC, 2 avenue Albert Einstein, 69626 Villeurbanne.

Tél. : 04 72 44 53 15.

Courriel : Nadine.Essayem@catalyse.cnrs.fr

Comportements hydrolytique et photolytique de pesticides de la famille des imidazolinones Cas de l'imazamox et de l'imazapyr

Étienne Quivet, René Faure, Joseph Georges et Jean-Olivier Païsse

Résumé

La photolyse de l'imazamox et de l'imazapyr, deux herbicides de la famille des imidazolinones, conduit à des photoproduits dont les cinétiques d'apparition et de disparition peuvent être suivies par LC-UV. Après une étape de pré-concentration, les photoproduits sont caractérisés par LC-MS et par spectrométrie de masse haute résolution, ce qui permet de proposer des schémas de dégradation.

Mots-clés

Imazamox, imazapyr, herbicides, photolyse, hydrolyse.

Abstract

Hydrolytic and photolytic behaviour of imidazolinone pesticides. Case of imazamox and imazapyr
Photolysis of imazamox and imazapyr, two broad-spectrum herbicides of the imidazolinone family, leads to photoproducts. Appearance and disappearance kinetics of photoproducts are followed by LC-UV. After a

pre-concentration step, the characterization of photoproducts is carried out by LC-MS and by high resolution mass spectrometry, leading to suggest pesticide degradation schemes.

Keywords

Imazamox, imazapyr, herbicides, photolysis, hydrolysis.

Le comportement environnemental des pesticides est une préoccupation majeure des gestionnaires de la qualité des eaux. Bien que certains efforts portent sur l'utilisation plus rationnelle des produits phytosanitaires, il est toujours nécessaire de se préoccuper du devenir de ces composés. Toutefois, l'analyse doit concerner non seulement les matières actives, mais également les produits de dégradation, parfois plus toxiques et souvent méconnus.

Cette étude porte sur deux pesticides de la famille des imidazolinones : l'imazamox (acide 5-méthoxyméthyl-2-(4-isopropyl-4-méthyl-5-oxo-2-imidazolin-2-yl)nicotinique, $R_1 = -CH_2OCH_3$, $R_2 = -H$) et l'imazapyr (acide 2-(4-isopropyl-4-méthyl-5-oxo-2-imidazolin-2-yl)nicotinique, $R_1 = R_2 = -H$) (figure 1). Ces herbicides ont été développés par l'American Cyanamid Company (Princeton, NJ) [1-2]. Dans les formulations commerciales, ils sont sous forme de sels d'isopropylamine (Raptor, Arsenal) ou sous forme d'acide libre (Raptor WG) [1-3]. L'imazamox est sélectif pour beaucoup de récoltes légumineuses telles que le soja, les haricots secs ou les arachides [4], et l'imazapyr est employé sur les sites industriels ou encore sur les plantations de canne à sucre [5].

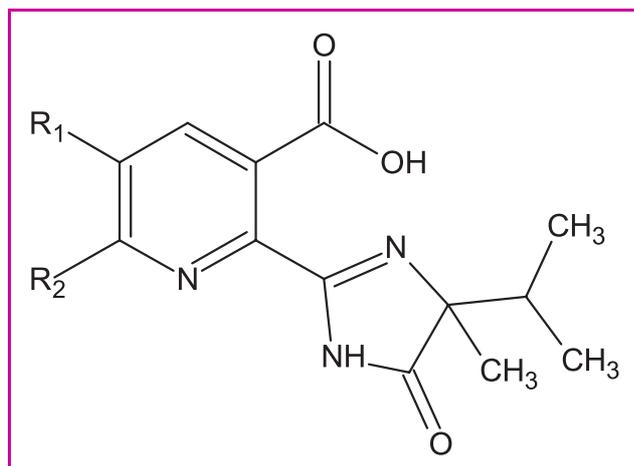


Figure 1 - Structure chimique de l'imazamox ($R_1 = -CH_2OCH_3$, $R_2 = -H$) et de l'imazapyr ($R_1 = R_2 = -H$).

Comme les autres membres de la famille des imidazolinones, ces herbicides détruisent les mauvaises herbes par inhibition de l'acétolhydroxyacide synthase, une enzyme essentielle à la formation de plusieurs acides aminés (valine, leucine et isoleucine) [6].

Ce travail décrit le comportement hydrolytique et photolytique dans l'eau ultra pure de ces deux pesticides.

Hydrolyse

L'analyse par chromatographie liquide (LC-UV) de solutions aqueuses d'imazamox (pH 4,3) et d'imazapyr (pH 4,4) à 10 mg.L^{-1} , au cours du temps, n'a pas permis de détecter de phénomène d'hydrolyse.

Les travaux de Mangels [7] sur l'imazapyr ont déjà montré qu'à pH 5 et 7, l'hydrolyse n'est pas détectable alors qu'à pH 9, le temps de demi-vie est de 325 jours. Ces résultats indiquent qu'en dehors de l'action des microorganismes, seule la photolyse est responsable de la dégradation des deux pesticides.

Photolyse

Caractéristiques spectrales des composés

La couche d'ozone de la haute atmosphère absorbe les rayons UV de courtes longueurs d'onde (UV-C, $\lambda < 290 \text{ nm}$). L'énergie solaire est ainsi très faible, en dessous de 290 nm . Les spectres UV de l'imazamox et de l'imazapyr à 10 mg.L^{-1} (figure 2) dans l'eau ultra pure montrent une absorption non négligeable au-dessus de 290 nm . Ces molécules sont donc susceptibles d'absorber le rayonnement solaire et de se dégrader directement, justifiant ainsi une étude photolytique.

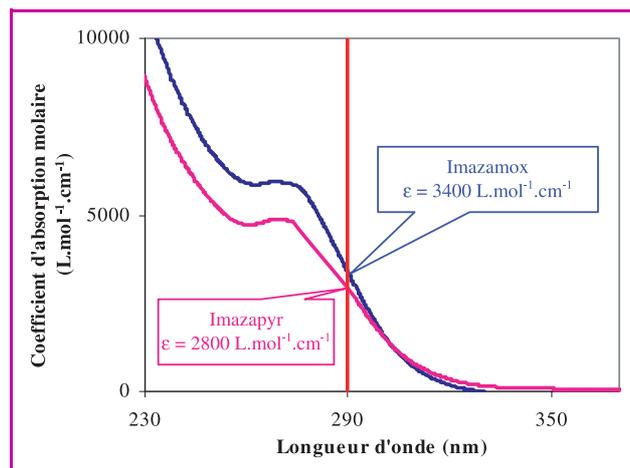


Figure 2 - Spectres UV de l'imazamox et de l'imazapyr (10 mg.L^{-1}) dans l'eau.

Description du photoréacteur à immersion

Les réactions de dégradation par photolyse ont été réalisées dans un réacteur à immersion. Un puits central à double paroi en pyrex est réservé à une lampe plongeante à vapeur de mercure haute pression (HPK 125 W Philips) dont le spectre est composé d'un fond continu auquel se superpose un spectre de raies. Le spectre de la lampe présente un maximum à $365,5 \text{ nm}$.

Les parois du puits en pyrex agissent comme un filtre éliminant le rayonnement UV-C pour se rapprocher des conditions naturelles. De plus, l'eau utilisée pour le refroidissement bloque le rayonnement IR ($\lambda > 780 \text{ nm}$). Le réacteur reste ouvert afin que la solution soit continuellement en contact avec l'air lors de l'irradiation.

Cinétique de dégradation

Les cinétiques de dégradation des composés (10 mg.L^{-1}) sont représentées sur la figure 3. Ces courbes montrent une disparition complète de l'imazapyr après seulement 6 h alors qu'il reste encore de l'imazamox en solution après 10 h de dégradation. La disparition de l'imazamox et de l'imazapyr se fait suivant une cinétique apparente du premier ordre et les temps de demi-vie sont respectivement de $78 \pm 4 \text{ min}$ et de $40 \pm 2 \text{ min}$.

Ces données montrent que l'imazamox est plus stable à la dégradation que l'imazapyr. La seule différence structurale entre les deux composés réside dans la substitution du noyau pyridinique de l'imazapyr par le groupement $-CH_2OCH_3$ qui jouerait donc un rôle stabilisateur. Toutefois, Curran *et al.* [8] ont montré que plus le noyau pyridinique est substitué, plus

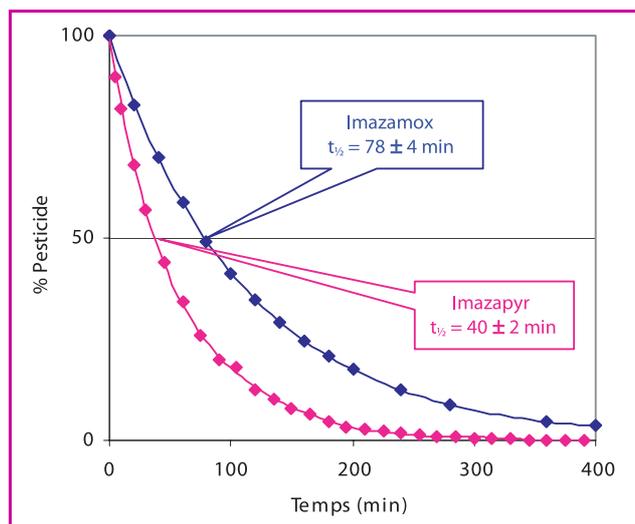


Figure 3 - Cinétiques de dégradation de l'imazamox et de l'imazapyr (10 mg.L⁻¹) dans l'eau.

le composé se photodégrade rapidement : l'imazaquin ($R_1 = R_2 = -CH=CH-CH=CH-$) et l'imazéthapyr ($R_1 = -C_2H_5$, $R_2 = -H$) se dégradent beaucoup plus rapidement que l'imazapyr.

Caractérisation des photoproduits et mécanismes de dégradation

Au cours de la dégradation photochimique des pesticides, plusieurs produits ont été détectés par LC-UV. La caractérisation des produits de dégradation a été réalisée, après une étape de pré-concentration sur phase solide (SPE), par chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse (LC-MS), par spectrométrie de masse haute résolution (HRMS) et par comparaison avec des standards commerciaux ou synthétisés au laboratoire.

Après l'identification des différents photoproduits, un schéma général de la dégradation photochimique de chaque composé dans l'eau peut être proposé (figure 4). Il comporte plusieurs voies de dégradation.

La première étape correspond à l'ouverture du noyau imidazolinone de la molécule mère (**P1**) et à la décarbonylation de ce cycle (perte du lactame $-C=O$), ce qui conduit au photoproduit **P2**. Deux voies de dégradation sont alors envisageables.

Le photoproduit **P2** perd son groupe amino pour former le composé **P3**. Bien qu'aucun intermédiaire n'ait pu être confirmé, on peut supposer que ce dernier conduit après plusieurs oxydations successives au produit **P8**.

La première étape de l'autre voie correspond à l'hydratation de la fonction alcène de **P2** formant ainsi le produit **P4**. Cette étape est suivie soit d'une décarboxylation conduisant au produit **P5**, soit d'une coupure de la liaison N-C conduisant au produit **P6**.

Le composé **P6** peut ensuite se dégrader en trois produits : **P7**, **P8** et **P9**. En effet, la réaction du groupement amidino (nucléophile) sur la fonction carboxylique (électrophile) du composé **P6** en milieu aqueux permet la formation d'un deuxième cycle à cinq chaînons. Il s'ensuit une hydrolyse de la

fonction imine (très fragile en présence d'eau) et une perte de NH_3 pour donner le produit **P7**. Mangels [7] a toutefois pu isoler un photoproduit de l'imazaquin comportant la fonction imine. En effet, dans le cas de l'imazaquin, le cycle benzénique accolé au noyau pyridinique joue un rôle stabilisateur pour la fonction imine, ce qui permet d'observer le produit de dégradation. Par hydrolyse, **P7** conduit facilement à **P9** [9]. Toutefois le composé **P7** n'a pu être détecté dans le cas de l'imazamox. **P9** peut être obtenu de deux façons différentes : soit par oxydation du groupement amidino pour former **P8** qui est oxydé facilement à son tour pour donner le composé **P9**, soit par hydrolyse directe du composé **P6** en **P9**. Aucun autre composé n'a pu être identifié comme étant un produit de dégradation de **P9**. Les produits **P9** de l'imazamox ou de l'imazapyr ne sont donc pas sensibles à une éventuelle photolyse directe.

On peut remarquer que la substitution du noyau pyridinique n'entre pas en jeu lors de la dégradation photochimique. On peut faire la même observation pour les autres composés de la famille des imidazolinones. En effet, comme l'ont déjà montré Mangels [7] et Mallipudi *et al.* [10], le substituant qui différencie les imidazolinones reste greffé au noyau pyridinique tout au long de la dégradation photochimique.

Concernant les mécanismes de transformation, il y a probablement imbrication des processus photolytiques (mécanismes plutôt concertés) et des processus radicalaires (mécanismes par étapes successives avec des intermédiaires radicalaires). Sous cet angle, sans preuves supplémentaires, le passage de **P1** à **P2** puis **P3** devrait être photolytique, de même que celui de **P2** à **P4** puis **P5**, alors que les dégradations de **P4** en **P6**, puis de **P6** en **P7**, **P8** et **P9**, pourraient plutôt être considérées comme radicalaires. Toutefois, la différence entre processus photolytique et radicalaire est loin d'être évidente.

Cinétique d'apparition et de disparition des photoproduits

Parmi tous les photoproduits identifiés, seule la cinétique de quelques-uns peut être suivie par LC-UV. En effet, les temps de rétention de certains composés ne sont pas significativement différents et, après quelques minutes d'irradiation, lorsque leur concentration augmente, ceux-ci sont

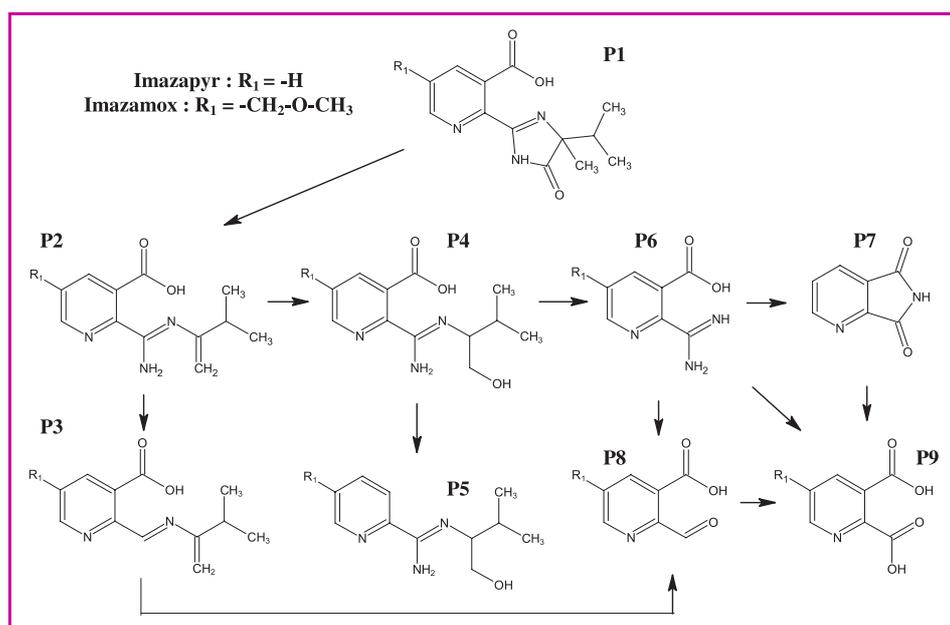


Figure 4 - Proposition de schéma de dégradation.

co-élués. Quant à d'autres, leur cinétique d'apparition ne peut être suivie du fait de leur trop faible concentration.

On peut dégager toutefois une généralité. Le suivi des cinétiques d'apparition et de disparition des photoproduits par LC-UV montre que ceux-ci, bien qu'apparaissant relativement rapidement (quelques minutes), sont plus stables en milieu aqueux et sous irradiation UV que les molécules mères.

Seules les concentrations des produits **P9**, l'acide 2,3-pyridinedicarboxylique pour l'imazapyr et l'acide 5-méthoxy-méthyl-2,3-pyridinedicarboxylique pour l'imazamox, continuent à augmenter lorsque l'irradiation de la solution est arrêtée. Cette observation laisse penser que les composés **P9** sont probablement les derniers produits résultant de la dégradation photochimique de l'imazapyr et de l'imazamox. Or d'après leur spectre UV, les composés **P9** n'absorbent pas au-dessus de 290 nm. Ils ne sont donc pas sensibles à une éventuelle photolyse directe. Pour s'en assurer, une solution d'un échantillon commercial d'acide quinolinique a été soumise à un rayonnement UV pendant 60 h. Le suivi cinétique par LC-UV confirme que ce composé ne se dégrade pas photochimiquement dans ces conditions.

Ce travail confirme que l'analyse de l'impact environnemental d'un pesticide doit impliquer non seulement le dosage du pesticide lui-même, mais également de ses produits de dégradation.

Références

- [1] *Pesticide Fact Sheet Imazamox*, U.S. EPA Office of Pesticides and Toxic Substances, **1997**.
- [2] *Pesticide Fact Sheet Imazapyr*, U.S. EPA Office of Pesticides and Toxic Substances, **1985**.
- [3] Tomlin C., *The Pesticide Manual*, Crop Protection Publications, Cambridge, 12th ed., **2000**.
- [4] Safarpour H., Asiaie R., Katz S., Quantitative analysis of imazamox herbicide in environmental water samples by capillary electrophoresis electrospray ionization mass spectrometry, *J. Chromatogr. A*, **2004**, *1036*, p. 217.
- [5] Shaner D.L., Imidazolinone herbicides, *Pestic. Outlook*, **1991**, *2(4)*, p. 21.
- [6] Shaner D.L., Anderson P.C., Stidham M.A., Imidazolinone: potent inhibitors of acetohydroxyacid synthase, *Plant Physiol.*, **1984**, *76*, p. 545.
- [7] Mangels G., *The Imidazolinone Herbicides*, N. Shaner, S. O'Connor (eds), CRC Press, Boca Raton, FL, **1991**, p. 183.
- [8] Curran W.S., Loux M.M., Liebl R.A., Simmons F.W., Photolysis of imidazolinone herbicides in aqueous solution and on soil, *Weed Sci.*, **1992**, *40*, p. 143.
- [9] Blanco M.M., Levin G.J., Schapira C.B., Perillo I.A., Improved synthesis of N-substituted 2,3-pyridine-dicarboximide with microwave irradiation, *Heterocycles*, **2002**, *57*, p. 1881.
- [10] Mallipudi N.M., Stout S.J., DaCunha A.R., Lee A., Photolysis of imazapyr (AC 243997) herbicide in aqueous media, *J. Agric. Food Chem.*, **1991**, *39*, p. 412.



E. Quivet

Étienne Quivet¹ est attaché temporaire d'enseignement et de recherche (ATER), **René Faure**² (auteur correspondant) est professeur et **Joseph Georges**³ est directeur de recherches CNRS au Laboratoire des sciences analytiques de l'Université Claude Bernard Lyon 1*.



R. Faure



J. Georges

Jean-Olivier Pâisse

est responsable du service LC-UV-MS au Service central d'analyse**.

* Laboratoire des sciences analytiques

(UMR 5180), Université Claude Bernard Lyon 1, Bât. Raulin, 69622 Villeurbanne Cedex.

¹ Tél. : 04 72 44 62 02. Fax : 04 72 44 62 02.

Courriel : quivet@univ-lyon1.fr

² Tél. : 04 72 43 11 53. Fax : 04 72 44 62 02.

Courriel : faure@univ-lyon1.fr

³ Tél. : 04 72 43 26 27. Fax : 04 72 43 10 78.

Courriel : j.georges@cpe.fr

** Service Central d'Analyse (USR 59), Échangeur de Solaize, BP 22, 69390 Vernaison Cedex.

Tél. : 04 78 02 22 24. Fax : 04 78 02 71 87.

Courriel : o.paisse@sca.cnrs.fr

Synthèse et étude d'hydrogels thermosensibles obtenus par modification chimique contrôlée du chitosane

Caroline Creuzet, Rachel Auzély-Velty et Marguerite Rinaudo

Résumé

Ces travaux décrivent la synthèse d'hydrogels thermosensibles par modification chimique contrôlée du chitosane en greffant des chaînes de poly(oxyde de propylène-co-oxyde d'éthylène) (POEP). Ce copolymère possède une température critique inférieure de démixtion, ou LCST (« lower critical solution temperature »), de 32 °C en solution aqueuse acide. Le chitosane ainsi modifié donne des systèmes solubles en milieu aqueux (pH < 6) et à une température inférieure à la LCST du POEP. Les interactions hydrophobes se manifestent en augmentant la température, avec pour conséquence la formation d'un réseau tridimensionnel thermosensible. Le comportement original des polysaccharides modifiés est bien mis en évidence grâce à des études physico-chimiques.

Mots clés

Chitosane, hydrogels thermosensibles, poly(oxyde de propylène-co-oxyde d'éthylène) (POEP), biomatériaux.

Abstract

Synthesis and study of thermosensitive hydrogels obtained by controlled chemical modification of chitosan

In this study, we report the synthesis of a thermosensitive hydrogel obtained by the controlled chemical modification of chitosan based on the grafting of chains of poly(propylene oxide-co-ethylene oxide) (POEP), which has a lower critical solution temperature (LCST) of 32°C in aqueous acidic condition. These systems are soluble in aqueous solution (pH<6) and below the LCST, and develop hydrophobic interactions when the temperature increases leading to the formation of a tridimensional network. We present a part of the physical-chemistry studies which highlights this behaviour.

Keywords

Chitosan, thermosensitive hydrogels, poly(propylene oxide-co-ethylene oxide) (POEP), biomaterials.

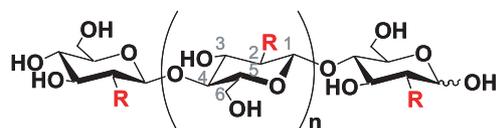
Systèmes injectables stimulables

Les polymères stimulables sont des macromolécules capables de répondre à un ou plusieurs types de sollicitations extérieures telles que des variations de température, de pH, de force ionique, et/ou de champs électrique ou magnétique. Depuis une quinzaine d'années, ces polymères, et en particulier les composés thermosensibles, suscitent un intérêt croissant en raison de leurs applications dans de nombreux domaines. Dans les domaines pharmaceutique et biomédical, les propriétés thermogélifiantes de tels polymères peuvent en effet être avantageusement mises à profit pour le développement de systèmes injectables [1-2]. L'avantage de ces systèmes, qui ont la particularité d'être à l'état liquide à température ambiante et de passer à l'état de gel une fois injectés dans le corps humain ($T \approx 37\text{ }^\circ\text{C}$), est de réduire de façon importante les interventions chirurgicales (et par conséquent les risques). Leur utilisation pour la préparation de matrices tridimensionnelles permettant le développement de cellules et ainsi la reconstruction de l'os, du cartilage ou des tissus malades en ingénierie tissulaire [3-5] fait actuellement l'objet de nombreux travaux [6-7]. Il est dans ce cas évidemment nécessaire de travailler avec des matériaux biocompatibles et biodégradables, voire biologiquement actifs, pour permettre aux cellules de se développer favorablement sur de tels échafaudages.

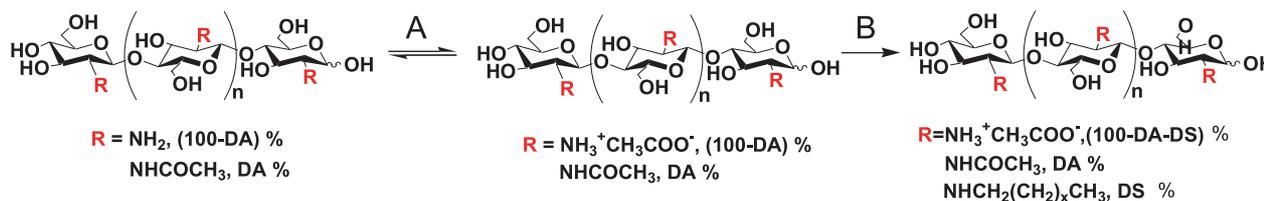
Ces polymères présentent également un grand intérêt pour le développement de systèmes à libération prolongée de médicaments [1]. Des substances biologiquement actives fragiles telles que les protéines peuvent par cette stratégie être encapsulées *in situ* dans des conditions douces ; les protéines sont solubilisées en milieu aqueux avec le polymère à température ambiante. La gélification du mélange qui se produit après injection dans le corps permet la libération progressive de ces substances actives.

Le chitosane [8]

La chitine est le polysaccharide naturel le plus abondant après la cellulose. Il est extrait de la carapace de crustacés tels que le crabe, les crevettes ou le homard. Ce polymère constitué d'unités *N*-acétylglucosamine reliées par des liaisons β -(1 \rightarrow 4) est insoluble dans la plupart des solvants, comme la cellulose. En revanche, sa désacétylation partielle en milieu basique permet d'obtenir le chitosane qui, lui, est soluble en milieu aqueux acide grâce à la protonation de ses fonctions amines :



$R = \text{NH}_2, (100\text{-DA}) \%$
 $\text{NHCOCH}_3, \text{DA} \%$



$R = \text{NH}_2, (100\text{-DA}) \%$
 $\text{NHCOCH}_3, \text{DA} \%$

$R = \text{NH}_3^+\text{CH}_3\text{COO}^-, (100\text{-DA}) \%$
 $\text{NHCOCH}_3, \text{DA} \%$

$R = \text{NH}_3^+\text{CH}_3\text{COO}^-, (100\text{-DA-DS}) \%$
 $\text{NHCOCH}_3, \text{DA} \%$
 $\text{NHCH}_2(\text{CH}_2)_x\text{CH}_3, \text{DS} \%$

Figure 1.

A : solubilisation du chitosane dans CH_3COOH 0,3 M.
 B : amination réductrice $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_x\text{CHO}$ ($x = 6,10$), NaCNBH_3 , $\text{EtOH}/\text{CH}_3\text{COOH}$ 0,3 M.

Qu'est-ce qu'un hydrogel ?

C'est un réseau tridimensionnel de macromolécules gonflé par un solvant aqueux. On distingue deux types de gel : les gels chimiques ou irréversibles et les gels physiques ou réversibles. La différence entre les deux systèmes réside dans la nature des liaisons constituant les nœuds du réseau ; dans le premier cas, ce sont des liaisons covalentes, et dans le second, des liaisons secondaires (hydrogène, van der Waals, ioniques, hydrophobes...). Dans le cas des gels physiques de polysaccharides, les liaisons s'établissent souvent de manière coopérative et contrôlent ainsi la stabilité du réseau.

Comme on peut le voir, le chitosane est un copolymère linéaire à arrangement aléatoire d'unités D-glucosamine et d'unités *N*-acétyl-D-glucosamine reliées par des liaisons β -(1 \rightarrow 4) qui confèrent au chitosane de bonnes caractéristiques filmogènes. Ce dérivé de la chitine est caractérisé par la fraction de groupements *N*-acétamide résiduels appelée degré d'acétylation (DA).

Le chitosane trouve de nombreuses applications dans des domaines très variés, liées en partie à son caractère polycationique : il est notamment utilisé comme substance antifongique, complexant d'ions métalliques, épaississant... Ses propriétés de biodégradabilité, biocompatibilité et bioadhésivité en font également un bon candidat pour des applications cosmétiques et médicales. Il a été montré que le chitosane avait de bonnes propriétés d'adhésion sur la peau et pouvait donc être utilisé en cosmétique comme patch pour délivrer différentes substances ou encore comme agent hydratant. Ce polysaccharide est aussi utilisé comme produit diététique, car la chitine fixe les lipides, ce qui permet de les éliminer plus facilement. Il présente enfin des potentialités intéressantes dans la vectorisation de médicaments, ou en tant qu'outil chirurgical comme pansement lors d'opérations par exemple.

Modification chimique du chitosane

Alkylation

Comme évoqué ci-dessus, le chitosane possède une fonction amine en position C-2, ce qui permet d'effectuer des réactions régiosélectives sur ce polymère afin de moduler ses propriétés physiques. Des systèmes associatifs à base de dérivés alkylés du chitosane ont ainsi été développés au sein de notre équipe [9]. Ces polymères amphiphiles greffés sont connus pour avoir d'intéressantes propriétés en milieu aqueux liées à la formation d'interactions hydrophobes interchaînes. Ces dernières causent une forte augmentation de viscosité qui dépend de plusieurs paramètres comme la concentration en sel et en polymère, le degré de substitution (DS) (fraction d'unités de répétition alkylées). Les dérivés alkylés du chitosane ont été obtenus par une réaction d'amination réductrice (figure 1) entre le chitosane et la chaîne alkyle aldéhydique.

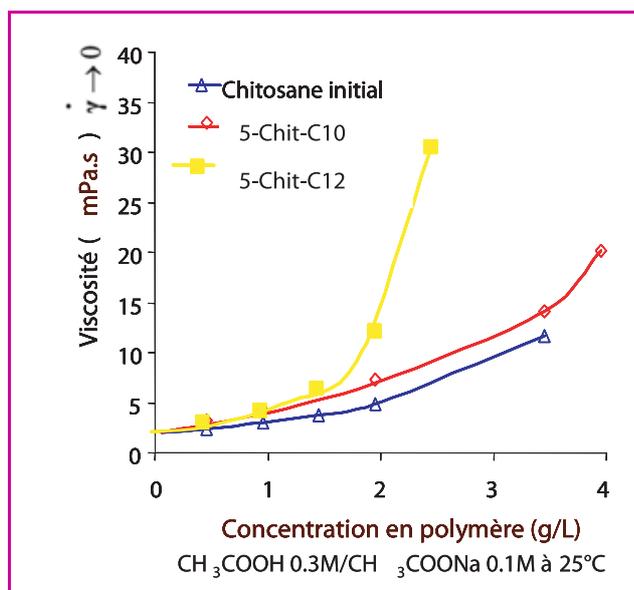


Figure 2 - Influence des chaînes alkyles sur la viscosité en fonction de la concentration en polymère.

La figure 2 montre l'effet de la présence des chaînes alkyle à 10 et 12 carbones sur la viscosité de solutions de polymère à différentes concentrations. Le degré de substitution est dans les deux cas de 5 % ; les références sont 5-C10 et 5-C12. L'augmentation de la viscosité avec la concentration pour les dérivés alkylés résulte de la formation de jonctions labiles interchaînes de nature hydrophobe (figure 3). L'importance de cette augmentation dépend de la longueur de la chaîne greffée comme le montre la figure 2 : à une concentration donnée, la viscosité est d'autant plus élevée que la chaîne est longue. Le dérivé comportant des chaînes en C12 présente notamment un comportement de type gel à partir d'une concentration de 4 g/L [7]. On peut par ailleurs jouer sur le DS afin de moduler les interactions hydrophobes et par conséquent les propriétés physico-chimiques de la solution de polymère.

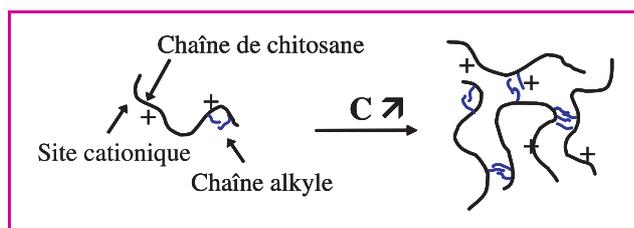


Figure 3 - Comportement du dérivé alkylé du chitosane en solution.

Cependant, ces systèmes étant peu influencés par des variations de température, il semble difficile d'envisager l'obtention de système à thermosensibilité prononcée. Afin de contrôler le processus d'agrégation des greffons avec la température, nous avons mis en place une stratégie qui a consisté à remplacer les chaînes alkyle greffées par des chaînes de polymères thermosensibles.

Chitosane thermoassociatif

L'une des stratégies généralement utilisées pour développer des matériaux thermosensibles repose sur l'utilisation de polymères possédant une température critique inférieure de démixtion. Ces polymères dits à LCST (« lower critical solution temperature ») conduisent à une séparation

de phase lorsque la température devient supérieure à la LCST (figure 4). En effet, ces systèmes voient leur hydrophobie augmenter avec la température [10]. Comme exemples, on peut citer le poly(*N*-isopropylacrylamide) (PNIPAM) [11-12] et les polyéthers triblocs de poly(oxyde d'éthylène) (POE) et de poly(oxyde de propylène) (POP), commercialisés sous le nom de Pluronic® (BASF) ou Poloxamers® (ICI). Les triblocs POE-POP-POE ont la propriété de former des gels à haute température ; or pour cela, ils nécessitent d'être à des concentrations en solution très élevées (de 200 à 300 g/L), ce qui ne constitue pas des conditions optimales pour la biocompatibilité. L'une des stratégies possibles pour pallier ce problème repose sur le greffage à un faible taux de ces polymères sur le chitosane. Cette approche présente plusieurs avantages ; un comportement thermogélifiant peut être observé en milieu aqueux avec de faibles concentrations en polymère (10 g/L), combinant par ailleurs les propriétés de biocompatibilité, biodégradabilité et mucoadhésivité du chitosane.

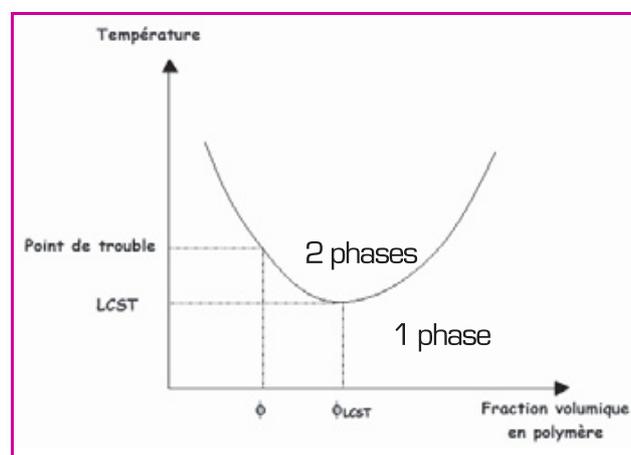
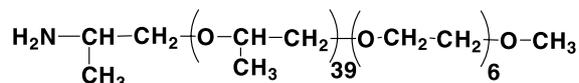


Figure 4 - Diagramme de phase d'un polymère à LCST (« low critical solution temperature »).

Dans notre étude, nous avons choisi d'utiliser comme greffons thermosensibles un copolymère à arrangement aléatoire d'unités d'oxyde d'éthylène et d'oxyde de propylène de la famille des pluronics : le POEP, appelé commercialement Jeffamine® (Texaco) ($M_n = 2\,500$ g/mol) :



La synthèse du chitosane-POEP repose sur la fonctionnalisation du POEP par un sucre réducteur dans une première étape, suivie dans une seconde étape du couplage du POEP modifié avec le chitosane par une réaction d'amination réductrice. La première étape s'appuie sur une réaction de couplage de type peptidique entre le POEP et l'acide galacturonique protégé, suivie de la déprotection en milieu acide des hydroxyles du sucre (figure 5a). Le carbone C-1 du sucre, de par son caractère hémiacétalique, peut réagir avec la fonction amine du chitosane pour conduire dans une deuxième étape à la formation d'une base de Schiff qui est réduite en milieu aqueux homogène (figure 5b). L'analyse par RMN du proton permet de déterminer le DS du chitosane-POEP, soit la fraction d'unités sucre greffées par le POEP. Dans notre cas, nous obtenons un DS d'environ 3 %.

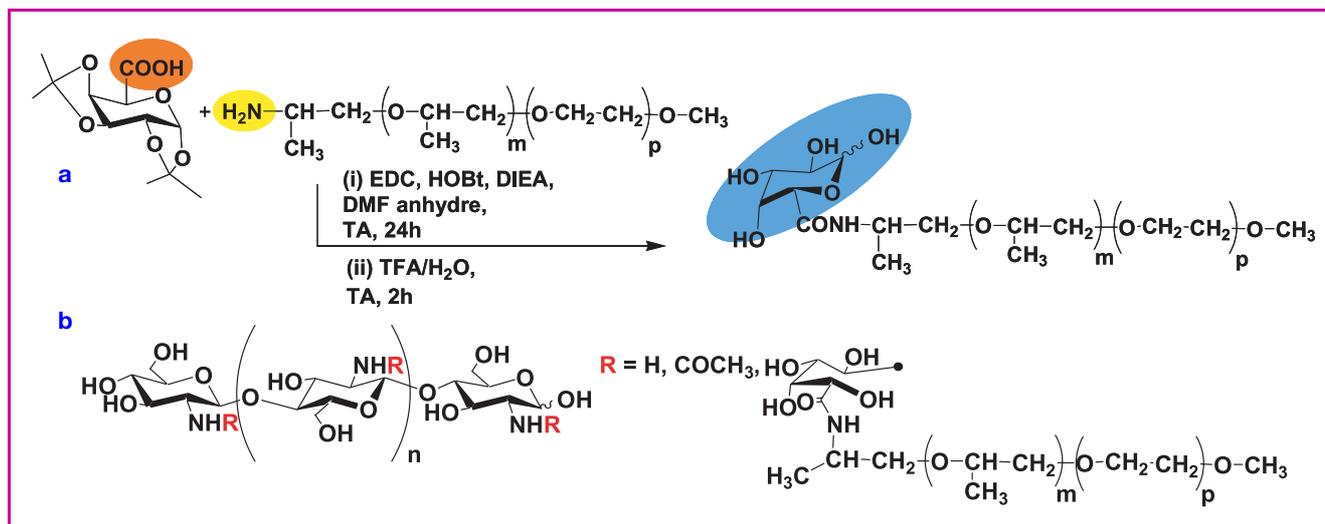


Figure 5 - a) Introduction d'un sucre réducteur sur le POEP : synthèse du dérivé POEP-galacturonamide (Rdt 76 %) ; b) Chitosane-POEP obtenu par une réaction d'amination réductrice (Rdt 62 %).

Étude des fluides viscoélastiques

Un fluide viscoélastique est un matériau dont le comportement s'apparente à la fois à ceux du solide élastique parfait et du liquide visqueux. Ses propriétés viscoélastiques peuvent être décrites par deux grandeurs :

- le module de conservation G' qui caractérise la partie d'énergie accumulée dans le matériau sous forme élastique (module élastique),
- le module de perte G'' qui caractérise l'énergie dissipée dans le matériau par frottements internes (module visqueux).

Au cours des manipulations de rhéologie en étude dynamique, on impose une contrainte variant de manière sinusoïdale au cours du temps afin d'étudier la déformation sinusoïdale déphasée qui en résulte. On en déduit un module de rigidité complexe, G^* , qui est fonction de plusieurs paramètres :

$G^*(\omega) = G'(\omega) + iG''(\omega)$, avec ω : pulsation (rad/s) ou fréquence (Hz). Pour un solide élastique parfait, la contrainte imposée et la réponse de l'échantillon sont en phase ($G' = G$ et $G'' = 0$).

Pour un liquide visqueux newtonien, la contrainte imposée et la réponse de l'échantillon sont en opposition de phase ($G' = 0$ et $G'' = G$).

Les mesures de G' et G'' sont effectuées par un balayage en oscillation de fréquence entre 0,05 et 10 Hz. Elles sont faites avec une déformation et un couple de déformation fixés de façon à être dans le régime linéaire. Dans ce domaine, la déformation de l'échantillon varie linéairement avec la contrainte imposée.

Études rhéologiques

Le comportement thermoassociatif est mis en évidence par des études physico-chimiques des systèmes. Quelques données expérimentales relatives à des études rhéologiques sur des solutions à une concentration de 10g/L dans le solvant CH_3COOH 0,3 M/ CH_3COONa 0,1 M sont présentées pour illustrer leur comportement avec la température.

Des mesures en régime dynamique ont été effectuées en fonction de la température et de la fréquence d'oscillation (voir encadré) avec un rhéomètre AR 1000 (TA Instruments) ayant un système cône-plan (cône de diamètre 6 cm et d'angle 1° ou de diamètre 4 cm et d'angle 4°). La figure 6 montre l'évolution des modules élastiques G' et visqueux G'' en fonction de la température pour le chitosane natif, un dérivé du chitosane porteur de chaînes alkyle en C10 (5-C10), et le chitosane-POEP. On peut tout d'abord remarquer que le gref-

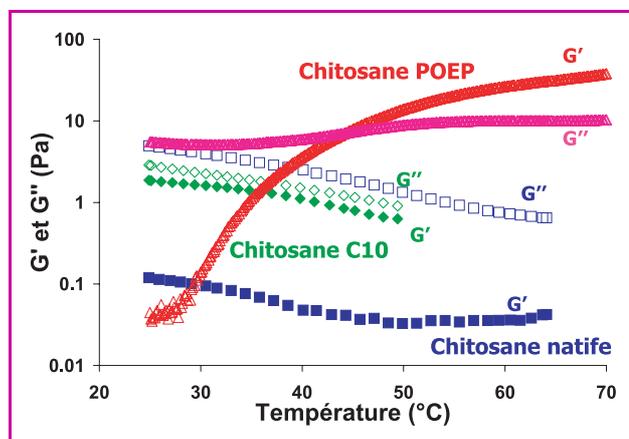


Figure 6 - Comparaison des comportements en dynamique des différents produits G' et G'' en fonction de la température dans CH_3COOH 0,3 M/ CH_3COONa 0,1 M.

▲▲ chitosane-POEP, ◆◆ chitosane 5-C10, ■■ chitosane natif.

fage des chaînes alkyle en C10 conduit à une augmentation des valeurs des modules, traduisant la formation de jonctions labiles interchaînes de nature hydrophobe. Le dérivé porteur de chaînes en C10 a par ailleurs un comportement à prédominance visqueuse sur toute la gamme de températures explorée, puisque le module G'' est supérieur au module élastique G' . Ces modules montrent une assez faible dépendance avec la température. En ce qui concerne le chitosane-POEP, les modules augmentent clairement en fonction de la température. A basse température, le dérivé présente un comportement de solution visqueuse ($G' < G''$), mais au-dessus de 45°C , il adopte un comportement de type gel ($G' > G''$) dans une large gamme de fréquences. Le phénomène de thermoassociation est donc bien mis en évidence.

Influence du sel

L'influence de la force ionique du milieu sur le phénomène de thermoassociation a par ailleurs été évaluée. Les courbes de la figure 7 représentent les variations des modules G' et G'' en fonction de la température pour des solutions de chitosane-POEP contenant différentes concentrations en sel (CH_3COONa). Il apparaît que la concentration optimale en sel

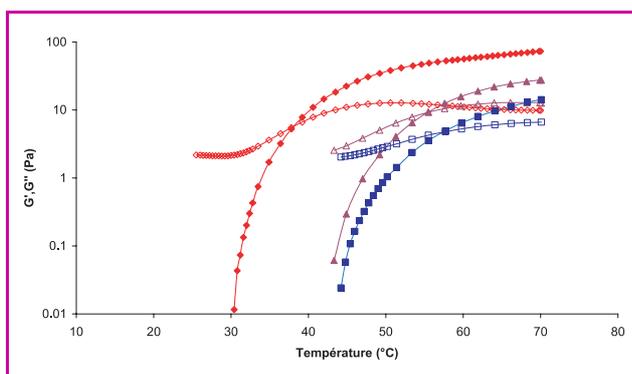


Figure 7 - Évolution des modules G' (symboles pleins) et G'' (symboles vides) en fonction de la température dans CH_3COOH 0,3 M contenant CH_3COONa .
 ◆ 0,1 M, ▲ 0,05 M, ■ 0,025 M.

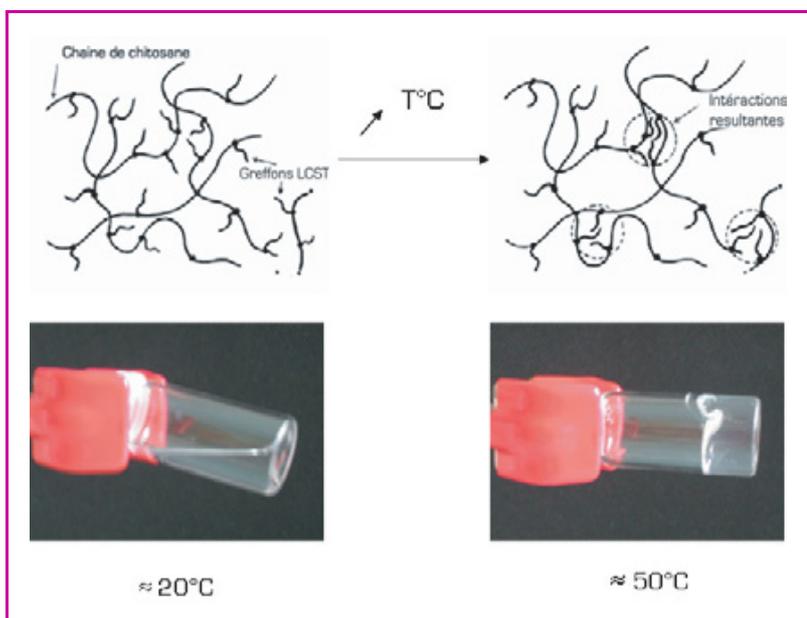


Figure 8 - Illustration du phénomène d'association induit par la température.

est de 0,1 M. On observe qu'en dessous de cette concentration, les valeurs des modules G' et G'' sont plus faibles et que la température correspondant au point de croisement des deux courbes ($G' = G''$), assimilable en première hypothèse à la transition sol-gel, est plus élevée. La courbe à 0,2 M n'a pas été représentée ici, mais elle a une allure similaire à celles obtenues à des concentrations en sel inférieures ou égales à 0,05 M. En effet, les répulsions électrostatiques jouent un rôle important en s'opposant aux interactions attractives hydrophobes. La suppression de ces répulsions par une augmentation importante de la force ionique favorise l'agrégation des chaînes polymères, entraînant une diminution de l'élasticité globale du système. En fait, les propriétés de ces gels résultent d'un équilibre entre les répulsions électrostatiques et les attractions hydrophobes.

Conclusions et perspectives

Cette première étude a permis la mise au point de la synthèse de systèmes thermoassociatifs dérivés du chitosane ainsi que leur étude physico-chimique visant à mettre en évidence le phénomène de thermoassociation. La figure 8

illustre le phénomène d'association induit par le chauffage, qui conduit à un gel.

Les études physico-chimiques seront dans la suite complétées et approfondies par l'utilisation d'autres techniques telles que la calorimétrie différentielle (DSC), la spectroscopie RMN ^{13}C , l'étude de propriétés interfaciales...

Comme évoqué en introduction, ces systèmes thermo-sensibles ont un avenir prometteur en tant que systèmes injectables. Les méthodes présentées dans cette étude pourraient être appliquées à d'autres polysaccharides linéaires. Des systèmes analogues ont été proposés pour l'utilisation en tant que matrice en ingénierie tissulaire [12] pour, par exemple, la culture et le développement de cellules.

Références

- [1] Zhang M., Bhattarai N., Ramay H.S., Gunn J., Matsen F.A., PEG-grafted chitosan as an injectable thermosensitive hydrogel for sustained protein release, *J. Controlled Release*, **2005**, *103*, p. 609.
- [2] Zhang M., Bhattarai N., Matsen F.A., PEG-grafted chitosan as an injectable thermoreversible hydrogel, *Macromol. Biosci.*, **2005**, *5*, p. 107.
- [3] Drury J.L., Mooney D.J., Hydrogels for tissue engineering: scaffold design variables and applications, *Biomaterials*, **2003**, *24*, p. 4337.
- [4] Gutowska A., Jeong B., Jasionowski M., Injectable gels for tissue engineering, *The Anatomical Record*, **2001**, *263*, p. 342.
- [5] Stile R.A., Healy K.E., Thermo-responsive peptide-modified hydrogels for tissue regeneration, *Biomacromolecules*, **2001**, *2*, p. 185.
- [6] Cohn D., Sosnik A., Garty S., Smart hydrogels for in situ generated implants, *Biomacromolecules*, **2005**, *6*, p. 1168.
- [7] Healy K.E., Stile R.A., Burghardt W.R., Synthesis and characterization of injectable poly(*N*-isopropylacrylamide)-Based hydrogels that support tissue formation in vitro, *Macromolecules*, **1999**, *32*, p. 7370.
- [8] Domard A., Domard M., *Polymeric Biomaterials*, 2nd ed., S. Dimitriu (ed), Marcel Dekker, New York, **2002**, p. 187.
- [9] Rinaudo M., Auzély-Velty R., Vallin C., Mullagaliev I., Specific interactions in modified chitosan system, *Biomacromolecules*, **2005**, *6*, p. 2396.
- [10] Herve M., *Polymères greffés thermoassociatifs : de l'organisation en solution aux propriétés macroscopiques*, thèse de doctorat, Université de Paris 6, **2002**.
- [11] Kim S., Healy K.E., Synthesis and characterization of injectable poly(*N*-isopropylacrylamide-co-acrylic acid) hydrogels with proteolytically degradable cross-links, *Biomacromolecules*, **2003**, *4*, p. 1214.
- [12] Schmaljohann D., Oswald J., Jorgensen B., Nitschke M., Beyerlein D., Werner C., Thermo-responsive PNIPAAm-g-PEG films for controlled cell detachment, *Biomacromolecules*, **2003**, *4*, p.1733.



C. Creuzet

Caroline Creuzet

est doctorante en chimie et physico-chimie des polymères au Centre de recherches sur les macromolécules végétales (CERMAV) à Grenoble*.



R. Auzély-Velty

Rachel Auzély-Velty est professeur (chimie et physico-chimie des polysaccharides) et Marguerite Rinaudo est professeur émérite (physico-chimie des polysaccharides) à l'Université Joseph Fourier de Grenoble*.



M. Rinaudo

* Centre de recherches sur les macromolécules végétales (CERMAV), 601 rue de la Chimie, BP 53, 38041 Grenoble Cedex 9.
 Courriels : caroline.creuzet@cermav.cnrs.fr
 Rachel.azely@cermav.cnrs.fr
 marguerite.rinaudo@cermav.cnrs.fr