



Université des Sciences et Technologies de Lille
Ecole Doctorale Sciences de la Matière, du Rayonnement et de l'Environnement

Thèse

Pour obtenir le grade de

Docteur de l'Université des Sciences et Technologies de Lille

Molécules et Matière Condensée

Présentée et soutenue par

Jatupol JUNTHIP

Le 09 décembre 2015

REVETEMENTS MULTICOUCHES DE POLYELECTROLYTES DE CYCLODEXTRINE SUR TEXTILE POUR LA LIBERATION DE PRINCIPES ACTIFS

Membres du Jury :

Prof. Catherine AMIEL	Université Paris 12	Rapporteur
Prof. Karine GLINEL	Université catholique de Louvain	Rapporteur
Prof. David LANDY	Université du Littoral Côte d'Opale	Examineur
Dr. Anne HEBRAUD	Université de Strasbourg	Examineur
Dr. Nicolas BLANCHEMAIN	Université de Lille 2	Membre invité
Prof. Bernard MARTEL	Université de Lille 1	Directeur
Dr. Nicolas TABARY	Université de Lille 1	Co-encadrant

« Tout vient à point à qui sait attendre »

François Rabelais

คุณกลัวล้มเหลว !!! เลยไม่กล้าที่จะเริ่มต้น
จงอย่าเพิ่งยอมแพ้เสียตั้งแต่ไม่ได้ลงมือทำ

**A ma mère, mon père, ma grande mère,
mes frères et mes professeurs**

แต่คุณแม่ คุณพ่อและคุณย่า ซึ่งคอยเลี้ยงดูให้เติบโตทั้งกายและใจ
แต่พี่ชายที่คอยเติบโตเป็นเพื่อนกัน
แต่คุณครู ที่คอยประสิทธิ์ประสาทวิชาตั้งแต่เล็กจนโต
แทนคำขอบคุณ....จาก จตุพล จันทรทิพย์

Remerciements

Je remercie le gouvernement thaïlandais attribué au Ministère de la Science et de la Technologie pour le financement pendant mes études au niveau de Master et Doctorat en France.

Je tiens tout d'abord à remercier le **Professeur Bernard Martel** (mon directeur de thèse) pour m'avoir accueilli dans son laboratoire, m'avoir fait confiance dans ce projet de recherche, sa disponibilité, ses précieux conseils, ses qualités de travail et ses qualités humaines. Sa direction m'aura guidé sur le plan technique mais aussi humain.

J'aimerais remercier plus particulièrement le **Docteur Nicolas Tabary** (mon co-encadrant) pour sa présence, ses conseils de grand valeur, sa compétence, son écoute, son amabilité et sa sympathie.

Je suis très reconnaissant envers les membres du jury qui me font l'honneur de juger mon travail de recherche: **Professeur Catherine Amiel** (Université Paris 12) ainsi que **Professeur Karine Glinel** (Université catholique de Louvain) d'avoir accepté d'être rapporteurs de ma thèse, **Professeur David Landy** (Université du Littoral Côte d'Opale), **Docteur Anne Hebraud** (Université de Strasbourg) et **Docteur Nicolas Blanchemain** (Université de Lille 2) pour leur participation à mon jury de thèse.

Je voudrais remercier tous les collaborateurs dans ce projet :

- **Docteur Laurent Leclercq** de l'Université de Montpellier 1 au sein de l'équipe IBMM (UMR CNRS 5247) pour les expériences d'OWLS ainsi que la GPC aqueuse, mais aussi pour sa gentillesse, sa disponibilité et ses connaissances.

- **Professeur Alain Hédoux, Professeur Yannick Guinet et M. Laurent Paccou** de l'Université Lille 1 au sein de l'équipe UMET (UMR CNRS 8207) pour les expériences de spectroscopie Raman, leur disponibilité et leur discussion scientifique.

- **Docteur Nicolas Blanchemain, Docteur Feng Chai, M. Mickael Maton** de l'Université Lille 2 au sein de l'équipe INSERM U1008 (GRB) ainsi que **Docteur Christel Neut** au sein de l'équipe INSERM U995 pour les expériences biologiques, leur disponibilité, leur conseil, leur conversation scientifique.

- **M. Marc Bria** de l'Université Lille 1 au centre commun de mesures RMN pour la formation et l'utilisation de RMN ainsi que les échanges scientifiques.

- **Professeur David Landy et Mlle. Eleonore Bertaut** de l'Université du Littoral Côte d'Opale au sein de l'équipe UCEIV (EA 4492) pour les manipulations de l'ITC, leur disponibilité et leur sympathie.

Je salue chaleureusement tous les membres de l'équipe de l'UMET (ISP) : **Professeur Maryse Bacquet** (responsable du Master 2 ISP), **Docteur Stéphanie Degoutin et Docteur Frédéric Cazaux** qui m'ont enseigné des méthodes de travail, divers connaissances scientifiques et également pour leur sympathie. Merci aussi à **M. Jean-Noel Staelens** pour sa participation dans la synthèse polymère et le **Docteur Ludovic Janus** pour sa participation au MEB. Merci à tous les thésards, les stagiaires et les permanents du laboratoire UMET et GRB qui ont contribué à la bonne ambiance, à **Adeline** (co-créateur de notre LbL), **Cécile et Safa** (collègues de bureau), **Claudia et Khaled** (démarrage en thèse en même temps que moi), **Camille, William, Maria, Jacobo, George, Alexandra, Guillaume, François, Delphine, Aurélie, Nérinel, Fanny, Benoit, Syrine...**

Je n'oublie pas... le bureau de l'AGR (école centrale de Lille) pour la meilleure résidence sur le campus, les membres de l'AS volley Lille 1 pour la bonne ambiance de sport, le bureau du conseiller de l'éducation (ambassade de Thaïlande) pour orientation et organisation des études en France ainsi que tous les personnes que nos chemins se sont croisés.

Finalement, un grand merci à ma famille (คุณแม่ผู้ย คุณพ่อต๋ย คุณย่าดี พี่ใจ พี่เหนง) pour le soutien important.

Table des matières

REMERCIEMENTS	1	
TABLE DES MATIERES	3	
ABREVIATIONS	7	
INTRODUCTION GENERALE	11	
CHAPITRE I : BIBLIOGRAPHIE	13	
I	TEXTILES MEDICAUX ET MODIFICATION DE SURFACE	15
I.1	Textiles médicaux	15
I.2	Textiles utilisés en système de libération de principes actifs	17
I.2.1	Fonctionnalisations classiques	17
I.2.2	Greffage de molécules cages sur le textile	20
I.2.3	Assemblages multicouches sur le textile.....	23
I.2.4	Assemblages multicouches à base de cyclodextrine	24
II	POLYELECTROLYTE DE CYCLODEXTRINES	26
II.1	Caractéristiques des cyclodextrines	26
II.2	Formation des complexes d'inclusion	30
II.3	Polymères de cyclodextrines	31
II.3.1	Polymères linéaires	32
II.3.2	Polyrotaxanes à base de cyclodextrine.....	33
II.3.3	Polymères réticulés	34
II.4	Application de CD et ses polymères	40
III	SYSTEMES MULTICOUCHES	41
III.1	Assemblage multicouches	41
III.2	Procédé de construction multicouches	43
III.2.1	Trempage ou « dip-coating »	44
III.2.2	Enduction centrifuge ou « spin-coating »	44
III.2.3	Pulvérisation ou « spray-coating »	44
III.2.4	Electromagnétique	45
III.2.5	Fluidique	45
III.3	Interactions mises en jeu dans un assemblage multicouche	47
III.3.1	Assemblage par interactions électrostatiques	47
III.3.2	Assemblage par liaisons hydrogènes	48
III.3.3	Assemblage par interactions hydrophobes	49
III.3.4	Assemblage par interactions de transfert de charge	50
III.3.5	Assemblage par liaisons de coordinations	51
III.3.6	Assemblage par interactions de type supramoléculaire	52
III.3.7	Assemblage par liaisons covalentes	53
III.3.8	Assemblage par interactions du type stéréocomplexation	55
III.4	Paramètres réactionnels dans l'assemblage multicouche	56
III.4.1	Régime de croissance des films multicouches	56
III.4.2	Influence de la température.....	59
III.4.3	Influence de la nature du contre-ion.....	59
III.4.4	Influence de la force ionique et du pH.....	60
III.4.5	Influence des caractéristiques des polyélectrolytes (masse moléculaire, concentration et architecture)	62
III.5	Stabilité des multicouches	65
III.6	Applications biomédicales des multicouches	68

III.6.1	Comportement des films multicouches en milieu biologique	68
III.6.2	Application sur biomatériaux.....	69
III.6.3	Insertion de molécules actives dans les films multicouches	71
IV	SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE ET STRATEGIE DE TRAVAIL	76

CHAPITRE II : MATERIELS & METHODES..... 79

I)	SYNTHESE ET CARACTERISATION DES POLYMERES DE CD CATIONIQUES & ANIONIQUES.....	81
I.1	Le polyélectrolyte cationique : polyEPG-CD.....	81
I.1.1	Voies de synthèse.....	81
I.1.2	Caractérisation des polyEPG-CD.....	83
I.2	Le polyélectrolyte anionique : polyCTR-CD.....	86
I.2.1	Procédure de synthèse.....	86
I.2.2	Caractérisation de polyCTR-CD.....	89
II	LE SUPPORT TEXTILE PET NON-TISSE.....	89
II.1	Greffage de polyCTR-CD sur le textile PET par thermofixation	90
II.2	Dosage des groupements carboxyliques de PET thermofixé	91
III	CONSTRUCTION DES ASSEMBLAGES MULTICOUCHES	92
III.1	Construction des assemblages multicouches par OWLS	92
III.2	Construction des assemblages multicouches sur textile	95
III.2.1	Construction sans principes actifs (voie A)	95
III.2.2	Construction avec principes actifs (voie B et C).....	96
III.3	Stabilité des assemblages multicouches	98
IV	ETUDE DE DEGRADATION DES SYSTEMES LBL	98
V	ETUDE DE LIBERATION DES PRINCIPES ACTIFS	98
V.1	Mode statique (en batch)	98
V.2	Mode dynamique	99
VI	ETUDE DE COMPLEXATION DE PRINCIPES ACTIFS AVEC LES CYCLODEXTRINES	100
VI.1	Résonance magnétique nucléaire (RMN).....	100
VI.2	Titration calorimétrique isotherme (ITC).....	100
VI.3	Etude de solubilité des principes actifs.....	102
VI.4	Analyse enthalpique différentielle (DSC)	103
VII	CARACTERISATION DES MULTICOUCHES SUR LE TEXTILE	103
VII.1	Microscopie électronique à balayage (MEB)	103
VII.2	Analyse thermogravimétrique (ATG)	103
VII.3	Spectroscopie Raman.....	103
VII.4	Analyse de vapeur dynamique de sorption d'eau (DVS)	104
VIII	ETUDE DE BIOLOGIE <i>IN VITRO</i>	104
VIII.1.1	Cytocompatibilité des polymères et des assemblages multicouches par méthode d'extraction	104
VIII.1.2	Evaluation microbiologique par la méthode du <i>kill-time</i>	106
VIII.1.3	Evaluation microbiologique par la méthode de Kirby Bauer	107
VIII.1.4	Concentration minimale inhibitrice (CMI)	108

CHAPITRE III : RESULTATS & DISCUSSION..... 109

I	SYNTHESE ET CARACTERISATION DU POLYEPG-CD	111
I.1	Analyse générale du polyEPG-CD.....	111
I.2	Influence des paramètres réactionnels	112
I.2.1	Détermination de temps de gel.....	112
I.2.2	Influence du temps de réaction et de la température de réticulation	113
I.2.3	Influence du rapport molaire initial de GTMAC	115
I.3	Caractérisation des polyEPG-CD	117
I.3.1	Résonance magnétique nucléaire (RMN)	117
I.3.2	Analyse thermogravimétrique (ATG).....	120
I.3.3	Spectroscopie Infrarouge (IR).....	121
I.3.4	Spectroscopie Raman.....	122
I.4	Conclusion.....	123
II	SYNTHESE ET CARACTERISATION DU POLYCTR-CD	125
II.1	Caractérisation du polyCTR-CD	125
II.1.1	Résonance magnétique nucléaire (RMN)	125
II.1.2	Analyse thermogravimétrique (ATG).....	127
II.1.3	Spectroscopie Infrarouge	128
II.1.4	Spectroscopie Raman.....	129
II.2	Conclusion.....	130
III	CONSTRUCTION DES MULTICOUCHES PAR OWLS.....	130
III.1	Construction des multicouches sans principes actifs.....	130
III.2	Construction des multicouches avec TBBA	133
III.2.1	Etude préliminaire du complexe TBBA/polyCD	133
III.2.2	Construction LbL avec le complexe TBBA/polyCD	136
III.3	Conclusion.....	137
IV	CONSTRUCTION DES MULTICOUCHES SUR TEXTILE	138
IV.1	Elaboration de la première couche thermofixée	138
IV.2	Construction des multicouches sans principes actifs.....	138
IV.2.1	Dépôt de la première couche de polyEPG-CD auto-assemblée sur PET20	138
IV.2.2	Influence de la composition du milieu de la construction des multicouches	139
IV.2.3	Construction du système R10 sur PET20.....	141
IV.2.4	Construction du système R1 sur PET20.....	142
IV.3	Construction des multicouches chargées en principes actifs modèles.....	143
IV.3.1	Complexes TBBA sur PET6 et PET20	143
IV.3.2	Complexes BN ou BM sur PET20.....	145
IV.4	Conclusion.....	146
V	ETUDE DE STABILITE DES ASSEMBLAGES MULTICOUCHES.....	147
V.1	Conclusion.....	151
VI	ETUDE DE LIBERATION DE TBBA.....	152
VI.1	Libération en mode statique (TBBA chargé par voie simultanée)	152
VI.2	Libération en mode statique (TBBA chargé par voie à posteriori).....	154
VI.3	Libération en mode dynamique (TBBA chargé par voie simultanée)	156
VI.4	Conclusion.....	156
VII	CARACTERISATION DES ASSEMBLAGES MULTICOUCHES	157
VII.1	MEB (Microscopie électronique à balayage)	157
VII.2	Analyses thermogravimétriques des textiles	158
VII.3	Cartographie des assemblages par spectroscopie RAMAN.....	159
VII.4	Analyse de vapeur dynamique de sorption d'eau (DVS)	161
VIII	ETUDE DE BIOLOGIE <i>IN VITRO</i>	162

VIII.1	Cytocompatibilité des polymères cationiques (polyEPG-CD) par méthode d'extraction	162
VIII.2	Cytocompatibilité des assemblages multicouches par méthode d'extraction	163
VIII.3	Conclusion.....	164
CHAPITRE IV : APPLICATION ANTIBACTERIENNE DES SYSTEMES LBL.....		165
I	PROPRIETES ANTIBACTERIENNES INTRINSEQUES DU LBL.....	167
II	PROPRIETES ANTIBACTERIENNES DU LBL CHARGE DE TCS	168
II.1	Etude du complexe triclosane/polyCD.....	168
II.1.1	Etude de solubilité de phase du TCS	168
II.1.2	Caractérisation du complexe de TCS/polyCD par DSC	170
II.1.3	Caractérisation du complexe de TCS/polyCD par ¹ H RMN (1D et 2D).....	171
II.2	Libération de TCS en mode dynamique.....	173
II.3	Etude de microbiologie (Test de Kirby-Bauer).....	173
CONCLUSION ET DISCUSSION		176
ANNEXES		180
REFERENCES		185
LISTE DES TRAVAUX ET DES COMMUNICATIONS		207

Abréviations

Produits, réactifs & polymères

ADN	Acide désoxyribonucléique
βCD	β-cyclodextrine
BM	Bleu de méthylène
BN	Béta naphthol
BP	Benzophénone
BSA	Albumine de sérum bovin
CC	Chlorure de choline
CD	Cyclodextrine
CHT	Chitosane
COL	Collagène
CSA	Chondroïtine sulfate A
CTR	Acide citrique
DIMEB	Heptakis(2,6-di-O-méthyl)-β-cyclodextrin
EP	Epichlorohydrine
GA	Glucoamylase
GOD	Glucose oxydase
GTMAC	Chlorure de glycidyltriméthylammonium
HA	Acide hyaluronique
HEP	Héparine
HEPES	Acide 4-(2-hydroxyéthyl)-1-pipérazine éthane sulfonique
HP-βCD	Hydroxypropyl- β -cyclodextrin
HUVEC	Cellules endothéliales ombilicales humaines
L132	Cellule épithéliale de poumon L132
MEM	Milieu de culture
MHA	Gélose Müller-Hinton-Agar
NaCl	Chlorure de sodium
NaOH	Soude
PA	Polyamide
PAA	Poly (acide acrylique)
PAH	Poly (allyamine chlorhydrate)
PBS	Tampon phosphate (pH = 7,4 à 25 °C)
PCL	Polycaprolactone
PDADMAC	Poly(diallyldiméthylammonium chloride)
PEI	Poly (éthylèneimine)
PEO ou PEG	Poly(oxyde d'éthylène)

PES-Na	Polyethylene sulfonate de sodium
PET	Polyéthylène téréphthalate
PET6	PET thermofixé avec 6%wt de polyCTR-CD
PET20	PET thermofixé avec 20%wt de polyCTR-CD
PHA	Polyhydroxyalkanoates
PHB	Poly(β -hydroxybutyrate)
PLA	Poly(lactic acid)
PLGA	Poly (acide L-glutamique
PLL	Poly (L-lysine)
PMA	Polyacrylate de méthyle
PMAA	Poly(methacrylic acid)
PNIPAM	Poly(N-isopropylacrylamide)
PolyCD	Polymère de cyclodextrine
PolyCTR-CD	Polymère anionique de β -cyclodextrine
PolyEP-CD	Polymère neutre de β -cyclodextrine
PolyEPG-CD	Polymère cationique de β -cyclodextrine
PolyEPG-CD-1	Polymère cationique de β -cyclodextrine (rapport molaire GTMAC/ β CD =1)
PolyEPG-CD-5	Polymère cationique de β -cyclodextrine (rapport molaire GTMAC/ β CD =5)
PolyEPG-CD-10	Polymère cationique de β -cyclodextrine (rapport molaire GTMAC/ β CD =10)
polyEPG-CD-15	Polymère cationique de β -cyclodextrine (rapport molaire GTMAC/ β CD =15)
PP	Polypropylène
PSS	Poly(styrène sulfonate de sodium)
PVC	Polychlorure de vinyle
PVDF	Polyvinylidene difluoride
PVS	Poly (sulfate de vinyle)
RAMEB	Randomly methylated- β -cyclodextrin
RC	Milieu Ringer cystéiné
SBECD	Sulfobutylether cyclodextrin
TBBA	Acide tert-butylbenzoïque
TCS	Triclosane

Appareils & Techniques

APT	Attached-Proton-Test
ATG	Analyse ThermoGravimétrique
ATR	Réflexion totale atténuée
CCD	Charge Coupled Device
DSC	Analyse enthalpique différentielle
IR	Infra-Rouge

ITC	Titration calorimétrique isotherme
LB	Langmuir-Blodgett
LbL	Layer-by-Layer
MEB	Microscopie Electronique à Balayage
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
OWLS	Optical Waveguide Lightmode Spectroscopy (Spectroscopie optique par guide d'onde)
QCM	Microbalance de quartz
RMN	Résonnance Magnétique Nucléaire
SAMs	Self-Assembled Monolayers
SEC	Chromatographie d'exclusion stérique
TROESY	Transverse Rotating-frame Overhauser Enhancement Spectroscopy
UV-vis ou UV	Spectroscopie Ultra-Violet visible, Ultra-Violet

Abréviations de langages

AGU	Unité anhydroglucose
CFU	Unité de formation de colonie
DDS	Système de délivrance de principes actifs
DS	Degré de substitution
Ip	Indice de polymolécularité
MS	Substitution molaire
Mw	Masse moléculaire en poids
N	Normalité
PSM	Poste de Sécurité Microbiologie
Q	Densité de charges
R1	Système assemblage multicouche constitué polyEPG-CD-1 et polyCTR-CD
R1-TBBA	Système assemblage multicouche constitué polyEPG-CD-1 et polyCTR-CD contenant le TBBA
R10	Système assemblage multicouche constitué polyEPG-CD-10 et polyCTR-CD
R10-TBBA	Système assemblage multicouche constitué polyEPG-CD-10 et polyCTR-CD contenant le TBBA
R10-TCS	Système assemblage multicouche constitué polyEPG-CD-10 et polyCTR-CD contenant le TCS

Introduction générale

L'utilisation de textiles d'origine naturelle ou synthétique est très vaste dans de nombreux domaines d'applications tels que les biomatériaux, les pansements et bien d'autres dispositifs médicaux destinés à la délivrance ciblée ou retardée de principes actifs. Ces matériaux implantables ou extracorporels sont employés pour réparer, remplacer ou renforcer des organes déficients. Cependant malgré leur biocompatibilité, des effets secondaires plus ou moins importants chez les patients pendant ou après l'opération peuvent se déclarer, tels que des infections, des allergies, des inflammations pouvant être source de mortalité dans le pire des cas. En effet, la mise en contact de ces matériaux avec les tissus vivants induit automatiquement une réponse immunitaire.

La modification de surface des dispositifs de biomatériaux est indispensable pour améliorer les propriétés de surface et réduire le risque d'infection en contrôlant la prolifération cellulaire et l'adhésion bactérienne ce qui permet une bonne intégration dans le corps. Cette modification de surface conventionnelle est déjà réalisée en utilisant des techniques comme le traitement plasma, le flammage, l'oxydation, la polymérisation de surface ou le greffage d'un système réservoir qui permet d'activer la surface en conservant ses propriétés mécaniques et deuxièmement d'incorporer suffisamment de principes actifs afin de les libérer de manière contrôlée dans l'endroit ciblé.

Récemment, le revêtement multicouche de polyélectrolytes est devenu une façon originale de fonctionnaliser des surfaces en immobilisant les principes actifs ou des molécules actives dans les films multicouches selon la technique Layer-by-layer (LbL : couche par couche), consistant en la superposition successive des couches de polyélectrolytes de charges opposées sur un substrat grâce aux interactions électrostatiques. Une large gamme de polyélectrolytes synthétiques et naturels ont déjà été utilisés pour la construction des assemblages multicouches sur divers substrats, y compris des biomatériaux et des systèmes de délivrance de principes actifs. Dans ce type de systèmes, la cyclodextrine (CD) ou un polymère de cyclodextrine peuvent être particulièrement utilisés pour intégrer les principes actifs. En effet, la molécule hôte de CD peut former un complexe d'inclusion réversible avec la molécule invitée ce qui permet d'obtenir un effet « réservoir » et une libération prolongée.

Certains polymères de CD incluant des groupements anioniques ou cationiques dans leurs structures ont été développés et ont montrés des propriétés de capacité de complexation de principes actifs grâce à l'action coopérative entre les cavités de CD et les groupements ioniques environnants. Dans notre groupe de recherche sous la direction de Pr. Bernard MARTEL, a été mis au point la méthode de synthèse de polymère anionique de CD (polyCTR-CD) issue de la réaction de réticulation entre l'acide citrique (CTR) et différents types de CD. Le greffage de ce polymère sur la surface de certains biomatériaux choisis (prothèses vasculaires, membranes parodontales, substituts osseux poreux d'hydroxyapatite et implants viscéraux) a été largement utilisé pour construire des systèmes de libération de principes actifs. Récemment, l'auto-assemblage de ce polymère avec le chitosane (polysaccharide naturel cationique) sur textile PET non-tissé a été mis au point en appliquant le principe LbL et appliqué à la libération prolongée de principes actifs. Cette étude a montré les limites de ce système vis-à-vis de la libération de l'acide tert-butylbenzoïque (TBBA) à cause d'une faible affinité du polyCTR-CD avec la molécule anionique de TBBA, contrairement au bleu de méthylène (BM, molécule cationique). Compte tenu de ces résultats, il apparaît que la versatilité d'un tel système multicouche devrait être améliorée par l'utilisation de deux polymères de CD de charges opposées, permettant ainsi la complexation de principes actifs anioniques, cationiques et bien sûr neutres.

Ce travail de thèse consiste à synthétiser et caractériser un polymère cationique de CD dans un premier temps. Puis, la préparation du support textile avec le polyCTR-CD avant d'appliquer le principe du LbL, l'étude de la fonctionnalisation du LbL sur textile et la modélisation du LbL par OWLS (Spectroscopie optique par guide d'onde) sont aussi représentés. Ensuite, le chargement du LbL par les molécules modèles ainsi que l'étude de complexation entre ces molécules avec les polymères de CD sont également présentés. Puis, les différents paramètres sont étudiés pour contrôler la libération, la dégradation du LbL ainsi que la cytocompatibilité des polymères de CD et du LbL. Enfin, l'application en tant que textile antibactérien est démontrée.

Le plan de ce manuscrit concerne l'étude bibliographique en premier chapitre permettant de contextualiser le sujet de l'étude, les matériels ainsi que les méthodes en second chapitre, les résultats obtenus en troisième chapitre et l'application antibactérienne en quatrième chapitre avant la conclusion de ce travail.

Chapitre I : Bibliographie

I Textiles médicaux et modification de surface

I.1 Textiles médicaux

Un textile médical doit respecter tout ou partie d'un ensemble de propriétés en fonction des applications visées tel qu'un caractère non allergène, non irritant, il doit être biocompatible, être bactériostatique ou bactéricide, être biostable ou biorésorbable, promouvoir ou inhiber la prolifération cellulaire, présenter une bonne flexibilité, des propriétés barrières ou une bonne perméabilité, une bonne capacité d'absorption d'exsudats etc ... Le soin médical et le secteur de l'hygiène constituent une partie importante et croissante de l'industrie textile de par l'amélioration constante et les innovations qui se développent dans la technologie du textile et des procédures médicales.

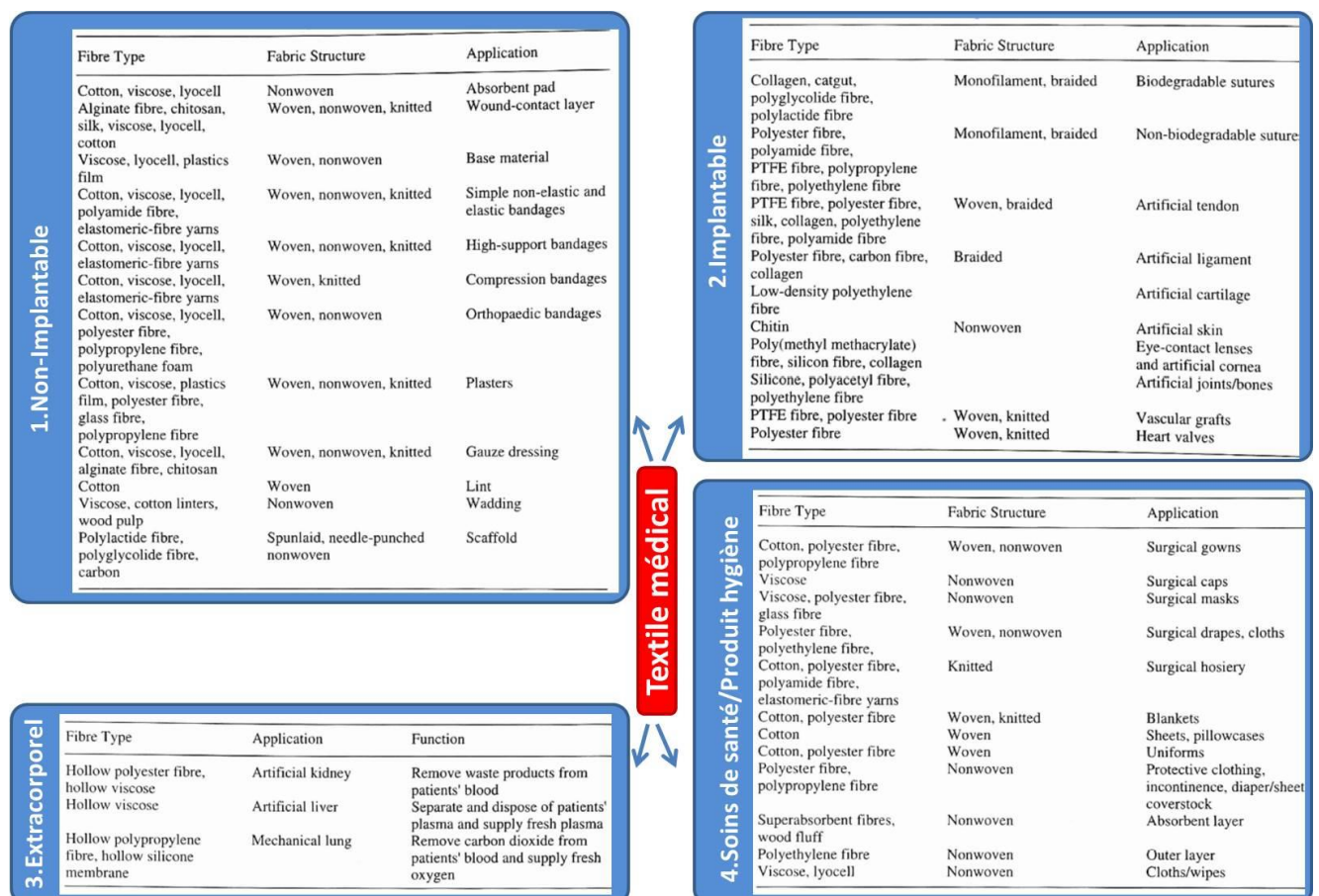


Figure 1 : Récapitulatif des différents types de textiles médicaux avec leurs usages techniques et leurs matériaux d'origine (Rajendran and Anand, 2002, Rigby et al., 1997).

Les textiles médicaux sont obtenus à partir de polymères naturels (soie, cellulose, etc...) ou synthétiques (PP, PET, PTFE, PVC etc...) sous différentes structures (tissé, non-

tissé, tricoté ou tressé), en figure 1. Ils sont classés en fonctions de leurs usages et divisés en quatre catégories : non-implantable, implantable, extracorporel et soins de santé/produit d'hygiène. Les applications de chaque catégorie sont présentées dans la figure 1 et quelques exemples sont illustrés dans la figure 2.

Les dispositifs médicaux non-implantables sont utilisés pour des applications externes et sont souvent destinés à être en contact avec la peau. Ils sont employés en tant que revêtement, absorbant, supports de protection pour protéger les parties blessées d'un malade. Ils se présentent sous différentes formes comme le pansement et le bandage.

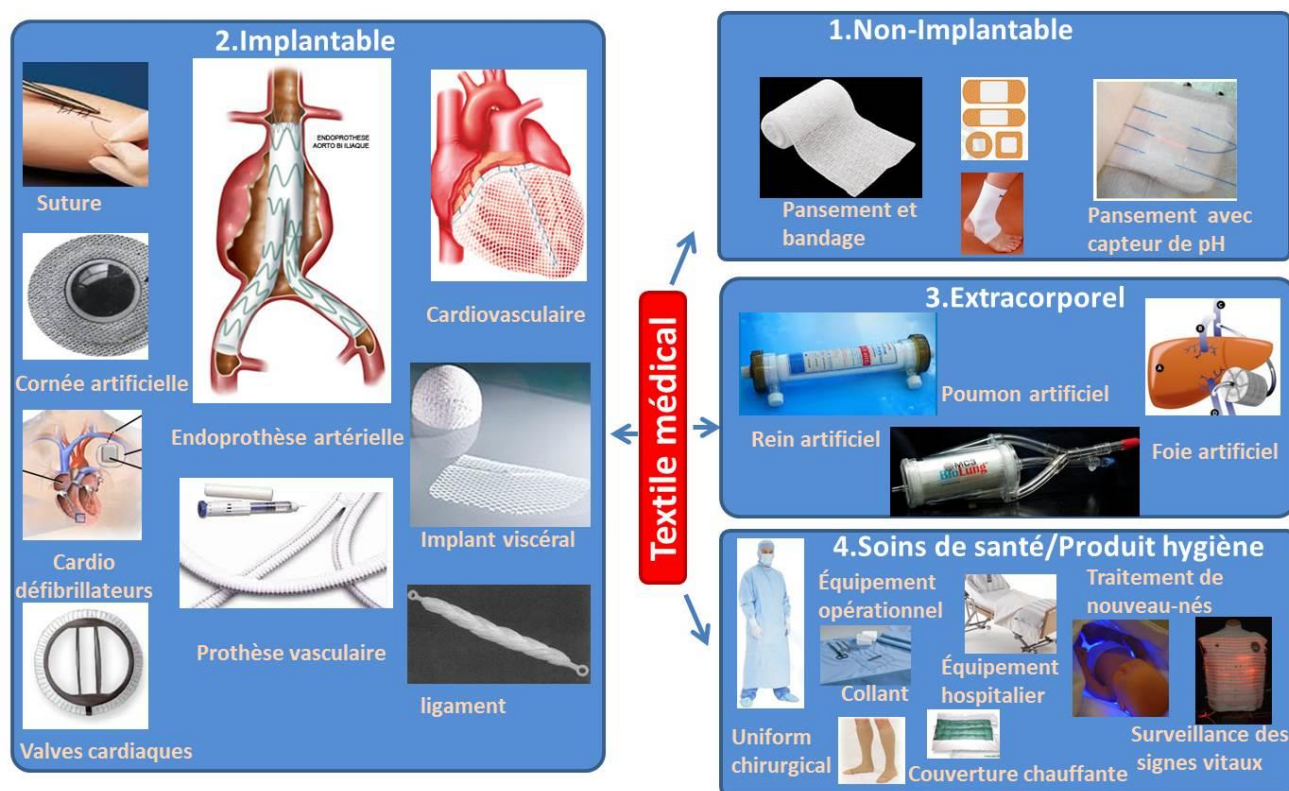


Figure 2 : Exemples de dispositifs médicaux (Annapoorani, 2013, Mečnika et al., 2014).

Les dispositifs médicaux implantables sont utilisés lors d'une intervention chirurgicale. Ils servent à la fermeture des plaies (sutures) ou sont employés lors d'une chirurgie de remplacement (greffons vasculaires, ligaments artificiels, lentilles de contact, implant viscéral etc.). La biocompatibilité est d'une importance primordiale car le matériau textile doit être accepté par le corps, et quatre facteurs clés servent à déterminer comment le corps réagira à l'implant. (La biocompatibilité est définie comme la capacité à provoquer une réponse appropriée de l'organisme hôte dans une application spécifique (Conférence Européenne sur les Biomatériaux, Chester, UK, 1986). Ceux-ci sont les suivants (Rigby et al., 1997):

- La porosité du matériau, qui détermine la vitesse au cours de laquelle le tissu humain va grandir et coloniser l'implant.
- La forme des fibres de l'implant : les petites fibres circulaires sont mieux colonisées par les tissus humains que les fibres plus grandes avec des sections transversales irrégulières.
- La non toxicité de l'implant : des substances toxiques y compris des contaminants de surface (lubrifiants et agents d'encollage) et produits de dégradation des matériaux biorésorbable ne doivent pas être libérées par les fibres.
- Les propriétés de la matière première influençant le succès de l'implantation notamment son caractère biodégradable

Les dispositifs extracorporels sont utilisés pour la purification du sang en tant que filtres. On parle ici de rein artificiel, de foie artificiel et de poumon artificiel.

Les produits de soins de santé constituent un secteur important dans le domaine de la médecine et de la chirurgie. La gamme de produits disponibles est vaste, mais en général ils sont utilisés soit dans la salle d'opération ou dans le service hospitalier pour l'hygiène, les soins et la sécurité du personnel et des patients par exemple draps hospitaliers, masque de protection et vêtement chirurgical.

I.2 Textiles utilisés en système de libération de principes actifs

I.2.1 Fonctionnalisations classiques

Le développement de libération de principes actifs implique la combinaison de la science des polymères, de la science pharmaceutique, de la biochimie, la biologie moléculaire, de l'ingénierie tissulaire, de la microbiologie et d'autres technologies avancées afin de développer des nouveaux matériaux de performance. Les textiles ont un certain nombre d'avantages concrets sur les matériaux et les technologies correspondantes dans le domaine pharmaceutique, mais ils peuvent aussi offrir de nouvelles méthodes et des approches avantageuses pour la délivrance ciblée et contrôlée de principes actifs. Les fibres chargées de principes actifs comprennent la facilité de production, la grande surface spécifique pour la libération de principes actifs et un large éventail de structures et de formes possibles. Ils apportent une fonction supplémentaire en ajoutant des principes actifs pour aider la cicatrisation, la réduction de la colonisation bactérienne ou l'adhésion cellulaire etc.

La voie transdermique est un choix possible afin de développer des systèmes de libération prolongée/contrôlée de principes actifs. De tels systèmes montrent de grandes promesses mais nécessitent souvent des procédures de formulation multi-étapes. Le traitement de surface textile est donc primordial pour incorporer des principes actifs dans les dispositifs médicaux et améliorer leur propriété de libération. Nous développerons ici plusieurs techniques existantes de modification de surface de textile, réparties en 8 grandes catégories.

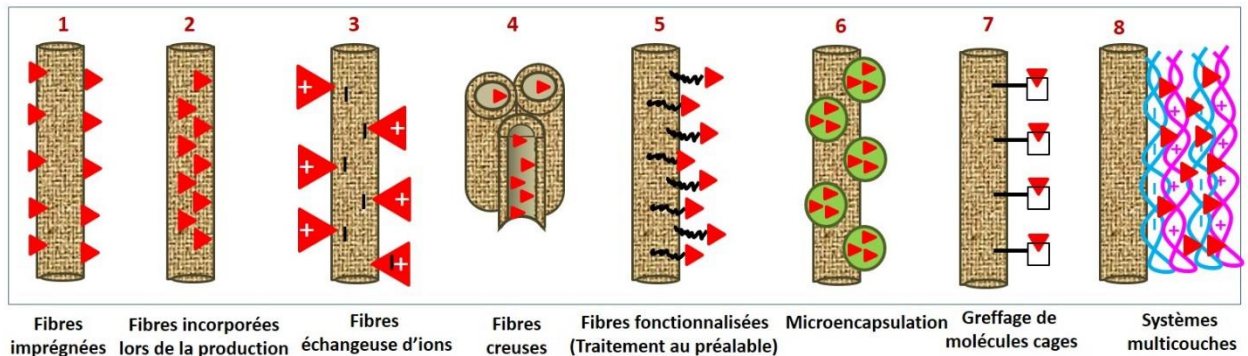


Figure 3 : Différents techniques de modification de surface des fibres textiles avec des molécules actives

- **Fibres imprégnées des molécules actives**

L'incorporation des molécules actives sur des fibres déjà formées (figure 3.1), se fait par imprégnation, trempages, pulvérisation etc. Cette technique est relativement simple mais le problème consiste en l'instabilité des ingrédients et une libération immédiate. Pour améliorer la capacité d'encapsulation et ralentir la libération, les autres techniques sont proposées ci-après.

- **Fibres incorporées des molécules actives lors de la production**

Les molécules actives sont incluses pendant la production des fibres (figure 3.2) par electrospinning, extrusion à chaud, la giration sous pression (Mahalingam and Edirisinghe, 2013, Mahalingam et al., 2015) ou d'autres techniques de fabrication. Ce système permet d'avoir une libération prolongée grâce à une meilleure surface spécifique, une plus grande porosité et une meilleure capacité d'encapsulation. Avec la technologie electrospinning, différentes structures (pleines, creuses, cœur-peau, bidimensionnelle etc.) peuvent être obtenues pour perfectionner le système de libération. La présence de charge à la surface de la fibre est aussi envisageable afin de former des interactions entre les ions et les molécules actives, ce qui va retarder la libération. Les fibres à base de chitosane-alginate ont montrées être un matériau prometteur de libération de principes actifs dans la mesure où elles présentent une haute efficacité d'encapsulation et une libération prolongée de molécules chargées grâce aux interactions électrostatiques (Liao et al., 2005).

- **Fibres échangeuses d'ions**

Comme son nom l'indique (figure 3.3), les fibres échangeuses d'ions sont capables d'échanger des ions, les groupements immobilisent sur le textile et les contre-ions mobiles substituent par principes actifs ionique. La stabilité du système dépend alors des interactions électrostatiques entre ceux-ci et les fibres échangeuses d'ions de charges opposées. Les principes actifs peuvent alors être libérés dans les fluides corporels par un processus de diffusion (Jaskari et al., 2001, Vuorio et al., 2003, Jeong and Park, 2008).

Une application intéressante de cette technique consiste en l'utilisation de fibres échangeuses d'ions pour la délivrance régulée *in vitro* de l'insuline, afin de développer la modélisation théorique du processus de chimisorption (Medović et al., 2007). D'autres systèmes utilisant les fibres échangeuses d'ions pour la libération de principes actifs sont déjà disponibles dans le commerce, Smopex® consistant en un squelette de polyéthylène greffé avec d'autres polymères : par exemple le poly(acide styrènesulfonique) (Smopex®-101), le poly(acide acrylique) (Smopex®-102) et le polyamide (Smopex®-108). En plus d'utiliser les fibres échangeuses d'ions disponibles dans le commerce, il est également possible de greffer des groupements d'échangeurs d'ions à sur le textile.

- **Fibres creuses**

Des principes actifs peuvent être inclus à l'intérieur de fibres creuses (figure 3.4). La paroi de la fibre se compose habituellement d'une membrane perméable afin de contrôler la libération de principes actifs. L'avantage de ce système est présenté de deux façons : un rapport surface/volume élevé ainsi qu'une grande diversité d'incorporation de principes actifs. Les fibres creuses peuvent aussi être combinées avec une résine d'échange d'ions afin d'obtenir un système di-fonctionnel (Kiyono et al., 2004, Anand et al., 2001). Des fibres creuses biodégradables contenant des nanoparticules chargées de principes actifs en tant que système de libération contrôlée (Polacco et al., 2002) ont également été développés au cours de la dernière décennie.

- **Fibres fonctionnalisées**

Dans cette approche, les fibres sont modifiées chimiquement ou physiquement au préalable pour activer la surface avant d'incorporer des principes actifs (figure 3.5). Plusieurs techniques de modification de surface sont employées pour créer des groupements fonctionnels à la surface des fibres, par exemple le traitement des gaz ionisés (traitement de plasma, décharge corona, traitement de flamme et irradiation UV), le traitement chimique (oxydation, hydrolyse), les méthodes de polymérisation greffante, le greffage de matériaux

hybrides organiques/inorganiques ... En plus, les propriétés de surface peuvent être également améliorées.

La polymérisation induite par irradiation de méthacrylate de glycidyle, suivi par l'ouverture de cycle avec le sulfite de sodium sur des non tissés de polyéthylène permet de créer des fonctions sulfoniques pour interagir avec des ions d'argent dans le but de créer des tissus antibactériens (Kim and Saito, 1999). De la même façon, le greffage de la 4-vinylpyridine sur le tissu de polyuréthane activé induite par le rayonnement UV afin de développer une membrane antibactérienne (Yao et al., 2008). L'introduction de poly (N-isopropylacryl amide) sur des surfaces de polyéthylène non-tissé afin de créer un textile intelligent stimuable qui répond aux changements de la température pour contrôler la libération des principes actifs (Chen et al., 2002).

- **Greffage d'un système de microencapsulation sur le textile**

La micro encapsulation consiste à encapsuler des substances liquides ou solides en bulles minuscules d'origine naturelles ou synthétiques avec la paroi mince. Les microsphères libèrent progressivement des agents actifs par stimuli externe (le frottement mécanique, la température, le pH ou la force ionique), qui rompt la membrane au fil du temps (figure 3.6). Les agents actifs peuvent être le parfum, l'arôme, les micro/nanoparticules. L'utilisation de la microencapsulation sur le textile est déjà mentionnée dans la littérature (Van Parys, 2006, Nelson, 2002, Teixeira et al., 2012, Ocepek et al., 2012, Golja et al., 2013)

Les produits commerciaux récents sont des fibres spéciales contenant des molécules actives, par exemple : X-STATIC[®] (incorporation d'Ag pour les propriétés antimicrobiennes et antiodeurs destiné aux athlètes) ou encore les pansements antibactériens (URGOCELL AG SILVER TLC, URGOCELL[®] SILVER, CELLOSORB[®] Ag).

I.2.2 Greffage de molécules cages sur le textile

L'utilisation d'un système réservoir greffé sur le textile (figure 3.7) qui est capable de prolonger la libération de molécules actives est un véritable challenge. Les molécules cages telles que les éthers couronnes, les cyclodextrines (CD), les fullerènes, les clathrates, les intercalates, zéolites, les porphyrines, les calixarène ou encore les cyclophanes sont à ce titre particulièrement étudiés. Dans notre cas, nous nous focalisons particulièrement sur le greffage de CD.

Les cyclodextrines (CD) sont des molécules cages qui permettent d'encapsuler des molécules invitées de manière non-covalente et réversible selon les interactions

hôte-invitée grâce à leur cavité interne hydrophobe (figure 4). Elles sont très connues pour augmenter la solubilité de molécules très peu solubles et pour en augmenter leur biodisponibilité. Elles sont particulièrement employées dans le domaine pharmaceutique (Loftsson and Brewster, 2010, Loftsson and Duchêne, 2007, Loftsson et al., 2005). Pour cela, nous avons choisi cette molécule comme molécule réservoir. Nous détaillerons la préparation de CD, de ses dérivés et de ses polymères en partie II du chapitre bibliographie (polyélectrolyte de cyclodextrines).

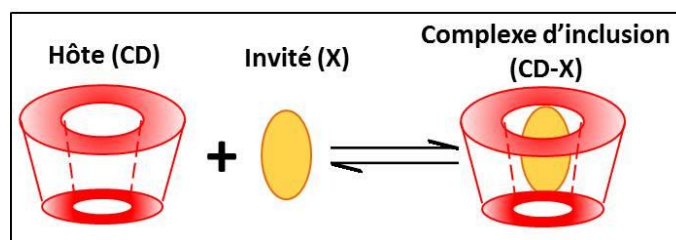


Figure 4 : Représentation du phénomène d'inclusion

Nous nous intéresserons ensuite à la fixation de CD sur le support textile, qui est généralement divisée en deux voies : le greffage chimique ou physique. Le détail complet sera présenté dans la partie II.3 du chapitre bibliographique.

I.2.2.1 Fixation chimique de CD sur textile cellulosique

La fixation permanente sur les fibres de cellulose est possible en utilisant des agents réticulants ou encore le groupement monochlorotriazinyle (Buchmann et al., 1996). Le réactif de monochlorotriazinyl- β CD, (MCT- β CD) est un excellent outil pour la modification de surface des fibres à l'échelle nanométrique car les atomes de chlore du groupement triazinyle peuvent réagir avec les groupements nucléophiles (groupements hydroxyles des fibres) par réaction de substitution nucléophile, figure 5. Le greffage de MCT- β CD sur la fibre cellulosique est fait par un processus de thermofixation classique (Pad-Dry-Cure) (Denter et al., 1997, Reuscher and Hirsenkorn, 1996).

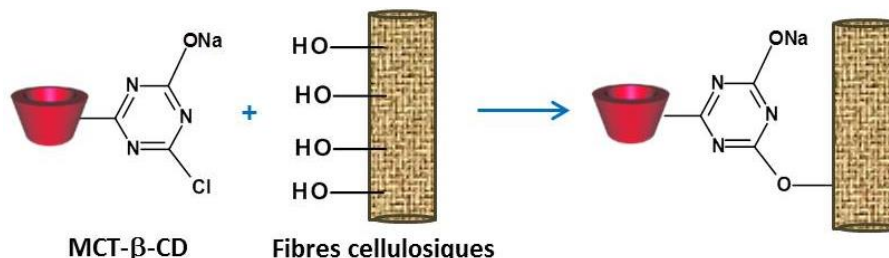


Figure 5 : Fixation chimique de CD sur textile à l'aide de MCT- β CD

Autres exemple, le greffage chimique de CD sur le coton et la laine est réalisé avec des acides polycarboxyliques comme agent réticulant chimique (acide 1,2,3,4-

butanetetracarboxylique, acide citrique ou poly(acide acrylique)), figure 6 (Martel et al., 2002b).

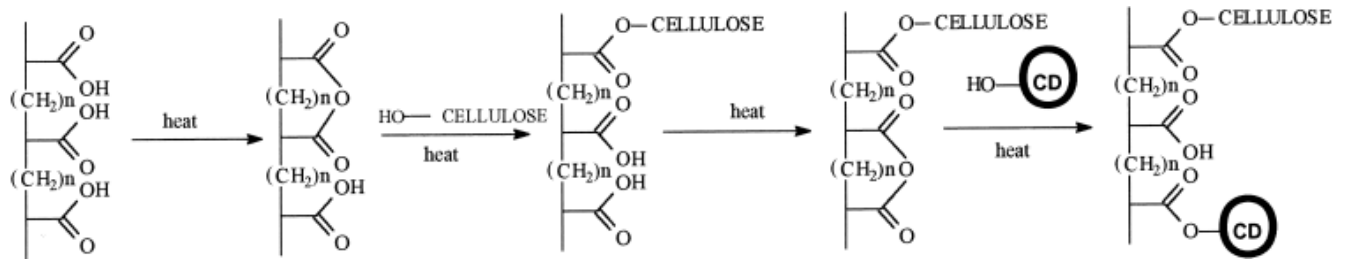


Figure 6: Fixation chimique de CD sur textile par réticulation avec l'acide polycarboxylique (Martel et al., 2002b)

I.2.2.2 Fixation physique de CD sur textile synthétique

Plusieurs stratégies d'immobilisation physique de CD ont été élaborées au cours des dernières années. Nous aborderons ici plus particulièrement le greffage physique de CD sur le textile en présence d'un agent réticulant d'acide polycarboxylique. Cette méthode a été développée et brevetée par notre laboratoire au sein de l'équipe du Professeur Bernard MARTEL afin d'obtenir une nouvelle voie de modification de surface et une nouvelle propriété de textile fonctionnel (Martel et al., 2002a). Cette technique permet de réticuler la β CD par l'acide citrique (CTR) en utilisant l'hypophosphite de sodium monohydraté ($NaH_2PO_2 \cdot H_2O$) comme catalyseur sous l'effet de la chaleur pour obtenir le polymère anionique (polyCTR-CD) enrobé physiquement sur le textile, figure 7. Le principe est basé sur la réaction d'estérification entre l'anhydride cyclique, formé par la déshydratation d'acide citrique sous l'effet de la température et du catalyseur, et les fonctions hydroxyles de la β CD.

Cette procédure est appliquée dans les nombreuses applications de textile **en PP** pour l'adsorption des colorants (El Ghoul et al., 2010) et la libération prolongée de ciprofloxacine de l'implant abdominale (Laurent et al., 2011), **en PET** pour la libération contrôlée des antibiotiques par une prothèse vasculaire (Blanchemain et al., 2007a, Blanchemain et al., 2007b, Blanchemain et al., 2005, Blanchemain et al., 2012) et la dépollution d'eaux et de sédiments contaminés (Ducoroy et al., 2008, Ducoroy et al., 2007, Degoutin et al., 2015), **en PA** pour la délivrance de antibiotiques des meshes abdominaux (El Ghoul et al., 2008, Vermet et al., 2014) ainsi qu'**en PVDF** pour la régénération tissulaire guidée en parodontologie (Boschin et al., 2006, Tabary et al., 2007, Tabary et al., 2014, Leprêtre et al., 2007).

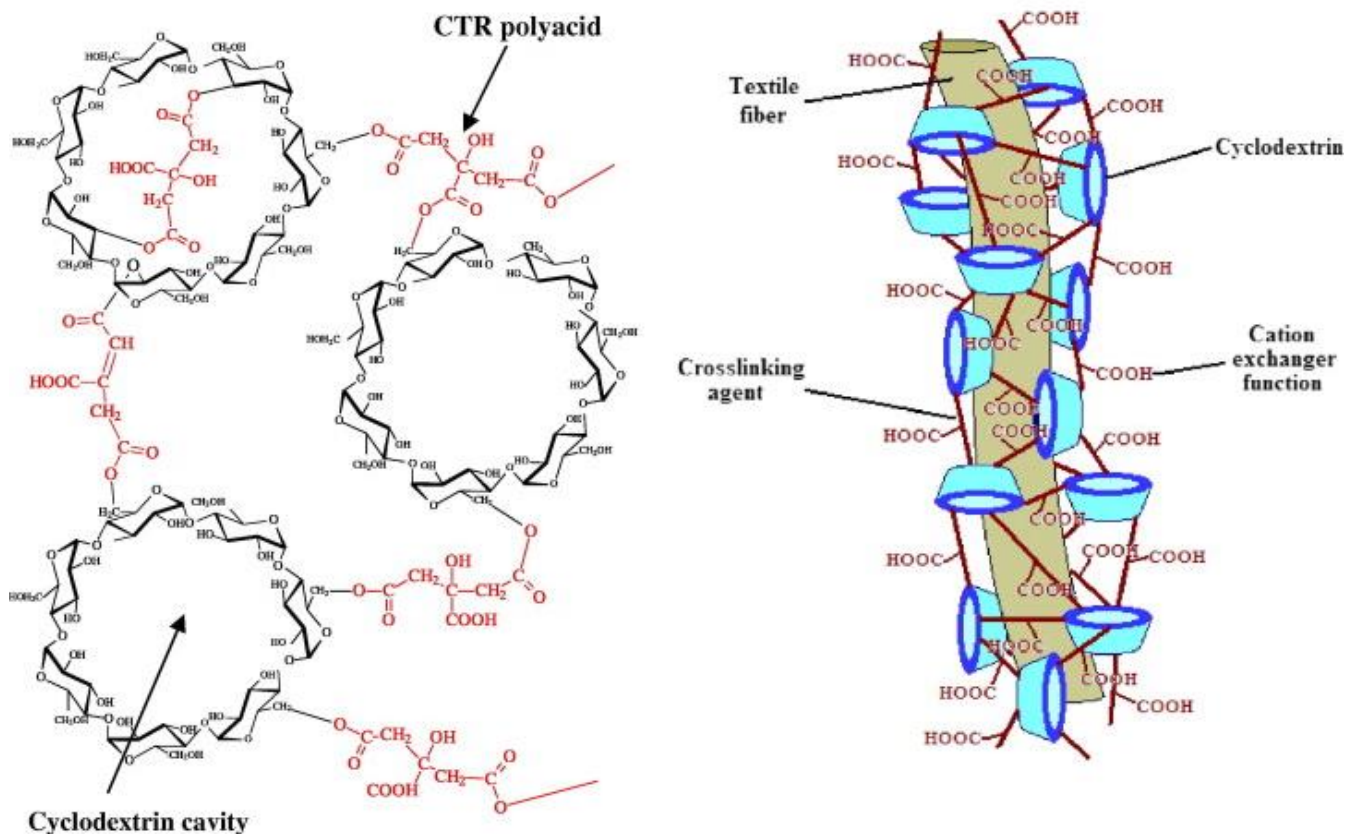


Figure 7: Structure chimique de polyCTR-CD et son enrobage sur le textile (Ducoroy et al., 2008)

Nous utiliserons cette méthode de greffage par polyCTR-CD pour donner un caractère anionique à notre support textile PET. En effet, les fonctions carboxyliques non estérifiées (résiduelles) peuvent se convertir en fonctions carboxylates (caractère anionique) en ajoutant une étape de traitement basique.

Dans notre travail, nous avons utilisé ces fonctions carboxyliques de polyCTR-CD comme sites d'ancrage de notre système LbL. En effet, cette première couche anionique sur notre support textile constitue le point de départ de notre l'assemblage multicouche en appliquant la méthode Layer-by-Layer (LbL).

I.2.3 Assemblages multicouches sur le textile

Les assemblages multicouches ou les assemblages couche par couche (Layer-by-Layer (LbL)) sont basés sur une déposition séquentielle de polyelectrolytes cationiques et anioniques, selon des interactions électrostatiques, sur un substrat chargé (Decher et al., 1998), (figure 3.8). Cette méthode très polyvalente couvre un très large domaine de recherche allant de la synthèse de nanoparticules à la fonctionnalisation de textiles grâce à ses points forts de réalisation (facilité, économie et écologie). L'élaboration de multicouche dépend des paramètres opérationnels que nous développons en détail dans la partie III (systèmes

multicouches) du chapitre bibliographie. Cette approche de LbL pourra améliorer la capacité d'adsorption et le contrôle de la libération des principes actifs.

Parmi quelques applications récentes d'assemblages multicouches sur surface textile, on trouve entre autre : l'immobilisation de nanoparticules d'argent antimicrobiens sur des fibres de nylon et la soie (Dubas et al., 2006), les nanoassemblages multicouches entre le chitosane et le PSS sur un substrat en coton leur conférant une activité antimicrobienne (Joshi et al., 2011), les nanofilms de ZnO (100%) sur un textile tissé en coton leur conférant une excellente activité antimicrobienne et une bonne résistance aux rayons UV (Uğur et al., 2010) et l'amélioration de la viabilité cellulaire concernant l'assemblage PSS/PAH (Rinckenbach et al., 2008).

I.2.4 Assemblages multicouches à base de cyclodextrine

Les molécules actives elles-mêmes peuvent constituer des assemblages multicouches, il est également possible de les inclure dans les multicouches de polyélectrolytes qui jouent le rôle de réservoir. Nous nous intéressons particulièrement au cas où les molécules actives seront encapsulées dans les polyélectrolytes, plus particulièrement dans les polyélectrolytes à base de CD. Dans ce genre de système, la CD ou ses polymères peuvent être utilisés pour intégrer des molécules actives peu solubles (tableau 1). Les assemblages multicouches comprenant des CD ont été présentés dans la littérature pour la délivrance de gènes (Jessel et al., 2006, Jessel et al., 2004), de principes actifs (El Fagui et al., 2014, Chen et al., 2015, Leguen et al., 2007, Shukla et al., 2011, Smith et al., 2009) et pour la fonctionnalisation les biomatériaux (Benkirane-Jessel et al., 2004, Chen et al., 2011, Deng et al., 2014, Martin et al., 2013b, Martin et al., 2013a, Pérez-Anes et al., 2015).

Tableau 1 : Utilisation de CD dans les assemblages multicouches

Auteur	Polycations	Polyanions	Application
Jessel et al., 2006	Heptakis(6-deoxy-6-pyridylamino)-β-cyclodextrin , Poly(L-lysine)	Poly(acide L-glutamique), Acide désoxyribonucléique	Outil efficace de délivrance de gène pour la transfection de cellules
El Fagui et al., 2014	PolyCD avec des groupements ammonium quaternaires	PolyCD avec des groupements sulfates	Encapsulation et libération contrôlées d'une molécule lipophile (benzophénone)
Chen et al., 2015	Poly(L-lysine)	Poly(carboxymethyl-β-cyclodextrin)	Libération de la norfloxacine et la puerarine pour le système oculaire
Leguen et al., 2007, Benkirane-Jessel et al., 2004	Polyéthylèneimine, Poly(L-lysine)	6^A-carboxymethylthio-β-cyclodextrin , Poly(acide L-glutamique)	Systèmes potentiels pour les revêtements de biomatériaux avec la libération locale des agents anti-inflammatoires
Shukla et al., 2011	Poly(β -amino ester)	Poly(carboxymethyl-β-cyclodextrin) , alginate, sulfate de chondroïtine, sulfate de dextrane	Libération des anti-inflammatoires non stéroïdiens (diclofénac) et des antibiotiques (vancomycine) dans des lentilles intraoculaires, des pansements et des sutures.
Smith et al., 2009	Poly(β -amino ester)	Poly(carboxymethyl-β-cyclodextrin)	Libération contrôlée des principes actifs (diclofénac and flurbiprofen).
Chen et al., 2011, Deng et al., 2014	Polymère étoilé (21 branches) à base de CD ammonium	Insuline, glucose oxydase	Libération contrôlée de l'insuline. Utilisation comme une membrane polymérique dans les domaines biomédicaux.
Martin et al., 2013b, Martin et al., 2013a Pérez-Anes et al., 2015	Chitosane	PolyCD avec des groupements carboxyliques	Libération contrôlée de l'acide tert-butylbenzoïque et du bleu de méthylène (substrat textile), libération de la gentamicine (substrat titane).
(Yang et al., 2013)	Oligomères de CD avec des groupements ammonium quaternaires	Oligomères de CD avec des groupements carboxyliques	Formation des assemblages multicouches sur la surface de verre et silicone.

II Polyélectrolyte de cyclodextrines

II.1 Caractéristiques des cyclodextrines

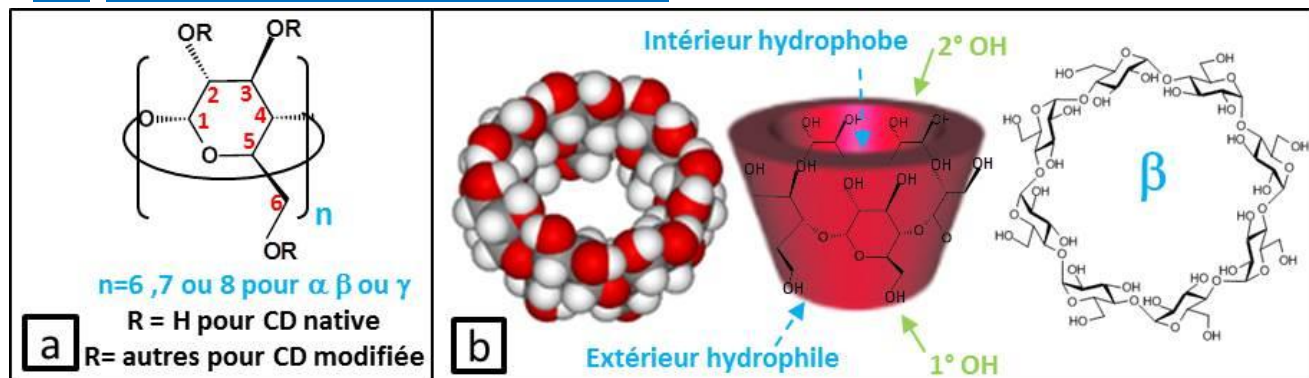


Figure 8 : Formule chimique d'une cyclodextrine (a) et représentation de la β CD

Les cyclodextrines ont été découvertes en 1891 par Villiers, elles se présentent sous la forme d'oligomères cycliques du glucose issues de la dégradation enzymatique de l'amidon (forme amylose) par les cycloglucosyltransférase (CGTase) provenant de la bactérie *Bacillus macerans*. L'historique des CD est résumé en trois périodes (Szejtli, 1998) : la période de découverte (1891-1930), les études systématiques sur les CD et leurs complexes d'inclusion (1930-1970) et la production industrielle et l'utilisation des CD (partir des années 1970). Les CD sont différenciées en fonction du nombre d'unités glucosidiques par l'utilisation d'une lettre grecque (α pour 6, β pour 7 et γ pour 8), ces trois types sont les plus utilisées (figure 8a). Ce sont des molécules cristallines, homogènes et constituées par l'assemblage d'unités glucopyranoses reliées entre elles par des liaisons α -1,4 en conformation chaise. Elles se présentent sous la forme d'un godet ou d'un cône (structure toroïdale tronconique) du à l'absence une rotation libre autour de ces liaisons (figure 8b), cette structure tridimensionnelle ayant été déterminée par diffraction des rayons X. L'extérieur de la molécule regroupe les fonctions hydroxyles secondaires en position 2 et 3 situées sur le côté large du cône, les fonctions hydroxyles primaires en position 6 situées sur la petite circonférence. La paroi externe possède donc un caractère hydrophile. L'intérieur de la molécule regroupe les atomes d'oxygènes de liaisons étheroxydes ainsi que les atomes de carbones qui donnent un caractère hydrophobe dû à la présence d'une forte densité électronique. Cette structure macrocycle confère aux CD leurs propriétés très exceptionnelles. Les protons numéros 1,2 et 4 sont orientés vers l'extérieur de la cavité et les protons numéros 3 et 5 dirigés à l'intérieur de la cavité. L'orientation de ces derniers protons permet caractériser le complexe d'inclusion entre la CD et une molécule invitée par la résonance magnétique nucléaire (RMN). Le tableau 2

représente les caractéristiques des CD. La masse molaire et le diamètre de la cavité croissent avec le nombre d'unités glucosidiques. Mais la solubilité dans l'eau est la suivante : $\beta\text{CD} < \alpha\text{CD} < \gamma\text{CD}$. La solubilité de βCD dans l'eau est plus faible due à la formation d'une ceinture continue de liaisons hydrogènes entre les groupements hydroxyles en position 2 et 3 d'une unité glucosidique, ce qui rend la molécule de βCD plus rigide. Les CD sont des composés chiraux (optiquement actifs) avec 5 atomes de carbone asymétriques par unité de glucose.

Tableau 2 : Principales caractéristiques des cyclodextrines

Caractéristiques	αCD	βCD	γCD
Nombre d'unité glucosidiques	6	7	8
N° CAS	10016-20-3	7585-39-9	17465-86-0
Formule brute (forme anhydre)	$\text{C}_{36}\text{H}_{60}\text{O}_{30}$	$\text{C}_{42}\text{H}_{70}\text{O}_{35}$	$\text{C}_{48}\text{H}_{80}\text{O}_{40}$
Masse molaire (g/mol)	972	1135	1297
Solubilité dans l'eau à 25°C (g/100ml)	14,5	1,85	23,2
Diamètre interne de la cavité (Å)	4,7-5,2	6,0-6,4	7,5-8,3
Diamètre externe de la cavité (Å)	14,6	15,4	17,5
Hauteur du cône (Å)	6,7	7,0	7,0
Volume de la cavité (Å ³)	174	262	427
Température de fusion (°C)	250-260	255-265	240-245
pKa à 25°C	12,3	12,2	12,1
$[\alpha]_{\text{D}}$ à 25 °C	150	162,5	177,4

Il existe deux types de CD : les cyclodextrines natives et les cyclodextrines modifiées (cyclodextrines dérivées) dont les groupements hydroxyles sont modifiés chimiquement afin d'obtenir des propriétés spécifiques. Le OH en position 6 est le plus nucléophile (plus basique) et est majoritairement substitué devant le OH en position 2 (plus acide), puis 3 (la position la moins réactive).

Pour caractériser la CD modifiée, la manière selon laquelle le substituant est ajouté à la CD peut être décrite par deux termes: le degré de substitution (DS) et la substitution molaire (MS). Le DS désigne le nombre moyen de positions hydroxyles sur l'unité

anhydroglucose (AGU) qui ont réagi avec le substituant. Comme chaque AGU de la molécule de CD a trois groupes hydroxyles, ce degré varie entre 0 à 3. La MS est définie comme le nombre moyen de molécules de substituant ayant réagi avec chaque AGU. Une fois le substituant fixé, il peut lui-même réagir avec le réactif par polymérisation notamment le cas de l'épichlorohydrine et poursuivre la réaction. La MS peut donc dépasser la valeur 3.

Les CD dérivées sont développés pour aussi élargir les applications des CD et de surmonter les inconvénients des CD natives tels que la faible solubilité dans l'eau, la faible stabilité des complexes d'inclusion et la toxicité (Irie and Uekama, 1997). Par exemple, la substitution de leurs groupes hydroxyles peut perturber les liaisons hydrogène, augmenter considérablement la solubilité (Szejtli, 1998, Loftsson and Duchêne, 2007) et diminuer la toxicité (Binkowski-Machut et al., 2006). La présence de substituant chargé donne la meilleure capacité de complexation et solubilisation par rapport aux autres CD dérivés grâce à la contribution supplémentaire des interactions ioniques à l'extérieur des cavités, en plus des interactions hydrophobes à l'intérieur de la cavité de CD. La complexation devient beaucoup plus forte avec la molécule invitée de charge opposée, comparée avec la molécule portant le même type de charge (Másson et al., 1998). Quelques exemples de CD modifiée sont mentionnés dans le tableau 3.

Tableau 3 : Applications des cyclodextrines non-ioniques et ioniques

Nature	Groupe ment substitué	Application
CD non-ionique	Méthyl	Solution ophtalmique de chloramphenicol (Clorocil®), pulvérisation nasale de 17b-estradiol (Aerodiol®). Délivrance de médicament (Szejtli, 1983, Mutlu et al., 2011, Hirayama et al., 1999)
	Hydroxyalkyl (alkyl=ethyl et propyl)	Solution intraveineuse d'Itraconazole (Sporanox ®)
	Acetyl	Libération prolongée de metformin hydrochloride (Corti et al., 2008)
	Halogeno =Iodo ,bromo	Produit d'intermédiaire pour la synthèse.
	Azido	Phases stationnaires chirales pour la chromatographie liquide (Poon et al., 2006). Produit d'intermédiaire pour la synthèse.
	Fluorescent	Détection des molécules chimiques (Ueno, 1996, Ikeda, 2010, Surpateanu et al., 2007)
	Groupe ment synthétisé (amphiphiles)	Nanoparticules pour la délivrance de principes actifs anticancéreux (docétaxel) (Quaglia et al., 2009)
CD anionique	Sulfoalkyl(alkyl=ethyl, propyl et butyl)	Solution intraveineuse de Variconazole (Vfred®) (Luke et al., 2010)
	Carboxyalkyl (alkyl = methyl, ethyl)	Séparation de principes actifs par électrophorèse capillaire (Jin and Li, 1998)
	Succinyl	Séparation des énantiomères de peptides par électrophorèse capillaire (Dai et al., 2001)
	Sulfate	Séparation de principes actifs par électrophorèse capillaire (Jin and Li, 1998) Protection du cartilage articulaire dans l'arthrose du genou lapine (Groeneboer et al., 2008) , libération prolongée d'insuline glargine (Uehata et al., 2011), Préparation de CD anionique (Pitha et al., 1991)
	Phosphate	Préparation de munitions ionique membranes synoptiques (Won et al., 2006)
	Groupe ment synthétisé (amphiphiles)	Préparation des Liposomes ressemblant érythrocytes (Sukegawa et al., 2002).
CD cationique	6-Monodeoxy-6-monoamino	Catalyseur (Binder and Menger, 1996), séparation des énantiomères (Budanova et al., 2004) , transfection des cellules (Cryan et al., 2004),
	GTMAC	Séparation des énantiomères (Deratani et al., 1989, Chisholm and Wenzel, 2011, Jakubetz et al., 1997, Yudiarto et al., 2001)
	Groupe ment synthétisé (amphiphiles)	Délivrance des gènes (Cryan et al., 2004, Khalil et al., 2006)

II.2 Formation des complexes d'inclusion

Les CD sont des molécules cages (l'hôte) car elles possèdent une cavité interne capable de s'associer avec une autre molécule (l'invitée) de façon réversible. On parle d'interaction 'hôte-invité'. L'inclusion peut être soit partielle ou soit totale selon la taille de l'hôte et de l'invitée, le phénomène d'inclusion étant représenté en figure 9a. Les complexes d'inclusion les plus courants sont du type 1 : 1 (une molécule invitée interagit avec une molécule de cyclodextrine) mais il existe également d'autres possibilités dans le cas où les extrémités lipophiles ou les longues chaînes aliphatiques d'une même molécule sont incluses par plusieurs CD (figure 9b).

Plusieurs interactions coexistent simultanément afin de stabiliser ces complexes, elles dépendent aussi de la molécule invitée (sa géométrie, ses propriétés physicochimiques comme l'hydrophobicité, l'état d'ionisation) et de la CD (sa géométrie, sa modification chimique ou non) et d'autres facteurs (le solvant utilisé, pH, force ionique, co-solvant et la température). Ce sont des interactions faibles du type non-covalentes: interaction Van de Waals (prédominante pour les interactions entre les hydrogènes en position 3 et 5 de la CD et la molécule invitée), des interactions électrostatiques, des interactions hydrophobes et des liaisons hydrogènes (avec la molécule invitée polaire en présence de l'hétéroatome).

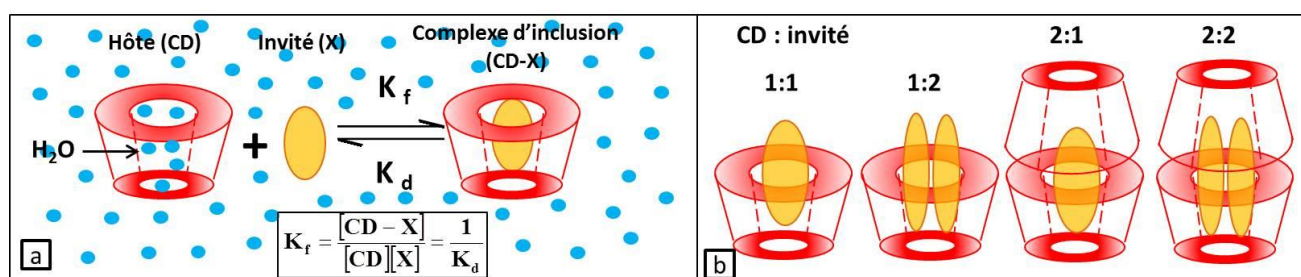


Figure 9: Représentation du phénomène d'inclusion et ses différents types de complexes d'inclusion

La formation des complexes d'inclusion peut avoir lieu en solution ou à l'état solide. Les différentes techniques (mélange physique, atomisation, évaporation du solvant, malaxage, co-précipitations, neutralisation, co-broyage et lyophilisation etc...) sont employées pour la formation de complexe d'inclusion.

Le principe de formation des complexes d'inclusion est basé sur le gain énergétique du système. À l'état solide, les molécules invitées peuvent être piégées dans la cavité ou peuvent s'accumuler en dehors de la CD. En solution aqueuse, l'équilibre entre la partie complexée et non-complexée de la molécule invitée joue un rôle prépondérant. La cavité hydrophobe de CD est occupée par des molécules d'eau qui est défavorable thermodynamiquement (interaction

polaire-apolaire). L'arrivée de la molécule invitée moins polaire que les molécules d'eau va engendrer un état thermodynamiquement plus stable, la formation des complexes d'inclusion est donc favorisée –(interaction apolaire-apolaire). Ce processus réversible est un équilibre (figure 9a), la constante de formation des complexes est donc déterminée grâce à plusieurs techniques d'analyses dépendantes de la propriété de molécules invitées. Cette constante est calculée selon l'équation de la figure 9a. Les molécules invitées changent de propriétés physicochimiques lorsqu'elles sont incorporées dans la cavité de la CD. Les techniques utilisées sont reportées ci-après (Wszelaka-Rylik and Gierycz, 2013) : **à l'état solide** (Analyse thermique (ATG, DSC), Microscopie électronique à balayage (MEB), Diffraction rayons X, IR, Chromatographie en couche mince et RMN solide), **en solution** (Electrochimie (polarographie, conductimétrie), étude de solubilité de phase, RMN liquide, Résonance paramagnétique électronique, UV, Fluorescence, Dosage potentiométrique, Titration calorimétrique isotherme (ITC)) et **à l'état gazeux** (Head space).

II.3 Polymères de cyclodextrines

Les polymères de CD sont des composés dans lesquels plusieurs molécules de CD sont réunies de façon covalente dans la chaîne principale ou latérale des polymères. L'apparition de charges se trouvent sur le réseau de polymères ou sur les CD elles-mêmes, ce qui favorise la complexation avec la molécule invitée de charges opposées (Gidwani and Vyas, 2014, Mocanu et al., 2001).

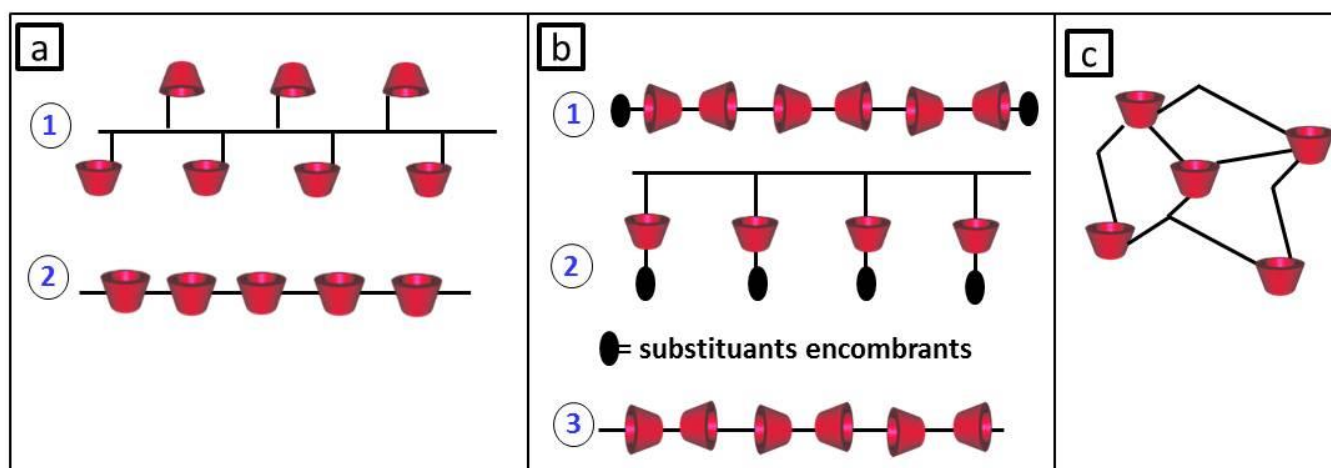


Figure 10 : Différentes structures possibles pour le polymère de CD

Les polymères de CD ont fait l'objet de nombreuses investigations parce que (i) leur structure macromoléculaire réticulée permet une action de coopération, entre les CD voisines ou entre les CD et la structure des réticulées des polymères, dans la complexation de principes

actifs ; (ii) selon les conditions expérimentales de la polymérisation, il est possible d'obtenir soit des polymères hydrosolubles ayant une solubilité améliorée par rapport aux CD natives ou des hydrogels insolubles avec haute capacité de gonflement dans l'eau. Par conséquent, quel que soit la structure des polymères CD (linéaires, hyper-ramifiés, dendrimères etc.) de nombreux matériaux à base de polymères CD ont été récemment conçu pour des applications pharmaceutiques et biomédicales (van de Manakker et al., 2009, Fenyvesi, 1988, Machín et al., 2012, Rodriguez-Tenreiro et al., 2006, Smith et al., 2009, Trotta et al., 2014b, Uekama et al., 1985)

Les polymères de CD sont classés en 3 catégories (figure 10) : polymères linéaires, polyrotaxanes ou polymères colliers et polymères réticulés de CD ioniques et non-ioniques.

II.3.1 Polymères linéaires

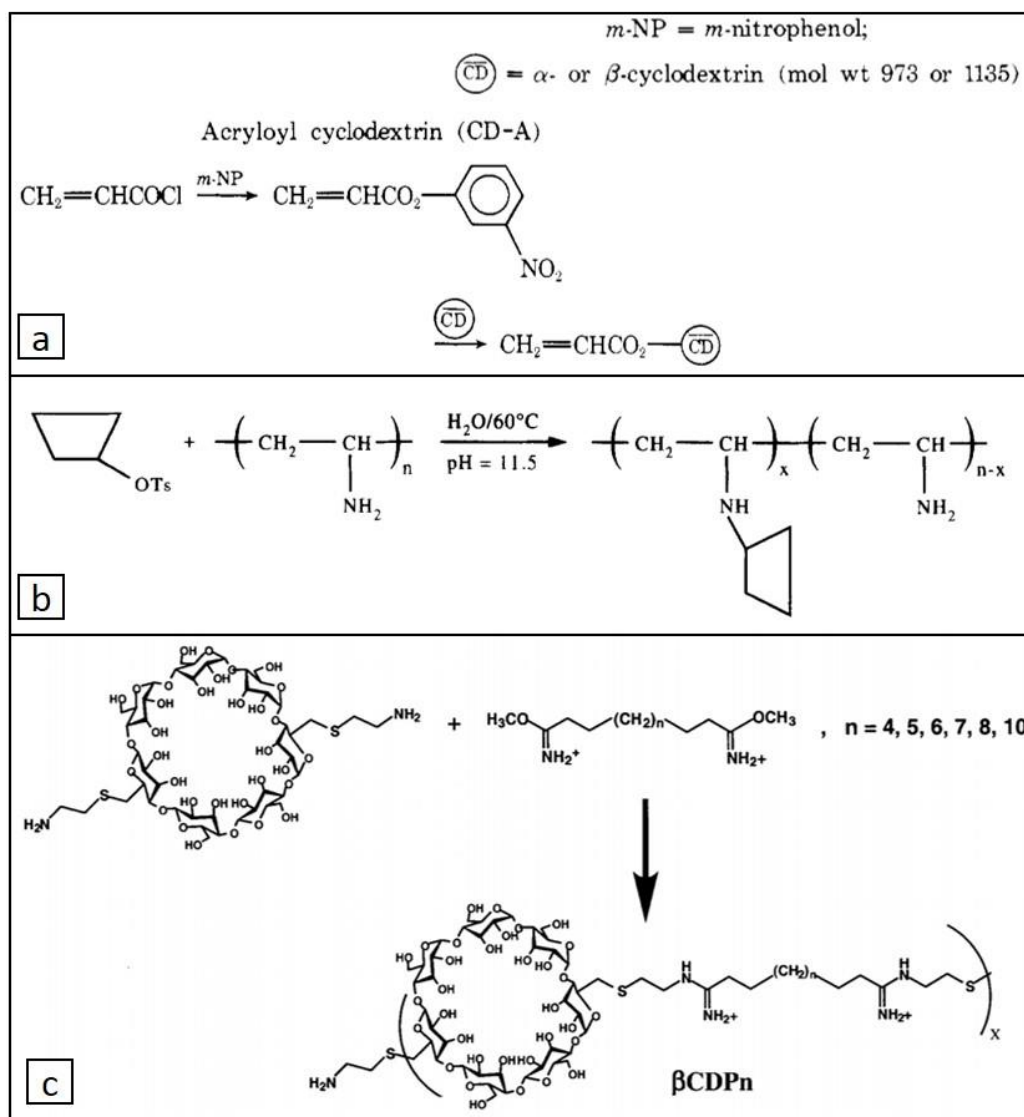


Figure 11 : Structure de polymères linéaires de CD par (a) polymérisation de monomère porteurs de CD (Harada et al., 1976) (b) greffage de CD sur polymère linéaire (Martel et al., 1995) et (c) condensation de CD di-fonctionnels avec le comonomère di-fonctionnel (Davis and Bellocq, 2002)

Ils sont obtenus par deux manières distinctes :

- **Substitution d'une chaîne macromoléculaire linéaire (figure 10a1).** La CD se situe en groupement latéral, ils sont obtenus par 2 voies : la polymérisation de monomère porteurs de CD (vinylique, acryloïque ou méthacryloïque) en figure 11a (Furue et al., 1975, Harada et al., 1976) ou par greffage de CD sur les fonctions substituants d'un polymère linéaire (ou branché) préexistant (polyvinylamine, polyallylamine, polyéthylèneimine etc.) en figure 11b (Deratani et al., 1995, Renard et al., 2005, Sébille et al., 1987, Crini et al., 1995, Martel et al., 1995, Trelenkamp and Ritter, 2010, Potier et al., 2012).
- **Formation d'une chaîne macromolécule linéaire (figure 10a2).** La CD fait partie de la chaîne principale (figure 11c), ils sont obtenus par condensation de monomères de CD di-fonctionnels (groupements substitué diamino ou di(2- aminoethanethio)) avec d'autres comonomères di-fonctionnels (dimethyl suberimide (DMS) ou dithiobis succinimidyl propionate) (DSP) (Gonzalez et al., 1999, Davis and Bellocq, 2002).

II.3.2 Polyrotaxanes à base de cyclodextrine

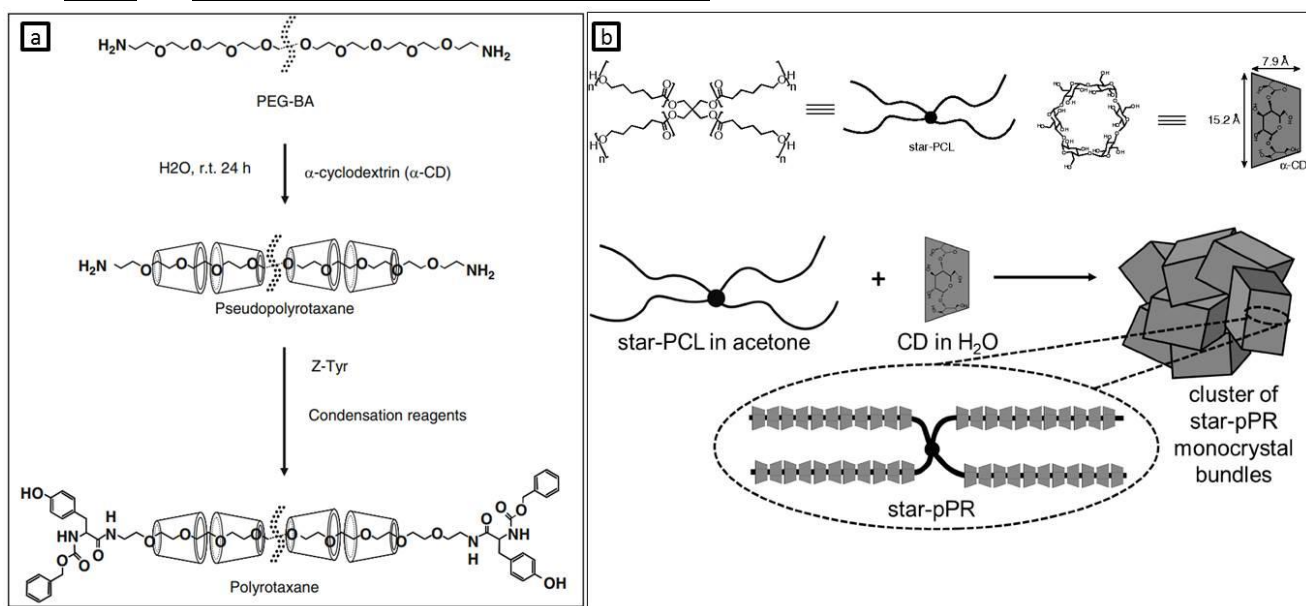


Figure 12 : (a) Structure de polyrotaxane et polypseudorotaxane de CD (Yui et al., 2009) et (b) électrofilage coaxial des nanofibres à base de polypseudorotaxane et poly(ϵ -caprolactone) étoilé (Oster et al., 2015).

Le terme de polyrotaxane provient du latin entre deux mots (rota=la roue et axis=l'axe) et il se réfère aux systèmes supramoléculaires dans lequel les CD complexent de la chaîne principale comme un collier de perles (figure 10b1) ou latérale (figure 10b2). Le polyrotaxane possède des groupements encombrants en bout de chaîne, bloquant les cyclodextrines contrairement au polypseudorotaxane (figure 10bc) dont les extrémités sont

libres et autorisent la décomplexation de la chaîne. Les chaînes de squelette sont généralement constitués de polymères comme le poly(oxyde d'éthylène), poly(éthylène glycol) ou poly(oxyde de propylène) etc.

Un exemple de polyrotaxane et polypseudorotaxane est montré dans la figure 12a (Yui et al., 2009). Le polypseudorotaxane étoilé est obtenu à partir de la complexation entre la α -cyclodextrine et le poly(ϵ -caprolactone) à 4 branches sous la forme de nanoplaquettes, figure 12b. Ceci permet d'élaborer des nanofibres avec une structure cœur-peau par électrofilage coaxial en vue d'application biomédicale (Oster et al., 2015).

Les autres polyrotaxanes de CD sont également employées dans le domaine biomédicale et la délivrance de principes actifs (Yui et al., 2009, Higashi et al., 2013, Loethen et al., 2007, Motoyama et al., 2012, Simoes et al., 2015) et de gènes (Dandekar et al., 2012).

II.3.3 Polymères réticulés

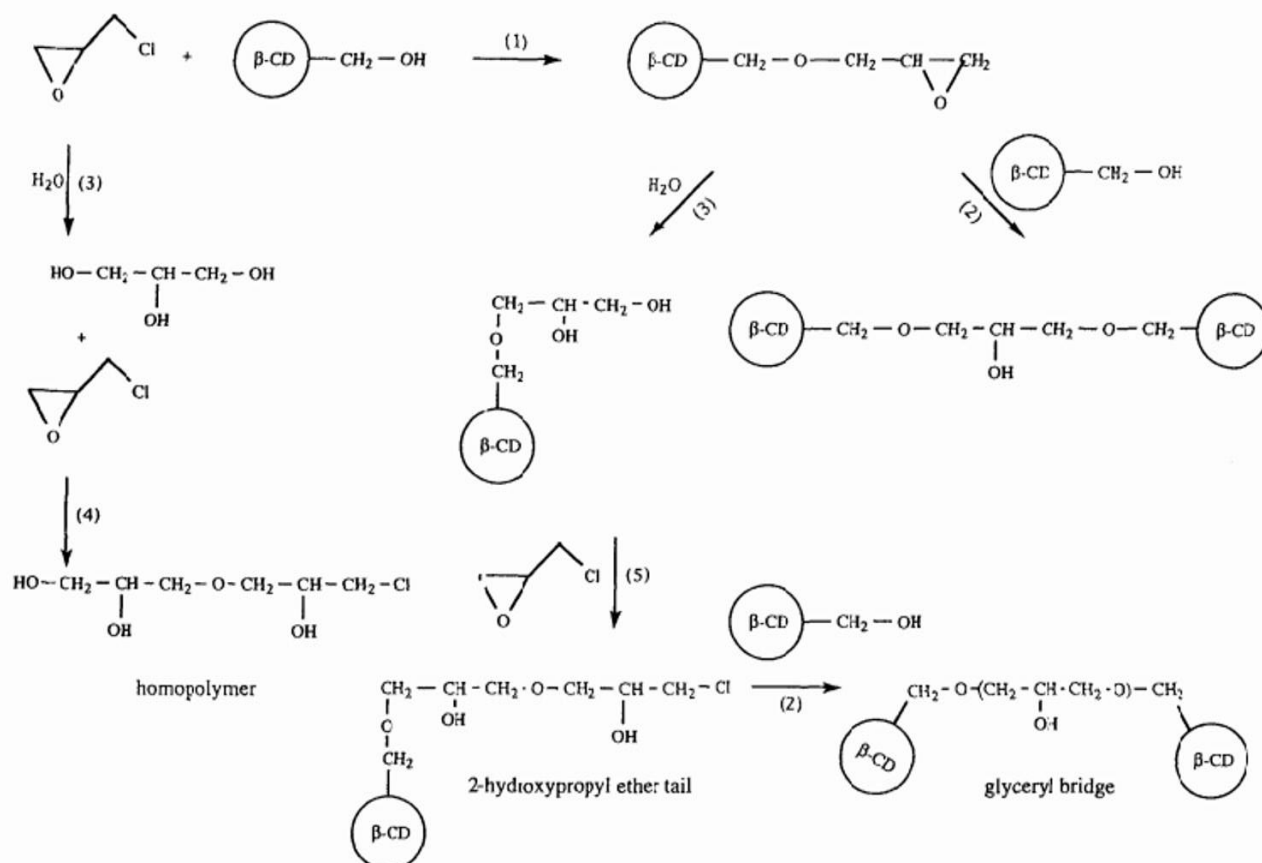


Figure 13 : Réaction de polycondensation entre la β CD et l'épichlorohydrine (Renard et al., 1997).

Ces polymères sont obtenus par réaction entre la CD et des réactifs bi/polyfonctionnels (agents réticulants). Cette réticulation permet de former les réseaux de polymères sous la forme tridimensionnel, voir figure 10c. Le polymère réticulé est soit soluble soit insoluble selon les paramètres réactionnels (la concentration du milieu et la proportion des réactifs, la

température de réticulation, le temps de réaction etc.) et respectivement en arrêtant la réaction avant ou après son point de gel. Un exemple de polymère neutre (polymère cyclodextrine-épichlorohydrine) de CD obtenu par réticulation de CD avec l'épichlorohydrine (EP) est montré dans la figure 13 (Renard et al., 1997).

L'incorporation des charges sur le polymère est aussi envisageable quand l'agent réticulant possède un groupement ionisable ou si un agent ionique (substituant) est introduit dans le système. Les agents réticulants mentionnés dans la littérature sont résumés dans le tableau 4.

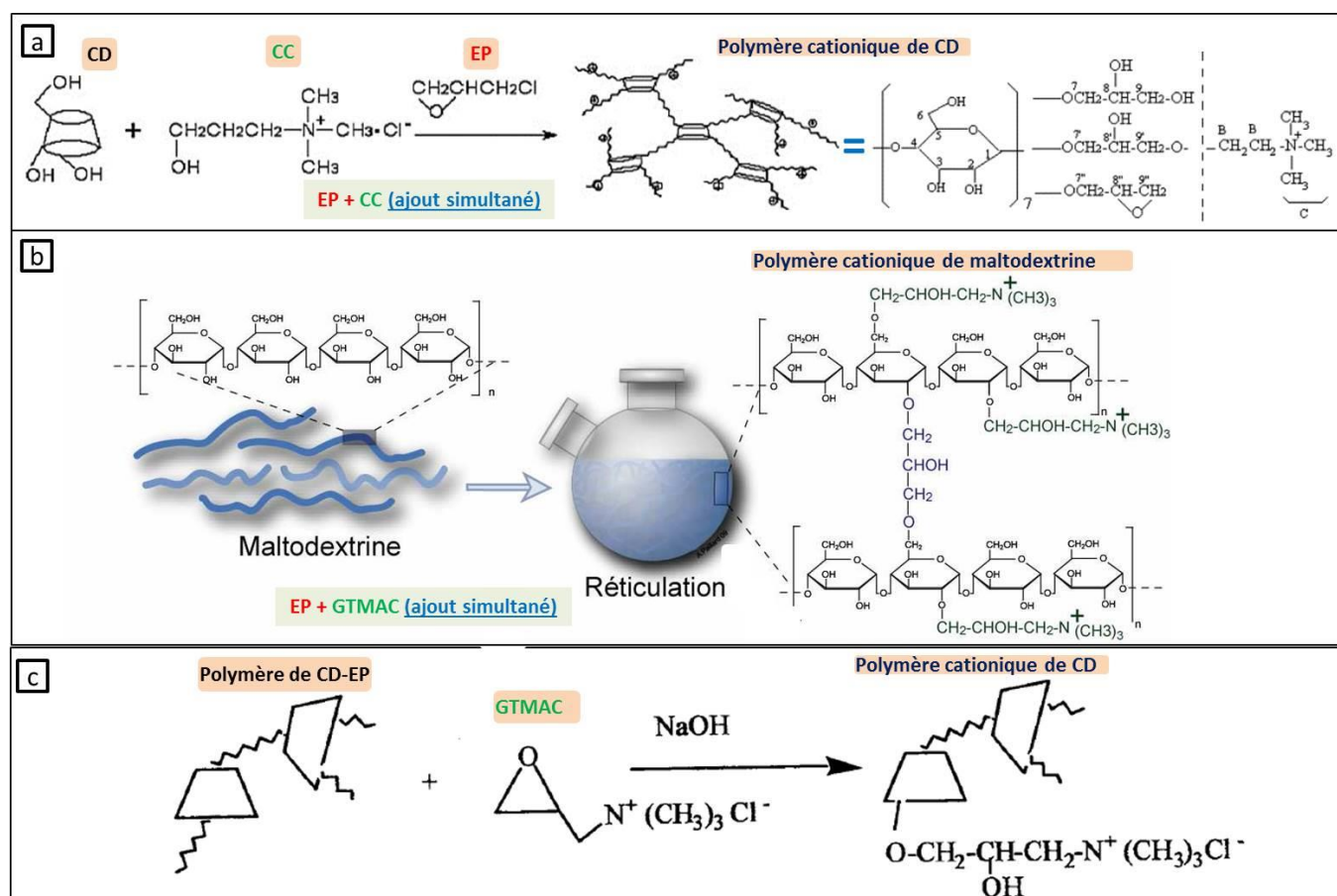


Figure 14: Synthèse de polymère cationique de (a) CD en présence de CC (Qian et al., 2008) (b) de maltodextrine en présence de GTMAC (Paillard, 2009) et (c) de CD en présence de GTMAC (Layre et al., 2002)

Nous nous intéressons plus particulièrement aux polymères CD cationiques afin de les utiliser en coopération avec les polymères anioniques de CD (polyCTR-CD) dans les assemblages multicouches en tant que les supports biomatériaux. Dans la littérature, les polymères cationiques de CD (ajout simultané d'EP et de CC (chlorure de choline)) ont révélés une bonne hémocompatibilité aux érythrocytes, aucune cytotoxicité aux cellules endothéliales bovine jusqu'à la concentration de 500 $\mu\text{g/mL}$ (Li et al., 2004, Gil et al., 2009),

une amélioration de la biodisponibilité des principes actifs à travers la barrière hémato-encéphalique (Qian et al., 2008), en figure 14a.

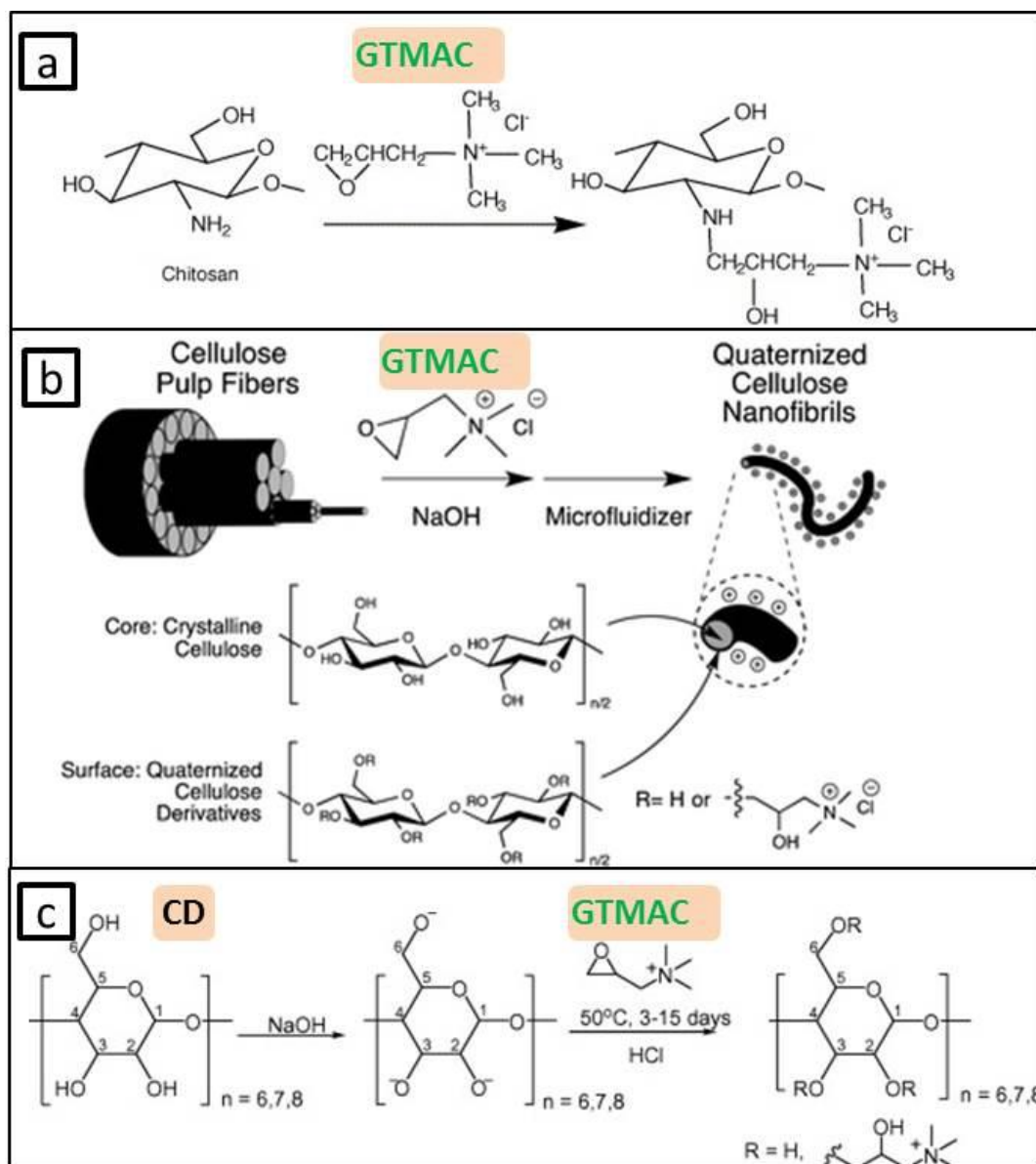


Figure 15: Cationisation par le GTMAC sur (a) le chitosane (Wu et al., 2006) (b) la cellulose (Pei et al., 2013) et (c) la cyclodextrine (Chisholm and Wenzel, 2011)

Un autre agent substituant cationique comme le GTMAC (Chlorure de glycidyltriméthylammonium) a été reporté dans la préparation de chitosane cationique avec une charge élevée et a montré une bonne activité antimicrobienne en figure 15a (Qin et al., 2004, Wu et al., 2006). Le GTMAC a également été impliquée dans la synthèse de l'amidon cationique avec un haut degré de substitution (Bendoraitiene et al., 2006, Gimbert et al., 2008, Heinze et al., 2004) ou dans la préparation de cellulose cationique (en figure 15b) pour augmenter sa capacité d'absorption à l'eau et sa capacité d'adsorption vis-à-vis de colorants anioniques (Pei et al., 2013). Le GTMAC a aussi été employé dans la substitution de

monomère de CD pour préparer le monomère cationique de CD dans le domaine de la séparation énantiomère en figure 15c (Yudiarto et al., 2001, Jakubetz et al., 1997, Chisholm and Wenzel, 2011).

Récemment pour la préparation de polymère, le GTMAC a été associé avec de la maltodextrine (ajout simultané entre l'EP et le GTMAC) pour créer la nanovectorisation cationique en figure 14b (Paillard et al., 2010) ainsi qu'avec le polymère de cyclodextrine-épichlorhydrine pour la séparation de composés organiques en figure 14c (Thuaud et al., 1991, Layre et al., 2002). Dans ce dernier cas, la modification du polymère cyclodextrine-épichlorhydrine par le GTMAC se présente à la suite d'une étape de synthèse bien distincte.

Des agents réticulants anioniques ont été employés pour préparer des polymères anioniques de CD portant **des groupements carboxyliques** en utilisant le dianhydride de l'acide éthylène-diamine-tétra-acétique en figure 16a (Ferro et al., 2014), l'anhydride pyromellitique en figure 16b (Rossi et al., 2015) ainsi que des acides polycarboxyliques en figure 16c (acide 1,2,3,4-butanetetracarboxylique et acide citrique ou acide acrylique (Martel et al., 2005)), d'autres portant **des groupements sulfonates** en figure 16d (El Fagui et al., 2014) et des **groupements phosphates** (Wintgens et al., 2013, Pitha et al., 1991). Des polymères anioniques ont été obtenus par ajout de substituants anioniques comme l'acide chloroacétique en figure 16e (Badruddoza et al., 2013), l'acide chlorosulfonique en figure 16f (El Fagui et al., 2014) ou l'anhydride succinique (Liu et al., 2014) dans le polymère neutre de CD. Leurs applications sont mentionnées dans le tableau 4.

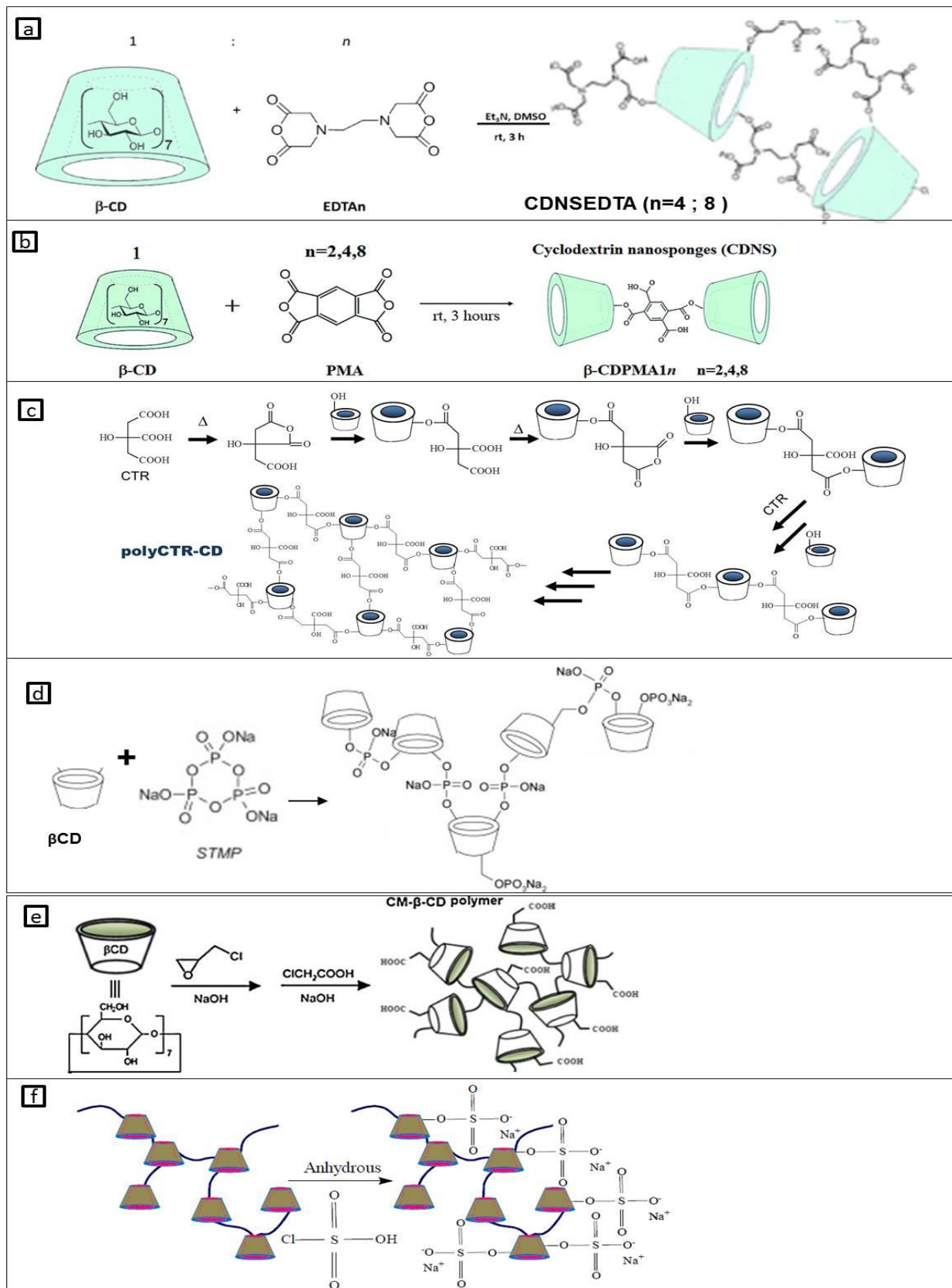


Figure 16: Synthèse de polymère anionique de CD en présence des groupement carboxyliques (a (Ferro et al., 2014), b(Rossi et al., 2015), c et e (Badruddoza et al., 2013)), des groupements phosphates (d (Wintgens et al., 2013)) et des groupements sulfonates (e (El Fagui et al., 2014))

Tableau 4 : Application des polymères de cyclodextrines non-ioniques et ioniques.

Nature	Agent réticulant	Agent substituant	Application
Polymère CD non-ionique	Epichlorohydrine (Renard et al., 1997, Crini et al., 1998)	-	Délivrance de principes actifs (bupivacaine (Jug et al., 2010), glipizide (Nie et al., 2011)), phénytoin (Uekama et al., 1985), cortéxolone (Volkova et al., 1999)
	Ethyléneglycol diglycidylether (EGDE) 1,4-Butanediol diglycidyl ether (BUGDE)	-	Libération prolongée de diclofenac (Rodriguez-Tenreiro et al., 2006). Etude les interactions entre les tensioactifs et polymère de CD (Cserhati et al., 1992)
	Isocyanate		Adsorption des acides aminés aromatiques (Tang et al., 2006a), adsorption des molécules organiques (Ma and Li, 1999), agents désamérisation (Binello et al., 2008)
	Anhydride		Préparation des polymères (Girek et al., 2000), adsorption des composés aromatiques (Gu et al., 2006), adsorption des métaux lourds (Berto et al., 2007)
	Carbonate de diphenyle		Agents désamérisation (Binello et al., 2008), délivrance de la dexaméthasone (Swaminathan et al., 2013)
	Carbonyldiimidazole		Délivrance de la tamoxifene (Torne et al., 2013, Trotta et al., 2012) et du resvératrol (Ansari et al., 2011)
	Epichlorohydrine	fluorescent	Détection de chloroforme dans l'eau (Ncube et al., 2014). Détection de molécule chimiques (Zohrehvand and Evans, 2005, Malanga et al., 2014)
Polymère CD anionique	Polyacide carboxylique (acide citrique, acide acrylique et acide BTCA) (Martel et al., 2005)	-	Complexation avec doxycycline (Bakkour et al., 2006), albendazole (Joudieh et al., 2009) ainsi que différents principes actifs (Danel et al., 2013), lentilles de contact (García-Fernández et al., 2013) et microréacteur de hydrogénation catalytique (Herbois et al., 2015)
	Sodium trimetaphosphate (STMP)		Application biomatériaux en tant que supports pour des molécules bioactives ou la régénération osseuse (Wintgens et al., 2013).
	Dianhydride de l'acide éthylène-diamine-tétra-acétique		Délivrance de l'ibuprofène (Ferro et al., 2014)
	Anhydride pyromellitique (Rossi et al., 2015)		Préparation de polymères (Trotta et al., 2014a), adsorption des métaux lourds (Li et al., 2007)
	Epichlorohydrine	Acide Chlorosulfonique	Libération contrôlée des molécules lipophiles (El Fagui et al., 2014)
	Epichlorohydrine	Acide chloroacétique	Préparation de polymères (Yang et al., 2013), adsorption des métaux lourds (Badruddoza et al., 2013)
	Epichlorohydrine	Anhydride succinique	Libération prolongée d'indométhacine (Liu et al., 2014)
Polymère CD cationique	Epichlorohydrine	Choline chloride	Délivrance de principes actifs : Naproxen (Li et al., 2004), butylparaben or triclosan (Qian et al., 2008), indométhacine (Xin et al., 2010)
	Epichlorohydrine	GTMAC	Séparation des énantiomères (Thuau et al., 1991), Etude de complexation avec les composés cosmétique et pharmaceutique (Layre et al., 2002)

II.4 Application de CD et ses polymères

Grâce aux propriétés spécifiques de CD mentionnées précédemment, elles sont utilisées dans différents domaines.

En pharmacie, les CD sont utilisés en formulation de principes actifs pour améliorer la solubilité de molécules peu solubles, la biodisponibilité et la stabilité d'une molécule. Les CD sont essentiellement employées dans la libération de principes actifs afin de permettre libération retardée ou contrôlée : par voie orale, parentérale, ophtalmique, nasale, rectal, dermique et transdermique (Loftsson and Brewster, 2010, Loftsson and Duchêne, 2007).

En agroalimentaire (Astray et al., 2009, Szente and Szejtli, 2004, López-Nicolás et al., 2012), les CDs sont utilisées sous le code E459 pour préserver les arômes lors du stockage ou leur manipulation, les protéger contre l'oxydation et la décomposition à la chaleur, et pour masquer les odeurs indésirables (cholestérol ou hexanal (López-de-Dicastillo et al., 2010)).

L'utilisation dans le domaine cosmétique (Marques, 2010) permet d'incorporer des parfums afin de contrôler la libération et d'augmenter la capacité d'adsorption et d'éviter une évaporation très rapide de ces substances volatiles.

La CD est utilisée dans le domaine de la chimie analytique surtout en chromatographie (chromatographie à haute performance en liquide, chromatographie capillaire, chromatographie en phase gazeuse et chromatographie à fluide supercritique) pour la séparation des produits chiraux ou des énantiomères qui permet de supprimer des produits secondaires ou indésirables (Xiao et al., 2012).

La CD est également étudiée dans le domaine biomédical comme les nanoparticules pour la délivrance de principes actifs ou gènes, les biocapteurs innovants pour le diagnostic moléculaire et l'imagerie médicale, les supports pour l'ingénierie tissulaire, les dispositifs médicaux (prothèses, cathéters, des greffons vasculaires, implants osseux).

En remédiation, des polymères ou matériaux à base de CD sont employés dans la décontamination de l'eau (Crini, 2005, Crini and Morcellet, 2002), des sols (Gruiz et al., 1996, Flaherty et al., 2013) et de l'air (Butterfield et al., 1996, Blach et al., 2008). Elles sont aussi utilisés pour la remédiation catalytique (Landy et al., 2012, Ternel et al., 2015, Herbois et al., 2015).

Les CD sont employées en tant qu'indicateurs de chiralité dans des réactions (halogénéation, oxydation des sulfures, réduction des céto-acides, epoxidation, addition de Michael, Diels-Alder, Wittig etc. (Breslow and Dong, 1998, Breslow and Zhang, 1992)).

III Systèmes multicouches

Ces auto-assemblages ou les multicouches de polyelectrolytes (polyelectrolyte multilayers : PEMs) permettent d'acquérir une surface multifonctionnelle et multidimensionnelle à l'échelle micro/nanométrique. Dans cette partie, nous présentons l'évolution, la préparation, les procédés, l'application et la stabilité des assemblages multicouches.

III.1 Assemblage multicouches

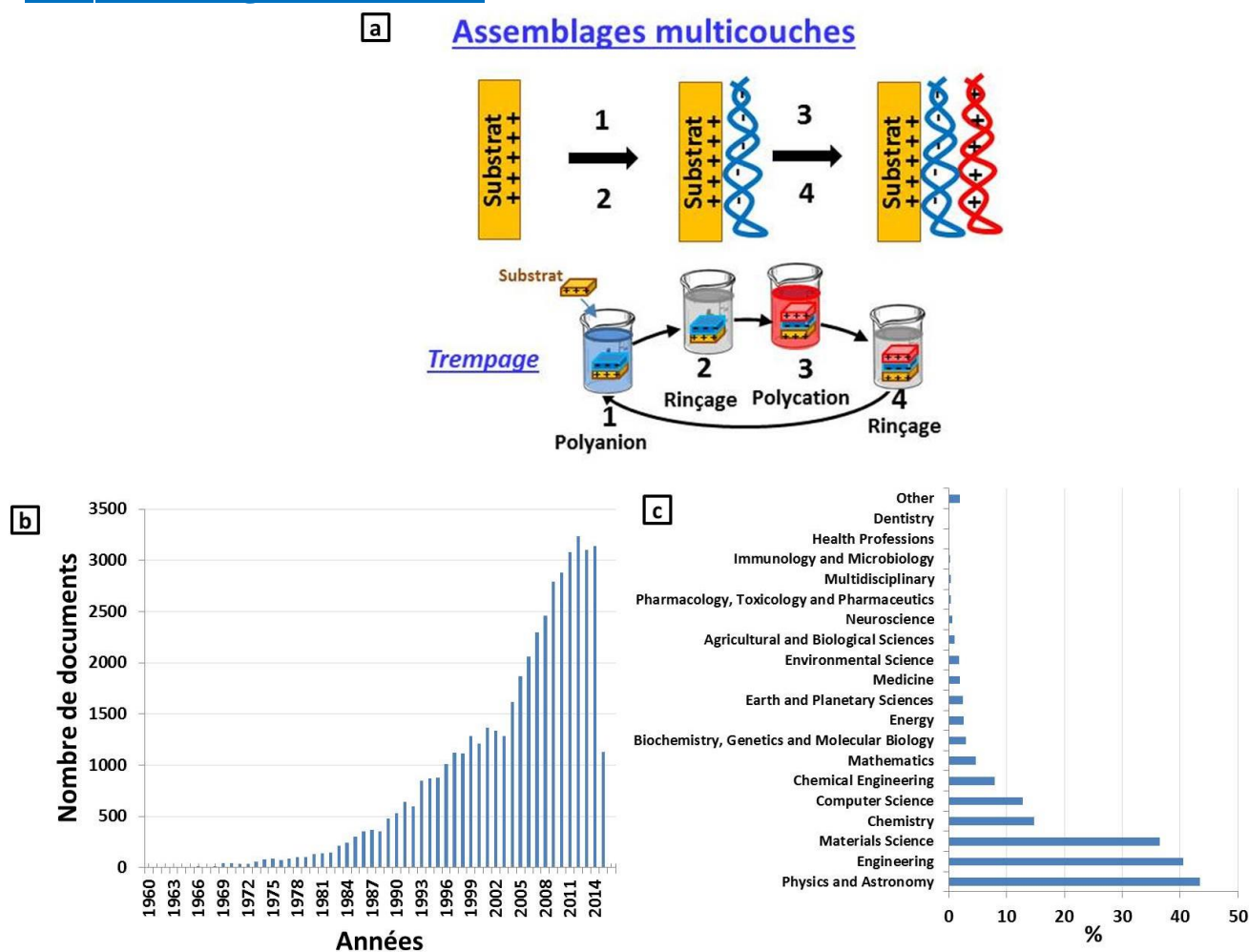


Figure 17 : (a) Assemblages multicouches par technique trempage (b) le nombre de documents par an et (c) les différents domaines concernant l'utilisation de technique LbL (mots-clés : Layer by Layer et multilayer, recherché sur Scopus le 10/06/2015)

Les polyelectrolytes sont des polymères ionisables (cationiques, anioniques ou amphotères (distribution des charges à la fois cationique et anionique)) avec un motif de répétition d'origine naturel ou synthétique. Ils sont aussi classés selon leur état d'ionisation ou dissociation : soit forts (indépendant du pH et la dissociation totale des charges), soit faibles

(dépendant du pH et de la dissociation partial des charges). Les assemblages multicouches peuvent être appliqués sur tous types de supports quelles que soient leur nature et leur géométrie (verre, quartz, silicium, titane, or et textile) et avec tous les polyélectrolytes disponibles (polyélectrolytes synthétisés : cationiques (PDADMAC, PEI, PAH) et anioniques (PSS, PAA, PMA) et polyélectrolytes naturels : cationiques (polylysine, chitosane) et anioniques (sulfate de dextrane, héparine, carboxyméthyl cellulose, gélatine)).

De grands efforts ont été consacrés au cours des dernières décennies au développement d'outils de modification de surface simples, peu coûteux et polyvalents. À cet égard, la technique de Layer-by-Layer (LBL) a été développée. Dès 1966, la construction multicouche entre des particules colloïdales cationiques et anioniques selon les interactions ioniques a été suggérée en premier par Iler. Un peu plus tard en 1980, Fromherz (Fromherz, 1980) a mentionné l'utilisation de cette idée pour déposer alternativement des protéines et des polyélectrolytes de charges opposées. Il est la première personne à citer que le changement de charge de la surface doit apparaître après chaque dépôt, ce qu'on traduit aujourd'hui par une compensation de charge. Malheureusement, il n'a pas apporté la preuve de la construction d'un tel film par manque de techniques de caractérisation adaptées à l'époque.

Au début des années 1990, G.Decher a développé la méthode d'assemblage couche par couche (Layer-by-Layer (LbL)) appliquée aux polyélectrolytes (Decher, 1997, Decher et al., 1998, Decher et al., 1992). Cela a conduit à la formation de films multicouches. Un substrat solide avec une surface plane chargée positivement est immergé dans une solution de polyélectrolyte anionique, la monocouche d'un polyanion est adsorbée et la charge de surface est inversée. Le substrat est alors rincé afin d'éliminer les résidus puis trempé à nouveau dans une solution de polyélectrolyte cationique. La nouvelle monocouche est ainsi déposée, puis rincée. En répétant les étapes d'une manière cyclique, les assemblages multicouches de ces deux polymères sont obtenus alternativement. Ce procédé est nommé « trempage ou dip-coating », (figure 17a). L'accumulation des films multicouches est suivie par spectroscopie UV et diffusion des rayons X aux petits angles (SAXS). Après la découverte des films LbL, le nombre de recherche dans différents domaines a connu une croissance exponentielle (voir figure 17b et figure 17c, basées sur une recherche sur Scopus entre 1960 et 2015).

III.2 Procédé de construction multicouches

Les assemblages multicouches se construisent généralement à travers une variété de méthodes de dépôt qui ont été déjà reportées dans la littérature (figure 18) afin de contrôler les propriétés des films tel que la croissance, l'épaisseur, l'hydrophobicité, l'hydratation, la mouillabilité, le gonflement, la stabilité, la rigidité, la morphologie de surface, l'adhésion cellulaire et les caractéristiques mécaniques ou biologiques. Elles dépendent également des autres paramètres d'assemblages comme les caractéristiques des polyélectrolytes ou les paramètres réactionnels. Les méthodes de dépôt sont classifiées en 5 catégories (Richardson et al., 2015).

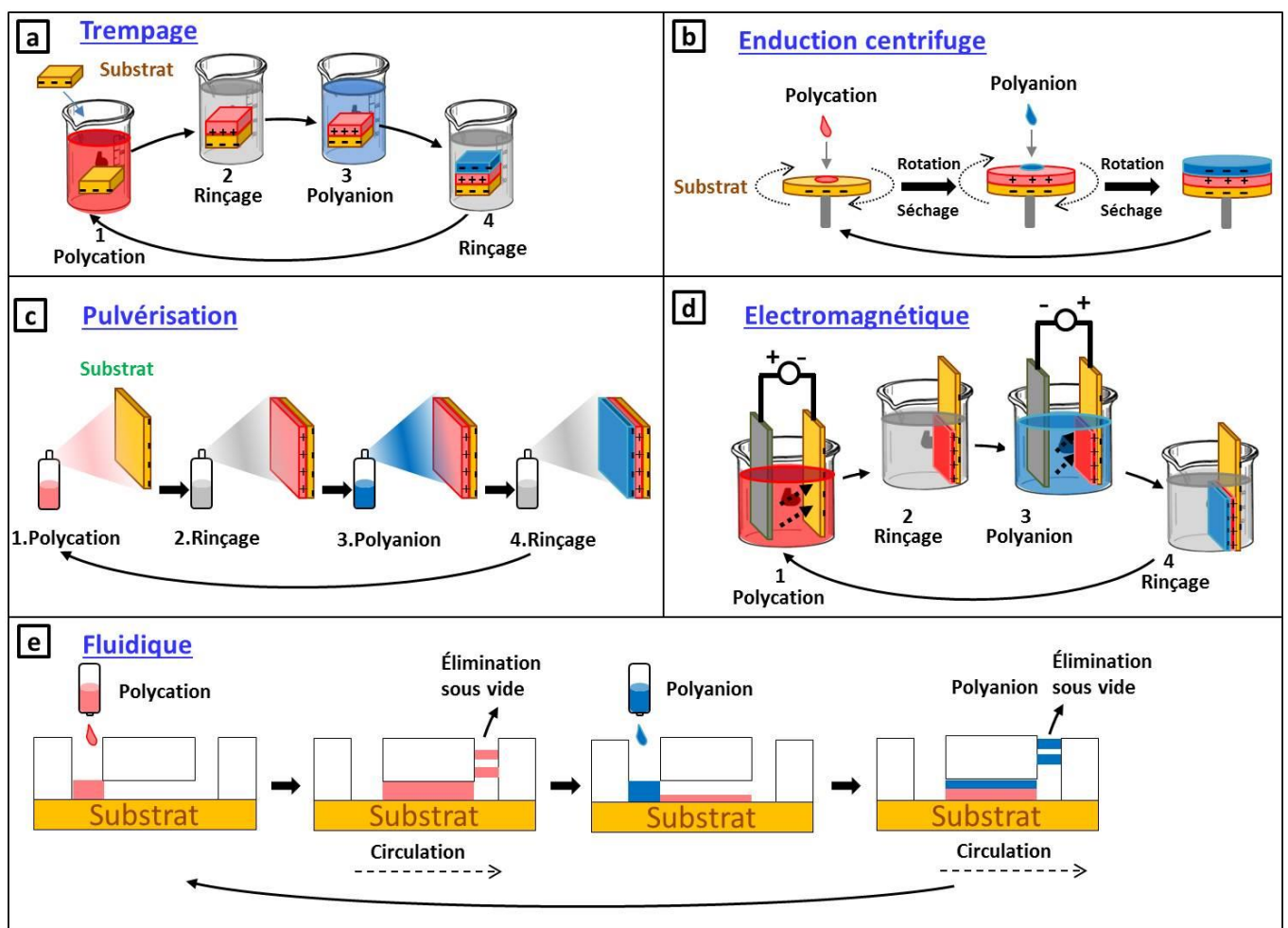


Figure 18: Méthode de dépôt des assemblages multicouches

D'après le tableau 5, le substrat utilisé peut être sous la forme plane ou non avec la taille variant de 10 nm à 1 m ce qui permet de déposer les assemblages à base de polymères et colloïdes. En fonction de la technique employée, le temps de création d'une couche est estimé entre <1 s et 24 heures en présence de système automatisé ou non. Par conséquent, les

propriétés des films multicouches sont dépendantes de la technique appliquée : épaisseur (<1-20 000 nm), rugosité (1-30 nm) et structure de films (interpénétré ou stratifié).

III.2.1 Trempage ou « dip-coating »

Cette méthode présente pour avantage d'être applicable à tous types de substrats quelle que soient leur nature et leur géométrie. Par contre le trempage demande un temps de réalisation relativement long, ce qui complique les applications au niveau industriel pour les grands substrats, il nécessite une quantité relativement importante de matériaux pour chaque étape de dépôt et entraîne la formation des films avec une structure interpénétrée donc moins ordonnée (figure 18a). Des variables de cette méthode sont également reportées dans le tableau 5.

III.2.2 Enduction centrifuge ou « spin-coating »

Ce procédé consiste à déposer une solution sur un substrat en mettant celui-ci en rotation. Il a été employé en première en 2001 (Lee et al., 2001). La goutte déposée s'étale de façon uniforme sous l'effet de la force centrifuge (figure 18b). L'excès de solvant est évaporé et une autre solution contenant des charges opposées à la première solution est ensuite déposée de la même façon. Le temps nécessaire pour la formation de multicouches est très rapide, moins une minute. L'épaisseur et la rugosité de couches obtenues dépendent de plusieurs paramètres tels que la vitesse de rotation, la volatilité du solvant, la viscosité de la solution et d'autres paramètres évoqués dans le cas du trempage (tableau 5). Le film obtenu est beaucoup plus mince, organisé et stratifié, le transfert de ce procédé de laboratoire vers l'échelle industrielle en est facilité. Ce procédé est très utilisé dans l'industrie du semi-conducteur et il est un choix attrayant pour fabriquer des assemblages multicouches. La tenue mécanique des films par ce procédé est meilleure comparée à la technique de trempage (Jiang et al., 2004).

III.2.3 Pulvérisation ou « spray-coating »

Ce procédé, déjà utilisé dans l'industrie des revêtements inorganiques (Levy 1970, O'Brien et al., 2001) ou organiques (Winterton et al., 2002), a été présenté pour la première fois dans les assemblages multicouches en 2000 (Schlenoff et al., 2000).

Les solutions sont pulvérisées de manière alternées, en appliquant le principe de LbL, sur un substrat posé verticalement ou un peu incliné ce qui permet le drainage de l'excès de

solution (figure 18c). Le substrat est ensuite rincé. L'inconvénient de cette méthode est une consommation élevée de solution due au drainage. De plus, cette solution n'est pas réutilisable et non adaptable pour les composés coûteux. L'épaisseur et la rugosité de couches obtenues sont comparables à celles obtenues par la méthode de trempage et dépendent de plusieurs paramètres tels que le flux, la distance de pulvérisation etc, tableau 5.

III.2.4 Electromagnétique

L'utilisation de champs électrique et magnétiques ont été rapportés pour la première fois en 2001 pour effectuer des assemblages multicouches (Sun et al., 2001, Hong et al., 2004, Rydzek et al., 2010). L'électrodéposition consiste à revêtir des électrodes immergées dans une solution de polyélectrolyte sous l'application d'une tension ; elle est obtenue par des réactions d'oxydoréduction ou un changement de pH (figure 18d). Les électrodes sont ensuite lavées et placées dans une solution d'un polymère de charge opposée, les polarités des électrodes sont inversées et le processus est ensuite répété (Van Tassel, 2012). Généralement, les films obtenus sont plus épais et plus denses que les films préparés par d'autres méthodes d'assemblage LbL (Shi et al., 2003, Richardson et al., 2013), tableau 5. Ce procédé est un choix alternatif pour l'élaboration des assemblages.






III.2.5 Fluidique

L'assemblage fluidique peut être utilisé pour élaborer des multicouches avec des canaux fluidiques en figure 18e (Wang et al., 2011, Castleberry et al., 2014, Priest et al., 2008). Ce procédé consiste à utiliser une pression (on peut également travailler sous vide) pour faire circuler consécutivement à travers les canaux des solutions de polyélectrolytes puis des solutions de lavage (5-10 min pour une couche de 1,2 nm (Reyes et al., 2004)), qui peuvent être le composant fluidique (sous la forme tube ou capillaire) ou le réseau microfluidique désigné (Raman et al., 2014, Madaboosi et al., 2012).

L'assemblage fluidique ressemble fortement au procédé de trempage lorsque des solutions de polymères sont restés statiquement en contact avec le substrat pendant plus de 10 min (Katayama et al., 1998, Barker et al., 2000). La force capillaire peut également être utilisée pour attirer des solutions de polymères par l'intermédiaire des microfluidiques en plaçant des gouttelettes de solution à entrées fluidiques, suivi par le filage du substrat pour éliminer la solution, ce qui permet de déposer 1,2 nm d'épaisseur en moins de 2 min (Jang et al., 2003), tableau 5.

Chapitre I : Bibliographie

Ce procédé permet de former les multicouches sur des surfaces difficilement accessibles à d'autres méthodes (par exemple, à l'intérieur des capillaires), offre de nouvelles façons pour un motif spécifique (par exemple, la surface masquée avec un canal fluïdique), et augmente la capacité des assemblages multicouches industrielles (diminution de la consommation de réactif). Ces avantages rendent attractive cette méthode pour de nombreuses applications.

LbL ASSEMBLY TECHNOLOGY	BUILDING BLOCKS			PROCESS PROPERTIES		NANOFILM PROPERTIES		
	Substrates	Substrate sizes*	Layer materials	Time per layer	Automated (current status)	Layer thickness, nm†	Roughness, nm	Layer structure
Immersive		10 nm-1 m		10 s-12 h		<1-15	1-20	Interpenetrated
 Dipping (2, 25)	Planar	1-100 mm	Polymers, colloids	10-30 s (32) or 10-20 min‡ (26)	Yes	1-2 (25, 26)	1-10 (44, 49)	
Dewetting (8)	Planar	1-10 mm	Polymers, colloids§	30-60 s (8)	No	1-2 (8)	NR	
Roll-to-roll (9)	Flexible planar	100 mm-1 m	Polymers	2-5 min (9, 34)	Yes	1-15 (9, 34)	15-20 (9, 34)	
Centrifugation (5, 6)	Particulate	10 nm-10 µm	Polymers, colloids	20+ min (5, 6)	No	1-2 (5, 10)	3-10 (23, 94)	
Calculated saturation (12, 37)	Particulate	100 nm-1 µm	Charged polymers	5-10 min (39)	No	1-2 (39)	NR	
Immersive immobilization (33)	Particulate	100 nm-1 µm	Polymers	40-50 min (33)	Yes	<1 (33)	NR	
Creaming (11)	Emulsion	10 nm-1 µm	Polymers, colloids	0.5-12 h (11, 36)	No	1-7 (36, 38)	NR	
Spin		1-100 mm		10 s-5 min		<1-2	1-10	Stratified
 Spin (14, 42, 43)	Planar	1-100 mm	Polymers, colloids	10-60 s (43)	Yes	<1-2 (42)	1-10 (44, 46)	
High gravity (15)	Planar	1-10 mm	Polymers, colloids	20 s-5 min (15, 49)	No	NR	1-2 (49)	
Spray		10 nm-10 m		<1 s-24 h		<1-15	1-10	Stratified
 Spray (16, 52)	Planar	1 mm-10 m	Polymers	<1-30 s (59)	Yes	<1-5 (16, 51)	1-10 (51)	
Atomization (17)	None	10-100 nm	Charged polymers	12-24 h (17)	No	5-15 (17)	NR	
Spray immobilization (63)	Particulate	10-100 nm	Polymers	5-10 s (63)	Yes	2-4 (63)	NR	
Electromagnetic		10 nm-100 mm		1 s-20 min		1-20,000	10-30	Stratified
 Electrodeposition (18, 20, 67, 73)	Planar	1-100 mm	Polymers, colloids	1 s-20 min¶ (65, 71)	No	2-20,000¶ (20, 67, 71)	10-30 (66, 70)	
Magnetic (19, 76)	Planar and Particulate	10 nm-100 mm	Polymers, colloids	15-20 min (19, 76)	No	1-2 (19, 75)	NR	
Electro-immobilization (13)	Particulate	10 nm-1 µm	Charged polymers	15-20 min (13)	No	2-3 (13)	NR	
Fluidic		100 nm-100 mm		10 s-45 min		<1-3	1-11	NR
 Microfluidic planar (22)	Planar	10 µm-100 mm	Polymers	1-15 min (80, 81)	Yes	<1-3 (83, 84)	1-10 (80, 84)	
Microfluidic particulate (96-98)	Particulate	100 nm-10 µm	Polymers	10-60 s (96-98)	Yes	1-3 (96, 97)	NR	
Fluidized bed (23)	Particulate	1-10 µm	Polymers	3-5 min (23)	No	2-3 (23)	9-11 (23)	
Fluidic immobilization (86, 87)	Particulate	100 nm-1 µm	Polymers, colloids	5-45 min (86, 87)	No	1-2 (87)	NR	
Vacuum/filtration (21)	Particulate and fragile**	100 nm-1 µm	Polymers	10-20 min (95)	Yes	1-2 (94)	5-10 (94)	

*Typical order of magnitude substrate sizes are indicated. Larger or smaller substrate sizes are possible. †Typical thicknesses per layer for linearly growing films are indicated. Per-layer thicknesses for exponentially growing films vary widely, given the nonlinear growth profile. ‡Time with or without agitation, respectively. §Dewetting can make use of materials that are usually difficult to layer (e.g., materials with low charge or with low surface contact). ||Centrifugation processing time is highly variable due to manual pipetting and resuspension steps. ¶Thickness is dependent on time. **Fragile substrates, such as mammalian cells, can be layered using fluidic filtration.

Tableau 5 : Technologie de LbL avec les méthodes de dépôt diverses (Richardson et al., 2015)

III.3 Interactions mises en jeu dans un assemblage multicouche

Depuis les travaux de Decher *et al*, il a été suggéré que l'interaction électrostatique entre des molécules de charges opposées était l'interaction principale pour l'élaboration de films multicouches. L'adsorption de polyélectrolytes ne serait donc possible que lorsque le substrat que l'on souhaite revêtir ne possède pas une charge de surface globalement neutre. Par la suite, il a été démontré que l'accumulation de films multicouches ne se limite pas seulement aux matériaux qui présentent une charge de surface. En plus de l'interaction électrostatique, d'autres interactions peuvent jouer un rôle important dans la fabrication de films multicouches avec des propriétés et des fonctionnalités bien définies ; par exemple les liaisons hydrogènes, les interactions hydrophobes, les interactions de transfert de charge, les liaisons de coordinations, les interactions de type hôte-invité, les liaisons covalentes, les interactions de type stéréo-complexation et les interactions de type sol-gel (Borges and Mano, 2014). Les interactions mises en jeu dépendent de la nature des composés dans l'assemblage multicouche.

III.3.1 Assemblage par interactions électrostatiques

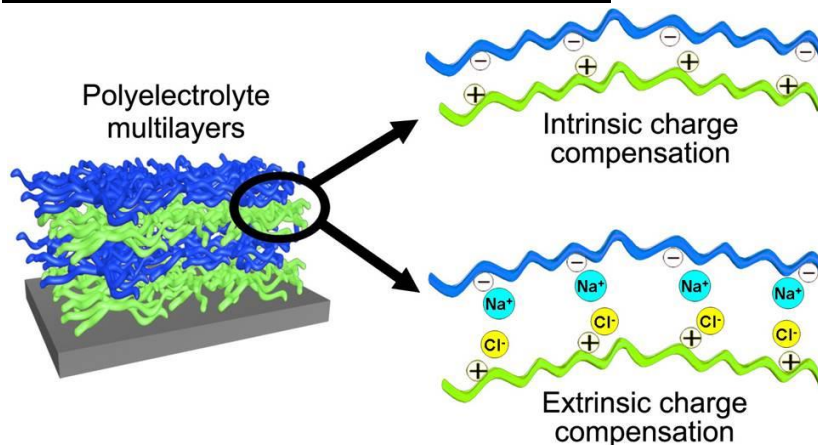


Figure 19 : Compensation de charge intrinsèque et extrinsèque dans les assemblages (Rydzek et al., 2015)

Ce sont les interactions principales mises en jeu. Elles sont caractéristiques des polyélectrolytes (nature, densité de charge et conformation etc.) et des paramètres réactionnels. Il est à noter que la conformation d'un polyélectrolyte résulte d'un équilibre entre les forces électrostatiques de répulsion favorables à l'élongation (diminution des interactions entre les monomères) et les force élastiques qui s'opposent aux précédentes (maximisation de l'entropie de configuration). La présence de charges sur la chaîne polymère, qui permet de changer sa flexibilité, ainsi que la présence de contre-ions jouent aussi un rôle essentiel dans les interactions électrostatiques. La réaction de complexation entre un

polycation et un polyanion provoque une combinaison des contre-ions (voir l'équation (1) ci-dessous : **Pol** réfère aux polyélectrolyte et **C** réfère aux contre-ions (Dubas and Schlenoff, 1999)), il s'agit d'un phénomène d'échange d'ions conduisant à une contribution entropique importante pendant la construction des films (v. Klitzing, 2006).



Les charges sont neutralisées intrinsèquement ou extrinsèquement. La compensation de charge intrinsèque se réfère à l'appariement des charges entre les polyélectrolytes, tandis que les charges neutralisées par compensation extrinsèques sont jumelés avec un contre-ion de la solution dans le milieu (Farhat and Schlenoff, 2001, Schlenoff and Dubas, 2001), voir figure 19.

III.3.2 Assemblage par liaisons hydrogènes

La liaison hydrogène est une force intermoléculaire qui possède une énergie de 2 à 50 kcal.mol⁻¹(Kollman, 1977). L'élaboration des films multicouches par liaisons hydrogènes entre des polymères chargés et neutres a été publié en 1997 (Stockton and Rubner, 1997) : Spectroscopie infrarouge permet en évidence la présence importante de liaison hydrogène dans l'assemblage entre la polyaniline et des polymères hydrosolubles non-ioniques comme poly(oxyéthylène), poly(acrylamide), poly(vinylpyrrolidone), poly(vinyl alcool).

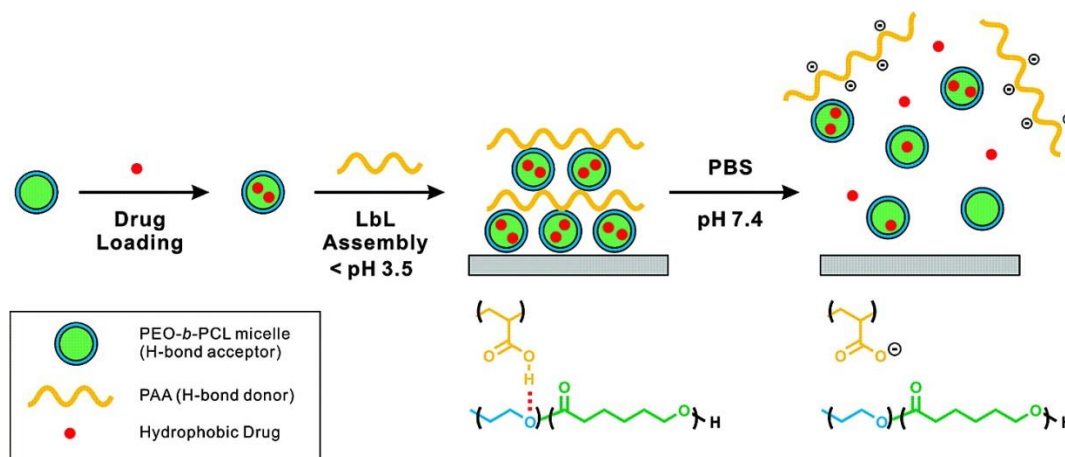


Figure 20 : Assemblage multicouche par liaisons hydrogènes entre le (poly(oxyde d'éthylène)-bloc-poly(ε-caprolactone)) et le poly(acide acrylique) pour la délivrance de principes actifs (Kim et al., 2008)

Les liaisons hydrogènes sont très sensibles à leur environnement tel que le pH, la force ionique, la température ou un champ électrique. Les assemblages formés par cette voie sont donc réversibles. Les films poly(méthacrylique acide)-poly(vinylpyrrolidone), poly(acide méthacrylique)-poly(oxyéthylène) et poly(acide acrylique)-poly(oxyéthylène) sont stabilisés jusqu'au pH = 6,9 ; 4,6 et 3,9 respectivement. La déconstruction de l'assemblage est liée à la

croissance du taux ionisation des groupements carboxyliques conduisant à la répulsion entre les charges négatives et la rupture des liaisons hydrogènes (Sukhishvili and Granick, 2000, Sukhishvili and Granick, 2002). Pour améliorer la stabilité sur une large gamme de pH, des copolymères à blocs constitués de poly(acide methacrylique)-poly(diméthylallylamonium) sont employés pour assurer la stabilité à fort pH par interactions électrostatiques (Kharlampieva and Sukhishvili, 2003). D'autres stratégies pour stabiliser des films poly(acide acrylique)-polyacrylamide élaborés par cette voie consistent en une réticulation thermique ou photochimique. Le traitement thermique des multicouches entraîne une formation partielle des fonctions imides entre les groupements acides carboxyliques et amides, l'introduction des groupements photoréactifs dans l'assemblage rend le film insoluble par réticulation sous irradiation UV (Yang and Rubner, 2002). Autre exemple, l'assemblage par liaison hydrogène entre des micelles de polymère biodégradable (poly(oxyde d'éthylène)-bloc-poly(ϵ -caprolactone)) et le poly (acide acrylique) est préparé comme véhicule de libération contrôlée de principes actifs antibactériens (triclosane) contre *Staphylococcus aureus* (Kim et al., 2008), figure 20.

III.3.3 Assemblage par interactions hydrophobes

La contribution des interactions hydrophobes est importante lors du phénomène d'adsorption entre les polyélectrolytes et le substrat chargé, l'entropie du système est favorisée par la libération de molécules d'eau lorsque des parties hydrophobes des chaînes de polyélectrolytes établissent un contact avec la surface (Kotov, 1999). Les polyélectrolytes avec un caractère hydrophobe sont sous forme associée en solution en se rapprochant de la surface chargée du substrat afin de s'y adsorber et de former un film stable (Cochin and Laschewsky, 1999). Il est possible d'utiliser une surface non-chargée (mais hydrophobe) pour promouvoir l'adsorption (Delcorte et al., 1996, Delcorte et al., 1997).

L'assemblage entre des protéines et des polyélectrolytes sur des surfaces d'or, suivi par QCM et des techniques électrochimiques, suggèrent des interactions hydrophobes impliquées dans le processus d'accumulation (Lojou and Bianco, 2004). L'assemblage entre des polysaccharides amphiphiles anioniques (carboxymethylpullulan) avec différents polycations montre que la présence d'interactions hydrophobes contribue fortement à stabiliser les couches adsorbées car la plupart des interactions hydrophobes intra et/ou intermoléculaires entre les macromolécules sont conservées au cours du processus d'adsorption (Guyomard et al., 2005). Enfin, la fabrication de revêtements LbL de biomatériaux, à base de la fibroïne de

soie, par interactions hydrophobes a montré l'obtention de films stables dans des conditions physiologiques. Ces biomatériaux ont permis l'adhésion des cellules de la moelle osseuse humaine ainsi que leur croissance et leur différenciation (Wang et al., 2005), figure 21.

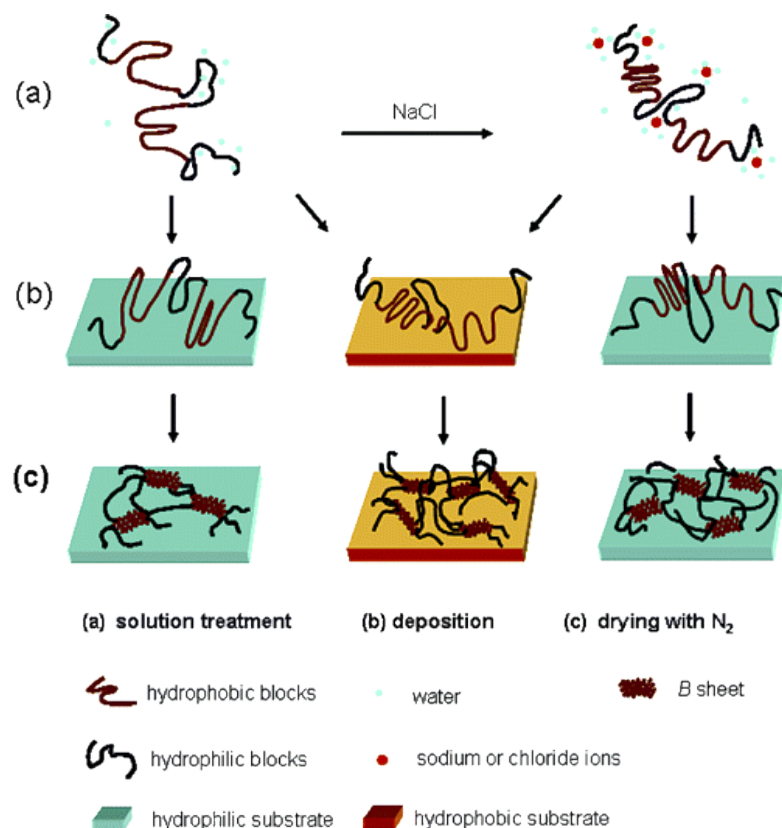


Figure 21 : Assemblage multicouches de la fibroïne de soie par interactions hydrophobes (Wang et al., 2005)

III.3.4 Assemblage par interactions de transfert de charge

Les films multicouches peuvent également être obtenus par l'adsorption alternée de deux macromolécules, qui présentent les groupements accepteur/donneur d'électrons selon les interactions de transfert de charge. Cette invention fut exposée pour la première fois en 1997 (Shimazaki et al., 1997). La déposition des deux polymères non-ioniques entre le poly[2-(9-carbazolyle) méthacrylate d'éthyle] et le poly[2-[(3,5-dinitrobenzoyle)oxy] méthacrylate d'éthyle] sur une surface d'or ou un substrat de quartz est basé sur l'interaction de transfert de charge entre ces groupements (fonction carbazolyle comme donneurs d'électrons et fonctions benzoyle comme accepteur d'électrons) à l'interface solide-liquide, elle est suivie par la résonance plasmons de surface, voir figure 22.

Les films minces entre la diazoresine et le poly (anhydride maléique-co-styrène) sur un substrat de quartz ont été fabriqués par ce même concept, mais ils se sont révélés très sensibles à la lumière. Leur stabilité à l'égard des solvants polaires a été augmenté grâce à l'irradiation UV (Zhang and Cao, 2001b). Selon le même procédé, l'assemblage entre le

poly(dithiafulvene) et le poly(hexanyle viologène) sur l'oxyde d'étain dopé à l'indium conduit à une anisotropie électrique dans les directions parallèles et perpendiculaires aux surfaces du film et permet d'incorporer des nanoparticules d'or, ou d'autres nanoparticules des métaux ou de semi-conducteurs (Wang et al., 2003). Ces films peuvent être utilisés pour développer des matériaux intéressants pour des applications dans l'électronique, la photonique et les appareils d'optique.

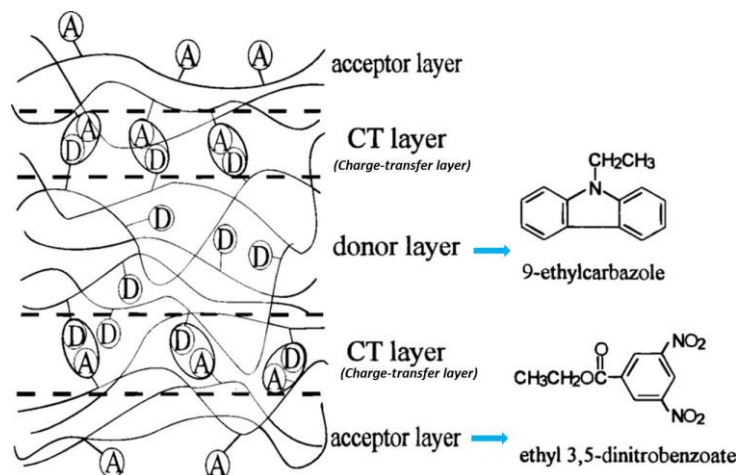


Figure 22: Assemblage multicouche entre les polymères portant des groupements donneurs/accepteurs par interactions de transfert de charge (Shimazaki et al., 1997)

Dans ce type des interactions non-covalent, on peut inclure les assemblages par liaisons halogènes entre le donneur de liaison d'halogène (l'iode ou du brome) et l'accepteur de liaison halogène (base de Lewis : un dérivé d'amine ou la pyridine) (Hassel, 1970, Legon, 1999). Les assemblages entre le poly (4-(4-iodo-2,3,5,6-tétrafluorophénoxy) acrylate de butyle) et de poly (4-vinylpyridine) ont été confirmées par spectroscopie UV et microbalance de quartz, la présence de liaison halogène est identifiée par spectroscopie de photoélectrons rayon-X (Wang et al., 2007).

III.3.5 Assemblage par liaisons de coordinations

Les interactions de chimie de coordination sont établies entre une grande variété d'ions métalliques et des ligands organiques ou inorganiques afin de préparer des matériaux avec des propriétés bien définies (nanostructurées, multidimensionnelles, polyfonctionnelles, hybrides) (Wang et al., 2012). L'utilisation de ce concept a commencé en 1998 (Xiong et al., 1998), l'assemblage du poly (4-sulfonate de styrène de cuivre) et du poly (4-vinylpyridine) sur le substrat de quartz est caractérisé par spectroscopie UV. L'exposition de ces films au gaz H₂S permet de préparer les nanoparticules (Cu₂S) in situ en faisant réagir au gaz avec les ions de cuivre (Cu²⁺), figure 23.

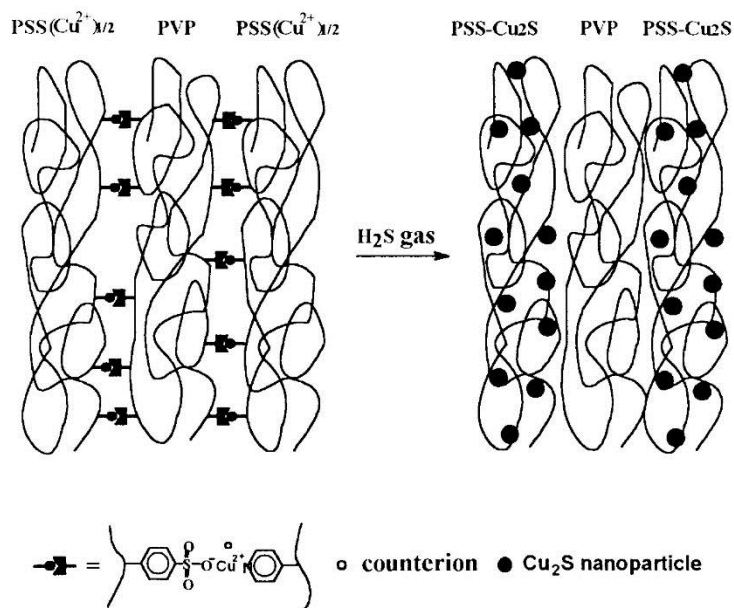


Figure 23 : Assemblage multicouches du poly (4-sulfonate de styrène de cuivre) et du poly (4-vinylpyridine) par liaisons de coordination (Xiong et al., 1998)

Les applications de ces matériaux sont répandues dans la détection, la séparation, membranes poreuses intelligentes, la catalyse, l'administration de principes actifs ou gène, l'optoélectronique, la luminescence, l'énergie et l'adsorption de gaz (Cheetham et al., 2006, Kuppler et al., 2009, Czaja et al., 2009, Bétard and Fischer, 2012, Kreno et al., 2012).

III.3.6 Assemblage par interactions de type supramoléculaire

Les films multicouches peuvent également être fabriqués de manières hautement sélectives et spécifiques selon des interactions hôte-invité avec une reconnaissance moléculaire. Les molécules hôtes ont déjà été évoquées dans la partie I.2.2, (par exemple, les cyclodextrines, cucurbiturils, calixarènes, pillararènes, les éthers couronnes et les porphyrines etc.). Les invités peuvent être par exemple la ferrocène, l'adamantane, l'azobenzène etc. Celles-ci comprennent aussi la reconnaissance moléculaire des molécules biologiques comme l'avidine-biotine (Anzai and Nishimura, 1997), les anticorps-antigène (Bourdillon et al., 1994, Bourdillon et al., 1995), des interactions de lectine-hydrate de carbone (Lvov et al., 1995, Anzai et al., 1998), ainsi que l'hybridation d'ADN (Hou et al., 2005, Johnston et al., 2005, Johnston et al., 2006).

Cette pensée est abordée en 1993 (Muller et al., 1993), lorsque l'assemblage entre deux protéines (biotine et streptavidine) est accompli pour leur reconnaissance moléculaire spécifique et mutuelle. Le type d'anticorps-antigène est réalisé dans le but de développer des

biocapteurs formés de multicouches de glucose oxydase sur un substrat de carbone (Bourdillon et al., 1994, Bourdillon et al., 1995).

L'utilisation de ce concept permet d'assembler des calixarènes et des colorants lipophiles (Zhang and Cao, 2001a). Les associations entre la β -cyclodextrine avec le ferrocène ($K=10^{3.2}$) ou l'adamantane ($K=10^{4.5}$) en assemblage multicouches (Rekharsky and Inoue, 1998, Godinez et al., 1995) ont été développés pour des dispositifs de détection (Crespo-Biel et al., 2005), l'utilisation dans le domaine biomédical ou les biotechnologies (Van der Heyden et al., 2006), les microcapsules stimulables de la libération des biomolécules. (figure 24, (Wang et al., 2008, Li et al., 2011).

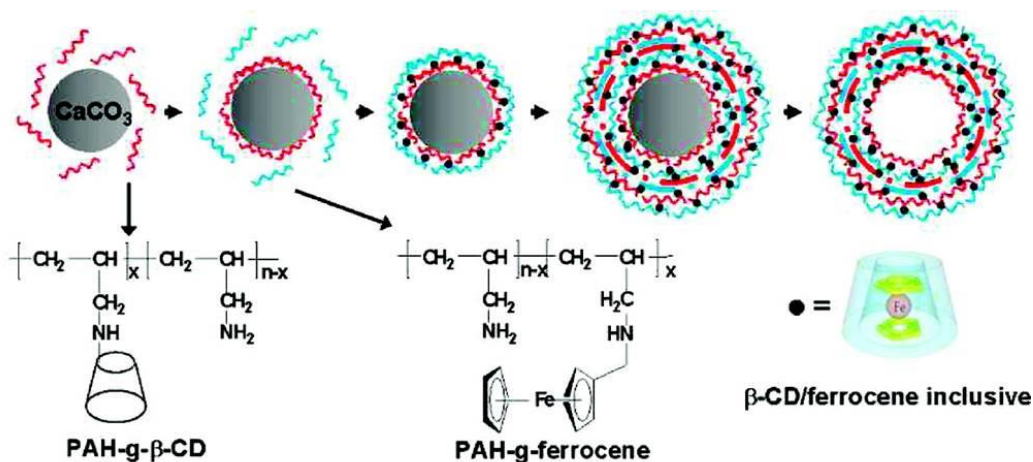


Figure 24 : Assemblage multicouche de la même polyélectrolyte modifiée avec la β -cyclodextrine et le ferrocène sur les particules de carbonate par interactions hôte-invité (Wang et al., 2008)

III.3.7 Assemblage par liaisons covalentes

L'assemblage par liaisons covalentes est basé sur les interactions intermoléculaires capables d'incorporer plusieurs groupements fonctionnels dans les films multicouches en faisant réagir les groupements restants afin d'obtenir une structure bien désignée et multifonctionnelle. Le premier exemple ce type d'assemblage à base de dendrimères fonctionnels et d'un copolymère réactif de l'anhydride maléique (Gantrez) a été effectué en 1997 (Liu et al., 1997), voir figure 25a. La fabrication des colloïdes core-shell et les capsules creuses entre la m-méthylphénol formaldéhyde et la N-méthyl-2-nitrodiphénylamine-4-diazoressine est effectuée par cette technique et caractérisée par microscope électronique à transmission (Zhang et al., 2003).

Dans cette catégorie, les films multicouches peuvent être assemblés par la chimie 'click' ce qui est la formation de fonctions triazoles en faisant réagir les fonctions alcynes avec les groupements azides et il présente un rendement très élevé dans des conditions

douces. Cette réaction est identifiée comme une cycloaddition 1,3-dipolaire (Huisgen, 1963b, Huisgen, 1963a). La combinaison de la chimie ‘click’ dans l'assemblage offre un certain nombre d'avantages significatifs : le bon rendement dans les conditions modérées, la stabilité des liaisons vis-à-vis à l'hydrolyse, l'oxydation ou réduction et l'application très vaste avec des matériaux (Such et al., 2006).

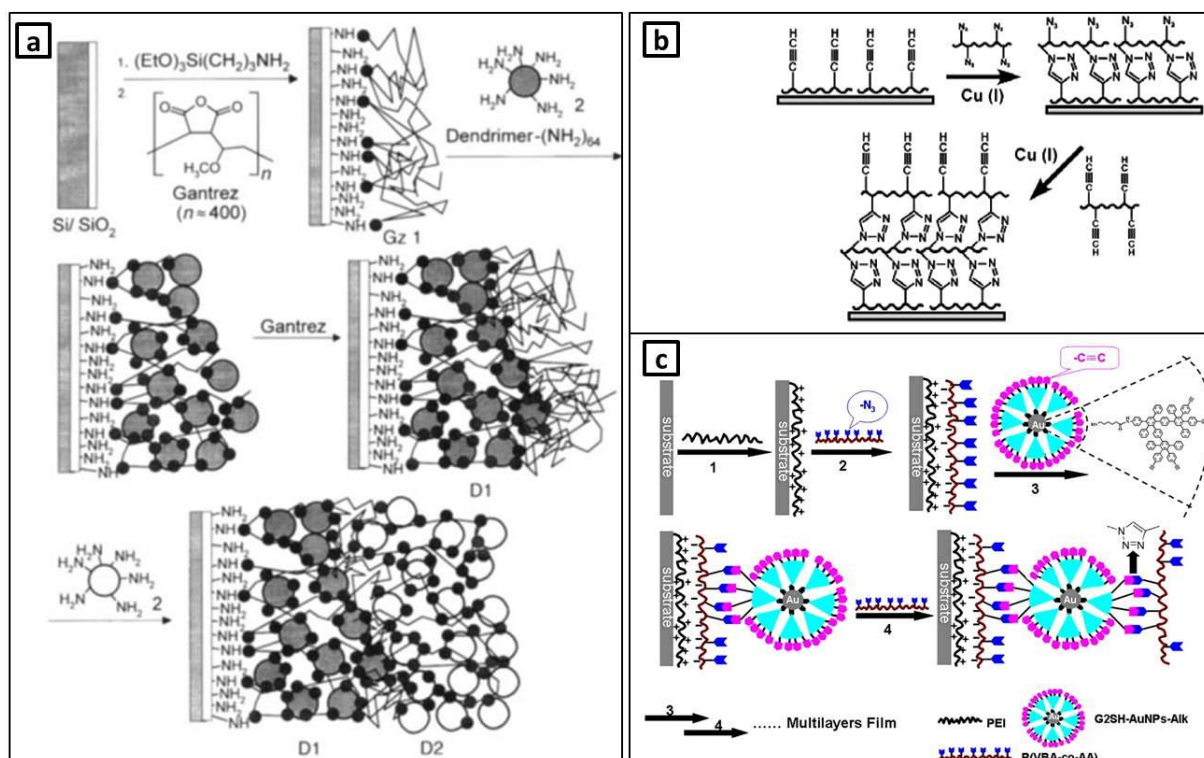


Figure 25: Assemblage multicouche par les liaisons covalentes (a)(Liu et al., 1997) et par la chimie de ‘click’ (b) (Such et al., 2006) et (c) (Li et al., 2013)

L'assemblage de polyélectrolytes est également permis par la chimie ‘click’ entre le poly(acide acrylique), fonctionnalisé par des groupements alcynes ou azides par polymérisation radicalaire, sur le substrat (le quartz, le silicium et l'or) en figure 25b (Such et al., 2006, Such et al., 2007)), il est suivi par la spectroscopie UV. Ce concept est aussi cité en électrochimie pour élaborer une électrode fonctionnelle avec le poly(acide acrylique) fonctionnalisé (Rydzyk et al., 2010), en biomédical pour favoriser l'adhésion et la croissance cellulaire sur les peptides fonctionnalisés avec différents polymères (Kinnane et al., 2009) et en nanotechnologie pour préparer les nanoparticules à base des dendrimères polyphénylènes en figure 25c (Li et al., 2013).

III.3.8 Assemblage par interactions du type stéréocomplexation

Les stéréocomplexes sont basées sur la combinaison de polymères structurellement bien définis dans certains solvants et sont fabriqués par liaisons Van Der Waals entre les polymères pour des applications potentiels dans la chimie des polymères de surface et de la biomédecine, ils sont déjà reportés dans la littérature (Watanabe et al., 1961, de Boer and Challa, 1976, Lohmeyer et al., 1978, Spěváček and Schneider, 1987).

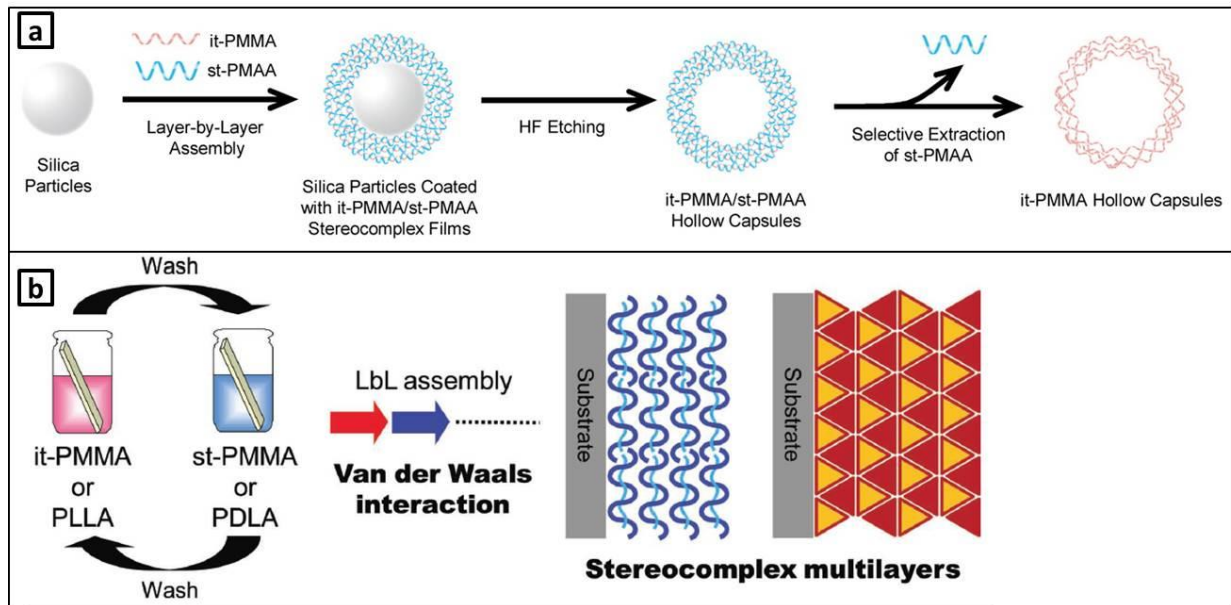


Figure 26 : Assemblage multicouche par interactions du type stéréocomplexation sur les matériaux (a) sphériques (Kida et al., 2006) et (b) planes (Matsusaki et al., 2012)

À cet égard, des assemblages de ce type comme le poly(méthacrylate) (Hamada et al., 2001, Serizawa et al., 2000, Kamei et al., 2009) et le poly(lactide) (Serizawa et al., 2001, Arikawa et al., 2006, Serizawa et al., 2003, Matsusaki et al., 2012) sur un substrat sont en cours de développement. Les films à base du poly(méthacrylate) peuvent être utilisés pour détecter efficacement les interactions anticorps-antigène, pour immobiliser des enzymes (Matsuno et al., 2007, Serizawa et al., 2007) et utilisés en tant que capsules creuses de molécules actives (Kida et al., 2006, Kida et al., 2012). Les films à base du poly(lactide) sont largement employés pour plusieurs applications biomédicales telles que l'ingénierie tissulaire, la libération de principes actifs et la préparation des enzymes artificiels (Serizawa et al., 2004, Tsuji, 2005, Serizawa et al., 2006, Arikawa et al., 2007), voir figure 26.

III.4 Paramètres réactionnels dans l'assemblage multicouche

Plusieurs paramètres tels que la température, la force ionique, les caractéristiques des polyélectrolytes influencent les propriétés spécifiques des assemblages multicouches (la croissance des films, la morphologie etc.)

III.4.1 Régime de croissance des films multicouches

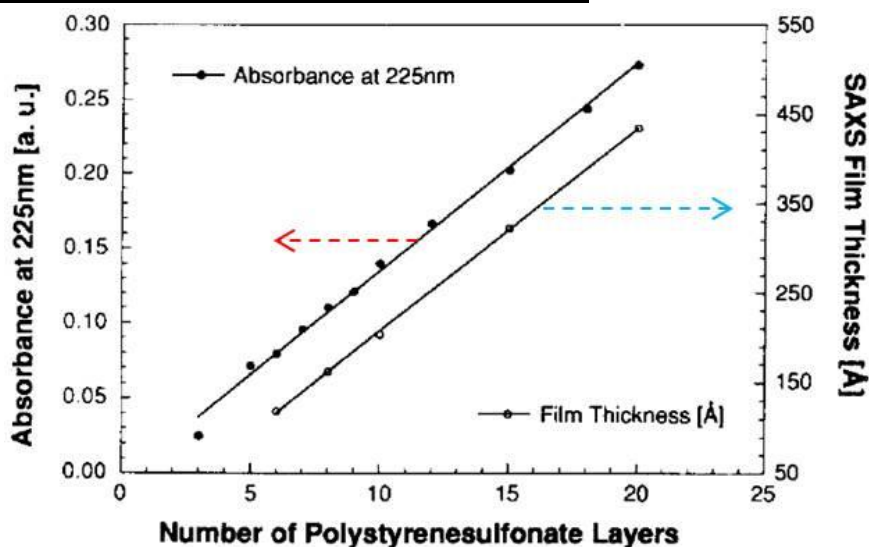


Figure 27 : Croissance linéaire des assemblages multicouches PSS/PAH (Decher et al., 1992)

Le mécanisme, la structure et la croissance des assemblages multicouches dépendent bien des paramètres réactionnels comme les caractéristiques des polyélectrolytes utilisés ainsi que les conditions opératoires. Jusqu'à présent, il existe deux modes de croissance recensés dans la littérature : la croissance linéaire et la croissance exponentielle. Il est possible d'observer également la transition entre deux régimes pendant l'assemblage.

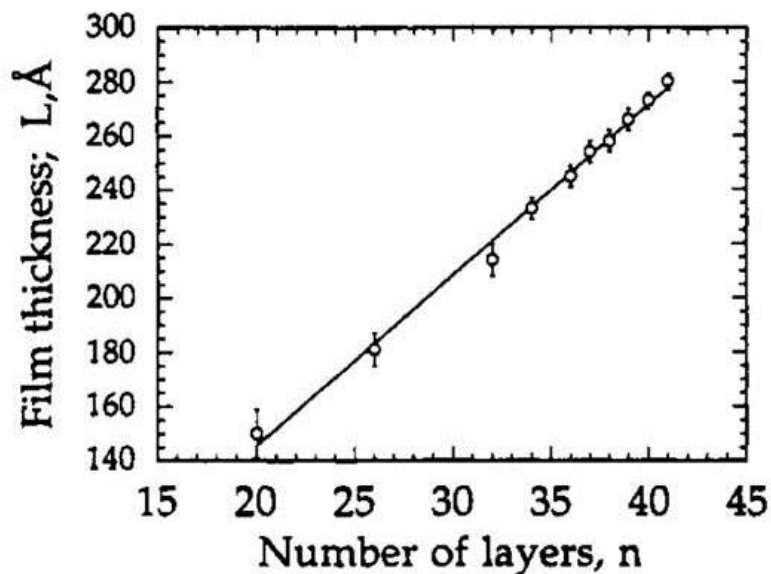


Figure 28 : Croissance linéaire des assemblages multicouches PVS/PAH (Lvov et al., 1993)

La croissance linéaire réfère lorsque l'augmentation de la masse et épaisseur du film est proportionnelle au nombre de couches déposées (Decher et al., 1992). C'est le cas par exemple pour les polyélectrolytes naturels ou synthétisés suivants : le poly(styrène sulfonate de sodium) (PSS)/poly (allyamine chlorhydrate) (PAH), le poly (sulfate de vinyle) (PVS)/PAH, dont l'épaisseur du film est suivie par diffusion des rayons X aux petits angles en figures 27 et 28. Dans ces films, les polyélectrolytes n'interagissent qu'avec ceux constituant la surface externe du film (au-dessus ou en-dessous avec les couches voisines) avec très peu d'interpénétration entre eux (Decher, 1997). Après chaque étape de dépôt, la charge de surface s'inverse grâce à la surcompensation (Ladam et al., 2000, Caruso et al., 1998). D'autres couples de polyélectrolytes montrent la croissance linéaire : CHT(Chitosane)/HEP(héparine)(Fu et al., 2005), CHT/Mucine (Svensson et al., 2006) et COL(Collagène)/HA(Acide hyaluronique)(Zhang et al., 2005, Johansson et al., 2005).

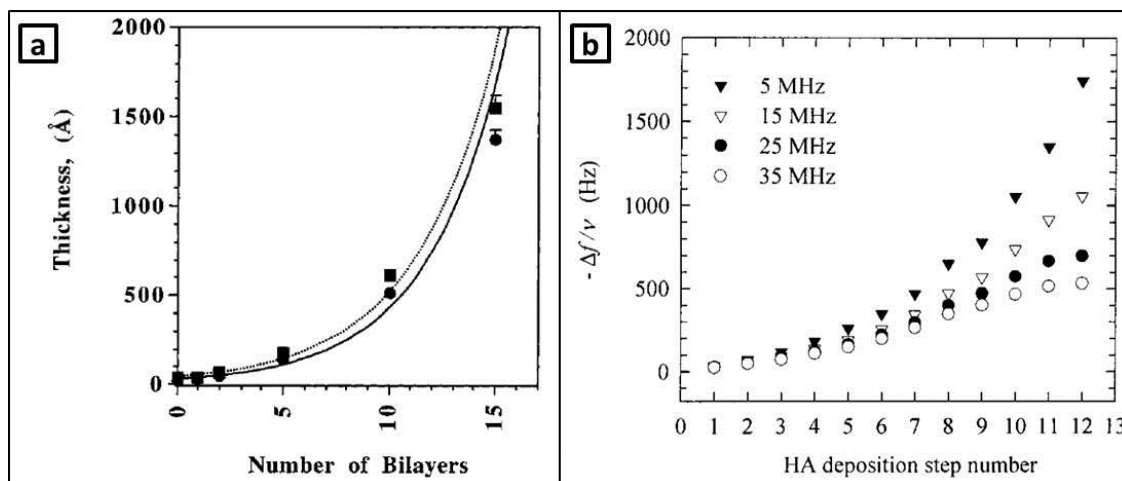


Figure 29: Croissance exponentielle des assemblages multicouches (a) PLL/alginate (Elbert et al., 1999) et (b) PLL/ l'acide hyaluronique (HA) (Picart et al., 2001b)

La croissance exponentielle représente l'agrandissement de l'épaisseur du film de façon exponentielle après chaque dépôt, elle fut premièrement mise en évidence par deux couples de polyélectrolytes : le poly (L-lysine)(PLL)/alginate (Elbert et al., 1999) et le PLL/ l'acide hyaluronique (HA) (Picart et al., 2001b). L'assemblage des films est suivi par ellipsométrie et par microbalance de quartz respectivement en figures 29a et 29b. Ce mode de croissance s'identifie par diffusion d'au moins un des polyélectrolytes à l'intérieur du film, le mécanisme de formation des films par ce régime de croissance a été proposé en figure 30 (Lavalle et al., 2004, Picart et al., 2001b, Picart et al., 2002, Richert et al., 2004). En résumé, le substrat chargé anioniquement par l'HA est mis en contact avec la solution cationique de PLL (étape B), le PLL peut réagir en surface avec l'excès de charge anionique et forme alors une couche cationique qui pénètre au travers de la première couche anionique en constituant

un réservoir libre de polycation (étape C). Les chaînes libres de PLL sont éliminées hors du film lors du rinçage (étape D). La charge de surface est devenue positive et agit comme une barrière en empêchant la diffusion de PLL hors du film. Le contact du film avec l'HA permet d'inverser la charge de surface et permet également de faire disparaître la barrière de PLL en conduisant à la diffusion du PLL emprisonné dans le film vers l'interface film/solution (étape E). Ces chaînes cationiques de PLL sont ensuite complexées avec l'HA en s'intégrant dans la nouvelle couche jusqu'à épuisement du polycation (étape F). L'augmentation d'épaisseur est liée à l'adsorption à la surface et la formation des complexes entre le polycation et le polyanion conduisant la croissance exponentielle. D'autres couples de polyélectrolytes montrent une croissance exponentielle comme : PLL/CSA(chondroïtine sulfate A) (Tezcaner et al., 2006) et PLL/HEP (Boulmedais et al., 2006).

Les films à croissance linéaire peuvent jouer le rôle de barrière alors que les films à croissance exponentielle peuvent être utilisés comme réservoir de principes actifs (Garza et al., 2004, Mertz et al., 2007).

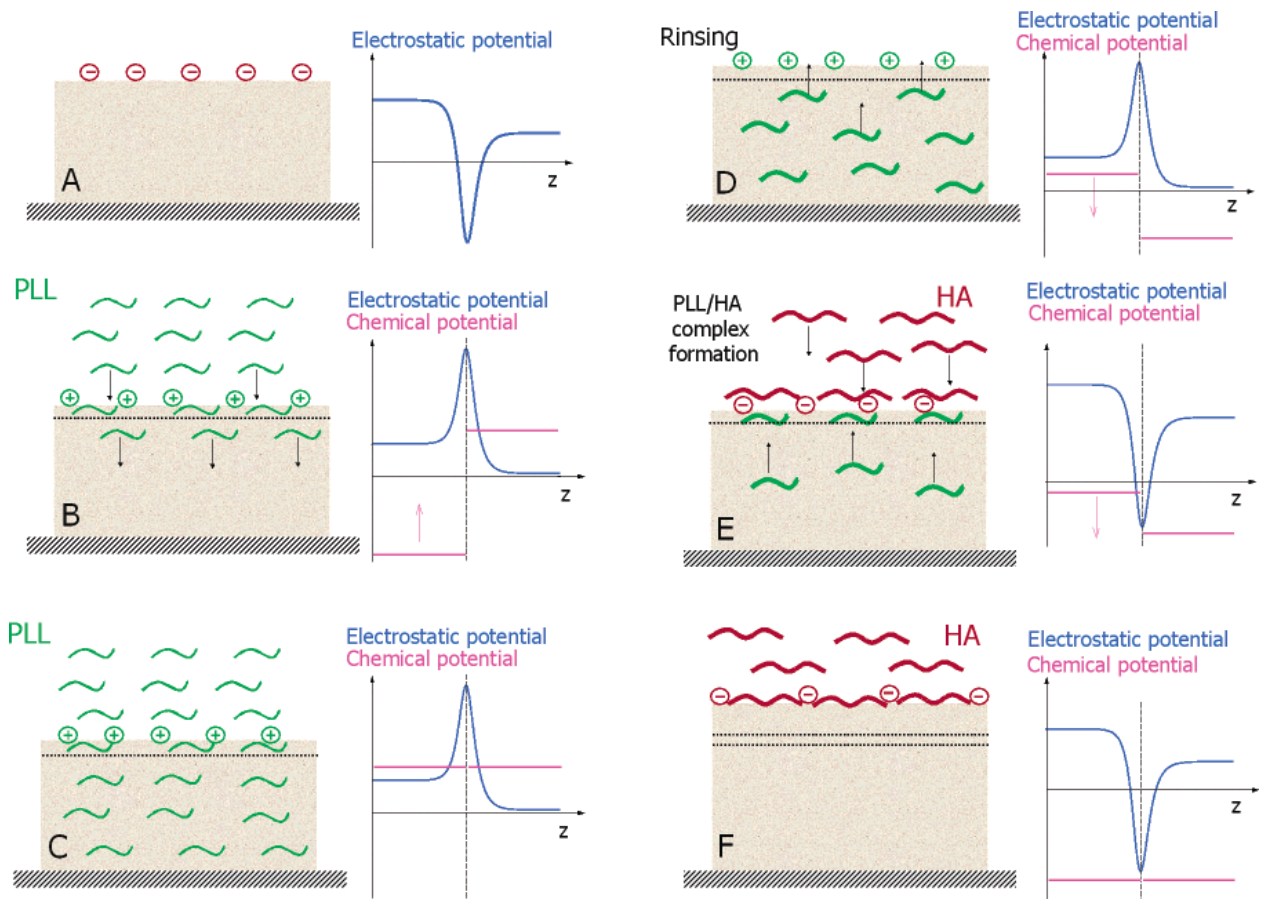


Figure 30: Mécanisme de formation des films par le mode de la croissance exponentielle entre PLL/HA (Richert et al., 2004, Lavalley et al., 2004)

Il est possible d'observer la transition de la croissance exponentielle en croissance linéaire sur le système PAH/ mélange binaire entre le PSS et le PGA (poly (acide L-glutamique)). En effet, la croissance linéaire de PAH/PSS et la croissance exponentielle de PAH/PGA ont déjà étudiées (Hübsch et al., 2004), ainsi que dans le système PDADMAC/PSS (Salomäki et al., 2005) et le système PLL/HA (Porcel et al., 2006). Cette transition est due à une restructuration du film qui empêche progressivement la diffusion de l'un des polyélectrolytes constituant le film.

III.4.2 Influence de la température

La température joue un rôle primordial sur la croissance des films multicouches, elle permet d'augmenter l'épaisseur des assemblages PAH/PSS (Büscher et al., 2002), PDADMAC/PSS (Salomäki et al., 2005) et de changer le profil de la croissance des films. On remarque par exemple en figure 31a, le changement du régime linéaire au régime exponentiel à partir de 45°C, car l'augmentation de la température favorise la diffusion des polyélectrolytes à travers le film conduisant à une croissance exponentielle. Il est également possible de changer la température pendant l'élaboration des assemblages, le profil de la croissance est alors modifié dû à la transformation structurale des polyélectrolytes (figure 31b).

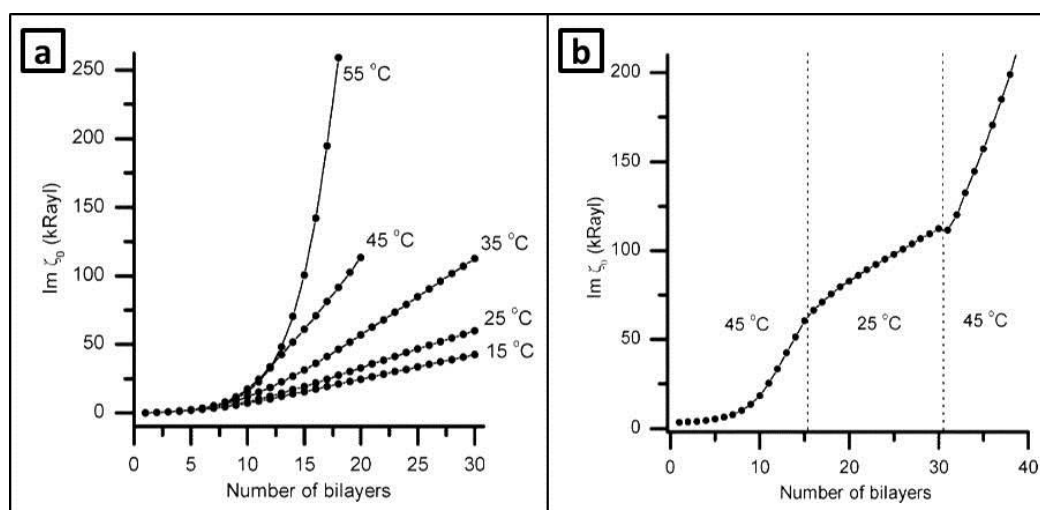


Figure 31: Influence de la température sur les films multicouches PDADMAC/PSS in NaBr (0,1M) à des températures variées (a) à la modification de la température en deux reprises pendant le dépôt, impédance acoustique en fonction du nombre de bicouches (Salomäki et al., 2005).

III.4.3 Influence de la nature du contre-ion

La nature du contre-ion joue un rôle essentiel sur la construction des assemblages multicouches. L'influence d'une variété de contre-anions sur les propriétés des multicouches

PDADMAC/PSS est suivi par ellipsométrie et microscope à force atomique (Salomäki et al., 2004). Dans ce cas, le cation est toujours le sodium et différents types de contre-anions de la série de Hofmeister classés dans l'ordre des plus chaotropes (petite sphère de solvation) aux plus cosmotropes (grande sphère de solvation) sont testés (Hofmeister, 1888, Hofmeister, 1890). Le système possède une épaisseur plus importante si l'anion est chaotrope, la plus petite sphère de solvation favorise en effet l'interaction entre l'ion et le polyélectrolyte conduisant à un meilleur écrantage et à une faible répulsion inter-chaines polymériques (figure 32). Le mode de croissance passe de mode exponentielle au mode linéaire si l'anion est plus chaotrope. Une étude similaire sur le système PAH/PSS confirme ce résultat, son film est deux fois plus épais pour des contre-ions chaotropes que cosmotropes avec la croissance linéaire dans les deux cas (El Haitami et al., 2009).

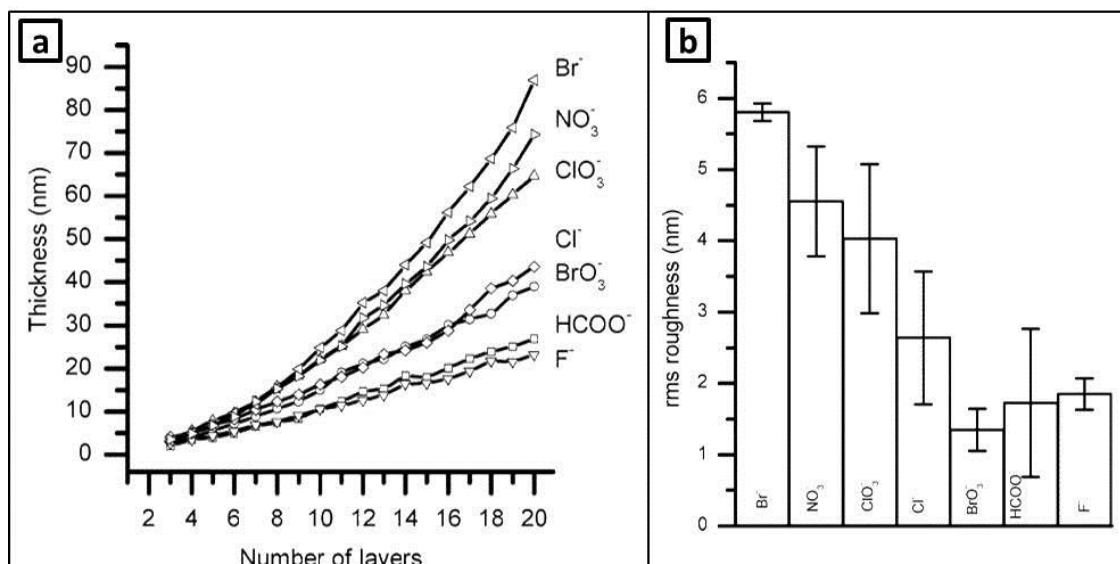


Figure 32: Influence de nature de contre-ion sur les films multicouches PDADMAC/PSS caractérisé par (a) ellipsométrie et (b) microscope à force atomique

III.4.4 Influence de la force ionique et du pH

La force ionique influence également le mode de croissance des assemblages. L'augmentation de la concentration de sel conduit généralement à des films plus épais (Ladam et al., 2000, Lvov et al., 1993). Par définition, la longueur de Debye dépend de la force ionique de la solution de polyélectrolytes. Plus la force ionique est faible, plus l'écrantage est faible et plus il conduit à une longueur de Debye importante. La chaîne de polymère adopte alors une conformation étirée pour agrandir au maximum la distance entre les charges et diminuer la force de répulsion. Il en résulte une épaisseur de film plus faible. A l'inverse, lorsqu'une chaîne de polymère présente une conformation en pelote, l'épaisseur du film est augmentée comme pour le système PAH/PSS (Ladam et al., 2000), le système

PDADMAC/PSS (McAloney et al., 2001) et le système chitosane/HA (Richert et al., 2004). Le mode de croissance passe de la croissance linéaire en exponentielle lors de l'augmentation de la force ionique pour les trois systèmes pris en exemple en figures 33a et 33b.

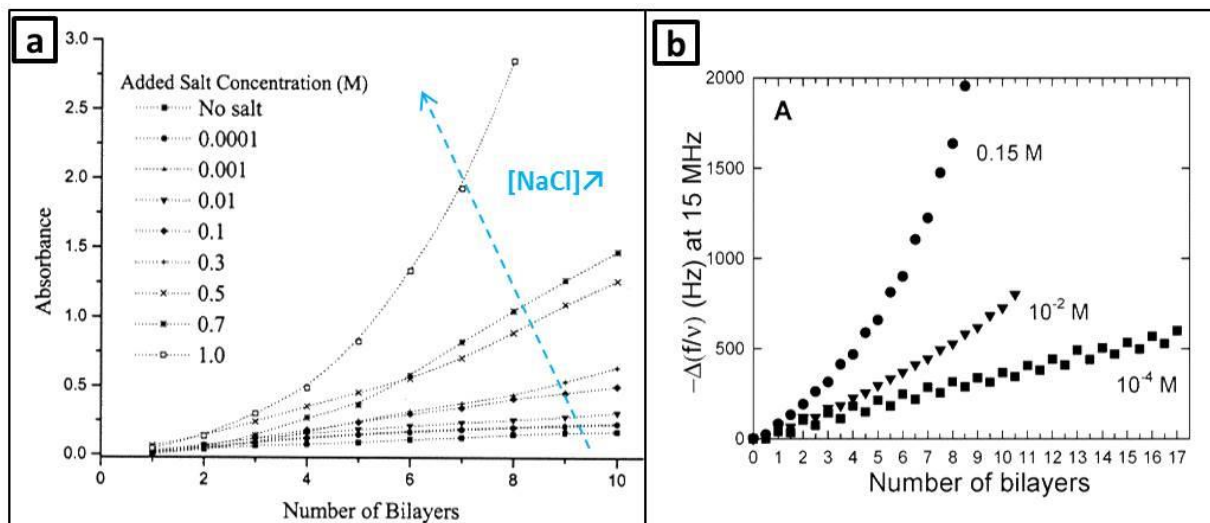


Figure 33: Influence de la force ionique sur les films multicouches (a)PDADMAC/PSS caractérisé par spectroscopie UV (McAloney et al., 2001) (b) Chitosane/HA suivi par microbalance de quartz (Richert et al., 2004)

La densité de charge dépend de la nature du polyélectrolyte surtout pour les polyélectrolytes faibles. Elle croit avec l'augmentation du pH grâce à la déprotonation des groupements acides pour les polyacides faibles. Les polybases sont quant à elles totalement ionisées avec la décroissance du pH. La modification de pH influence sur les propriétés des films multicouches comme, par exemple, pour le système PAH/PAA. L'épaisseur et la structure du film, ou encore la réponse aux cellules mammifères, sont modifiées en fonction du pH des solutions (figures 34a, 34b et 34c). (Shiratori and Rubner, 2000, Mendelsohn et al., 2003, Yoo et al., 1998, Mendelsohn et al., 2000). Les pKa de PAH et PAA sont environ de 9 et 5 respectivement, les chaînes de polymères adoptent donc une conformation allongée due à la répulsion forte à pH neutre et les chaînes de PAA prennent la forme de pelote conduisant à l'augmentation de l'épaisseur du film à pH 3,5. La meilleure d'adhésion est observée dans le pH équivalent à 6,5 pour les deux polyélectrolytes.

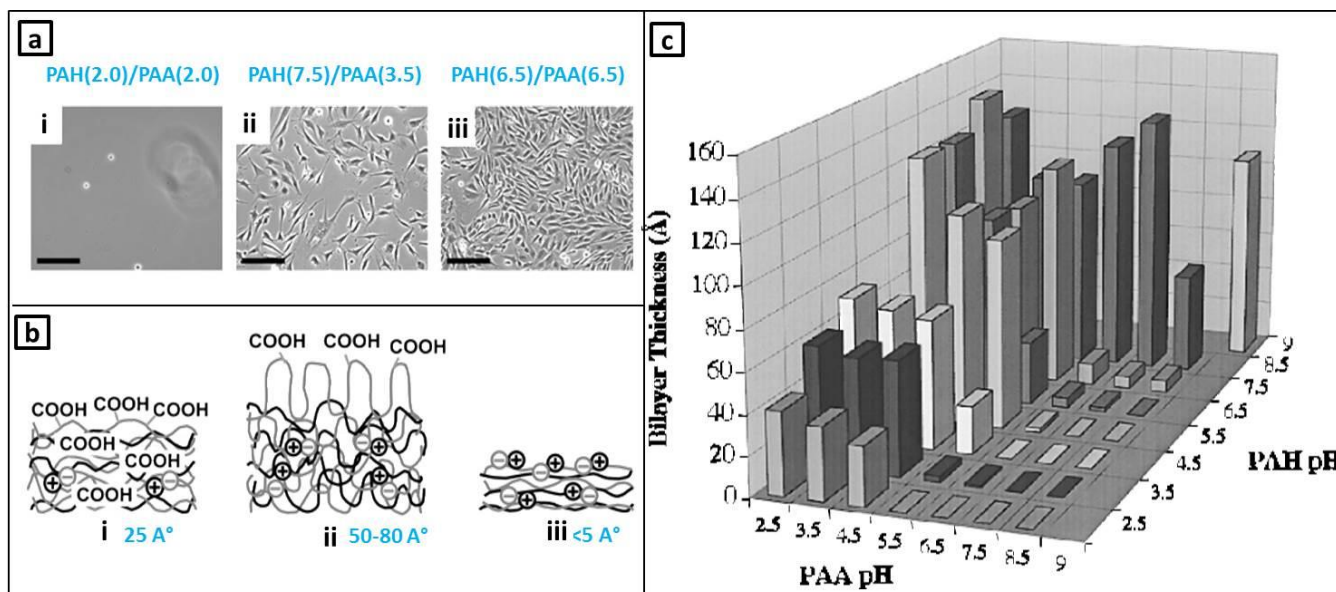


Figure 34: Influence du pH sur les films multicouches PAH/PAA : (a) Micrographies en contraste après 3 jours en contact aux fibroblastes murins NR6WT (b) Schéma structural des assemblages proposés et son épaisseur (Mendelsohn et al., 2003) (c) Son épaisseur (Shiratori and Rubner, 2000)

III.4.5 Influence des caractéristiques des polyélectrolytes (masse moléculaire, concentration et architecture)

Les caractéristiques des polyélectrolytes (masse moléculaire, concentration et architecture) bouleversent également les propriétés des films multicouches. Pour exemple, dans le cas de l'assemblage PLL/HA avec une masse moléculaire fixé de PLL (47,9 kDa), la croissance films est observée lors de l'augmentation de la masse moléculaire d'HA par microbalance de quartz ou spectroscopie infrarouge (Shen et al., 2011), voir figures 35a et 35b. Le même phénomène a été remarqué par le même système PLL/HA (Porcel et al., 2006).

La concentration des polyélectrolytes permet de modifier le comportement de la croissance des assemblages, une concentration plus élevée en HA (1300 kDa) entraîne un dépôt plus important à 3 mg/mL (figure 35c). La même situation a été constatée par le système de PDADMAC/PSS (Dubas and Schlenoff, 1999).

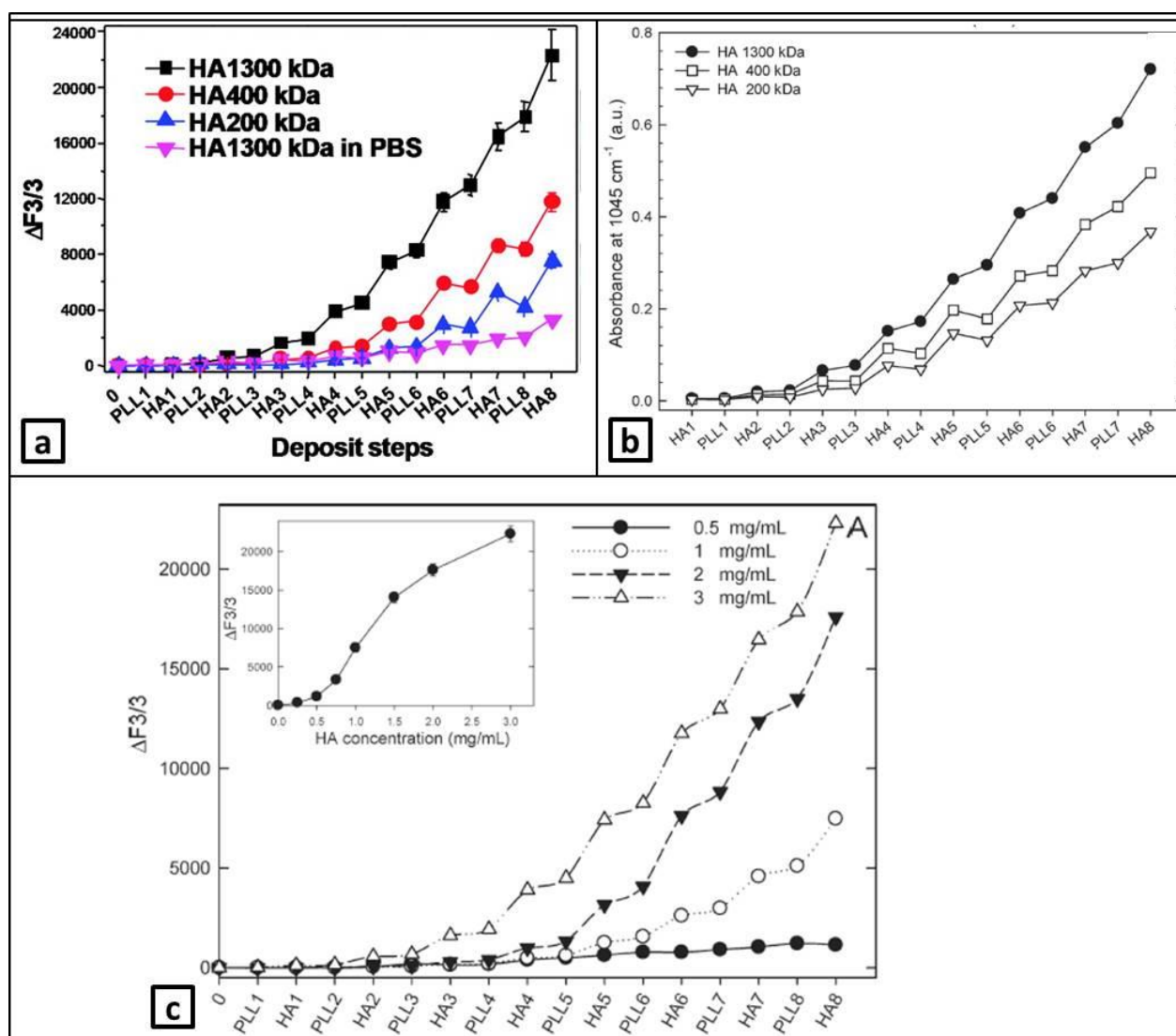


Figure 35: Influence de la masse moléculaire sur la croissance des films multicouches PLL/HA suivi par (a) microbalance de quartz (b) spectroscopie infrarouge. (c) Influence de la concentration de HA sur le comportement de ces films (Shen et al., 2011)

L'architecture de chaînes des polyélectrolytes peuvent altérer aussi la formation des films multicouches. Prenons pour exemple le système PDADMAC ($HMw = 72 \text{ kg.mol}^{-1}$, $LMw = 5 \text{ kg.mol}^{-1}$)/PSS ($HMw = 70 \text{ kg.mol}^{-1}$, $LMw = 6,52 \text{ kg.mol}^{-1}$) avec une concentration de $0,01 \text{ mol(mon)L}^{-1}$ dans le NaCl (0.1M), qui est suivi par microbalance de quartz (Micciulla et al., 2014). L'augmentation de masse est régie par une croissance non linéaire pour les multicouches HMw et une augmentation linéaire pour les multicouches LMw. Dans ce dernier cas, le régime linéaire peut résulter de la stratification de couches très minces (teneur en eau plus faible) et de la dégradation importante, ce qui maintient la très faible quantité adsorbée, voir figure 36a.

Le rinçage dans le NaCl (0.1M) permet d'avoir le meilleur dépôt quel que soit le polymère utilisé. Le mécanisme de formation des films est montré en figure 36b. Un système

très imbriqué est déduit pour les polyélectrolytes à longue chaîne et une déposition faible pour ceux à courte chaîne. Après l'adsorption de PSS, la couche formée est compensée intrinsèquement et elle est éliminée partiellement lors d'un rinçage. Contrairement à l'adsorption stable des polyélectrolytes à longue chaîne, la désorption du polymère à courte chaîne est due à la perte de masse importante pendant le rinçage et le processus de formation des complexes solubles avec PDADMAC.

Il existe encore d'autres paramètres, moins influant, agissant sur la construction de multicouches tels que le solvant utilisé ou le temps d'adsorption dépendant de la technique de dépôt employée. Nous ne les détaillerons toutefois pas.

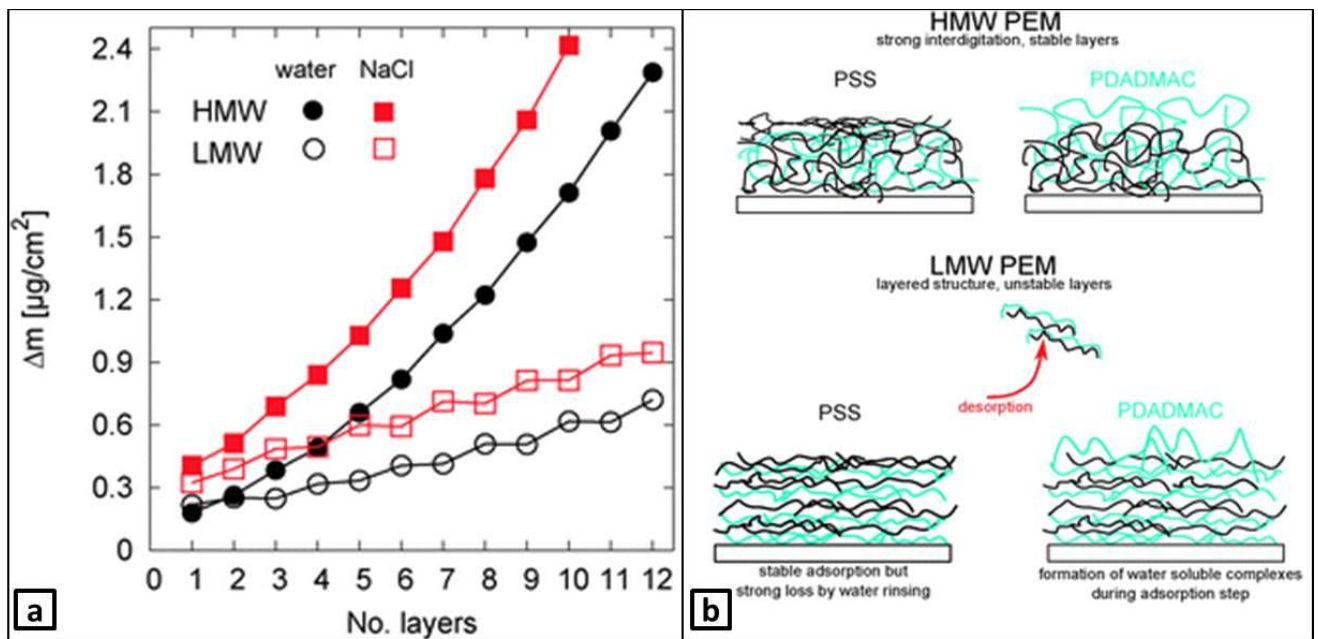


Figure 36: Influence de l'architecture de chaînes des polyélectrolytes sur la croissance des films multicouches PDADMAC/PSS (a) et sa schématisation de construction des assemblages (b) (Shen et al., 2011)

III.5 Stabilité des multicouches

Dans la partie III.4, nous avons montré que l'effet des paramètres d'assemblage, tels que les paramètres de réaction ou les caractéristiques intrinsèques des polyélectrolytes, jouent un rôle important sur les propriétés chimiques, physiques, et biologiques des assemblages multicouches. Cependant, la stabilité des assemblages peut se révéler médiocre en fonction de son environnement notamment dans un milieu de force ionique élevée ou de haute température. Cela présente une limitation de leurs applications finales (Gribova et al., 2011, Rydzek et al., 2012).

Afin de maintenir l'intégralité des assemblages dans leurs usages finaux et conserver ou améliorer ces propriétés spécifiques, de nombreuses stratégies de réticulation des assemblages de façon chimique ou physique sont mentionnés dans la littérature (Gribova et al., 2011, Rydzek et al., 2012) et résumés en tableau 6 : réticulation ionique (formation des ponts ionique), réticulation chimique (utilisation des agents réticulants ou agents de couplage en appliquant tous les types de réaction chimique selon leurs fonctionnalités), photoréticulation (activation des agents photosensibles en présence de la lumière UV à la longueur d'onde précise), réticulation thermique (chauffage à haute température pendant certains temps), réticulation physique par insertion des nanoparticules dans l'assemblage.

D'un point de vue biologique, la plupart des approches qui impliquent des agents de réticulation présentent aussi quelques inconvénients en particulier due à la présence résiduelle des agents de réticulation n'ayant pas réagi (souvent toxiques) dans l'assemblage multicouche réticulé. La durabilité des multicouches après la réticulation permet également de contrôler ou prolonger la libération des molécules encapsulées dans l'assemblage.

Tableau 6: Stratégies de réticulation des assemblages multicouches

Méthode de réticulation	Polyélectrolytes	Propriétés apportées
<u>1. Réticulation ionique</u>		
Ca²⁺ = interactions avec les fonctions carboxyliques	poly-L-arginine/ Alginate, rinçage avec CaCl ₂	Augmentation de l'épaisseur et la perméabilité, Applications biomédicales espérées (Kilan and Warszyński, 2014)
	Microsphères alginate réticulé avec Ca ²⁺ , enrobé avec PAH/PSS	Matrice d'alginate peut fournir un échafaudage poreux et suffisamment doux pour préserver l'accessibilité de l'enzyme au substrat, ainsi que la biocompatibilité (Zhu et al., 2005)
<u>2. Réticulation chimique</u>		
Carbodiimide = formation des liaisons amides entre les fonctions amines et carboxyliques)	PLL /HA PLL/PLGA	Amélioration de l'adhésion et prolifération cellulaire (Richert et al., 2006, Picart et al., 2005, Gribova et al., 2011). Amélioration des propriétés mécaniques (Boudou et al., 2009)
Génipine = réaction avec les fonctions amines	Collagène/alginate	Stabilisation de film dans des conditions physiologiques et amélioration de l'adhésion et prolifération cellulaire (Chaubaroux et al., 2012)
	CHT/HA CHT/ Alginate	Amélioration de l'adhésion cellulaire (Hillberg et al., 2009)
	Amino-terminé poly(éthylène glycol)	Bonne adhésion cellulaire (Moffat and Marra, 2004)
	CHT/polyCTR-CD	Stabilisation de film dans des conditions physiologiques (Martin et al., 2013b)
Glutaraldéhyde = formation des liaisons imide entre l'amine primaire et l'aldéhyde)	Polyvinylamine /Carboxyméthylcellulose	Amélioration de la résistance mécanique (Feng et al., 2006)
	PLL/ADN	Ralentissement la dégradation du film et la libération de DNA (Ren et al., 2006)
Réactif de thiol = oxydation du groupement thiol en disulfure	Polypeptides	Amélioration de la résistance du film en milieu acide (Li and Haynie, 2004).
Dérivé de polyphénol = oxydation du catéchol avec l'amine ou thiol	PLL/HA	Facilité de détachement du film en tant que membranes autonome (Bernsmann et al., 2008)
	PAH/PAA-dopamine	Stabilisation de film dans des conditions extrêmes (acide, basique et force ionique élevé) (Wu et al., 2011)
Epichlorohydrine = réaction avec les fonctions amines	Polyvinylamine/PAA	Amélioration d'épaisseur et d'adsorption des protéines (Dragan and Bucatariu, 2010)

Tableau 6 (suite): Stratégies de réticulation des assemblages multicouches

Méthode de réticulation	Polyélectrolytes	Propriétés apportés
<u>3. Photoréticulation (induite par irradiation UV etc)</u>		
Azoresine	Cationique diazoresine /PSS	Amélioration importante de la stabilité vis à vis des changements de solvants ou sonication (Sun et al., 1998)
Couplage thiol-ène	poly (vinylpyrrolidone)/ poly(acide méthacrylique) modifié avec le thiol ou alcène	Amélioration de la stabilité, fonctionnalisation supplémentaire avec les autres molécules (comme PEG) sur les fonctions thiols ou alcènes résiduelles (Connal et al., 2009)
Benzophénone (BP)	PAH-BP/PAA-BP	Amélioration de la stabilité du film et de la perméabilité aux ions sélective (Park et al., 2004)
Benzyle de vinyle	PLL/HA- Benzyle de vinyle	Amélioration de l'adhésion et prolifération cellulaire ainsi que la rigidité du film (Pozos Vázquez et al., 2009)
<u>4. Réticulation thermique</u>		
130°C, 2 h sous N₂ (formation des liaisons amides)	PAH/PAA	Amélioration de la stabilisation de film vis à vis des changements de pH (Harris et al., 1999)
180°C, 2 h sous N₂ (formation des liaisons amides)	PAH/PAA dérivé	Amélioration de la stabilisation de film vis à vis des changements de pH (Dai et al., 2001)
175 °C, 3 h (formation des liaisons imides)	Polyacrylamide/PAA	Stabilisation de film vis à vis des changements de pH neutre (Yang and Rubner, 2002)
105°C, 2h ou 39h (formations des liaisons anhydrides entre PAA)	PEO-b-PCL/PAA	Ralentissement de la dégradation et la libération (Hammond, 2012, Kim et al., 2008)

III.6 Applications biomédicales des multicouches

La simplicité, la facilité et la polyvalence des assemblages multicouches permettent de les utiliser dans le domaine particulier du biomédical. La technique LbL est une méthode essentielle de modification de surface capable d'incorporer des biomolécules (lipides, enzymes, acides nucléiques, protéines, peptides, principes actifs etc.) ou de moduler les propriétés surfaciques afin d'améliorer les propriétés biologiques (adhésion cellulaire, prolifération cellulaire, activité antibactérienne etc). Les applications biologiques sont citées comme les biomatériaux, l'ingénierie tissulaire, la médecine régénérative et la délivrance de principes actifs (Detzel et al., 2011, Ariga et al., 2006, Hammond, 2012, Tang et al., 2006b, Boudou et al., 2010, Boulmedais et al., 2004).

III.6.1 Comportement des films multicouches en milieu biologique

Une fois les biomatériaux en contact avec les tissus vivants, des protéines sont absorbées sur leur surface, puis des cellules s'adhèrent. Il est important de contrôler leurs adsorptions et leurs adhésions afin d'empêcher une réaction inflammatoire ou allergique, l'infection ou la thrombose.

III.6.1.1 Adsorption de protéines

L'adsorption des protéines sur les films multicouches est un phénomène complexe attribué aux forces électrostatiques, aux liaisons hydrogènes, aux interactions hydrophobes/hydrophiles. La charge de la surface multicouche joue un rôle important sur le comportement d'adsorption de différents types de protéines comme le sérum albumine, le fibrinogène et le lysozyme (Salloum and Schlenoff, 2004, Gergely et al., 2004, Ladam et al., 2001, Ladam et al., 2002, Müller et al., 2001). L'adsorption de protéines est importante, conduisant à une épaisseur élevée, quand la charge des assemblages et des protéines sont inversées grâce à l'interaction électrostatique (dominante). Au contraire, les quantités adsorbées sont moins importantes (mais non-nulles) selon les interactions hydrophobes et les liaisons hydrogènes.

Bien que les coefficients de diffusion des protéines varient en fonction de la concentration en surface de protéines adsorbées et de la couche de terminaison de multicouche de polyélectrolytes, les protéines ont révélé présenter de grandes mobilités quelle que soit leur position sur la surface et à l'intérieur de film, ce qui constitue un résultat clé pour

l'application pratique de films LBL comme revêtements de biomatériaux (Szyk et al., 2001, Szyk et al., 2002).

III.6.1.2 Adhésion cellulaire sur les films multicouches

La modification des propriétés de surface peut contrôler l'adhésion cellulaire, par adhérence ou non selon l'application souhaitée.

Par exemple, le greffage de PEG sur un matériau rend la surface anti-adhérente, le système PLL/PGA greffé PEG terminé par plusieurs couches de PGA présente une propriété non adhérente aux protéines (Boulmedais et al., 2004). Le système PLL/alginat sur des supports solides de gélatine, de matrice extracellulaire produite par des fibroblastes et de collagène de type I, possède des propriétés de bio-inertie (résistance à l'adhésion cellulaire) vis-à-vis de fibroblastes humains (Elbert et al., 1999).

Pour promouvoir l'adhésion cellulaire, les films multicouches PAH/PSS ou poly(D-Lysine)/PLGA montrent une amélioration importante de l'adhésion des cellules endothéliales ombilicales humaines (HUVEC) et une conservation du phénotype cellulaire (Boura et al., 2003).

Un autre exemple sur la figure 34a, la réponse aux cellules mammifères (fibroblastes murins de NR6WT) peut être modifié en fonction du pH de la solution des polyélectrolytes.

III.6.2 Application sur biomatériaux

Pour les applications dans les domaines de biomatériaux implantables et l'ingénierie tissulaire, les films sont utilisés comme revêtements de surface dans le but de fournir une fonctionnalité supplémentaire aux matériaux. Pour revêtir les surfaces des biomatériaux (les métaux, des polymères synthétiques ou naturels, la céramique), il est d'abord important de caractériser le revêtement du film sur les matériaux, puis d'étudier le comportement des types de cellules spécifiques en fonction de l'application envisagée. Les études *in vitro* (tableau 7) et *in vivo* (tableau 8) sur différents matériaux classés selon l'application visée sont effectuées (Boudou et al., 2010). Les assemblages des films multicouches sur les différents substrats (Ti, alliage, polymères ou fibres) sont étudiés *in vitro* pour l'os, l'ingénierie vasculaire, la neurologie, le soin de pancréas et l'application dentaire. Les films multicouches constitués de polyélectrolytes naturels ou synthétiques sont également étudiés *in vivo* afin d'examiner la dégradation des assemblages, l'adhésion cellulaire ou la propriété d'anticoagulation etc....

Tableau 7: Etudes in vitro des multicouches sur les matériaux selon leurs applications (Boudou et al., 2010)

Application	Substrate	Film	Cells	Main findings
Bone	Ti	(PLL/DNA), (PAH/DNA)	Osteoblasts	Deposition of calcium phosphate was enhanced on DNA coatings Formation of carbonate apatite Simulated body fluids pretreated films increased the deposition of osteocalcin
			Osteoblasts	Increased viability and proliferation
	Ti	CHI/HA films	Osteoblasts	No adhesion for native CHI/HA film, enhanced adhesion in the presence of the peptide for CHI ending surface only
	Electrospun PCL fibers	+ RGD X-linked at the surface Gelatin/PSS coated with bone like calcium phosphate	<i>S. aureus</i>	Decreased adhesion and enhance anti-bacterial activity of CHI/HA films (w or w/o RGD)
			Osteoblasts	Enhancement of cytocompatibility
PLA nanofibrous scaffold	PDDA/GEL	Osteoprogenitors	Increased proliferation Change in surface wettability Increase adhesion and proliferation	
Bone marrow	PLA scaffold	PEI/GEL	Chondrocytes	Increased adhesion and growth
	PDMS (microfluidic channels)	(PDDA/clay)/(COL/FN)	Murine bone marrow cells	Automated μ fluidic perfusion system Increased cell attachment and spreading
	PA hydrogel ICC scaffolds	PDDA/Clay platelets	Hematopoietic stem cells	Expansion of CD34+ stem cells and B-lymphocyte differentiation
Vascular engineering	PET filaments, thread and prostheses	(PSS/PAH), (PLL/PGA), (PLL/HA)	—	Characterization of film deposition Good mechanical stability of the films under stretching
			PCL	— CHI-CL-gPEG/HEP
	PTFE Vascular artery	PSS/PAH CHI/HA	Endothelial cells	Enhanced adhesion and spreading on the films
			—	Film coated in situ in the artery in physiological conditions Prevention of platelet adhesion
	Cryopreserved artery	PAH/PSS	Endothelial cells	Adhesion and spreading of endothelial cells Increased expression of Von Willebrand factor
	NiTi	Photo X-linked ALG/HEP/ p-diazonium diphenylamine polymer	—	Chemical-enhanced wettability, anti-fouling and anti-coagulation properties
	Stainless steel	CHI/HEP, HA/HEP	—	Longer blood clotting time than pure steel substrates.
			—	Control of releasing rate of Sirolimus by the number of layers Suppression of SMCs growth
	Polyethersulfone	HEP/ALB	Leucocytes	Reduced activation of coagulation Reduction of the blood level of complement fragment C5a
	Neuronal tissue	Polyethyleneterephthalate HYAFF 11	CHI/HEP (PDDA/PSS)-(PDL/anti-TGF β 1)	Platelets
Free standing membrane		SWNT/PAA	Neuroblastoma and glioma	Good attachment and neuronal differentiation Guidance of neurites outgrowth
Pancreas	Islets of Langerhans	PVA-SH/PVA-pyridyl disulfide Biotin-BSA/streptavidin (PLL/PGA)-PGA-EMD	—	Efficient encapsulation of islets in a thin films while preserving cell viability and insulin release function
Dental applications	Ti and SiO ₂	(PLL/PGA) and laminin-derived peptide	—	Immobilization of enamel matrix derivate (EMD) both on top and within PEM films
	Porous Ti	(PLL/PGA) and laminin-derived peptide	Epithelial cells	In vitro, the films enhance epithelial cell colonization and proliferation Specific formation of adhesive structures (hemidesmosomes) in the presence of the peptide

Tableau 8: Etudes in vivo des multicouches sur les matériaux selon leurs applications (Boudou et al., 2010)

Film type and experimental model	Main findings
(PLL/PGA) α MSH films deposited on tracheal prostheses	Fibroblastic colonization of the periphatic site and respiratory epithelium on the internal side More regular layer on PGA ending films IL-10 production only when MSH is present
(CHI/HA) native and X-linked films in a rat mouth model	Much slower degradation of X-linked films 60% of the film retained on PMMA disks
(CHI/HA) native and X-linked in a mouse peritoneal cavity	Partial degradation of CL films
(PLL/ALG)-PC coated ALG microcapsules	Control of degradation by MW and extent of film X-linking Adherent cells at the periphery of the capsule MacI positive cells, no type B and T lymphocytes
PAH/DNA or Poly(D-lysine)/DNA In rats	Uniform tissue response Induction of fibrous tissue capsules for all the conditions
(PLL/PGA)-laminin 5 derived peptide or CL films on porous titanium	Focal contact formation on CL films Colonization of the implant by cells of soft tissue
(PDDA/clay platelet) films in inverted colloidal crystals	High vascularization around the construct Production of CD34 + cells
Bis-ureio-surfactant and DNA coating in rats	Presence of both mature and immature precursor cells Increase of bone to implant contact after 1 week
(CHI/HEP) film on stainless steel coronary stents in pigs	Simulated body fluid DNA-based coating was found to increase both early and late peri-implant bone response Promotion of re-endothelialization on the film Improved anti-coagulation properties

III.6.3 Insertion de molécules actives dans les films multicouches

III.6.3.1 Elaboration des films multicouches contenant les molécules actives

Afin de rendre les biomatériaux bioactifs en induisant une réponse spécifique *in vivo*, il faut incorporer des molécules bioactives comme des protéines, des peptides, des enzymes ou des principes actifs par diffusion des molécules à partir de la surface vers le film ou par intégration des molécules dans la structure du film en tant que couche assemblée.

Par exemple, les films multicouches allumine/héparine présentent une propriété anticoagulante pour le recouvrement de prothèses en Dacron, qui sont stables *in vivo* pendant 3 semaines (Brynda and Houska, 1996).

Il est aussi possible de réaliser un couplage covalent de la molécule active avec l'un des composants du film. Le α -MSH (alpha-melanocyte-stimulating hormone : peptide anti-inflammatoire) couplé avec le PLL forme la couche extérieure d'un film multicouche et son activité biologique reste active que l'hormone libre (Chluba et al., 2001).

L'incorporation par interactions hydrophobes est aussi envisageable. La molécule hydrophobe de rouge de Nil est incorporée dans le nanodomaine hydrophobe qui est formé par chaînes alkyles greffées sur l'acide hyaluronique, avant d'être assemblé avec le dérivé de chitosane pour former les multicouche de la capsule creuse (Cui et al., 2011).

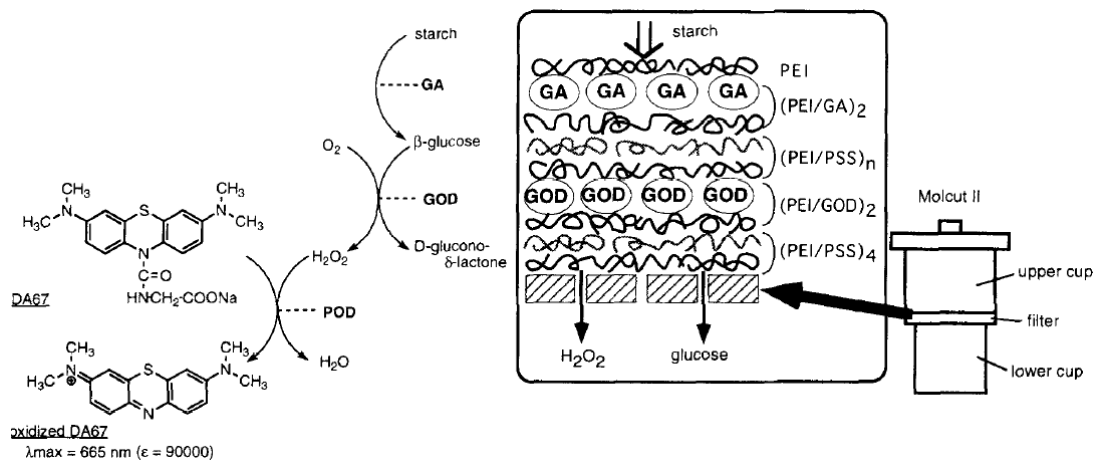


Figure 37: Processus enzymatique séquentiel sur les assemblages contenant de GOD et GA (Onda et al., 1996)

L'incorporation d'enzymes dans les assemblages multicouches permet de fabriquer un bioréacteur sans perte d'activité spécifique des enzymes. Des couches moléculaires de glucoamylase (GA) et du glucose oxydase (GOD) ont été assemblées sur une membrane d'ultrafiltration par adsorption successive avec le poly (éthylèneimine) (PEI) comme polycation. La GA hydrolyse l'amidon en glucose, qui est ensuite converti en gluconolactone et H₂O₂ par GOD, voir figure 37.

L'utilisation d'une molécule réservoir comme la cyclodextrine incluse dans les assemblages multicouches permet de conserver ou protéger des molécules bioactives et permet d'augmenter leur solubilité dans le cas des molécules peu solubles. Le piroxicam (une molécule anti-inflammatoire) est introduit dans les assemblages multicouches (PLL/CD-piroxicam ou PLL/PGA/PLL/CD-piroxicam) grâce à la complexation avec une cyclodextrine anionique (6^A-carboxy-méthylthio-β-cyclodextrine) ce qui permet de solubiliser le piroxicam avec la quantité très importante. Les propriétés anti-inflammatoires sont évaluées en déterminant l'inhibition de la TNF-α produite par des monocytes cultivés et ils peuvent être modulées en fonction de l'architecture du film (Benkirane-Jessel et al., 2004).

L'immobilisation de molécules antimicrobiennes sur des surfaces de biomatériaux est une approche efficace pour empêcher la formation de biofilms. Le premier revêtement biocompatible auto-défensif vis-à-vis à la fois des bactéries et des levures a été mis au point (Cado et al., 2013). Ce revêtement multicouche à base de chitosane et acide hyaluronique sur une surface plane contient la cateslytine (un peptide antimicrobien (AMP) de type endogène antibactérien et antifongique) greffé sur l'acide hyaluronique, voir figure 38. La libération du

peptide antimicrobien (AMP) est déclenchée par la dégradation enzymatique du film à cause des agents pathogènes eux-mêmes. Après 24 h d'incubation, ces films inhibent totalement le développement des bactéries de *Staphylococcus aureus* et des levures *Candida albicans* qui sont des agents pathogènes les plus courants et virulents responsables des maladies nosocomiales. Ils produisent l'enzyme hyaluronidase conduisant à la dégradation du film et de la libération de la cateslytine. En outre, ces films sont non cytotoxiques et ils limitent l'adhésion des fibroblastes ce qui souligne une application médicale pertinente pour prévenir les infections sur cathéters intravasculaires.

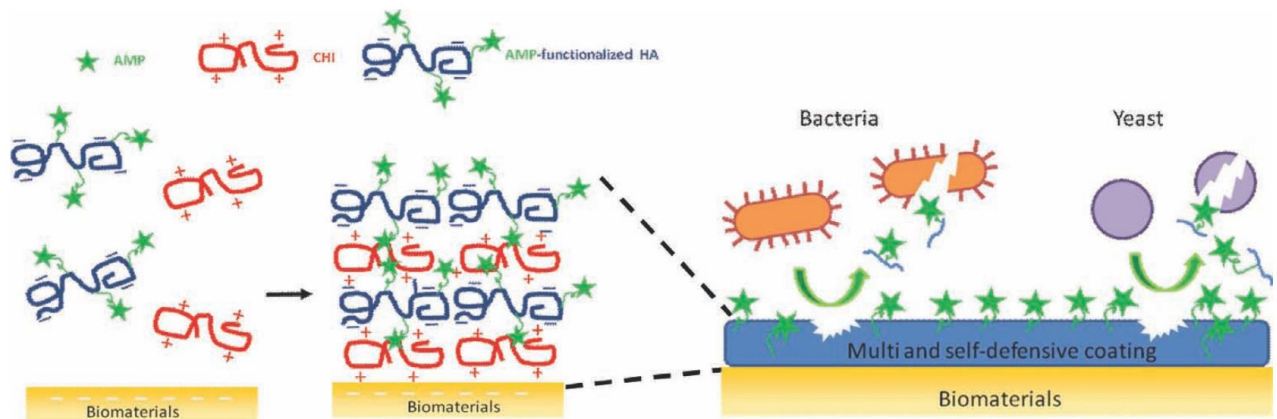


Figure 38: Assemblages multicouches à base de chitosane/acide hyaluronique fonctionnalisé par un peptide antimicrobien (AMP) nommé la cateslytine (un peptide à la fois antibactérien et antifongique) et ses activités contre les bactéries et les levures lors de la dégradation du film (Cado et al., 2013)

III.6.3.2 Libération des molécules actives dans les films multicouches

Le grand défi dans le développement de formulation de principes actifs est l'élaboration de systèmes de libération prolongée de substances bioactives. La libération contrôlée et prolongée offre une plus grande efficacité, une plus faible toxicité, et l'amélioration de confort du patient par rapport à formulations conventionnelles. Le comportement de libération dépend de la perméabilité ou de la rupture de structure multicouches ce qui est lié aussi à la stabilité des assemblages multicouches. Le mode de libération est divisé en trois types : diffusion passive à travers du film, la dégradation des assemblages et la libération déclenchée par stimuli externe (pH, force ionique, température, lumière, électrochimie, enzyme) (Pavluhina and Sukhishvili, 2011, Tang et al., 2006b), voir figure 39.

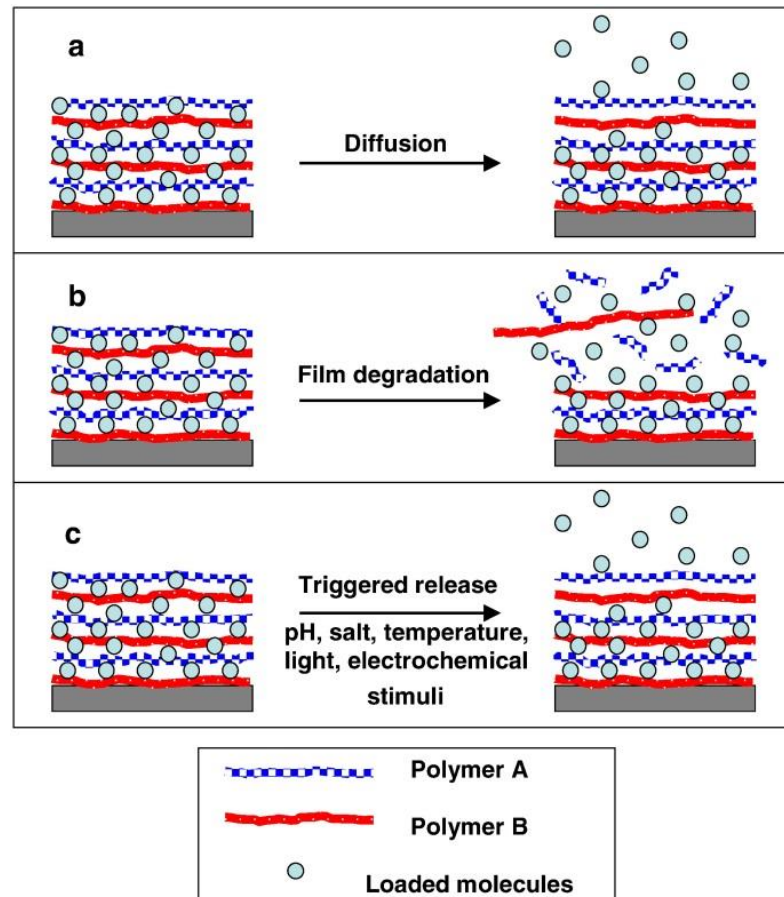


Figure 39: Mode de libération des molécules bioactives: (a) la diffusion passive, (b) la dégradation de la matrice de polymère, (c) la libération déclenchée par stimuli (Pavlukhina and Sukhishvili, 2011).

Pour exemple, les films multicouches microporeux et nanoporeux à base du PAH/PAA ou PAH/SPS montrent une cinétique d'ordre zéro pour la libération du kétoprofène et de la cytochalasine D. La quantité libérée est modulée en faisant varier le nombre de couches et le taux de libération dépend de la taille des pores dans les films (Berg et al., 2006).

Des films multicouches dégradables par hydrolyse entre le poly (β -aminoester)/DNA sont érodés progressivement à partir de la surface et libèrent en permanence le DNA pendant l'incubation dans une solution saline tamponnée au phosphate (PBS) à 37 °C (Vázquez et al., 2002).

La désintégration de films peut être utilisée pour la libération rapide de molécules chargées en réponse à une variation de pH, par exemple entre l'estomac et l'intestin. Ce phénomène est utile pour la libération rapide des molécules bioactives. Les films créés par liaisons hydrogènes PEO/PMAA contenant un colorant démontrent une forte rétention de colorant à pH constant 4,2 et la libération à pH élevé à cause d'un film désintégration (Kharlampieva and Sukhishvili, 2004).

L'assemblage entre les microgels de polyampholyte (contenant les groupements amines et carbamates)/PSS permet d'encapsuler à la fois une molécule anionique (méthyle d'orange) et cationique (rhodamine 6G) qui sont libérés simultanément dans la de solution saline 0,9%. L'ajout d'une couche de barrière photoréticulable peut ralentir la cinétique de libération (Wang et al., 2010).

Les films multicouches PNIPAM/PAA sont susceptibles de charger et libérer un colorant (rhodamine B) de façon réversible par l'exposition des solutions à des températures élevées. Le taux de chargement ou non dépend à la fois de la température de la solution et de la température de préparation du film conduisant à une libération contrôlable (Quinn and Caruso, 2004).

Les microcapsules sensibles à la lumière comprenant des multicouches PSS / PAH infiltrées par des nanoparticules d'or ont été chargées avec des macromolécules (fluorescéine isothiocyanate-marqué dextrane) en exploitant la dépendance du pH de la perméabilité de l'enveloppe. La matière encapsulée est libérée sur demande lors de l'irradiation courte (10 ns) des impulsions laser dans la zone proche-infrarouge (1064 nm) (Angelatos et al., 2005).

L'application de potentiels au-dessus d'un seuil de 1,8 V sur le substrat semi-conducteur d'indium-étain modifié avec le système PLL/héparine induit la dissolution du film multicouche. La vitesse de ce processus peut être modifiée par un profil de marche-arrêt du potentiel, ce qui conduit à la libération contrôlée de l'héparine dans le milieu (Boulmedais et al., 2006).

Le film mince multicouche de PVA-borate et le chitosane sur la particule colloïdale est très efficace pour l'encapsulation et la libération de doxorubicine (principes actifs anticancéreux) au-dessus d'une certaine concentration de glucose (25 mM). Cette méthodologie nourrit une des nouvelles stratégies prometteuses de délivrance de principes actifs pour le ciblage et le traitement de cellules cancéreuses (Manna and Patil, 2010).

IV Synthèse bibliographique et stratégie de travail

Le travail antérieur de notre groupe était basé sur l'élaboration des assemblages multicouches entre le polyCTR-CD et le chitosane (figure 40a). Ce système a montré une faible affinité avec la molécule modèle anionique (TBBA, acide tert-butylbenzoïque (Martin et al., 2013a)) comparé à la molécule modèle cationique (BM, bleu de méthylène (Martin et al., 2013b)). Afin de contrôler la libération des molécules modèles, différentes masses moléculaires de chitosane ainsi que la réticulation de la couche de chitosane avec la génipine (un agent réticulant) ont été également testés. Les résultats obtenus, bien qu'encourageant, nous ont poussés à investiguer d'autres façons d'améliorer notre système multicouches.

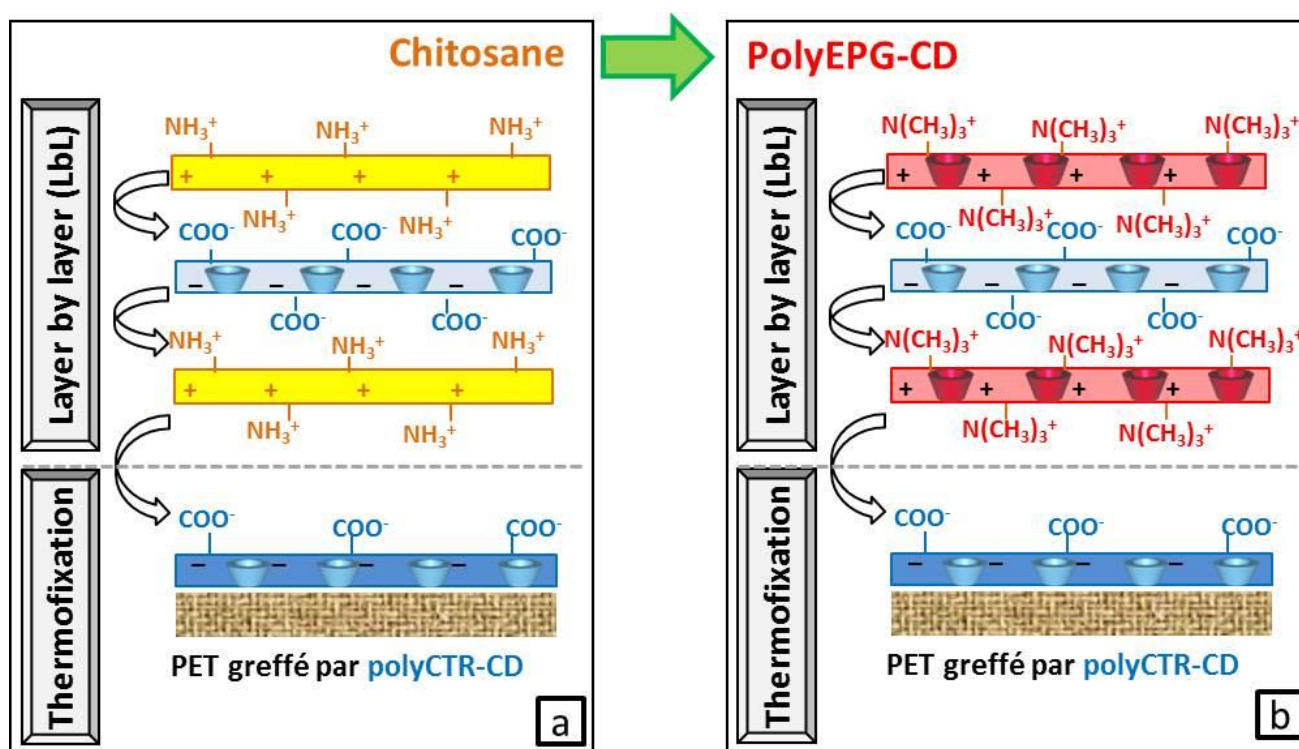


Figure 40: Assemblages multicouches à base de chitosane_polyCTR-CD (a) et polyEPG-CD_polyCTR-CD (b)

Il apparaît que la versatilité d'un tel système multicouches pourrait être améliorée par l'utilisation de deux polymères de CD de charges opposées (figure 40b). La partie suivante concernera ainsi la préparation de polyélectrolytes cationiques (polyEPG-CD) en s'inspirant de voies de synthèse existant dans la littérature. L'objectif étant de remplacer le chitosane et de perfectionner les assemblages multicouches qui seront composées de deux polyélectrolytes de CD appliqués en tant que nouveau système de libération de principes actifs.

Les polymères cationiques synthétisés par Li *et al.* (ajout simultané d'EP et de CC en figure 14a) possèdent des masses moléculaires (entre 3000 et 7000 g.mol⁻¹) et des densités de charge insuffisante ($1,5 \cdot 10^{-5}$ eq.g⁻¹) pour assurer un auto-assemblage avec notre polymère anionique de CD (polyCTR-CD avec $4 \cdot 10^{-3}$ eq.g⁻¹ de groupements carboxylates) dans un processus LbL.

En conséquence, le GTMAC est utilisé à la place de CC et ajouté dans le milieu réactionnel comme agent cationique en plus de l'EP afin d'obtenir une charge et une masse moléculaire compatible avec le polyCTR-CD dans un optique de LbL. Deux méthodes d'ajout ont été testées en utilisant le protocole de synthèse de polymère neutre publié par Renard *et al.* (Renard et al., 1997). **La méthode 1** consiste en un ajout simultané d'EP et GTMAC **et la méthode 2** correspond à un ajout en décalage, c'est-à-dire l'introduction de GTMAC 2 heures avant de mettre l'EP afin de réduire le temps de synthèse parce que cette méthode permettrait d'obtenir une masse moléculaire très élevée de polymère cationique cyclodextrine-épichlorhydrine. La préparation et la caractérisation des polymères cationique de β -cyclodextrine seront présentées dans la première partie des résultats de thèse, suivi par l'élaboration des assemblages multicouches de CD avec différents paramètres de la construction afin de contrôler à la fois la dégradation du film LbL, et la libération d'un principe actif modèle. En fin, nous terminerons par une étude in vitro de cytocompatibilité de ces textiles modifiés, suivie de leur application en tant que textile antibactérien.

Chapitre II : Matériels & Méthodes

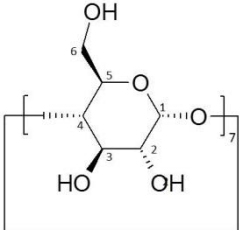

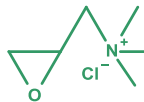
I Synthèse et caractérisation des polymères de CD cationiques & anioniques

I.1 Le polyélectrolyte cationique : polyEPG-CD

I.1.1 Voies de synthèse

Le polymère cationique hydrosoluble de β CD (polyEPG-CD) est synthétisé à partir de la β CD, l'épichlorohydrine (EP) et le chlorure de glycidyltriméthylammonium (GTMAC). Les principales caractéristiques de ces produits sont données dans le tableau 9.

Tableau 9: Caractéristiques des produits utilisés pour la synthèse du polyEPG-CD.

Produits	β -cyclodextrine	Epichlorohydrine	Chlorure de glycidyltriméthylammonium
Abréviation	β -CD	EP	GTMAC
Formules			
N°CAS	7585-39-9	106-89-9	10039-56-2
Masse molaire (g/mol)	1135	92,52	151,66
Solubilité (g/L)	18,5 dans H ₂ O à 20°C	-	-
Densité	-	1,18	1,13
Point de Fusion (°C)	-	-25,6 °C	139.5 °C
Provenance	Roquette (Lestrem, France)	Sigma-Aldrich	Sigma-Aldrich

La synthèse de polymère cationique comprend trois grandes étapes (figure 41a). Elle est inspirée de la préparation de polymère neutre de β CD et EP (Renard et al., 1997) obtenu par polymérisation par condensation. Le procédé type de synthèse pour un rapport molaire β CD: EP: GTMAC = 1: 10: 5 (ci-après nommé polyEPG-CD-5) est décrit ci-dessous (Junthip et al., 2015) :

- **La déprotonation de la β CD** en milieu basique sous agitation à 600 rpm pendant 24 h à température ambiante afin d'obtenir les fonctions alcoolates. 5 g (4,4 mmol) de β CD sont dissous dans 8 mL de solution de NaOH (22% (w/v) dans l'eau).

- **La réticulation de la β CD avec l'EP (agent réticulant) en présence de GTMAC (agent cationique)** à différents rapports molaire de GTMAC, différentes températures (30 ou 60°C) et deux méthodes distinctes d'ajout de l'EP et du GTMAC.

La température du milieu réactionnel est contrôlée par un bain d'eau thermostaté à 30 °C ou à 60 °C. Deux méthodes d'ajout sont appliquées pour la polymérisation: **la méthode 1** consiste à ajouter 3,70 mL (22 mmoles) de GTMAC (90% (w/v) dans l'eau) et 3,45 mL (44 mmoles) d'EP en même temps dans la solution déprotonée de β CD, tandis que **la méthode 2** consiste à additionner tout d'abord 3,70 mL de la solution de GTMAC dans la solution déprotonée de β CD puis 3,45 mL d'EP 2 heures plus tard. Dans les deux cas, le temps de démarrage de la réaction est fixé lors de l'addition d'EP. La réaction se poursuit pendant un temps bien déterminée et elle est arrêtée avant son point de gel (évaluée dans des expériences préliminaires) par introduction d'acétone (20 mL). Un polymère hyper-ramifié hydrosoluble ayant un poids moléculaire supérieur à 8 kDa est obtenu.

- **La purification** en plusieurs étapes destinée à éliminer les sous-produits de réaction et obtenir un polymère en poudre prêt à l'emploi. Après arrêt de la réaction, l'acétone qui contient l'épichlorhydrine résiduel est éliminée par décantation. 20 mL d'eau distillée sont ajoutés à la phase aqueuse qui est ensuite neutralisée avec de l'HCl (6 N) puis chauffée à 50 °C pendant une nuit. La solution obtenue est alors filtrée afin d'éliminer une éventuelle partie insoluble. Ensuite, le filtrat est dialysé pendant 72 heures dans de l'eau distillée en renouvelant régulièrement celle-ci (des membranes Spectra/Por1 avec la coupure de poids moléculaire de 6-8 kDa sont utilisées) afin de recueillir une fraction purifiée. Les échantillons de polymères sont finalement isolés par lyophilisation. Plusieurs rapports molaires de β CD: EP: GTMAC (ci-après rapporté comme polyEPG-CD-X avec X = rapport molaire de GTMAC (1 ; 5 ; 10 ; 15) sont élaborés avec la même procédure, tableau 10. La structure et la réaction de polyEPG-CD est proposée en figure 41b.

Tableau 10 : Quantité molaire des produits utilisés pour la synthèse du polyEPG-CD.

Polycation	[β -CD] en mM	[EP] en mM	[GTMAC] en mM
PolyEPG-CD-1	4,4	44	4,4
PolyEPG-CD-5	4,4	44	22
PolyEPG-CD-10	4,4	44	44
PolyEPG-CD-15	4,4	44	66

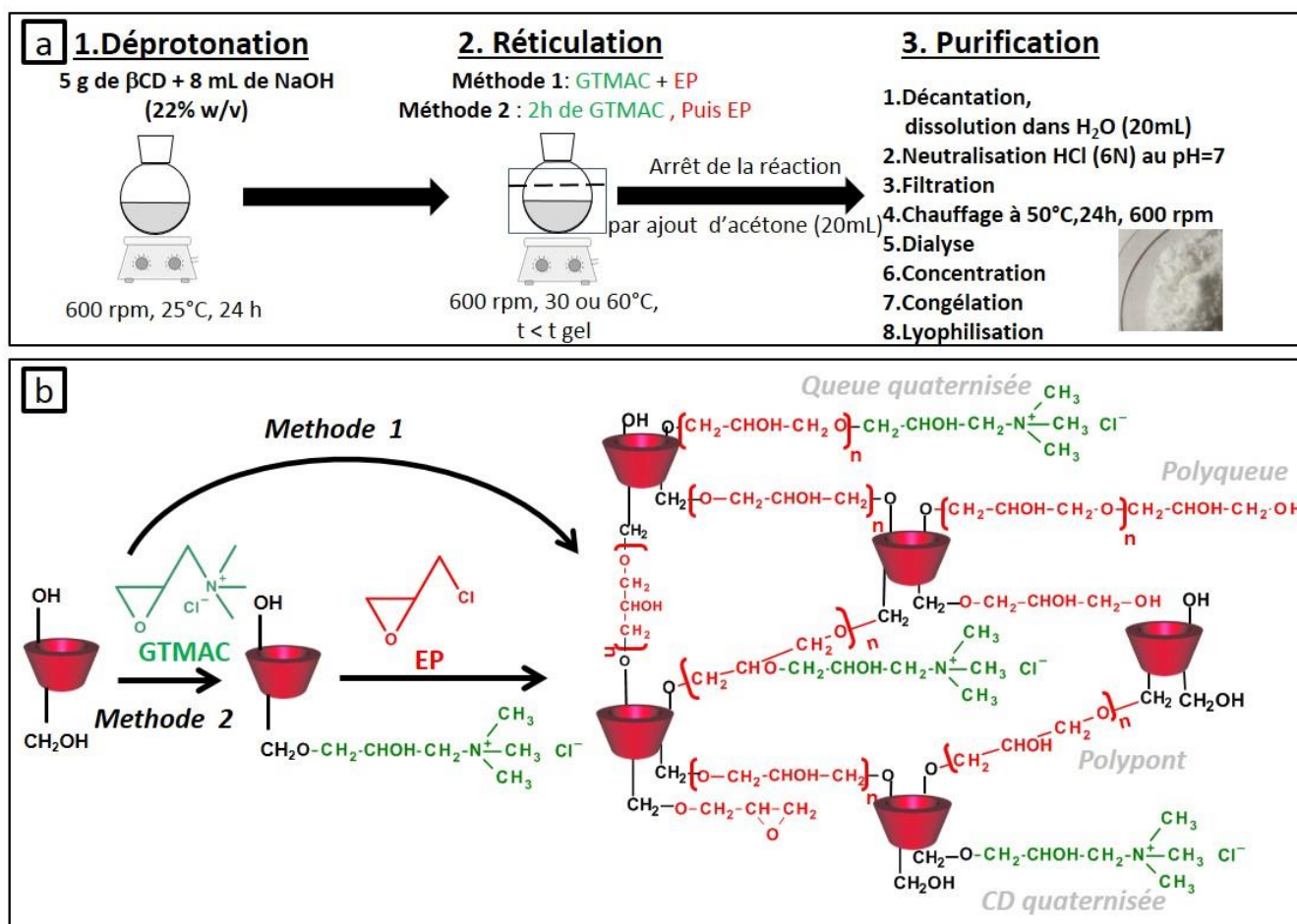


Figure 41 : Schématisation de la synthèse (a) et de la réaction (b) du polyEPG-CD.

I.1.2 Caractérisation des polyEPG-CD

I.1.2.1 Résonance magnétique nucléaire (RMN)

Pour l'enregistrement des spectres RMN ¹H (16 scans), un spectromètre Bruker AV 300 (300 MHz) a été utilisé. Les échantillons ont été dissous dans D₂O (10 mg/mL). Les expériences de séquences APT (attached-Proton-Test) ont été développées sur un spectromètre Bruker AV 400 (400 MHz) pour la RMN ¹³C (14 294 scans) et la concentration appliquée était de 250 mg/mL dans D₂O. Afin d'identifier tous les signaux des protons dans le polyEPG-CD, l'hydrolyse du GTMAC a été réalisée dans NaOH (22% w/v) et les produits résultants ont été recueillis après lyophilisation et analysés par RMN.

I.1.2.2 Titration colloïdale

Les densités de charge des polymères cationiques ont été évaluées par titration colloïdale à l'aide d'un détecteur de particules de charge (Mütek PCD-03) et d'un appareil de titrage automatique (PCD-T3). 10 mL d'une solution polyEPG-CD à 0,4 g/L dans l'eau distillée ont été ajoutés à la cellule de mesure et ensuite titrés avec le polyélectrolyte anionique (solution PES-Na à 0,1 mmol/L). La densité de charge (Q), exprimée en mmoles de groupements ammoniums quaternaires par gramme de polymère polyEPG-CD, est calculée en utilisant l'équation suivante :

$$Q(\text{mmol/g}) = C_{\text{PES-Na}} * V_{\text{eq}} / m$$

où C est la concentration de PES-Na, V est le volume de PSE-Na au point d'équivalence et m est le poids de l'échantillon sec en gramme. Toutes les analyses ont été effectuées en triplicat.

I.1.2.3 Dosage conductimétrique

Les densités de charge de polymères cationiques ont été déterminées par dosage conductimétrique. Cette méthode de dosage est inspirée de (Pei et al., 2013) qui a préalablement titré le groupement chlorure de triméthylammonium sur une cellulose quaternisée, en supposant la présence d'un contre-ion de chlorure par groupement triméthylammonium. 100 mL de solution polyEPG-CD à 1 g/L dans l'eau ultra-pure est dosée avec la solution aqueuse de nitrate d'argent (AgNO_3) (8 mmol/L). La densité de charge (Q), exprimée en mmoles de groupements ammoniums quaternaires par gramme de polymère polyEPG-CD, est calculée en utilisant l'équation suivante :

$$Q(\text{mmol/g}) = C_{\text{AgNO}_3} * V_{\text{eq}} / m$$

Où C est la concentration de AgNO_3 , V est le volume de solution de AgNO_3 ajouté au point d'équivalence et m est le poids de l'échantillon sec en gramme. Toutes les analyses sont effectués en triplicat.

I.1.2.4 Analyse élémentaire

L'analyse élémentaire du carbone, de l'hydrogène, et les teneurs en azote ont été effectuées sur un analyseur d'élément (Elementar Analysensysteme GmbH - MICRO vario). La densité de charge (Q en mmol/g) est estimée à partir du pourcentage en poids d'azote mesurée dans des polymères polyEPG-CD après correction de la teneur en eau déterminée par ATG. Les analyses ont été effectuées en triplicat.

I.1.2.5 Chromatographie d'exclusion stérique (SEC) en phase aqueuse

Le polyEPG-CD a été caractérisé par chromatographie d'exclusion stérique (SEC) au sein du laboratoire IBMM de l'université de Montpellier 1. Les expériences ont été réalisées avec un système DIONEX UltiMate 3000 équipé d'un détecteur de diffusion de la lumière statique en trois angles de miniDAWN TREOS (MALS détecteur de WYATT) et d'un réfractomètre différentiel Schambeck 2000. La lumière incidente de la longueur d'onde du détecteur MALS était de 658 nm et les trois angles de diffusion étaient respectivement 41,5°, 90° et 138,5°. Deux colonnes connectées en série (SHODEX SB 806M HQ, 8 mm × 300 mm) et une précolonne (SHODEX OH-PAK SB-G, 6 mm × 50 mm) ont été utilisées. La phase mobile était composée de 0,15 mol/L de tampon phosphate, 1 mol/L de NaCl et d'une solution de NaN₃ à 0,03% au pH = 7,4. La vitesse d'élution était de 0,80 mL/min. La solution d'albumine de sérum bovin (BSA) a été utilisée pour l'étalonnage à 35°C. Une valeur dn/dc de 0,15 a été déterminée pour tous les polymères cationiques étudiés dans ce travail. Les échantillons de polymère dissous dans le tampon d'analyse à une concentration de 4,5 g/L ont été préalablement filtrés en utilisant une membrane Millipore (0,45 µm) et ils ont été laissés au repos pendant une nuit avant l'injection.

I.1.2.6 Analyses thermogravimétriques (ATG)

Des expériences d'analyse thermogravimétriques ont été effectuées avec un appareil TGA Q50 (TA Instruments) à partir de la température ambiante jusqu'à 500 °C avec une vitesse de chauffage de 5 °C/min. Les échantillons ont été placés dans une creuset en alumine (oxyde d'aluminium) sous l'azote (balance : 10 mL/min, four : 90 mL/min).

I.1.2.7 Spectroscopie Infrarouge

Un spectromètre Perkin Elmer (Spectrum One) équipé d'un logiciel Spectrum a été utilisé pour effectuer les analyses infrarouges en mode ATR (réflexion totale atténuée). Les spectres ont été collectés après 16 scans dans la gamme 400-4000 cm⁻¹ avec une résolution de 4 cm⁻¹.

I.1.2.8 Spectroscopie Raman

Les expériences RAMAN ont été effectuées au sein du laboratoire UMET (équipe MMT) de l'Université Lille 1. Les spectres Raman ont été collectés avec un spectromètre

Raman Renishaw InVia comprenant un seul réseau (le spectrographe), couplé à un microscope optique Leica. Il est équipé d'un laser Argon (de longueur d'onde 514,5 nm, couleur verte) et d'une diode laser émettant dans la gamme de longueur d'onde du proche-infrarouge (785nm). Des filtres diélectriques ont été utilisés pour couper la très forte intensité de la lumière diffusée élastiquement. De ce fait le signal Raman, correspondant à la lumière diffusée inélastiquement a été détecté au-dessus de 50 cm^{-1} . Le système de dispersion de la lumière correspondait principalement au spectrographe, qui a pour fonction de disperser la lumière diffusée inélastiquement par l'échantillon. Deux types de réseaux ont été utilisés : un réseau 1800 traits/mm associé au laser argon et un second, 1200 traits/mm associé à la diode laser. La détection du signal Raman a été effectuée par une barrette CCD (Charge Coupled Device). Le faisceau laser était focalisé sur les échantillons via un objectif longue distance de travail $50\times$ avec un diamètre de spot de $1 \mu\text{m}$ et une intensité maximale de 50 mW. L'intensité était intégrée dans une profondeur maximale de $\Delta z \sim 100 \mu\text{m}$ en mode confocal, et pour la longueur d'onde du laser utilisé. La résolution spectrale a été estimée à 2 cm^{-1} sur le domaine spectral analysé.

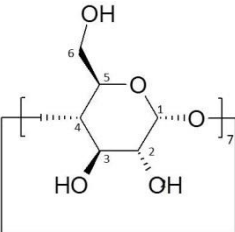
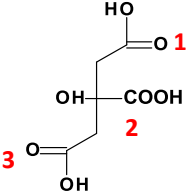
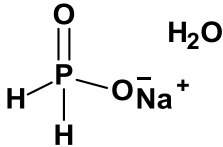
I.2 Le polyélectrolyte anionique : polyCTR-CD

I.2.1 Procédure de synthèse

Le polymère anionique hydrosoluble de β CD (polyCTR-CD) est synthétisé à partir de la β CD, l'acide citrique (CTR) utilisé comme agent réticulant et de l'hypophosphite de sodium monohydraté (NaH_2PO_2 , H_2O) utilisé comme catalyseur (Martel et al., 2005). Les principales caractéristiques de ces produits sont données dans le tableau 11.

La synthèse de polymère anionique contient trois grandes étapes (figure 42a) : **la dissolution** des trois composants en proportion massique (CTR : catalyseur : β CD = 10g :3g :10g) dans 100 mL d'eau, l'évaporation de l'eau jusqu'à l'obtention d'un dépôt sec sur la paroi du ballon avant **la réticulation entre la β CD et le CTR** à 140°C pendant 30 minutes sous vide et **la purification du polymère comme dans le cas de la synthèse de polyEPG-CD** (redissolution dans l'eau, filtration sur fritté, dialyse dans l'eau distillé à l'aide d'une membrane Spectra/Por1 (6-8 kDa) pendant 72 heures en changeant fréquemment l'eau, concentration de la solution, congélation et obtention de la poudre de polymère par lyophilisation). La structure de polymère anionique est montrée dans la figure 42b.

Tableau 11 : Caractéristiques des produits utilisés pour la synthèse du polyCTR-CD.

Produits	β -cyclodextrine	Acide citrique	Hypophosphite de sodium monohydraté
Abréviation	β -CD	CTR	$\text{NaH}_2\text{PO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$
Formules		 <p>$\text{pK}_{a1} = 4,76$; $\text{pK}_{a2} = 3,13$ $\text{pK}_{a3} = 6,40$</p>	
N°CAS	7585-39-9	5949-29-1	10039-56-2
Masse molaire (g/mol)	1135	192	105,99
Solubilité (g/L)	18,5 dans H_2O à 20°C	1148	-
Densité	-	-	-
Point de Fusion ($^\circ\text{C}$)	-	153°C	90°C
Provenance	Roquette (Lestrem, France)	Sigma-Aldrich	Sigma-Aldrich

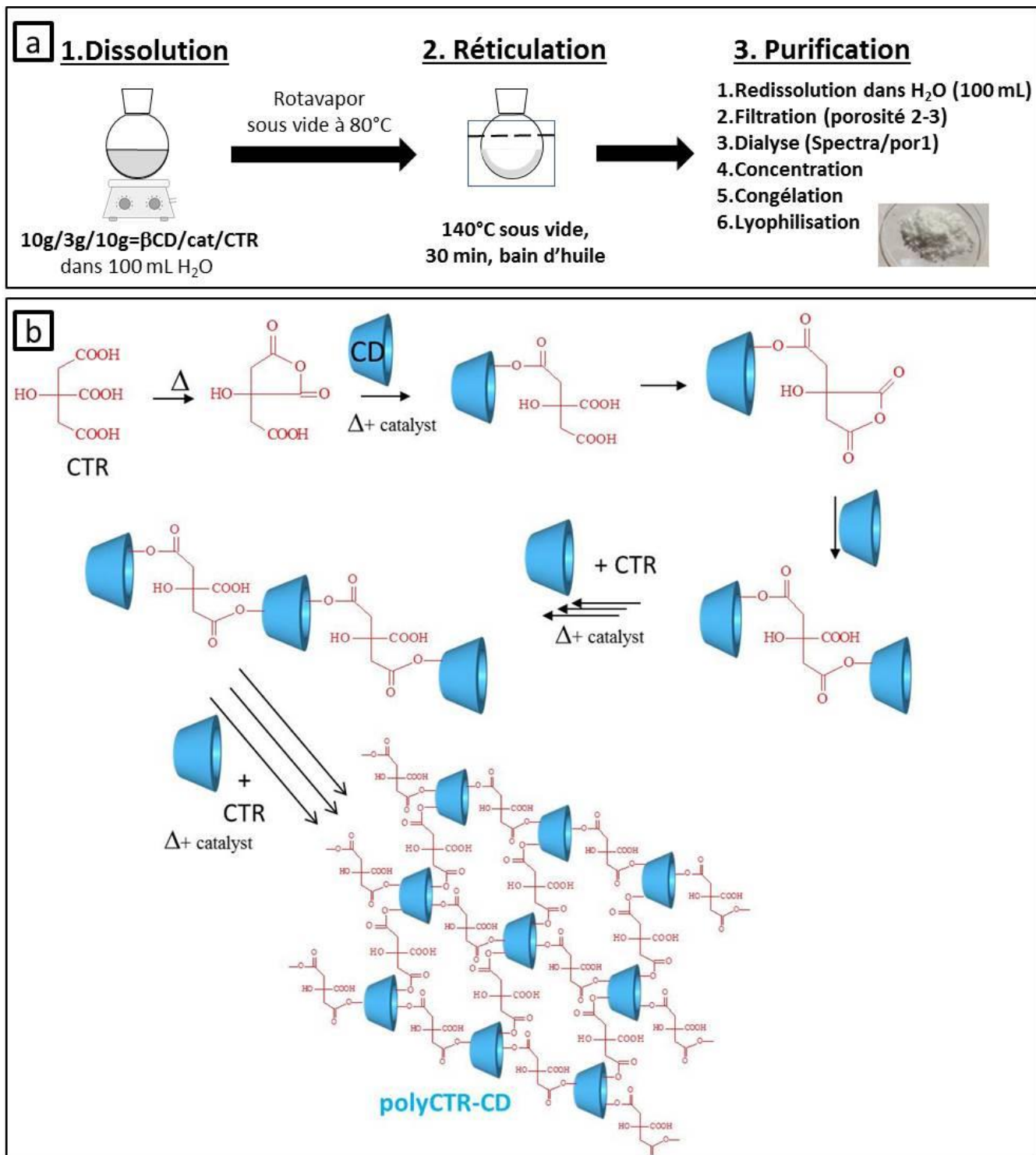


Figure 42: Schématisation de la synthèse (a) et de la réaction(b) du polyCTR-CD

I.2.2 Caractérisation de polyCTR-CD

Le polymère anionique a été caractérisé par RMN, ATG, spectroscopie Infrarouge et Raman dans les mêmes conditions opératoires que le polyEPG-CD.

La masse moléculaire de polyCTR-CD a été caractérisé par SEC au sein de l'institut Charles Sadron de Strasbourg (plateforme de caractérisation) : $M_w = 22,6$ kg/mol et $I_p = 1,7$. Pour cela, un ensemble DIONEX série Ultimate 3000 équipé d'un détecteur de diffusion de la lumière aux multi-angles DAWN HELEOS II (Wyatt Techn.) et équipé d'un réfractomètre différentiel OPTILAB rEX (Wyatt Techn.) avec 4 colonnes Shodex OH-pak 30 cm et une pré-colonne a été utilisé. La solution a été chauffée à 50°C pendant 2 heures et filtrée (0,45 μ m) avant la mesure (débit = 0,5 ml/min, concentration de polymère = 3 g/L, phase mobile = 0,1 M NaNO_3 et NaN_3 , $dn/dc = 0,139$).

La charge anionique a été déterminée par un dosage acido-basique. 50 mg de polymère ont été solubilisés dans 100 mL de NaCl (0,1 M) est dosés par une solution de NaOH (0,05 M). Ce dosage a permis de déterminer la disponibilité des fonctions carboxyliques (4 mmol/g de polymère). La forme basique et acide de polyCTR-CD est représentée dans la figure 43.

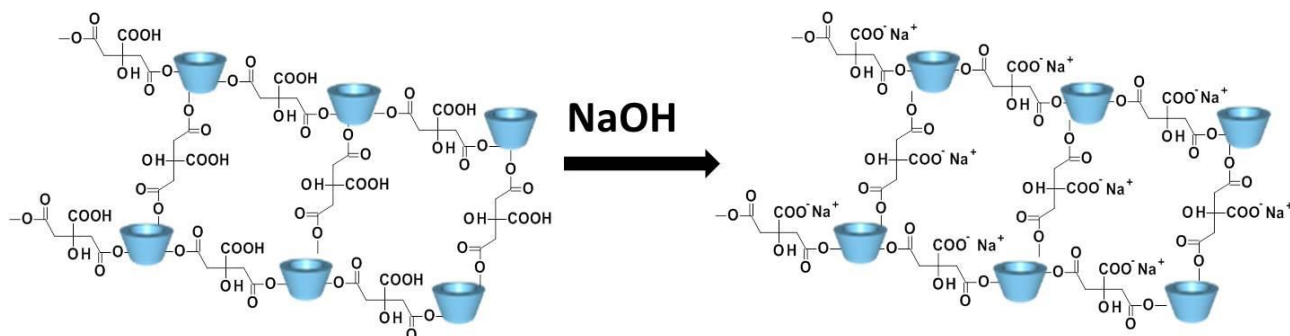


Figure 43: Structure de polyCTR-CD sous la forme protonée et déprotonée

II Le support textile PET non-tissé

Le textile PET non-tissé est un très bon candidat pour une application biomédicale grâce à ses nombreux avantages tels que sa stabilité chimique et thermique, ses bonnes propriétés mécaniques, sa biocompatibilité et son prix attractif. Il est utilisé dans les implants vasculaires ou viscéraux et les sutures (Franklin et al., 2009). Le support PET non-tissé utilisé dans cette étude est fourni par la société PGI-Nordlys (Bailleul, France). Ses caractéristiques ainsi que son apparence sont montrées en figure 44.

Caractéristiques	PET-NSN 365
Type de Liage	Thermolié
Grammage	65 g/m ²
Finesse	0,21 mm
Résistance à la rupture	210 N/5cm
Allongement à la rupture	23 %
Porosité à l'air	2400 L/m ² /s
Température de Fusion	250°C-265°C
Taille des pores	65 µm en moyenne (entre 45-200 µm)

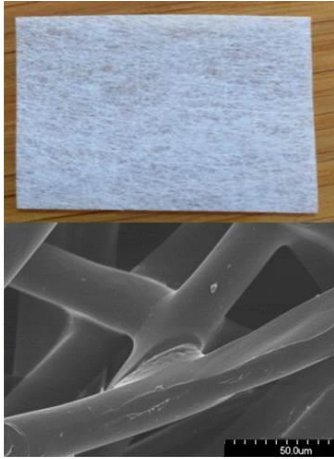


Figure 44: Caractéristiques générales de textile PET non-tissé avec image à la taille réelle et au MEB (échelle de 50 µm).

II.1 Greffage de polyCTR-CD sur le textile PET par thermofixation

Le PET est chimiquement inerte, hydrophobe et non-ionique. Les fonctions COOH en bout de chaînes sont en quantité insuffisante pour rendre sa surface anionique. L'enrobage des fibres textiles et la fixation d'un polymère anionique de CD sont effectués par méthode thermofixation (figure 45) afin d'apporter des charges surfaciques et promouvoir les interactions ioniques avec la couche suivante de polycation lors du procédé LbL.

Les échantillons textiles (10x5 cm²) sont lavés au soxhlet une fois dans l'isopropanol (30 min/cycle) et deux fois dans l'eau (90 min/cycle) pour éliminer les traces d'ensimage. Ils sont ensuite imprégnés dans la solution contenant l'acide citrique, le catalyseur et la βCD dans les proportions massiques 10/3/10 ou 2,5/0,75/2,5 dans 100 mL d'eau distillée ; puis sont passés au foulard textile 4 fois afin d'éliminer les excédents de solution. Après un séchage à 90 °C pendant 5 minutes ayant pour but d'éliminer toutes traces d'eau, la réaction de thermofixation est réalisée pendant 30 minutes à 150 °C. Finalement, les échantillons sont lavés trois fois au soxhlet dans l'eau afin d'éliminer les résidus non-polymérisés. Le gain de masse est calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Gain de masse (\%)} = (M_t - M_i) * 100 / M_i$$

Où M_i et M_t correspondent respectivement à la masse avant et après le traitement de thermofixation, mesurées avec une balance de haute précision ($\pm 4 \cdot 10^{-5}$ g). Les échantillons sont séchés à 90°C pendant 30 minutes avant les pesées.

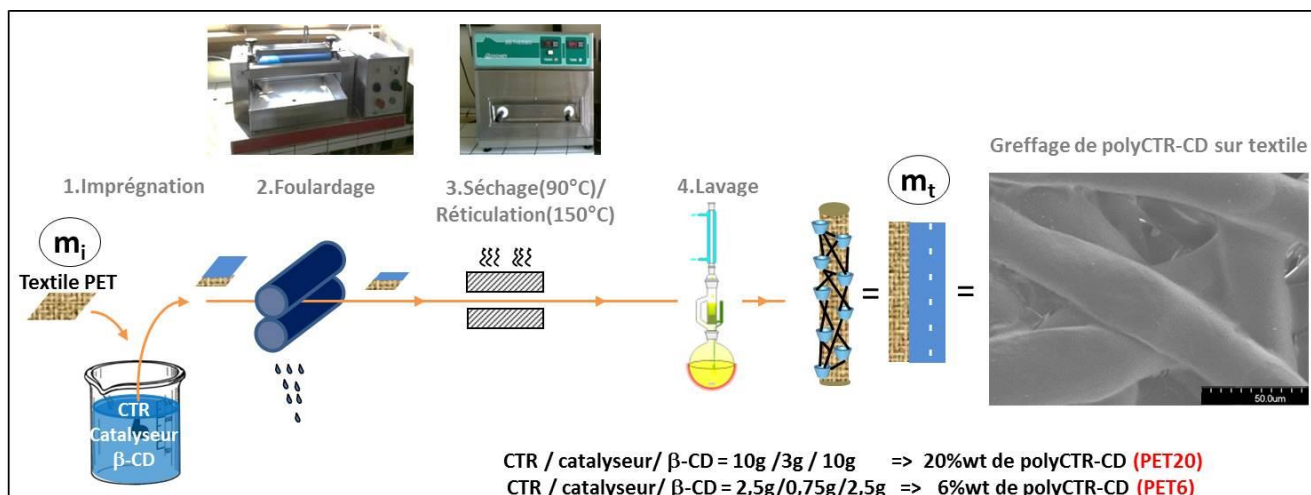


Figure 45 : Processus de thermofixation pour former la première couche anionique.

Les fonctions carboxylates sont ensuite générées par un traitement au carbonate de sodium (0,1M) pendant 15 minutes sous agitation suivi de rinçages à l'eau distillée jusqu'à l'obtention d'un pH neutre. La présence de ces groupements en surface donne des propriétés d'échange ionique au support textile. **Cette première couche anionique de CD est numérotée comme la couche n°1 ou la couche thermofixée.** En fonction du rapport massique de départ (CTR / catalyzeur / β CD = 10/3/10 ou 2,5/0,75/2,5 dans 100 mL d'eau), on obtiendra respectivement un **PET thermofixé à 20%wt (PET20)** et un **PET thermofixé 6%wt (PET6)**. Le taux de charge anionique étant proportionnel au gain de masse.

II.2 Dosage des groupements carboxyliques de PET thermofixé

Les fonctions carboxylates sur le PET thermofixé sont quantifiées par une méthode basée sur un dosage pH-métrique et utilisant une solution d'acétate de calcium afin d'estimer la capacité d'échange ionique (CEI) (Ducoroy et al., 2007). La CEI correspond au nombre de groupements fonctionnels par unité de masse de textile (mmol/g).

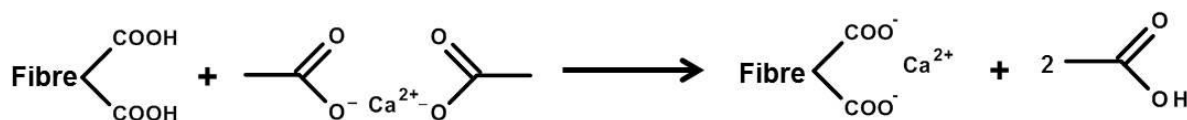


Figure 46 : Capacité d'échange ionique.

Des échantillons de masse connue (0,5 à 1 g) sont placés dans 50 mL d'une solution d'acétate de calcium (2% massique) sous agitation pendant une heure. L'acétate de calcium permet un échange de protons entre les groupements carboxyliques présentés sur le textile et les ions calcium afin de former de l'acide acétique (figure 46). L'acide acétique formé est

ensuite dosé par une solution de soude (0,05 M) en utilisant la phénophtaléine comme indicateur colorée ce qui permet d'accéder au nombre de fonctions carboxyliques à la surface de textile. Le nombre de mole de soude dosée est égal au nombre de mole de fonction acide carboxylique sur le textile. Le taux de fonctions carboxyliques est calculé selon l'équation suivant

$$\text{CEI (mmol/g)} = C_{\text{NaOH}} * V_{\text{eq}} / m$$

Où C est la concentration de NaOH, V est le volume de solution de NaOH ajouté au point d'équivalence et m est le poids de l'échantillon sec en gramme. Toutes les analyses sont effectués en triplicat. La CEI est exprimée en mmol/1 g de textile, elle peut aussi convertir en mmol/cm² en sachant que la masse surfacique du PET est de 65 g/cm².

III Construction des assemblages multicouches

III.1 Construction des assemblages multicouches par OWLS

L'OWLS (Optical Waveguide Lightmode Spectroscopy) est une méthode qui permet d'étudier et de suivre « en direct » les interactions entre des molécules ou des macromolécules et des surfaces de manière quantitative, via les phénomènes d'adsorption, de liaison ou d'adhésion (Kurrat et al., 1997, Kurrat et al., 1998, Leclercq et al., 2013, Martin et al., 2013b, Martin et al., 2013a). Les expériences de l'OWLS ont été réalisées au sein du laboratoire IBMM de l'université de Montpellier 1

La technique OWLS décrite en détail en 1989 (Tiefenthaler and Lukosz, 1989) utilise les propriétés de réflexion de la lumière à l'interface guide d'onde / couche adsorbée pour déterminer l'indice de réfraction de cette couche et ainsi remonter à son épaisseur ainsi qu'à la quantité de molécules adsorbées par unité de surface (figure 47). Le principe de base de la méthode OWLS est qu'une lumière polarisée linéairement (laser He-Ne) est couplée à la lumière évanescente par un réseau de diffraction au sein d'un guide d'onde si la condition de couplage est remplie. Le couplage est un phénomène de résonance qui se passe à deux angles d'incidence bien définis (mode électrique et magnétique) lesquels dépendent de la valeur de l'indice de réfraction du milieu couvrant la surface du guide d'onde.

Plus précisément, un faisceau laser (He-Ne) polarisé linéairement passe à travers un obturateur, est réfléchi par un prisme, puis arrive avec un certain angle incident à la surface du capteur. Ce dernier est basé sur un réseau optique fin préparé sur un guide d'onde, également fin, situé sur un substrat en verre positionné sur un rotateur dont l'angle de rotation est contrôlé continuellement (par paliers) par un moteur durant la mesure. Grâce à son indice de

réfraction élevé (n_f de l'ordre de 1,75 à 1,82), le guide d'onde permet la propagation de la lumière uniquement par réflexion interne totale. Selon la quantité et la polarisabilité des macromolécules adsorbées, la lumière est réfléchiée avec un certain déphasage et l'intensité lumineuse à la fois en mode électromagnétique (TE) et magnétique (TM) atteint un maximum pour certains angles (angles de couplage) entre la source laser et la cellule qui sont mesurés par l'appareil. La lumière couplée est détectée de manière continue aux extrémités du capteur par des photodiodes (figure 47).

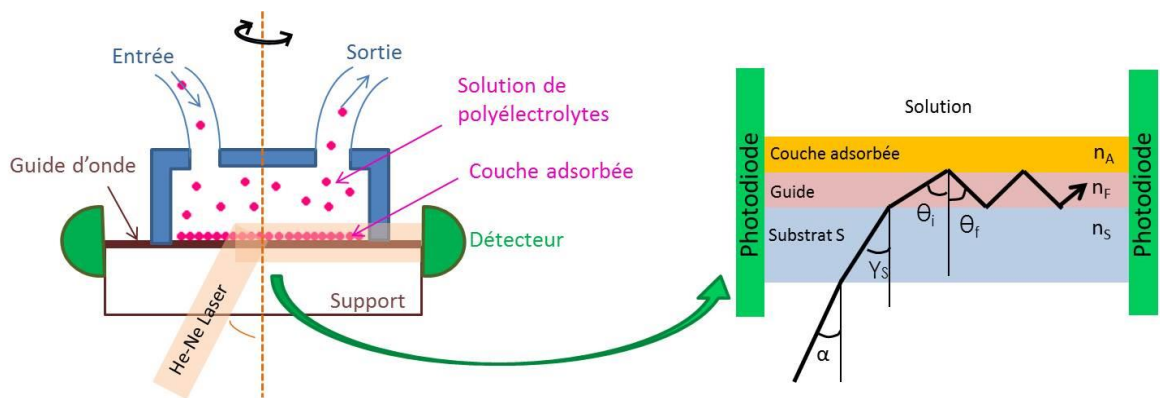


Figure 47: Principe et schématisation d'OWLS.

Les variations des angles de couplage vont dépendre de l'indice de réfraction et de l'épaisseur de la couche adsorbée (Vörös et al., 2002, Takumi et al., 2010, Picart et al., 2004, Picart et al., 2001a). L'indice de réfraction n_A d'une macromolécule dépend linéairement de sa concentration (c_A) selon l'équation suivante :

$$n_A = n_C + n_A^* \cdot (dn/dc)$$

où n_C est l'indice de réfraction du solvant et où le coefficient dn/dc dépend de la polarisabilité des molécules mais possède une valeur quasiment universelle pour toutes les protéines (0,182 cm³/g)(Ramsden, 1993). En accord avec la convention de Gibbs, pour $c_A \gg c_C$ (c_C = concentration du solvant dans la couche adsorbée), la quantité de molécules adsorbées par unité de surface M peut s'exprimer en fonction de l'épaisseur de la couche adsorbée (d_A) selon l'équation suivante (Leclercq et al., 2013).

$$M = C_A \cdot d_A$$

En combinant les deux équations précédentes, on obtient la nouvelle équation qui donne la quantité de molécules adsorbées par unité de surface.

$$M = d_A \cdot (n_A - n_C) / (dn/dc)$$

La technique OWLS est généralement utilisée pour le suivi de la construction des assemblages multicouches (Lavalle et al., 2002, Abdelkebir et al., 2011, Wittmer et al., 2007,

Ngankam and Van Tassel, 2005, Zhen et al., 2004). Elle présente des avantages par rapport à la technique SPR (pour Surface Plasmon Resonance), notamment la mesure directe de l'indice de réfraction et des deux angles de couplage ainsi que la possibilité de travailler avec des substrats différents sous réserve qu'ils soient transparents. Tout comme la technique SPR, OWLS est une technique très sensible ($\sim 1 \text{ ng/cm}^2$).

Les mesures OWLS ont été réalisées à l'Institut des Biomolécules Max Mousseron à Montpellier (UMR CNRS 5247). L'appareil est un OWLS 120 composé d'une sous-unité SIS06 pour les injections d'échantillons et d'une pompe seringue NE-1000 (Microvacuum Ltd., Budapest, Hongrie). La source de lumière est un laser He-Ne linéairement polarisé qui émet à 632,8 nm. La température du porte-échantillon est gardée constante grâce à un dispositif Pelletier TC dirigé par un contrôleur Omron. Toutes les mesures et calculs ont été réalisés avec le logiciel Biosense 2.6. Le guide d'onde a pour dimensions 12 mm x 2 mm et présente une périodicité de 2400 lignes/mm. Il est composé de $\text{Si}_x\text{Ti}_{(1-x)}\text{O}_2$, où $x = 0,25 \pm 0,05$ avec une épaisseur (d) de 170 nm.

Avant chaque mesure, la surface de la cellule est nettoyée sous sonication par contact avec une solution aqueuse acide (4N HCl/H₂SO₄) pendant 15 min puis rincée successivement avec de l'eau distillée et de l'acétone. Toutes les expérimentations ont été réalisées sous flux continu à 50 mm³/min jusqu'à l'obtention d'un plateau. Les solutions de polymères avec ou sans molécule modèle sont préparées dans la même manière que lors de la construction des multicouches sur le textile (voir la partie III.2 de ce chapitre). En OWLS, la seule différence consiste en l'utilisation du milieu tamponné (NaCl 0,15M au pH naturel ou fixé des solutions ; HEPES 20 mM au pH=7,4) du à l'instabilité de la ligne de base dans l'eau. La solution polycationique est injecté en premier dans la cellule, puis un rinçage par une solution de tampon est effectué afin d'éliminer les molécules non adsorbées à la surface de la cellule. Lorsqu'un nouveau plateau est atteint, la solution polyanionique est injectée à son tour, suivi par la même étape de rinçage. Ces opérations sont répétées autant de fois que nécessaire en fonction du nombre de couches désiré à la surface. Les expériences sont réalisées en triplicat.

III.2 Construction des assemblages multicouches sur textile

III.2.1 Construction sans principes actifs (voie A)

Les solutions de polymères sont préparées dans de l'eau distillée ou dans un milieu tamponné d'un volume de 50 mL (NaCl 0.15M au pH naturel ou fixé des solutions, HEPES 20 mM au pH=7,4 et PBS 0,15 M au pH=7,4) à différentes concentrations. Le pH naturel des polymères lors de leurs synthèses est de $6,5 \pm 0,2$ pour le polycation (polyEPG-CD) et $3,5 \pm 0,1$ pour le polyanion (polyCTR-CD).

La construction des assemblages sans principes actifs (figure 48) est effectuée pour les études de dégradation ultérieures. Les échantillons ($3 \times 3 \text{ cm}^2$) de PET thermofixés par le polyCTR-CD (PET6 ou PET20) sont imprégnés dans la solution de polyEPG-CD (50mL) pendant 15 min sous agitation à 150 rpm puis sont séchés à l'étuve à 90°C pendant 15 min. Ils sont ensuite lavés, dans 50 mL du même solvant que celui de la solution de polymère, pendant 15 min sous agitation à 150 rpm et enfin pesés après avoir été séchés à 90°C pendant 15 min. La formation des couches impaires de polyanions est effectuée de la même manière jusqu'au nombre de couches souhaitées. Les assemblages multicouches sont aussi soumis à un traitement thermique à 140°C pendant un temps variable (partie III.3 de ce chapitre) pour étudier l'influence du processus de réticulation thermique sur la dégradation des échantillons multicouches. Les assemblages à base de **polyCTR-CD/polyEPG-CD-10** sont nommés système **R10** et ceux de **polyCTR-CD/polyEPG-CD-1** sont appelés système **R1**.

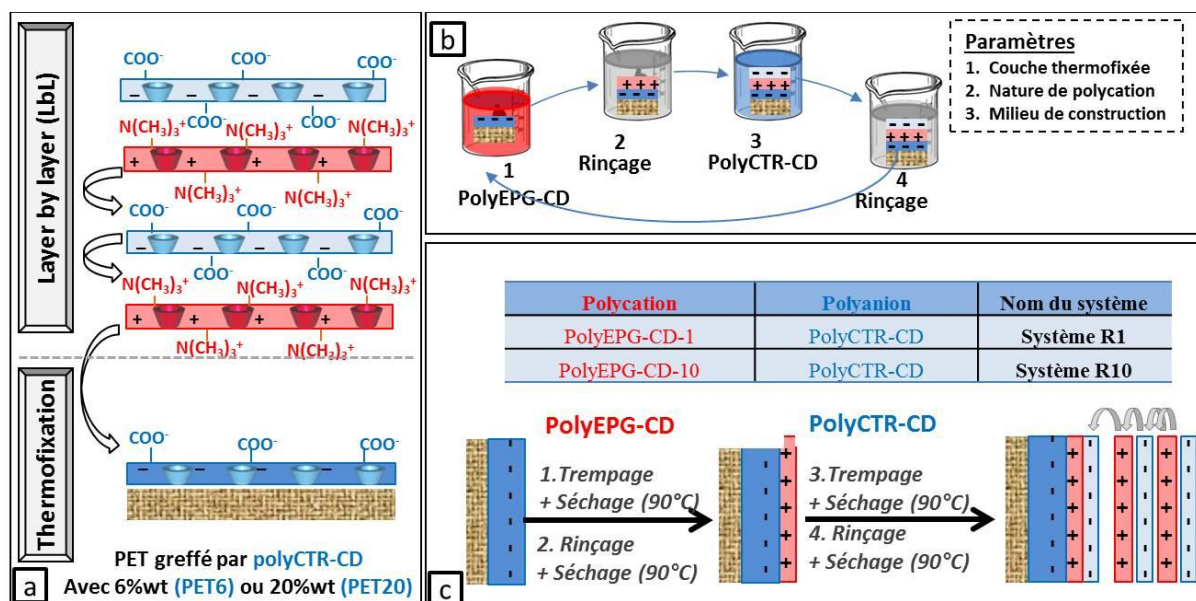


Figure 48 : (a) Schématisation des assemblages multicouches à base de cyclodextrines (b) et (c) processus de la construction multicouches par la technique de trempage.

III.2.2 Construction avec principes actifs (voie B et C)

La construction des assemblages avec principes actifs est effectuée en vue de l'étude de libération. Les principes actifs étudiés dans ce projet sont : une molécule anionique (TBBA : acide 4-tert-butyl benzoïque), une molécule cationique (BM : bleu de méthylène) et des molécules neutres ((BN : béta naphthol) et (TCS : triclosan) afin d'évaluer la capacité d'encapsulation et la versatilité des assemblages multicouches ; leurs principales caractéristiques sont mentionnées dans le tableau 12.

Les différents modes d'incorporation des principes actifs selon la construction des assemblages multicouches (pendant la construction ou après la construction) sont illustrés dans la figure 49, il est possible d'effectuer le traitement thermique à 140°C pendant un temps variable (partie III.3) pour étudier son influence sur la libération des principes actifs.

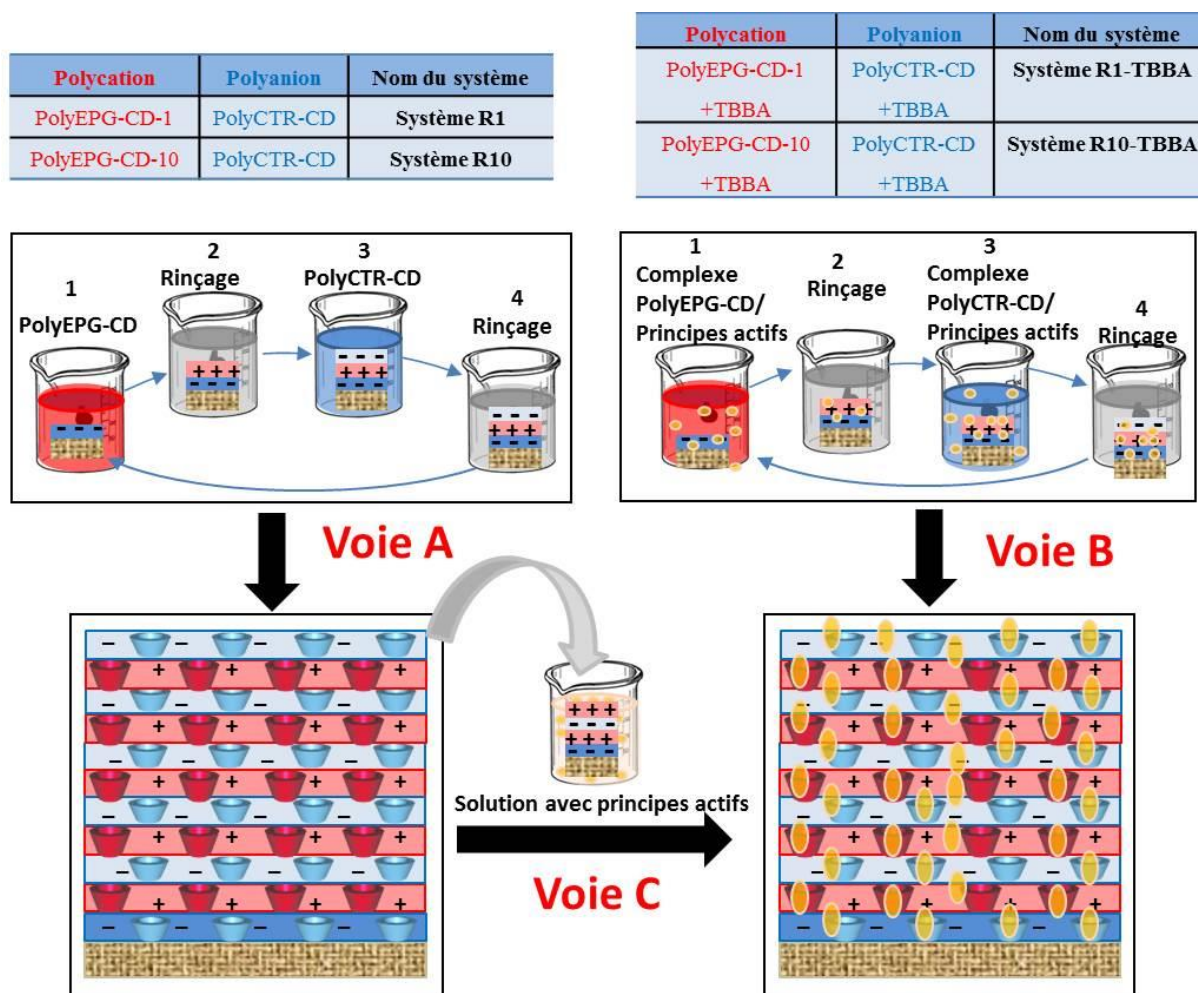
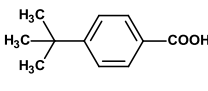
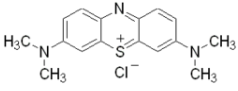
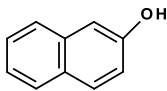
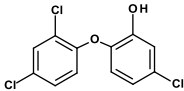


Figure 49: Schéma récapitulatif des différentes voies d'encapsulation de principes actifs, exemple des complexes d'inclusion entre le TBBA et polyCD.

III.2.2.1 Incorporation pendant la construction : voie B (voie simultanée)

Le processus de construction des assemblages multicouches est similaire au processus de construction sans principes actifs. Mais dans ce cas, des solutions de complexe polymères/principes actifs préparées selon des rapports molaires fixés (voir tableau 12) sont utilisées pour construire l'assemblage, contrairement au protocole précédent où des solutions de polymères sans principes actifs étaient utilisés. Cette voie a été employée pour encapsuler les principes actifs (TBBA, BM et BN). Des exemples de calculs de préparation sont rapportés en annexe 1.

Tableau 12 : Caractéristique des principes actifs.

Molécules modèles	TBBA	BM	BN	TCS
Nom	t-butyl benzoïque acide	Bleu de méthylène	Béta naphтол	Triclosan
Charge	(anionique)	(cationique)	(neutre)	(neutre)
Formules				
Masse molaire (g/mol)	178,23	319,85	144,17	289,54
Solubilité (mg/L à 20°C, H ₂ O)	47	50 000	700	10
Point de fusion (°C)	165-167	180	120	54-57,3
Provenance	Sigma-Aldrich	Sigma-Aldrich	Sigma-Aldrich	Sigma-Aldrich
<u>Preparation de la solution de complexe</u>				
Rapport molaire entre la molécule modèle : CD (masse de molécule modèle en mg pour 50 mL de solution de polymère)				
PolyEPG-CD-10 à 4 g/L	1 : 2 (9,42)	1 : 1 (33,91)	1 : 1 (15,28)	-
PolyCTR-CD à 4 g/L	1 : 2 (7,85)	1 : 1 (29,65)	1 : 1 (12,69)	-
PolyEPG-CD-1 à 10 g/L	1 : 2 (27,48)	-	-	-
Poly CTR-CD à 1 g/L	1 : 2 (1,96)	-	-	-

III.2.2.2 Incorporation après la construction : voie C (voie à posteriori)

Les assemblages multicouches issus de la voie A sont trempés dans la solution contenant des principes actifs sous agitation à 150 rpm pendant 24 heures. Ils sont ensuite séchés à 45°C après un lavage de 5 min (3 fois) dans l'eau distillée (15 mL) sous agitation. (ex : 15 mL de solution de TBBA à 45 mg/L et 15 mL de solution en excès de TCS (en présence de grains de TCS))

III.3 Stabilité des assemblages multicouches

Comme présenté dans la partie bibliographique, la réticulation thermique peut provoquer la réaction d'estérification (entre les groupements carboxyliques et hydroxyles) et d'amidation (entre les groupements carboxyliques et amines). Cela peut permettre de solidifier et stabiliser des assemblages. Cette méthode de réticulation a pour avantage de ne pas nécessiter l'ajout de réticulant chimiques.

Les assemblages multicouches sans/avec les principes actifs sont chauffés à 140 °C sous étuve ventilée (MEMMERT, DIN 40050-IP20) pendant 2 ; 8 et 24 heures pour optimiser la stabilité des assemblages et le profil de libération.

IV Etude de dégradation des systèmes LbL

Les assemblages multicouches sans principes actifs sont soumis à une étude de dégradation dans un milieu proche du milieu physiologique, à savoir le PBS 0,15M à pH= 7,4. Les échantillons (3*3 cm², 100 mg en moyenne) sont individuellement placés dans 20 mL de PBS sous agitation (100 rpm) sur un banc oscillant thermostaté à 37°C (Thermoshake, Gerhardt, Les Essarts-le-Roi, France). Au temps choisi, ils sont sortis du système, lavés dans de l'eau distillée (20 mL) pour éliminer les traces de sels, séchés à 90°C pendant 30 min et finalement pesés pour suivre l'évolution de masse au cours de temps. La solution de PBS est renouvelée avant d'y remettre les échantillons en solution jusqu'à la prochaine pesée. Les résultats donnés sont la moyenne d'un triplicata. Afin de pouvoir simultanément comparer la construction et la dégradation des assemblages, la perte de masse est calculée en prenant la masse du textile vierge de départ en référence selon l'équation suivante :

$$\text{Perte de masse (\%)} = (M_t - M_i) * 100 / M_i$$

Où M_i est la masse de PET vierge et M_t est la masse de l'échantillon soumis à la dégradation aux différents temps souhaités.

V Etude de libération des principes actifs

V.1 Mode statique (en batch)

Les assemblages multicouches contenant les principes actifs sont soumis à une étude de libération dans un milieu proche du milieu physiologique, à savoir le PBS 0,15M à pH= 7,4. Les échantillons (3*3 cm², 100 mg en moyenne) sont individuellement placés dans 20 mL

de PBS sous agitation (100 rpm) sur un banc oscillant thermostaté à 37°C (Thermoshake, Gerhardt, Les Essarts-le-Roi, France). Au temps choisi, 2 mL de cette solution sont prélevés puis transférés dans des cellules de quartz (1 cm). Les quantités de principes actifs libérés en solution sont déterminées par spectroscopie UV-visible (Shimadzu UV-1800) à la longueur d'onde propre de chaque principe actif. Grâce à la courbe étalonnage, le coefficient d'extinction spécifique de chaque composé est donné dans tableau 13.

Tableau 13 : Coefficient d'extinction spécifique des principes actifs.

Molécules modèles	TBBA	BM	BN	TCS
Nom	t-butyl benzoïque acide	Bleu de méthylène	Béta naphтол	Triclosan
Charge	(anionique)	(cationique)	(neutre)	(neutre)
H2O				
λ (nm)	240	664	327	282
ϵ (L.mg ⁻¹ cm ⁻¹)	0,0699	0,1989	0,0118	0,0138
PBS (0.15M, pH=7,4)				
λ (nm)	235	664	327	282
ϵ (L.mg ⁻¹ cm ⁻¹)	0,0745	0,2164	0,0162	0,0149
KH₂PO₄ (0.05M, pH=6,5)				
λ (nm)	235	-	-	282
ϵ (L.mg ⁻¹ cm ⁻¹)	0,0745	-	-	0,0145

V.2 Mode dynamique

La libération en mode continu est mesurée avec un appareil de dissolution à flux continu entièrement automatisée (Sotax® USP4, Suisse, équipé de systèmes de pompage) dans une configuration en boucle fermée associé à un spectromètre UV-visible (Perkin Elmer Lambda 25), en figure 50. Ce test est réalisé au sein du laboratoire INSERM U1008, de l'université de Lille 2.

Les échantillons (100 mg pour les assemblages contenant du TBBA et 150 mg pour les assemblages contenant du TCS) sont placés dans une cellule d'écoulement en forme de cylindre (22,6 mm) en présence d'une bille (6 mm de diamètre). Le milieu de dissolution de 100 mL de PBS (0,15M et pH=7,4 filtré au préalable) sous agitation à 200 rpm est mis en circulation par pompage à travers chaque cellule à un débit de 50 mL/min et la température est maintenue à 37 °C pendant le test. La quantité de principe actif libérée est quantifiée par spectroscopie UV-visible à la longueur d'onde propre à chaque principe actif grâce à une

courbe étalonnage préliminaire et qui a permis de mesurer le coefficient d'extinction spécifique de chaque composé donné au tableau 13.

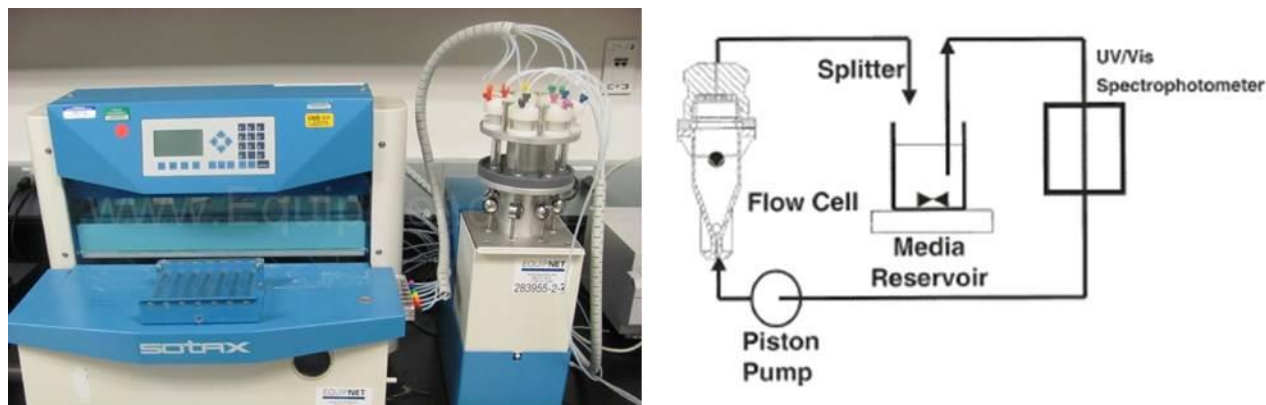


Figure 50 : Appareillage Sotax USP4 et sa schématisation

VI Etude de complexation de principes actifs avec les cyclodextrines

VI.1 Résonance magnétique nucléaire (RMN)

La résonance magnétique nucléaire du proton a été utilisée pour mettre en évidence la complexation des principes actifs dans les cavités des CD.

Pour l'enregistrement des spectres RMN de routine au centre commun de mesures RMN de l'université Lille 1, un spectromètre Bruker AV 300 (300 MHz) et AV 400 (400 MHz) ont été utilisés. Les échantillons ont été dissous dans du D₂O (10 mg / ml). Les spectres de RMN ¹H en deux dimensions avec la séquence TROESY (Transverse Rotating-frame Overhauser Enhancement Spectroscopy) ou NOESY (Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy) ont été réalisés dans le D₂O.

Un échange de magnétisation longitudinale entre les protons situés à proximité se produit pour la séquence NOESY et un échange de magnétisation transversale est impliqué dans le cas de la séquence TROESY.

VI.2 Titration calorimétrique isotherme (ITC)

Ce test a été réalisé au sein du laboratoire UCEiV à l'Université du Littoral Côte d'Opale. Les titrages calorimétriques ont été effectués sur un calorimètre isotherme (ITC₂₀₀, MicroCal Inc., USA) pour déterminer la constante de formation et l'enthalpie de l'inclusion des complexes à 298 K. La solution dégazée (tampon phosphate (KH₂PO₄), 50 mM, pH = 6,5) est utilisée à la fois dans la cellule (202,8 µL) et la seringue (40 µL), figure 51. Le fait

d'utiliser ce tampon à la place du PBS (étude de la libération) ne devrait pas changer l'ordre de grandeurs des paramètres de complexation (Segura-Sanchez et al., 2009). Après l'addition initiale de 1 μL , 10 aliquotes de 3,7 μL de la solution placée dans la seringue sont délivrés (plus de 7,4 secondes pour chaque injection). L'intervalle de temps entre deux injections consécutives est de 150 s et la vitesse d'agitation est de 1000 rpm pendant toutes les expériences. Le flux de chaleur résultant est enregistré en fonction du temps. En outre, la chaleur de dilution (pour chaque partenaire) est éliminée en soustrayant le signal brut obtenu pour les titrages blancs correspondants (par exemple, un seul partenaire dans la cellule ou la seringue, l'autre compartiment étant rempli avec un tampon).

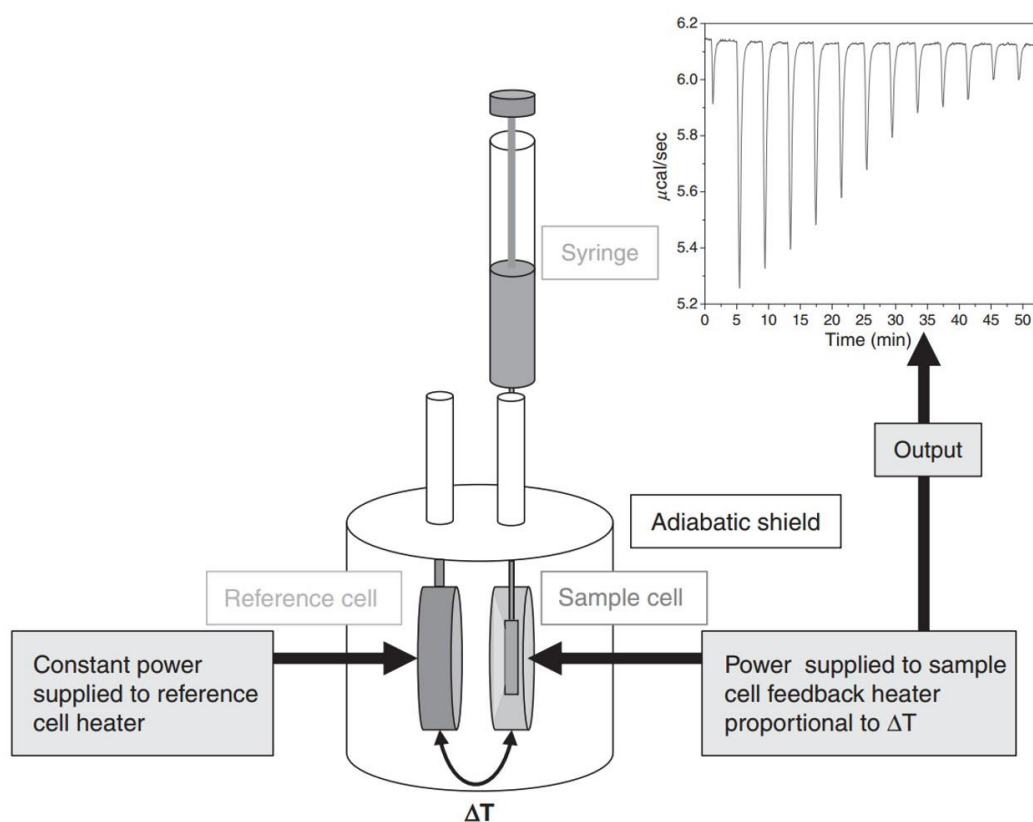


Figure 51 : Principe de la mesure d'ITC et son thermogramme

La première injection est exclue pour éliminer l'effet de diffusion des matériaux entre la seringue et la cellule calorimétrique. La surface du pic après chaque addition est obtenue par intégration du signal résultant et exprimée en tant que l'effet de la chaleur par injection. La constante de complexation (K en M^{-1}), la stœchiométrie (n) et l'enthalpie d'inclusion (ΔH en kcal.mol^{-1}) sont finalement déterminées par analyse de régression non linéaire des isothermes de complexation (sur la base de stœchiométrie 1: 1) au moyen d'un programme dédiée maison (Bertaut et Landy, 2014). Les expériences non compétitives sont utilisées pour étudier les composés d'inclusion avec un hôte et un invité. Le premier protocole (titrage de CD (5 mM

dans la seringue) sur TBBA (0,5 mM dans la cellule)) est utilisé pour la β CD, le polyEPG-R0, polyEPG-R1 et polyEPG-R10. Le second protocole (titration de TBBA (5 mM dans la seringue) sur polyCTR-CD (0,5 mM dans la cellule)) est utilisé pour le polyCTR-CD, en raison d'une chaleur de dilution plus élevée pour ce polymère. Le calcul de la concentration de cyclodextrine est basé sur la quantité de β CD (% w/w), déterminée par RMN.

VI.3 Etude de solubilité des principes actifs

Higuchi et Connors (1965) ont montrés l'évolution de la quantité de principes actifs en solution en fonction de la concentration de CD permettant de déterminer la stœchiométrie des complexes formés et la constante d'association. Le profil du type A présente la formation de complexes d'inclusion solubles tandis que le profil du type B montre la formation de complexes d'inclusion de solubilité limitée (figure 52).

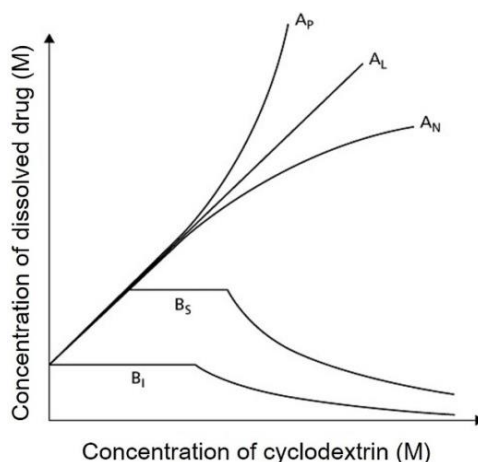


Figure 52 : Diagramme de solubilité avec différents profils selon Higuchi et Connors

La mesure de la solubilité des principes actifs est effectuée dans un tampon phosphate (50 mM, pH 6,5) par addition d'excès de principes actifs à 10 ml d'une solution de polymère de CD dans la gamme de concentration en % massique de 0 à 8% (w/v) ou d'une solution de CD dans la gamme de concentration en % massique de 0 à 1,6% (w/v). Les mélanges sont agités à 25 °C à 150 rpm pendant 24 heures (jusqu'à l'équilibre) et centrifugés. La concentration des principes actifs dans le surnageant est déterminée par spectroscopie UV-visible (Shimadzu UV-1800). Chaque expérience est réalisée en duplicata. Dans le cas de la formation d'un complexe 1: 1, la constante de complexation $K_{1:1}$ est obtenu à partir de l'équation décrite par Higuchi et Connors (1965). Elle consiste à tracer la concentration des principes actifs en fonction de la concentration de CD :

$$K_{1:1} = \text{Pente} / (S_0 * (1 - \text{Pente}))$$

où S_0 représente la solubilité intrinsèque de principes actifs.

VI.4 Analyse enthalpique différentielle (DSC)

Cette méthode est utilisée pour caractériser les complexes d'inclusion entre le triclosane et le polymère de CD. Le profil thermique des échantillons est déterminé par analyse enthalpique différentielle (DSC Q100, TA instruments) sous azote ultra pur à 10°C/min entre -50°C à 200°C.

VII Caractérisation des multicouches sur le textile

VII.1 Microscopie électronique à balayage (MEB)

Les différents échantillons sont observés par microscopie électronique à balayage (MEB), Hitachi S-4700 SEM FEG (Field Emission Gun) opérant avec un voltage de 5 kV. Les échantillons sont préalablement recouverts d'une couche de carbone conductrice.

VII.2 Analyse thermogravimétrique (ATG)

Les différents échantillons sont caractérisés par ATG, les conditions opératoires sont identiques à celles présentés dans la partie I.1.2.6

VII.3 Spectroscopie Raman

Les expériences ont été réalisées avec une diode laser (partie I.1.2.8). Pour la réalisation de la cartographie, l'appareil est équipé d'une platine motorisée XYZ permettant d'une part de focaliser le faisceau sur l'échantillon (Z), et d'autre part de déplacer l'échantillon sur les deux axes (XY) lors de l'analyse de l'échantillon. Dans un premier temps, les spectres Raman de chaque composant pur sont enregistrés séparément dans les mêmes conditions (même source laser, temps d'acquisition de 10 s) pour sélectionner une gamme de fréquences où chaque composante de films multicouches a une signature Raman distinctive. Dans une deuxième étape, les zones de surface typique de $120 \times 80 \mu\text{m}^2$ sont balayées en utilisant la *méthode séquentielle point par point* par pas de $2 \mu\text{m}$ avec le temps d'acquisition de 1,5 s et la position du spectrographe est centrée à 770 cm^{-1} permettant l'analyse de l'intensité Raman dans la zone spectrale $570 - 970 \text{ cm}^{-1}$.

VII.4 Analyse de vapeur dynamique de sorption d'eau (DVS)

La capacité d'adsorption ou désorption de l'eau des échantillons a été déterminée à l'aide d'un analyseur de vapeur dynamique de sorption d'eau (Dynamic Vapor Sorption (DVS)) en utilisant un appareil Q5000SA (vapor sorption analyzer de chez TA instruments). Cet appareil permet de mesurer la variation de masse d'un échantillon sous une humidité relative contrôlée en 0% et 98% et à des températures comprises entre 5°C et 85°C.

Premièrement, un échantillon de textile de diamètres 0,5 cm (4 mg) a été placé dans un creuset et séché à 60°C avec l'humidité relative (RH) de 0% pendant 5 minutes si la variation de masse est inférieure de 0,01%, sinon l'échantillon a été mis en mode isotherme pendant 120 minutes au cas où cette variation n'est pas atteinte. Ensuite, le système a été mis sous équilibre à 25°C avant de commencer l'expérience. L'humidité relative a été augmentée avec un pas de 10% jusqu'à 90% pendant 5 minutes pour chaque pas si la variation de masse est inférieure de 0,01%, sinon l'échantillon a été maintenu à cette humidité relative pendant 60 minutes avant de passer l'étape suivante. De 90% à 98% d'humidité relative, la même consigne a été appliquée de 2% en 2%. L'isotherme désorption a été effectuée dans les mêmes conditions inverses.

VIII Etude de biologie *in vitro*

Les évaluations biologiques ont été réalisées au sein des laboratoires INSERM U1008 et INSERM U995 de l'université Lille 2.

VIII.1 Cytocompatibilité des polymères et des assemblages multicouches par méthode d'extraction

La cytocompatibilité des polymères de polyEPG-RX (X représente le rapport initial de GTMAC (X = 0, 1, 5 et 10)) et des textiles (PET, PET thermofixé (PET6 et le PET20) et PET thermofixé revêtu par le système multicouches (5 bicouches)) a été évaluée par un test de viabilité cellulaire (méthode d'extraction) selon la norme ISO/EN 10993-5. Les polymères ont été stérilisés aux rayons UV pendant 15 min, puis solubilisés à différentes concentrations (0 à 2 mg/ml) dans 1 ml de milieu de culture (MEM, Gibco®, LifeTechnology). Les textiles découpés en pastille de 15 mm de diamètre ont été décontaminés dans l'éthanol pendant 1 minute puis séchés avant d'être immergés dans le milieu de culture (MEM, Gibco®, LifeTechnology). Tous les échantillons ont été placés dans un agitateur thermostaté (37°C, 80

rpm) pendant 24 h. Le milieu de culture sans échantillon a été mis dans les mêmes conditions pour servir de contrôle (TCPS).

La lignée de cellules épithéliales embryonnaires pulmonaires humaines (L132, ATCC-CCL5) a été choisie pour sa bonne reproductibilité. Les cellules L132 sont cultivées dans le milieu essentiel minimum modifié (MEM, Gibco®, LifeTechnology) supplémenté avec 10%(v/v) de sérum de veau fœtal (FCS, Gibco®, LifeTechnology). Les cellules L132 sont préalablement repiquées dans une boîte de Pétri 96 puits à une densité de 4×10^3 cellules par puits puis placées dans un incubateur (Binder, 37°C, 5% de CO₂ et 100% d'humidité relative) afin d'établir une monocouche de cellules recouvrant 80% de la surface de chaque puits. Le jour suivant, le milieu de culture est remplacé par le milieu d'extraction dans lequel a séjourné pendant 24 heures les polymères et les textiles mentionnés ci-dessus (figure 53).

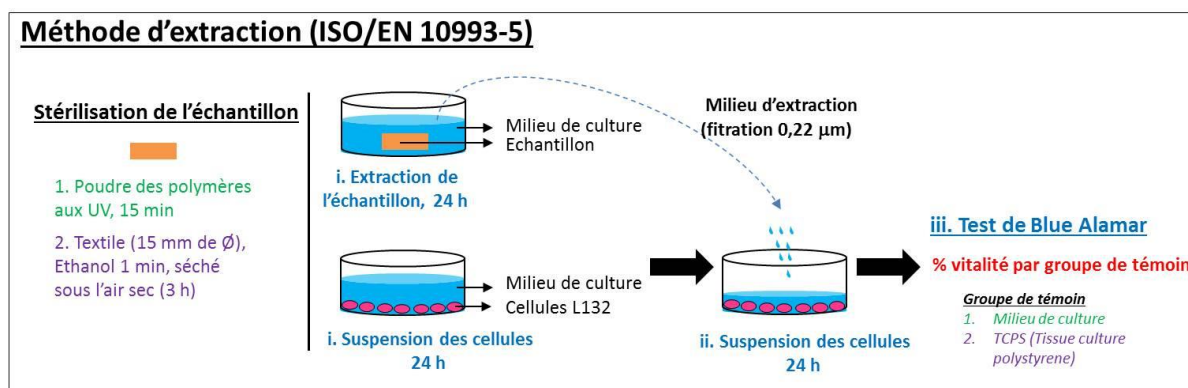


Figure 53 : Représentation schématique du test de viabilité cellulaire par méthode d'extraction.

Après 24 heures de culture, la viabilité des cellules en contact avec les différents extraits est évaluée par un dosage fluorimétrique à l'aide d'un colorant non toxique; l'Alamar Blue® (Interchim, Montluçon, France) - un indicateur redox qui est un moyen très simple de mesurer la cytotoxicité (O'Brien et al., 2000). Brièvement, le milieu de culture (extrait) de chaque puits est remplacé par 200 µL de milieu de culture supplémenté avec 10%(v/v) d'Alamar Blue®. Après 3 heures d'incubation, 150 µL du surnageant est transféré dans une plaque 96 puits (Fluoro-LumiNunc™, Polylabo, Strasbourg, France). L'intensité de la fluorescence est mesurée à l'aide d'un fluoromètre (Twinkle LB970, Berthold Technology, Bad Wildbad, Allemagne) à une longueur d'onde d'excitation de 560 nm et une longueur d'onde d'émission de 590 nm. La viabilité cellulaire est rapportée en termes de pourcentage du groupe de test par rapport au groupe de contrôle (milieu de culture pour l'évaluation de la cytotoxicité des polymères ou PET pour les textiles). Les expérimentations sont réalisées en triplicata.

VIII.2 Evaluation microbiologique par la méthode du kill-time

Le test du kill-time est utilisé pour évaluer l'activité antimicrobienne à travers la mesure de la réduction bactérienne du *Staphylococcus aureus* (CIP224) et *Escherichia coli* (K12) sur les textiles fonctionnalisés. Ce test est réalisé selon le test standard de la méthode M26-A recommandée par le Clinical and Laboratory Institute Standards (CLIS).

Staphylococcus aureus (CIP224) et *Escherichia coli* (K12) sont préalablement ensemencés sur une gélose inclinée Müller-Hinton-Agar (MHA) pendant 24 h à 37°C. Les bactéries sont ensuite décrochées de la gélose en ajoutant 10 mL de milieu Ringer cystéiné (RC) et en 'grattant' la surface de la gélose à l'aide d'une pipette pasteur fermée. Cette suspension bactérienne de $1 \cdot 10^9$ CFU/mL est diluée successivement par 10 (1 mL dans 9 mL de RC) afin d'obtenir la concentration finale de 10^4 CFU/mL.

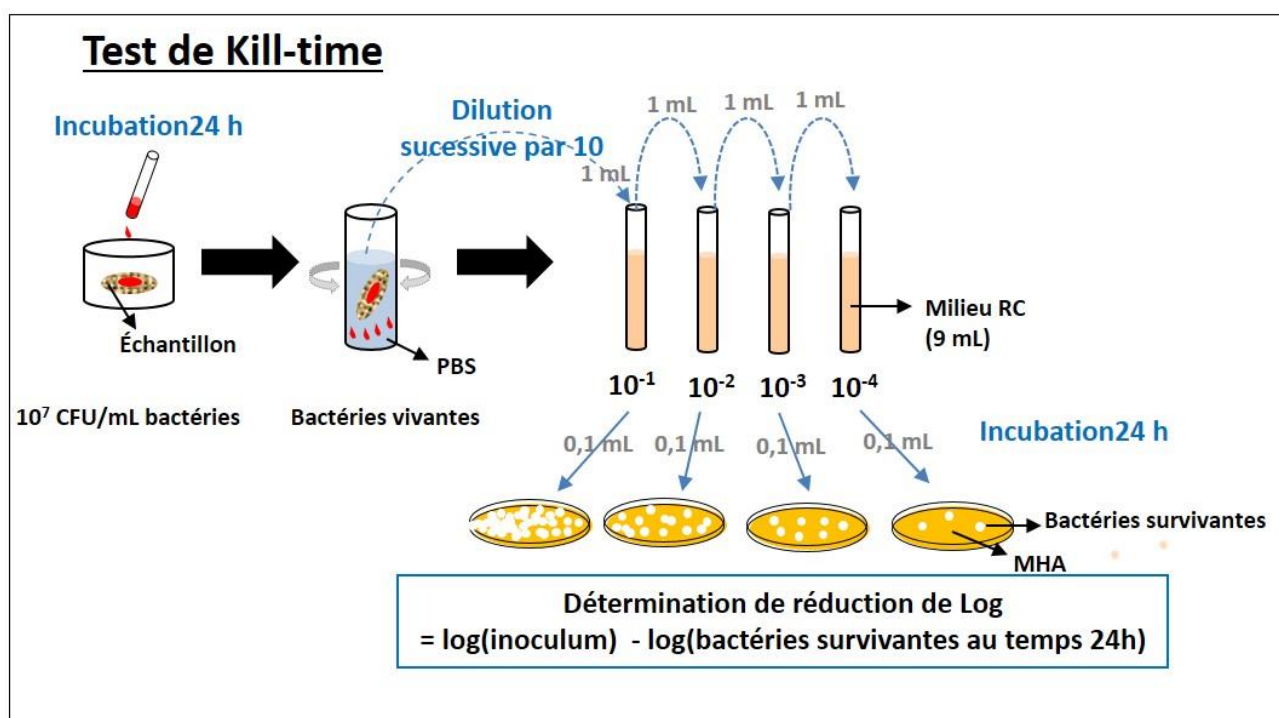


Figure 54 : Représentation schématique du test de Kill-time

Les textiles (PET, PET thermofixé (PET6 et le PET20) et PET thermofixé revêtu par le système multicouches (5 bicouches)) sont découpés sous forme de pastille de 11 mm de diamètre et sont décontaminés à l'éthanol pendant 1 minute puis séchés. Ils sont placés au fond d'une boîte de culture 24 puits. 200 μ L de la suspension bactérienne (10^7 CFU/mL) est déposée sur ces échantillons qui seront ensuite incubés à 37°C pendant 24 heures. Les échantillons sont prélevés et rincés par 2 mL de PBS (Phosphate Buffer Solution, pH7.4) pour

recueillir les bactéries adhérentes vivantes en traitant dans un bain à ultrasons pendant 1 minute et en agitant au vortex pendant 30 secondes (voir figure 54).

Lorsque les bactéries adhérentes sont détachées de l'échantillon et mis en suspension, des dilutions successives par 10 dans la solution Ringer cystéiné (RC) sont préparées jusqu'à 10^{-4} de la suspension bactérienne initiale. Pour chaque dilution, 0,1 mL sont prélevés, étalés sur une gélose Müller-Hinton-Agar (MHA) et placés à 37°C pendant 24 heures. Le nombre de bactéries viables (unité de formation de colonie, UFC) est dénombré et exprimé en log CFU/mL en utilisant la formule suivante :

$$\text{Bactérie viable (log CFU/mL)} = \log (n \times 10 \times 10^d)$$

où n représente le nombre de colonies bactériennes survivantes et d représente le facteur de dilution. Le facteur de réduction bactérienne est déterminé à l'égard d'inoculum appropriés et exprimée en log CFU/mL.

VIII.3 Evaluation microbiologique par la méthode de Kirby Bauer

Ce test est réalisé pour d'évaluer la durée de l'activité antibactérienne des assemblages chargés de triclosan à travers la mesure du diamètre d'inhibition sur les souches *Staphylococcus aureus* (CIP224) et *Escherichia coli* (K12) (figure 55).

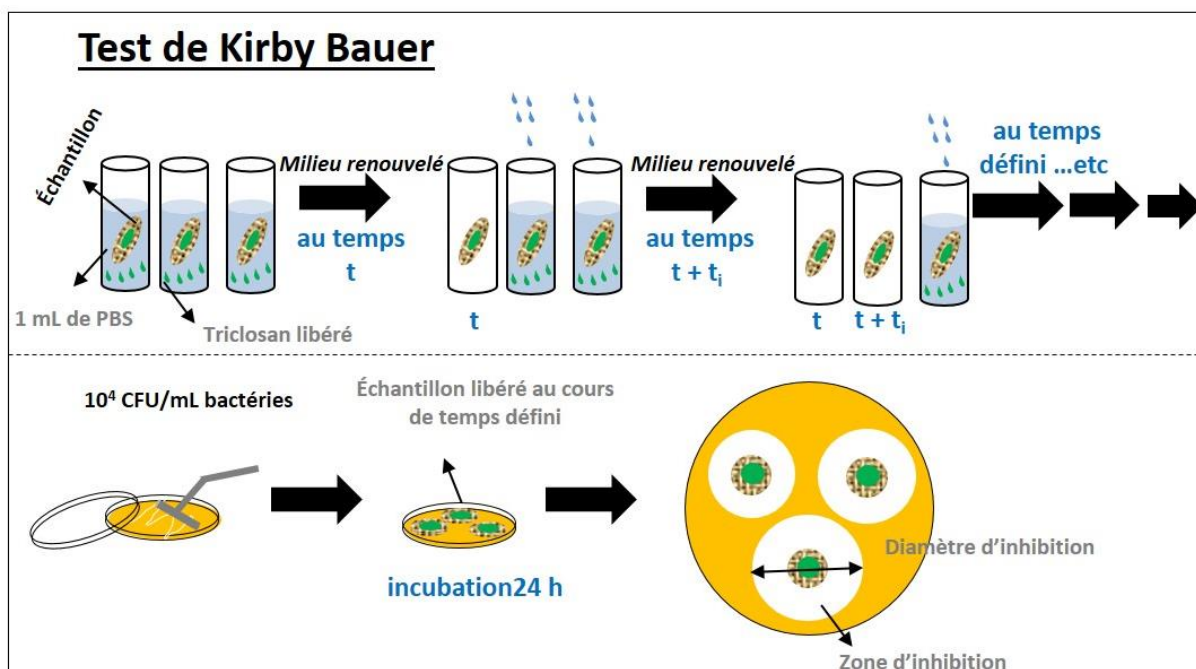


Figure 55: Représentation schématique du test de Kirby-Bauer (test de diffusion).

Les textiles (PET, PET thermofixé (PET6 et le PET20) et PET thermofixé revêtu par le système multicouches (5 bicouches)) sont découpés sous forme de pastille de 11 mm de diamètre et sont décontaminés à l'éthanol pendant 1 minute puis séchés. Ils sont placés dans une boîte de culture 24 puits contenant 1 mL de PBS stérile pour permettre la libération du triclosan. A intervalle de temps régulier, le PBS de chaque puits est prélevé et renouvelé par un milieu frais sauf le puits correspondant au temps de prélèvement.

La préparation des suspensions bactériennes est mentionnée dans le test de kill-time (partie V.III.1.3). Pour ce test, 0,1 mL de la suspension de bactérie à 10^4 CFU/mL est étalée sur la gélose Müller-Hinton-Agar (MHA) coulée dans une boîte de Pétri 9 cm. Pour chaque temps de libération, les échantillons sont déposés sur la gélose et incubés pendant 24h à 37°C. L'activité antibactérienne se traduit par l'apparition d'un halo d'inhibition autour de la pastille, ce qui correspond à la diffusion du triclosane dans la gélose et par conséquent à l'inhibition de la croissance des bactéries. La mesure du diamètre d'inhibition dans chacun des cas est présentée en fonction du temps de libération, la limite de détection est de 6 cm. La manipulation est réalisée en triplicata.

VIII.4 Concentration minimale inhibitrice (CMI)

La détermination de la CMI est effectuée pour évaluer l'efficacité inhibitrice du polyEPG-CD-1 et polyEPG-CD-10 sur la prolifération bactérienne. La préparation des suspensions bactériennes est mentionnée dans la partie V.III.1.3 en utilisant les souches *S. aureus* et *E. coli*.

Une dilution par deux en série est réalisée avec le milieu de culture MH (bouillon Muller Hinton) directement dans une plaque 96 puits à partir de la solution mère de polyEPG-CD-1 et de polyEPG-CD-10 à 4 g/L. Une suspension bactérienne à 1×10^4 UFC/mL est préparée par dilution dans du milieu RC à partir de la suspension bactérienne stock. Un volume de 100 μ L de bactérie est ensuite ajouté et mélangé avec les différentes dilutions préparées de 100 μ L dans chaque puits. Les bactéries sont incubées à 37°C pendant 24 heures. La détermination de la CMI est définie pour le puits contenant la solution à évaluer la plus diluée et ne présentant aucune turbidité du milieu.

Chapitre III : Résultats & Discussion

I Synthèse et caractérisation du polyEPG-CD

I.1 Analyse générale du polyEPG-CD

Les polymères cationiques hydrosolubles de β CD (polyEPG-CD) sont obtenus par réaction de polycondensation entre la β CD et l'EP en présence du GTMAC en milieu basique. L'EP joue le rôle d'agent réticulant et le GTMAC est utilisé pour conférer au polymère sa charge cationique.

Les travaux menés par Renard *et al.* (Renard et al., 1997) ont montré l'ensemble des réactions mises en jeu entre la β CD déprotonée (les fonctions alcoolates) et l'EP par attaque nucléophile (figure 56). Les auteurs y reportent la formation d'une chlorhydrine qui se recyclise immédiatement en milieu fortement basique après l'ouverture du cycle. L'époxyde formé est alors susceptible de réagir de nouveau avec une autre molécule d'EP ou de CD avant la fermeture de l'époxyde. La structure « *polypont=polybridge* » contient le pont constitué d'unités de répétition de glycéryl permettant de relier toutes les unités CD tandis que la structure « *polyqueue=polytail* » constitué d'unité glycéryl terminée par un chlorure, un époxy ou diol. De plus, l'EP est capable de réagir sur elle-même afin de former les homopolymères. Par conséquent, le pont réticulant et la queue de glycéryl branchée sur la CD peuvent avoir des longueurs différentes.

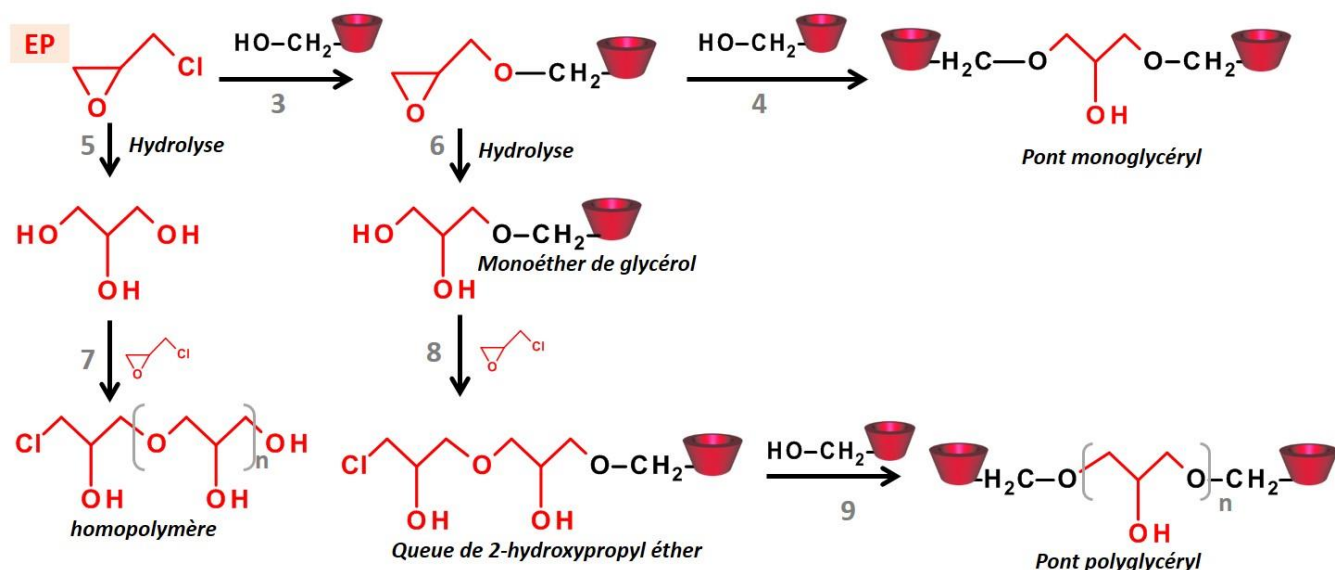


Figure 56 : Schéma réactionnel entre la β CD et l'EP.

Le schéma de réaction du GTMAC est également présenté sur la figure 57. Le GTMAC substitue aléatoirement les fonctions hydroxyles de la β CD en position 2, 3 ou 6 afin

de quaterniser ou cationiser la β CD (greffage direct de GTMAC sur β CD). Il peut également réagir sur l'EP et ainsi se situer au bout de la chaîne de polymère (greffage indirect de GTMAC sur β CD). Les réactions secondaires du GTMAC sont reportées dans la littérature, notamment dans la quaternisation de l'amidon par le GTMAC (Kavaliauskaite et al., 2008)

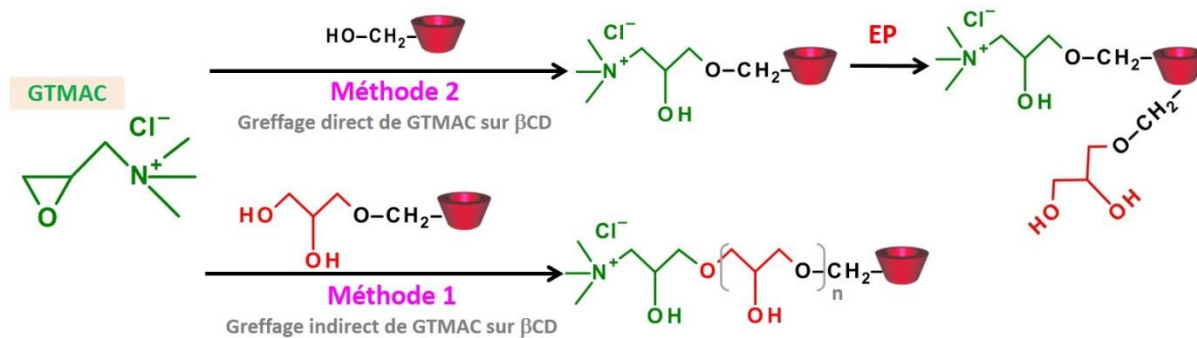


Figure 57 : Schéma réactionnel entre la β CD et le GTMAC.

Deux méthodes de réticulations (**méthode 1** et **méthode 2**) ont été appliquées à deux températures différentes (30 et 60°C) afin d'optimiser la possibilité d'insertion du GTMAC sur le polymère synthétisé. La **méthode 1** est attribuée à l'addition simultanée du GTMAC et de l'EP. Elle permet l'introduction de la charge positive dans le réseau de polymère soit sur la β CD soit sur l'hydroxypropyl en bout de chaîne. Au contraire, la **méthode 2** se réfère à l'ajout du GTMAC durant les deux premières heures de la synthèse, puis ensuite à l'ajout de l'EP. Cette méthode favorise l'insertion de la charge positive du GTMAC directement sur la β CD (cette quaternisation est confirmée par la ¹H RMN, figure 60d). Afin de pouvoir comparer la cinétique de réaction entre les deux méthodes, le temps de réaction est calculé à partir de l'introduction de l'EP dans le milieu de synthèse. Les structures espérées sont présentées dans la figure 41b sachant que les deux formes ne sont priori pas différenciables par RMN.

I.2 Influence des paramètres réactionnels

I.2.1 Détermination de temps de gel

Les réactions ont été stoppées avant le point de gel dans l'optique d'obtenir uniquement une fraction soluble de polymères. Il était donc primordial, dans un premier temps, de déterminer le temps de gel selon les conditions opératoires appliquées. Afin d'obtenir des polymères hyper-ramifiés de haut poids moléculaire, le rapport molaire (β CD :

EP= 1 :10) et la concentration de NaOH à 22% (w/v) ont été fixés en accord avec les études précédentes (Renard et al., 1997).

Les premières expériences ont été réalisées à 30°C afin de mieux contrôler la cinétique de polymérisation. Puis, une seconde série de manipulation a été effectuée à 60°C afin d'étudier l'influence de la température de réaction. Pour les polymères synthétisés en absence de GTMAC (polyEP-CD), un temps de gel est obtenu après 2 heures de réaction à 30°C et après 18 minutes à 60 °C (voir le tableau 14).

En présence de GTMAC, aucun temps de gel n'a été détecté pour le polyEPG-CD-5, choisi ici comme référence afin de fixer le rapport molaire en GTMAC. Après 48 heures de réaction, à 30°C ou à 60°C, et quelle que soit la méthode appliquée, aucun gel n'a été formé.

NB : En utilisant une concentration de NaOH à 27%(w/v), la gélification de polyEPG-CD-5 est observée après 1 heure à 60°C et celle de polyEP-CD est estimée à 18 min pour cette même température.

Tableau 14 : Temps de gel pour la synthèse du polyEP-CD et du polyEPG-CD-5 (méthode 1 et 2) à 30°C et 60°C.

	T =30°C	T=60°C
PolyEP-CD	2 heures	0,3 heures
PolyEPG-CD-5 (méthode 1 et 2)	> 48 heures	> 48 heures

I.2.2 Influence du temps de réaction et de la température de réticulation

La densité de charge (Q) des polymères, synthétisés selon la **méthode 1 et 2** à différents temps de réaction, à une température de 30°C ou 60°C, a été déterminée par titration colloïdale. L'étude a été menée sur polyEPG-CD-5.

D'après la figure 58, la quantité de charge était quasiment la même pour la **méthode 1 et 2**. A 30 °C, l'augmentation du temps de réaction a entraîné une augmentation de la densité de charge du polymère jusqu'à l'obtention d'un plateau à 24 heures. Une quantité de charge maximale de 1,2 mmol/g a alors été obtenue (figure 58a). La hausse de la température à 60°C a réduit le temps de réaction de 24 heures à 3 heures sans modifier le taux de charge (1,2 mmol/g), voir figure 58b. Ces résultats confirment que l'augmentation de la température accélère la réaction de polycondensation sans aucune influence notable sur la teneur des polymères en groupements ammoniums.

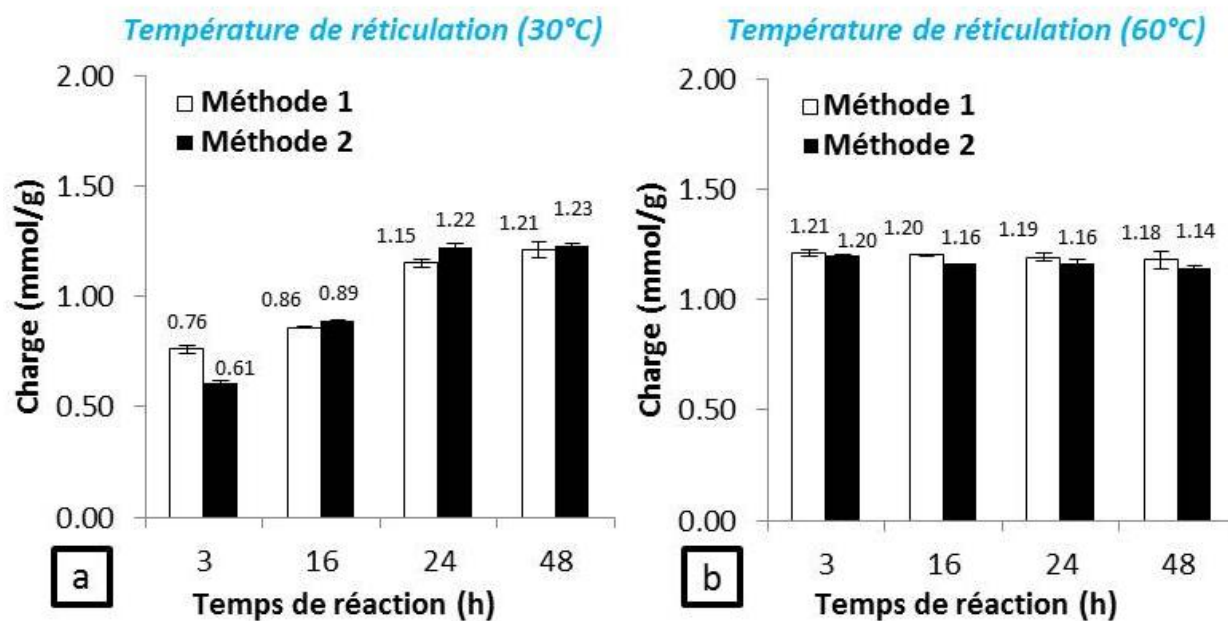


Figure 58 : Influence du temps de réaction et de la température sur la quantité de charge déterminée ($n=3$) par titration colloïdale pour le polyEPG-CD-5 synthétisé par la méthode 1 et la méthode 2 à (a) 30°C et (b) 60°C

La masse molaire en poids (Mw) du polyEPG-CD-5, après 3 heures de synthèse à 30°C et 60°C, a également été mesurée par GPC (tableau 15). La masse molaire croit essentiellement avec le temps de réaction ou la température ce qui est en accord avec la littérature (Girek et al., 2000). Nous avons néanmoins constaté que la masse molaire des polymères obtenus par la **méthode 2** était inférieure à celle obtenue par la **méthode 1**. Ceci peut s'expliquer par le fait que le β CD est substituée directement par le GTMAC dans la **méthode 2**, ce qui diminue le nombre de groupements hydroxyles libres sur la β CD ; groupements nécessaires pour réagir ensuite avec l'EP.

Tableau 15 : Mw pour la synthèse du polyEPG-CD-5 (méthode 1 et 2) à 30°C et 60°C pendant 3 heures.

	T =30°C	T=60°C
Méthode 1	37,1 kg/mol	49,8 kg/mol
Méthode 2	31,4 kg/mol	48,1 kg/mol

Puisque la **méthode 1** à 60°C donne les meilleurs résultats en terme de masse molaire, cette procédure a été choisie pour préparer la série des polymères cationiques (polyEPG-CD-X avec X= quantité initiale de GTMAC) dans l'étude suivante.

I.2.3 Influence du rapport molaire initial de GTMAC

La série de polyEPG-CD-X avec X= 5, 10 et 15 a été synthétisée par la **méthode 1** à 60°C dans 22%(w/v) NaOH pendant 3 heures. Concernant le polyEPG-CD-1, le temps de réaction a été fixé à 15 minutes car le point de gel est observé dès 20 minutes. De par la faible quantité de GTMAC introduite, le point de gel du polyEPG-CD-1 se retrouve proche expérimentalement du polymère neutre (le polyEP-CD) qui lui possède un temps de gel de 18 minutes.

Tableau 16 : Influence de la quantité initiale de GTMAC sur les caractéristiques de polyEPG-CD par méthode 1 (22%NaOH à 60°C) ; Mw est la masse moléculaire moyenne en poids mesurée par SEC aqueuse

Nom de polymère	polyEPG-CD-1	polyEPG-CD-5	polyEPG-CD-10	polyEPG-CD-15
Temps de réaction (hours)	0,25	3		
Rapport molaire de GTMAC	1	5	10	15
MS par AGU (unité d'anhydroglucosique)				
GTMAC	0,06	0,37	0,64	0,90
EP	0,91	1,39	0,60	0,96
Teneur de β-CD (% massique)	69	53	58	48
Q (mmol/g)				
Par titration colloïdale	0,20	1,21	2,02	2,44
Par dosage conductimétrie	0,27	0,97	2,06	2,22
Par RMN	0,25	1,21	2,28	2,65
Par analyse élémentaire	0,19	1,21	1,97	2,26
Rendement (%)	32	27	22	17
Mw (kg/mol)	123,9	49,8	25,8	16,0
Indice de polymolécularité (Ip)	1,10	1,30	1,60	1,70

Conditions : NaOH=22% , T=60°C, Méthode 1

La densité de charges des polymères a été mesurée par 4 méthodes d'analyses distinctes (tableau 16). Les résultats obtenus par ces méthodes sont relativement homogènes et par conséquent fiables. On observe que la densité de charges (Q), la substitution molaire des groupements triméthylammonium (MS_{GTMAC}) et l'indice de polymolécularité (Ip) augmentent avec le rapport molaire initial de GTMAC tandis que le rendement de la réaction et la masse molaire en poids (Mw) diminuent principalement en raison de la désactivation du polymère lorsque le GTMAC est incorporé au bout de chaîne comme un groupement terminal (structure de polyqueue). La baisse de la masse molaire en poids et de la viscosité intrinsèque en fonction de l'augmentation de la quantité de GTMAC a déjà été mentionnée dans la littérature par Cho *et al.* (Cho et al., 2006, Cui et al., 2010).

A la lecture de ces résultats, le polyEPG-CD-10 a été sélectionné pour la suite de nos travaux parce qu'il représente le meilleur compromis entre le taux de charge ($Q=2$ mmol/g) et la masse molaire ($M_w=25,8$ kg/mol) qui devrait être compatible avec la construction d'assemblages multicouches utilisant comme polymère anionique le polyCTR-CD qui possède quant à lui une charge intrinsèque de 4 mmol/g et une masse molaire en poids de 22,6 kg/mol.

Pour mettre en évidence l'influence de Q sur la construction LbL, nous avons utilisé uniquement le polyEPG-CD-10 ($Q=2$ mmol/g) et le polyEPG-CD-1 ($Q=0,2$ mmol/g) pour les essais qui vont suivre.

I.3 Caractérisation des polyEPG-CD

I.3.1 Résonance magnétique nucléaire (RMN)

I.3.1.1 ¹³C RMN

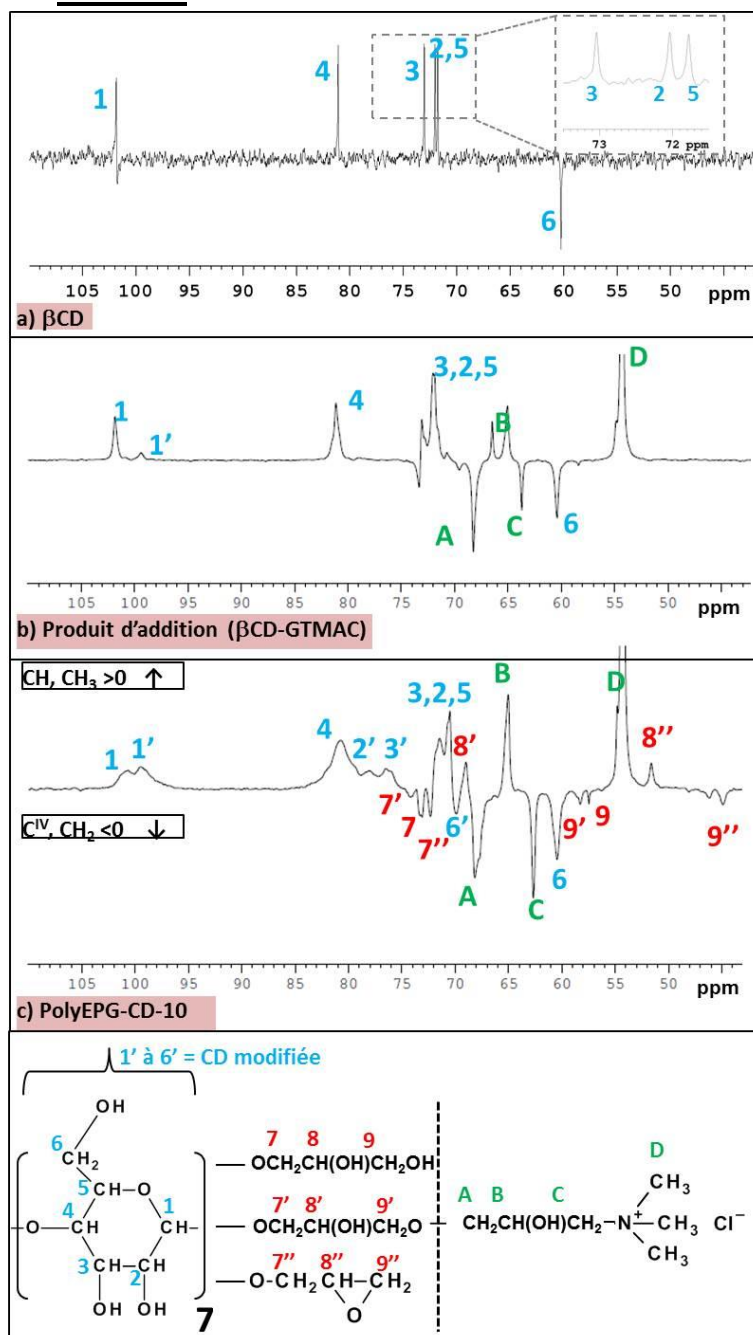


Figure 59: Spectre de RMN ¹³C (D₂O ; APT expérience) de polyEPG-CD-10 avec sa structure proposée. Le polypont et polyqueue est lié à l'unité d'AGU par groupement hydroxyles en position 2,3 ou 6.

La structure du polymère et les sites de substitution du polymère cationique de β CD (polyEPG-CD-10) ont été étudiés par ¹³C RMN (figure 59). L'expérience ¹³C RMN-APT a permis de différencier les carbones primaires et tertiaires (en mode positif), et les carbones secondaires et quaternaires (en mode négatif). Les attributions de C-1 à C-9 proposées par

Renard *et al.* (Renard et al., 1997) ainsi que tous les signaux des carbones du GTMAC nommées **A**, **B**, **C** et **D** sont mentionnés en figure 59. Les signaux relatifs au polyEPG-CD-10 ($\delta=54,0$ (C-D), 64,0 (C-C), 66,5 (C-D), et 68,0 (C-A)) sont légèrement décalés comparés à ceux du GTMAC hydrolysé sous la forme ouverte reportée en annexe 2 ($\delta=54,0$ (C-D), 65,0 (C-C), 67,5 (C-D), et 71,0 (C-A)). Ceci confirme la substitution des hydroxyles de la β CD par le GTMAC (Heinze et al., 2004). La résonance de C'-2, C'-3 et C'-6 en déblindage et celle de C'-1 en blindage indiquent également la substitution du macrocycle de β CD.

I.3.1.2 ^1H RMN

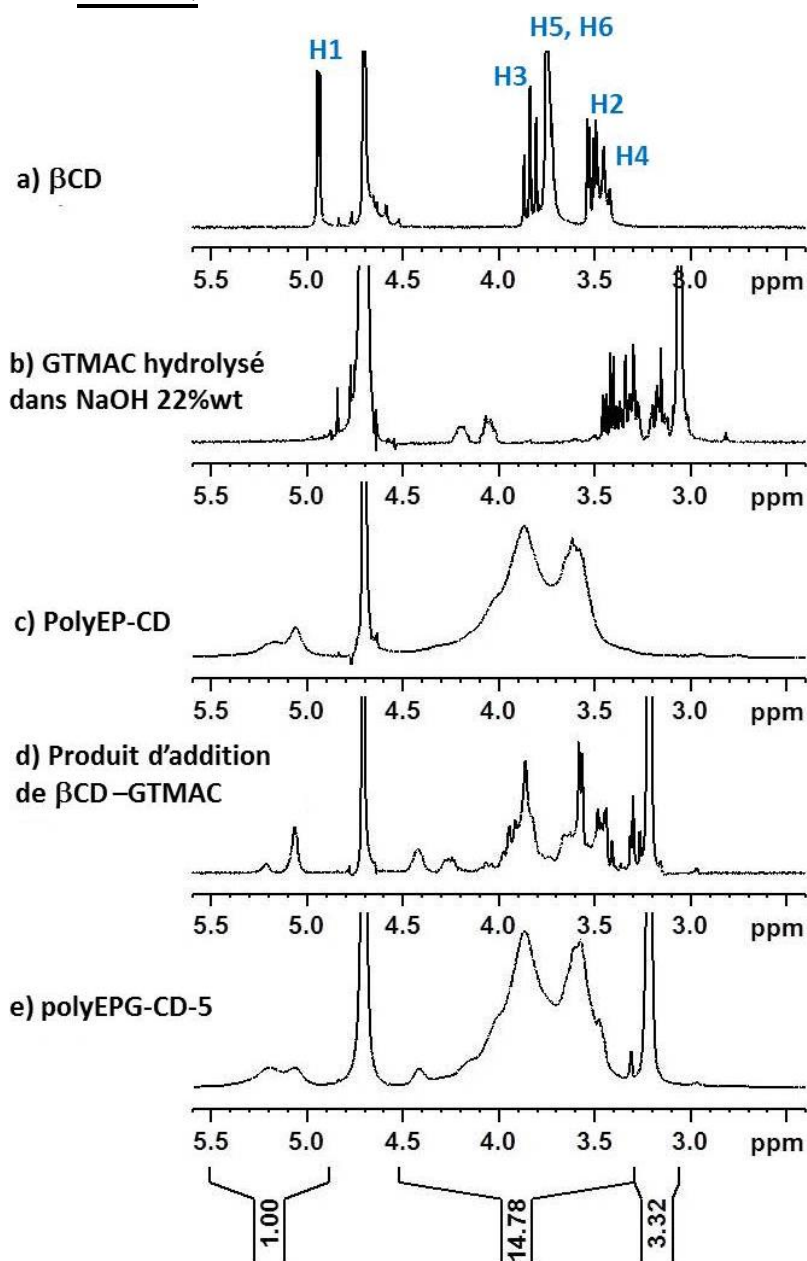


Figure 60: Spectre de RMN ^1H (D_2O) de (a) β CD (b) GTMAC hydrolysé (c) PolyEP-CD (d) Produit d'addition de β CD-GTMAC (e) PolyEPG-CD-5.

Les polymères cationiques ont également été caractérisés par ^1H RMN afin d'évaluer la substitution molaire (MS) des βCD . Premièrement, le spectre de βCD est présenté en figure 60a. Les déplacements chimiques des différents protons sont conformés à la littérature : $\delta=3,45$ ppm (t, H-4), 3,55 (dd, H-2), 3,75 (m, H-5 and H-6), 3,85 (t, H-3) and 4,95 (d, H-1). La forme ouverte du GTMAC obtenue par hydrolyse de la fonction epoxyde dans la NaOH à 22% (w/v) est présentée en figure 60b. Les différents déplacements chimiques qui la compose sont: $\delta=3,05$ (s, H-D), 3,20 (m, H-C), 3,40 (d, H-A) et 4,10 (m, H-B)). Le pic principal à 3,05 ppm correspond au groupement triméthylammonium (figure 60b), la forme ouverte du GTMAC hydrolysé et la forme cyclique du GTMAC sont reportée en annexe 3. Concernant le polyEP-CD, les principaux protons de l'EP sont reportées entre 3,0-4,5 ppm dans la figure 60c et sont également conformés à la littérature (Jenkins et al., 2006, Wintgens and Amiel, 2010).

Le produit d'addition βCD -GTMAC obtenu par la **méthode 2** (figure 60d) est identifié comme étant le résultat du greffage du GTMAC directement sur la βCD (5 mole de GTMAC par mole de βCD). La substitution molaire (MS) par unité d'anhydroglucose (AGU) est calculée à partir des intégrations des pics à 5 ppm (H1- βCD) et à 3,05 ppm (groupement triméthylammonium). Elle est égale à 0,56 (figure 60d) ce qui veut dire que 4 groupements de triméthylammonium sont présents en moyenne par cavité de βCD .

De la même manière, la composition en groupement triméthylammonium du polyEPG-CD-5 (figure 60e), a été calculée par l'intégration des signaux ^1H RMN. Elle est exprimée en mmol par gramme de polymère (Q en mmol/g) et est également reportée en substitution molaire par unité d'anhydroglucose (MS_{GTMAC}).

Selon le même principe de calcul, la composition en épichlorohydrine est reportée en substitution molaire par unité d'anhydroglucose (MS_{EP}). Les MS_{GTMAC} et MS_{EP} sont fournies dans le tableau 16. Le signal aux alentours de 5 ppm (proton anomérique d'AGU (H-1)) est pris comme une référence interne pour calibrer l'intégration de tous les signaux dans le spectre. Le signal à proximité de 3,1 ppm (9 protons d'ammonium quaternaire) permet de quantifier la MS_{GTMAC} qui est 0,37 ($3,32/9$) et cette valeur correspond à la présence de 2,6 ($0,37*7$) groupements triméthylammonium par unité de CD. En plus, l'intégration au voisinage de 3,2 – 4,5 ppm est équivalente à 6 protons d'AGU (H-2 à H-6), 5 protons de GTMAC multipliés par MS_{GTMAC} et 5 protons d'EP multipliés par MS_{EP} . L'estimation de MS_{EP} est d'environ 1,39 ($(14,78-6-5*0,37)/5$) et cette valeur correspond à la présence de 9,7 ($1,39*7$) molécule d'EP par unité de CD. Finalement, le pourcentage massique de βCD

(53% wt) ainsi que la composition de groupement triméthylammonium ($Q=1,2$ mmol/g) sont évalués grâce aux données calculées précédemment (voir calculs en annexe 4). Ce calcul a été appliqué aux différents polyEPG-CD.

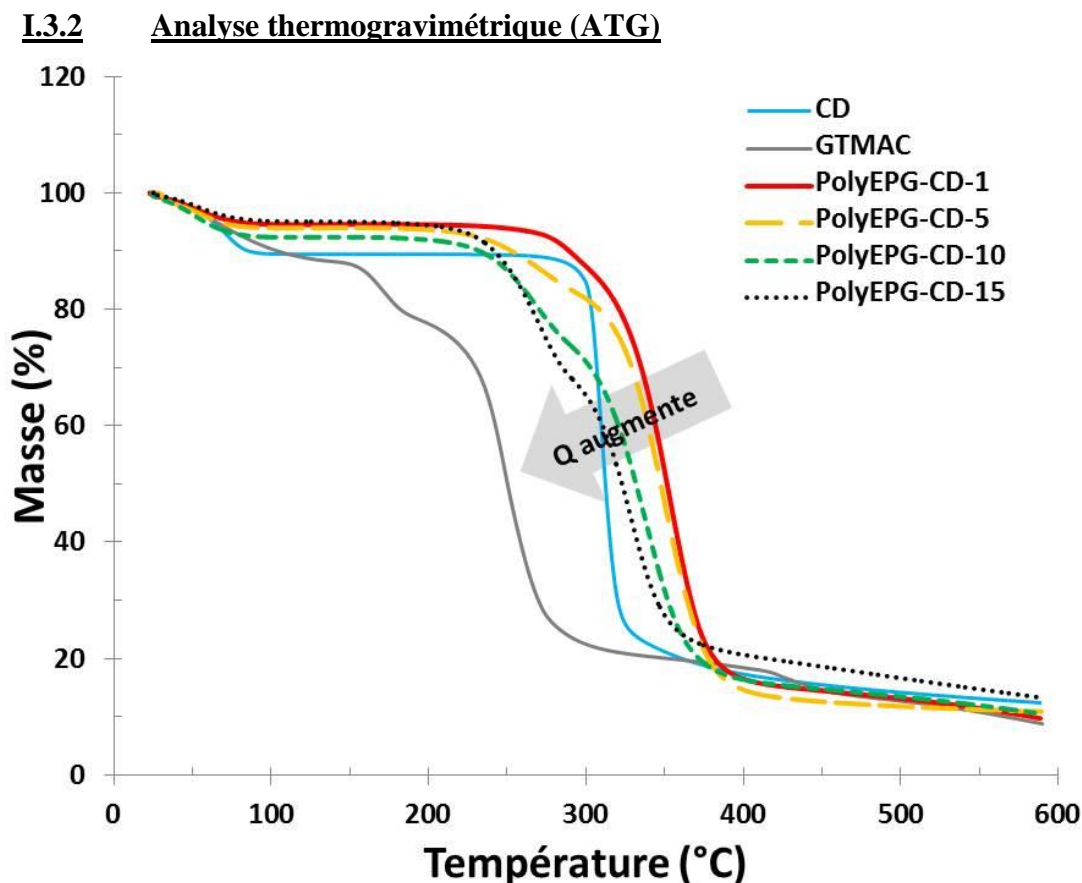


Figure 61 : Thermogrammes de β CD, GTMAC, différentes polyEPG-CD-X avec X=rapport molaire initial de GTMAC.

Les différents polyEPG-CD-X (avec X= rapport molaire de GTMAC) ont été évalués par ATG sous flux d'azote et les thermogrammes sont présentés en figure 61. Dans un premier temps et en-dessous de 100 °C, une perte de masse de 10% pour la β CD, 5% pour le polyEPG-CD-1, 6% pour le polyEPG-CD-5, 8% pour le polyEPG-CD-10 et 5% pour polyEPG-CD-15 est observée. Elle correspond à la déshydratation des polymères (Giordano et al., 2001, Kohata et al., 1993, Trotta et al., 2000). Dans un second temps, la dégradation thermique de l'ensemble des polyEPG-CD commence à partir de 250°C alors que la dégradation de la β CD ne commence quant à elle qu'à partir de 300°C. Comme observé sur la figure 61, plus la présence de groupement ammonium quaternaire est importante dans le polymère, plus la température de dégradation est basse. Ce phénomène a été auparavant observé sur le chitosane modifié par le GTMAC (Sajjan et al., 2013, Wan et al., 2010). La diminution de la stabilité thermique avec l'augmentation de la quantité de GTMAC incorporée

est attribuée à la réaction d'élimination Hoffman qui se produit lors de la pyrolyse de molécules porteuses de groupements ammoniums quaternaires à une température élevée (Landini et al., 1986). La dernière étape de la dégradation s'effectue au-dessus de 390 °C à cause de la décomposition lente d'un résidu (char) qui est thermiquement stable (Trotta et al., 2000).

I.3.3 Spectroscopie Infrarouge (IR)

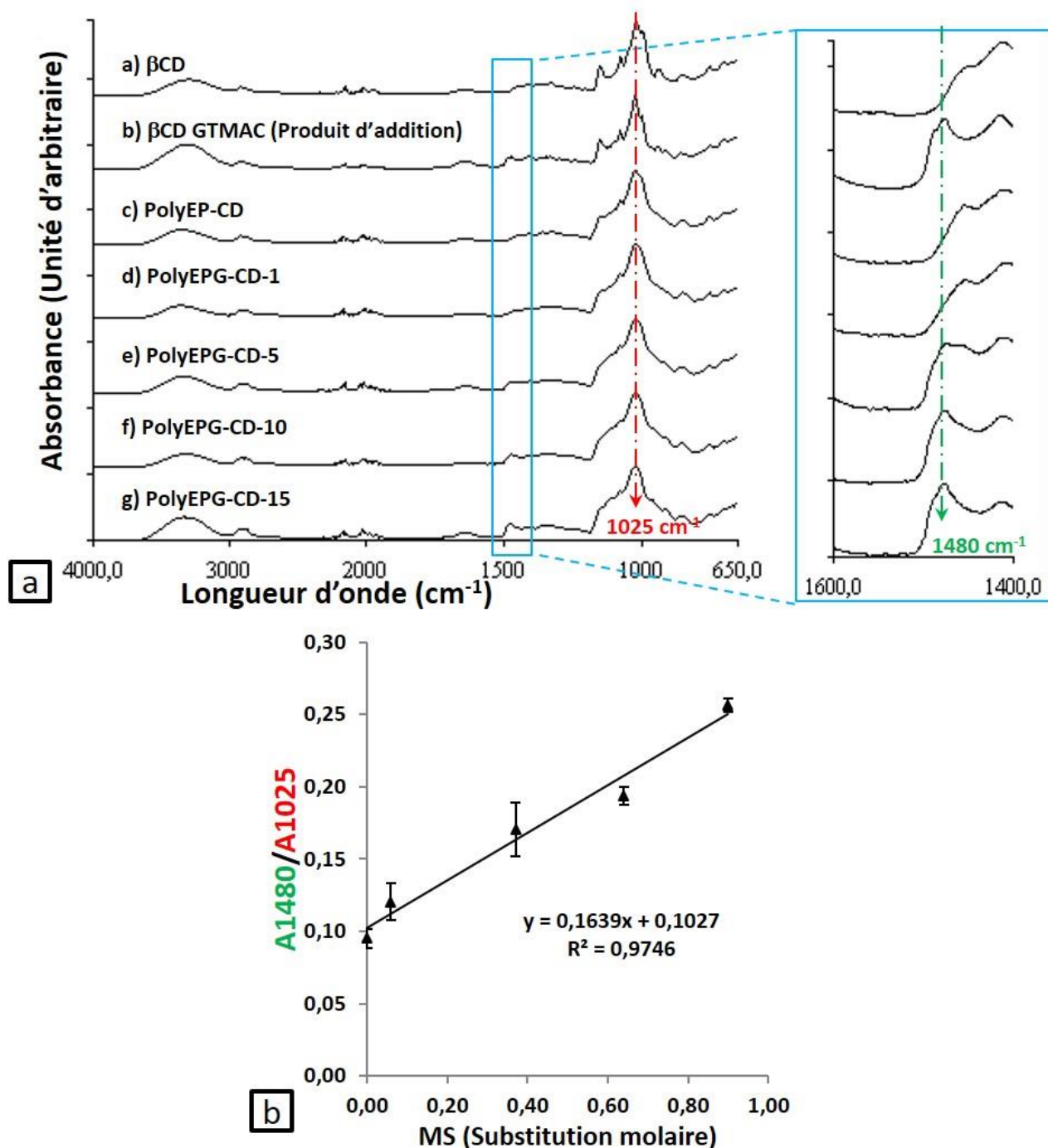


Figure 62 : (a) Spectre IR-ATR de β CD, β CD-GTMAC et différents polyEPG-CD-X avec X=rapport molaire initial de GTMAC (b) Ratio de l'absorbance entre 1480 cm⁻¹ et 1025 cm⁻¹ en fonction de MS par AGU (déterminée par ¹H RMN), n=3.

Les spectres IR des polyEPG-CD-X (avec X=rapport molaire initial de GTMAC) ainsi que les que les composés de départ, utilisés comme référence, ont été analysés et sont présentés en figure 62a. On remarque la présence caractéristique des bandes d'élongation des O-H à 3400 cm^{-1} , d'élongation des C-H à 2900 cm^{-1} , d déformation des molécules H_2O présentées dans CD à 1625 cm^{-1} (Crupi et al., 2010), d'élongation des C-C à 1150 cm^{-1} , de déformation des C-O des alcools primaires et secondaires à 1010 et 1150 cm^{-1} , et enfin des bandes d'élongation C-O-C des liaisons glycosidiques des cycle pyranoses à 1025 cm^{-1} . L'ensemble de ces bandes est en accord avec la littérature sur ce même type de composé (Pei et al., 2013, Pratt et al., 2010, Renard et al., 2005). La présence de GTMAC sur la βCD a été mise en évidence par l'apparition d'un nouveau pic à 1480 cm^{-1} , correspondant à une déformation angulaire asymétrique des groupements méthyles provenant du substituant ammonium quaternaire. Une relation linéaire entre la substitution molaire mesurée par des expériences de ^1H RMN et le ratio des absorbances entre A (1480cm^{-1})/A (1025cm^{-1}) peut être observé sur la figure 62b, ce qui indique que la spectroscopie IR peut être une méthode efficace et fiable pour quantifier l'incorporation le GTMAC dans le polyEPG-CD.

I.3.4 Spectroscopie Raman

De la même façon, les spectres des polyEPG-CD-X ainsi que les références ont été analysés par spectroscopie Raman et sont présentés en figure 63a. On remarque la présence des bandes de déformation des C-H et O-H à $1200\text{-}1400\text{ cm}^{-1}$, d'élongation des C-O-C à 1115 cm^{-1} , d'élongation des C-O-H à 1032 cm^{-1} et enfin des bandes d'élongation C-O-C des liaisons glycosidique du cycle pyranose à 950 cm^{-1} en accord avec la littérature (Nielsen et al., 2011).

La présence de GTMAC sur la βCD a été mise en évidence par l'apparition d'un nouveau pic à 762 cm^{-1} (élongation symétrique) et à 3030 cm^{-1} (élongation asymétrique) pour les groupements méthyles provenant du substituant ammonium quaternaire. Il est ainsi possible d'établir une courbe de calibration permettant de déterminer le degré de cationisation des polymères en utilisant les bandes caractéristiques des substituants cationiques (Pigorsch, 2009, Phillips et al., 1999). Une relation linéaire entre la MS mesurée par des expériences de ^1H RMN et le ratio des intensités entre $762\text{ cm}^{-1} / 950\text{ cm}^{-1}$ peut être observée sur la figure 63b, ce qui indique que la spectroscopie Raman est également une méthode adaptée pour quantifier le degré d'incorporation le GTMAC dans les polyEPG-CD.

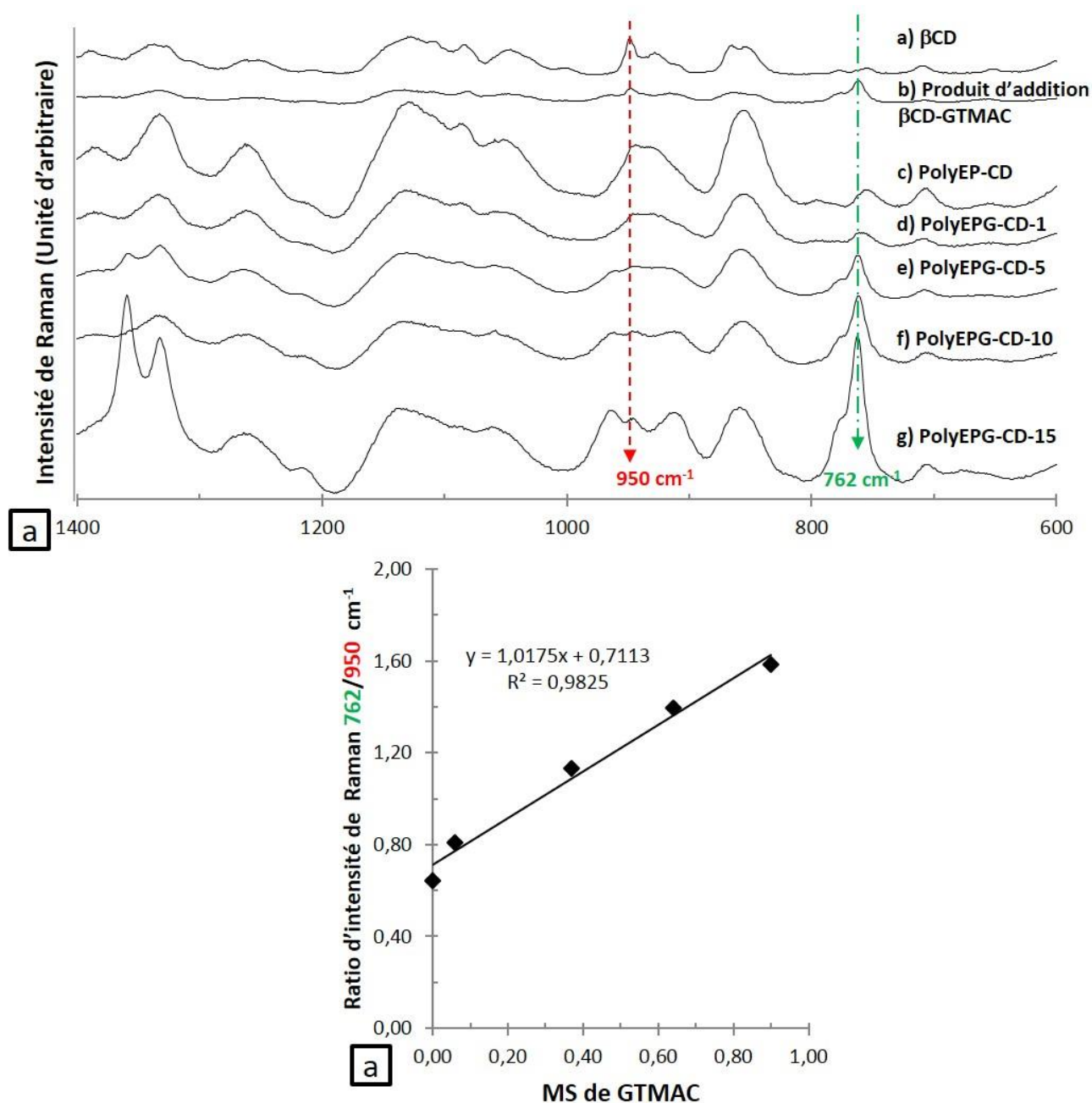


Figure 63: (a) Ratio de l'intensité Raman entre les pics à 762 cm^{-1} et 950 cm^{-1} en fonction de MS par AGU (déterminée par ^1H RMN), (b) Spectre Raman de β CD, β CD-GTMAC et différents polyEPG-RX avec X=rappor molaire initiale de GTMAC.

I.4 Conclusion

Une série de nouveaux polymères cationiques hydrosolubles de β CD (polyEPG-CD) a été obtenue par polycondensation de β CD avec l'EP en présence de GTMAC dans des conditions basiques. Les propriétés de ces polymères tels que la densité de charge des groupements ammoniums, la masse molaire moyenne en poids et l'indice de polymolécularité se sont montrées fortement dépendantes des conditions expérimentales telles que le rapport

molaire entre les réactifs (β CD: EP: GTMAC), la méthode de synthèse, la température et le temps de réaction. A ratio molaire équivalent, les valeurs de Q obtenues étaient les mêmes pour les **méthodes 1 et 2**. En revanche, le polymère synthétisé par la **méthode 1** permet d'obtenir la masse moléculaire en poids la plus élevée. Par conséquent, la **méthode 1** a été choisie. L'élévation de la température de la réaction a induit une augmentation de la charge (Q) et de la masse molaire des polymères tout en diminuant le temps de réaction. Cependant, nous avons constaté qu'un rapport molaire élevé de GTMAC provoque une forte diminution de la masse molaire de polyEPG-CD principalement en raison de la désactivation des branches de la partie d'épichlorohydrine impliquées dans la réticulation des polymères de cyclodextrines en réagissant avec le GTMAC. La charge de polymère était comprise entre 0,2 à 2,44 mmol/g. Les différentes caractérisations (RMN, IR et RAMAN) ont permis de confirmer la structure de polyEPG-CD et quantifier la présence de GTMAC.

II Synthèse et caractérisation du polyCTR-CD

II.1 Caractérisation du polyCTR-CD

II.1.1 Résonance magnétique nucléaire (RMN)

II.1.1.1 ^{13}C RMN

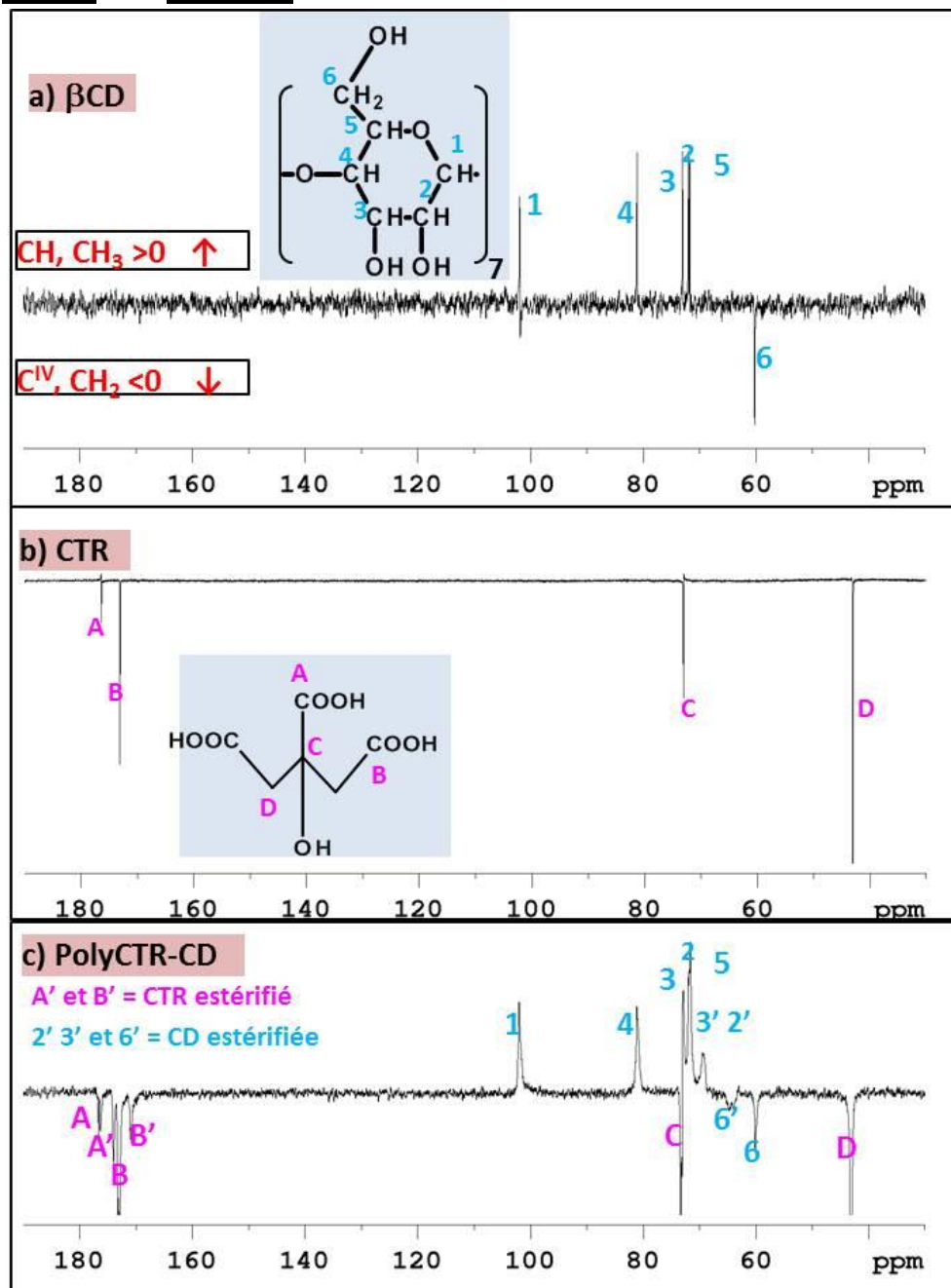


Figure 64: Spectre de RMN ^{13}C (D_2O ; APT expérience) de (a) β CD (b) CTR et (c) PolyCTR-CD

La structure et les sites de substitution du polymère anionique de β CD (polyCTR-CD) ont été examinés par ^{13}C RMN (figure 64), la structure de polyCTR-CD a été représentée dans

la figure 7. L'expérience ^{13}C RMN-APT a permis de différencier les carbones primaires et tertiaires en mode positif, et les carbones secondaires et quaternaires en mode négatif.

Les attributions des signaux des différents carbones sont mentionnées dans la figure 64a pour la β CD et dans la figure 64b pour l'acide citrique, et dans la figure 64c pour le polymère anionique. Le léger décalage observé sur le déplacement des carbones et l'apparition des nouveaux pics (**6'**(64,2 ppm), **2' ou 3'** (69,2 ppm), **A'**(174 ppm) et **B'**(171 ppm)) confirme la formation du polymère par réaction de polycondensation entre l'acide citrique et la β CD (Anand et al., 2013), c'est-à-dire : estérification des fonctions COOH (**A** et **B** de CTR) avec des fonctions OH (**2**, **3** et **6**)de CD.

II.1.1.2 ^1H RMN

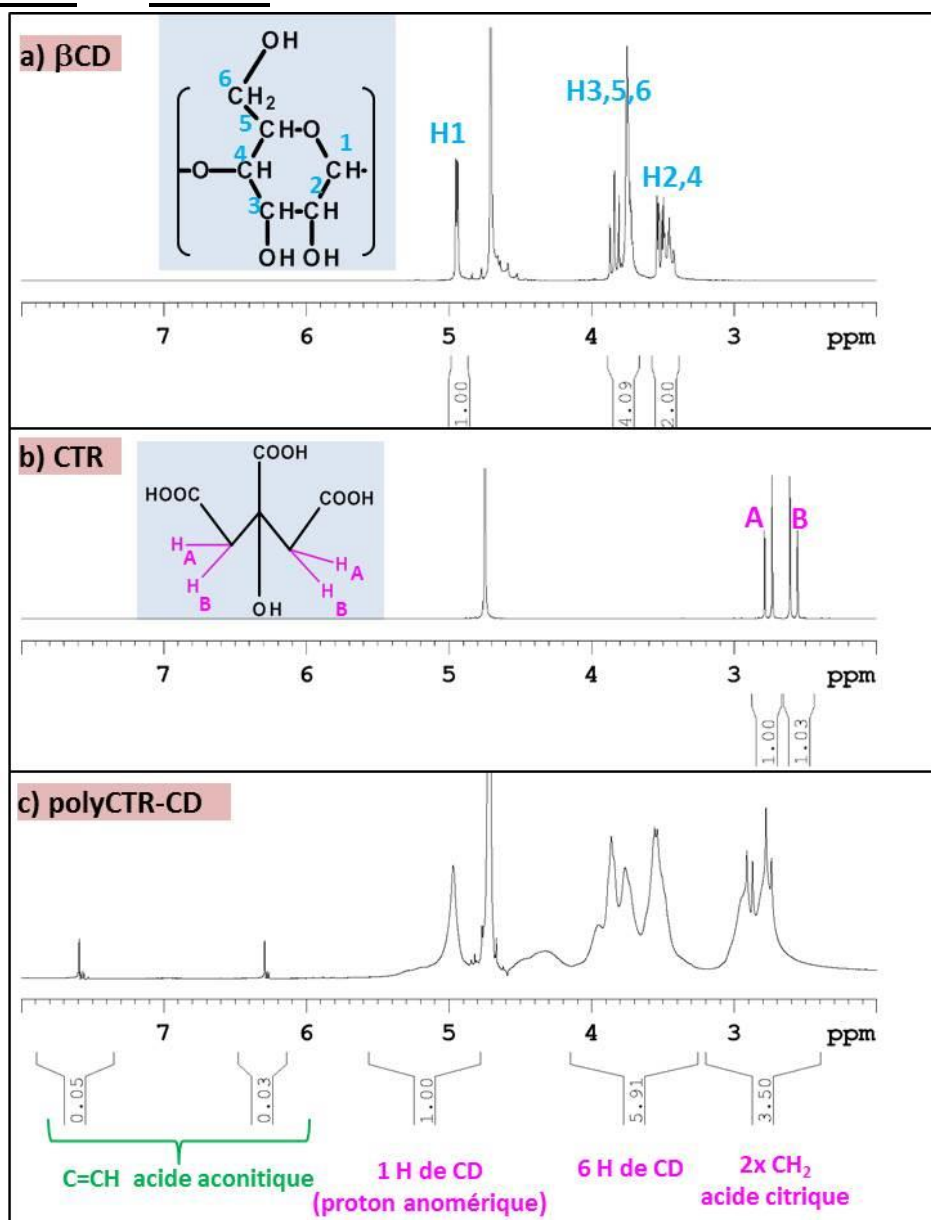


Figure 65 : Spectre de RMN ^1H (D_2O) de (a) β CD (b)PolyCTR-CD et (c)CTR.

Le rapport molaire en acide citrique et en β CD dans le polymère anionique a été estimé par calcul d'intégration des signaux ^1H RMN en prenant le proton anomérique d'AGU (H-1) comme référence. La structure de polyCTR-CD a été représentée dans la figure 7. La substitution molaire (MS) par unité d'anhydroglucose (AGU) de chaque composant (figure 65) a ainsi été définie. Les signaux aux alentours de 2,4-3,2 ppm (4 protons des groupements méthylène de l'acide citrique) ont permis de quantifier la $MS_{\text{CTR}} = 0,88$ (3,5/4). Cette valeur correspond à la présence de 6,13 (0,88*7) molécule de CTR par unité de CD. Les signaux à 6,3-7,6 ppm (1 proton de C=CH d'acide aconitique) a permis d'estimer la $MS_{\text{aconitique}}$ qui est 0,08 (0,08/1) correspondant à 0,56 (0,08*7) molécule d'acide aconitique ($\text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{C}(\text{COOH})=\text{CH}-\text{COOH}$, réaction secondaire) par unité de CD. Les 6 protons d'AGU ont également été identifiés dans la plage de 3,2-4,2 ppm. Finalement, le pourcentage massique de β CD (52% wt) ainsi que la composition en groupement carboxylique ($Q=2,81$ mmol/g) ont été évalués (voir ses calcul en annexe 5). Pour ce dernier calcul, une approximation est réalisée en estimant qu'il reste une fonction carboxylique sur les trois fonctions carboxyliques ayant réagi avec la CD. Cela explique pourquoi la valeur de la densité de charge Q (4mmol/g) déterminée par dosage acidobasique est beaucoup plus fiable car elle ne prend en compte aucune approximation.

II.1.2 Analyse thermogravimétrique (ATG)

La stabilité thermique et le comportement de dégradation du polyCTR-CD et des réactifs initiaux ont été évalués par ATG sous flux d'azote. Les thermogrammes correspondants sont fournis en figure 66. Leur analyse montre premièrement une perte de masse en dessous de 100 °C assimilée à la déshydratation des composés. Elle est de l'ordre de 10% pour la β CD et de 8% pour le polyCTR-CD. Dans un second temps, les composés commencent à se dégrader (seuil de dégradation) ; à partir de 140°C pour le CTR, 190°C pour le polyCTR-CD et à 290 °C pour la β CD. Le polymère anionique présente donc une dégradation située entre celles des deux réactifs initiaux. La dernière étape de la dégradation s'effectue au-delà de 230°C pour les 20% restant de CTR, 330°C pour les 25% de CD et 370°C pour le polyCTR-CD. Elle correspond à la décomposition lente d'un résidu (char) de CD.

Ceci montre que le polyCTR-CD ne sera pas dégradé à la température appliquée (140 °C) pour la réticulation thermique des assemblages multicouches dans la suite de l'étude.

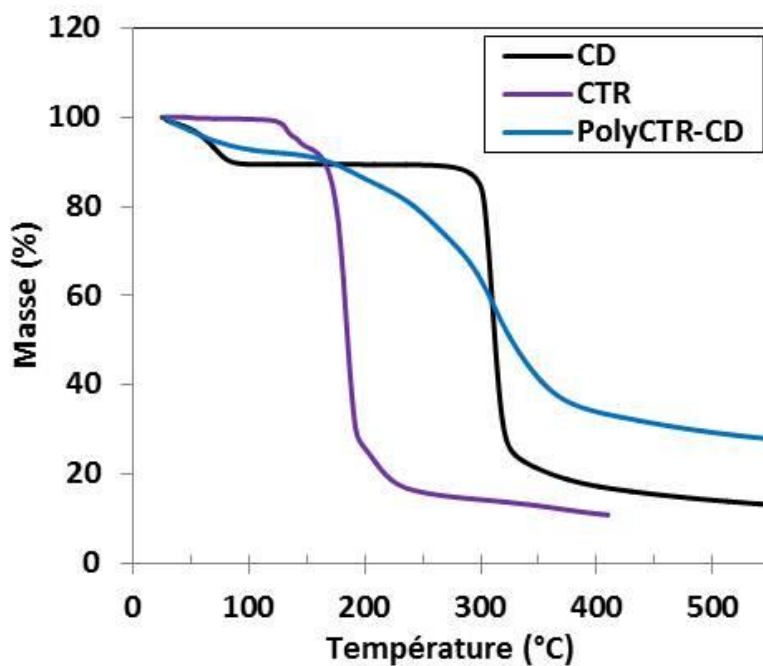


Figure 66: Thermogrammes de β CD, CTR et polyCTR-CD.

II.1.3 Spectroscopie Infrarouge

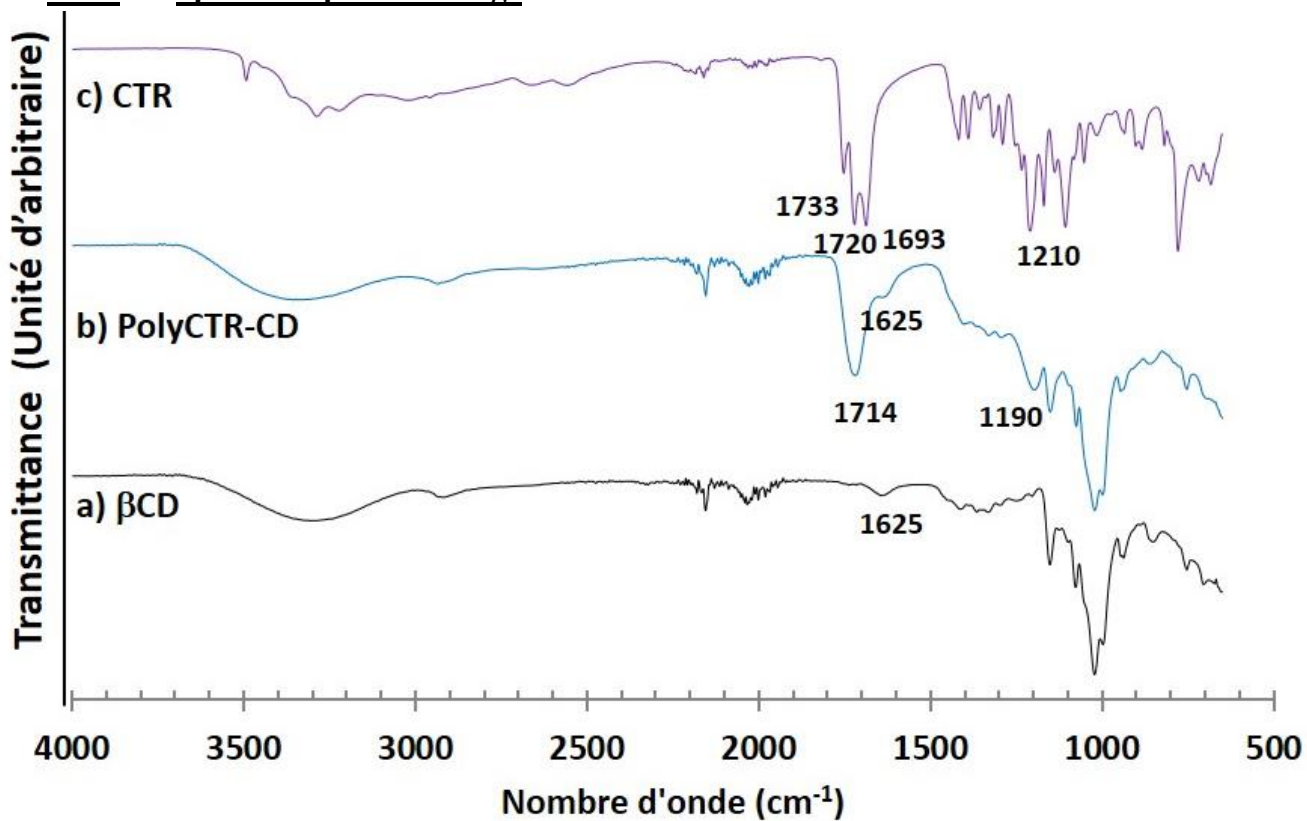


Figure 67 : Spectre IR-ATR de (a) β CD, (b) polyCTR-CD et (c) CTR.

Afin de caractériser le polymère anionique ainsi que les composés de référence, la spectroscopie infrarouge a été utilisée.

Les spectres de la β CD, du CTR et du polyCTR-CD sont présentés en figure 67.

Pour la β CD, on remarque la présence caractéristique des bandes d'élongation des O-H à 3400 cm^{-1} , d'élongation des C-H à 2900 cm^{-1} , d'déformation des molécules H_2O présentées dans CD à 1625 cm^{-1} (Crupi et al., 2010), d'élongation des C-C à 1150 cm^{-1} , de déformation des C-O des alcools primaires et secondaires à 1010 et 1150 cm^{-1} , et enfin des bandes d'élongation C-O-C des liaisons glycosidiques des cycle pyranoses à 1025 cm^{-1} . Pour le CTR, on observe la présence des bandes d'élongation des C=O du CTR à $1690\text{-}1740\text{ cm}^{-1}$ et d'élongation des C-O du CTR à 1210 cm^{-1} . Pour le polyCTR-CD, on voit l'apparition des bandes d'élongation des C=O du polyCTR-CD et du CTR à 1714 cm^{-1} et d'élongation des C-O du polyCTR-CD à 1190 cm^{-1} . La présence de deux nouveaux pics à 1714 et 1190 cm^{-1} des fonctions esters confirme la réaction entre le CTR et la β CD pour former le polyCTR-CD.

II.1.4 Spectroscopie Raman

De la même façon, le spectre des polyCTR-CD ainsi que celui des réactifs de départ (CD et CTR) ont été analysés en spectroscopie Raman et sont présentés en figure 68. Les spectres entre le polyCTR-CD et la β CD sont similaires sauf entre $1600\text{-}1800$ (une bande d'élongation des C=O du polyCTR-CD à 1720 cm^{-1} , les fonctions esters et carboxyliques), on remarque la présence des bandes de déformation des C-H et O-H à $1200\text{-}1400\text{ cm}^{-1}$, d'élongation des C-O-C à 1115 cm^{-1} , d'élongation des C-O-H à 1032 cm^{-1} et d'élongation C-O-C des liaisons glycosidique du cycle pyranose à 950 cm^{-1} (Nielsen et al., 2011).

Le spectre de CTR montre des bandes d'élongation des C=O à 1680 et 1750 cm^{-1} et de déformation des C_3CO à 943 cm^{-1} (Huang et al., 2013) ce qui est rassemblé avec le pic de la β CD pour le polyCTR-CD. Ce pic est considéré comme le révélateur du polyCTR-CD.

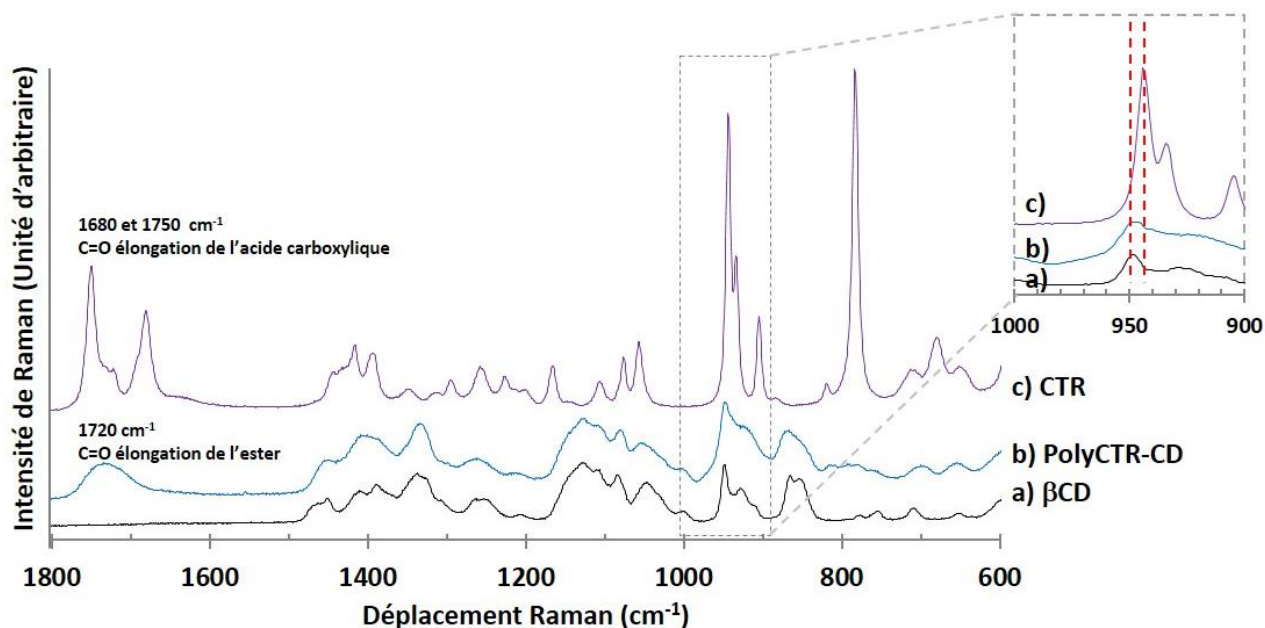


Figure 68: Spectre Raman de (a) β CD, (b) polyCTR-CD et (c) CTR.

II.2 Conclusion

Le polyCTR-CD a été caractérisé par différentes techniques (RMN, IR et RAMAN) pour confirmer la structure de polymère. La composition de chaque produit a été calculée par RMN et La stabilité thermique du polyCTR-CD a étudiée par ATG.

III Construction des multicouches par OWLS

III.1 Construction des multicouches sans principes actifs

III.1.1.1 Influence du pH de la solution

La construction des assemblages multicouches a été suivie par OWLS ce qui a permis, avant l'étape de dépôt sur textile, de justifier de la faisabilité de tels systèmes.

Les deux polyélectrolytes de CD de charges opposées, à savoir le polyEPG-CD-10 et le polyCTR-CD, ont donc été déposés alternativement une surface de SiTiO_2 . Les polymères ont été solubilisés dans une solution de NaCl (0,15 M) à une concentration de 4 g/L à différents pH : le pH naturel des solutions (3,5 pour le polyCTR-CD et 6,5 pour le polyEPG-CD), un pH à 3,5 pour les deux polymères, et un pH à 6,5 pour les deux polymères. L'expérience OWLS n'a pas été réalisée dans l'eau pure en raison d'une instabilité de la ligne de base. Les figures 69a et 69b présentent respectivement l'évolution du gain de masse (ng/cm^2) et de l'épaisseur du système (nm) en fonction du nombre de paires de couches et des pH imposés dans ces milieux.

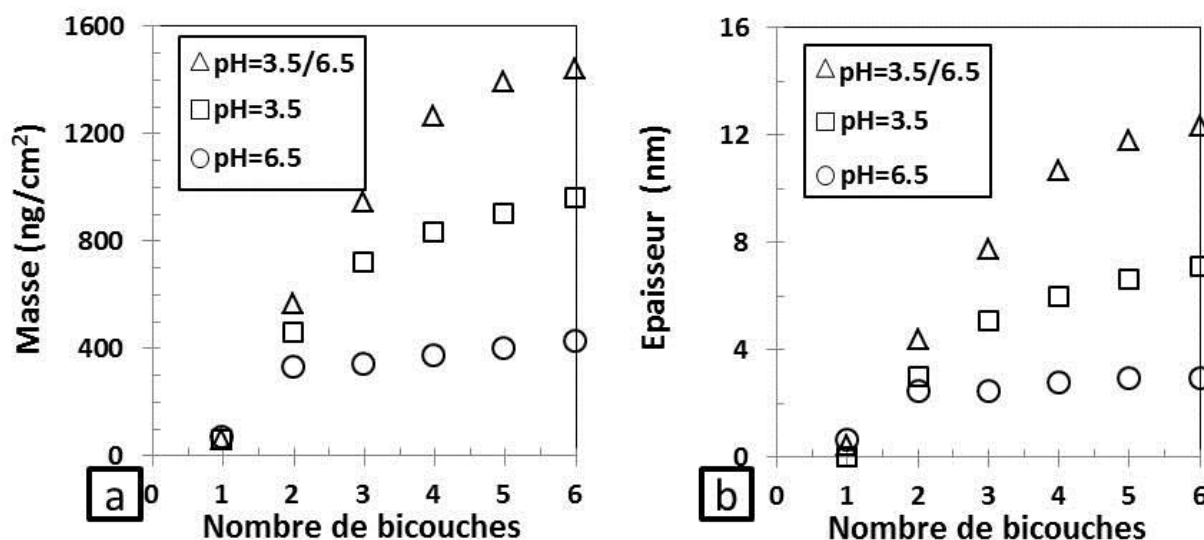


Figure 69: Evolution du gain de masse (a) et de l'épaisseur (b) en fonction du nombre de couches mesurés par OWLS dans 0,15M NaCl aux différents pH. (C/A=4/4 avec C et A en concentration de polycation (polyEPG-CD-10) et polyanion (polyCTR-CD), le pH naturel de C =6,5 et le pH naturel de A=3,5).

Tout d'abord, il est important de mentionner que le polyCTR-CD est un polyélectrolyte « **faible** » et son degré d'ionisation est dépendant du pH, contrairement au polyEPG-CD qui est un polyélectrolyte « **fort** » et indépendant du pH de par la présence des groupements ammoniums quaternaires de GTMAC.

Sur des figures 69a et 69b, on remarque que le gain de masse et l'épaisseur des assemblages multicouches sont plus importants lorsque le pH des solutions est fixé à 3,5 (900 ng/cm² et 6,6 nm) qu'au pH 6,5 (400 ng/cm² et 3 nm). A pH 3,5 ; le polyCTR-CD est faiblement ionisé. Cela contribue à une formation plus importante de films en termes de gain de masse et d'épaisseur. Ce phénomène a déjà été observé dans la littérature pour les couples PAA/PDADMAC (Elzbieciak et al., 2008, Alonso et al., 2013). Inversement à pH 6,5, le polyCTR-CD est beaucoup plus ionisée conduisant un dépôt moins important à cause de l'interaction électrostatique. L'adsorption des polyélectrolytes s'effectue par superposition de couches minces.

Enfin, les assemblages multicouches ont été réalisés avec le pH naturel des solutions ; à savoir 3,5 pour le polyCTR-CD et 6,5 pour le polyEPG-CD. C'est dans ce cas de figure que la construction des assemblages est optimale avec un gain de masse de 1400 ng/cm² et un gain d'épaisseur de 12 nm après 5 bicouches. Le changement du pH à 6,5 n'affecte pas de charges du polyEPG-CD-10 mais il est possible que la charge anionique de surface de SiTiO₂ augmente avec le pH induisant alors une corrélation entre la charge surfacique et le dépôt des multicouches. Ceci a déjà été observé dans le cas de polyélectrolytes forts de PDADMAC/PSS déposé sur le support Si/SiO₂ à différents pH (Elzbieciak et al., 2008). La

construction des assemblages au pH naturel des polyélectrolytes est donc considérée comme la condition optimale pour réaliser les dépôts multicouches.

III.1.1.2 Influence de la composition du milieu de construction

Des assemblages multicouches à base de polyEPG-CD-10 et le polyCTR-CD ont été réalisés en utilisant deux milieux, à savoir une solution de NaCl (0,15 M) au pH naturel des polyélectrolytes et une solution tampon HEPES (20 mM, pH = 7,3). Dans les deux cas, une concentration à 4 g/L a été utilisée.

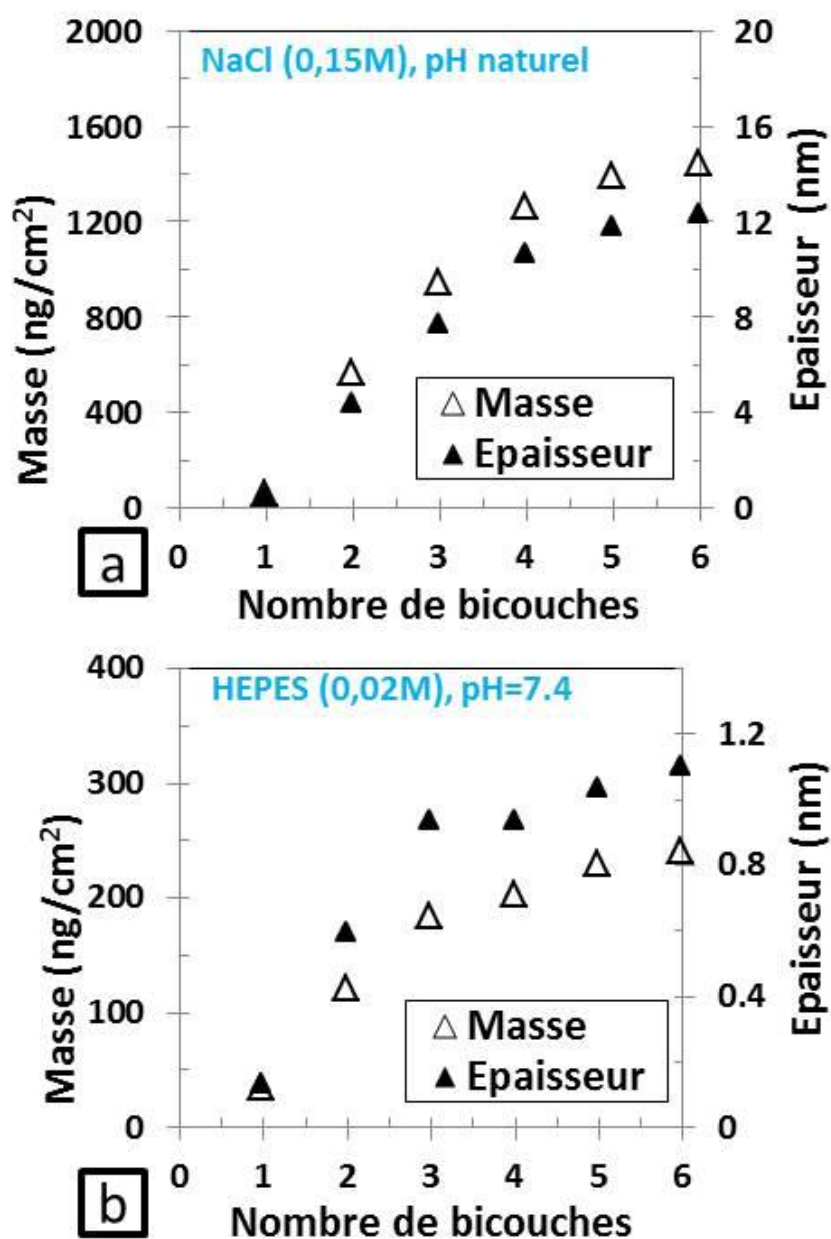
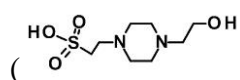


Figure 70: Evolution du gain de masse et de l'épaisseur en fonction du nombre de couches mesurés par OWLS dans 0,15M NaCl au pH naturel (a) et dans 20 mM de tampon HEPES au pH=7,3. (C/ A=4/4 avec C et A en concentration de polycation (polyEPG-CD-10) et polyanion (polyCTR-CD)).

Les figures 70a et 70b montrent l'évolution du gain de masse (en ng/cm^2) et de l'épaisseur (en nm) en fonction du nombre de paires de couches dans ces milieux. On constate que la construction des assemblages est beaucoup plus efficace dans une solution de NaCl (gain de $1400 \text{ ng}/\text{cm}^2$ en masse et de 12 nm en épaisseur après 5 bicouches) que dans HEPES (gain de $250 \text{ ng}/\text{cm}^2$ de masse et de 1,1 nm en épaisseur après 5 bicouches), suggérant des fortes interactions électrostatiques entre le HEPES chargée négativement au $\text{pH} = 7,4$



() et le polyEPG-CD-10 chargé positivement. Le NaCl (0,15 M) semble donc être un milieu beaucoup plus favorable pour la construction des assemblages en OWLS. Rappelons qu'en OWLS, l'instabilité de la ligne de base dans l'eau rend obligatoire la présence de sels dans les solutions de polyélectrolytes.

III.2 Construction des multicouches avec TBBA

III.2.1 Etude préliminaire du complexe TBBA/polyCD

Avant de faire la construction LbL en utilisant les complexes de TBBA avec les deux polymères de CD, nous avons mené une étude par RMN et ITC pour démontrer la complexation entre le TBBA et les polymères de CD.

III.2.1.1 ^1H RMN (1D et 2D)

Les figures 71a et 71b présentent les spectres RMN ^1H (D_2O) du polyEPG-CD-10, TBBA et du complexe polyEPG-CD-10/TBBA. Sur le spectre du polyEPG-CD-10 (figure 71a1), on remarque la présence du signal du proton anomérique (H-1) de la CD à proximité de 5 ppm, le proton de l'ammonium quaternaire du GTMAC à 3 ppm et le reste des protons de la CD et des réactifs dans la gamme 3,2 à 4,5 ppm. En outre, le spectre de TBBA (figure 71a3) montre un signal de singulet à 1,3 ppm correspondant au groupement tertio-butyl et un signal de doublet dans la zone de 7,4 à 8 ppm correspondant au groupement aromatique. La figure 71a2 présente le spectre du complexe polyEPG-CD-10/TBBA, où le groupement tertio-butyl est déblindé ($\Delta\delta=0,2$ ppm), les protons aromatiques sont blindés d'une part ($\Delta\delta=0,05$ ppm) et déblindés d'autre part ($\Delta\delta=0,08$ ppm) ainsi que les protons internes de CD (H3 et H5) sont aussi déblindés ($\Delta\delta=0,1$ ppm). Cet événement confirme la complexation entre deux espèces. Les spectres 2D-TROESY RMN ^1H (D_2O) confirment également la complexation par apparition des tâches de corrélation émises à partir de l'interaction dipolaire entre les protons

aromatiques de TBBA et les protons tertiobutyle de TBBA avec les protons internes de la cyclodextrine (figure 71b).

La complexation de TBBA avec le polyCTR-CD a été signalée dans nos précédents travaux (Martin et al., 2013a). La technique RMN a permis de vérifier les phénomènes d'inclusion de TBBA dans les cavités de CD.

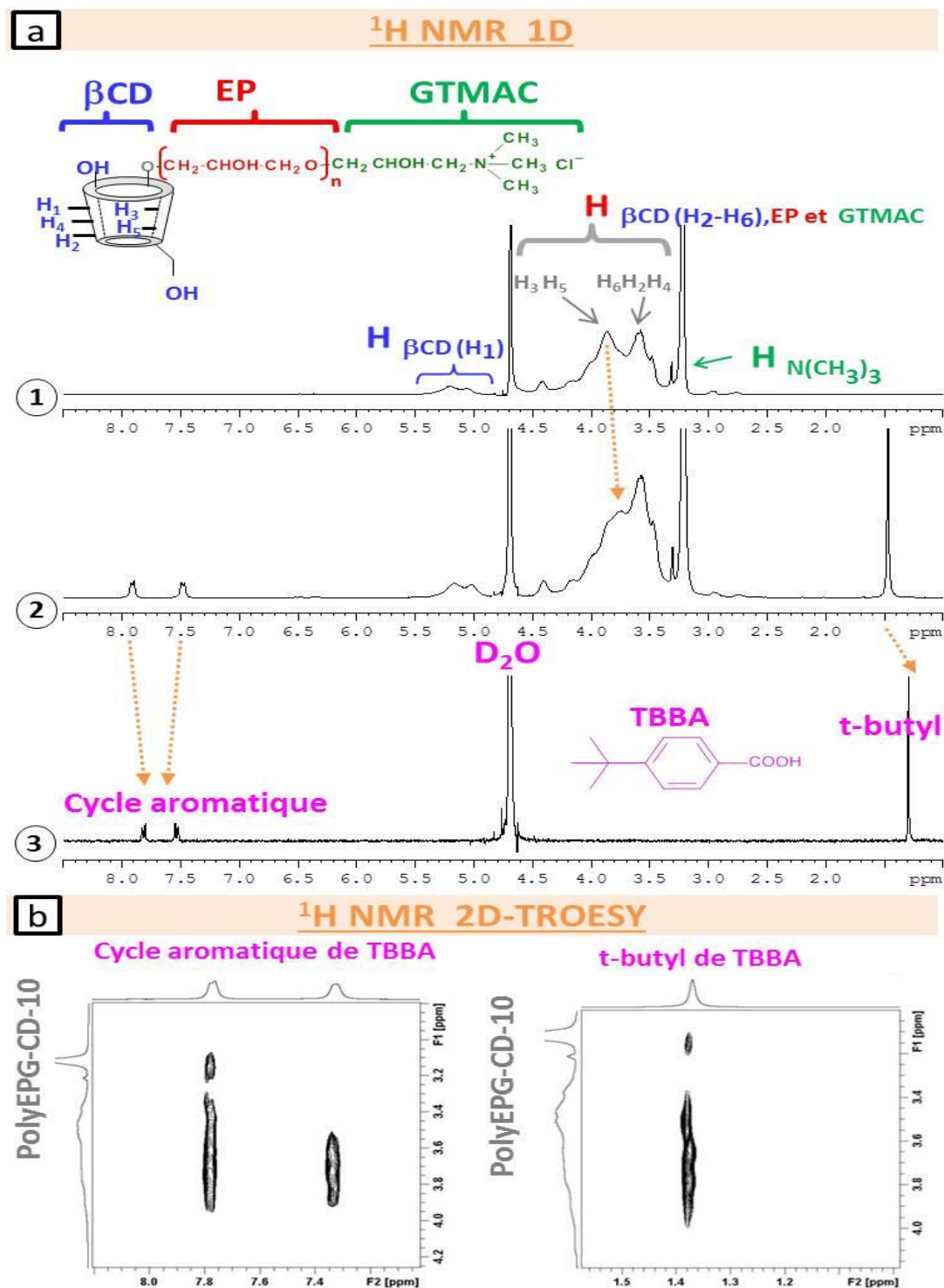


Figure 71 : Etude de $^1\text{H RMN}$ du complexe TBBA/polyEPG-R10 en une dimension (a) et en deux dimensions (TROESY) avec l'agrandissement de la zone aromatique (b) et aliphatique (c) de TBBA.

III.2.1.2 ITC (titration calorimétrique isotherme)

Les courbes de titration entre le TBBA et CD ou ses dérivés (polymère neutre (polyEP-CD), polymère anionique (polyCTR-CD) et polymère cationique (polyEPG-CD-1 et polyEPG-CD-10) sont montrées en annexe 6. Les flux de chaleur exothermique libérés après addition consécutive de la solution de la seringue à la cellule échantillon sont intégrés et exprimés en fonction du nombre d'injection. Les données expérimentales sont corrigées des effets de dilution et conduisent aux courbes de titration en utilisant le modèle d'un site d'association (1: 1) afin de déterminer les constantes de paramètres tels que les constantes d'association (K en M^{-1}), la stœchiométrie apparente du complexe (n) et l'enthalpie de la formation du complexe (ΔH° en $kcal.mol^{-1}$), voir le tableau 17.

Tableau 17 : Etude d'ITC de la complexation entre le TBBA et CD ou les dérivés de CD dans tampon phosphate (50 mM pH=6,5), en présence de plusieurs paramètres réactionnels tels que la constant de complexation (K), la stœchiométrie du complexe (n) et l'enthalpie de complexation (ΔH).

	$K \cdot 10^{-3} (M^{-1})$	n	$\Delta H (kcal/mol)$
CD	17,30 ± 0,67	1,00 ± 0,01	-4,37 ± 0,03
PolyEP-CD	8,89 ± 0,46	1,09 ± 0,01	-3,78 ± 0,03
PolyEPG-CD-1	11,10 ± 0,81	0,75 ± 0,01	-3,18 ± 0,06
PolyEPG-CD-10	26,64 ± 1,61	0,77 ± 0,00	-3,32 ± 0,03
PolyCTR-CD	2,64 ± 0,16	0,52 ± 0,04	-5,35 ± 0,48

Il convient de noter que le paramètre n correspond à un facteur appliqué à la concentration de CD pour ajuster les données expérimentales. En conséquence, la valeur estimée de n peut être utilisée comme un autre moyen d'assurer les caractéristiques du polymère, car elle reflète la proportion efficace des cavités disponibles. Les valeurs observées de n pour les polymères sont modérément inférieures à 1, probablement en raison de différents facteurs tels que l'imprécision de la teneur en CD du polyCD (mesurée par technique de RMN) ou l'accessibilité de la molécule invitée au site disponible de CD cavités dans le réseau polymère. Le fait que ces valeurs de n sont raisonnablement proches de l'unité confirme l'ordre de grandeur de la teneur en CD dans tous les polymères synthétisés.

Les valeurs négatives d'enthalpies de formation indiquent que la formation de complexes entre TBBA et CD ou ses dérivés est un processus exothermique faible.

La constante d'association entre le TBBA avec β CD native est de $17,3 \text{ kM}^{-1}$ avec un bon accord dans la littérature (Weisser et al., 1997). En cas de polyEPG-CD-10, polyEPG-CD-1, polyEP-CD et polyCTR-CD complexés avec TBBA, la constante d'association est successivement apparue 26,6, 11,1, 8,9 et $2,6 \text{ kM}^{-1}$. La constante d'association de TBBA (l'invitée anionique) est remarquablement améliorée avec l'hôte chargée positivement (polyEPG-CD) et est diminuée de manière significative avec l'hôte chargée négativement (polyCTR-CD) car la charge pourrait fournir la contribution supplémentaire des interactions d'association (Liu et al., 2008, Måsson et al., 1998, Okimoto et al., 1996, Tian et al., 2007, Zia et al., 2001). La valeur K dans les polymères (polyEPG-CD-10) est supérieure à celle mesurée pour la CD native qui est elle-même déjà élevée, ce qui est rarement observée (Giglio et al., 2015).

III.2.2 Construction LbL avec le complexe TBBA/polyCD

Après avoir réalisé un assemblage multicouche à base de deux polyélectrolytes de CD de charges opposés et avoir prouvé la complexation entre le TBBA/polyCD, nous avons construit cet assemblage à partir des solutions de complexes de TBBA/polymères de CD par l'OWLS. L'objectif est de démontrer qu'il est possible d'élaborer un système multicouche directement chargé en molécule bioactive en superposant alternativement des couches des complexes TBBA/polyEPG-CD et TBBA/polyCTR-CD.

Le TBBA étant une molécule chargée négativement ($\text{pK}_a=4,36$), et pouvant par conséquent présenter des interactions importantes avec le polyEPG-CD, il nous a paru judicieux de tester deux polymères cationiques ; à savoir le polyEPG-CD-1 ($Q = 0,2 \text{ mmol/g}$) ou polyEPG-CD-10 ($Q = 2 \text{ mmol/g}$). Un rapport molaire de 1 :2 (TBBA : CD) a été choisi. Il correspond expérimentalement à la limite de solubilité du TBBA dans les solutions de polymères. Enfin, la concentration des polymères a été préalablement déterminée pour obtenir un gain de masse optimum dans les assemblages ; à savoir : $C_{\text{polyEPG-CD-10}}/A_{\text{polyCTR-CD}}=4/4$ et $C_{\text{polyEPG-CD-1}}/A_{\text{polyCTR-CD}}=10/1$ avec C et A en concentration massique de polycation et polyanion respectivement).

Les figures 72a et 72b présentent respectivement le gain de masse (ng/cm^2) et l'épaisseur (nm) au cours de l'auto-assemblage de six bicouches en présence et en absence de TBBA pour **le système R10** (polyCTR-CD/polyEPG-CD-10), **le système R1** (polyCTR-CD/polyEPG-CD-1), **le système R10_TBBA** (polyCTR-CD+TBBA/polyEPG-CD-10+TBBA), **le système R1_TBBA** (polyCTR-CD+TBBA/polyEPG-CD-1+TBBA). L'étude

OWLS confirme que la construction des assemblages multicouches dépend de la densité de charge ionique de polyEPG-CD. En l'absence de TBBA, le système R10 atteint 1400 ng/cm^2 contre seulement 450 ng/cm^2 pour le système R1. En présence de TBBA, le gain de masse reste quasiment stable à 1400 ng/cm^2 pour le système R10, mais chute de 450 à 200 ng/cm^2 pour le système R1.

Pour le système R1, la diminution du gain de masse de 60% est expliquée par le fait que l'inclusion de TBBA à l'intérieur des cavités de cyclodextrines peut affecter les interactions électrostatiques entre le polyélectrolyte anionique en solution et la couche cationique en surface, et de plus, une fois elle-même déposée, cette nouvelle couche peut aussi présenter des interactions réduites avec la couche de polyélectrolyte suivante. En revanche, il n'y quasiment pas de perturbation en présence de TBBA pour le système R10. Dans les travaux précédents sur les assemblages entre le chitosane et le complexe TBBA/polyCTR-CD, une chute du gain de poids de 25% a été observée (Martin et al., 2013a).

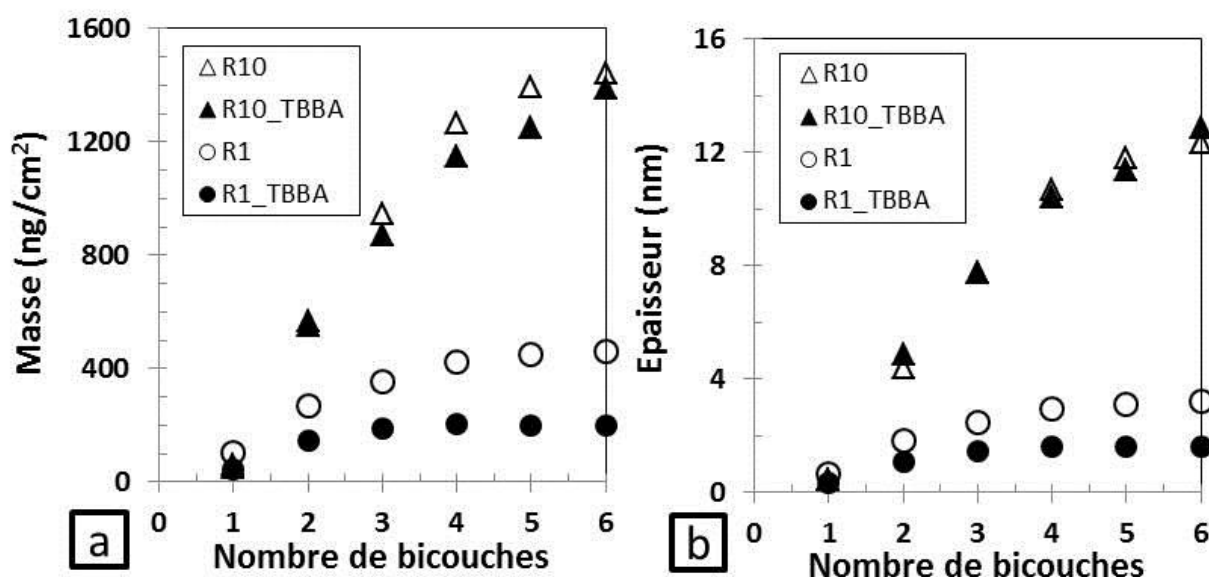


Figure 72: Evolution du gain de masse (a) et de l'épaisseur (b) en fonction du nombre de couches des assemblages de système R10 et R1 avec/sans incorporation de TBBA mesurés par OWLS dans $0,15\text{M NaCl}$ au pH naturel. $C_{\text{polyEPG-CD-10}}/A_{\text{polyCTR-CD}} = 4/4$ et $C_{\text{polyEPG-R1}}/A_{\text{polyCTR-CD}} = 10/1$ avec C et A en concentration massique de polycation et polyanion. Rapport molaire entre TBBA : CD = 1 : 2 pour la complexation.

III.3 Conclusion

Les assemblages multicouches sur SiTiO_2 ont été réalisés au pH naturel des solutions dans NaCl ($0,15\text{M}$) ; à savoir 3,5 pour le polyCTR-CD et 6,5 pour le polyEPG-CD, ce qui a permis d'obtenir le meilleur gain de poids. Le système R10 a permis d'obtenir un meilleur gain de masse que le système R1 grâce à la charge plus importante de polyEPG-CD-10 (2 mmol/g) ce qui est comparable à celle du polyCTR-CD (4 mmol/g). Le complexe de

TBBA/polyCD a inhibé la construction des assemblages par la diminution des interactions électrostatiques entre les deux polyélectrolytes.

IV Construction des multicouches sur textile

IV.1 Elaboration de la première couche thermofixée

En modulant la concentration de la solution d'imprégnation (CTR/catalyseur/ β CD = 10g/3g/10g ou 2,5g/0,75g/2,5g dans 100 mL d'eau), nous avons obtenu des textiles présentant un taux de greffage de 20%wt et 6% wt. Les supports seront nommés respectivement **PET20** et **PET6** par la suite. La CEI respective de ces textiles a été mesurée successivement à 0,65 et 0,15 mmol/g. La masse surfacique des textile vierge en PET étant de 65 g/m², on peut estimer qu'ils contiennent respectivement 5,3 μ mol et 1,0 μ mol de COO⁻/cm² (voir le calcul en annexe 7 par deux méthodes d'estimation). La méthode de dosage CEI est beaucoup plus fiable parce que les fonctions carboxyliques disponibles ont été dosées.

IV.2 Construction des multicouches sans principes actifs

IV.2.1 Dépôt de la première couche de polyEPG-CD auto-assemblée sur PET20

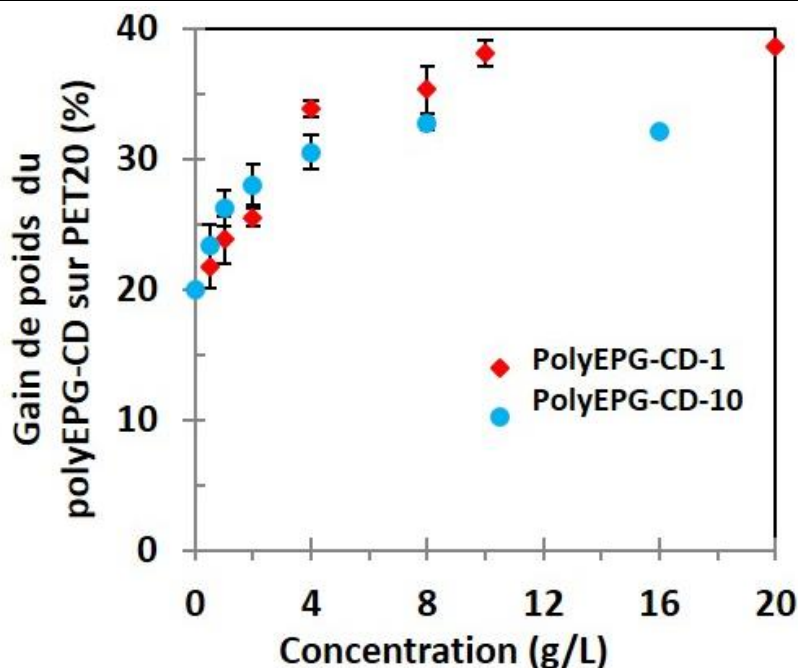


Figure 73: Gain de poids mesuré lors du dépôt de la couche cationique (polyEPG-CD-10 ou polyEPG-CD-1) sur PET20 en fonction de sa concentration (n=3).

Il s'agit de déterminer les concentrations idéales en polyEPG-CD (polyEPG-CD-10 (Q=2 mmol/g) ou polyEPG-CD-1 (Q=0,2 mmol/g)) à utiliser pour avoir une adsorption et un dépôt maximum au cours de la construction des assemblages. Les premiers essais ont été

réalisés en utilisant l'eau distillée comme milieu au pH naturel du polyEPG-CD, à savoir un pH = 6,5. Le PET20 a été utilisé comme support de départ. Les résultats sont présentés en figure 73. Une évolution croissance du gain de poids en fonction de la concentration en polyEPG-CD est observée, jusqu'à atteindre un plateau à 33% de gain de masse pour le polyEPG-CD-10 à concentration optimale de 8 g/L et un plateau à 37% de gain de masse pour le polyEPG-CD-1 à concentration optimale de 10 g/L (figure 73). Toutefois, on a choisi de travailler à la concentration de 4 g/L pour trouver le meilleur compromis et éviter la consommation trop importante de polyEPG-CD-10 puisque le gain de poids obtenu n'est pas proportionnel à la concentration utilisée.

Le gain de poids a augmenté de 10% en utilisant le polyEPG-CD-10 et de 17% en prenant le polyEPG-CD-1, ce qui est important.

IV.2.2 Influence de la composition du milieu de la construction des multicouches

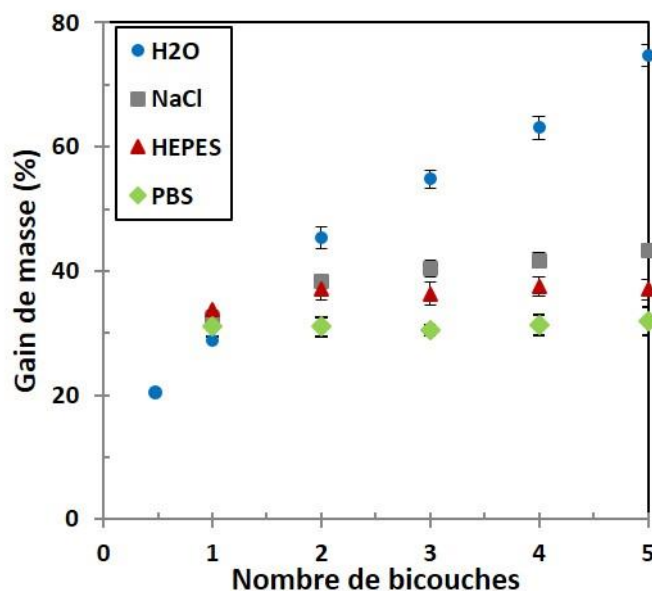


Figure 74 : Evolution du gain de masse en fonction du nombre de couches. La construction des assemblages pour le système R10 sur PET20 a été réalisée dans H₂O (pH naturel), 0,15M NaCl (pH naturel), 20 mM HEPES (pH=7,3) et 0,15M PBS (pH=7,4). La concentration des deux polymères à 4 g/L (n=3).

Nous avons ensuite cherché, comme dans l'étude par OWLS, à déterminer le milieu adéquat pour la construction de nos assemblages. La figure 74 montre l'évolution du gain de masse des assemblages multicouches construits dans 4 milieux différents (le système R10 sur PET20), à savoir : l'eau distillée (pH naturel des polymères), le NaCl 0,15 M (pH naturel des polymères), 20 mM HEPES (pH=7,3) et 0,15M PBS (pH=7,4). La faible augmentation du gain de poids des assemblages multicouches construits dans la solution de NaCl (0,15 M), dans le tampon HEPES (20 mM, pH = 7,3) et dans un tampon PBS (0,15 M mM, pH = 7,4) pour atteindre un gain de poids respectif de 45, 35 et 32% après 5 bicouches, suggère une

forte perturbation des systèmes dans ces milieux. A titre de comparaison, dans l'eau distillée, le gain de poids obtenu après 5 bicouches est de 75% soit 1,6 à 2,4 fois supérieures au gain de poids enregistré dans les 3 autres milieux. On peut estimer que le NaCl provoque un effet d'écrantage de charge qui inhibe les interactions électrostatiques entre les deux polyélectrolytes. De plus, la forte densité de charge du polymère cationique portant des groupements ammoniums quaternaires peut être considéré comme non dépendante du pH, au contraire du polymère anionique qui est un polyélectrolyte faible. Le pH naturel de solutions polyCTR-CD est égal à $3,5 \pm 0,1$ et à ce pH le degré d'ionisation des groupements carboxyliques n'est pas optimal (pK_{a1} du groupement carboxylique intermédiaire de l'acide citrique = 3,13). Cependant, la figure 74 montre que la construction des assemblages multicouches sur le textile est plus efficace dans le NaCl 0,15 M à un tel pH que dans le cas du tampon HEPES ou PBS où le degré d'ionisation de polyCTR-CD est supérieur à des pH respectifs de 7,3 et 7,4. Dans ce dernier cas, les interactions électrostatiques entre les groupements sulfonates de l'HEPES et les groupements ammoniums quaternaires du polyEPG-CD peuvent empêcher la formation du complexe de polyélectrolytes. Ceci a été montré précédemment en OWLS (voir III.1.1.2).

Le gain de poids des multicouches a été diminuée en présence du sel à cause d'un effet d'écrantage de charge qui inhibe les interactions électrostatiques entre les deux polyélectrolytes. Le milieu le plus favorable est la construction dans l'eau au pH naturel (pH=3,5 pour polyCTR-CD et pH=6,5 pour le polyEPG-CD-10).

IV.2.3 Construction du système R10 sur PET20

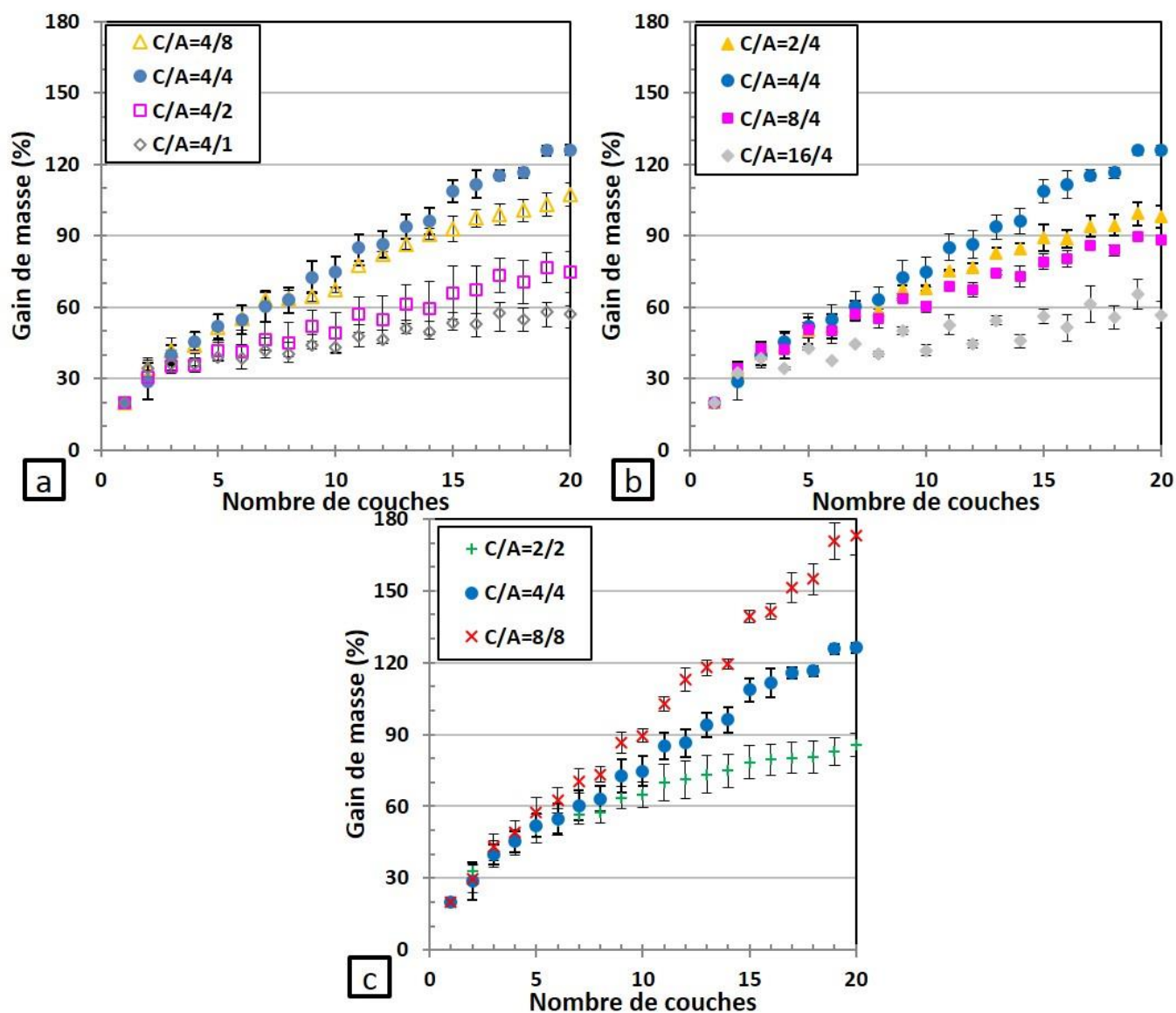


Figure 75: Pour le système R10 sur PET20, évolution du gain de masse sur le textile en fonction du nombre de couches (C/A avec C et A en concentration massique de polycation (polyEPG-CD-10) et polyanion (polyCTR-CD) dans l'eau distillée au pH naturel des polymères ($n=3$).

Nous avons ensuite cherché à déterminer les concentrations optimales du système polyCTR-CD ($Q = 4 \text{ mmol/g}$) / polyEPG-CD-10 ($Q = 2 \text{ mmol/g}$) afin de réaliser l'assemblage multicouches dans l'eau distillée au pH naturel ($\text{pH}=3,5$ pour polyCTR-CD et $\text{pH}=6,5$ pour le polyEPG-CD-10). La figure 75 présente l'évolution du gain de poids sur le support PET en fonction du nombre de couches en faisant varier le rapport de concentration massique des polymères cationiques (C en g/L) et anioniques (A en g/L) (figure 75a et 75b) en augmentant la concentration globale du polymère avec un rapport de concentration constant (figure 75c).

Le PET20 correspond à $0,7 \text{ mmol}$ de groupements carboxylates par gramme de textile (ou encore $6,5 \text{ } \mu\text{mol/cm}^2$ de textile). Le gain de masse après le dépôt de 10 bicouches auto-

assemblées est d'environ 107%, 126%, 75% et 57% pour les ratios de concentration massique $C/A = 4/8, 4/4, 4/2$ et $4/1$ (figure 75a). Le gain de masse après le dépôt de 10 bicouches auto-assemblées est d'environ 56%, 88%, 126% et 97% pour les ratios de concentration $C/A = 16/4, 8/4, 4/4$ et $2/4$ (figure 75b).

On peut constater que la condition la plus favorable correspond à une concentration massique des deux polymères fixée à 4 g/L (rapport de charge polycation/polyanion = 1/2). Dans ce cas précis, chaque bicouche déposée correspond à un gain de masse d'environ 10 %wt. En comparaison avec notre étude précédente (Martin et al., 2013b, Martin et al., 2013a) en utilisant le chitosane (5 g/L) comme polyélectrolyte positif et le polyCTR-CD (4 g/L) comme polyélectrolyte négatif, le gain de poids après 10 bicouches n'avait atteint que 50%.

Comme illustré sur la figure 75c, le gain de poids est également contrôlé en augmentant la concentration globale de polyélectrolytes fixée à 2/2, 4/4 et 8/8. Un gain de poids optimal de 173% est atteint après le dépôt de 10 bicouches avec les concentrations de deux polyélectrolytes fixées à 8 g/L, contre seulement 126% et de 85% à 4 g/L et 2 g/L, respectivement. Cette évolution n'est toutefois pas proportionnelle, ce qui semble indiquer une saturation du système.

Lors de la construction des multicouches, le gain de poids a été suivi en fixant la concentration de polyCTR-CD à 4 g/L et en faisant varier celle de polyEPG-CD-10 ou inversement. Il s'avère que la concentration massique à 4 g/L pour chacun des deux polyélectrolytes a conduit au meilleur compromis.

IV.2.4 Construction du système R1 sur PET20

Nous avons ensuite cherché à déterminer les concentrations optimales du système polyCTR-CD ($Q= 4$ mmol/g) / polyEPG-CD-1 ($Q= 0,2$ mmol/g) afin de réaliser l'assemblage multicouches. La figure 76 montre l'évolution du gain de poids en fonction du nombre de couches en faisant varier le rapport de concentration massique des polymères cationiques (C en g/L) et anioniques (A en g/L) dans l'eau distillée au pH naturel des polymères (pH=3,5 pour polyCTR-CD et pH=6,5 pour le polyEPG-CD-10) (figure 76a et 76b).

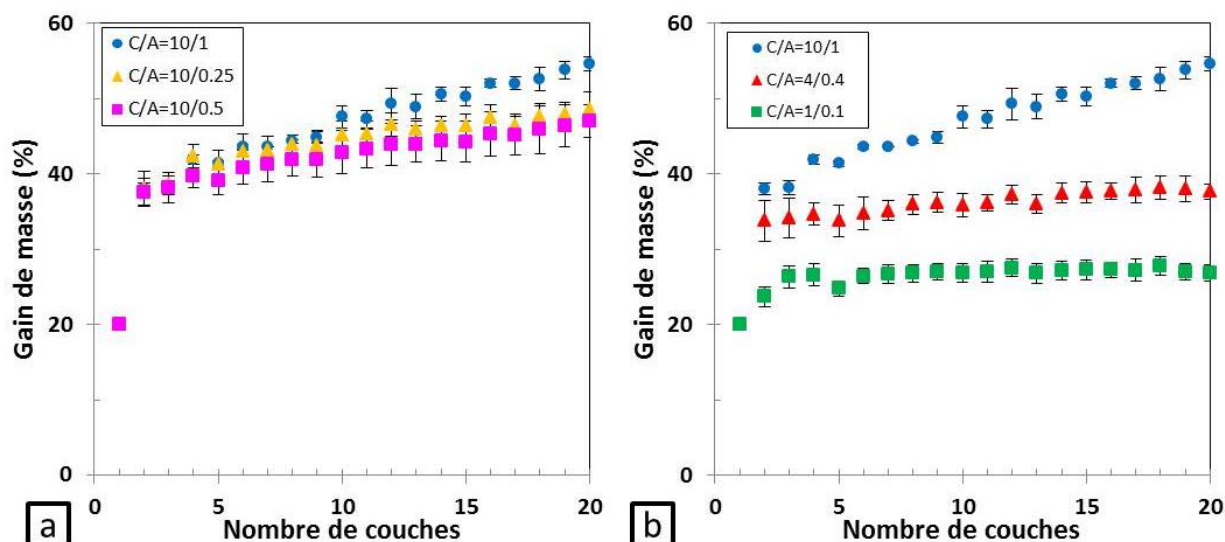


Figure 76 : Pour le système R1 sur PET20, évolution du gain de masse sur le textile en fonction du nombre de couches (C/A avec C et A en concentration massique de polycation (polyEPG-CD-1) et polyanion (polyCTR-CD) dans l'eau au pH naturel ($n=3$).

Le gain de masse après le dépôt de 10 bicouches auto-assemblées est d'environ 55%, 48% et 47% pour les ratios de concentration massique $C/A = 10/1$, $10/0,25$ et $10/0,5$ (figure 76a). La condition la plus favorable correspond à un rapport de concentration massique ($C/A=10/1$ avec le rapport de charge polycation/polyanion = $1/2$), ce qui correspond au même rapport de charge que celui du système R10 précédent. Enfin, en gardant le même rapport de charge et en diminuant ensuite la concentration des polymères (figure 76b), on observe que le système n'évolue plus après la troisième couche.

IV.3 Construction des multicouches chargées en principes actifs modèles

IV.3.1 Complexes TBBA sur PET6 et PET20

La concentration des polymères a été optimisée précédemment pour les systèmes R10 et R1 en partant du PET20. Dans cette partie, ces conditions optimisées seront appliquées pour construire des assemblages multicouches en partant du PET6.

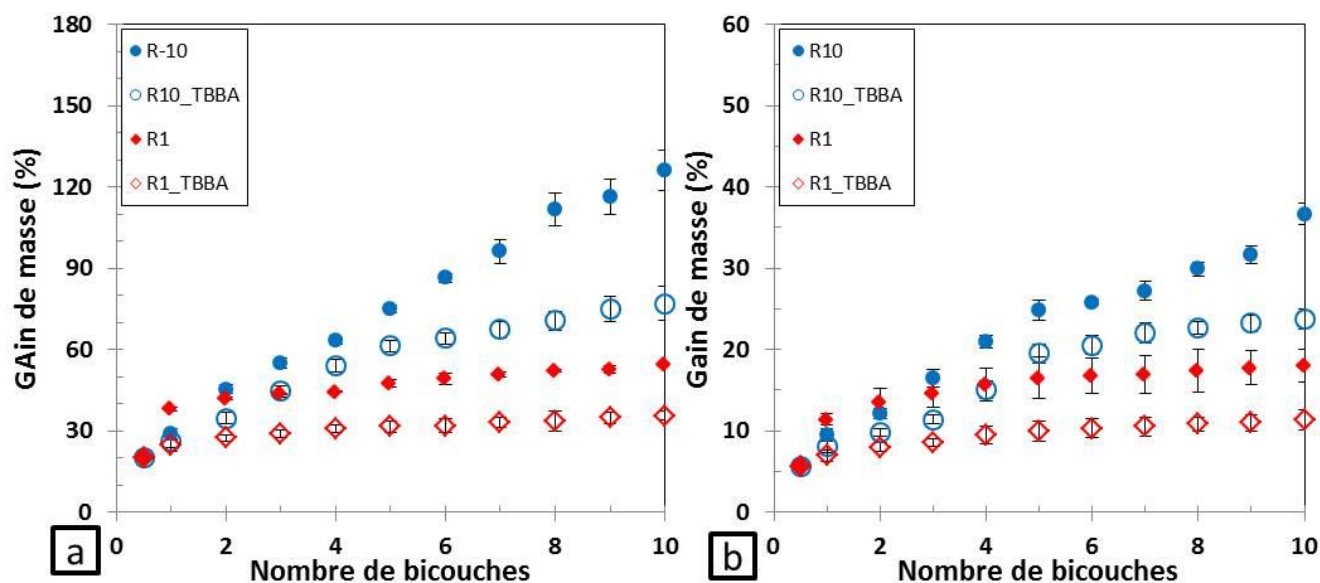


Figure 77: Evolution du gain de masse sur le textile en fonction du nombre de couches des assemblages construits entre polycation (polyEPG-CD-10 ou polyEPG-CD-1) et polyanion (polyCTR-CD) dans l'eau distillée au pH naturel des polymères en présence ou en absence de TBBA sur (a) PET 20 et (b) PET 6. Concentration de polymères utilisés $C_{\text{polyEPG-CD-10}}/A_{\text{polyCTR-CD}}=4/4$ and $C_{\text{polyEPG-CD-1}}/A_{\text{polyCTR-CD}}=10/1$ avec C et A en concentration de polycation et polyanion, Rapport molaire entre TBBA : $\beta\text{CD} = 1 : 2$ ($n=3$).

Les systèmes présentés ci-après ont été réalisés en incorporant le TBBA selon la voie B présentée dans les parties matérielles et méthodes en III.2.2. Les figures 77a et 77b présentent l'évolution du gain de masse (PET20 en figure 77a et PET6 en figure 77b) des systèmes R1 et R10.

Le gain de poids mesuré après 10 bicouches déposées est de 37% et 126% pour le système R10 sur PET6 et PET20 respectivement. Ces valeurs diminuent à 18 et 56% pour le système R1. Ces résultats mettent en évidence le fait que la construction des assemblages multicouches dépend à la fois de la densité initiale de groupements COOH sur le support mais également la densité de charge du polycation (sa teneur en ammonium quaternaire).

Pour le système R1-TBBA et R10-TBBA, le gain de masse après le dépôt de 10 bicouches sur PET20 est diminué de 126 à 77% pour le système R10 et de 56 à 36% pour le système R1 (figure 77a). La même situation est observée pour les assemblages à base du PET6, une chute du gain de masse de 37 à 24% pour le système R10 et de 18 à 11% pour le système R1. Cette perturbation est déjà expliquée dans la partie III.2 (étude en OWLS).

Ce résultat a été observé auparavant dans l'étude par OWLS. La construction de l'assemblage LbL est perturbée par le complexe de TBBA qui induit une diminution des interactions électrostatiques entre deux polyélectrolytes de CD.

IV.3.2 Complexes BN ou BM sur PET20

La construction LbL du système R10 sur PET20 avec les complexes : (1) polyCTR-CD/BM (2) polyCTR-CD/BM et polyEPG-R10/TBBA et (3) polyCTR-CD/BN et polyEPG-R10/BN pour démontrer la versatilité de nos assemblages multicouches en figure 78. Les molécules modelées (le bleu de méthylène (BM, molécule cationique) et le béta naphthol (BN, molécule non-ionique) ont été choisies.

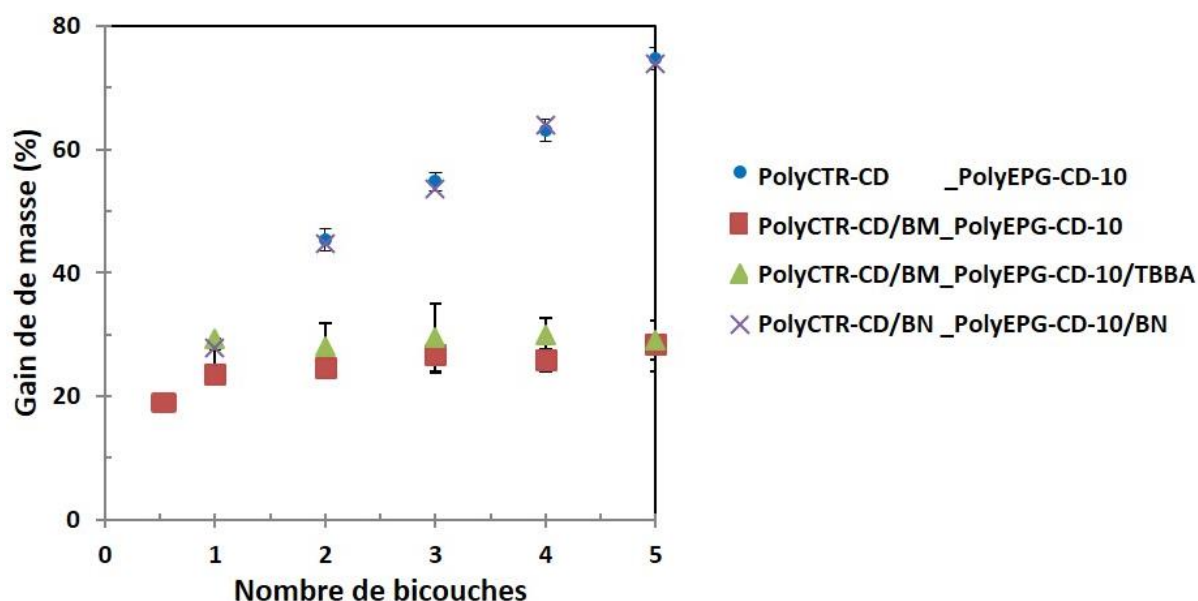


Figure 78 : Evolution du gain de masse en fonction du nombre de couches pour des assemblages construits dans H_2O (pH naturel) sans/avec différents principes actifs (BM, TBBA ou BN), le système R10 sur PET20 ($n=3$).

Les systèmes (1) et (2) ont montré une forte inhibition des assemblages LbL avec le complexe polyCTR-CD/BM. La charge du polyCTR-CD a été probablement écrantée avec le BM ce qui a empêché la construction des multicouches pour la couche suivante. En présence des deux molécules invitées ioniques, le BM a perturbé autant la construction que ne le faisait le TBBA précédemment. Par contre pour le système (3), aucune perturbation de l'élaboration lors que le BN a été complexé avec les deux polymères.

La construction des multicouches n'est pas favorisée lorsque la molécule invitée est ionique (-14% pour les complexes TBBA et -61% pour les complexes BM, réduction du gain de poids comparé aux assemblages sans principes actifs), contrairement à celle effectuée avec les complexes de la molécule non-ionique.

IV.4 Conclusion

Le gain de poids le plus élevé sur le textile a été obtenu en utilisant l'eau pure comme solvant pour les deux polymères à leur pH naturel (soit un pH=6,5 pour le polyEPG-CD et un pH=3,5 pour le polyCTR-CD). La présence des sels (NaCl, HEPS et PBS) a inhibé la construction des assemblages en provoquant l'effet d'écrantage de charges entre les deux polymères. Afin de stabiliser l'élaboration des assemblages sans principes actifs, la concentration massique des deux polyélectrolytes a été optimisée à 4 g/L pour le système R10 et la concentration des deux polyélectrolytes du système R1 a été choisi à 10 g/L (polyEPG-CD-1) et 1 g/L (polyCTR-CD). La construction des multicouches dépend à la fois de la densité de charge du PET thermofixé et du taux d'ammonium porté par le polycation. Pour la construction des multicouches directement chargées en TBBA par les complexes TBBA/polyCD, le gain de poids a diminué par rapport au système vide à cause d'une diminution des interactions électrostatiques entre les deux polymères. Ces complexations entre le TBBA et le polyCD ont été confirmées par RMN et ITC. La constante d'association très élevée entre le TBBA et le polyEPG-CD-10 ($26,6 \text{ kM}^{-1}$) pour le polyEPG-CD-10 montre clairement la contribution des interactions électrostatiques entre les groupements ammoniums du polymère et les groupements carboxyliques du TBBA dans la stabilisation du complexe d'inclusion.

V Etude de stabilité des assemblages multicouches

Traitement à 140°C ● 0 heure ● 2 heures ■ 8 heures ▲ 24 heures

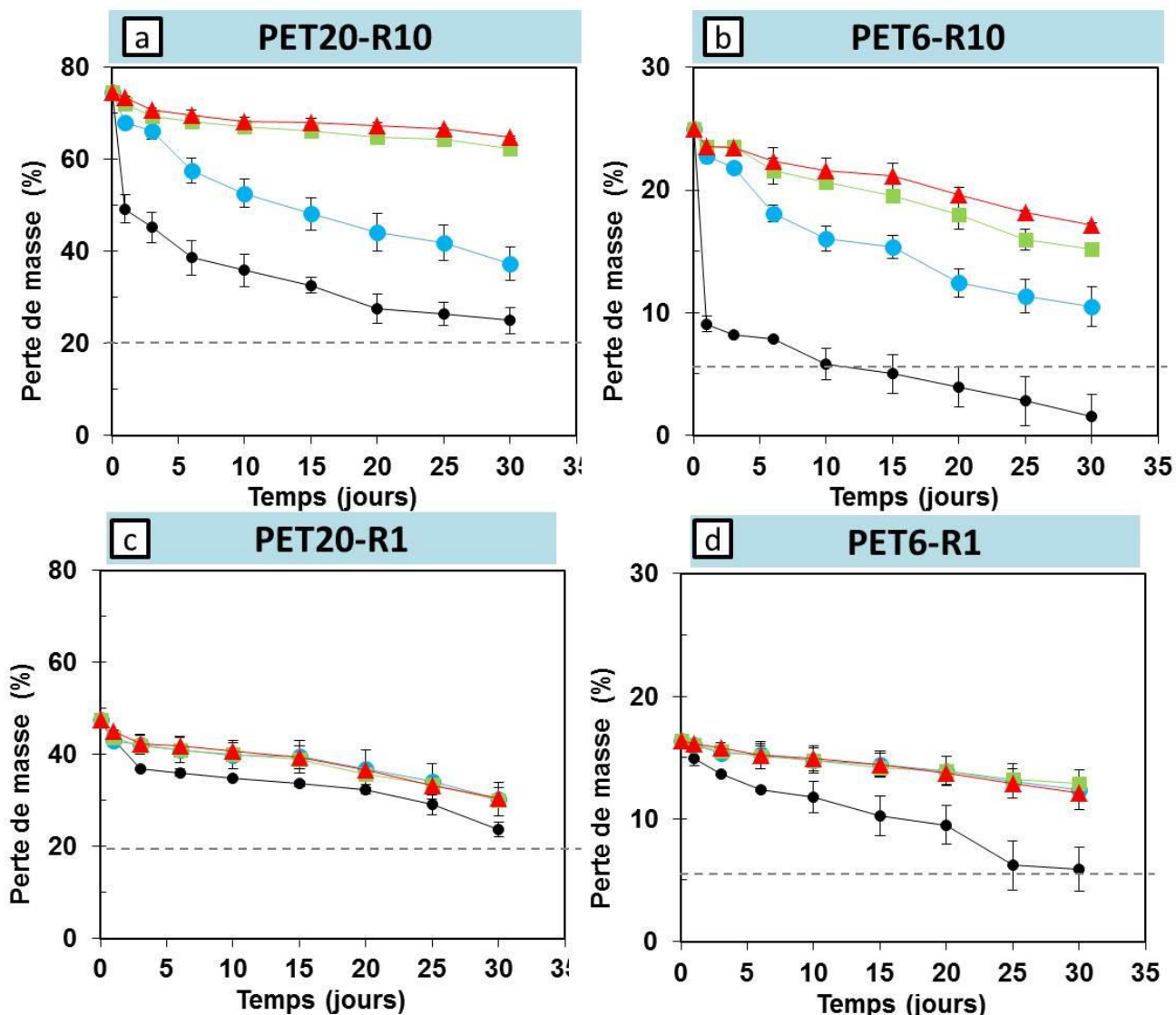


Figure 79: Profil de dégradation dans PBS (pH=7,4) à 37°C des assemblages multicouches (traités à 140°C les temps variables (0, 2, 8 et 24 heures) pour le système R10 sur (a) PET20 et (b) PET6, pour le système R1 sur (c) PET20 et (d) PET6. Les lignes pointillées permettant de distinguer la couche thermofixée et des assemblages totales (n=3).

Les assemblages multicouches ont une cohésion assurée par les interactions ioniques qui s'exercent entre les couches. Ils présentent une faible tenue au cours du temps en présence des stimuli externes (pH, force ionique ou température etc...). Pour stabiliser les multicouches, deux stratégies courantes ont été employées dans la littérature comme la réticulation chimique ou physique. L'utilisation des agents réticulants chimiques (glutaraldéhyde ou génipine) peut provoquer la toxicité des films multicouches. Au contraire, le traitement thermique a permis de créer de nouvelles liaisons covalentes conduisant à la

réticulation de l'assemblage LbL sans ajout de réactif toxique. C'est pourquoi il est préférable, quand ceci est possible d'effectuer un simple traitement thermique qui provoquerait la formation de nouvelles liaisons covalentes (esters ou amides). Ce dernier est la stratégie que nous avons adoptée en réalisant un recuit de nos échantillons à 140°C.

La figure 79 représente le profil de dégradation dans le PBS (pH = 7,4) à 37°C pour des échantillons multicouches (5 bicouches, construction dans l'eau au pH naturel à différentes concentrations) sans ou avec traitement thermique à 140°C. Avant dégradation, les échantillons multicouches construits à partir du PET20 présentent un gain de poids respectif de 75% et 48% pour le système R10 et le système R1 (figure 79a et 79b) tandis que dans le cas du PET6, le gain de poids est respectivement à 24 et 17% (figure 79c et 79d). Une fois plongé dans la solution tampon, les films multicouches sont rapidement dégradés, en particulier dans le cas du système R10. Tous les échantillons ont ensuite été recuits à 140 °C pendant 2, 8 et 24 heures.

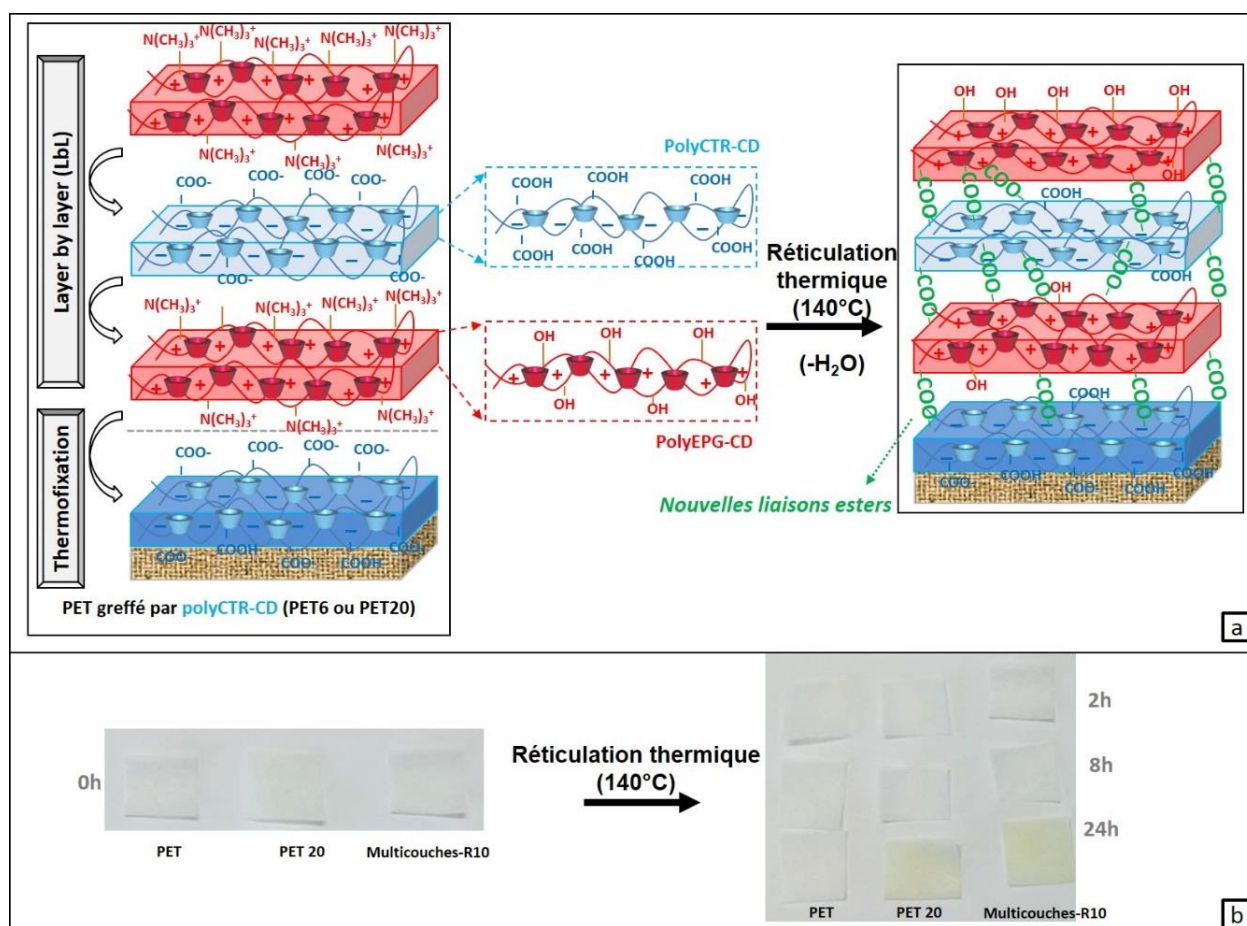


Figure 80 : Multicouches constituées de polyCTR-CD et polyEPG-CD avant/après traitement thermique avec (a) la structure proposée et (b) les imageries d'échantillons (les multicouches sont le système R10 sur PET20).

La perte de poids immédiate lors de l'immersion en PBS est complètement inhibée grâce au traitement thermique à 140°C. La perte du poids a été ralentie avec l'augmentation

du temps du recuit surtout avec le système R10, le traitement thermique pendant 8 heures était suffisant. Dans le cas du système R1, le recuit a permis de limiter la dégradation du LbL mais pas d'influence entre le temps du recuit.

Cet effet est expliqué par la formation des nouvelles liaisons esters qui créent des liaisons covalentes entre les couches cationiques et anioniques du film LbL (figure 80a), a jauni les échantillons ont été jauni après traitement thermique (figure80b). La stabilisation optimale des assemblages multicouches est remarquée après un post-traitement thermique pendant 8 heures à 140 °C ce qui assure la longévité du revêtement des assemblages riches en CD et elle devrait donc offrir des avantages sur leur capacité de libération prolongée de principes actifs.

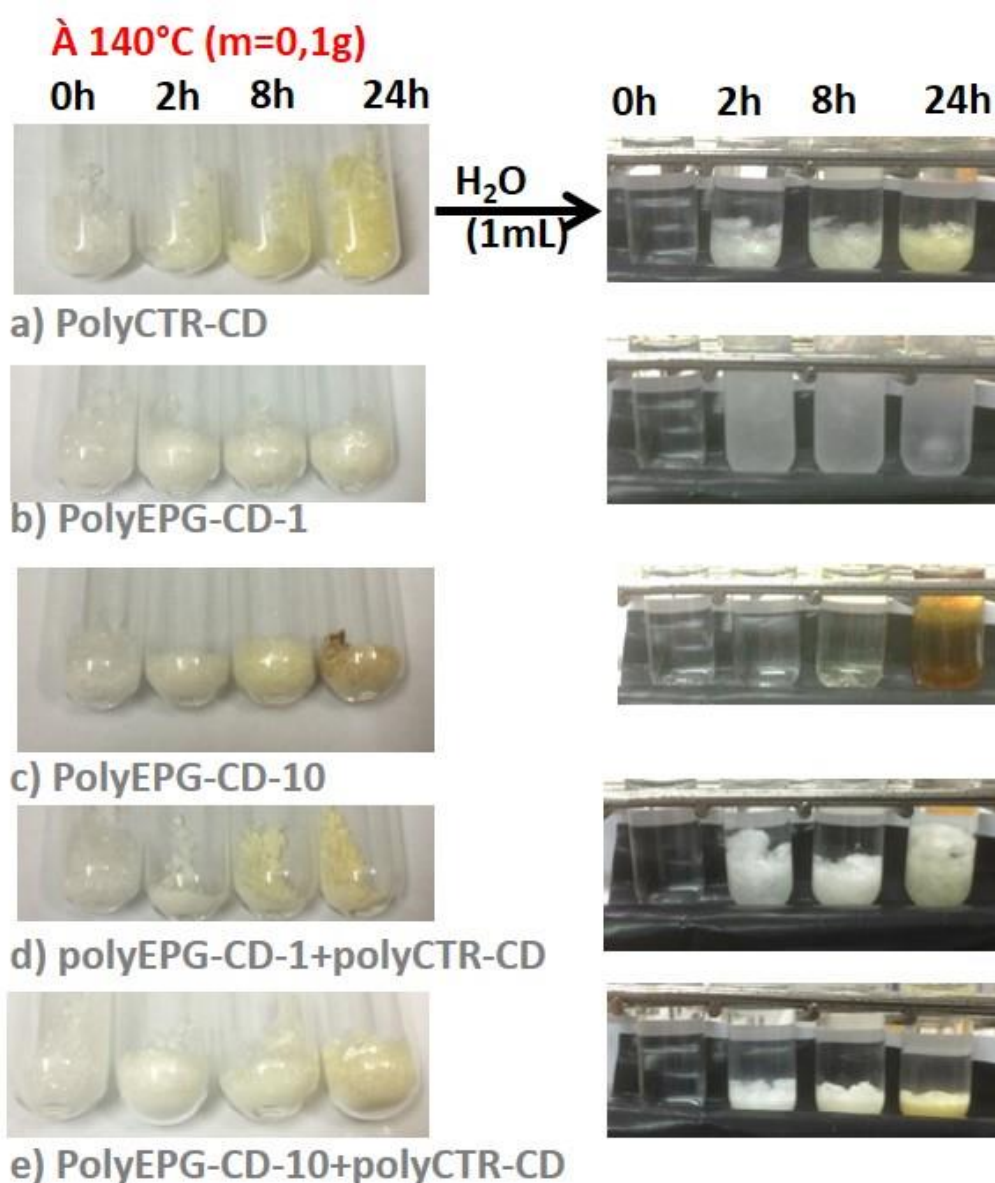


Figure 81 : Etude comparative entre différents polymères subissant le même traitement thermique à 140°C..

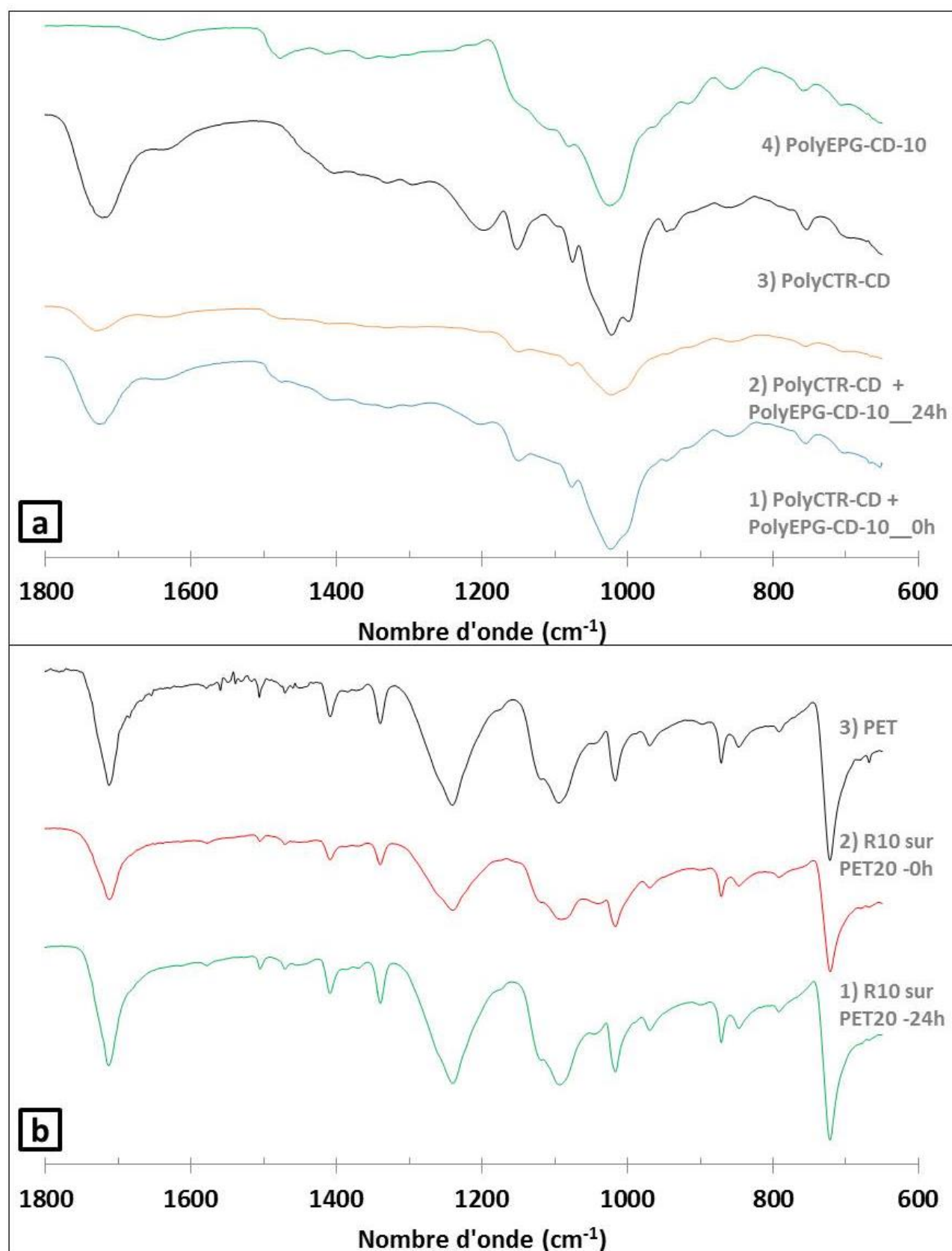


Figure 82: Spectre IR-ATR (a) Poudres des polymères (b) des échantillons textiles dans la zone 600-1800 cm^{-1} .

Pour mettre en évidence la réaction qui se produit lors du recuit, nous avons effectué la réticulation des polymères (initialement soluble) en poudre par traitement thermique à 140°C a été effectuée aux différents temps (0, 2, 8 et 24 heures). Des polymères et des mélanges de polymères ont été placés au four ventilé, puis 1 mL d'eau distillée a été ajoutée sur la poudre (100 mg) et la suspension a été filtrée sur membrane 0,45 µm. Le filtrat est séché à 90°C pendant une heure et enfin pesé pour calculer la fraction massique en insoluble.

Si une fraction insoluble est détectée, ceci confirme qu'il s'est produit une réaction de réticulation. La formation de la partie insoluble apparait quand ils sont mis à 140 °C pendant 2, 8 et 24 heures pour le polyCTR-CD, le polyEPG-CD-1, le mélange de polyCTR-CD+polyEPG-CD-1 et le mélange de polyCTR-CD+polyEPG-CD-10 excepté le polyEPG-CD-10 dont sa partie insoluble est visible seulement à 24 heures de recuit à 140°C.

La présence d'insolubles indique une réticulation des polymères (figure 81). Une technique d'ATG ne permet pas d'observer la différence d'allure des thermogrammes pour prouver la réticulation. Une étude de rhéologie en mode oscillation (rhéomètre Anton Parr) a également été testée pour mettre en évidence la réticulation mais les résultats ne sont pas interprétables dû à la complexité de comportement de chaque système.

Pour démontrer la création de nouvelles liaisons induites par le recuit, une étude par IR-ATR a été réalisée. Les spectres des polymères (le polyEPG-CD-10 sans recuit, le polyCTR-CD sans recuit, le mélange (entre le polyEPG-CD-10 et le polyCTR-CD) sans et avec recuit ainsi que les échantillons textiles (le PET, le système R10 sur PET20 sans et avec le traitement thermique) sont présentés dans la figure 82. On ne peut pas distinguer les bandes caractéristiques des fonctions esters vers 1700 cm⁻¹ existantes dans le PET et le polyCTR-CD et celles susceptibles d'être nouvellement formées lors du recuit à 140°C bien que le taux de greffage soit important (75%) pour les 10 couches déposées.

V.1 Conclusion

Les assemblages multicouches ont présenté une faible stabilité dans le PBS (visible surtout pour le système R10 sur PET20). Le recuit à 140°C a permis de prolonger sensiblement la présence des assemblages LbL sur le textile. Il s'est produit une réaction de réticulation entre les deux polymères par la formation de nouvelles liaisons esters. Toutefois, ceci n'ait pu être démontré par spectroscopie IR.

VI Etude de libération de TBBA

L'objectif de cette étude est de poursuivre et quantifier la libération de la molécule modèle incorporée dans les échantillons textiles. L'encapsulation de TBBA a été faite en deux voies (en figure 43).

- La « **voie simultanée ou voie B** » où le TBBA a été incorporé sous le complexe avec les deux polymères lors du procédé LbL. Le traitement thermique à 140°C a ensuite été appliqué.
- La « **voie à posteriori ou voie C** » où l'on a d'abord construit l'assemblage vide (sans ou avec recuit à 140°C) avant d'imprégner dans la solution de TBBA.

VI.1 Libération en mode statique (TBBA chargé par voie simultanée)

L'étude de la cinétique de libération de TBBA à partir des assemblages multicouches (5 bicouches) avec le traitement thermique à 140 ° C pendant 0, 2, 8 et 24 heures dans le PBS à 37 ° C est présentée dans la figure 83.

La quantité de TBBA libérée est estimée à partir des valeurs de plateau et rapportée dans la figure 84 : 5,6 ; 1,9 ; 1,2 et 0,8 mg de TBBA/g d'échantillon pour le système R10 sur PET20 et PET6 et le système R1 sur PET20 et PET6 respectivement. Ceci reflète la capacité d'adsorption maximale de TBBA car on a vérifié l'absence totale de TBBA résiduel sur les textiles après étude de cinétique. La quantité de TBBA incorporée est corrélée avec le gain de poids des assemblages multicouches construits avec le polyEPG-CD-10 ou le polyEPG-CD-1 (revoir figure 84).

La cinétique de libération de TBBA pour le système R10 sur PET20 (figure 83a) est ralentie lorsque le temps de réticulation augmente. Au bout de 6 heures de libération, la libération de TBBA est 40% pour la réticulation pendant 24 heures, 60% pour la réticulation pendant 8 et 2 heures et 80% sans réticulation. L'effet de recuit est significatif jusqu'à 3 jours, et toutes les courbes de libération affichent la même cinétique pour atteindre un plateau à 7 jours.

La libération de TBBA est prolongée durant les 3 premiers jours ce qui explique par la rétention de TBBA dans le réseau de polymère réticulé parce qu'il est devenu progressivement compact en fonction de la croissance du temps de réticulation. Le même comportement est observé pour le système R10 sur PET6 (figure 83b), mais la cinétique de libération a atteint le plateau à 6 heures seulement pour tous les échantillons.

Traitement à 140°C ● 0 heure ● 2 heures ■ 8 heures ▲ 24 heures

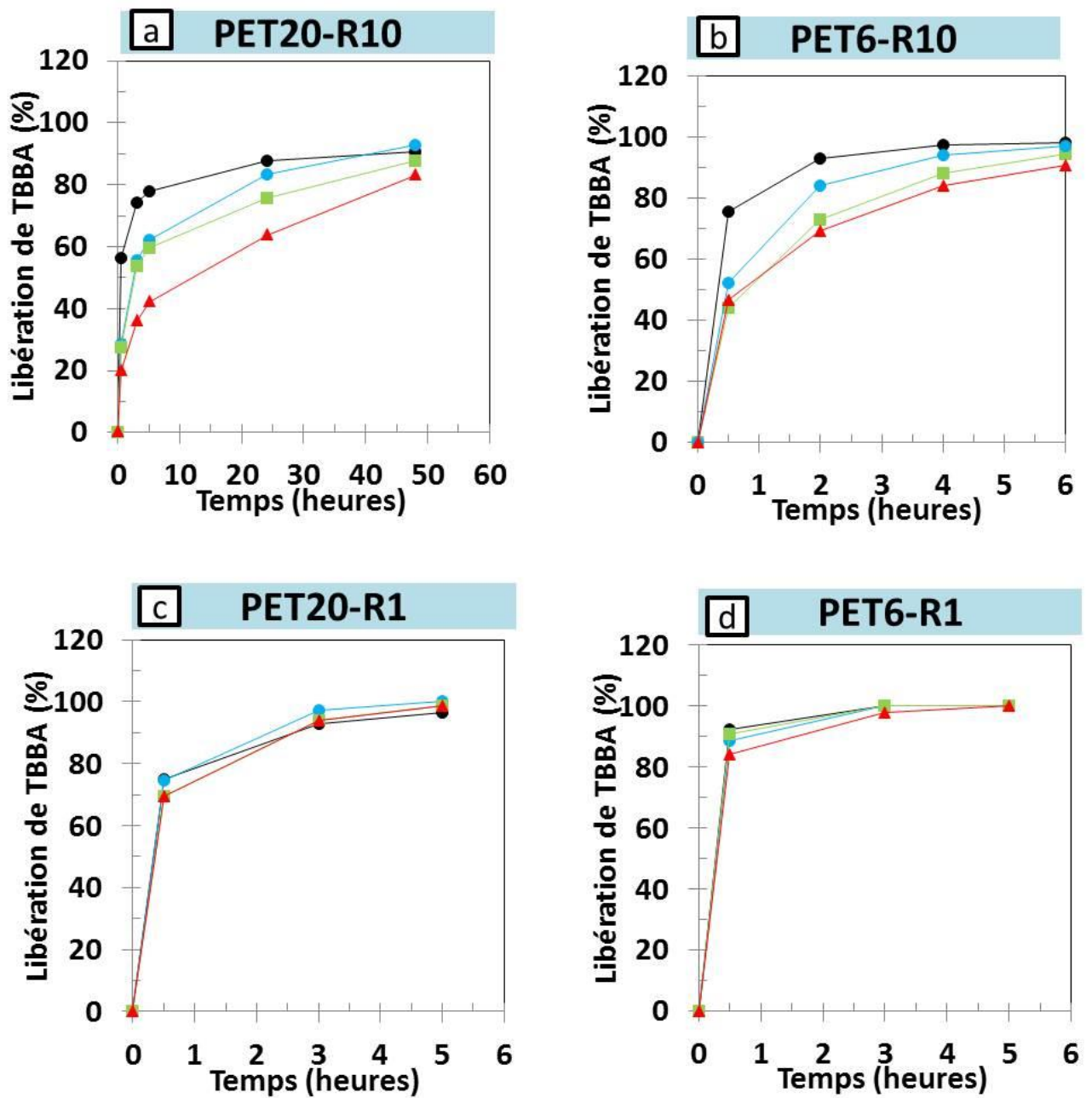


Figure 83: Cinétique de libération de TBBA dans PBS pour les assemblages (5 bicouches) du système R10 sur (a)PET20 et (b)PET6 et les assemblages du système R1 sur (a)PET20 et (b)PET6 (n=3).

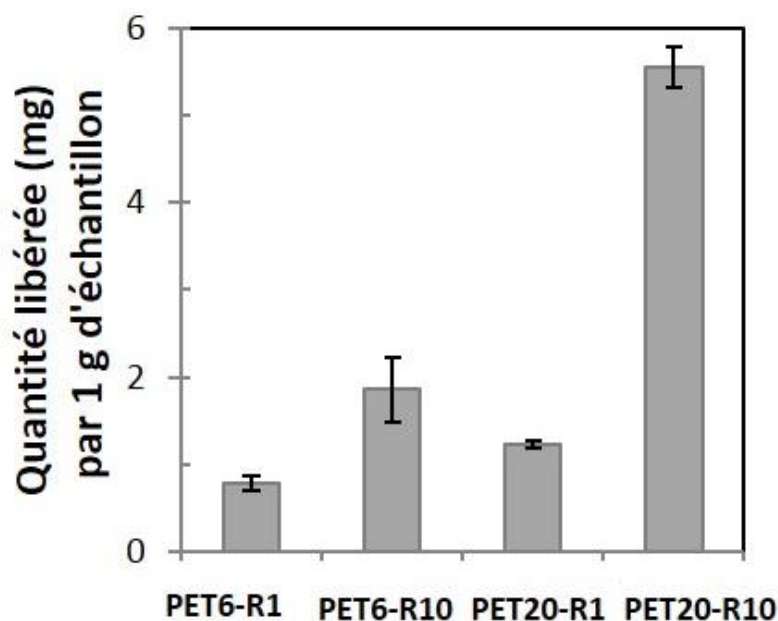


Figure 84 : La quantité totale de TBBA libérée par chaque système en batch dans PBS pour les assemblages (5 bicouches), chargement du TBBA par voie simultanée (voie B) (n=3).

Un tel effet de libération prolongée peut être attribué à la réticulation du réseau des assemblages qui provoque une réduction de la diffusion de TBBA à travers cette matrice densifiée vers le surnageant. En comparant finalement le temps de dégradation des assemblages multicouches (section précédente) avec le temps de libération du TBBA, on peut observer que les deux phénomènes ne se produisent pas sur la même échelle de temps et sont indépendants. En effet, la libération de TBBA est prolongée jusqu'à trois jours dans le meilleur des cas alors que la dégradation des films multicouches se produit à travers une période plus longue de 30 jours. La libération du TBBA est en mode de diffusion.

Donc, la libération de TBBA est également contrôlée par la nature du polyEPG-CD, la couche thermofixée de polyCTR-CD et le processus de traitement thermique à 140°C.

VI.2 Libération en mode statique (TBBA chargé par voie à posteriori)

L'étude de la cinétique de libération de TBBA à partir des assemblages multicouches (5 bicouches) dans le PBS à 37 ° C est présentée dans la figure 85a. Le TBBA est chargé par voie B ou voie C, les échantillons obtenus dans la voie C ont été soumis ou non au traitement thermique à 140°C pendant 2 heures.

La quantité de TBBA libérée est estimée à partir des valeurs de plateau et rapportée dans la figure 85b : 5,6 et 7,6 mg mg de TBBA/g d'échantillon pour la voie B (**voie à simultanée**) et C (**voie à posteriori**) respectivement. La quantité de TBBA incorporée est

corrélée avec le gain de poids des assemblages (61% et 75% pour la voie B et C respectivement).

Pour la voie C, le traitement thermique à 140°C pendant 2 heures des assemblages vides avant l'incorporation du TBBA a permis de ralentir légèrement la cinétique de libération du TBBA.

La cinétique de libération du TBBA par voie C semble un peu lente par rapport à celle de la voie B.

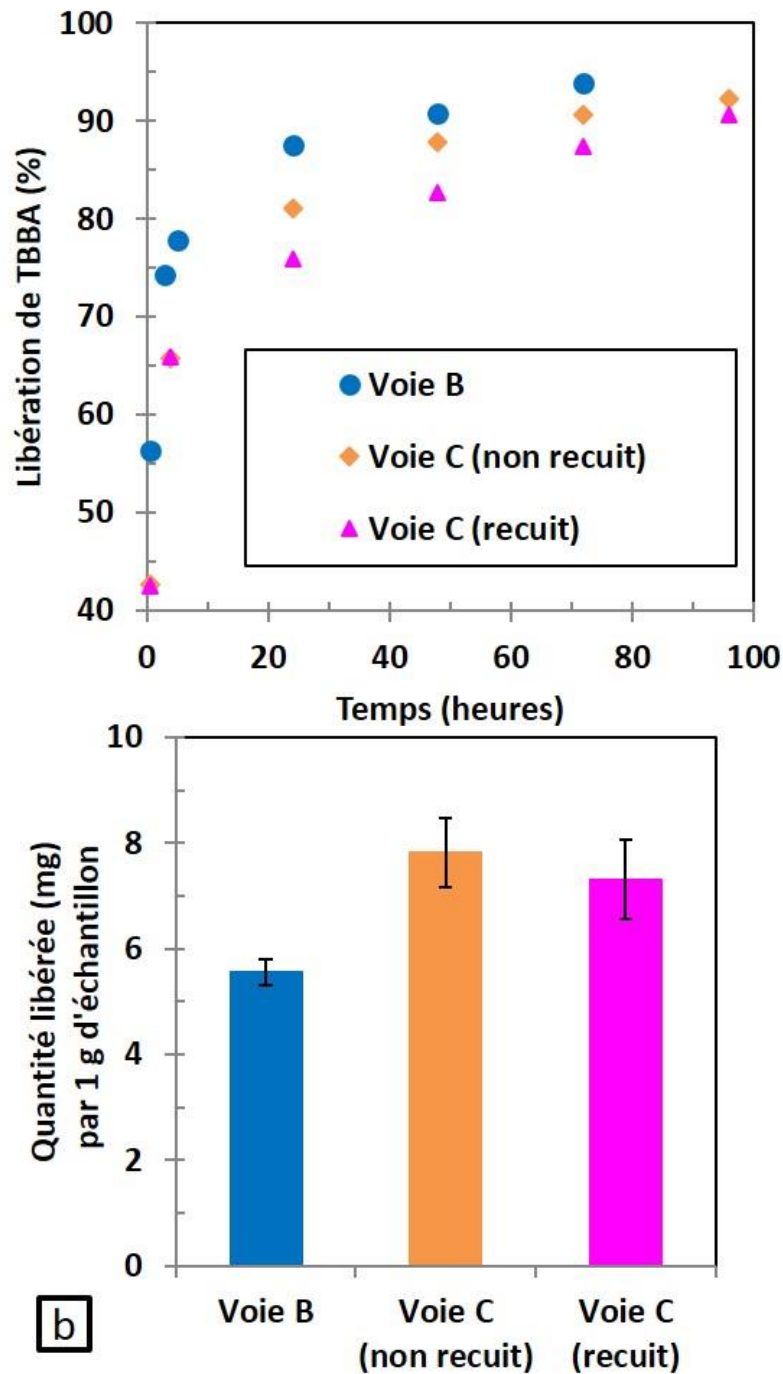


Figure 85 : La quantité totale de TBBA libérée par chaque système en batch dans PBS pour les assemblages (5 bicouches, chargement du TBBA par voie simultanée (voie B) ou voie à posteriori (voie C) (n=3).

VI.3 Libération en mode dynamique (TBBA chargé par voie simultanée)

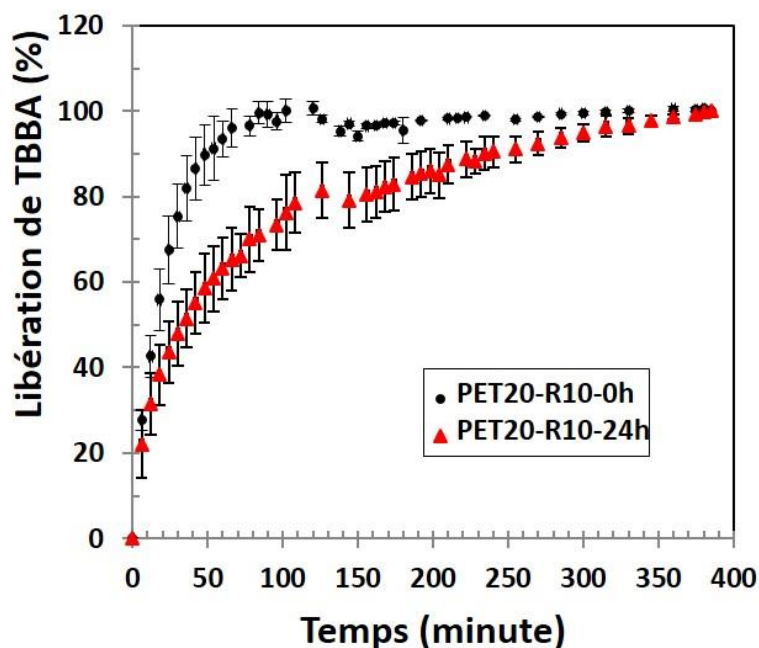


Figure 86: Profil de libération de TBBA en mode continu pour le système R10 sur PET20 sans et avec le traitement thermique à 140°C, chargement du TBBA par voie simultanée (voie B) (n=3).

L'incorporation de TBBA sur le système R10 sur PET20 est choisie pour évaluer la libération en mode continu en utilisant l'appareillage automatisé USP4 Sotax®. La libération de TBBA avec le traitement thermique à 140°C pendant 24 heures est vraiment ralentie comparée au système sans traitement thermique, 80% de libération de TBBA est diffusée au bout de 34 min et 126 min pour le système sans et avec le recuit à 140°C respectivement (figure 86). On peut remarquer que la libération en mode continu (dynamique, 400 minutes) est plus rapide qu'en mode statique (batch, 7 jours) parce que l'échange entre le TBBA et le milieu est très importante en mode continu avec un débit de 50 mL/min comparé au mode batch.

VI.4 Conclusion

La voie à posteriori a permis d'incorporer le TBBA dans l'assemblage LbL plus que la voie simultanée grâce à son gain de poids plus important. La libération de TBBA a été ralentie en fonction du temps de la réticulation thermique à 140°C surtout pour le système R10 sur PET6 ou PET20 parce que le TBBA a été davantage retenu dans le réseau de polymère réticulé. La libération de TBBA en mode dynamique est plus rapide qu'en mode statique à cause du flux important en mode dynamique avec le débit de 50 mL/min qui favorise la désorption.

VII Caractérisation des assemblages multicouches

VII.1 MEB (Microscopie électronique à balayage)

Comme observé sur la figure 87a, on peut observer la porosité du textile PET vierge qui apparaît comme une structure tridimensionnelle à cette échelle d'agrandissement (épaisseur = 0,24 mm). Après le dépôt de 10 couches (figure 87b), les assemblages multicouches produisent tout d'abord par enrobage des fibres textiles et un comblement progressif des espaces vides entre les fibres de la structure tridimensionnelle, jusqu'à la couverture globale de la structure textile après le dépôt de 20 couches auto-assemblées (figure 87c). Cette évolution à partir d'une structure poreuse avec l'augmentation du nombre de couches a déjà été rapporté dans les travaux précédents impliquant le dépôt multicouche de chitosane/polyCTR-CD (Martin et al., 2013a).

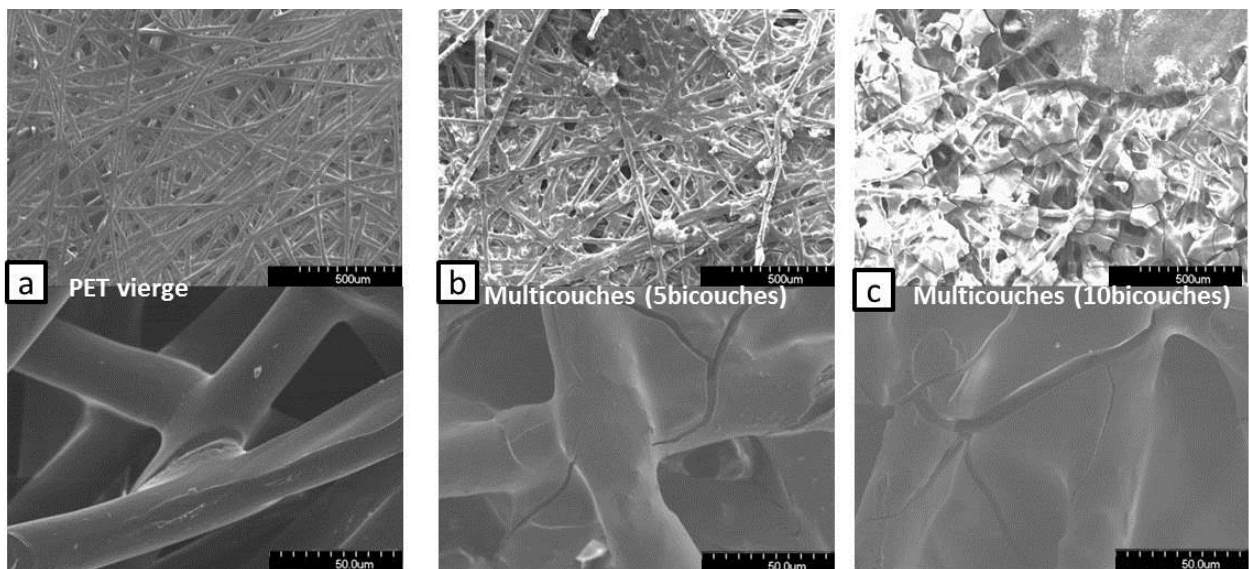


Figure 87 : Images MEB de (a) PET vierge, le système R10 sur PET20 (concentration massique égale à 4 g/L au pH naturel dans l'eau) pour (b) 5 bicouches et (c) 10 bicouches.

VII.2 Analyses thermogravimétriques des textiles

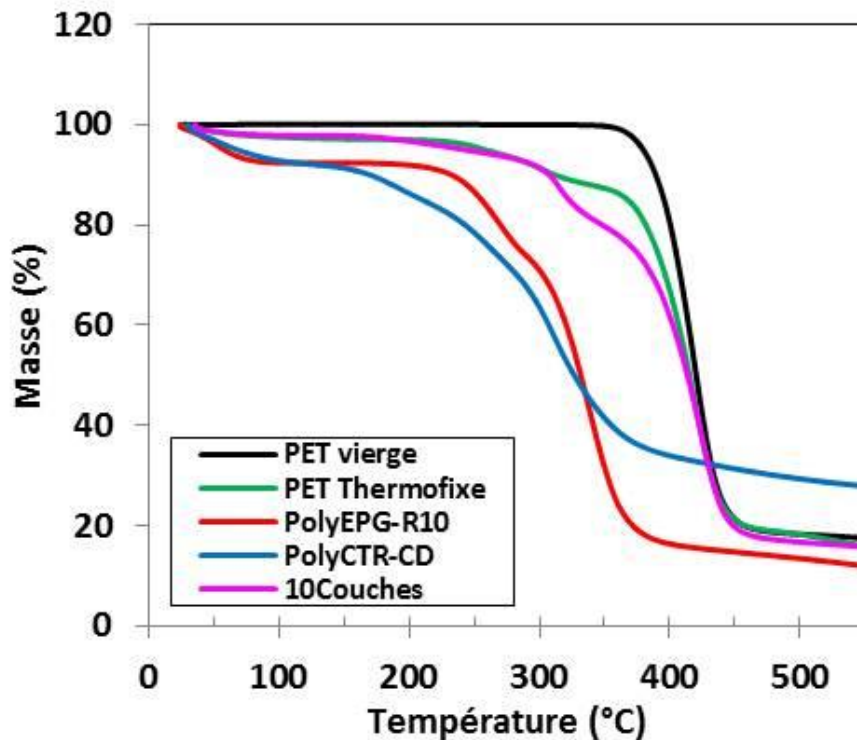


Figure 88 : Thermogrammes d'ATG des échantillons : PET vierge, PET20, polyEPG-CD-10, polyCTR-CD et les assemblages multicouches du système R10 sur PET20 (5 bicouches, construits dans l'eau au pH naturel).

La figure 88 relève les thermogrammes des deux polyélectrolytes (polyEPG-CD-10 et polyCTR-CD), du PET, du PET20 et les assemblages multicouches du système R10 sur PET20 (5 bicouches). La dégradation commence à 350°C pour PET, 250°C pour polyEPG-CD-10 et 190°C pour polyCTR-CD. Le PET20 débute la décomposition thermique à partir de 235°C avec un seul saut tandis que les multicouches du système R10 sur PET20 subissent la dégradation à partir de 190°C avec deux sauts à cause de la présence de deux types de polyélectrolytes.

VII.3 Cartographie des assemblages par spectroscopie RAMAN

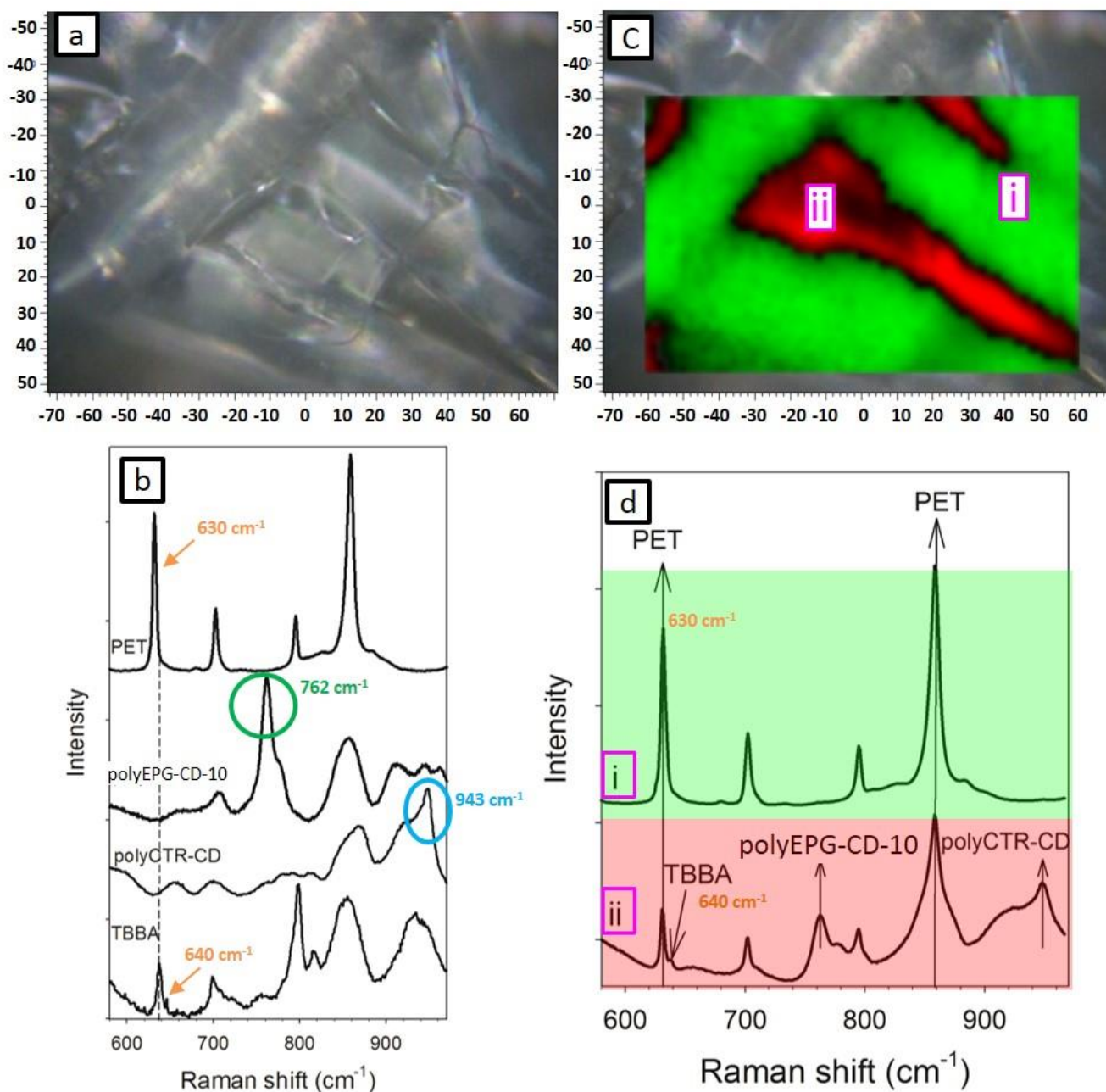


Figure 89: Analyse microstructural des films multicouches par micro-spectroscopie Raman: (a) image optique de films (10 bicouches) (b) spectres Raman de composants purs de films multicouches correspondant à, partit du bas vers le haut: TBBA amorphe lyophilisé, polyCTR-CD, polyEPG-CD-10 et PET; compte tenu de la forte intensité du spectre Raman du PET, il a été divisé par 4 pour une meilleure clarté (c) 120 x 80 μm² d'image calculée par la méthode DCLS en utilisant des spectres de PET et polyCTR-CD (d) Les spectres de Raman recueillis dans les régions typique verts (i), et dans les régions rouges (ii).

La surface (120×80 μm²) des films multicouches (le système R10 sur PET20 avec 20 couches incorporées avec le TBBA) présentée dans la figure 86a est scannée point par point en gardant le spectrographe fixé à 770 cm⁻¹. Les spectres Raman des composants purs sont précédemment collectés dans les mêmes conditions et sont tracés sur la figure 86b. Dans la région 570 – 970 cm⁻¹, le spectre Raman de PET est dominé par deux bandes intenses de

vibration situées autour de 630 cm^{-1} et 860 cm^{-1} en relation avec le cycle aromatique, qui donne une contribution importante à tous les spectres. Le polyEPG-CD-10 et le polyCTR-CD peuvent être identifiés respectivement par des bandes Raman autour de 762 et 943 cm^{-1} tandis que le TBBA possède une signature à 640 cm^{-1} , dans l'épaule à haute fréquence de bande vers 630 cm^{-1} en textile PET vierge.

Toutefois, les 2379 spectres enregistrés pendant la procédure de cartographie sont analysés par la méthode DCLS (direct classical least-squares) en utilisant l'ensemble de spectres de composants purs recueillis à la gamme $570 - 970\text{ cm}^{-1}$, tracés sur la figure 86b. Les spectres Raman analysés sont collectés pendant la procédure de cartographie. La méthode DCLS est appliquée 3 fois séparément pour trouver la combinaison linéaire des spectres de PET et de l'un des 3 autres composants purs tracés dans la figure 86b, qui correspond le mieux aux spectres Raman recueillis au cours de la cartographie. Les trois calculs donnent trois images Raman similaires à celui présenté à la figure 86c, obtenue en sélectionnant chaque spectre dans les 2379 spectres recueillis au cours de la cartographie par une combinaison linéaire des spectres de PET et polyCTR-CD.

Ceci est la démonstration que le TBBA, le polyCTR-CD et le polyEPG-CD-10 sont systématiquement détectés ensemble, probablement en raison des interactions moléculaires entre le TBBA et les deux espèces polymères (polyCTR-CD, polyEPG-CD-10). L'image Raman sur la figure 86c est principalement composée de deux régions, visibles sur les spectres Raman tracée sur la figure 86d. La région (i) est caractérisée par spectre Raman très semblable à celui du PET tracée sur la figure 86b tandis que le spectre pris dans la région (ii) est principalement composé de signatures de Raman du polyCTR-CD et du polyEPG-CD-10. Le TBBA est détecté par l'intermédiaire de l'épaule subtil mais clairement identifié observé dans le côté haute fréquence de la bande 630 cm^{-1} du PET. Il est à noter en comparant les images optiques (figures 86a et 86c) que cette région (ii) est située autour des fibres de PET visibles. Cela peut être interprété par la présence de TBBA à l'intérieur de la gaine constitué de deux types de polymères autour des fibres plutôt que sur les fibres de PET, ou par la forte intensité de bandes Raman en PET qui empêche la détection de TBBA et des deux polymères lorsque l'analyse porte directement sur les fibres de PET.

VII.4 Analyse de vapeur dynamique de sorption d'eau (DVS)

La capacité d'adsorption de l'eau des échantillons textiles (textile PET, PET20 et multicouches du système R10 sur PET20 traitées ou non avec le recuit à 140°C pendant 8 heures) est déterminée par DVS à 25°C.

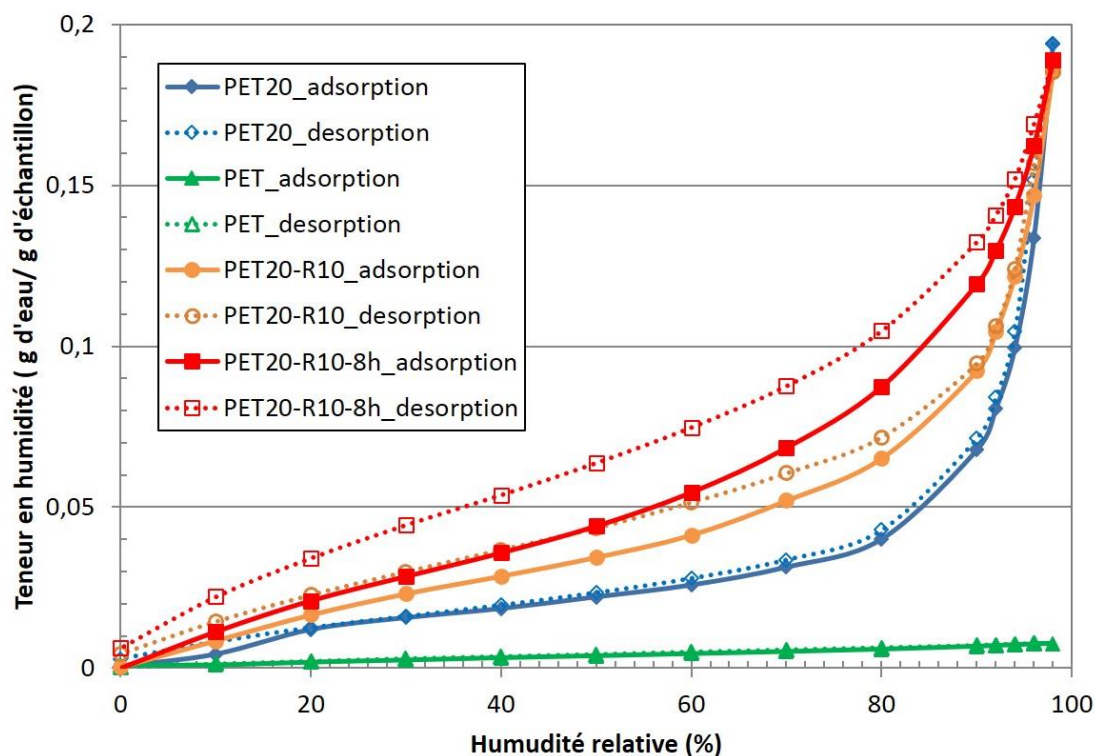


Figure 90: Isotherme DVS des échantillons textiles

On remarque tout d'abord que les courbes de désorption sont toujours situées au-dessus des courbes de sorption, avec une hystérésis relativement faible. Le textile PET seul n'adsorbe quasiment pas d'eau quelle que soit l'humidité relative (RH), ce qui confirme le caractère hydrophobe du PET. Ensuite, la capacité d'adsorption d'eau varie de façon linéaire jusqu'à 80%RH avant de changer le profil en croissance exponentielle jusqu'à 98%RH pour les textiles (PET20 et les multicouches). A 80%RH, le PET20 montre une teneur en humidité d'environ 0,04 g d'eau/g d'échantillon, ce qui est inférieur aux systèmes multicouches (0,07 et 0,09 g d'eau/g d'échantillon pour le système sans et avec le recuit à 140°C respectivement). Les trois échantillons ont atteint une teneur en humidité de 0,19 g d'eau/g d'échantillon pour 98%RH contre seulement 0,008 g d'eau/g d'échantillon pour le PET. Pour les systèmes multicouches, il est surprenant que l'échantillon traité thermiquement adsorbe plus d'eau que celui non traité, parce que l'hydrophobie est censée augmenter par réticulation thermique en raison du remplacement partiel des groupements hydroxyles et carboxyliques par les

nouvelles fonctions esters. Malheureusement, nous n'avons pas trouvé d'étude comparable dans la littérature.

VIII Etude de biologie *in vitro*

VIII.1 Cytocompatibilité des polymères cationiques (polyEPG-CD) par méthode d'extraction

Des solutions de polymères cationiques de polyEPG-CD-X de degrés de substitution variables ($x = 0, 1, 5$ et 10) de concentration croissante de polymère (0 à 2 mg/mL) sont ajoutés sur les cellules épithéliales L132. La figure 91 représente la viabilité des cellules L132 en fonction de la concentration de polymère après 24 heures d'incubation par **méthode d'extraction**. La viabilité cellulaire diminue nettement avec l'augmentation de la concentration en polyEPG-CD-10 et polyEPG-CD-5. En effet, la viabilité des cellules chute à 32% dans le cas de polyEPG-CD-5 et à 6% dans le cas de polyEPG-CD-10 pour une concentration de 0,5 mg/mL. En revanche, le polyEP-CD et polyEPG-CD-1 ne montrent pas d'effet cytotoxique jusqu'à 2 mg/mL (93% et 80% des cellules survivent respectivement). La viabilité des cellules diminue avec l'augmentation du taux de GTMAC greffé sur le polymère, ce résultat est en accord avec une étude précédente menée par (Uppanan et al., 2011) pour la cationisation de la chitine.

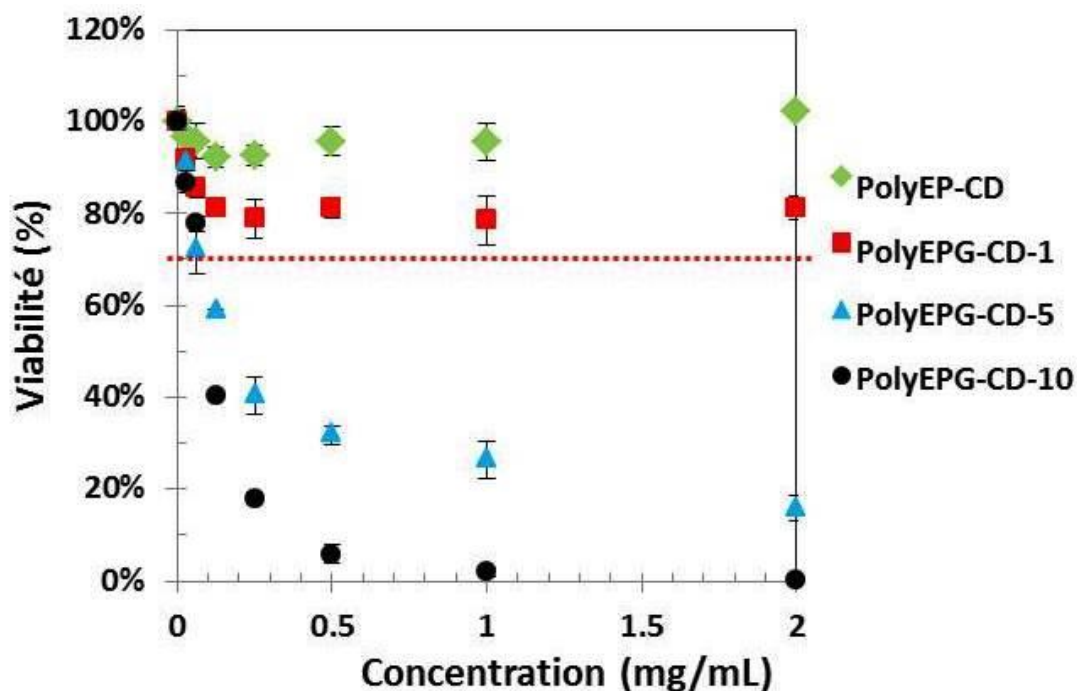


Figure 91: La viabilité des cellules L132 avec différentes concentrations de polyEP-CD, polyEPG-CD-1, polyEPG-CD-5 et polyEPG-CD-10, déterminée par méthode d'extraction après 24 heures d'incubation ($n=6$).

VIII.2 Cytocompatibilité des assemblages multicouches par méthode d'extraction

La viabilité des cellules L132 après 24 heures d'incubation a également été déterminée sur les assemblages multicouches par **méthode d'extraction** afin d'évaluer leur cytotocompatibilité. La figure 92 montre une excellente cytotocompatibilité de PET (100%) et du PET6 (99%) par rapport au témoin (TCPS). En revanche, une diminution (tout à fait acceptable) de la viabilité cellulaire est observée avec le PET20 (82%) en raison de la quantité très importante de polyCTR-CD comme déjà observé par notre groupe (Blanchemain et al., 2008). Lorsque les assemblages multicouches sont appliqués sur le PET20 ($5,3 \mu\text{mol COO}^-/\text{cm}^2$) et PET6 ($1,0 \mu\text{mol COO}^-/\text{cm}^2$), la viabilité cellulaire est de 64% et 70% pour le système R10 et de 80% et 90% pour le système R1 respectivement. Cette différence est probablement due à l'effet cytotoxique du PolyEPG-CD-10 observée dans le test précédent. Ce dernier diffuse en petite quantité dans le milieu de culture pendant la durée du test et provoque la diminution de la viabilité cellulaire dans une proportion tolérable (ou légèrement $< 70\%$ en figure 92).

Néanmoins, un traitement thermique à 140°C pendant 8 heures améliore sensiblement la viabilité cellulaire qui passe de 64% à 88% pour le système R10 sur PET20 et de 71% à 91% pour le système R10 sur PET6. Le traitement thermique permet de stabiliser les assemblages multicouches selon la réaction d'estérification entre le polyEPG-CD et le polyCTR-CD. La réticulation des assemblages multicouches limite la diffusion des polymères dans le milieu de culture et donc améliore la cytotocompatibilité. Le polyEPG-CD-10 est cytotoxique en solution mais ne l'est plus lorsqu'il est incorporé dans un assemblage LbL qui a été réticulé thermiquement à 140°C .

La même tendance est observée avec le système R1 sur PET6 et PET20 déjà élevée sans traitement thermique ; ainsi la viabilité cellulaire augmente de 89 à 95% et 84 à 93% respectivement. L'impact de la réaction de réticulation sur la viabilité de la cellule est moins visible dans ce cas parce que le PolyEPG-CD-1 est moins cytotoxique que le PolyEPG-CD-10.

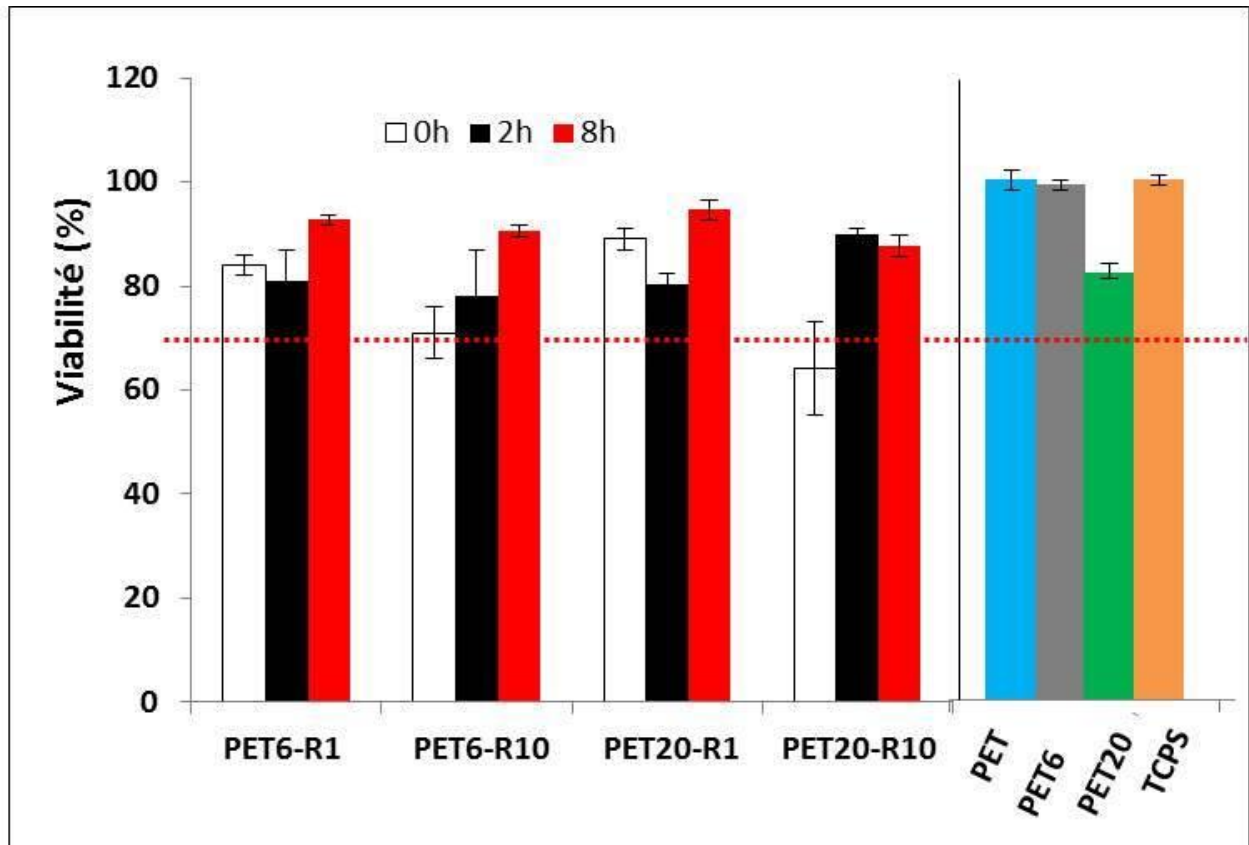


Figure 92 : La viabilité cellulaire L132 sur des échantillons traités (10 couches) par réticulation thermique à 140 ° C pendant 0, 2 et 8 heures pour le système R10 et R1 sur PET20 et PET6, déterminé par méthode d'extraction après 24 heures d'incubation (n=6).

VIII.3 Conclusion

L'étude de viabilité des cellules L132 par méthode d'extraction sur le polymère cationique de charge comprise entre 0 et 2,5 mmol/g en solution a montré que seul le polyEPG-CD-1 ne présente pas de cytotoxicité (faible taux d'ammonium). En revanche, la viabilité des cellules L132 mesurée en présence des textiles modifiés est restée optimale, y compris le polymère cationique à fort taux ammonium (système R10). Le polyEPG-CD-10 ne présente donc pas de toxicité lorsqu'il est incorporé et réticulé thermiquement dans le système LbL déposé sur le textile.

Chapitre IV : Application antibactérienne des systèmes LbL

Dans cette partie, nous allons étudier les propriétés antibactériennes des multicouches. Premièrement, le polyEPG-CD porte des groupements ammoniums quaternaires connus pour leur activité antibactérienne. Ainsi les assemblages multicouches sont susceptibles de présenter des activités antibactériennes intrinsèques. Ensuite, nous allons exploiter les propriétés réservoir des assemblages multicouches en y incorporant un agent antibactérien (molécule triclosane (TCS)) qui va être progressivement diffusé dans le milieu grâce au rôle joué par la cyclodextrine.

I Propriétés antibactériennes intrinsèques du LbL

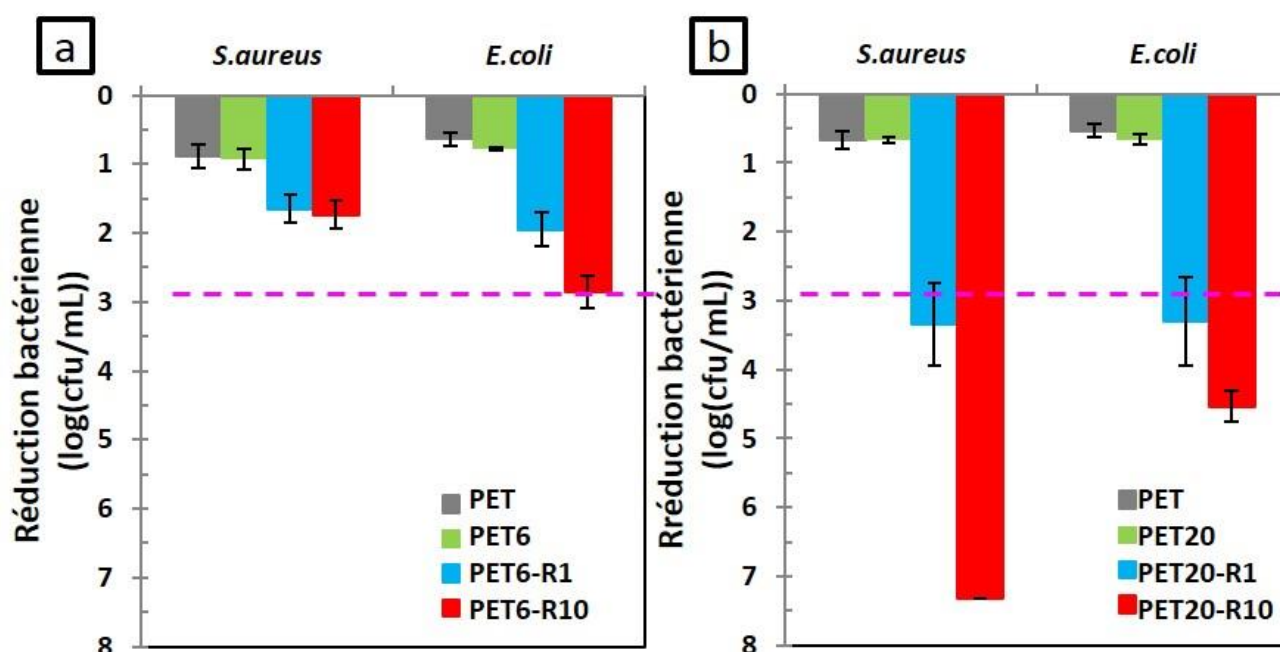


Figure 93: Réduction bactérienne (échelle logarithmique) déterminé par le test kill-time pour les bactéries de Gram positif (*S.aureus*) et de Gram négatif (*E. coli*) après 24h d'incubation avec PET, PET6, PET20 et les échantillons multicouches construits de 10 cocuhs (le système R10 et R1 sur (a) PET6 et (b) PET20) traités avec 8 heures de recuit à 140 °C (n=6).

L'efficacité antibactérienne des textiles multicouches (5 bicouches) traités pendant 8 heures à 140°C a été déterminée par un test kill-time sur *S.aureus* et *E.coli* (figure 93). Le PET vierge, le PET6 et PET20 ne montrent aucune activité antibactérienne intrinsèque contre *S.aureus* et *E.coli*; la réduction bactérienne observée est inférieure à 1 log₁₀ (non significative). En revanche, les assemblages multicouches sur PET20 montrent une réduction bactérienne importante pour le système R10 et R1 avec respectivement (figure 93b), 7,3 log₁₀ et 3,3 log₁₀ sur *S.aureus*, 4,5 log₁₀ et 3,3 log₁₀ sur *E.coli*. Pour les deux souches bactériennes, il semble que les assemblages multicouches de système R10 sur PET20 présentent une meilleure activité antibactérienne que ceux de système R1 sur PET20. Ceci est dû à la

différence de taux d'ammonium des polyEPG-CD. L'activité antibactérienne est jugée significative si la réduction bactérienne est supérieure ou égale à $3 \log_{10}$ (99,9% réduction) de l'inoculum selon CLSI (Methods for determining bactericidal activity of antimicrobial agents; approved guidelines, M26-A, vol. 19) et cet auteur ((Silva et al., 2011).

La tendance similaire est observée pour le revêtement multicouche sur PET6 mais la réduction bactérienne est plus faible. La réduction bactérienne pour le système R10 et R1 est de respectivement (figure 93a), $1,7 \log_{10}$ et $1,7 \log_{10}$ sur *aureus* $2,9 \log_{10}$ et $2 \log_{10}$ sur *E.coli*.

Aucune valeur de la concentration minimale inhibitrice (CMI) contre *S.aureus* et *E.coli* de polyEPG-CD-10 et le polyEPG-CD-1 n'a pas pu être observée dans la gamme de concentration 0 à 4 g/L. En revanche, la présence de ces polymères à la surface des multicouches provoque une forte activité antibactérienne surtout le polyEPG-CD-10 grâce à ses nombreux groupements ammoniums quaternaires. Sur le PET20, la quantité de polymères présentée sur les multicouches (10 couches, dont 5 monocouches de polyEPG-CD) a été calculée : 3,13 mg de polyEPG-CD-10 et 1,58 mg de polyEPG-CD-1 ce qui représente 15,7 g/L et 7,9 g/L respectivement en divisant la masse de polymère par le volume de la suspension bactérienne. D'où, la présence de la quantité des groupements ammoniums dans les multicouches est très au-dessus de la concentration maximale utilisée pour la mesure de la CMI (4 g/L). Pour des molécules antibiotiques, la CMI est de l'ordre de 100 fois plus faible.

II Propriétés antibactériennes du LbL chargé de TCS

La cytocompatibilité et l'activité antibactérienne intrinsèque des assemblages (le système R10 sur PET20 suivi du recuit à 140°C pendant 8 heures) sont observées. Maintenant, l'exploitation des propriétés antibactériennes en chargeant le TCS (triclosane, une molécule antibactérienne) sur ces assemblages multicouches seront étudiées.

II.1 Etude du complexe triclosane/polyCD

II.1.1 Etude de solubilité de phase du TCS

Les diagrammes de solubilité de phase de TCS dans la solution des polymères ou de la CD en milieu tamponné (phosphate 50 mM, pH=6,5) sont illustrés dans la figure 90. On peut constater que la solubilité de TCS augmente linéairement avec la concentration des polymères (figure 94a). De manière différente, la solubilité du TCS en présence de monomère de CD

augmente puis atteint une valeur maximale à 0,4 mmol/L avant de se stabiliser, ce qui traduit par une limitation de solubilité de TCS dans la CD native (figure 94b).

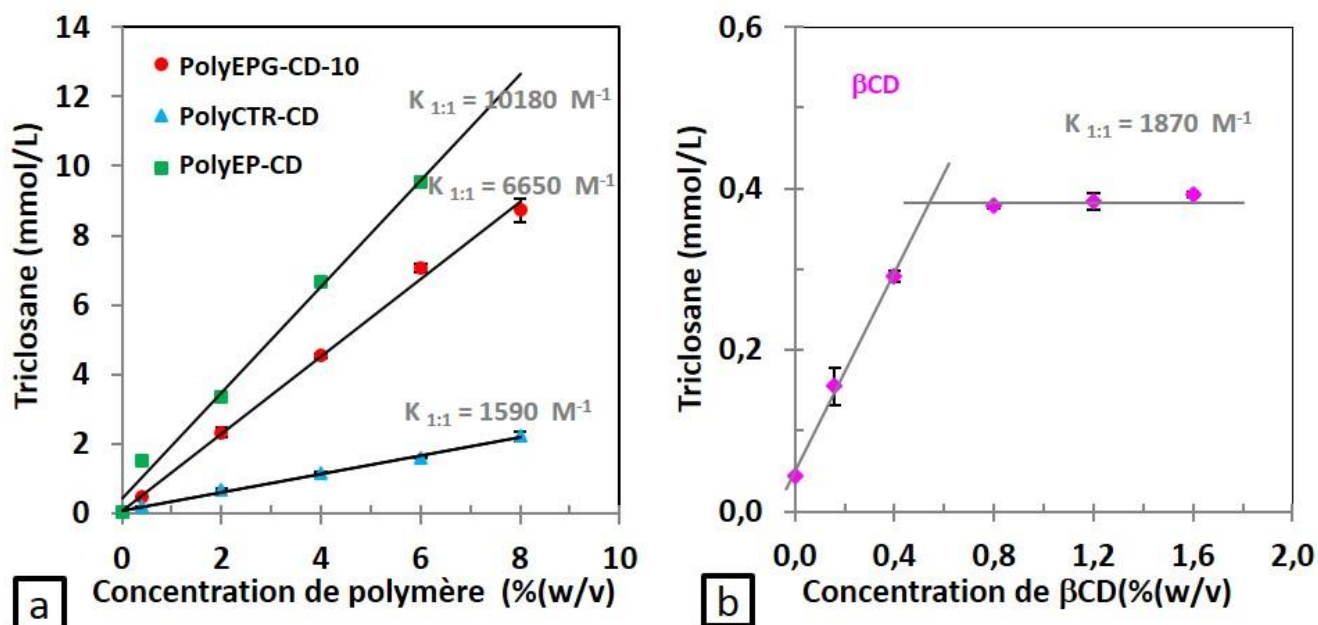


Figure 94: Etude la solubilité de TCS avec (a) les polymères de CD (polyEPG-CD-10, polyEP-CD et polyCTR-CD) et (b) la CD native dans le tampon phosphate (50 mM pH=6,5) (n=2).

La solubilité intrinsèque de TCS (S_0) à 25°C dans le tampon phosphate est 0,04 mmol/L (12 mg/L). Sa solubilité augmente significativement en présence des polymères. A la concentration massique des polymères (6% w/v), la solubilité de TCS dans le tampon atteint à 9,6 ; 7,1 et 1,6 mmol/L pour le polyEP-CD (polymère neutre), le polyEPG-CD-10 (polymère cationique) et le polyCTR-CD (polymère anionique) respectivement ce qui ramène à une augmentation de la solubilité par un facteur 240, 178 et 48.

La constante d'association apparente est calculée à partir de la pente et la solubilité intrinsèque de TCS à condition que la concentration massique de polymère soit convertie en concentration de CD (mmol/L) grâce à l'estimation de la présence de CD déterminé par RMN. Elle représente 10 180, 6 650 et 1 590 M^{-1} pour le polyEP-CD, polyEPG-CD-10 et polyCTR-CD respectivement. En milieu de la salive artificielle à 37°C, la constante d'association de TCS avec le polymère neutre de CD (11 452 M^{-1}) est supérieure de celle avec le polymère anionique de CD (4 213 M^{-1}) (Jug et al., 2012). Qian *et al* (Qian et al., 2008) a mesuré la constante d'association de TCS (3 082 M^{-1}) avec le polymère cationique de CD dans l'eau.

Nous avons mesuré la constante d'association de TCS avec la CD native dans le tampon phosphate à 25°C ce qui est de 1 870 M^{-1} en figure 94b, comparé avec celle dans la salive artificielle à 37°C qui est 2 525 M^{-1} (Jug et al., 2012).

La technique ITC ne permet pas déterminer la constant d'association du triclosane avec polyCD parce que sa solubilité est extrêmement faible et le signal induit est en dessous du seuil de détection de l'appareillage.

II.1.2 Caractérisation du complexe de TCS/polyCD par DSC

La DSC est une technique souvent utilisée pour prouver la formation des complexes d'inclusion entre la CD et les molécules invitées. En général dans le cas de complexation, la transition thermique des molécules invitées tels que la fusion ou la sublimation peut changer ou disparaître. Les thermogrammes de DSC de la poudre de TCS (lyophilisé), les polymères (polyEPG-CD-10 ou polyCTR-CD) et les complexes de TCS avec les polymères (complexation dans l'eau avant de lyophiliser) sont illustrés dans la figure 95. Le pic de fusion de triclosane est trouvé à 60°C. Au contraire, il n'y plus de pic endothermique de triclosane pour le complexe de TCS/polyCD, ce qui confirme la formation des complexes d'inclusion sachant que les deux polymères de base ne possèdent aucun pic caractéristique à cette température.

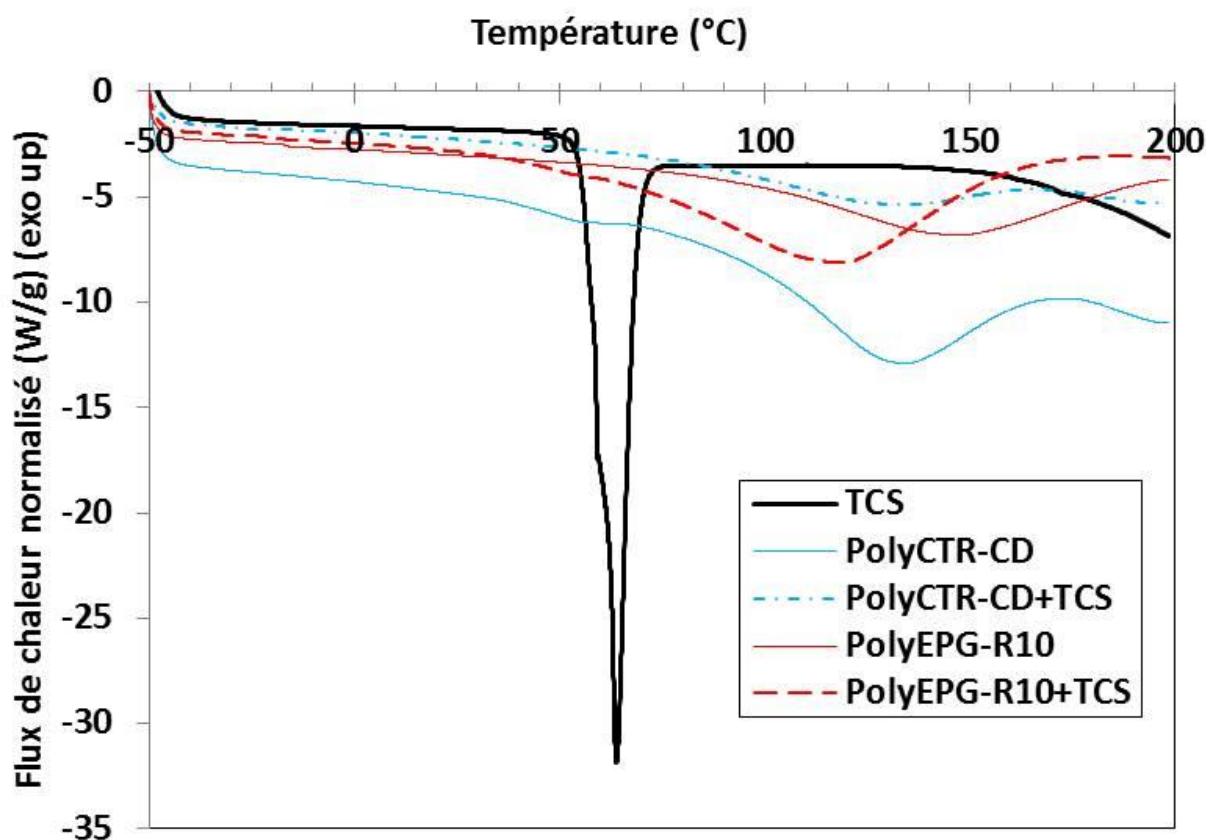


Figure 95 : Thermogramme de TCS seul, le complexe TCS/polyEPG-CD-10 et TCS/polyCTR-CD, le polyEPG-CD-10 et le polyCTR-CD.

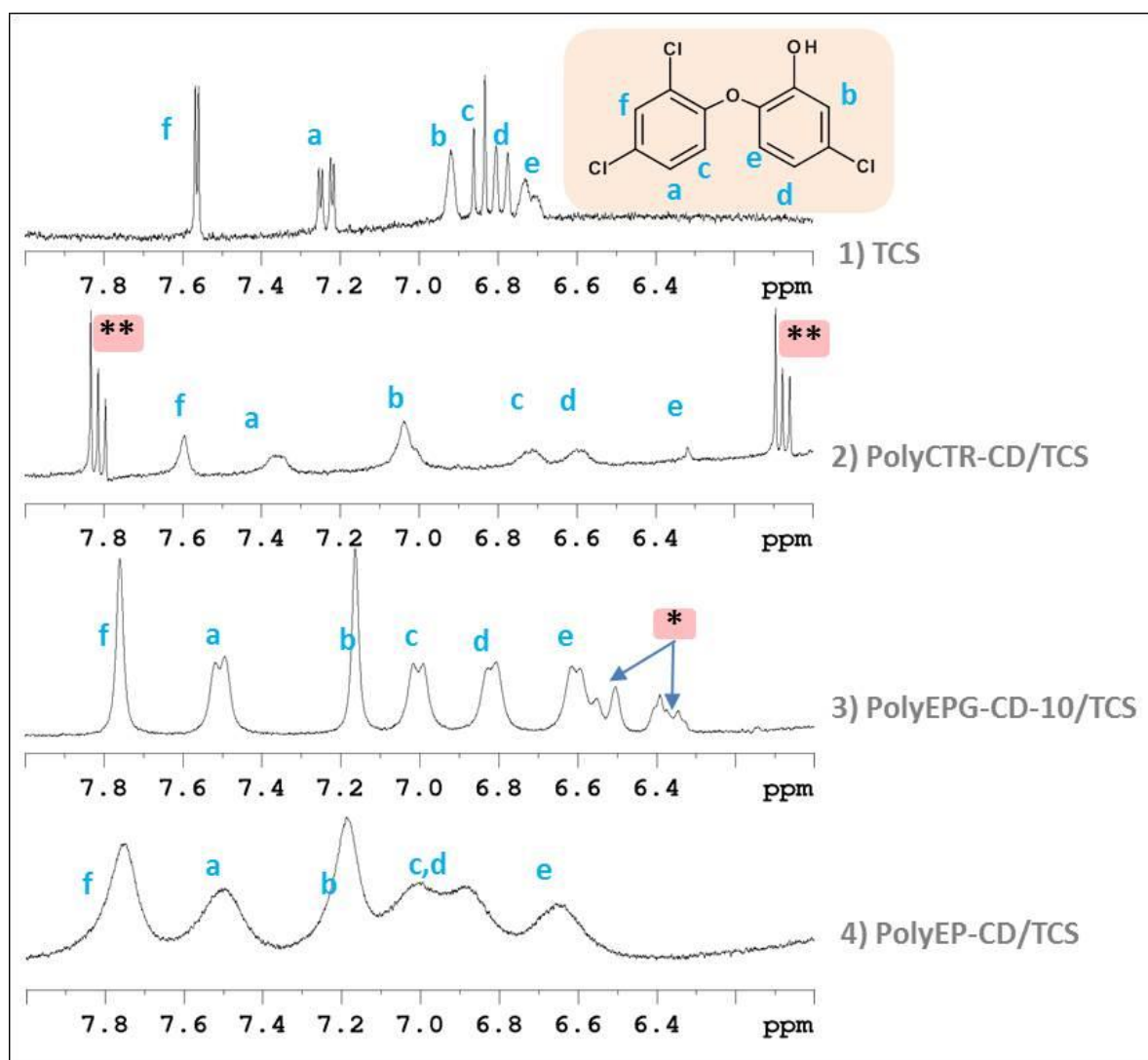
II.1.3 Caractérisation du complexe de TCS/polyCD par ^1H RMN (1D et 2D)

Figure 96 : Etude de ^1H RMN dans D_2O de la complexation entre TCS avec βCD et ses dérivées, (*) signal présent dans polyEPG-CD-10 et (**) signaux présentés dans polyCTR-CD.

La figure 96 représente les spectres ^1H RMN des complexes entre les polymères et le TCS dans la zone 6-8 ppm. Puisque la solubilité de TCS est très peu soluble, le temps d'accumulation des expériences est augmenté spécialement à 24 heures. La position de signaux des protons de TCS (nommées a-f) est identique à celle rapportée dans la littérature (Jug et al., 2011, Qian et al., 2008). Entre 6 et 8 ppm pour les spectres 2 et 3 marqués par (*) et (**), on peut trouver des traces de réactions secondaires dans les polymères tels que l'acide aconitique ($\text{C}=\text{CH}$) dans le polyCTR-CD et le chlorure de N-(3-hydroxy-1-propène-N,N,N-triméthylammonium) ($\text{CH}=\text{CH}$) provenant de GTMAC dans le polyEPG-CD-10. Le déplacement chimique des signaux de TCS dans chaque polymère est nettement décalé par rapport à son origine (TCS seul), ce qui montre les interactions entre les groupements

aromatiques du TCS et les protons internes de la cavité de CD. Pour confirmer ceci, les expériences ^1H RMN en deux dimensions (2D-NOESY) ont été réalisées.

Les spectres 2D-NOESY confirment la complexation en montrant des taches de corrélation qui révèlent l'interaction dipolaire entre les protons aromatiques de TCS et les protons internes (H_3 et H_5) aux cavités de CD dans les polymères (polyCTR-CD, polyEPG-CD-10 et polyEP-CD en figure 97a, 97b et 97c respectivement). Les taches de corrélation sont moins visibles pour le polyCTR-CD que pour les autres polymères.

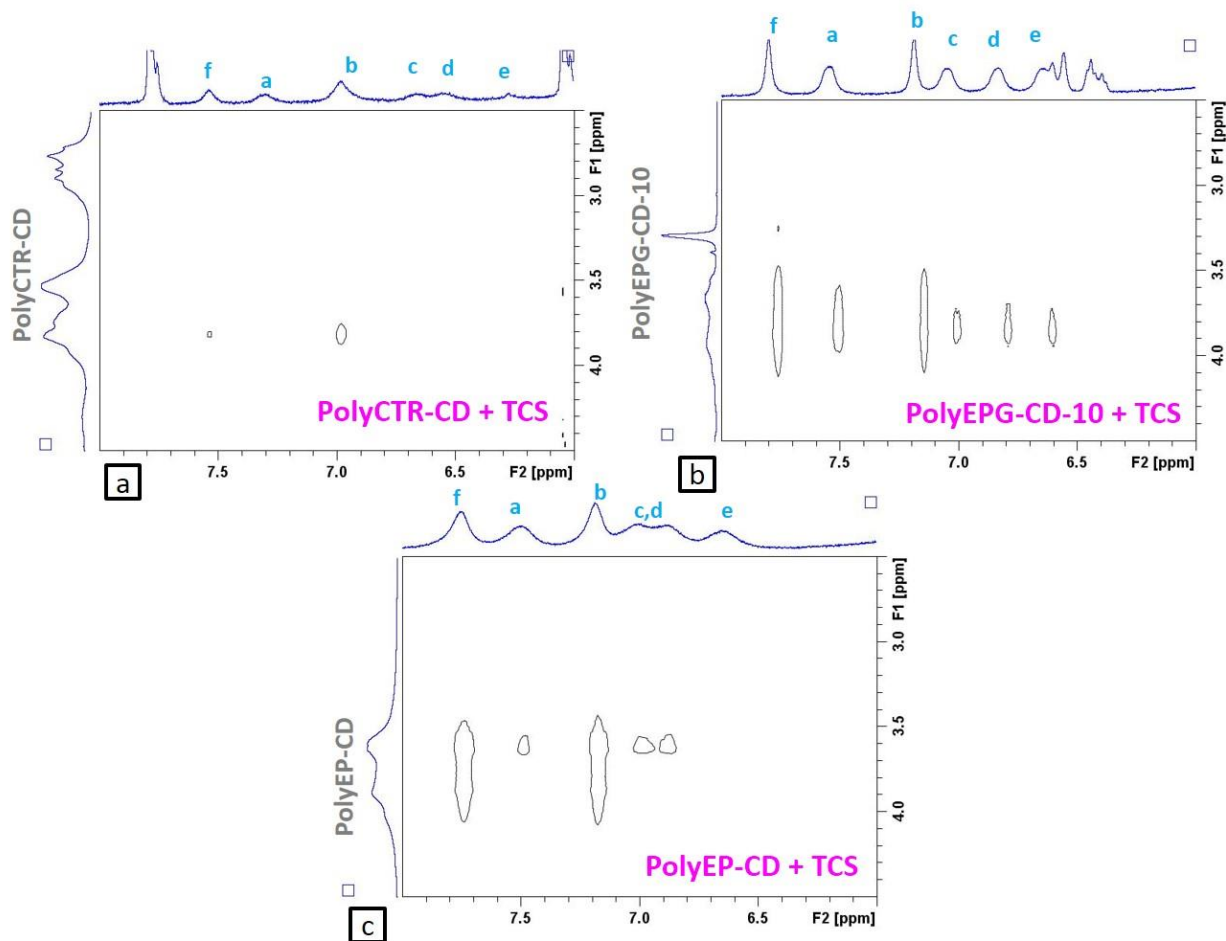


Figure 97: Etude de ^1H RMN (deux dimensions, NOESY) de la complexation entre TCS avec βCD et ses dérivées avec l'agrandissement de la zone caractéristique de TCS.

II.2 Libération de TCS en mode dynamique

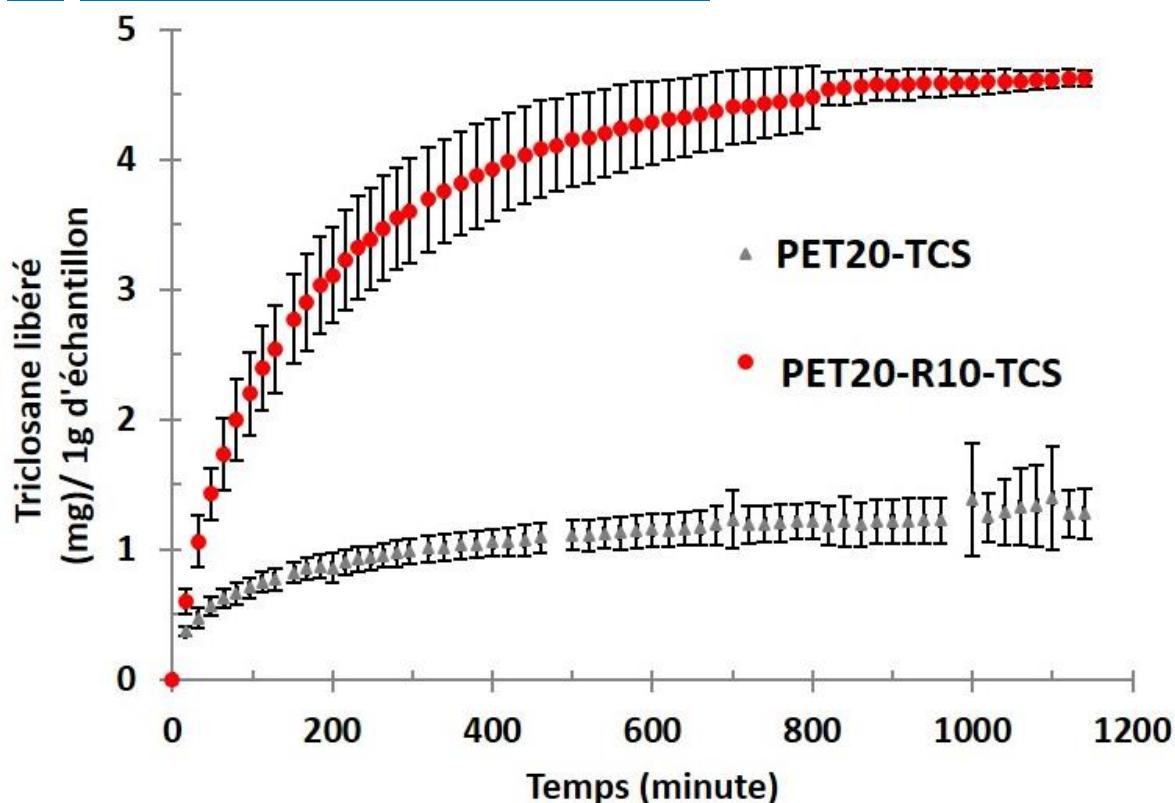


Figure 98: Cinétique de libération en masse (a) en pourcentage (b) de TCS dans PBS en mode dynamique pour les assemblages multicouches de système R10 sur PET20 (10 couches) et le PET20 (n=3).

L'incorporation de TCS dans les multicouches est précédée par voie C (figure 43), le trempage des échantillons textiles (les assemblages multicouches de 10 couches réticulés à 140°C pendant 8 heures (système R10 sur PET20) et le PET20 dans la solution de TCS en excès.

L'encapsulation de TCS sur le PET20 et les assemblages multicouches du système R10 sur PET20 sont évaluées par la libération en mode dynamique de type USP4 en imposant un flux de 50 mL/min dans le Sotax®.

La quantité libérée de TCS est de 4,6 mg de TCS/g d'échantillon pour le PET20-R10 contre 1,3 mg de TCS/g d'échantillon pour le PET20 (facteur 3,5) pendant 1200 minutes, en figure 98. Ceci confirme le rôle de réservoir joué par l'assemblage LbL à base de polyélectrolytes de CD. La pente des deux courbes à différents instants montre que la dose de TCS libérée est beaucoup plus importante pour PET20-R10 que pour PET20.

II.3 Etude de microbiologie (Test de Kirby-Bauer)

L'activité antibactériennes des échantillons de textiles (PET vierge, PET20, l'assemblage multicouches de 10 couches (le système R10 sur PET20) suivi du recuit à 140°C

pendant 8 heures) avec ou sans TCS, est évalué sur *S.aureus* et *E.coli* par le test de Kirby-Bauer

La libération de TCS est suivie au cours du temps dans le PBS à différents temps. Les échantillons prélevés sont déposés sur une gélose Agar ensemencée de la suspension bactérienne. La présence d'une zone d'inhibition autour de l'échantillon renseigne sur la présence d'une activité antibactérienne (figure 99), qui se produit par diffusion du TCS résiduel au tour de la pastille.

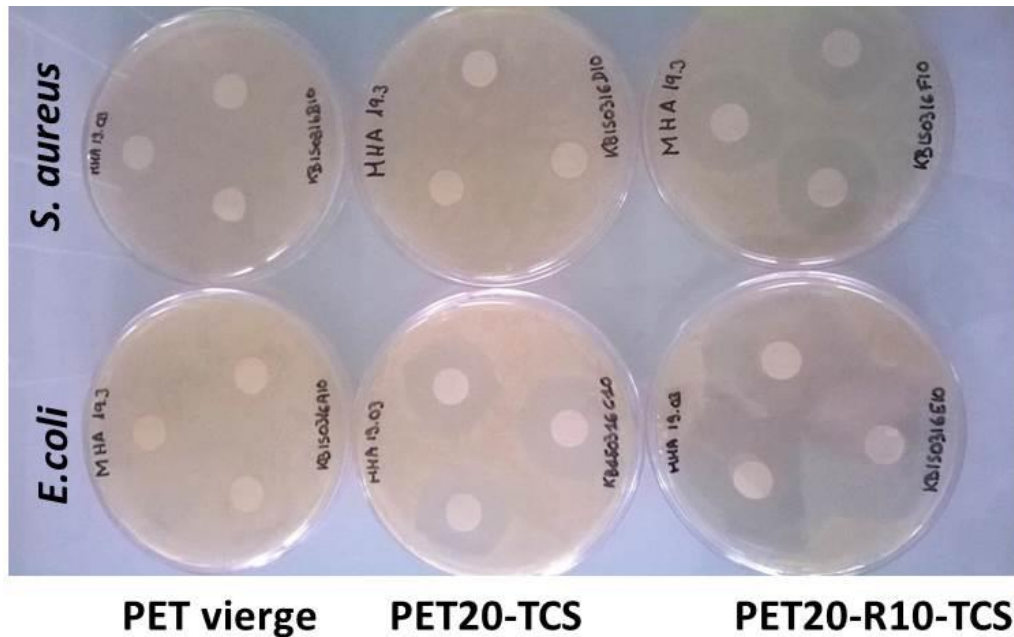


Figure 99: Photo du test de Kirby-Bauer montrant l'inhibition de la prolifération bactérienne en présence des échantillons chargés avec le TCS après 3 jours de libération dans PBS contre *S.aureus* et *E.coli*.

Les échantillons de PET vierge et PET thermofixé sans TCS n'ont montré aucune activité contre les deux souches bactériennes (pas d'apparition de zone d'inhibition). Les assemblages multicouches sans TCS montrent une zone d'inhibition de 1,6 cm et 1,2 cm contre *S.aureus* et *E.coli* respectivement. Ceci est dû à un effet de bord et à une légère diffusion de polyEPG-CD-10 sur la gélose, malgré la réticulation thermique à 140°C pendant 8 heures.

En général, on voit que le rayon d'inhibition diminue avec le temps de séjour dans le PBS, ce qui montre que le TCS est progressivement libéré dans ce milieu. L'activité antibactérienne contre *S.aureus* est toujours supérieure à celle mesurée contre *E.coli* pour PET20 et PET20-R10 (figure 100).

Pour PET20, la zone d'inhibition disparaît au bout de 72 heures contre *E.coli* et est encore de 1,8 cm au bout de 672 heures (28 jours) contre *S.aureus*. Pour PET20-R10, le rayon

d'inhibition est toujours supérieur à celui observé sur les échantillons PET20 et sa valeur est aussi importante au bout de 28 jours contre *S.aureus* (3.5 cm) contre *E.coli*. (2.6 cm).

Ce test confirme l'étude précédente (libération de TCS) : de par l'effet de réservoir vis-à-vis du TCS, et sa libération prolongée, le système multicouche est beaucoup plus performant que le système monocouche. Ce système apporte une activité antibactérienne complémentaire par diffusion d'un agent antimicrobienne comme TCS aux échantillons PET20-R10 (activité intrinsèque en contact direct validée par un test de kill time).

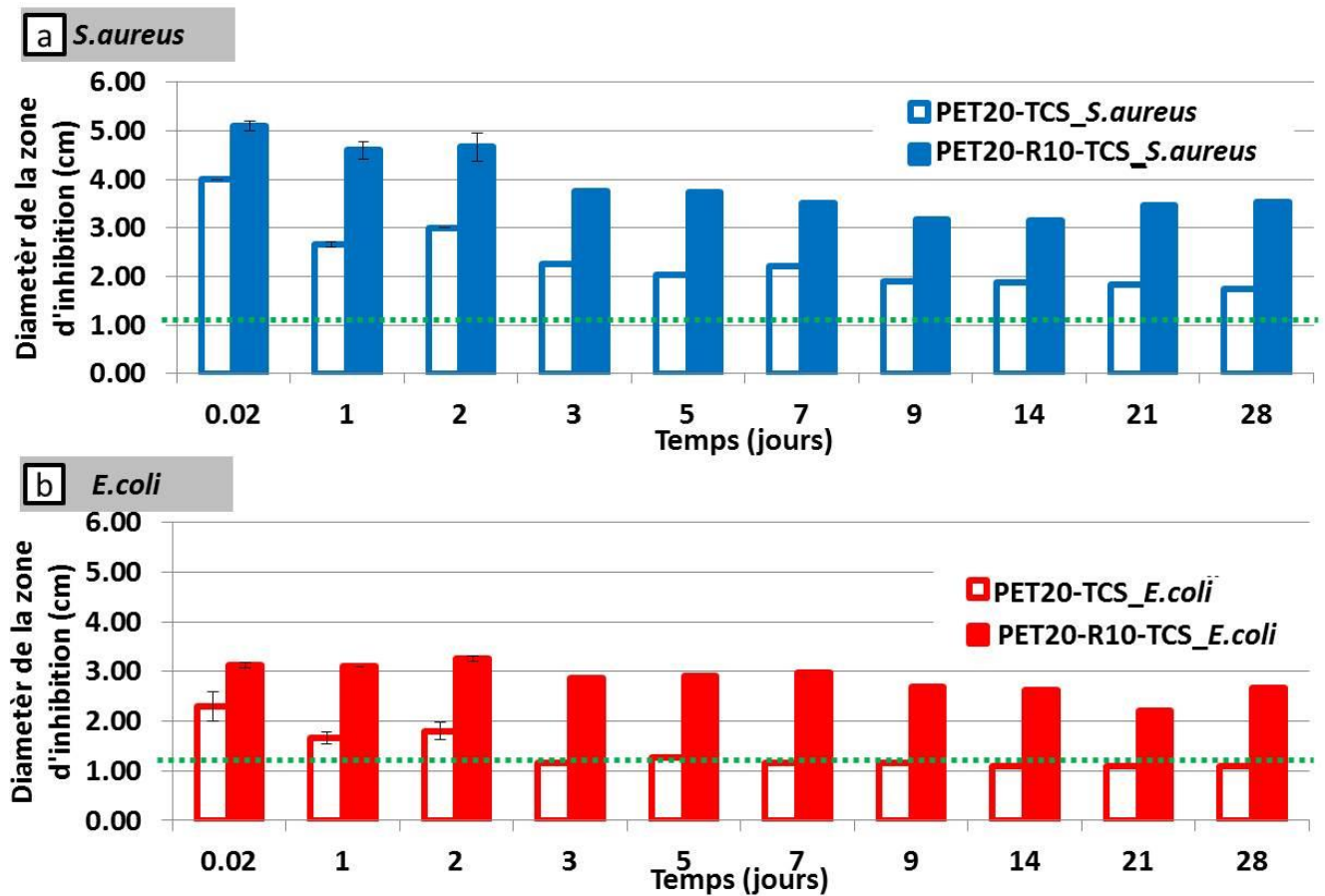


Figure 100: Diamètre d'inhibition des échantillons chargés avec le TCS après différent de temps de libération dans PBS au contact de (a) *S. aureus* et (b) *E. coli*. (n=3).

Conclusion et discussion

Ce travail de thèse portait sur l'élaboration d'assemblages multicouches à base de CD sur un support textile en vue de développer un système à libération prolongée de principes actifs.

Notre stratégie s'est basée sur le savoir-faire du laboratoire en matière de fonctionnalisation de surface de biomatériaux et en matière de synthèse de polymères de cyclodextrines, en proposant un dépôt séquentiel innovant à partir d'un polymère anionique de CD (polyCTR-CD) et d'un polymère cationique de CD (polyEPG-CD) sur un textile non-tissé de PET par la technique Layer-by-Layer. La présence de CD dans les assemblages permet d'incorporer des principes actifs, d'augmenter leur solubilité dans le cas de molécules très peu solubles et d'accentuer leur biodisponibilité.

Le premier but a été de synthétiser le polyEPG-CD cationique pour pouvoir l'utiliser dans la construction des assemblages. Il a été obtenu par réticulation de la β CD et de l'EP en présence du GTMAC. Nous avons montré que les propriétés intrinsèques des polymères synthétisés (charge (Q) et masse molaire en poids (Mw)) dépendaient des paramètres réactionnels (la méthode de synthèse, la température et le temps de réaction ainsi que la quantité de GTMAC introduite). L'élévation de la température de la réaction (à 60°C), a permis d'accélérer la réaction de polycondensation, a induit une augmentation de la charge et de la masse moléculaire des polymères tout en diminuant le temps de réaction (3 heures). Ensuite, La **méthode 1** (ajout simultané entre le GTMAC et l'EP) a permis d'obtenir la masse moléculaire plus importante que la **méthode 2** (addition de GTMAC pendant 2 heures, puis EP) à cause de la non-disponibilité des fonctions hydroxyles de la β CD dans la **méthode 2**. Selon la **méthode 1** à 60°C, les différents rapports molaires de GTMAC/ β CD ont été appliqués et l'augmentation de la quantité de GTMAC a provoqué une forte diminution de la masse molaire de polyEPG-CD parce que les branches de poly-épichlorohydrine impliquées dans la réticulation des polymères de cyclodextrines ont été inactivées en réagissant avec le GTMAC. Après optimisation des paramètres de synthèses, deux types de polyEPG-CD ont été choisis pour la construction des assemblages multicouches, à savoir le polyEPG-CD-1 (Q=0,20 mmol/g et Mw=123,9 kg/mol) et le polyEPG-CD-10 (Q=2,02 mmol/g et Mw=25,8 kg/mol).

Dans un second temps, les principaux facteurs influençant la construction des assemblages ont été étudiés : la charge des deux polyélectrolytes, le pH, la force ionique et le taux de charge de la première couche greffée par polyCTR-CD (PET6 et PET20). La construction des multicouches sur le SiTiO₂ par OWLS et sur le textile par gravimétrie a été suivie.

- L'optimisation du pH de la solution a été étudiée par OWLS, les assemblages construits avec le pH naturel des polymères dans le NaCl à 0,15M, soit un pH=6,5 pour le polyEPG-CD et un pH=3,5 pour le polyCTR-CD ont permis d'obtenir la meilleure déposition. L'optimisation de la composition du milieu de construction a été étudiée par gravimétrie, le meilleur gain de poids sur textile a été obtenu en utilisant l'eau pure comme le solvant pour les deux polymères au pH naturel.
- Le meilleur gain de poids des multicouches sans principes actifs (20 couches) a été obtenu en utilisant un couple de polymères (polyEPG-CD-10 (4 g/L) et polyCTR-CD (4 g/L), nommé système R10) et un autre couple de polymères (polyEPG-CD-1 (10 g/L) et polyCTR-CD (1 g/L), nommé système R1). Ce gain de poids était de 37 et 126% pour le système R10 sur PET6 et PET20 respectivement, il était de 18 et 56% pour le système R1 sur PET6 et PET20 consécutivement. Nous avons donc observé que la construction a dépendu à la fois la densité de charge initiale du PET thermofixé et de celle du polycation.
- L'élaboration des multicouches directement chargées en molécule TBBA par les complexes TBBA/polymères de CD, la complexation entre le TBBA et le polymère a été confirmée par ¹H RMN et ITC. La constante d'association entre le TBBA et les polymères de CD déterminée par ITC était égale à 26,6, 11,1 8,9 et 2,6 kM⁻¹ respectivement pour le polyEPG-CD-10, le polyEPG-CD-1, le polyEP-CD et le polyCTR-CD grâce à la contribution supplémentaire des interactions d'associations. Le gain de poids des assemblages par cette élaboration a diminué à cause de l'interaction électrostatique entre deux polyélectrolytes.
- La **voie à posteriori** a permis de charger plus de TBBA comparé avec la **voie simultanée** grâce à son gain de poids important.

Une fois la faisabilité prouvée, le défi de ce projet était de stabiliser des assemblages et de contrôler les propriétés de libération. Le traitement thermique à 140°C a permis de consolider les assemblages grâce à la formation de nouvelles liaisons esters entre deux polyélectrolytes. Cette réticulation thermique a prolongée la stabilité des assemblages et la libération de TBBA dans le PBS, en fonction du temps de recuit. Le temps de réticulation thermique a été optimisé à 8 heures pour ralentir suffisamment la dégradation. La libération de TBBA en mode dynamique (400 minutes) était plus lente que celle en mode statique (3 jours), la réticulation thermique à 140°C a donc permis de ralentir la libération de TBBA quel que soit le mode de libération.

Ensuite, la cytocompatibilité des polyEPG-CD et des échantillons textiles a été déterminée par méthode d'extraction après 24 heures d'incubation avec les cellules épithéliales L132. Concernant les polyEPG-CD, la viabilité cellulaire a été diminuée avec la croissance de la charge de polymère (teneur en groupements ammoniums quaternaires). Concernant les assemblages multicouches, la cytocompatibilité des multicouches traitées thermiquement (8 heures à 140°C) a été améliorée par rapport aux multicouches sans traitement parce que le traitement thermique a permis de stabiliser les assemblages en limitant la diffusion des polymères dans le milieu de culture.

Enfin, les propriétés antibactériennes intrinsèques des assemblages (système R10 sur PET20) ont été démontrées contre *S.aureus* et *E.coli* (7.3 et 4.5 log₁₀ de réduction bactérienne respectivement) grâce à la présence de groupement triméthylammonium de polycation. En conséquence, une autre étude axée sur le chargement de molécules actives ayant des effets thérapeutiques complémentaires (une molécule antibactérienne comme le triclosane (TCS) sur les échantillons textiles (PET20 et système R10 sur PET20) a été menée. L'effet réservoir apporté par les polyélectrolytes de CD dans les multicouches a démontré la capacité d'incorporation du TCS ce qui est de 3,5 fois plus importante que le PET20. La complexation entre le TCS et les polymères de CD a été démontrée par RMN, DSC et par l'étude de solubilité de phase. Cette dernière technique a permis de déterminer la constante d'association : 6 650 et 1 590 M⁻¹ pour le polyEPG-CD-10 et le polyCTR-CD. Concernant la libération en mode dynamique des multicouches, la libération de TCS (1140 minutes) était un peu plus lente que celle de TBBA (400 minutes). Concernant l'activité antibactérienne des assemblages chargés avec TCS, cette activité contre *S.aureus* était toujours supérieure à celle contre *E.coli* pour le PET20 et les multicouches. La propriété antibactérienne des multicouches était encore visible au bout de 28 jours (soit 3,5 cm contre *S.aureus* et 2,6 cm contre *E.coli* pour le rayon d'inhibition). Donc, les assemblages multicouches (système R10

sur PET20) ont montré une activité bactérienne intrinsèque à long terme car le polyEPG-CD-10 a été stabilisé dans les multicouches grâce au traitement thermique à 140°C. Ce type de système a également apporté une fonction complémentaire à court terme par diffusion d'un agent antimicrobienne incorporé dans les échantillons par complexation avec les CD.

Ce système multicouche fournit une plate-forme polyvalente en incorporant des agents thérapeutiques avec différentes activités (agents cicatrisants, agents antiinflammatoires, agents antidouleur ou agents hémostatiques) .

Annexes

Annexe 1 : Calculs de préparation des complexes d'inclusion pour le polyCTR-CD/TBBA et le polyEPG-CD-10/TBBA

Que 1 g de polyCTR-CD correspond à 0,5 g de CD (mesuré par RMN) ce qui équivaut à 0,44 mmol (0,5/1135). La formation de complexe d'inclusion 1 : 2 (TBBA : CD) permet de calculer le nombre de moles de **TBBA**, dans ce cas **0,22 mmol**, c'est à dire **39,21 mg** ($0,22 \cdot 178,23$).

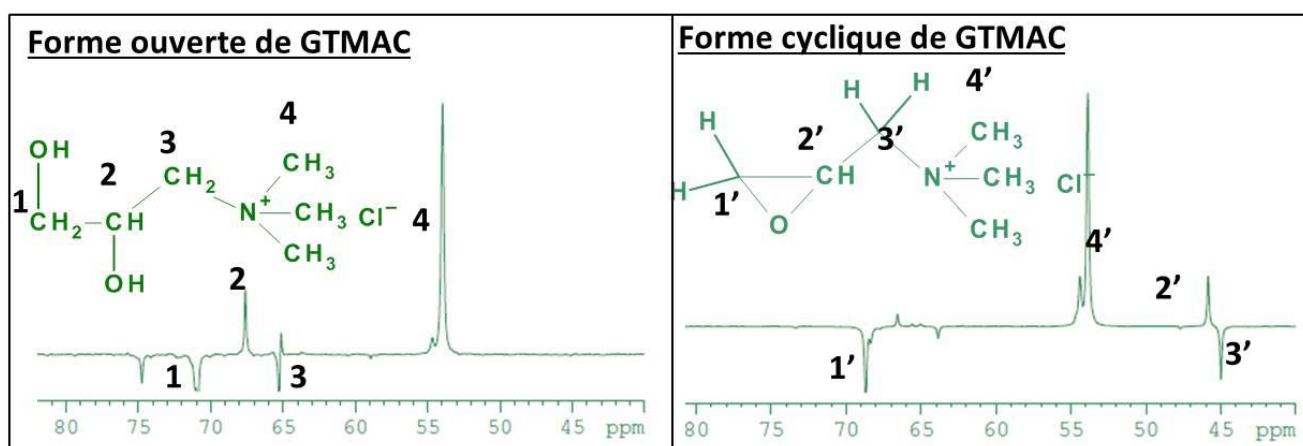
- La solution de complexe à 4 g/L pour 50 mL, correspond à 0,2 g de polyCTR-CD et à 7,85 mg de TBBA

Que 1 g de polyEPG-CD-10 correspond à 0,6 g de CD (mesuré par RMN) ce qui équivaut 0,53 mmol (0,6/1135). La formation de complexe d'inclusion 1 :2 (TBBA :CD) permet de calculer le nombre de moles de **TBBA**, dans ce cas **0,26 mmol**, c'est à dire **47,11 mg** ($0,26 \cdot 178,23$).

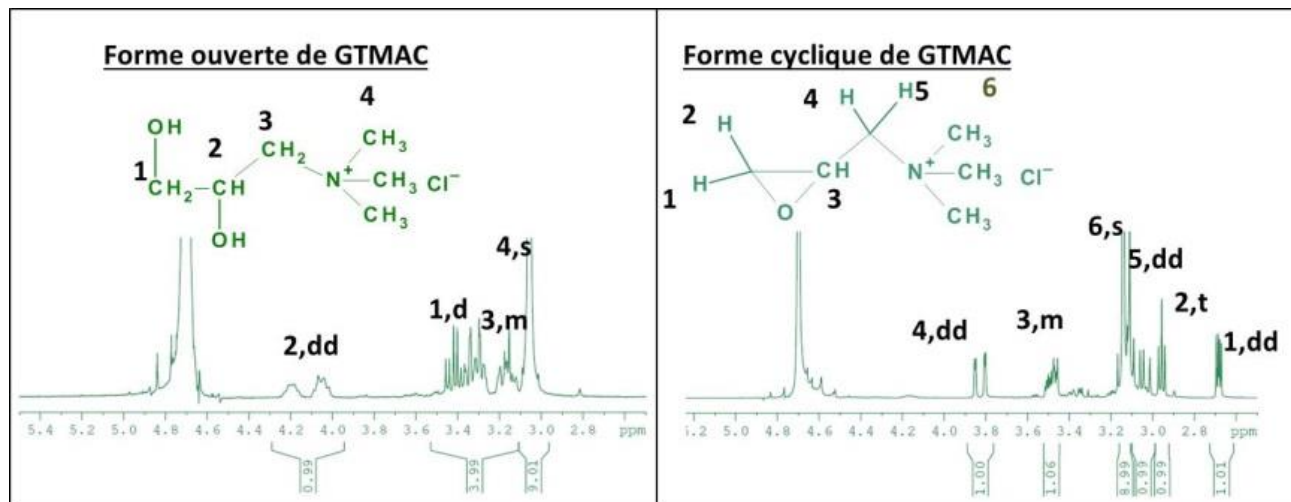
- La solution de complexe à 4 g/L pour 50 mL, correspond à 0,2 g de polyEPG-CD-10 et à 9,42 mg de TBBA

Le choix de la formation de complexe d'inclusion 1 :2 (TBBA :CD) correspond à la solubilité maximale du TBBA dans les solutions de polymères. Le cavité de CD en poids (déterminé par RMN) est respectivement de 70%,60% et 50% pour polyEPG-CD-1, polyEPG-CD-10 et polyCTR-CD respectivement

Annexe 2 : Spectre de RMN ^{13}C (D_2O) de GTMAC sous la forme ouverte et cyclique.



Annexe 3 : Spectre de RMN ¹H (D₂O) de GTMAC sous la forme ouverte et cyclique

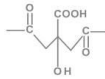
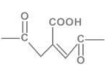
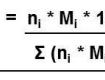


Annexe 4 : Calcul du %massique de CD et de la charge de polyEPG-CD par RMN

<p style="text-align: center;">$M_{\beta CD} = 1135 \text{ g/mol}$</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;"> $\left[\text{O}-\text{CH}_2\text{CHOHCH}_2 \right]$ $M_{EP} = 74 \text{ g/mol}$ </div> <div style="text-align: center;"> $-\text{CH}_2\text{CHOHCH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3 \text{Cl}^-$ $M_{\text{GTMAC}} = 117 \text{ g/mol}$ </div> </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin: 10px 0;"> $\%m_i = \frac{n_i \cdot M_i \cdot 100}{\sum (n_i \cdot M_i)} = \frac{m_i \cdot 100}{m_{\text{Totale}}}$ </div> <div style="margin-bottom: 10px;"> $\%m_{\beta CD} = \frac{n_{\beta CD} \cdot M_{\beta CD} \cdot 100}{(n_{\beta CD} \cdot M_{\beta CD} + n_{EP} \cdot M_{EP} + n_{\text{GTMAC}} \cdot M_{\text{GTMAC}})} = \frac{m_{\beta CD} \cdot 100}{m_{\text{Totale}}}$ </div> <div style="margin-bottom: 10px;"> $\%m_{\beta CD} = \frac{1 \cdot 1135 \cdot 100}{(1 \cdot 1135 + 9,7 \cdot 74 + 2,6 \cdot 117)} = \frac{1135 \cdot 100}{2157} = 52,6 \%$ </div> <div> $\%m_{\text{GTMAC}} = \frac{2,6 \cdot 117 \cdot 100}{(1 \cdot 1135 + 9,7 \cdot 74 + 2,6 \cdot 117)} = \frac{304,2 \cdot 100}{2157} = 14,1 \%$ </div>	<p style="color: blue;">1 mole de GTMAC = 1 mole azote</p> <p style="color: red;">Méthode i</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> $\%m_{\text{azote}} = \frac{n_{\text{azote}} \cdot M_{\text{azote}} \cdot 100}{\sum (n_i \cdot M_i)}$ </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> $Q_{\text{azote}} \text{ (mmol/g)} = \frac{\%m_{\text{azote}} \cdot 1000}{100 \cdot M_{\text{azote}}} = \frac{n_{\text{azote}} \cdot 1000}{\sum (n_i \cdot M_i)} = \frac{2,6 \cdot 1000}{2157} = 1,21 \text{ mmol/g}$ </div> <p style="color: red;">Méthode ii</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> $Q_{\text{GTMAC}} \text{ (mmol/g)} = \frac{\%m_{\text{GTMAC}} \cdot 1000}{100 \cdot M_{\text{GTMAC}}} = \frac{14,1 \cdot 1000}{100 \cdot 117} = 1,21 \text{ mmol/g}$ </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> $Q_{\text{azote}} = Q_{\text{GTMAC}}$ </div>
---	---

Annexe 5 : Calcul du %massique de CD et de la charge polyCTR-CD

par RMN

	$M_{\beta\text{CD}} = 1135 \text{ g/mol}$
	$M_{\text{CTR}} = 158 \text{ g/mol}$
	$M_{\text{aconitique}} = 140 \text{ g/mol}$

$$\%m_i = \frac{n_i * M_i * 100}{\sum (n_i * M_i)} = \frac{m_i * 100}{m_{\text{Totale}}}$$

$\%m_{\beta\text{CD}} = \frac{n_{\beta\text{CD}} * M_{\beta\text{CD}} * 100}{(n_{\beta\text{CD}} * M_{\beta\text{CD}} + n_{\text{CTR}} * M_{\text{CTR}} + n_{\text{aconitique}} * M_{\text{aconitique}})} = \frac{m_{\beta\text{CD}} * 100}{m_{\text{Totale}}}$	
$\%m_{\beta\text{CD}} = \frac{1 * 1135 * 100}{(1 * 1135 + 6,13 * 158 + 0,56 * 140)} = \frac{1135 * 100}{2181} = 52 \%$	
$\%m_{\text{CTR}} = \frac{6,13 * 158 * 100}{(1 * 1135 + 6,13 * 158 + 0,56 * 140)} = \frac{968,5 * 100}{2181} = 44,4 \%$	

1 mole de CTR = 1 mole COOH résiduel

Méthode i

$$\%m_{\text{COOH}} = \frac{n_{\text{COOH}} * M_{\text{COOH}} * 100}{\sum (n_i * M_i)}$$

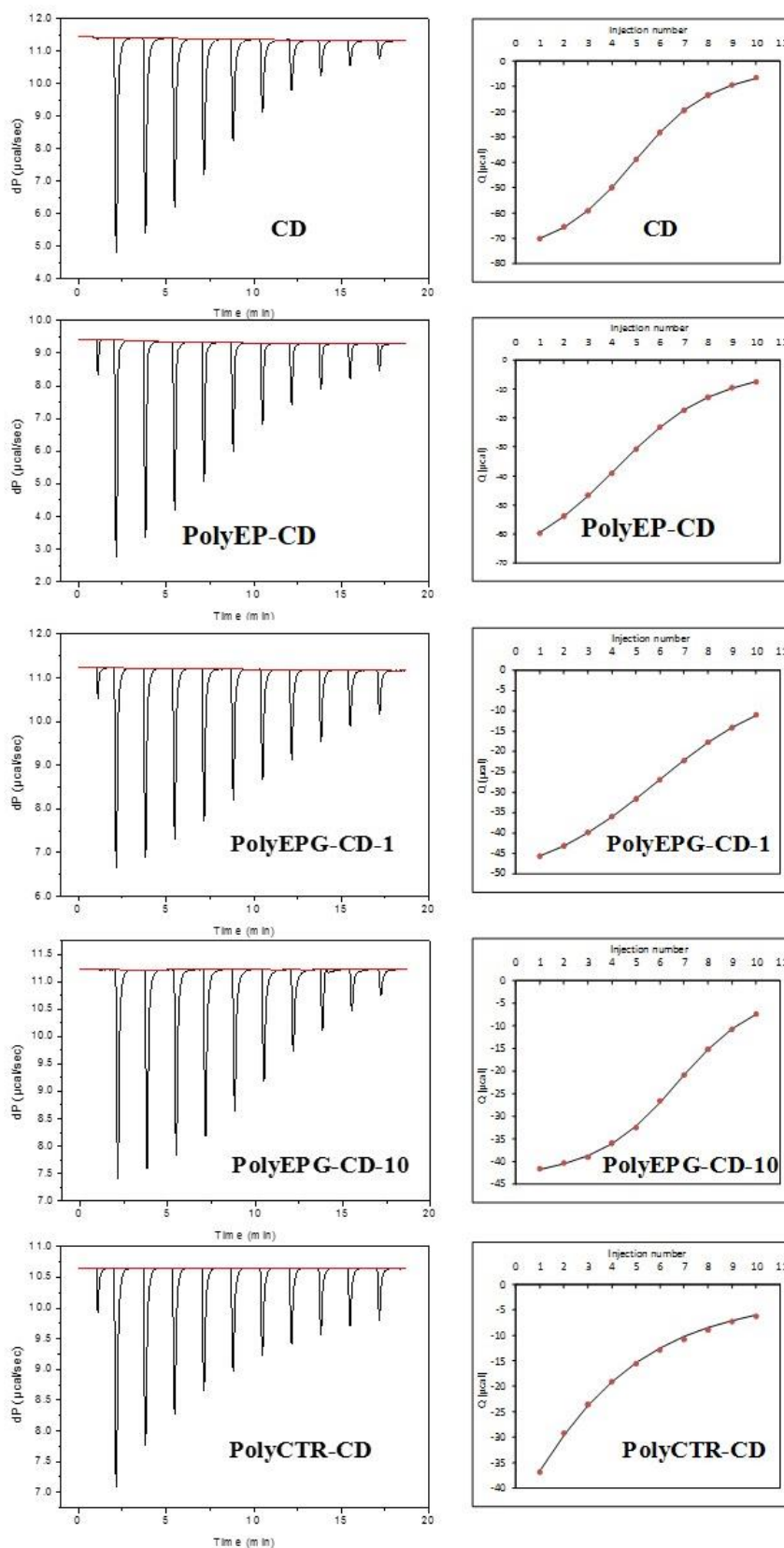
$$Q_{\text{COOH}} \text{ (mmol/g)} = \frac{\%m_{\text{COOH}} * 1000}{100 * M_{\text{COOH}}} = \frac{n_{\text{COOH}} * 1000}{\sum (n_i * M_i)} = \frac{6,13 * 1000}{2181} = 2,81 \text{ mmol/g}$$

Méthode ii

$$Q_{\text{CTR}} \text{ (mmol/g)} = \frac{\%m_{\text{CTR}} * 1000}{100 * M_{\text{CTR}}} = \frac{44,4 * 1000}{100 * 158} = 2,81 \text{ mmol/g}$$

$$Q_{\text{COOH}} = Q_{\text{CTR}}$$

Annexe 6 : Courbe de titration par ITC et de chaleur intégrée entre le TBBA et la CD ou les dérivés de CD dans un tampon phosphate solution aqueuse (50 mM, pH = 6,5) à 25 ° C.



Annexe 7 : Calcul de la densité surfacique du PET thermofixé par méthode pondérale et dosage CEI.

<u>Méthode i : Par méthode pondérale</u>	<u>Méthode i : Par méthode pondérale</u>
PET thermofixé 6 %wt pour 1 g	PET thermofixé 20 %wt pour 1 g
PolyCTR-CD 0,06 g => 0,06*4 =0,24 mmol PET 0,94 g => 0,94/65 =0,0145 m ² =145 cm ²	PolyCTR-CD 0,2 g => 0,2*4 =0,8mmol PET 0,8 g => 0,8/65 =0,0123 m ² =123 cm ²
Charge surfacique = $\frac{0,24 \cdot 10^{-3} \text{ mol}}{145 \text{ cm}^2} = 1,6 \text{ } \mu\text{mol de COO}^-/\text{cm}^2$	Charge surfacique = $\frac{0,8 \cdot 10^{-3} \text{ mol}}{123 \text{ cm}^2} = 6,5 \text{ } \mu\text{mol de COO}^-/\text{cm}^2$
<u>Méthode ii : Par dosage CEI</u>	<u>Méthode ii : Par dosage CEI</u>
CEI = 0,15 mmol COO ⁻ / 1 g de textile PET thermofixé CEI = 0,15*10 ⁻³ mol COO ⁻ / 145 cm ² CEI = 1,0 μmol de COO ⁻ /cm ²	CEI = 0,65 mmol COO ⁻ / 1 g de textile PET thermofixé CEI = 0,65*10 ⁻³ mol COO ⁻ / 123 cm ² CEI = 5,3 μmol de COO ⁻ /cm ²
Données : PolyCTR-CD = 4 mmol de COOH/1g de polymère Poids surfacique de textile PET = 65 g/m ²	

Références

- ABDELKEBIR, K., GAUDIERE, F., MORIN-GROGNET, S., COQUEREL, G., LABAT, B., ATMANI, H. & LADAM, G. 2011. Evidence of different growth regimes coexisting within biomimetic Layer-by-Layer films. *Soft Matter*, 7, 9197-9205.
- ALONSO, T., IRIGOYEN, J., ITURRI, J. J., LARENA, I. L. & MOYA, S. E. 2013. Study of the multilayer assembly and complex formation of poly(diallyldimethylammonium chloride) (PDADMAC) and poly(acrylic acid) (PAA) as a function of pH. *Soft Matter*, 9, 1920-1928.
- ANAND, R., MALANGA, M., MANET, I., MANOLI, F., TUZA, K., AYKAC, A., LADAVIERE, C., FENYVESI, E., VARGAS-BERENGUEL, A., GREF, R. & MONTI, S. 2013. Citric acid-[gamma]-cyclodextrin crosslinked oligomers as carriers for doxorubicin delivery. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 12, 1841-1854.
- ANAND, V., KANDARAPU, R. & GARG, S. 2001. Ion-exchange resins: carrying drug delivery forward. *Drug Discovery Today*, 6, 905-914.
- ANGELATOS, A. S., RADT, B. & CARUSO, F. 2005. Light-Responsive Polyelectrolyte/Gold Nanoparticle Microcapsules. *The Journal of Physical Chemistry B*, 109, 3071-3076.
- ANNAPOORANI, G. 2013. Recent Developments in Medical Textiles Implantable Devices – An Overview. *GLOBAL RESEARCH ANALYSIS*, 2, 4.
- ANSARI, K., VAVIA, P., TROTTA, F. & CAVALLI, R. 2011. Cyclodextrin-Based Nanosponges for Delivery of Resveratrol: In Vitro Characterisation, Stability, Cytotoxicity and Permeation Study. *AAPS PharmSciTech*, 12, 279-286.
- ANZAI, J.-I., KOBAYASHI, Y. & NAKAMURA, N. 1998. Alternate deposition of concanavalin A and mannose-labelled enzymes on a solid surface to prepare catalytically active enzyme thin films. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*, 461-462.
- ANZAI, J.-I. & NISHIMURA, M. 1997. Layer-by-layer deposition of avidin and polymers on a solid surface to prepare thin films: significant effects of molecular geometry of the polymers on the deposition behaviour. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*, 1887-1889.
- ARIGA, K., NAKANISHI, T. & MICHINOBU, T. 2006. Immobilization of Biomaterials to Nano-Assembled Films (Self-Assembled Monolayers, Langmuir-Blodgett Films, and Layer-by-Layer Assemblies) and Their Related Functions. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 6, 2278-2301.
- ARIKAWA, Y., SERIZAWA, T., MUKOSE, T., KIMURA, Y. & AKASHI, M. 2006. Layer-by-Layer Crystallization of Enantiomeric Poly(lactide)s. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 6, 3863-3866.
- ARIKAWA, Y., SERIZAWA, T., MUKOSE, T., KIMURA, Y. & AKASHI, M. 2007. Controlled degradation of porous poly(lactide) stereocomplex films prepared by the selective extraction of co-assembled poly(vinyl alcohol). *Polymer Bulletin*, 58, 703-709.
- ASTRAY, G., GONZALEZ-BARREIRO, C., MEJUTO, J. C., RIAL-OTERO, R. & SIMAL-GÁNDARA, J. 2009. A review on the use of cyclodextrins in foods. *Food Hydrocolloids*, 23, 1631-1640.
- BADRUDDOZA, A. Z. M., SHAWON, Z. B. Z., TAY, W. J. D., HIDAJAT, K. & UDDIN, M. S. 2013. Fe₃O₄/cyclodextrin polymer nanocomposites for selective heavy metals removal from industrial wastewater. *Carbohydrate Polymers*, 91, 322-332.
- BAKKOUR, Y., VERMEERSCH, G., MORCELLET, M., BOSCHIN, F., MARTEL, B. & AZAROUAL, N. 2006. Formation of Cyclodextrin Inclusion Complexes with Doxycycline-Hyclate: NMR Investigation of Their Characterisation and Stability. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 54, 109-114.
- BARKER, S. L. R., ROSS, D., TARLOV, M. J., GAITAN, M. & LOCASCIO, L. E. 2000. Control of Flow Direction in Microfluidic Devices with Polyelectrolyte Multilayers. *Analytical Chemistry*, 72, 5925-5929.

- BENDORAITIENE, J., KAVALIAUSKAITE, R., KLIMAVICIUTE, R. & ZEMAITAITIS, A. 2006. Peculiarities of Starch Cationization with Glycidyltrimethylammonium Chloride. *Starch - Stärke*, 58, 623-631.
- BENKIRANE-JESSEL, N., SCHWINTÉ, P., FALVEY, P., DARCY, R., HAÏKEL, Y., SCHAAF, P., VOEGEL, J. C. & OGIER, J. 2004. Build-up of Polypeptide Multilayer Coatings with Anti-Inflammatory Properties Based on the Embedding of Piroxicam–Cyclodextrin Complexes. *Advanced Functional Materials*, 14, 174-182.
- BERG, M. C., ZHAI, L., COHEN, R. E. & RUBNER, M. F. 2006. Controlled Drug Release from Porous Polyelectrolyte Multilayers. *Biomacromolecules*, 7, 357-364.
- BERNSMANN, F., RICHERT, L., SENGER, B., LAVALLE, P., VOEGEL, J.-C., SCHAAF, P. & BALL, V. 2008. Use of dopamine polymerisation to produce free-standing membranes from (PLL-HA)_n exponentially growing multilayer films. *Soft Matter*, 4, 1621-1624.
- BERTO, S., BRUZZONITI, M. C., CAVALLI, R., PERRACHON, D., PRENESTI, E., SARZANINI, C., TROTTA, F. & TUMIATTI, W. 2007. Highly crosslinked ionic β -cyclodextrin polymers and their interaction with heavy metals. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 57, 637-643.
- BÉTARD, A. & FISCHER, R. A. 2012. Metal–Organic Framework Thin Films: From Fundamentals to Applications. *Chemical Reviews*, 112, 1055-1083.
- BINDER, W. H. & MENGER, F. M. 1996. Heptakis-6-amino-6-deoxy- β -cyclodextrin as a catalyst for H/D exchange. *Tetrahedron Letters*, 37, 8963-8966.
- BINELLO, A., ROBALDO, B., BARGE, A., CAVALLI, R. & CRAVOTTO, G. 2008. Synthesis of cyclodextrin-based polymers and their use as debittering agents. *Journal of Applied Polymer Science*, 107, 2549-2557.
- BINKOWSKI-MACHUT, C., HAPIOT, F., MARTIN, P., CECHELLI, R. & MONFLIER, E. 2006. How cyclodextrins can mask their toxic effect on the blood–brain barrier. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 16, 1784-1787.
- BLACH, P., FOURMENTIN, S., LANDY, D., CAZIER, F. & SURPATEANU, G. 2008. Cyclodextrins: A new efficient absorbent to treat waste gas streams. *Chemosphere*, 70, 374-380.
- BLANCHEMAIN, N., HAULON, S., BOSCHIN, F., MARCON-BACHARI, E., TRAISNEL, M., MORCELLET, M., HILDEBRAND, H. F. & MARTEL, B. 2007a. Vascular prostheses with controlled release of antibiotics: Part 1: Surface modification with cyclodextrins of PET prostheses. *Biomolecular Engineering*, 24, 149-153.
- BLANCHEMAIN, N., HAULON, S., BOSCHIN, F., TRAISNEL, M., MORCELLET, M., MARTEL, B. & HILDEBRAND, H. F. 2007b. Vascular prostheses with controlled release of antibiotics: Part 2. In vitro biological evaluation of vascular prostheses treated by cyclodextrins. *Biomolecular Engineering*, 24, 143-148.
- BLANCHEMAIN, N., HAULON, S., MARTEL, B., TRAISNEL, M., MORCELLET, M. & HILDEBRAND, H. F. 2005. Vascular PET Prostheses Surface Modification with Cyclodextrin Coating: Development of a New Drug Delivery System. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*, 29, 628-632.
- BLANCHEMAIN, N., KARROUT, Y., TABARY, N., BRIA, M., NEUT, C., HILDEBRAND, H. F., SIEPMANN, J. & MARTEL, B. 2012. Comparative study of vascular prostheses coated with polycyclodextrins for controlled ciprofloxacin release. *Carbohydrate Polymers*, 90, 1695-1703.
- BLANCHEMAIN, N., LAURENT, T., CHAI, F., NEUT, C., HAULON, S., KRUMP-KONVALINKOVA, V., MORCELLET, M., MARTEL, B., KIRKPATRICK, C. J. & HILDEBRAND, H. F. 2008. Polyester vascular prostheses coated with a cyclodextrin polymer and activated with antibiotics: Cytotoxicity and microbiological evaluation. *Acta Biomaterialia*, 4, 1725-1733.
- BORGES, J. & MANO, J. F. 2014. Molecular Interactions Driving the Layer-by-Layer Assembly of Multilayers. *Chemical Reviews*, 114, 8883-8942.
- BOSCHIN, F., BLANCHEMAIN, N., BRIA, M., DELCOURT-DEBRUYNE, E., MORCELLET, M., HILDEBRAND, H. F. & MARTEL, B. 2006. Improved drug delivery properties of PVDF

- membranes functionalized with β -cyclodextrin—Application to guided tissue regeneration in periodontology. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 79A, 78-85.
- BOUDOU, T., CROUZIER, T., AUZÉLY-VELTY, R., GLINEL, K. & PICART, C. 2009. Internal Composition versus the Mechanical Properties of Polyelectrolyte Multilayer Films: The Influence of Chemical Cross-Linking. *Langmuir*, 25, 13809-13819.
- BOUDOU, T., CROUZIER, T., REN, K., BLIN, G. & PICART, C. 2010. Multiple Functionalities of Polyelectrolyte Multilayer Films: New Biomedical Applications. *Advanced Materials*, 22, 441-467.
- BOULMEDAIS, F., FRISCH, B., ETIENNE, O., LAVALLE, P., PICART, C., OGIER, J., VOEGEL, J. C., SCHAAF, P. & EGLES, C. 2004. Polyelectrolyte multilayer films with pegylated polypeptides as a new type of anti-microbial protection for biomaterials. *Biomaterials*, 25, 2003-2011.
- BOULMEDAIS, F., TANG, C. S., KELLER, B. & VÖRÖS, J. 2006. Controlled Electrodissolution of Polyelectrolyte Multilayers: A Platform Technology Towards the Surface-Initiated Delivery of Drugs. *Advanced Functional Materials*, 16, 63-70.
- BOURA, C., MENU, P., PAYAN, E., PICART, C., VOEGEL, J. C., MULLER, S. & STOLTZ, J. F. 2003. Endothelial cells grown on thin polyelectrolyte multilayered films: an evaluation of a new versatile surface modification. *Biomaterials*, 24, 3521-3530.
- BOURDILLON, C., DEMAILLE, C., MOIROUX, J. & SAVEANT, J.-M. 1994. Step-by-Step Immunological Construction of a Fully Active Multilayer Enzyme Electrode. *Journal of the American Chemical Society*, 116, 10328-10329.
- BOURDILLON, C., DEMAILLE, C., MOIROUX, J. & SAVEANT, J.-M. 1995. Catalysis and Mass Transport in Spatially Ordered Enzyme Assemblies on Electrodes. *Journal of the American Chemical Society*, 117, 11499-11506.
- BRESLOW, R. & DONG, S. D. 1998. Biomimetic Reactions Catalyzed by Cyclodextrins and Their Derivatives. *Chemical Reviews*, 98, 1997-2012.
- BRESLOW, R. & ZHANG, B. 1992. Very fast ester hydrolysis by a cyclodextrin dimer with a catalytic linking group. *Journal of the American Chemical Society*, 114, 5882-5883.
- BRYNDA, E. & HOUSKA, M. 1996. Multiple Alternating Molecular Layers of Albumin and Heparin on Solid Surfaces. *Journal of Colloid and Interface Science*, 183, 18-25.
- BUCHMANN, H.-J., KNITTEL, D. & SCHOLLMEYER, E. 1996. Möglichkeiten des Einsatzes von Cyclodextrin-Farbstoffkomplexen in Färbeprozessen. *Textilveredlung*, 31, 115-116.
- BUDANOVA, N., SHAPOVALOVA, E., LOPATIN, S., VARLAMOV, V. & SHPIGUN, O. 2004. Heptakis(6-amino-6-deoxy)- β -cyclodextrin as a chiral selector for the separation of anionic analyte enantiomers by capillary electrophoresis. *ELECTROPHORESIS*, 25, 2795-2800.
- BÜSCHER, K., GRAF, K., AHRENS, H. & HELM, C. A. 2002. Influence of Adsorption Conditions on the Structure of Polyelectrolyte Multilayers. *Langmuir*, 18, 3585-3591.
- BUTTERFIELD, M. T., AGBARIA, R. A. & WARNER, I. M. 1996. Extraction of Volatile PAHs from Air by Use of Solid Cyclodextrin. *Analytical Chemistry*, 68, 1187-1190.
- CADO, G., ASLAM, R., SÉON, L., GARNIER, T., FABRE, R., PARAT, A., CHASSEPOT, A., VOEGEL, J. C., SENGER, B., SCHNEIDER, F., FRÈRE, Y., JIERRY, L., SCHAAF, P., KERDJOUJ, H., METZ-BOUTIGUE, M. H. & BOULMEDAIS, F. 2013. Self-Defensive Biomaterial Coating Against Bacteria and Yeasts: Polysaccharide Multilayer Film with Embedded Antimicrobial Peptide. *Advanced Functional Materials*, 23, 4801-4809.
- CARUSO, F., FURLONG, D. N., ARIGA, K., ICHINOSE, I. & KUNITAKE, T. 1998. Characterization of Polyelectrolyte-Protein Multilayer Films by Atomic Force Microscopy, Scanning Electron Microscopy, and Fourier Transform Infrared Reflection-Absorption Spectroscopy. *Langmuir*, 14, 4559-4565.
- CASTLEBERRY, S. A., LI, W., DENG, D., MAYNER, S. & HAMMOND, P. T. 2014. Capillary Flow Layer-by-Layer: A Microfluidic Platform for the High-Throughput Assembly and Screening of Nanolayered Film Libraries. *ACS Nano*, 8, 6580-6589.
- CHAUBAROUX, C., VRANA, E., DEBRY, C., SCHAAF, P., SENGER, B., VOEGEL, J.-C., HAIKEL, Y., RINGWALD, C., HEMMERLÉ, J., LAVALLE, P. & BOULMEDAIS, F. 2012. Collagen-Based Fibrillar Multilayer Films Cross-Linked by a Natural Agent. *Biomacromolecules*, 13, 2128-2135.

- CHEETHAM, A. K., RAO, C. N. R. & FELLER, R. K. 2006. Structural diversity and chemical trends in hybrid inorganic-organic framework materials. *Chemical Communications*, 4780-4795.
- CHEN, K.-S., TSAI, J.-C., CHOU, C.-W., YANG, M.-R. & YANG, J.-M. 2002. Effects of additives on the photo-induced grafting polymerization of N-isopropylacrylamide gel onto PET film and PP nonwoven fabric surface. *Materials Science and Engineering: C*, 20, 203-208.
- CHEN, P., WANG, X., DONG, Y. & HU, X. 2015. Development of a Layer-by-Layer Assembled Film on Hydrogel for Ocular Drug Delivery. *International Journal of Polymer Science*, 2015, 9.
- CHEN, X., WU, W., GUO, Z., XIN, J. & LI, J. 2011. Controlled insulin release from glucose-sensitive self-assembled multilayer films based on 21-arm star polymer. *Biomaterials*, 32, 1759-1766.
- CHISHOLM, C. D. & WENZEL, T. J. 2011. Enantiomeric discrimination of aromatic-containing anionic substrates using cationic cyclodextrins. *Tetrahedron: Asymmetry*, 22, 62-68.
- CHLUBA, J., VOEGEL, J.-C., DECHER, G., ERBACHER, P., SCHAAF, P. & OGIER, J. 2001. Peptide Hormone Covalently Bound to Polyelectrolytes and Embedded into Multilayer Architectures Conserving Full Biological Activity. *Biomacromolecules*, 2, 800-805.
- CHO, J., GRANT, J., PIQUETTE-MILLER, M. & ALLEN, C. 2006. Synthesis and Physicochemical and Dynamic Mechanical Properties of a Water-Soluble Chitosan Derivative as a Biomaterial. *Biomacromolecules*, 7, 2845-2855.
- COCHIN, D. & LASCHEWSKY, A. 1999. Layer-by-layer self-assembly of hydrophobically modified polyelectrolytes. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 200, 609-615.
- CONNAL, L. A., KINNANE, C. R., ZELIKIN, A. N. & CARUSO, F. 2009. Stabilization and Functionalization of Polymer Multilayers and Capsules via Thiol-Ene Click Chemistry. *Chemistry of Materials*, 21, 576-578.
- CORTI, G., CIRRI, M., MAESTRELLI, F., MENNINI, N. & MURA, P. 2008. Sustained-release matrix tablets of metformin hydrochloride in combination with triacetyl- β -cyclodextrin. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 68, 303-309.
- CRESPO-BIEL, O., DORDI, B., REINHOUDT, D. N. & HUSKENS, J. 2005. Supramolecular Layer-by-Layer Assembly: Alternating Adsorptions of Guest- and Host-Functionalized Molecules and Particles Using Multivalent Supramolecular Interactions. *Journal of the American Chemical Society*, 127, 7594-7600.
- CRINI, G. 2005. Recent developments in polysaccharide-based materials used as adsorbents in wastewater treatment. *Progress in Polymer Science*, 30, 38-70.
- CRINI, G., COSENTINO, C., BERTINI, S., NAGGI, A., TORRI, G., VECCHI, C., JANUS, L. & MORCELLET, M. 1998. Solid state NMR spectroscopy study of molecular motion in cyclomaltoheptaose (β -cyclodextrin) crosslinked with epichlorohydrin. *Carbohydrate Research*, 308, 37-45.
- CRINI, G. & MORCELLET, M. 2002. Synthesis and applications of adsorbents containing cyclodextrins. *Journal of Separation Science*, 25, 789-813.
- CRINI, G., TORRI, G., LEKCHIRI, Y., MARTEL, B., JANUS, L. & MORCELLET, M. 1995. High performance liquid chromatography of structural isomers using a cyclodextrin-poly(allylamine) coated silica column. *Chromatographia*, 41, 424-430.
- CRUPI, V., MAJOLINO, D., VENUTI, V., GUELLA, G., MANCINI, I., ROSSI, B., VERROCCHIO, P., VILIANI, G. & STANCANELLI, R. 2010. Temperature Effect on the Vibrational Dynamics of Cyclodextrin Inclusion Complexes: Investigation by FTIR-ATR Spectroscopy and Numerical Simulation. *The Journal of Physical Chemistry A*, 114, 6811-6817.
- CRYAN, S.-A., HOLOHAN, A., DONOHUE, R., DARCY, R. & O'DRISCOLL, C. M. 2004. Cell transfection with polycationic cyclodextrin vectors. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 21, 625-633.
- CSEHATI, T., FENYVESI, E. & SLEJTIL, J. 1992. Interaction of nonylphenyl and tributylphenyl ethylene oxide ionic surfactants with highly soluble cyclodextrin derivatives. *Journal of inclusion phenomena and molecular recognition in chemistry*, 14, 181-188.
- CUI, D., JING, J., BOUDOU, T., PIGNOT-PAINTRAND, I., DE KOKER, S., DE GEEST, B. G., PICART, C. & AUZÉLY-VELTY, R. 2011. Hydrophobic Shell Loading of Biopolyelectrolyte Capsules. *Advanced Materials*, 23, H200-H204.

- CUI, D., SZARPAK, A., PIGNOT-PAINTRAND, I., VARROT, A., BOUDOU, T., DETREMBLEUR, C., JÉRÔME, C., PICART, C. & AUZÉLY-VELTY, R. 2010. Contact-Killing Polyelectrolyte Microcapsules Based on Chitosan Derivatives. *Advanced Functional Materials*, 20, 3303-3312.
- CZAJA, A. U., TRUKHAN, N. & MULLER, U. 2009. Industrial applications of metal-organic frameworks. *Chemical Society Reviews*, 38, 1284-1293.
- DAI, J., JENSEN, A. W., MOHANTY, D. K., ERNDT, J. & BRUENING, M. L. 2001. Controlling the Permeability of Multilayered Polyelectrolyte Films through Derivatization, Cross-Linking, and Hydrolysis. *Langmuir*, 17, 931-937.
- DANDEKAR, P., JAIN, R., KEIL, M., LORETZ, B., MUIJS, L., SCHNEIDER, M., AUERBACH, D., JUNG, G., LEHR, C.-M. & WENZ, G. 2012. Cellular delivery of polynucleotides by cationic cyclodextrin polyrotaxanes. *Journal of Controlled Release*, 164, 387-393.
- DANEL, C., AZAROUAL, N., CHAVARIA, C., ODOU, P., MARTEL, B. & VACCHER, C. 2013. Comparative study of the complex forming ability and enantioselectivity of cyclodextrin polymers by CE and ¹H NMR. *Carbohydrate Polymers*, 92, 2282-2292.
- DAVIS, M. & BELLOCQ, N. 2002. Cyclodextrin-Containing Polymers for Gene Delivery. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 44, 17-22.
- DE BOER, A. & CHALLA, G. 1976. Association of stereoregular poly(methyl methacrylates): 3. Thermal behaviour and composition of stereocomplex. *Polymer*, 17, 633-637.
- DECHER, G. 1997. Fuzzy Nanoassemblies: Toward Layered Polymeric Multicomposites. *Science*, 277, 1232-1237.
- DECHER, G., ECKLE, M., SCHMITT, J. & STRUTH, B. 1998. Layer-by-layer assembled multicomposite films. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 3, 32-39.
- DECHER, G., HÖNG, J. D. & SCHMITT, J. 1992. Buildup of ultrathin multilayer films by a self-assembly process: III. Consecutively alternating adsorption of anionic and cationic polyelectrolytes on charged surfaces. *Thin Solid Films*, 210-211, Part 2, 831-835.
- DEGOUTIN, S., SAFFRE, C., RUFFIN, D., BACQUET, M. & MARTEL, B. 2015. Metallic Pollutant Removal in Leachates Extracted from Sediment by Geotextiles Based on Crosslinked Bio-Sourced Polymers. *Revue des sciences de l'eau / Journal of Water Science*, 28, 6.
- DELCORTE, A., BERTRAND, P., ARYS, X., JONAS, A., WISCHERHOFF, E., MAYER, B. & LASCHEWSKY, A. 1996. ToF-SIMS study of alternate polyelectrolyte thin films: Chemical surface characterization and molecular secondary ions sampling depth. *Surface Science*, 366, 149-165.
- DELCORTE, A., BERTRAND, P., WISCHERHOFF, E. & LASCHEWSKY, A. 1997. Adsorption of Polyelectrolyte Multilayers on Polymer Surfaces. *Langmuir*, 13, 5125-5136.
- DENG, J., LIU, X., MA, L., CHENG, C., SHI, W., NIE, C. & ZHAO, C. 2014. Heparin-Mimicking Multilayer Coating on Polymeric Membrane via LbL Assembly of Cyclodextrin-Based Supramolecules. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 6, 21603-21614.
- DENTER, U., BUSCHMANN, H.-J., KNITTEL, D. & SCHOLLMMEYER, E. 1997. Verfahrenstechnische Methoden zur permanenten Fixierung von Cyclodextrinderivaten auf textilen Oberflächen. *Textilveredlung*, 32, 33-39.
- DERATANI, A., LELIÈVRE, G., MARALDO, T. & SÉBILLE, B. 1989. 2-hydroxy-3-trimethylammoniopropyl derivatives of cyclomaltoheptaose as phase-transfer catalysts. *Carbohydrate Research*, 192, 215-222.
- DERATANI, A., PÖPPING, B. & MULLER, G. 1995. Linear cyclodextrin-containing polyelectrolytes, 1. Synthesis of poly(1-vinylimidazole)-supported β -cyclodextrin. Effect of pH and ionic strength on the solution behaviour. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 196, 343-352.
- DETZEL, C. J., LARKIN, A. L. & RAJAGOPALAN, P. 2011. Polyelectrolyte Multilayers in Tissue Engineering. *Tissue Engineering. Part B, Reviews*, 17, 101-113.
- DRAGAN, E. S. & BUCATARIU, F. 2010. Cross-Linked Multilayers of Poly(vinyl amine) as a Single Component and Their Interaction with Proteins. *Macromolecular Rapid Communications*, 31, 317-322.

- DUBAS, S. T., KUMLANGDUDSANA, P. & POTIYARAJ, P. 2006. Layer-by-layer deposition of antimicrobial silver nanoparticles on textile fibers. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 289, 105-109.
- DUBAS, S. T. & SCHLENOFF, J. B. 1999. Factors Controlling the Growth of Polyelectrolyte Multilayers. *Macromolecules*, 32, 8153-8160.
- DUCOROY, L., BACQUET, M., MARTEL, B. & MORCELLET, M. 2008. Removal of heavy metals from aqueous media by cation exchange nonwoven PET coated with β -cyclodextrin-polycarboxylic moieties. *Reactive and Functional Polymers*, 68, 594-600.
- DUCOROY, L., MARTEL, B., BACQUET, B. & MORCELLET, M. 2007. Ion exchange textiles from the finishing of PET fabrics with cyclodextrins and citric acid for the sorption of metallic cations in water. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 57, 271-277.
- EL FAGUI, A., WINTGENS, V., GAILLET, C., DUBOT, P. & AMIEL, C. 2014. Layer-by-Layer Coated PLA Nanoparticles with Oppositely Charged β -Cyclodextrin Polymer for Controlled Delivery of Lipophilic Molecules. *Macromolecular Chemistry and Physics*, n/a-n/a.
- EL GHOUL, Y., BLANCHEMAIN, N., LAURENT, T., CAMPAGNE, C., EL ACHARI, A., ROUDESLI, S., MORCELLET, M., MARTEL, B. & HILDEBRAND, H. F. 2008. Chemical, biological and microbiological evaluation of cyclodextrin finished polyamide inguinal meshes. *Acta Biomaterialia*, 4, 1392-1400.
- EL GHOUL, Y., MARTEL, B., ACHARI, A. E., CAMPAGNE, C., RAZAFIMAHEFA, L. & VROMAN, I. 2010. Improved dyeability of polypropylene fabrics finished with [beta]-cyclodextrin-citric acid polymer. *Polym J*, 42, 804-811.
- EL HAITAMI, A. E., MARTEL, D., BALL, V., NGUYEN, H. C., GONTHIER, E., LABBÉ, P., VOEGEL, J.-C., SCHAAF, P., SENGER, B. & BOULMEDAIS, F. 2009. Effect of the Supporting Electrolyte Anion on the Thickness of PSS/PAH Multilayer Films and on Their Permeability to an Electroactive Probe. *Langmuir*, 25, 2282-2289.
- ELBERT, D. L., HERBERT, C. B. & HUBBELL, J. A. 1999. Thin Polymer Layers Formed by Polyelectrolyte Multilayer Techniques on Biological Surfaces. *Langmuir*, 15, 5355-5362.
- ELZBIECIAK, M., KOLASINSKA, M. & WARSZYNSKI, P. 2008. Characteristics of polyelectrolyte multilayers: The effect of polyion charge on thickness and wetting properties. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 321, 258-261.
- FARHAT, T. R. & SCHLENOFF, J. B. 2001. Ion Transport and Equilibria in Polyelectrolyte Multilayers. *Langmuir*, 17, 1184-1192.
- FENG, X., PELTON, R. & LEDUC, M. 2006. Mechanical Properties of Polyelectrolyte Complex Films Based on Polyvinylamine and Carboxymethyl Cellulose. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 45, 6665-6671.
- FENYVESI, É. 1988. Cyclodextrin polymers in the pharmaceutical industry. *Journal of inclusion phenomena*, 6, 537-545.
- FERRO, M., CASTIGLIONE, F., PUNTA, C., MELONE, L., PANZERI, W., ROSSI, B., TROTTA, F. & MELE, A. 2014. Anomalous diffusion of Ibuprofen in cyclodextrin nanosponge hydrogels: an HRMAS NMR study. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 10, 2715-2723.
- FLAHERTY, R. J., NSHIME, B., DELAMARRE, M., DEJONG, S., SCOTT, P. & LANTZ, A. W. 2013. Cyclodextrins as complexation and extraction agents for pesticides from contaminated soil. *Chemosphere*, 91, 912-920.
- FRANKLIN, J. E., MARLER, J. J., BYRNE, M. T., MELVIN, A. J., CLARSON, S. J. & MELVIN, D. B. 2009. Fiber technology for reliable repair of skeletal muscle. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 90B, 259-266.
- FROMHERZ, P. 1980. Assembling of Proteins at Lipid Monolayers. In: BAUMEISTER, W. & VOGELL, W. (eds.) *Electron Microscopy at Molecular Dimensions*. Springer Berlin Heidelberg.
- FU, J., JI, J., YUAN, W. & SHEN, J. 2005. Construction of anti-adhesive and antibacterial multilayer films via layer-by-layer assembly of heparin and chitosan. *Biomaterials*, 26, 6684-6692.
- FURUE, M., HARADA, A. & NOZAKURA, S.-I. 1975. Preparation of cyclodextrin-containing polymers and their catalysis in ester-hydrolysis. *Journal of Polymer Science: Polymer Letters Edition*, 13, 357-360.

- GARCÍA-FERNÁNDEZ, M. J., TABARY, N., MARTEL, B., CAZAUX, F., OLIVA, A., TABOADA, P., CONCHEIRO, A. & ALVAREZ-LORENZO, C. 2013. Poly-(cyclo)dextrins as ethoxzolamide carriers in ophthalmic solutions and in contact lenses. *Carbohydrate Polymers*, 98, 1343-1352.
- GARZA, J. M., SCHAAF, P., MULLER, S., BALL, V., STOLTZ, J.-F., VOEGEL, J.-C. & LAVALLE, P. 2004. Multicompartment Films Made of Alternate Polyelectrolyte Multilayers of Exponential and Linear Growth. *Langmuir*, 20, 7298-7302.
- GERGELY, C., BAHÍ, S., SZALONTAI, B., FLORES, H., SCHAAF, P., VOEGEL, J.-C. & CUISINIER, F. J. G. 2004. Human Serum Albumin Self-Assembly on Weak Polyelectrolyte Multilayer Films Structurally Modified by pH Changes. *Langmuir*, 20, 5575-5582.
- GIDWANI, B. & VYAS, A. 2014. Synthesis, characterization and application of Epichlorohydrin- β -cyclodextrin polymer. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 114, 130-137.
- GIGLIO, V., SGARLATA, C. & VECCHIO, G. 2015. Novel amino-cyclodextrin cross-linked oligomer as efficient carrier for anionic drugs: a spectroscopic and nanocalorimetric investigation. *RSC Advances*.
- GIL, E. S., LI, J., XIAO, H. & LOWE, T. L. 2009. Quaternary Ammonium β -Cyclodextrin Nanoparticles for Enhancing Doxorubicin Permeability across the In Vitro Blood-Brain Barrier. *Biomacromolecules*, 10, 505-516.
- GIMBERT, F., MORIN-CRINI, N., RENAULT, F., BADOT, P.-M. & CRINI, G. 2008. Adsorption isotherm models for dye removal by cationized starch-based material in a single component system: Error analysis. *Journal of Hazardous Materials*, 157, 34-46.
- GIORDANO, F., NOVAK, C. & MOYANO, J. R. 2001. Thermal analysis of cyclodextrins and their inclusion compounds. *Thermochimica Acta*, 380, 123-151.
- GIREK, T., SHIN, D. H. & LIM, S. T. 2000. Polymerization of β -cyclodextrin with maleic anhydride and structural characterization of the polymers. *Carbohydrate Polymers*, 42, 59-63.
- GODINEZ, L. A., PATEL, S., CRISS, C. M. & KAIFER, A. E. 1995. Calorimetric Studies on the Complexation of Several Ferrocene Derivatives by α - and β -Cyclodextrin. Effects of Urea on the Thermodynamic Parameters. *The Journal of Physical Chemistry*, 99, 17449-17455.
- GOLJA, B., ŠUMIGA, B. & FORTE TAVČER, P. 2013. Fragrant finishing of cotton with microcapsules: comparison between printing and impregnation. *Coloration Technology*, 129, 338-346.
- GONZALEZ, H., HWANG, S. J. & DAVIS, M. E. 1999. New Class of Polymers for the Delivery of Macromolecular Therapeutics. *Bioconjugate Chemistry*, 10, 1068-1074.
- GRIBOVA, V., AUZELY-VELTY, R. & PICART, C. 2011. Polyelectrolyte Multilayer Assemblies on Materials Surfaces: From Cell Adhesion to Tissue Engineering. *Chemistry of Materials*, 24, 854-869.
- GROENEBOER, S., PASTOUREAU, P., VIGNON, E., VANDER CRUYSSSEN, B., ELEWAUT, D. & VERBRUGGEN, G. 2008. Cyclodextrin polysulphate protects articular cartilage in experimental lapine knee osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, 16, 986-993.
- GRUIZ, K., FENYVESI, É., KRISTON, É., MOLNÁR, M. & HORVÁTH, B. 1996. Potential use of cyclodextrins in soil bioremediation. *Journal of inclusion phenomena and molecular recognition in chemistry*, 25, 233-236.
- GU, T., TSAI, G.-J. & TSAO, G. 2006. Synthesis of Rigid Cyclodextrin-Containing Polymeric Resins for Adsorption. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 56, 375-379.
- GUYOMARD, A., MULLER, G. & GLINEL, K. 2005. Buildup of Multilayers Based on Amphiphilic Polyelectrolytes. *Macromolecules*, 38, 5737-5742.
- HAMADA, K.-I., SERIZAWA, T., KITAYAMA, T., FUJIMOTO, N., HATADA, K. & AKASHI, M. 2001. Stepwise Stereocomplex Assembly of Isotactic Poly(methyl methacrylate) and Syndiotactic Poly(alkyl methacrylate)s on Surfaces. *Langmuir*, 17, 5513-5519.
- HAMMOND, P. T. 2012. Building biomedical materials layer-by-layer. *Materials Today*, 15, 196-206.
- HARADA, A., FURUE, M. & NOZAKURA, S.-I. 1976. Cyclodextrin-Containing Polymers. 1. Preparation of Polymers. *Macromolecules*, 9, 701-704.

- HARRIS, J. J., DEROSE, P. M. & BRUENING, M. L. 1999. Synthesis of Passivating, Nylon-Like Coatings through Cross-Linking of Ultrathin Polyelectrolyte Films. *Journal of the American Chemical Society*, 121, 1978-1979.
- HASSEL, O. 1970. Structural Aspects of Interatomic Charge-Transfer Bonding. *Science*, 170, 497-502.
- HEINZE, T., HAACK, V. & RENSING, S. 2004. Starch Derivatives of High Degree of Functionalization. 7. Preparation of Cationic 2-Hydroxypropyltrimethylammonium Chloride Starches. *Starch - Stärke*, 56, 288-296.
- HERBOIS, R., NOEL, S., LEGER, B., TILLOY, S., MENUUEL, S., ADDAD, A., MARTEL, B., PONCHEL, A. & MONFLIER, E. 2015. Ruthenium-containing [small beta]-cyclodextrin polymer globules for the catalytic hydrogenation of biomass-derived furanic compounds. *Green Chemistry*.
- HIGASHI, T., MOTOYAMA, K. & ARIMA, H. 2013. Cyclodextrin-Based Polyrotaxanes and Polypseudorotaxanes as Drug Delivery Carriers. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 23, 523-529.
- HILLBERG, A. L., HOLMES, C. A. & TABRIZIAN, M. 2009. Effect of genipin cross-linking on the cellular adhesion properties of layer-by-layer assembled polyelectrolyte films. *Biomaterials*, 30, 4463-4470.
- HIRAYAMA, F., MIEDA, S., MIYAMOTO, Y., ARIMA, H. & UEKAMA, K. 1999. Heptakis(2,6-di-O-methyl-3-O-acetyl)- β -cyclodextrin: A Water-Soluble cyclodextrin derivative with low hemolytic activity. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 88, 970-975.
- HOFMEISTER, F. 1888. Zur Lehre von der Wirkung der Salze. *Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie*, 24, 247-260.
- HOFMEISTER, F. 1890. 24. Zur Lehre von der Wirkung der Salze. *Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie*, 27, 395-413.
- HONG, X., LI, J., WANG, M., XU, J., GUO, W., LI, J., BAI, Y. & LI, T. 2004. Fabrication of Magnetic Luminescent Nanocomposites by a Layer-by-Layer Self-assembly Approach. *Chemistry of Materials*, 16, 4022-4027.
- HOU, S., WANG, J. & MARTIN, C. R. 2005. Template-Synthesized DNA Nanotubes. *Journal of the American Chemical Society*, 127, 8586-8587.
- HUANG, Z., CHEN, X., LI, Y., CHEN, J., LIN, J., WANG, J., LEI, J. & CHEN, R. 2013. Quantitative Determination of Citric Acid in Seminal Plasma by Using Raman Spectroscopy. *Applied Spectroscopy*, 67, 757-760.
- HÜBSCH, E., BALL, V., SENGER, B., DECHER, G., VOEGEL, J.-C. & SCHAAF, P. 2004. Controlling the Growth Regime of Polyelectrolyte Multilayer Films: Changing from Exponential to Linear Growth by Adjusting the Composition of Polyelectrolyte Mixtures. *Langmuir*, 20, 1980-1985.
- HUISGEN, R. 1963a. 1,3-Dipolar Cycloadditions. Past and Future. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 2, 565-598.
- HUISGEN, R. 1963b. 1,3-Dipolare Cycloadditionen Rückschau und Ausblick. *Angewandte Chemie*, 75, 604-637.
- IKEDA, H. 2010. Fluorescent Cyclodextrins as Chemosensors for Molecule Detection in Water. *Artificial Receptors for Chemical Sensors*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- IRIE, T. & UEKAMA, K. 1997. Pharmaceutical applications of cyclodextrins. III. Toxicological issues and safety evaluation. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 86, 147-162.
- JAKUBETZ, H., JUZA, M. & SCHURIG, V. 1997. Electrokinetic chromatography employing an anionic and a cationic β -cyclodextrin derivative. *ELECTROPHORESIS*, 18, 897-904.
- JANG, H., KIM, S. & CHAR, K. 2003. Multilayer Line Micropatterning Using Convective Self-Assembly in Microfluidic Channels. *Langmuir*, 19, 3094-3097.
- JASKARI, T., VUORIO, M., KONTTURI, K., MANZANARES, J. A. & HIRVONEN, J. 2001. Ion-exchange fibers and drugs: an equilibrium study. *Journal of Controlled Release*, 70, 219-229.
- JENKINS, D. W., EL-TAHLAWY, K., EL-SHAFAI, A., FREEMAN, H. S. & HUDSON, S. M. 2006. Use of γ -cyclodextrin/epichlorohydrin polymer in merging fabric formation and coloration processes. *Coloration Technology*, 122, 345-349.

- JEONG, S. H. & PARK, K. 2008. Drug loading and release properties of ion-exchange resin complexes as a drug delivery matrix. *International Journal of Pharmaceutics*, 361, 26-32.
- JESSEL, N., OULAD-ABDELGHANI, M., MEYER, F., LAVALLE, P., HAÏKEL, Y., SCHAAP, P. & VOEGEL, J.-C. 2006. Multiple and time-scheduled in situ DNA delivery mediated by β -cyclodextrin embedded in a polyelectrolyte multilayer. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103, 8618-8621.
- JESSEL, N. B., SCHWINTÉ, P., DONOHUE, R., LAVALLE, P., BOULMEDAIS, F., DARCY, R., SZALONTAI, B., VOEGEL, J. C. & OGIER, J. 2004. Pyridylamino- β -cyclodextrin as a Molecular Chaperone for Lipopolysaccharide Embedded in a Multilayered Polyelectrolyte Architecture. *Advanced Functional Materials*, 14, 963-969.
- JIANG, C., MARKUTSYA, S. & TSUKRUK, V. V. 2004. Compliant, Robust, and Truly Nanoscale Free-Standing Multilayer Films Fabricated Using Spin-Assisted Layer-by-Layer Assembly. *Advanced Materials*, 16, 157-161.
- JIN, L. J. & LI, S. F. Y. 1998. Comparison of chiral recognition capabilities of cyclodextrins for the separation of basic drugs in capillary zone electrophoresis. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 708, 257-266.
- JOHANSSON, J. Å., HALTHUR, T., HERRANEN, M., SÖDERBERG, L., ELOFSSON, U. & HILBORN, J. 2005. Build-up of Collagen and Hyaluronic Acid Polyelectrolyte Multilayers. *Biomacromolecules*, 6, 1353-1359.
- JOHNSTON, A. P. R., MITOMO, H., READ, E. S. & CARUSO, F. 2006. Compositional and Structural Engineering of DNA Multilayer Films. *Langmuir*, 22, 3251-3258.
- JOHNSTON, A. P. R., READ, E. S. & CARUSO, F. 2005. DNA Multilayer Films on Planar and Colloidal Supports: Sequential Assembly of Like-Charged Polyelectrolytes. *Nano Letters*, 5, 953-956.
- JOSHI, M., KHANNA, R., SHEKHAR, R. & JHA, K. 2011. Chitosan nanocoating on cotton textile substrate using layer-by-layer self-assembly technique. *Journal of Applied Polymer Science*, 119, 2793-2799.
- JOUDIEH, S., BON, P., MARTEL, B., SKIBA, M. & LAHIANI-SKIBA, M. 2009. Cyclodextrin Polymers as Efficient Solubilizers of Albendazole: Complexation and Physico-Chemical Characterization. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 9, 132-140.
- JUG, M., KOSALEC, I., MAESTRELLI, F. & MURA, P. 2011. Analysis of triclosan inclusion complexes with β -cyclodextrin and its water-soluble polymeric derivative. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 54, 1030-1039.
- JUG, M., KOSALEC, I., MAESTRELLI, F. & MURA, P. 2012. Development of low methoxy amidated pectin-based mucoadhesive patches for buccal delivery of triclosan: Effect of cyclodextrin complexation. *Carbohydrate Polymers*, 90, 1794-1803.
- JUG, M., MAESTRELLI, F., BRAGAGNI, M. & MURA, P. 2010. Preparation and solid-state characterization of bupivacaine hydrochloride cyclodextrin complexes aimed for buccal delivery. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 52, 9-18.
- JUNTHIP, J., TABARY, N., LECLERCQ, L. & MARTEL, B. 2015. Cationic β -cyclodextrin polymer applied to a dual cyclodextrin polyelectrolyte multilayer system. *Carbohydrate Polymers*, 126, 156-167.
- KAMEI, D., AJIRO, H. & AKASHI, M. 2009. Morphological changes of isotactic poly(methyl methacrylate) thin films via self-organization and stereocomplex formation. *Polym J*, 42, 131-137.
- KATAYAMA, H., ISHIHAMA, Y. & ASAKAWA, N. 1998. Stable Cationic Capillary Coating with Successive Multiple Ionic Polymer Layers for Capillary Electrophoresis. *Analytical Chemistry*, 70, 5272-5277.
- KAVALIAUSKAITE, R., KLIMAVICIUTE, R. & ZEMAITAITIS, A. 2008. Factors influencing production of cationic starches. *Carbohydrate Polymers*, 73, 665-675.
- KHALIL, I. A., KOGURE, K., AKITA, H. & HARASHIMA, H. 2006. Uptake Pathways and Subsequent Intracellular Trafficking in Nonviral Gene Delivery. *Pharmacological Reviews*, 58, 32-45.
- KHARLAMPIEVA, E. & SUKHISHVILI, S. A. 2003. Ionization and pH Stability of Multilayers Formed by Self-Assembly of Weak Polyelectrolytes. *Langmuir*, 19, 1235-1243.

- KHARLAMPIEVA, E. & SUKHISHVILI, S. A. 2004. Release of a Dye from Hydrogen-Bonded and Electrostatically Assembled Polymer Films Triggered by Adsorption of a Polyelectrolyte. *Langmuir*, 20, 9677-9685.
- KIDA, T., MOURI, M. & AKASHI, M. 2006. Fabrication of Hollow Capsules Composed of Poly(methyl methacrylate) Stereocomplex Films. *Angewandte Chemie International Edition*, 45, 7534-7536.
- KIDA, T., MOURI, M., KONDO, K. & AKASHI, M. 2012. Controlled Release Using a Polymer Stereocomplex Capsule through the Selective Extraction and Incorporation of One Capsule Shell Component. *Langmuir*, 28, 15378-15384.
- KILAN, K. & WARSZYŃSKI, P. 2014. Thickness and permeability of multilayers containing alginate cross-linked by calcium ions. *Electrochimica Acta*, 144, 254-262.
- KIM, B.-S., PARK, S. W. & HAMMOND, P. T. 2008. Hydrogen-Bonding Layer-by-Layer-Assembled Biodegradable Polymeric Micelles as Drug Delivery Vehicles from Surfaces. *ACS Nano*, 2, 386-392.
- KIM, M. & SAITO, K. 1999. Preparation of silver-ion-loaded nonwoven fabric by radiation-induced graft polymerization. *Reactive and Functional Polymers*, 40, 275-279.
- KINNANE, C. R., WARK, K., SUCH, G. K., JOHNSTON, A. P. R. & CARUSO, F. 2009. Peptide-Functionalized, Low-Biofouling Click Multilayers for Promoting Cell Adhesion and Growth. *Small*, 5, 444-448.
- KIYONO, R., KOOPS, G. H., WESSLING, M. & STRATHMANN, H. 2004. Mixed matrix microporous hollow fibers with ion-exchange functionality. *Journal of Membrane Science*, 231, 109-115.
- KOHATA, S., JYODOI, K. & OHYOSHI, A. 1993. Thermal decomposition of cyclodextrins (α -, β -, γ -, and modified β -CyD) and of metal—(β -CyD) complexes in the solid phase. *Thermochimica Acta*, 217, 187-198.
- KOLLMAN, P. 1977. A general analysis of noncovalent intermolecular interactions. *Journal of the American Chemical Society*, 99, 4875-4894.
- KOTOV, N. A. 1999. Layer-by-layer self-assembly: The contribution of hydrophobic interactions. *Nanostructured Materials*, 12, 789-796.
- KRENO, L. E., LEONG, K., FARHA, O. K., ALLENDORF, M., VAN DUYN, R. P. & HUPP, J. T. 2012. Metal–Organic Framework Materials as Chemical Sensors. *Chemical Reviews*, 112, 1105-1125.
- KUPPLER, R. J., TIMMONS, D. J., FANG, Q.-R., LI, J.-R., MAKAL, T. A., YOUNG, M. D., YUAN, D., ZHAO, D., ZHUANG, W. & ZHOU, H.-C. 2009. Potential applications of metal-organic frameworks. *Coordination Chemistry Reviews*, 253, 3042-3066.
- KURRAT, R., PRENOSIL, J. E. & RAMSDEN, J. J. 1997. Kinetics of Human and Bovine Serum Albumin Adsorption at Silica–Titania Surfaces. *Journal of Colloid and Interface Science*, 185, 1-8.
- KURRAT, R., WÄLIVAARA, B., MARTI, A., TEXTOR, M., TENGVALL, P., RAMSDEN, J. J. & SPENCER, N. D. 1998. Plasma protein adsorption on titanium: comparative in situ studies using optical waveguide lightmode spectroscopy and ellipsometry. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 11, 187-201.
- LADAM, G., SCHAAD, P., VOEGEL, J. C., SCHAAF, P., DECHER, G. & CUISINIER, F. 2000. In Situ Determination of the Structural Properties of Initially Deposited Polyelectrolyte Multilayers. *Langmuir*, 16, 1249-1255.
- LADAM, G., SCHAAF, P., CUISINIER, F. J. G., DECHER, G. & VOEGEL, J.-C. 2001. Protein Adsorption onto Auto-Assembled Polyelectrolyte Films. *Langmuir*, 17, 878-882.
- LADAM, G., SCHAAF, P., DECHER, G., VOEGEL, J.-C. & CUISINIER, F. J. G. 2002. Protein adsorption onto auto-assembled polyelectrolyte films. *Biomolecular Engineering*, 19, 273-280.
- LANDINI, D., MAIA, A. & RAMPOLDI, A. 1986. Stability of quaternary onium salts under phase-transfer conditions in the presence of aqueous alkaline solutions. *The Journal of Organic Chemistry*, 51, 3187-3191.
- LANDY, D., MALLARD, I., PONCHEL, A., MONFLIER, E. & FOURMENTIN, S. 2012. Cyclodextrins for Remediation Technologies. In: LICHTFOUSE, E., SCHWARZBAUER, J.

- & ROBERT, D. (eds.) *Environmental Chemistry for a Sustainable World*. Springer Netherlands.
- LAURENT, T., KACEM, I., BLANCHEMAIN, N., CAZAUX, F., NEUT, C., HILDEBRAND, H. F. & MARTEL, B. 2011. Cyclodextrin and maltodextrin finishing of a polypropylene abdominal wall implant for the prolonged delivery of ciprofloxacin. *Acta Biomaterialia*, 7, 3141-3149.
- LAVALLE, P., GERGELY, C., CUISINIER, F. J. G., DECHER, G., SCHAAF, P., VOEGEL, J. C. & PICART, C. 2002. Comparison of the Structure of Polyelectrolyte Multilayer Films Exhibiting a Linear and an Exponential Growth Regime: An in Situ Atomic Force Microscopy Study. *Macromolecules*, 35, 4458-4465.
- LAVALLE, P., PICART, C., MUTTERER, J., GERGELY, C., REISS, H., VOEGEL, J.-C., SENGER, B. & SCHAAF, P. 2004. Modeling the Buildup of Polyelectrolyte Multilayer Films Having Exponential Growth. *The Journal of Physical Chemistry B*, 108, 635-648.
- LAYRE, A., GOSSELET, N., RENARD, E., SEBILLE, B. & AMIEL, C. 2002. Comparison of the Complexation of Cosmetical and Pharmaceutical Compounds with γ -Cyclodextrin, 2-Hydroxypropyl- β -cyclodextrin and Water-Soluble β -Cyclodextrin-co-epichlorhydrin Polymers. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 43, 311-317.
- LECLERCQ, L., MODENA, E. & VERT, M. 2013. Adsorption of proteins at physiological concentrations on pegylated surfaces and the compatibilizing role of adsorbed albumin with respect to other proteins according to optical waveguide lightmode spectroscopy (OWLS). *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 24, 1499-1518.
- LEE, S.-S., HONG, J.-D., KIM, C. H., KIM, K., KOO, J. P. & LEE, K.-B. 2001. Layer-by-Layer Deposited Multilayer Assemblies of Ionene-Type Polyelectrolytes Based on the Spin-Coating Method. *Macromolecules*, 34, 5358-5360.
- LEGON, A. C. 1999. Prereactive Complexes of Dihalogens XY with Lewis Bases B in the Gas Phase: A Systematic Case for the Halogen Analogue $B \cdots XY$ of the Hydrogen Bond $B \cdots HX$. *Angewandte Chemie International Edition*, 38, 2686-2714.
- LEGUEN, E., CHASSEPOT, A., DECHER, G., SCHAAF, P., VOEGEL, J.-C. & JESSEL, N. 2007. Bioactive coatings based on polyelectrolyte multilayer architectures functionalized by embedded proteins, peptides or drugs. *Biomolecular Engineering*, 24, 33-41.
- LEPRÉTRE, S., BOSCHIN, F., TABARY, N., BRIA, M., MARTEL, B., BLANCHEMAIN, N., HILDEBRAND, H. F., MORCELLET, M. & DELCOURT-DEBRUYNE, E. 2007. Guided tissue regeneration membranes with controlled delivery properties of chlorhexidine by their functionalization with cyclodextrins. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 57, 297-302.
- LEVY, D. J. 1970. Deposition of gold films. Google Patents.
- LI, B. & HAYNIE, D. T. 2004. Multilayer Biomimetics: Reversible Covalent Stabilization of a Nanostructured Biofilm. *Biomacromolecules*, 5, 1667-1670.
- LI, C., LUO, G.-F., WANG, H.-Y., ZHANG, J., GONG, Y.-H., CHENG, S.-X., ZHUO, R.-X. & ZHANG, X.-Z. 2011. Host-Guest Assembly of pH-Responsive Degradable Microcapsules with Controlled Drug Release Behavior. *The Journal of Physical Chemistry C*, 115, 17651-17659.
- LI, F., SUN, X., ZHANG, H., LI, B. & GAN, F. 2007. Pyromellitic dianhydride-modified β -cyclodextrin microspheres for Pb(II) and Cd(II) adsorption. *Journal of Applied Polymer Science*, 105, 3418-3425.
- LI, H., LI, Z., WU, L., ZHANG, Y., YU, M. & WEI, L. 2013. Constructing Metal Nanoparticle Multilayers with Polyphenylene Dendrimer/Gold Nanoparticles via "Click" Chemistry. *Langmuir*, 29, 3943-3949.
- LI, J., XIAO, H., LI, J. & ZHONG, Y. 2004. Drug carrier systems based on water-soluble cationic β -cyclodextrin polymers. *International Journal of Pharmaceutics*, 278, 329-342.
- LIAO, I. C., WAN, A. C. A., YIM, E. K. F. & LEONG, K. W. 2005. Controlled release from fibers of polyelectrolyte complexes. *Journal of Controlled Release*, 104, 347-358.
- LIU, S., CHEN, X., ZHANG, Q., WU, W., XIN, J. & LI, J. 2014. Multifunctional hydrogels based on β -cyclodextrin with both biomineralization and anti-inflammatory properties. *Carbohydrate Polymers*, 102, 869-876.

- LIU, Y., BRUENING, M. L., BERGBREITER, D. E. & CROOKS, R. M. 1997. Multilayer Dendrimer–Polyanhydride Composite Films on Glass, Silicon, and Gold Wafers. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 36, 2114-2116.
- LIU, Y., CAO, R., CHEN, Y. & HE, J.-Y. 2008. Effect of β -Cyclodextrin Charge Type on the Molecular Recognition Thermodynamics of Reactions with (Ferrocenylmethyl)dimethylammonium Derivatives. *The Journal of Physical Chemistry B*, 112, 1445-1450.
- LOETHEN, S., KIM, J. M. & THOMPSON, D. H. 2007. Biomedical Applications of Cyclodextrin Based Polyrotaxanes. *Polymer Reviews*, 47, 383-418.
- LOFTSSON, T. & BREWSTER, M. E. 2010. Pharmaceutical applications of cyclodextrins: basic science and product development. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 62, 1607-1621.
- LOFTSSON, T. & DUCHÊNE, D. 2007. Cyclodextrins and their pharmaceutical applications. *International Journal of Pharmaceutics*, 329, 1-11.
- LOFTSSON, T., HREINSDÓTTIR, D. & MÁSSON, M. 2005. Evaluation of cyclodextrin solubilization of drugs. *International Journal of Pharmaceutics*, 302, 18-28.
- LOHMEYER, J. H. G. M., TAN, Y. Y., LAKO, P. & CHALLA, G. 1978. Stereoselective association between isotactic poly(methylmethacrylate) and syndiotactic poly(methacrylic acid). *Polymer*, 19, 1171-1175.
- LOJOU, É. & BIANCO, P. 2004. Buildup of Polyelectrolyte–Protein Multilayer Assemblies on Gold Electrodes. Role of the Hydrophobic Effect. *Langmuir*, 20, 748-755.
- LÓPEZ-DE-DICASTILLO, C., GALLUR, M., CATALÁ, R., GAVARA, R. & HERNANDEZ-MUÑOZ, P. 2010. Immobilization of β -cyclodextrin in ethylene-vinyl alcohol copolymer for active food packaging applications. *Journal of Membrane Science*, 353, 184-191.
- LÓPEZ-NICOLÁS, J. M., RODRÍGUEZ-BONILLA, P. & GARCÍA-CARMONA, F. 2012. Cyclodextrins and Antioxidants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54, 251-276.
- LUKE, D. R., TOMASZEWSKI, K., DAMLE, B. & SCHLAMM, H. T. 2010. Review of the basic and clinical pharmacology of sulfobutylether- β -cyclodextrin (SBECD). *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 99, 3291-3301.
- LVOV, Y., ARIGA, K., ICHINOSE, I. & KUNITAKE, T. 1995. Layer-by-layer architectures of concanavalin A by means of electrostatic and biospecific interactions. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, 2313-2314.
- LVOV, Y., DECHER, G. & MOEHWALD, H. 1993. Assembly, structural characterization, and thermal behavior of layer-by-layer deposited ultrathin films of poly(vinyl sulfate) and poly(allylamine). *Langmuir*, 9, 481-486.
- MA, M. & LI, D. 1999. New Organic Nanoporous Polymers and Their Inclusion Complexes. *Chemistry of Materials*, 11, 872-874.
- MACHÍN, R., ISASI, J. R. & VÉLAZ, I. 2012. β -Cyclodextrin hydrogels as potential drug delivery systems. *Carbohydrate Polymers*, 87, 2024-2030.
- MADABOOSI, N., UHLIG, K., JÄGER, M. S., MÖHWALD, H., DUSCHL, C. & VOLODKIN, D. V. 2012. Microfluidics as A Tool to Understand the Build-Up Mechanism of Exponential-Like Growing Films. *Macromolecular Rapid Communications*, 33, 1775-1779.
- MAHALINGAM, S. & EDIRISINGHE, M. 2013. Forming of Polymer Nanofibers by a Pressurised Gyration Process. *Macromolecular Rapid Communications*, 34, 1134-1139.
- MAHALINGAM, S., RAIMI-ABRAHAM, B. T., CRAIG, D. Q. M. & EDIRISINGHE, M. 2015. Solubility–spinnability map and model for the preparation of fibres of polyethylene (terephthalate) using gyration and pressure. *Chemical Engineering Journal*, 280, 344-353.
- MALANGA, M., BÁLINT, M., PUSKÁS, I., TUZA, K., SOHAJDA, T., JICSINSZKY, L., SZENTE, L. & FENYVESI, É. 2014. Synthetic strategies for the fluorescent labeling of epichlorohydrin-branched cyclodextrin polymers. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 10, 3007-3018.
- MANNA, U. & PATIL, S. 2010. Glucose-Triggered Drug Delivery from Borate Mediated Layer-by-Layer Self-Assembly. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2, 1521-1527.
- MARQUES, H. M. C. 2010. A review on cyclodextrin encapsulation of essential oils and volatiles. *Flavour and Fragrance Journal*, 25, 313-326.

- MARTEL, B., LECKCHIRI, Y., POLLET, A. & MORCELLET, M. 1995. Cyclodextrin-poly(vinylamine) systems—I. Synthesis, characterization and conformational properties. *European Polymer Journal*, 31, 1083-1088.
- MARTEL, B., MORCELLET, M., RUFFIN, D., DUCOROY, L. & WELTROWSKI, M. 2002a. Finishing of Polyester Fabrics with Cyclodextrins and Polycarboxylic Acids as Crosslinking Agents. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 44, 443-446.
- MARTEL, B., RUFFIN, D., WELTROWSKI, M., LECKCHIRI, Y. & MORCELLET, M. 2005. Water-soluble polymers and gels from the polycondensation between cyclodextrins and poly(carboxylic acid)s: A study of the preparation parameters. *Journal of Applied Polymer Science*, 97, 433-442.
- MARTEL, B., WELTROWSKI, M., RUFFIN, D. & MORCELLET, M. 2002b. Polycarboxylic acids as crosslinking agents for grafting cyclodextrins onto cotton and wool fabrics: Study of the process parameters. *Journal of Applied Polymer Science*, 83, 1449-1456.
- MARTIN, A., TABARY, N., CHAI, F., LECLERCQ, L., JUNTHIP, J., AUBERT-VIARD, F., NEUT, C., WELTROWSKI, M., BLANCHEMAIN, N. & MARTEL, B. 2013b. Build-up of an antimicrobial multilayer coating on a textile support based on a methylene blue-poly(cyclodextrin) complex. *Biomedical Materials*, 8, 065006.
- MARTIN, A., TABARY, N., LECLERCQ, L., JUNTHIP, J., DEGOUTIN, S., AUBERT-VIARD, F., CAZAUX, F., LYSKAWA, J., JANUS, L., BRIA, M. & MARTEL, B. 2013a. Multilayered textile coating based on a β -cyclodextrin polyelectrolyte for the controlled release of drugs. *Carbohydrate Polymers*, 93, 718-730.
- MÁSSON, M., LOFTSSON, T., JÓNSDÓTTIR, S. D., FRIDRIKSDÓTTIR, H. & PETERSEN, D. S. 1998. Stabilisation of ionic drugs through complexation with non-ionic and ionic cyclodextrins. *International Journal of Pharmaceutics*, 164, 45-55.
- MATSUNO, H., NAGASAKA, Y., KURITA, K. & SERIZAWA, T. 2007. Superior Activities of Enzymes Physically Immobilized on Structurally Regular Poly(methyl methacrylate) Surfaces. *Chemistry of Materials*, 19, 2174-2179.
- MATSUSAKI, M., AJIRO, H., KIDA, T., SERIZAWA, T. & AKASHI, M. 2012. Layer-by-Layer Assembly Through Weak Interactions and Their Biomedical Applications. *Advanced Materials*, 24, 454-474.
- MCALONEY, R. A., SINYOR, M., DUDNIK, V. & GOH, M. C. 2001. Atomic Force Microscopy Studies of Salt Effects on Polyelectrolyte Multilayer Film Morphology. *Langmuir*, 17, 6655-6663.
- MEČNIKA, V., HOERR, M., KRIEVIŇŠ, I. & SCHWARZ, A. 2014. Smart textiles for healthcare: applications and technologies. *RURAL ENVIRONMENT. EDUCATION. PERSONALITY*, 12.
- MEDOVIĆ, A., ŠKUNDRIĆ, P., PAJIĆ-LIJAKOVIĆ, I. & KOSTIĆ, M. 2007. Mathematical modeling of insulin sorption by ion-exchange fiber. *Journal of Applied Polymer Science*, 104, 253-260.
- MENDELSON, J. D., BARRETT, C. J., CHAN, V. V., PAL, A. J., MAYES, A. M. & RUBNER, M. F. 2000. Fabrication of Microporous Thin Films from Polyelectrolyte Multilayers. *Langmuir*, 16, 5017-5023.
- MENDELSON, J. D., YANG, S. Y., HILLER, J. A., HOCHBAUM, A. I. & RUBNER, M. F. 2003. Rational Design of Cytophilic and Cytophobic Polyelectrolyte Multilayer Thin Films. *Biomacromolecules*, 4, 96-106.
- MERTZ, D., HEMMERLÉ, J., MUTTERER, J., OLLIVIER, S., VOEGEL, J.-C., SCHAAP, P. & LAVALLE, P. 2007. Mechanically Responding Nanovalves Based on Polyelectrolyte Multilayers. *Nano Letters*, 7, 657-662.
- MICCIULLA, S., DODOO, S., CHEVIGNY, C., LASCHEWSKY, A. & VON KLITZING, R. 2014. Short versus long chain polyelectrolyte multilayers: a direct comparison of self-assembly and structural properties. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 16, 21988-21998.
- MOCANU, G., VIZITIU, D. & CARPOV, A. 2001. Cyclodextrin Polymers. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 16, 315-342.
- MOFFAT, K. L. & MARRA, K. G. 2004. Biodegradable poly(ethylene glycol) hydrogels crosslinked with genipin for tissue engineering applications. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 71B, 181-187.

- MOTOYAMA, K., HAYASHIDA, K., HIGASHI, T. & ARIMA, H. 2012. Polypseudorotaxanes of pegylated α -cyclodextrin/polyamidoamine dendrimer conjugate with cyclodextrins as a sustained release system for DNA. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 20, 1425-1433.
- MÜLLER, M., RIESER, T., DUBIN, P. L. & LUNKWITZ, K. 2001. Selective Interaction Between Proteins and the Outermost Surface of Polyelectrolyte Multilayers: Influence of the Polyanion Type, pH and Salt. *Macromolecular Rapid Communications*, 22, 390-395.
- MULLER, W., RINGSDORF, H., RUMP, E., WILDBURG, G., ZHANG, X., ANGERMAIER, L., KNOLL, W., LILEY, M. & SPINKE, J. 1993. Attempts to mimic docking processes of the immune system: recognition-induced formation of protein multilayers. *Science*, 262, 1706-1708.
- MUTLU, N. B., DEĞİM, Z., YILMAZ, Ş., EŞSİZ, D. & NACAR, A. 2011. New perspective for the treatment of Alzheimer diseases: Liposomal rivastigmine formulations. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 37, 775-789.
- NCUBE, P., KRAUSE, R. W. M. & MAMBA, B. B. 2014. Detection of chloroform in water using an azo dye-modified β -cyclodextrin – Epichlorohydrin copolymer as a fluorescent probe. *Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C*, 67–69, 79-85.
- NELSON, G. 2002. Application of microencapsulation in textiles. *International Journal of Pharmaceutics*, 242, 55-62.
- NGANKAM, A. P. & VAN TASSEL, P. R. 2005. In Situ Layer-by-Layer Film Formation Kinetics under an Applied Voltage Measured by Optical Waveguide Lightmode Spectroscopy. *Langmuir*, 21, 5865-5871.
- NIE, S., ZHANG, S., PAN, W. & LIU, Y. 2011. In vitro and in vivo studies on the complexes of glipizide with water-soluble β -cyclodextrin–epichlorohydrin polymers. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 37, 606-612.
- NIELSEN, R., KINGSHOTT, P., UYAR, T., HACALOGLU, J. & LARSEN, K. L. 2011. Characterization of β -cyclodextrin modified SiO₂. *Surface and Interface Analysis*, 43, 884-892.
- O'BRIEN, D., VOGLER, J., LANDRY, J. M. & JAKUBOWSKI, G. S. 2001. Process for producing thin transparent gold coatings. Google Patents.
- O'BRIEN, J., WILSON, I., ORTON, T. & POGNAN, F. 2000. Investigation of the Alamar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. *European Journal of Biochemistry*, 267, 5421-5426.
- OCEPEK, B., BOH, B., ŠUMIGA, B. & TAVČER, P. F. 2012. Printing of antimicrobial microcapsules on textiles. *Coloration Technology*, 128, 95-102.
- OKIMOTO, K., RAJEWSKI, R., UEKAMA, K., JONA, J. & STELLA, V. 1996. The Interaction of Charged and Uncharged Drugs with Neutral (HP- β -CD) and Anionically Charged (SBE7- β -CD) β -Cyclodextrins. *Pharmaceutical Research*, 13, 256-264.
- ONDA, M., LVOV, Y., ARIGA, K. & KUNITAKE, T. 1996. Sequential reaction and product separation on molecular films of glucoamylase and glucose oxidase assembled on an ultrafilter. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 82, 502-506.
- OSTER, M., HÉBRAUD, A., GALLET, S., LAPP, A., POLLET, E., AVÉROUS, L. & SCHLATTER, G. 2015. Star-Pseudopolyrotaxane Organized in Nanoplatelets for Poly(ϵ -caprolactone)-Based Nanofibrous Scaffolds with Enhanced Surface Reactivity. *Macromolecular Rapid Communications*, 36, 292-297.
- PAILLARD, A. 2009. Franchissement de barrières biologiques, mécanisme d'action et devenir subcellulaire de nanovecteurs d'agents anticancéreux pour la thérapie des gliomes. *Thèse DE DOCTORAT, UNIVERSITE D'ANGERS*, 297.
- PAILLARD, A., PASSIRANI, C., SAULNIER, P., KROUBI, M., GARCION, E., BENOÎT, J.-P. & BETBEDER, D. 2010. Positively-Charged, Porous, Polysaccharide Nanoparticles Loaded with Anionic Molecules Behave as 'Stealth' Cationic Nanocarriers. *Pharmaceutical Research*, 27, 126-133.
- PARK, M.-K., DENG, S. & ADVINCULA, R. C. 2004. pH-Sensitive Bipolar Ion-Permsselective Ultrathin Films. *Journal of the American Chemical Society*, 126, 13723-13731.
- PAVLUKHINA, S. & SUKHISHVILI, S. 2011. Polymer assemblies for controlled delivery of bioactive molecules from surfaces. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 63, 822-836.

- PEI, A., BUTCHOSA, N., BERGLUND, L. A. & ZHOU, Q. 2013. Surface quaternized cellulose nanofibrils with high water absorbency and adsorption capacity for anionic dyes. *Soft Matter*, 9, 2047-2055.
- PÉREZ-ANES, A., GARGOURI, M., LAURE, W., VAN DEN BERGHE, H., COURCOT, E., SOBOCINSKI, J., TABARY, N., CHAI, F., BLACH, J.-F., ADDAD, A., WOISEL, P., DOUROUMIS, D., MARTEL, B., BLANCHEMAIN, N. & LYSKAWA, J. 2015. Bioinspired Titanium Drug Eluting Platforms Based on a Poly- β -cyclodextrin–Chitosan Layer-by-Layer Self-Assembly Targeting Infections. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 7, 12882-12893.
- PHILLIPS, D. L., XING, J., LIU, H., CHONG, C. K. & CORKE, H. 1999. Raman Spectroscopic Determination of the Degree of Cationic Modification in Waxy Maize Starches. *Analytical Letters*, 32, 3049-3058.
- PICART, C., ELKAIM, R., RICHERT, L., AUDOIN, F., ARNTZ, Y., DA SILVA CARDOSO, M., SCHAAF, P., VOEGEL, J. C. & FRISCH, B. 2005. Primary Cell Adhesion on RGD-Functionalized and Covalently Crosslinked Thin Polyelectrolyte Multilayer Films. *Advanced Functional Materials*, 15, 83-94.
- PICART, C., GERGELY, C., ARNTZ, Y., VOEGEL, J.-C., SCHAAF, P., CUISINIER, F. J. G. & SENGER, B. 2004. Measurement of film thickness up to several hundreds of nanometers using optical waveguide lightmode spectroscopy. *Biosensors and Bioelectronics*, 20, 553-561.
- PICART, C., LADAM, G., SENGER, B., VOEGEL, J.-C., SCHAAF, P., CUISINIER, F. J. G. & GERGELY, C. 2001a. Determination of structural parameters characterizing thin films by optical methods: A comparison between scanning angle reflectometry and optical waveguide lightmode spectroscopy. *The Journal of Chemical Physics*, 115, 1086-1094.
- PICART, C., LAVALLE, P., HUBERT, P., CUISINIER, F. J. G., DECHER, G., SCHAAF, P. & VOEGEL, J. C. 2001b. Buildup Mechanism for Poly(l-lysine)/Hyaluronic Acid Films onto a Solid Surface. *Langmuir*, 17, 7414-7424.
- PICART, C., MUTTERER, J., RICHERT, L., LUO, Y., PRESTWICH, G. D., SCHAAF, P., VOEGEL, J.-C. & LAVALLE, P. 2002. Molecular basis for the explanation of the exponential growth of polyelectrolyte multilayers. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99, 12531-12535.
- PIGORSCH, E. 2009. Spectroscopic Characterisation of Cationic Quaternary Ammonium Starches. *Starch - Stärke*, 61, 129-138.
- PITHA, J., MALLIS, L., LAMB, D., IRIE, T. & UEKAMA, K. 1991. Cyclodextrin Sulfates: Characterization as Polydisperse and Amorphous Mixtures. *Pharmaceutical Research*, 8, 1151-1154.
- POLACCO, G., CASCONI, M. G., LAZZERI, L., FERRARA, S. & GIUSTI, P. 2002. Biodegradable hollow fibres containing drug-loaded nanoparticles as controlled release systems. *Polymer International*, 51, 1464-1472.
- POON, Y.-F., MUDERAWAN, I. W. & NG, S.-C. 2006. Synthesis and application of mono-2A-azido-2A-deoxyperphenylcarbamoylated β -cyclodextrin and mono-2A-azido-2A-deoxyperacetylated β -cyclodextrin as chiral stationary phases for high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1101, 185-197.
- PORCEL, C., LAVALLE, P., BALL, V., DECHER, G., SENGER, B., VOEGEL, J.-C. & SCHAAF, P. 2006. From Exponential to Linear Growth in Polyelectrolyte Multilayers. *Langmuir*, 22, 4376-4383.
- POTIER, J., MENUÉL, S., FOURNIER, D., FOURMENTIN, S., WOISEL, P., MONFLIER, E. & HAPIOT, F. 2012. Cooperativity in Aqueous Organometallic Catalysis: Contribution of Cyclodextrin-Substituted Polymers. *ACS Catalysis*, 2, 1417-1420.
- POZOS VÁZQUEZ, C., BOUDOU, T., DULONG, V., NICOLAS, C., PICART, C. & GLINEL, K. 2009. Variation of Polyelectrolyte Film Stiffness by Photo-Cross-Linking: A New Way To Control Cell Adhesion. *Langmuir*, 25, 3556-3563.
- PRATT, D. Y., WILSON, L. D., KOZINSKI, J. A. & MOHART, A. M. 2010. Preparation and sorption studies of β -cyclodextrin/epichlorohydrin copolymers. *Journal of Applied Polymer Science*, 116, 2982-2989.

- PRIEST, C., QUINN, A., POSTMA, A., ZELIKIN, A. N., RALSTON, J. & CARUSO, F. 2008. Microfluidic polymer multilayer adsorption on liquid crystal droplets for microcapsule synthesis. *Lab on a Chip*, 8, 2182-2187.
- QIAN, L., GUAN, Y. & XIAO, H. 2008. Preparation and characterization of inclusion complexes of a cationic β -cyclodextrin polymer with butylparaben or triclosan. *International Journal of Pharmaceutics*, 357, 244-251.
- QIN, C., XIAO, Q., LI, H., FANG, M., LIU, Y., CHEN, X. & LI, Q. 2004. Calorimetric studies of the action of chitosan-N-2-hydroxypropyl trimethyl ammonium chloride on the growth of microorganisms. *International Journal of Biological Macromolecules*, 34, 121-126.
- QUAGLIA, F., OSTACOLO, L., MAZZAGLIA, A., VILLARI, V., ZACCARIA, D. & SCIORTINO, M. T. 2009. The intracellular effects of non-ionic amphiphilic cyclodextrin nanoparticles in the delivery of anticancer drugs. *Biomaterials*, 30, 374-382.
- QUINN, J. F. & CARUSO, F. 2004. Facile Tailoring of Film Morphology and Release Properties Using Layer-by-Layer Assembly of Thermoresponsive Materials. *Langmuir*, 20, 20-22.
- RAJENDRAN, S. & ANAND, S. C. 2002. DEVELOPMENTS IN MEDICAL TEXTILES. *Textile Progress*, 32, 1-42.
- RAMAN, N., LEE, M.-R., PALECEK, S. P. & LYNN, D. M. 2014. Polymer multilayers loaded with antifungal β -peptides kill planktonic *Candida albicans* and reduce formation of fungal biofilms on the surfaces of flexible catheter tubes. *Journal of Controlled Release*, 191, 54-62.
- RAMSDEN, J. J. 1993. Review of new experimental techniques for investigating random sequential adsorption. *Journal of Statistical Physics*, 73, 853-877.
- REKHARSKY, M. V. & INOUE, Y. 1998. Complexation Thermodynamics of Cyclodextrins. *Chemical Reviews*, 98, 1875-1918.
- REN, K., JI, J. & SHEN, J. 2006. Tunable DNA Release from Cross-Linked Ultrathin DNA/PLL Multilayered Films. *Bioconjugate Chemistry*, 17, 77-83.
- RENARD, E., DERATANI, A., VOLET, G. & SEBILLE, B. 1997. Preparation and characterization of water soluble high molecular weight β -cyclodextrin-epichlorohydrin polymers. *European Polymer Journal*, 33, 49-57.
- RENARD, E., VOLET, G. & AMIEL, C. 2005. Synthesis of a novel linear water-soluble β -cyclodextrin polymer. *Polymer International*, 54, 594-599.
- REUSCHER, H. & HIRSENKORN, R. 1996. Beta W7 MCT – New Ways in Surface Modification. *Proc. 8th Int. Cyclodextrin Symposium*, 5.
- REYES, D. R., PERRUCCIO, E. M., BECERRA, S. P., LOCASCIO, L. E. & GAITAN, M. 2004. Micropatterning Neuronal Cells on Polyelectrolyte Multilayers. *Langmuir*, 20, 8805-8811.
- RICHARDSON, J. J., BJÖRNMALM, M. & CARUSO, F. 2015. Technology-driven layer-by-layer assembly of nanofilms. *Science*, 348.
- RICHARDSON, J. J., EJIMA, H., LÖRCHER, S. L., LIANG, K., SENN, P., CUI, J. & CARUSO, F. 2013. Preparation of Nano- and Microcapsules by Electrophoretic Polymer Assembly. *Angewandte Chemie International Edition*, 52, 6455-6458.
- RICHERT, L., LAVALLE, P., PAYAN, E., SHU, X. Z., PRESTWICH, G. D., STOLTZ, J.-F., SCHAAF, P., VOEGEL, J.-C. & PICART, C. 2004. Layer by Layer Buildup of Polysaccharide Films: Physical Chemistry and Cellular Adhesion Aspects. *Langmuir*, 20, 448-458.
- RICHERT, L., SCHNEIDER, A., VAUTIER, D., VODOUHE, C., JESSEL, N., PAYAN, E., SCHAAF, P., VOEGEL, J.-C. & PICART, C. 2006. Imaging cell interactions with native and crosslinked polyelectrolyte multilayers. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 44, 273-285.
- RIGBY, A. J., ANAND, S. C. & HORROCKS, A. R. 1997. Textile Materials for Medical and Healthcare Applications. *The Journal of The Textile Institute*, 88, 83-93.
- RINCKENBACH, S., HEMMERLÉ, J., DIEVAL, F., ARNTZ, Y., KRETZ, J.-G., DURAND, B., CHAKFE, N., SCHAAF, P., VOEGEL, J.-C. & VAUTIER, D. 2008. Characterization of polyelectrolyte multilayer films on polyethylene terephthalate vascular prostheses under mechanical stretching. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 84A, 576-588.
- RODRIGUEZ-TENREIRO, C., ALVAREZ-LORENZO, C., RODRIGUEZ-PEREZ, A., CONCEIRO, A. & TORRES-LABANDEIRA, J. 2006. New Cyclodextrin Hydrogels Cross-

- Linked with Diglycidylethers with a High Drug Loading and Controlled Release Ability. *Pharmaceutical Research*, 23, 121-130.
- ROSSI, B., VENUTI, V., PACIARONI, A., MELE, A., LONGEVILLE, S., NATALI, F., CRUPI, V., MAJOLINO, D. & TROTTA, F. 2015. Thermal fluctuations in chemically cross-linked polymers of cyclodextrins. *Soft Matter*, 11, 2183-2192.
- RYDZEK, G., JI, Q., LI, M., SCHAAF, P., HILL, J. P., BOULMEDAIS, F. & ARIGA, K. 2015. Electrochemical nanoarchitectonics and layer-by-layer assembly: From basics to future. *Nano Today*, 10, 138-167.
- RYDZEK, G., SCHAAF, P., VOEGEL, J.-C., JIERRY, L. & BOULMEDAIS, F. 2012. Strategies for covalently reticulated polymer multilayers. *Soft Matter*, 8, 9738-9755.
- RYDZEK, G., THOMANN, J.-S., BEN AMEUR, N., JIERRY, L., MÉSINI, P., PONCHE, A., CONTAL, C., EL HAITAMI, A. E., VOEGEL, J.-C., SENGER, B., SCHAAF, P., FRISCH, B. & BOULMEDAIS, F. 2010. Polymer Multilayer Films Obtained by Electrochemically Catalyzed Click Chemistry. *Langmuir*, 26, 2816-2824.
- SAJJAN, A. M., JEEVAN KUMAR, B. K., KITTUR, A. A. & KARIDURAGANAVAR, M. Y. 2013. Development of novel grafted hybrid PVA membranes using glycidyltrimethylammonium chloride for pervaporation separation of water–isopropanol mixtures. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 19, 427-437.
- SALLOUM, D. S. & SCHLENOFF, J. B. 2004. Protein Adsorption Modalities on Polyelectrolyte Multilayers. *Biomacromolecules*, 5, 1089-1096.
- SALOMÄKI, M., TERVASMÄKI, P., AREVA, S. & KANKARE, J. 2004. The Hofmeister Anion Effect and the Growth of Polyelectrolyte Multilayers. *Langmuir*, 20, 3679-3683.
- SALOMÄKI, M., VINOKUROV, I. A. & KANKARE, J. 2005. Effect of Temperature on the Buildup of Polyelectrolyte Multilayers. *Langmuir*, 21, 11232-11240.
- SCHLENOFF, J. B. & DUBAS, S. T. 2001. Mechanism of Polyelectrolyte Multilayer Growth: Charge Overcompensation and Distribution. *Macromolecules*, 34, 592-598.
- SCHLENOFF, J. B., DUBAS, S. T. & FARHAT, T. 2000. Sprayed Polyelectrolyte Multilayers. *Langmuir*, 16, 9968-9969.
- SÉBILLE, B., THUAUD, N., PIQUION, J. & BEHAR, N. 1987. Determination of association constants of β -cyclodextrin and β -cyclodextrin-bearing polymers with drugs by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 409, 61-69.
- SEGURA-SANCHEZ, F., BOUCHEMAL, K., LEBAS, G., VAUTHIER, C., SANTOS-MAGALHAES, N. S. & PONCHEL, G. 2009. Elucidation of the complexation mechanism between (+)-usnic acid and cyclodextrins studied by isothermal titration calorimetry and phase-solubility diagram experiments. *Journal of Molecular Recognition*, 22, 232-241.
- SERIZAWA, T., ARIKAWA, Y., HAMADA, K.-I., YAMASHITA, H., FUJIWARA, T., KIMURA, Y. & AKASHI, M. 2003. Alkaline Hydrolysis of Enantiomeric Poly(lactide)s Stereocomplex Deposited on Solid Substrates. *Macromolecules*, 36, 1762-1765.
- SERIZAWA, T., HAMADA, K.-I., KITAYAMA, T., FUJIMOTO, N., HATADA, K. & AKASHI, M. 2000. Stepwise Stereocomplex Assembly of Stereoregular Poly(methyl methacrylate)s on a Substrate. *Journal of the American Chemical Society*, 122, 1891-1899.
- SERIZAWA, T., NAGASAKA, Y., MATSUNO, H., SHIMOYAMA, M. & KURITA, K. 2007. A Stereocomplex Platform Efficiently Detecting Antigen–Antibody Interactions. *Bioconjugate Chemistry*, 18, 355-362.
- SERIZAWA, T., YAMASHITA, H., FUJIWARA, T., KIMURA, Y. & AKASHI, M. 2001. Stepwise Assembly of Enantiomeric Poly(lactide)s on Surfaces. *Macromolecules*, 34, 1996-2001.
- SERIZAWA, T., YAMASHITA, K. & AKASHI, M. 2004. Cell-adhesive and blood-coagulant properties of ultrathin poly(methyl methacrylate) stereocomplex films. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 15, 511-526.
- SERIZAWA, T., YAMASHITA, K. & AKASHI, M. 2006. Unique Physical Adsorption of Proteins onto Double Stranded Stereocomplex Films Composed of Stereoregular Poly(methyl methacrylate)s. *Polym. J*, 38, 503-506.
- SHEN, L., CHAUDOUET, P., JI, J. & PICART, C. 2011. pH-Amplified Multilayer Films Based on Hyaluronan: Influence of HA Molecular Weight and Concentration on Film Growth and Stability. *Biomacromolecules*, 12, 1322-1331.

- SHI, L., LU, Y., SUN, J., ZHANG, J., SUN, C., LIU, J. & SHEN, J. 2003. Site-Selective Lateral Multilayer Assembly of Bionzyme with Polyelectrolyte on ITO Electrode Based on Electric Field-Induced Directly Layer-by-Layer Deposition. *Biomacromolecules*, 4, 1161-1167.
- SHIMAZAKI, Y., MITSUISHI, M., ITO, S. & YAMAMOTO, M. 1997. Preparation of the Layer-by-Layer Deposited Ultrathin Film Based on the Charge-Transfer Interaction. *Langmuir*, 13, 1385-1387.
- SHIRATORI, S. S. & RUBNER, M. F. 2000. pH-Dependent Thickness Behavior of Sequentially Adsorbed Layers of Weak Polyelectrolytes. *Macromolecules*, 33, 4213-4219.
- SHUKLA, A., FULLER, R. C. & HAMMOND, P. T. 2011. Design of multi-drug release coatings targeting infection and inflammation. *Journal of Controlled Release*, 155, 159-166.
- SILVA, F., LOURENCO, O., QUEIROZ, J. A. & DOMINGUES, F. C. 2011. Bacteriostatic versus bactericidal activity of ciprofloxacin in Escherichia coli assessed by flow cytometry using a novel far-red dye. *J Antibiot*, 64, 321-325.
- SIMÕES, S. M. N., REY-RICO, A., CONCEIRO, A. & ALVAREZ-LORENZO, C. 2015. Supramolecular cyclodextrin-based drug nanocarriers. *Chemical Communications*, 51, 6275-6289.
- SMITH, R. C., RIOLLANO, M., LEUNG, A. & HAMMOND, P. T. 2009. Layer-by-Layer Platform Technology for Small-Molecule Delivery. *Angewandte Chemie International Edition*, 48, 8974-8977.
- SPĚVÁČEK, J. & SCHNEIDER, B. 1987. Aggregation of stereoregular poly(methyl methacrylates). *Advances in Colloid and Interface Science*, 27, 81-150.
- STOCKTON, W. B. & RUBNER, M. F. 1997. Molecular-Level Processing of Conjugated Polymers. 4. Layer-by-Layer Manipulation of Polyaniline via Hydrogen-Bonding Interactions. *Macromolecules*, 30, 2717-2725.
- SUCH, G. K., QUINN, J. F., QUINN, A., TJIPTO, E. & CARUSO, F. 2006. Assembly of Ultrathin Polymer Multilayer Films by Click Chemistry. *Journal of the American Chemical Society*, 128, 9318-9319.
- SUCH, G. K., TJIPTO, E., POSTMA, A., JOHNSTON, A. P. R. & CARUSO, F. 2007. Ultrathin, Responsive Polymer Click Capsules. *Nano Letters*, 7, 1706-1710.
- SUKEGAWA, T., FURUIKE, T., NIKURA, K., YAMAGISHI, A., MONDE, K. & NISHIMURA, S.-I. 2002. Erythrocyte-like liposomes prepared by means of amphiphilic cyclodextrin sulfates. *Chemical Communications*, 430-431.
- SUKHISHVILI, S. A. & GRANICK, S. 2000. Layered, Erasable, Ultrathin Polymer Films. *Journal of the American Chemical Society*, 122, 9550-9551.
- SUKHISHVILI, S. A. & GRANICK, S. 2002. Layered, Erasable Polymer Multilayers Formed by Hydrogen-Bonded Sequential Self-Assembly. *Macromolecules*, 35, 301-310.
- SUN, J., GAO, M. & FELDMANN, J. 2001. Electric Field Directed Layer-by-Layer Assembly of Highly Fluorescent CdTe Nanoparticles. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 1, 133-136.
- SUN, J., WU, T., SUN, Y., WANG, Z., ZHANG* JIACONG SHEN, X. & CAO, W. 1998. Fabrication of a covalently attached multilayer via photolysis of layer-by-layer self-assembled films containing diazo-resins. *Chemical Communications*, 1853-1854.
- SURPATEANU, G. G., BECUWE, M., LUNGU, N. C., DRON, P. I., FOURMENTIN, S., LANDY, D. & SURPATEANU, G. 2007. Photochemical behaviour upon the inclusion for some volatile organic compounds in new fluorescent indolizine β -cyclodextrin sensors. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 185, 312-320.
- SVENSSON, O., LINDH, L., CÁRDENAS, M. & ARNEBRANT, T. 2006. Layer-by-layer assembly of mucin and chitosan—Influence of surface properties, concentration and type of mucin. *Journal of Colloid and Interface Science*, 299, 608-616.
- SWAMINATHAN, S., VAVIA, P. R., TROTTA, F. & CAVALLI, R. 2013. Nanosponges Encapsulating Dexamethasone for Ocular Delivery: Formulation Design, Physicochemical Characterization, Safety and Corneal Permeability Assessment. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 9, 998-1007.
- SZEJTLI, J. 1983. Dimethyl- β -cyclodextrin as parenteral drug carrier. *Journal of inclusion phenomena*, 1, 135-150.

- SZEJTLI, J. 1998. Introduction and General Overview of Cyclodextrin Chemistry. *Chemical Reviews*, 98, 1743-1754.
- SZENTE, L. & SZEJTLI, J. 2004. Cyclodextrins as food ingredients. *Trends in Food Science & Technology*, 15, 137-142.
- SZYK, L., SCHAAF, P., GERGELY, C., VOEGEL, J. C. & TINLAND, B. 2001. Lateral Mobility of Proteins Adsorbed on or Embedded in Polyelectrolyte Multilayers. *Langmuir*, 17, 6248-6253.
- SZYK, L., SCHWINTÉ, P., VOEGEL, J. C., SCHAAF, P. & TINLAND, B. 2002. Dynamical Behavior of Human Serum Albumin Adsorbed on or Embedded in Polyelectrolyte Multilayers. *The Journal of Physical Chemistry B*, 106, 6049-6055.
- TABARY, N., CHAI, F., BLANCHEMAIN, N., NEUT, C., PAUCHET, L., BERTINI, S., DELCOURT-DEBRUYNE, E., HILDEBRAND, H. F. & MARTEL, B. 2014. A chlorhexidine-loaded biodegradable cellulosic device for periodontal pockets treatment. *Acta Biomaterialia*, 10, 318-329.
- TABARY, N., LEPRETRE, S., BOSCHIN, F., BLANCHEMAIN, N., NEUT, C., DELCOURT-DEBRUYNE, E., MARTEL, B., MORCELLET, M. & HILDEBRAND, H. F. 2007. Functionalization of PVDF membranes with carbohydrate derivatives for the controlled delivery of chlorhexidine. *Biomolecular Engineering*, 24, 472-476.
- TAKUMI, S., TOBIAS, E. B., MANFRED, H. & JANOS, V. 2010. Simultaneous refractive index and thickness measurement with the transmission interferometric adsorption sensor. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 43, 405302.
- TANG, S., KONG, L., OU, J., LIU, Y., LI, X. & ZOU, H. 2006a. Application of cross-linked β -cyclodextrin polymer for adsorption of aromatic amino acids. *Journal of Molecular Recognition*, 19, 39-48.
- TANG, Z., WANG, Y., PODSIADLO, P. & KOTOV, N. A. 2006b. Biomedical Applications of Layer-by-Layer Assembly: From Biomimetics to Tissue Engineering. *Advanced Materials*, 18, 3203-3224.
- TEIXEIRA, M. A., RODRÍGUEZ, O., RODRIGUES, S., MARTINS, I. & RODRIGUES, A. E. 2012. A case study of product engineering: Performance of microencapsulated perfumes on textile applications. *AIChE Journal*, 58, 1939-1950.
- TERNEL, J., LEBARBÉ, T., MONFLIER, E. & HAPIOT, F. 2015. Catalytic Decarbonylation of Biosourced Substrates. *ChemSusChem*, 8, 1585-1592.
- TEZCANER, A., HICKS, D., BOULMEDAIS, F., SAHEL, J., SCHAAF, P., VOEGEL, J.-C. & LAVALLE, P. 2006. Polyelectrolyte Multilayer Films as Substrates for Photoreceptor Cells. *Biomacromolecules*, 7, 86-94.
- THUAUD, N., SEBILLE, B., DERATANI, A. & LELIEVRE, G. 1991. Retention behavior and chiral recognition of β -cyclodextrin derivative polymer adsorbed on silica for warfarin, structurally related compounds and Dns-amino acids. *Journal of Chromatography A*, 555, 53-64.
- TIAN, Y., BROMBERG, L., LIN, S. N., ALAN HATTON, T. & TAM, K. C. 2007. Complexation and release of doxorubicin from its complexes with pluronic P85-b-poly(acrylic acid) block copolymers. *Journal of Controlled Release*, 121, 137-145.
- TIEFENTHALER, K. & LUKOSZ, W. 1989. Sensitivity of grating couplers as integrated-optical chemical sensors. *Journal of the Optical Society of America B*, 6, 209-220.
- TORNE, S., DARANDALE, S., VAVIA, P., TROTTA, F. & CAVALLI, R. 2013. Cyclodextrin-based nanosponges: effective nanocarrier for Tamoxifen delivery. *Pharmaceutical Development and Technology*, 18, 619-625.
- TRELLENKAMP, T. & RITTER, H. 2010. Poly(N-vinylpyrrolidone) Bearing Covalently Attached Cyclodextrin via Click-Chemistry: Synthesis, Characterization, and Complexation Behavior with Phenolphthalein. *Macromolecules*, 43, 5538-5543.
- TROTTA, F., CALDERA, F., CAVALLI, R., MELE, A., PUNTA, C., MELONE, L., CASTIGLIONE, F., ROSSI, B., FERRO, M., CRUPI, V., MAJOLINO, D., VENUTI, V. & SCALARONE, D. 2014a. Synthesis and characterization of a hyper-branched water-soluble β -cyclodextrin polymer. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 10, 2586-2593.
- TROTTA, F., DIANZANI, C., CALDERA, F., MOGNETTI, B. & CAVALLI, R. 2014b. The application of nanosponges to cancer drug delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 11, 931-941.

- TROTTA, F., ZANETTI, M. & CAMINO, G. 2000. Thermal degradation of cyclodextrins. *Polymer Degradation and Stability*, 69, 373-379.
- TROTTA, F., ZANETTI, M. & CAVALLI, R. 2012. Cyclodextrin-based nanosponges as drug carriers. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 8, 2091-2099.
- TSUJI, H. 2005. Poly(lactide) Stereocomplexes: Formation, Structure, Properties, Degradation, and Applications. *Macromolecular Bioscience*, 5, 569-597.
- UEHATA, K., ANNO, T., HAYASHIDA, K., MOTOYAMA, K., HIGASHI, T., HIRAYAMA, F., ONO, N., PIPKIN, J. D., UEKAMA, K. & ARIMA, H. 2011. Effects of Selected Anionic β -Cyclodextrins on Persistence of Blood Glucose Lowering by Insulin Glargine after Subcutaneous Injection to Rats. *Journal of Drug Delivery*, 2011, 9.
- UEKAMA, K., OTAGIRI, M., IRIE, T., SEO, H. & TSURUOKA, M. 1985. Improvement of dissolution and absorption characteristics of phenytoin by a water-soluble β -cyclodextrin-epichlorohydrin polymer. *International Journal of Pharmaceutics*, 23, 35-42.
- UENO, A. 1996. Review: fluorescent cyclodextrins for molecule sensing. *Supramolecular Science*, 3, 31-36.
- UĞUR, Ş. S., SARINŞIK, M., AKTAŞ, A. H., UÇAR, M. Ç. & ERDEN, E. 2010. Modifying of Cotton Fabric Surface with Nano-ZnO Multilayer Films by Layer-by-Layer Deposition Method. *Nanoscale Research Letters*, 5, 1204-1210.
- UPPANAN, P., CHANNASANON, S., VEERANONDH, S. & TANODEKAEW, S. 2011. Synthesis of GTMAC modified chitin-PAA gel and evaluation of its biological properties. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 98A, 185-191.
- V. KLITZING, R. 2006. Internal structure of polyelectrolyte multilayer assemblies. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 8, 5012-5033.
- VAN DE MANAKKER, F., VERMONDEN, T., VAN NOSTRUM, C. F. & HENNINK, W. E. 2009. Cyclodextrin-Based Polymeric Materials: Synthesis, Properties, and Pharmaceutical/Biomedical Applications. *Biomacromolecules*, 10, 3157-3175.
- VAN DER HEYDEN, A., WILCZEWSKI, M., LABBE, P. & AUZELY, R. 2006. Multilayer films based on host-guest interactions between biocompatible polymers. *Chemical Communications*, 3220-3222.
- VAN PARYS, M. 2006. Smart Textiles Using Microencapsulation Technology. *Functional Coatings*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- VAN TASSEL, P. R. 2012. Polyelectrolyte adsorption and layer-by-layer assembly: Electrochemical control. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 17, 106-113.
- VÁZQUEZ, E., DEWITT, D. M., HAMMOND, P. T. & LYNN, D. M. 2002. Construction of Hydrolytically-Degradable Thin Films via Layer-by-Layer Deposition of Degradable Polyelectrolytes. *Journal of the American Chemical Society*, 124, 13992-13993.
- VERMET, G., DEGOUTIN, S., CHAI, F., MATON, M., BRIA, M., DANIEL, C., HILDEBRAND, H. F., BLANCHÉMAIN, N. & MARTEL, B. 2014. Visceral mesh modified with cyclodextrin for the local sustained delivery of ropivacaine. *International Journal of Pharmaceutics*, 476, 149-159.
- VOLKOVA, D. A., BANNIKOVA, G. E., LOPATIN, S. A., IL'IN, M. M., GABINSKAYA, K. N., ANDRYUSHINA, V. A., GRACHEVA, I. M. & VARLAMOV, V. P. 1999. Effect of a β -cyclodextrin-epichlorohydrin copolymer on the solubility of cortexolone. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 33, 601-603.
- VÖRÖS, J., RAMSDEN, J. J., CSÚCS, G., SZENDRŐ, I., DE PAUL, S. M., TEXTOR, M. & SPENCER, N. D. 2002. Optical grating coupler biosensors. *Biomaterials*, 23, 3699-3710.
- VUORIO, M., MANZANARES, J. A., MURTOMÄKI, L., HIRVONEN, J., KANKKUNEN, T. & KONTTURI, K. 2003. Ion-exchange fibers and drugs: a transient study. *Journal of Controlled Release*, 91, 439-448.
- WAN, Y., PEPPELEY, B., CREBER, K. A. M. & BUI, V. T. 2010. Anion-exchange membranes composed of quaternized-chitosan derivatives for alkaline fuel cells. *Journal of Power Sources*, 195, 3785-3793.
- WANG, F., MA, N., CHEN, Q., WANG, W. & WANG, L. 2007. Halogen Bonding as a New Driving Force for Layer-by-Layer Assembly. *Langmuir*, 23, 9540-9542.

- WANG, X., JIANG, Z., SHI, J., LIANG, Y., ZHANG, C. & WU, H. 2012. Metal–Organic Coordination-Enabled Layer-by-Layer Self-Assembly to Prepare Hybrid Microcapsules for Efficient Enzyme Immobilization. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 4, 3476-3483.
- WANG, X., KIM, H. J., XU, P., MATSUMOTO, A. & KAPLAN, D. L. 2005. Biomaterial Coatings by Stepwise Deposition of Silk Fibroin. *Langmuir*, 21, 11335-11341.
- WANG, X., NAKA, K., ITOH, H., UEMURA, T. & CHUJO, Y. 2003. Preparation of Oriented Ultrathin Films via Self-Assembly Based on Charge Transfer Interaction between π -Conjugated Poly(dithiafulvene) and Acceptor Polymer. *Macromolecules*, 36, 533-535.
- WANG, X., ZHANG, L., WANG, L., SUN, J. & SHEN, J. 2010. Layer-by-Layer Assembled Polyampholyte Microgel Films for Simultaneous Release of Anionic and Cationic Molecules. *Langmuir*, 26, 8187-8194.
- WANG, Y., LIU, Y., CHENG, Y., KIM, E., RUBLOFF, G. W., BENTLEY, W. E. & PAYNE, G. F. 2011. Coupling Electrodeposition with Layer-by-Layer Assembly to Address Proteins within Microfluidic Channels. *Advanced Materials*, 23, 5817-5821.
- WANG, Z., FENG, Z. & GAO, C. 2008. Stepwise Assembly of the Same Polyelectrolytes Using Host–Guest Interaction To Obtain Microcapsules with Multiresponsive Properties. *Chemistry of Materials*, 20, 4194-4199.
- WATANABE, W. H., RYAN, C. F., FLEISCHER, P. C. & GARRETT, B. S. 1961. MEASUREMENT OF THE TACTICITY OF SYNDIOTACTIC POLY-(METHYL METHACRYLATE) BY THE GEL MELTING POINT. *The Journal of Physical Chemistry*, 65, 896-896.
- WEISSER, M., NELLES, G., WENZ, G. & MITTLER-NEHER, S. 1997. Guest-host interactions with immobilized cyclodextrins. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 38, 58-67.
- WINTERTON, L. C., VOGT, J., LALLY, J. M. & STOCKINGER, F. 2002. Methods of modifying surface characteristics. Google Patents.
- WINTGENS, V. & AMIEL, C. 2010. Water-soluble γ -cyclodextrin polymers with high molecular weight and their complex forming properties. *European Polymer Journal*, 46, 1915-1922.
- WINTGENS, V., DALMAS, F., SÉBILLE, B. & AMIEL, C. 2013. Novel phosphorus-containing cyclodextrin polymers and their affinity for calcium cations and hydroxyapatite. *Carbohydrate Polymers*, 98, 896-904.
- WITTMER, C. R., PHELPS, J. A., SALTZMAN, W. M. & VAN TASSEL, P. R. 2007. Fibronectin terminated multilayer films: Protein adsorption and cell attachment studies. *Biomaterials*, 28, 851-860.
- WON, J., YOO, J., KANG, M.-S. & KANG, Y. 2006. Ionic cluster mimic membranes using ionized cyclodextrin. *Macromolecular Research*, 14, 449-455.
- WSZELAKA-RYLIK, M. & GIERYCZ, P. 2013. Isothermal titration calorimetry (ITC) study of natural cyclodextrins inclusion complexes with drugs. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 111, 2029-2035.
- WU, J., SU, Z.-G. & MA, G.-H. 2006. A thermo- and pH-sensitive hydrogel composed of quaternized chitosan/glycerophosphate. *International Journal of Pharmaceutics*, 315, 1-11.
- WU, J., ZHANG, L., WANG, Y., LONG, Y., GAO, H., ZHANG, X., ZHAO, N., CAI, Y. & XU, J. 2011. Mussel-Inspired Chemistry for Robust and Surface-Modifiable Multilayer Films. *Langmuir*, 27, 13684-13691.
- XIAO, Y., NG, S.-C., TAN, T. T. Y. & WANG, Y. 2012. Recent development of cyclodextrin chiral stationary phases and their applications in chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1269, 52-68.
- XIN, J., GUO, Z., CHEN, X., JIANG, W., LI, J. & LI, M. 2010. Study of branched cationic β -cyclodextrin polymer/indomethacin complex and its release profile from alginate hydrogel. *International Journal of Pharmaceutics*, 386, 221-228.
- XIONG, H., CHENG, M., ZHOU, Z., ZHANG, X. & SHEN, J. 1998. A New Approach to the Fabrication of a Self-Organizing Film of Heterostructured Polymer/Cu₂S Nanoparticles. *Advanced Materials*, 10, 529-532.
- YANG, S. Y., HOONOR, R., JIN, H.-S. & KIM, J. 2013. Synthesis and Characterization of Cationic and Anionic Cyclodextrin Oligomers and Their Use in Layer-by-Layer Film Formation. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 34, 6.

- YANG, S. Y. & RUBNER, M. F. 2002. Micropatterning of Polymer Thin Films with pH-Sensitive and Cross-linkable Hydrogen-Bonded Polyelectrolyte Multilayers. *Journal of the American Chemical Society*, 124, 2100-2101.
- YAO, C., LI, X., NEOH, K. G., SHI, Z. & KANG, E. T. 2008. Surface modification and antibacterial activity of electrospun polyurethane fibrous membranes with quaternary ammonium moieties. *Journal of Membrane Science*, 320, 259-267.
- YOO, D., SHIRATORI, S. S. & RUBNER, M. F. 1998. Controlling Bilayer Composition and Surface Wettability of Sequentially Adsorbed Multilayers of Weak Polyelectrolytes. *Macromolecules*, 31, 4309-4318.
- YUDIARTO, A., KASHIWABARA, S., TASHIRO, Y. & KOKUGAN, T. 2001. Separation of structural isomers using soluble β -cyclodextrin polymer by ultrafiltration. *Separation and Purification Technology*, 24, 243-253.
- YUI, N., KATOONO, R. & YAMASHITA, A. 2009. Functional Cyclodextrin Polyrotaxanes for Drug Delivery. In: WENZ, G. (ed.) *Inclusion Polymers*. Springer Berlin Heidelberg.
- ZHANG, J., SENGER, B., VAUTIER, D., PICART, C., SCHAAF, P., VOEGEL, J.-C. & LAVALLE, P. 2005. Natural polyelectrolyte films based on layer-by layer deposition of collagen and hyaluronic acid. *Biomaterials*, 26, 3353-3361.
- ZHANG, Y. & CAO, W. 2001a. Self-assembly of small molecules: An approach combining electrostatic self-assembly technology with host-guest chemistry. *New Journal of Chemistry*, 25, 483-486.
- ZHANG, Y. & CAO, W. 2001b. Stable Self-Assembled Multilayer Films of Diazo Resin and Poly(maleic anhydride-co-styrene) Based on Charge-Transfer Interaction. *Langmuir*, 17, 5021-5024.
- ZHANG, Y., YANG, S., GUAN, Y., CAO, W. & XU, J. 2003. Fabrication of Stable Hollow Capsules by Covalent Layer-by-Layer Self-Assembly. *Macromolecules*, 36, 4238-4240.
- ZHEN, G., EGGLI, V., VÖRÖS, J., ZAMMARETTI, P., TEXTOR, M., GLOCKSHUBER, R. & KUENNEMANN, E. 2004. Immobilization of the Enzyme β -Lactamase on Biotin-Derivatized Poly(l-lysine)-g-poly(ethylene glycol)-Coated Sensor Chips: A Study on Oriented Attachment and Surface Activity by Enzyme Kinetics and in Situ Optical Sensing. *Langmuir*, 20, 10464-10473.
- ZHU, H., SRIVASTAVA, R. & MCSHANE, M. J. 2005. Spontaneous Loading of Positively Charged Macromolecules into Alginate-Templated Polyelectrolyte Multilayer Microcapsules. *Biomacromolecules*, 6, 2221-2228.
- ZIA, V., RAJEWSKI, R. A. & STELLA, V. J. 2001. Effect of Cyclodextrin Charge on Complexation of Neutral and Charged Substrates: Comparison of (SBE)7M- β -CD to HP- β -CD. *Pharmaceutical Research*, 18, 667-673.
- ZOHREHVAND, S. & EVANS, C. H. 2005. 2-Naphthol-containing β -cyclodextrin-epichlorohydrin copolymers: synthesis, characterization and fluorescence studies. *Polymer International*, 54, 744-753.

Liste des travaux et des communications

Liste des publications

1. **JUNTHIP, J.**, TABARY, N., LECLERCQ, L. & MARTEL, B. 2015. Cationic β -cyclodextrin polymer applied to a dual cyclodextrin polyelectrolyte multilayer system. *Carbohydrate Polymers*, 126, 156-167.
2. MARTIN, A., TABARY, N., CHAI, F., LECLERCQ, L., **JUNTHIP, J.**, AUBERT-VIARD, F., NEUT, C., WELTROWSKI, M., BLANCHEMAIN, N. & MARTEL, B. 2013b. Build-up of an antimicrobial multilayer coating on a textile support based on a methylene blue-poly(cyclodextrin) complex. *Biomedical Materials*, 8, 065006.
3. MARTIN, A., TABARY, N., LECLERCQ, L., **JUNTHIP, J.**, DEGOUTIN, S., AUBERT-VIARD, F., CAZAUX, F., LYSKAWA, J., JANUS, L., BRIA, M. & MARTEL, B. 2013a. Multilayered textile coating based on a β -cyclodextrin polyelectrolyte for the controlled release of drugs. *Carbohydrate Polymers*, 93, 718-730.

Communication par affiche

1. F. Aubert-viard, A. Martin, F. Chai, N. Tabary, O. Rahmouni, **J. Junthip**, C. Neut, B. Martel, N. Blanchemain, Multilayer coating of a nonwoven polyester textile for antibacterial wound dressing, 17th International Cyclodextrin Symposium, Saarbrücken, Allemagne, Mai 2014.
2. **J. Junthip**, N. Tabary, A. Martin, B. Martel, Layer-by-layer system based on cyclodextrin polyelectrolytes applied to a textile substrate, The 7th Asian cyclodextrin conference, Bangkok, Thaïlande, Novembre 2013. **Grand Prize for Poster Presentation supported by Nagai Foundation Tokyo, Japan**
3. **J. Junthip**, N. Tabary, B. Martel, Synthesis and characterization of water-soluble cationic β -cyclodextrin polymers, 3rd European conference on cyclodextrins, Antalya, Turquie, Octobre 2013.
4. N. Tabary, A. Martin, L. Leclercq, **J. Junthip**, F. Aubert-viard, F. Chai, N. Blanchemain, B. Martel, Libération contrôlée de bleu de méthylène via un support textile fonctionnalisé par un revêtement multicouches, Journées Annuelles de la SF2M, Villeneuve d'Ascq, France, Octobre 2013.
5. A. Martin, N. Tabary, L. Leclercq, S. Degoutin, **J. Junthip**, F. Aubert-viard, N. Blanchemain, F. Cazaux, B. Martel, Multilayered coating based on poly-cyclodextrin for drug delivery application, 16th International Cyclodextrin Symposium, Tianjin, Chine, Mai 2012

Communication orale

1. **J. Junthip**, N. Tabary, B. Martel, N. Blanchemain, F. Chai, A. Hedoux, D. Landy, L. Leclercq. Dual cyclodextrin polyelectrolytes multilayer coatings on textile for controlled drug delivery, 4th European conference on cyclodextrins, Lille, France, 9-11 Octobre 2015.
2. **J. Junthip**, N. Tabary, B. Martel, Dual cyclodextrin polyelectrolytes multilayer coatings on textile for controlled drug delivery, The 250th ACS National Meeting & Exposition, Boston, États-Unis, 16-20Août 2015.
3. **J. Junthip**, N. Tabary, B. Martel, Revêtements multicouches à base de polyélectrolytes de cyclodextrines pour la libération de molécules actives, 3^{èmes} Journées des Jeunes Polyméristes du Nord, Villeneuve d'ascq , France, 4 juin 2015 .
4. **J. Junthip**, N. Tabary, B. Martel, Layer-by-layer assembly of dual cyclodextrin polyelectrolytes on textile for controlled drug delivery, 42^{èmes} journées d'étude des polymers (JEPO), Obernai, France, 12-17 octobre 2014.
5. **J. Junthip**, N. Tabary, B. Martel, Layer-by-layer assembly of cyclodextrin polyelectrolytes for controlled drug release, 16^{èmes} Journées Cyclodextrines, Amiens, France, 9-10 Octobre 2014.
6. **J. Junthip**, N. Tabary, B. Martel, Revêtements multicouches à base de polyélectrolytes de cyclodextrines pour la libération de molécules actives , Journées Nord-Ouest Europeennes des Jeunes Chercheurs (JNOEJC) , Villeneuve d'ascq , France, 23-24 juin 2014 .
7. **J. Junthip**, N. Tabary, B. Martel, synthesis and characterization of water-soluble cationic beta-cyclodextrin polymers, 15^{èmes} journées du Club Français des Cyclodextrines, Montpellier, France, 4-5 Avril 2013.

Abstract

Polyelectrolytes multilayer film (PEM) based on cationic and anionic β -cyclodextrin polyelectrolytes was coated onto a textile substrate according to the Layer-by-Layer (LbL) technique for future drug delivery purposes in biomaterial. Firstly, the preparation and characterization of a novel cationic β -cyclodextrin polymer (polyEPG-CD) by crosslinking β -cyclodextrin (β CD) with epichlorohydrin (EP) in the presence of glycidyltrimethylammonium chloride (GTMAC) were performed in order to obtain a compatible polymer using in LbL assembly. Besides, the anionic polyelectrolyte (polyCTR-CD) was obtained by crosslinking between β CD with citric acid (CTR). Secondly, the optimization of multilayered construction majorly based on (i) the charge quantity of PET coated with polyCTR-CD and (ii) the nature of polyEPG-CD. Different types of model molecules (tert-butyl benzoic acid and triclosan) were used as drug model to evaluate the loading capacity and sustained release properties of this PEM system. In parallel, the complexation study of model molecules with both CD polyelectrolytes were also investigated by Nuclear Magnetic Resonance (NMR), Isothermal Titration Calorimetric (ITC) and phase solubility. The influence of thermal crosslinking of the multilayered coating on its stability and on TBBA release kinetics in phosphate buffered saline (PBS) at 37°C was studied. Finally, biological and microbiological tests were performed to investigate the cytocompatibility and the antibacterial activity of multilayer assemblies.

Keywords: β -cyclodextrin polymer, Layer-by-Layer, polyelectrolytes multilayer (PEM), textile, biomaterial, drug delivery system, citric acid, epichlorohydrin, glycidyltrimethylammonium chloride.

Résumé

Un film multicouche de polyélectrolytes (PEM) à base des polyélectrolytes cationiques et anioniques de β -cyclodextrine (β CD) a été déposé sur un substrat de textile PET non-tissé selon la technique Layer-by-Layer (LbL) en vue de futures applications dans la délivrance de principes actifs en biomatériaux. Tout d'abord, la préparation et la caractérisation de polymère cationique (polyEPG-CD) par réticulation entre la β CD avec l'épichlorohydrine (EP) en présence du chlorure de glycidyltriméthylammonium (GTMAC) ont été réalisées afin d'obtenir un polymère compatible à l'utilisation dans les assemblages multicouches. En plus, le polyélectrolyte anionique (polyCTR-CD) est obtenue par réticulation entre β CD avec de l'acide citrique (CTR). Deuxièmement, l'optimisation de la construction des multicouches est majoritairement basée sur (i) la quantité de charge de PET greffé avec polyCTR-CD et (ii) la nature de polyEPG-CD. Différents types de molécules modèles (acide tert-butyl-benzoïque et triclosane) ont été utilisés pour évaluer la capacité d'encapsulation et les propriétés de libération prolongée de ce système de PEM. En parallèle, l'étude de la complexation de molécules modèles avec deux polyélectrolytes de CD a aussi été étudiée par résonance magnétique nucléaire (RMN), titration isotherme calorimétrique (ITC) et la phase solubilité. L'influence de la réticulation thermique des multicouches sur leur stabilité et sur leur cinétique de libération de TBBA dans un tampon phosphate salin (PBS) à 37 °C a été étudiée. Finalement, des tests biologiques et microbiologiques ont été effectués pour prouver la cytocompatibilité et l'activité antibactérienne des assemblages multicouches.

Mots clés : polymère de β -cyclodextrine, couches par couches, multicouches de polyélectrolytes, textile, biomatériau, délivrance de principes actifs, acide citrique, épichlorohydrine, chlorure de glycidyltriméthylammonium.