(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle
Bureau international

(43) Date de la publication internationale
26 mars 2020 (26.03.2020)

WIPO | PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2020/058329 A1

(51) Classification internationale des brevets :
C08B 37/02 (2006.01) *C08L 53/00* (2006.01)
C08J 3/075 (2006.01) *C08L 71/02* (2006.01)
C08L 33/26 (2006.01)

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/EP2019/074997

(22) Date de dépôt international :
18 septembre 2019 (18.09.2019)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
18 58430 18 septembre 2018 (18.09.2018) FR

(71) Déposants : **UNIVERSITÉ DE BORDEAUX** [FR/FR] ; 35 PLACE PEY BERLAND, 33000 BORDEAUX (FR). **INSTITUT POLYTECHNIQUE DE BORDEAUX** [FR/FR] ; 1, avenue du Docteur Albert Schweitzer, 33400 TALENCE (FR). **CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE** [FR/FR] ; 3, rue Michel Ange, 75016 PARIS (FR). **UNIVERSITE DU MANS** [FR/FR] ; Avenue Olivier Messiaen, 72085 LE MANS (FR).

(72) Inventeurs : **RAVAINE, Valérie** ; 8 Avenue St Nicolas, 33610 CESTAS (FR). **BENYAHIA, Lazhar** ; 24 rue de Bazeilles, 72000 LE MANS (FR). **TACO, Nicolai** ; 7 rue de la Boussinière, 72000 LE MANS (FR). **MERLAND, Théo** ; 265 Route de la Croix de Mirée, 72190 SARGE-LES-LE MANS (FR).

(74) Mandataire : **HABASQUE, Etienne** et al. ; Lavoix, 2, place d'Estienne d'Orves, 75441 PARIS CEDEX 09 (FR).

(81) États désignés *(sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible)* : AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés *(sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible)* : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), européen (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée:
— *avec rapport de recherche internationale (Art. 21(3))*

WO 2020/058329 A1

(54) **Title:** STIMULABLE BIPHILIC POLYMER HYDROGEL PARTICLES FOR STABILISING WATER-IN-WATER EMULSIONS

(54) **Titre :** PARTICULES D'HYDROGELS DE POLYMÈRES BIPHILIQUES STIMULABLES POUR STABILISER DES ÉMULSIONS EAU-DANS-EAU

(57) **Abstract:** The invention relates to hydrogel particles consisting of a copolymer of at least one polysaccharide and at least one heat-sensitive polymer. The invention also relates to the use thereof for stabilising a water-in-water emulsion and to the corresponding water-in-water emulsions.

(57) **Abrégé :** La présente invention concerne des particules d'hydrogel constituées d'un copolymère d'au moins un polysaccharide et d'au moins un polymère thermosensible. Elle concerne également leur utilisation pour la stabilisation d'une émulsion eau-dans-eau, ainsi que lesdites émulsions eau-dans-eau correspondantes.

PARTICULES D'HYDROGELS DE POLYMÈRES BIPHILIQUES STIMULABLES POUR STABILISER DES ÉMULSIONS EAU-DANS-EAU

La présente invention a pour objet des particules d'hydrogels de polymères stimulables et leur utilisation pour la stabilisation d'émulsions eau-dans-eau. Elle a également pour objet les émulsions ainsi obtenues.

De nombreux systèmes ternaires aqueux contenant deux types de polymères présentent une séparation de phase liquide-liquide entre une phase riche en polymère A et une phase riche en polymère B (W. J. Frith, Advances in Colloid and Interface Science, 2010, 161, 48-60). Parmi les exemples connus, on retiendra les systèmes eau-dextran-polyoxyde d'éthylène (POE) (D. Forciniti, C. K. Hall and M. R. Kula, Fluid Phase Equilibria, 1991, 61, 243-262) ou eau-dextran-gélatine (M. W. Edelman, E. van der Linden, E. de Hoog and R. H. Tromp, Biomacromolecules, 2001, 2, 1148-1154). Ces systèmes sont intéressants du point de vue des applications car ils permettent de séquestrer certaines molécules d'intérêt dans l'une des phases, en particulier certaines protéines ou de l'ADN (J.P. Douliez, N. Martin, C. Gaillard, T. Beneyton, J.C. Baret, S. Mann, L. Beven, Angew. Chem. Int. Ed., 2017, 3689). Ces systèmes présentent une tension interfaciale très basse (G. Balakrishnan, T. Nicolai, L. Benyahia and D. Durand, Langmuir, 2012, 28, 5921-5926). Ils peuvent être mélangés de façon temporaire mais démixent avec le temps, à moins de gélifier l'une des deux phases (I. Capron, S. Costeux and M. Djabourov, Rheologica Acta, 2001, 40, 441-456). Une approche plus générale consisterait à préserver l'état dispersé d'une phase aqueuse dans l'autre à l'état liquide en ajoutant des agents de surface.

Contrairement aux émulsions eau-huile, ces émulsions eau-dans-eau sont difficiles à stabiliser. En effet, non seulement les tensioactifs de chimie adéquate n'existent pas - il faudrait concevoir des tensioactifs biphiliques - mais les petites molécules ne peuvent pas stabiliser des émulsions eau-dans-eau car la longueur de corrélation est inférieure à celle des solutions de polymères. Les protéines ou les particules aux interfaces peuvent constituer une alternative (T. Nicolai and B. Murray, Food Hydrocolloids, 2017, 68, 157-163 ; J. Esquena, Current Opinion in Colloid & Interface Science, 2016, 25, 109-119).

Cependant, à ce jour, aucun composé n'a permis d'obtenir des émulsions eau-dans-eau stables à la dilution. De plus, aucun système n'a encore permis de contrôler le sens de l'émulsion et sa stabilité par la température.

La présente invention a donc pour but de fournir un système adapté pour permettre de stabiliser des émulsions eau-dans-eau, et ce pour une durée satisfaisante, notamment pendant au moins 3 mois.

La présente invention a également pour but de fournir des émulsions eau-dans-eau stables dans le temps, mais présentant également une stabilité à la dilution pour une durée satisfaisante, notamment pendant au moins 1 mois.

La présente invention a également pour but de fournir des émulsions eau-dans-eau stables dans le temps et pouvant être déstabilisées en fonction d'un stimulus externe tel que la température.

Un autre but de l'invention consiste à fournir des systèmes aqueux, obtenus par simple mélange, à faible taux de cisaillement, à base de capsules de taille contrôlée, stables dans le temps et à la dilution, et pouvant être détruites à la demande, par application d'un stimulus externe tel que la température.

Un autre but de l'invention consiste à fournir un système permettant d'encapsuler des molécules hydrosolubles, y compris des molécules fragiles comme les protéines, les enzymes ou les acides nucléiques tels que l'ADN.

Ainsi, la présente invention concerne une particule d'hydrogel, notamment de nanogel, constituée d'un copolymère d'au moins un polysaccharide et d'au moins un polymère thermosensible.

Selon un mode de réalisation, le copolymère selon l'invention contient de 10% à 50% en poids de polysaccharide et de 50% à 90% en poids de polymère thermosensible.

Selon un mode de réalisation, le copolymère selon l'invention est un copolymère avec deux unités distinctes : un polysaccharide et un polymère thermosensible.

De préférence, les deux polymères sont réticulés chimiquement, au moins partiellement, et forment un réseau gonflé d'eau.

Selon l'invention, le terme « polymère thermosensible » désigne un polymère qui présente un changement drastique et discontinu de ses propriétés physiques avec la température. En particulier, ce terme désigne des polymères à LCST

(température inférieure critique de solubilité) ou UCST (température supérieure critique de solubilité). Ces polymères sont des polymères particuliers dont la solubilité dans l'eau est modifiée au-delà ou en deçà d'une certaine température. Il s'agit des polymères présentant une température critique (ou point de trouble) définissant leur zone de solubilité dans l'eau. Cette température est appelée "LCST" (Lower Critical Solution Temperature) lorsqu'au-dessus de cette température, le polymère perd sa solubilité dans l'eau et devient soluble dans l'eau en dessous de cette température critique. Dans le cas où le polymère devient soluble au-delà d'une température critique, celle-ci est désignée par l'acronyme "UCST" (Upper Critical Solution Temperature).

Selon un mode de réalisation, le polymère thermosensible est un polymère à LCST.

De préférence, le polymère thermosensible est choisi dans le groupe constitué des polyacrylamides N-alkyl-substitués comme le poly(N-isopropylacrylamide), le poly(N-isopropylméthacrylamide) ou le poly(N-éthylacrylamide), le poly((2-diméthylamino)éthyl méthacrylate), les poly(méthacrylates) à chaîne latérale oligoéthylène glycol, le poly(N-vinylcaprolactame), le poly(vinyl méthyl éther), le poly(2-alkyl-2-oxazoline), le Poly(propylène oxyde) et leurs mélanges.

Le polymère thermosensible peut également être choisi dans le groupe constitué des copolymères d'acrylamide et d'acrylonitrile, des homopolymères de méthacrylamide, des polymères à dérivé ureido tels que le poly(allylamine)-co-poly(allylurée) et ses dérivés, des polymères zwittterioniques, tels que les poly(sulfobétaïne)s ou les poly(phosphorylcholine)s, et leurs mélanges.

Selon un mode de réalisation préféré, le polymère thermosensible est le poly(N-isopropylacrylamide).

Selon un mode de réalisation, le polysaccharide selon l'invention est au moins difonctionnel, c'est-à-dire qu'il est substitué par au moins deux groupes fonctionnels. Selon l'invention, le terme « groupe fonctionnel » désigne un groupe portant une fonction chimique, notamment choisie parmi les fonctions méthacrylates, acrylates, vinyliques, acrylamides, méthacrylamides, maléimides, vinylsulfones, acrylonitriles, azotures et amines.

De préférence, le polysaccharide selon l'invention présente un degré de substitution (DS) compris entre 2% et 30% en moles.

Le degré de substitution est défini comme le rapport molaire entre les groupes fonctionnels greffés, notamment les fonctions méthacrylates greffées, et l'unité de répétition du polysaccharide, ici nommément le dextran. Il peut être mesuré par RMN (Résonance Magnétique Nucléaire) du proton, en intégrant les protons vinyliques (5.8 et 6.25 ppm) et ceux du dextran anomérique (5 ppm).

De préférence, le polysaccharide est choisi dans le groupe constitué de l'acide hyaluronique, de l'héparosane, de la chondroïtine, du sulfate de chondroïtine, de l'héparine, du sulfate d'héparane, de l'alginate, de la pectine, du dextran, de la dextrine, du pullulane, du glycogène et de leurs mélanges.

Préférentiellement, le polysaccharide est le dextran, notamment fonctionnalisé, en particulier substitué par au moins deux groupes méthacrylates.

Selon l'invention, lesdites particules sont des réseaux de polymère gonflé de solvant. Le réseau est continu à travers la particule, on peut alors parler de particules « pleines ». Généralement, les particules contiennent plus de solvant que de polymère. Les particules selon l'invention peuvent également être désignées comme des particules colloïdales d'hydrogel.

Les particules d'hydrogel ou de nanogel selon l'invention présentent de préférence un diamètre compris entre 10 nm et 10 µm.

La présente invention concerne également une série de particules d'hydrogel ou de nanogel telles que définies ci-dessus.

Ainsi, la présente invention est basée sur une nouvelle classe de particules, constituées de copolymères, dont l'une des entités présente une affinité pour la phase aqueuse contenant un polymère A et l'autre a une affinité pour la phase aqueuse contenant un polymère B. Ces copolymères sont qualifiés de double-hydrophiles ou biphiliques.

La présente invention concerne également l'utilisation d'au moins une particule d'hydrogel ou de nanogel telle que définie ci-dessus, pour la stabilisation d'une émulsion eau-dans-eau.

Lorsque les particules de l'invention, constituées de copolymères, dont l'une des entités présente une affinité pour la phase aqueuse contenant un polymère A (polA) et l'autre a une affinité pour la phase aqueuse contenant un polymère B (polB), sont ajoutées au mélange ternaire eau-polA-polB, elles se placent préférentiellement à l'interface entre les deux phases aqueuses incompatibles et stabilisent des gouttes de A-dans-B ou B-dans-A selon que les particules préfèrent être dispersées dans la phase riche en B ou dans la phase riche en A respectivement. Cette préférence découle de la composition du copolymère et de sa structure.

La présente invention concerne également une émulsion eau-dans-eau, comprenant une phase aqueuse dispersée contenant un polymère A et une phase aqueuse continue contenant un polymère B, et comprenant en outre, à l'interface de ces deux phases, des particules d'hydrogel ou de nanogel telles que définies ci-dessus.

Selon un mode de réalisation, la concentration des polymères A et B dans les phases aqueuses continue et dispersée est comprise entre 0,1% et 80% en masse par rapport à la masse de phase aqueuse continue ou dispersée, respectivement.

Selon un mode de réalisation, la concentration des particules est comprise entre 0,005% et 30% en masse par rapport à la masse d'émulsion.

La présente invention concerne également une émulsion eau-dans-eau telle que définie ci-dessus, dont la phase aqueuse dispersée est formée d'au moins une capsule comprenant un cœur contenant le polymère A et une écorce de particules d'hydrogel ou de nanogel telles que définies ci-dessus.

Selon un mode de réalisation, dans les émulsions eau-dans-eau telles que définies ci-dessus, le polymère A est un polymère hydrosoluble pouvant présenter une séparation de phase avec B. Un tel polymère peut être choisi dans la classe des polysaccharides (dextran, chitosan, guar…), des protéines (caséine, protéines globulaires…), des oligopeptides, des acides nucléiques (ADN, ARN) ou des polymères synthétiques (POE, PPO, acrylates, …) par exemple.

Selon un mode de réalisation, dans les émulsions eau-dans-eau telles que définies ci-dessus, dans laquelle le polymère B est un polymère hydrosoluble pouvant présenter une séparation de phase avec A. Un tel polymère peut être choisi dans la classe des polysaccharides (dextran, chitosan, guar…), des protéines (caséine, protéines globulaires…), des oligopeptides, des acides nucléiques (ADN, ARN) et des polymères synthétiques (POE, PPO, acrylates, …) par exemple.

Selon un mode de réalisation, lorsque l'un des deux polymères de la particule possède une température critique de solution, basse par exemple (LCST), c'est-à-dire qu'il est soluble à basse température dans l'eau mais précipite pour une température supérieure à la LCST, les particules de copolymères passent de l'état gonflé à une température inférieure à la LCST à contracté au-delà de la LCST. La dispersabilité des particules dans A ou dans B est également fonction de l'état de gonflement de la particule.

Si les particules ont une affinité pour A à basse température, les émulsions de B-dans-A seront stables à basse température. Une élévation de température au-delà de la LCST provoque la déstabilisation de l'émulsion. Si l'émulsion est réalisée à haute température, les émulsions de A dans B seront stables. Une diminution de la température en-deçà de la LCST provoque la déstabilisation de l'émulsion.

Selon un mode de réalisation, lorsque l'un des deux polymères est un polymère à UCST, c'est-à-dire qu'il est soluble à haute température dans l'eau mais précipite pour une température inférieure à la UCST, les particules de copolymères passent de l'état contracté à une température inférieure à la UCST à gonflé au-delà de la UCST.

Si les particules ont une affinité pour A à haute température, les émulsions de B-dans-A seront stables à haute température. Une diminution de température en-deçà de la UCST provoque la déstabilisation de l'émulsion. Si l'émulsion est réalisée à basse température, les émulsions de A dans B seront stables. Une diminution de la température au-delà de la UCST provoque la déstabilisation de l'émulsion.

Ainsi, la présente invention est avantageuse en ce qu'il est possible de modifier de façon simple le sens de l'émulsion obtenue. En effet, le sens de l'émulsion obtenue diffère selon que l'on est au-dessous de la température de solubilité du polymère thermosensible selon l'invention ou au-dessus. Par exemple,

en utilisant un polymère à LCST, à basse température, la phase aqueuse contenant des polysaccharides sera la phase dispersée alors qu'à haute température elle deviendra la phase continue. Ainsi, il est possible de choisir le sens de l'émulsion en adaptant la température de transition de phase des hydrogels ou nanogels à la température d'utilisation choisie.

En outre, les émulsions eau-dans-eau susmentionnées, stabilisées à basse température, peuvent être déstabilisées à la demande en augmentant la température au-delà de la température de solubilité du polymère à LCST.

Enfin, les émulsions selon l'invention sont stables à la dilution, ce qui est généralement impossible pour des émulsions eau-dans-eau car la dilution provoque la diminution de la tension interfaciale entre les deux phases riches en A et B et finit, à forte dilution, de ramener les polymères dans le domaine monophasique.

La présente invention concerne également un procédé permettant de changer le sens des émulsions susmentionnées, par l'intermédiaire d'un changement de température, comme décrit ci-dessous.

Par exemple, il est possible de transformer une émulsion eau-dans-eau, comprenant une phase aqueuse dispersée contenant un polymère A et une phase aqueuse continue contenant un polymère B, en une émulsion eau-dans-eau, comprenant une phase aqueuse dispersée contenant un polymère B et une phase aqueuse continue contenant un polymère A.

Ainsi, pour une température inférieure à la LCST du polymère, on obtiendra préférentiellement une émulsion eau-dans-eau dont la phase continue est la phase riche en polymère A et la phase dispersée, la phase riche en polymère B, A ayant une affinité pour le polymère à LCST. Le chauffage de l'émulsion au repos au-delà de la LCST conduit à sa déstabilisation, c'est-à-dire le retour à la séparation de phases macroscopique. Si l'on maintient l'échantillon sous agitation, notamment à l'aide d'un vortex, pendant le chauffage, le chauffage au-delà de la LCST conduit à une inversion de phase de l'émulsion, à savoir que la phase riche en polymère A devient la phase dispersée alors que la phase riche en polymère B devient la phase continue.

La présente invention concerne donc également un procédé de préparation d'une émulsion eau-dans-eau, comprenant une phase aqueuse dispersée contenant un polymère B et une phase aqueuse continue contenant un polymère A, comprenant une étape de traitement d'une émulsion telle que définie ci-dessus à une température inférieure à la LCST du polymère thermosensible. Ce procédé

consiste donc à transformer une émulsion eau-dans-eau, comprenant une phase aqueuse dispersée contenant un polymère A et une phase aqueuse continue contenant un polymère B, en une émulsion eau-dans-eau, comprenant une phase aqueuse dispersée contenant un polymère B et une phase aqueuse continue contenant un polymère A.

La présente invention concerne également une capsule de polymère, comprenant :

- un cœur contenant une phase aqueuse et au moins un polymère A ; et
- une écorce de particules d'hydrogel ou de nanogel telles que définies ci-dessus, ladite écorce encapsulant totalement ledit cœur à sa périphérie.

De préférence, ces capsules présentent une taille comprise 0,1 µm et 1 000 µm, de préférence comprise entre 500 nm et 100 µm.

La présente invention concerne également l'utilisation d'une capsule telle que définie ci-dessus pour l'encapsulation de molécules hydrosolubles, notamment choisies parmi les protéines, les enzymes ou les acides nucléiques tels que l'ADN ou l'ARN.

De telles capsules permettent ainsi l'encapsulation d'actifs alimentaires, cosmétiques ou pharmaceutiques.

En particulier, ces capsules peuvent être utilisées pour l'encapsulation de colorants, de pigments, de quantum-dots, de marqueurs fluorescents, de vitamines, de peptides, d'oligonucléotides, d'antibiotiques, d'hormones, d'anticancéreux ou de filtres solaires.

Selon un mode de réalisation, le cœur desdites capsules comprend en outre un actif.

A titre d'actif, on peut par exemple citer tout actif hydrosoluble avec un coefficient de partage différent de 1. Selon l'invention, ledit actif sera dans la phase dispersée. L'état de l'hydrogel sera choisi de façon à orienter le sens de l'émulsion pour que la phase dans lequel l'actif est dissous devienne la phase dispersée.

Ainsi, comme expliqué ci-dessus, la présente invention propose un moyen d'encapsuler des molécules hydrosolubles fragiles. En particulier, dans un processus de séparation de phases liquide-liquide en milieu aqueux, ces dernières présentent une affinité plus importante pour une phase aqueuse de polymères que pour l'autre. En adaptant les conditions, elles peuvent donc se localiser

sélectivement dans la phase dispersée. Si les gouttes de phase dispersée sont suffisamment stables, elles peuvent être concentrées sans risquer de coalescer ou diluées sans de disloquer. Il est donc possible de transporter ces molécules fragiles, tout en les protégeant du milieu extérieur via la capsule.

La capsule d'hydrogel ou de nanogel peut ensuite être détruite à façon par l'application d'un simple stimulus tel que la température. Le processus de formation utilisé est non délétère pour des molécules fragiles puisque l'agitation mécanique reste modérée et que la stabilité repose uniquement sur des processus physiques (pas de réactivité, pas de changement de milieu tel que le pH ou la température).

FIGURES

Figure 1 : Image de TEM (microscopie électronique en transmission) des nanogels 1' (cf. Tableau 1 ci-après)

Figure 2 : Influence du DS du dextran dans les nanogels sur l'évolution de leur diamètre en fonction de la température. Exemple pour les nanogels de composition contenant 37% massique de dextran-MA (dextran-méthacrylate), avec différents taux de substitution du dextran.

Figure 3 : Stabilité des émulsions produites à partir de différents nanogels pour des compositions contenant 75% de phase aqueuse de dextran et 25% de phase PEO (gauche) et 25% de phase aqueuse de dextran et 75% de phase PEO – comparaison entre t=0 (haut) et t=1 jour (bas), à température ambiante. Pour chaque série, R est la référence sans nanogel, 0 l'émulsion stabilisée par des nanoparticules de pNIPAM sans dextran, 1, 2 et 3 sont stabilisées par les nanogels 1, 2 et 3 respectivement (voir tableau 1).

Figure 4 : Emulsion dextran-dans-POE avec 0,04% m de nanogels 1' fluorescents après 3 jours à 25°C.

Figure 5 : Inverse du diamètre des gouttes en fonction de la quantité de nanogels pour des émulsions de dextran-dans-POE (nanogels 1') à 25°C.

Figure 6 : Influence de la concentration en nanogels sur la stabilité des émulsions dextran-dans-PEO stabilisés par les nanogels 1' (37% massique de dextran DS 10), à 25°C. Suivi temporel de la transmittance des émulsions soumises à une force centrifuge de 300g (t=2 min, 6 min, 33h). Les émulsions contiennent 0, 0,01%, 0,04% et 0,08% en poids en nanogels.

Figure 7 : Influence de la concentration en nanogels sur la stabilité des émulsions PEO-dans-dextran stabilisés par les nanogels 1' (37% m de dextran DS 10), à 50°C. Suivi temporel de la transmittance des émulsions soumises à une force centrifuge de 300g (t=6 min, 33h). Les émulsions contiennent 0, 0,01%, 0,04%, 0,08% et 0,12% en poids de nanogels.

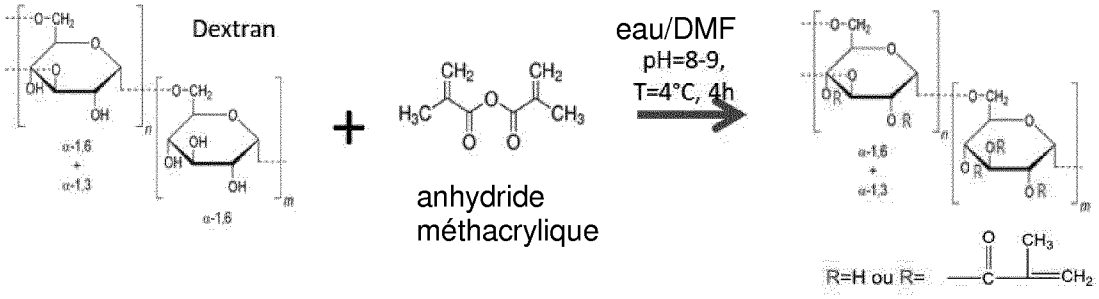
Figure 8 : Comportement des émulsions dextran-dans-PEO stabilisées par les nanogels 1' à 20°C suite à des dilutions allant de 1 à 5 fois le volume initial de l'émulsion. Suivi temporel de la transmittance des émulsions sous gravité normale. Les émulsions contiennent 0,1% en poids de nanogels.

EXEMPLES

Exemple 1 : Préparation de particules selon l'invention

De nouvelles nanoparticules constituées de copolymères de pNIPAM et de dextran sont synthétisées. Pour cela, le dextran est fonctionnalisé par des motifs méthacrylates.

Le dextran-méthacrylate (Dex-MA) est obtenu par réaction de l'anhydride méthacrylique avec les hydroxyles du dextran, en milieu DMF/eau (Pitarresi, G.; Pierro, P.; Palumbo, F. S.; Tripodo, G.; Giammona,G. *Biomacromolecules* 2006, 7, 1302−1310 ; Auzely, dx.doi.org/10.1021/bm300324m | *Biomacromolecules*) selon le schéma suivant :



A titre d'exemple, pour obtenir un taux de substitution de 10%, le dextran (40 kg/mol, Sigma-Aldrich) est introduit dans 175 mL de mélange eau/DMF 7/3 auquel est ajouté 2 g d'anhydride méthacrylique. Le pH est maintenu entre 8 et 9 par des ajouts de NaOH 0,5 M pendant 4 h à 4°C. A l'issue de la réaction, le milieu est dialysé via une membrane de dialyse (seuil de coupure 3500 g/mol) pendant 6 jours, en changeant l'eau au moins une fois par jour. La solution est ensuite lyophilisée. Le taux de substitution (DS), défini comme le rapport molaire entre les fonctions méthacrylates greffées et l'unité de répétition du dextran, est déterminé par RMN du proton en intégrant les protons vinyliques (5.8 et 6.25 ppm) et ceux du dextran anomérique (5 ppm). Des DS allant de 5 à 40% de la chaîne de dextran sont obtenus en modifiant la concentration de l'anhydride méthacrylique.

Les particules de pNIPAM-Dex sont synthétisées par polymérisation par précipitation. Le NIPAM (796 mg) et le dex-MA (entre 10 et 37% massiques par rapport au NIPAM) sont dissous dans 95 mL d'eau désionisée. Le milieu est chauffé

à 70°C et dégazé. Puis le persulfate de potassium (67 mg dans 5 mL) est introduit pour amorcer la polymérisation. Au bout d'une dizaine de minutes, le milieu devient turbide, indiquant la nucléation des particules. La réaction est conduite pendant 4 h. Dans le cas de la synthèse de particules fluorescentes, la fluorescéine-O-méthacrylate (0,1% mol. par rapport au NIPAM) est introduite dans la solution, en même temps que le NIPAM.

Les particules issues de la synthèse sont filtrées, puis dialysées pendant 6 jours au minimum à l'aide d'une membrane de dialyse de seuil de coupure 100 kDa. Les particules sont de taille uniforme, comme en témoigne leur analyse à l'état sec par microscopie électronique en transmission (TEM Tecnai Biotwin (120 kV)) (Figure 1). Le diamètre des particules d_H est mesuré par diffusion dynamique de la lumière (Zetasizer Nano S90, Malvern Instruments) équipée d'un laser He-Ne sous incidence de 90° par rapport au détecteur. Il est reporté dans le tableau 1 pour différentes compositions de particules. L'évolution du diamètre des particules en fonction de la température est donnée en Figure 2. Les nanogels sont gonflés à basse température et se contractent pour une température supérieure à 32°C, correspondant à la LCST du pNIPAM.

Tableau 1 : Exemples de nanogels obtenus pour différentes compositions. Chaque synthèse utilise une quantité définie de NIPAM, de Dex-MA dont le degré de substitution (DS) varie. Toutes les teneurs sont données pour 100 mL d'eau. La quantité d'amorceur, le persulfate de potassium, est de 2,5 mM. Le dextran de masse molaire Mn=40 kDa est utilisé. Les compositions des nanogels résultants sont déterminées par RMN du ^{1}H. Après purification par dialyse, le taux de solide (extrait sec, exprimé en % m.) est mesuré par pesée après évaporation de la phase aqueuse.

	NIPAM (g)	DS	Dex-MA (g)	d_H (nm) T=20°C	d_H (nm) T=40°C	Extrait sec (%m)
1	0.796	10	0.292	160	100	0.65
2	0.796	2	0.292	150	80	0.37
3	0.796	10	0.079	200	100	0.34
1'	0.796	10	0.292	240	160	1.22

Exemple 2 : Préparation de systèmes ternaires

Les émulsions ont été préparées avec des solutions contenant pour l'une une fraction massique de poly(oxyde d'éthylène) POE (Sigma-Aldrich), de masse molaire moyenne en masse de 200 000 g/mol, et pour l'autre une fraction massique de dextran (Sigma-Aldrich), de masse molaire moyenne en masse comprise entre 450 000 et 650 000 g/mol. Toutes les solutions sont obtenues avec de l'eau milli-Q dont la résistivité est de 18,2 MΩ·cm.

Deux solutions mères sont préparées à l'avance. La solution de POE a une concentration de 10% en masse et la solution de dextran est à 20% massique. La poudre de POE contenant des particules de silice, celles-ci ont été retirées en passant les solutions de POE à la centrifugeuse pendant 4h à 50 000 g.

Ces solutions ont été préparées par pesée de chaque solution, puis agitées pendant 24h avant utilisation afin d'assurer leur homogénéité. La solution mère de dextran a été obtenue par exemple en pesant 20g de polymère puis en complétant à 100 g total par ajout d'eau milli-Q.

Les émulsions sont réalisées en mélangeant un rapport volumique 75%/25% de chaque phase. Un premier système contient une fraction volumique de 75% de la phase riche en POE et 25% de la phase riche en dextran. Pour le système à 75% volumique de POE, les masses du dextran et du POE sont de de 4% et 6% respectivement. Après séparation de phase, la concentration de la phase riche en POE est de 15,8% et celle en dextran est de 8,2%.

Les nanogels en solution sont ajoutés au mélange, de façon à obtenir au maximum 0,12% massique de nanogels dans le mélange total. L'aptitude à la dilution a été testée en rajoutant jusqu'à 5 fois le volume de l'émulsion en équivalent d'eau.

Les émulsions ont ensuite été mélangées à l'agitateur Fisherbrand pendant 10 s. Il a été vérifié que la force et le temps d'agitation n'avaient pas d'influence sur le comportement des émulsions.

Exemple 3 : Emulsions réalisées à température ambiante

Les essais réalisés avec les différents nanogels sont reportés sur la Figure 3. Seule l'émulsion dont la phase continue est le PEO avec le nanogel 1 est stable sur une journée. La phase PEO étant moins dense que la phase dextran, elle crème lors de la séparation de phases.

Les essais de la Figure 3 montrent que :

1) Les nanogels contenant la plus grande quantité de dextran stabilisent mieux les émulsions ;

2) Le système dextran-dans-PEO est stable alors que le système PEO-dans-dextran est instable ;

3) Quelle que soit leur composition, les particules ont tendance à migrer dans la phase PEO après déstabilisation.

Des émulsions sont réalisées avec un lot de nanogels contenant 37% en Dex-MA de DS 10, dans lequel a été introduit un comonomère fluorescent (Fluorescein *O*-methacrylate, 0.1% mol par rapport au NIPAM). La préparation des émulions avec l'ajout de particules se fait comme décrit dans l'exemple 2. Les émulsions sont observées au microscope confocal. Il apparaît clairement que les nanogels se mettent à la surface des gouttes, formant ainsi des capsules. Ces capsules renfermant le dextran, plus lourd que le POE, sédimentent sous l'effet de la gravité, se concentrent mais elles restent intègres tout en étant au contact (Figure 4). Leur taille évolue peu au cours du temps. Elle varie d'environ 30% sur les 3 premiers jours puis se stabilise. Les gouttes sont donc très résistantes au stockage.

Il convient également de noter que la taille des gouttes est une fonction de la quantité de particules (Figure 5). L'évolution linéaire de l'inverse du diamètre en fonction de la quantité de particules est une signature caractéristique de la coalescence limitée des émulsions de Pickering. D'un point de vue pratique, ce phénomène constitue un levier pour contrôler la taille des gouttes et donc des capsules.

La stabilité mécanique des émulsions dextran-dans-PEO est évaluée en soumettant les émulsions à une force centrifuge. Le LUMIsizer® donne l'analyse

simultanée de la transmittance en fonction de l'altitude dans un tube, il permet de sonder les phénomènes de crémage/sédimentation, ainsi que la coalescence à force et centrifuge et température contrôlées. Ainsi une transmittance faible traduit une phase turbide et donc l'existence de gouttes. Elles peuvent être localisées sur une petite zone après sédimentation/crémage. Une transmittance élevée sur l'ensemble de la hauteur signifie que l'échantillon a déphasé ou que les interfaces ont disparues par coalescence.

La figure 6 montre l'évolution de ce signal pour des émulsions stabilisées par le nanogel 1', utilisé à différentes concentrations. Pour des concentrations supérieures à 0,04% massique, la persistance d'une turbidité dans le bas du tube après une très longue centrifugation (33h) à 300g témoigne d'une grande résistance des gouttes à la coalescence sous contrainte mécanique.

Ainsi, les émulsions stabilisées par les nanogels ayant une composition de 37% m. en dextran de DS 10, assurent une grande stabilité à l'émulsion. La comparaison des lots 1 et 1', de même composition mais de taille différente, montrent que cette stabilité est d'autant plus grande que la taille des nanogels est élevée.

Exemple 4 : Inversion de phase des émulsions

Les mêmes émulsions que dans la partie précédente ont subi le même traitement au LUMiSizer® mais à 50°C. Il s'en dégage une inversion des comportements par rapport à la température ambiante, comme avec les particules 1'.

Ainsi, les émulsions dextran-dans-POE sont peu stables. Les émulsions POE-dans-dextran sont, en revanche, très stables (Figure 7).

Les résultats obtenus montrent donc que la température est un levier pour moduler l'affinité du nanogel pour l'une des phases aqueuses. Le sens de l'émulsion eau-dans-eau stabilisée par des nanogels est dicté par la préférence des particules pour l'une ou l'autre des phases. Les émulsions produites sont extrêmement stables à la température considérée. A fortiori, les émulsions peuvent être déstabilisées par l'application d'un stimulus qui réduit l'affinité des particules pour la phase continue et provoque leur dispersion dans la phase dispersée.

Exemple 5 : Stabilité à la dilution

Une émulsion POE/dextran (75%/25%) a été préparée en rajoutant 0.1% m de particules 1'.

Comme énoncé plus haut, ce système a montré une stabilité inédite à température ambiante. Après 1 journée de stabilisation du système, les émulsions ont été diluées de 1 à 5 fois en rajoutant de l'eau.

Les émulsions sont ensuite observées sur une période de 1 semaine.

La quantification de cette stabilité à la dilution des émulsions a été réalisée sur le LUMiReader®, l'équivalent du LUMiSizer® mais travaillant à 1g, ainsi aucune contrainte mécanique supplémentaire ou aucune perturbation ne sont infligées aux émulsions (Figure 8). Il en ressort qu'une dilution jusqu'à 5 fois n'altère pas la stabilité des émulsions même après une semaine après la dilution. C'est le premier système eau-dans-eau qui à ce jour montre une telle stabilité à la dilution.

REVENDICATIONS

1. Utilisation d'au moins une particule d'hydrogel constituée d'un copolymère d'au moins un polysaccharide et d'au moins un polymère thermosensible, pour la stabilisation d'une émulsion eau-dans-eau.

2. Utilisation selon la revendication 1, dans laquelle le copolymère contient de 10% à 50% en poids de polysaccharide et de 50% à 90% en poids de polymère thermosensible.

3. Utilisation selon la revendication 1 ou 2, dans laquelle le polysaccharide est choisi dans le groupe constitué de l'acide hyaluronique, de l'héparosane, de la chondroïtine, du sulfate de chondroïtine, de l'héparine, du sulfate d'héparane, de l'alginate, de la pectine, du dextrane, de la dextrine, du pullulane, du glycogène et de leurs mélanges.

4. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, dans laquelle le polymère thermosensible est choisi dans le groupe constitué des polyacrylamides N-alkyl-substitués comme le poly(N-isopropylacrylamide), le poly(N-isopropylméthacrylamide) ou le poly(N-éthylacrylamide), du poly((2-diméthylamino)éthyl méthacrylate), des poly(méthacrylates) à chaîne latérale oligoéthylène glycol, du poly(N-vinylcaprolactame), du poly(vinyl méthyl éther), du poly(2-alkyl-2-oxazoline), du poly(propylène oxyde), des copolymères d'acrylamide et d'acrylonitrile, des homopolymères de méthacrylamide, des polymères à dérivé ureido tels que le poly(allylamine)-co-poly(allylurée) et ses dérivés, des polymères zwittterioniques, tels que les poly(sulfobétaïne)s ou les poly(phosphorylcholine)s, et leurs mélanges.

5. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, dans laquelle le diamètre de la particule d'hydrogel est compris entre 10 nm et 10 µm.

6. Emulsion eau-dans-eau, comprenant une phase aqueuse dispersée contenant un polymère A et une phase aqueuse continue contenant un polymère B, et comprenant en outre, à l'interface de ces deux phases, des particules d'hydrogel,

lesdites particules d'hydrogel étant constituées d'un copolymère d'au moins un polysaccharide et d'au moins un polymère thermosensible.

7. Emulsion eau-dans-eau selon la revendication 6, dans laquelle le copolymère contient de 10% à 50% en poids de polysaccharide et de 50% à 90% en poids de polymère thermosensible.

8. Emulsion eau-dans-eau selon la revendication 6 ou 7, dans laquelle le polysaccharide est choisi dans le groupe constitué de l'acide hyaluronique, de l'héparosane, de la chondroïtine, du sulfate de chondroïtine, de l'héparine, du sulfate d'héparane, de l'alginate, de la pectine, du dextrane, de la dextrine, du pullulane, du glycogène et de leurs mélanges.

9. Emulsion eau-dans-eau selon l'une quelconque des revendications 6 à 8, dans laquelle le polymère thermosensible est choisi dans le groupe constitué des polyacrylamides N-alkyl-substitués comme le poly(N-isopropylacrylamide), le poly(N-isopropylméthacrylamide) ou le poly(N-éthylacrylamide), du poly((2-diméthylamino)éthyl méthacrylate), des poly(méthacrylates) à chaîne latérale oligoéthylène glycol, du poly(N-vinylcaprolactame), du poly(vinyl méthyl éther), du poly(2-alkyl-2-oxazoline), du poly(propylène oxyde), des copolymères d'acrylamide et d'acrylonitrile, des homopolymères de méthacrylamide, des polymères à dérivé ureido tels que le poly(allylamine)-co-poly(allylurée) et ses dérivés, des polymères zwittterioniques, tels que les poly(sulfobétaïne)s ou les poly(phosphorylcholine)s, et leurs mélanges.

10. Emulsion eau-dans-eau selon l'une quelconque des revendications 6 à 9, dans laquelle le diamètre des particules d'hydrogel est compris entre 10 nm et 10 µm.

11. Emulsion eau-dans-eau selon l'une quelconque des revendications 6 à 10, dans laquelle le polymère thermosensible est un polymère à LCST.

12. Procédé de préparation d'une émulsion eau-dans-eau, comprenant une phase aqueuse dispersée contenant un polymère B et une phase aqueuse continue contenant un polymère A, comprenant une étape de traitement d'une émulsion selon la revendication 11 à une température inférieure à la LCST du polymère thermosensible.

13. Capsule de polymère, comprenant :

- un cœur contenant une phase aqueuse et au moins un polymère A ; et
- une écorce de particules d'hydrogel, ladite écorce encapsulant totalement ledit cœur à sa périphérie, lesdites particules d'hydrogel étant constituées d'un copolymère d'au moins un polysaccharide et d'au moins un polymère thermosensible.

14. Capsule de polymère selon la revendication 13, dans laquelle le copolymère contient de 10% à 50% en poids de polysaccharide et de 50% à 90% en poids de polymère thermosensible.

15. Capsule de polymère selon la revendication 13 ou 14, dans laquelle le polysaccharide est choisi dans le groupe constitué de l'acide hyaluronique, de l'héparosane, de la chondroïtine, du sulfate de chondroïtine, de l'héparine, du sulfate d'héparane, de l'alginate, de la pectine, du dextrane, de la dextrine, du pullulane, du glycogène et de leurs mélanges.

16. Capsule de polymère selon l'une quelconque des revendications 13 à 15, dans laquelle le polymère thermosensible est choisi dans le groupe constitué des polyacrylamides N-alkyl-substitués comme le poly(N-isopropylacrylamide), le poly(N-isopropylméthacrylamide) ou le poly(N-éthylacrylamide), du poly((2-diméthylamino)éthyl méthacrylate), des poly(méthacrylates) à chaîne latérale oligoéthylène glycol, du poly(N-vinylcaprolactame), du poly(vinyl méthyl éther), du poly(2-alkyl-2-oxazoline), du poly(propylène oxyde), des copolymères d'acrylamide et d'acrylonitrile, des homopolymères de méthacrylamide, des polymères à dérivé ureido tels que le poly(allylamine)-co-poly(allylurée) et ses dérivés, des polymères zwittterioniques, tels que les poly(sulfobétaïne)s ou les poly(phosphorylcholine)s, et leurs mélanges.

17. Capsule de polymère selon l'une quelconque des revendications 13 à 16, dans laquelle le diamètre des particules d'hydrogel est compris entre 10 nm et 10 µm.

18. Utilisation d'une capsule selon la revendication 13 à 17, pour l'encapsulation de molécules hydrosolubles, notamment choisies parmi les protéines, les enzymes ou les acides nucléiques tels que l'ADN ou l'ARN.

5

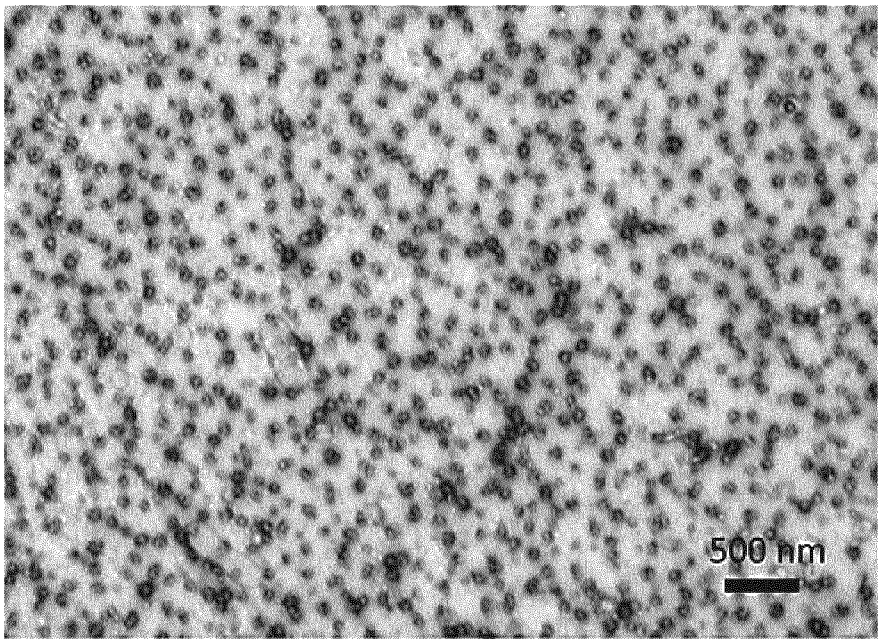

500 nm

FIG.1

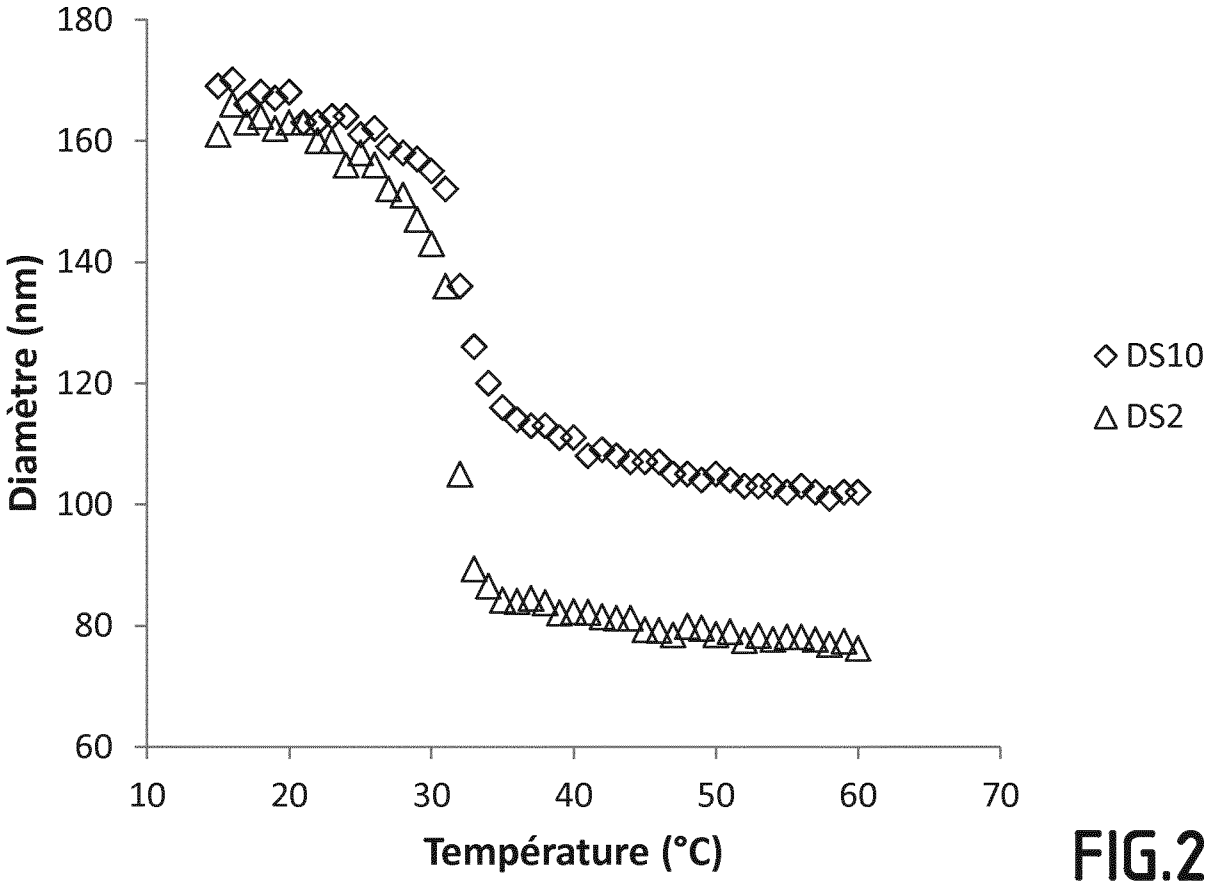

180
160
140
120
100
80
60
Diamètre (nm)
10
20
30
40
50
60
70
Température (°C)
DS10
DS2

FIG.2

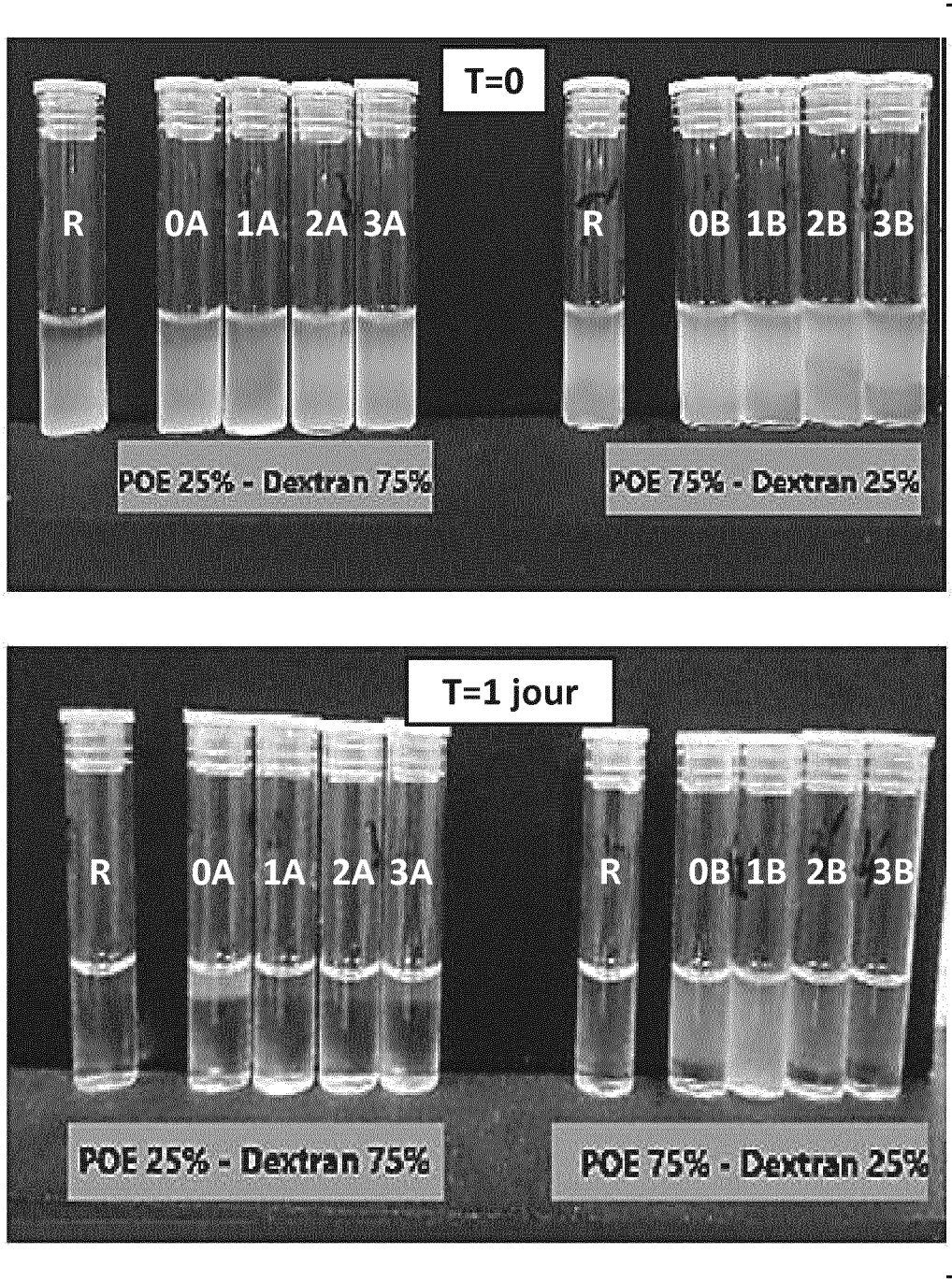

T=0
R
0A
1A
2A
3A
R
0B
1B
2B
3B
POE 25% - Dextran 75%
POE 75% - Dextran 25%
T=1 jour
R
0A
1A
2A
3A
R
0B
1B
2B
3B
POE 25% - Dextran 75%
POE 75% - Dextran 25%

FIG.3

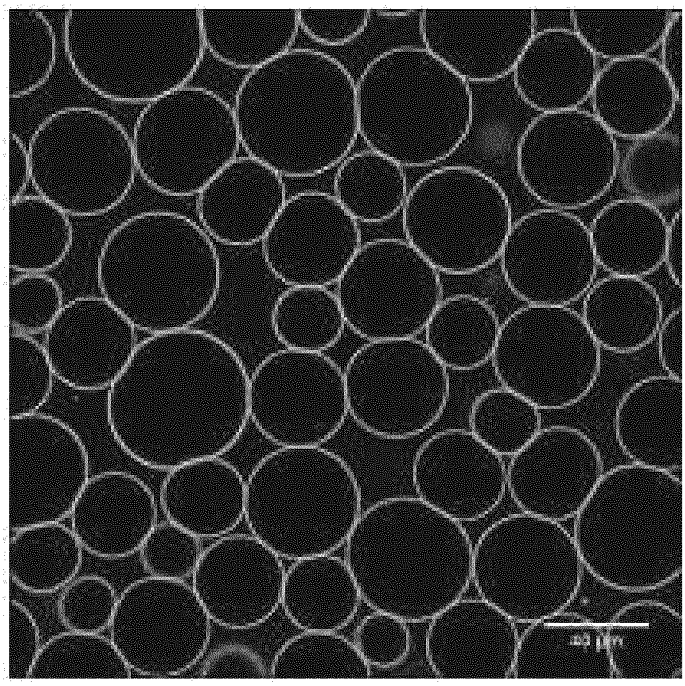


FIG.4

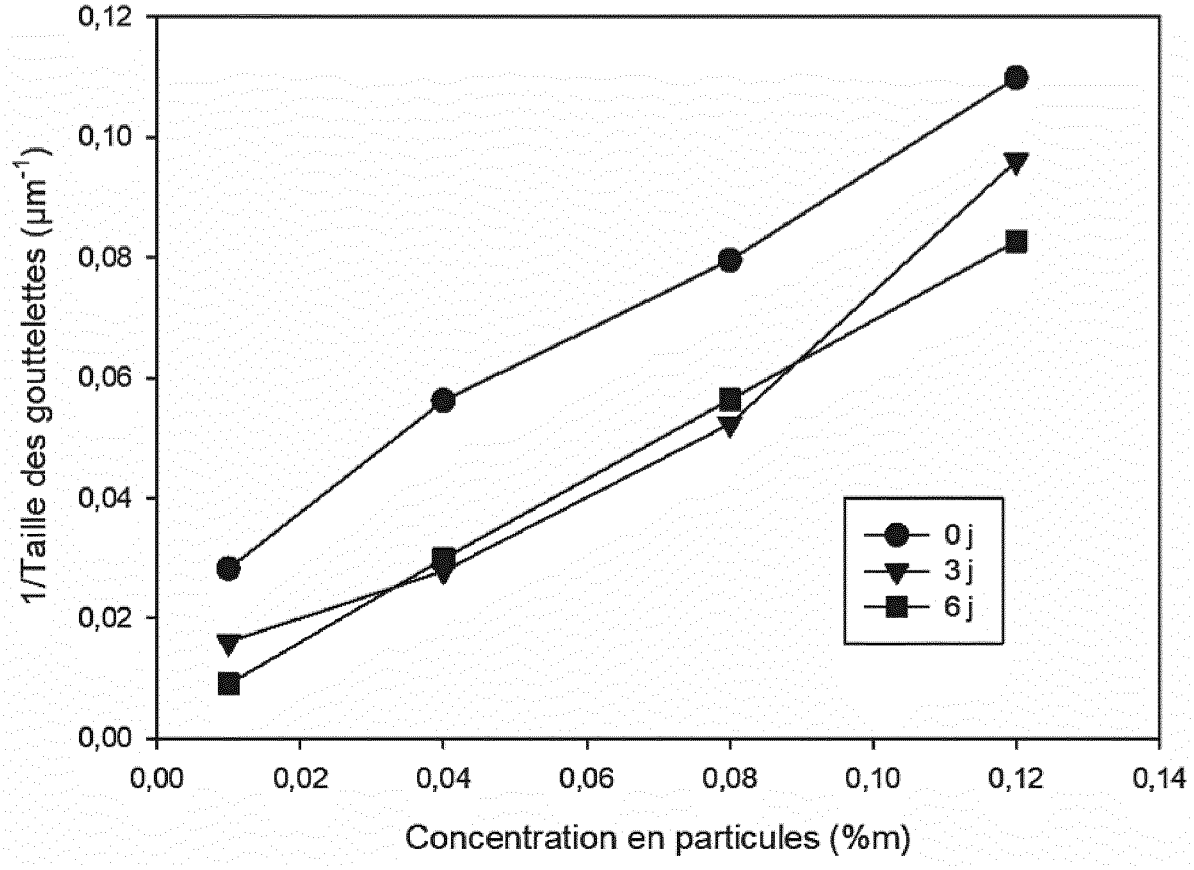

0,12
0,10
0,08
0,06
0,04
0,02
0,00
1/Taille des gouttelettes (µm-1)
0,00
0,02
0,04
0,06
0,08
0,10
0,12
0,14
Concentration en particules (%m)
0 j
3 j
6 j

FIG.5

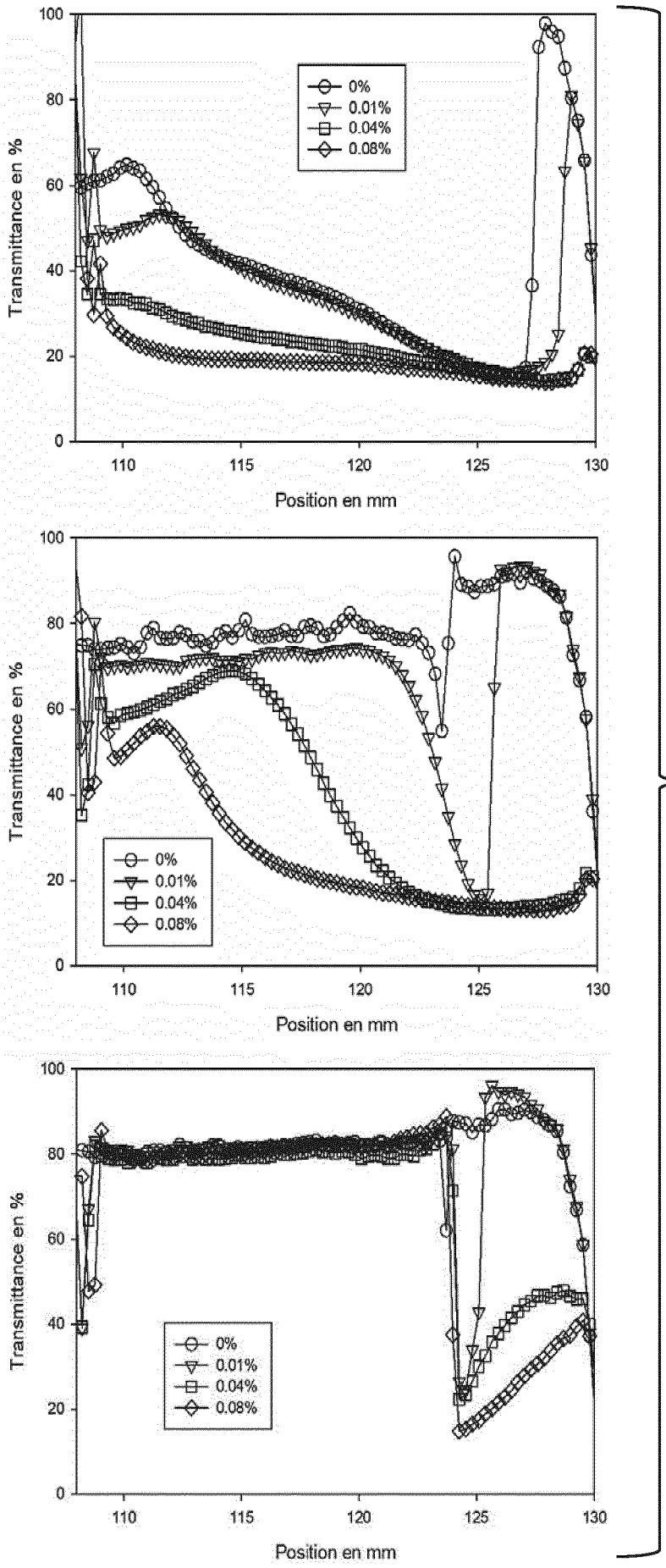

Transmittance en %
Position en mm
0%
0.01%
0.04%
0.08%
100
80
60
40
20
0
110
115
120
125
130

FIG.6

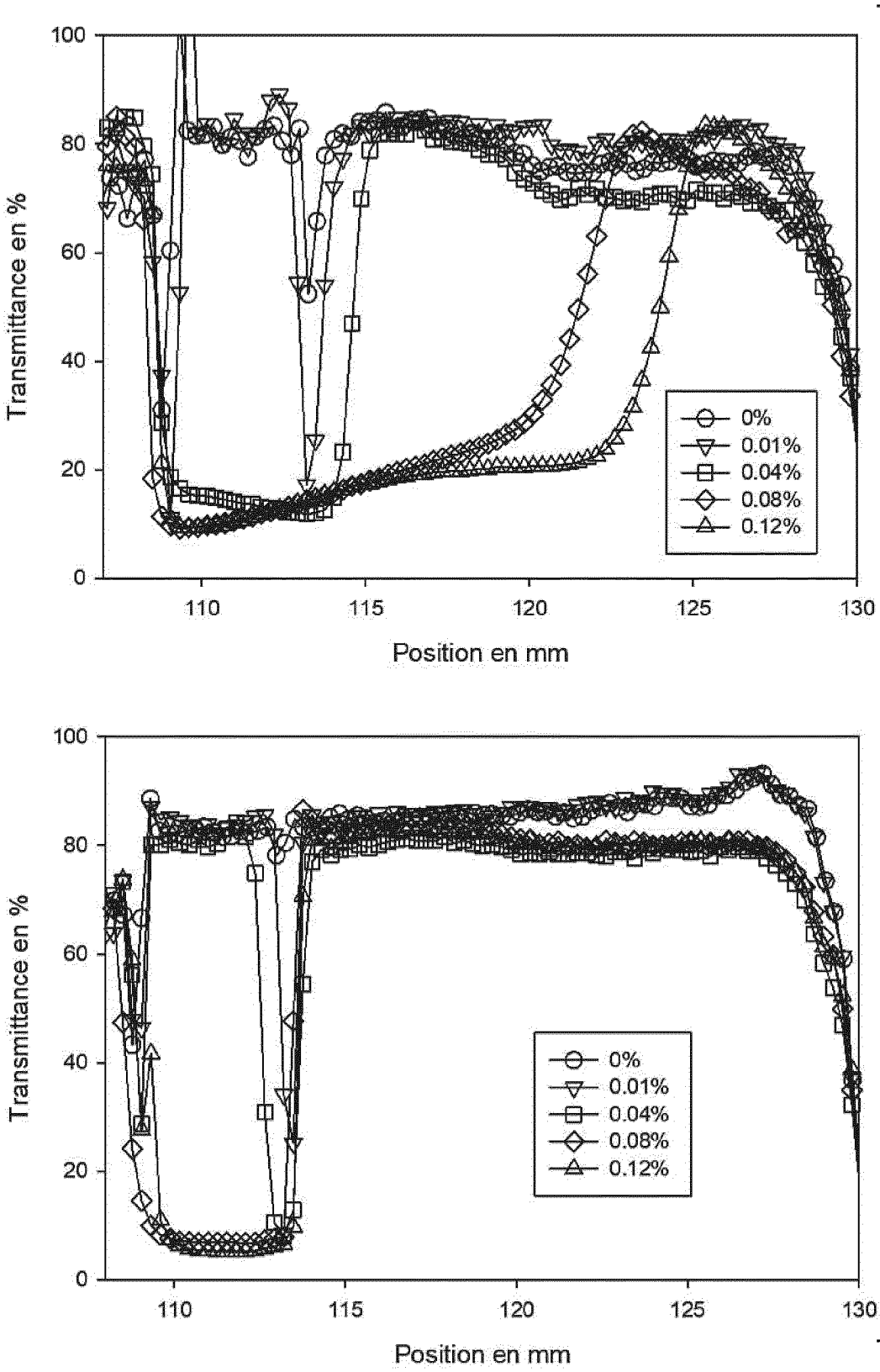

Transmittance en %
100
80
60
40
20
0
110
115
120
125
130
Position en mm
0%
0.01%
0.04%
0.08%
0.12%
Transmittance en %
100
80
60
40
20
0
110
115
120
125
130
Position en mm
0%
0.01%
0.04%
0.08%
0.12%

FIG.7

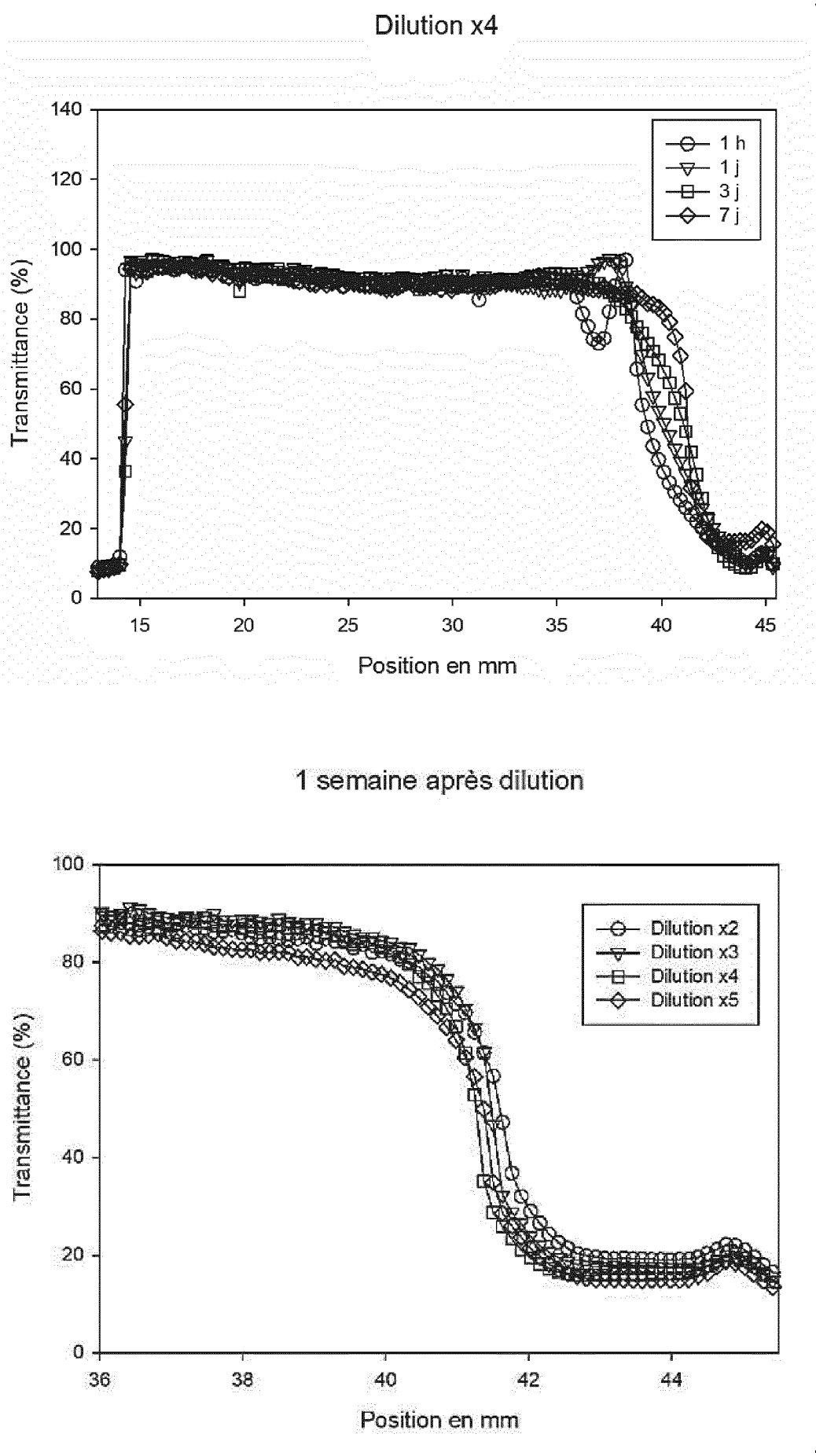

Dilution x4
Transmittance (%)
Position en mm
1 h
1 j
3 j
7 j
1 semaine après dilution
Transmittance (%)
Position en mm
Dilution x2
Dilution x3
Dilution x4
Dilution x5

FIG.8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2019/074997

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C08B 37/02(2006.01)i; ***C08J 3/075***(2006.01)i; ***C08L 33/26***(2006.01)i; ***C08L 53/00***(2006.01)i; ***C08L 71/02***(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C08B; C08J; C09J; C08L

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 107474263 A (WUHAN INST PHYS & MATH CAS) 15 December 2017 (2017-12-15) Embodiments 1 and 3	1-18
A	ZHANG X ET AL. "Synthesis and characterization of partially biodegradable, temperature and pH sensitive Dex-MA/PNIPAAm hydrogels" *BIOMATERIALS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS BV., BARKING, GB,* Vol. 25, No. 19, 01 August 2004 (2004-08-01), pages 4719-4730 DOI: 10.1016/J.BIOMATERIALS.2003.11.040 ISSN: 0142-9612, XP004505483 abstract 2. Material and methods; page 4720 - page 4721; table 1	1-18
A	ZHANG X-Z ET AL. "Temperature sensitive dendrite-shaped PNIPAAm/Dex-AI hybrid hydrogel particles: formulation and properties" *EUROPEAN POLYMER JOUR, PERGAMON PRESS LTD. OXFORD, GB,* Vol. 40, No. 9, 01 September 2004 (2004-09-01), pages 2251-2257 DOI: 10.1016/J.EURPOLYMJ.2004.04.021 ISSN: 0014-3057, XP004523647 abstract 2. Experimental section	1-18

☑ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☑ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
08 November 2019	**19 November 2019**
Name and mailing address of the ISA/EP **European Patent Office** **p.b. 5818, Patentlaan 2, 2280 HV Rijswijk** **Netherlands** Telephone No. **(+31-70)340-2040** Facsimile No. **(+31-70)340-3016**	Authorized officer **Lartigue, M** Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2019/074997

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2015157576 A1 (SHUM HO CHEUNG [CN] ET AL) 11 June 2015 (2015-06-11) paragraphs [0002], [0014], [0046] - [0050], [0061] - [0062]	1-18

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/EP2019/074997

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	107474263	A	15 December 2017	NONE			
US	2015157576	A1	11 June 2015	CN	105979938	A	28 September 2016
				US	2015157576	A1	11 June 2015
				US	2018021386	A1	25 January 2018
				WO	2015085898	A1	18 June 2015

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°
PCT/EP2019/074997

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
INV. C08B37/02 C08J3/075 C08L33/26 C08L53/00 C08L71/02
ADD.

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)
C08B C08J C09J C08L

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)
EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	CN 107 474 263 A (WUHAN INST PHYS & MATH CAS) 15 décembre 2017 (2017-12-15) Embodiments 1 and 3	1-18
A	ZHANG X ET AL: "Synthesis and characterization of partially biodegradable, temperature and pH sensitive Dex-MA/PNIPAAm hydrogels", BIOMATERIALS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS BV., BARKING, GB, vol. 25, no. 19, 1 août 2004 (2004-08-01), pages 4719-4730, XP004505483, ISSN: 0142-9612, DOI: 10.1016/J.BIOMATERIALS.2003.11.040 abrégé 2. Material and methods; page 4720 - page 4721; tableau 1	1-18

-/--

[X] Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

[X] Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent

"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date

"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)

"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens

"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée	Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale
8 novembre 2019	19/11/2019

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale	Fonctionnaire autorisé
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Lartigue, M

1

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	ZHANG X-Z ET AL: "Temperature sensitive dendrite-shaped PNIPAAm/Dex-AI hybrid hydrogel particles: formulation and properties", EUROPEAN POLYMER JOUR, PERGAMON PRESS LTD. OXFORD, GB, vol. 40, no. 9, 1 septembre 2004 (2004-09-01), pages 2251-2257, XP004523647, ISSN: 0014-3057, DOI: 10.1016/J.EUROPOLYMJ.2004.04.021 abrégé 2. Experimental section	1-18
X	US 2015/157576 A1 (SHUM HO CHEUNG [CN] ET AL) 11 juin 2015 (2015-06-11) alinéas [0002], [0014], [0046] - [0050], [0061] - [0062]	1-18

1

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°
PCT/EP2019/074997

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
CN 107474263 A	15-12-2017	AUCUN	
US 2015157576 A1	11-06-2015	CN 105979938 A	28-09-2016
		US 2015157576 A1	11-06-2015
		US 2018021386 A1	25-01-2018
		WO 2015085898 A1	18-06-2015