HAL
open science

Caractérisation de polymères supramoléculaires hiérarchiques à base de cyclodextrines fonctionnalisées

Gaëlle Pembouong

To cite this version:

Gaëlle Pembouong. Caractérisation de polymères supramoléculaires hiérarchiques à base de cyclodextrines fonctionnalisées. Chimie-Physique [physics.chem-ph]. Sorbonne Université, 2018. Français. NNT : 2018SORUS005 . tel-02078739

HAL Id: tel-02078739

https://theses.hal.science/tel-02078739

Submitted on 25 Mar 2019

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

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

Université Pierre et Marie Curie

Ecole doctorale 397 – Physique et Chimie de Matériaux

Institut Parisien de Chimie Moléculaire (IPCM – UMR 8232) / Equipe Chimie des Polymères

Caractérisation de Polymères Supramoléculaires Hiérarchiques à Base de Cyclodextrines Fonctionnalisées

Par Gaëlle PEMBOUONG

Thèse de doctorat de Physique et Chimie des Matériaux

Dirigée par le Docteur Laurent BOUTEILLER

Soutenance prévue le 8 février 2018

Devant un jury composé de :

Mme Catherine Amiel	Professeur, Université Paris-Est-Créteil	Rapporteur
Mme Nathalie Jarroux	Maître de conférence, Université d'Evry	Rapporteur
M. Patrice Woisel	Professeur, Université Lille 1	Examinateur
M. Philippe Guégan	Professeur, Université Paris 6	Examinateur
M. Laurent Bouteiller	Directeur de recherche, Université Paris 6	Directeur de thèse
M. Matthieu Sollogoub	Professeur, Université Paris 6	Invité

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

À mon père

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier le Professeur Catherine Amiel et le Docteur Nathalie Jarroux d'avoir accepté de juger mon travail en tant que rapporteurs. Je remercie également les Professeurs Patrice Woisel et Philippe Guégan d'avoir accepté de participer à ce jury de thèse.

Je remercie particulièrement le Docteur Laurent Bouteiller d'avoir soutenu mon projet de faire une thèse en parallèle à mon poste d'ingénieur d'études en caractérisation des polymères et de m'avoir fait confiance sur ce sujet de thèse.

Je remercie également l'équipe Glycochimie Organique Biologique et Supramoléculaire (GOBS) qui a collaboré sur ce projet, pour la partie synthèse et notamment le Professeur Matthieu Sollogoub et le Docteur Mickaël Ménand pour leur expertise et les connaissances qu'ils m'ont permis d'acquérir dans le domaine des cyclodextrines. Mes remerciements vont également à l'ensemble des doctorants et post-doctorants de l'équipe GOBS qui se sont succédé sur cette thématique : Dmitri Colesnic, Ngan Diem Tran, Julien Rossignol, Pierre Evenou, Renaud Barbeyron et Wentig Hu. Merci à tous pour votre enthousiasme et votre dynamisme qui ont rendu les échanges scientifiques faciles et riches tout au long de ce projet.

Tous mes remerciements vont également au Docteur Nathalie Delaunay et au Professeur Hervé Cottet qui m'ont permis de découvrir l'analyse par dispersion de Taylor. Je remercie aussi Jean-Michel Guigner et Patricia Beaunier pour les analyses de microscopie, ainsi que Claire Troufflard, Martine Tessier et Aurélie Bernard pour leur expertise en RMN.

Un grand merci également à Jutta et Cécile pour leur énorme soutien et leurs précieux conseils, ainsi qu'à l'ensemble des membres permanents, non permanents et étudiants de l'équipe Chimie des Polymères, Matthieu, François, Lydia, Nga, Gaëlle, André, Thomas, …, pour l'aide et les conseils qu'ils m'ont apportés et la bonne humeur qu'ils ont fait régner au laboratoire durant mon projet de thèse.

Je remercie aussi particulièrement toutes les personnes dont j'ai croisé la route durant mon parcours professionnel, Alain Fradet, Nathalie Mignet, Daniel Scherman, Guylaine Ducouret, France Costa-Torro, Matar Seck, qui par leurs conseils, leur soutien, le savoir qu'elles m'ont transmis ou l'opportunité qu'elles m'ont donné de participer à des projets scientifiques m'ont permis d'apprendre et d'évoluer dans le domaine de la Chimie. Un grand merci également à Danielle Libong qui occupe bien entendu une place particulière dans tout ce parcours.

Je tiens aussi à remercier chaleureusement tous mes amis issus de la grande famille de la Chimie, Stéphanie Boissé, Marion Chenal, Thomas Maldiney et Anne-Laure Marty pour tous leurs conseils, leur soutien et leurs encouragements.

Pour finir, mes sincères remerciements vont à ma famille et plus particulièrement à mes parents pour les encouragements et le soutien sans faille qu'ils m'ont apportés tout au long de mon parcours scolaire et professionnel et durant ce projet de thèse. Je remercie également profondément tous les membres de ma grande famille, mes frères et sœur, mes oncles et tantes, Gisabelle, Aurélien, Laura, …, ainsi que l'ensemble de mes proches, pour toutes leurs marques d'attention et leur soutien tout au long de cette période de thèse.

Table des Matières

Remerciements ..... **iv**

Abréviations ..... **xi**

Liste des molécules utilisées ..... **xv**

Introduction générale **1**

Chapitre 1 : Etat de l'art sur les polymères supramoléculaires de cyclodextrines **9**

I- Les Cyclodextrines (CDs) 13

A- Généralités 13

B- Propriétés de complexation des CDs 17

C- Les agrégats de CDs non spécifiques 21

II- Les polymères supramoléculaires (PSM) de CDs 28

A- Généralités sur les PSM 28

B- PSM de CDs à l'état solide 30

C- PSM de CDs en solution 35

III- Conclusion 52

Bibliographie 53

Chapitre 2 : Techniques de caractérisation des polymères supramoléculaires de cyclodextrines **59**

I- Mise en évidence et détermination des paramètres thermodynamiques de l'association CD/invité 63

A- Spectrométrie UV et RMN 63

B- Calorimétrie de titrage isotherme (ITC – Isothermal Titration Calorimetry) 67

C- Dichroïsme circulaire 69

II- Détermination de la masse molaire des PSM 72

A- Viscosimétrie 72

B- Osmométrie à pression de vapeur (VPO – Vapor Pressure Osmometry) 75

C- Diffusion statique de la lumière (SLS) 77

D- Spectrométrie de masse par MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption / Ionisation- Time-Of-Flight) 78

III- Détermination des dimensions des PSM 79

A- La diffusion 80

B- Spectroscopie RMN DOSY (Diffusion Ordered two-dimensional SpectroscopY) .. 84

C- Diffusion dynamique de la lumière (DLS – Dynamic Light Scattering) 87

D- Dispersion de Taylor (TDA – Taylor Dispersion Analysis) 90

IV- Détermination des dimensions et de la forme des PSM 101

A- Diffusion des neutrons aux petits angles (SANS – Small Angle Neutrons Scattering) 102

B- La microscopie 104

V- Conclusion 106

Bibliographie 108

Chapitre 3 : Etude d'assemblages supramoléculaires de cyclodextrines 113

I- Etude de CDs substituées en solution 118

A- Mise en évidence du phénomène d'auto-inclusion 121

B- Détermination de conditions permettant d'éliminer les agrégats non spécifiques .. 125

II- Etude de CDs substituées et pontées en solution 136

A- Etude des α-CDs pontées 137

B- Etude des β-CDs pontées 181

III- Conclusion 207

Bibliographie 208

Chapitre 4 : Etude de polymères supramoléculaires hiérarchiques de cyclodextrines . 211

I- Etude de la formation de PSM hiérarchiques à base d'α-CDs disubstituées 217

A- Etude de composés disubstitués par deux espaceurs propylamines 218

B- Etude d'un composé disubstitué par deux espaceurs propylamides 221

II- Etude de la formation de PSM hiérarchiques à base de β-CDs difonctionnalisées..... 222

A- Evaluation de l'effet de dianions sur la formation de PSM hiérarchiques de CDs . 224

B- Evaluation de l'effet d'un polyanion de structure rigide sur la formation de PSM hiérarchiques de CDs 233

C- Evaluation de l'effet d'un tétraanion de structure rigide sur la formation de PSM hiérarchiques de CDs 244

III- Conclusion..... 260

Bibliographie..... 261

Conclusion et perspectives..... 265

Partie expérimentale 271

Annexes 307

Abréviations

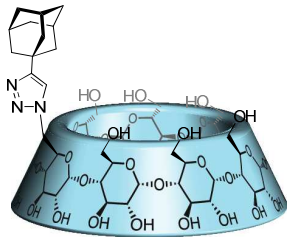
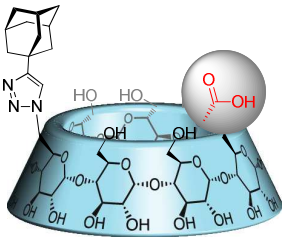
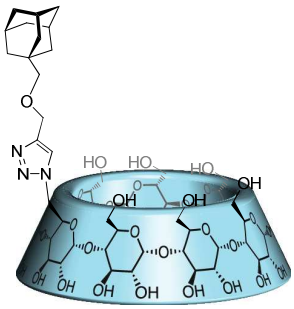
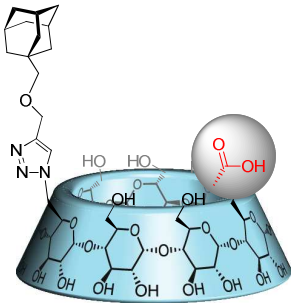
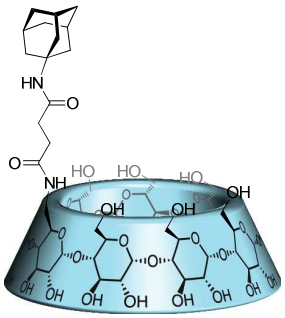
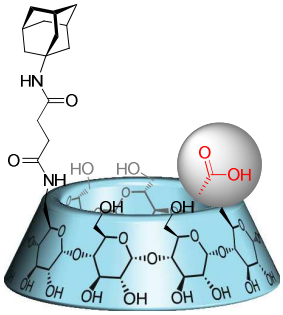
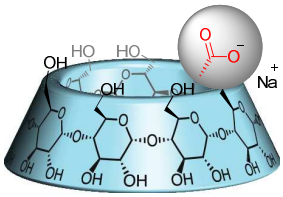
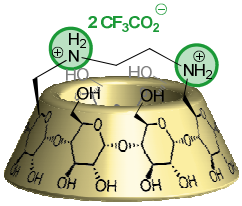
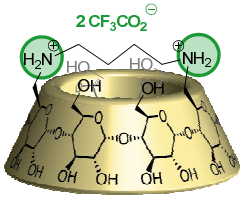
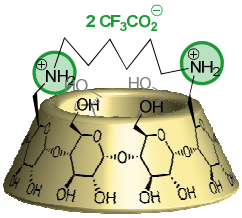
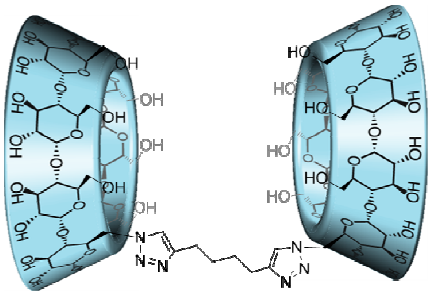
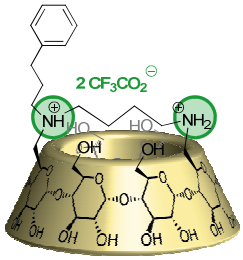
A_2	Coefficient du viriel
$AdaNH_3^+,Cl^-$	Chlorure d'adamantane ammonium
$AdaMeNH_3^+,Cl^-$	Chlorure d'adamantylméthylammonium
$AdaNMe_3^+,I^-$	Iodure d'adamantane triméthylammonium
ADN	Acide désoxyribonucléique
AFM	Microscopie à force atomique
cd	Dichroïsme circulaire
CD	Cyclodextrine
CE	Electrophorèse capillaire
COSY	Spectroscopie de corrélation
Cryo-MET	Cryo-microscopie à transmission électronique
d	Doublet
DAPS	Acide 4,4'-diamino-1,1'-biphényl-2,2'-disulfonique
DDL	Diffusion de la lumière dépolarisée
D_h	Diamètre hydrodynamique
D_m	Coefficient de diffusion mutuelle (m^2/s)
D_n	Coefficient de diffusion moyen en nombre (m^2/s)
D_0	Coefficient de diffusion translationnelle à dilution infinie (m^2/s)
D_r	Coefficient de diffusion rotationnelle (s^{-1})
D_s	Coefficient d'autodiffusion (m^2/s)
D_t	Coefficient de diffusion translationnelle (m^2/s)
D_w	Coefficient de diffusion moyen en poids (m^2/s)
D_z	Coefficient de diffusion moyen en z (m^2/s)
DiMEβ	β-Cyclodextrine diméthylée

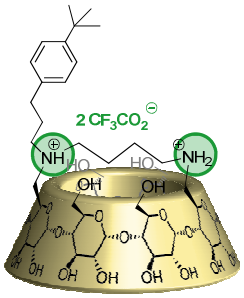
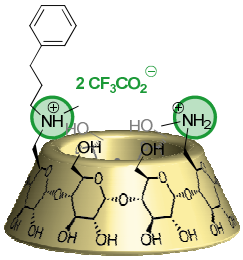
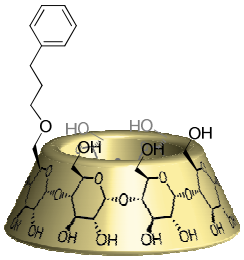
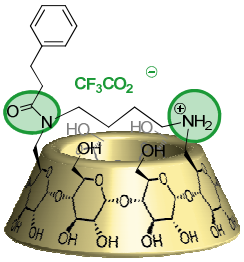
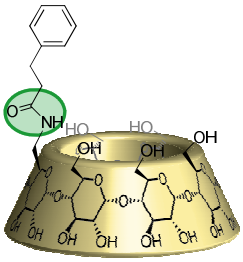
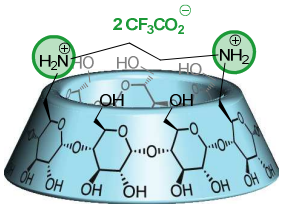
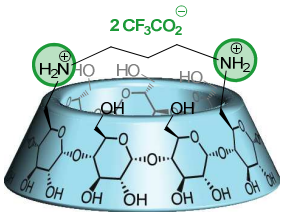
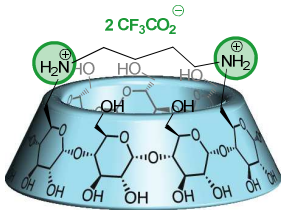
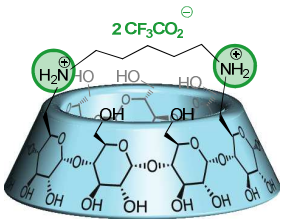
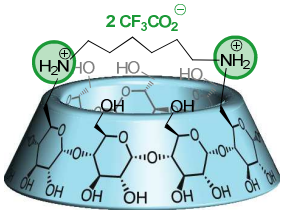
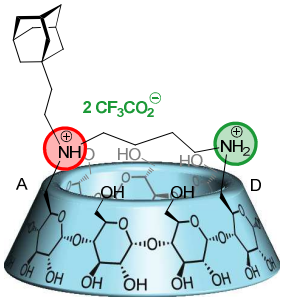
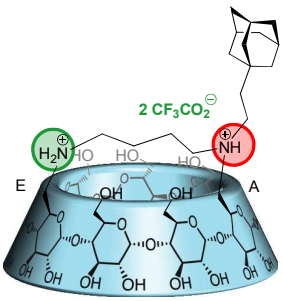
DLS	Diffusion dynamique de la lumière
DMF	N,N-diméthylformamide
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DMSO-d$_6$	Hexadeutérodiméthylsulfoxyde
DOSY	Spectroscopie de diffusion
DP$_n$	Degré de polymérisation moyen en nombre
DP$_w$	Degré de polymérisation moyen en poids
$\Delta\varepsilon$	Ellipticité molaire (L/mol.cm)
ESI-TOF	Spectromètre de masse à temps de vol couplant une source d'ionisation par électronébulisation
f	Coefficient de friction
FCS	Spectroscopie de corrélation de fluorescence
FTIR	Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier
G	Invité
H	Hôte
H	Hauteur équivalente à un plateau théorique
ΔH	Enthalpie (J/mol)
H_2TPPS$_4$	5,10,15,20-Tétrakis(4-sulfonatophényl)porphyrine protonée
HMBC	RMN de corrélation hétéronucléaire bidimensionnelle à plusieurs liaisons
HPβCD	2-hydroxypropyl-β-Cyclodextrine
HSQC	RMN de corrélation hétéronucléaire bidimensionnelle à simple quanta
icd	Dichroïsme circulaire induit
ITC	Calorimétrie de titrage isotherme
k	Coefficient de dispersion
K	Constante d'association (L/mol)
K_b	Constante de Boltzman ($1.3806.10^{-23}$ J/K)

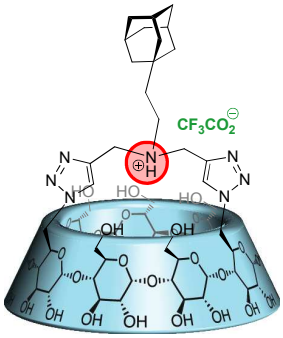
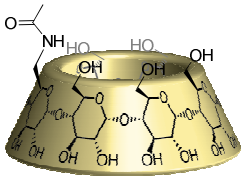
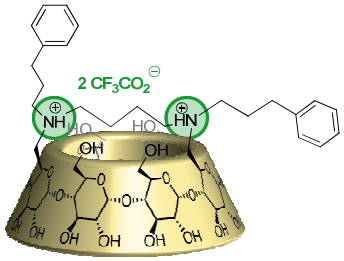
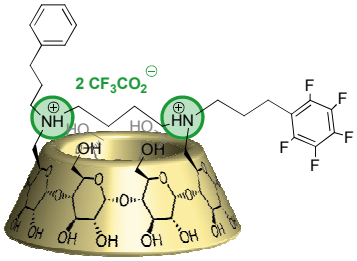
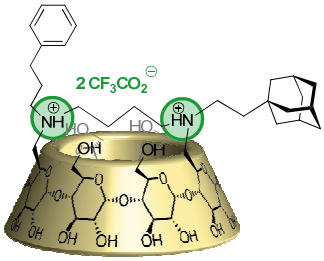
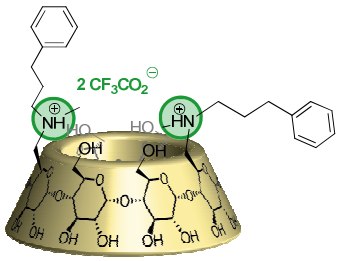
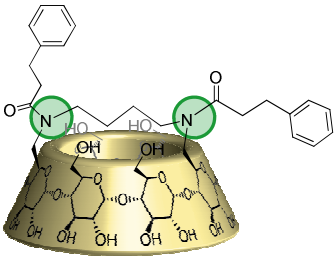
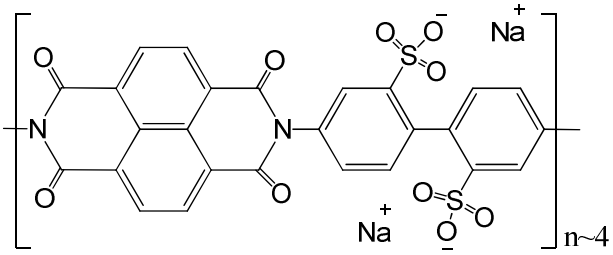
λ	Longueur d'onde (nm)
m	Multiplet
Maldi-TOF	Spectromètre de masse couplant une source d'ionisation laser assistée par une matrice et un analyseur à temps de vol
MeOD	Méthanol deutéré
MET	Microscopie à transmission électronique
$\mathbf{M_n}$	Masse molaire moyenne en nombre
MO	Méthyle orange
N	Stœchiométrie
η	Viscosité (Pa.s)
$\mathbf{N_a}$	Nombre d'Avogadro
NTDA	Dianhydride 1,4,5,8-naphthalène tétracarboxylique
NA	Anhydride 1,8-Naphtalique
pdI	Indice de polydispersité
PFG	Gradient de champ pulsé
PGSE	Gradient pulsé spin écho
PSS	Poly(styrène sulfonate)
PSM	Polymères supramoléculaires
PTFE	Polytétrafluoroéthylène
ORD	Dispersion optique rotatoire
q	Vecteur d'onde (nm^{-1})
$\Re$	Constante des gaz parfaits (8.314 J/K.mole)
$\langle R^2 \rangle$	Déplacement quadratique moyen (m^2)
RAMEβ	β-Cyclodextrine méthylée aléatoirement
R_h	Rayon hydrodynamique
R_g	Rayon de giration

RMN	Résonance magnétique nucléaire
$\boldsymbol{\rho}$	Masse volumique (kg/dm^{-3})
s	Singulet
$\boldsymbol{\sigma^2}$	Variance
ΔS	Entropie (J/mol)
SANS	Diffusion de neutrons aux petits angles
SLS	Diffusion statique de la lumière
SBEβCD	Sulfobutyléther β-Cyclodextrine
T	Température
$\boldsymbol{\theta}$	Ellipticité (mdeg)
TEA	Triéthylamine
TDA	Dispersion de Taylor
$TPPS_4$	5,10,15,20-Tétrakis(4-sulfonatophényl)porphyrine
TriMEβ	β-Cyclodextrine triméthylée
UV	Ultraviolet
VPO	Osmométrie à pression de vapeur

Liste des molécules utilisées

1 	**2** 	**3** 
4 	**5** 	**6** 
7 	**8** 	**9** 
10 	**11** 	**12** 

13 	**14** 	**15** 
16 	**17** 	**18** 
19 	**20** 	**21** 
22 	**23** 	**23b** 

24 	**25** 	**26** 
27 	**28** 	**29** 
30 	**31** 	

Introduction générale

Les assemblages supramoléculaires sont des objets constitués d'unités moléculaires liées entre elles par des liaisons non covalentes. On retrouve ces systèmes partout dans la nature où ils sont impliqués dans de nombreuses fonctions biologiques.

La faible énergie des liaisons unissant les unités de ces assemblages leur confère une réversibilité qui permet un contrôle de leur formation sous l'action de stimuli externes comme dans le cas de la formation des complexes enzymatiques ou des filaments d'actine.

La principale caractéristique de ces systèmes réside dans le lien entre leur fonction et leur architecture. En effet, leur fonction dépend de leur architecture qui est elle-même contrôlée par la nature de l'unité monomère qui la compose. Le contrôle de la structure de cette unité monomère est donc d'une grande importance pour les fonctions visées par ces assemblages.

Dans la nature, on trouve comme exemple de ce type d'assemblages la double hélice d'ADN qui présente un premier niveau d'organisation dont le rôle est primordial dans le stockage de l'information génétique (**Figure 1-a**).

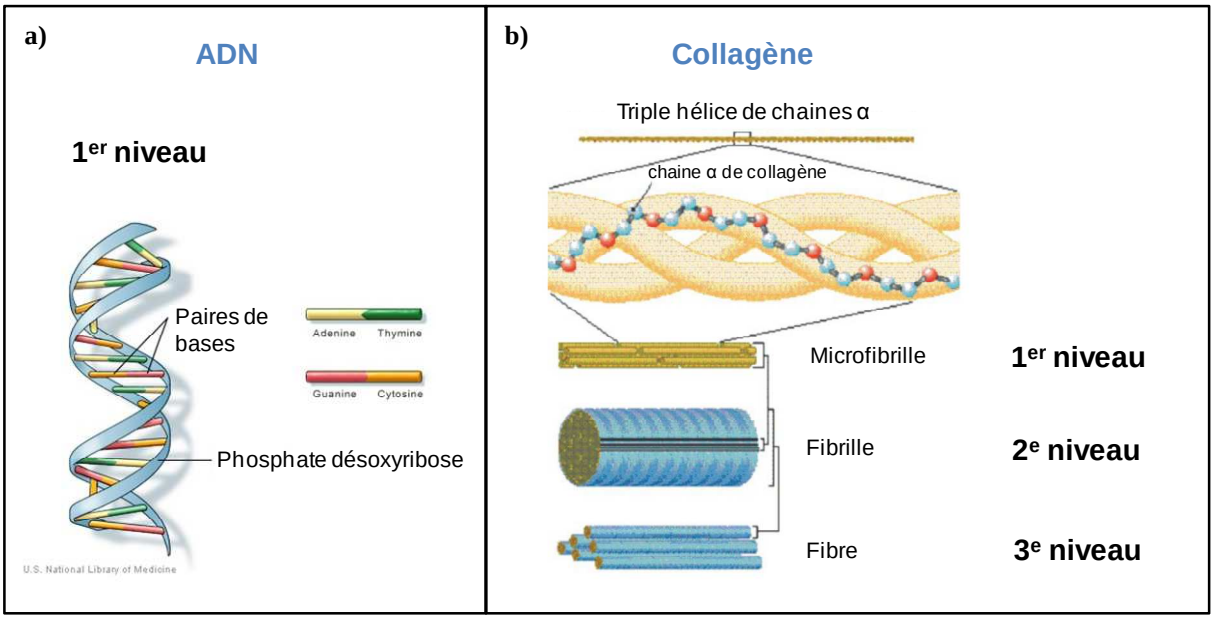


Figure 1 : *Exemples de structures d'assemblages supramoléculaires hiérarchiques de nature biologique.* ***a)*** *Double hélice d'ADN et* ***b)*** *fibres de collagène (figure adaptée de la réf. [1]).*

On peut également citer l'exemple des fibres de collagène qui présentent une structure supramoléculaire hiérarchique plus complexe comportant 3 niveaux d'organisation[1] (**Figure 1-b**). Le premier niveau est constitué de triples hélices de chaines de collagène assemblées en microfibrilles. Ces microfibrilles s'associent ensuite en fibrilles qui constituent le deuxième niveau d'organisation. Un troisième niveau est finalement formé par l'association de ces

fibrilles en fibres qui apportent aux cellules des propriétés de résistance mécanique. Ainsi, la fonction finale de ces fibres est contrôlée par le premier niveau d'assemblage de ces macromolécules.

Dans le domaine des assemblages supramoléculaires synthétiques, un des objectifs est de s'inspirer des structures existant dans la nature pour former de façon réversible des macromolécules dont les fonctions spécifiques, telles que la vectorisation de molécules actives[2] ou la gélification de milieu[3], sont contrôlables à l'échelle du monomère. Le choix d'une brique moléculaire adaptée doit ainsi conduire, via le processus de formation des différents niveaux d'assemblage, à l'élaboration d'une structure hiérarchique bien définie afin de permettre la fonction visée. Par ailleurs, un avantage des systèmes synthétiques est de permettre d'accéder à une large gamme de fonctions via la grande modularité de la structure du monomère composant le premier niveau d'assemblage, contrairement aux systèmes biologiques, dans lesquels le nombre de monomères accessibles est limité, comme c'est le cas pour les bases azotées de l'ADN ou les acides aminés constituant les protéines.

Il existe un grand intérêt pour les structures hiérarchiques fibrillaires dont les propriétés mécaniques, de support rigide ou de gélification ont des applications dans des domaines variés. De nombreux assemblages synthétiques fibrillaires ont donc été développés à l'état solide[4], en solvant organique[5] et en milieu aqueux tels que les organogels[6], mais le diamètre de ces fibres n'est jamais contrôlé aussi finement que dans le cas des systèmes biologiques[7]. Nous nous sommes plus particulièrement intéressés au milieu aqueux pour les possibilités d'applications qu'il ouvre dans le domaine biomédical. Or dans ce milieu, il n'existe, à ce jour, aucun système synthétique permettant la formation d'assemblages hiérarchiques fibrillaires, ayant un diamètre monodisperse et une structure modulable à l'échelle moléculaire.

L'objectif de ce projet est donc de développer une boite à outils moléculaires permettant la formation en milieu aqueux de systèmes de ce type, modulables à l'échelle moléculaire (**Figure 2**). Pour y parvenir, il est nécessaire de disposer d'un monomère soluble dans l'eau et sélectivement fonctionnalisable de manière à pouvoir accéder à des structures hiérarchiques modulables.

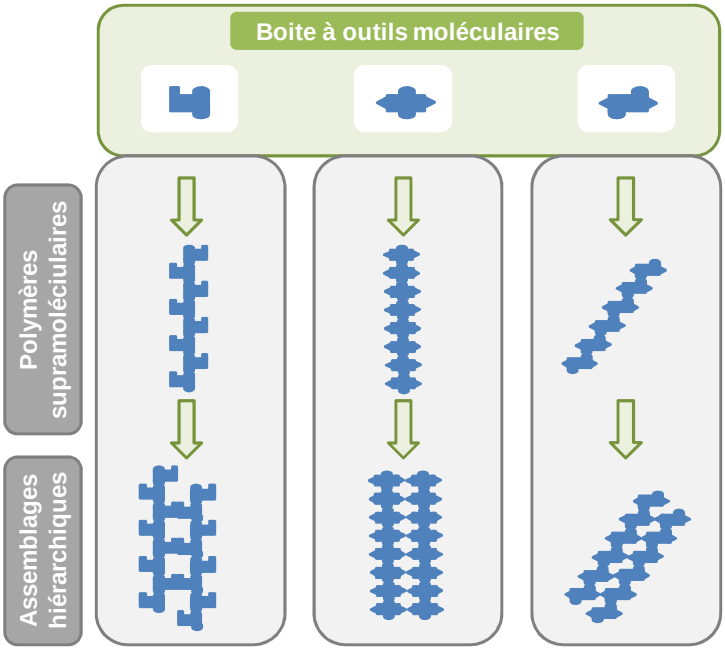


Figure 2 : *Schéma de boite à outils moléculaires permettant la formation de polymères supramoléculaires puis d'assemblages hiérarchiques fibrillaires.*

Pour l'édification de polymères supramoléculaires (PSM) ayant des structures modulables et solubles dans l'eau, nous avons choisi les cyclodextrines (CDs) comme brique moléculaire. Ces oligosaccharides cycliques sont de bons candidats car ils sont solubles dans l'eau et ils présentent la propriété intéressante de pouvoir former des complexes hôte/invité avec des molécules hydrophobes (**Figure 3**).

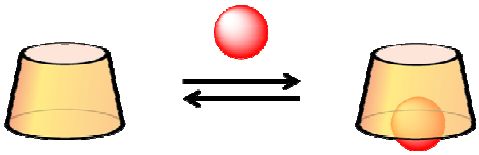


Figure 3 : *Schéma de l'équilibre de formation d'un complexe hôte/invité*

Cette propriété sera utilisée pour le développement de monomères, fonctionnalisés par un groupement invité hydrophobe, pouvant s'auto-assembler sous forme de PSM dans l'eau[8]. Ensuite, le savoir-faire en fonctionnalisation sélective de l'équipe Glycochimie Organique Biologique et Supramoléculaire (GOBS)[9,10] pourra permettre d'intégrer une deuxième fonctionnalité à la structure de ces monomères, afin de donner à ces fibres la capacité de former des assemblages hiérarchiques de formes variées.

Le choix du monomère bifonctionnalisé est crucial pour l'élaboration de PSM hiérarchiques de structure contrôlée. Dans ce cadre, un état de l'art des monomères de CDs ayant été

élaborés pour la formation de PSM sera présenté dans le premier chapitre de ce manuscrit. Cette revue bibliographique permettra de mettre en évidence les paramètres structuraux importants pour la formation de PSM solubles en milieu aqueux.

Le nature dynamique des PSM peut rendre difficile leur caractérisation. Une bonne connaissance des avantages et inconvénients des techniques de caractérisation utilisées dans ce domaine est donc nécessaire afin de faire un choix de techniques d'analyses appropriées. Dans ce but, la description du principe, de l'intérêt et des limites des principales techniques de caractérisation employées pour l'analyse des PSM de CDs fera l'objet du deuxième chapitre.

Une fois l'ensemble de ces informations recueillies, le troisième chapitre de ce manuscrit décrira les différentes étapes de l'élaboration de PSM de CDs. La première étape consistera à mettre en évidence, à l'aide de diverses techniques de caractérisation, des partenaires hôte/invité ayant une forte association. Les résultats de cette étude permettront la conception de monomères bifonctionnalisés susceptibles de s'auto-assembler. Le comportement en solution de ces monomères bifonctionnalisés ainsi que les conditions physico-chimiques permettant de favoriser la formation de PSM seront ensuite étudiés.

Une fois ces monomères caractérisés, ils pourront finalement nous servir de base pour l'élaboration de PSM hiérarchiques formés par interactions secondaires à l'aide de la fonctionnalité additionnelle présente sur ces monomères. Cette étude fera ainsi l'objet du quatrième et dernier chapitre de ce manuscrit.

A l'issue de ce projet, le contrôle et la modularité des structures hiérarchiques formées à base des monomères élaborés nous aideront à comprendre et à maitriser les mécanismes mis en jeu lors de la formation d'assemblages hiérarchiques.

Bibliographie

(1) Elemans, J. A. A. W.; Rowan, A. E.; Nolte, R. J. M. *J. Mater. Chem.* **2003**, *13* (11), 2661–2670.

(2) Soussan, E.; Cassel, S.; Blanzat, M.; Rico-Lattes, I. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48* (2), 274–288.

(3) Dong, S.; Luo, Y.; Yan, X.; Zheng, B.; Ding, X.; Yu, Y.; Ma, Z.; Zhao, Q.; Huang, F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50* (8), 1905–1909.

(4) Lin, M.-J.; Jouaiti, A.; Kyritsakas, N.; Wais Hosseini, M. *Chem. Commun.* **2010**, *46* (1), 115–117.

(5) Faramarzi, V.; Niess, F.; Moulin, E.; Maaloum, M.; Dayen, J.-F.; Beaufrand, J.-B.; Zanettini, S.; Doudin, B.; Giuseppone, N. *Nat. Chem.* **2012**, *4* (6), 485–490.

(6) Terech, P.; Weiss, R. G. *Chem. Rev.* **1997**, *97* (8), 3133–3160.

(7) Dasgupta, D.; Guenet, J.-M. *Macromol. Chem. Phys.* **2013**, *214* (17), 1885–1892.

(8) Harada, A.; Takashima, Y.; Yamaguchi, H. *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38* (4), 875.

(9) Guieu, S.; Sollogoub, M. *J. Org. Chem.* **2008**, *73* (7), 2819–2828.

(10) Sollogoub, M. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, *2009* (9), 1295–1303.

Chapitre 1 :

Etat de l’art sur les polymères supramoléculaires de cyclodextrines

Table des matières

I- Les Cyclodextrines 13
A- Généralités 13
1- Structure et Nomenclature 13
2- Propriétés générales des CDs natives 15
B- Propriétés de complexation des CDs 17
1- L'effet hydrophobe 17
2- Les interactions de van der Waals 18
3- Les interactions électrostatiques 20
4- Les liaisons hydrogène 21
C- Les agrégats non spécifiques de CDs 21
1- Mise en évidence des agrégats de CDs 21
2- Méthodes d'élimination des agrégats de CDs 23
a. Méthodes chimiques 23
b. Méthodes physico-chimiques 24
c. Méthodes physiques 25
3- Agrégation impliquant l'invité 26
II- Les polymères supramoléculaires de CDs 28
A- Généralités sur les PSM 28
1- Classification structurelle des PSM de CDs 28
2- Mécanismes de formation des PSM de CDs[61] 29
B- PSM de CDs à l'état solide 30
1- PSM à base de monomères hétéro-ditopiques (A-B) 31
a. Influence de la rigidité du groupement invité 32
b. Influence de l'espaceur 33

c. Influence de la position de l'invité sur la CD 33

2- PSM à base de monomères hétéro-tritopiques (A_2-B) 34

C- PSM de CDs en solution 35

1- PSM formés par interaction hôte/invité 35

a. Phénomènes défavorables à la formation de PSM 35

b. PSM à base de monomères hétéro-topiques 36

i. PSM à base de monomères hétéro-ditopiques (A-B) 36

ii. PSM à base de combinaison de monomères hétéro-ditopiques (A-B) + (A'-B') 42

iii. PSM à base de monomères hétéro-tritopiques (A_2-B) 43

iv. PSM à base de monomères hétéro-tritopiques (A-B_2) 44

c. PSM à base de monomères homo-topiques 45

i. PSM à base de combinaison de monomères homo-ditopiques (A-A) + (B-B) .. 45

ii. PSM à base de combinaison de monomères ditopiques et homo-tritopiques (A-A) + (B-B-B) 48

2- PSM à base de CDs modifiées sans interactions hôte/invité 50

III- Conclusion 52

Bibliographie 53

I- Les Cyclodextrines

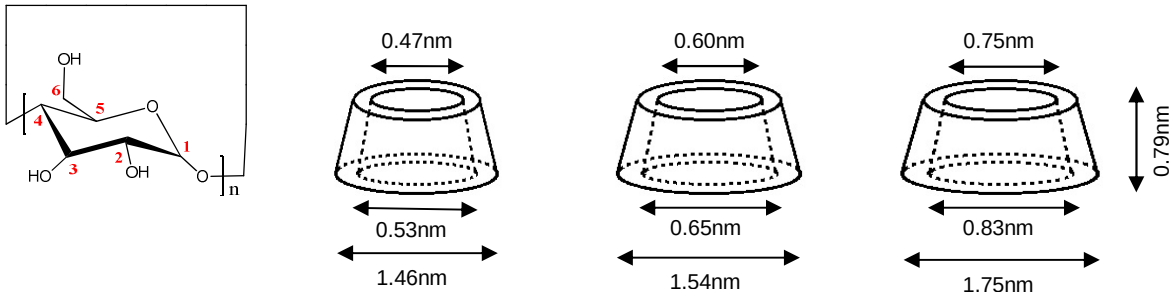
Les cyclodextrines (CDs) sont des oligosaccharides cycliques constitués d'unités d'α-1,4D-glucopyranose. Elles sont produites lors de la dégradation de l'amidon par la glycosyltransferase, une enzyme, qui permet la cyclisation des unités de glucose via la formation de liaisons α-1,4. Ces molécules possèdent la propriété de s'associer de façon non covalente et réversible avec des molécules hydrophobes pour former des complexes d'inclusion hôte/invité. Cette propriété leur vaut d'être utilisées dans de nombreuses applications[1,2]. Elles sont également connues sous les noms de dextrine de Schardinger, cycloamylose, cyclomaltose ou cycloglucane.

Les CDs ont été pour la première fois décrites en 1891 par A. Villiers[3] et étudiées en 1904, F. Schardinger[4,5]. Leur purification et la caractérisation de leurs propriétés physico-chimiques ont été réalisées dans les années 1950 par les équipes de D. French[6] et F. Cramer[7]. Le groupe de F. Cramer s'est par la suite focalisé sur l'étude de leurs propriétés de complexation. L'intérêt grandissant pour ces molécules et leur capacité à former des complexes hôte/invité a ensuite donné lieu à de nombreuses publications et brevets.

A-Généralités

1- Structure et Nomenclature

Trois types majoritaires de CDs ont été isolées. Elles diffèrent par le nombre d'unités glucose qui les composent. L'α-cyclodextrine (α-CD), la plus petite d'entre elles, comporte 6 unités glucose. La β-cyclodextrine (β-CD) et la γ-cyclodextrine (γ-CD) comportent respectivement 7 et 8 unités glucose (**Figure 1**). P. R. Sundararajan et al.[8] ont montré que la formation d'un cycle constitué de moins de 6 unités glucose était défavorable du fait de la forte contrainte qui s'exercerait sur les cycles. L'élaboration d'une CD comportant 5 cycles est néanmoins possible par voie synthétique[9]. Des CDs constituées de plus de 8 unités glucose existent également mais elles font l'objet d'un intérêt moindre car leurs propriétés de complexation sont moins importantes.



	α-CD	β-CD	γ-CD
Nombre d'unités 1-4,α-D-glucopyranose	**6**	**7**	**8**

Figure 1 : *Dimensions des α, β et γ-CDs.*

Les CDs ont la forme d'un cône tronqué constitué d'unités glucose en conformation chaise $^4C_1$. Les carbones de chaque unité sont numérotés de 1 à 6 en commençant par le carbone anomérique. Les alcools portés par les C_6 sont les plus accessibles mais les moins acides. Les alcools en C_2 sont les plus acides et ceux portés par les C_3 sont les moins accessibles. Les unités glucose qui constituent la CD sont nommées de A à F, dans le cas de l'α-CD, ou de A à G, dans celui de la β-CD, dans le sens de la liaison α-1,4 et en partant de l'unité la plus substituée. Les alcools primaires portés par les carbones C_6 et les alcools secondaires portés par les carbones C_2, C_3 pointent chacun vers les cols appelés respectivement col primaire et col secondaire de la CD (**Figure 2**).

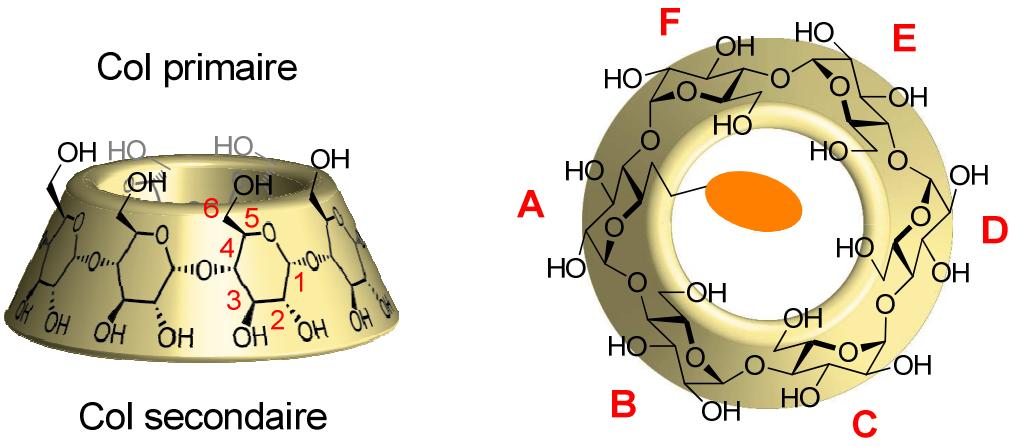


Figure 2 : *Nomenclature des CDs.*

2- Propriétés générales des CDs natives

Des études par RMN, FTIR et ORD ont montré que la conformation des CDs en solution était similaire à celle adoptée sous forme cristalline[10].

L'intérieur de la cavité des CDs est tapissé des hydrogènes portés par les carbones C_3 et C_5 ainsi que des oxygènes impliqués dans les liaisons α-1,4 ce qui lui confèrent un caractère hydrophobe. Les alcools des unités glucose pointent vers l'extérieur et constituent ainsi 2 couronnes d'alcools qui confèrent un caractère hydrophile à l'extérieur de la molécule.
Du fait de leur mobilité, les alcools primaires réduisent le diamètre externe effectif du col primaire. Les alcools secondaires ont quant à eux une position fixe à cause de l'établissement de liaisons hydrogène entre les alcools portés par C_2 et C_3 de chaque unité. Dans le cas de l'α-CD, la présence d'une contrainte sur le cycle de la CD induit une torsion des unités glucose qui ne permet la formation que de 4 liaisons hydrogène sur les 6 possibles. Cela conduit à une bonne solubilité de cette molécule car elle peut établir des liaisons hydrogène avec les molécules d'eau environnantes. Par ailleurs, du fait de cette torsion du cycle, les molécules d'eau incluses dans la cavité établissent des liaisons hydrogène de faible énergie ce qui rend leur libération vers l'extérieur enthalpiquement favorable[11]. La conformation régulière du cycle de la β-CD permet la formation de la totalité des liaisons hydrogène du col secondaire. Cette couronne de liaisons hydrogène confère à la β-CD une conformation plus rigide et est probablement responsable de sa moins bonne solubilité comparée aux autres CDs. La γ-CD possède au contraire une structure très flexible et est ainsi plus soluble que les 2 autres CDs.
A l'état solide, les CDs peuvent adopter 3 types d'arrangements[12] (**Figure 3**) qui sont l'arrangement de type colonne, dans lequel les CDs peuvent être empilées soit en « tête à tête » soit en « tête à queue » de sorte que les cavités communiquent et les arrangements de types cage et couche au sein desquels chaque cavité est isolée.

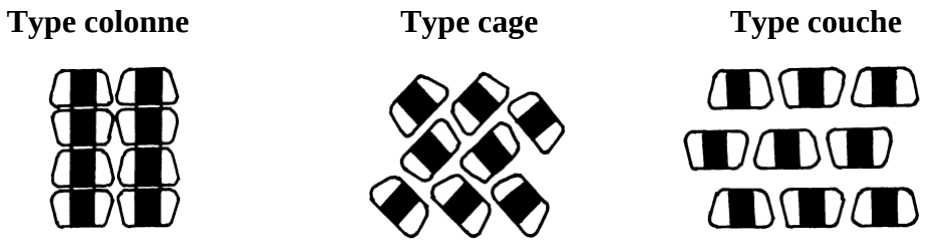


Figure 3 : *Arrangement cristallin des cyclodextrines*[13].

Une même CD peut adopter différents types d'arrangement cristallin en fonction de son degré d'hydratation et donc du mode de préparation de l'échantillon solide. En effet, bien que n'étant pas hygroscopiques, sous forme cristalline, les CDs peuvent former des hydrates stables avec les molécules d'eau qu'elles ont piégées au cours du processus de cristallisation. Le cristal formé est stabilisé par des liaisons hydrogène intermoléculaires. Une structure amorphe est formée si l'eau est totalement retirée[12].

De nombreuses propriétés physico-chimiques des CDs ont été déterminées. Elles sont résumées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 1 : *Propriétés physico-chimiques des CDs.*

	α-CD	**β-CD**	**γ-CD**	**Réf.**
Masse molaire (g/mol)	**972**	**1135**	**1297**	12
Volume approximatif de la cavité (Å^{-3})	**174**	**262**	**472**	12
Nombre de molécules d'H_2O incluses	**6-7**	**11-12**	**7-13**	12
%m/m d'eau de cristallisation	**10.2**	**13.2-14.5**	**8.13-17.7**	12
pKa à 25°C	**12.33**	**12.20**	**12.08**	12
Solubilité dans l'eau à 25°C (mM)	**149**	**16.3**	**178.9**	12
Viscosité relative à 25°C (Concentration en mM)	**1.0162** (10.51)	**1.0195** (10)		14
Coefficient de diffusion à 25°C dans H_2O (m²/s) (Concentration en mM)	**3.52×10^{-10}** (c→0)	**3.21×10^{-10}** (c→0)		14
Coefficient de diffusion à 25°C dans D_2O (m²/s) (Concentration en mM)	**2.9×10^{-10}** (1)	**2.17×10^{-10}** (1)	**2.1×10^{-10}** (1)	15
Moment dipolaire sous forme cristalline (D) (δ^+ sur col primaire et δ^- sur col secondaire)	**7.6 – 20.5**	**14 – 20.9**	**23**	16
Moment dipolaire en solution (D)	**9.4 – 9.6**	**2.9 – 3.7**		17
$[\alpha]_D$ à 25°C	**150 ± 0.5**	**162.5 ± 0.5**	**177.4 ± 0.5**	12
Température de dégradation (°C)	**A partir**	**de**	**200°C**	12

B- Propriétés de complexation des CDs

L'intérêt porté aux CDs est dû à leur capacité à former des complexes d'inclusion hôte/invité avec une large gamme de composés hydrophobes. Cette propriété est largement exploitée dans différents domaines[2] (pharmaceutique, alimentaire, etc.) afin de permettre la solubilisation de molécules organiques en milieux aqueux.

La formation des complexes hôte/invité se produit en milieu aqueux sous l'influence de différentes forces motrices dont l'importance dépend de la nature de la CD, de l'invité et du milieu environnant[18]. Afin de mieux comprendre les paramètres impliqués dans la stabilisation des complexes hôte/invité, nous allons, dans cette partie, passer en revue les différentes interactions susceptibles d'intervenir lors de la formation d'un complexe hôte/invité.

1- L'effet hydrophobe

L'inclusion d'une molécule invitée dans une molécule hôte est principalement stabilisée par effet hydrophobe. En effet, les interactions entre la surface hydrophobe de la molécule invitée et les molécules d'eau ne sont pas favorables de même que celles des molécules d'eau au contact de la cavité hydrophobe de la CD. Ces deux types d'interactions vont donc être remplacés, via l'effet hydrophobe, par la formation d'un complexe hôte/invité et par l'établissement de liaisons hydrogène eau/eau thermodynamiquement plus favorables (**Figure 4**).

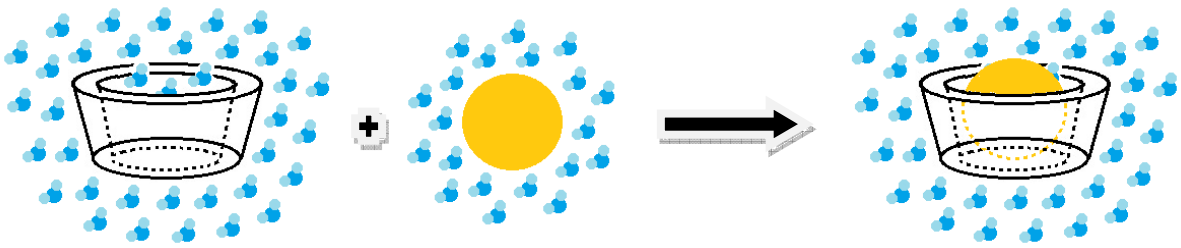


Figure 4 : *Formation des complexes CD/invité.*

De plus, lors de l'inclusion, la plus ou moins bonne adéquation entre la taille de la cavité et la forme de l'invité constitue un paramètre qui influence la stabilité du complexe. Bertrand et al.[19] ont montré qu'en général la formation de complexe avec un phénol substitué est, d'une part, plus exothermique avec les α-CDs qu'avec les β-CDs et, d'autre part, entropiquement

plus favorable avec les β-CDs qu'avec les α-CDs. Cela est cohérent avec le fait que la taille de la cavité des α-CDs permet une meilleure interaction de l'invité mais peu de degrés de liberté tandis que les complexes avec les β-CDs ont une énergie de liaison moindre car la cavité est plus large mais permettent à l'invité d'avoir plus de degrés de liberté lors de l'interaction.

Il a dans un premier temps été affirmé que la principale force motrice de l'association était la libération des molécules d'eau situées dans la cavité au moment de l'inclusion qui permettait un gain entropique[20,21] associé au un gain enthalpique dû à l'inclusion. Cependant, des travaux plus récents ont montrés que les interactions de van des Waals pouvaient également contribuer de manière importante à l'interaction en fonction de la polarité de l'invité concerné[22].

2- Les interactions de van der Waals

Les CDs natives ont un moment dipolaire orienté d'une charge partielle négative (δ^-) située sur le col secondaire vers une charge partielle positive (δ^+) située sur le col primaire. En conséquence, les interactions de van der Waals ont également un rôle important dans la formation de complexes hôte/invité. Lors de l'interaction de l'α-CD avec des dérivés non chargés du benzène, l'orientation de l'invité dans la cavité se fait de façon à optimiser l'interaction dipôle/dipôle avec la CD, i.e. la partie (δ^-) du dipôle invité se place du côté du col primaire de la CD et la partie (δ^+) dépasse du côté du col secondaire[16,23] (**Figure 5**).

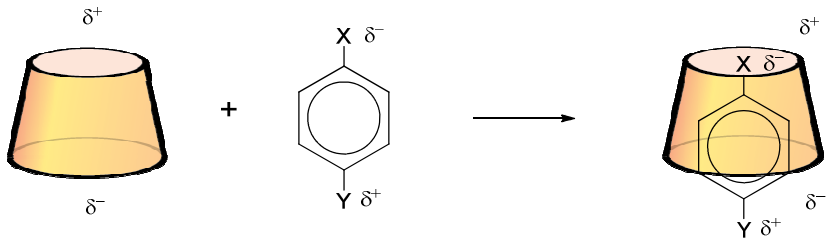


Figure 5 : *Interaction dipôle-dipôle entre CD et benzène disubstitué.*

K. A. Connors et al.[24]ont également montré le lien entre la polarité de l'invité et la stabilité des complexes formés avec l'α-CD. Ils ont constaté que, dans le cas de l'acide benzoïque para substitué sous forme acide, plus le substituant est électro-attracteur (coefficient de Hammett (σ) élevé), moins l'association est stable car la polarité de l'invité diminue et l'interaction dipôle/dipôle est alors défavorisée (**Tableau 2**).

Tableau 2 : *Coefficient de Hammett (σ) des substituants X de l'acide benzoïque. Constante d'association à 25 °C des complexes entre l'acide benzoïque para substitué sous forme acide et l'α-CD. Valeurs issues de la réf.[24].*

σ	X[a]	K (M^{-1})
-0.84	$NHCH_3$	1301
-0.66	NH_2	1341
-0.37	OH	1130
-0.27	OCH_3	884
-0.17	CH_3	1091
0.00	H	722
0.06	F	504
0.50	CH_3CO	899
0.66	CN	471
0.78	NO_2	350

[a] X dans : X – C_6H_4 – COOH

Cependant, certains auteurs ont constaté une stabilité des complexes invité para substitué/CD en désaccord avec ces observations. M. V. Rekharsky et al.[25] ont observé dans le cas de complexes de l'α-CD et de la β-CD avec des dérivés para substitués de la phénéthylamine une stabilisation des complexes qui ne suivait pas les valeurs de coefficients de Hammett associés aux différents substituants. D. Martin Davies et al.[26] ont également observé cette incohérence dans le cas de complexes entre l'α-CD et des dérivés para substitués de l'acétophénone. Ils ont expliqué ces résultats par le fort encombrement stérique du substituant cétone qui entrainerait une position non optimale de l'invité dans la cavité.

La valeur des coefficients de Hammett peut donc être prise en compte pour prédire la stabilité d'un complexe hôte/invité. Cependant, son utilisation ne peut pas être généralisée car d'autres paramètres doivent être évalués tels que la taille ou la forme du substituant de l'invité. De plus, une estimation de l'orientation de l'invité à l'aide de ces paramètres est valable dans le cas de l'α-CD car un invité aromatique ne peut adopter qu'un nombre limité de positions dans la cavité de l'α-CD. Dans le cas des complexes avec la β-CD, ce nombre de positions est plus important du fait de la taille plus grande de la cavité ce qui augmente le type d'interactions pouvant être impliquées dans la complexation et rend plus difficile la prédiction de l'orientation de l'invité permettant une stabilisation optimale du complexe.

3- Les interactions électrostatiques

La présence de charges sur la CD et/ou l'invité a également un impact sur l'interaction hôte/invité. Dans le cas où la CD et l'invité sont chargés, il a été montré que le complexe était stabilisé par des liaisons électrostatiques si les deux partenaires portent des charges de signes opposés et au contraire moins stable si les charges sont du même signe[27]. Dans le cas où seule la CD est chargée, l'interaction peut être stabilisée ou déstabilisée en fonction de la nature du groupement chargé[27]. Y. Zheng et al.[28] ont observé la formation d'un complexe plus stable du kaempférol 4-O-glucoside avec la β-CD-sulfobutyléther (SBE-β-CD) qu'avec une β-CD méthylée. Ils ont expliqué la stabilité plus importante du complexe SBE-β-CD/invité par l'intervention d'interactions électrostatiques entre les groupements hydroxyles du kaempférol 4-O-glucoside et le substituant anionique de la CD (**Figure 6**).

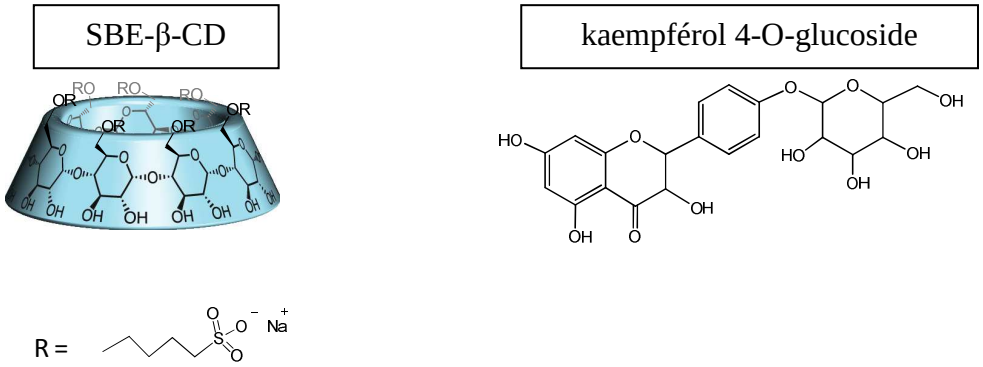


Figure 6 : *Structure de la β-CD-sulfobutyléther (SBE-β-CD) et du kaempférol 4-O-glucoside.*

Cependant, l'effet d'un groupement chargé greffé sur la β-CD diminue si la taille de l'espaceur entre ce groupement et la CD augmente[27].

Dans le cas où seul l'invité est chargé, sa polarité plus importante le rend plus soluble dans le milieu aqueux ce qui peut réduire la stabilité du complexe formé. Cela entraine également une orientation du substituant chargé vers le col secondaire de la cavité à cause de son degré de solvatation et de la forte énergie qui serait nécessaire pour le désolvater et le faire traverser la cavité. De plus, en fonction de la charge de l'invité, il peut y avoir une mauvaise adéquation du dipôle de l'invité par rapport à celui de la CD ce qui peut d'autant plus défavoriser l'interaction. Ainsi, l'acide benzoïque forme un complexe stable avec l'α-CD contrairement à sa base conjuguée qui à cause de sa charge ne peut pas s'orienter de façon à favoriser l'interaction dipôle/dipôle. Il en résulte une répulsion entre les charges négatives du benzoate et la charge partielle négative du dipôle de l'α-CD localisées sur le col secondaire qui

défavorise l'interaction hôte/invité[29,30]. Cependant, dans le cas de substituants négativement chargés mais moins fortement solvatés, tels que la tétraphénylporphyrine sulfonate[31], du fait de leur faible densité de charges cette barrière énergétique peut potentiellement être surmontée afin de les faire passer du coté étroit de la cavité de la CD et orienter le dipôle de l'invité dans un sens favorable par rapport à celui de la CD.

4- Les liaisons hydrogène

La stabilisation du complexe peut également être renforcée par l'interaction d'un invité non chargé via des liaisons hydrogène avec les alcools de la CD. La complexation d'un invité aromatique peut donc être améliorée par l'addition d'un groupe donneur ou accepteur de liaisons hydrogène (carboxyle[32], carbonyle, amines I, II et III[33,34]).

Il est donc possible d'évaluer la stabilité d'un complexe hôte/invité en prenant en compte pour chaque partenaire sa charge globale, sa polarisabilité ainsi que la structure et la nature des éventuels substituants.

C-Les agrégats non spécifiques de CDs

1- Mise en évidence des agrégats de CDs

Les CDs en solution sont connues pour former des agrégats non spécifiques d'une centaine de nanomètres de diamètre. Les premiers travaux ayant mis en évidence la présence d'agrégats ont été réalisés par K. Miyajima et al.[35]. Ils ont comparé les propriétés en solution des α-CD et γ-CD à celles de quelques oligosaccharides linéaires et ont observé une variation du coefficient d'activité des CDs avec la concentration différente de celle des molécules linéaires. Ils ont attribué cette différence à la formation de dimères de CDs. Par la suite, A. W. Coleman et al.[36] ont observé par DLS la présence d'agrégats de CDs d'environ 200 nm dans des solutions de CDs à 25 g/L. Ils ont émis l'hypothèse que ces agrégats avaient pour origine les noyaux de nucléation de la forme cristalline des CDs. Leurs travaux ont permis de montrer que la formation de ces agrégats était liée à leur capacité à établir des liaisons hydrogène inter et intra CDs via les alcools. Ils ont en effet observé une augmentation de la solubilité de la β-CD à pH supérieur à, 12, qui correspond au pKa des alcools situés en C_2 de la CD[37]. A pH

basique, les liaisons hydrogène intra et inter CDs qui structurent les agrégats sont rompues ce qui permet d'augmenter la solubilité de la CD. De même, une meilleure solubilisation de la β-CD est observée lors de l'addition dans le milieu de molécules chaotropes qui permettent d'augmenter la solubilité des molécules hydrophobes en déstructurant le réseau de liaisons hydrogène de l'eau.

G. González-Gaitano et al.[38] ont quantifié ces agrégats par analyse DLS. Ils ont ainsi montré qu'ils étaient présents en quantité faible car leur pourcentage massique était inférieur à 1%. M. Bonini et al.[39] ont ensuite montré que la formation de ces agrégats était proportionnelle à la concentration de CDs. Ils ont déterminé, par DLS et SLS, une concentration d'agrégation critique (CAC) de ces assemblages située entre 2 mM et 3 mM dans le cas de la β-CD. Ils ont également étudié leur morphologie par Cryo-MET en fonction de la concentration de β-CDs. Ils ont décrit la présence de structures globulaires de 6 nm de diamètre à 3 mM puis la formation de feuillets en plus des structures globulaires au-delà de 6 mM. Par la suite, K. E. Geckeler et al.[40] ont montré par RMN, analyses par diffraction de rayons X et MET sur des échantillons de β-CDs de 2 à 10 mM préparés avec des durées d'agitation allant de 5 à 72 heures que la taille des agrégats augmentait avec la concentration et que leur forme dépendait de la durée de l'agitation.

La diffusion de la lumière et la microscopie sont des techniques usuelles permettant la mise en évidence de ces agrégats. Cependant, la présence d'agrégats peut également être détectée à l'aide de méthodes colligatives telles que l'osmométrie ou la tonométrie (VPO). P. Saokham et al.[41] ont ainsi développé une méthode de mesure rapide par perméation membranaire d'une concentration qu'ils appellent CAC des agrégats de CDs. Cette donnée correspond à la concentration à partir de laquelle ils observent une déviation du flux de CDs, à travers leur membrane, due à la formation d'agrégats. Ils ont obtenu à 25°C pour l'α-CD, la β-CD et la γ-CD les valeurs respectives de 12 mM, 6 mM et 7 mM, cohérentes avec les solubilités des CDs natives.

La solubilité des différentes CDs est donc liée à la possibilité de formation de liaisons hydrogène intra CDs entre les alcools secondaires des carbone C_2 et C_3, ainsi qu'à l'équilibre de formation des liaisons hydrogène entre CDs et avec les molécules d'eau environnantes.
Ces agrégats, bien que minoritaires, peuvent perturber la détection des complexes d'inclusion hôte/invité. En effet, dans le cas des mesures de DLS, l'intensité diffusée est proportionnelle au diamètre des particules à la puissance six, les agrégats seront donc préférentiellement détectés. L'application de conditions permettant d'éliminer ces agrégats devrait permettre de

s'affranchir d'un tel biais et par la même occasion induire une augmentation de l'efficacité de complexation.

2- Méthodes d'élimination des agrégats de CDs

Plusieurs méthodes ont été développées pour empêcher la formation de ces agrégats ou pour les dissocier. Elles ont été classées en trois catégories : les méthodes chimiques impliquant une modification de la structure chimique des CDs afin d'empêcher la formation des agrégats, les méthodes physico-chimiques impliquant l'ajout d'additifs susceptibles de dissocier les agrégats de CDs et finalement les méthodes physiques impliquant un traitement physique de l'échantillon afin de séparer ou dissocier les agrégats présents.

a. Méthodes chimiques

La β-CD est la CD la plus couramment utilisée mais la moins soluble des trois types de CDs. Afin d'augmenter sa solubilité et donc de réduire la formation d'agrégats, différents dérivés de β-CDs ont été développés notamment par méthylation ou hydroxyalkylation des alcools[38] (**Tableau 3**).

Tableau 3 : *Propriétés des principales CDs modifiées comparées aux CDs natives*[36,42].

CD		substituant	n	M (g/mol)	Solubilité dans l'eau à 25°C (mM)
α-CD		-H	-	972	149
β-CD		-H	-	1135	16
RAMEβ	β-CD méthylée aléatoirement	$-CH_3$	1.8	1312	> 380
DiMEβ	2,6-diméthyl-β-CD	$-CH_3$	2	1331	428
TriMEβ	2,3,6-triméthyl-β-CD	$-CH_3$	3	1428	140
HPβCD	2-hydroxypropyl-β-CD	$-CH_2CHOHCH_3$	0.65	1400	> 430
SBEβCD	Sulfobutyléther β-CD	$-(CH_2)_4SO_3-$	0.9	2163	> 230

n = nombre de substituant moyen par unité d'α-1,4-D-glucopyranose

En plus de leur solubilité, ces molécules modifiées présentent des propriétés physico-chimiques différentes de celles des CDs natives. Elles ont en effet une structure cristalline amorphe à cause du grand nombre d'isomères possibles. Ce grand nombre d'isomères contribue probablement à leur meilleure solubilité[43]. Cependant, la solubilité des CDs substituées n'est pas proportionnelle au degré de substitution (**Tableau 3**). En effet, dans le

cas des CDs méthylées, la solubilité augmente jusqu'à deux tiers des alcools substitués par unité glucose puis au-delà celle-ci diminue[12].

Par ailleurs, la présence de substituants hydrophobes devrait favoriser l'interaction avec un invité hydrophobe en augmentant la surface hydrophobe de la cavité. Cependant, la position a une influence sur la stabilisation du complexe. Ainsi, dans le cas de β-CD, C. Schönbeck et al.[44] ont observé, par analyses ITC, un effet opposé sur l'interaction suivant que la substitution était majoritairement sur les alcools C_2 qui pointent vers l'extérieur de la cavité ou sur les alcools en C_3 qui pointe vers l'intérieur. Le degré de substitution a également un impact sur l'interaction hôte/invité. Un degré de substitution élevé peut, en effet, entrainer une rupture de la couronne de liaisons hydrogène intra CD, ce qui en déstabilisant la conformation de la CD, peut induire une diminution de l'efficacité de complexation[45]. Dans le cas de l'α-CD, K. Harata et al.[46] ont constaté que cette déstabilisation était compensée par un gain enthalpique dû à un meilleur ajustement de la taille de la cavité par rapport à un dérivé aromatique. Le degré de substitution est donc à ajuster en fonction du couple hôte/invité étudié[47].

b. Méthodes physico-chimiques

Différents additifs peuvent être ajoutés afin d'augmenter la solubilité des β-CDs. L'utilisation d'une base forte permet d'ioniser les alcools et d'ainsi dissocier les agrégats. A. W. Coleman et al.[36] ont montré une forte diminution de la taille des agrégats de β-CDs mesurée par DLS et une augmentation de la solubilité de 16.3 mM à 661 mM quand le pH passe au dessus de 12 (valeur du pKa des alcools situés en C_2 de la CD[37]). De même, G. González-Gaitano et al.[38] ont observé par DLS cet effet sur l'ensemble des CDs natives à 12 mM en présence de NaOH à 1 M.

Par contre, l'augmentation du pH de façon à ioniser les alcools et donc à dissocier les agrégats ne permet pas d'augmenter l'efficacité de complexation. En effet, l'ionisation des OH de la CD détruit les liaisons hydrogène intramoléculaires qui confèrent sa rigidité à la CD. Il en résulte une déstabilisation des complexes attribuée à cette destruction de la cavité hydrophobe[48]. De plus, la couronne d'alcoolates ainsi créée constitue pour un invité hydrophobe une barrière ionique difficile à franchir[49].

L'efficacité de composés chaotropes comme l'urée a également été démontrée pour dissocier les agrégats de β-CDs[38]. Cependant une concentration supérieure à 1 M est nécessaire pour avoir un effet significatif[36,50,51]. L'ajout de sels chaotropes tels que NaCl, $CaCl_2$ ou $Ca(NO_3)_2$

permet également augmenter la solubilité de la β-CD [36,38]. L'addition de polymères ou de cosolvant est aussi utilisée en fonction de l'application visée[51,52].

Par ailleurs, l'utilisation composés choatropes peut par contre réduire la stabilité des complexes hôte/invité. La présence d'urée permet, en effet, d'augmenter la solubilité des CDs mais également celle des invités hydrophobes, ce qui déstabilise le complexe CD/invité[53].

La force ionique a un effet différent sur la complexation en fonction de la nature chargée ou non de la CD et de l'invité. Les interactions apolaires peuvent être renforcées par l'augmentation de la force ionique du fait de l'augmentation de la polarité du solvant. Les interactions électrostatiques sont au contraire réduites. De plus, la nature chaotrope ou cosmotrope du sel utilisé a également un impact sur l'association. Dans le cas d'un sel chaotrope comme NaCl, l'interaction sera moins forte car il augmentera la solubilité des espèces hydrophobes[54].

c. Méthodes physiques

Afin de dissocier ou séparer les agrégats de β-CDs différents traitements physiques ont également été appliqués aux échantillons.

L'augmentation de la température permet par exemple de réduire la taille des agrégats de CDs mais leur dissociation totale n'est pas atteinte lors d'un chauffage à 80°C[51]. Cette méthode est donc nettement moins efficace pour éliminer les agrégats que les méthodes physico-chimiques[36,38]. Cette méthode permet, néanmoins, en augmentant la solubilisation des CDs natives et de l'invité d'améliorer l'efficacité de complexation. Cependant, la température peut également défavoriser la complexation. Un équilibre est donc à trouver entre ces deux effets en fonction de la nature de l'invité[1].

D'autres méthodes physiques peuvent être employées, cette fois pour séparer les agrégats des monomères de CDs, telle que la centrifugation. Ainsi, M. Bonini et al.[39] ont fait subir à leurs échantillons, avant de les analyser par DLS, une centrifugation à 5000 g pendant 30 minutes afin d'enlever les très gros agrégats de taille supérieure à 10 µm responsables du bruit sur leurs analyses.

La filtration est également un autre traitement physique couramment employé pour retirer les agrégats de CDs. Des mesures de DLS effectuées d'une part par G. González-Gaitano et al.[38] et d'autre part par Bonini et al.[39] sur des solutions à 12 mM d'α, β, et γ-CDs filtrées sur des membranes de porosités allant de 0.45 µm à 0.02 µm ont montré une meilleure élimination des agrégats quand la porosité du filtre diminue. Une intensité diffusée stable dans le temps

est observée après filtration sur une membrane de porosité 0.45 µm quand la concentration en β-CDs est inférieure à 3 mM[39]. Cependant, après filtration sur membrane de 0.02µm, ils observent, dans le cas des solutions de β-CD, une augmentation de l’intensité diffusée dans le temps quand la concentration est supérieure à leur CAC de 3 mM[38]. Dans le cas des solutions d’α-CDs et γ-CD à 12 mM, une stabilité de l’intensité diffusée après filtration est obtenue quand une membrane de porosité 0.1 µm est utilisée[38]. La filtration ne permet donc une élimination définitive des agrégats que dans certaines conditions.

Ces résultats montrent que la formation des agrégats est liée à la solubilité des CDs et qu’ils sont soumis à un équilibre de formation dépendant de la concentration en CDs.

3- Agrégation impliquant l'invité

Ces agrégats de CDs, bien que minoritaires, peuvent interférer dans la formation des complexes d’inclusion hôte/invité en formant des agrégats avec la molécule invitée via des interactions non spécifiques[55–57]. De plus, des interactions non spécifiques peuvent avoir lieu avec des complexes CDs/invités[58] (**Figure 7**). De la même façon que dans le cas des solutions de CDs natives, la formation de toutes ces interactions non spécifiques est liée à la solubilité des espèces en présence et donc à leur concentration. La valeur de constante d’association déterminée pour un système est donc liée à la concentration d’analyse utilisée. L’ensemble de ces interactions non spécifiques potentielles peut ainsi rendre plus complexe l’étude d’un système hôte/invité en termes de stœchiométrie et de paramètres thermodynamiques.

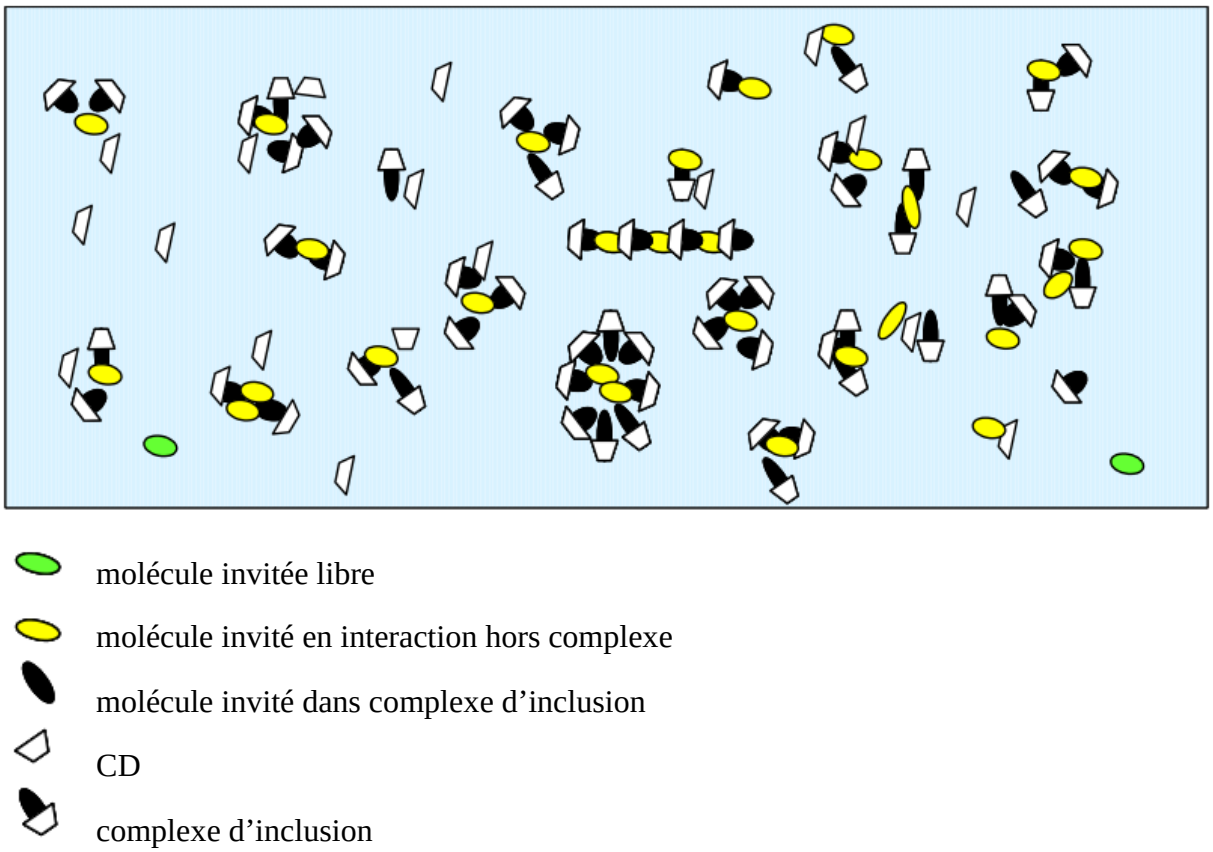


Figure 7 : *Schéma des complexes d'inclusion et interactions non conventionnelles de CD/invité (figure issue de la réf.* [42]*).*

Nous avons passé en revue différentes méthodes permettant d'éliminer les agrégats non spécifiques de CDs natives. Cependant, toutes les méthodes permettant de dissocier les agrégats de CDs ou d'augmenter la solubilité des CDs ne sont pas forcément efficaces pour augmenter l'inclusion. Le choix d'une méthode judicieuse d'élimination des agrégats à appliquer nécessite donc de prendre en compte la nature des partenaires hôte/invité qui seront étudiés in fine.

II- Les polymères supramoléculaires de CDs

Les polymères supramoléculaires (PSM) sont des macromolécules constituées de monomères liés entre eux par des liaisons non covalentes, réversibles et directionnelles. L'intérêt de ces macromolécules réside dans leur capacité à conférer à un milieu des propriétés rhéologiques et mécaniques réversibles sous l'action d'un ou plusieurs stimuli externes. Le concept de PSM a pour la première fois été démontré par le groupe de J. M. Lehn[59] qui a synthétisé, en 1990, le premier PSM à base de liaisons hydrogène. R. P. Sijbesma et al.[60] ont ensuite confirmé le potentiel de telles structures en développant un PSM ayant des propriétés rhéologiques similaires à celles de polymères covalents en solution.

A- Généralités sur les PSM

1- Classification structurelle des PSM de CDs

Les cyclodextrines constituent un monomère adapté pour la formation de PSM, par interactions hôte/invité, en milieu aqueux. Dans ce cadre, on peut rencontrer des monomères homo-ditopiques correspondant à des dimères de CDs (B-B) et d'invités (A-A) pouvant s'assembler entre eux (**Figure 8-a**). On peut également rencontrer des monomères hétéro-ditopiques (A-B) correspondant à une CD fonctionnalisée par une molécule invité (**Figure 8-b**). Des assemblages linéaires sont principalement formés mais des assemblages cycliques peuvent également être rencontrés si la longueur et la flexibilité du PSM formé le permettent (**Figure 8-c**). On rencontre également des monomères de CDs homo-tritopiques (B-B-B) pouvant donner lieu en présence d'invités homo-ditopiques (A-A) à des structures ramifiées ou réticulées (**Figure 8-d**). De même, des monomères hétéro-tritopiques du type ($A-B_2$) ou (A_2-B) peuvent également s'auto assembler et conduire à la formation de structures ramifiées (**Figure 8-e-f**).

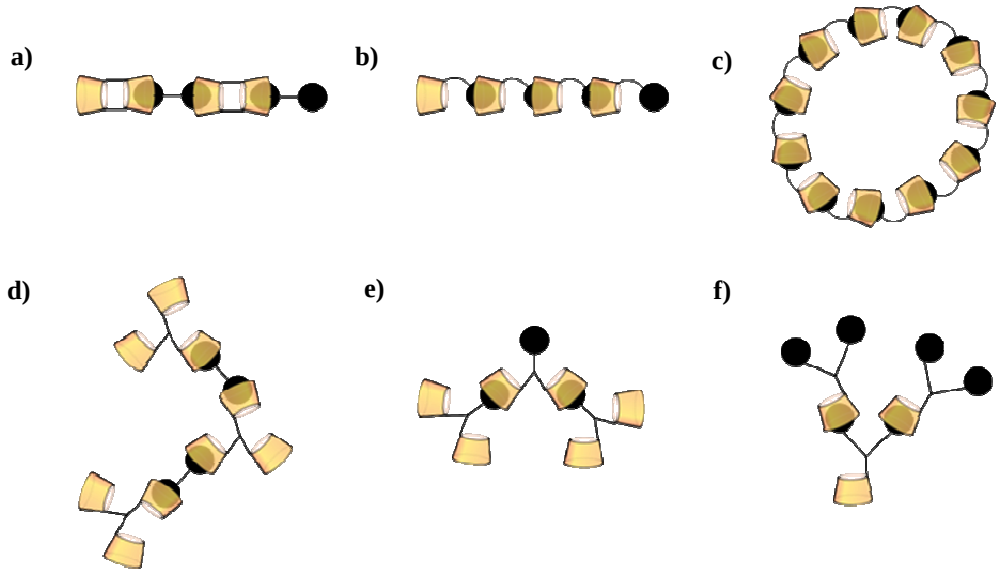


Figure 8 *: Exemples d'assemblages supramoléculaires de CDs modifiées linéaires* ***a)*** *type (A-A+B-B)$_n$ et* ***b)*** *(A-B)$_n$,* ***c)*** *cyclique type (A-B)$_n$ et ramifiés* ***d)*** *type (A$_2$-B$_3$)$_n$,* ***e)*** *type (A-B$_2$)$_n$ et* ***f)*** *type (A$_2$-B)$_n$.*

2- Mécanismes de formation des PSM de CDs[61]

Les mécanismes mis en jeu pour la formation des PSM dépendent de la nature des unités monomères choisies. Le principal mécanisme de formation de PSM rencontré dans le cas des CDs est le modèle isodesmique. Le modèle d'association est isodesmique quand la longueur de la chaine en formation n'a pas d'influence sur la force de l'interaction entre la chaine et le monomère. La constante d'association a donc la même valeur quelle que soit la taille de la chaine. Dans ce cas, la longueur de la chaine augmente progressivement quand la concentration en monomère augmente ou quand la température diminue.

B- PSM de CDs à l’état solide

Les complexes hôte/invité ainsi que les assemblages supramoléculaires de CDs substituées peuvent être formés à l’état solide après cristallisation de l’échantillon. L’analyse par diffraction de rayons X des PSM de CDs permet donc l’étude de leur structure à l’échelle moléculaire. La plupart des CDs monosubstituées cristallisent sous forme d’un arrangement qui peut être colonnaire ou hélicoïdale maintenue par des liaisons hydrogène inter-CDs[62].

L’étude de l’arrangement cristallin permet d’obtenir des informations structurales complémentaires sur le complexe en solution, si on suppose que sa structure est similaire à l’état solide. Cependant, la cristallisation peut avoir lieu sans que le complexe soit stable en milieu aqueux[63,64]. Par ailleurs, certains complexes tels que la β-CD-6-cinnamoyle[65] sont très peu solubles et ne peuvent donc être étudiés qu’à l’état solide (**Figure 9**). Dans ce cas, seule l’analyse par diffraction de rayons X ou la microscopie permettent leur caractérisation.

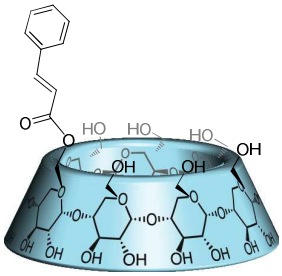
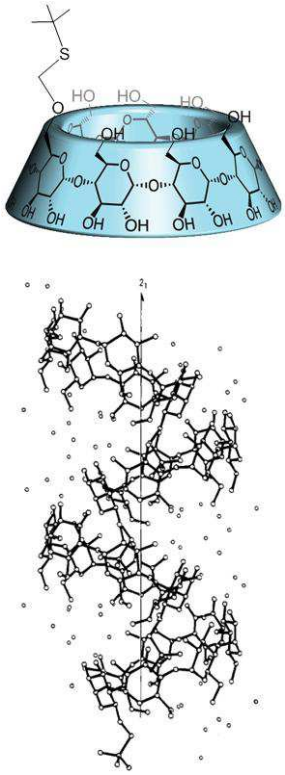


Figure 9 : *Structure de la β-CD-6-cinnamoyle*[65].

1- PSM à base de monomères hétéro-ditopiques (A-B)

Le premier assemblage de CDs monosubstituées analysés par diffraction de rayons X a été réalisé par K. Hirotsu et al.[66]. Après cristallisation du monomère β-CD-6-thio-*tert*-butyle, ils ont observé la formation d'une structure hélicoïdale dans laquelle le groupement *tert*-butyle était inclus dans la cavité de la CD adjacente (**Figure 10**).


S
O
HO
HO
HO
OH
OH
OH

a. Influence de la rigidité du groupement invité

K. Harata et al.[62] ont effectué une étude comparative de l'arrangement cristallin en fonction de la structure du substituant de 4 différentes β-CDs 6-monosubstituées : la β-CD-6-amino-1-propyle (**Figure 11-a**), la β-CD-6-amino-1-(R)-éthylcyclohexyle (**Figure 11-b**), la β-CD-6-amino-1-(R)-éthylphényle (**Figure 11-c**) et la β-CD-6-amino-1-(R)-indanyl-2-(S)-hydroxyle (**Figure 11-d**). Ils ont constaté que les CDs substituées par un groupement linéaire ou flexible conduisaient à un arrangement hélicoïdale (**Figure 11-a** et **b**) tandis que les substituants planaires et rigides conduisaient à un arrangement colonnaire (**Figure 11-c** et **d**).

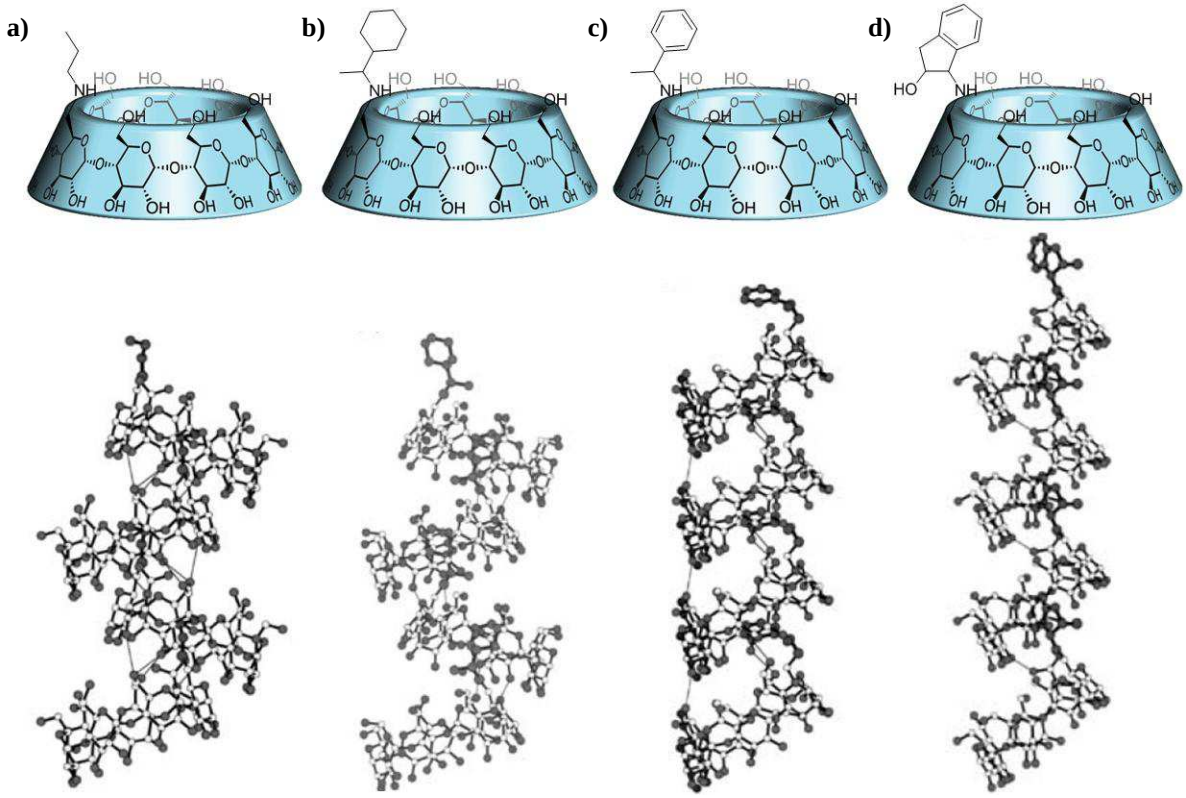


Figure 11 : *Structure cristalline de 4 β-CDs 6-monosubstituées.* ***a)*** *β-CD-6-amino-1-propyle* ***b)*** *β-CD-6-amino-1-(R)- éthylcyclohexyle* ***c)*** *β-CD-6-amino-1-(R)- éthylphényle* ***d)*** *β-CD-6-amino-1-(R)- indanyl-2-(S)-hydroxyle (figure adaptée à partir de la réf. [67]).*

b. Influence de l'espaceur

L'influence de la nature de l'espaceur dans le contrôle de l'arrangement cristallin a également été montré par Y. Liu et al.[63] dans le cas de la β-CD-6-O-4-hydroxybenzoyle où la structure dimère formée conduit à un arrangement colonnaire en « tête à tête » contrairement à l'arrangement hélicoïdal observé dans le cas d'un espaceur plus court. Un espaceur de longueur et de flexibilité suffisante peut également conduire à la cristallisation d'espèces auto-incluses[68].

c. Influence de la position de l'invité sur la CD

De plus, K. Harata et al.[69] ont montré l'influence de la position du substituant sur l'arrangement formé. Ils ont en effet observé un arrangement hélicoïdale d'axe de symétrie 4_1 dans le cas de la β-CD-6-O-2-hydroxypropyle (**Figure 12-a**) tandis que dans le cas de la β-CD-2-O-2-hydroxypropyle, un arrangement hélicoïdale d'axe de symétrie 2_1 est adopté[70] (**Figure 12-b**).

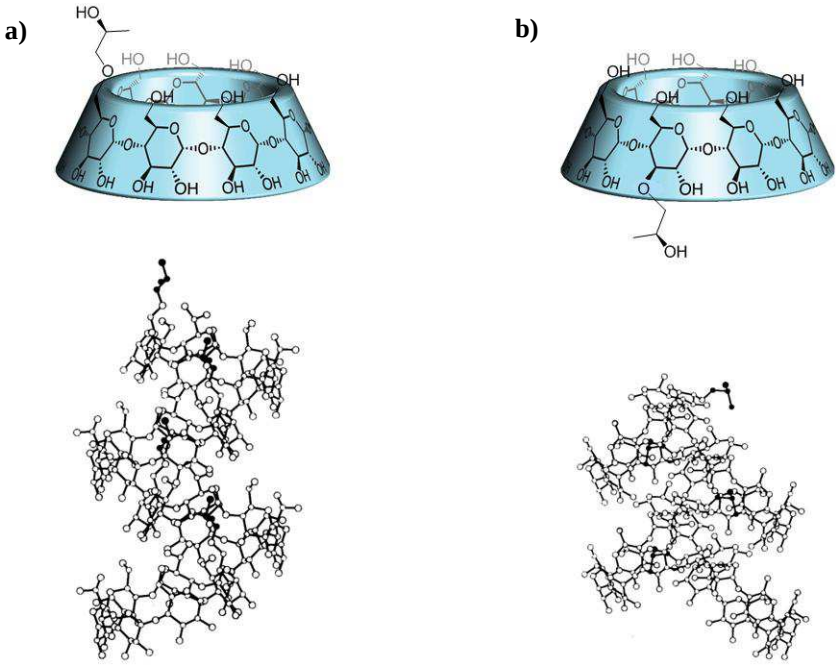


Figure 12 : *Structure cristalline de la* ***a)*** *β-CD-6-O-2-hydroxypropyle et la* ***b)*** *β-CD-2-O-2-hydroxypropyle (figure adaptée à partir de la réf. [71]).*

2- PSM à base de monomères hétéro-tritopiques (A_2-B)

Dans le cas d'α-CD disubstituées par deux groupements azotures (**Figure 13-a**), M. Ménand et al.[72] ont montré qu'il était possible de former des assemblages hiérarchiques de CDs à l'état solide (**Figure 13-b**). Un premier niveau d'association conduisant à une structure hélicoïdale d'axe de symétrie 4_1 est obtenu par l'inclusion d'un des deux groupements azotures dans la cavité de la CDs adjacente. Le deuxième niveau d'assemblage est atteint via des liaisons hydrogène entre les azotures orientés vers l'extérieur de l'hélice et les alcools formant le sillon de l'hélice voisine ce qui conduit à un enchevêtrement mutuel des hélices. Ils ont ainsi montré l'intérêt d'une double fonctionnalisation dans la formation d'assemblages hiérarchiques à l'état solide.

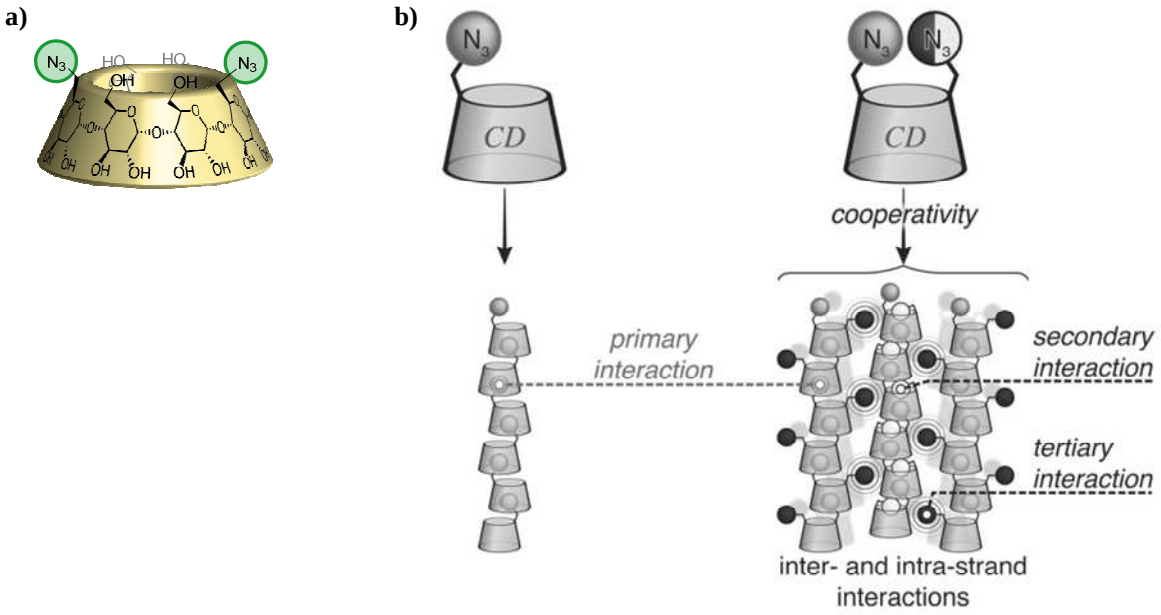


Figure 13 : a) *α-CD disubstituée par deux groupements azotures.* ***b)*** *Assemblage hiérarchique cristallin correspondant (figure issue de la réf. [72]).*

C-PSM de CDs en solution

Dans cette partie, des exemples de systèmes permettant la formation de PSM de CDs via l'interaction hôte/invité seront présentés dans un premier temps. Ces systèmes seront classés en fonction de l'architecture du monomère qui les compose, i.e. homo-topique ou hétéro-topique. Dans un deuxième temps, des systèmes permettant la formation de PSM de CDs non assurée par l'interaction hôte/invité seront également décrits.

1- PSM formés par interaction hôte/invité

La formation et la structure des assemblages supramoléculaires de CDs dépendent de la longueur et de la flexibilité du ou des espaceurs présents entre les différentes parties associatives du monomère ainsi que de la nature, la taille et la forme de la molécule invité par rapport à la taille de la cavité de la CD. On retrouve comme dans le cas des polymères covalents des assemblages directionnels i.e. linéaires ou cycliques.

a. Phénomènes défavorables à la formation de PSM

Cependant, la formation de ces PSM peut être empêchée par l'existence d'équilibres compétiteurs conduisant à la formation d'assemblages non directionnels. Ainsi, la présence d'interactions non spécifiques peut entrainer la formation préférentielle d'agrégats de CDs au détriment de celle du PSM. De même, le phénomène d'auto-inclusion du groupement invité dans sa propre cavité peut inhiber la formation des PSM[73]. En effet, si la longueur et la flexibilité de l'espaceur entre la CD et le groupement invité le permet, une auto-inclusion du groupement invité peut avoir lieu de façon directe via le col sur lequel l'invité est greffé[74,75] (**Figure 14-a**) ou de façon indirecte par rotation de la liaison osidique de l'unité portant l'invité[76] (**Figure 14-b**).

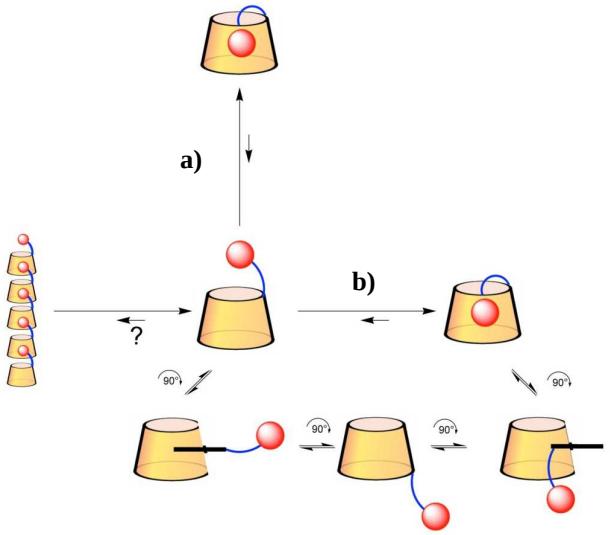


Figure 14 : *Mécanisme d'auto-inclusion par voie directe* ***a)*** *et indirecte* ***b)*** *(figure issue de la réf. [73]).*

b. PSM à base de monomères hétéro-topiques

Dans le cas des monomères hétéro-topiques, les parties hôte et invité sont couplées sur le même monomère.

i. PSM à base de monomères hétéro-ditopiques (A-B)

i-1. Influence de l'espaceur

La formation de PSM du type $(A\text{-}B)_n$ dépend de la rigidité de l'espaceur connectant les parties hôte et invité du monomère (A-B). A. Harada et al.[65] ont en effet constaté par RMN que les CDs comportant un espaceur flexible (**Figure 15-a**) s'associent très faiblement par complexation intermoléculaire (cas de l'α-CD-6-hydrocinnamoyle) ou forment des monomères auto-inclus (cas de la β-CD-6-hydrocinnamoyle). Ces espèces auto-incluses ont été mises en évidence car aucune modification des déplacements chimiques avec la concentration en monomères, n'a été observée par RMN, bien que l'interaction phényle/cavité ait été identifiée. Suite à ces résultats, ils ont proposé des structures comportant un espaceur cinnamoyle plus rigide (**Figure 15-b**). Cependant, dans le cas de la β-CD-6-cinnamoyle cela a conduit à une perte de solubilité du complexe, uniquement caractérisable sous forme cristalline. Dans le cas de l'α-CD-6-cinnamoyle, un oligomère est formé. Sa masse molaire moyenne en nombre (M_n) de 3000 g/mol à 10 mM a été mesurée par VPO, ce qui correspond

à un trimère. Un équilibre est donc à trouver entre rigidité de l'espaceur et solubilité du complexe afin d'éviter l'auto-inclusion du monomère.

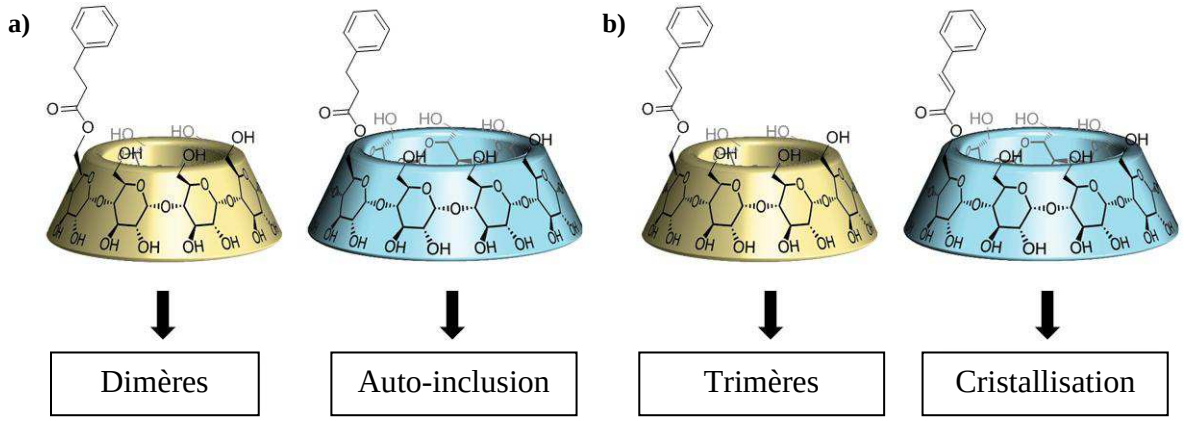


Figure 15 : *Influence de la rigidité de l'espaceur sur la formation de PSM d'α-CD et de β-CD substituées.* ***a)*** *cas d'un espaceur flexible : le groupement hydrocinnamoyle et* ***b)*** *cas d'un espaceur rigide : le groupement cinnamoyle*[65].

De la même manière la longueur de l'espaceur a une influence sur la structure formée. Si ce dernier est trop long, cela conduit à la formation d'espèces auto-incluses comme dans le cas de la β-CD-6-aminoimidazol-4-N-*tert*-butoxycarbonyl-N-(N'-éthyl)propanamide[77] (**Figure 16**).

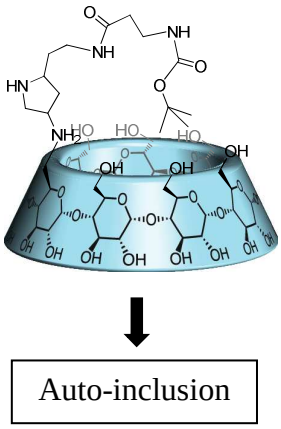


Figure 16 : *Influence de la longueur de l'espaceur sur la formation de PSM de β-CD : cas de de la β-CD-6-aminoimidazol-4-N-tert-butoxycarbonyl-N-(N'-éthyl)propanamide.*

i-2. Influence de la taille et de la nature du groupement invité

La formation et la structure des assemblages dépendent également des dimensions du groupement invité par rapport à la taille de la cavité de la CD. Dans le cas de dérivés de l'α-CD, A. Harada et al.[78] ont montré que la taille du groupement invité pouvait avoir une influence sur l'hélicité de l'arrangement supramoléculaire. Ils ont observé par RMN et VPO la formation d'un PSM linéaire à base d'α-CD-3-cinnamamide ayant une M_n de 16000 g/mol (DP_n = 12) à 30 mM (**Figure 17-a**). Dans le cas de l'α-CD-3-amino-4-*tert*-Boc-aminocinnamoyle qui comporte un groupement invité plus volumineux, un PSM de M_n comparable mais présentant une hélicité a été mis en évidence[79]. Son hélicité a été montrée par mesures de dichroïsme circulaire (cd)[80] (**Figure 17-b**). Ils ont, en effet, observé au niveau de la bande d'absorption du chromophore de leur composé, à 323 nm, une augmentation du signal cd avec la concentration (**Figure 18-a**). En prenant, pour référence un composé de structure hélicoïdale comportant un chromophore similaire, ils ont attribué ces signaux à la formation d'un PSM présentant une hélicité gauche (**Figure 18-a**).

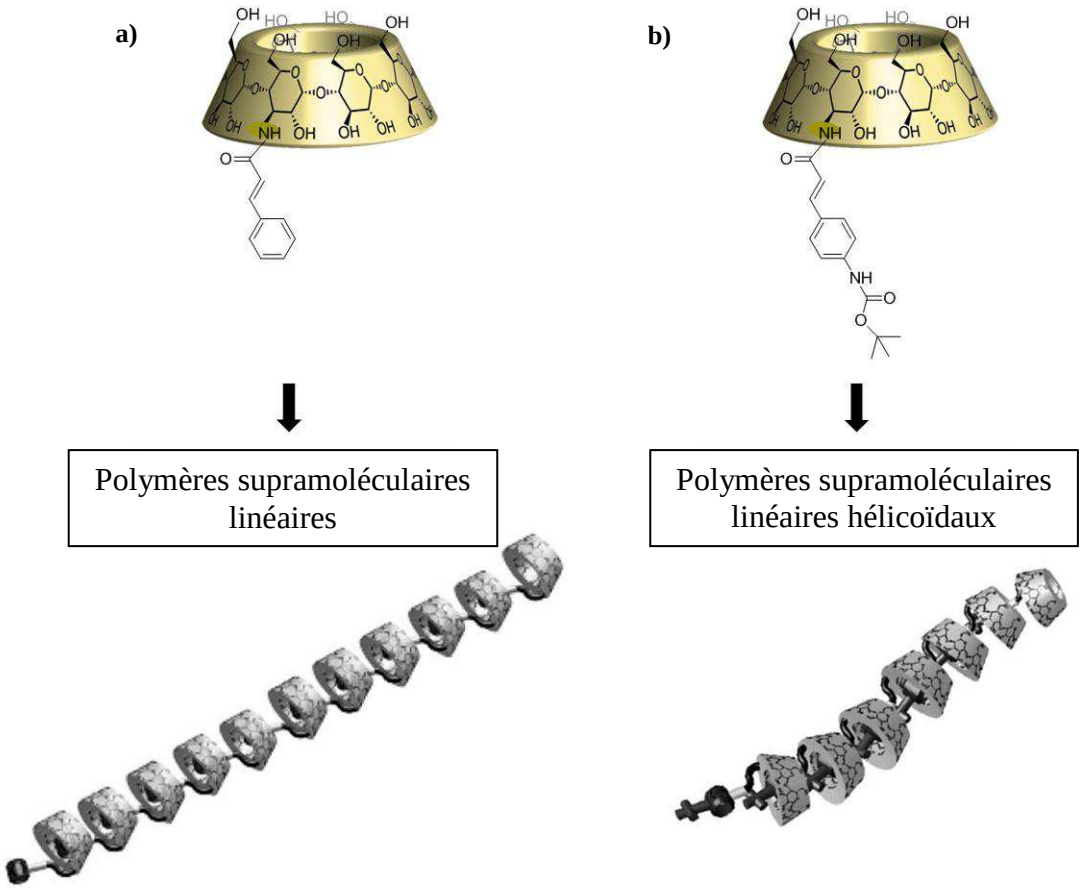


Figure 17 : *Influence de la taille du groupement invité d'α-CDs 3-monosubstituées sur la structure des assemblages supramoléculaires formés.* ***a)*** *Formation d'un PSM linéaire.* ***b)*** *Formation d'un PSM hélicoïdal (figure adaptée à partir de la réf. [67]).*

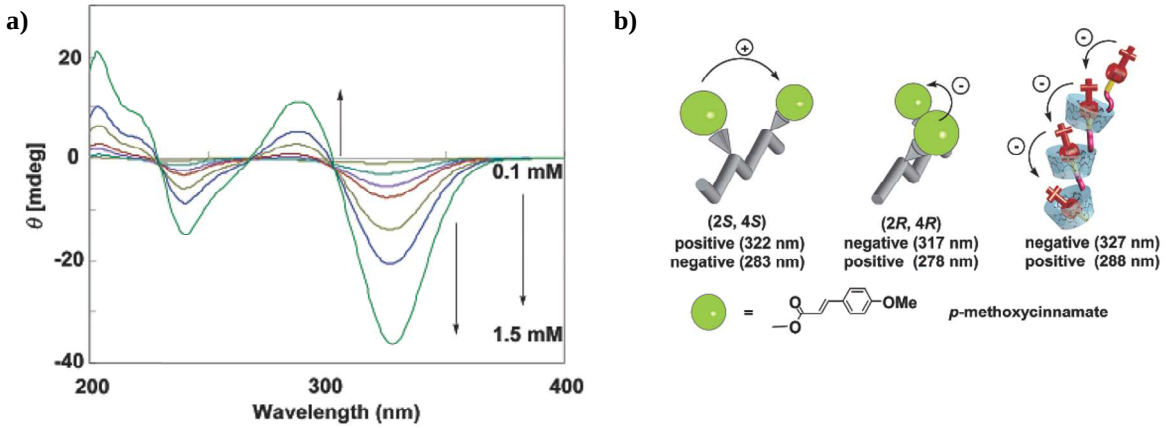


Figure 18 : ***a)*** *Spectres de dichroïsme circulaire de l'α-CD-3-amino-4-tert-Boc-aminocinnamoyle à une concentration de 0.1 à 1.5 mM dans H_2O.* ***b)*** *Structures et signes des signaux cd obtenus pour le (2S, 4S)-2,4-bis-p-méthoxycinnamate-hexanediol, le (2R, 4R)-2,4-bis-p-méthoxycinnamate-pentanediol et le PSM d'α-CD-3-amino-4-tert-Boc-aminocinnamoyle (figures issues de la réf. [80]).*

W. Deng et al.[81] ont également montré l'influence de la taille du groupement invité sur la structure secondaire des assemblages formés. Ils ont comparé les analyses RMN, VPO et AFM des assemblages formés par la β-CD-6-cinnamoyl-4-amino-2,4,6-trinitrobenzene et la β-CD-6-amino-2,4,6-trinitrobenzene. Ils ont constaté par VPO que la β-CD-6-cinnamoyl-4-amino-2,4,6-trinitrobenzène ayant le groupement invité le plus volumineux forme de longs PSM de 16000 g/mol à 5 mM tandis que la β-CD-6-amino-2,4,6-trinitrobenzène forme des oligomères de 6500 g/mol à 50 mM (**Figure 19-a**). Ils ont expliqué ce comportement par une meilleure affinité de la cavité pour le groupement invité de la β-CD-6-cinnamoyl-4-amino-2,4,6-trinitrobenzène. En effet, le caractère plus hydrophobe de cet invité favorise probablement son inclusion. De plus, ils ont observé la formation d'un gel ayant une température de transition sol-gel à 50°C dans le cas de la β-CD-6-cinnamoyl-4-amino-2,4,6-trinitrobenzène à 20 mM (**Figure 19-b**). Suite à des expériences de compétition en présence d'un agent chaotrope, l'urée, ils ont expliqué la formation de ce gel par des liaisons hydrogène entre les PSM de CDs.

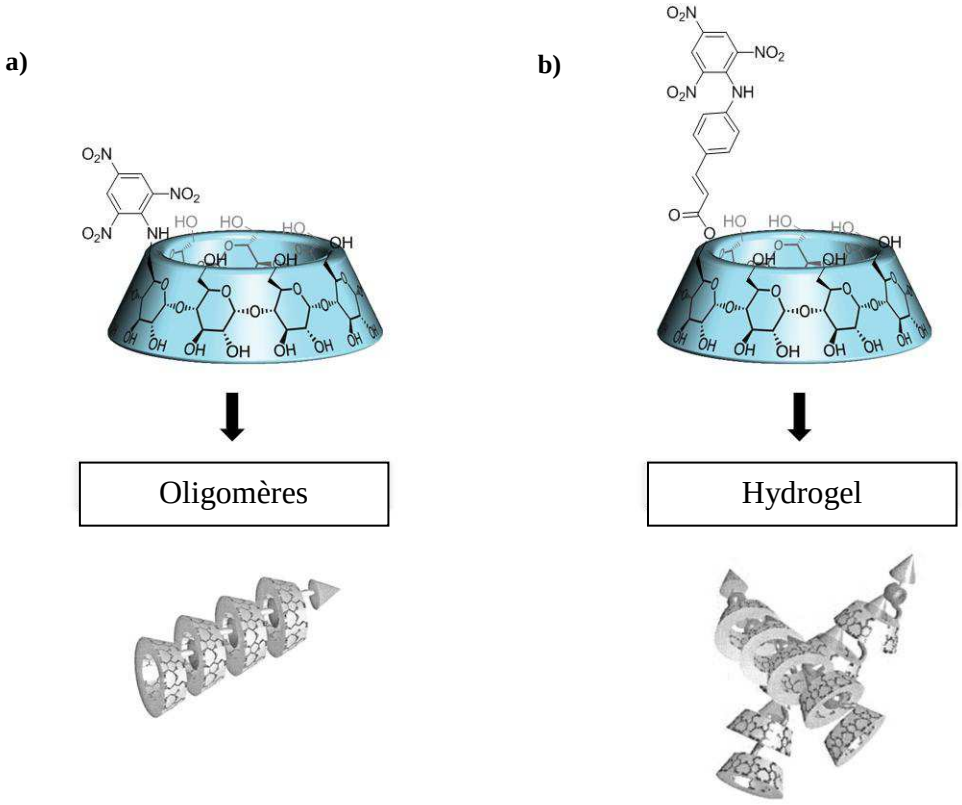


Figure 19 : *Influence de la taille du groupement invité sur la structure secondaire des assemblages.* ***a)*** *Formation d'oligomères.* ***b)*** *Formation d'un hydrogel (figure adaptée à partir de la réf.* [81]*).*

i-3. Influence de la position de l'invité sur la CD

La position de l'invité a également une influence sur la structure de l'assemblage. En effet, l'interaction préférentielle de l'invité avec un des deux cols de la CD peut conduire à une structure différente en fonction de sa position sur la CD. M. Miyauchi et al.[78] ont mis en évidence de telles différences structurales dans le cas des dérivés cinnamamide de l'α-CD. Ils ont montré par RMN que la α-CD-6-cinnamamide forme un dimère cyclique en solution (**Figure 20-a**) tandis que la α-CD-3-cinnamamide forme un PSM ayant une M_n déterminée par VPO de 16000 g/mol (DP_n = 12) à 30mM (**Figure 20-b**). Au-delà de cette concentration, la M_n du PSM reste constante ce qui indique une inhibition de la polymérisation peut-être due à la formation d'espèces cycliques.

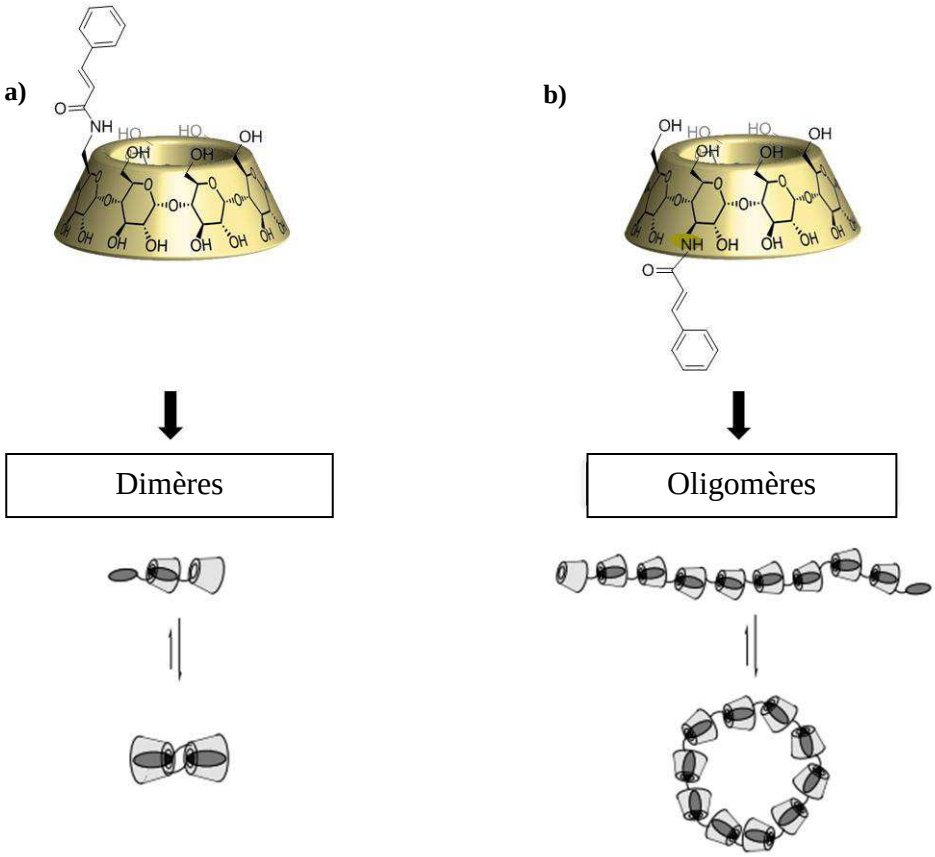


Figure 20 : *Influence de la position du groupement invité sur la structure des assemblages supramoléculaires.* ***a)*** *Formation de dimères à base d'α-CD-6-cinnamamide.* ***b)*** *Formation d'oligomères à base d'α-CD-3-cinnamamide (figure adaptée à partir de la réf.* [78]*).*

ii. PSM à base de combinaison de monomères hétéro-ditopiques (A-B) + (A'-B')

Afin de combiner les avantages de différents monomères des systèmes mixtes ont été élaborés. Dans ce sens, le groupe d'A. Harada a développé des PSM constitués de deux monomères hétéro-ditopiques à base d'α-CD ayant une bonne solubilité et de β-CD présentant une constante d'association élevée avec les dérivés de l'adamantane. Pour cela, ils ont conçu des monomères dont le choix et la position de l'invité sont définis de façon à permettre une interaction croisée favorable[82]. Ainsi, en réalisant un mélange équimolaire d'α-CD substituée par un adamantane en position C_3 et de 6-[4-(*tert*-Boc-amino)cinnamoylamino]-β-CD, ils ont mis en évidence par RMN et VPO la formation d'un PSM alterné ayant une M_n de 10000 g/mol (DP_n = 8) à 10 mM (**Figure 21**).

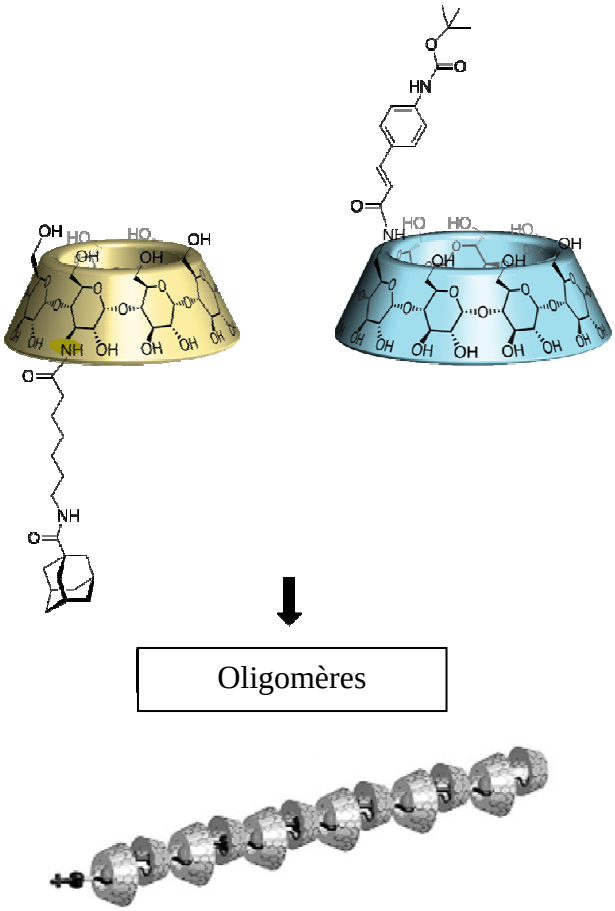


Figure 21 : *PSM alterné à base d'α-CD et de β-CD monosubstituées (figure adaptée à partir de la réf.* [82]*).*

iii. PSM à base de monomères hétéro-tritopiques (A_2-B)

Ces monomères sont constitués d'une molécule hôte disubstituées par deux groupements invités. M. Saviano et al.[83] ont effectué la première caractérisation structurale complète d'un dérivé disubstitué de la β-CD, la 6^A ,6^B -dideoxy-6^A ,6^B –bis [2-(2-pyridyl)-éthylamino]-β-CD. Ils ont montré par RMN, diffraction de rayons X et dichroïsme circulaire qu'à l'état solide, ce composé forme un PSM par l'inclusion d'un des deux substituants dans la cavité d'une autre CD tandis que le deuxième substituant repose au dessus de la cavité de la CD sur laquelle il est greffé. Par contre, en solution aqueuse ce composé ne forme pas de PSM car un des deux substituants est auto-inclus dans la cavité de sa propre CD (**Figure 22**).

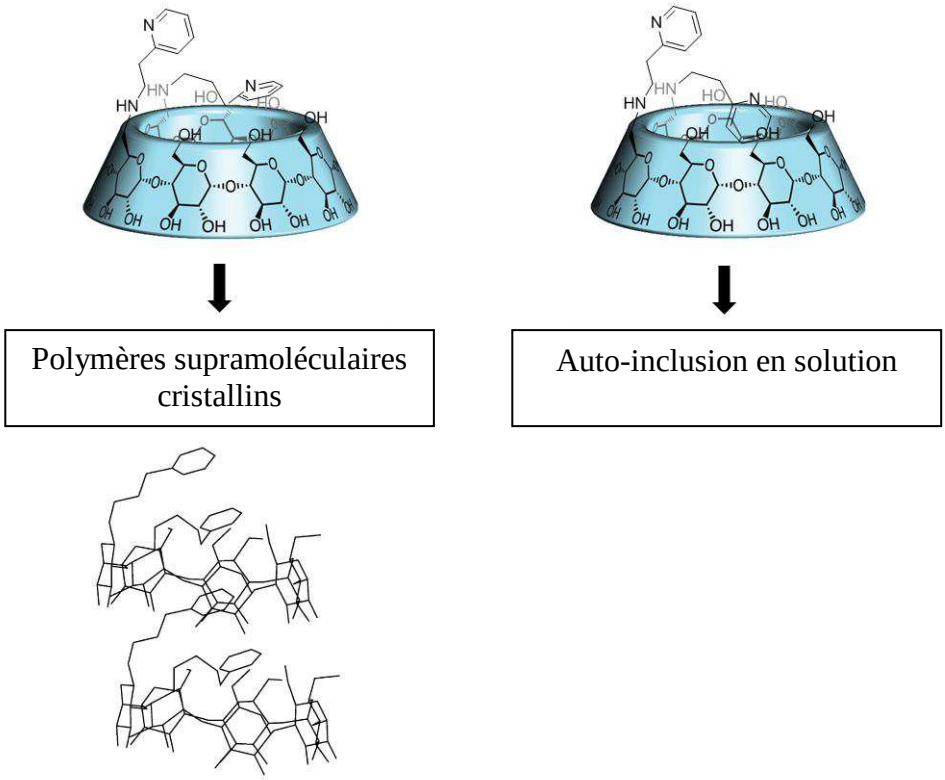


Figure 22 : *β-CD 6-disubstituée par un groupement pyridyle (figure adaptée à partir de la réf.* [83]*).*

Par ailleurs, des monomères disubstitués ont également été développés par le groupe d'A. Harada[84] dans le but de former des PSM branchés. Ils ont ainsi synthétisé une α-CD substituée par deux groupements invités. D'après les analyses RMN et par spectrométrie de masse ESI-TOF, ce monomère bien que peu soluble (saturation à 2.3 mM) permet en présence d'un monomère hétéro-ditopique CD-invité, de former un PSM branché. Ce PSM présente une viscosité réduite élevée signe de la formation d'espèces de grande taille. Ils ont donc suggéré

que la présence d'une interaction additionnelle hydrophobe ou par liaisons hydrogène serait responsable de cette viscosité élevée (**Figure 23**).

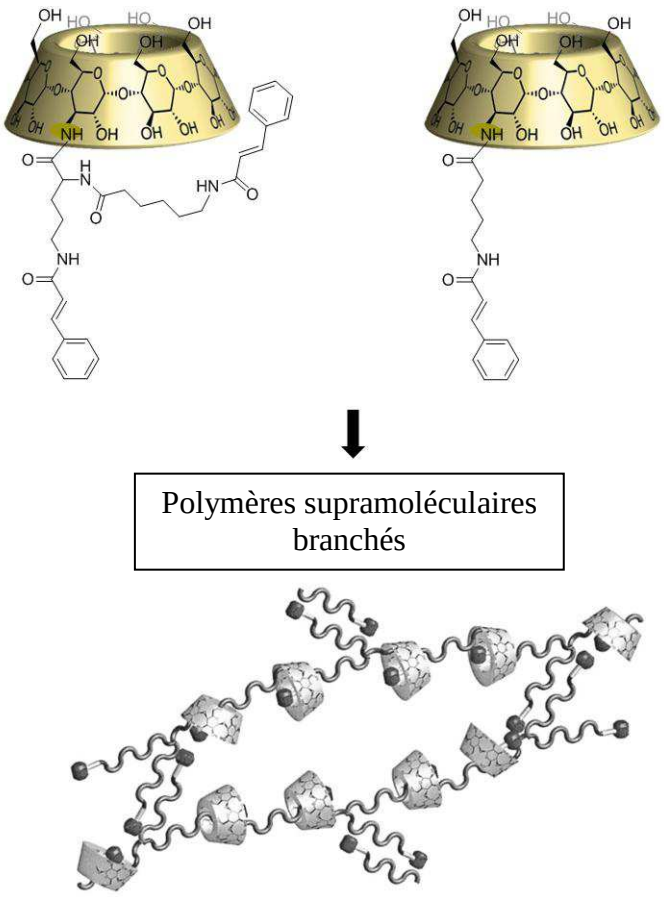


Figure 23 : *Proposition de mécanisme d'interaction conduisant à la formation de PSM branchés (figure adaptée à partir de la réf. [84]).*

iv. PSM à base de monomères hétéro-tritopiques (A-B_2)

Y. Bai et al.[85] ont développé un monomère comportant un groupement adamandane disubstitué par deux β-CDs. Ils ont mis en évidence par RMN, DLS et MET que ce dernier permet la formation de PSM hyperbranchés assurée par les interactions hôte/invité dans un mélange DMF/H2O 1 :1 v/v. Lors de l'ajout d'une molécule invité compétitrice, la structure branchée est dissociée et les monomères s'assemblent ensuite sous forme de micelles. Ils ont proposé pour expliquer cette transition morphologique un mécanisme dont la force motrice serait les interactions hydrophobes qui seraient favorisées dans le mélange DMF/H2O 1 :1 v/v entre les monomères hétéro-tritopiques complexés par le compétiteur (**Figure 24**).

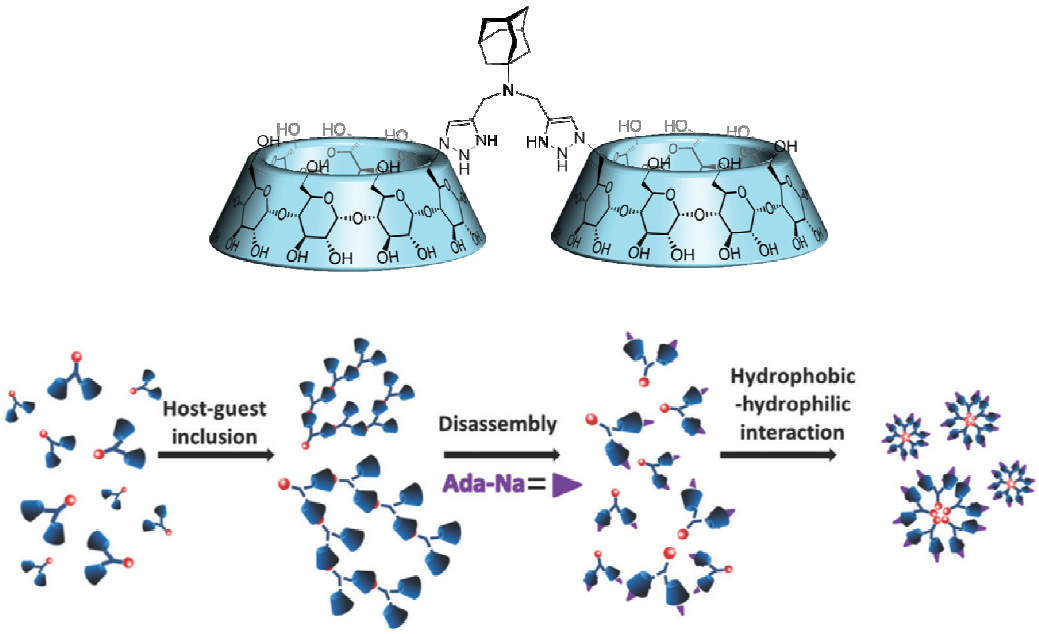


Figure 24 : *Représentation des possibles transitions de morphologie de la β-CD$_2$-adamantane (figure adaptée à partir de la réf. [85]).*

c. PSM à base de monomères homo-topiques

i. PSM à base de combinaison de monomères homo-ditopiques (A-A) + (B-B)

Afin de favoriser la formation d'assemblage par interactions hôte/invité, des monomères comportant deux CDs ont été développés. Le couplage peut se faire par le col secondaire mais la synthèse est dans ce cas plus difficile du fait du grand nombre d'isomères possibles[86]. Le couplage peut également être fait sur le col primaire ce qui en plus de simplifier la synthèse a l'avantage de permettre plus de possibilités structurales au niveau des assemblages formés. Cependant, la formation et la structure de PSM à base de combinaison de monomères homo-ditopiques dépendent de la longueur, de la flexiblité et de la polarité de l'espaceur. En effet, N. Birlirakis et al.[87] ont mis en évidence, par RMN, un phénomène d'auto-inclusion de l'espaceur aliphatique liant deux CDs par le col secondaire (**Figure 25-a**) pouvant expliquer la diminution de la constante d'association dans le cas d'espaceur de grande taille. Ils ont montré que l'utilisation d'un espaceur plus rigide permet d'éviter ce phénomène et conduit à une constante d'association β-CD/porphyrine estimée par RMN à plus de 5.10^7 M^{-1} [86] (**Figure 25-b**).

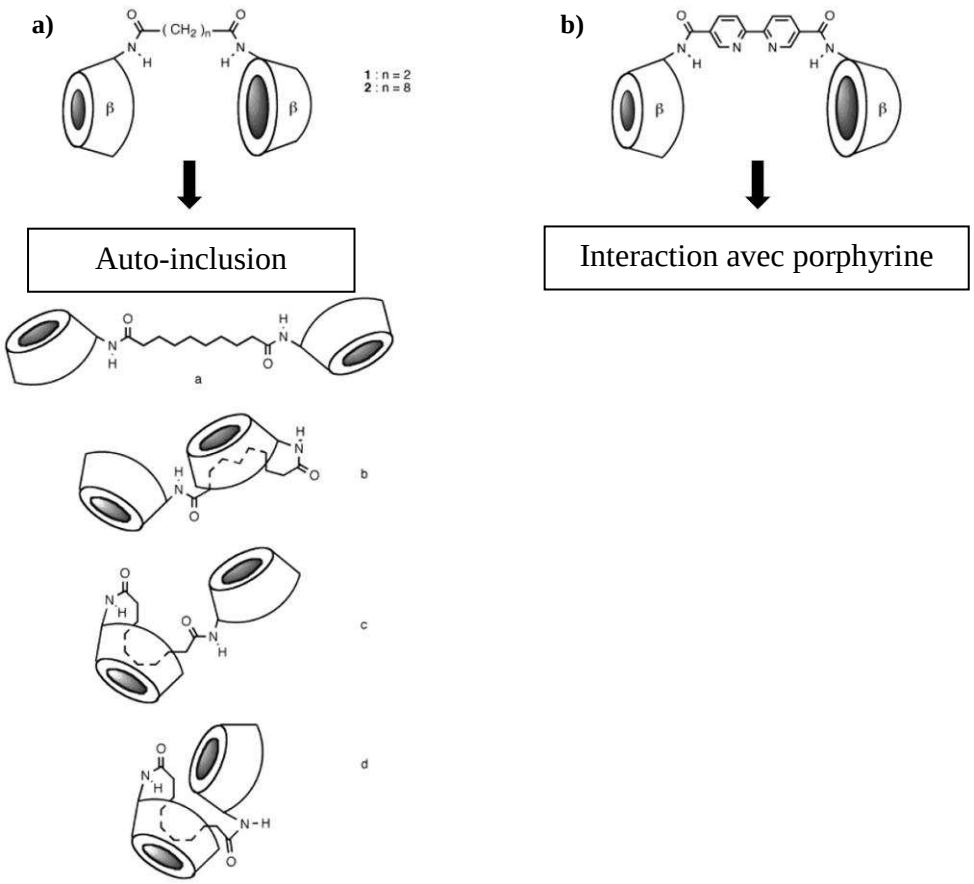


Figure 25 : *Influence de la rigidité de l'espaceur sur l'interaction hôte/invité (figures issues de la réf.* [86]*).*

Dans l'équipe GOBS, des CDs couplées par deux espaceurs au niveau du col primaire, appelées duplex (**Figure 26-a** et **b**), ont également été développées afin d'une part de favoriser l'association en pré-orientant les deux cavités et d'autre part d'éviter l'auto-inclusion en réduisant la flexibilité du monomère. Cependant l'auto-inclusion n'est évitée que lorsque ces deux espaceurs sont suffisamment hydrophiles (**Figure 26-b**) ce qui permet d'obtenir une constante d'association β-CD/dérivé adamantane de $K = 6.38 \times 10^4\ M^{-1}$ [88].

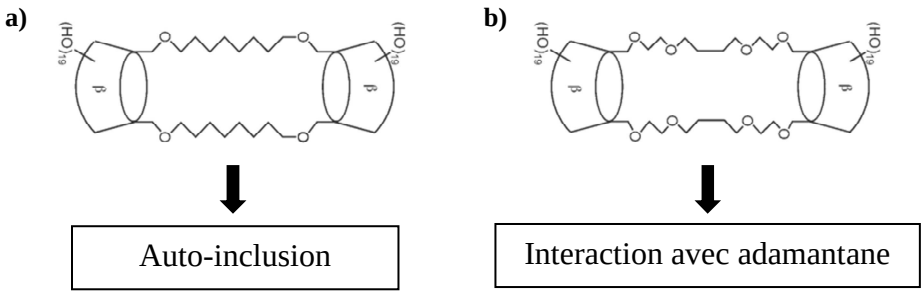


Figure 26 : *Influence de la polarité de l'espaceur sur l'interaction hôte/invité (figures issues de la réf.* [88]*).*

K. Ohga et al.[89] ont montré que l'association de dimères de CDs ayant un espaceur rigide avec des invités homo-ditopiques comportant un espaceur également rigide permet la formation de PSM linéaire. Ces PSM mis en évidence par RMN ont une M_n déterminée par VPO supérieure à 90000 g/mol à environ 14 mM. Quand ils utilisent des invités homo-ditopiques comportant un espaceur flexible, ils observent par AFM, la formation de PSM cycliques ayant des M_n de 10000 à 15000 g/mol déterminées par VPO à 8 mM (**Figure 27**).

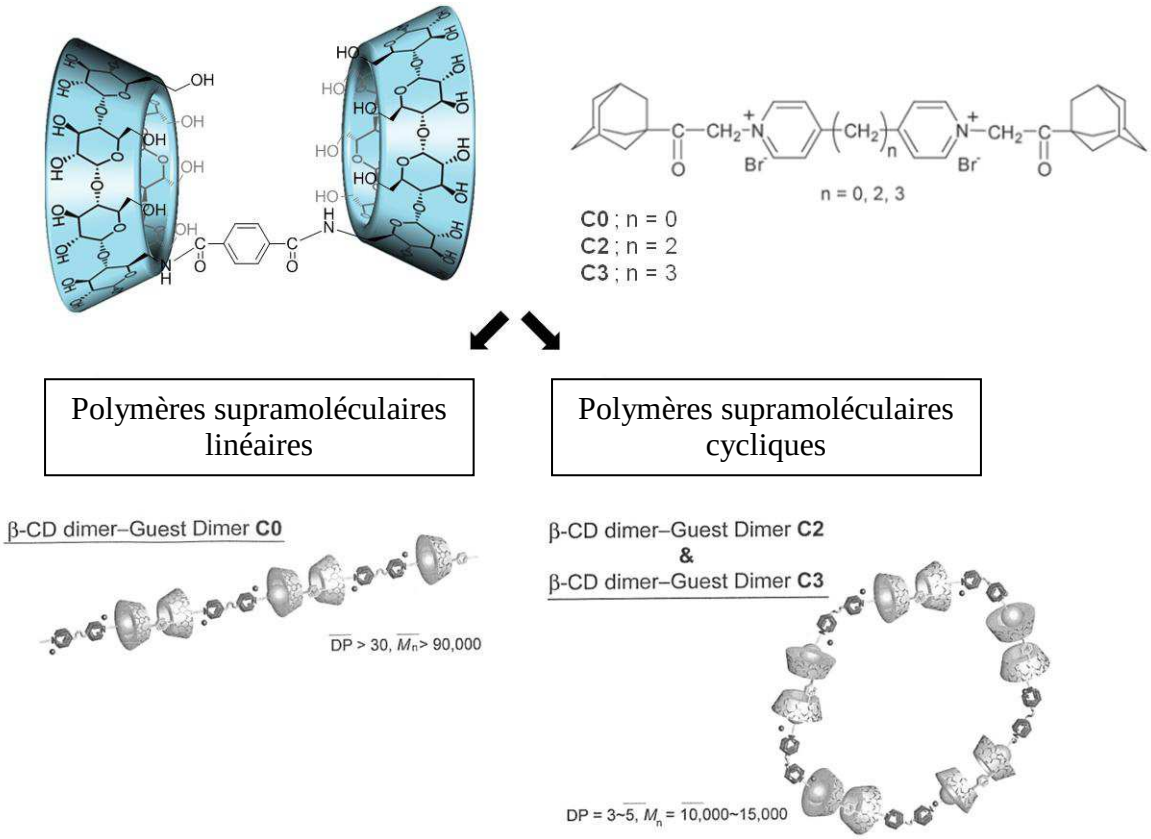


Figure 27 : *Influence de la rigidité de l'espaceur sur la structure des PSM formés (figures issues de la réf. [89]).*

Enfin, Y. Liu et al.[90] ont montré qu'il est possible de former une structure hiérarchique à partir de dimères de CDs et de fullerène C_{60}. Pour cela, ils ont augmenté la coopérativité de leurs assemblages en utilisant des dimères pouvant s'auto-associer via un deuxième type d'interaction, i. e. des liaisons de coordination. Ils ont caractérisé les assemblages ainsi formés à l'aide de différentes techniques dont la RMN, l'UV et la diffraction de rayons X. La structure des assemblages formés, mise en évidence par microscopie à effet tunnel, présente des fibres dont les dimensions sont celles de CDs alternativement espacées par l'invité et l'espaceur dicarboxamide des dimères de CDs (**Figure 28**).

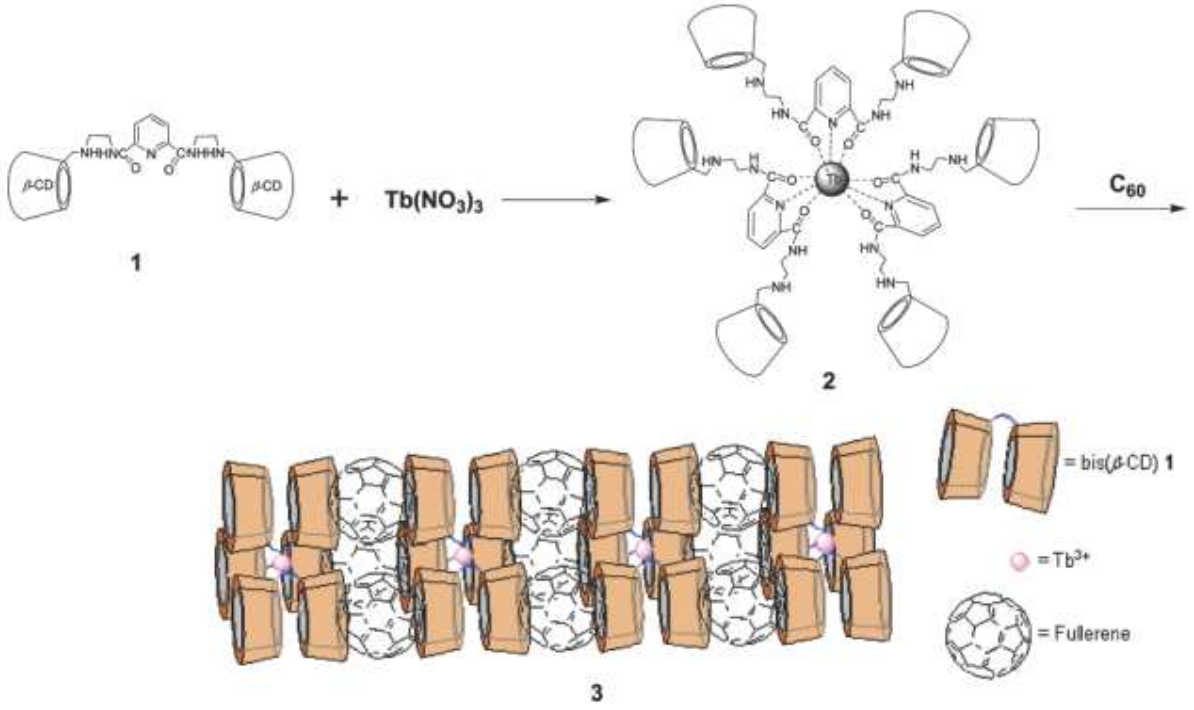


Figure 28 : *Formation d'assemblages hiérarchiques de dimères de β-CDs et de fullerène C_{60} (figure issue de la réf. [90]).*

ii. PSM à base de combinaison de monomères ditopiques et homo-tritopiques (A-A) + (B-B-B)

Afin d'obtenir des structures hyperbranchées, des CDs homo-tritopiques peuvent être associées à des invités homo-ditopiques. Dans ce but, V. H. Soto Tellini et al.[91] ont caractérisé par RMN et ITC des solutions comportant un mélange de trimères de CDs et de dimères d'adamantane. Ils ont montré que les paramètres thermodynamiques de l'association sont indépendants du nombre de CDs présentes sur l'hôte. Puis, ils ont mis en évidence la formation de PSM dendritiques par DLS et SLS en montrant que l'évolution de la masse

molaire apparente et du rayon hydrodynamique du PSM avec la concentration en invité est plus importante dans le cas du trimère de CD que dans celui d'un dimère de CDs. Ce résultat a été confirmé par l'analyse AFM qui montre que seules des fibres sont observées pour le mélange bis-adamantane/dimères de CDs tandis que des structures dendritiques sont formées lors du mélange bis-adamantane/trimères de CDs (**Figure 29**).

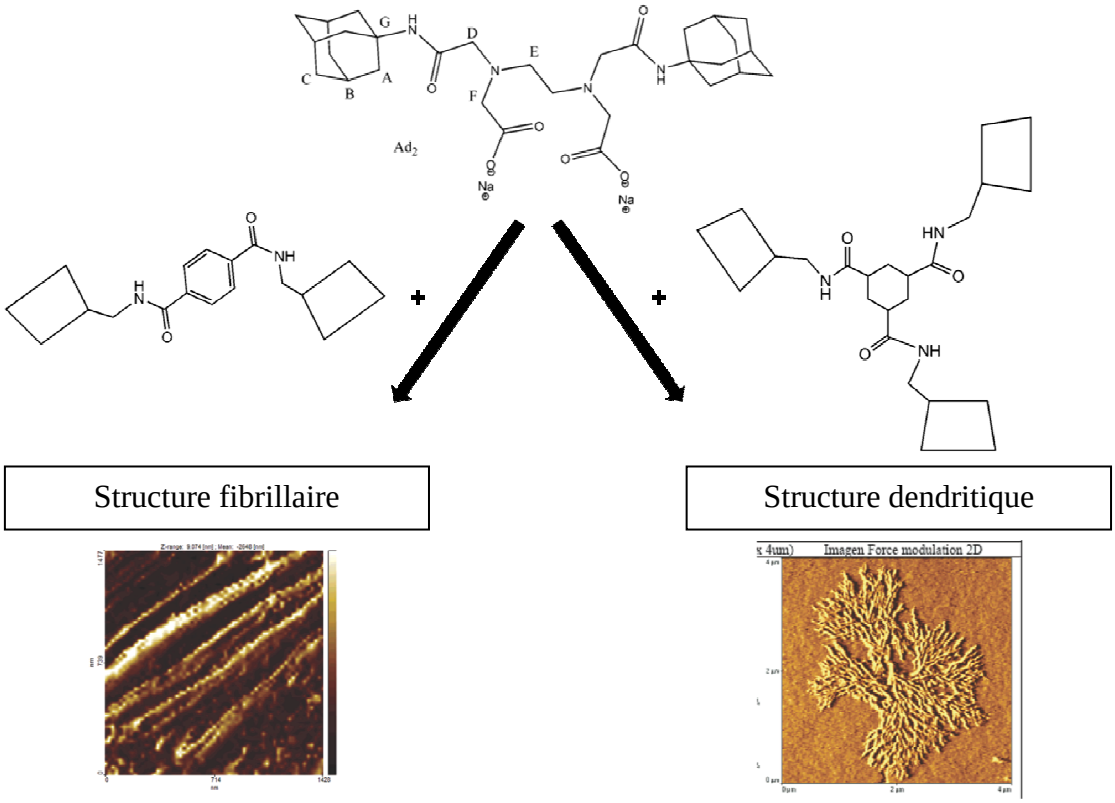


Figure 29 : *Exemple de structure dendritique formée à base d'un invité homo-ditopique (Ad_2) et de trimères de β-CDs. En présence de dimères de β-CDs une structure fibrillaire est formée (figure adaptée à partir de la réf.* [91]*).*

2- PSM à base de CDs modifiées sans interactions hôte/invité

Afin de contrôler la structure des PSM formés, K. Yamauchi et al.[92] ont développé des α-CD substituées par un groupement invité dont la conformation et donc les dimensions sont modulables via un stimulus externe. En conformation trans celui-ci permet la formation d'un dimère cyclique peu soluble mis en évidence par analyses RMN et diffraction de rayons X tandis que la conformation cis empêche l'inclusion et induit la formation d'un PSM non assurée par des interactions hôte/invité. En effet, la conformation cis permet une polymérisation via l'établissement de liaisons π-π stacking entre les invités (**Figure 30**). Ils ont caractérisé ce dernier par analyses RMN, UV, dichroïsme circulaire et ont déterminé par spectrométrie de masse ESI-TOF un DP_n de 15 à 1 mM.

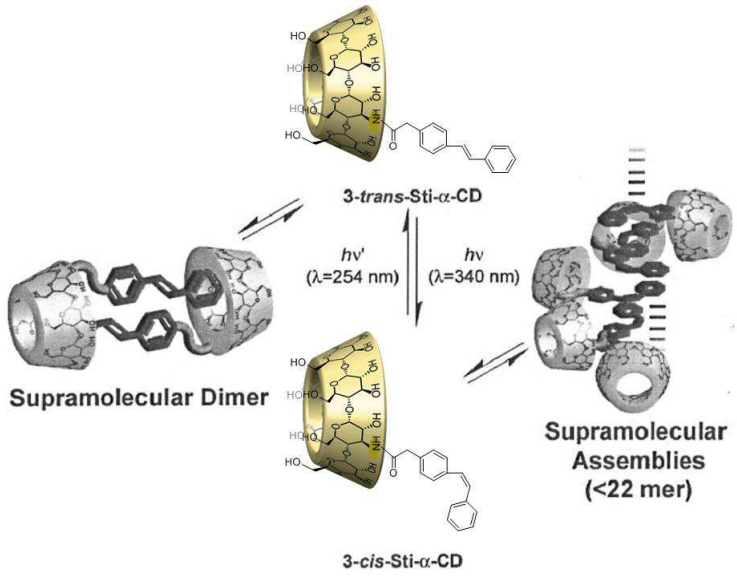


Figure 30 : *Influence de la conformation du groupement stylbène sur les assemblages supramoléculaires d'α-CDs 3-monosubstituées formés (figure adaptée à partir de la réf. [92]).*

B. J. Ravoo et al.[93] ont également reporté la formation d'assemblages de CDs induite par une force motrice autre que l'interaction hôte/invité. Ils ont pour cela synthétisé une β-CD Janus, dont chaque col est fonctionnalisé par des groupements de charges opposées permettant ainsi une auto-association des CDs par interactions électrostatiques en milieu de faible force ionique (**Figure 31**).

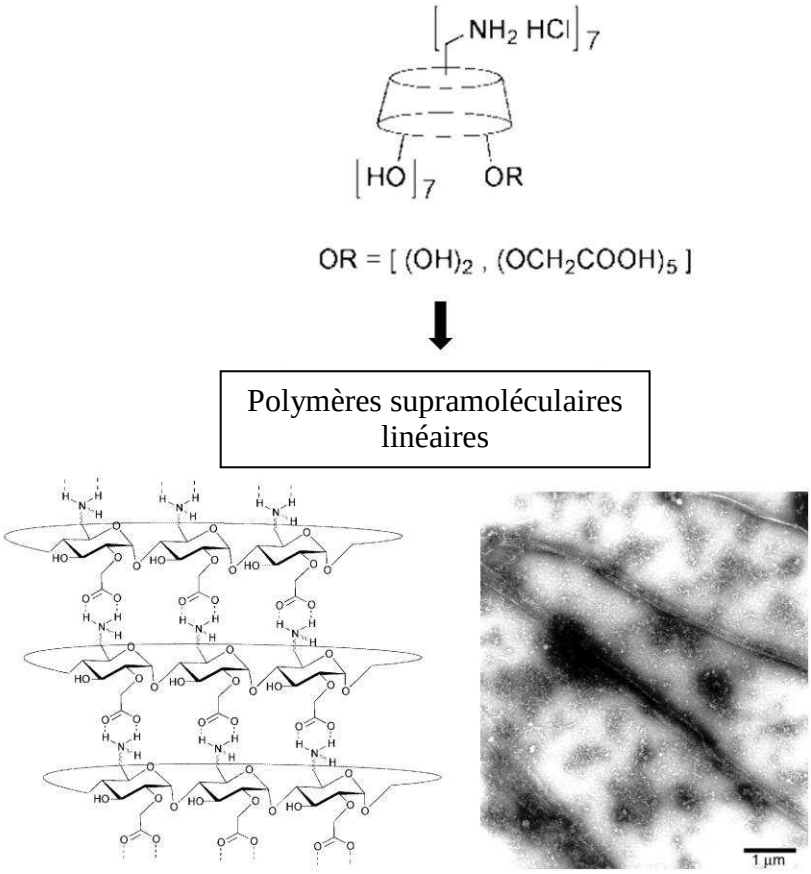


Figure 31 : *Exemple de PSM formés par des interactions électrostatiques entre β-CDs modifiées (figure adaptée à partir de la réf.* [93]*).*

III- Conclusion

Depuis leur découverte, il y a plus d’un siècle, les cyclodextrines ont été amplement étudiées. Leur capacité à former des complexes hôte/invité a été exploitée, d’une part, pour solubiliser des molécules hydrophobes en milieu aqueux mais également pour la formation de PSM de CDs à l’état solide et en solution. Suite aux nombreuses études effectuées sur l’élaboration de PSM, différents paramètres influençant leur formation ainsi que la structure des assemblages formés ont été mis en évidence. Les auteurs ont ainsi montré que la rigidité et l'hydrophile de l’espaceur permettent de contrôler le phénomène d’auto-inclusion et d'avoir un impact sur la solubilité des PSM formés. Ils ont également montré que la force de l’interaction et donc la longueur des PSM formés dépendent de la taille et de la nature du groupement invité choisi. La position de cet invité semble aussi avoir une influence sur l’architecture des assemblages formés.

Pour conclure, ces études montrent que lors du choix du système hôte/espaceur/invité, une balance est à trouver de façon à favoriser l’équilibre de polymérisation au détriment de l’auto-inclusion tout en maintenant la solubilité du PSM formé.

Bibliographie

(1) Del Valle, E. M. M. *Process Biochem.* **2004**, *39* (9), 1033–1046.

(2) Crini, G. *Chem. Rev.* **2014**, *114* (21), 10940–10975.

(3) Villiers, A. *Comptes Rendus Hebd. Séances Académie Sci.* **1891**, *112*, 536–538.

(4) Schardinger, F. *Wien. Klin. Wochenschr.* **1904**, *17*, 207–209.

(5) Schardinger, F. *Zentralbl Bakteriol Parasitenkd Infekt. Hyg II* **1911**, *29*, 188–197.

(6) French, D. *Adv. Carbohydr. Chem.* **1957**, *12*, 189–260.

(7) Cramer, F. *Einschlussverbindungen (Inclusion compounds)*; Springer-Verlag: Berlin, 1954.

(8) Sundararajan, P. R.; Rao, V. S. R. *Carbohydr. Res.* **1970**, *13* (3), 351–358.

(9) Nakagawa, T.; Ueno, K.; Kashiwa, M.; Watanabe, J. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35* (12), 1921–1924.

(10) Bender, M. L. *Cyclodextrin Chemistry*; Springer-Verlag, 1978.

(11) Jana, M.; Bandyopadhyay, S. *J. Phys. Chem. B* **2011**, *115* (19), 6347–6357.

(12) Szejtli, J. *Cyclodextrin Technology*; Davies, J. E. D., Series Ed.; Topics in Inclusion Science; Springer Netherlands: Dordrecht, 1988; Vol. 1.

(13) Szejtli, J.; Atwood, J. L.; Lehn, J.-M. *Comprehensive supramolecular chemistry*; Pergamon: New York, 1996; Vol. 3.

(14) Paduano, L.; Sartorio, R.; Vitagliano, V.; Costantino, L. *J. Solut. Chem.* **1990**, *19* (1), 31–39.

(15) Naidoo, K. J.; Chen, J. Y.-J.; Jansson, J. L. M.; Widmalm, G.; Maliniak, A. *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108* (14), 4236–4238.

(16) Sakurai, M.; Kitagawa, M.; Hoshi, H.; Inoue, Y.; Chûjô, R. *Carbohydr. Res.* **1990**, *198* (2), 181–191.

(17) Li, X.-S.; Liu, L.; Mu, T.-W.; Guo, Q.-X. *Monatshefte Für ChemieChemical Mon.* **2000**, *131* (8), 849–855.

(18) Liu, L.; Guo, Q.-X. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2002**, *42* (1–2), 1–14.

(19) Bertrand, G. L.; Faulkner, J. R.; Han, S. M.; Armstrong, D. W. *J Phys Chem* **1989**, *93* (18), 6863–6867.

(20) VanEtten, R. L.; Sebastian, J. F.; Clowes, G. A.; Bender, M. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89* (13), 3242–3253.

(21) Saenger, W. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1980**, *19* (5), 344–362.

(22) Bergeron, R. J.; Channing, M. A.; Gibeily, G. J.; Pillor, D. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99* (15), 5146–5151.

(23) Sakurai, M.; Kitagawa, M.; Hoshi, H.; Inoue, Y.; Chûjô, R. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1989**, *62* (6), 2067–2069.

(24) Connors, K. A.; Lin, S.-F.; Wong, A. B. *J. Pharm. Sci.* **1982**, *71* (2), 217–222.

(25) Rekharsky, M. V.; Inoue, Y. *Chem. Rev.* **1998**, *98* (5), 1875–1918.

(26) Martin Davies, D.; Deary, M. E.; Wealleans, D. I. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1998**, No. 1, 193–196.

(27) Wenz, G.; Strassnig, C.; Thiele, C.; Engelke, A.; Morgenstern, B.; Hegetschweiler, K. *Chem. - Eur. J.* **2008**, *14* (24), 7202–7211.

(28) Zheng, Y.; Dong, L.-N.; Liu, M.; Chen, A.; Feng, S.; Wang, B.; Sun, D. *J. Agric. Food Chem.* **2014**, *62* (1), 244–250.

(29) Martin Davies, D.; Savage, J. R. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1994**, No. 7, 1525–1530.

(30) Gelb, R. I.; Schwartz, L. M.; Johnson, R. F.; Laufer, D. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101* (7), 1869–1874.

(31) Ribó, J. M.; Farrera, J.-A.; Valero, M. L.; Virgili, A. *Tetrahedron* **1995**, *51* (12), 3705–3712.

(32) Yi, Z.-P.; Chen, H.-L.; Huang, Z.-Z.; Huang, Q.; Yu, J.-S. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **2000**, No. 1, 121–127.

(33) Hirsch, W.; DiMartini, C.; Fried, V.; Ling, W. *Can. J. Chem.* **1987**, *65* (11), 2661–2664.

(34) Gelb, R. I.; Schwartz, L. M. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **1989**, *7* (5), 537–543.

(35) Miyajima, K.; Sawada, M.; Nakagaki, M. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1983**, *56* (12), 3556–3560.

(36) Coleman, A. W.; Nicolis, I.; Keller, N.; Dalbiez, J. P. *J. Incl. Phenom. Mol. Recognit. Chem.* **1992**, *13* (2), 139–143.

(37) Szejtli, J. *Chem. Rev.* **1998**, *98* (5), 1743–1754.

(38) González-Gaitano, G.; Rodriguez, P.; Isasi, J. R.; Fuentes, M.; Tardajos, G.; Sánchez, M. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2002**, *44* (1–4), 101–105.

(39) Bonini, M.; Rossi, S.; Karlsson, G.; Almgren, M.; Lo Nostro, P.; Baglioni, P. *Langmuir* **2006**, *22* (4), 1478–1484.

(40) Rao, J. P.; Geckeler, K. E. *Macromol. Rapid Commun.* **2011**, *32* (5), 426–430.

(41) Saokham, P.; Sá Couto, A.; Ryzhakov, A.; Loftsson, T. *Int. J. Pharm.* **2016**, *505* (1–2), 187–193.

(42) Magnúsdóttir, A.; Másson, M.; Loftsson, T. .

(43) Pitha, J.; Milecki, J.; Fales, H.; Pannell, L.; Uekama, K. *Int. J. Pharm.* **1986**, *29* (1), 73–82.

(44) Schönbeck, C.; Westh, P.; Madsen, J. C.; Larsen, K. L.; Städe, L. W.; Holm, R. *Langmuir* **2011**, *27* (10), 5832–5841.

(45) Schönbeck, C.; Westh, P.; Holm, R. *J. Phys. Chem. B* **2014**, *118* (34), 10120–10129.

(46) Harata, K.; Tsuda, K.; Uekama, K.; Otagiri, M.; Hirayama, F. *J. Incl. Phenom.* **1988**, *6* (2), 135–142.

(47) Uekama, K.; Hirayama, F.; Irie, T. *Chem. Rev.* **1998**, *98* (5), 2045–2076.

(48) Inoue, Y.; Okuda, T.; Miyata, Y.; Chûjô, R. *Carbohydr. Res.* **1984**, *125* (1), 65–76.

(49) Kotake, Y.; Janzen, E. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111* (19), 7319–7323.

(50) Pharr, D. Y.; Fu, Z. S.; Smith, T. K.; Hinze, W. L. *Anal. Chem.* **1989**, *61* (3), 275–279.

(51) Puskás, I.; Schrott, M.; Malanga, M.; Szente, L. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2013**, *75* (3–4), 269–276.

(52) Chatjigakis, A. K.; Donze, C.; Coleman, A. W.; Cardot, P. *Anal. Chem.* **1992**, *64* (14), 1632–1634.

(53) Godinez, L. A.; Patel, S.; Criss, C. M.; Kaifer, A. E. *J. Phys. Chem.* **1995**, *99* (48), 17449–17455.

(54) Holm, R.; Schönbeck, C.; Somprasirt, P.; Westh, P.; Mu, H. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2014**, *80* (3–4), 243–251.

(55) Aoyama, Y.; Otsuki, J.; Nagai, Y.; Kobayashi, K.; Toi, H. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33* (26), 3775–3778.

(56) Gabelica, V.; Galic, N.; De Pauw, E. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2002**, *13* (8), 946–953.

(57) Rossi, S.; Bonini, M.; Lo Nostro, P.; Baglioni, P. *Langmuir* **2007**, *23* (22), 10959–10967.

(58) Messner, M.; Kurkov, S. V.; Brewster, M. E.; Jansook, P.; Loftsson, T. *Int. J. Pharm.* **2011**, *407* (1–2), 174–183.

(59) Fouquey, C.; Lehn, J.-M.; Levelut, A.-M. *Adv. Mater.* **1990**, *2* (5), 254–257.

(60) Sijbesma, R. P.; Beijer, F. H.; Brunsveld, L.; Folmer, B. J. B.; Hirschberg, J. H. K. K.; Lange, R. F. M.; Lowe, J. K. L.; Meijer, E. W. *Science* **1997**, *278* (5343), 1601.

(61) De Greef, T. F. A.; Smulders, M. M. J.; Wolffs, M.; Schenning, A. P. H. J.; Sijbesma, R. P.; Meijer, E. W. *Chem. Rev.* **2009**, *109* (11), 5687–5754.

(62) Harata, K.; Takenaka, Y.; Yoshida, N. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **2001**, No. 9, 1667–1673.

(63) Liu, Y.; Fan, Z.; Zhang, H.-Y.; Yang, Y.-W.; Ding, F.; Liu, S.-X.; Wu, X.; Wada, T.; Inoue, Y. *J. Org. Chem.* **2003**, *68* (22), 8345–8352.

(64) Eliadou, K.; Giastas, P.; Yannakopoulou, K.; Mavridis, I. M. *J. Org. Chem.* **2003**, *68* (22), 8550–8557.

(65) Harada, A.; Kawaguchi, Y.; Hoshino, T. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2001**, *41* (1–4), 115–121.

(66) Hirotsu, K.; Higuchi, T.; Fujita, K.; Ueda, T.; Shinoda, A.; Imoto, T.; Tabushi, I. *J. Org. Chem.* **1982**, *47* (6), 1143–1144.

(67) Harada, A.; Hashidzume, A.; Takashima, Y. In *Supramolecular Polymers Polymeric Betains Oligomers*; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2006; Vol. 201, pp 1–43.

(68) Di Blasio, B.; Pavone, V.; Nastri, F.; Isernia, C.; Saviano, M.; Pedone, C.; Cucinotta, V.; Impellizzeri, G.; Rizzarelli, E.; Vecchio, G. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1992**, *89* (15), 7218–7221.

(69) Harata, K.; Rao, C. T.; Pitha, J. *Carbohydr. Res.* **1993**, *247*, 83–98.

(70) Harata, K.; Rao, C. T.; Pitha, J.; Fukunaga, K.; Uekama, K. *Carbohydr. Res.* **1991**, *222*, 37–45.

(71) Harata, K. *Chem. Rev.* **1998**, *98* (5), 1803–1828.

(72) Ménand, M.; Adam de Beaumais, S.; Chamoreau, L.-M.; Derat, E.; Blanchard, S.; Zhang, Y.; Bouteiller, L.; Sollogoub, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53* (28), 7238–7242.

(73) Tran, D. N.; Colesnic, D.; Adam de Beaumais, S.; Pembouong, G.; Portier, F.; Queijo, Á. A.; Tato, J. V.; Zhang, Y.; Ménand, M.; Bouteiller, L.; Sollogoub, M. *Org. Chem. Front.* **2014**, *1* (6), 703–706.

(74) McAlpine, S. R.; Garcia-Garibay, M. A.; others. *J Am Chem Soc* **1996**, *118* (11), 2750–2751.

(75) Alcalde, M. A.; Gancedo, C.; Jover, A.; Carrazana, J.; Soto, V. H.; Meijide, F.; Tato, J. V. *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110* (27), 13399–13404.

(76) Yamada, T.; Fukuhara, G.; Kaneda, T. *Chem. Lett.* **2003**, *32* (6), 534–535.

(77) Impellizzeri, G.; Pappalardo, G.; D'Alessandro, F.; Rizzarelli, E.; Saviano, M.; Iacovino, R.; Benedetti, E.; Pedone, C. *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, *2000* (6), 1065–1076.

(78) Miyauchi, M.; Kawaguchi, Y.; Harada, A. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2004**, *50* (1–2), 57–62.

(79) Miyauchi, M.; Harada, A. *Chem. Lett.* **2004**, *34* (1), 104–105.

(80) Miyauchi, M.; Takashima, Y.; Yamaguchi, H.; Harada, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127* (9), 2984–2989.

(81) Deng, W.; Yamaguchi, H.; Takashima, Y.; Harada, A. *Chem. – Asian J.* **2008**, *3* (4), 687–695.

(82) Miyauchi, M.; Harada, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126* (37), 11418–11419.

(83) Saviano, M.; Benedetti, E.; di Blasio, B.; Gavuzzo, E.; Fierro, O.; Pedone, C.; Iacovino, R.; Rizzarelli, E.; Vecchio, G. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **2001**, No. 6, 946–952.

(84) Miyawaki, A.; Takashima, Y.; Yamaguchi, H.; Harada, A. *Tetrahedron* **2008**, *64* (36), 8355–8361.

(85) Bai, Y.; Fan, X.; Tian, W.; Liu, T.; Yao, H.; Yang, Z.; Zhang, H.; Zhang, W. *Polym Chem* **2015**, *6* (5), 732–737.

(86) Venema, F.; Nelissen, H. F. M.; Berthault, P.; Birlirakis, N.; Rowan, A. E.; Feiters, M. C.; Nolte, R. J. M. *Chem. – Eur. J.* **1998**, *4* (11), 2237–2250.

(87) Birlirakis, N.; Henry, B.; Berthault, P.; Venema, F.; Nolte, R. J. M. *Tetrahedron* **1998**, *54* (14), 3513–3522.

(88) Bistri, O.; Mazeau, K.; Auzély-Velty, R.; Sollogoub, M. *Chem. - Eur. J.* **2007**, *13* (31), 8847–8857.

(89) Ohga, K.; Takashima, Y.; Takahashi, H.; Kawaguchi, Y.; Yamaguchi, H.; Harada, A. *Macromolecules* **2005**, *38* (14), 5897–5904.

(90) Liu, Y.; Chen, G.-S.; Chen, Y.; Zhang, N.; Chen, J.; Zhao, Y.-L. *Nano Lett.* **2006**, *6* (10), 2196–2200.

(91) Soto Tellini, V. H.; Jover, A.; García, J. C.; Galantini, L.; Meijide, F.; Tato, J. V. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128* (17), 5728–5734.

(92) Yamauchi, K.; Takashima, Y.; Hashidzume, A.; Yamaguchi, H.; Harada, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130* (15), 5024–5025.

(93) Ravoo, B. J.; Darcy, R.; Mazzaglia, A.; Nolan, D.; Gaffney, K. *Chem. Commun.* **2001**, No. 9, 827–828.

Chapitre 2 :

Techniques de caractérisation des polymères supramoléculaires de cyclodextrines

Table des matières

I- Mise en évidence et détermination des paramètres thermodynamiques de l'association CD/invité 63

A- Spectrométrie UV et RMN 63

1- Détermination de la stœchiométrie des complexes CD/invité 63

2- Détermination des paramètres thermodynamiques de la formation des PSM 64

B- Calorimétrie de titrage isotherme (ITC – Isothermal Titration Calorimetry) 67

C- Dichroïsme circulaire 69

1- Principe 69

2- Mise en évidence de complexes CD/invité 70

3- Caractérisation de la structure hélicoïdale des PSM 71

II- Détermination de la masse molaire des PSM 72

A- Viscosimétrie 72

1- Mesure de la viscosité relative 72

2- Détermination de la masse molaire 74

B- Osmométrie à pression de vapeur (VPO – Vapor Pressure Osmometry) 75

C- Diffusion statique de la lumière (SLS) 77

D- Spectrométrie de masse par MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption / Ionisation- Time-Of-Flight) 78

III- Détermination des dimensions des PSM 79

A- La diffusion 80

1- Diffusion translationnelle et coefficient de diffusion translationnelle 80

a- Loi de Stokes-Einstein 80

b- Coefficients de diffusion translationnelle 81

c- Relation entre D_t et masse molaire 82

d- Relation entre D_t et concentration 82

2- Diffusion rotationnelle et coefficient de diffusion rotationnelle 83

B- Spectroscopie RMN DOSY (Diffusion Ordered two-dimensional SpectroscopY) 84

C- Diffusion dynamique de la lumière (DLS – Dynamic Light Scattering) 87

1- Principe et mesure de la diffusion dynamique de la lumière 87

2- Distribution de tailles de particules 89

3- Applications de la DLS à la caractérisation des CDs 90

D- Dispersion de Taylor (TDA – Taylor Dispersion Analysis) 90

1- Phénomènes mis en jeu au cours de l'élution du soluté 91

2- Détermination du coefficient de diffusion 94

a- Equation de Taylor-Aris 94

b- Approche chromatographique de l'équation de Taylor 97

c- Conditions d'application de l'équation Taylor-Aris 98

3- Détermination du rayon hydrodynamique 99

4- Exemples d'applications de la TDA pour la caractérisation des CDs 100

IV- Détermination des dimensions et de la forme des PSM 101

A- Diffusion des neutrons aux petits angles (SANS – Small Angle Neutrons Scattering) 102

B- La microscopie 104

V- Conclusion 106

Bibliographie 108

L'interaction CD/invité, impliquée dans la formation de polymères supramoléculaires (PSM) de CDs en solution, entraine la modification de différentes propriétés physico-chimiques de la molécule invitée et du milieu environnant. En conséquence, diverses méthodes d'analyse permettant la mesure de ces propriétés peuvent être utilisées pour mettre en évidence et caractériser les propriétés des PSM formés et des interactions CD/invité qui les composent. Les informations obtenues par ces méthodes peuvent être complétées par des analyses de microscopie qui permettent, cette fois, une observation directe des structures formées. Cependant, la nature dynamique des PSM de CDs peut rendre difficile le choix d'une méthode d'analyse adaptée et rendre nécessaire l'ajustement des conditions d'analyses. Afin d'éclairer le choix des techniques d'analyses qui ont été utilisées durant ce projet, le principe et les limitations des principales méthodes utilisées pour caractériser les PSM de CDs seront présentées, dans ce chapitre, en fonction du type d'informations qu'elles permettent d'obtenir.

I- Mise en évidence et détermination des paramètres thermodynamiques de l'association CD/invité

A-Spectrométrie UV et RMN

La mise en évidence des complexes CD/invité se fait communément par spectrométrie RMN ^{1}H et ROESY en suivant la variation du déplacement chimique (δ) de protons sensibles à la complexation. Ces analyses permettent également de connaitre la position de l'invité dans la cavité de la CD. Dans le cas où l'un des deux partenaires absorbe en UV, l'interaction hôte/invité peut être mise en évidence par la mesure de son absorbance UV (*A*) si elle est modifiée lors de la formation du complexe.

1- Détermination de la stœchiométrie des complexes CD/invité

La stœchiométrie des complexes CD/invité est généralement déterminée en réalisant un Job plot. Pour cela, des solutions ayant une concentration totale en hôte (H) et invité (G) constante mais des fractions molaires en hôte (X_H) croissantes sont analysées par spectrométrie UV ou RMN. On trace ensuite la variation du paramètre expérimental mesuré (ΔP) lors de la formation du complexe en fonction de X_H. Le maximum de la courbe correspond à la stœchiométrie du complexe (**Figure 1**). Ce paramètre mesuré est la variation d'absorbance

(ΔA_{obs}) dans le cas d'analyses UV ou la variation de déplacement chimique ($\Delta\delta_{obs}$) dans le cas d'analyses RMN. Cette méthode n'est cependant pas valable si l'hôte et/ou l'invité s'agrègent en solution, quand plus d'un complexe est présent[1] ainsi qu'en cas de système anti-coopératif[2].

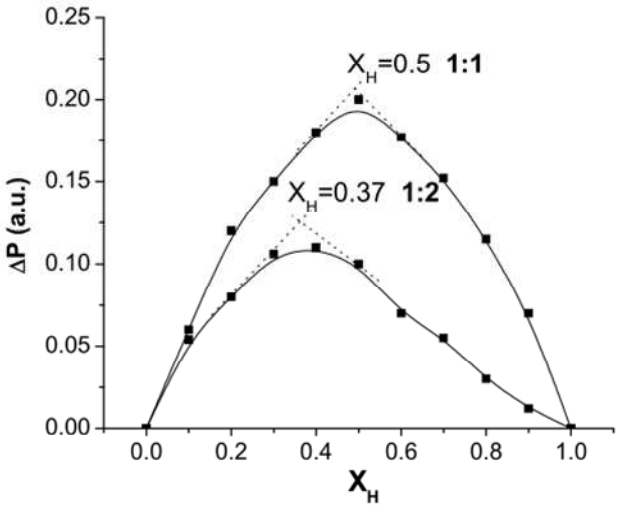


Figure 1 : *Exemples de Job plots réalisés pour deux systèmes hôte (H)/invité (G) permettant la mise en évidence de complexes hôte/invité 1:1 et 1:2 (figure issue de la réf. [3]).*

2- Détermination des paramètres thermodynamiques de la formation des PSM

Ces deux techniques permettent également de déterminer les paramètres thermodynamiques de l'interaction en réalisant une expérience de titrage. Pour cela, dans le cas de l'étude de complexes CD/invité, la concentration de l'une des espèces est maintenue constante pendant que des quantités fixes de l'autre espèce sont ajoutées progressivement. Dans le cas de l'étude de PSM, l'analyse de solutions comportant une concentration croissante en PSM est réalisée. Le suivi de la variation d'absorbance (ΔA_{obs}) ou du déplacement chimique ($\Delta\delta_{obs}$) de protons sensibles à la complexation est ensuite effectué, ce qui permet d'obtenir une courbe, appelée isotherme, représentant ΔP en fonction de la concentration en l'un des partenaires, ou en monomères dans le cas de l'analyse de PSM (**Figure 2**).

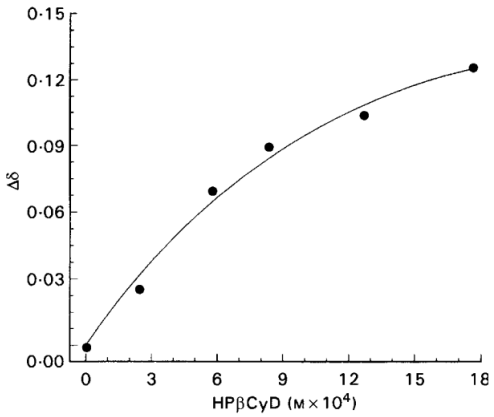


Figure 2 : *Isotherme tracée à partir de mesures de RMN ^{1}H, lors de l'interaction entre l'hydroxypropyl-β-CD (HPβCyD) et de l'halopéridol, modélisée par le modèle hôte/invité 1:1 (figure issue de la réf. [4]).*

Sachant que la concentration en complexes formés est reliée à la variation de déplacement chimique ($\Delta\delta_{obs}$) par l'équation (**1**), dans le cas où l'invité est l'espèce suivie, ou à la variation d'absorbance (ΔA_{obs}) par l'équation (**2**)[1,4] :

Dans le cas de mesures RMN : $$\Delta\delta_{obs} = \Delta\delta_{HG} \cdot \left(\frac{[\mathrm{HG}]}{[\mathrm{G}]_0}\right) \quad (\mathbf{1})$$

Dans le cas de mesures d'absorbance UV : $$\Delta A_{obs} = \Delta\varepsilon_{HG} \cdot l \cdot [\mathrm{HG}] \quad (\mathbf{2})$$

Avec : $$[\mathrm{HG}] = \frac{1}{2} \cdot \left([G]_0 + [H]_0 + \frac{1}{K}\right) - \sqrt{\left([G]_0 + [H]_0 + \frac{1}{K}\right)^2 + 4[G]_0 \cdot [H]_0} \quad (\mathbf{3})$$

pour un modèle d'association hôte/invité 1:1[1]

[HG] concentration en complexe hôte/invité

$[G]_0$ concentration totale en invité

$[H]_0$ concentration totale en hôte

K constante d'association du complexe

$\Delta\delta_{obs}$ variation du déplacement chimique de l'invité observée (δ_{obs} - δ_G) lors de la formation du complexe (ppm)

$\Delta\delta_{HG}$ variation du déplacement chimique de l'invité (δ_{HG} - δ_G) lors de la formation du complexe (ppm). Cette variation est égale à $\Delta\delta_{obs}$ quand la totalité de l'invité est complexée i.e. [HG] = $[G]_0$

ΔA_{obs} variation de l'absorbance de l'invité observée (A_{obs} - A_G) lors de la formation du complexe (L/mol.cm)

$\Delta \varepsilon_{HG}$ variation du coefficient d'absorption molaire de l'invité (ε_{HG} - ε_G) lors de la formation du complexe (L/mol.cm)

l largeur de la cellule (cm)

Il est ensuite possible de déterminer la constante d'association K du couple CD/invité étudié, après avoir modélisé l'isotherme expérimentale par le modèle d'association adapté à l'équilibre étudié. Dans le cas de l'exemple présenté (**Figure 2**), le modèle d'association hôte/invité 1:1 a été utilisé. Il a permis en utilisant l'équation (**3**) de déterminer la constante d'association (K) faisant le mieux correspondre $\Delta\delta_{obs}$ et [HG], i.e. les points expérimentaux et l'isotherme modèle.

Des constantes d'association allant jusqu'à 10^9 M^{-1} et 10^5 M^{-1} peuvent être déterminées respectivement par spectrométrie UV et spectrométrie RMN[1].

Dans le cas où aucun des partenaires du couple CD/invité n'absorbe en UV, il est possible de déterminer la constante d'association en effectuant une expérience de compétition avec une molécule compétitrice invitée comportant un chromophore. D. Landy et al.[5] ont procédé ainsi pour l'étude du complexe adamantanol/β-CD. En effet, cet invité n'absorbe pas en UV et sa faible solubilité ne permet pas non plus son étude par RMN ou ITC. Pour remédier à cela, ils ont donc effectué une expérience de compétition en utilisant du méthyl-orange (MO) comme agent compétiteur. En suivant la perturbation du complexe CD/MO par l'ajout d'adamantanol, ils ont pu déterminer une constante d'association adamantanol/β-CD de 34500 M^{-1} en accord avec les valeurs de constantes d'association entre β-CD et dérivés d'adamantane trouvées dans la littérature [6].

Dans le cas de l'analyse de PSM, les constantes d'association déterminées par RMN ou UV permettent ensuite de déterminer le degré de polymérisation moyen en nombre (DP_n) ou en poids (DP_w) du PSM formé pour un modèle d'association et une concentration initiale en monomères donnés[7]. Par ailleurs, en effectuant des titrages par spectrométrie UV ou RMN à différentes températures, il est également possible de remonter à l'enthalpie et l'entropie de l'équilibre étudié à l'aide de l'équation de van't Hoff (**équation 4**)[8] :

$$\ln K = \frac{-\Delta H}{\Re} \cdot \frac{1}{T} + \frac{\Delta S}{\Re} \qquad \textbf{(4)}$$

ΔH enthalpie (J/mol)

ΔS entropie (J/mol)

T température (K)

$\Re$ constante des gaz parfaits (8.314 J/K.mole)

B- Calorimétrie de titrage isotherme (ITC – Isothermal Titration Calorimetry)

La plupart des interactions supramoléculaires induisent des échanges de chaleur. L'analyse ITC est une technique fréquemment utilisée pour la caractérisation des complexes CD/invité et des PSM de CDs car elle permet, par la mesure des échanges de chaleur ayant lieu lors des interactions CD/invité, de remonter à l'ensemble des paramètres thermodynamiques de l'interaction en une seule mesure. Pour cela, lors de analyse ITC de l'interaction entre une molécule A et une molécule B, une molécule B en solution est injectée progressivement à l'aide d'une seringue automatique dans une cellule de mesure contenant une molécule A en solution dans le même solvant (**Figure 3-a**).

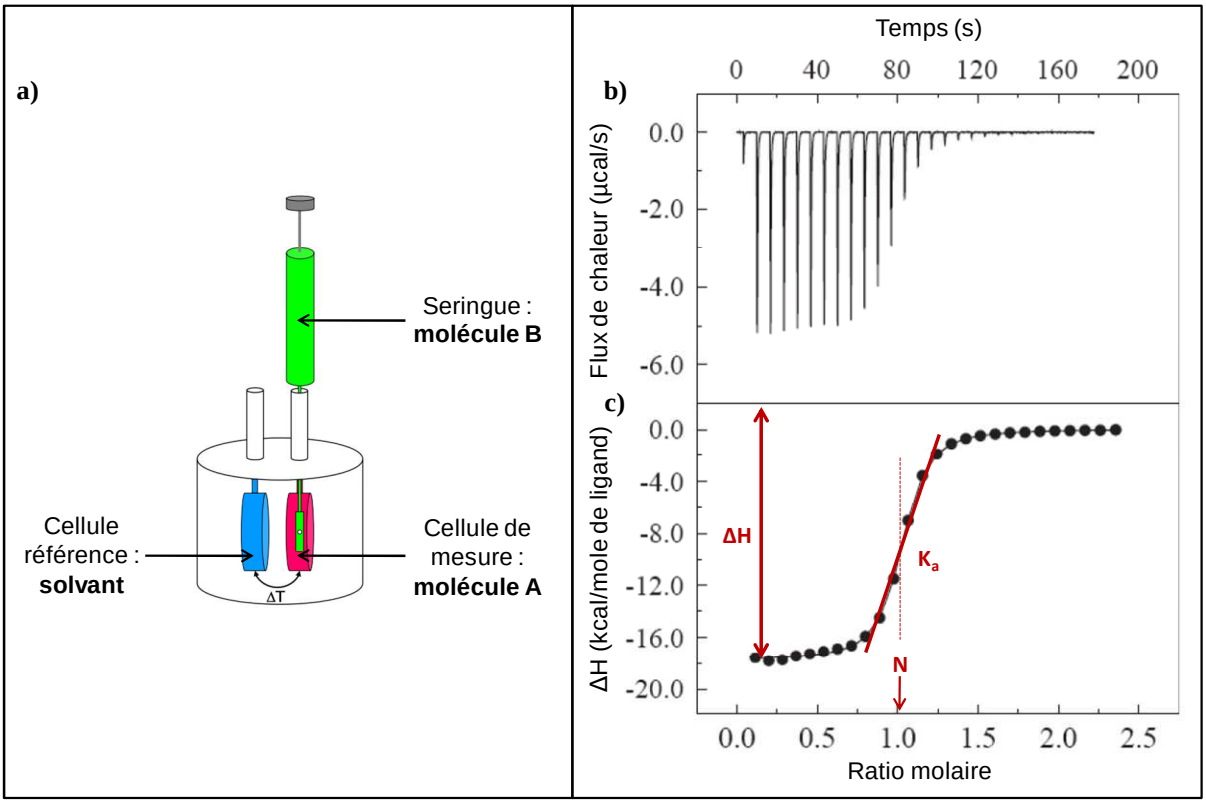


***Figure 3** : **a)** Schéma d'une expérience de titrage par ITC. **b)** Le flux de chaleur en fonction du temps conduit après intégration des pics **c)** à une isotherme de liaison qui permet, après modélisation, d'accéder aux paramètres thermodynamiques de l'association.*

Lors de l'interaction entre les 2 molécules, il y a consommation ou libération de chaleur et cette variation est compensée par le système pour maintenir la température de la cellule de mesure constante et égale à celle de la cellule référence uniquement remplie de solvant. A l'issue de cette mesure, on obtient le flux de chaleur échangé à chaque injection en fonction du temps (**Figure 3-b**). L'intégration de chaque pic d'injection permet de tracer une isotherme (**Figure 3-c**) représentant la variation d'enthalpie en fonction du ratio molaire des molécules en interaction ($n_{titrant}/n_{titré}$). La modélisation de cette isotherme par le modèle d'association approprié permet ensuite d'obtenir les paramètres thermodynamiques de l'interaction étudiée : son enthalpie (ΔH), sa constante de d'association (K), sa stœchiométrie N et d'en déduire son énergie libre (ΔG) ainsi que l'entropie (ΔS) mise en jeu[9]. L'ensemble de ces informations renseigne également sur la force motrice des complexes formés[10].

Afin d'augmenter la précision des mesures, des expériences complémentaires peuvent être réalisées telles que le titrage inverse qui consiste à injecter la solution de A dans celle de B ou l'expérience de dilution lors de laquelle le complexe AB est injecté dans la cellule de mesure contenant le solvant d'analyse[11]. Dans ce dernier cas contrairement aux deux autres, on observe la dissociation du complexe. Ces trois expériences doivent conduire aux mêmes paramètres thermodynamiques et permettent donc de tester la reproductibilité de l'analyse et la robustesse du modèle.

L'analyse ITC permet aussi bien de caractériser des couples CD/invité que des PSM de CDs. Dans le cas de PSM à base de monomères hétéro-ditopiques de CDs, la détermination des paramètres thermodynamiques s'effectue à l'issue d'une expérience de dilution du PSM. La constante d'association déterminée après modélisation par le modèle d'association approprié permet ensuite de remonter au degré de polymérisation moyen en nombre (DP_n) ou en poids (DP_w) du PSM formé à une concentration initiale donnée en monomères[7].

Cette méthode permet de déterminer une gamme de constantes d'association allant de valeurs aussi faibles que 10 M^{-1} [12] à des valeurs supérieures à 10^7 M^{-1} [13]. Elle a pour avantages de s'appliquer à une grande variété de systèmes et de permettre une mesure directe de l'ensemble des paramètres thermodynamiques de l'interaction.

C-Dichroïsme circulaire

Le dichroïsme circulaire est une technique spectroscopique qui renseigne sur la formation de structures chirales. Elle permet également, comme les techniques spectroscopiques précédemment citées, de mettre en évidence une interaction CD/invité et de déterminer les paramètres thermodynamiques qui y sont associés[3]. Cependant, les spectroscopies RMN et UV sont plus couramment utilisées à cet effet.

1- Principe

Cette technique est adaptée à l'étude de complexes d'inclusion entre des invités possédant un chromophore et les CDs constituant un environnement chiral. En effet, quand un chromophore est lié ou placé dans un environnement asymétrique, il produit un signal de dichroïsme circulaire : l'absorbance de la lumière circulairement polarisée à gauche (ε_L) est différente de celle de la lumière circulairement polarisée à droite (ε_R). Cette différence ($\Delta\varepsilon$) entre ε_L et ε_R induit la formation d'une onde elliptique de la lumière dont l'ellipticité (θ) est mesurée, à une température donnée, en fonction de la longueur d'onde (λ). Le spectre de dichroïsme circulaire (cd) ainsi obtenu peut présenter, à la longueur d'onde d'absorption UV du chromophore, un signal cd dans le sens (+) effet Cotton positif ou (-) effet Cotton négatif (**Figure 4**).

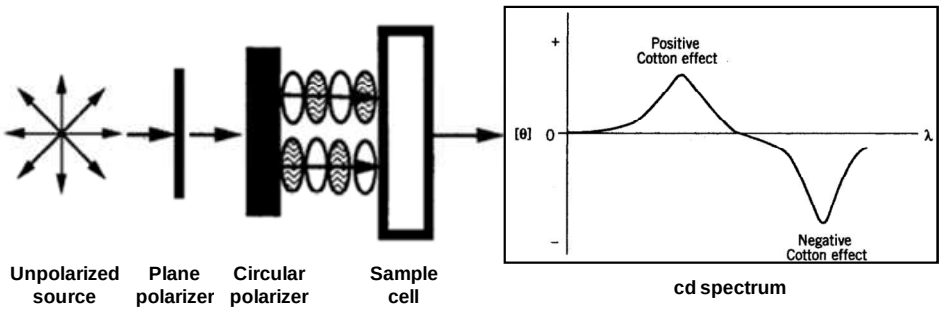


Figure 4 : *Schéma du principe d'une analyse de dichroïsme circulaire*

L'ellipticité (θ) mesurée par l'appareil de dichroïsme circulaire est reliée à l'ellipticité molaire ($\Delta\varepsilon$) par la relation (**5**). Cette équation permet de normaliser θ et de pouvoir ainsi comparer les données obtenues dans différentes conditions :

$$\Delta\varepsilon = \theta/(32980 \times l \times c) \qquad (5)$$

θ ellipticité (mdeg)

l largeur de la cellule (cm)

c concentration (mol/L)

Δε ellipticité molaire (L/mol.cm)

2- Mise en évidence de complexes CD/invité

L'analyse d'un complexe CD/invité par dichroïsme circulaire peut entrainer deux types de modifications du spectre de dichroïsme circulaire en fonction de la nature de l'invité :

- Si l'invité est chiral, l'inclusion entrainera une modification de son propre signal de dichroïsme circulaire
- Si l'invité est achiral, cas le plus communément étudié, l'inclusion entrainera l'apparition d'un signal de dichroïsme circulaire induit (icd) de l'invité.

L'intensité du signal de dichroïsme circulaire renseigne sur la position de l'invité par rapport à la CD. Elle dépend de la distance entre le moment dipolaire du chromophore de l'invité et celui de la CD[14] donc du degré d'inclusion de l'invité dans la cavité de la CD. L'intensité du signal est maximale quand l'invité est situé au centre de la CD et diminue selon la distance dipôle-dipôle à la puissance trois[14].

Le signe du signal de dichroïsme circulaire donne une information sur la conformation du complexe formé. En effet, les lois d'Harata[15] et Kodaka[16] indiquent que le signal est positif si les deux moments dipolaires sont parallèles, i.e. inclusion axiale, et négatif s'ils sont perpendiculaires, i.e. inclusion équatoriale. Ces signes sont inversés lorsque l'invité est placé à l'extérieur de la cavité (au contact de la couronne) (**Figure 5**).

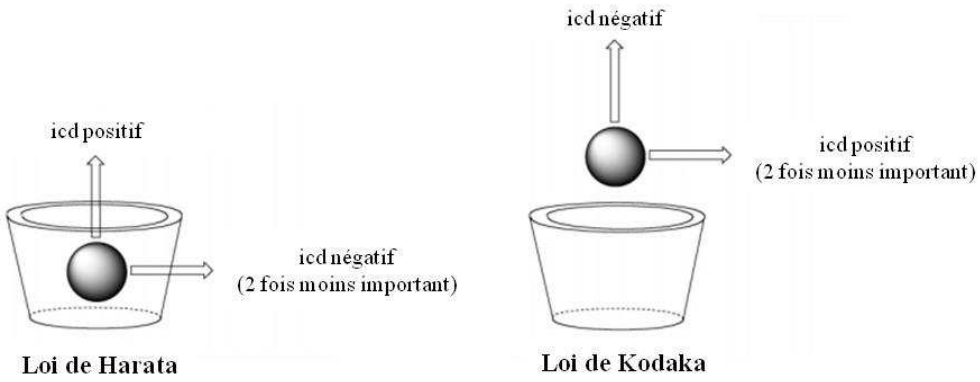


Figure 5 : *Schéma représentant les règles d'Harata et de Kodaka servant à l'interprétation des spectres icd des complexes chromophore/CD (figure adaptée de la réf. [17]).*

3- Caractérisation de la structure hélicoïdale des PSM

Le spectre de dichroïsme circulaire peut présenter un double effet Cotton de signes opposés dû au couplage excitonique induit par la proximité de deux chromophores. Dans le cas de l'étude de système hôte/invité, ce type de signal suggère que la dimérisation d'un invité a lieu ou qu'un complexe de deux invités s'est formé. Dans le cas de l'étude de PSM, qui nous intéresse ici, la présence de ce signal indique la formation d'une structure hélicoïdale et son signe renseigne sur l'hélicité de la structure[18,19]. Le couplage excitonique est positif (**Figure 6-a**) si la configuration relative des dipôles électriques des chromophores forme une hélice droite et négatif si elle forme une hélice gauche (**Figure 6-b**).

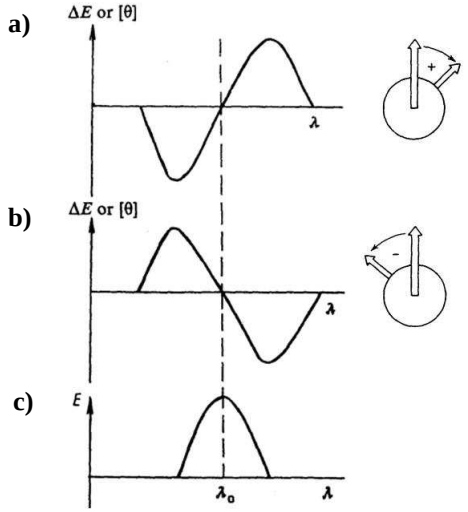


Figure 6 : a) *Couplage excitonique positif,* ***b)*** *négatif et* ***c)*** *spectre d'absorption UV (figure issue de la réf. [18]).*

Le dichroïsme circulaire est donc une technique spectroscopique sensible pour mettre en évidence la formation de complexes hôte/invité. En effet, les changements de spectre causés par l'inclusion d'une molécule invitée sont généralement plus importants en dichroïsme circulaire qu'en spectroscopie UV. Cette technique permet également d'accéder à des informations sur la géométrie des complexes formés entre les CDs et des chromophores invités. Les informations structurales obtenues par dichroïsme circulaire complètent celles obtenues par d'autres méthodes telles que l'analyse par diffraction de rayons X qui est restreinte aux échantillons sous forme solide ou la RMN qui donne également des informations liées à la proximité dans l'espace des espèces étudiées en solution mais pas sur une éventuelle hélicité.

II- Détermination de la masse molaire des PSM

Différentes méthodes de caractérisation permettent de déterminer la masse molaire des polymères. Cependant, les principales techniques, utilisées pour la caractérisation des polymères covalents, présentent des limitations dans le cas de l'analyse des PSM. Le principe et les limitations de certaines de ces méthodes, fréquemment rencontrées dans la littérature sur l'étude des PSM de CDs, sont décrits dans cette partie.

A- Viscosimétrie

La mesure de la viscosité relative (η_{rel}) (**équation 6**) d'une solution de polymères permet de remonter à sa masse molaire.

$$\eta_{rel} = \frac{\eta}{\eta_0} \qquad \textbf{(6)}$$

η viscosité de la solution (Pa.s)

η_0 viscosité du solvant (Pa.s)

1- Mesure de la viscosité relative

Les mesures de viscosité relative s'effectuent dans des enceintes thermostatées et sont communément réalisées à l'aide d'un viscosimètre capillaire (Ostwald ou Ubbelohde). Dans ce cadre, le temps d'écoulement d'un volume donné de liquide dans un capillaire aux dimensions connues, sous l'action d'une différence de pression, est relié à la viscosité de la solution via la loi de Poiseuille (**équation 7**).

$$\eta = \frac{\pi \cdot R^4 \cdot \Delta P}{8 \cdot V \cdot l} \cdot t \qquad \textbf{(7)}$$

Avec : $\Delta P = \rho \cdot g \cdot l$ **(8)**

t temps d'écoulement de la solution dans le capillaire (s)

V volume de solution traversant le capillaire durant le temps d'écoulement (m^3)

ΔP différence de pression entre l'entrée et la sortie du capillaire (Pa)

g constante gravitationnelle (m/s^{-2})

ρ masse volumique du solvant (kg/dm^{-3})

R rayon du capillaire (m)

l longueur du capillaire (m)

Le rapport entre le temps d'écoulement de la solution (t) et celui du solvant (t_0) permet ensuite de remonter à la viscosité relative (η_{rel}) de la solution étudiée (**équation 9**).

$$\eta_{rel} = \frac{t}{t_0} \qquad \textbf{(9)}$$

La viscosité peut également être mesurée avec un viscosimètre à chute de bille. Pour cela, on mesure le temps de chute d'une bille calibrée (rayon et densité connus) dans un tube rempli de la solution, suite à l'inclinaison de ce dernier d'un angle choisi. Quand la bille atteint sa vitesse limite (v_{lim}), l'ensemble des forces qui s'appliquent sur elle s'équilibrent, i.e. son poids (P) (**équation 10**), la poussée d'Archimède (P_a) (**équation 11**) et la force de frottement (F) (**équation 12**).

$$P = V_b \cdot \rho_b \cdot g \qquad \textbf{(10)}$$

$$P_a = V_b \cdot \rho \cdot g \qquad \textbf{(11)}$$

$$F = 6\pi\eta R_b v_{\lim} \qquad \textbf{(12)}$$

V_b volume de la bille (m^3)

ρ_b masse volumique de la bille (kg/dm^{-3})

R_b rayon de la bille (m)

v_{lim} vitesse limite de la bille (m/s)

On obtient alors une relation de proportionnalité entre la viscosité dynamique de l'échantillon et le temps de chute de la bille (**équation 13**).

$$\eta = \frac{2}{9}\frac{R_b^2 \cdot g \cdot (\rho_b - \rho)}{l} \cdot t \qquad \textbf{(13)}$$

En faisant le rapport entre le temps de chute de la bille dans la solution et celui dans le solvant d'analyse, on obtient la viscosité relative (η_{rel}) de la solution étudiée (**équation 9**).

2- Détermination de la masse molaire

Dans le cas des polymères covalents, la relation de Mark-Houwink-Sakurada (**équation 14**) est utilisée pour relier la viscosité intrinsèque d'un polymère à sa masse molaire :

$$[\eta] = K \cdot (M_n)^a \qquad \textbf{(14)}$$

[η] viscosité intrinsèque (L/g ou dL/g)

K et *a* coefficients de Mark-Houwink

La viscosité intrinsèque se détermine à partir de la viscosité relative en réalisant une extrapolation à concentration nulle des relations de Huggins (**équation 15**) ou Kraemer (**équation 16**) :

$$\frac{\eta_{rel} - 1}{c} = [\eta] + k_1 \cdot [\eta]^2 \cdot c \qquad \textbf{(15)}$$

$$\frac{\ln \eta_{rel}}{c} = [\eta] + k_1^{'} \cdot [\eta]^2 \cdot c \qquad \textbf{(16)}$$

Cependant, une extrapolation à concentration nulle n'est pas possible dans le cas des PSM où la variation de la concentration entraine une variation de la masse molaire. De plus, la détermination des coefficients de Mark-Houwink nécessite de mesurer la viscosité intrinsèque de polymères isomoléculaires de masses molaires connues. Par exemple, S. Abed et al.[20] ont utilisé un polymère covalent modèle de leur PSM afin de déterminer la viscosité intrinsèque pour différentes masses molaires et remonter aux coefficients *K* et *a* de Mark-Houwink de leur PSM. Néanmoins cette stratégie n'est pas généralement applicable car il est souvent impossible de trouver un modèle adéquat.

Ainsi, en général les analyses viscosimétriques sont plutôt utilisées pour une caractérisation qualitative des PSM. En effet, la croissance non linéaire de la viscosité relative d'une solution de PSM avec sa concentration traduit la formation de longs PSM[21]. La comparaison de la courbe de viscosité relative du composé pouvant s'auto-associer en fonction de sa concentration à celle d'un composé monomère témoin ne pouvant pas s'auto-associer permet ainsi de déterminer s'il y a formation de PSM dans la solution d'intérêt[22] (**Figure 7-b**).

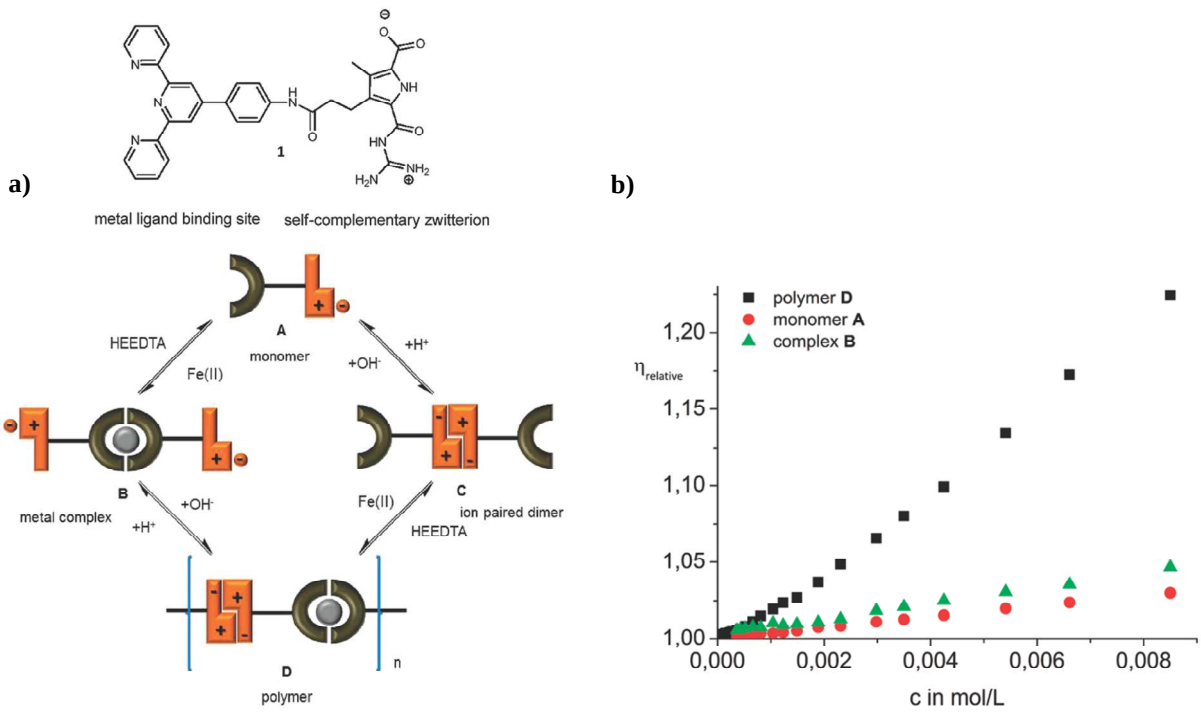


Figure 7 : a) *Schéma d'un monomère hétéro-ditopique pouvant s'assembler dans de DMSO sous forme de dimère ou de polymère en fonction des conditions expérimentales.* ***b)*** *Courbes de viscosité relative des différentes espèces. L'augmentation importante de la viscosité relative en fonction de la concentration permet de mettre en évidence la formation du PSM (figures issues de la réf. [22]).*

B- Osmométrie à pression de vapeur (VPO – Vapor Pressure Osmometry)

La VPO est une méthode, dépendant des propriétés colligatives des solutions, qui permet de déterminer la masse molaire moyenne en nombre (M_n) des polymères.

L'analyse VPO s'effectue dans une enceinte maintenue à température constante. Un récipient rempli de solvant est placé dans l'enceinte afin d'assurer une pression de vapeur saturante en solvant. Au centre de cette enceinte, sont disposés deux capteurs thermiques ayant chacun à leur extrémité une goutte de solvant. Le remplacement d'une des gouttes de solvant par une goutte de solution diluée d'un soluté induit une diminution de la pression de vapeur du solvant proportionnelle à la fraction molaire totale en soluté d'après la loi de Raoult (**équation 17**) :

$$\Delta P = P_1^0 \cdot X_2 \qquad \textbf{(17)}$$

P_1^0 pression de vapeur saturante du solvant

X_2 fraction molaire en soluté

Afin de revenir à l'équilibre, i.e. à une pression égale à la pression de vapeur saturante du solvant, il y a alors condensation de molécules de solvant sur la goutte de solution ce qui entraine une augmentation ΔT de la température de la goutte. L'appareil mesure alors une variation de résistance ΔR proportionnelle à ΔT. La mesure de ΔR permet ainsi de remonter à la fraction molaire en soluté, i.e. au nombre de (macro)molécules présentes dans la solution. Connaissant la concentration massique de la solution de départ, on peut relier ΔT à la masse molaire moyenne en nombre (M_n) du polymère en solution , dans le cas de faibles variations de température et de solutions idéales de polymères, par la relation (**18**)[23] :

$$\Delta T = \frac{\Re T^2}{\Delta H} \cdot X_2 \qquad (\mathbf{18})$$

Si $n_2 << n_1$, on a : $$X_2 = \frac{n_2}{n_1} = \frac{c}{M_n} \cdot \frac{M_1}{1000\rho} \qquad (\mathbf{19})$$

$\Re$ constante des gaz parfaits (8.314 J/K.mole)

ΔH enthalpie molaire de vaporisation du solvant (cal/mol)

n_1 nombre de moles de solvant

n_2 nombre de moles de soluté

c concentration massique en soluté (g/L)

M_1 masse molaire du solvant

M_n masse molaire moyenne en nombre du soluté

ρ masse volumique du solvant (kg/dm^{-3})

Ce qui conduit à l'expression (**20**) :

$$\frac{\Delta T}{c} = k_1 \cdot \frac{1}{M_n} \qquad (\mathbf{20})$$

k_1 étant une constante d'appareillage.

Dans le cas de solutions non idéales, la relation (**20**) devient l'équation (**21**)[24] :

$$\frac{\Delta T}{c} = k_1 \cdot \frac{1}{M_{n,app}} = k_1 \cdot \left(\frac{1}{M_n} + B \cdot c \right) \qquad (21) \qquad (\mathbf{21})$$

$M_{n,app}$ masse molaire moyenne en nombre apparente du soluté

B coefficient

L'extrapolation à concentration nulle de cette relation permet d'obtenir M_n après avoir préalablement déterminé k_1 via une calibration avec un composé de masse molaire connue. Cette technique permet de relier ΔT à des M_n allant jusqu'à 10000 g/mol. Au-delà de cette valeur, la précision diminue car l'effet du soluté sur ΔT est moindre.

Cependant, dans le cas des PSM, M_n dépend de c et ne peut donc pas être déterminée par extrapolation à concentration nulle[24]. W. Knoben et al.[25] ont, dans le cas de leur PSM, surmonté cette limitation par l'ajout d'une fraction molaire constante de stoppeur qui leur a permis de rendre la M_n de leur PSM indépendante de la concentration en monomères. Ils ont ainsi pu effectuer l'extrapolation à concentration nulle nécessaire pour déterminer M_n. Cependant, la mise en place d'un tel procédé ne s'adapte pas facilement à tous les systèmes supramoléculaires. Ainsi, en absence de stoppeur, la masse moyenne en nombre déterminée est uniquement apparente ($M_{n,app}$) pour une concentration donnée. La VPO n'est donc pas la méthode de caractérisation la plus adaptée pour l'analyse des PSM[24]. Cette technique a néanmoins été couramment utilisée par le groupe d'Harada pour caractériser des PSM de CDs d'environ 15000 g/mol[26,27]. Pour cela, ils ont fait l'approximation que leurs concentrations d'analyse étaient suffisamment faibles pour pouvoir s'affranchir d'une extrapolation à concentration nulle.

C-Diffusion statique de la lumière (SLS)

La diffusion élastique ou statique de la lumière (SLS) est une méthode qui permet, en mesurant l'intensité totale diffusée (I_d) par une solution de polymères, sur lequel un faisceau de lumière incidente est envoyé, d'obtenir des informations sur la masse molaire moyenne en poids (M_w), le rayon de giration (R_g) et le second coefficient du viriel (A_2) des polymères en solution.

La détermination de ces paramètres s'effectue par le tracé d'un diagramme de Zimm (**Figure 8**) qui représente l'intensité totale diffusée (I_d) par la solution en fonction de sa concentration (c) et de l'angle de détection (θ).

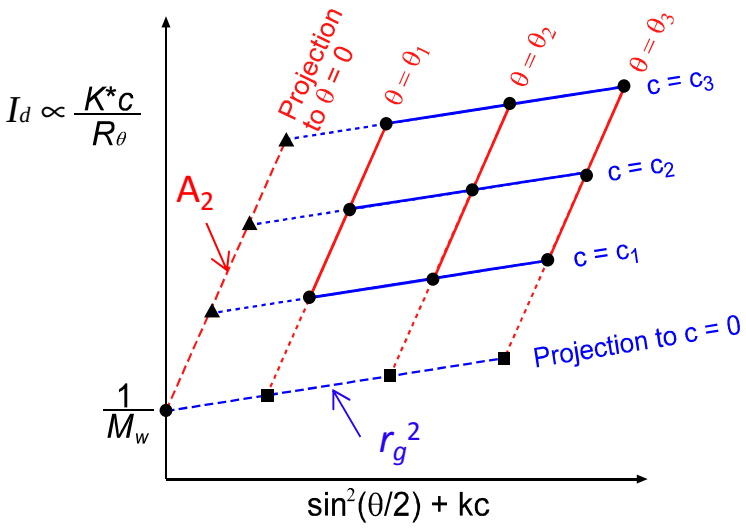


Figure 8 : *Exemple de diagramme de Zimm.*

La double extrapolation à angle de détection et concentration nuls permet d'obtenir la masse moyenne en poids (M_w) des polymères étudiés. Les pentes des droites de l'intensité diffusée en fonction de la concentration et de l'angle de détection (θ) permettent respectivement de déterminer A_2 et R_g^2.

Cependant, dans le cas des PSM, la masse molaire dépend de la concentration, ce qui rend difficile l'extrapolation à concentration nulle permettant la détermination de M_w. F. Lortie et al.[28] ont, néanmoins, réussi à contourner cette limitation en déterminant la concentration de stoppeur de chaines à utiliser dans leur solution de PSM afin de maintenir la taille de leurs PSM constante sur la gamme de concentrations nécessaire à l'analyse SLS. Cependant, comme dit précédemment, l'utilisation de stoppeurs de chaines n'est pas un procédé qui s'adapte facilement à l'ensemble des systèmes supramoléculaires. En conséquent, la SLS n'est pas une technique idéale pour l'étude de structures dynamiques telles que les PSM.

D-Spectrométrie de masse par MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption / Ionisation- Time-Of-Flight)

La spectrométrie de masse par MALDI-TOF est une technique qui permet de déterminer la distribution des masses molaires d'échantillons de PSM. Pour cela, l'échantillon est co-cristallisé dans une matrice ionisante adaptée qui permet son ionisation et sa désorption sous l'action d'un faisceau laser. Les macromolécules ainsi ionisées sont accélérées dans un champ électrique puis séparées selon leur rapport masse sur charge (m/z) dans le tube de vol. Les

ions formés sont ensuite détectés à l'aide d'un détecteur qui mesure le temps écoulé entre l'impulsion laser et l'impact sur le détecteur. Ce temps de vol augmente avec leur rapport m/z. A l'issue d'une analyse, on obtient un spectre composé de pics représentant l'intensité relative du signal en fonction du ratio m/z des macromolécules constituant l'échantillon. Dans le domaine de la caractérisation des PSM de CDs, la spectrométrie de masse par MALDI-TOF a été utilisée par A. Harada et al[19] pour mettre en évidence la formation de PSM constitués de 14 unités d'α-CDs fonctionnalisées par un groupement invité. Cependant, cette technique reste peu utilisée pour caractériser les PSM qui du fait de leur nature supramoléculaire sont sensibles aux conditions expérimentales.

Bien qu'elles soient usuellement utilisées pour la caractérisation des polymères covalents, les différentes méthodes décrites dans cette partie présentent des limitations dans le cas des PSM. En conséquence, leur utilisation pour la caractérisation des PSM nécessite d'adapter les conditions d'analyses quand cela est possible[20,25,28] et conduit généralement à un résultat qualitatif où à la détermination d'une masse molaire apparente. Les résultats obtenus via ces techniques nécessitent donc d'être complétés par d'autres types d'analyses telles que les analyses ITC ou RMN qui permettent via la détermination de K, de remonter indirectement à la masse molaire par le calcul du degré de polymérisation pour une concentration en monomères donnée.

III- Détermination des dimensions des PSM

La formation d'un complexe CD/invité modifie la diffusion des espèces en solution car la masse molaire du complexe formé ou du PSM est différente de celle des partenaires isolés. Le coefficient de diffusion est le paramètre qui permet de traduire cette modification. Or, ce paramètre est relié au rayon hydrodynamique dont la mesure permet de remonter à la taille des PSM étudiés. Différentes techniques permettent d'accéder à ce paramètre, cependant, en fonction de la nature du mouvement étudié et des conditions d'analyses appliquées, différents types de coefficients de diffusion peuvent être extraits. Avant de décrire les principales méthodes utilisées pour mesurer un coefficient de diffusion, un rappel du principe de la diffusion et des différents types de coefficients de diffusion pouvant être mesurés sera effectué.

A- La diffusion

La diffusion est un mécanisme de transport passif engendré par la variation d'une grandeur physique (concentration, température, orientation du moment dipolaire etc.) dans un système hors équilibre et tend à faire disparaitre cette variation afin que le système retourne à un état d'équilibre. Ce phénomène a lieu sous l'effet de l'agitation thermique et durant ce processus, les particules en solution sont animées d'un mouvement de diffusion aléatoire appelé mouvement brownien. Ce mouvement est dû aux collisions qui ont lieu entre les molécules de solvant et les particules de soluté ayant une taille très grande devant celle des molécules de solvant. Indépendamment des collisions avec les molécules de solvant, une particule de forme et de structure arbitraires peut être animée de différents types de mouvements. Parmi ceux-ci, on trouve des mouvements translationnel, rotationnel, de flexion, d'étirement, de contraction ou de vibration. Dans le cas des particules solides, les mouvements d'intérêt sont uniquement translationnel et rotationnel. En fonction de la nature du mouvement de diffusion considéré, on distingue ainsi les coefficients de diffusion translationnelle et rotationnelle[29].

1- Diffusion translationnelle et coefficient de diffusion translationnelle

a- Loi de Stokes-Einstein

A. Einstein en 1905[30], M. Smoluchowski en 1906[31] puis P. Langevin[32], en 1908, ont successivement montré que le déplacement quadratique moyen $\langle R^2 \rangle$ d'une particule, qui diffuse pendant un temps *t*, dans une direction donnée en suivant un mouvement brownien, est relié à son coefficient de diffusion translationnelle D_t par la relation d'Einstein ou relation d'Einstein-Smoluchowski (**équation 22**) :

$$D_t = \frac{\langle R^2 \rangle}{2t} \qquad \textbf{(22)}$$

avec : $D_t = \dfrac{K_b T}{f}$ **(23)**

D_t coefficient de diffusion translationnelle (m²/s)

$\langle R^2 \rangle$ déplacement quadratique moyen (m²)

K_b constante de Boltzman ($1.3806.10^{-23}$ J/K)

T température (K)

f coefficient de friction

Par la suite, Stokes a montré que, pour des particules sphériques en concentration diluée et en mouvement dans un liquide newtonien de viscosité η, il existe une relation entre le coefficient de friction et le rayon hydrodynamique des particules, appelée loi de Stokes (**équation 24**) :

$$f \propto A\pi\eta R_h \qquad \textbf{(24)}$$

A constante dépendant du type de mouvement de la particule dans le liquide

η viscosité du milieu (Pa.s)

R_h rayon hydrodynamique ou rayon de Stokes de la sphère dure équivalente ayant un coefficient de diffusion D (m)

En reliant la relation d'Einstein et la loi de Stokes dans le cas de particules sphériques en mouvement translationnel (**équation 25**),

$$f_t = 6\pi\eta R_h \qquad \textbf{(25)}$$

on obtient la relation de Stokes-Einstein (**équation 26**) qui permet de relier le coefficient de diffusion translationnelle au rayon hydrodynamique de la particule :

$$D_t = \frac{K_b T}{6\pi\eta R_h} \qquad \textbf{(26)}$$

L'expression du coefficient de diffusion montre que la diffusion d'un soluté dépend de la température du système, de la viscosité du milieu où elle se produit et de la taille des particules impliquées. Le coefficient de diffusion est donc une donnée importante car il permet en suivant le processus de diffusion d'un échantillon, dans un milieu et à une température donnée, de remonter aux propriétés des particules qui le composent.

b- Coefficients de diffusion translationnelle

La diffusion translationnelle est caractérisée par un coefficient de diffusion translationnelle. Il est déterminé en suivant la diffusion engendrée par un gradient de concentration ou en mesurant la diffusion d'une espèce marquée à travers une solution uniforme de molécules non marquées. En pratique, on identifie deux types de coefficients de diffusion translationnelle différents : le coefficient de diffusion mutuelle ou d'inter-diffusion D_m et le coefficient d'autodiffusion D_s.

La diffusion mutuelle a lieu dans les systèmes soumis à un gradient de concentration. Le coefficient de diffusion mutuelle D_m associé à ce phénomène est décrit par la loi de Fick, il est relié au mouvement collectif des particules.

En absence de gradient de concentration, il y a toujours une diffusion moléculaire sous l'effet à la température. Dans ce cas, on parle alors d'autodiffusion. Il s'agit d'un phénomène aléatoire car il décrit les mouvements aléatoires des particules dus à l'agitation thermique. Le coefficient d'autodiffusion D_s associé à ce phénomène décrit le mouvement d'une particule dans une solution composée de particules de même nature. L'autodiffusion est observée dans trois cas[33] :

- La diffusion d'une molécule individuelle dans une solution contenant d'autres molécules de la même espèce. Elle est caractérisée par un coefficient d'autodiffusion D_s
- La diffusion d'un radio-isotope d'une molécule individuelle du soluté étudié dans une solution contenant d'autres molécules de la même espèce. Elle est caractérisée par un coefficient d'autodiffusion $D_{traceur}$. Le radio-isotope est chimiquement identique au soluté, sa diffusion sera donc équivalente à l'autodiffusion du soluté D_s.
- La diffusion d'une espèce marquée et chimiquement différente du soluté. Dans ce cas, cette espèce doit être présente en très faible quantité. Sa diffusion est caractérisée par un coefficient d'autodiffusion D_{sonde}.

c- Relation entre D_t et masse molaire

Dans le cas de particules sphériques, en combinant la loi de Stokes-Einstein (**équation 26**) et l'expression du rayon hydrodynamique en fonction de la masse molaire, on obtient la relation (**27**) entre le coefficient de diffusion translationnelle et la masse molaire :

$$D_t = \frac{K_b T}{6\pi\eta} \cdot \left(\frac{3M\bar{v}}{4\pi N_a} \right)^{-1/3} \qquad (27)$$

qui montre que : $D_t \propto M^{-1/3}$

M masse molaire de la particule (g/mol)

$\bar{v}$ volume partiel spécifique de la particule, i.e. inverse de sa densité

N_a nombre d'Avogadro

d- Relation entre D_t et concentration

D_m et D_s dépendent de la concentration. En bon solvant, quand la concentration augmente D_s tend à diminuer[34] et D_m tend à augmenter selon la relation (**28**)[35] :

$$D_m = D_0 \cdot (1 + k_D c + ...) \quad \textbf{(28)}$$

D_0 coefficient de diffusion translationnelle à dilution infinie

c concentration (mol/L)

k_D coefficient de concentration

Aux faibles concentrations, D_s et D_m deviennent constants et égaux à D_0, le coefficient de diffusion d'un soluté isolé. Pour s'affranchir de cet effet de la concentration, il faut donc extrapoler la valeur du coefficient à concentration nulle afin d'obtenir D_0.

2- Diffusion rotationnelle et coefficient de diffusion rotationnelle

De la même façon que dans le cas du mouvement translationnel, on peut également décrire le mouvement brownien rotationnel d'une particule sphérique[36]. Dans ce cas, le déplacement x est remplacé par l'angle de rotation θ, la vitesse v par la vitesse de rotation angulaire Ω et la masse m par le moment d'inertie I.

Avec : $\Omega = \dfrac{d\theta}{dt}$ **(29)**

Le mouvement brownien rotationnel est relié à la façon dont s'orientent les dipôles en présence d'un champ électrique i.e. susceptibilité électrique. En effet, quand une particule est soumise à un champ, elle tend à s'orienter en suivant ce champ. Elle va donc réorienter son axe de rotation d'un angle θ en un temps t. La vitesse à laquelle la particule va répondre au champ dépend de sa vitesse de rotation angulaire Ω.

On peut ainsi en mesurant la relaxation d'un moment dipolaire déterminer le coefficient de diffusion rotationnelle D_r de la sphère équivalente soumise à cette diffusion rotationnelle. Le coefficient de diffusion rotationnelle traduit la diffusion rotationnelle le long d'un axe donné. L'expression de la loi de Stokes-Einstein dans le cas de mouvements rotationnels est donnée par l'équation (**30**) :

$$D_r = \frac{K_b T}{8\pi\eta R_h^3} \quad \textbf{(30)}$$

D_r coefficient de diffusion rotationnelle (s^{-1})

Avec : $f_r = 8\pi\eta R_h^3$ **(31)**

f_r coefficient de friction dans le cas de mouvements rotationnels

D_r dépend donc de la taille de la particule étudiée. La rotation s'exprime en général en termes de temps de corrélation τ plutôt qu'en coefficient de diffusion rotationnelle. Le temps de corrélation rotationnel s'exprime selon l'équation (**32**) :

$$\tau = \frac{1}{2D_r} \qquad \textbf{(32)}$$

Donc : $$\tau = \frac{4\pi R_h^3 \eta}{K_b T} \qquad \textbf{(33)}$$

Le coefficient de diffusion rotationnelle peut être déterminé par différentes techniques telles que la diffusion de la lumière dépolarisée (DDL)[37] ou la spectroscopie de corrélation de fluorescence (FCS)[38]. La diffusion rotationnelle joue également un rôle dans la relaxation de dipôles observée par RMN. La mesure du temps de relaxation longitudinal T1, lors de l'étude de la complexation entre la β-CD et des nitramines, a permis de déterminer la constante de dissociation des complexes étudiés[39]. Cette mesure peut donc constituer une alternative aux analyses de RMN ^{1}H, dans le cas de complexes induisant de faibles déplacements chimiques.

Au cours de ce projet, le coefficient de diffusion translationnelle a été principalement étudié dans le but de déterminer la taille des PSM formés. La suite de cette partie est donc axée sur les principales techniques de caractérisation permettant sa détermination.

B- Spectroscopie RMN DOSY (Diffusion Ordered two-dimensional SpectroscopY)

La RMN DOSY est une technique qui permet de déterminer le rayon hydrodynamique des particules en solution via la mesure de leur coefficient d'autodiffusion D_s. Elle est utilisée pour mettre en évidence la formation d'un complexe CD/invité en comparant le coefficient de diffusion de l'invité libre à celui du complexe[40]. Elle permet également de mettre en évidence la formation d'un PSM en suivant l'évolution de D_s avec la concentration totale en monomères.

Lors d'une analyse DOSY, une série d'expériences 1D PGSE (pulsed gradient spin echo) est appliquée à l'échantillon (**Figure 9**). Au cours d'une séquence, l'aimantation des spins orientée selon l'axe z est, tout d'abord, basculée dans le plan x-o-y à l'aide d'une impulsion d'excitation 90°. Ensuite l'application d'un gradient de champ pulsé (PFG) orienté selon l'axe z, pendant une durée δ, introduit un déphasage de l'aimantation globale des spins le long de

l'axe z. Au temps τ, une impulsion 180° de refocalisation renverse l'aimantation, puis, un second PFG, identique au premier inverse les phases de l'aimantation des spins avant l'enregistrement du signal au temps 2*τ*. Cette séquence est répétée plusieurs fois en utilisant des gradients de champ pulsé de puissances croissantes.

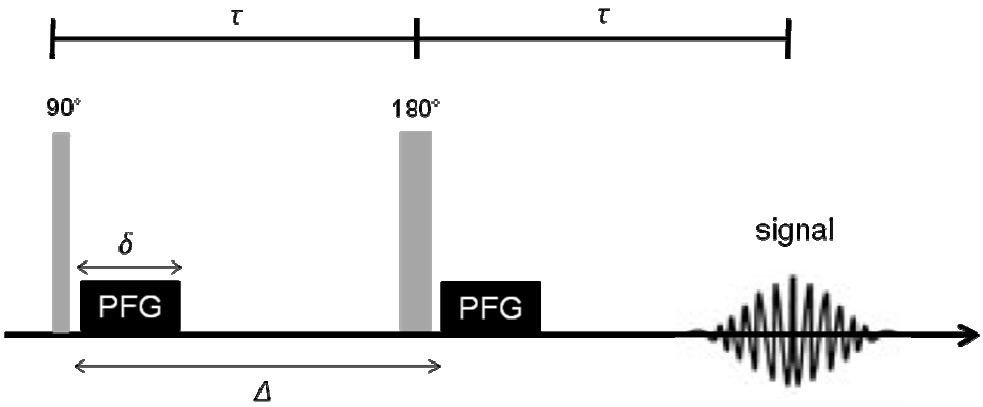


Figure 9 : *Séquence PGSE (pulsed gradient spin echo)*[41]

Si les spins sont stationnaires durant la période Δ qui sépare les deux PFG, alors le déphasage et le phasage de l'aimantation des spins se compensent et l'intensité du signal mesuré S_0 est maximale (**Figure 10-a**). Par contre, si les molécules en solution diffusent, la position des spins le long de l'axe du PFG change au cours de l'intervalle Δ, entraînant ainsi un décalage des phases de l'aimantation des spins. Ce décalage de phase conduit à une diminution de l'intensité du signal mesuré S (**Figure 10-b**).

Dans le cas d'une diffusion isotrope en solution, l'atténuation de l'intensité du signal est une fonction exponentielle du coefficient de diffusion des particules en solution (**équation 34**) :

$$I_{grad} = I_0 \cdot \exp(-b \cdot D_s) \qquad \textbf{(34)}$$

Avec : $$b = \gamma^2 g^2 \delta^2 \cdot \left(\Delta - \frac{\delta}{3}\right) - R \qquad \textbf{(35)}$$

I_{grad} intensité du signal après application de la séquence PFG

I_0 intensité initiale du signal

γ rapport gyromagnétique (rad/T.s)

g force du PFG (T/m)

δ durée de l'impulsion du PFG (s)

Δ délai de diffusion (s)

D_s coefficient d'autodiffusion (m²/s)

R constante permettant de prendre en compte la relaxation

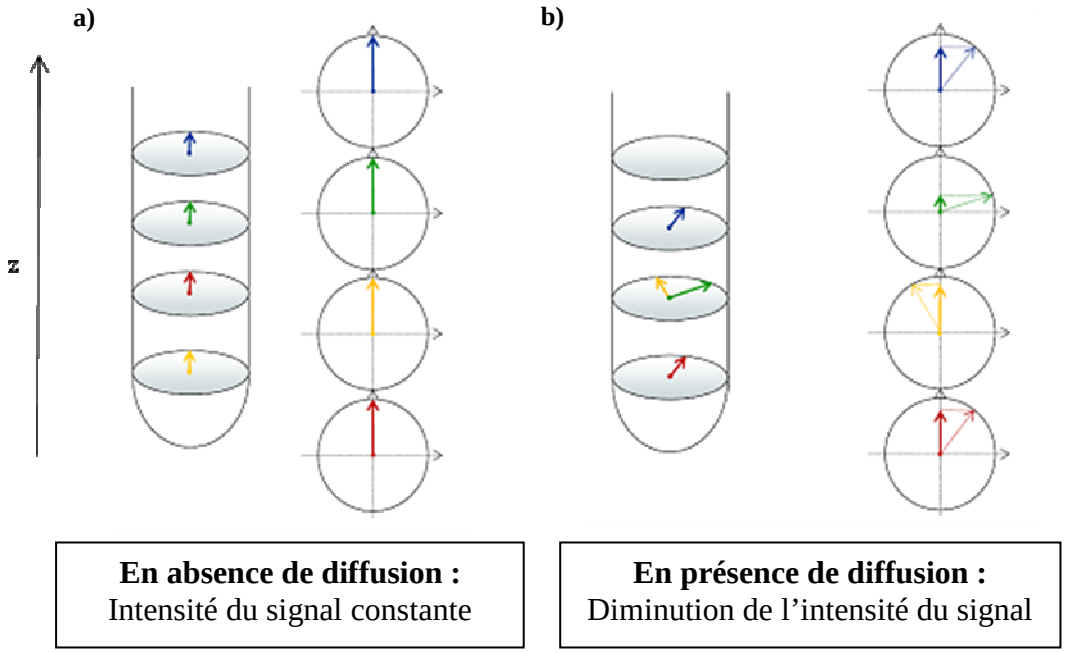


Figure 10 : *Evolution de l'intensité du signal en* ***a)*** *absence et* ***b)*** *en présence de diffusion des particules en solution (figure issue d'un support de formation de la société Bruker).*

Ainsi, en traçant $\ln(I_{grad}/I_0) = -b \cdot D_s$, on obtient une droite dont la pente permet d'accéder au coefficient d'autodiffusion. La représentation la plus courante des spectres DOSY se fait sous la forme d'une carte 2D décrivant le coefficient de diffusion en fonction des déplacements chimiques. La RMN DOSY permet de mesurer des coefficients de diffusion inférieurs à 10^{-17} m²/s si les conditions d'analyse sont favorables[42].

La mesure du coefficient de diffusion par RMN DOSY permet ensuite de remonter au rayon hydrodynamique de la sphère équivalente à l'aide de la relation de Stokes-Einstein (**équation 26**). Cette technique permet ainsi de mettre en évidence la formation de complexes CD/invité et de remonter à la taille des PSM formés.

Dans le cas d'échantillons polydisperses, la RMN DOSY conduit à un coefficient de diffusion moyen en poids (**équation 36**)[43] :

$$D_w = \frac{\sum_i M_i N_i D_i}{\sum_i M_i N_i} \qquad \textbf{(36)}$$

Avec M_i, N_i et D_i, respectivement la masse molaire, le nombre de moles et le coefficient de diffusion de la i^{ème} population de particules du mélange polydisperse.

C-Diffusion dynamique de la lumière (DLS – Dynamic Light Scattering)

La diffusion Quasi-élastique ou dynamique de la lumière (QELS ou DLS) est une technique qui permet de déterminer le rayon hydrodynamique des particules en solution via la mesure de leur coefficient de diffusion translationnelle.

1- Principe et mesure de la diffusion dynamique de la lumière

Lors d'une mesure par DLS, un faisceau incident de lumière monochromatique est envoyé sur l'échantillon contenant les particules en solution. La lumière diffusée par l'échantillon est ensuite recueillie par un détecteur placé à un certain angle par rapport au faisceau incident. Le nombre de photons reçus par unité de temps (kcoups/s) par le détecteur est équivalent à l'intensité diffusée par l'échantillon. Du fait du mouvement brownien des particules, l'intensité diffusée en fonction du temps par l'échantillon varie. Ces variations sont proportionnelles à la vitesse de déplacement des particules et fluctuent autour de la valeur de l'intensité moyenne diffusée sur le temps total *t'* ($<I_{t'}>$) (**Figure 11-a**). Dans le cas de la DLS, l'échelle de temps de la mesure est très courte, comparée à la SLS, ce qui permet de mesurer ces fluctuations rapides (nanosecondes) de l'intensité diffusée.

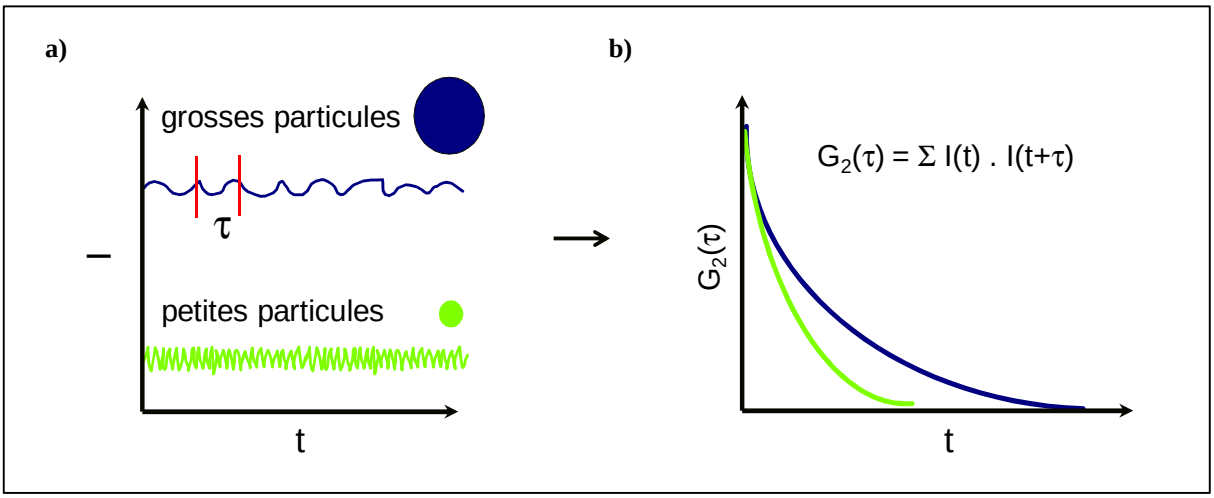


Figure 11 : a) *Variations de l'intensité diffusée en fonction du temps.* ***b)*** *Fonction d'autocorrélation de l'intensité diffusée (figure issue d'un support de formation de la société Malvern Instruments).*

A partir de ces variations, le système de détection va construire une fonction d'autocorrélation de l'intensité diffusée $G_2(\tau)$ (**équation 37 ; Figure 11-b**) où τ est l'intervalle de temps entre deux points durant lequel la corrélation est effectuée :

$$G_2(\tau) = \langle I(t) \cdot I(t+\tau) \rangle = \lim_{t' \to \infty} \frac{1}{t'} \int_0^{t'} I(t) \cdot I(t+\tau) \cdot dt \qquad \textbf{(37)}$$

La fonction d'autocorrélation de l'intensité diffusée diminue de façon exponentielle dans le temps. Les petites molécules en solution se déplacent plus rapidement que les grosses, elles induisent donc une décorrélation (variation de l'intensité par rapport à l'intensité initiale) à des temps de corrélation (t_c) plus court contrairement aux particules de grande taille qui décorrèlent sur des temps plus long (**Figure 11-b**). La fonction d'autocorrélation est donc liée au coefficient de diffusion translationelle des particules en solution.

Plusieurs algorithmes permettent, à partir des corrélogrammes obtenus, de remonter à D_t puis au rayon hydrodynamique des particules via la relation de Stokes-Einstein (**équation 26**) (cf. Annexe 1). L'analyse DLS permet ainsi de remonter à des tailles de particules allant de 2 nm à quelques micromètres.

Dans le cas de particules non sphériques, la DLS donne le rayon de la sphère dure ayant le même coefficient de diffusion translationnelle que la particule analysée.

Si l'échantillon analysé est polydisperse, la DLS conduit à un coefficient de diffusion moyen en z (**équation 38**) et à une moyenne harmonique en z du rayon hydrodynamique (**équation 39**) :

$$D_z = \frac{\sum_i N_i M_i^2 D_i}{\sum_i N_i M_i^2} \qquad \textbf{(38)}$$

$$R_{h,moyen} = \frac{\sum_i N_i M_i^2}{\sum_i \frac{N_i M_i^2}{R_{h,i}}} \qquad \textbf{(39)}$$

Avec M_i, N_i, D_i et $R_{h,i}$, respectivement la masse molaire, le nombre de moles, le coefficient de diffusion et le rayon hydrodynamique de la i^{ème} population de particules du mélange polydisperse.

2- Distribution de tailles de particules

La mesure de DLS donne accès à une distribution de tailles pondérée en intensité. De plus, l'intensité diffusée est proportionnelle au diamètre des particules (d) à la puissance six (**équation 40**) :

$$I = I_0 \cdot \frac{\left(1+\cos^2\theta\right)}{2R^2} \cdot \left(\frac{2\pi}{\lambda_0}\right)^4 \cdot \left(\frac{\left(n_2-n_1\right)^2-1}{\left(n_2-n_1\right)^2+2}\right) \cdot \left(\frac{d}{2}\right)^6 \qquad \textbf{(40)}$$

I intensité diffusée

I_0 intensité du faisceau incident

θ angle de détection

λ_0 longueur d'onde du faisceau incident (nm)

d diamètre de la particule

n_1 indice de réfraction du milieu

n_2 indice de réfraction des particules

Il en résulte que l'intensité diffusée par les grosses particules est plus élevée que celle diffusée par les petites. La DLS est donc une technique plus sensible aux particules de grande taille. En conséquence, il est important que l'échantillon soit filtré avant analyse afin d'éliminer les signaux dus à la présence de grosses particules exogènes tels que ceux dus aux poussières.

Pour établir cette distribution de tailles pondérée en intensité, l'indice de réfraction et la viscosité du milieu doivent être connus. Le résultat est représenté sous forme d'intensité diffusée relative en fonction de la taille de particule. A partir de la distribution en intensité, en utilisant la loi de Mie, il est possible d'obtenir la distribution en volume (équivalente à une distribution en masse) et la distribution en nombre. Pour effectuer cette transformation, les propriétés optiques des particules i.e. indice de réfraction et absorbance doivent être renseignées. De plus, on fait, dans ce cas, l'hypothèse que les particules sont sphériques et qu'elles ont toutes une densité équivalente et homogène. Cependant, dans le cas d'échantillons polydisperses, lors du passage de la distribution en intensité aux distributions en volume et en nombre, l'erreur sur la mesure est multipliée. En conséquent, dans le cas d'échantillons comportant plusieurs populations, il est conseillé de n'utiliser les distributions en volume et en nombre que pour estimer la quantité relative d'une population par rapport à une autre (**Figure 12**).

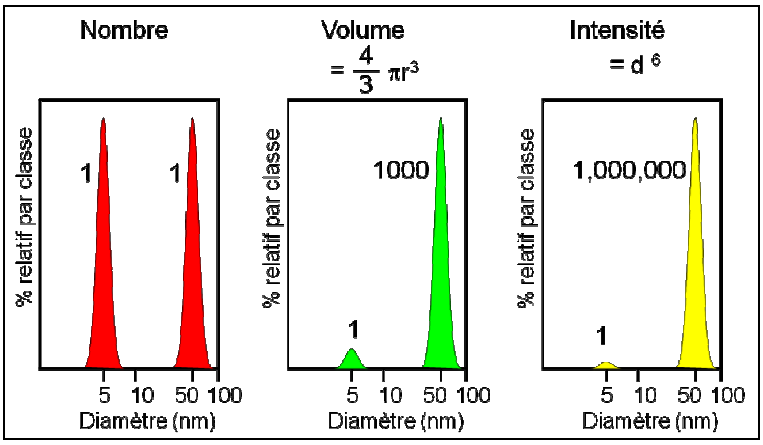


Figure 12 : *distribution de la taille des particules en nombre, volume et intensité (figure issue d'un support de formation de la société Malvern Instruments)*

3- Applications de la DLS à la caractérisation des CDs

La DLS est très utilisée pour la caractérisation des assemblages de CDs car c'est une technique simple à mettre en œuvre et le temps d'analyse est court. G. González-Gaitano et al[44] ont effectivement mis en évidence par DLS la présence d'agrégats de CDs dans les solutions de CDs natives. Cette technique est également utilisée pour étudier la formation de PSM de CDs à base de monomères hétéro-ditopiques (A-B) ou de dimères de CDs. Cependant, la DLS mesure le signal de toutes les espèces qui diffusent dans l'échantillon, elle ne permet donc pas de différencier les assemblages spécifiques et non spécifiques comme le montre l'étude réalisée par M. Munteanu et al.[45] sur la formation d'assemblages entre CDs fonctionnalisées et dimères de CDs. D'autres techniques de caractérisation telles que la viscosimétrie, la diffusion des neutrons ou la microscopie doivent donc être utilisées pour compléter l'interprétation des résultats d'analyses par DLS.

D-Dispersion de Taylor (TDA – Taylor Dispersion Analysis)

La dispersion de Taylor est une technique de caractérisation qui permet de mesurer le coefficient de diffusion mutuelle D_m des particules en solution. Connaissant D_m, il est possible de remonter à des rayons hydrodynamiques allant jusqu'au nanomètre pour des composés détectables par spectroscopie UV ou de fluorescence. La TDA permet ainsi une mesure sensible de la taille des petites particules contrairement à la DLS qui est plus sensible aux particules de grande taille.

Lors d'une analyse par dispersion de Taylor, D_m est déterminé via la mesure de l'élargissement du pic d'injection d'un soluté lors de son écoulement sous flux laminaire dans un tube capillaire. La TDA est une technique de détermination de D_m simple, rapide et ne nécessitant pas d'étalonnage. Cette méthode a été développée en 1953 par G. I. Taylor[46] puis optimisée par R. Aris[47] en 1956. L'analyse s'effectuait initialement dans des capillaires de 1 à 10 mm de diamètre et pouvait durer des heures. Ce temps d'analyse a été réduit à quelques minutes suite aux travaux de Bello et al.[48] qui ont introduit l'utilisation de capillaire creux en verre d'un diamètre de 50 µm. Cela a également permis de rendre compatible la mesure de TDA avec les appareils commerciaux d'électrophorèse capillaire (CE). Après injection de l'échantillon par pression hydrostatique, le suivi du profil d'élution du soluté s'effectue à l'aide des détections UV et / ou de fluorescence disponibles sur ces équipements (**Figure 13**).

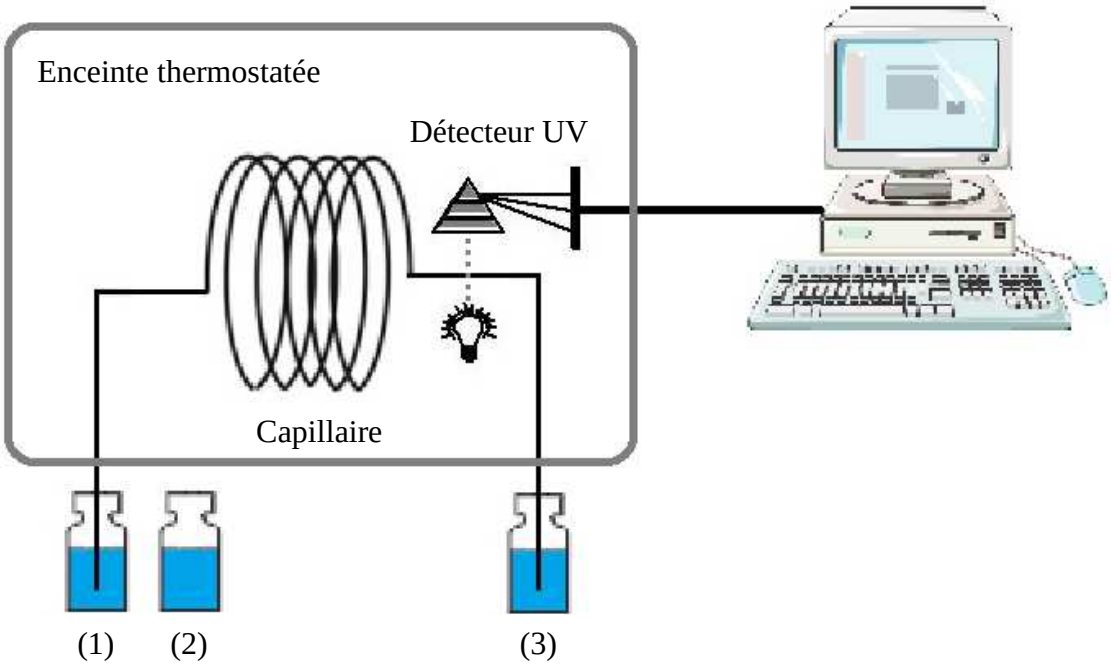


Figure 13 : *Schéma d'un dispositif de TDA. L'échantillon en position (2) est injecté par pression hydrodynamique et circule à débit constant dans le capillaire via un flux continu de solvant en position (1). Après passage devant le détecteur UV, l'échantillon est évacué dans le flacon situé en position (3).*

1- Phénomènes mis en jeu au cours de l'élution du soluté

Au cours d'une analyse par dispersion de Taylor, la bande d'injection va s'élargir sous l'action combinée de différents phénomènes :

- La diffusion longitudinale

Le gradient de concentration présent aux extrémités de la bande d'injection va induire une diffusion longitudinale du soluté selon l'axe du flux qui contribuera à son élargissement (**Figure 14-a**).

- La convection

Dans un capillaire, le déplacement de matière entrainé par un fluide sous flux laminaire induit la formation d'un profil parabolique de vitesse. Cela se traduit par un gradient de vitesse de convection selon l'axe perpendiculaire au flux, la vitesse étant maximale au centre du capillaire (**équation 42**) et nulle sur les bords. L'équation du profil parabolique de vitesse est la suivante (**équation 41**) :

$$u_r = 2u_x \cdot \left(1 - \frac{|r-R|^2}{R^2}\right) \qquad \textbf{(41)}$$

u_r vitesse de convection à une position r le long de l'axe radial (m/s)

u_x vitesse de convection moyenne dans le capillaire (m/s)

$$u_{\max} = 2 \cdot u_x \qquad \textbf{(42)}$$

u_{max} vitesse maximale atteinte quand $r = R$

R rayon du capillaire (m)

r distance sur l'axe radiale du capillaire (m)

avec $r_{max} = R$ et $r_{min} = 0$

Ce profil parabolique de vitesse d'élution du soluté va induire un gradient de concentration selon l'axe radial (**Figure 14-b**).

- La diffusion radiale

Le gradient de concentration crée par le profil parabolique de vitesse d'élution du soluté va induire une diffusion radiale du soluté (ou diffusion trans-axiale ou transfert de masse) selon l'axe perpendiculaire au flux qui va ainsi contrebalancer ce gradient de concentration.

Dans des conditions où la diffusion longitudinale est négligeable, l'élargissement de la bande d'injection est causé par le profil parabolique de vitesse et la diffusion radiale. Ce phénomène est appelé dispersion de Taylor (**Figure 14-c**).

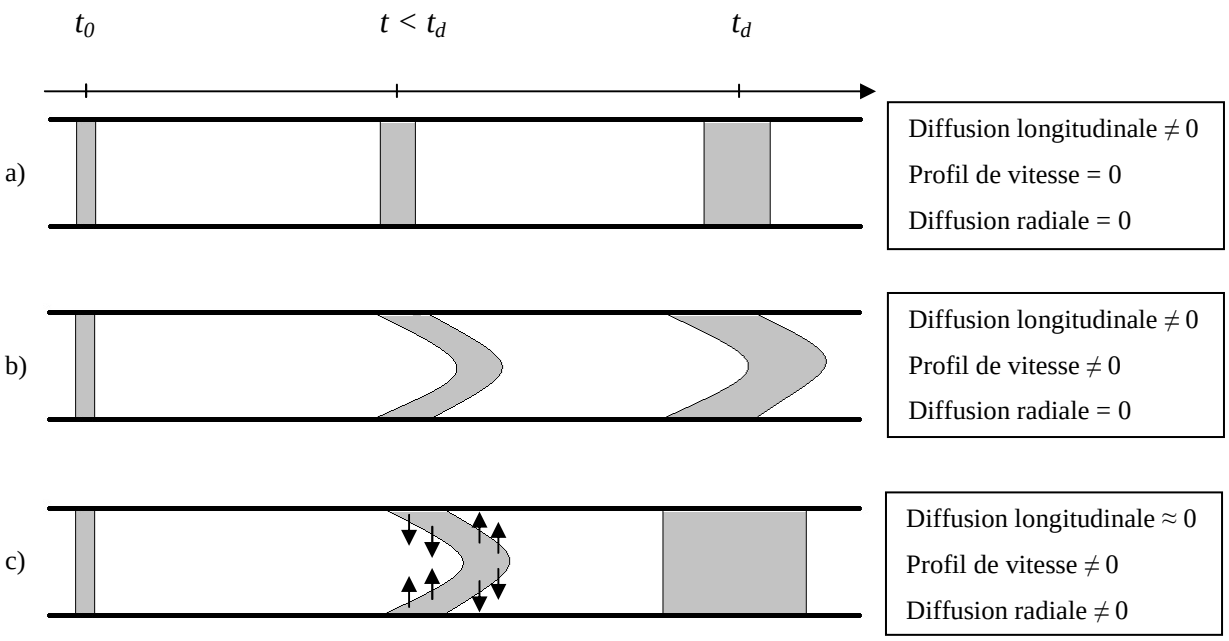


Figure 14 : a) *Diffusion de la bande d'injection dans un capillaire en absence de profil de vitesse et en présence de diffusion longitudinale ;* ***b)*** *en cas de profil de vitesse sans diffusion radiale et en présence de diffusion longitudinale ;* ***c)*** *en cas de profil de vitesse, en présence de diffusion radiale et en absence de diffusion longitudinale i.e. condition de dispersion de Taylor. Avec* t_0 *correspondant au moment de l'injection et* t_d *au temps écoulé au moment de la détection.*

Les travaux de R. Aris[47] ont permis de compléter la théorie développée par G. I. Taylor[46] afin de rendre applicable cette technique dans des conditions où la diffusion longitudinale est non négligeable.

Au temps d'analyse t_d, on obtient une bande d'injection dans laquelle le mélange de concentrations a eu lieu du fait de la dispersion de Taylor et a ainsi conduit à un profil de concentration symétrique de type gaussien. La largeur de ce profil de concentration est liée à la taille des particules de l'échantillon. En effet, les particules de petites tailles diffusent plus rapidement le long de l'axe radial et peuvent ainsi efficacement contrebalancer le gradient de concentration dû au profil parabolique de vitesse. Elles conduisent donc à profil étroit de concentration. A l'inverse, les particules de tailles plus importantes diffusent plus lentement le long de l'axe radial et conduisent ainsi à un profil de concentration plus large (**Figure 15**).

2- Détermination du coefficient de diffusion

a- Equation de Taylor-Aris

En 1953, G. I. Taylor a démontré de façon analytique le lien entre le coefficient de diffusion d'un soluté et la largeur du profil de concentration du fait de sa dispersion dans la bande d'injection. Pour cela, il a tout d'abord établi le bilan de matière en régime non permanent (**équation 43**) i.e., lorsque le flux de matière en chaque point varie avec le temps *t*, lors de la diffusion d'un soluté à la concentration *c* dans un cylindre de rayon *R* :

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D_L \cdot \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} + D_R \cdot \frac{1}{r}\frac{\partial}{\partial} \cdot \left(r \frac{\partial c}{\partial r} \right) - u_r \cdot \frac{\partial c}{\partial x} \qquad \textbf{(43)}$$

c concentration en soluté en fonction de x, r et t

r distance radiale

x distance axiale

L'équation ainsi obtenue est appelée équation de continuité ou équation de diffusion convection en régime non permanent et en coordonnées cylindriques. Dans l'équation (**43**) le premier terme correspond au flux de diffusion longitudinale, le deuxième au flux de diffusion radiale et le troisième terme au flux de transport par convection sous lequel se déplacent les particules. Cette équation montre que la concentration locale en soluté dépend de la distance axiale *x*, de la distance radiale *r* ainsi que du temps. Pour faciliter la résolution de cette équation, on considère que *D* est indépendant de la concentration. Selon les conditions limites appliquées, cette équation peut être simplifiée et les solutions qui s'expriment sous la forme du profil de concentration permettent par la suite de calculer le coefficient de diffusion à partir des profils de concentration expérimentaux.

Pour simplifier l'équation de diffusion convection, G. I. Taylor a appliqué comme condition limite que les phénomènes de diffusion longitudinale sont négligeables comparés à la diffusion radiale. Il a alors obtenu deux solutions analytiques à cette équation en fonction du mode d'injection de l'échantillon utilisé (**équation 45** et **équation 47**) :

- Injection en mode impulsion i.e. injection d'un faible volume de solution (**Figure 15**) :

$$c = \frac{M}{2\pi^{2/3} R^2} \cdot \frac{1}{\sqrt{kt}} \cdot \exp\left[-\frac{u_x^2 \cdot (t - t_d)^2}{4kt} \right] \qquad \textbf{(44)}$$

M masse molaire du soluté (g/mol)

Dans ce cas, la distribution de concentration au temps long peut être approximée par une gaussienne :

$$c = A \cdot \exp\left[-\frac{(t-t_d)^2}{2\sigma^2}\right] \quad \textbf{(45)}$$

A amplitude du pic

σ² variance du pic

k coefficient de dispersion

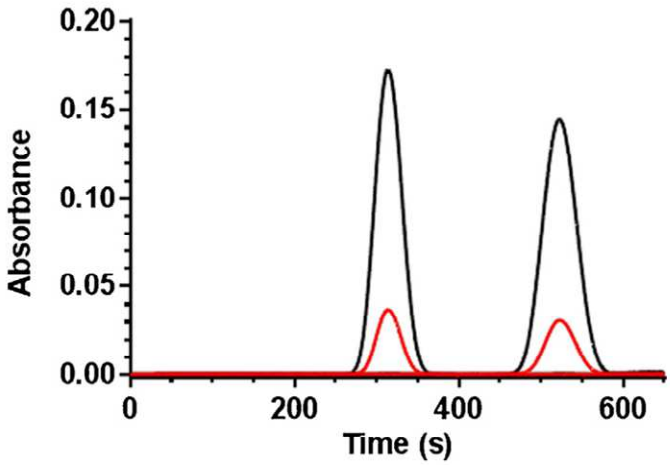


Figure 15 : *Exemples de taylorgrammes issus des analyses en mode impulsion de deux échantillons d'insuline à 0.1 mM (en rouge) et à 0.6 mM (en noir) dans un tampon phosphate à pH 7.4. L'augmentation de la concentration dans ces conditions conduit à une augmentation de la taille de l'insuline qui passe de dimère (R_h = 2 nm à 0.1 mM) à hexamère (R_h = 2.8 nmn à 0.6 mM). Les analyses ont été effectuées à 25°C, sur un appareil comportant deux fenêtres de détection associées à un détecteur UV. Les taylorgrammes ont été enregistrés à 200 nm (figure issue de la réf.* [49]*)*

- Injection en mode front i.e. injection en continu de la solution (**Figure 16**) :

$$\frac{c}{c_0} = \frac{1}{2} \pm \frac{1}{2} erf\left[\frac{u_x \cdot (t-t_d)}{2\sqrt{kt}}\right] \quad \textbf{(46)}$$

c_0 concentration injectée

Dans ce cas, la distribution de concentration peut être approximée par la fonction suivante :

$$\frac{c}{c_0} = \frac{1}{2} \pm \frac{1}{2} erf\left[\frac{(t-t_d)}{\sigma\sqrt{2}}\right] \quad \textbf{(47)}$$

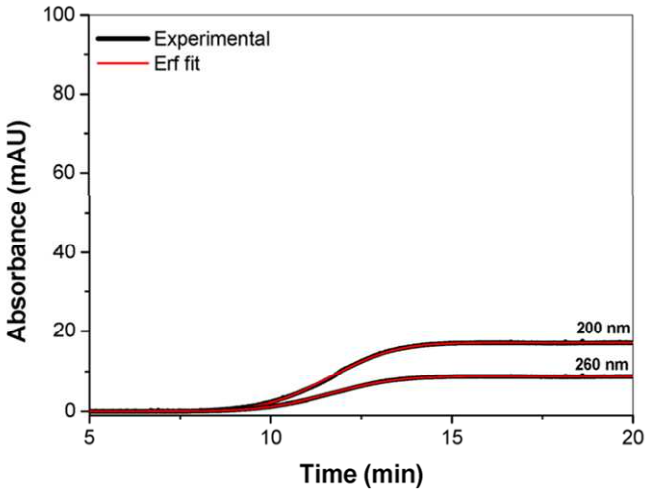


Figure 16 : *Exemples de taylorgrammes modélisés issus des analyses en mode front d'un échantillon d'ADN dans un tampon trishydroxyméthylaminométhane (TRIS) à pH 7.4. Les analyses ont été effectuées à 25°C, sur un appareil comportant un détecteur UV. Les taylorgrammes ont été enregistrés à 200 nm et 260 nm (figure issue de la réf.* [50]*)*

Dans ces 2 cas, par analogie entre les équations (**44**) et (**45**), d'une part et entre les équations (**46**) et (**47**), d'autre part, on obtient l'expression du coefficient de dispersion (**équation 48**) :

$$k = \frac{u_x^2 \cdot \sigma^2}{2t_d} \qquad (\mathbf{48})$$

Or, dans le cas où la diffusion longitudinale peut être négligée, *D* est relié au coefficient de dispersion par la relation (**49**) :

$$D = \frac{R^2 \cdot u_x^2}{48k} \qquad (\mathbf{49})$$

En combinant ces deux relations, on obtient l'équation de Taylor (**équation 50**) qui relie l'élargissement de bande au coefficient de diffusion :

$$D = \frac{R^2 \cdot t_d^2}{24\sigma^2} \qquad (\mathbf{50})$$

Dans le cas où la diffusion longitudinale n'est pas négligeable, *D* est alors relié au coefficient de dispersion par l'équation de Taylor-Aris (**équation 51**) :

$$k = D + \frac{R^2 \cdot u_x^2}{48D} \qquad (\mathbf{51})$$

En combinant cette équation avec l'expression (**48**) de *k*, on obtient l'équation (**52**) :

$$\frac{u_x^2 \cdot \sigma^2}{2t_d} = D + \frac{R^2 \cdot u_x^2}{48D} \qquad (52)$$

Après recombinaison, cette expression conduit à une équation du 2nd degré (**équation 53**) :

$$D^2 - D \cdot \frac{u_x^2 \cdot \sigma^2}{2t_d} + \frac{R^2 \cdot u_x^2}{48} = 0 \qquad (53)$$

dont la solution est l'expression (**54**) :

$$D = \frac{l_d}{4t_d} \cdot \left(\frac{l_d \cdot \sigma^2}{t_d^2} - \sqrt{\frac{l_d^2 \cdot \sigma^4}{t_d^4} - \frac{R^2}{3}} \right) \qquad (54)$$

b- Approche chromatographique de l'équation de Taylor

Le lien entre la largeur du profil de concentration et le coefficient de diffusion a été déterminé de façon analytique par Taylor et Aris. Une approche chromatographique permet également de retrouver le résultat de Taylor en utilisant des paramètres chromatographiques tels que la hauteur équivalente à un plateau théorique *H*.

Dans le cas d'un capillaire non rempli, l'équation de Golay (**équation 55**), qui décrit la variation de *H* en fonction de la vitesse de convection, prend la forme suivante :

$$H = \frac{2D}{u_x} + \frac{R^2 \cdot u_x}{24D} \qquad (55)$$

Le premier terme de cette équation est lié à la diffusion longitudinale. Le deuxième terme est lié à la diffusion des molécules de soluté dans le sens perpendiculaire à l'écoulement.

En diffusion de Taylor, on se place dans des conditions expérimentales où la diffusion longitudinale est négligeable, l'équation (**55**) se simplifie alors en l'équation (**56**) :

$$H = \frac{R^2 \cdot u_x}{24D} \qquad (56)$$

or, $H = \dfrac{l_d \cdot \sigma^2}{t_d^2}$ (**57**)

En combinant les relations (**56**) et (**57**), cette approche chromatographique permet de remonter à l'équation de Taylor (**équation 50**).

Pour exprimer D en fonction de l'élargissement de bande σ^2, dans le cas où la diffusion longitudinale n'est pas négligeable, il faut relier les relations (**55**) et (**57**). Après recombinaison, on retrouve l'équation du 2nd degré (**53**) précédemment décrite :

Dont la solution est l'équation (**54**). Cette solution s'exprime également en fonction de H selon l'expression (**58**) :

$$D = \frac{u_x}{4} \cdot \left(H - \sqrt{H^2 - \frac{R^2}{3}} \right) \qquad (\mathbf{58})$$

c- Conditions d'application de l'équation Taylor-Aris

L'équation de Taylor s'applique dans des conditions expérimentales où la diffusion longitudinale est négligeable. Pour que cela soit vrai, deux conditions doivent être remplies. La première condition est que le temps mis par le soluté pour atteindre le détecteur doit être suffisamment long de façon à permettre au soluté de traverser plusieurs fois la section radiale du capillaire pour contrebalancer le gradient de concentration dû au profil parabolique de vitesse i.e. $t_d >> t_r$, avec :

$$t_d = \frac{l_d}{u_x} \qquad (\mathbf{59})$$

$$t_r = \frac{2R^2}{3.8^2 D} \qquad (\mathbf{60})$$

t_d temps de détection

t_r temps caractéristique de diffusion sur une distance égale au rayon du capillaire

u_x vitesse de convection moyenne dans le capillaire (m/s)

D coefficient de diffusion (m²/s)

Pour vérifier la validité de cette condition, le paramètre adimensionnel τ (**équation 61**) a été introduit :

$$\tau = \frac{D \cdot t_d}{R^2} \qquad (\mathbf{61})$$

τ temps adimensionnel de résidence

Pour que : $$\frac{t_d}{t_r} = \frac{3.8^2}{2} \cdot \tau > 1 \qquad (\mathbf{62})$$

Il faut donc que : $\tau > 0.14$

La deuxième condition est que le phénomène de diffusion longitudinale doit être négligeable devant le terme de lié aux effets dispersifs i.e., lié au transfert de masse du soluté contribuant à l'élargissement du pic via la diffusion radiale du soluté. Cela se traduit d'après l'équation de Golay par un premier terme de cette équation négligeable devant le deuxième, ce qui revient à :

$$48 << \frac{R^2 \cdot u^2}{D^2} \qquad \textbf{(63)}$$

Pour vérifier la validité de cette condition, le nombre de Péclet (**équation 64**) qui est un paramètre adimensionnel a été introduit :

$$P_e = \frac{R \cdot u}{D} \qquad \textbf{(64)}$$

P_e nombre de Péclet

Pour que la 2e condition soit respectée, il faut donc que :

$$P_e >> \sqrt{48} = 6.9$$

De manière générale, on considère que ces deux conditions sont remplies quand $\tau > 10 \times 0.14$ et $P_e \geq 10 \times 6.9$. Cependant, H. Cottet et al.[51] ont montré que pour ces deux paramètres une erreur sur D inférieure ou égale à 3% était obtenue pour $\tau \geq 1.25$ et $P_e \geq 40$.

Si ces conditions ne sont pas remplies, pour calculer D, on n'utilise plus l'équation de Taylor mais la solution de l'équation du 2nd degré qui relie D et l'élargissement de bande σ^2 (**équation 54**).

3- Détermination du rayon hydrodynamique

La TDA permet de mesurer expérimentalement σ^2, puis de déterminer le coefficient de dispersion moyen D du PSM étudié à l'aide de l'équation de Taylor (**équation 50**), puis le rayon hydrodynamique à l'aide de la relation de Stokes-Einstein (**équation 26**).

Si le détecteur utilisé est sensible à la concentration massique du composé, on obtiendra à une moyenne harmonique en poids du coefficient de diffusion (**équation 65**) qui permettra ensuite la détermination d'un rayon hydrodynamique moyen en poids (**équation 66**) :

$$D_{moyen} = \frac{\sum_i N_i M_i}{\sum_i \frac{N_i M_i}{D_i}} \qquad \textbf{(65)}$$

$$R_{h,w} = \frac{\sum_i N_i M_i R_{h,i}}{\sum_i N_i M_i} \quad \textbf{(66)}$$

Si le détecteur utilisé est sensible à la concentration molaire du composé, on obtient à une moyenne harmonique en nombre du coefficient de diffusion moyen (**équation 67**) qui permet ensuite la détermination d'un rayon hydrodynamique moyen en nombre (**équation 68**) :

$$D_{moyen} = \frac{\sum_i N_i}{\sum_i \frac{N_i}{D_i}} \quad \textbf{(67)}$$

$$R_{h,n} = \frac{\sum_i N_i R_{h,i}}{\sum_i N_i} \quad \textbf{(68)}$$

4- Exemples d'applications de la TDA pour la caractérisation des CDs

La TDA a l'avantage de permettre une mesure précise des coefficients de diffusion mutuelle des particules en solution. A. C. F. Ribeiro et al.[52] ont démontré que la précision sur la mesure de TDA était de 1 à 2%. Pour cela, ils ont comparé les valeurs de D_m obtenues par TDA à celles obtenues par conductimétrie et interférométrie pour le sucrose et KCl qui sont des molécules références dont les propriétés sont bien connues.

Dans le domaine des CDs, ils ont également déterminé les coefficients de diffusion mutuelle à 25°C en solution aqueuse de l'α-CD pour des concentrations de 2 mM à 10 mM [53] (D_m = 3.52 x 10^{-10} à 3.46 x 10^{-10} m²/s) et de la β-CD (D_m = 3.24 x 10^{-10} à 3.18 x 10^{-10} m²/s) pour des concentrations de 2 mM à 8 mM[52]. Les valeurs obtenues sont en accord avec les valeurs de la littérature dans la même gamme de concentrations[54, 55], ce qui permet de valider cette technique pour la caractérisation de ce type de molécule.

La TDA a également été utilisée pour mettre en évidence la formation de complexes de cyclodextrines. A. C. F. Ribeiro et al.[56] ont par exemple étudié les complexes β-CD/caféine. Dans ce cadre, ils ont dans un premier temps déterminé les coefficients de diffusion mutuelle de chaque partenaire. Ils ont ensuite déterminé les coefficients de diffusion mutuelle dans le cas du mélange CD/caféine. En augmentant la concentration de CD, ils ont observé une

diminution du coefficient de diffusion de la caféine signe de la formation d'un complexe entre les deux partenaires.

Par ailleurs, la TDA a été utilisée par H. Jensen et al.[57] pour déterminer les constantes d'association entre β-CD/naphthol et β-CD/naproxène.

Du fait de sa sensibilité, la TDA peut également être utilisée pour suivre la formation d'oligomères protéiques. H. Jensen et al.[49] ont montré que la TDA était suffisamment sensible pour permettre de suivre la formation de dimère puis d'hexamère d'insuline dont la formation est favorisée par l'augmentation de la concentration en insuline à pH physiologique.

Cette technique est donc parfaitement adaptée pour l'étude des PSM car elle permet de caractériser et distinguer les monomères des complexes formés. Cependant, la TDA est une méthode chromatographique, en conséquence, l'échantillon subit une dilution au cours de son analyse. Le facteur de dilution au sein des équipements de TDA est, toutefois, moins important que celui des appareils de chromatographie d'exclusion stérique (SEC) utilisés pour la détermination des masses molaires des polymères covalents. La dilution de l'échantillon au cours de l'analyse TDA ne constitue donc pas une limitation à l'utilisation de cette technique pour la caractérisation des PSM comme c'est le cas pour l'analyse des PSM par SEC. Il est, cependant, nécessaire de déterminer le facteur de dilution de l'équipement utilisé afin de pouvoir relier le R_h du PSM analysé par TDA à la concentration totale en monomères réellement détectés.

IV- Détermination des dimensions et de la forme des PSM

Certaines techniques de caractérisation permettent à la fois la détermination des dimensions et de la forme des objets étudiés. Dans ce cas, contrairement aux méthodes décrites dans la partie précédente, les dimensions des structures analysées ne sont pas celles de la sphère équivalente mais sont directement liées à la forme des PSM formés. Deux types de techniques sont décrites dans cette partie, d'une part l'analyse de diffusion des neutrons aux petits angles (SANS) qui permet une détermination indirecte de ces informations par la mesure de l'intensité des neutrons diffusés par l'échantillon, et d'autre part, les méthodes microscopiques qui permettent une observation directe de l'échantillon étudié.

A- Diffusion des neutrons aux petits angles (SANS – Small Angle Neutrons Scattering)

La diffusion des neutrons est une technique qui permet d'accéder à des informations sur la forme et les dimensions de particules en solution d'une taille de 1 à plus de 100 nm sans nécessité de prétraitement de l'échantillon avant analyse.

Au cours d'une analyse de diffusion élastique des neutrons, un faisceau monochromatique de neutrons d'une longueur d'onde généralement située entre 0.2 et 1 nm est envoyé sur un échantillon. Ce dernier en interagissant avec les noyaux atomiques des particules constituant l'échantillon va induire la formation d'un faisceau de neutrons diffusés de même longueur d'onde que le faisceau incident et d'amplitude caractérisée par une longueur de diffusion f[58]. La longueur de diffusion varie peu avec le type d'atome mais elle est à contrario sensible aux isotopes. L'hydrogène et le deutérium possèdent en effet des f différents. Cette propriété permet en utilisant un solvant deutérié d'obtenir un contraste entre particules et solvant. L'intensité du faisceau de neutrons diffusé (I_s) est ensuite mesurée à différents vecteurs d'onde q (**équation 69**), i.e. à différents angles de détection pour une longueur d'onde donnée.

$$q = \frac{4\pi \cdot \sin\theta}{\lambda} \qquad \textbf{(69)}$$

q vecteur d'onde (nm^{-1})

θ angle de détection

λ longueur d'onde (nm)

Le vecteur d'onde q représente l'échelle de distance à laquelle les objets, présents en solution, sont sondés. En conséquence, en fonction de la gamme de q sondée, $I_s(q)$ permet d'obtenir différentes informations sur l'échantillon. La gamme de q accessible par la diffusion des neutrons permet d'avoir des informations sur la taille, la forme et la structure interne des particules.

$I_s(q)$ diminue en fonction de q et cette diminution va dépendre de la densité de particules, de la forme des particules qui est caractérisées par le facteur de forme $P(q)$ et du contraste provenant de la différence de densité de longueur de diffusion (ρ) entre les particules et le solvant environnant (**équation 70**). Si les particules de l'échantillon étudié interagissent i.e.

particules chargées ou concentration élevée, $I_s(q)$ dépendra également du facteur de structure $S(q)$ de l'échantillon.

$$I_s(q) = \Delta\rho^2 \cdot \Phi_v \cdot V_p \cdot P(q) \cdot S(q) \quad \textbf{(70)}$$

$\Delta\rho^2$ différence de densité longueur de diffusion entre les particules et le solvant i.e. contraste

Φ_v fraction volumique en particules

V_p volume d'une particule sèche

Dans la zone des q élevés (domaine de Porod), $I_s(q)$ oscille avec une décroissance en q^{-4}. Dans la zone des q faibles (domaine de Guinier), $I_s(q)$ est indépendante de q et dans la zone des q intermédiaires, les particules analysées présentent des fonctions $I_s(q)$ différentes selon leurs formes. La courbe $I_s(q)$ des bâtonnets est caractérisée par une région de pente q^{-1}, tandis que celle des disques présente une pente en q^{-2} (**Figure 17**).

Afin de déterminer la forme et les dimensions des particules étudiées, les données obtenues par analyses SANS sont modélisées à l'aide des courbes $I_s(q)$ associées à différentes formes de particules connues. Dans le cas d'échantillons très polydisperses ou d'agrégation de particules cette étape de modélisation peut s'avérer complexe.

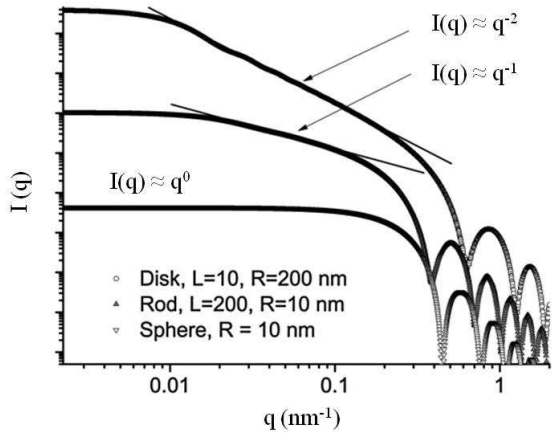


Figure 17 : *Courbes $I_s(q)$ modèles pour des particules monodisperses. Modélisation effectuées avec le logiciel SASfit (figure issue de la réf. [59]).*

B- La microscopie

La microscopie à force atomique (AFM), la microscopie électronique à transmission (MET) et la cryo-MET sont trois méthodes microscopiques utilisées pour visualiser les PSM.

Lors d'une analyse par AFM, l'échantillon est déposé puis séché sur un support généralement en mica afin de permettre une bonne fixation dans le cas d'échantillons liquides. La surface de l'échantillon est ensuite balayée par une pointe, située au bout d'un levier. Lors du contact avec la surface de l'échantillon cette pointe sera alors soumise à des forces atomiques de faibles intensités qui entraineront sont déplacement par mouvement d'attraction ou de répulsion en fonction du mode d'acquisition. L'enregistrement de ces mouvements tout au long du balayage permettra de renseigner sur la topographie de l'échantillon analysé et donc d'obtenir des informations sur la morphologie des objets formés. La résolution de cette technique est de 10 nm dans le plan de l'échantillon et environ 1 Å en hauteur.

La MET et la cryo-MET permettent également d'observer la morphologie des PSM avec une résolution nanométrique. Au cours d'une analyse, une couche mince d'échantillon (10 à 200 nm) est traversée par un faisceau d'électrons. Les électrons sont ensuite focalisés à l'aide de lentilles magnétiques vers un écran fluorescent placé sous l'échantillon. La différence entre les électrons transmis et ceux qui interagissent avec l'échantillon va permettre de former une image des objets présents dans l'échantillon. Dans le cas de la MET, l'échantillon est déposé sur une grille métallique recouverte d'un film de carbone puis séchée. Un contrastant peut également être ajouté à l'échantillon. L'analyse cryo-MET se fait à froid sur un échantillon préalablement congelé par trempe dans de l'éthane liquide. Ce procédé de préparation de l'échantillon conduit à la formation de glace amorphe permettant l'observation, ce qui ne serait pas possible si la glace avait le temps de cristalliser. Cette méthode a l'avantage de permettre une observation des structures dans un état hydraté contrairement aux deux précédentes techniques. Cependant, la résolution de l'image en analyse cryo-MET est plus faible car une augmentation de la dose d'électrons envoyée sur l'échantillon gelé (nombre d'élections par $Å^2$) peut entrainer son altération.

Dans le domaine des CDs, l'analyse cryo-MET a été utilisée par M. Bonini et al.[60] afin de caractériser la morphologie des agrégats de β-CDs en fonction de la concentration. La microscopie est également utilisée pour étudier des PSM à base de complexes CD/invité. A. Wun et al.[61] ont par exemple utilisé l'analyse MET pour caractériser des fibres de taille microscopique formées par interactions secondaires entre des nanotubes constitués de

complexes β-CD/invité. L'observation de la dissociation de ces fibres à pH supérieur au pKa des alcools de la CD leur a permis de démontrer que les liaisons hydrogènes entre CDs étaient responsables de ces interactions secondaires.

Les analyses SANS et microscopiques, notamment l'analyse Cryo-MET, présentent un grand intérêt car elles permettent d'obtenir, en une analyse, des informations sur la taille et la forme des PSM formés. Cependant, leur mise en œuvre plus longue rend difficile leur utilisation en analyse de routine. Elles sont donc préférentiellement utilisées pour compléter la caractérisation de systèmes dont l'intérêt a déjà été démontré via l'analyse par d'autres techniques.

V- Conclusion

Pour conclure, une large gamme de techniques permettent de caractériser les PSM de CDs en partant de l'étude du complexe CD/invité jusqu'à celle du PSM. La difficulté réside dans le choix de méthodes adaptées aux systèmes étudiés.

En effet, la masse molaire des PSM dépend de leur concentration, les méthodes de détermination de la masse molaire induisant une forte dilution de l'échantillon au cours de l'analyse, telle que la chromatographie d'exclusion stérique, ou nécessitant une détermination de la masse molaire par extrapolation à concentration nulle comme la VPO, ne sont pas idéales pour la caractérisation de ce type de composés. Par ailleurs, le principe propre de certaines techniques peut également induire un biais si des précautions préalables ne sont pas prises lors la préparation des échantillons. Ainsi, dans le cas de l'ITC, tout mécanisme, autre que l'interaction CD/invité, induisant un échange de chaleur sera comptabilisé dans le signal issu de l'analyse. Il est, dans ce cas, nécessaire d'utiliser des conditions d'analyse adaptées ainsi que d'effectuer les expériences contrôles appropriées afin de ne pas effectuer un traitement erroné du signal obtenu. De la même manière, dans le cas de la DLS, toute particule en solution diffuse la lumière, il est donc important d'éliminer les agrégats et/ou poussières susceptibles de perturber l'analyse. Une analyse complémentaire à l'aide d'une technique différente permet également d'éviter les interprétations erronées.

Du fait de leur nature dynamique, une approche globale, via différentes techniques permettant de caractériser différentes propriétés des PSM, est préconisée afin d'augmenter la fiabilité des résultats d'analyses. Dans ce but, différentes techniques de caractérisation ont été utilisées au cours de ce projet. Elles sont représentées dans le schéma ci-dessous (**Figure 18**).

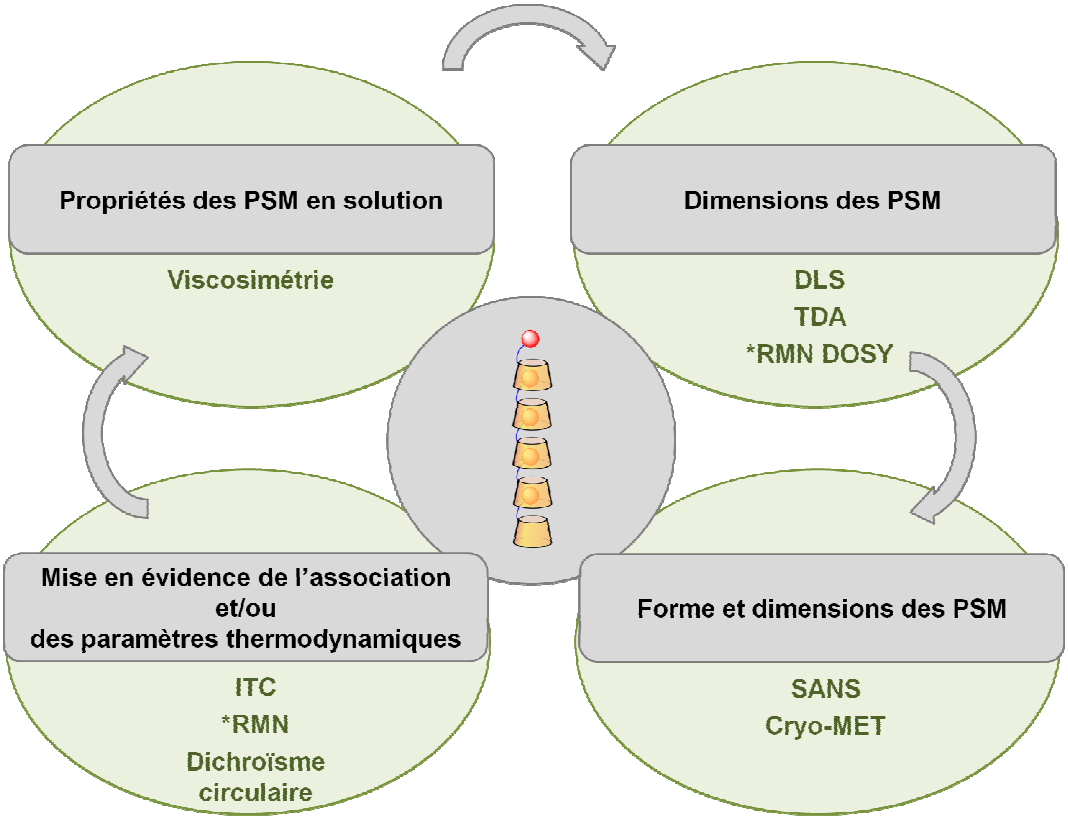


Figure 18 : *Schéma des différentes techniques de caractérisation utilisées au cours du projet.*

**Analyses effectuées par l'équipe GOBS.*

Bibliographie

(1) Thordarson, P. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40* (3), 1305–1323.

(2) Hibbert, D. B.; Thordarson, P. *Chem. Commun.* **2016**, *52* (87), 12792–12805.

(3) Tablet, C.; Matei, I.; Hillebrand, M. **2012**.

(4) Loukas, Y. L. *J. Pharm. Pharmacol.* **1997**, *49* (10), 944–948.

(5) Landy, D.; Tetart, F.; Truant, E.; Blach, P.; Fourmentin, S.; Surpateanu, G. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2007**, *57* (1–4), 409–413.

(6) Rekharsky, M. V.; Inoue, Y. *Chem. Rev.* **1998**, *98* (5), 1875–1918.

(7) Zhao, D.; Moore, J. S. *Org Biomol Chem* **2003**, *1* (20), 3471–3491.

(8) Tablet, C.; Hillebrand, M. *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.* **2008**, *70* (4), 740–748.

(9) Bouchemal, K.; Mazzaferro, S. *Drug Discov. Today* **2012**, *17* (11–12), 623–629.

(10) Wszelaka-Rylik, M.; Gierycz, P. *J. Therm. Anal. Calorim.* **2013**, *111* (3), 2029–2035.

(11) Bertaut, E.; Landy, D. *Beilstein J. Org. Chem.* **2014**, *10*, 2630–2641.

(12) Wenz, G.; Strassnig, C.; Thiele, C.; Engelke, A.; Morgenstern, B.; Hegetschweiler, K. *Chem. - Eur. J.* **2008**, *14* (24), 7202–7211.

(13) Gómez-Biagi, R. F.; Jagt, R. B. C.; Nitz, M. *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6* (24), 4622–4626.

(14) Bergeron, R. J.; McPhie, P. *Bioorganic Chem.* **1977**, *6* (4), 465–471.

(15) Harata, K. *Bioorganic Chem.* **1981**, *10* (3), 255–265.

(16) Kodaka, M. *J. Phys. Chem. A* **1998**, *102* (42), 8101–8103.

(17) Bakirci, H.; Zhang, X.; Nau, W. M. *J. Org. Chem.* **2005**, *70* (1), 39–46.

(18) Zhdanov, Y. A.; Alekseev, Y. E.; Kompantseva, E. V.; Vergeichik, E. N. *Russ. Chem. Rev.* **1992**, *61* (6), 563.

(19) Miyauchi, M.; Takashima, Y.; Yamaguchi, H.; Harada, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127* (9), 2984–2989.

(20) Abed, S.; Boileau, S.; Bouteiller, L. *Polymer* **2001**, *42* (21), 8613–8619.

(21) Ganguly, R.; Aswal, V. K.; Hassan, P. A.; Gopalakrishnan, I. K.; Yakhmi, J. V. *Pramana* **2004**, *63* (2), 277–283.

(22) Gröger, G.; Meyer-Zaika, W.; Böttcher, C.; Gröhn, F.; Ruthard, C.; Schmuck, C. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133* (23), 8961–8971.

(23) Adams, E. T.; Wan, P. J.; Crawford, E. F. In *Methods in Enzymology*; Enzyme Structure Part F; Academic Press, 1978; Vol. 48, pp 69–154.

(24) Lo, F. Y. F.; Escott, B. M.; Fendler, E. J.; Adams, E. T.; Larsen, R. D.; Smith, P. W. *J. Phys. Chem.* **1975**, *79* (24), 2609–2621.

(25) Knoben, W.; Besseling, N. A. M.; Cohen Stuart, M. A. *Macromolecules* **2006**, *39* (7), 2643–2653.

(26) Miyauchi, M.; Kawaguchi, Y.; Harada, A. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2004**, *50* (1–2), 57–62.

(27) Deng, W.; Yamaguchi, H.; Takashima, Y.; Harada, A. *Chem. – Asian J.* **2008**, *3* (4), 687–695.

(28) Lortie, F.; Boileau, S.; Bouteiller, L.; Chassenieux, C.; Lauprêtre, F. *Macromolecules* **2005**, *38* (12), 5283–5287.

(29) Xu, R. *Particle characterization: light scattering methods*; Springer Science & Business Media, 2001; Vol. 13.

(30) Einstein, A. *Ann. Phys.* **1905**, *322* (8), 549–560.

(31) Von Smoluchowski, M. *Ann. Phys.* **1906**, *326* (14), 756–780.

(32) Langevin, P. *Comptes Rendus Hebd. Séances Académie Sci.* **1908**, *146*, 530–532.

(33) Corti, H. R.; Trevani, L. N.; Anderko, A. In *Aqueous Systems at Elevated Temperatures and Pressures*; Palmer, D. A., Fernández-Prini, R., Harvey, A. H., Eds.; Academic Press: London, 2004; pp 321–375.

(34) Teraoka, I. *Frontmatter and Index*; Wiley Online Library, 2002.

(35) Sun, S. F. *Physical chemistry of macromolecules: basic principles and issues*; John Wiley & Sons, 2004.

(36) Zwanzig, R. *Nonequilibrium statistical mechanics*; Oxford University Press, 2001.

(37) Lehner, D.; Lindner, H.; Glatter, O. *Langmuir* **2000**, *16* (4), 1689–1695.

(38) Aragón, S. R.; Pecora, R. *Biopolymers* **1975**, *14* (1), 119–137.

(39) Cahill, S.; Bulusu, S. *Magn. Reson. Chem.* **1993**, *31* (8), 731–735.

(40) Zhao, R.; Tan, T.; Sandström, C. *J. Biol. Phys.* **2011**, *37* (4), 387–400.

(41) Cohen, Y.; Avram, L.; Frish, L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44* (4), 520–554.

(42) Price, W. S. *Concepts Magn. Reson.* **1997**, *9* (5), 299–336.

(43) Willis, S. A.; Dennis, G. R.; Zheng, G.; Price, W. S. *Macromolecules* **2010**, *43* (17), 7351–7356.

(44) González-Gaitano, G.; Rodriguez, P.; Isasi, J. R.; Fuentes, M.; Tardajos, G.; Sánchez, M. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2002**, *44* (1–4), 101–105.

(45) Munteanu, M.; Choi, S.; Ritter, H. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2008**, *62* (3–4), 197–202.

(46) Taylor, G. *Proc. R. Soc. Math. Phys. Eng. Sci.* **1953**, *219* (1137), 186–203.

(47) Aris, R. In *Proceedings of the Royal Society of London A: mathematical, physical and engineering sciences*; The Royal Society, 1956; Vol. 235, pp 67–77.

(48) Bello, M. S.; Rezzonico, R.; Righetti, P. G. *Science* **1994**, *266* (5186), 773–776.

(49) Jensen, S. S.; Jensen, H.; Cornett, C.; Møller, E. H.; Østergaard, J. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2014**, *92*, 203–210.

(50) Leclercq, L.; Reinhard, S.; Chamieh, J.; Döblinger, M.; Wagner, E.; Cottet, H. *Macromolecules* **2015**, *48* (19), 7216–7221.

(51) Cottet, H.; Biron, J.-P.; Martin, M. *The Analyst* **2014**, *139* (14), 3552.

(52) Ribeiro, A. C. F.; Leaist, D. G.; Esteso, M. A.; Lobo, V. M. M.; Valente, A. J. M.; Santos, C. I. A. V.; Cabral, A. M. T. D. P. V.; Veiga, F. J. B. *J. Chem. Eng. Data* **2006**, *51* (4), 1368–1371.

(53) Ribeiro, A. C. F.; Valente, A. J. M.; Santos, C. I. A. V.; Prazeres, P. M. R. A.; Lobo, V. M. M.; Burrows, H. D.; Esteso, M. A.; Cabral, A. M. T. D. P. V.; Veiga, F. J. B. *J. Chem. Eng. Data* **2007**, *52* (2), 586–590.

(54) Longsworth, L. G. *J. Phys. Chem.* **1954**, *58* (9), 770–773.

(55) Paduano, L.; Sartorio, R.; Vitagliano, V.; Costantino, L. *J. Solut. Chem.* **1990**, *19* (1), 31–39.

(56) Ribeiro, A. C. F.; Santos, C. I. A. V.; Lobo, V. M. M.; Cabral, A. M. T. D. P. V.; Veiga, F. J. B.; Esteso, M. A. *J. Chem. Eng. Data* **2009**, *54* (1), 115–117.

(57) Jensen, H.; Østergaard, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132* (12), 4070–4071.

(58) Svergun, D. I.; Koch, M. H. J. *Rep. Prog. Phys.* **2003**, *66* (10), 1735.

(59) Hollamby, M. J. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2013**, *15* (26), 10566–10579.

(60) Bonini, M.; Rossi, S.; Karlsson, G.; Almgren, M.; Lo Nostro, P.; Baglioni, P. *Langmuir* **2006**, *22* (4), 1478–1484.

(61) Wu, A.; Shen, X.; He, Y. *J. Colloid Interface Sci.* **2006**, *302* (1), 87–94.

Chapitre 3 :

Etude d’assemblages supramoléculaires de cyclodextrines

Table des matières

I- Etude de CDs substituées en solution 118

A- Mise en évidence du phénomène d'auto-inclusion 121

1- Analyse des propriétés en solution 121

2- Caractérisation de l'association hôte/invité[14] 122

a. Etude de 5 et 6 par analyses RMN ROESY 122

b. Etude de 5 et 6 par analyses ITC 123

B- Détermination de conditions permettant d'éliminer les agrégats non spécifiques 125

1- Utilisation de conditions dissociatives 125

2- Utilisation de conditions séparatives 128

II- Etude de CDs substituées et pontées en solution 136

A- Etude des α-CDs pontées 137

1- Etude des complexes α-CDs pontées/invités : choix de l'invité et de la taille du pont 138

a. Etude de l'interaction des CDs pontées avec l'acide benzoïque 139

i. Etude par analyses de dichroïsme circulaire 139

ii. Etude par analyses ITC 142

b. Etude de l'interaction des CDs pontées avec les dérivés de l'aniline 154

i. Etude par analyses ITC en milieu non tamponné 154

ii. Etude par analyses ITC en milieu tamponné 156

c. Etude du comportement en solution des CDs pontées 163

i. Présence d'un équilibre acido-basique ? 163

ii. Présence d'un équilibre d'inclusion CD/TFA ? 166

iii. Présence d'un équilibre d'auto-association des α-CDs pontées ? 167

2- Etude d'α-CD-C_4 substituées 170

a. Étude de l'α-CD-C_4 substituée par un espaceur propylamine 170

b. Étude de l'α-CD-C_4 substituée par un espaceur propylamide 173

c. Étude de l'effet d'additifs et de la température sur les α-CD-C_4 monosubstituées 175

i. Effet de l'ajout d'ions cosmotropes 176

ii. Effet de la température 177

iii. Effet de l'état de charge 177

B- Etude des β-CDs pontées 181

1- Etude de complexes β-CD-Cn/Adamantane 181

a. Etude du comportement en solution des β-CD pontées 182

i. Présence d'un équilibre acido-basique ? 183

ii. Présence d'un équilibre d'inclusion CD/TFA ? 184

b. Etude de l'effet de la taille du pont sur les complexes β-CDs pontées/dérivés adamantane 186

2- Etude de β-CDs pontées et substituées 191

a. Etude des propriétés en solution de 23 et 24 192

b. Etude de propriétés thermodynamiques de 23 et 24 193

c. Détermination de la forme des assemblages de 23 et 24 197

d. Détermination des dimensions des assemblages de 23 et 24 via la mesure de leurs coefficients de diffusion 200

i. Détermination des coefficients de diffusion de 23 et 24 par analyses TDA 200

ii. Comparaison des coefficients de diffusion mesurés par TDA et RMN 203

iii. Détermination du degré de polymérisation 204

III- Conclusion 207

Bibliographie 208

Ce projet a pour objectif la formation de polymères supramoléculaires (PSM) linéaires de CDs solubles dans l'eau et susceptibles de s'assembler sous forme de structures hiérarchiques de diamètre contrôlé. Pour cela, nous avons choisi d'utiliser comme briques moléculaires des monomères hétéro-ditopiques de CDs pouvant s'auto-assembler en PSM par interactions hôte/invité, puis sous forme de faisceaux de PSM via des interactions secondaires.

Les études précédemment réalisées sur la formation de PSM de CDs ont permis de mettre en évidence des paramètres influençant leur formation et leur structure tels que la taille de la molécule invitée[1], la nature de l'espaceur sélectionné[2] ainsi que leur position sur la CD[3].

En se basant sur cette littérature, nous avons, dans un premier temps, déterminé les couples CD/invité les plus intéressants pour la formation de PSM (**Figure 1-a**).

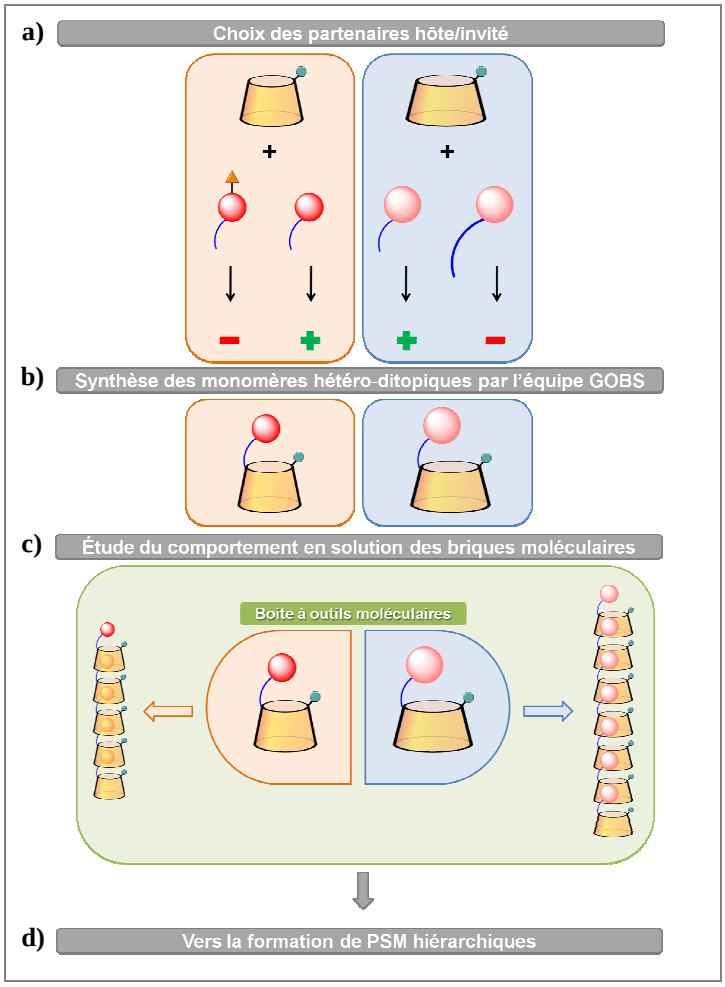


Figure 1 : *Schéma des différentes étapes du projet allant* ***a)*** *du choix,* ***b)*** *à l'élaboration et* ***c)*** *à la caractérisation de monomères hétéro-ditopiques pour* ***d)*** *la formation de PSM hiérarchiques de CDs.*

Une fois les monomères hétéro-ditopiques correspondants synthétisés (**Figure 1-b**), il s'est agit, dans un deuxième temps, de caractériser leur comportement en solution ainsi que de mettre en évidence des conditions physico-chimiques permettant de favoriser la formation de PSM (**Figure 1-c**), l'objectif étant de disposer, à l'issue de cette étude, de plusieurs PSM ayant des propriétés différentes et une fonctionnalité additionnelle permettant d'aller via des interactions secondaires vers la formation d'assemblages hiérarchiques de structures et de tailles variées (**Figure 1-d**).

I- Etude de CDs substituées en solution

L'adamantane est une molécule invitée connue pour avoir une forte interaction avec les β-CDs[4]. Nous avons donc porté le choix de notre monomère hétéro-ditopique CD/invité sur le couple β-CD/Adamantane.

La formation de PSM linéaires à base de complexe β-CD/Adamantane a été particulièrement étudiée par le groupe de J. V. Tato[5,6]. Dans ce but, ils ont synthétisé un composé substitué, au niveau du col primaire, par un groupement adamantane porté par une fonction amide servant d'espaceur rigide[5] (**Figure 2-a**). Cependant, ce monomère s'est avéré être insoluble dans l'eau et la formation de PSM n'a été obtenue qu'après cristallisation des CDs dans une solution de DMF comportant 33% d'eau.

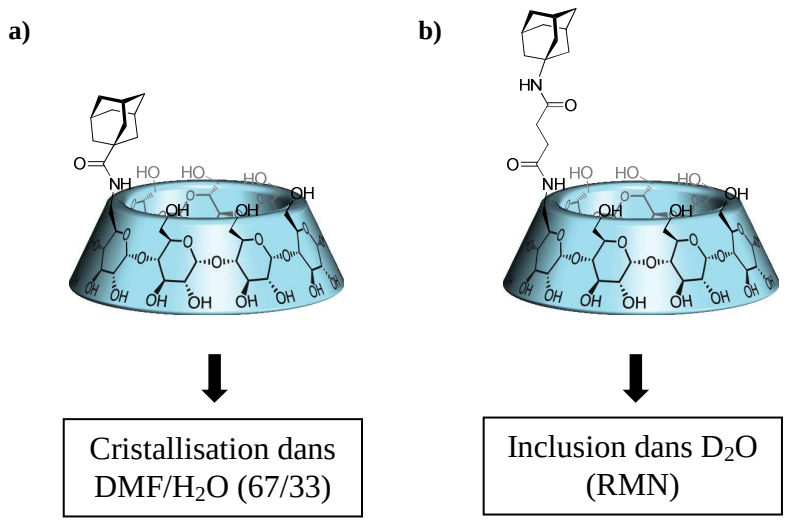


Figure 2 : *Monomères hétéro-ditopiques β-CD-Adamantane comportant un espaceur* ***a)*** *rigide ou* ***b)*** *flexible*[5,6].

Afin de pallier ce problème de solubilité, J. V. Tato et al.[6] ont développé un composé comportant un espaceur plus hydrophile mais également plus flexible (**Figure 2-b**). Ce nouveau monomère est effectivement soluble dans l'eau à 25°C pour des concentrations inférieures à 7 mM et l'analyse par RMN ROESY d'une solution de CDs à 7 mM à 30°C a montré une insertion de l'adamantane dans la cavité de la CD[6].

Dans le but de former des PSM à base de β-CDs fonctionnalisées sur le col primaire par un groupement adamantane, l'équipe GOBS a choisi d'utiliser un espaceur comportant le groupement rigide triazole, suivi d'une partie soit rigide, composé **1**, soit flexible, composé **3**[7] (**Figure 3**). Ils ont également ajouté à ces deux molécules, un groupement acide carboxylique dans le but de promouvoir la formation d'assemblages hiérarchiques via une interaction secondaire de type électrostatique. La synthèse de chaque composé bifonctionnel **2** et **4** (**Figure 3**) a ainsi conduit à un mélange de deux isomères (A/E) et (A/D). Cependant, tous ces composés se sont avérés être insolubles dans l'eau. Pour atteindre une solubilité de ces composés, un mélange 50/50 DMSO/H_2O est nécessaire.

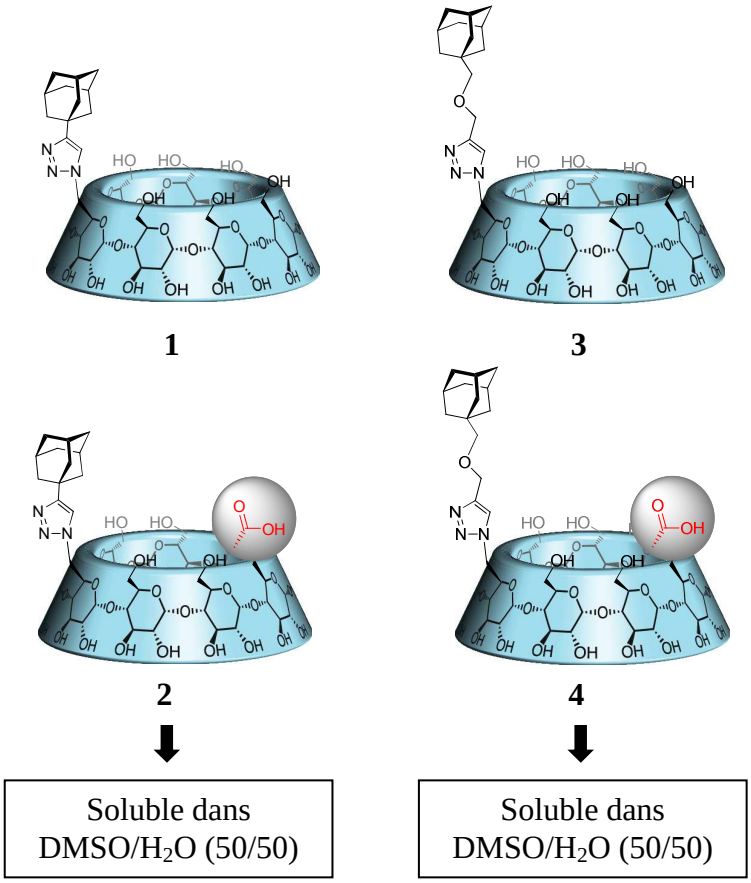
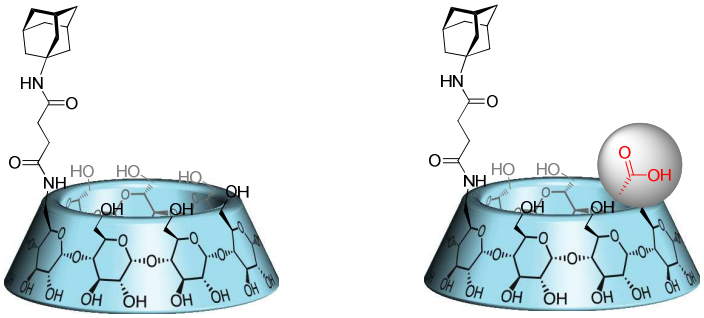


Figure 3 : *Monomères hétéro-ditopiques de β-CDs monofonctionnalisées* ***1****,* ***3*** *ou bifonctionnalisées* ***2****,* ***4***[7].

Ces résultats, comme ceux précédemment obtenus par J. V. Tato et al.[5] et A. Harada et al.[2] montrent qu'un compromis est à trouver entre la structure de l'espaceur et la solubilité en milieu aqueux du composé.

En conséquence, l'équipe GOBS a porté son attention sur la synthèse du composé β-CD-Adamantane comportant l'espaceur flexible développé par J. V. Tato[6] (**Figure 4** - composé **5**). Ils ont ajouté un acide carboxylique à ce monomère (**Figure 4** - composé **6**) comme seconde fonctionnalité qui permettrait la formation d'assemblages hiérarchiques. Ce dernier composé a été obtenu sous forme d'un mélange d'isomères (A/E) et (A/D). La caractérisation de ces 2 composés est décrite dans cette partie.


HN
O
O
NH
HO
HO
HO
OH
OH
OH

A-Mise en évidence du phénomène d'auto-inclusion

1- Analyse des propriétés en solution

Des mesures de viscosité et des analyses DLS ont été effectuées sur les composés **5** et **6** afin de mettre en évidence la formation de PSM. Après filtration des solutions de composés **5** et **6** à 5 mM sur membrane de 0.45 µm (**Tableau 1**), les analyses DLS ont montré la présence de particules ayant un diamètre hydrodynamique (D_h) d'une centaine de nanomètres, comme précédemment observé par J. V. Tato et al.[6].

Tableau 1 : *Résultats des mesures de viscosité relative, des analyses DLS et RMN DOSY effectuées sur les composés **5** et **6**.*

		5	**6**	
Viscosité relative[a]		**1.0**	**1.0**	
	Concentration (mM)	5	5	
DLS[a, b]	**D_h (nm)**	**145 ± 2**	**160 ± 30**	**135 ± 10**
	kcoups/s	9	3	13
	Concentration (mM)	5	0.5	5
RMN DOSY[8]	**D_t x 10^{10} (m^2/s)**	2.6[c]	2.7[d]	
	D_h[e] (nm)	**1.5**	**1.4**	
	Concentration (mM)	1 - 10	10	

[a] Analyses effectuées en présence d'azoture de sodium à 10 g/L, selon les conditions utilisées par J. V. Tato et al.[6], afin d'éviter toute prolifération bactérienne dans les solutions analysées.
[b] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[c] Analyse effectuée sur un spectromètre 600 MHz dans D_2O à 300 K.
[d] Analyse effectuée sur un spectromètre 600 MHz dans un tampon phosphate à pH 10 à 300 K.
[e] Diamètre hydrodynamique calculé avec la relation de Stokes-Einstein (Chapitre 2 ; équation 26).

Cependant, des viscosités identiques à celles du solvant ont été mesurées pour ces deux solutions (**Tableau 1**). De plus, les analyses RMN DOSY[8] ont conduit à des coefficients de diffusion proches de celui de la β-CD native[9], correspondants à des diamètres hydrodynamiques de l'ordre du nanomètre (**Tableau 1**). Ces résultats montrent l'absence de formation de PSM de CDs dans ces conditions. Les particules détectées par DLS sont donc probablement des agrégats non spécifiques de CDs. En effet, les CDs natives sont connues pour former des agrégats non spécifiques d'une centaine de nanomètres en solution aqueuse[10–12]. Bien qu'étant présents en faible quantité[11,13], ils sont majoritairement détectés par analyses DLS car ils diffusent la lumière avec une intensité plus importante.

2- Caractérisation de l'association hôte/invité[14]

Afin de compléter ces résultats et d'expliquer l'absence d'association observée par viscosimétrie et RMN DOSY, une étude de l'interaction hôte/invité a été réalisée par RMN ROESY et ITC.

a. Etude de 5 et 6 par analyses RMN ROESY

Les analyses RMN ROESY ont été réalisées par l'équipe GOBS sur une solution de **5** dans D_2O et sur une solution de **6** préparée dans un tampon phosphate à pH 10[8]. Les deux spectres obtenus confirment l'inclusion du groupement adamantane dans la cavité de la CD observée par J. V. Tato et al.[6]. Cependant, l'étude des corrélations entre les protons de la cavité de la CD et ceux de l'adamantane montre, dans le cas du composé **5**, la présence d'une corrélation entre le proton H_a situé sur la partie inférieure du groupement adamantane et les protons H_5 situés au niveau du col primaire de la CD (**Figure 5-a** et **b**). De plus, une corrélation est également observée entre le proton $H_{c\text{-}eq}$ situé sur la partie supérieure du groupement adamantane et les protons H_3 situés près du col secondaire de la CD. Ces deux corrélations indiquent clairement que l'inclusion du groupement adamantane a lieu par la face primaire de la cavité du composé **5** (**Figure 5-a** et **b**).

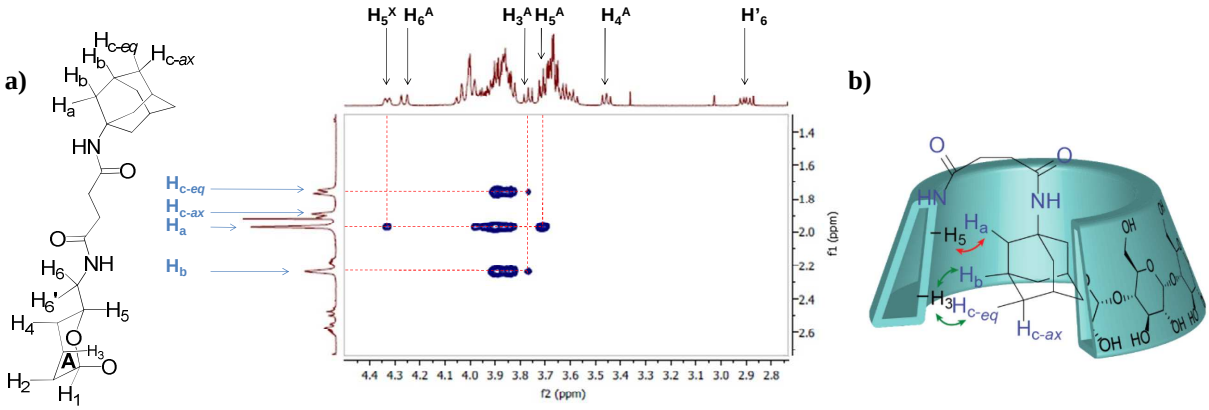


Figure 5 : a) *Spectre RMN ROESY de* ***5*** *(D_2O, 600 MHz, 300 K)*[8]. ***b)*** *Schéma de l'auto-inclusion de l'adamantane dans la cavité de* ***5*** *(figure reproduite à partir de la ref.* [8]*). L'exposant sur les protons de la CD noté sur le spectre RMN indique le cycle glucopyranose sur lequel est positionné le proton. Lorsque le cycle n'est pas identifié, la lettre X est indiquée.*

Dans le cas du composé **6**, les signaux des protons H_3 de la CD sont inclus dans un multiplet, leur corrélation avec le proton $H_{c\text{-}eq}$ de l'adamantane ne peut donc pas être isolée (**Figure 6-a**

et **b**). Cependant, la présence d'une corrélation entre le proton H_a de l'adamantane et les protons H_5 de la CD laisse penser que l'inclusion de l'adamantane a également lieu par le col primaire pour ce composé.

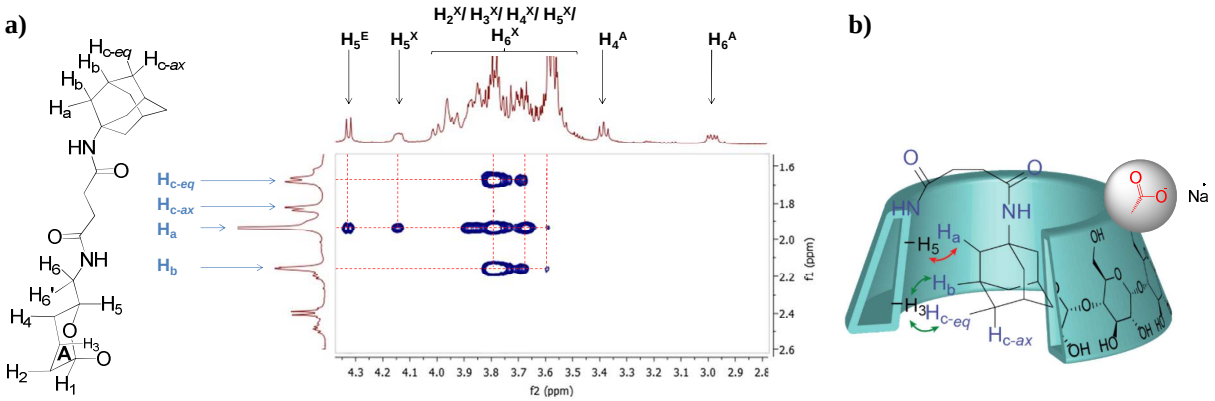


Figure 6 : a) *Spectre RMN ROESY de* ***6*** *(tampon phosphate pH 10, 600 MHz, 300 K).* ***b)*** *Schéma de l'auto-inclusion de l'adamantane dans la cavité de* ***6****. L'exposant sur les protons de la CD noté sur le spectre RMN indique le cycle glucopyranose sur lequel est positionné le proton. Lorsque le cycle n'est pas identifié, la lettre X est indiquée.*

Le diamètre du groupement adamantane (0.72 nm[15]) étant supérieur à celui du col primaire de la β-CD (0.60 nm), son inclusion en profondeur dans la cavité de la CD telle qu'elle est observée par RMN ROESY ne peut pas avoir lieu de manière directe via la formation de dimère de CDs ou via une auto-inclusion par voie directe. Ces résultats nous conduisent donc à conclure que la formation de PSM de composés **5** et **6** est inhibée par l'auto-inclusion du groupement adamantane du monomère (**Figure 5-b ; Figure 6-b**) qui a lieu par rotation de l'unité glucose sur laquelle ce dernier est greffé (cf. Chapitre 1 ; Figure 14)[16].

b. Etude de 5 et 6 par analyses ITC

Pour compléter cette étude, les composés **5** et **6** ont également été analysés par ITC à 20°C. L'isotherme obtenue lors de la dilution de **5** a été comparée à celle d'une solution équimolaire de β-CD native et d'un dérivé adamantane (**Figure 7-c**). De même l'isotherme obtenue lors de la dilution d'une solution de **6** a été comparée à celle d'une solution équimolaire de β-CD mono-carboxylate (β-CD-COO^-,Na^+), le composé **7** (**Figure 7-d**) et de dérivé adamantane (**Figure 7-f**).

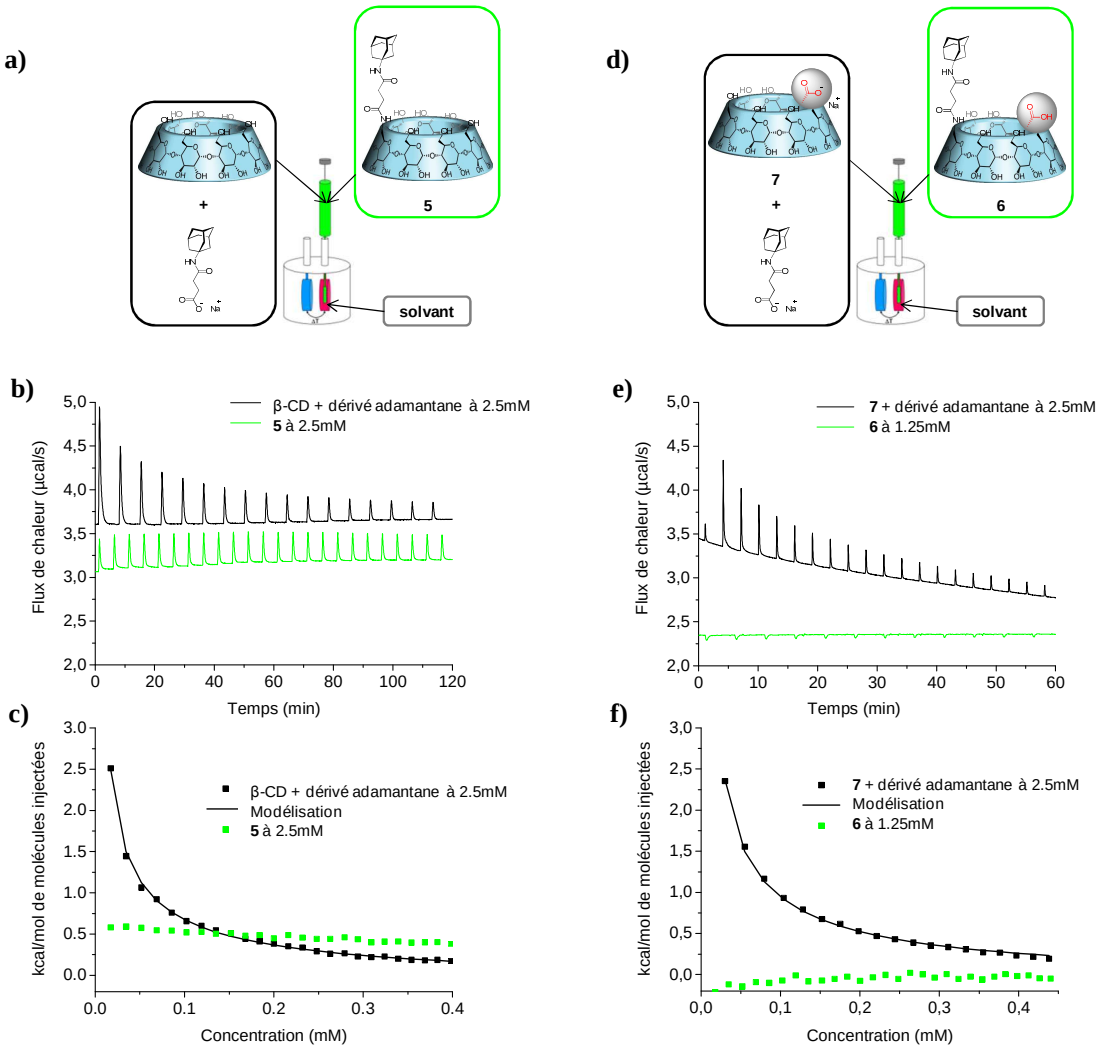


Figure 7 : a) *Schéma des analyses de dilution de* ***5*** *à 2.5 mM et du mélange équimolaire de β-CD + dérivé adamantane à 2.5 mM.* ***b)*** *Flux de chaleur correspondants et* ***c)*** *isothermes expérimentales modélisées.* ***d)*** *Schéma des analyses de dilution de* ***6*** *à 1.25 mM et du mélange équimolaire de* ***7*** *+ dérivé adamantane à 2.5 mM.* ***e)*** *Flux de chaleur correspondants et* ***f)*** *isothermes expérimentales modélisées. L'ensemble de ces analyses a été réalisé en présence d'azoture de sodium à 10 g/L, excepté la dilution du mélange équimolaire de* ***7*** *+ dérivé adamantane à 2.5 mM. Les modélisations ont été effectuées avec le modèle « 1 type de site ».*

On constate que les isothermes de dilution des mélanges témoins présentent une forte chaleur échangée qui décroît au cours de la dilution. Le traitement de ces isothermes, avec le modèle d'association pour les systèmes hôte/invité comportant un seul type de site, nommé modèle « 1 type de site », en imposant une stœchiométrie de 1, conduit à des constantes d'association (**Tableau 2**) cohérentes avec les valeurs de la littérature dans le cas de l'interaction β-CD/dérivés adamantane[4]. Au contraire, la chaleur échangée au cours des dilutions de **5** et **6**

reste faible et constante ce qui est signe d'une absence de dissociation de complexes hôte/invité. Les analyses ITC des composés **5** et **6** confirment donc l'absence de formation de PSM.

Tableau 2 : *Résultats de la modélisation, avec le modèle « 1 type de site », de l'association* ***β-CD****/dérivé adamantane en présence d'azoture de sodium à 10 g/L et de l'association* ***7****/dérivé adamantane dans* H_2O.

	β-CD + Adamantane	**7 + Adamantane**
Concentration globale (mM)	2.5	2.5
K (M^{-1})	35700	27340
ΔH (cal/mol)	-4340	-5030

L'ensemble des analyses réalisées sur les composés **5** et **6** permet donc d'expliquer l'inhibition de la formation de PSM par la présence d'un équilibre d'auto-inclusion très stable auquel sont soumis ces composés. A la lumière de ces résultats, on peut conclure que les solutions de **5** et **6** comportent deux types d'espèces en solution, d'une part, les CDs auto-incluses et d'autre part, les agrégats non spécifiques de CDs mis en évidence lors des analyses par DLS.

Afin de favoriser l'équilibre de polymérisation et d'effectuer la caractérisation de ces composés dans des conditions optimales, il est donc nécessaire de déterminer des conditions permettant d'éliminer l'équilibre d'auto-inclusion ainsi que la formation des agrégats non spécifiques. Pour cette étude, nous nous sommes focalisés sur le composé d'intérêt **6** possédant une fonction acide carboxylique. En effet, en plus d'augmenter la solubilité de **6**, la forme carboxylate de ce composé pourrait par la suite être utilisée pour la formation de structures hiérarchiques via des interactions secondaires du type électrostatique.

B- Détermination de conditions permettant d'éliminer les agrégats non spécifiques

1- Utilisation de conditions dissociatives

Les agrégats de CDs natives ont fait l'objet d'études de caractérisation à l'aide de diverses techniques telles que la DLS, la SLS ou la Cryo-MET[10–12]. Au cours de ces études, différentes conditions ont été appliquées afin de dissocier ces agrégats. Nous avons choisi d'évaluer, par

analyses DLS, l'efficacité de l'ajout de composés chaotropes (NaCl et urée), de l'utilisation d'une base et d'une augmentation de la température sur la dissociation des agrégats non spécifiques de CDs. Ces mesures ont été réalisées le jour de l'application des conditions (J0), le lendemain (J1) et quatre jours après (J4).

Nous avons, dans un premier temps, vérifié l'efficacité relative de ces conditions sur des solutions d'α-CD et de β-CD natives respectivement à 20 et 10 mM. Dans un deuxième temps, ces conditions ont été appliquées sur une solution de **6** à 10 mM préparée avec un équivalent de NaOH.

Les résultats obtenus sur les CDs natives (**Figure 8-a** et **b**) montrent que l'ajout de NaOH de 0.1 à 1 M est la condition la plus efficace pour dissocier totalement les agrégats, i.e. obtention d'une intensité diffusée négligeable et d'une taille monomère de particules en solution. Ce résultat est en accord avec ceux décrits dans la littérature[10,11,17].

Lors de l'ajout d'urée à 4 M et 8 M sur les CDs natives (**Figure 8-a** et **b)**, on observe une diminution de l'intensité diffusée avec la quantité d'urée ajoutée. Ce résultat indique que l'urée induit une dissociation des agrégats de CDs natives. Dans le cas de la β-CD native, ce résultat est en accord avec ceux obtenus par G. González-Gaitano et al.[11] et par W. L. Hinze et al.[17]. Par contre, dans le cas de l'α-CD native, W. L. Hinze et al.[17] observent une diminution de la solubilité en présence d'urée, ce qui est incohérent avec l'effet chaotrope connu de l'urée et observé lors de nos mesures.

L'ajout d'un sel chaotrope comme NaCl devrait aussi induire une augmentation de la solubilité[11]. Les analyses effectuées par DLS montrent effectivement une diminution importante de l'intensité diffusée de la solution d'α-CD native mais cette diminution est au contraire faible dans le cas de la β-CD native.

Enfin, une forte diminution de l'intensité diffusée par les solutions de CDs natives est observée après l'application d'une température de 60°C durant 24 heures. Cependant, la dissociation totale des agrégats n'est pas obtenue.

Afin de dissocier les agrégats précédemment observés dans les solutions de **6** (**Tableau 1**), nous avons choisi de tester les quatre types de traitement, avec des concentrations optimisées en soude et urée. Malheureusement aucune de ces conditions ne permet de réduire significativement l'agrégation (**Figure 8-c** et **d**).

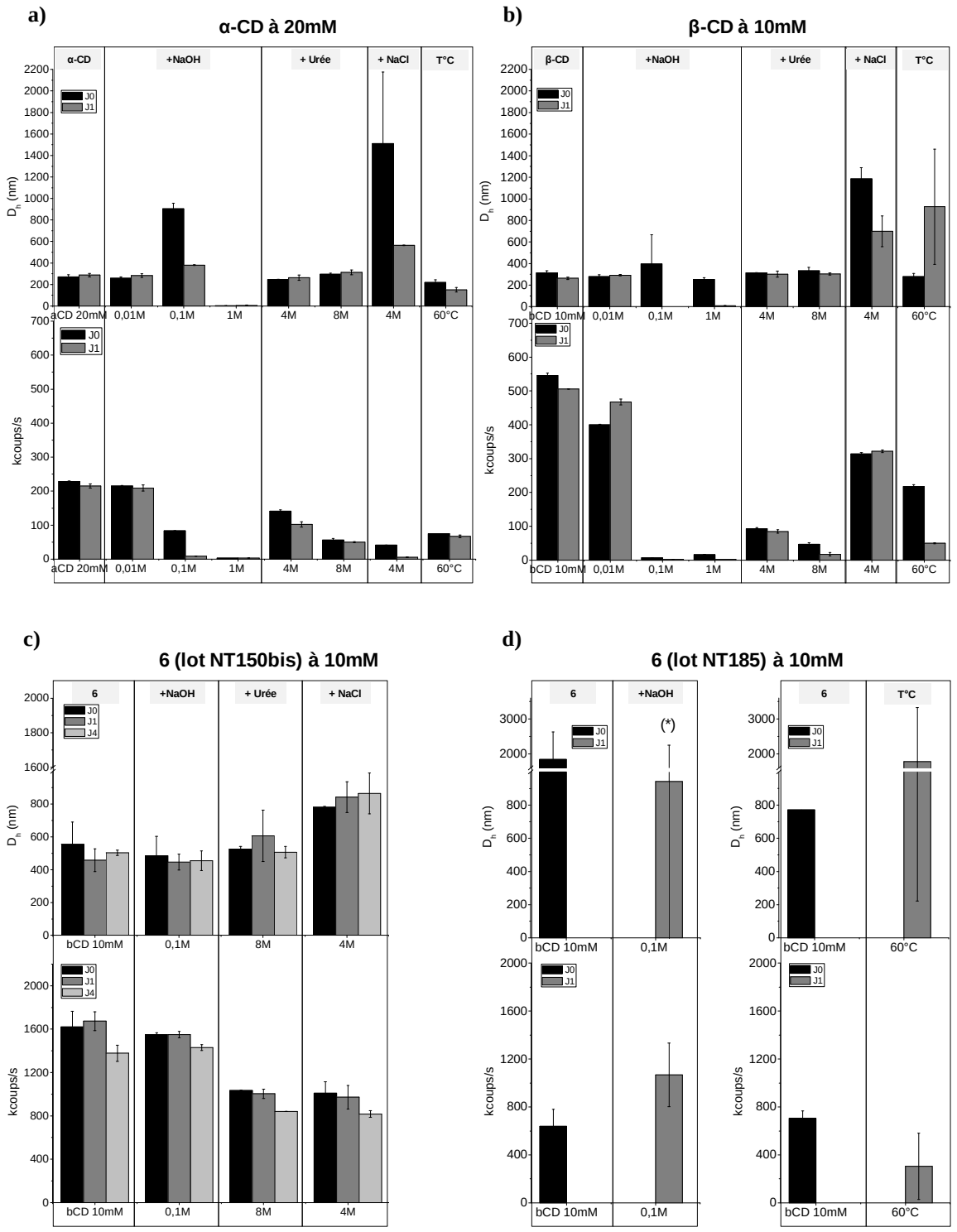


Figure 8 *: Effet de l'application de différentes conditions dissociatives sur la taille (D_h) et l'intensité diffusée (kcoups/s) de solutions de CDs le jour de l'application (J0), 1 jour après (J1) ou quatre jours après (J4) dans le cas* ***a)*** *de l'α-CD native à 20 mM,* ***b)*** *de la β-CD native à 10 mM,* ***c)*** *de* ***6*** *(lot NT150bis) à 10 mM et* ***d)*** *de* ***6*** *(lot NT185) à 10 mM. (*) Indique que la solution a précipité. Les solutions de CDs n'ont pas été filtrées avant analyses.*

L'ajout de NaOH à 0.1 M, l'additif le plus efficace sur les CDs natives, n'a provoqué aucun effet dissociatif sur le composé **6** (lot NT150bis) (**Figure 8-c**). Un deuxième essai a été réalisé, dans les mêmes conditions de préparation des solutions, mais en utilisant un autre lot de composé **6** (lot NT185). La solution témoin à 10 mM de ce lot présente des agrégats de taille plus élevée que ceux présents dans le lot NT150bis (**Figure 8-d**). L'ajout de NaOH à 0.1 M a conduit à la formation d'un précipité (**Figure 8-d**). Dans ce cas, la présence de NaOH à 0.1 M semble accentuer la déstabilisation des agrégats de grande taille présents dans le lot NT185. Cette variabilité du comportement en solution de **6** est peut-être inhérente aux CDs modifiées, i.e. formation non reproductible d'agrégats non spécifiques de CDs et pourrait également être due aux cyclohexyles résiduels présents en quantité faible (5 à 10 %) mais non contrôlée d'un lot à l'autre. On observe, en effet, une variation de la taille des agrégats pour des solutions préparées avec un même lot ainsi qu'en fonction du lot ou de la concentration de la solution mère utilisée pour la préparation de l'échantillon étudié (cf. Annexe 3 tableau A - 1). En conséquence, la purification des CDs modifiées doit être optimisée afin de simplifier la compréhension de l'étude de leur comportement en solution.

L'addition d'urée à 8 M ou de à NaCl 4M n'a induit qu'une faible diminution de l'intensité diffusée (**Figure 8-c**). Le chauffage à 60°C induit une diminution de l'intensité diffusée accompagnée d'une forte augmentation de la taille des particules qui peuvent s'expliquer par une sédimentation des agrégats (**Figure 8-d**).

L'ensemble de ces résultats montrent que le comportement en solution des agrégats de **6** est très différent de celui des agrégats de β-CD natives. Cela pourrait être dû à la différence de structure chimique du composé **6** et éventuellement à la présence des cyclohexyles résiduels qui pourraient conduire à la formation d'agrégats stabilisés par des interactions plus fortes que les liaisons hydrogènes responsables de la cohésion des agrégats de CDs natives. Ceci expliquerait la difficulté à dissocier les agrégats de **6** par les méthodes conventionnelles.

2- Utilisation de conditions séparatives

Suite à l'échec rencontré pour éliminer les agrégats de **6** via les méthodes dissociatives, nous avons choisi de mettre au point un protocole de séparation et quantification de ces agrégats. Pour cela, sur la base des méthodes connues dans le cas des CDs natives[11–13], nous avons utilisé la combinaison des procédés de centrifugation et filtration. Le contrôle de la présence d'agrégats avant et après application de ce protocole a été effectué par mesures de DLS.

Dans ce cadre, nous avons, dans un premier temps, souhaité déterminer si les agrégats de β-CDs natives et de **6** étaient de nature endogène ou exogène, i.e. issus de cristaux de CDs non solvatés ou de résidus de synthèse dans le cas du composé **6**. Pour cela, les échantillons de CDs à 10 mM (solution n°1) ont, un jour après leur préparation, été centrifugés à 9500 g pendant 1 heure afin de retirer les agrégats. Puis, le surnageant a été lyophilisé et utilisé pour préparer une nouvelle solution de CDs à 10 mM (solution n°2). Des mesures de DLS ont ensuite été effectuées sur ces nouvelles solutions afin de déterminer si elles comportaient des agrégats (**Figure 9**).

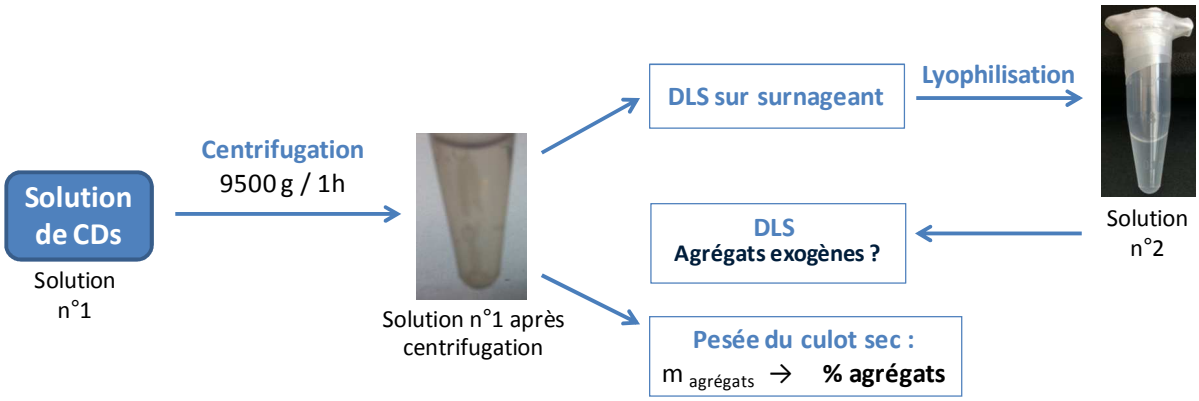


Figure 9 : *Schéma du protocole de détermination de la nature endogène ou exogène des agrégats de CDs.*

Après centrifugation, l'intensité diffusée (kcoups/s) par les solutions de β-CD native et de composé **6** devient négligeable (**Tableau 3** ; **Tableau 4**). Cependant, on retrouve des agrégats dans les solutions n°2 préparées avec les lyophilisats des deux surnageants (**Tableau 3** ; **Tableau 4**). Ces résultats montrent donc que les agrégats sont de nature endogène.

Tableau 3 : *Suivi par DLS de la taille des particules des solutions n°1 et n°2 de β-CD et quantification des agrégats éliminés dans la solution n°1.*

	β-CD à 10.2 mM solution n°1		**β-CD à 10 mM[b] solution n°2**
Traitement effectué	/	**Centrifugation (9500 g / 60 min)**	/
kcoups/s	**810 ± 1**	**8 ± 1**	**5900 ± 160**
D_h (nm)[a]	**290 ± 20**	**60 ± 10**	**2800 ± 1340**
Indice de polydispersité	0.37	0.25	0.52
Nombre de mesures	2	2	6
% d'agrégats retirés	/	**10**	/
Conc. finale (mM)	/	**9.2**	/

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Solution préparée avec le lyophilisat du surnageant de la solution n°1.

Tableau 4 : *Suivi par DLS de la taille des particules des solutions n°1 et n°2 de* ***6*** *et quantification des agrégats éliminés dans la solution n°1.*

	6 à 10 mM (lot NT185) solution n°1		**6 à 10 mM[b] (lot NT185) solution n°2**
Traitement effectué	/	**Centrifugation (9500 g / 60 min)**	/
kcoups/s	**1340**	**5**	**300 ± 10**
D_h (nm)[a]	**1100 ± 250**	**90 ± 80**	**215 ± 10**
Indice de polydispersité	0.37	0.58	0.2
Nombre de mesures	8	3	6
% d'agrégats retirés	/	**6.2**	/
Conc. finale (mM)	/	**9.4**	/

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Solution préparée avec le lyophilisat du surnageant de la de la solution n°1 de composé **6**.

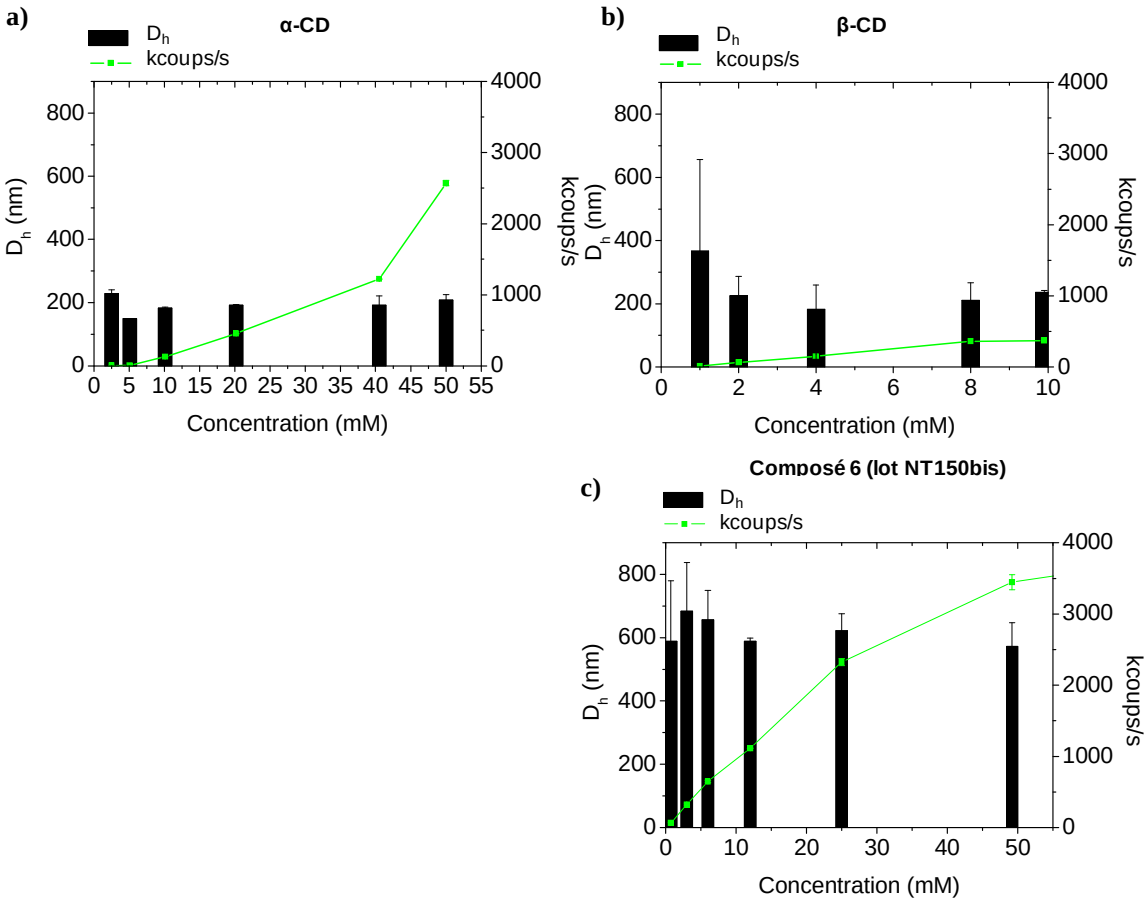


Figure 10 : *Evolution de la taille de particules (D_h) et de l'intensité diffusée (kcoups/s) en fonction de la concentration en* ***a)*** *α-CD,* ***b)*** *β-CD dans H_2O et* ***c) 6*** *(lot NT150bis) dans un tampon phosphate à pH 10.*

Dans un deuxième temps, nous avons mesuré, par DLS, la taille des agrégats en fonction de la concentration afin d'étudier leur équilibre en solution. Les échantillons analysés ont été préparés par dilutions successives de solutions mères, non centrifugées, à 50, 10 et 100 mM dans les cas respectifs de l'α-CD, de la β-CD et du composé **6**. Les analyses DLS montrent que des agrégats de taille à peu près constante sont présents quelle que soit la concentration en CDs (**Figure 10**).

Afin de déterminer si la quantité d'agrégats formée est constante pour une concentration donnée, deux solutions de **6** ont été préparées à 5 mM puis centrifugées. On constate que le pourcentage massique d'agrégats de **6** (extraits par centrifugation) est non reproductible pour une solution préparée à la même concentration (**Tableau 5**). Il varie de 5 à 15 % et ne permet donc pas la détermination d'une concentration d'agrégation critique (CAC) fiable. Ce résultat est cohérent avec la variabilité de la taille des agrégats précédemment observée pour des solutions de **6** à la même concentration et non centrifugées (cf. Annexe 3 tableau A - 1). L'ensemble de ces résultats confirme le fait que les agrégats sont maintenus par de fortes interactions et sont probablement en échange très lent avec les espèces en solution.

Tableau 5 : *Pourcentage massique d'agrégats extraits de deux solutions de **6** à 5 mM.*

6 (lot NT185)	**5 mM[b]**	**5 mM[c]**
Traitement effectué	**Centrifugation (9500 g / 60min)**	
kcoups/s	**5**	**4**
D_h (nm)[a]	**480 ± 900**	**100 ± 5**
Indice de polydispersité	0.53 ± 0.2	0.72 ± 0.2
Nombre de mesures	4	3
% d'agrégats retirés	**14.6**	**4.2**
Conc. finale (mM)	**4.3**	**4.8**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Solution directement préparée à 5 mM.
[c] Solution préparée par dilution d'une solution mère à 10 mM (non centrifugée).

Finalement, pour éliminer les agrégats non spécifiques et éviter que leur présence ne perturbe l'analyse des interactions étudiées dans ce projet, nous avons appliqué aux échantillons une centrifugation à 15300 g (ou 21380 g en fonction de l'équipement à notre disposition) pendant 30 min afin d'éliminer la majorité des agrégats. Les agrégats résiduels ont ensuite été retirés par filtration sur membrane de porosité de 0.2 µm. Le culot issu de la centrifugation ainsi que le filtre ont par la suite été séchés puis pesés. La masse obtenue a été déduite des tares respectives du flacon et du filtre afin de quantifier la masse d'agrégats extraits à l'issue de l'ensemble de ce processus et de corriger la concentration finale de CDs en solution. Le suivi

de l'élimination des agrégats a été effectué par mesures DLS avant traitement, après centrifugation puis après filtration de chaque solution de CDs.

Suite à l'application de ce protocole de retrait des agrégats au composé **6**, on constate que la centrifugation suivie d'une filtration constitue une méthode efficace pour éliminer et quantifier les agrégats présents dans des solutions de **6** d'une concentration de l'ordre de 10 mM (**Tableau 6-a** et **b**).

Tableau 6 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation puis filtration de solutions de **6** à 10, 12 ou 30 mM.*

a)	**6 à 10 mM[b](lot NT185)**			
Traitement effectué	/	**Centrifugation (21380 g / 30 min)**	**Filtration (0.2 µm)[c]**	**J5[d]**
kcoups/s	**825**	**95**	**4**	**6**
D_h (nm)[a]	**310 ± 10**	**170 ± 10**	**2.6 ± 0.3**	**2.6 ± 0.3**
Indice de polydispersité	0.31	0.24	0.33	0.28
Nombre de mesures	2	2	2	2
% d'agrégats retirés	/	/	**5.8**	/
Conc. finale (mM)	/	/	**9.4**	/

b)	**Composé 6 à 12 mM[b] (lot NT186.2)**		
Traitement effectué	/	**Centrifugation (15300 g / 30 min)**	**Filtration (0.2 µm)[c]**
kcoups/s	**120**	**15**	**4**
D_h (nm)[a]	**240 ± 1**	**160**	**2.8 ± 0.5**
Indice de polydispersité	0.39	0.72	0.33
Nombre de mesures	2	1	2
% d'agrégats retirés	/	/	**3.7**
Conc. finale (mM)	/	/	**11.6**

c)	**6 à 30 mM[b] (lot NT186.2)**			
Traitement effectué	/	**Centrifugation (15300 g / 30 min)**	**Filtration (0.2 µm)[c]**	**J5[d]**
kcoups/s	**11450**	**245**	**35**	**170**
D_h (nm)[a]	**710 ± 30**	**400 ± 50**	**110 ± 2**	**560 ± 110**
Indice de polydispersité	0.22	0.52	0.8	0.8
Nombre de mesures	2	2	2	2
% d'agrégats retirés	/	/	**24**	/
Conc. finale (mM)	/	/	**23.7**	/

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Solution préparée dans NaOH 1 équivalent un jour avant les mesures par DLS.
[c] Filtration consécutive à la centrifugation.
[d] Mesure effectuée 5 jours après le traitement par centrifugation et filtration.

De plus, les solutions ainsi traitées restent stables pendant plusieurs jours (**Tableau 6-a**), ce qui indique que la formation des agrégats de **6** est très lente. Cependant, quand la concentration en composé **6** est plus importante, des agrégats résiduels restent présents après ce traitement et leur taille évolue plus rapidement au cours du temps (**Tableau 6-c**). En conséquence, excepté dans le cas d'études en fonction de la concentration, nous avons travaillé avec des solutions de **6** d'environ 10 mM.

Dans le cas de la solution de β-CD native à 10 mM, ce protocole est partiellement efficace car bien que la centrifugation permette de retirer la majorité des agrégats, la filtration induit une augmentation de la taille des agrégats résiduels (**Tableau 7**).

Tableau 7 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration d'une solution de β-CD à 10 mM.*

	β-CD à 10 mM[b]		
Traitement effectué	/	**Centrifugation (21380 g / 30 min)**	**Filtration (0.2 µm)[c]**
kcoups/s	**425 ± 45**	**15**	**60**
D_h (nm)[a]	**260 ± 25**	**65 ± 5**	**130 ± 5**
Indice de polydispersité	0.44	0.49	0.22
Nombre de mesures	4	1	2
% d'agrégats retirés	/	/	**3.7**
Conc. finale (mM)	/	/	**10**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Solution préparée un jour avant les mesures par DLS.
[c] Filtration consécutive à la centrifugation.

Enfin, cette méthode est totalement inefficace pour éliminer les agrégats présents dans les solutions d'α-CD à 20 mM. Elle conduit, en effet, à une augmentation de la taille et de la polydispersité des agrégats (**Tableau 8**). Ce résultat est différent de celui obtenu par G. González-Gaitano et al.[11] qui ont observé une diminution de la taille des agrégats d'α-CD, après filtration sur une membrane de 0.2 µm d'une solution à 12 mM. Nous n'avons pas investigué plus sur l'origine de ce désaccord.

La proportion d'agrégats de CDs natives étant faible[11,13], nous avons choisi de ne pas leur appliquer ce traitement pour ne pas prendre le risque de perturber la stabilité colloïdale de ces solutions. En conséquence, les analyses par DLS des solutions de CDs natives non traitées par ce procédé ont uniquement été effectuées pour avoir une valeur référence de l'intensité diffusée et de la taille des agrégats présents en solution mais la quantité de ces derniers a été négligée dans le calcul de la concentration des CDs natives.

Tableau 8 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration d'une solution de α-CD à 20 mM.*

	α-CD à 20 mM[b]		
Traitement effectué	/	**Centrifugation (21380 g / 30 min)**	**Filtration (0.2 µm)[c]**
kcoups/s	**1350**	**1670 ± 225**	**3290 ± 230**
D_h (nm)[a]	**290 ± 10**	**410 ± 10**	**490± 170**
Indice de polydispersité	0.16	0.16	0.54
Nombre de mesures	2	2	4
% d'agrégats retirés			**0**
Conc. finale (mM)	/	/	**20**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Solution préparée un jour avant les mesures par DLS.
[c] Filtration consécutive à la centrifugation.

Une fois les conditions d'élimination des agrégats mises au point, le composé **6** a été caractérisé par analyse ITC, afin de confirmer l'absence d'auto-association en absence d'agrégats non spécifiques. Pour cela, la dissociation d'une solution de **6** a été comparée à celle d'une solution équimolaire de composé **7** (β-CD-COO^-,Na^+) et d'un dérivé de l'adamantane. Les solutions des composés **6** et **7** ont été préparées selon le protocole de retrait des agrégats décrit précédemment (Les résultats de caractérisation par DLS et le pourcentage d'agrégats retirés se trouvent en Annexe 3 ; Tableau A - 2).

Au cours de la dilution d'un mélange équimolaire à 2.5 mM de **7** et de dérivé adamantane, un signal décroissant a été obtenu (**Figure 11-b**). Ce signal a conduit après traitement de l'isotherme résultante (**Figure 11-c)**, par le modèle « 1 seul type de site », à une constante d'association $K = 2.8 \times 10^4\ M^{-1}$ et à une enthalpie d'association $\Delta H = -5.06$ kcal/mol en accord avec la littérature[4]. Au contraire, la dilution du composé **6** à 2.9 mM n'a pas induit d'échange de chaleur ce qui confirme l'absence de structure supramoléculaire (**Figure 11-b et c**).

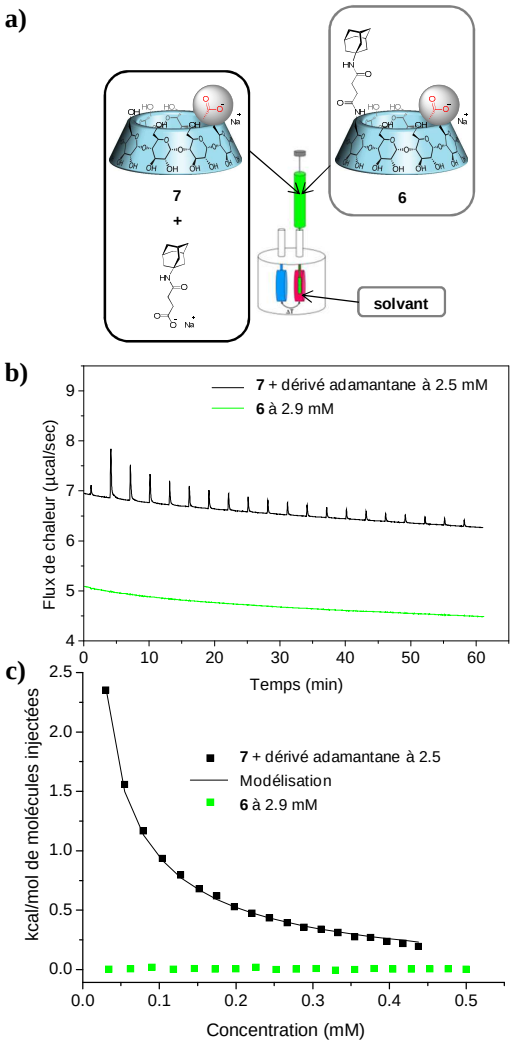


Figure 11 : a) *Schéma des analyses de dilution de* ***6*** *(lot NT186.2) à 2.9 mM et du mélange équimolaire de* ***7*** *+ dérivé adamantane à 2.5 mM.* ***b)*** *Flux de chaleur correspondants et* ***c)*** *isothermes obtenues. La modélisation a été effectuée avec le modèle « 1 type de site »*

En conclusion, nous avons réussi à supprimer la majorité des agrégats de **6** par centrifugation puis filtration. Avant traitement, la DLS indique la présence d'objets de grande taille qui pourraient être interprétés comme des PSM. En réalité, une fois ces agrégats éliminés, les autres techniques utilisées, i.e., ITC, viscosimétrie et SANS (les analyses de **6** par ces deux dernières techniques seront présentées à la fin de ce chapitre cf. **Figure 46** et **Figure 49**) indiquent l'absence d'assemblage, ce qui s'explique par l'auto-inclusion mise en évidence par RMN ROESY sur les composés **5** et **6**. Par conséquent, la DLS n'est pas appropriée pour détecter la présence de ces PSM car le signal est dominé par la très faible quantité d'agrégats résiduels. D'autre part, une stratégie différente doit être mise en place pour éviter l'auto-inclusion et permettre la formation de PSM.

II- Etude de CDs substituées et pontées en solution

Afin d'empêcher l'équilibre d'auto-inclusion d'avoir lieu, le savoir-faire de l'équipe GOBS en fonctionnalisation sélective de CDs a permis de développer des CDs comportant un pont aliphatique reliant le C_6 substitué de la CD et le C_6 situé à l'opposé sur le col primaire[8] (**Figure 12**).

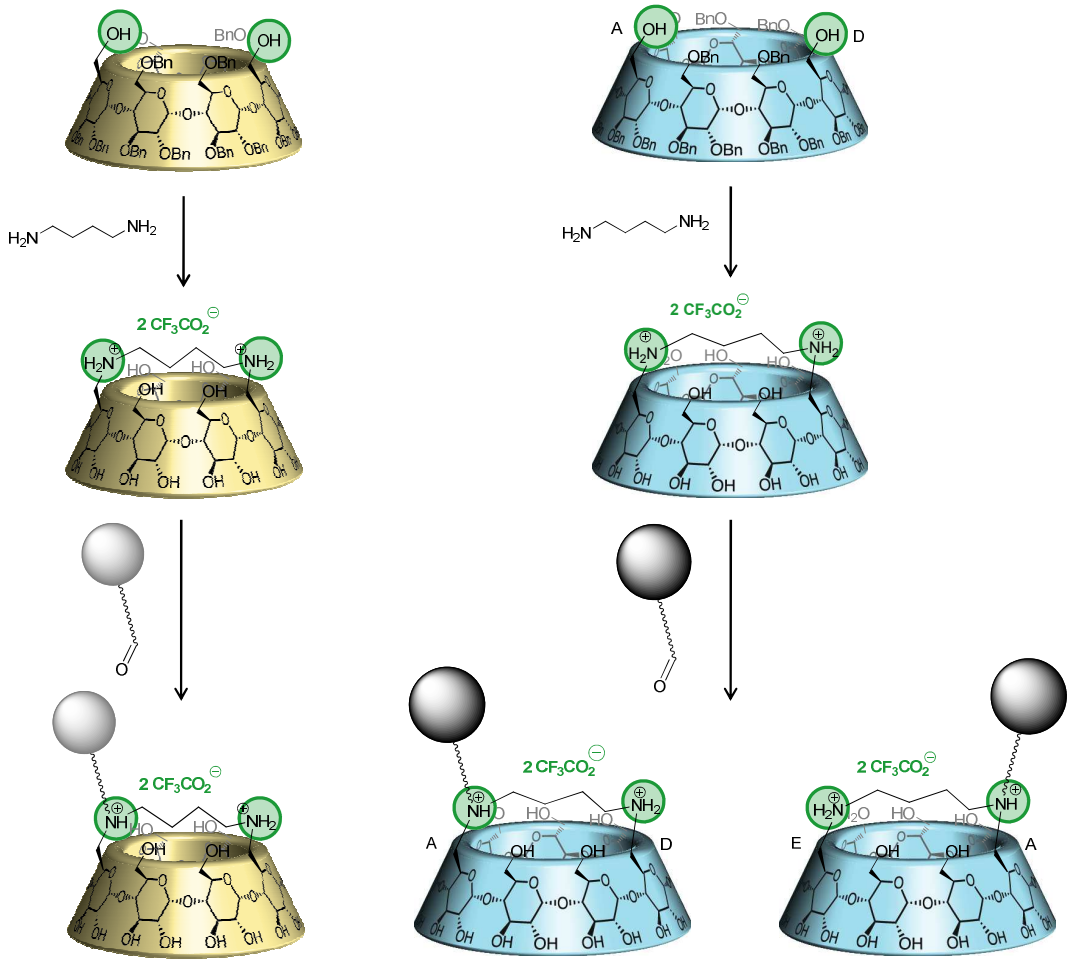


Figure 12 : *Schéma de la conception des α et β-CDs pontées au niveau du col primaire.*

Le cycle portant le substituant de la CD ainsi pontée est alors figé et ne peut plus engager la molécule dans l'équilibre d'auto-inclusion par la voie indirecte décrite par T. Kaneda et al.[16] (cf. Chapitre 1 ; Figure 14). La présence du pont sur le col primaire empêche également l'auto-inclusion du groupement invité par voie directe ainsi que la formation de dimère tête à tête (**Figure 13**). De plus, le pont aliphatique étant greffé sur la CD par des fonctions amines, les ammoniums formés après protonation par l'acide trifluoroacétique (TFA) permettent d'augmenter la solubilité de la CD ainsi modifiée.

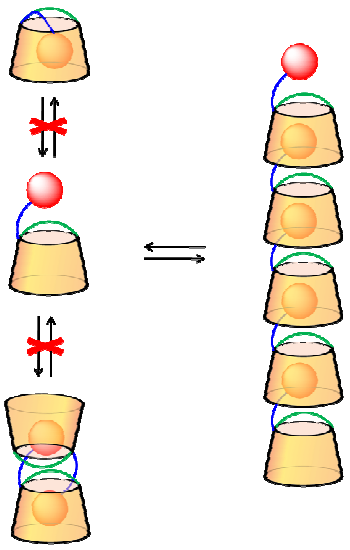


Figure 13 : *Schéma des équilibres favorisés et défavorisés en présence du pont au niveau du col primaire.*

L'ajout d'une chaine aliphatique au niveau du col primaire pourrait, en augmentant l'hydrophobie de la cavité, augmenter l'affinité des CDs pour les invités hydrophobes. Cependant, Y. Inoue et al.[18] ont montré que la force de l'interaction β-CD pontée/invité était réduite, par rapport à l'interaction β-CD/invité, si la gêne stérique occasionnée par la présence du pont empêche une inclusion optimale de l'invité. Au contraire, l'affinité est augmentée, comparée à la β-CD native, dans le cas d'invités de taille suffisamment petite pour que leur inclusion ne soit pas gênée par la présence du pont. Afin d'optimiser l'adéquation entre la taille de la cavité pontée et celle de l'invité, les choix de la taille du pont et du type d'invité sont donc importants.

A-Etude des α-CDs pontées

Dans le but d'obtenir un composé très soluble en milieu aqueux et d'ainsi déplacer l'équilibre de formation des PSM de CDs vers des degrés de polymérisation élevés tout en limitant la formation d'agrégats non spécifiques, nous avons, dans un premier temps, choisi d'appliquer cette stratégie aux α-CDs. La fonctionnalisation des α-CDs est, en outre, plus simple que celle des β-CDs.

1- Etude des complexes α-CDs pontées/invités : choix de l'invité et de la taille du pont

Afin de déterminer le couple hôte/invité le plus intéressant pour la conception de monomères hétéro-ditopiques susceptibles de former des PSM de CDs, nous avons étudié par ITC des systèmes bi-moléculaires constitués de CDs pontées modèles et de dérivés benzéniques comme molécules invitées. En effet, la taille du cycle benzénique s'adapte bien à celle de la cavité des α-CDs[19]. Ils peuvent ainsi conduire à des complexes ayant des constantes d'association de l'ordre de 1000 M^{-1} dans le cas de l'acide benzoïque par exemple[4].

Pour le choix des molécules modèles d'α-CDs pontées à synthétiser, l'équipe GOBS s'est basée sur les résultats de modélisation moléculaire effectuée à l'aide du logiciel Avogadro sur des α-CD comportant des ponts de trois longueurs différentes : les composés **8**, **9** et **10** ayant des ponts de 2, 4 et 6 carbones, respectivement (**Figure 14**).

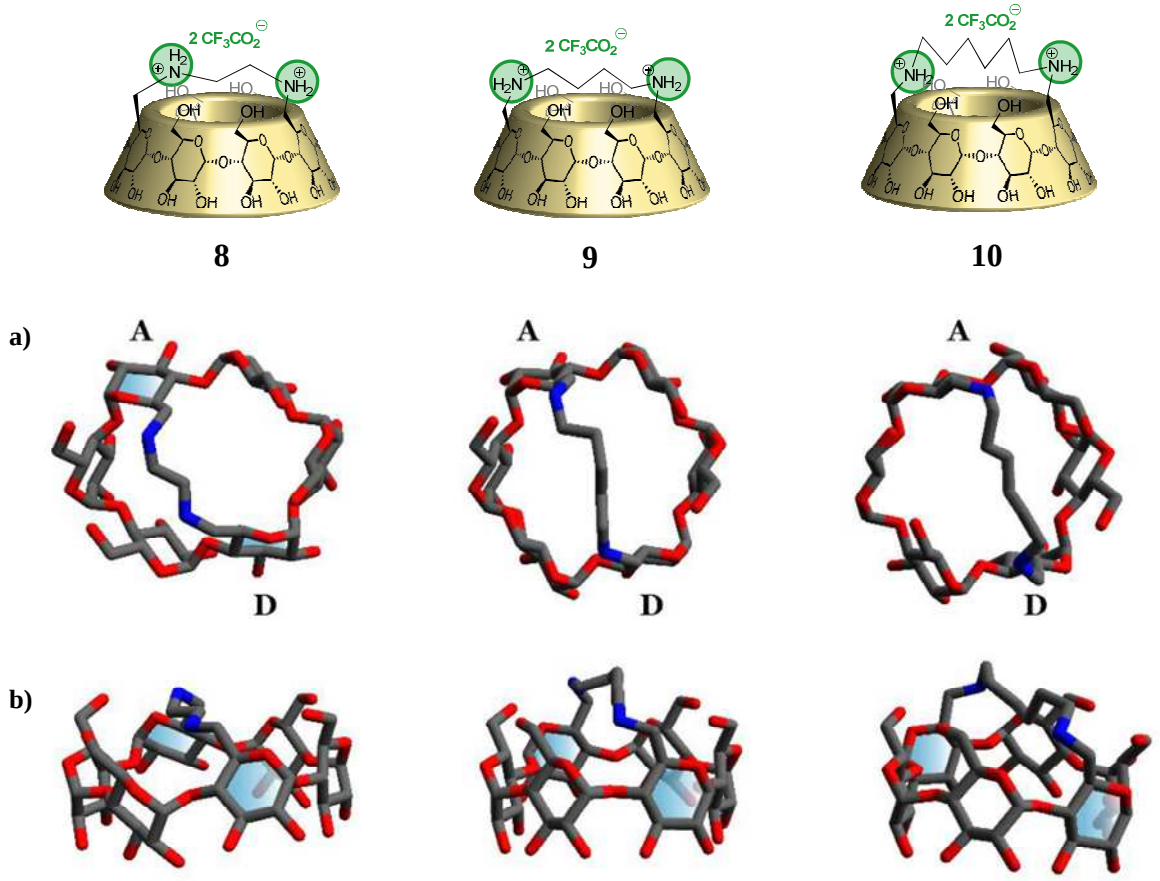


Figure 14 : *Modélisation avec le logiciel Avogadro des composés* ***8***, ***9*** *et* ***10*** *: a) vue de dessus et* ***b)*** *vue de coté (figure adaptée à partir de la réf.* [8]*).*

D'après la modélisation, le pont en C2 induit une déformation de la cavité par inclinaison des cycles A et D. Par contre, la forme de la cavité de l'α-CD semble moins perturbée avec le pont en C4. Le pont en C6 perturbe également peu la conformation de la CD mais pourrait entrer dans la cavité et ainsi induire une gêne stérique qui réduirait l'affinité des interactions hôte/invité.

Nous avons choisi d'étudier ces trois composés afin d'évaluer l'effet de CDs ayant des conformations différentes sur les interactions hôte/invité.

a. Etude de l'interaction des CDs pontées avec l'acide benzoïque

Dans un premier temps, l'interaction des différentes CDs avec l'acide benzoïque a été étudiée par mesure de dichroïsme circulaire (cd). Les CDs natives ne donnent pas de signal de dichroïsme circulaire aux longueurs d'ondes supérieures à 200 nm. Cependant, elles constituent un environnement chiral et en cas d'interaction avec un chromophore achiral, ce dernier peut alors présenter un signal de dichroïsme circulaire induit (icd). Les mélanges CD/acide benzoïque ont été effectués sur la base des travaux de K. Harata et al.[20] qui ont analysé par dichroïsme circulaire des mélanges, α-CD à 8mM / acide benzoïque à 1 mM, comportant un excès d'α-CD native pour favoriser la formation du complexe. Dans un deuxième temps, les paramètres thermodynamiques de l'interaction α-CD/acide benzoïque ont été déterminés par analyses ITC en titrant les solutions de CDs par une solution d'acide benzoïque concentrée.

i. Etude par analyses de dichroïsme circulaire

Concernant l'invité, nous avons tout d'abord évalué l'association de l'α-CD native avec les formes acide et basique de l'acide benzoïque. Les résultats d'analyses cd ont montré une absence d'interaction entre la forme benzoate et l'α-CD native (**Figure 15-a** et **b**).

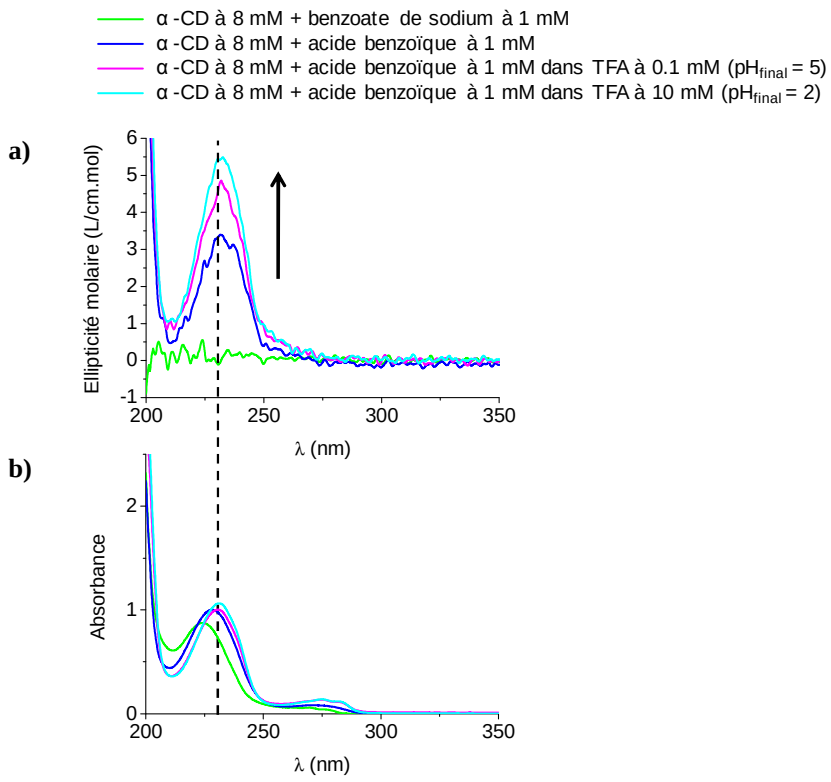


Figure 15 : *Spectres* ***a)*** *cd et* ***b)*** *UV des mélanges α-CD native/acide benzoïque sous forme basique ou acide. Le pH final des solutions reporté sur la figure a été mesuré au papier pH.*

Au contraire, quand le mélange est effectué avec l'acide carboxylique, un signal est observé. Ce signal augmente lorsque le pH diminue (**Figure 15-a** et **b**).

L'ensemble de ces résultats est cohérent avec ceux de D. A. Laufer et al.[21] qui ont montré par RMN que l'interaction de l'acide benzoïque avec les CDs a lieu via l'insertion de la fonction acide carboxylique avec une constante d'association de 750 M^{-1} à 25°C déterminée par potentiométrie. Tandis que, l'interaction des CDs avec le benzoate de sodium se produit par inclusion du cycle benzénique avec une très faible constante d'association de 10 M^{-1} à 25°C. Cette faible association est probablement due à la de polarité apportée par la charge ainsi qu'à la répulsion électrostatique entre la charge négative du carboxylate et la charge partielle négative de la CD située au niveau du col secondaire[22].

En conséquence, pour l'étude par dichroïsme circulaire de l'interaction entre l'acide benzoïque et les CDs avec et sans ponts, les solutions mères d'acide benzoïque ont été préparées dans l'eau afin que ce dernier soit majoritairement sous forme acide. En effet, le pKa de l'acide benzoïque est de 4.2, or, aux concentrations de 1 et 10 mM utilisées dans cette

étude, le pH expérimental des solutions aqueuses d'acide benzoïque est respectivement de 3.9 et 3.2 donc inférieur au pKa.

Pour les mesures de cd, des solutions ayant une concentration finale de 8 mM en CDs et 1 mM en acide benzoïque ont ensuite été réalisées (cf. annexe 3 ; Tableau A - 6) avec des solutions mères de CDs pontées préalablement centrifugées et filtrées (cf. annexe 3 ; Tableau A - 3-a, Tableau A – 4-a et Tableau A – 5-a).

La CD native seule ne donne pas de signal de dichroïsme circulaire. Cependant, pour les CDs pontées, nous avons obtenu un signal de dichroïsme circulaire entre 250 et 200 nm (**Figure 16-a**) correspondant à une bande d'absorption UV des CDs pontées (**Figure 16-b**).

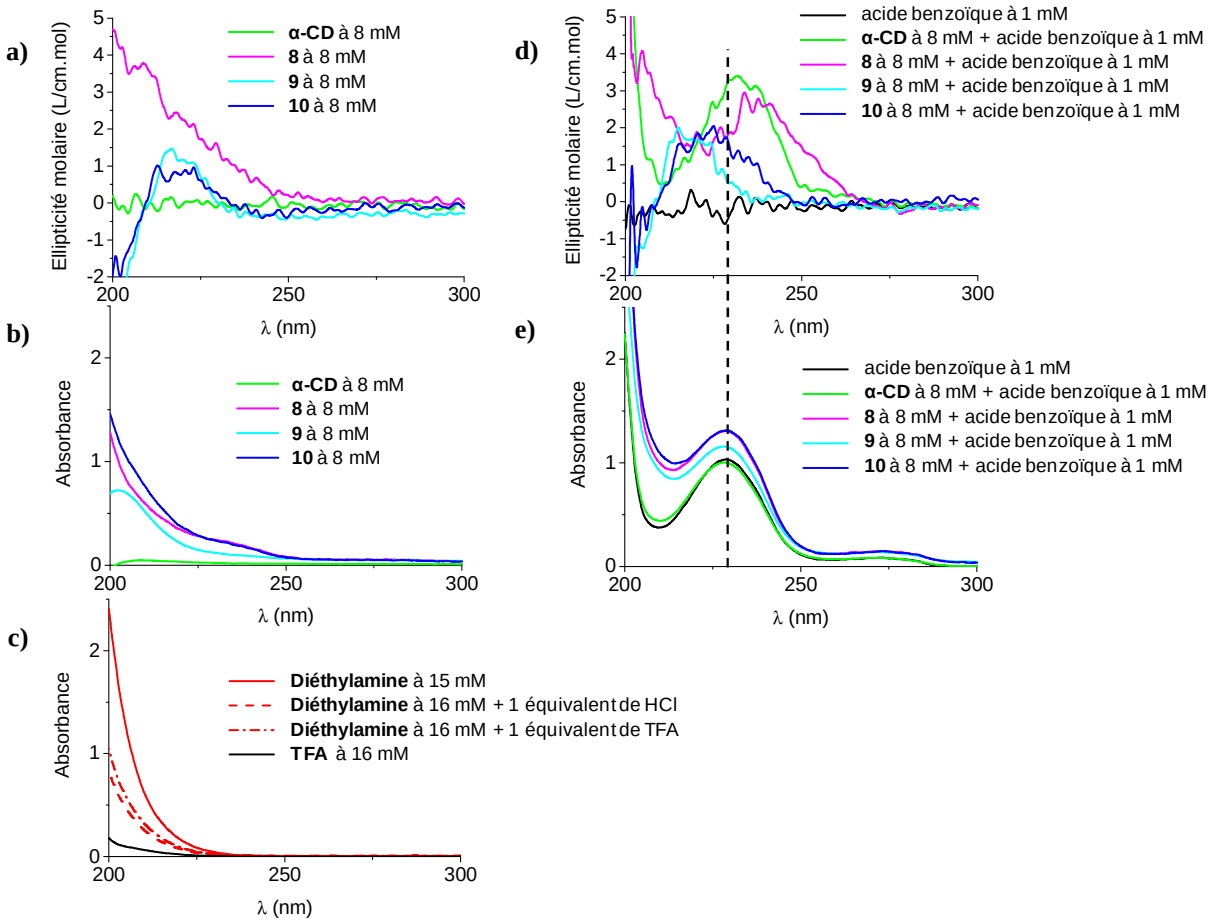


Figure 16 : *Spectres cd* ***a)*** *des CDs et* ***d)*** *des mélanges CDs/acide benzoïque. Spectres UV* ***b)*** *des CDs et* ***e)*** *des mélanges CDs/acide benzoïque.* ***c)*** *Spectre UV du TFA et de la diéthylamine avec et sans acide fort. Ces mesures ont été réalisées avec les lots RB1068, DC356 et RB1069 respectifs des composés* ***8****,* ***9*** *et* ***10****.*

Ce signal provient des fonctions amines du pont qui sont situées à proximité de l'environnement chiral que représente la cavité des CDs. En effet, l'analyse UV a montré une absorbance négligeable des contres-ions TFA mais une absorbance de la diéthylamine sous forme amine ou ammonium entre 230 et 200 nm qui correspond à la zone d'absorbance UV des composés **8**, **9** et **10** (**Figure 16-c**). Dans le cas du composé **8**, on observe un signal cd plus intense entre 250 nm et 200 nm, probablement dû à la courte longueur du pont de ce composé qui conduit à un rapprochement des amines de la cavité. Lors de l'ajout de l'invité, l'apparition d'un signal cd pour la CD native montre que l'interaction hôte/invité a lieu (**Figure 16-d**). Dans le cas du composé **8**, on observe également l'apparition d'un signal additionnel similaire au cas de la CD native mais légèrement décalé vers une longueur d'onde plus élevée. Le composé **10** montre une légère variation du spectre cd signe d'une faible interaction hôte/invité. Le signal cd du composé **9** quant à lui, ne varie pas en présence de l'invité suggérant ainsi une absence d'interaction hôte/invité.

ii. Etude par analyses ITC

Afin de compléter les résultats d'analyses cd, des titrages par ITC ont été effectués entre d'une part des solutions d'acide benzoïque et d'autre part des solutions de CDs natives ou de CDs pontées préalablement centrifugées et filtrées (cf. Annexe 3 ; Tableau A - 3-a et b, Tableau A – 4-b et Tableau A – 5-b).

Lors de l'étude d'un acide faible, il est généralement conseillé d'utiliser un milieu tamponné, mais les tests faits sur les premiers lots d'α-CDs pontées, comportant des cyclohexyles, résiduels, ne se sont pas révélés concluants. Nous avons donc choisi de tenter les analyses d'ITC sans tampon afin d'éviter tout risque d'interférence du tampon.

Dans ces conditions, lors du titrage de l'α-CD native par l'acide benzoïque (**Figure 17-a**), nous avons observé de façon reproductible, un léger flux de chaleur positif pour les deux premiers pics d'injection (**Figure 17-b**). De plus, l'isotherme résultante présente un signal croissant en valeur absolue en début de titrage (**Figure 17-c**). Tout cela indique qu'un 2e équilibre autre que la complexation hôte/invité intervient et est prépondérant en début de titrage. Ce second équilibre est probablement dû à la différence de pH entre les solutions d'hôte et d'invité (**Figure 17-a**).

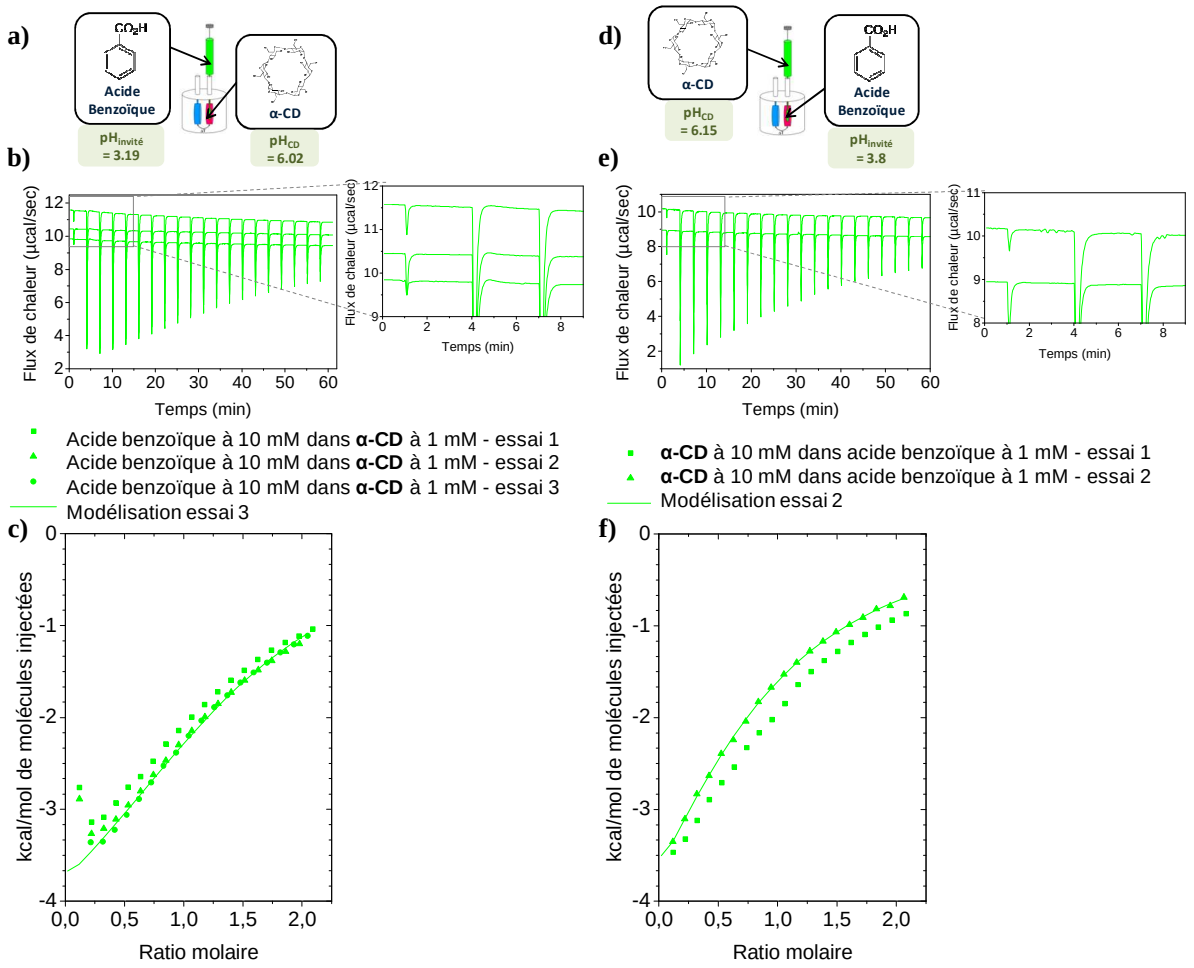


Figure 17 : a) *pH des solutions d'α-CD à 1 mM et d'acide benzoïque à 10 mM avant le titrage essai 3.* ***b)*** *Flux de chaleur et* ***c)*** *isothermes issues des trois essais de titrage de l'α-CD native par l'acide benzoïque après soustraction de la faible chaleur de dilution de l'acide benzoïque.* ***d)*** *pH des solutions d'α-CD à 10 mM et d'acide benzoïque à 1 mM avant le titrage essai 2.* ***e)*** *Flux de chaleur et* ***f)*** *isothermes issues des deux essais de titrage de l'acide benzoïque par l'α-CD native après soustraction de la faible chaleur de dilution de l'α-CD. Dans le cas du titrage de l'acide benzoïque par l'α-CD la modélisation a été effectuée sur l'essai 2. Dans le cas du titrage de l'α-CD par l'acide benzoïque la modélisation a été effectuée sur l'essai 3 après retrait du point correspondant à la deuxième injection afin d'éliminer la partie de l'isotherme où l'effet du pH est prépondérant et ainsi de minimiser l'impact de ce second équilibre. Les courbes de modélisations de ces deux isothermes ont été effectuées avec le modèle « 1 type de site » en prenant en compte la concentration totale en invité (Ca).*

Afin de vérifier cette hypothèse, le titrage en sens inverse, i.e. en injectant la solution l'α-CD native dans celle d'acide benzoïque, a été effectué (**Figure 17-d**). En effet, le titrage inverse devrait induire une variation de la concentration en acide benzoïque moindre et donc une variation du pH dans la cellule moindre. A l'issue du titrage de l'acide benzoïque par l'α-CD, on constate que le flux de chaleur ne présente plus de signal positif au début du titrage. De plus, l'isotherme résultante est cette fois décroissante en valeur absolue avec le ratio molaire (**Figure 17-e** et **f**). Ce résultat est cohérent avec l'hypothèse d'un effet du pH sur l'équilibre observé.

Les isothermes issues des deux derniers titrages à pH connus (**Figure 17-a** et **d**) ont ensuite été modélisées avec le modèle « 1 type de site » (**Figure 17-c** et **f**). L'acide benzoïque étant un acide faible, nous avons effectué les modélisations en faisant 2 estimations limites de la concentration en acide benzoïque non ionisé (HA). Cela a permis d'obtenir deux jeux de paramètres thermodynamiques apparents entre lesquels devraient se trouver les valeurs réelles. Dans un premier temps, nous avons supposé une ionisation négligeable de l'acide et dans un second temps, nous avons calculé la concentration initiale en acide non ionisé (connaissant la concentration totale en acide Ca et le pKa) et nous avons supposé que le degré d'ionisation ne change pas au cours du titrage.

La modélisation de l'isotherme du titrage de l'α-CD par l'acide benzoïque obtenue en faisant l'hypothèse que ce dernier est non ionisé (**Figure 17-c**), conduit à une stœchiométrie, N = 1.44, supérieure à la stœchiométrie théorique de 1 (**Tableau 9**).

Tableau 9 : *Résultats de la modélisation, avec le modèle « 1 type de site », de l'essai 3 du titrage de l'α-CD par l'acide benzoïque.*

Hypothèse limite	**Acide non ionisé**	**Acide partiellement ionisé**
	$HA = Ca$	$HA = Ca - \frac{K}{2} \cdot \left[\sqrt{1 + \frac{4 \cdot Ca}{K}} - 1 \right]$
Ca (mM)	9.98	9.98
HA (mM)	9.98	9.19
N	1.43 ± 0.03	1.3 ± 0.02
K (M^{-1})	1650 ± 150	1800 ± 200
ΔH (cal/mol)	-5200 ± 200	-5700 ± 200

Cela est probablement dû au fait que l'acide benzoïque est partiellement ionisé en benzoate. L'espèce active dans la complexation étant la forme acide, la concentration est dans ce cas

surestimée ce qui conduit à une surestimation de N et une sous estimation du ΔH. En prenant en compte l'ionisation d'une partie de l'acide dans le calcul de sa concentration, on constate que la valeur de N obtenue après modélisation diminue (**Tableau 9**). Par ailleurs, les solutions n'étant pas tamponnées, la différence de pH entre la seringue et la cellule induit aussi une diminution de la concentration en acide benzoïque dans la cellule lors des injections. Ce phénomène est probablement à l'origine des signaux observés lors des premières injections d'acide dans la solution d'α-CD native. Enfin, la formation du complexe CD/acide benzoïque dans la cellule doit déplacer l'équilibre acide/base de l'acide benzoïque vers la formation de l'acide car ce dernier est consommé lors de la formation du complexe avec la CD, il est donc difficile de déterminer la concentration exacte en acide benzoïque dans la cellule au cours du titrage. Les paramètres thermodynamiques obtenus après modélisation sont donc apparents quelque soit l'hypothèse faite au niveau de la concentration en acide benzoïque.

Lors de la modélisation de l'isotherme du titrage de l'acide benzoïque par l'α-CD (**Figure 17-f**), on obtient une variabilité plus faible sur les paramètres thermodynamiques (**Tableau 10**). De plus, quand l'ionisation partielle de l'acide est prise en compte dans le calcul de sa concentration, la stœchiométrie obtenue est plus proche de la valeur théorique (**Tableau 10**). En effet, lors du titrage dans ce sens, l'équilibre dû à la différence de pH entre seringue et cellule est minimisé.

Tableau 10 : *Résultat de la modélisation, avec le modèle « 1 type de site », de l'essai 2 du titrage de l'acide benzoïque par l'α-CD.*

Hypothèse limite	**Acide non ionisé**	**Acide partiellement ionisé**
	$HA = Ca$	$HA = Ca - \frac{K}{2} \cdot \left[\sqrt{1 + \frac{4 \cdot Ca}{K}} - 1 \right]$
Ca (mM)	1.01	1.01
HA (mM)	1.01	0.76
N	1.28 ± 0.03	0.91 ± 0.02
K (M^{-1})	900 ± 50	1250 ± 80
ΔH (cal/mol)	-5900 ± 70	-8200 ± 100

Ces résultats montrent donc que pour pouvoir négliger l'effet du pH causé par l'invité dans le cas de titrage en milieu non tamponné, il faut effectuer le titrage de l'invité par la CD. En conséquence, les titrages entre les CDs pontées et l'acide benzoïque ont ensuite été effectués dans ce sens (**Figure 18**).

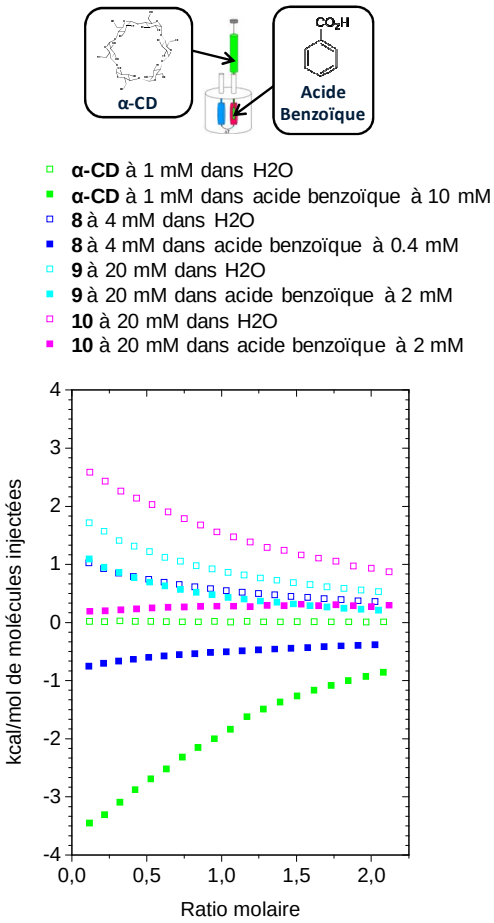


Figure 18 : *Isothermes obtenues lors du titrage de l'acide benzoïque par les CDs. Les signaux de dilution des CDs représentés ici n'ont pas été soustraits des isothermes des titrages correspondants.*

Cependant, on constate dans le cas des CDs pontées que la dilution des solutions témoins conduit à des signaux de dilution non négligeables (**Figure 18**). Ces signaux indiquent qu'un équilibre est déplacé au cours de la dilution des CDs pontées. La modélisation des isothermes obtenues, après soustraction des signaux de dilution correspondants, conduirait donc à des paramètres thermodynamiques apparents.

Afin de comprendre l'origine de ces signaux de dilution, nous nous sommes plus particulièrement intéressés au composé **8** ayant montré l'interaction la plus importante avec l'acide benzoïque lors des analyses cd (**Figure 16**). Dans ce cadre, les pH des solutions de **8** et d'acide benzoïque ont été mesurés lors du titrage de l'acide benzoïque 1 mM par **8** à 10 mM (**Figure 19-a**).

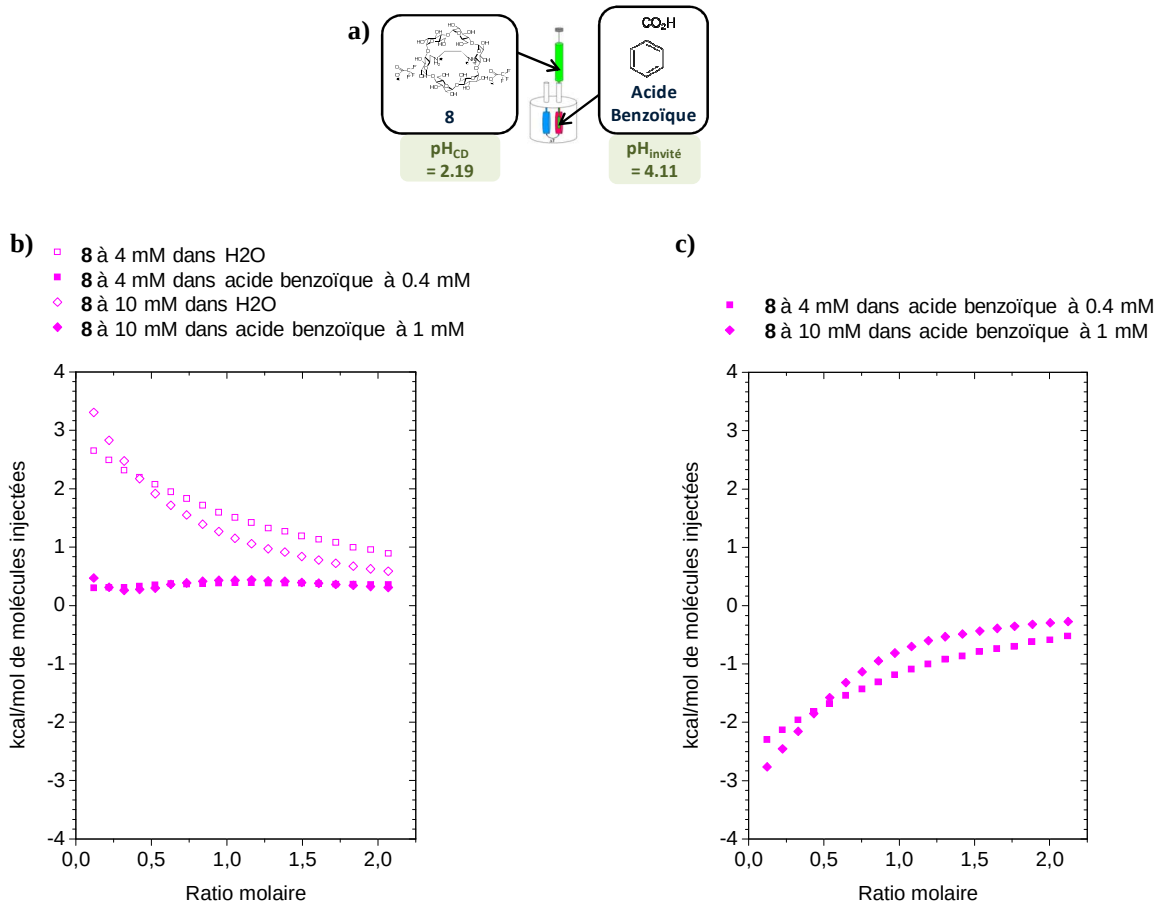


Figure 19 : a) *pH des solutions de* ***8*** *à 10 mM et d'acide benzoïque à 1 mM avant le titrage.* ***b)*** *Isothermes obtenues lors des titrages de* ***8*** *par l'acide benzoïque à différentes concentrations.* ***c)*** *Isothermes obtenues lors des titrages de* ***8*** *par l'acide benzoïque à différentes concentrations après soustraction des signaux de dilution non négligeables des témoins correspondants. Les titrages avec* ***8*** *à 4 mM et 10 mM ont respectivement été effectués avec les lots RB1068 et RBC21116.*

Ces mesures ont mis en évidence la forte acidité de **8**. Lors du titrage de l'acide benzoïque par **8**, une différence de pH significative existe donc entre la solution de l'hôte et celle de l'invité. Le signal non négligeable obtenu lors de la dilution de **8** dans l'eau est donc probablement dû à la forte acidité de ce composé (**Figure 19-b**). Les isothermes de titrage résultantes après soustraction de ces signaux sont donc apparentes du fait des différents équilibres acido-basiques pouvant avoir lieu en même temps que l'interaction hôte-invité (**Figure 19-c**).

Dans le cas où l'hôte est également sensible au pH, le titrage de l'invité par l'hôte ne permet donc pas d'éliminer les effets de pH.

Au début de ce projet, afin d'éviter les problèmes de stabilité ou d'interférences, nous avions choisi de travailler en milieu non tamponné. Cependant, nous disposons à présent de lots sans cyclohexyles résiduels qui présentent une bonne stabilité colloïdale, nous avons donc opté pour étudier l'interaction de **8** avec l'acide benzoïque en milieu tamponné afin de s'affranchir des équilibres secondaires observés en ITC.

Dans ce cadre, nous avons utilisé une solution tampon à 40 mM d'acide formique à pH 3.5, afin d'avoir un pH inférieur au pKa de l'acide carboxylique et d'ainsi conserver l'interaction avec les CDs. Il est à noter que l'interaction de l'acide formique avec l'α-CD est négligeable[4]. L'interaction de l'α-CD native avec l'acide benzoïque en milieu tamponné a préalablement été étudiée comme titrage de référence afin de vérifier l'efficacité de ces conditions d'analyses (**Figure 20**).

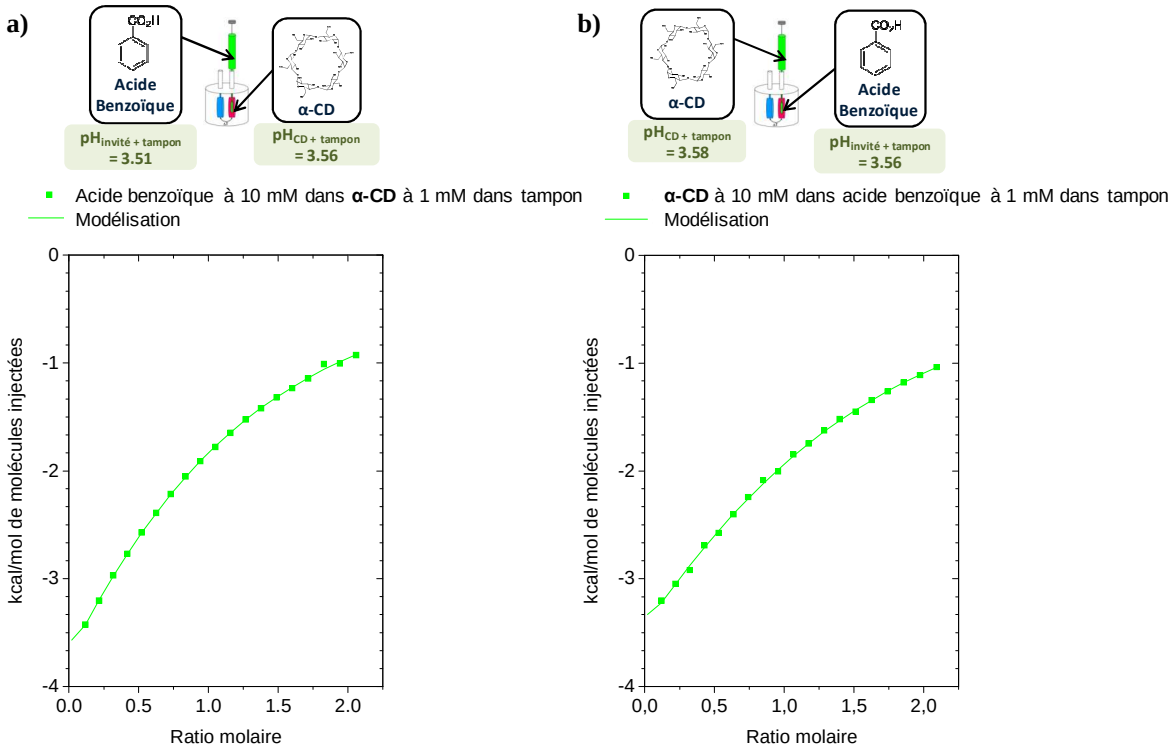


Figure 20 : a) *Isotherme obtenue lors du titrage de l'α-CD par l'acide benzoïque en milieu tamponné (acide formique 40 mM, pH=3.5) après soustraction de la faible chaleur de dilution de l'acide benzoïque.* ***b)*** *Isotherme obtenue lors du titrage de l'acide benzoïque par l'α-CD en milieu tamponné après soustraction de la faible chaleur de dilution de l'α-CD. Les courbes de modélisations de ces deux isothermes ont été effectuées avec le modèle « 1 type de site » en prenant en compte la concentration totale en invité (Ca).*

A l'issue de ces analyses, les titrages dans les deux sens (**Figure 20**) ont conduit, après modélisation par le modèle « 1 type de site », à des paramètres thermodynamiques du même ordre de grandeur (**Tableau 11** ; **Tableau 12**). Ces résultats similaires obtenus lors des deux titrages indiquent l'absence d'équilibre secondaire en présence de tampon. Cependant, la stœchiométrie reste inférieure à 1. La prise en compte de l'ionisation partielle de l'acide éloigne le résultat du fit de la stœchiométrie attendue, probablement car cette ionisation partielle en absence d'hôte diminue au fur et à mesure du titrage.

Tableau 11 : *Résultats de la modélisation, avec le modèle « 1 type de site », du titrage de l'α-CD par l'acide benzoïque en milieu tamponné (acide formique 40 mM, pH=3.5).*

Hypothèse limite	**Acide non ionisé**	**Acide partiellement ionisé**
	$HA = Ca$	$HA = \frac{Ca}{1+\frac{K}{[H^+]}}$
Ca (mM)	10	10
HA (mM)	10	8.3
N	0.85 ± 0.03	0.68 ± 0.01
K (M^{-1})	750 ± 30	860 ± 10
ΔH (cal/mol)	-9200 ± 500	-11600 ± 200

Tableau 12 : *Résultats de la modélisation avec le modèle « 1 type de site » du titrage de l'acide benzoïque par l'α-CD en milieu tamponné (acide formique 40 mM, pH=3.5).*

Hypothèse limite	**Acide non ionisé**	**Acide partiellement ionisé**
	$HA = Ca$	$HA = \frac{Ca}{1+\frac{K}{[H^+]}}$
Ca (mM)	1	1
HA (mM)	1	0.83
N	0.87 ± 0.03	0.71 ± 0.02
K (M^{-1})	800 ± 80	970 ± 100
ΔH (cal/mol)	-8700 ± 200	-10700 ± 200

Les conditions utilisées sont donc adaptées pour supprimer l'effet du pH dans les deux sens du titrage et permettent ainsi d'observer l'interaction étudiée. Nous avons donc appliqué ces conditions au composé **8** (**Figure 21**).

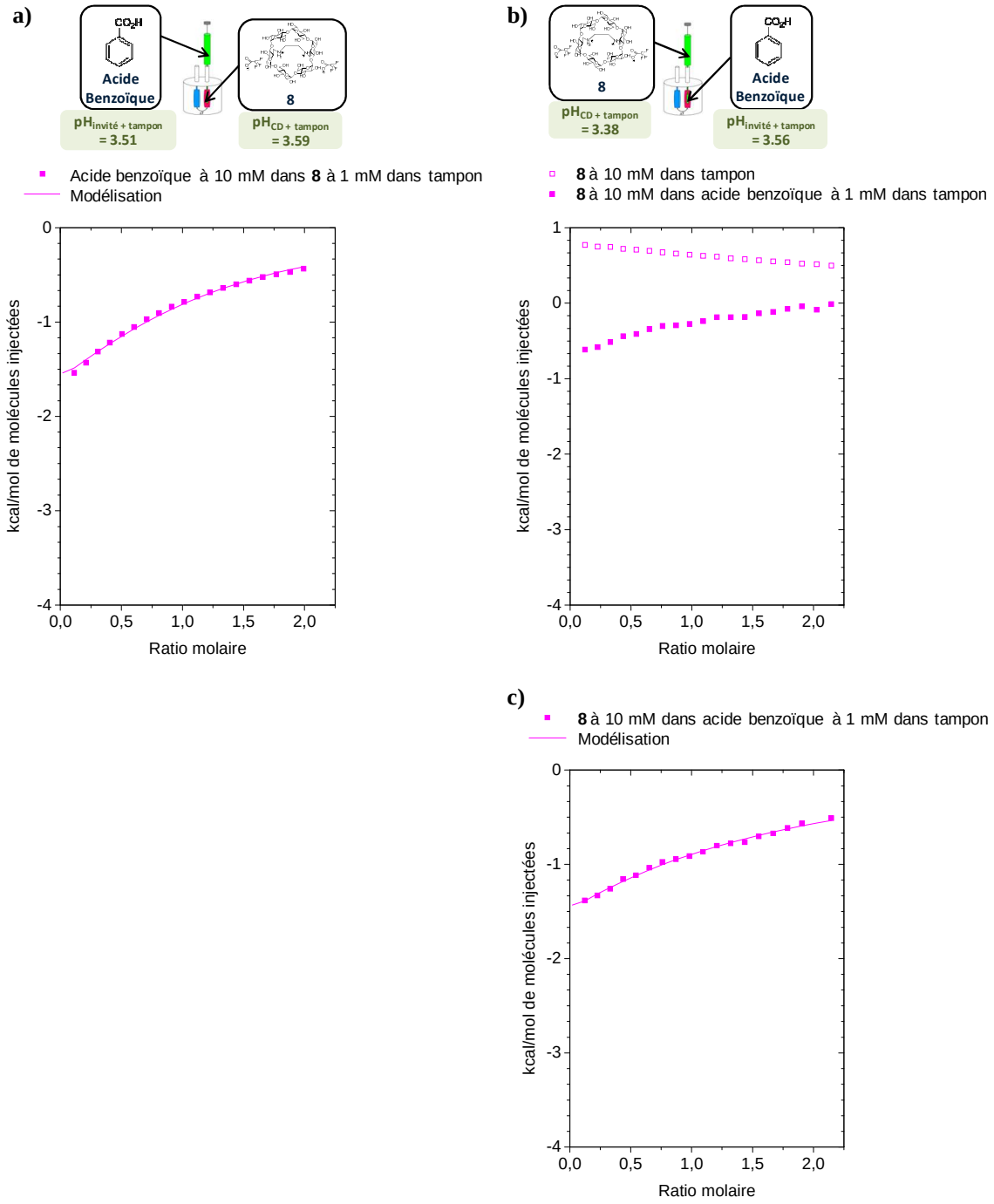


Figure 21 : a) *Isothermes obtenue lors du titrage de* ***8*** *par l'acide benzoïque en milieu tamponné (acide formique 40 mM, pH=3.5) après soustraction de la faible chaleur de dilution de l'acide benzoïque.* ***b)*** *Isothermes obtenues en milieu tamponné lors de la dilution de* ***8*** *et lors du titrage de l'acide benzoïque par* ***8*** *sans soustraction de l'isotherme témoin de dilution de* ***8****.* ***c)*** *Données précédentes après soustraction de la chaleur de dilution non négligeable de* ***8****. Les courbes de modélisations de ces deux isothermes ont été effectuées avec le modèle « 1 type de site » en prenant en compte la concentration totale en invité (Ca). Les titrages avec* ***8*** *ont été effectués avec le lot RBC21116.*

La modélisation par le modèle « 1 type de site » du titrage de **8** par l'acide benzoïque a été effectuée en utilisant la concentration en acide benzoïque non ionisée (Ca). Elle a conduit à une stœchiométrie de 0.37, si tous les paramètres sont libres lors de la modélisation. En imposant la stœchiométrie théorique, l'isotherme de modélisation reste proche de la courbe expérimentale, ce résultat est donc plus cohérent (**Tableau 13**).

Tableau 13 : *Résultats de la modélisation, avec le modèle « 1 type de site », de l'association* ***8****/acide benzoïque en milieu tamponné (acide formique 40 mM, pH=3.5).*

Titrage de :	**8 par l'acide benzoïque**	**l'acide benzoïque par 8**
Ca (mM)	9.99	0.99
N	1 **fixé**	1 **fixé**
K (M^{-1})	890 ± 50	340 ± 20
ΔH (cal/mol)	-3200 ± 80	-5660 ± 170

Par contre, lors du titrage de l'acide benzoïque par **8**, on observe un signal de dilution de **8** non négligeable (bien qu'il soit moins important que celui précédemment observé en milieu non tamponné) (**Figure 21-b**). Ce résultat indique qu'en milieu tamponné, un équilibre autre qu'acido-basique subsiste au sein de la solution de **8**. Si tous les paramètres sont non fixés lors de la modélisation du titrage de l'acide benzoïque par **8**, par le modèle « 1 type de site », (**Figure 21-b**) une stœchiométrie de 1 ± 0.4 et une constante d'association de 300 ± 200 M^{-1} sont obtenues. Cependant, la variabilité autour de ces paramètres est très élevée. En imposant la stœchiométrie théorique, les paramètres thermodynamiques restent similaires mais la variabilité autour de K et ΔH est fortement réduite (**Tableau 13**). Nous avons donc conservé ce résultat. On constate alors que les paramètres thermodynamiques obtenus lors du titrage dans ce sens sont différents de ceux obtenus lors du titrage de **8** par l'acide benzoïque. Cela s'explique par le fait qu'en milieu tamponné, la dilution du composé **8** présente un signal résiduel signe qu'un équilibre d'association a probablement lieu au sein de ce composé (**Figure 21-b**). L'isotherme issue du titrage de l'acide benzoïque par **8** est donc la résultante de deux équilibres et les paramètres thermodynamiques qui en découlent sont donc apparents.

En conséquence, d'après ces résultats, seuls les paramètres thermodynamiques issus du titrage de **8** par l'acide benzoïque peuvent être pris en compte car dans ce sens de titrage, on peut penser que l'impact de ce second équilibre est moindre.

Pour conclure, les analyses de dichroïsme circulaire et d'ITC montrent une interaction de l'acide benzoïque avec l'α-CD native et indiquent que, parmi les CDs pontées, l'interaction la plus favorable est celle avec le composé **8** (**Figure 16** ; **Figure 22**).

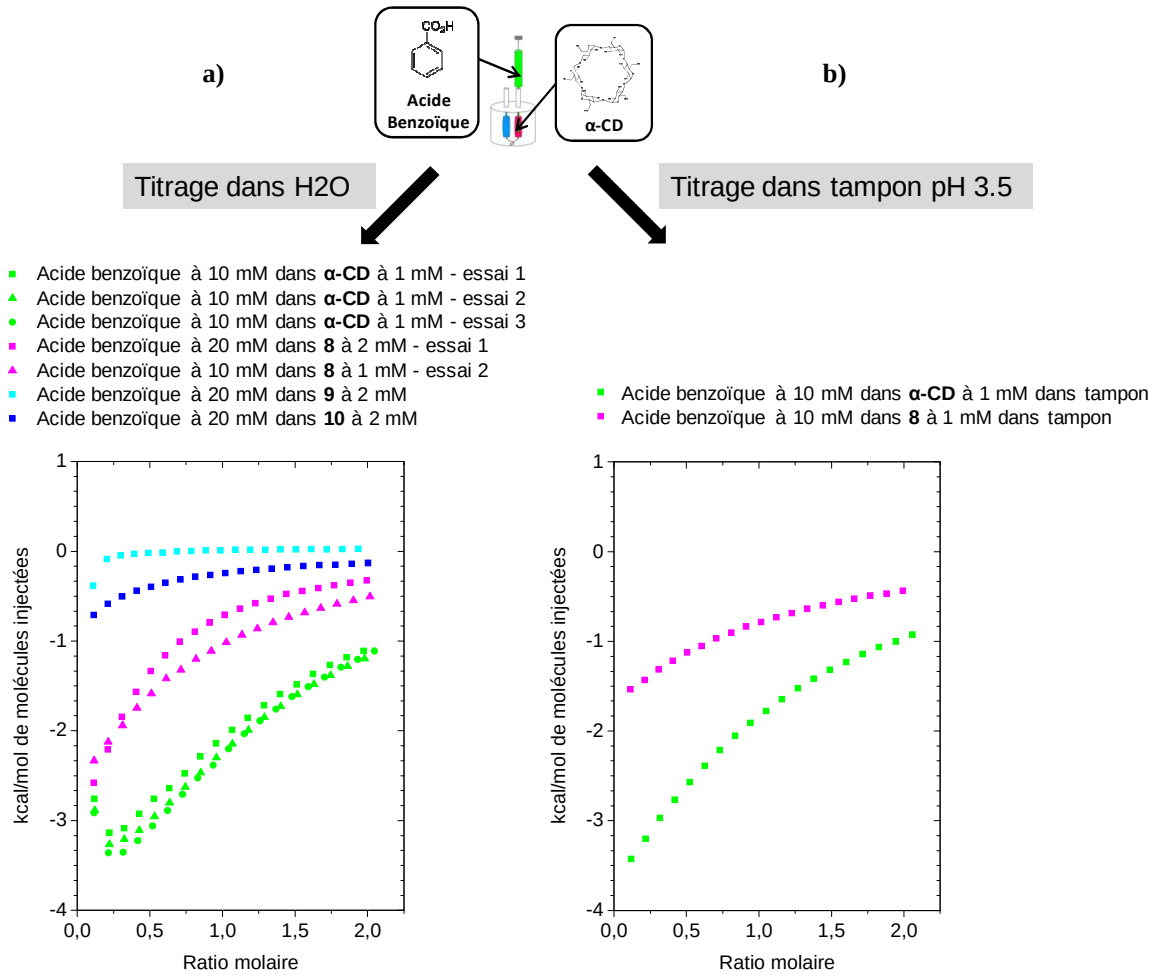


Figure 22 : *Isothermes obtenues lors du titrage des CDs par l'acide benzoïque* ***a)*** *dans l'eau et* ***b)*** *en milieu tamponné (acide formique 40 mM, pH=3.5) après soustraction du faible signal de dilution de l'acide benzoïque.*

L'acide benzoïque interagit avec la CD native via la fonction acide[21], ce qui permet au complexe d'adopter une orientation favorable dans laquelle les dipôles des 2 partenaires sont antiparallèles[23]. Dans le cas du composé **8**, la présence des charges positives portées par les 2 ammoniums du pont devrait renforcer le dipôle de la CD (δ^+ au niveau du col primaire). Cela devrait donc conduire à une insertion de l'acide carboxylique dans le même sens que dans l'α-CD native.

Parmi les CDs pontées, l'interaction favorable avec le composé **8** est probablement due à la modification de la forme de la cavité de ce composé. La contrainte exercée par le pont sur le

col primaire induit certainement un élargissement de la cavité qui induit une moins bonne interaction mais un gain d'entropie plus élevé lors de l'inclusion de l'invité dans **8** comparé au cas de l'α-CD native. On constate en effet que la force motrice de cette interaction est à la fois enthalpique et entropique contrairement à celle de l'interaction avec la CD native qui est uniquement enthalpique (**Figure 23**).

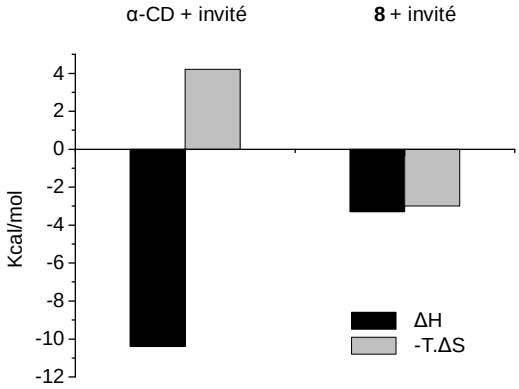


Figure 23 : *Contributions enthalpiques et entropiques mises en jeu lors des interactions de l'α-CD native et de* ***8*** *avec l'acide benzoïque en milieu tamponné (données provenant de* ***Tableau 11*** *et* ***Tableau 13****).*

Cet invité serait donc un bon modèle pour la synthèse d'une CD constituée du composé **8** substitué par espaceur portant un acide benzoïque (**Figure 24**). Le précurseur nécessaire n'étant pas disponible commercialement, ce monomère serait synthétisable sous réserve de trouver une voie de synthèse du groupement invité.

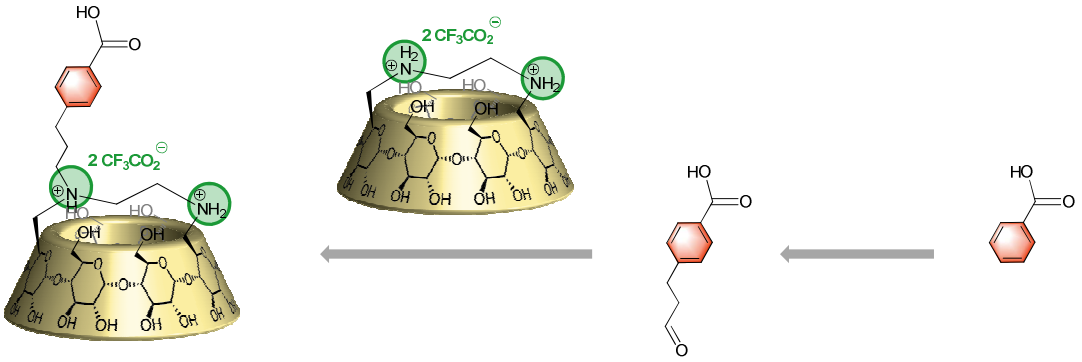


Figure 24 : *Schéma de la conception un monomère hôte-invité issu de la fonctionnalisation de* ***8*** *par l'acide benzoïque.*

b. Etude de l'interaction des CDs pontées avec les dérivés de l'aniline

Dans le but d'étudier l'effet de la taille du pont sur un invité dérivé du benzène s'insérant dans la cavité de la CD via le cycle benzénique, nous nous sommes également intéressés à la famille des anilines. Nous avons choisi d'évaluer l'interaction des CDs pontées avec l'aniline, la bromoaniline et l'iodoaniline. Les halogènes interagissent fortement avec les CDs[24], l'utilisation de dérivés halogénés pourrait donc conduire à une interaction importante avec les CDs et permettre ainsi d'exacerber d'éventuelles différences d'interactions liées à la taille du pont des CDs étudiées.

Nous avons étudié par ITC, l'interaction des CDs avec ces trois invités sous la forme acide afin d'augmenter leur solubilité dans l'eau. Contrairement à l'acide benzoïque, l'association des CDs est semblable avec les formes acide et basique des dérivés de l'aniline[25]. En conséquence, pour la détermination des paramètres thermodynamiques d'association, nous avons utilisé la concentration totale en invité mise en jeu dans chaque analyse.

i. Etude par analyses ITC en milieu non tamponné

Sur la base de la précédente étude par ITC, nous avons effectué le titrage des CDs par les dérivés de l'anilinium (plutôt que l'inverse) afin de pouvoir négliger les équilibres précédemment observés lors de la dilution des CDs pontées. Par ailleurs, bien que les invités choisis soient sensibles au pH, nous avons choisi d'effectuer, dans un premier temps, les titrages en milieu non tamponné dans le but d'avoir une première information qualitative sur les systèmes étudiés avant d'aller plus loin dans l'étude. Les solutions mères de CDs pontées, utilisées pour les analyses ITC, ont été préalablement centrifugées et filtrées (cf. Annexe 3 ; Tableau A - 4-b, Tableau A - 5-b, Tableau A - 11, Tableau A - 12 et Tableau A - 13).

Comme attendu, on constate que les dilutions des solutions témoins des dérivés d'anilinium conduisent à des chaleurs de dilution non négligeables (**Figure 25-a** à **c**).

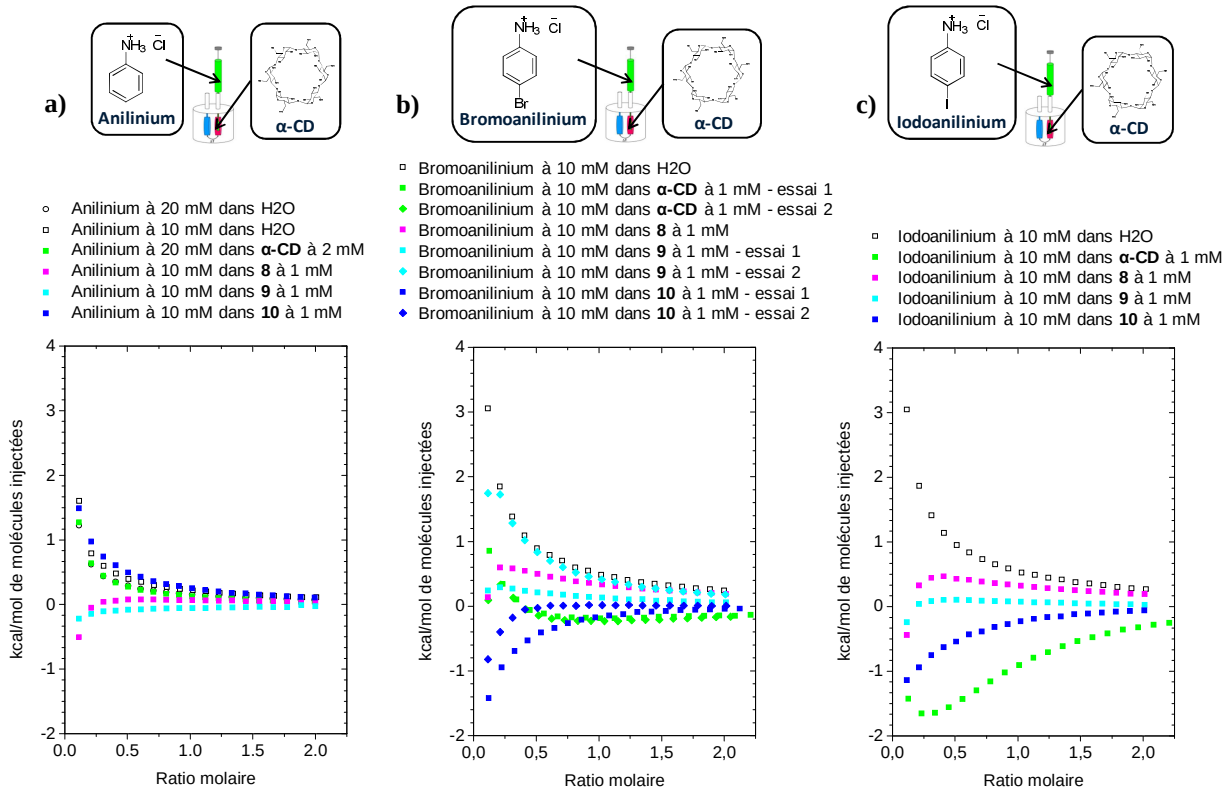


Figure 25 : *Isothermes obtenues lors du titrage des CDs par* ***a)*** *l'anilinium,* ***b)*** *le bromoanilinium et* ***c)*** *l'iodoanilinium. L'isotherme de dilution de chaque invité est représentée et n'a pas été soustraite des isothermes obtenues lors des titrages. Les titrages avec l'anilinium et l'iodoanilinium ont été effectués avec les lots RBC20416, RBC40416 et RBC60416 respectifs des composés* ***8****,* ***9*** *et* ***10****. Dans le cas du bromoanilinium, ils ont été effectués avec le lot RBC20416 du composé* ***8****, les lots RBC40416 et RB1072-73 du composé* ***9*** *et les lots RBC60416 et RBC61116 du composés* ***10****.*

Ces signaux sont liés à la forte acidité des dérivés d'anilinium. Ces courbes témoins n'ont donc pas été soustraites aux isothermes obtenues lors des titrages et une comparaison qualitative de l'association des CDs pontées par rapport à l'α-CD native a été effectuée pour chaque invité.

On constate que l'iodoanilinium conduit à l'interaction la plus importante avec les CDs (**Figure 25-c**). La taille de l'iode plus élevée que celle du brome permet apparemment une meilleure interaction avec la cavité de la CD[24]. Cette interaction est plus importante avec l'α-CD native qu'avec les CDs pontées. Dans le cas du bromoanilinium, l'interaction est moins importante, cependant, **10** semble avoir une interaction plus importante que celle de l'α-CD native (**Figure 25-b**). L'interaction de l'anilinium avec l'α-CD est négligeable, ce résultat est cohérent avec la littérature[25] (**Figure 25-a**). Dans le cas des CDs pontées, l'interaction de

l'anilinium avec **10** est également négligeable mais une interaction semble avoir lieu avec **8** et **9**. Cependant, l'interaction observée entre les dérivés halogénés de l'aniline et les CDs est globalement plus importante. Nous nous sommes donc plus particulièrement intéressés à l'interaction de **9** et **10** avec le bromoanilinium et l'iodoanilinium.

Dans ce cadre, nous avons mesuré le pH des solutions de bromoanilinium et nous l'avons comparé à celui des solutions d'α-CD native, de **9** et de **10** (**Tableau 14**).

Tableau 14 : *pH des solutions de bromoanilinium (pKa=3.86[26]) et de CDs.*

	Bromoanilinium		**α-CD**		**9 (lot RB1072-73)**		**10 (lot RBC61116)**	
Concentration (mM)	**1.01**	**10.02**	**1.01**	**10.05**	**1.03**	**10.26**	**1.03**	**10.28**
pH	**3.73**	**3.17**	**6.02**	**6.15**	**6.14**	**5.76**	**4.47**	**3.95**

Ces mesures montrent que le bromoanilinium est effectivement très acide comparé à l'α-CD native dont le pH est, comme attendu, proche de la neutralité. Concernant les CDs pontées, le composé **9** est peu acide contrairement au composé **10** qui, comme le composé **8** (**Figure 19-a**), présente une acidité plus importante que celle attendue étant donnée la nature des fonctions acides des composés pontés. La suite de cette étude est axée sur la détermination de conditions d'analyses optimales pour l'étude de l'association CD/dérivés de l'anilinium. Une étude plus détaillée du comportement en solution des CDs pontées a, toutefois, été effectuée et sera présentée à la fin de cette partie.

ii. Etude par analyses ITC en milieu tamponné

Afin de s'affranchir de l'effet de la différence de pH entre la solution d'invités et celle de CDs et de pouvoir ensuite extraire des informations quantitatives de ces titrages, nous avons réalisé ces analyses en milieu tamponné. Pour cela, l'ensemble des solutions d'invité et de CDs a été préparé dans un tampon pipérazine à 40 mM à pH 6 (cf Annexe 3 ; Tableau A - 14). Cependant, une précipitation de l'iodoaniline a été observée lors de l'ajout du tampon pipérazine. Nous avons donc poursuivi l'étude avec le bromoanilinium uniquement.

En milieu tamponné, on observe la disparition du signal de dilution de la bromoaniline (**Figure 26-b**).

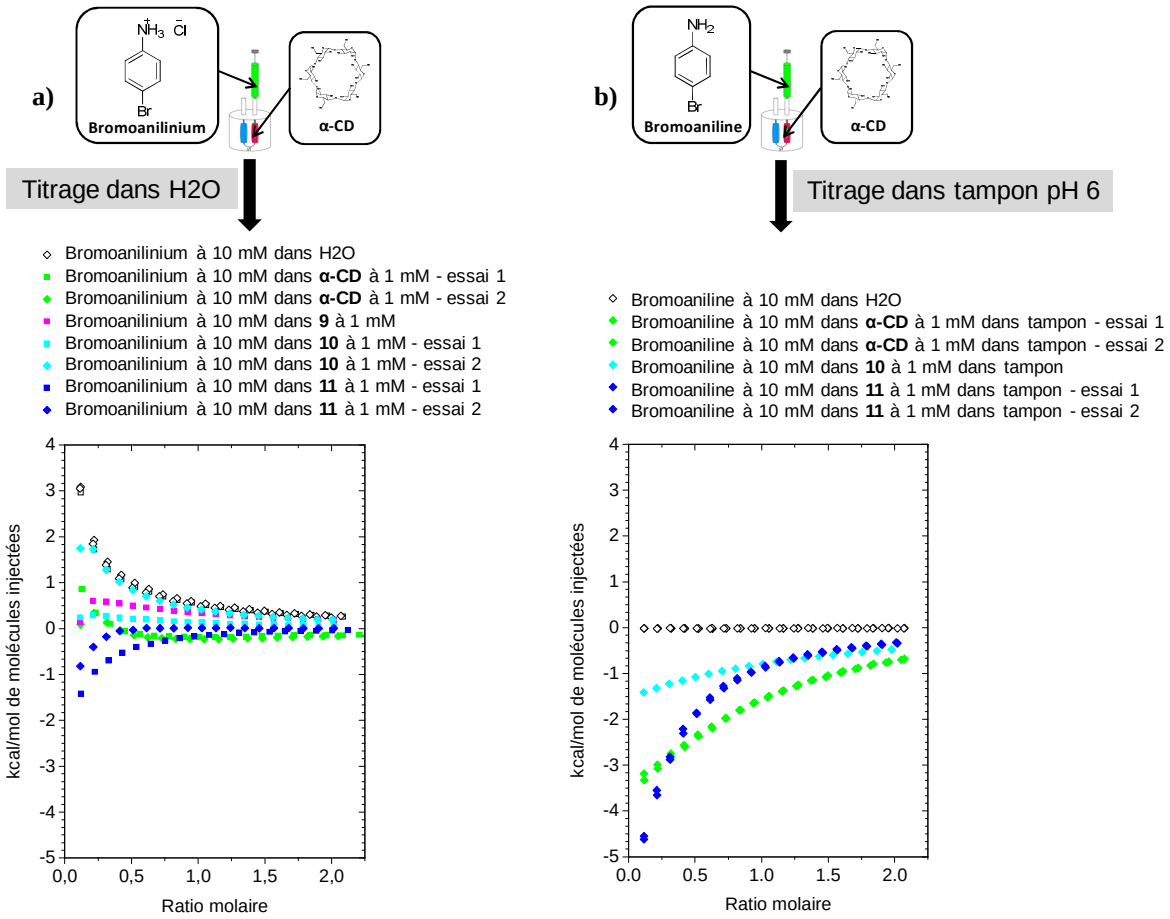


Figure 26 : *Isothermes obtenues lors du titrage des CDs* ***a)*** *dans l'eau par le bromoanilinium et* ***b)*** *en milieu tamponné (pipérazine à 40mM, pH=6) par la bromoaniline. Les isothermes de dilution du bromoanilinium et de la bromoaniline sont représentées et n'ont pas été soustraites des isothermes obtenues lors des titrages. Les titrages en milieu tamponné ont été effectués avec les lots RB1072-73 et RBC61116 respectifs des composés* ***9*** *et* ***10****.*

Pour chaque type de CDs étudiées, les titrages en milieu tamponné ont été effectués dans les deux sens afin d'avoir une meilleure précision sur le résultat.

Lors de l'étude de l'association α-CD/bromoaniline, les titrages en milieu tamponné dans les deux sens (**Figure 27**) conduisent, après modélisation par le modèle « 1 type de site », à des paramètres thermodynamiques similaires, i.e. K de l'ordre de 1000 M^{-1} (**Tableau 15**).

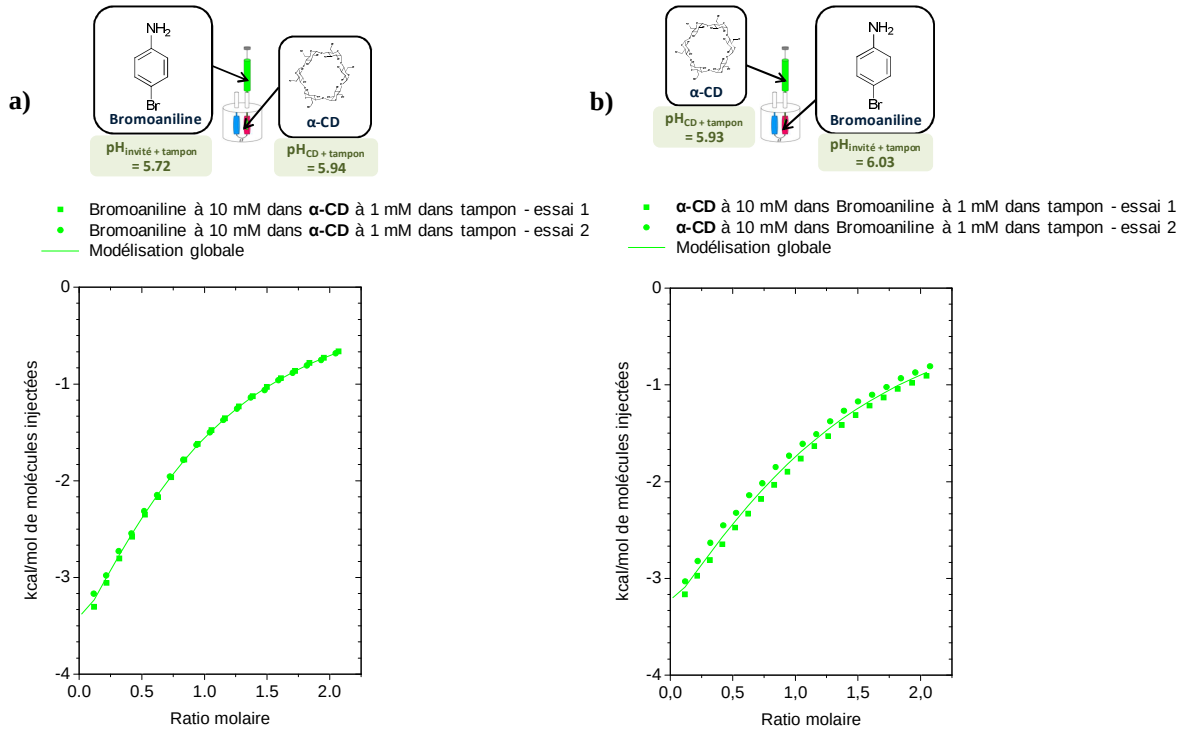


Figure 27 : a) *Isothermes modélisées obtenues lors du titrage de l'α-CD par la bromoaniline en milieu tamponné (pipérazine à 40mM, pH=6) en prenant en compte la faible chaleur de dilution de la bromoaniline.* ***b)*** *Isothermes modélisées obtenues lors du titrage de la bromoaniline par l'α-CD en milieu tamponné en prenant en compte la faible chaleur de dilution de l'α-CD.*

Tableau 15 : *Résultats de la modélisation, avec le modèle « 1 type de site », de l'association* ***α-CD****/bromoaniline en milieu tamponné (pipérazine à 40mM, pH=6).*

Titrage de :	**α-CD par le bromoaniline**	**Bromoaniline par l'α-CD**
[invité] (mM)	9.99[a] / 9.97[b]	1.01[a] / 0.99[b]
N	0.80 ± 0.03	0.93 ± 0.07
K (M^{-1})	1170 ± 60	1000 ± 220
ΔH (cal/mol)	-7000 ± 300	-6860 ± 300

[a] concentration totale en invité lors de l'essai 1
[b] concentration totale en invité lors l'essai 2

La réalisation du titrage en milieu tamponné permet donc de remonter à des paramètres thermodynamiques fiables. Ces conditions ont donc été appliquées pour l'étude par ITC de l'association **9**/bromoaniline (**Figure 28**).

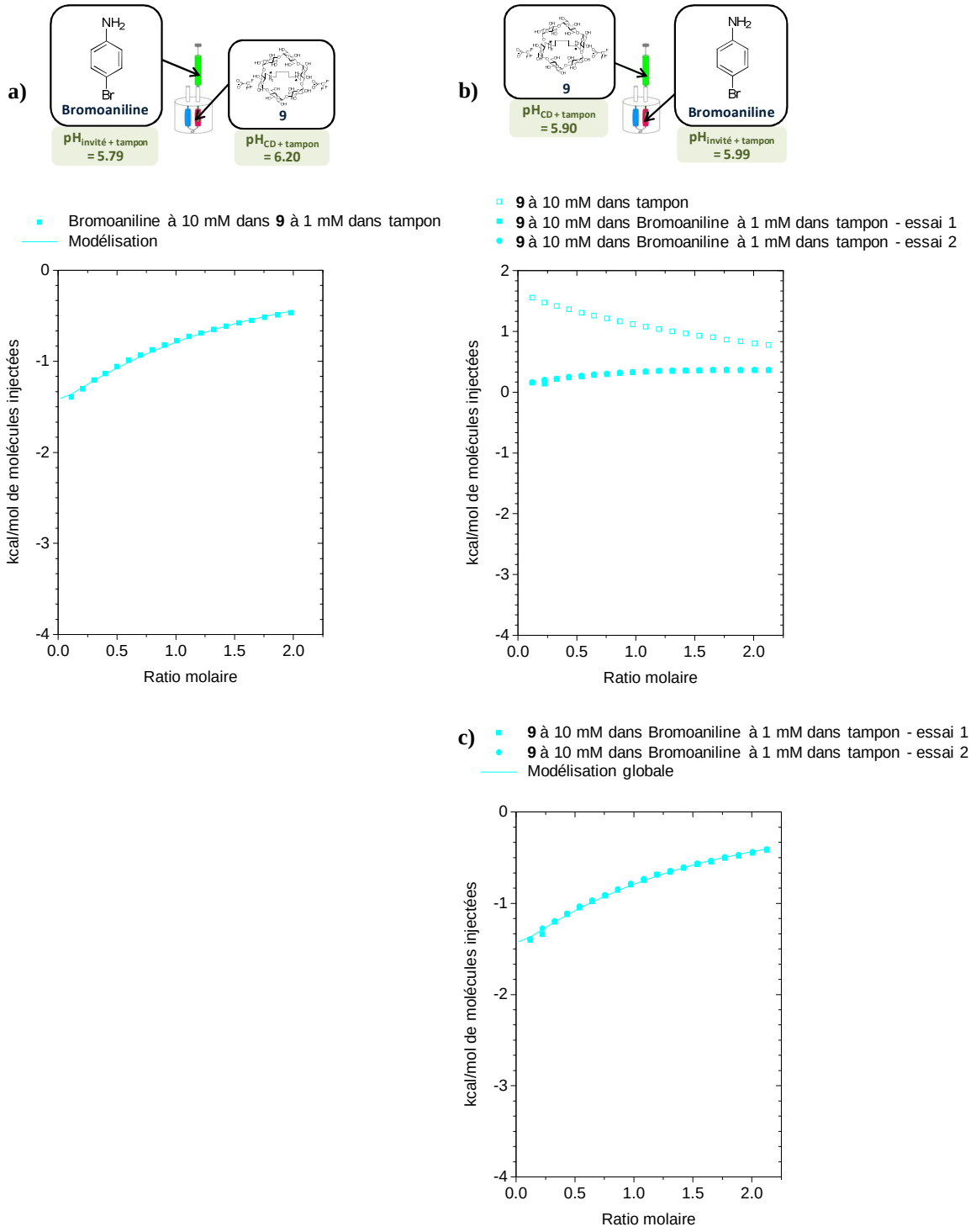


Figure 28 : a) *Isotherme obtenue lors du titrage de* ***9*** *par la bromoaniline en milieu tamponné (pipérazine à 40mM, pH=6) après soustraction de la faible chaleur de dilution de la bromoaniline. Isothermes obtenues lors du titrage de la bromoaniline par* ***9*** *en milieu tamponné* ***b)*** *avant et* ***c)*** *après soustraction de la chaleur de dilution non négligeable de* ***9****. Les courbes de modélisations de ces deux isothermes ont été effectuées avec le modèle « 1 type de site ». Les titrages ont été effectués avec le lot RB1072-73 du composé* ***9****.*

Lors de la modélisation, par le modèle « 1 type de site », du titrage de **9** par la bromoaniline, si tous les paramètres sont libres, une stœchiométrie de 0.03 est obtenue. Lorsque la stœchiométrie est fixée à 1, l'isotherme du modèle reste proche de l'isotherme expérimentale (**Figure 28-a**). Nous avons donc conservé ce résultat plus cohérent (**Tableau 16**).

Tableau 16 : *Résultats de la modélisation, avec le modèle « 1 type de site », de l'association **9**/bromoaniline en milieu tamponné (pipérazine à 40mM, pH=6).*

Titrage de :	**9 par la bromoaniline**	**Bromoaniline par 9**
[invité] (mM)	10	1[a]
N	1 **fixé**	1 **fixé**
K (M^{-1})	580 ± 20	690 ± 20
ΔH (cal/mol)	-3800 ± 80	-3500 ± 50

[a] concentration totale en invité lors des essais 1 et 2

Lors du titrage de la bromoaniline par **9**, on constate qu'en milieu tamponné la dilution de la solution de **9** conduit à une chaleur de dilution non négligeable (**Figure 28-b**). Les isothermes issues des titrages de la bromoaniline par **9** sont donc une combinaison de l'équilibre d'association **9**/bromoaniline et de l'équilibre qui a lieu lors de la dilution de **9**.

Si on soustrait le signal de dilution de **9** avant de modéliser les isothermes résultantes via le modèle « 1 type de site », une stœchiométrie de 1.85 est obtenue quand tous les paramètres sont libres. Si la stœchiométrie est fixée à 1, les isothermes du modèle restent proches des isothermes expérimentales (**Tableau 16**). Cependant, du fait du signal de dilution de **9** non négligeable, les paramètres thermodynamiques ainsi obtenus sont apparents.

Lors du titrage de **9** par la bromoaniline, la variation de la concentration de **9** est plus faible, de plus, la concentration utilisée en **9** est moindre. Le titrage dans ce sens permet donc de diminuer l'effet de l'équilibre de dilution de **9**. Les paramètres thermodynamiques issus de la modélisation de cette isotherme sont donc plus justes.

Les titrages dans les deux sens en milieu tamponné ont également été réalisés dans le cas de l'association **10**/bromoaniline (**Figure 29**).

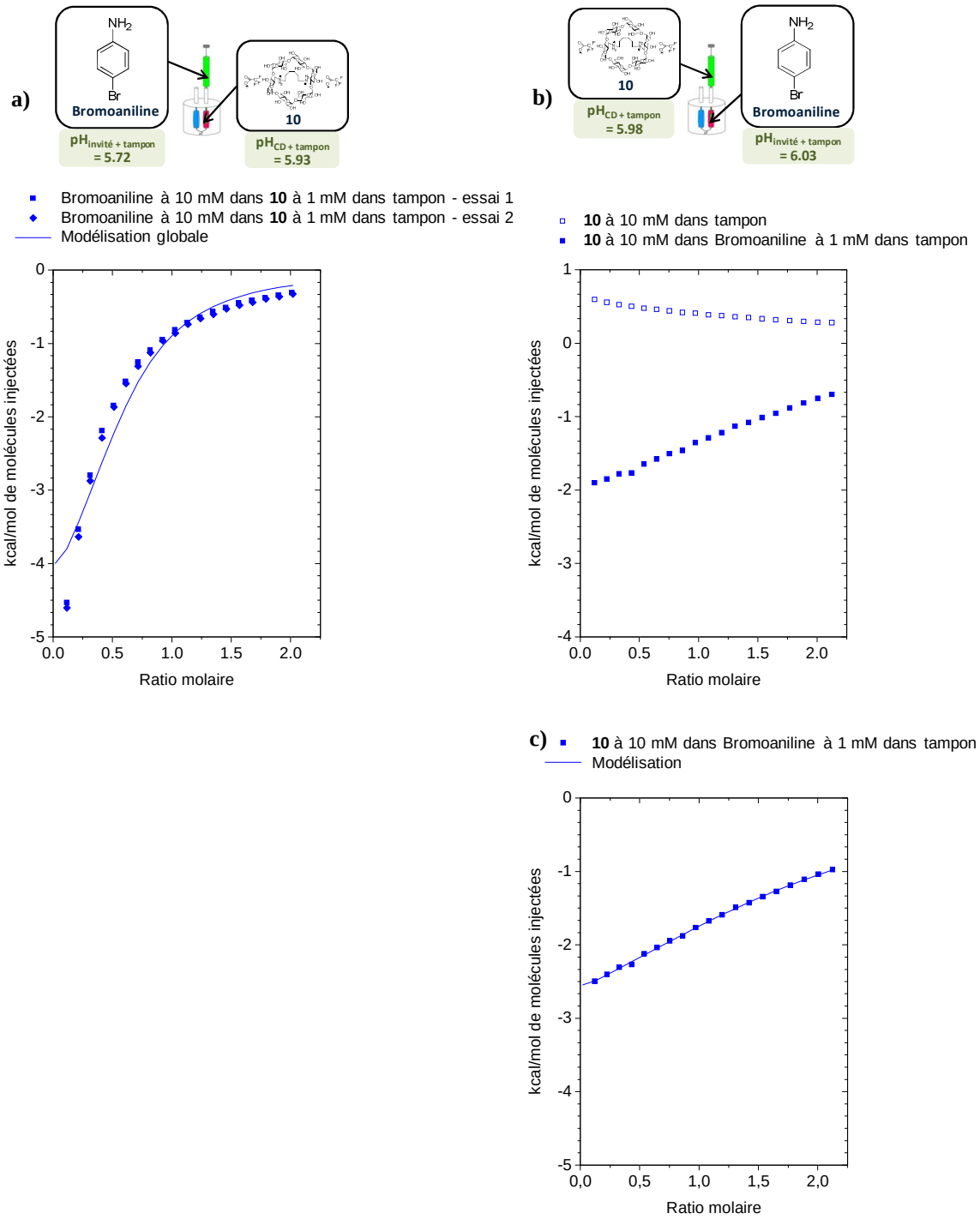


Figure 29 : a) *Isothermes obtenues lors du titrage de* ***10*** *par la bromoaniline en milieu tamponné (pipérazine à 40mM, pH=6) après soustraction de la faible chaleur de dilution de la bromoaniline. Isotherme obtenue lors du titrage de la bromoaniline par* ***10*** *en milieu tamponné* ***b)*** *avant et* ***c)*** *après soustraction de la chaleur de dilution non négligeable de* ***10****. Les courbes de modélisations de ces deux isothermes ont été effectuées avec le modèle « 1 type de site ». Les titrages ont été effectués avec le lot RBC61116 du composé* ***10****.*

Lors de la modélisation par le modèle « 1 type de site » du titrage de **10** par la bromoaniline, une stœchiométrie de 0.05 est obtenue, si tous les paramètres sont libres. Lorsque la stœchiométrie est fixée à 1, l'isotherme du modèle est très différente de l'isotherme expérimentale. Quand celle-ci est fixée à 0.55 (**Tableau 17**), le modèle se rapproche de la courbe expérimentale mais l'adéquation n'est pas optimale (**Figure 29-a**). Le modèle « 1 type de site » n'est probablement pas adapté pour caractériser cette interaction.

Tableau 17 : *Résultats de la modélisation, avec le modèle « 1 type de site », de l'association* ***10****/bromoaniline en milieu tamponné (pipérazine à 40mM, pH=6).*

Titrage de :	**10 par la bromoaniline**	**Bromoaniline par 10**
[invité] (mM)	9.79[a] / 9.95[b]	1
N	0.55 **fixé**	0.55 ± 0.005
K (M^{-1})	4610 ± 800[c]	1840 ± 130
ΔH (cal/mol)	-5600 ± 270[c]	-7200 ± 160

[a] concentration totale en invité lors de l'essai 1
[b] concentration totale en invité lors de l'essai 2
[c] modèle inadapté

Lors du titrage en milieu tamponné de la bromoaniline par **10**, on constate que la dilution de **10** conduit à une chaleur de dilution non négligeable (**Figure 29-c**). Si on soustrait le signal de dilution de **10** avant de modéliser l'isotherme résultante par le modèle « 1 type de site », les paramètres thermodynamiques obtenus sont différents de ceux obtenus lors du titrage dans l'autre sens avec N fixé à 0.55 (**Tableau 17**). Du fait du signal de dilution non négligeable de **10,** les paramètres thermodynamiques obtenus dans ce cas sont apparents.

En conclusion, l'étude de l'interaction des CDs avec les dérivés de l'aniline montre que la présence des ponts C2 (composé **8**) et C4 (composé **9**) induit une interaction avec l'anilinium qui n'a pas lieu avec la CD native (**Figure 25-a**). L'hydrophobie apportée par l'ajout des ponts C2 et C4 favorise probablement l'interaction avec le cycle benzénique de l'anilinium. Dans le cas des dérivés halogénés de l'anilinium, on constate que l'interaction observée avec l'α-CD native est conservée avec les CDs pontées. Cette association est importante notamment avec l'iodoanilinium. Cependant, la faible solubilité de ce dernier dans le milieu tamponné utilisé pour cette étude nous a conduit à nous intéresser plus particulièrement au bromoanilinium. En milieu tamponné, le composé **10** interagit fortement avec la bromoaniline, mais le modèle « 1 type de site » semble ne pas être adapté pour caractériser

cette interaction. La taille du pont de cette molécule induit probablement une interaction et donc un équilibre additionnel. Afin de s'affranchir de ce biais, le composé **9**, dont le pont C4 perturbe le moins la conformation de la cavité, a été choisi pour la synthèse des molécules substituées par la molécule invitée.

Par ailleurs, au cours de cette étude, nous avons constaté que les composés pontés sont impliqués dans un équilibre de nature inconnue lors de leur dilution. Bien qu'il ne soit pas certain que cet équilibre soit mis en jeu dans le cas des monomères hétéro-ditopiques substitués par la molécule invitée, nous avons souhaité étudier cet équilibre de manière plus détaillée. Cette étude fait donc l'objet de la partie suivante.

c. Etude du comportement en solution des CDs pontées

Nous avons précédemment constaté que les CDs pontées étudiées présentent des chaleurs de dilution non négligeables et d'intensités décroissantes au cours des dilutions, signe de la présence d'un équilibre additionnel (**Figure 18**). Dans cette partie, nous avons donc souhaité déterminer l'origine de ces signaux. Pour cela, différentes hypothèses ont successivement été évaluées.

i. Présence d'un équilibre acido-basique ?

Après mesures du pH des solutions de **8**, **9** et **10**, nous avons constaté que celles-ci présentaient des pH très bas et plus faibles que ceux des solutions des diamines primaires correspondantes (**Tableau 18**). De plus, dans le cas du composé **9**, nous avons observé une variation du pH mesuré d'un lot à l'autre (**Tableau 18**). Nous avons alors émis l'hypothèse que ces pH très bas pourraient être responsables des signaux de dilution observés.

Tableau 18 : *pH expérimentaux et théoriques des solutions de CDs à 10 mM.*

	α-CD	**8 (lot RBC21116)**	**9 (lot RB1072-73)**	**9 (lot RBC40416)**	**10 (lot RBC61116)**
Conc. (mM)	10.05	10.33	10.26	10.30	10.23
pH_{exp}	**6.15**	**2.19**	**5.76**	**2.55**	**3,95**
$pH_{théo}$		4.42[a] / 4.69[b]	5.81[a]	5.81[a]	6.38[a]

[a] pH calculés respectivement avec les pKa_2 de la 1,2-éthanediamine (6.86), la 1,4-butanediamine (9.63) et la 1,6-hexanediamine (10.76) issus de la réf. [27].
[b] Une valeur de pKa de diamine secondaire, se rapprochant ainsi de la structure du pont des CDs, a été uniquement trouvée dans le cas de la N,N'-diméthyl-1,2-éthanediamine (7.40). Ce composé conduit à un pH proche de celui de la 1,2-éthanediamine. Les diamines primaires ont donc été conservées comme modèle.

Afin de compléter les résultats issus des mesures de pH et de déterminer l'origine de cette acidité, nous avons effectué un dosage des ions TFA présents dans les lots de CDs pontées.

En effet, au cours de la synthèse des CDs pontées, le TFA, qui sert de contre-ion aux ammoniums du pont, est ajouté en excès lors de l'étape de déprotection des alcools par hydrogénation des benzyles[8]. L'excédent de TFA est ensuite éliminé en fin de synthèse au cours de la lyophilisation des CDs modifiées. L'acidité excessive des solutions de CDs pourrait donc être due au TFA en excès qui n'aurait pas été totalement éliminé pendant la lyophilisation. Le TFA étant un acide fort (pKa = 0.3), une faible quantité résiduelle pourrait alors induire une forte baisse du pH des solutions de CDs pontées. Cela entrainerait une différence de pH entre les solutions contenues dans la seringue et dans la cellule qui conduirait à un signal lors de la dilution des CDs pontées.

Ce dosage du TFA a été réalisé par analyse RMN du fluor à l'aide d'un étalon proton et fluor, le pentafluorobenzène (PFB). Une concentration en étalon de 60 mM a été utilisée afin que la concentration en fluor du PFB soit égale à la concentration théorique en fluor provenant du TFA présent dans les solutions de CDs à 10 mM. Les solutions de CDs ont été préparées dans le DMSO. Le DMSO étant un très bon solvant des CDs, ces dernières ne devraient pas former d'agrégats dans ce solvant. Pour la préparation des solutions, l'ensemble des CDs n'a donc pas été centrifugé et filtré.

A l'issue du dosage, un léger excès de TFA a été mesuré dans la solution de **8** (**Tableau 19**).

Tableau 19 : *Concentration en TFA déterminée par dosage RMN du fluor.*

	8 (lot RBC21116)	**9 (lot RB1072-73 + lot RBC40416)**	**9 (lot RB1072-73)**	**9 (lot RBC40416)**	**10 (lot RBC61116)**
Conc. en CDs (mM)	10.28	10.33			9.91
Conc.$_{théo}$ en TFA (mM)	20.57	20.66			19.82
Conc.$_{exp}$ en TFA (mM)	**22.2 ± 0.08**	**18 ± 0.05**			**15 ± 0.008**
pH$_{exp}$[a]	**2.19**		**5.76**	**2.55**	**3.95**
pH$_{théo}$[b]	**2.79**	**> 7**			**> 7**

[a] pH expérimentaux déterminés sur des solutions à 10 mM précédemment préparées dans H_2O (**Tableau 18**)
[b] pH calculés respectivement avec les pKa_2 de la 1,2-éthanediamine (6.86), la 1,4-butanediamine (9.63) et la 1,6-hexanediamine (10.76) issus de la réf. [27] (cf. Annexe 3).

Ce résultat est cohérent avec le pH expérimental précédemment mesuré (**Tableau 19**). Si on compare le pH expérimental mesuré et le pH calculé à partir de la concentration en TFA déterminée lors du dosage en utilisant le pKa de la 1,2-éthanediamine, on constate que ces

deux valeurs sont proches (**Tableau 19**). Dans le cas du composé **8**, le dosage confirme donc que l’acidité excessive mesurée est due à un excès de TFA.

Dans le cas de la solution de composé **10**, un défaut de TFA a été déterminé (**Tableau 19**). Etant donné le pKa de la 1,6-hexanediamine, ce défaut de TFA mesuré devrait conduire à une solution basique, ce qui n’est pas en accord avec le pH mesuré (**Tableau 19**). Cette incohérence pourrait être due à la présence d’une autre espèce acide issue de la synthèse du composé **10** qui serait présente en quantité résiduelle.

Pour le composé **9**, un défaut de TFA a également été mesuré (**Tableau 19**). Le dosage a été effectué sur une solution préparée avec un mélange des deux lots précédemment utilisés pour les mesures de pH. Or, ces deux lots n’avaient pas le même pH (**Tableau 19**). Il n’est donc pas possible de corréler directement le résultat du dosage aux pH expérimentaux.

En conclusion, les résultats du dosage de TFA et les mesures de pH indiquent que l’acidité des solutions de composés **8** et **10** pourrait être responsable du signal observé lors de leur dilution. Dans le cas du composé **8**, le dosage RMN montre que cette acidité excessive est due à un excès de contre-ions TFA, tandis que, dans le cas du composé **10**, la présence d’une autre espèce acide pourrait en être la cause.

Afin de pallier ce problème de pH, les dilutions des CDs ont été réalisées en milieu tamponné (**Figure 30**). Dans ce cadre, une diminution du signal de dilution a été observée pour les composés **8** et **10**, comparé aux dilutions effectuées dans l’eau (**Figure 30**). Dans le cas du composé **9**, le signal de dilution est resté similaire en absence et en présence de tampon (**Figure 30**).

Ces observations sont cohérentes avec les pH bas mesurés dans le cas des composés **8** et **10** et le pH moyen dans le cas du lot RB1072-73 du composé **9**. Cependant, la persistance des signaux de dilution des composés **8**, **9** et **10** en milieu tamponné montre que ces signaux ne sont pas uniquement dus à la dilution des protons en excès dans les solutions de composés **8** et **10**, mais sont également dus à un autre équilibre impliquant les CDs (**Figure 30**). Cet équilibre observé lors de la dilution des CDs en milieu tamponné pourrait être dû à un équilibre d’inclusion d'une espèce dans la cavité des CDs, par exemple des ions TFA.

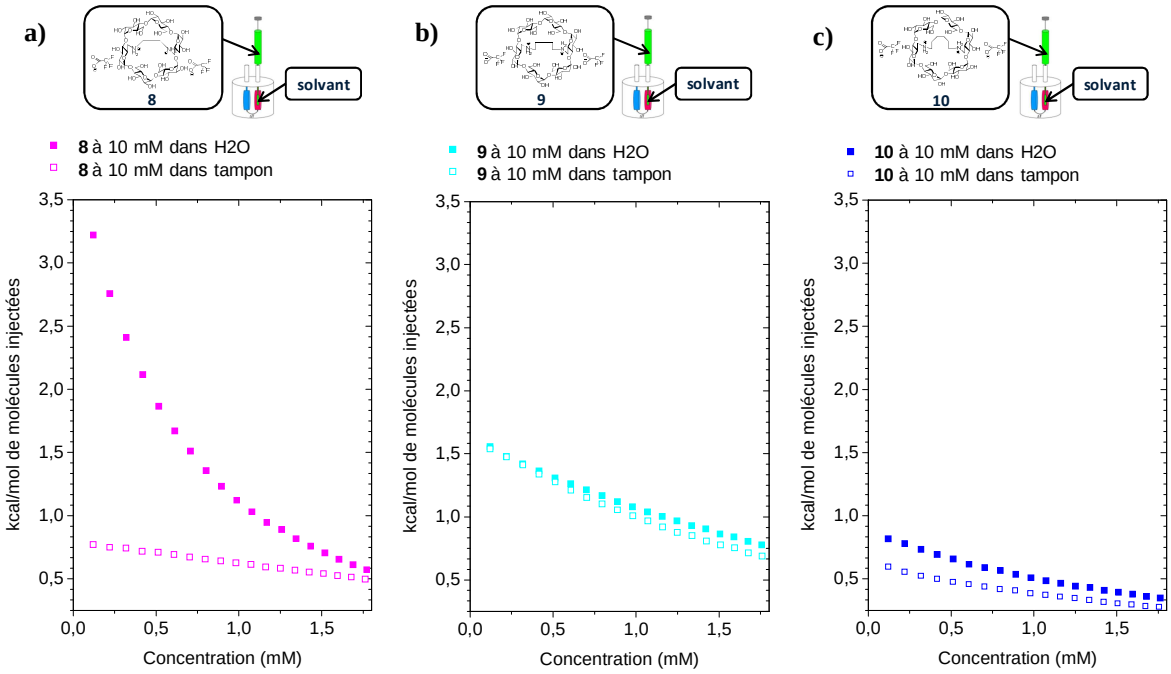


Figure 30 : *Isothermes obtenues lors de la dilution dans l'eau et en milieu tamponné de solutions de composés* ***a) 8*** *(lot RBC21116),* ***b) 9*** *(lot RB1072-73) et* ***c) 10*** *(lot RBC61116). Dans le cas du composé* ***8*** *un tampon acide formique à 40mM, pH=3.5 a été utilisé. Dans le cas des composés* ***9*** *et* ***10*** *un tampon pipérazine à 40mM, pH=6 a été utilisé.*

ii. Présence d'un équilibre d'inclusion CD/TFA ?

Pour vérifier l'hypothèse d'un équilibre de complexation TFA/CDs, nous avons effectué une mesure du coefficient de diffusion du TFA en présence et en absence de CDs par RMN DOSY du fluor. En effet, en cas d'inclusion, le coefficient de diffusion du TFA inclus devrait être plus faible que celui du TFA en solution sans CDs, i.e. non inclus.

Nous avons choisi d'effectuer la mesure de RMN DOSY sur le composé **9** étant donné notre intérêt préférentiel pour cette taille de pont pour la suite du projet. Pour cela, une solution à analyser de **9** à 10 mM a été préparée à partir d'une solution mère préalablement centrifugée et filtrée afin de retirer les agrégats (cf. Annexe 3 ; Tableau A - 15). Des solutions références de TFA à 20 mM en présence et en absence d'α-CD native ont également été préparées.

Les analyses RMN DOSY montrent que le coefficient de diffusion du TFA diminue en présence du composé **9** comparé à celui du TFA seul en solution (**Tableau 20**).

En présence d'α-CD native, le coefficient de diffusion du TFA reste au contraire identique à celui du TFA seul (**Tableau 20**).

Tableau 20 : *Détermination des coefficients de diffusion par RMN DOSY du fluor.*

	TFA	**α-CD + TFA**	**9 (lot RB1072-73)**
Conc. en CDs (mM)		10	9.97
Conc. en TFA (mM)	19.98	20.06	/
D_{TFA} x 10^{10} (m^2/s)	**11.8 ± 0.1**	**11.8 ± 0.2**	**10.3 ± 0.1**

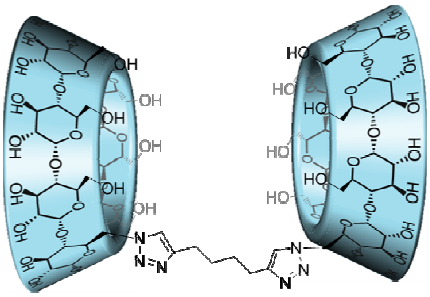
Ces résultats montrent une interaction TFA/composé **9** et une absence d'interaction TFA/CDs natives. Cependant, la masse molaire du composé **9** étant dix fois plus élevée que celle du TFA, on peut penser que s'il y avait une interaction forte telle qu'une inclusion, la diminution de la valeur du coefficient de diffusion serait plus importante que celle observée. De plus, celle-ci aurait lieu aussi bien avec la CD native qu'avec la CD pontée. Ces résultats suggèrent donc que la diminution du coefficient de diffusion du TFA observée, uniquement en présence des CDs pontées qui sont des composés chargés, pourrait être due à l'interaction électrostatique qui a lieu entre ces deux composés.

Les résultats obtenus lors des différentes analyses effectuées sur le composé **9** indiquent donc que le signal de dilution dans l'eau observé en ITC n'est dû ni à un excès d'acidité ni à l'inclusion du TFA dans la cavité.

iii. Présence d'un équilibre d'auto-association des α-CDs pontées ?

Une autre hypothèse qui pourrait expliquer ce signal de dilution observé en absence et présence de tampon lors des analyses ITC, serait une auto-association du composé **9**.

Afin de vérifier cela, nous avons effectué des mesures de viscosité sur des solutions de composé **9** obtenues après dilutions successives d'une solution mère préalablement centrifugée et filtrée (cf. Annexe 3 ; Tableau A - 16). Nous avons également mesuré la viscosité de deux composés références, l'α-CD native et un dimère covalent de β-CDs (composé **11**). Le protocole précédemment établi a été utilisé pour la préparation des solutions (cf. Annexe 3 ; Tableau A - 17).



11

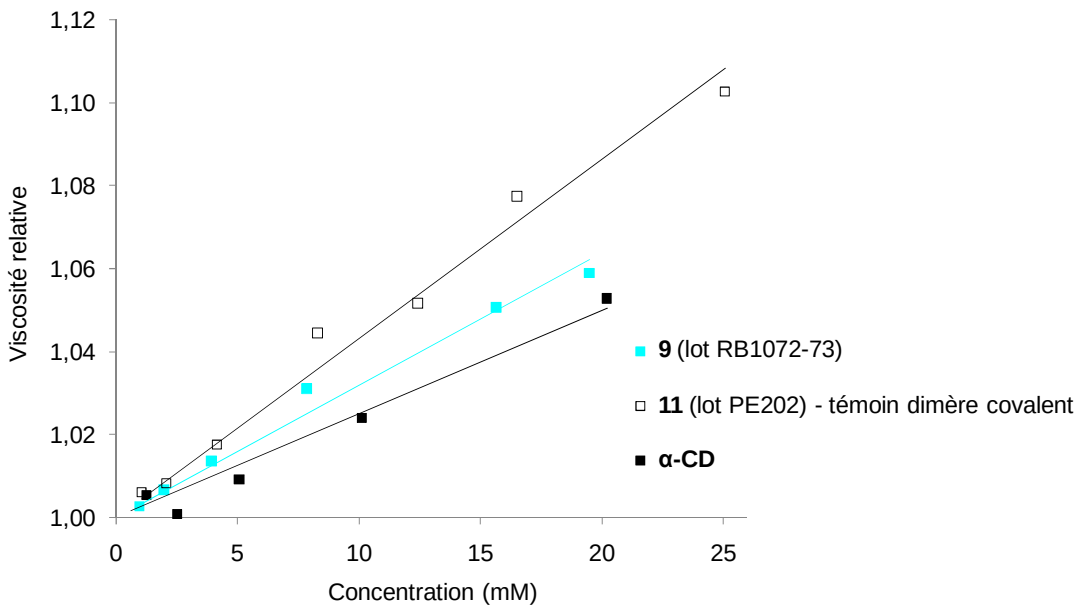


Figure 31 : *Viscosité relative des CDs en fonction de la concentration (mesurée à 25°C à l'aide d'un viscosimètre à bille ayant un angle d'inclinaison de 20°). La concentration en* ***11*** *est exprimée en concentration d'unités de CDs. Le lot RB1072-73 du composé* ***9*** *a été utilisé pour ces mesures.*

On constate que la droite moyenne obtenue pour **9** présente une pente inférieure à celle du dimère covalent (**Figure 31**). Ce résultat indique que le composé **9** est majoritairement sous forme monomère.

En absence d'auto-association de CDs, le signal de dilution précédemment observé en ITC pourrait donc être dû à un élément exogène, tel qu'un résidu de synthèse, qu'il serait alors difficile d'identifier et d'isoler.

Cependant, les CDs natives sont connues pour former des agrégats en faible quantité en milieu aqueux[10,11]. Nous avons observé, par analyses DLS, le même comportement dans le cas des composés pontés utilisés. La majorité des agrégats est systématiquement retirée lors du traitement par centrifugation et filtration. Toutefois, ces agrégats sont en échange lent avec les monomères de CDs[11], le signal de dilution observé pourrait donc aussi être dû à la dissociation d'une très faible quantité d'agrégats qui se seraient reformés après le traitement par centrifugation et filtration. Ces agrégats, présents en quantité trop faible pour induire une variation de la viscosité, pourraient donner un signal lors de leur dissociation au cours des mesures par ITC qui sont plus sensibles.

Pour vérifier cela, nous avons fait l'hypothèse qu'une auto-association des CDs pontées suivant un modèle de dissociation de dimères serait responsable des signaux de dilution observés en milieu tamponné (**Figure 32**).

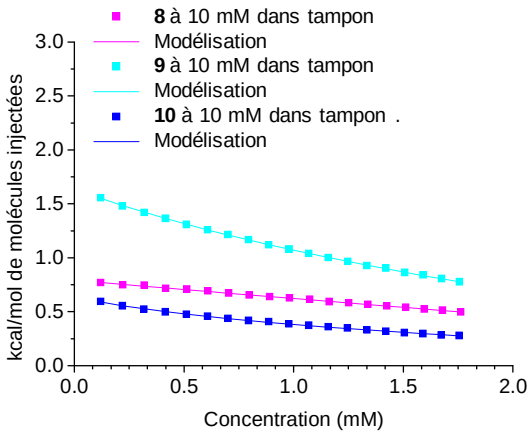


Figure 32 : *Isothermes obtenues lors de la dilution des composés **8**, **9** et **10** en milieu tamponné. La modélisation a été effectuée avec le modèle de dissociation de dimères.*

La modélisation, par le modèle de dissociation de dimères, des isothermes de dilution obtenues lors des analyses ITC précédemment effectuées en milieu tamponné (**Figure 32**) conduit à des constantes d'association faibles pour les trois composés (**Tableau 21**).

Tableau 21 : *Paramètres thermodynamiques issus de la modélisation, avec le modèle de dissociation de dimères, des isothermes en milieu tamponné des composés **8**, **9** et **10** et fraction en dimères formés à 1 et 10 mM.*

	8	**9**	**10**
K (M^{-1})	**82 ± 40**	**15.5 ± 4**	**9.7 ± 3**
ΔH (cal/mol)	-2300 ± 450	-4000 ± 310	-1400 ± 100
$\Delta H_{dilution}$ (cal/L)	-12 ± 3	-26.5 ± 3	-9.1 ± 1
[CD] (mM)	10.28	10.24	10.24
Fraction en complexes (%) à 10 mM[a]	**27 ± 14**	**20 ± 3**	**15 ± 3**
Fraction en complexes (%) à 1 mM[a]	**13 ± 6**	**3 ± 1**	**2 ± 0.5**

[a] Fraction en complexe = 100 x ([CD]-[monomère])/[CD] avec [monomère] calculée selon la réf. [28]

Dans le cas des composés **9** et **10**, les faibles constantes d'association obtenues sont cohérentes avec une faible proportion d'agrégats qui seraient formés dans les conditions de l'étude (**Tableau 21**).

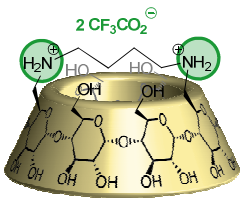
Toutefois, quand le titrage de la CD par l'invité est effectué, l'équilibre de dilution des CDs a un faible impact sur l'équilibre d'association hôte/invité étudié, comme nous l'avons constaté dans le cas du titrage de **8** par l'acide benzoïque (**Figure 21** ; **Tableau 13**) et de **9** par la bromoaniline (**Figure 28** ; **Tableau 16**). En effet, lors du titrage dans ce sens, la dilution des CDs est moindre. De plus, dans ce cas, la concentration en CDs utilisée est réduite. La quantité d'agrégats présents sera donc négligeable dans ces conditions (**Tableau 21**).

Le titrage de la CDs par l'invité permet donc de s'affranchir de l'équilibre de dissociation des CDs contrairement au titrage inverse qui conduit à des paramètres thermodynamiques apparents. En conséquence, les titrages des CDs pontées seront préférentiellement réalisés dans ce sens.

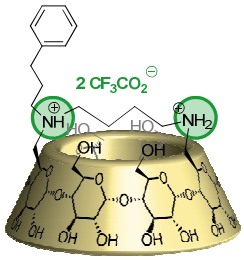
2- Etude d'α-CD-C_4 substituées

a. Étude de l'α-CD-C_4 substituée par un espaceur propylamine

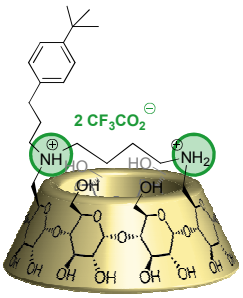
Les CDs pontées avec une chaine C_4 ont été fonctionnalisées par l'équipe GOBS avec un espaceur à trois carbones comportant un groupement phényle (composé **12**) ou un 4-tert-butylphényle (composé **13**). La détermination de la présence d'assemblages a été effectuée par mesures de viscosité et par analyses de diffusion des neutrons.



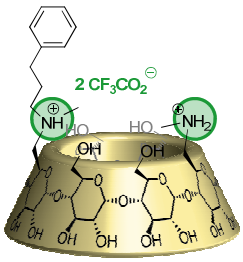
9



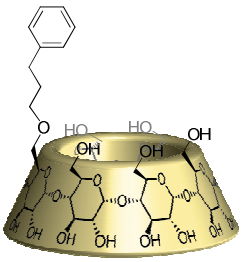
12



13



14



15

L'équipe GOBS a également synthétisé deux molécules témoins, sans pont, une chargée (composé **14**) et une autre non chargée (composé **15**). Ces molécules sans pont devraient être sous forme auto-incluse et présenter une viscosité plus faible que celles des composés homologues pontées. Les agrégats non spécifiques de CDs ont été retirés avant analyses lors de la préparation des solutions mères de composés **9**, **12**, **13**, **14** et **15** utilisés dans cette étude (cf. Annexe 3 ; Tableau A - 18 à 23).

Les courbes de viscosité relative en fonction de la concentration des différents composés ont été tracées. Les résultats obtenus montrent que les composés **14** et **15** se trouvent sur la même droite que le témoin **9** confirmant ainsi une absence d'association (**Figure 33**).

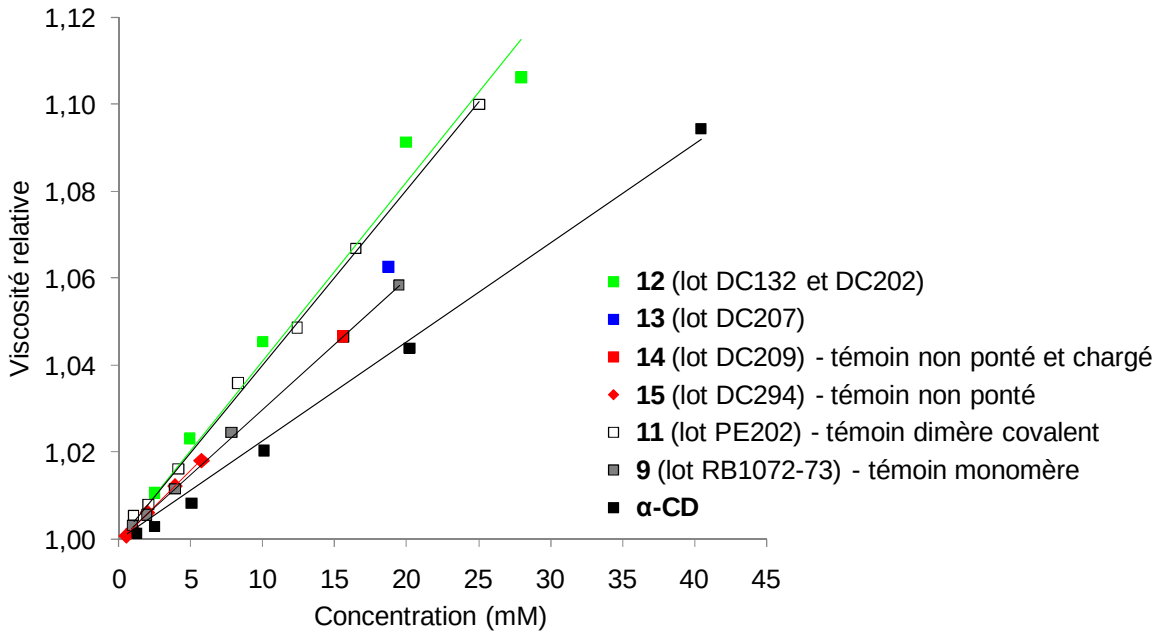


Figure 33 : *Viscosité relative des CDs en fonction de la concentration (mesurée à 25°C à l'aide d'un viscosimètre à bille ayant un angle d'inclinaison de 70°). La concentration en **11** est exprimée en concentration d'unités de CDs. Les analyses du composé **12** ont été effectuées avec deux lots contenant des cyclohexyles résiduels (lot DC132 et DC202).*

Le composé **13** suit également la même tendance que les composés non associés. Par contre, le composé **12** se trouve sur la même droite que le dimère covalent, ce qui indique qu'une faible association a lieu entre les monomères de **12**. Cependant, la variation linéaire de la viscosité de **12** avec la concentration suggère l'absence de formation de longs PSM[29].

L'analyse RMN T-ROESY réalisée par l'équipe GOBS sur le composé **12**[8] a montré des corrélations entre les protons de la cavité de la CD et les protons ortho, méta et para du

phényle indiquant une inclusion du phényle. Cependant, aucune corrélation n'a été observée entre les protons de la cavité et ceux de l'espaceur. L'analyse RMN T-ROESY montre donc que le phényle n'est pas inclus profondément dans la cavité ce qui est cohérent avec la faible interaction observée par viscosimétrie.

Des analyses par diffusion des neutrons dans D_2O ont été effectuées sur un lot de composé **12** à 46.3 mM comportant des cyclohexyles résiduels (DC202), sur un lot sans cyclohexyles résiduels (RB1-036) à 23 mM ainsi que sur le composé témoin **9** à 22.4 mM (**Figure 34**).

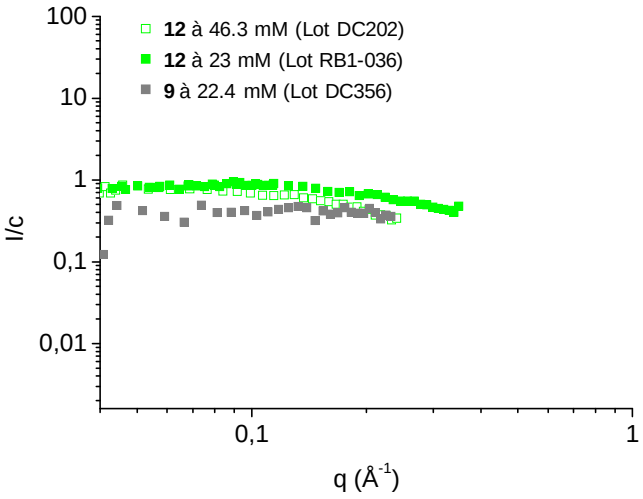


Figure 34 : *Intensité en neutrons diffusés, normalisée par la concentration, en fonction du vecteur d'onde par des solutions de **9** et **12**. Les analyses du composé **12** ont été effectuées avec le lot pur RB1-036 et le lot non pur DC202.*

Ces analyses montrent que la courbe de l'intensité en neutrons diffusés par **12** en fonction du vecteur d'onde (q) est proche de celle de **9** quelle que soit la pureté du lot de **12** analysé. De plus, l'évolution de l'intensité en neutrons diffusés par le composé **12** en fonction de q présente une pente très faible dans le domaine des vecteurs d'onde intermédiaires, ce qui confirme l'absence de formation de longs PSM. L'intensité supérieure de **12** par rapport à **9** est compatible avec la formation de dimères.

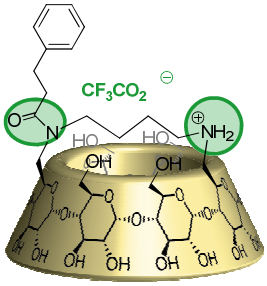
Les résultats d'analyses par diffusion des neutrons montrent donc comme ceux de viscosimétrie et de RMN que l'association du composé **12** est faible (**Figure 34**).

Par ailleurs, si on fait l'hypothèse que la constante d'association du composé **12** est de 1000 M^{-1}, comme dans le cas de l'association α-CD/acide benzoïque[4], le degré de polymérisation moyen en nombre (DP_n) obtenu pour une concentration en **12** de 20 mM, dans le cas d'un

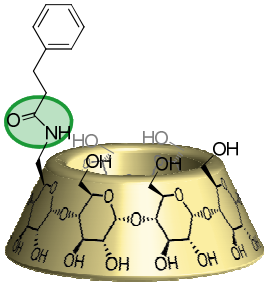
modèle d'association isodesmique, devrait être de 5 (voir la ref. [30] pour le calcul du DP_n dans le cas d'un modèle isodesmique). Or, les données expérimentales obtenues, dans cette gamme de concentration, montrent que la viscosité relative de ce composé est proche de celle du dimère covalent. Cela indique que la constante d'association de **12** est inférieure à 1000 M^{-1} et explique la faible association observée pour ce composé lors des différentes analyses réalisées.

b. Étude de l'α-CD-C_4 substituée par un espaceur propylamide

Afin de favoriser l'association, un espaceur comportant une fonction amide, moins flexible que la fonction amine, a été utilisé (composé **16**). Un composé témoin non ponté (composé **17**) a également été synthétisé pour cette étude.



16



17

Le composé **16** ainsi formé présente une limite de solubilité dans l'eau à 25°C d'environ 72 mM, plus faible que celle de 275 mM du composé **12**. Cette différence de solubilité est probablement liée au nombre de charges moindre du composé **16** ainsi qu'à la rigidité plus importante de la fonction amide. Le comportement en solution de ce composé a été évalué par viscosimétrie et par analyses de diffusion des neutrons. Les agrégats de CDs non spécifiques ont été retirés des solutions mères, utilisées pour cette étude, avant analyses (cf Annexe 3 ; Tableau A - 24 à 26).

La viscosité relative du composé **16** en fonction de sa concentration est similaire à celle du dimère covalent (**Figure 35**). La présence d'un espaceur plus rigide ne permet donc pas la formation de longs PSM de CDs.

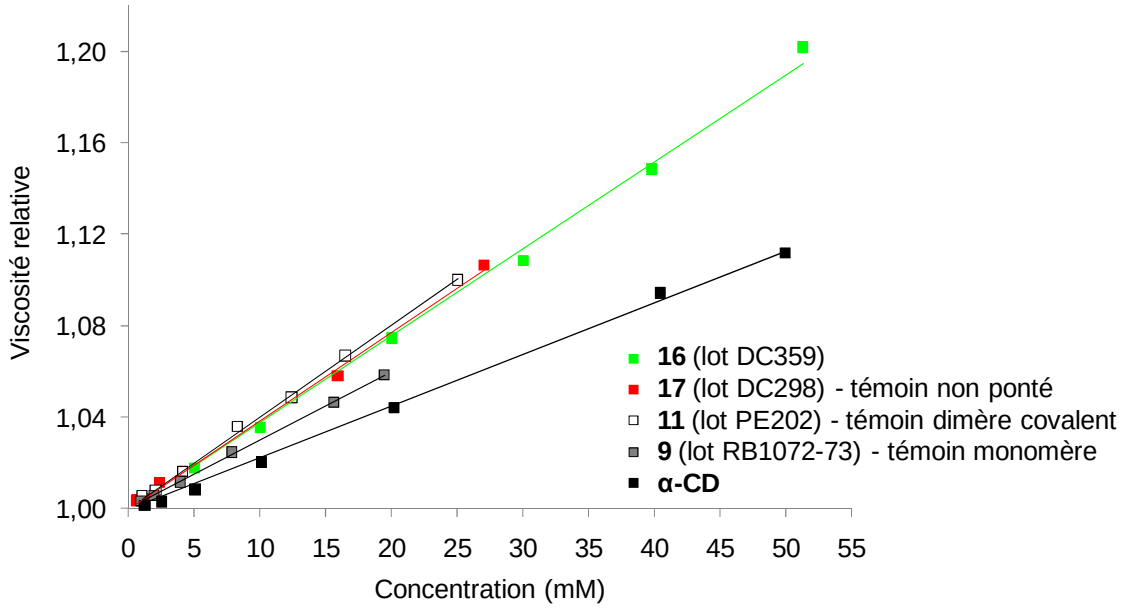


Figure 35 : *Viscosité relative des CDs en fonction de la concentration (mesurée à 25°C à l'aide d'un viscosimètre à bille ayant un angle d'inclinaison de 70°). La concentration en* ***11*** *est exprimée en concentration d'unités de CDs.*

Par ailleurs, on constate que la viscosité du composé témoin non ponté **17** suit également la même tendance que celle du dimère covalent. Ce résultat indique que la rigidité de cet espaceur empêche probablement l'équilibre d'auto-inclusion d'avoir lieu. Cependant, en présence ou absence de pont, cet espaceur ne permet pas d'induire la formation de longs PSM.

De même que pour **12**, lors de l'analyse RMN T-ROESY effectuée sur **16** par l'équipe GOBS, l'étude des corrélations entre les protons de la cavité de la CD et ceux d'une part, du phényle et d'autre part, de l'espaceur, indique une inclusion superficielle du phényle[8].

Des analyses par diffusion des neutrons dans D_2O ont également été réalisées sur le composé **16** à 51.2 mM et le résultat a été comparé à celui du composé **9** à 22.4 mM (**Figure 36**).

On constate que la courbe de l'intensité en neutrons diffusés par le composé **16** est proche de celle de **9**. Ce résultat d'analyse montre, comme ceux de viscosimétrie et de RMN, que l'association du composé **16** est faible et similaire à celle du composé **12**.

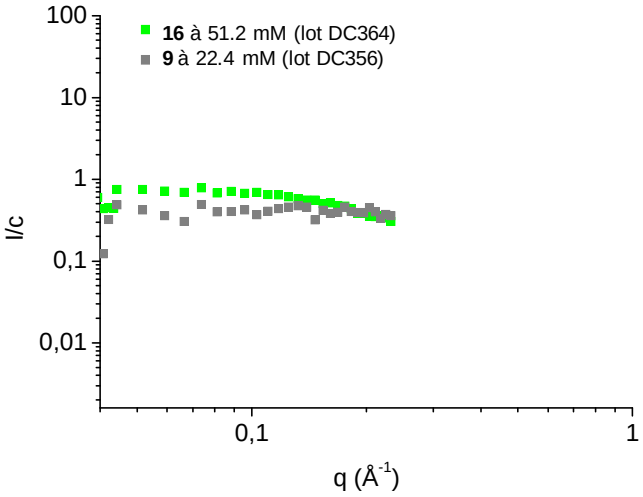


Figure 36 : *Intensité en neutrons diffusés, normalisée par la concentration, en fonction du vecteur d'onde par des solutions de* ***9*** *et* ***16****.*

Par ailleurs, les données expérimentales obtenues à 20 mM montrent que la viscosité relative de ce composé est proche de celle du dimère covalent. Ceci indique que la constante d'association de **16** est inférieure à une constante d'association de 1000 M^{-1} qui conduirait à un DP_n de 5, dans le cas d'un modèle d'association isodesmique (voir la ref. [30] pour le calcul du DP_n dans le cas d'un modèle isodesmique). Le composé monosubstitué **16**, tout comme le composé **12**, présente donc une faible constante d'association.

Si on se réfère aux résultats obtenus par A. Harada et al. dans le cas des α-CDs substituées par des groupements hydroxycinnamoyle ou cinnamoyle[2], la rigidité de l'espaceur du composé **16** n'est probablement pas suffisante pour induire la formation de longs PSM.

c. Étude de l'effet d'additifs et de la température sur les α-CD-C_4 monosubstituées

La structure chimique des monomères de CDs a successivement été modifiée afin de favoriser la formation de longs PSM de CDs. Cependant, les analyses réalisées n'ont pas mis en évidence la présence de telles structures. Afin d'atteindre cet objectif, nous avons donc décidé d'appliquer sur les solutions de CDs modifiées des conditions physico-chimiques susceptibles de favoriser la formation d'assemblages supramoléculaires. Les solutions mères des composés analysés lors de cette étude ont préalablement subi le traitement de retrait des agrégats (cf. Annexe 3 ; Tableau A - 27 à 37).

i. Effet de l'ajout d'ions cosmotropes

Dans un premier temps, nous avons étudié l'effet d'ions cosmotropes sur l'association des α-CDs modifiées. En effet, les ions cosmotropes peuvent établir de fortes liaisons hydrogène avec les molécules d'eau, ce qui renforce l'organisation du réseau de liaisons hydrogène de l'eau et induit ainsi une diminution de la solubilité des composés hydrophobes. Cet effet, d'autant plus prononcé dans le cas des ions cosmotropes multivalents, devrait donc permettre de favoriser l'inclusion des invités hydrophobes.

Nous avons choisi d'étudié l'effet d'ions cosmotropes sur l'association du composé **12** en raison de sa solubilité élevée comparée à celle du composé **16**. Pour cela, nous avons évalué, par mesures de DLS, l'effet de l'ajout de 0.9 M d'un sel cosmotrope, le $CaCl_2$, sur une solution de composé **12** à 20 mM. Le résultat obtenu a été comparé à celui de l'effet de l'ajout de 0.9 M de $CaCl_2$ sur le composé témoin **9** à 20 mM.

Les analyses de DLS réalisées dans ces conditions montrent une faible augmentation de l'intensité diffusée par les solutions de **9** et **12** (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**).

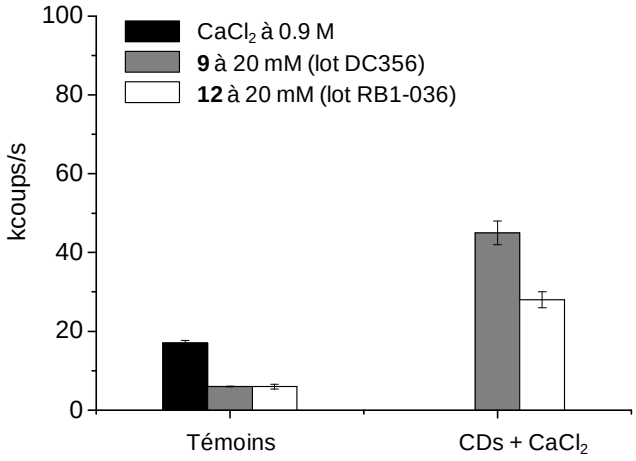


Figure 37 : *Effet de l'ajout de 0.9 M de $CaCl_2$ sur l'intensité diffusée par des solutions de **9** et **12** à 20 mM.*

Ainsi, l'ajout de $CaCl_2$ ne conduit pas à une augmentation significative de l'intensité diffusée par la solution de composé **12** comparée à celle observée lors de l'ajout de $CaCl_2$ dans la solution de composé témoin **9**, comme on aurait pu s'y attendre. Le $CaCl_2$ ne permet donc pas de favoriser significativement l'inclusion de la partie hydrophobe du composé **12**.

ii. Effet de la température

L'effet de la température a ensuite été évalué sur les composés **12** et **16**. En effet, la diminution de la température, en ralentissant la vitesse de l'équilibre hôte/invité, devrait permettre de favoriser la forme assemblée des CDs.

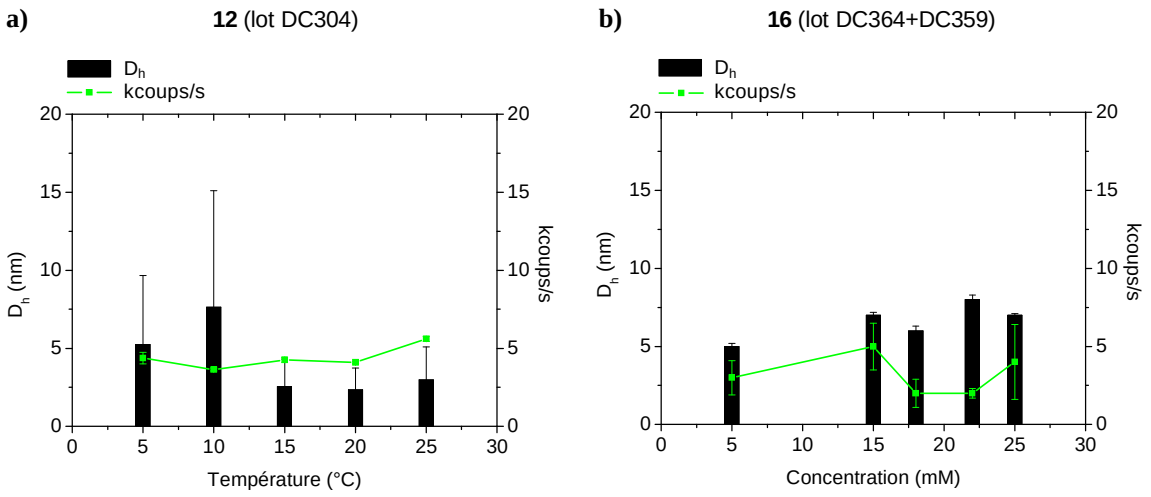


Figure 38 : *Evolution de la taille des particules et de l'intensité diffusée (kcoups/s) en fonction de la température de solutions de* ***a) 12*** *et* ***b) 16****. Pour le composé* ***12****, cinq mesures ont été effectuées après incubation pendant 30 minutes à chaque température. Pour le composé* ***16****, trois mesures ont été effectuées après incubation pendant 60 secondes à chaque température, excepté pour l'analyse à 5°C où cinq mesures ont été effectuées après une incubation de 10 minutes.*

Cependant, les mesures de DLS n'ont montré aucune augmentation significative de l'intensité diffusée lors de la diminution de la température des solutions (**Figure 38**). La température n'est donc pas un paramètre efficace pour promouvoir la formation de PSM des composés étudiés.

iii. Effet de l'état de charge

Pour finir, nous avons déterminé par analyses DLS et mesures de l'intensité en neutrons diffusés si la variation de l'état de charge des composés **12** et **16** pouvait, en réduisant l'hydrophilie et la répulsion électrostatique entre unités de répétition, favoriser la formation de PSM en solution. Pour cela, des quantités variables de la base K_2CO_3 ont été ajoutées sur des solutions de CDs. Ces résultats ont été comparés d'une part à ceux obtenus pour les solutions

des mêmes composés en absence de K_2CO_3 et d'autre part à ceux obtenus pour les solutions témoins de composé **9**, lorsque des quantités similaires de K_2CO_3 sont ajoutées.

Les analyses DLS de **9** à 20 mM montrent une augmentation de l'intensité diffusée (kcoups/s) lors de l'ajout de 1 à 2 équivalents de K_2CO_3 (**Figure 39-a)**. Cette augmentation est probablement due à une agrégation non spécifique des CDs suite à leur déprotonation. Au contraire, lors des mesures de SANS effectuées sur le composé **9** à 20mM, aucune variation de l'intensité en neutrons diffusés n'est observée en présence de 2 équivalents de K_2CO_3 (**Figure 39-b**). Les agrégats détectés par mesure DLS sont probablement présents en quantité trop faible pour induire une variation significative de l'intensité en neutrons diffusés lors des mesures de SANS.

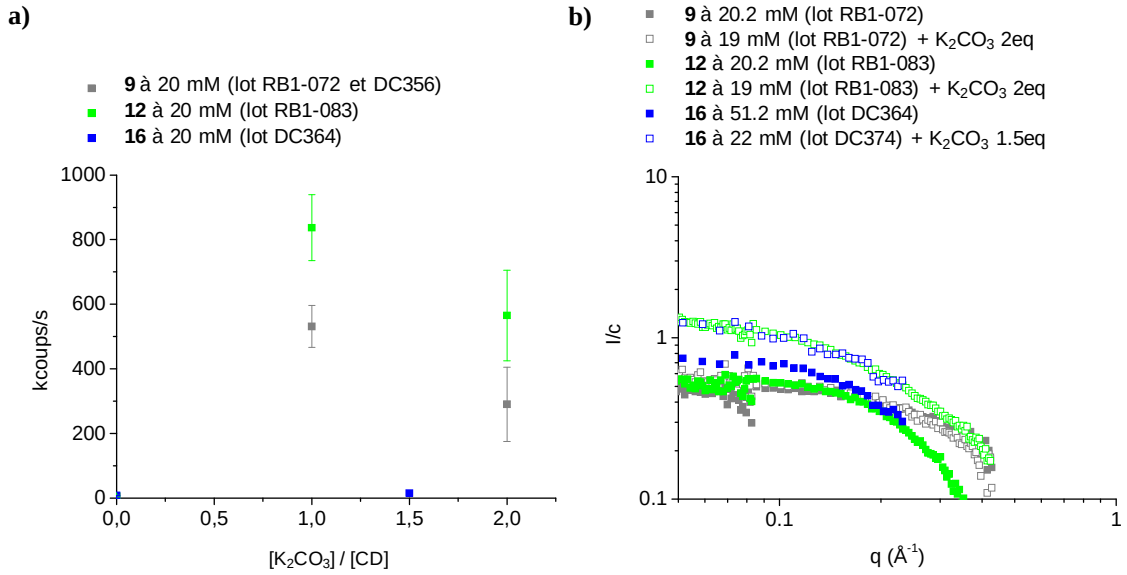


Figure 39 : a) *Intensité de la lumière diffusée (kcoups/s) par les solutions de* ***9****,* ***12*** *et* ***16*** *à 20 mM en fonction de la quantité de* K_2CO_3*.* ***b)*** *Intensité en neutrons diffusés, normalisée par la concentration, en fonction du vecteur d'onde par des solutions de* ***9****,* ***12*** *et* ***16*** *en absence et présence de* K_2CO_3*.*

Une heure après l'ajout de 1.5 équivalents de K_2CO_3 sur **16** à 20 mM, on constate que l'intensité diffusée mesurée par DLS augmente faiblement par rapport à celle de **16** en absence de K_2CO_3, contrairement à ce qui est observé pour le composé **9** à 20 mM en présence de 2 équivalents de K_2CO_3. (**Figure 39-a)**.

Des analyses de diffusion des neutrons ont également été effectuées sur une solution de composé **16** à 22 mM comportant 1.5 équivalents de K_2CO_3. Les résultats de cette analyse

montrent que l'intensité en neutrons diffusés par la solution du mélange **16**/K_2CO_3 est supérieure à celle du composé **9**. Cette intensité est peu élevée mais deux fois plus importante que celle de la solution de composé **16** sans K_2CO_3 (**Figure 39-b**). L'ajout de K_2CO_3 induit donc une augmentation significative de l'intensité diffusée, indiquant ainsi la formation de structures ayant une taille deux fois plus importante que celles présentes dans la solution pure. L'analyse par DLS ne semble, par contre, pas assez sensible pour détecter leur présence. Cependant, cette différence pourrait également être due au fait que les mesures de DLS ont été effectuées à un temps plus court (une heure) après la préparation des mélanges **9**/K_2CO_3 et **16**/K_2CO_3 que les mesures de SANS.

Lors de l'ajout de 1 à 2 équivalents de K_2CO_3 sur le composé **12**, on constate que l'intensité de la lumière diffusée est un peu plus élevée que celle observée dans le cas du composé non substitué **9** préparé dans les mêmes conditions (**Figure 39-a)**.

Les mesures de SANS montrent également une augmentation de l'intensité en neutrons diffusés de la solution de **12** en présence de 2 équivalents de K_2CO_3 comparée à celle du témoin **9** dans les mêmes conditions et à celle de la solution pure de **12** précédemment analysée. Ce résultat confirme la formation de structures de taille plus importante quand le composé **12** est déprotoné par K_2CO_3 (**Figure 39-b**).

Ce résultat est reproductible. En effet, un deuxième mélange de **12** à 21 mM et de 2 équivalents de K_2CO_3 a été effectué et analysé par SANS. Le résultat obtenu a également montré une augmentation de l'intensité diffusée du mélange comparée à celle obtenue lors de l'analyse de **12** à 25.4 mM précédemment analysé. De plus, les rayons de giration calculés à partir de ces 2 mesures de diffusion des neutrons sont similaires **(Tableau 22).**

***Tableau 22** : Rayon de giration des particules de 2 lots différents de composés **12** après ajout de K_2CO_3.*

	12 (lot RB1-083) + K_2CO_3	**12 (lot RB1-045) + K_2CO_3**
Concentration en CDs (mM)	20	21
Concentration en K_2CO_3 (mM)	40	42
Rg (nm)	**1.1**[a]	**1**[b]

[a] Le rayon de giration de **12** (lot RB1-083) sans K_2CO_3 est de 0.65 nm
[b] Le rayon de giration de **12** (lot RB1-045) sans K_2CO_3 est de 0.45 nm

Par ailleurs, l'effet de K_2CO_3 sur le composé **12** a également été étudié par analyses RMN par l'équipe GOBS[8]. Le suivi des déplacements chimiques des protons de **12** à 10 mM lors de l'ajout progressif de 0.2 à 2 équivalents de K_2CO_3 a permis de mettre en évidence la déprotonation des ammoniums du pont ainsi qu'une inclusion plus profonde des phényles dans la cavité du composé quand la quantité de K_2CO_3 ajoutée augmente.

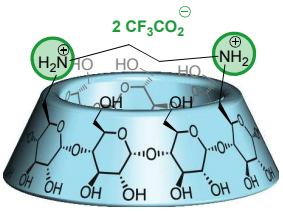
L'ensemble des résultats de cette étude permet de conclure que contrairement à la température et à l'ajout de sels cosmotropes, l'ajout d'une base est un additif efficace pour favoriser l'inclusion. En effet, l'ajout de K_2CO_3 a permis de réduire l'hydrophilie ainsi que la répulsion électrostatique entre unités de répétition du composé **12** en déprotonant les ammoniums, ce qui a conduit à une inclusion renforcée des phényles dans la cavité. Cependant, les analyses par diffusion des neutrons montrent que l'ajout de K_2CO_3 aux solutions de composés **12** ou **16** n'induit pas la formation de longs PSM. Le fait de trouver un compromis entre répulsion électrostatique, inclusion de l'invité et solubilité des complexes formés, ne permet donc pas aux α-CDs pontées et substituées de former des PSM de grandes tailles en solution.

B- Etude des β-CDs pontées

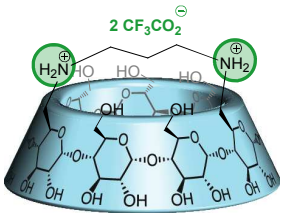
La constante d'association des α-CDs étudiées n'est apparemment pas suffisamment élevée pour permettre la formation de longs PSM même dans des conditions où l'inclusion est favorisée. Nous avons donc décidé d'appliquer notre stratégie aux β-CDs. En effet, la constante d'association élevée du couple β-CD/Adamantane pourrait permettre la formation d'assemblages de taille plus importante, bien que la solubilité des β-CDs soit beaucoup moins importante que celle des α-CDs.

1- Etude de complexes β-CD-Cn/Adamantane

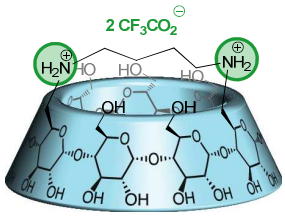
Comme dans le cas des α-CDs, nous avons tout d'abord souhaité étudier l'effet de la taille du pont sur l'interaction β-CD/Adamantane. Pour cela, l'équipe GOBS a effectué la synthèse de β-CDs comportant des ponts de différentes tailles : 2, 3, 4, 5 ou 6 carbones (composés **18**, **19**, **20**, **21**, **22**, respectivement).



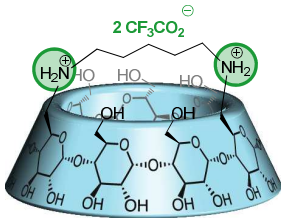
18



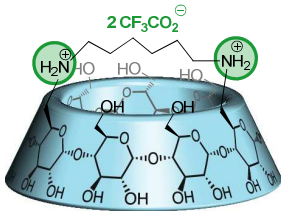
19



20



21



22

Au vu des résultats d'analyses de dilution par ITC précédemment obtenus dans le cas des α-CDs pontées, nous avons, dans un premier temps, effectué des analyses ITC de dilution des β-CDs pontées afin d'étudier leur comportement en solution. Puis, dans un deuxième temps, nous avons caractérisé l'interaction de ces composés avec des dérivés de l'adamantane.

Les solutions mères des CDs pontées utilisées lors de cette étude ont préalablement subi le protocole de retrait des agrégats avant analyses (cf. Annexe 3 ; Tableau A - 38 à 42).

a. Etude du comportement en solution des β-CD pontées

Les résultats des analyses ITC sont regroupés en sur la **Figure 40**.

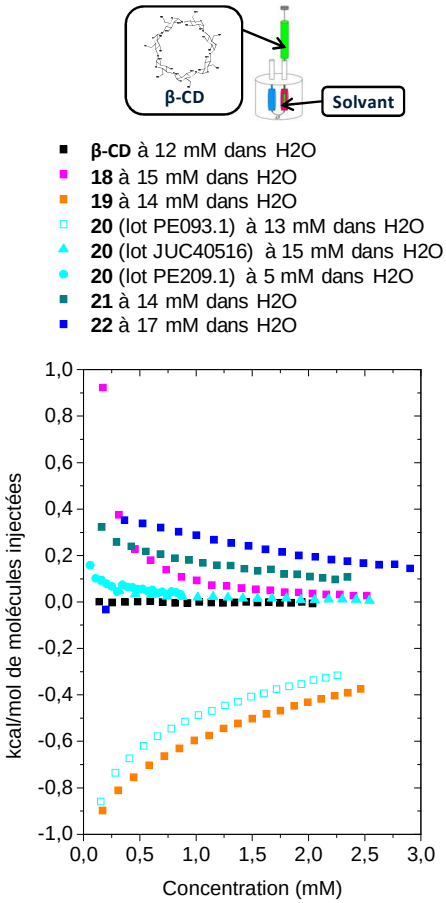


Figure 40 : *Isothermes obtenues lors de la dilution dans l'eau de solutions de β-CD native et de solutions des composés **18** à **22**.*

On constate que contrairement à la β-CD native, la dilution des composés pontés **18**, **19**, **21** et **22** conduit à des signaux non négligeables dont le signe varie en fonction du composé considéré. Dans le cas du composé **20**, le premier lot synthétisé, le lot PE093.1, a également conduit à un signal de dilution non négligeable. Cependant, les deux lots de ce même composé synthétisés par la suite, les lots JUC40516 et PE209.1, ont donné un signal de dilution faible. En conséquence, les résultats des titrages obtenus avec le premier lot ont été

écartés et les études présentées dans cette partie concernent uniquement les deux derniers lots synthétisés.

Comme dans le cas des α-CDs pontées, nous avons tenté de déterminer l'origine de ces signaux de dilution. Pour cela, nous avons vérifié si la présence d'un équilibre acido-basique et/ou celle d'un équilibre d'inclusion du TFA pouvait avoir lieu lors de la dilution des β-CDs pontées.

i. Présence d'un équilibre acido-basique ?

Afin de déterminer si les signaux de dilution obtenus pour la majorité des composés pontés sont dus à une différence de pH entre les solutions de CDs présentes dans la seringue et l'eau de la cellule de mesure, nous avons, dans un premier temps, mesuré le pH de ces solutions. Au vu des faibles quantités de solutions disponibles pour la plupart des composés étudiés, la détermination du pH a été principalement effectuée au papier pH. Cependant, les mesures de pH effectuées au pH-mètre, dans le cas de la β-CD native et du lot PE209.1 du composé **20**, montrent un écart d'environ une unité de pH avec les valeurs obtenues au papier pH (**Tableau 23-a**). Ces dernières sont donc uniquement qualitatives et ne permettent ainsi qu'une analyse comparative des pH mesurés.

Tableau 23 : *pH expérimentaux et théoriques des solutions de CDs.*

a)	**β-CD**	**20 (lot PE093.1)**	**20 (lot JUC40516)**	**20 (lot PE209.1)**
Conc. (mM)	5	13	15	5
pH_{exp}	**5.3[a] / 6.9[b]**	**5.3[a]**	**5[a]**	**5[a] / 5.9[b]**
$pH_{théo}$	7	5.76[c]	5.73[c]	5.96[c]

b)	**β-CD**	**18 (lot WbC20416)**	**19 (lot WbC30416)**	**21 (lot WbC50416)**	**22 (lot WbC60716)**
Conc. (mM)	5	15	14	14	17
pH_{exp}	**5.3[a] / 6.9[b]**	**5.9[a]**	**6.2[a]**	**5.3[a]**	**6.8[a]**
$pH_{théo}$	7	4.35[c]	5.36[c]	6.40[c]	6.27[c]

[a] pH déterminé au papier pH (gamme de pH : 3.5 – 6.8)
[b] pH mesuré au pH-mètre
[c] pH calculés respectivement avec les pKa_2 de la 1,2-éthanediamine (6.86), la 1,3-propanediamine (8.88), la 1,4-butanediamine (9.63), la 1,5-pentanediamine (10.93) et la 1,6-hexanediamine (10.76) issus de la réf.[27].

On constate ainsi que les pH des CDs pontées mesurés au papier pH sont proches à l'erreur près des pH théoriques calculés pour chaque composé. Contrairement à ce qui était observé dans le cas des α-CDs pontées, les solutions de β-CDs pontées ne présentent donc pas une acidité anormalement importante.

Dans un deuxième temps, nous avons réalisé sur le composé **20**, que nous possédions en plus grande quantité, un dosage des contre-ions TFA, afin de déterminer si le pH mesuré était en accord avec la concentration en TFA. Comme dans le cas des α-CDs, ce dosage a été effectué par RMN du fluor dans le DMSO sans centrifugation ni filtration préalable de la solution de CD analysée. 30 mM de pentafluorobenzène (PFB) ont été ajoutés à la solution analysée afin de servir d'étalon interne.

Un défaut de TFA a été déterminé lors du dosage (**Tableau 24**).

Tableau 24 : *Concentration en TFA déterminée par dosage RMN.*

	20 (lot PE209.1)
Conc. en CDs (mM)	5.26
Conc.$_{théo}$ en TFA (mM)	10.52
Conc.$_{exp}$ en TFA (mM)	**7.6 ± 0.01**
pH$_{exp}$[a]	**5.9**

[a] pH mesuré au pH-mètre sur la solution du lot PE209.1 de composé **20** à 5 mM précédemment préparée dans H_2O (**Tableau 23**)

Ce résultat n'est pas cohérent avec le pH légèrement acide précédemment mesuré pour ce composé. En effet, étant donné le pKa de la 1,4-butanediamine, ce défaut de TFA devrait conduire à une solution basique, ce qui n'est pas en accord avec le pH mesuré (**Tableau 23-a**). Cette incohérence est peut-être due à la présence d'une autre espèce acide issue de la synthèse du composé **20** qui serait présente en quantité résiduelle.

L'ensemble de ces résultats montre que les faibles signaux observés au début de la dilution du composé **20** (lots JUC40516 et PE209.1) sont peut-être dus à la présence d'une espèce acide autre que le TFA. Dans le cas des composés **18**, **19**, **21** et **22**, du fait des faibles quantités disponibles, la mesure du pH au pH-mètre ainsi que le dosage du TFA, permettant d'obtenir des résultats quantitatifs, n'ont pas pu être réalisés. Nous ne pouvons donc pas conclure avec certitude quant au lien entre le pH des solutions et les signaux de dilution observés.

ii. Présence d'un équilibre d'inclusion CD/TFA ?

Afin de déterminer si un équilibre d'inclusion du TFA dans les β-CDs a lieu, le coefficient de diffusion du TFA présent dans une solution **20** à 5 mM a été mesuré. Cette mesure a été effectuée par RMN DOSY du fluor dans D_2O. Le coefficient de diffusion mesuré a été comparé à celui obtenu dans le cas du TFA seul et du TFA en présence de β-CD native (**Tableau 25**).

Tableau 25 : *Détermination du coefficient de diffusion du TFA par RMN DOSY du fluor.*

	TFA	**β-CD + TFA**	**20 (lot PE209.1)**
Conc. en CDs (mM)		9.517	5.26
Conc. en TFA (mM)	9.986	5.145	
D_{TFA} x 10^{10} (m^2/s)	**11.7 ± 0.03**	**11.6 ± 0.1**	**11.1 ± 0.04**

On observe une faible diminution du coefficient de diffusion du TFA en présence de composé **20** contrairement à ce qui est observé dans le cas de la β-CD native. Comme dans le cas des α-CDs, cette faible diminution du coefficient de diffusion du TFA est probablement due à l'interaction électrostatique avec **20**. Ces résultats montrent donc que les signaux de dilution des β-CDs pontées ne sont pas dus à une inclusion du TFA, si on fait l'hypothèse que l'affinité du TFA est équivalente pour l'ensemble des β-CDs pontées étudiées.

Pour conclure, cette étude des β-CDs pontées montre que les faibles signaux observés lors de la dilution du lot PE 209.1 du composé **20** sont peut-être dus à la présence d'une espèce acide autre que le TFA. Dans le cas des composés **18**, **19**, **21**, **22** et du lot PE 093.1 du composé **20**, les résultats obtenus ne permettent pas de conclure sur l'origine des signaux de dilution observés. Ces derniers pourraient être dus à une irrégularité de composition des lots en termes de sels résiduels et/ou à une auto-association des CDs.

Lors de l'étude des interactions avec les dérivés de l'adamantane, le fait d'effectuer le titrage des CDs par l'invité, plutôt que le titrage dans l'autre sens, permettra de minimiser les équilibres éventuellement présents au cours de la dilution des CDs. L'influence de ces équilibres sur les paramètres thermodynamiques des associations étudiées pourra alors être négligée. Par ailleurs, la dilution des dérivés de l'adamantane, qui ont été utilisés comme invités modèles dans cette étude, donne des signaux faibles et constants, signe de l'absence de tout équilibre. Les titrages des CDs par ces invités, présentés dans cette partie, ont donc été réalisés en milieu non tamponné.

b. Etude de l'effet de la taille du pont sur les complexes β-CDs pontées/dérivés adamantane

Nous avons, dans un premier temps, effectué le titrage par ITC des composés **18** à **22** à 1 mM par un dérivé adamantane triméthylammonium à 10 mM, ayant l'iodure comme contre-ion ($AdaNMe_3^+,I^-$) (**Figure 41**).

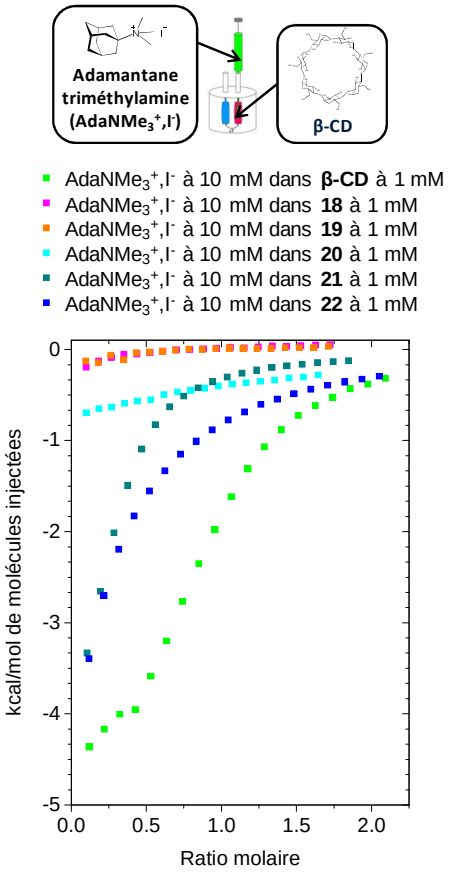


Figure 41 : *Isothermes obtenues lors du titrage des CDs par $AdaNMe_3^+,I^-$ après soustraction du faible signal de dilution de l'invité dans l'eau.*

Les isothermes obtenues montrent que l'ajout du pont réduit l'interaction du dérivé adamantane avec la β-CD (**Figure 41**). On constate également que plus la taille du pont augmente, plus l'interaction est importante.

Cependant, les β-CDs sont connues pour interagir légèrement avec l'iodure ($K = 8 – 32\ M^{-1}$) et plus fortement avec le diiode ($K = 1.85 \times 10^3\ M^{-1}$) et le triiodure ($K = 1.9 – 2.2 \times 10^3\ M^{-1}$)[31]. Or, au contact de l'air, l'iodure peut s'oxyder sous forme de diiode puis triiodure (**Figure 42**).

$$2HI + 1/2\,O_2 \rightleftharpoons H_2O + I_2$$

$$HI + I_2 \rightleftharpoons HI_3$$

Figure 42 : *Equilibre d'oxydation de l'iodure en diiode puis triiodure par le dioxygène de l'air.*

Avant de conclure avec un traitement quantitatif des isothermes obtenues, nous avons donc déterminé si les signaux obtenus n'étaient pas partiellement dus à une interaction des CDs avec les dérivés de l'iode.

Pour cela, nous avons effectué le titrage des solutions précédemment préparées de β-CD native et de **20** par une solution d'iodure de sodium (**Figure 43**).

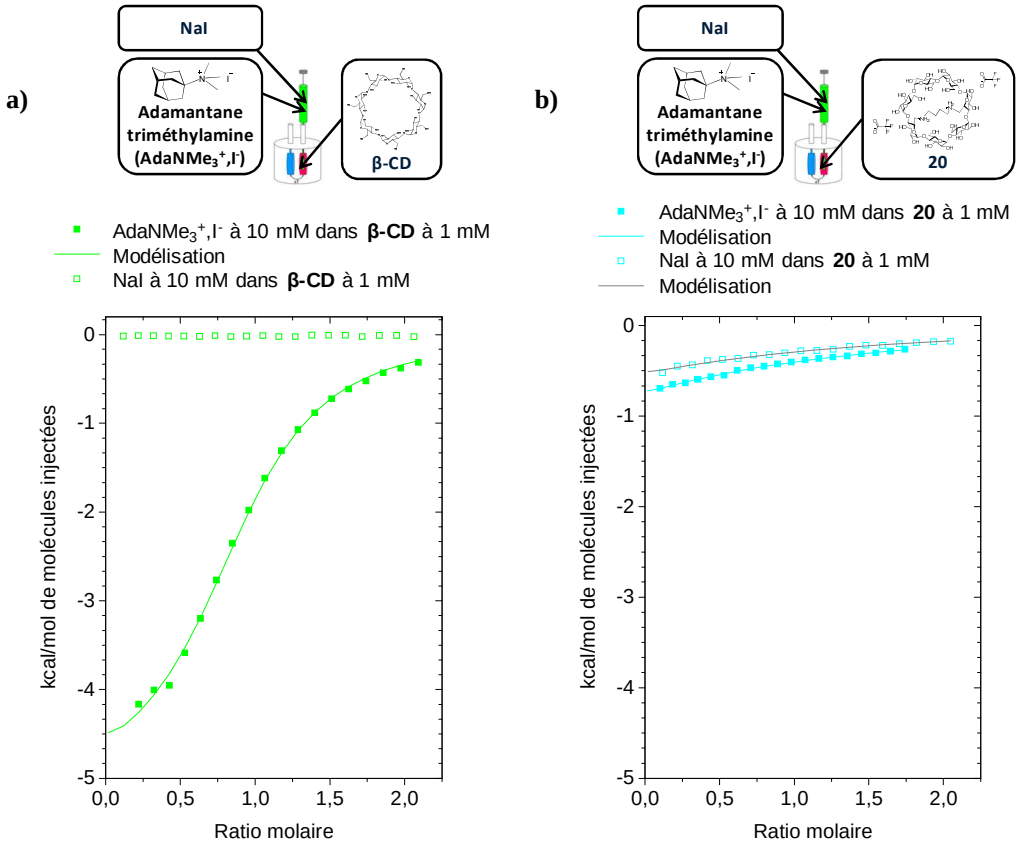


Figure 43 : a) *Isothermes obtenues lors du titrage de la β-CD par $AdaNMe_3^+,I^-$ et par NaI et* ***b)*** *lors du titrage du composé* ***20*** *par $AdaNMe_3^+,I^-$ et par NaI. Les isothermes sont présentées après soustraction du faible signal de dilution de l'invité dans l'eau.*

À l'issue de ces analyses, l'isotherme de titrage de la β-CD par NaI confirme l'interaction négligeable entre ces deux composés (**Figure 43-a**). L'iodure n'interfère donc pas dans

l'interaction de la β-CD avec $AdaNMe_3^+,I^-$. En conséquence, les paramètres thermodynamiques issus de la modélisation de cette isotherme avec le modèle « 1 seul type de site » caractérisent bien cette interaction (**Tableau 26**).

Tableau 26 : *Résultats de la modélisation, avec le modèle « 1 type de site », de l'association de la β-CD et du composé* ***20*** *avec* $AdaNMe_3^+,I^-$ *et NaI.*

Titrage de CDs :	**β-CD**		**20**	
Invité	$AdaNMe_3^+,I^-$	NaI	$AdaNMe_3^+,I^-$	NaI
N	0.9 ± 0.01	/	0.86 ± 0.2	0.86 fixé
K (M^{-1})	8020 ± 512	/	441 ± 97	437 ± 32
ΔH (cal/mol)	-5113 ± 91	/	-2631 ± 891	-1854 ± 77

Dans le cas du composé **20**, on observe au contraire une faible interaction avec NaI, conduisant à une isotherme de liaison similaire à celle obtenue avec $AdaNMe_3^+,I^-$ (**Figure 43-b**). De plus, la modélisation de ces deux isothermes par le modèle « 1 seul type de site » conduit à des paramètres thermodynamiques similaires pour les deux expériences (**Tableau 26**).

Afin de compléter ce résultat, des analyses par spectrométrie UV ont été effectuées sur des mélanges équimolaires à 5 mM de β-CD et NaI, d'une part, et de composé **20** et NaI, d'autre part. Les spectres UV de ces mélanges ont été comparés à celui de la solution de NaI à 5 mM et à celui d'une solution à 5 mM d'iodure d'hydrogène (HI) oxydé donc comportant du triiodure. En effet, l'iodure n'absorbe pas en UV, tandis que le diiode possède des bandes d'absorption à 270 nm et 460 nm et le triiodure à 287 nm et 353 nm[32]. L'analyse par UV permet donc de mettre en évidence les espèces en présence et susceptibles d'interagir avec les CDs.

Lors de l'analyse UV de la solution de NaI, aucune bande d'absorption n'a été observée à 270 et 287 nm. Au contraire, pour la solution de HI une bande d'absorption a été observée à 287 nm (**Figure 44-a**). L'analyse UV a donc permis de vérifier que la solution de NaI utilisée n'était pas oxydée et que, dans celle d'HI, l'iodure était oxydé en triiodure. Lors de l'analyse UV du mélange équimolaire de composé **20** et de NaI, une augmentation de l'absorbance dans les gammes de longueurs d'onde correspondant aux bandes d'absorption de triiodure a été observée. Cette augmentation n'a pas été observée dans le cas de la β-CD native (**Figure 44-a**).

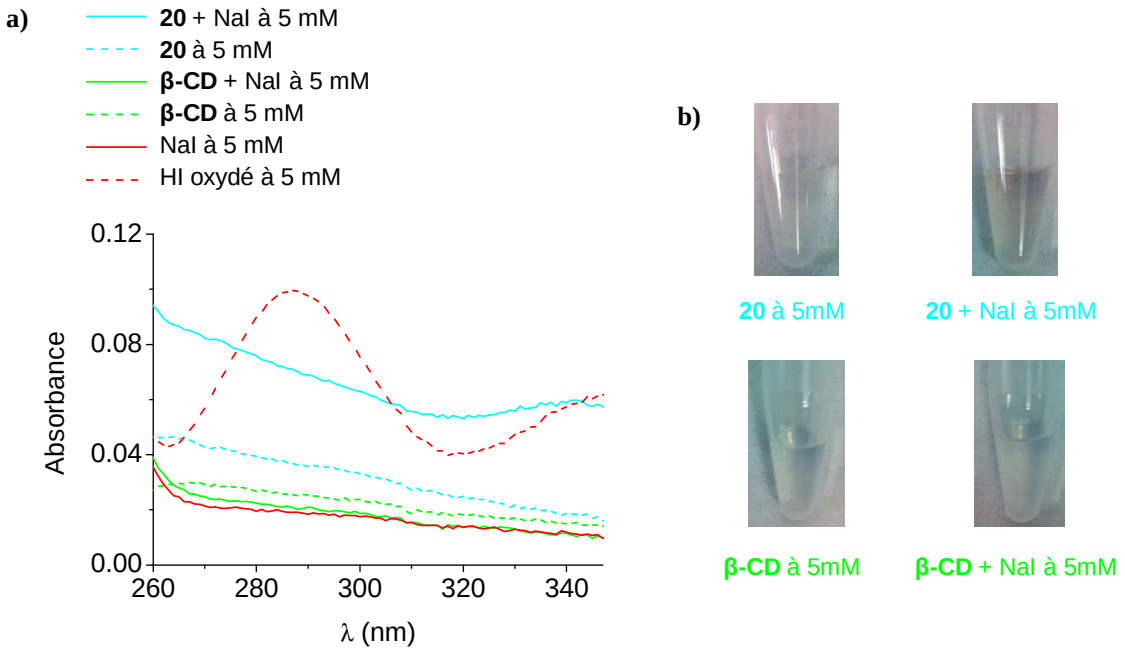


Figure 44 : a) *Spectres d'absorption UV de solutions à 5 mM de NaI, de HI, de* ***20*** *et de β-CD en présence et absence de NaI.* ***b)*** *Photos des solutions de* ***20*** *et de β-CD en présence et absence de NaI.*

La CD pontée a probablement une plus forte affinité que la β-CD native pour le triiodure. L'inclusion de ce dernier, probablement présent en quantité résiduelle mais non détectable par analyse UV dans la solution de NaI, pourrait donc tirer l'équilibre iodure/diiode/triiodure vers la formation du triiodure (**Figure 42**) comme montré par J. Pursell et al. dans le cas de l'α-CD native[33].

Le mélange composé **20** et NaI présente, en effet, une coloration rose signe de l'oxydation de l'iodure tandis que le mélange β-CD et NaI reste incolore (**Figure 44-b**).

Ces résultats d'analyses permettent de conclure que le contre-ion iodure de $AdaNMe_3^+,I^-$ est probablement responsable d'une interaction additionnelle non souhaitée avec les composés pontés et interfère ainsi avec l'interaction CD/adamantane étudiée.

Afin de s'affranchir de ce biais, nous avons poursuivi notre étude en utilisant un dérivé adamantane ammonium chlorure ($AdaNH_3^+,Cl^-$). Dans ce cadre, nous avons étudié l'interaction de cet invité avec les composés **20**, **21** et **22** les plus prometteurs du fait de la taille plus importante de leur pont (**Figure 45**).

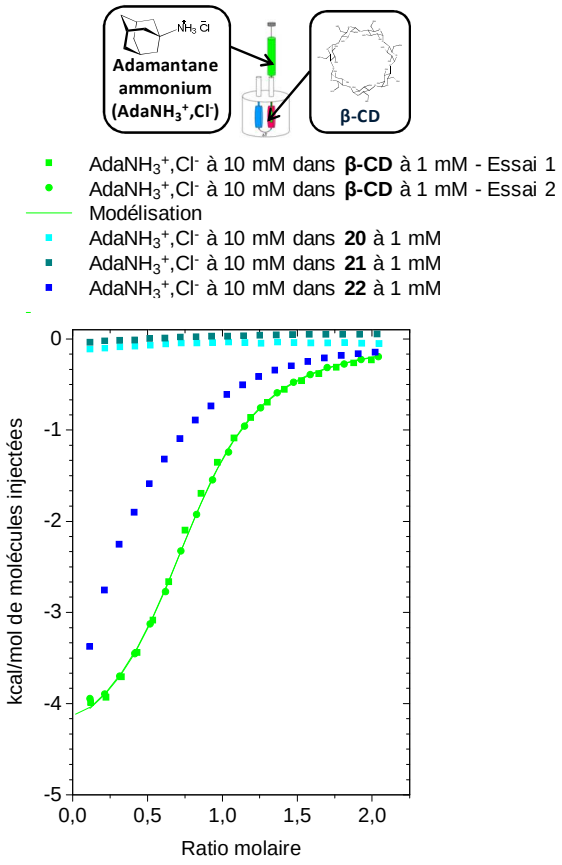


Figure 45 : *Isothermes obtenues lors du titrage des CDs par $AdaNH_3^+,Cl^-$ après soustraction du faible signal de dilution de l'invité dans l'eau.*

Après analyses ITC, on observe une interaction négligeable de $AdaNH_3^+,Cl^-$ avec **20** et **21** contrairement à ce qui était observé avec $AdaNMe_3^+,I^-$ (**Figure 45**). Ce résultat confirme l'interférence de l'interaction du contre-ion iodure lors du titrage de ces deux composés par $AdaNMe_3^+,I^-$. Le composé **22** conserve une forte interaction avec l'invité $AdaNH_3^+,Cl^-$, bien que celle-ci soit moins importante que celle obtenue avec la β-CD native (**Tableau 27**). Cependant, le modèle « 1 type de site » ne semble pas être adapté pour modéliser l'isotherme obtenue.

Tableau 27 : *Résultats de la modélisation, avec le modèle « 1 type de site », de l'association de la β-CD native avec $AdaNH_3^+,Cl^-$.*

	β-CD[a]	**20**	**21**	**22**
N	0.79 ± 0.01	Signal	Signal	modèle
K (M^{-1})	10000 ± 371	négligeable	négligeable	non adapté
ΔH (cal/mol)	-4659 ± 91			

[a] modélisation globale effectuée sur deux essais

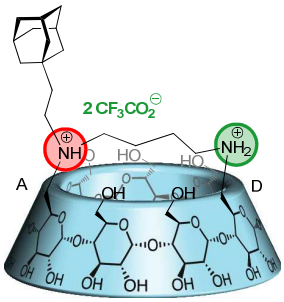
L'équipe GOBS avait précédemment synthétisé des β-CDs pontées non chargées[34]. À l'issue de la caractérisation par ITC de l'interaction de ces composés avec un dérivé de l'adamantane, le 1-adamantane acétate de sodium, une augmentation de l'interaction en présence des composés pontés par rapport à la β-CD native avait été observée. Dans notre cas, la présence des charges sur le pont est probablement responsable de la diminution de l'affinité de l'adamantane pour les composés **18** à **22** par rapport à la β-CD native. Cependant la présence de ces charges nous est nécessaire pour augmenter la solubilité des composés finaux et permettre l'implication d'interactions secondaires dans la formation des assemblages visés. Par ailleurs, lors de l'étude par ITC des composés pontés non chargés comportant des ponts de 4 à 8 carbones, l'équipe GOBS[34] a observé une augmentation de l'affinité de l'adamantane pour la cavité lors du passage d'un pont de 4 à 6 carbones. Notre résultat est donc cohérent avec les observations de ces précédents travaux. Avec un pont à 8 carbones, ils ont constaté une absence d'interaction probablement due à la gêne stérique induite par la grande taille du pont. Dans le cas du composé **22**, on peut alors penser que, bien que n'allant pas jusqu'à inhiber l'interaction, le pont à 6 carbones puisse occasionner une gêne stérique induisant des équilibres additionnels qui pourraient expliquer l'isotherme obtenue. Ce composé présente en effet un signal de dilution non négligeable qui pourrait également expliquer de tels phénomènes lors de son titrage par un invité. D'après les résultats de cette étude, le composé **22** reste néanmoins le plus intéressant comme base pour la synthèse de monomères de β-CD substitués par un invité adamantane dans le but de former des PSM linéaires de CDs.

2- Etude de β-CDs pontées et substituées

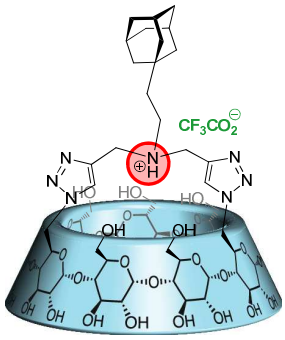
Afin d'atteindre notre objectif de synthèse de PSM linéaires de CDs, des β-CDs pontées et substituées par un groupement adamantane ont été synthétisées par l'équipe GOBS. Un espaceur comportant 2 carbones a été choisi, permettant ainsi une certaine rigidité tout en limitant sa flexibilité. La synthèse du premier composé a été effectuée avant que les résultats de l'étude par ITC sur l'effet de la taille du pont sur l'interaction β-CD/adamantane ne soient obtenus. Sur la base des précédents travaux effectués par M. Sollogoub et al.[34] un pont à 4 carbones a été utilisé donnant ainsi lieu au composé **23** (isomère A/D)[35].

Par la suite, une autre CD pontée et substituée a été développée au sein de l'équipe GOBS, le composé **24**[35]. Ce composé présente un invité adamantane porté par un espaceur à 2 carbones et possède un pont long mais comportant 2 groupements triazoles qui lui confèrent une

certaine rigidité ainsi qu'un groupement ammonium lui permettant d'être soluble en milieu aqueux.



23



24

Ces 2 composés ont été caractérisés à l'aide de différentes techniques afin d'évaluer leur capacité à s'auto-assembler sous forme de PSM linéaires. Les solutions mères des composés utilisés lors de cette étude ont été préalablement centrifugées et filtrées avant analyses (cf. Annexe 3 ; Tableau A - 43 à 44, Tableau A - 46 à 47 et Tableau A - 49 à 50).

a. Etude des propriétés en solution de 23 et 24

La viscosité relative des composés **23** et **24** a été mesurée en fonction de la concentration et les courbes obtenues ont été comparées à celles du composé **6** (β-CD-Adamantane non pontée), du composé **11** (dimère covalent de β-CDs) et de la β-CD native (**Figure 46**).

Les résultats de viscosimétrie montrent que la présence du pont sur les dérivés β-CD-Adamantane permet de promouvoir la formation d'assemblages supramoléculaires. On observe, en effet, dans le cas des composés pontés **23** et **24**, une croissance non linéaire de la viscosité relative en fonction de la concentration, signe de la formation d'objets de grande taille, donc probablement de PSM[29] (**Figure 46**). En effet, le passage d'une espèce monomère, assimilable à une particule sphérique, à un PSM, assimilable à une particule cylindrique, induit une augmentation non linéaire de la viscosité relative[36].

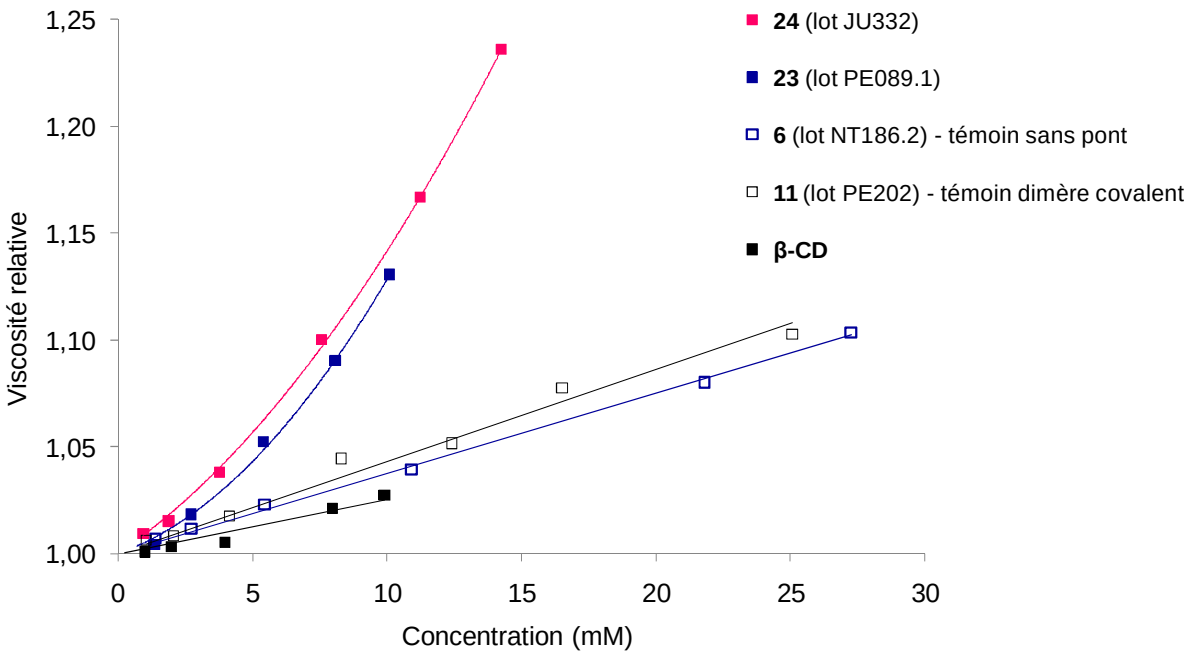


Figure 46 : *Viscosité relative des CDs en fonction de la concentration (mesurée à 25°C à l'aide d'un viscosimètre à bille ayant un angle d'inclinaison de 20°). La concentration en* ***11*** *est exprimée en concentration d'unités de CDs.*

Par ailleurs, on constate que l'association négligeable précédemment observée par ITC lors du mélange modèle entre le composé **20** et l'$AdaNH_3^+,Cl^-$ (**Figure 45**) est en désaccord avec l'auto-association observée pour le composé **23**. Les paramètres éventuellement responsables de cette différence de comportement seront étudiés plus en détails lors de la caractérisation par ITC des propriétés thermodynamiques du composé **23**.

b. Etude de propriétés thermodynamiques de 23 et 24

Les composés **23** et **24** ont été analysés en mode dilution par ITC afin de caractériser quantitativement les assemblages formés.

A l'issue des analyses ITC, on constate que les composés pontés présentent des isothermes de dilution non négligeables comparées au composé **6** (**Figure 47-a**). Ces résultats confirment donc l'importance du pont dans la capacité de ces composés à s'auto-associer.

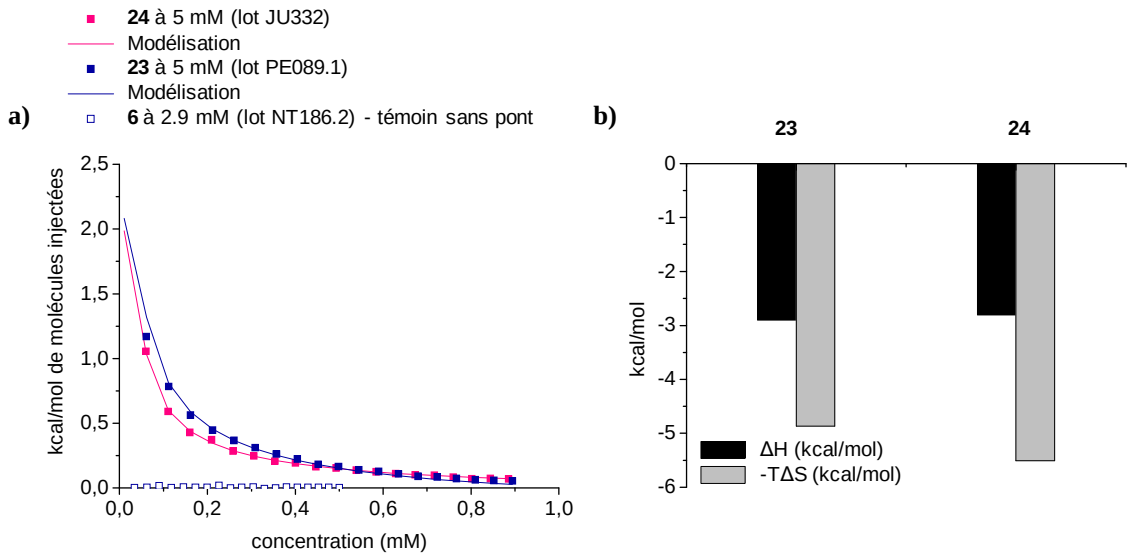


Figure 47 : a) *Isothermes obtenues lors de la dilution dans l'eau des composés* ***6***, ***23*** *et* ***24****. La modélisation a été effectuée avec le modèle isodesmique.* ***b)*** *Contributions enthalpique et entropique mises en jeu lors des interactions.*

Ces isothermes ont ensuite été modélisées par le modèle isodesmique[30,37] afin d'extraire les paramètres thermodynamiques de l'association. Les résultats de la modélisation montrent que le composé **23** s'auto-assemble avec une constante d'association de 11000 M^{-1} (**Tableau 28**) contrairement à son équivalent non ponté, le composé **6**, pour lequel aucune association n'avait été observée à 2.9 mM (**Figure 7-e** et **f**).

Tableau 28 : *Résultats de la modélisation, avec le modèle isodesmique, de l'auto-association des composés* ***23*** *et* ***24****.*

	23[a] (lot PE089.1)	**24[b] (lot JU332)**
Ka (M^{-1})	11000	28000
ΔG (kcal/mol)	-7.8	-8.3
ΔH (kcal/mol)	-2.9	-2.8
-TΔS (kcal/mol)	-4.9	-5.5

[a] Modélisation globale sur sept essais effectués à cinq différentes concentrations : à 13 mM, 5.2 mM, 2.6 mM, 1 mM et 0.52 mM après retrait respectivement des trois ou deux premiers points des isothermes obtenues avec les solutions à 0.5 mM et 1 mM (cf. Annexe 3 ; Figure A - 2).
[b] Modélisation globale sur quatre essais effectués aux quatre concentrations suivantes : à 14.3 mM, 10.3 mM, 5.2 mM et 2.6 mM (cf. Annexe 3 ; Figure A - 3).

On constate également que le composé **24** s'associe avec une constante d'association de 28000 M^{-1} plus élevée que celle du composé **23** (**Tableau 28**). Cependant, la contribution enthalpique reste à peu près constante pour ces deux composés (**Figure 47-b** ; **Tableau 28**).

La différence entre les deux constantes d'association est donc due au terme entropique qui est plus favorable dans le cas du composé **24**. Cela pourrait être dû à la rigidité plus importante du pont du composé **24** ainsi qu'à son nombre de charge moins important comparé au composé **23**.

Les résultats d'ITC montrent donc une forte auto-association de **23** contrairement à ce qui était prédit par le mélange modèle de **20** et d'$AdaNH_3^+,Cl^-$ pour lequel une association négligeable avait été observée par ITC. Afin de comprendre pourquoi ce mélange témoin ne permet finalement pas de prédire même quantitativement le comportement du composé monomoléculaire correspondant (**23**), différentes hypothèses ont été émises.

Nous avons, tout d'abord, éliminé l'hypothèse d'une gêne stérique du pont (C4) qui empêcherait l'insertion de l'invité dans la cavité. En effet, la taille du pont (environ 0.62 nmn) est similaire à celle du col primaire de la β-CD (0.6 nm), il n'est donc pas suffisamment long pour reposer à l'intérieure de la cavité. Une seconde hypothèse serait qu'une répulsion électrostatique entre les charges positives de **20** et de l'invité $AdaNH_3^+,Cl^-$ serait responsable de l'inhibition de l'interaction hôte/invité. Cependant, on peut penser que la répulsion électrostatique n'est pas à mettre en cause car le composé **23** porte également des charges cationiques qui n'empêchent pas son auto-association.

Toutefois, la distance entre la charge et le groupement invité diffère entre les deux systèmes. Ainsi, dans le cas du système bi-moléculaire modèle, il se pourrait que l'interaction hôte/invité soit défavorisée par la plus grande proximité de la charge par rapport au groupement adamantane comparé au composé **23**.

Afin de vérifier cette hypothèse et de déterminer un système modèle hôte/invité mieux adapté pour l'étude prédictive du comportement en solution des β-CDs pontées et substituées, l'interaction du composé **20** avec un dérivé adamantane présentant une charge plus éloignée, le chlorure d'adamantylméthylammonium ($AdaMeNH_3^+,Cl^-$), a été étudiée par ITC (**Figure 48**).

La comparaison de l'isotherme obtenue après dilution du mélange équimolaire à 5 mM de **20** et d'$AdaMeNH_3^+,Cl^-$ à celle obtenue lors de la dilution du mélange équimolaire de **20** et d'$AdaNH_3^+,Cl^-$ à la même concentration, semble confirmer que l'association est favorisée par l'éloignement de la charge.

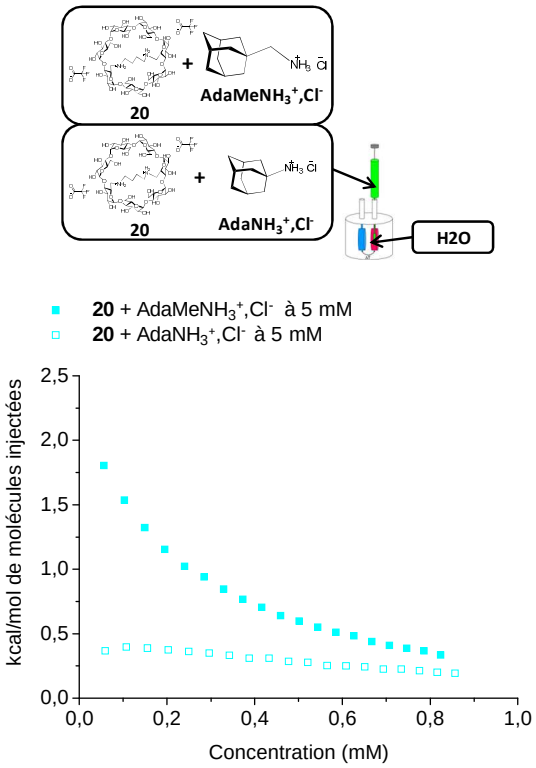


Figure 48 : *Isothermes obtenues lors de la dilution dans l'eau des mélanges équimolaires du composé* ***20*** *et de dérivés de l'adamantane.*

Cependant, R. I. Gelb et al.[38] ont montré dans le cas de la β-CD native que la meilleure stabilité du complexe $AdaMeNH_3^+,Cl^-$/β-CD, comparée à celle du complexe $AdaNH_3^+,Cl^-$/β-CD, est due à une interaction additionnelle de la partie ammonium de l'$AdaMeNH_3^+,Cl^-$ avec le col secondaire de la CD via des liaisons hydrogène. Bien que cette interprétation ne s'applique pas forcément au cas du composé **20**, on peut penser que l'$AdaMeNH_3^+,Cl^-$, n'est potentiellement pas un bon invité modèle pour prédire le comportement des CDs pontées substituées. Un invité modèle plus adapté serait donc un dérivé adamantane non chargé tel que l'adamantanol, mais celui-ci est presque insoluble en milieu aqueux. Une autre alternative serait le chlorure d'adamantyléthylammonium, car ce dernier comporte le même nombre de carbone entre l'adamantane et l'ammonium que les composés monomoléculaires utilisés, mais celui-ci devrait être synthétisé.

c. Détermination de la forme des assemblages de 23 et 24

Nous avons ensuite souhaité déterminer la forme des assemblages de **23** et **24** par diffusion des neutrons et Cryo-MET.

Les analyses de diffusion des neutrons ont été réalisées sur des solutions de composés **23** et **24** respectivement à 6.9 mM et 13.3 mM. Les résultats ont été comparés à celui précédemment obtenu avec le composé **6** à 2.9 mM (**Figure 49**).

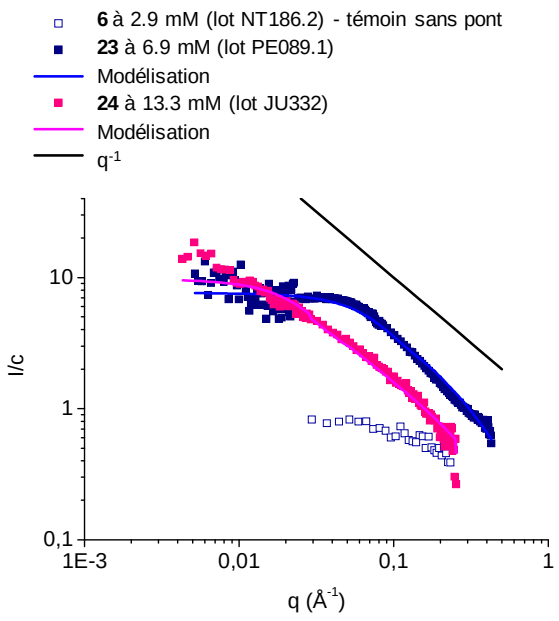


Figure 49 : *Intensité en neutrons diffusés, normalisée par la concentration, en fonction du vecteur d'onde par des solutions de* ***6****,* ***23*** *et* ***24****.*

On constate que l'intensité diffusée par les composés pontés en fonction du vecteur d'onde (q) est plus importante que celle du composé **6**, ce qui indique la formation d'objets plus grands. L'intensité diffusée par les composés **23** et **24** dans le domaine des vecteurs d'onde intermédiaires présente une pente en q^{-1}, ce qui suggère une forme de bâtonnets pour ces objets. La variation d'intensité en q^{-1} pour le composé **23** s'arrête à des vecteurs d'ondes plus grands que pour le composé **24**, ce qui signifie que les bâtonnets que forme **23** sont de plus petite taille.

L'ensemble des données obtenues a été modélisé par un modèle de cylindre de section circulaire et de contraste homogène, à l'aide du logiciel SasView. Le résultat de la modélisation du composé **23** à 6.9 mM conduit à un diamètre de 0.97 nm et à une longueur de bâtonnets de 6.6 nm. Ce diamètre est du même ordre de grandeur que le diamètre externe de

la β-CD native (1.54 nm) (Chapitre 1 ; figure 1) et confirme donc la formation de PSM. La longueur correspond à un degré de polymérisation (DP) de 6, si on utilise la distance inter-monomère de 1.01 nm déterminée lors de l'analyse par cristallographie du composé **30** (cf. Annexe 3 ; Figure A - 5) qui sera décrit dans le chapitre suivant. Dans le cas du composé **24**, les résultats de modélisation conduisent à un diamètre de 0.72 nm et à une longueur de bâtonnets de 18 nm correspondant à un DP de 18. On constate un écart significatif entre le diamètre de la β-CD native et celui issu de la modélisation. Cette différence pourrait provenir de l'hypothèse de contraste utilisée dans le modèle de cylindre de section circulaire. On fait, en effet, l'hypothèse que le contraste est homogène sur l'ensemble du PSM de CDs, ce qui est en réalité partiellement vrai notamment au niveau de la cavité.

Cet écart n'a toutefois pas d'influence sur la valeur de DP déterminée. Nous avons donc comparé les valeurs de DP obtenues par SANS à celles calculées à l'aide des constantes d'association précédemment déterminées par ITC pour des concentrations identiques de composés **23** et **24** (**Tableau 29**).

Tableau 29 : *Dimensions des PSM des composés **23** et **24** issues de la modélisation des résultats d'analyses SANS par un modèle de cylindre de section circulaire et de contraste homogène. Comparaison des DP issus des analyses SANS et des données d'ITC.*

	23	**24**
Concentration (mM)	6.9	13.3
Diamètre (nm)	0.97	0.72
Longueur (nm)	6	18
DP_{SANS}	**6**	**18**
$DP_{n,\ ITC}$[a]	9	20

[a] voir la ref. [30] pour le calcul du DP_n à une concentration donnée à partir de K dans le cas d'un modèle isodesmique

On constate alors que les DP obtenus par analyses par diffusion des neutrons sont bien en accord avec les DP_n issus des données d'ITC. L'ensemble de ces résultats confirment ainsi l'importance du pont qui, en empêchant l'auto-inclusion, permet de promouvoir la formation de PSM.

Les composés **23** et **24** ont également été analysés par Cryo-MET afin d'obtenir une information directe sur leur morphologie et leurs dimensions en solution. Les photos obtenues du composé **23** à 12.6 mM montrent la présence de particules sphériques d'une taille

homogène de 13 ± 2 nm (**Figure 50**). Celles obtenues dans le cas du composé **24** à 14.9 mM montrent la présence de particules sphériques d'une taille de 15 ± 4 nm mm (**Figure 50**).

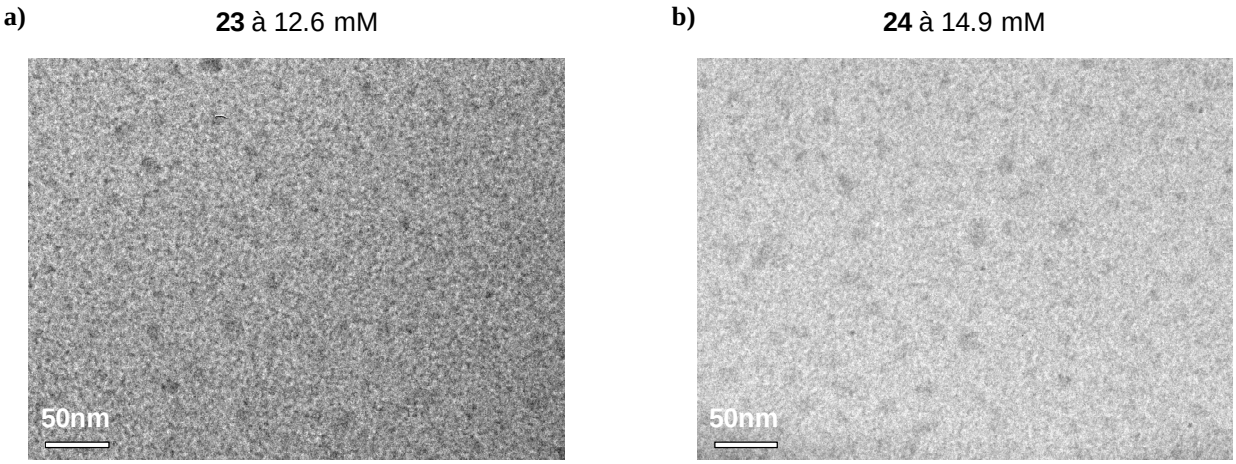


Figure 50 : *Images de Cryo-MET obtenues pour des solutions* ***a)*** *de composé* ***23*** *et* ***b)*** *de composé* ***24*** *respectivement à 12.6 mM et 14.9 mM.*

On constate que la taille des objets observés est du même ordre de grandeur que celle attendue à cette concentration d'après le DP_n déterminée par ITC (12 nm pour **23** et 21 nm pour **24** en utilisant une distance inter-monomères de 1.01 nm - cf. Annexe 3 ; Figure A - 5). Cependant, leur forme sphérique est en désaccord avec les résultats obtenus par SANS. La limite de résolution de l'analyse par Cryo-MET ne permet probablement pas l'observation des bâtonnets courts de faibles diamètres mis en évidence par l'analyse SANS. Bien que les solutions de **23** et **24** aient été centrifugés et filtrés 1 à 2 jours avant les analyses de Cryo-MET (cf. Annexe 3 ; Tableau A – 44-d et Tableau A – 47-b) et que la gamme de concentrations utilisée permette une stabilité de l'échantillon sur plusieurs jours, il se pourrait que les objets observés lors de l'analyse Cryo-MET correspondent des agrégats de faibles tailles en cours de croissance qui ne seraient pas observables par les autres techniques, i.e. SANS et DLS.

d. Détermination des dimensions des assemblages de 23 et 24 via la mesure de leurs coefficients de diffusion

La DLS est une technique communément utilisée pour mesurer la taille des particules en solution. Cependant, dans le cadre de ce projet, nous sommes en limite de détection de cette technique car la taille des objets étudiés est très petite et les concentrations utilisées sont faibles. Afin de pallier cette limitation, nous avons mesuré la taille des assemblages par dispersion de Taylor (TDA) et comparé les résultats à celui du composé témoin **20**. Les coefficients de diffusion des CDs déterminés par TDA ont ensuite été comparés à ceux mesurés par RMN DOSY par l'équipe GOBS puis utilisés pour le calcul de la taille des assemblages en solution via la relation de Stokes-Einstein (cf. Chapitre 2 ; équation 26).

i. Détermination des coefficients de diffusion de 23 et 24 par analyses TDA

Les analyses par dispersion de Taylor (TDA) ont été réalisées en mode impulsion. Le mode impulsion a consisté en l'injection par pression hydrostatique d'un volume de quelques microlitres d'échantillon qui a ensuite migré le long du capillaire jusqu'au détecteur UV sous l'action d'une pression hydrostatique constante appliquée à l'entrée du capillaire. Les taylorgrammes issus de chaque analyse ont ensuite été modélisés par une gaussienne avec le logiciel Origin (**Figure 51**). Le paramètre σ extrait du résultat de modélisation traduit l'élargissement de la bande d'injection et est relié au coefficient de diffusion translationnel des particules en solution (cf. Chapitre 2).

Après vérification des conditions nécessaires pour avoir de la dispersion de Taylor ($\tau > 1.4$ et $P_e \geq 69$ - cf. Chapitre 2) et application des corrections dues aux conditions expérimentales (rampe de pression d'injection et volume d'injection fini - cf. Annexe 2), le coefficient de diffusion D a été calculé à l'aide de l'équation de Taylor (cf. Chapitre 2 ; équation 50). Une fois D obtenu, le rayon hydrodynamique de la sphère équivalente a été déduit en utilisant la relation de Stokes-Einstein (cf. Chapitre 2 ; équation 26).

Par ailleurs, contrairement au mode d'injection en front, lors des analyses en mode impulsion, l'échantillon est dilué lors de son parcours dans le capillaire. Or, dans le cas de systèmes supramoléculaires, la concentration a une influence sur la taille des assemblages formés. Ce facteur de dilution a donc été déterminé afin de corriger la concentration d'entrée par la concentration finale au niveau du détecteur. Un facteur de dilution de 2.5 a été déterminé (cf. Annexe 3 ; Figure A - 4). Les concentrations des solutions injectées en mode impulsion ont donc été corrigées de ce facteur.

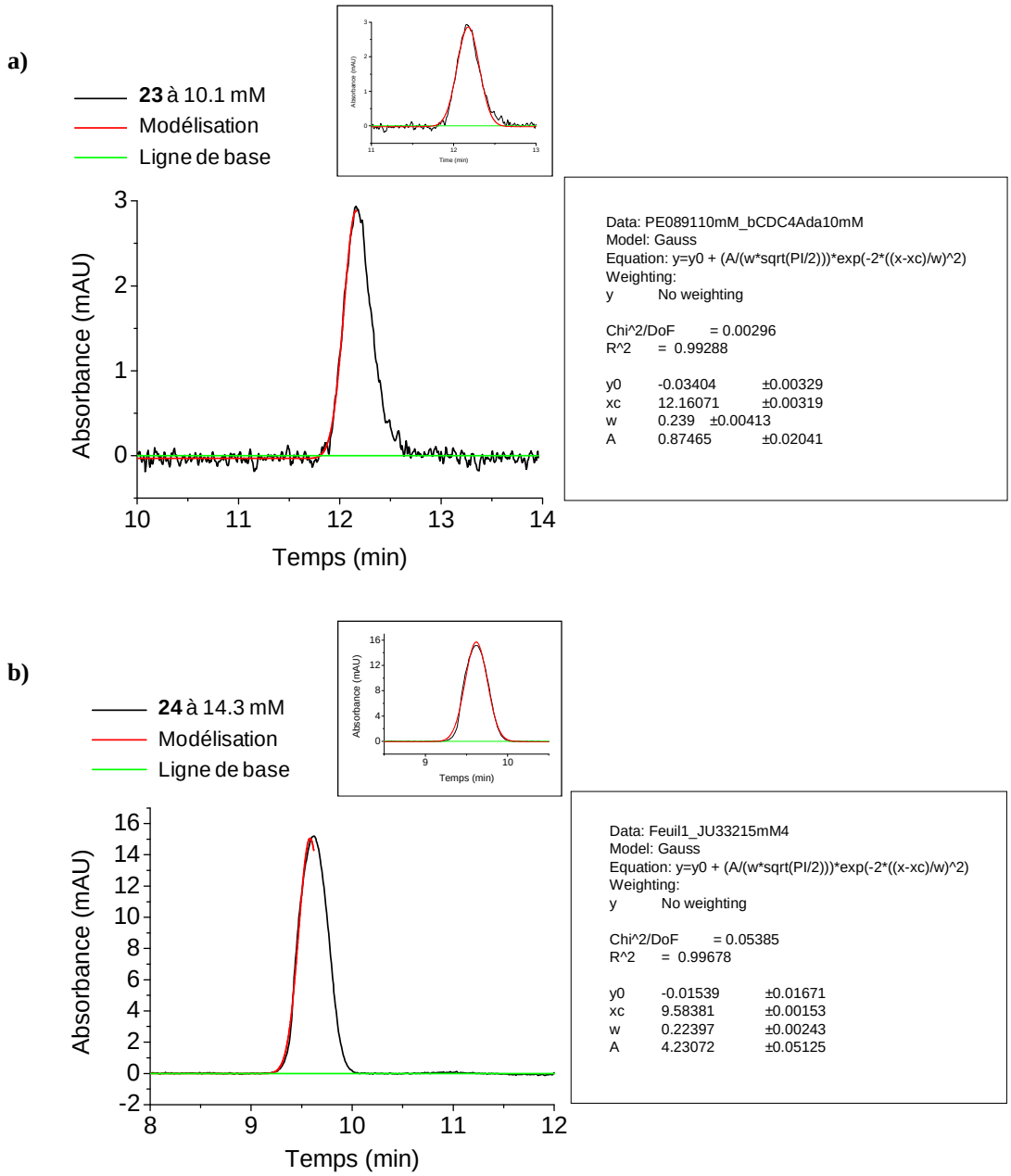


Figure 51 : *Exemples de taylorgrammes modélisés par une gaussienne obtenus pour les composés* ***a) 23*** *et* ***b) 24****. Dans ces deux exemples les courbes de modélisation effectuée sur l'ensemble des taylorgrammes ne suivaient pas correctement les données expérimentales sur certaines parties du pic (voir inserts). Les modélisations ont donc été effectuées uniquement sur la partie gauche des taylorgrammes car cette partie des courbes est moins sensible aux éventuels phénomènes d'adsorption sur le capillaire.*

A l'issue des analyses en mode impulsion, on constate que les coefficients de diffusion mesurés à concentrations équivalentes pour les composés **23** et **24**, i.e. 2 mM, sont inférieurs à ceux du composé témoin **20** (**Tableau 30**).

Tableau 30 : *Coefficients de diffusion des composés **20**, **23**et **24** mesurés par TDA à 25°C en mode impulsion.*

	20	**23**		**24**		
Concentration (mM)[a]	**2**	**2**	4	0.4	**2**	5.8
D_{exp} x 10^{10} (m^2/s)	**6**	**4.7 ± 0.2**	4	**4.1**	**3.4 ± 0.6**	3.7 ± 0.5
ΔD_{exp} x 10^{10} (m^2/s)[b]	/	**1.4**	2.1	1.9	**2.6**	2.4
R_h (nm)[c]	0.4	0.52	0.61	0.6	0.72	0.67

[a] concentrations corrigées par le facteur de dilution de 2.5.
[b] différence entre le coefficient de diffusion du composé témoin **20** à 2 mM et les coefficients de diffusion des composés **23** et **24** à différentes concentrations.
[c] Rayon hydrodynamique de la sphère équivalente calculé avec la relation de Stokes-Einstein (cf. Chapitre 2 ; équation 26) avec la viscosité de H_2O = 0.00089 Pa.s à 25°C.

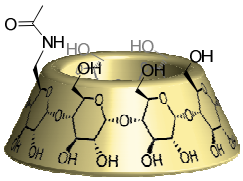
Cela indique la présence d'objets de tailles plus importantes dans les solutions de **23** et **24**. La diminution du coefficient de diffusion est plus importante dans le cas du composé **24**. Ce résultat est donc qualitativement en accord avec les résultats des analyses ITC et SANS qui indiquaient la formation d'assemblages de plus grande taille avec le composé **24** (**Tableau 29**).

On note, par ailleurs, que la charge des composés étudiés a un effet sur les coefficients de diffusion déterminés. En effet, la valeur de *D* obtenue par TDA pour le composé **20** est deux fois plus élevée que celle trouvée dans la littérature pour la β-CD native[39] (**Tableau 31**).

Tableau 31 : *Comparaison des coefficients de diffusion des composés **20** et **25** mesurés par TDA à 25°C en mode impulsion et des coefficients de diffusion de CDs mesurés par TDA issus de la littérature*

	β-CD	**β-CDSO_3^-,Na^+**	**20**	**α-CD**	**25**
Concentration (mM)	c → 0[a]	c → 0[a]	2[b]	c → 0[a]	15.5[b]
D_{exp} x 10^{10} (m^2/s)	**3.26**[c]	**7.13**[d]	**6**	**3.53**[e]	**3.79**

[a] concentration tendant vers 0 mM
[b] concentration corrigée par le facteur de dilution de 2.5
[c] Valeur issue de la réf. [39]
[d] Valeur issue de la réf. [40]
[e] Valeur issue de la réf. [41]



25

Cette valeur expérimentale est par contre du même ordre de grandeur que la valeur relevée dans la littérature dans le cas d'une β-CD chargée substituée par un sulfonate de sodium (β-$CDSO_3^-$,Na^+) analysée par TDA[40]. De plus, dans le cas de l'analyse par TDA d'une α-CD non chargée substituée par un groupement acétamide (composé **25**), un *D* cohérent avec celui trouvé dans la littérature pour l'α-CD native[41] est obtenu.

ii. Comparaison des coefficients de diffusion mesurés par TDA et RMN

Nous avons également comparé les résultats obtenus par TDA aux *D* mesurés par l'équipe GOBS par RMN DOSY sur les mêmes composés (**Tableau 32**).

Tableau 32 : *Coefficients de diffusion des composés **20**, **23** et **24** mesurés à 25°C par RMN DOSY.*

	20	**23**		**24**		
Concentration (mM)	**1.5**	**2.4**	4.8	0.9	**1.9**	7.5
D_{exp} x 10^{10} (m^2/s)	**2.65**	**2.3**	**1.5**	**1**	**0.85**	**0.62**
ΔD_{exp} x 10^{10} (m^2/s)[a]	/	**0.4**	1.1	1.6	**1.8**	2
R_h (nm)[b]	0.75	0.87	1.32	1.95	2.34	3.22

[a] différence entre le coefficient de diffusion du composé témoin **20** à 1.5 mM et les coefficients de diffusion des composés **23** et **24** à différentes concentrations.
[b] Rayon hydrodynamiques de la sphère équivalente calculé avec la relation de Stokes-Einstein (cf. Chapitre 2 ; équation 26) avec la viscosité de D_2O = 0.001097 Pa.s à 25°C

Les résultats montrent que l'écart entre le *D* du composé témoin **20** et celui des composés **23** et **24** (ΔD_{exp}) suit la même tendance pour les deux techniques (**Tableau 30** ; **Tableau 32**). En effet, à une concentration d'environ 2 mM en CDs, on obtient, avec les deux techniques, un ΔD_{exp} du composé **24** plus grand que celui du composé **23**.

Cependant, on constate que les *D* déterminés par TDA sont plus de deux fois plus élevés que ceux obtenus par RMN. Or, le rapport de la viscosité à 25 °C de H_2O (0.00089 Pa.s) sur celle de D_2O (0.001097 Pa.s) est de 0.81, en conséquent, d'après la relation de Stokes-Einstein, les *D* déterminés par TDA ne devraient être que 1.23 fois supérieurs à ceux déterminés par RMN. Cette différence n'est également pas due à la polydispersité des échantillons analysés car l'analyse par dispersion de Taylor, associée à un détecteur UV dans le cas où le chromophore est situé sur le monomère, et l'analyse RMN d'échantillons polydisperses conduisent toutes les deux à un coefficient moyen en poids D_w[42–44]. L'écart de résultats observé pourrait, par contre, être dû au fait que la nature des *D* mesurés par ces deux techniques est différente. En effet, dans le cas de la TDA, on détermine un coefficient de diffusion mutuel (D_m) qui se mesure sous l'action d'un gradient de concentration tandis que dans le cas de la RMN, un

coefficient d'autodiffusion (D_s) est déterminé car est mesuré en absence de gradient de concentration. A dilution infinie, ces deux types de coefficients tendent vers la même valeur D_0, mais hormis ce cas, de manière générale, quand la concentration augmente, D_s tend à diminuer et D_m à augmenter[45].

Par ailleurs, dans le cas des valeurs issues des analyses RMN, on constate également que la valeur de D obtenue pour le composé **20** (2.65 x 10^{-10} m²/s) est un peu plus élevée que celle de la littérature déterminée par RMN dans le cas de la β-CD native (2.17x10^{-10} m²/s)[46]. La charge du composé a donc probablement aussi un effet sur la mesure, cependant, celui-ci est moins important que celui observé dans le cas des mesures de TDA. Le fait que les composés analysés soient chargés pourrait donc également amplifier l'écart de résultats observé entre les analyses RMN et TDA.

iii. Détermination du degré de polymérisation

Pour remonter aux dimensions des assemblages formés via les D mesurés, nous avons utilisé le modèle des cylindres courts, décrit par J. G. De La Tore et al.[47], qui semble le plus adapté pour les composés étudiés d'après les résultats obtenus par ITC et SANS. Il propose l'expression suivante du coefficient de friction pour un cylindre :

$$f_t = \frac{3\pi\eta L}{\ln\left(\frac{L}{2R}\right) + 0.312 + 1.13\cdot\frac{R}{L} - 0.4\cdot\frac{R^2}{L^2}} \qquad \textbf{(1)}$$

L longueur de l'assemblage

R rayon du cylindre, i.e. rayon d'une β-CD (0.77 nm)

En égalisant cette expression avec celle du coefficient de friction de la sphère équivalente (cf. Chapitre 2 ; équation 25).

On obtient alors la relation suivante entre R_h et L :

$$R_h = \frac{L}{2\cdot\left[\ln\left(\frac{L}{2R}\right) + 0.312 + 1.13\cdot\frac{R}{L} - 0.4\cdot\frac{R^2}{L^2}\right]} \qquad \textbf{(2)}$$

Connaissant le R_h expérimental, on peut alors déterminer graphiquement le L correspondant. Il est ensuite possible de calculer le degré de polymérisation (DP) en utilisant comme distance de répétition entre monomère 1.01 nm déterminée lors de l'analyse par diffraction de RX du composé **30** (cf. Annexe 3 ; Figure A - 5).

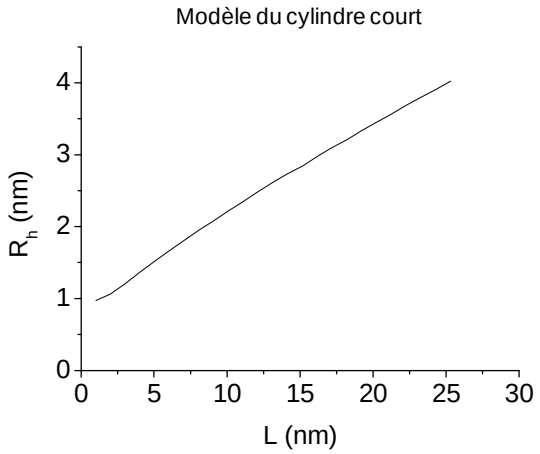


Figure 52 : *Relation entre la longueur des assemblages (L) et le rayon hydrodynamique (R_h) d'après le modèle du cylindre court.*

Nous avons appliqué ce traitement aux valeurs de R_h déterminées par TDA et RMN pour les assemblages de **23** et **24**. Cependant, on constate que les R_h déterminés par TDA (**Tableau 30**) ne permettent pas de remonter à *L* puis au DP car ils sont inférieurs à la valeur minimale de R_h fournie par le modèle quelle que soit la concentration en CDs considérée. Ainsi, la surestimation des *D* mesurés par TDA conduit à des R_h sous estimés qui ne permettent alors pas de remonter aux dimensions des assemblages formés via le modèle de forme adapté. En conséquence, ce modèle a uniquement été appliqué aux valeurs de R_h déterminées par RMN pour les concentrations en composés **23** et **24** les plus élevées (**Tableau 32**). En utilisant ces valeurs, nous avons finalement pu déterminer les DP des assemblages étudiés (**Tableau 33**).

Tableau 33 : *Détermination du DP des solutions de composés **23** et **24** à l'aide du modèle des cylindres courts à partir des données issues des analyses par RMN. Comparaison avec les DP_n issus des données d'ITC.*

23			**24**		
Conc. (mM)	**DP_{RMN}[a]**	**$DP_{n,\ ITC}$[b]**	**Conc. (mM)**	**DP_{RMN}[a]**	**$DP_{n,\ ITC}$[b]**
4.8	**4**	**8**	**7.5**	**18**	**15**

[a] calculé à l'aide du modèle des cylindres courts avec *D* déterminé par RMN
[b] voir la ref. [30] pour le calcul du DP_n à une concentration donnée à partir de K dans le cas d'un modèle isodesmique

On constate que les DP obtenus sont du même ordre de grandeur que ceux déterminés par les analyses ITC et SANS (**Tableau 33**).

Les valeurs de coefficients de diffusion déterminées par analyse TDA permettent donc une évaluation qualitative du comportement en solution des composés. Cependant, une meilleure

compréhension des facteurs expérimentaux expliquant la surestimation des valeurs de *D* observées est nécessaire pour corriger ce phénomène et effectuer un traitement quantitatif des résultats issus de cette technique dans le cas des composés étudiés.

III- Conclusion

L’objectif de l’étude présentée dans ce chapitre était de déterminer et de caractériser des monomères hétéro-ditopiques de CDs susceptibles de former des PSM en solution aqueuse. Au cours de cette étude, les deux phénomènes inhibant la polymérisation et perturbant la caractérisation des CDs que sont respectivement l’auto-inclusion et la formation d’agrégats non spécifiques ont été mis en évidence.

Deux stratégies ont alors été mises en place pour éviter ces phénomènes. Dans un premier temps, un protocole de retrait des agrégats par centrifugation puis filtration a été mis au point et a permis d’éliminer la majorité des agrégats non spécifiques de CDs présents en solution. Dans un deuxième temps, un pont aliphatique a été ajouté sur le col primaire des CDs afin d’empêcher l’équilibre d’auto-inclusion. Enfin, nous avons constaté que, pour que cette stratégie soit efficace, il fallait que la constante d’association du système hôte/invité étudié soit suffisamment importante. Ainsi dans le cas des α-CDs, la faible constante d’association des systèmes α-CD/dérivés benzéniques n’a pas permis la formation de PSM malgré la présence du pont sur les CDs. Au contraire, lors de l’utilisation de cette stratégie sur le système β-CD/adamantane, connu pour avoir une constante d’association élevée, nous avons observé la formation de PSM.

L’application de ces stratégies nous a donc permis, à l’issue de cette étude, de disposer de deux PSM chargés de CDs ayant des propriétés thermodynamiques différentes. Dans la suite de ce projet, les charges de ces PSM vont nous permettre, après la détermination de conditions appropriées, d’aller vers la formation de différents PSM hiérarchiques via la mise en jeu d’interactions secondaires de type électrostatique. Par ailleurs, des α-CDs doublement fonctionnalisées, développées par l’équipe GOBS, seront également étudiées, dans la suite de ce projet, afin de déterminer si dans le cas de ces composés, l’intervention d’une interaction secondaire peut par effet coopératif favoriser l’assemblage des α-CDs sous forme de PSM hiérarchiques.

Bibliographie

(1) Deng, W.; Yamaguchi, H.; Takashima, Y.; Harada, A. *Chem. – Asian J.* **2008**, *3* (4), 687–695.

(2) Harada, A.; Kawaguchi, Y.; Hoshino, T. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2001**, *41* (1–4), 115–121.

(3) Miyauchi, M.; Kawaguchi, Y.; Harada, A. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2004**, *50* (1–2), 57–62.

(4) Rekharsky, M. V.; Inoue, Y. *Chem. Rev.* **1998**, *98* (5), 1875–1918.

(5) Tellini, V. H. S.; Jover, A.; Galantini, L.; Meijide, F.; Tato, J. V. *Acta Crystallogr. B* **2004**, *60* (2), 204–210.

(6) Queijo, Á. A. Arquitecturas supramoleculares generadas por nuevos derivados de ciclodextrina y ácidos biliares. Thèse de doctorat, Universidade de Santiago de Compostela: Saint-Jacques-de-Compostelle, Espagne, 2008.

(7) Adam de Beaumais, S. Apport de la chimie click à la diversité des applications de cyclodextrines fonctionnalisées. Thèse de doctorat, Université Pierre et Marie Curie: Paris, France, 2012.

(8) Colesnic, D. Architectures supramoléculaires hiérarchiques à base de cyclodextrines. Thèse de doctorat, Université Pierre et Marie Curie: Paris, France, 2015.

(9) Naidoo, K. J.; Chen, J. Y.-J.; Jansson, J. L. M.; Widmalm, G.; Maliniak, A. *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108* (14), 4236–4238.

(10) Coleman, A. W.; Nicolis, I.; Keller, N.; Dalbiez, J. P. *J. Incl. Phenom. Mol. Recognit. Chem.* **1992**, *13* (2), 139–143.

(11) González-Gaitano, G.; Rodriguez, P.; Isasi, J. R.; Fuentes, M.; Tardajos, G.; Sánchez, M. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2002**, *44* (1–4), 101–105.

(12) Bonini, M.; Rossi, S.; Karlsson, G.; Almgren, M.; Lo Nostro, P.; Baglioni, P. *Langmuir* **2006**, *22* (4), 1478–1484.

(13) Wu, A.; Shen, X.; He, Y. *J. Colloid Interface Sci.* **2006**, *297* (2), 525–533.

(14) Tran, D. N.; Colesnic, D.; Adam de Beaumais, S.; Pembouong, G.; Portier, F.; Queijo, Á. A.; Tato, J. V.; Zhang, Y.; Ménand, M.; Bouteiller, L.; Sollogoub, M. *Org. Chem. Front.* **2014**, *1* (6), 703–706.

(15) Carrazana, J.; Jover, A.; Meijide, F.; Soto, V. H.; Vázquez Tato, J. *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109* (19), 9719–9726.

(16) Yamada, T.; Fukuhara, G.; Kaneda, T. *Chem. Lett.* **2003**, *32* (6), 534–535.

(17) Pharr, D. Y.; Fu, Z. S.; Smith, T. K.; Hinze, W. L. *Anal. Chem.* **1989**, *61* (3), 275–279.

(18) Inoue, Y.; Liu, Y.; Tong, L. H.; Shen, B. J.; Jin, D. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115* (23), 10637–10644.

(19) Bertrand, G. L.; Faulkner, J. R.; Han, S. M.; Armstrong, D. W. *J Phys Chem* **1989**, *93* (18), 6863–6867.

(20) Harata, K. *Bioorganic Chem.* **1981**, *10* (3), 255–265.

(21) Gelb, R. I.; Schwartz, L. M.; Johnson, R. F.; Laufer, D. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101* (7), 1869–1874.

(22) Martin Davies, D.; Savage, J. R. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1994**, No. 7, 1525–1530.

(23) Kitagawa, M.; Hoshi, H.; Sakurai, M.; Inoue, Y.; Chûjô, R. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1988**, *61* (12), 4225–4229.

(24) Guo, Q.-X.; Luo, S.-H.; Liu, Y.-C. *J. Incl. Phenom. Mol. Recognit. Chem.* **1998**, *30* (2), 173–182.

(25) Wong, A. B.; Lin, S. F.; Connors, K. A. *J. Pharm. Sci.* **1983**, *72* (4), 388–390.

(26) Perrin, D. D. *Dissociation Constants of Organic Bases in Aqueous Solution*, First Edition edition.; Butterworth & Co Publishers Ltd, 1965.

(27) Lide, D. R. *Handbook of Chemistry and Physics. 84th edition 2003-2004*; CRC Press, 2003.

(28) McPhail, D.; Cooper, A. *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* **1997**, *93* (13), 2283–2289.

(29) Gröger, G.; Meyer-Zaika, W.; Böttcher, C.; Gröhn, F.; Ruthard, C.; Schmuck, C. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133* (23), 8961–8971.

(30) Zhao, D.; Moore, J. S. *Org Biomol Chem* **2003**, *1* (20), 3471–3491.

(31) Diard, J. P.; Saint-Aman, E.; Serve, D. *J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.* **1985**, *189* (1), 113–120.

(32) Awtrey, A. D.; Connick, R. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, *73* (4), 1842–1843.

(33) Pursell, J. L.; Pursell, C. J. *J. Phys. Chem. A* **2016**, *120* (13), 2144–2149.

(34) Bistri-Aslanoff, O.; Blériot, Y.; Auzely-Velty, R.; Sollogoub, M. *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8* (15), 3437.

(35) Rossignol, J. Polymérisation supramoléculaire de cyclodextrines: application à la compaction d'ADN. Thèse de doctorat, Université Pierre et Marie Curie: Paris, France, 2016.

(36) Ganguly, R.; Aswal, V. K.; Hassan, P. A.; Gopalakrishnan, I. K.; Yakhmi, J. V. *Pramana* **2004**, *63* (2), 277–283.

(37) Arnaud, A.; Bouteiller, L. *Langmuir* **2004**, *20* (16), 6858–6863.

(38) Gelb, R. I.; Schwartz, L. M. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **1989**, *7* (5), 537–543.

(39) Ribeiro, A. C. F.; Leaist, D. G.; Esteso, M. A.; Lobo, V. M. M.; Valente, A. J. M.; Santos, C. I. A. V.; Cabral, A. M. T. D. P. V.; Veiga, F. J. B. *J. Chem. Eng. Data* **2006**, *51* (4), 1368–1371.

(40) Barros, M. C. F.; Silva, D. C.; Esteso, M. A.; Cabral, A. M. T. D. P. V.; Veiga, F. J. B.; Ribeiro, A. C. F. *J. Chem. Thermodyn.* **2015**, *87* (Supplement C), 117–121.

(41) Ribeiro, A. C. F.; Valente, A. J. M.; Santos, C. I. A. V.; Prazeres, P. M. R. A.; Lobo, V. M. M.; Burrows, H. D.; Esteso, M. A.; Cabral, A. M. T. D. P. V.; Veiga, F. J. B. *J. Chem. Eng. Data* **2007**, *52* (2), 586–590.

(42) Cottet, H.; Biron, J.-P.; Martin, M. *Anal. Chem.* **2007**, *79* (23), 9066–9073.

(43) Callaghan, P. T.; Pinder, D. N. *Macromolecules* **1983**, *16* (6), 968–973.

(44) Willis, S. A.; Dennis, G. R.; Zheng, G.; Price, W. S. *Macromolecules* **2010**, *43* (17), 7351–7356.

(45) Teraoka, I. *Frontmatter and Index*; Wiley Online Library, 2002.

(46) Avram, L.; Cohen, Y. *J. Org. Chem.* **2002**, *67* (8), 2639–2644.

(47) Tirado, M. M.; de la Torre, J. G. *J. Chem. Phys.* **1979**, *71* (6), 2581–2587.

Chapitre 4 :

Etude de polymères supramoléculaires hiérarchiques de cyclodextrines

Table des matières

I- Etude de la formation de PSM hiérarchiques à base d'α-CDs disubstituées 217

A- Etude de composés disubstitués par deux espaceurs propylamines 218

1- Analyses viscosimétriques 219

2- Etude par analyses SANS 220

B- Etude d'un composé disubstitué par deux espaceurs propylamides 221

II- Etude de la formation de PSM hiérarchiques à base de β-CDs difonctionnalisées..... 222

A- Evaluation de l'effet de dianions sur la formation de PSM hiérarchiques de CDs 224

1- Le dodécanedioate de sodium 225

2- Le naphtalène disulfonate de sodium 228

B- Evaluation de l'effet d'un polyanion de structure rigide sur la formation de PSM hiérarchiques de CDs 233

1- Etude de l'association entre le polymère 31 et la β-CD 23b..... 236

2- Etude de l'association entre le polymère 31 et la β-CD 23..... 239

C- Evaluation de l'effet d'un tétraanion de structure rigide sur la formation de PSM hiérarchiques de CDs 244

1- Les assemblages de $TPPS_4$..... 245

2- Intérêt de l'interaction entre H_2TPPS_4 et cations 249

a. Interaction entre H_2TPPS_4 et cations ou polycations covalents 249

b. Exemple d'interaction entre H_2TPPS_4 et polycations supramoléculaires 249

3- Etude des assemblages entre H_2TPPS_4 et PSM de CDs cationiques 250

a. Caractérisation des solutions témoins de H_2TPPS_4 et de CDs 251

b. Etude de l'interaction entre H_2TPPS_4 et la β-CD 23 251

c. Etude de l'interaction entre H_2TPPS_4 et la β-CD 20 254

d. Conclusion sur l'influence du premier niveau d'assemblage inter-CDs sur la formation de tubes de H_2TPPS_4 257

III- Conclusion 260

Bibliographie 261

Les assemblages supramoléculaires hiérarchiques sont des structures supramoléculaires constituées de plusieurs niveaux d'organisation, maintenues par des interactions non covalentes dont la force diminue quand le niveau de hiérarchie augmente[1].

Dans le domaine des assemblages supramoléculaires hiérarchiques de CDs, on trouve, à l'état solide, des PSM hiérarchiques mono-moléculaires, tels que celui développé par l'équipe GOBS[2] (cf. Chapitre 3 ; figure 13). Ils ont en effet synthétisé une α-CD disubstituée par deux groupements azotures présentant deux niveaux de hiérarchie mettant en jeu trois types d'interactions supramoléculaires : hôte/invité, dipôle/dipôle-induit et liaisons hydrogène.

Les assemblages supramoléculaires hiérarchiques de CDs formés en milieu aqueux, décrits dans la littérature, impliquent, quant à eux, souvent des systèmes comportant au moins deux molécules différentes. Ainsi, Y. Liu et al.[3] ont développé un PSM hiérarchique de CDs formé à partir de dimères de β-CDs pouvant s'auto-associer en hexamère par liaisons de coordination avant de former des fibres via l'inclusion de fullerène C_{60} dans la cavité des CDs (cf. Chapitre 1 ; figure 28).

Cependant, les systèmes les plus amplement décrits sont des polymères fonctionnalisés par des β-CDs et leur invité, pour combiner effet hôte/invité et micro-séparation de phase[1,4]. Dans ce cadre, l'inclusion de l'adamantane dans la β-CD permet la formation de copolymères supramoléculaires di-blocs qui constituent le premier niveau de hiérarchie. Ces PSM di-blocs peuvent ensuite former un deuxième niveau de hiérarchie en s'auto-associant, via des interactions hydrophobes, sous différentes formes (micelles, vésicules, nanotubes ou fibres) en fonction de paramètres, tels que la taille des blocs ou leur concentration et sous l'action de divers stimuli. S. Liu et al.[5] ont par exemple développé des assemblages supramoléculaires hiérarchiques dans lesquels l'interaction entre les blocs β-CD-poly(isopropylacrylamide) et adamantane-poly(méthacrylate de (2-diéthylamino)éthyle) permet la formation d'un copolymère di-bloc, capable de s'auto-associer sous forme de micelles ou vésicules, sous l'action du pH ou de la température. Y. Zhao et al.[6] ont également développé des assemblages supramoléculaires hiérarchiques basés sur l'inclusion du benzimidazole dans la β-CD et sensibles à un stimulus externe, le CO_2. Ils ont aussi montré qu'en diminuant la taille du bloc poly-L-valine du copolymère di-bloc de β-CD-dextran et de benzimidazole-poly-L-valine, la forme de leurs assemblages évolue de vésicule à fibre.

Au cours de ce projet, une approche différente a été choisie : des systèmes à base d'α-CD ou de β-CD ont été conçus, de façon à introduire deux types d'interactions directement sur la cyclodextrine. L'objectif de l'étude décrite dans ce chapitre est de déterminer des conditions

permettant de promouvoir la formation de tels assemblages. Dans le cas des α-CDs, nous avons précédemment constaté que la faible constante d'association de ces systèmes ne permettait pas la formation de longs PSM. Dans la première partie de ce chapitre, nous allons déterminer si l'intervention d'une interaction secondaire peut, par effet coopératif, favoriser la l'association des α-CDs modifiées et induire la formation d'assemblages hiérarchiques. Concernant, les β-CDs, les études précédemment réalisées, ont permis de développer deux composés s'assemblant sous forme de PSM. La seconde partie de ce chapitre consistera donc à déterminer des conditions permettant l'assemblage de ces PSM sous forme de structures hiérarchiques via l'intervention d'un second type d'interaction.

I- Etude de la formation de PSM hiérarchiques à base d'α-CDs disubstituées

Dans le but de favoriser l'association des α-CDs modifiées, l'équipe GOBS s'est tournée vers la synthèse de composés disubstitués. Pour cela, ils ont ajouté aux composés monosubstitués précédemment décrits (composés **12** et **16**) un deuxième groupement susceptible de former des interactions hydrophobes et d'ainsi favoriser par effet coopératif, la formation d'assemblages par interactions hôte/invité (**Figure 1**).

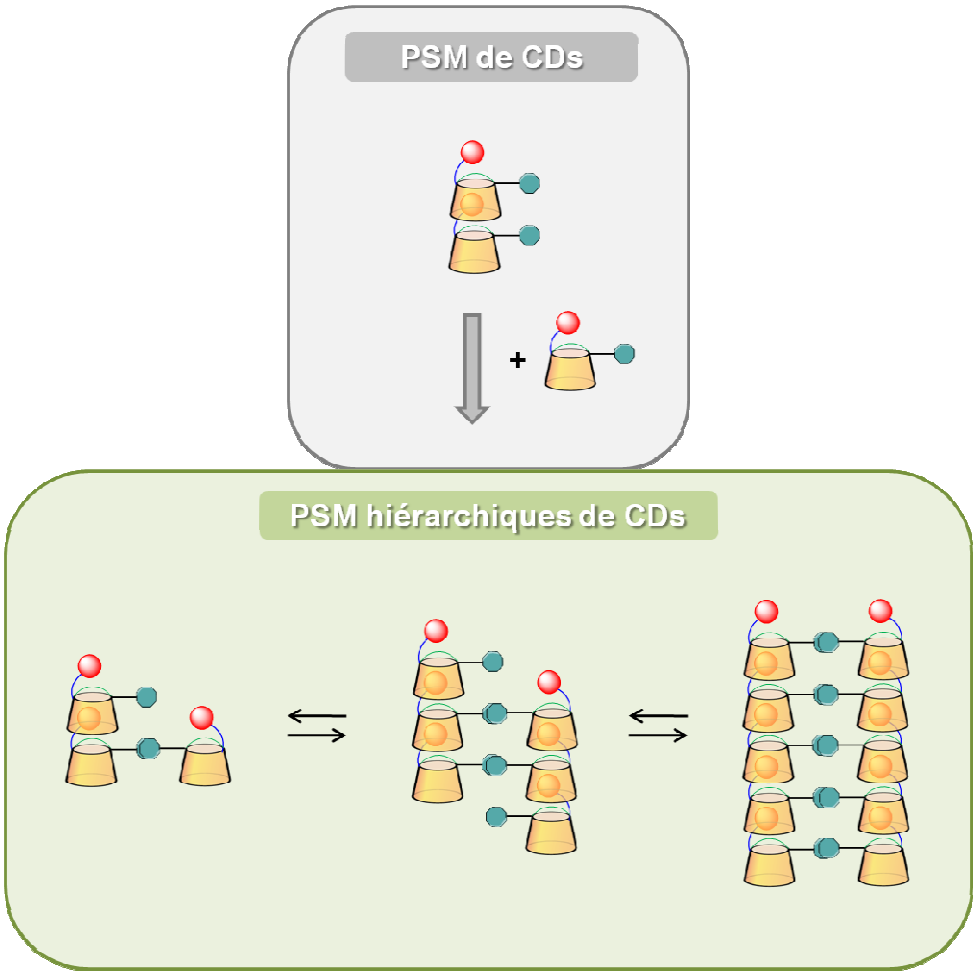
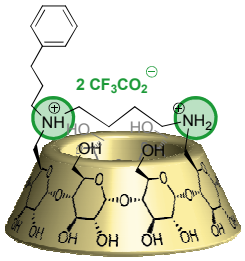


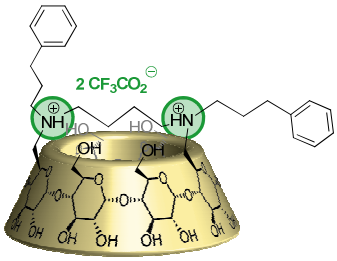
Figure 1 : *Schéma de l'équilibre de formation d'un PSM hiérarchique assuré par des interactions hôte/invité et hydrophobes.*

A-Etude de composés disubstitués par deux espaceurs propylamines

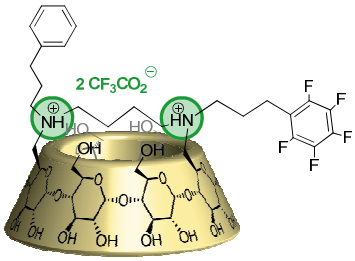
Dans un premier temps, le composé **12**, qui présente l'avantage d'être très soluble, a été fonctionnalisé. Des composés comportant comme deuxième substituant un groupement phényle (**26**), pentafluorobenzène (**27**) ou adamantane (**28**) ont ainsi été synthétisés. Un composé témoin non ponté, disubstitué par des phényles (**29**) a également été synthétisé pour cette étude.



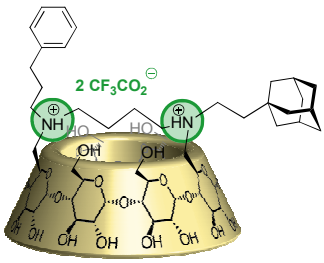
12



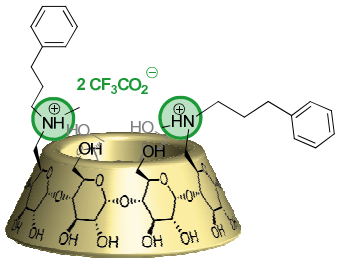
26



27



28



29

La capacité des composés **26**, **27** et **28** à former des assemblages supramoléculaires a été évaluée par mesures de viscosité et par analyses de diffusion des neutrons. Les agrégats de CDs non spécifiques ont été préalablement retirés des solutions mères des composés analysés pour cette étude (cf. Annexe 3 ; Tableau A - 51 à 55).

1- Analyses viscosimétriques

Les résultats (**Figure 2**) montrent que la viscosité du composé disubstitué **26** suit la même tendance que celle du dimère covalent témoin (**11**). Son comportement en solution est donc similaire à celui du composé monosubstitué **12** précédemment analysé (cf. Chapitre 3 ; figure 33).

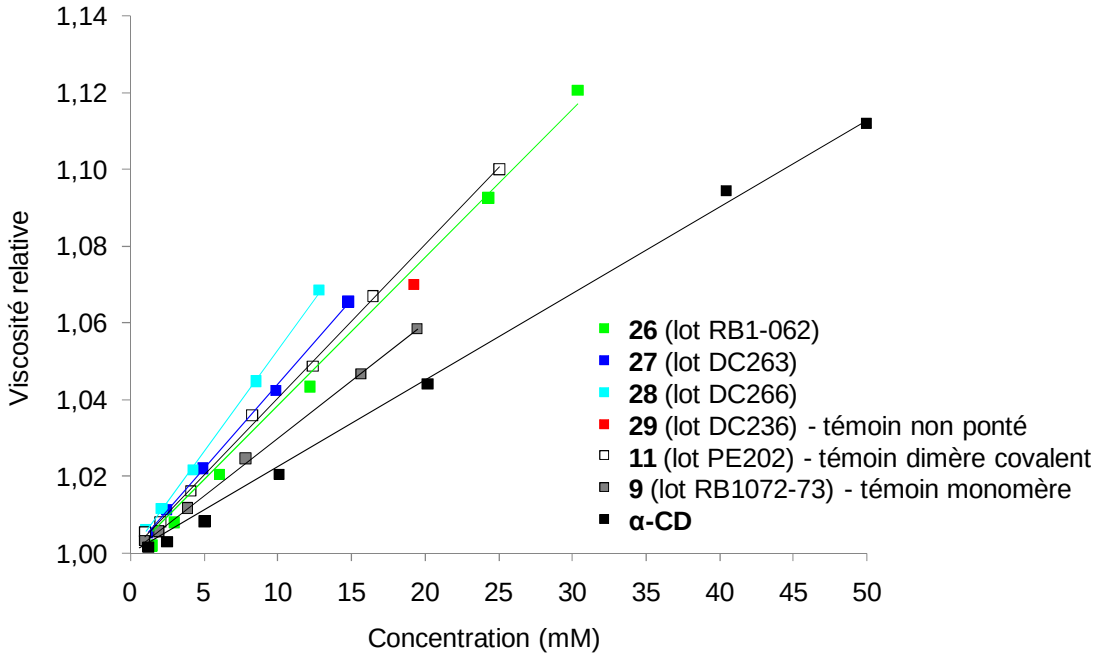


Figure 2 : *Viscosité relative des CDs en fonction de la concentration (mesurée à 25°C à l'aide d'un viscosimètre à bille ayant un angle d'inclinaison de 70°). La concentration en* ***11*** *est exprimée en concentration d'unités de CDs.*

La viscosité des composés disubstitué **27** et **28** est légèrement supérieure à celle du composé **26** et du dimère covalent, mais ce faible effet est peut-être lié à une différence de volume hydrodynamique des monomères. On constate également que la viscosité du composé disubstitué non ponté **29** suit la même tendance que celle du dimère covalent. Ce résultat indique que la présence d'un deuxième substituant sur le col primaire de la CD empêche peut-être l'équilibre d'auto-inclusion d'avoir lieu. Ce composé n'est donc finalement pas un bon témoin de la non association.

2- Etude par analyses SANS

Afin de compléter cette étude, le composé **26** a été caractérisé par analyse de diffusion des neutrons. Le résultat a été comparé à ceux obtenus pour le composé monomère témoin **9** et pour le composé monosubstitué **12** précédemment analysés (**Figure 3**).

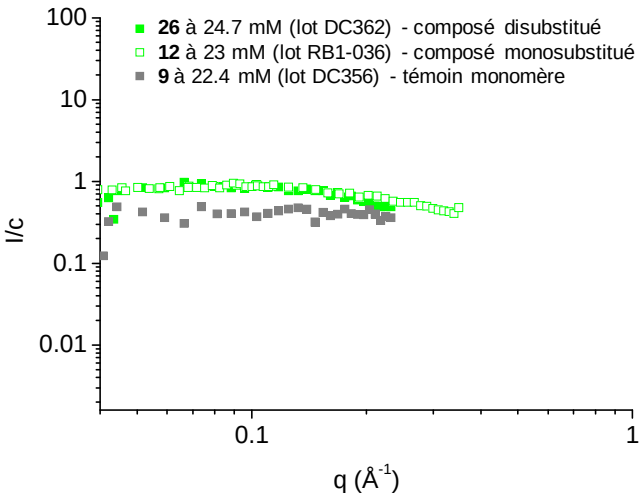


Figure 3 : *Intensité en neutrons diffusés, normalisée par la concentration, en fonction du vecteur d'onde par des solutions de **9**, **12** et **26**.*

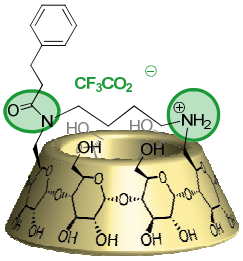
Les résultats d'analyses montrent que l'intensité diffusée par **26** est proche de celle du monomère témoin **9** (**Figure 3**). De plus, dans le domaine des vecteurs d'onde intermédiaires, la pente de la courbe de l'intensité en fonction de q est très faible ce qui indique l'absence de formation de longs PSM et confirme la faible association du composé **26** observée par viscosimétrie. On constate également que la courbe obtenue pour le composé disubstitué **26** est similaire à celle du composé monosubstitué **12** (**Figure 3**).

Ces 3 composés disubstitués **26**, **27** et **28** ont également été analysés par RMN par l'équipe GOBS. Les résultats ont montré une inclusion du phényle dans le cas des composés **26** et **27** et une inclusion en échange rapide des deux invités dans le cas du composé **28**[7]. Il est donc possible que le deuxième substituant entre simplement en compétition avec le premier substituant lors de l'interaction hôte/invité, au lieu de participer à la formation de domaines hydrophobes.

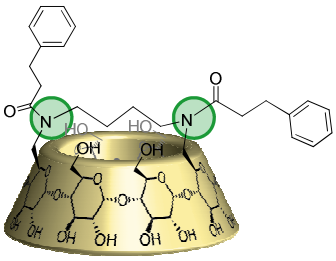
L'étude des composés **26**, **27** et **28** montre que l'ajout d'une deuxième fonctionnalité ne permet ni d'induire la formation de longs PSM, ni celle de structures hiérarchiques. En effet, malgré l'ajout de cette deuxième fonctionalité, la viscosité de ces composés reste proche de celle du dimère covalent et similaire à celle du composé ponté monosubstitué **12**. De même, l'intensité en neutrons diffusés par le composé **26** est identique à celle du composé monosubstitué **12**. Comme dans le cas du composé **12**, la constante d'association de ces systèmes n'est probablement pas suffisamment élevée pour que la deuxième fonctionalité ait un effet coopératif sur la formation des PSM.

B- Etude d'un composé disubstitué par deux espaceurs propylamides

En conséquence, nous nous sommes orienté vers la substitution du composé **16** pour former une espèce disubstituée moins hydrophile et plus rigide, au dépend de sa solubilité, afin de favoriser l'association. L'équipe GOBS a ainsi synthétisé un composé ayant deux substituants propylamides portant chacun un groupement phényle (composé **30**)[7]. Cependant, ce composé s'est avéré trop peu soluble dans l'eau (saturation à 0.5 mM). La rigidité de son espaceur ainsi que sa faible hydrophilie comparée aux composés **26**, **27** et **28**, ne permet donc pas d'obtenir des complexes solubles dans l'eau.



16



30

Une fois sa caractérisation structurale effectuée par RMN dans MeOD[7], un essai de cristallisation dans l'eau a été réalisé par l'équipe GOBS. Ils ont obtenu des cristaux sous forme d'aiguilles[7]. La caractérisation de ces cristaux par diffraction de rayons X[7], a permis, d'une part, de mettre en évidence la formation d'un PSM hiérarchique (cf. Annexe 3), et, d'autre part, de déterminer une distance inter-monomères de 1.01 nm (**Figure 4**) qui a ensuite été utilisée comme valeur de référence pour le calcul des dimensions des PSM étudiés dans ce projet.

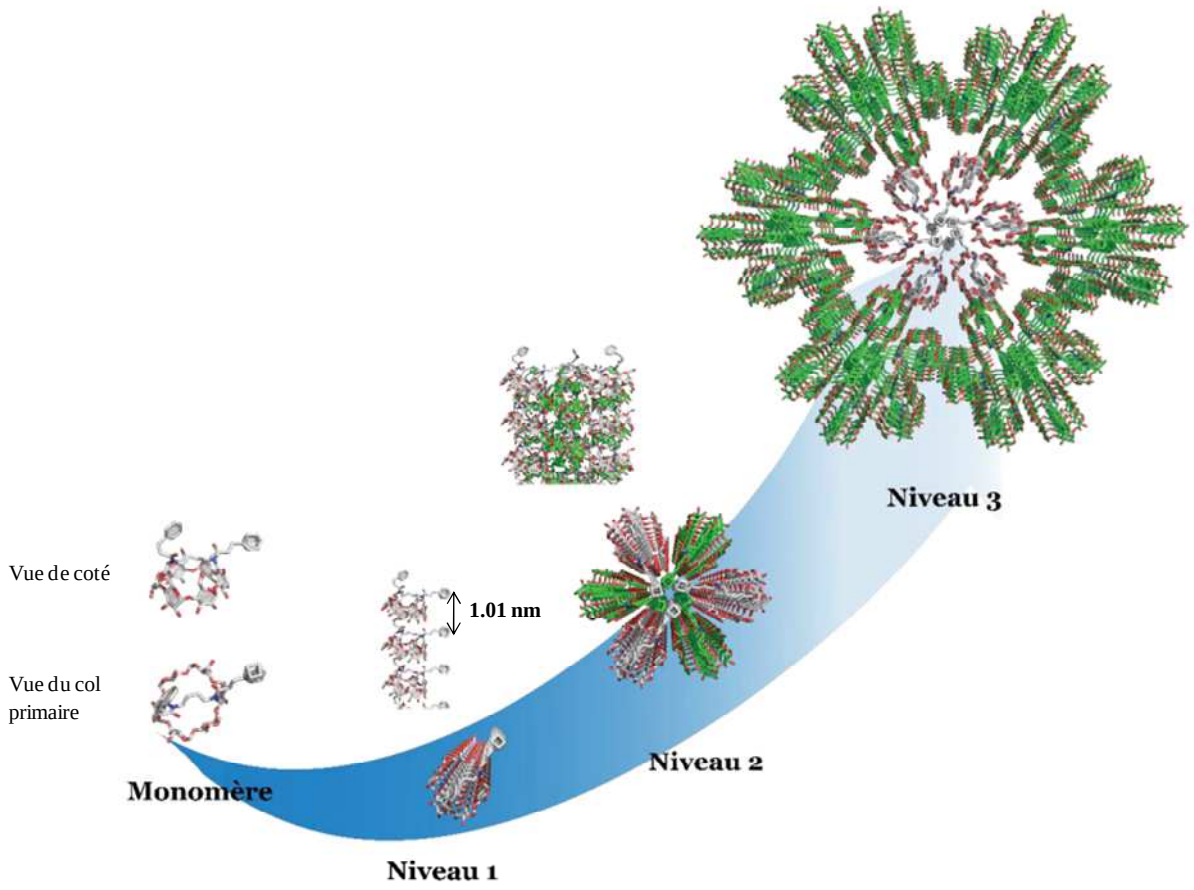


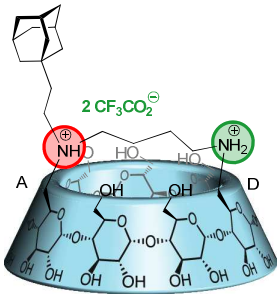
Figure 4 : *Schéma des différents niveaux de hiérarchie de l'arrangement cristallin du composé* ***30*** *(figure adaptée à partir de la ref.* [7]*).*

Pour conclure, de la même manière que dans le cas des composés monosubstitués, l'étude des composés disubstitués montre que la balance entre la force de l'interation et la solubilité des complexes formés est difficile à ajuster dans le cas des α-CDs.

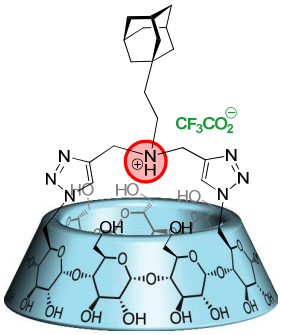
II- Etude de la formation de PSM hiérarchiques à base de β-CDs difonctionnalisées

Dans le cadre de ce projet, deux PSM de β-CDs chargés à base des composés **23** et **24** ont précédemment été développés.

Nous avons choisi d'utiliser l'interaction électrostatique, avec un composé polyanionique, comme interaction secondaire, permettant de promouvoir la formation de PSM hiérarchiques de β-CDs modifiées (**Figure 5**).



23



24

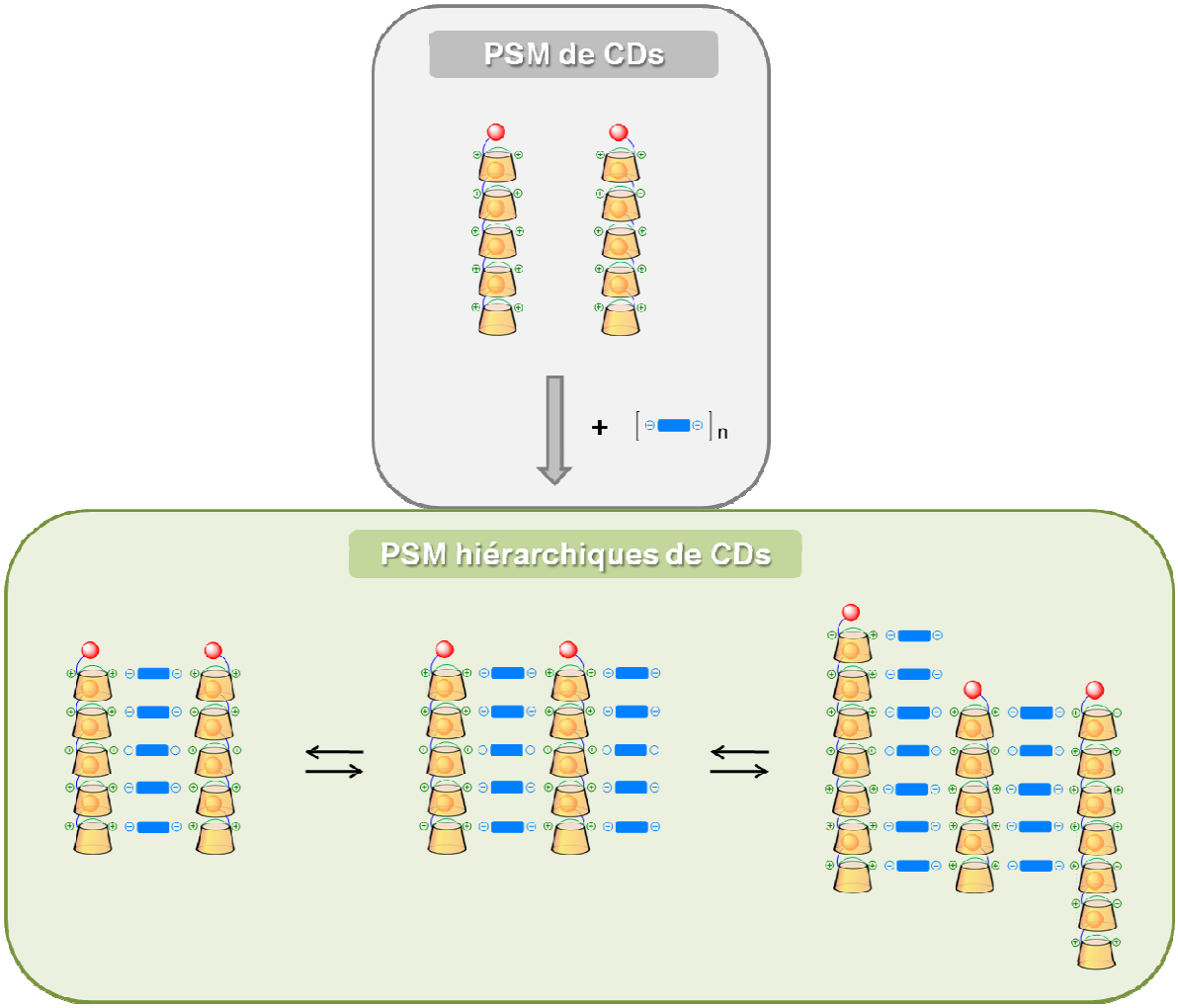


Figure 5 : *Schéma de l'équilibre de formation d'un PSM hiérarchique assuré par des interactions électrostatiques avec des polyanions.*

Dans ce but, trois différents types de composés anioniques ont été sélectionnés : des composés dianioniques ayant une structure flexible ou rigide, un polyanion rigide et un tétraanion pouvant se présenter sous forme de monomères ou de polymère en fonction de sa

concentration. Le but de cette étude a donc été de déterminer si ces différents composés peuvent promouvoir la formation de PSM hiérarchiques de CDs ayant des structures différentes et d'identifier les paramètres importants pour la formation d'une morphologie donnée d'assemblage. La connaissance de ces paramètres pourra ensuite nous permettre de contrôler la formation d'une morphologie souhaitée dans le cadre des systèmes à base de CDs modifiées.

Au cours de cette étude, les agrégats non spécifiques ont préalablement été retirés par centrifugation puis filtration des solutions mères des différentes CDs modifiées avant leurs analyses (cf. Annexe 3 ; Tableau A - 56 à 59).

A-Evaluation de l'effet de dianions sur la formation de PSM hiérarchiques de CDs

Nous avons choisi d'évaluer l'efficacité, à promouvoir la formation d'assemblages hiérarchiques de CDs, d'un dianion ayant une structure flexible, le dodécanedioate de sodium (dianion A), ou rigide, le naphtalène disulfonate de sodium (dianion B) (**Figure 6**).

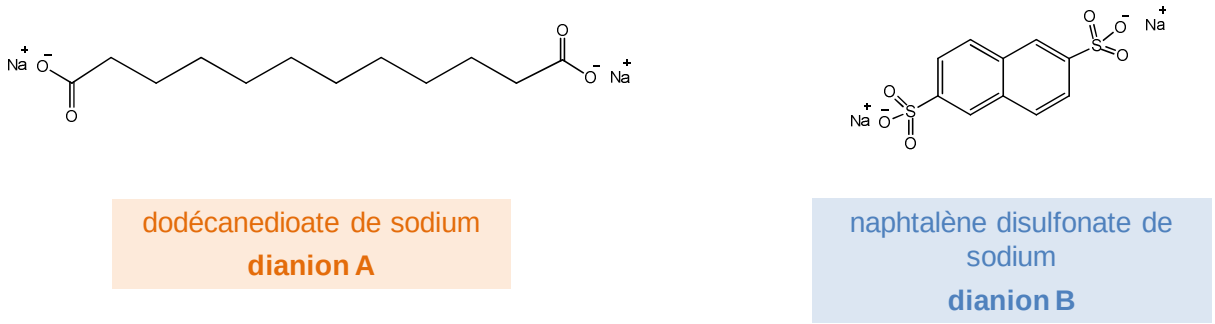
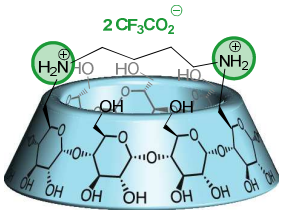


Figure 6 : *Structures chimiques des dianions, dodécanedioate de sodium et naphtalène disulfonate de sodium.*

Les conditions de mélange dianions/CDs sont exprimées en rapport R de la concentration en charges anioniques du dianion sur la concentration en charges cationiques des CDs. Les analyses DLS ont permis de suivre la taille, la polydispersité et la stabilité des particules en solution dans les mélanges entre dianions et composé **23** ou **24**. Ces résultats ont ensuite été comparés à ceux obtenus dans les mêmes conditions avec le composé témoin **20,** non auto-associé, afin de vérifier si la présence du premier niveau d'association est nécessaire pour la formation d'assemblages avec les dianions.



20

Les résultats d'analyses DLS obtenus ont ensuite servi de base pour sélectionner les systèmes les plus intéressants à analyser par Cryo-MET.

1- Le dodécanedioate de sodium

Lors de l'analyse du mélange comportant le composé **23** à 2.5 mM et le dianion A à 1.25 mM, i.e. R = 0.5 (**Tableau 1-b**), aucune variation de l'intensité diffusée n'est observée comparée à la solution de **23** à 2.5 mM (**Tableau 1-a**).

Nous avons alors conservé ce rapport R mais doublé les quantités en CDs et dianions. Dans ce cas, lors de l'analyse du mélange comportant le composé **23** à 5 mM et le dianion A à 2.5 mM, une augmentation de l'intensité diffusée et de la polydispersité de l'échantillon sont observées dès J0 et celles-ci sont d'autant plus importantes à J1 (**Tableau 1-b**). Une concentration minimale de 5 mM de **23** est donc nécessaire pour observer son association avec le dianion A pour R=0.5.

Au contraire, dans le cas du composé témoin **20**, une augmentation de l'intensité diffusée, par rapport à la solution témoin (**Tableau 1-a**), est observée dès la formation d'un mélange comportant 2.5 mM de **20** et 1.25 mM de dianion A, i.e. R = 0.5 (**Tableau 1-b**). Lorsque pour ce même R, les concentrations en **20** et dianion sont doublées, une précipitation est observée (**Tableau 1-b**). Celle-ci a lieu dès J0. De plus, la préparation, dans les mêmes conditions, du mélange entre un autre dication témoin non associé, la pipérazine (avec 2 équivalents de TFA (PPZ, 2TFA)), et le dianion A conduit aussi à une augmentation de l'intensité diffusée et à la formation d'un mélange colloïdalement instable (**Tableau 1-b**). Ces résultats suggèrent que la déstabilisation moindre des mélanges **23**/dianion A préparés dans les mêmes conditions de charges (R) pourrait être due à l'organisation de ce dernier sous forme de PSM. Cependant, la taille et la polydispersité élevées des structures formées laissent penser que ces assemblages de PSM sont peu réguliers.

Tableau 1 : *Intensité diffusée (kcoups/s), taille (D_h) et indice de polydispersité (pdI), mesurés par DLS, des particules dans les solutions de dications (**a**) ou des mélanges entre dications et dodécanedioate de sodium (dianion A) (**b** et **c**).*

a)	**J1**			**J1**		
[dication] (mM)	**2.5**			**5**		
R[a]	**0**			**0**		
	kcoups/s	**D_h (nm)**	**pdI**	**kcoups/s**	**D_h (nm)**	**pdI**
20	2.5	3.6 ± 3.4	0.36	1.5	8 ± 10	0.67 ± 0.47
PPZ, 2TFA	nf[b]	nf[b]	nf[b]	1.5	0	0.06
23	5.5	710 ± 60	1	9	250 ± 20	0.87
24	16	430 ± 80	0.9	23	7 ± 1	0.36

b)	**J1**			**J1**		
[dication] (mM)	**2.5**			**5**		
R[a]	**0.5**			**0.5**		
	kcoups/s	**D_h (nm)**	**pdI**	**kcoups/s**	**D_h (nm)**	**pdI**
20	84 ± 9	1130 ± 210	0.6	420*	4 ± 5	0.49 ± 0.36
PPZ, 2TFA	nf[b]	nf[b]	nf[b]	10 ± 7[c]**	610 ±170	0.5
23	5	650 ± 530	0.67	630	-[d]	0.85 ± 0.14

c)	**J0**			**J1**		
[dication] (mM)	**5**			**5**		
R[a]	**1**			**1**		
	kcoups/s	**D_h (nm)**	**pdI**	**kcoups/s**	**D_h (nm)**	**pdI**
24	2040	670 ± 130	0.25	1850 ± 250***	591 ± 830	0.34 ± 0.25

[a] R = [anion]/[cation]
[b] nf : mesure non faite
[c] mesure effectuée sur le surnageant de la solution
[d] temps de corrélation trop long pour permettre la détermination d'une taille de particule
* Précipité
** Particules en suspension
*** Turbide avec particules en suspension

Pour l'analyse du composé **24**, ne comportant qu'une charge, nous avons conservé une concentration en CD de 5 mM et en dianion A de 2.5 mM, mais dans ce cas, le rapport en charges du mélange atteint la stœchiométrie (R=1). Dans ces conditions, une augmentation importante de l'intensité diffusée associée à une faible polydispersité est observée à J0 (**Tableau 1-c**). Ces résultats suggèrent la formation d'assemblages ayant des dimensions régulières. Cependant, les mesures faites à J1 montrent une augmentation de la polydispersité et une perte de stabilité colloïdale de l'échantillon, en effet, la solution devient alors turbide

avec des particules en suspension (**Tableau 1-c**). Le rapport stœchiométrique en charges de ce mélange explique probablement sa faible stabilité colloïdale.

D'après l'ensemble des résultats d'analyses DLS, l'interaction du dianion A avec les différentes CDs induit, de façon non spécifique, la formation d'assemblages de CDs avec **20** ou la formation d'assemblages de PSM de CDs avec **23** et **24**. Dans les deux cas des structures colloïdalement instables en solution sont formées.

Il est donc possible que la flexibilité de cette chaine aliphatique induise un mauvais contrôle des structures formées en présence des CDs. En effet, dans le cas du composé **20**, le dianion A présente une longueur de chaine plus grande que celle du pont aliphatique de quatre carbones (**Figure 7**).

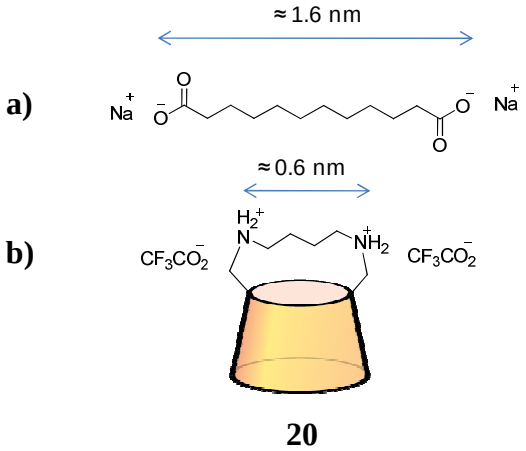


Figure 7 : *Schéma **a)** du dianion A et **b)** du composé **20**.*

En raison de sa flexibilité, le dianion A pourrait donc interagir par liaisons électrostatiques avec les deux charges du pont d'une même CD (**Figure 8**), au lieu d'interagir avec les ammoniums de deux CDs différentes. Une telle interaction pourrait alors être à l'origine de la formation progressive d'agrégats de taille croissante qui précipiteraient tel que cela a été observé à R = 0.5 en présence de 5 mM de composé **20** (**Tableau 1-c**).

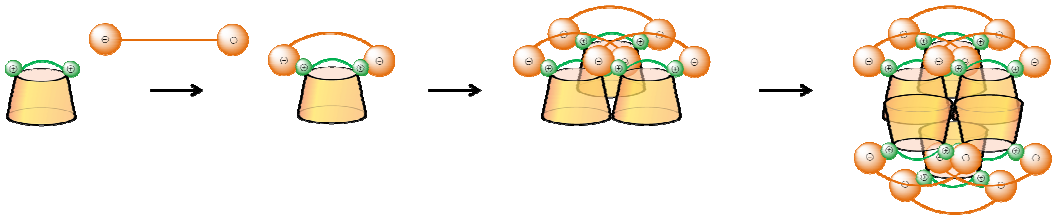


Figure 8 : *Schéma de l'association par interactions électrostatiques entre le dianion A et le composé **20**.*

Au contraire, dans le cas de la CD substituée **23**, la formation de PSM empêche probablement l'interaction du dianion A avec les charges d'une même CD ce qui permet son interaction avec deux CDs. Cependant, lors du mélange à R = 0.5 avec le composé **23** à 2.5 mM, l'intensité diffusée reste faible (**Tableau 1-b**). On peut alors penser que la taille des PSM en solution ne permet pas une concentration locale en charges suffisante pour favoriser la croissance des PSM par effet coopératif. A R = 0.5, en présence d'une concentration en CD de 5 mM, le dianion A permet, cette fois, de promouvoir la formation d'assemblages de PSM de grande taille (**Tableau 1-c**, **Figure 9**). Ce système est donc potentiellement intéressant, mais il n'a pas été analysé plus en détail car le fait que le système témoin (**20**) forme également des agrégats rend l'optimisation des conditions difficile.

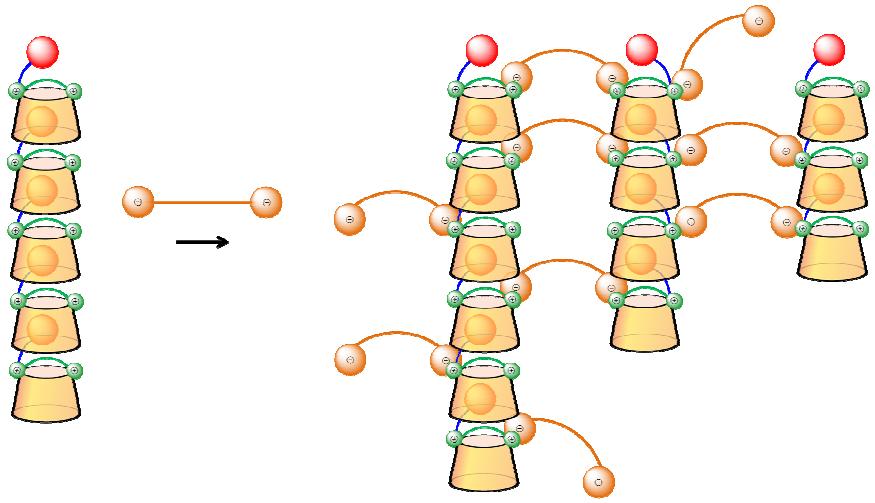


Figure 9 : *Schéma de l'association, par interactions électrostatiques à R = 0.5, entre le dianion A et le composé **23** à 5 mM (concentration correspondant à un DP_n de 8 calculé dans le cas d'un modèle isodesmique[8], d'après les données d'ITC, cf. Chapitre 3 ; Tableau 29).*

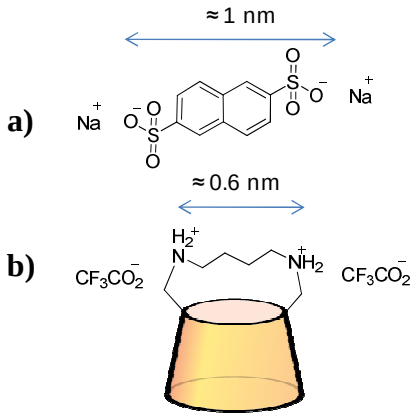
Afin de tester l'influence de la rigidité du dianion sur la formation d'assemblages de CDs, nous avons évalué la capacité d'un dianion ayant une structure rigide à entrainer la formation de PSM hiérarchiques de composés **23** et **24**.

2- Le naphtalène disulfonate de sodium

Notre choix de dianion rigide s'est porté sur le naphtalène disulfonate de sodium (dianion B).

Lors de l'analyse du mélange à R=0.5 de composé témoin **20** (ou de la pipérazine) et de dianion B aucune augmentation de l'intensité diffusée n'est observée quelle que soit la

concentration en CDs (2.5 ou 5 mM) (**Tableau 2-b** et **c**). La rigidité et la distance différente entre les charges du dianion et du dication (**Figure 10**) laissent penser que la formation de paires d'ions comme dans le cas du dianion A (**Figure 1**) n'est pas favorable.



20

Figure 10 : *Schéma **a)** du dianion B, **b)** du composé **20**.*

Au contraire, dans le cas du composé **23**, lors de l'analyse des mélanges à R = 0.5, comportant des concentrations en CDs de 2.5 mM ou 5 mM, une augmentation de l'intensité diffusée est observée (**Tableau 2-b** et **c**). Ce résultat montre que le dianion B, à R = 0.5, permet de promouvoir la formation d'assemblages de **23** à une concentration plus faible en CDs que celle nécessaire en présence du dianion A flexible (**Tableau 1-b**). On peut donc penser que la rigidité du dianion B permet, en augmentant la directionnalité des interactions électrostatiques, de favoriser la croissance du PSM. Cependant, les assemblages formés ont des tailles polydisperses et les solutions ne sont pas colloïdalement stables, i. e. des particules en suspension sont observées un jour après le mélange. Si R est réduit à 0.25, aucune association n'est observée (**Tableau 2-a**). Pour une concentration en CDs de 2.5 mM, un rapport molaire minimal de 0.5 est donc nécessaire pour observer l'association entre **23** et le dianion B (**Tableau 2-b**).

Tableau 2 : *Intensité diffusée (kcoups/s), taille (D_h) et indice de polydispersité (pdI), mesurés par DLS, des particules en solution dans les mélanges entre CDs et naphtalène disulfonate de sodium (dianion B).*

a)	**J0**		
[dication] (mM)	**2.5**		
R[a]	**0.25**		
	kcoups/s	**D_h (nm)**	**pdI**
20	3	520 ± 110	0.56
23	6	550 ± 320	0.66

b)	**J0**			**J1**			**J3**		
[dication] (mM)	**2.5**			**2.5**			**2.5**		
R[a]	**0.5**			**0.5**			**0.5**		
	kcoups/s	**D_h (nm)**	**pdI**	**kcoups/s**	**D_h (nm)**	**pdI**	**kcoups/s**	**D_h (nm)**	**pdI**
20	3	400 ± 70	0.77 ± 0.33	2	780 ± 1100	0.44	nf[b]		
23	1090 ± 1670	1240 ± 1240	0.54 ± 0.37	100*	310 ± 7	0.83	nf[b]		
24	7590	270 ± 10	0.01 ± 0.02	nf[b]			420 ± 70	640 ± 40	0.42

c)	**J0**			**J1**		
[dication] (mM)	**5**			**5**		
R[a]	**0.5**			**0.5**		
	kcoups/s	**D_h (nm)**	**pdI**	**kcoups/s**	**D_h (nm)**	**pdI**
20	6 ± 4	370 ± 250	0.94	3	610 ± 210	1
PPZ, 2TFA	1	100	0.46	2	0	0
23	130 ± 150	330 ± 50	0.63 ± 0.12	10**	290 ± 20	0.47

d)	**J0**			**J1**		
[dication] (mM)	**2.5**			**2.5**		
R[a]	**1**			**1**		
	kcoups/s	**D_h (nm)**	**pdI**	**kcoups/s**	**D_h (nm)**	**pdI**
24	3740***	600 ± 20	0.2	490 ± 110	770 ± 130	0.22

[a] R = [anion]/[cation]
[b] nf : mesure non faite
* Turbide avec particules en suspension
** Particules en suspension
*** Turbide

Dans le cas du mélange de **24** à 2.5 mM et de dianion B à 0.6 mM, i.e. R = 0.5, une augmentation de l'intensité diffusée et des particules monodisperses sont observées de façon reproductible (**Tableau 2-b**). Ces résultats indiquent la probable formation d'assemblages ayant des dimensions régulières. A J3, la solution reste colloïdalement stable mais les mesures de DLS montrent une augmentation de la taille et de la polydispersité. Lorsque la concentration en dianions est doublée à 1.2 mM pour une concentration fixe de composé **24** à 2.5 mM, i.e. R = 1, une augmentation de l'intensité diffusée et la formation de particules monodisperses sont également observées à J0 (**Tableau 2-d**). Cependant, la taille des particules obtenues est plus importante qu'à R = 0.5 et la solution est turbide. A J1, la solution reste turbide et un culot est observé. Cette perte de stabilité colloïdale est probablement due au fait que la stœchiométrie en charges est atteinte dans ces conditions.

L'ensemble des résultats obtenus montre que l'interaction du dianion B avec les PSM de CDs conduit spécifiquement à des assemblages de grande taille contrairement à ce qui est observé dans le cas des composés témoins (**20** ou pipérazine).

On constate également que les assemblages formés avec le composé **23** sont polydisperses et moins stables que ceux constitués à partir du composé **24** ce qui suggère une organisation différente au sein de ces deux types d'assemblages. Nous avons donc analysé par Cryo-MET les mélanges comportant le composé **24** à 2.5 mM et le dianion B à 0.6 mM (R = 0.5) et comparé les assemblages formés à ceux obtenus dans le cas du mélange entre le composé **23** à 5 mM et ce même dianion à 2.5 mM (R = 0.5). Ces mélanges ont été de nouveau préparés le jour des analyses Cryo-MET et préalablement caractérisés par analyses DLS (**Tableau 3**).

Tableau 3 : *Intensité diffusée (kcoups/s), taille (D_h) et indice de polydispersité (pdI), mesurés par DLS, à J0, des particules en solution dans les mélanges entre CDs et naphtalène disulfonate de sodium (dianion B).*

	J0			**J0**		
[dication] (mM)	**2.5**			**5**		
R[a]	**0.5**			**0.5**		
	kcoups/s	**D_h (nm)**	**pdI**	**kcoups/s**	**D_h (nm)**	**pdI**
23**	nf[b]			3780 ± 990	3410 ± 900	0.16 ± 0.21
24***	4460	390 ± 20	0.14	nf[b]		

[a] R = [anions]/[cations]
[b] nf : condition non faite
** Turbide avec culot
*** Turbide

Dans le cas du composé **23**, un mélange colloïdalement peu stable a été obtenu à J0 (**Tableau 3**) contrairement au mélange précédemment réalisé dans les mêmes conditions (**Tableau 2-c**). Cette absence de reproductibilité indique un mauvais contrôle des structures formées. Bien que l'échantillon ait été agité avant dépôt sur la grille de Cryo-MET, aucune structure n'a été observée. Ces agrégats sont probablement retirés lors de la préparation de la grille car leur taille élevée (**Tableau 3**) est supérieure à l'épaisseur d'échantillon déposée (100 à 200 nm).

Dans le cas du composé **24**, un mélange monodisperse a de nouveau été obtenu (**Tableau 3**). Son analyse par Cryo-MET a permis l'observation de particules sphériques de forme bien définie (**Figure 11**), d'une taille de 600 ± 160 nm, du même ordre de grandeur que celle déterminée par analyse DLS (**Tableau 3**).

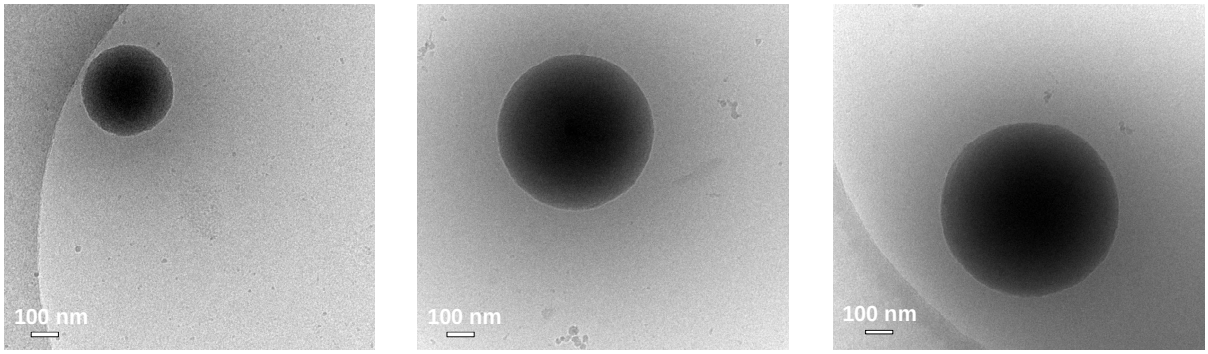


Figure 11 : *Images de Cryo-MET obtenues pour la solution constituée de composé **24** à 2.5 mM et naphtalène disulfonate de sodium à 0.6 mM*

Pour compléter l'analyse, un spectre de dichroïsme circulaire a été réalisé sur le mélange **24** à 2.5 mM / dianion B à 0.6 mM (R = 0.5) précédemment analysé par Cryo-MET. Aucun signal cd n'a été observé au niveau des bandes d'absorption UV du dianion B de 220 à 280 nm. Le chromophore du dianion B n'est donc pas affecté par l'environnement chiral de la CD, ce qui suggère une structure peu régulière.

Le degré de polymérisation (DP_n) du composé **24** à 2.5 mM, déterminé par les données d'ITC (Chapitre 3 ; Tableau 29) est de 9, ce qui conduit pour une distance de répétition de 1.0 nm (cf. Annexe 3 ; Figure A - 5) à un PSM de 9 nm de long en moyenne. L'ajout du dianion B apporte donc, via l'établissement d'interactions électrostatiques secondaires, une coopérativité qui permet la formation d'agrégats sphériques de CDs d'une taille bien supérieure (600 ± 160 nm). Comme le témoin **20** ne s'assemble pas dans ces conditions, on peut considérer que l'objectif de déclencher un assemblage secondaire du PSM par interaction électrostatique est atteint. Par contre, la forme isotrope finale indique que l'information géométrique du PSM

initial est perdue dans le processus. Cela est probablement le signe d'un assemblage désordonné entre le PSM et le dianion (**Figure 12**).

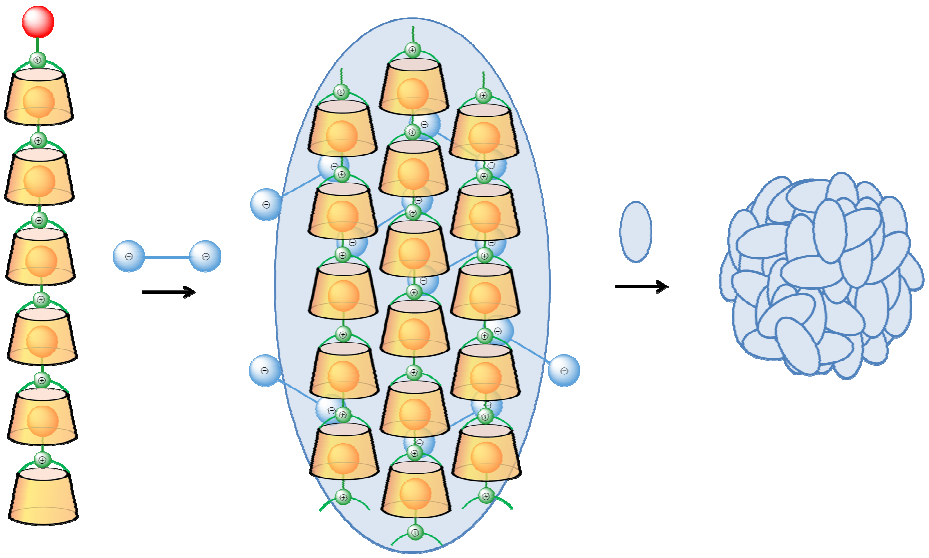


Figure 12 : *Schéma de l'association, par interactions électrostatiques à R = 0.5, entre le dianion B et le composé* ***24*** *à 2.5 mM.*

Bien que les principales interactions impliquées dans ces assemblages soient identifiées, i.e. interactions hôte/invité et électrostatiques, une étude plus avancée de ce système reste à faire (analyse par AFM, spectroscopie UV et de fluorescence[3,9]) afin de caractériser plus en détails sa structure et son organisation à l'échelle moléculaire.

B- Evaluation de l'effet d'un polyanion de structure rigide sur la formation de PSM hiérarchiques de CDs

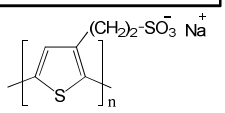
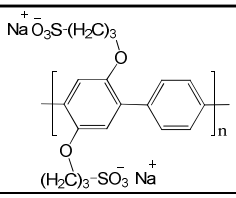
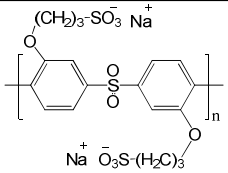
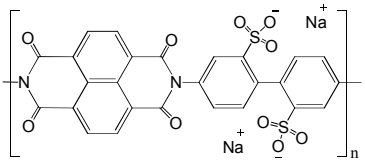
Afin d'augmenter la coopérativité de l'assemblage des PSM sous forme de structures hiérarchiques, nous avons choisi d'utiliser un polyanion de taille courte et ayant une structure présentant les spécificités suivantes :

- Rigidité
- Modularité de la distance entre charges via le choix des monomères utilisés
- Modularité de la longueur de chaine (DP_n)

Quatre familles de polymères ont retenu notre attention : les polythiophènes, les polyphénylènes, les poly(phénylènes-éther-sulfone) et les polyimides, dont les chaines principales sont substituées par des fonctions sulfonates. Le choix de la famille la plus

intéressante pour notre objectif a été guidé par les critères structuraux cités plus haut ainsi que par des critères pratiques de mise en œuvre de leur synthèse (**Tableau 4**).

Tableau 4 : *Evaluation des quatre familles de polymères selon différents critères de sélection.*

Famille de polymères	Rigidité	Modularité $d_{inter\text{-}charges}$	Modularité DP_n	Conditions de synthèse	Réf.
polythiophènes 	▬ Chaine non rectiligne	▬	✚	✚	a
polyphénylènes 	✚	✚	✚	▬ En boite à gants / avec solvants difficiles à éliminer	b
polysulfones 	▬ Chaine non rectiligne	✚	✚	▬ Avec solvants difficiles à éliminer	c
polyimides 	✚	✚	✚	✚	d

[a] Ref. [10]
[b] Ref. [11]
[c] Ref. [12]
[d] Ref. [13]

A l'issue de cette sélection (**Tableau 4**), notre choix s'est porté sur la famille des polyimides et nous avons donc entrepris de synthétiser un polyimide comportant une dizaine d'unités de répétition (UR), ayant une chaine principale rigide et substituée de manière régulière par des sulfonates : le compose **31** (**Figure 13**).

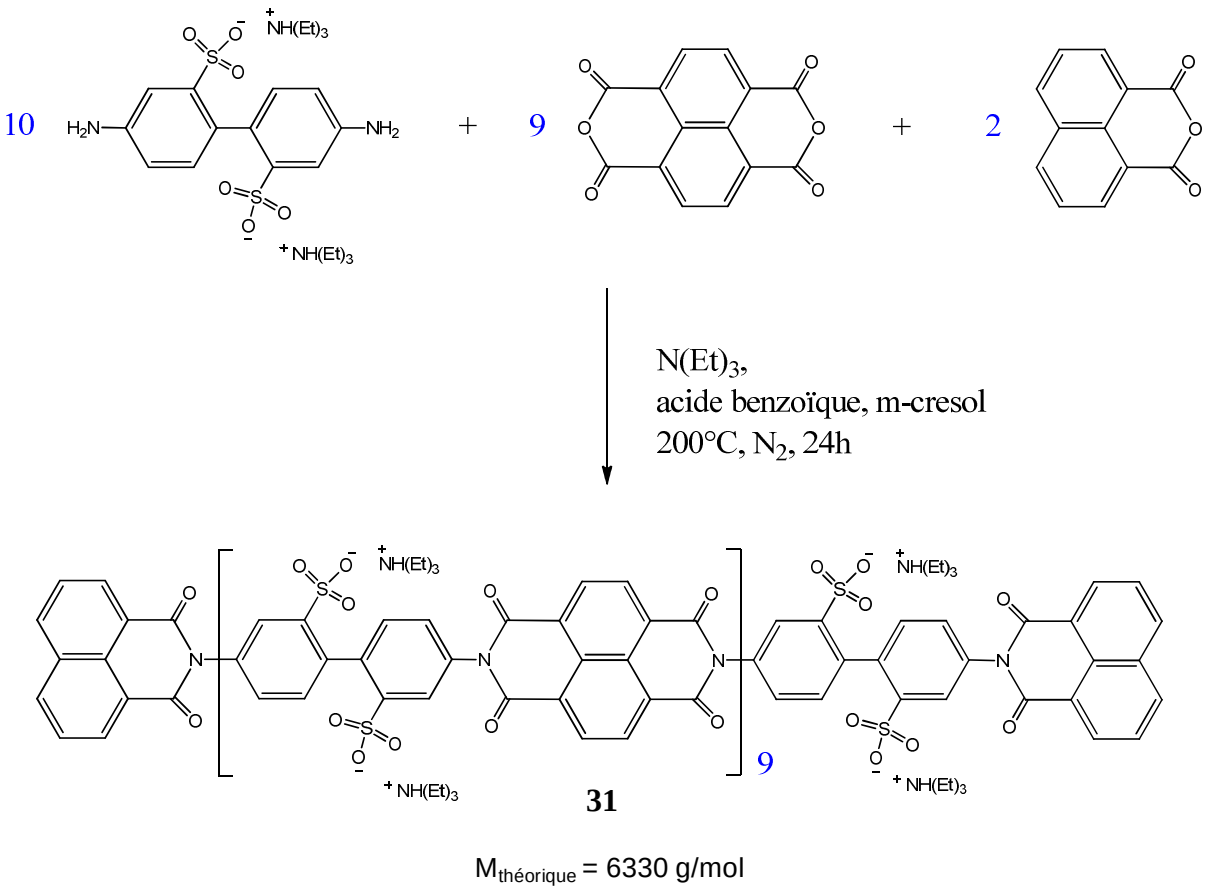


Figure 13 : *Synthèse du composé **31** selon la référence [13].*

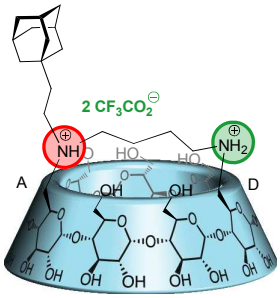
Pour la synthèse de ce composé, nous nous sommes basés sur les travaux de H.-J. Kim et al.[13]. Cette synthèse a consisté en une polycondensation à chaud, sous atmosphère inerte et en milieu basique dans du m-crésol. Afin d'obtenir un nombre d'UR de 9, nous avons utilisé 0.9 équivalents de dianhydride par rapport à la diamine auxquels nous avons ajouté 0.2 équivalents de monoanhydride servant de stoppeur de chaine (**Figure 13**). Après purification par dialyse (rendement 61 %), l'analyse FTIR a confirmé la présence de fonctions imides dans le composé final (cf. Partie expérimentale). La structure du polymère **31** a également été caractérisée par RMN ^{1}H et ^{13}C dans le DMSO. Ces analyses ont permis d'identifier trois types de terminaisons : monoanhydride (structure attendue), amine et amine ayant réagi avec un groupement dont la nature est en cours de caractérisation (cf. Partie expérimentale). Dans le cas où ce dernier groupement constitue effectivement une extrémité de chaine, l'intégration des signaux observés permet d'estimer le nombre d'UR moyen en nombre à 4.

La capacité du polymère **31** à promouvoir la formation d'assemblages hiérarchiques de CDs en présence du composé **23** a ensuite été évaluée. Nous avons axé notre étude sur ce dernier composé en raison de la meilleure accessibilité de ses charges, situées en périphérie du col

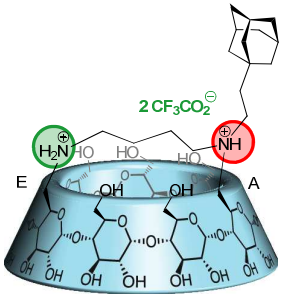
primaire comparé au composé **24** dont l'unique charge est centrée par rapport à la cavité. Lors des mélanges, la concentration en polymère **31** a été reportée en concentration d'unité disulfonate (UDS) en prenant M_{UDS} = (6330 – 392)/10 = 594 g/mol. La contribution des bouts de chaines a donc été négligée.

1- Etude de l'association entre le polymère 31 et la β-CD 23b

La β-CD avec un pont C4 et un substituant adamantane en position A/E, le composé **23b**, est un sous-produit de la synthèse de composé **23** dont nous disposions, à ce stade du projet, en plus grande quantité que le composé **23**. Nous l'avons donc, dans un premier temps, utilisé pour une étude préliminaire. L'analyse par RMN DOSY du composé **23b**, préalablement effectuée par l'équipe GOBS, a montré que son comportement en solution est identique à celui de son isomère A/D, le composé **23** (Annexe 3 ; Figure A - 6).



23



23b

Dans le cadre de cette étude préliminaire, trois conditions de mélange des composés **31** et **23b** ont été successivement testées. Le choix de ces conditions s'est fait par ajustement progressif en partant d'une première condition de rapport R de la concentration en charges anioniques du polyimide sur la concentration en charges cationiques de la CD inférieure à la stœchiométrie (R = 0.4) afin d'éviter la précipitation du système. Dans le cas des composés **20**, **23** et **23b**, ce rapport R revient au rapport de la concentration en UDS de polyimides sur la concentration en CDs.

Lors de l'analyse du mélange comportant **23b** à 5 mM et une concentration en UDS de polyimides de 2 mM (R = 0.4), on observe néanmoins une précipitation. Pour une concentration en composé **23b** plus faible (2.5 mM), on observe, pour deux valeurs de R (0.04 ou 0.08), une augmentation de l'intensité diffusée et on obtient des solutions colloïdalement stables ayant des polydispersités élevées (**Tableau 5-c**).

Tableau 5 : *Intensité diffusée (kcoups/s), taille (D_h) et indice de polydispersité (pdI), mesurés par DLS, des particules en solution dans les solutions de* ***31****,* ***23b*** *et des mélanges entre ces deux composés.*

a)	**J0**		
[31] (mM)	**0.2**		
R[a]	∞		
	kcoups/s	**D_h (nm)**	**pdI**
31	40	410 ± 20	0.48

b)	**J1**		
[dication] (mM)	**2.5**		
R[a]	**0**		
	kcoups/s	**D_h (nm)**	**pdI**
23b	6	700 ± 70	0.8

c)	**J0**			**J0**		
[dication] (mM)	**2.5**			**2.5**		
R[a]	**0.04**			**0.08**		
	kcoups/s	**D_h (nm)**	**pdI**	**kcoups/s**	**D_h (nm)**	**pdI**
23b	450	-[b]	1	510 ± 40	-[b]	1

[a] R = [UDS du polyimide]/[CD]
[b] temps de corrélation trop long et échantillon trop polydisperse pour permettre la détermination d'une taille de particule.

Une faible quantité de polymère **31** est donc suffisante pour induire l'association de **23b** sous forme d'assemblages de grandes tailles. Cependant, bien que la quantité de polyanion passe du simple au double entre ces deux dernières conditions, on remarque que l'impact sur l'intensité diffusée est faible (**Tableau 5-c**).

Par ailleurs, lors de l'analyse DLS de la solution de polyimide témoin à 0.2 mM d'UDS, une intensité diffusée faible mais non négligeable de 40 kcoups/s a été obtenue (**Tableau 5-a**). En régime dilué, l'analyse par DLS des polyélectrolytes dans l'eau sans sel peut entrainer une augmentation de l'épaisseur de la double couche diffuse des particules induisant ainsi une diminution du coefficient de diffusion des particules et une surestimation de leur taille R_h[14]. L'ajout de sel NaCl à 10 mM selon la norme ISO13321 (1996) permet, dans ce cas, de réduire la taille de cette couche diffuse. Cependant, si la force ionique est trop importante (e.g. > 50mM de NaCl) cela peut conduire à une forte réduction de l'épaisseur de cette couche

diffuse, ce qui, en diminuant la répulsion électrostatique, peut induire une précipitation des particules en solution.

Afin de déterminer si l'intensité diffusée obtenue lors de l'analyse du polymère **31** est due à une surestimation de la taille des polyanions en solution, des mesures DLS ont été faites en présence de quantité croissante de NaCl (**Figure 14**).

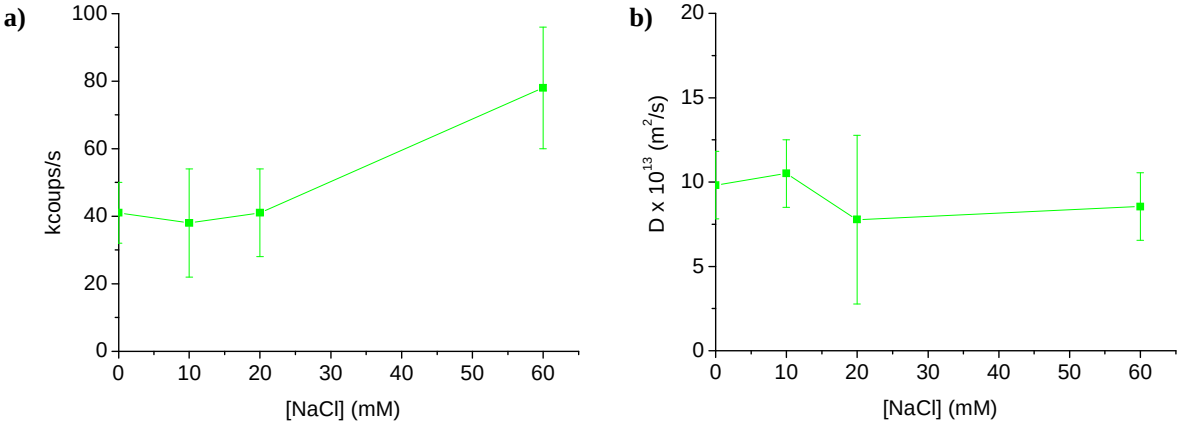


Figure 14 : *Evolution **a)** de l'intensité diffusée par une solution à 0.2 mM d'UDS du polymère **31** et **b)** du coefficient de diffusion du polymère **31** lors de l'ajout de quantité croissante de NaCl.*

On constate que la présence de quantité croissante de NaCl n'entraine pas de variation significative de l'intensité diffusée et du coefficient de diffusion de **31**. L'intensité diffusée précédemment mesurée n'est donc pas surestimée par l'absence de sel.

Afin d'éliminer d'éventuelles agrégats présents dans la solution de polymère **31**, nous avons filtré ces solutions puis quantifié par pesée et mesures d'absorbance UV la quantité de matière retirée par filtration. Après filtration d'une solution à 1 mM d'UDS de polymère **31**, une forte réduction de l'intensité diffusée est observée (**Tableau 6**).

Tableau 6 : *Intensité diffusée (kcoups/s), mesurée par DLS, d'une solution de polymère* ***31*** *à 1 mM en UDS avant et après filtration. Détermination par détection UV de la masse d'agrégats de* ***31*** *retirée par filtration.*

	31			
	[UDS] en mM	**kcoups/s**	**Absorbance UV**	**Masse éliminée par filtration (mg)**
Avant filtration	**1**	280 ± 50	1.08035	0.0091 (1.6 %)
Après filtration (0.2µm)	**1**	20	1.06334	
	0.6[a]	10		
	0.2[a]	6		

[a] solution préparée à partir de la solution à 1 mM filtrée à 0.2µm

Cependant, aucune variation de la masse du filtre utilisé n'est détectée avant et après filtration du polymère **31**. Après analyses UV de la solution avant et après filtration, on constate une faible diminution de l'absorbance UV (1.6 %) correspondant à une masse de 9.1 µg. Cela nous indique que soit la quantité de particules était trop faible pour être quantifié par pesée, soit les particules se dissocient lors du cisaillement causé par le passage à travers les pores du filtre. Dans tous les cas, la filtration est efficace et a donc été utilisée systématiquement.

2- Etude de l'association entre le polymère 31 et la β-CD 23

Nous avons choisi d'étudier, par analyses DLS et Cryo-MET, des mélanges polymère **31**/CD comportant 5 mM de CD et une concentration en UDS de polymère **31** de 0.2 ou 0.6 mM, soit R = 0.04 ou 0.12, afin d'être dans la zone de stabilité colloïdale du mélange. Les analyses Cryo-MET ont été effectuées six jours après la préparation des mélanges afin que les assemblages aient le temps de se former.

Un suivi de l'évolution de ces échantillons a été effectué par analyses DLS pendant sept jours. Lors des analyses des mélanges polymère **31**/CD à R = 0.04 et 0.12, des temps de corrélation importants ont été observés suggérant une taille très élevée des assemblages formés. Cela a conduit, dans le cas de plusieurs mesures, à une détermination impossible de la taille de particules par le logiciel indiquant ainsi des tailles de plusieurs micromètres, supérieures à la limite de détection de l'appareil. En conséquence, seule l'intensité diffusée (kcoups/s) a été reportée à l'issue de ces mesures (**Figure 15**).

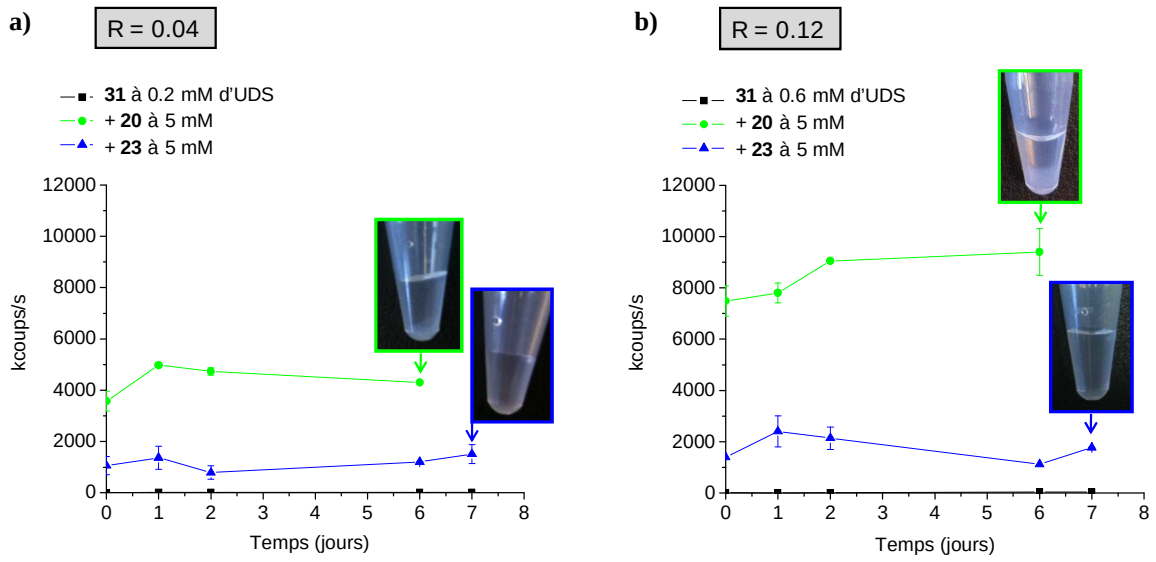


Figure 15 : *Suivi de l'intensité diffusée (kcoups/s), mesurée par DLS, des mélanges de polymère **31** et de CDs à **a)** R = 0.04 et **b)** R = 0.12 de 0 à 7 jours après leur préparation (les analyses de Cryo-MET ont été réalisées à J6).*

On sait que les solutions témoins de composés **20** et **23** (sans polymère) présentent une intensité diffusée négligeable (**Tableau 1-a**). L'intensité diffusée par les solutions témoins de polymère **31** (sans CD) est également négligeable (**Figure 15**). Lors de l'ajout de polymère **31** sur les CDs, on observe une augmentation de l'intensité diffusée (**Figure 15-a** et **b**). Dans le cas des mélanges avec le composé **23**, la stabilité colloïdale est bonne (cf. photos sur **Figure 15-a** et **b**). Ce qui est en accord avec les résultats précédemment obtenus avec **23b** (**Tableau 5-c**). Dans le cas du mélange avec le composé **20**, l'augmentation d'intensité diffusée est plus importante et, à concentration en CDs constante, cette augmentation croît avec la quantité de polymère **31** ajouté. De plus, les particules en solution ne sont pas colloïdalement stables (cf. photos sur **Figure 15-a** et **b**). La correspondance entre la distance séparant les sulfonates d'une même unité de répétition de **31** et celle séparant les ammoniums du composé **20** pourrait, comme dans le cas du dianion A (**Figure 8**), favoriser la formation de paires d'interactions et conduire à l'agrégation puis à la précipitation des complexes polymère **31**/CD.

A J6, les deux mélanges réalisés à R = 0.04 ont été analysés par Cryo-MET. Dans le cas du mélange entre les composés **31** et **20**, bien que la solution ait été agitée avant le dépôt sur la grille, aucune structure n'a été observée. Ces agrégats sont probablement retirés lors de la préparation de la grille à cause de leur taille très élevée.

Dans le cas du mélange entre les composés **31** et **23**, un réseau de fibres flexibles d'un diamètre de 7 ± 1 nm, comportant des branches d'environ une centaine de nanomètres, a été observé dans quelques puits de la grille d'analyse Cryo-MET (**Figure 16**).

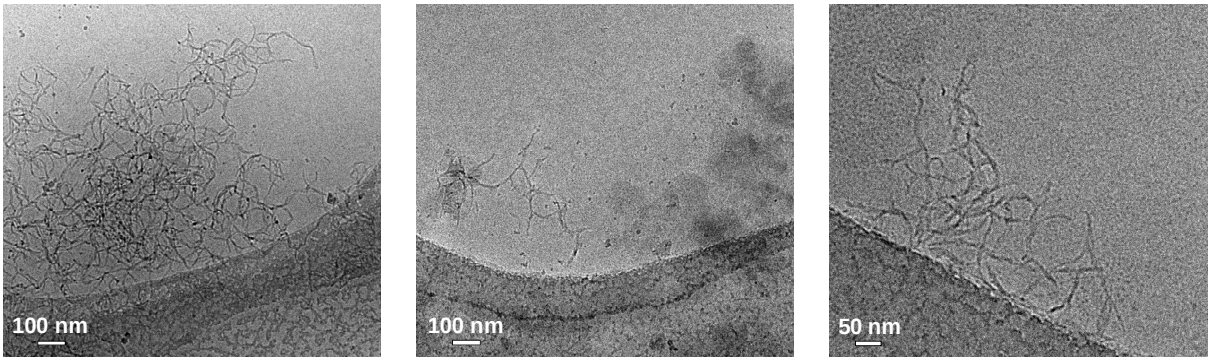


Figure 16 : *Images de Cryo-MET obtenues pour la solution constituée de CD **23** à 5 mM et de polymère **31** à 0.2 mM en UDS (R = 0.04)*

La présence en solution de telles structures ramifiées pourrait expliquer les résultats de DLS obtenus. En effet, les temps de corrélation élevés traduisent un coefficient de diffusion faible des particules en solution qui pourrait être dû à la taille importante de ces amas de fibres. De plus, la faible variation de l'intensité diffusée mesurée lors de l'augmentation de la quantité de polymère **31** (**Figure 15-a** et **b**) pourrait être due à une densification de ce réseau qui n'aurait que peu d'impact sur le rayon hydrodynamique des structures en solution.

Par ailleurs, le spectre de dichroïsme circulaire, effectué sur la solution constituée de composé **23** à 5 mM et de polymère **31** à 0.2 mM en UDS, ne présente aucun signal cd au niveau des bandes d'absorption UV du polymère **31** de 340 à 390 nm. Ce résultat suggère qu'au sein des fibres formées, le polymère **31** n'est pas en contact étroit et régulier avec l'environnement chiral des CDs.

La longueur d'une centaine de nanomètres des branches constituant le réseau ramifié observé est supérieure à celle du PSM **23** à 5 mM, soit 8 nm de longueur en moyenne pour un DP_n de 8 d'après les résultats d'ITC (Chapitre 3 ; Tableau 28) et à celle du polymère **31** (environ 7 nm). Cela montre que le polymère **31** permet la croissance coopérative des PSM constituant ce réseau. Par ailleurs, sachant que le diamètre d'une β-CD native est de 1.54 nm et que celui de la chaîne de polyimide **31** est d'environ 1 nm (Chapitre 1 ; figure 1), le diamètre des fibres constituant ce réseau correspond alors à celui d'environ trois CDs et trois polymères **31**. Cela suggère que ces fibres pourraient être un faisceau d'une dizaine de PSM maintenus ensemble via des interactions électrostatiques avec une dizaine de polymère **31** (**Figure 17**).

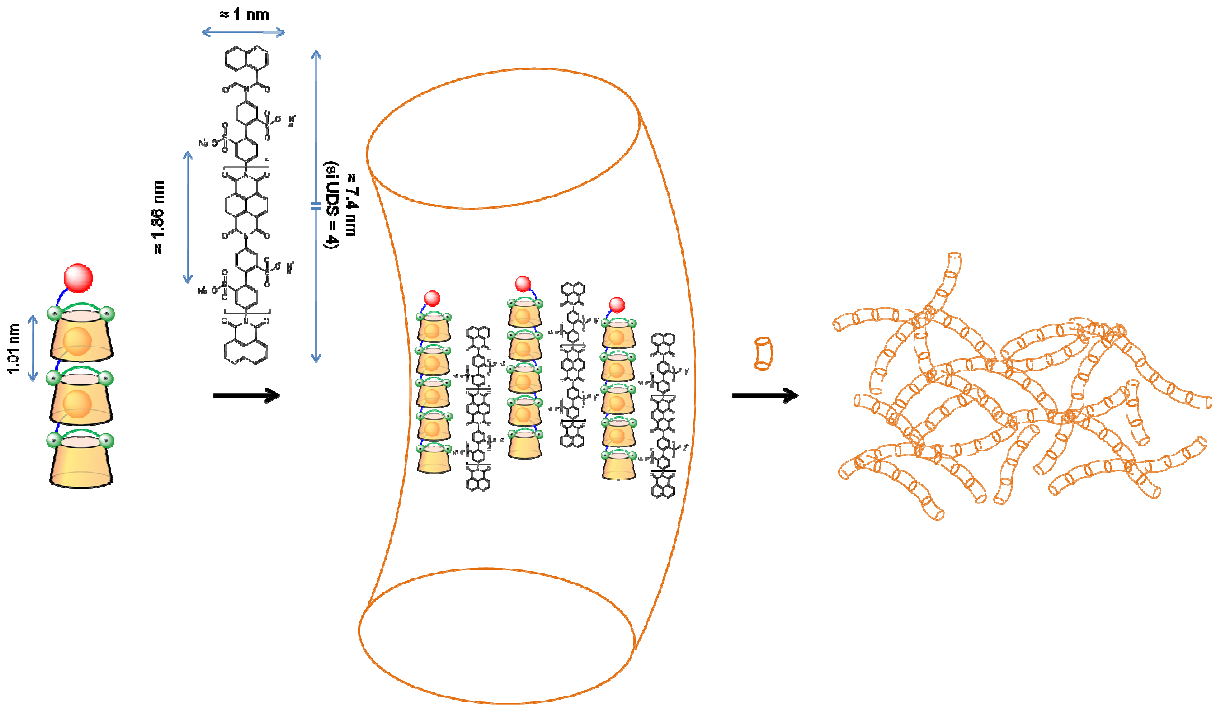


Figure 17 : *Schéma de l'association, par interactions électrostatiques à R = 0.04, entre le polymère* ***31*** *et le composé* ***23*** *à 5 mM.*

Un tel assemblage coopératif a également été observé, au cours des travaux de thèse de P. Evenou[15], sur l'étude de la formation de PSM hiérarchiques entre des siRNA et le composé **23**. Lors de l'analyse, par Cryo-MET, d'un mélange comportant le composé **23** à 2.5 mM et du siRNA à 10 µM (correspondant pour 21 paires de bases à un rapport R = 0.076), il a observé la formation de fibres rigides de plusieurs centaines de nanomètres de longueur et d'un diamètre de 12 ± 1.4 nm. Il a montré que la croissance de ces fibres a lieu en présence d'un excès de **23** et aboutit à la formation de faisceaux composés de PSM et de siRNA maintenus ensemble par des interactions électrostatiques (**Figure 18**).

Ces résultats confirment la capacité des polyanions à apporter une coopérativité à l'association de **23** sous forme de PSM ainsi que leur capacité à promouvoir la formation d'assemblages hiérarchiques de PSM. Cependant, on constate qu'en présence du même monomère, le composé **23**, le système étudié par P. Evenou a conduit à la formation de fibres rigides tandis que dans notre cas un réseau de fibres flexibles a été obtenu.

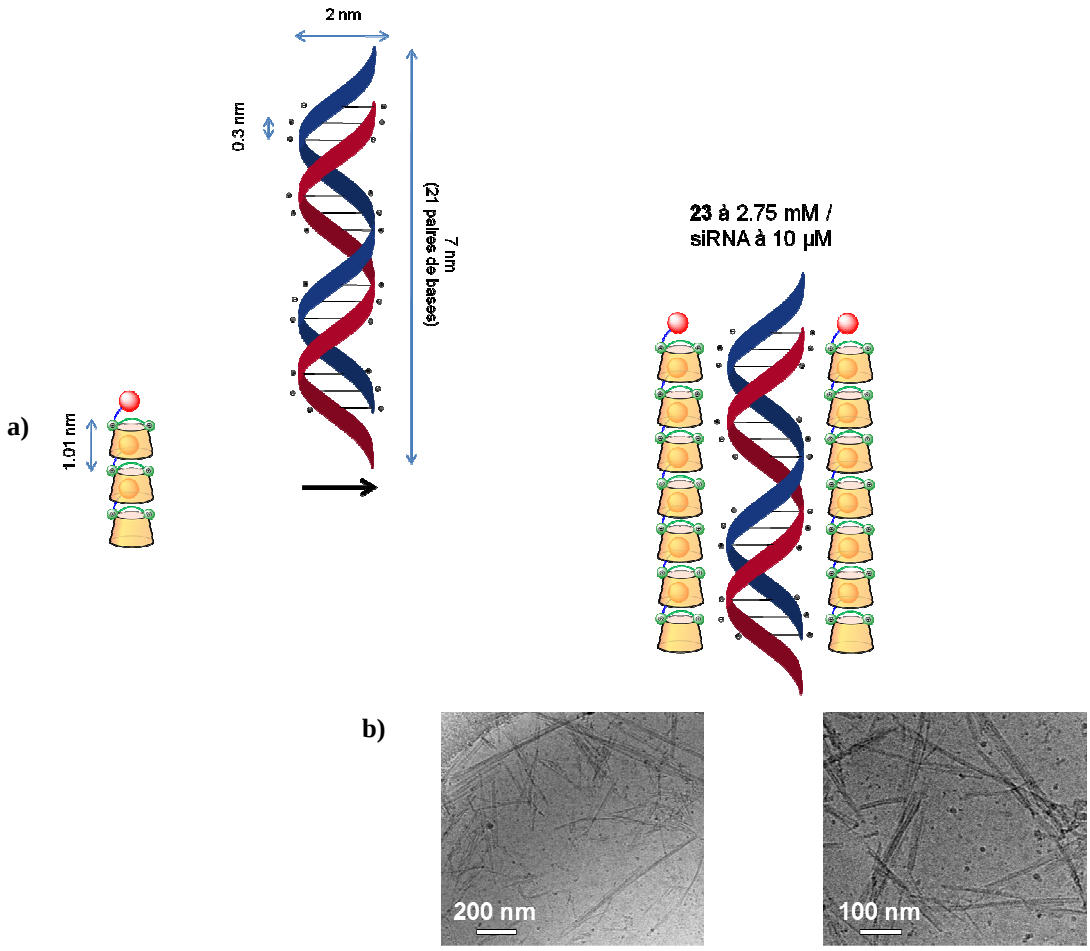


Figure 18 : a) *Schéma et* ***b)*** *photos de Cryo-MET de l'association, par interactions électrostatiques, observée par P. Evenou*[15] *entre un siRNA de 21 paires de bases à 10 µM et le composé* ***23*** *à 2.75 mM, i.e. R = 0.076. Pour ces analyses, le composé* ***23*** *comportant un contre-ion chlorure a été utilisé. La solution* ***23****/siRNA a été préparée dans un tampon Tris Borate EDTA (TBE) à pH 8.3.*

Il est fort probable que des paramètres tels que le contre-ion du composé **23**, la distance inter-charges du polyanion ou la rigidité du polyanion aient un impact sur les structures formées. La différence entre les structures observées pourrait aussi être liée à la force ionique de la solution qui influe certainement sur la cinétique de formation des assemblages. Celle-ci serait plus rapide dans le cas du mélange **23**/polymère **31** (eau pure) et conduirait alors à des ramifications et des défauts tandis qu'en présence de siRNA (tampon TBE), la cinétique plus lente permettrait une croissance plus régulière des fibres et conduirait à une structure rigide.

Pour conclure, l'ensemble des résultats obtenus lors de cette étude montre que l'utilisation d'un polyanion rigide et court tel que le polymère **31**, permet la formation PSM hiérarchiques

anisotropes stables avec le composé **23**, contrairement à ce qui est observé en présence de naphtalène disulfonate. On peut donc penser que la directionnalité plus importante des interactions électrostatiques établies avec **31** conduit à des assemblages hiérarchiques stables.

Cependant, une étude plus avancée de ce système reste à effectuer afin de caractériser les assemblages formés à l'échelle moléculaire et de définir plus finement les conditions limites de leur formation et de leur stabilité en termes de rapport de charges R, de force ionique et de concentrations en composés **31** et **23**. De plus, la modulation de la structure du polymère **31** pourra, par la suite, nous permettre de contrôler la structure des architectures formées.

C-Evaluation de l'effet d'un tétraanion de structure rigide sur la formation de PSM hiérarchiques de CDs

Les porphyrines sont une famille de molécules impliquées dans de nombreuses fonctions biologiques telles que le transport d'oxygène ou la photosynthèse. De par leurs propriétés, elles présentent un grand intérêt dans de nombreux domaines tels que celui de la catalyse[16] ou de la médecine thérapeutique[17].

En solution aqueuse, ces molécules ont la particularité de se présenter sous forme de monomères ou de s'assembler sous forme d'agrégats en fonction de leur concentration, du pH, de la force ionique, de leur structure et de leurs propriétés électroniques. Leurs propriétés spectroscopiques permettent le suivi de ces changements d'organisation par spectroscopie UV et de fluorescence. Notre choix s'est porté sur ce type de composé car leur capacité à s'auto-assembler pourrait permettre, d'une part, d'augmenter la coopérativité de la formation des PSM hiérarchiques de CDs et, d'autre part, d'amplifier l'anisotropie des assemblages formés. Pour cette étude, nous avons sélectionné une porphyrine anionique : la 5,10,15,20-tétrakis(4-sulfonatophényl)porphyrine ($TPPS_4$) (**Figure 19**) susceptible d'interagir par interactions électrostatiques avec les PSM de CDs cationiques.

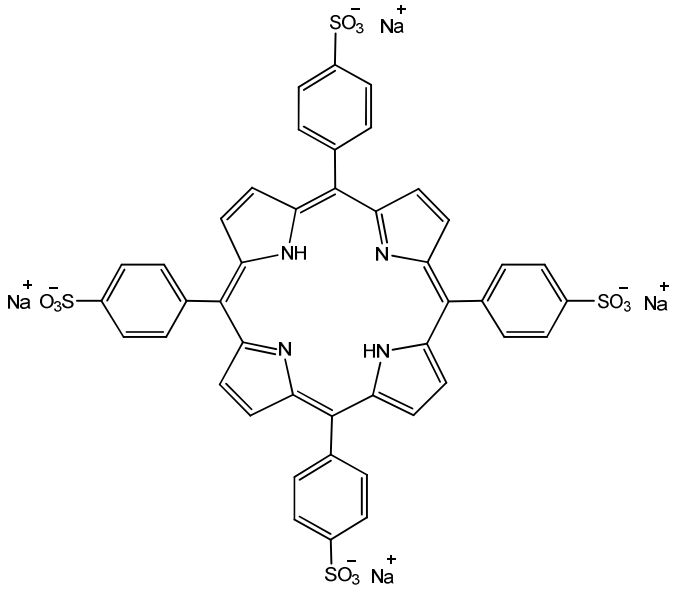


Figure 19 : *Structure de la 5,10,15,20-tétrakis(4-sulfonatophényl)porphyrine ($TPPS_4$)*

1- Les assemblages de $TPPS_4$

Les $TPPS_4$ peuvent se présenter sous différentes formes en solution en fonction du pH. En effet, les sulfonates ont un pKa inférieur à 1[18] et les pyrroles du cycle ont un pKa = 5.4[19], ainsi :

- quand pH > $pKa_{pyrroles}$: la porphyrine ($TPPS_4$) est sous forme monomère et présente deux bandes principales d'absorption à 412 et 515 nm (**Figure 20**).
- quand pKa_{SO3H} < pH < $pKa_{pyrroles}$: les pyrroles se protonent et la porphyrine (H_2TPPS_4) devient un dianion.

Si sa concentration est inférieure à 50 µM, la H_2TPPS_4 est présente sous une forme monomère dont les principales bandes d'absorption sont à 433 et 644 nm (**Figure 20** ; **Figure 21**). Si sa concentration est supérieure à 50 µM, ce dianion s'auto-assemble sous forme d'agrégats via des liaisons électrostatiques entre les sulfonates et les pyrroles. Ces agrégats peuvent présenter deux à trois bandes d'absorption respectivement à 490, 705 et 420 nm (**Figure 20** ; **Figure 21**).

- quand pH < pKa_{SO3H} : la protonation des sulfonates entraine la rupture des liaisons électrostatiques entre les sulfonates et les pyrroles, ce qui conduit à la destruction des agrégats et au retour à l'état de monomères. En milieu très acide, les monomères ainsi formés ont deux principales bandes d'absorption à 653 et 440 nm (**Figure 20**).

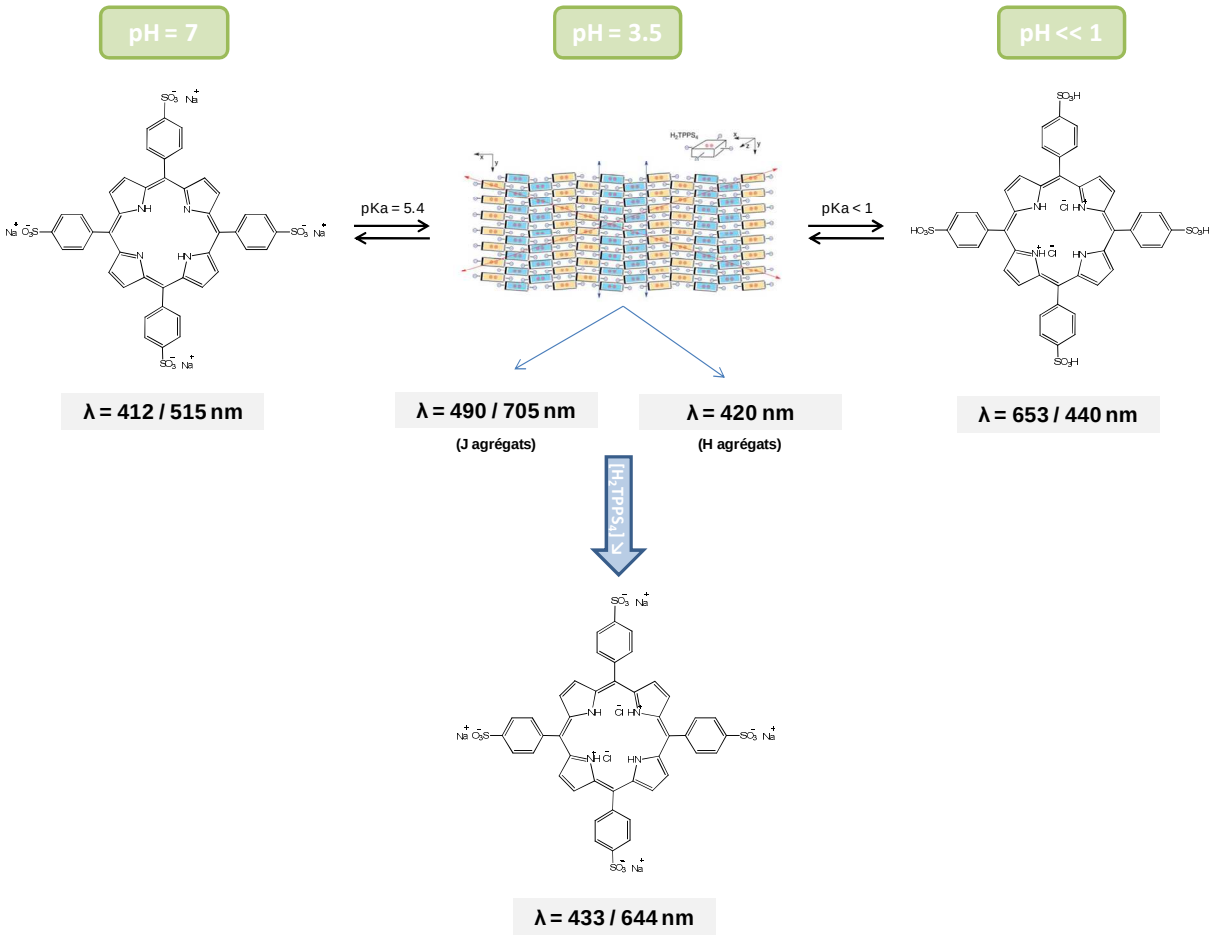


Figure 20 : *Schéma de la structure et des bandes principales d'absorption UV de $TPPS_4$ en fonction du pH*[20,21].

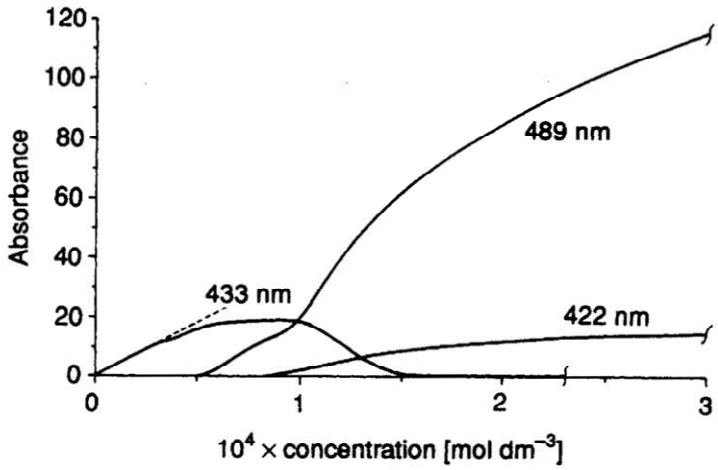


Figure 21 : *Variation de l'absorbance en fonction de la concentration en $TPPS_4$ à pH 3.5 (i.e. sous forme H_2TPPS_4) et à force ionique constante (figure issue de la réf.* [20]*)*

La structure des agrégats a récemment été élucidée par J. M. Ribo et al.[22]. Ils ont mis en évidence, par AFM, MET, diffraction des électrons et de rayons X, une structure sous forme de feuillets composés de dimères de H_2TPPS_4 représentés en orange et bleu sur la **Figure 22**.

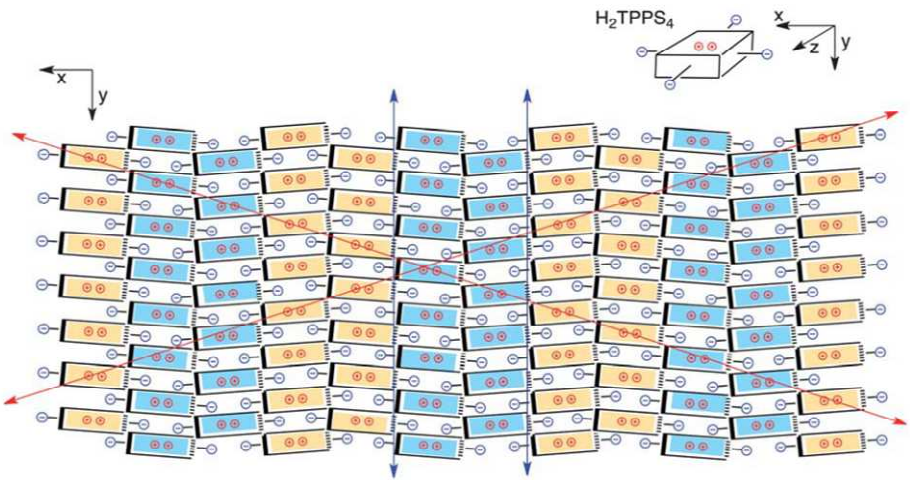


Figure 22 : *Structure d'un feuillet de H_2TPPS_4 constitué d'agrégats J associés par interactions électrostatiques selon l'axe x et d'agrégats H associés par π-π stacking selon l'axe y (figure issue de la réf. [22])*

Cette structure en feuillet peut présenter deux bandes d'absorption à 490 et 705 nm dues au couplage des dipôles transitoires assemblés en tête à queue, i.e. selon une direction horizontale par rapport au plan de la molécule. L'assemblage en tête à queue formé par ces dipôles est nommé agrégats J. Par ailleurs, cette structure en feuillets peut également présenter une bande d'absorption à 420 nm due aux interactions par π-π stacking entre les noyaux aromatiques des H_2TPPS_4, i.e. selon une direction verticale par rapport au plan de la molécule. L'assemblage par π-π stacking ainsi formé est nommé agrégats H.

Les agrégats J et H font donc partie de la même structure (les feuillets de porphyrines)[22] bien qu'initialement, ils aient été décrits dans la littérature comme deux structures distinctes (**Figure 22**).

Il est admis que les petits feuillets sont uniquement stabilisés sur de courtes longueurs le long des assemblages d'agrégats J tandis que les grands feuillets présentent en plus une croissance importante via des interactions par π-π stacking (agrégats H[22]). En d'autres termes, les feuillets de porphyrines s'assemblent dans un premier temps préférentiellement sous forme d'agrégats J, puis, dans un deuxième temps, lorsque la croissance du feuillet se poursuit vers un assemblage plus grand, la croissance sous forme d'agrégats H a également lieu.

Ces feuillets ont également été caractérisés par AFM et Cryo-MET par J. M. Ribo et al.[23]. Ils ont mis en évidence le fait que les H_2TPPS_4 peuvent former des feuillets monocouches, bicouches ou multicouches d'une épaisseur respectivement de 1.9 nm, 3.8 et n x 1.9 nm. La comparaison entre les résultats obtenus par analyses AFM et ceux de Cryo-MET leur a permis de conclure que les structures bicouches d'une longueur de 200 nm à 3 µm et d'une largeur de 30 à 45 nm, observées en AFM, correspondaient aux tubes d'un diamètre de 18 à 26 nm observés en Cryo-MET (**Figure 23**).

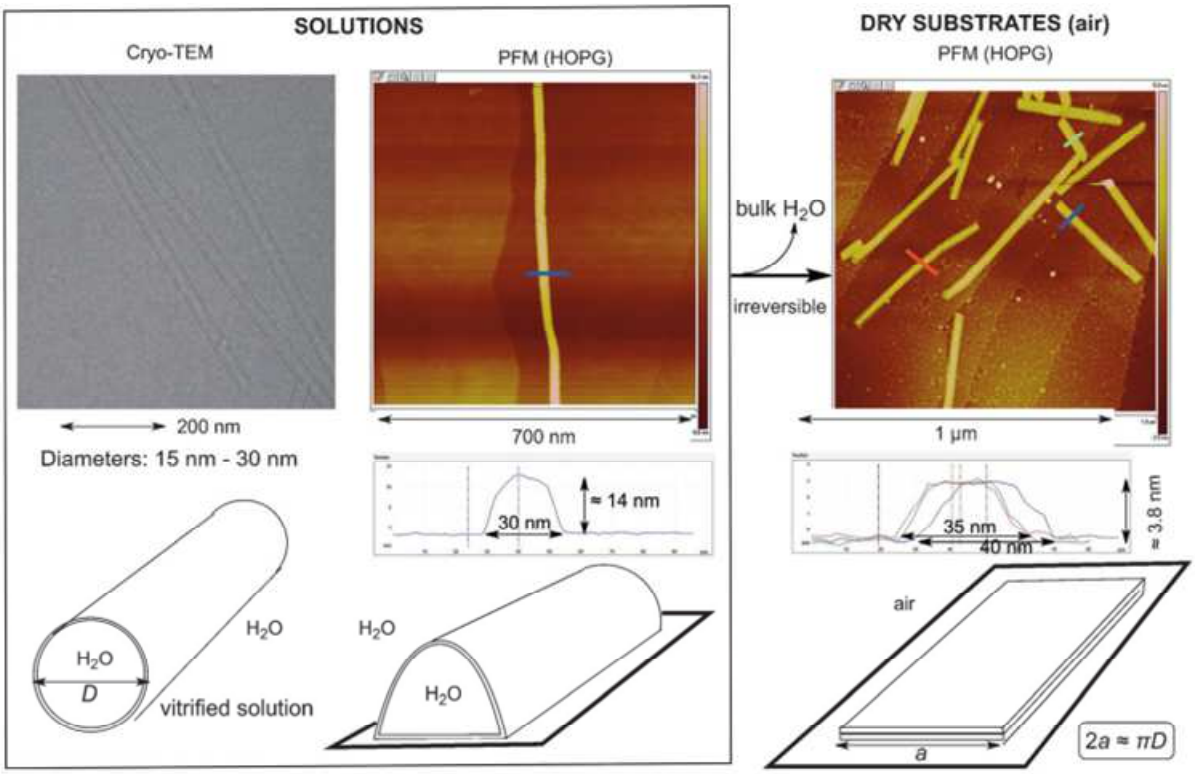


Figure 23 : *Comparaison des structures de H_2TPPS_4 observées par Cryo-MET et AFM par J. M. Ribo et al. (figure issue de la réf. [23])*

En effet, la Cryo-MET permet la conservation de la structure des tubes en solution, tandis que ces derniers d'effondrent lors du séchage sur le substrat d'analyse AFM. Par ailleurs, ils suggèrent que la présence de contre-ions cationiques, tel que le sodium, aurait pour effet de stabiliser l'association de feuillets sous forme de structures multicouches via des interactions électrostatiques[23].

2- Intérêt de l'interaction entre H_2TPPS_4 et cations

Les TPPS ne sont pas des molécules chirales mais l'arrangement adopté par les dimères de H_2TPPS_4 lors de la formation de feuillets peut faire émerger une chiralité. En effet, les dimères colorés en orange et ceux colorés en bleu sur la **Figure 22** constituent deux énantiomères au sein de cette structure. Ainsi, une structure achirale est formée lorsque le feuillet final comporte un mélange racémique de ces deux types de dimères. Cependant, la présence d'impuretés cationiques chirales dans le milieu, lors du premier stade de nucléation du feuillet, peut conduire à la formation d'une structure supramoléculaire chirale[24]. Les porphyrines peuvent également présenter une chiralité plus ou moins réversible liée au sens de l'agitation des échantillons lors de leur préparation[25,26], mais ce cas ne sera pas discuté ici.

a. Interaction entre H_2TPPS_4 et cations ou polycations covalents

L'ajout de cations ou de polycations chiraux dans une solution de H_2TPPS_4 est ainsi une méthode largement employée afin de contrôler la chiralité des assemblages de H_2TPPS_4[27,28]. Le contrôle de la chiralité des assemblages de porphyrines induit par le transfert de chiralité d'une espèce chirale présente un intérêt dans différents domaines d'applications tels celui de la détection énantiosélective[29,30] ou de la catalyse[31]. De plus, l'utilisation de cations comme support de formation de ces assemblages permet également de réduire la concentration en porphyrines nécessaire pour leur formation[28] et pourrait aussi permettre d'augmenter la rigidité des assemblages formés.

b. Exemple d'interaction entre H_2TPPS_4 et polycations supramoléculaires

Peu de polycations supramoléculaires ont été utilisés pour le contrôle de la chiralité des assemblages de porphyrines. Q. Wang et al.[32] ont, par exemple, développé un système à chiralité modulable mettant en jeu des interactions électrostatiques entre les H_2TPPS_4 et un PSM formé par interactions hydrophobes. Ils ont, en effet, conçu des molécules amphiphiles capables de former des PSM, dans un mélange DMSO/H_2O (2/1) qui permettent de contrôler la chiralité du co-assemblage (**Figure 24**).

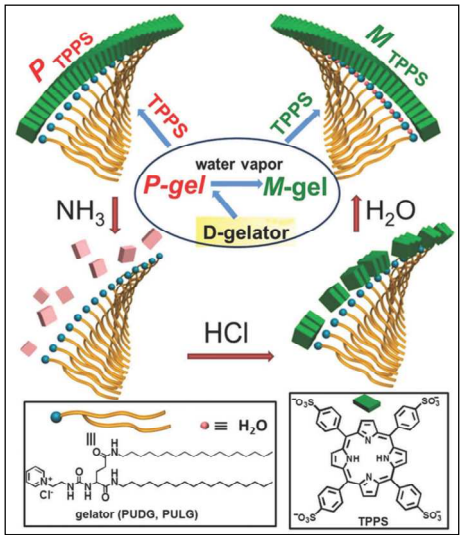


Figure 24 : *Schéma de l'induction de chiralité des assemblages formés entre un PSM chiral et la H_2TPPS_4 à 0.2 mM, pour un rapport molaire PSM/H_2TPPS_4 de 50, dans un mélange DMSO/H_2O (2/1). (figure issue de la réf.* [32]*).*

3- Etude des assemblages entre H_2TPPS_4 et PSM de CDs cationiques

L'objectif de cette étude est de déterminer si un PSM cationique constitué, dans notre cas, d'interactions hôte/invité peut en présence de H_2TPPS_4 conduire à la formation de PSM hiérarchiques chiraux. Au cours de cette étude, nous avons évalué l'effet de l'ajout de H_2TPPS_4 à 0.02 mM, i.e. sous forme monomère, et à 0.05 mM, i.e. sous forme assemblée, sur une solution comportant 5 mM de composé **23** ayant d'après les résultats d'ITC (Chapitre 3 ; Tableau 28) un DP_n de 8 à cette concentration. Les mélanges ont été réalisés à un pH de 3.5 fixé par une solution tampon d'acide formique à 20 mM. Les solutions ainsi formées ont été caractérisées par spectroscopie UV, par mesures de dichroïsme circulaire (cd) et par analyses Cryo-MET. La caractérisation des assemblages formés n'a pas pu être réalisée par analyse DLS car la H_2TPPS_4 sous forme monomère absorbe à une longueur d'onde (644 nm) proche de celle du laser de l'appareil dont nous disposons au laboratoire (633 nm).

a. Caractérisation des solutions témoins de H_2TPPS_4 et de CDs

Les solutions témoins de H_2TPPS_4 à 0.02 et 0.05 mM dans un tampon d'acide formique (pH 3.5) sont caractérisées par l'absence de signal cd et la diminution de la bande d'absorption des agrégats J avec la concentration (Annexe 3 ; Figure A – 7). A 0.02 mM, un signal négligeable est observé à 490 nm (bande d'absorption associée aux agrégats J). A 0.05 mM, les agrégats J sont détectables en UV et l'analyse par Cryo-MET montre de nombreux tubes de longueurs variables, allant de 500 nm à 1 µm (**Figure 25**). Ces tubes présentent un diamètre externe de 16.2 ± 1.3 nm en accord avec la littérature[23] et un diamètre interne de 8.2 ± 0.8 nm. L'épaisseur des bords de 3.7 ± 0.9 nm pourrait correspondre à des bicouches.

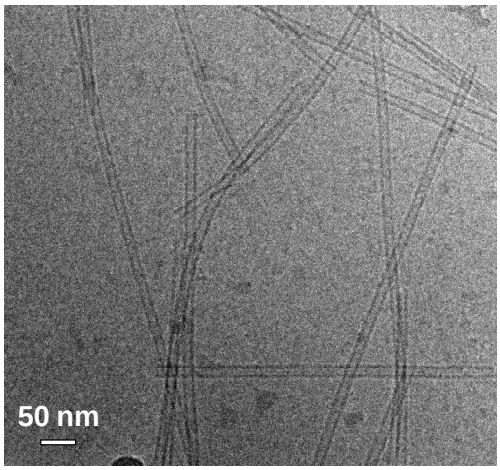


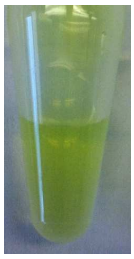
Figure 25 : *Images de Cryo-MET des solutions de H_2TPPS_4 à 0.05 mM.*

Par ailleurs, les solutions témoins à pH 3.5 des composés **20** et **23** à 5 mM ont également été caractérisées par spectroscopie UV et par mesures de cd. Ces trois composés ne présentent pas de signaux UV et cd au-dessus de 300 nm, i.e. dans la gamme de longueurs d'ondes d'intérêt (**Figure 26-b** et **Figure 28-b**).

b. Etude de l'interaction entre H_2TPPS_4 et la β-CD 23

Lors de la préparation du mélange comportant une concentration finale de 5 mM en composé **23** et de 0.02 mM de H_2TPPS_4, nous avons obtenu une solution colloïdalement stable et présentant une couleur plus claire que celle du témoin H_2TPPS_4 à 0.02 mM (**Tableau 7**).

Tableau 7 : *Photos des solutions à pH 3.5 de H_2TPPS_4 à 0.02 ou 0.05 mM en absence et présence de CDs à 5 mM. Les photos des mélanges ont été effectuées le jour de leur préparation (J0) et le lendemain (J1).*

		J0		J1	
[H_2TPPS_4] (mM)		**+ 23**	**+ 20**	**+ 23**	**+ 20**
0.02					
0.05					

Le spectre UV de ce mélange montre la disparition des bandes d'absorption à 433 et 644 nm associées aux monomères ainsi que l'apparition des bandes à 420, 490 et 705 nm associées aux agrégats J et H (**Figure 26-a**). Ce résultat montre qu'il n'y a pas d'inclusion de la H_2TPPS_4 comme on peut l'observer dans le cas de la β-CD native[33] (Annexe 3 ; Figure A - 9) mais formation de feuillets comportant des agrégats J et H. Ces assemblages sont toujours présents un jour après la préparation du mélange mais on note cependant une diminution de l'intensité de la bande d'absorption liée aux agrégats H.

Sur les spectres cd, on constate que les assemblages formés présentent des signaux cd au niveau des bandes d'absorption associées aux agrégats J et H (**Figure 26-a**). L'intensité de ces signaux est constante un jour après le mélange.

Le composé **23** permet donc la formation d'assemblages chiraux lorsqu'un mélange comportant 0.02 mM de H_2TPPS_4 et 5 mM de CDs est réalisé.

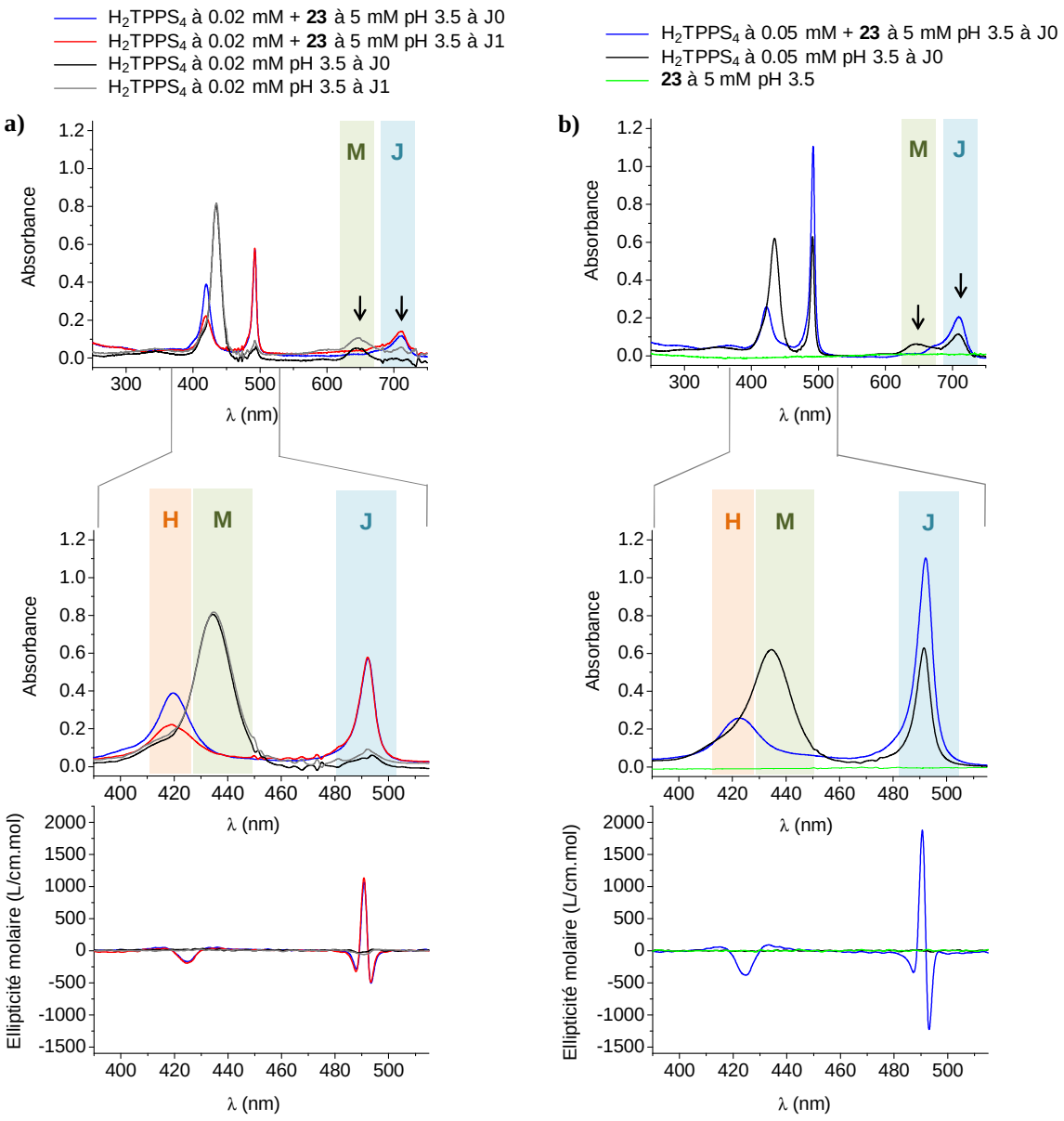


Figure 26 : *Spectres UV et cd de la H_2TPPS_4 à* ***a)*** *0.02 mM et* ***b)*** *0.05 mM en absence et présence de composé* ***23*** *à 5 mM à pH 3.5. Les mesures ont été réalisées le jour de la préparation du mélange (J0) ou le lendemain (J1).M, J et H représentent respectivement les signaux des formes monomères, agrégats J et H.*

Les images d'analyses Cryo-MET effectuées un jour après la préparation du mélange (J1) montrent la présence de tubes ayant un diamètre externe de 14.6 ± 1.1 nm, un diamètre interne de 8.4 nm ± 0.6 nm, une épaisseur de bords de 3.1 ± 0.4 nm et une longueur de 1 à 3 µm (**Figure 27-a**). Ces dimensions sont en accord avec celles des tubes de H_2TPPS_4 reportées dans la littérature[23].

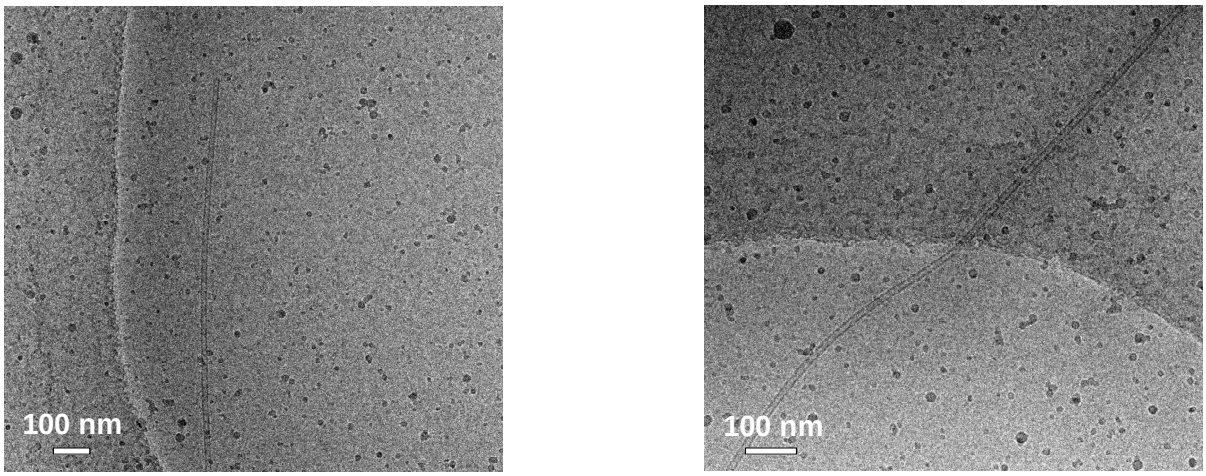


Figure 27 : *Images de Cryo-MET du mélange de H_2TPPS_4 à 0.02 mM et de* ***23*** *à 5 mM à pH 3.5.*

Dans le mélange de **23** à 5 mM et de la $TPPS_4$ à 0.05 mM, i.e. comprenant des assemblages et des monomères de H_2TPPS_4, on observe sur les spectres UV la disparition des bandes d'absorption à 433 et 644 nm des monomères et l'augmentation de l'intensité de la bande d'absorption à 490 nm associée aux agrégats J (**Figure 26-b**). On constate également l'apparition de la bande d'absorption à 420 nm associée aux agrégats H.

De même, sur le spectre cd, on observe l'apparition de signaux au niveau des bandes d'absorption des agrégats J et H (**Figure 26-b**). L'intensité de ces signaux est plus importante que celle des signaux obtenus pour le mélange comportant 0.02 mM de H_2TPPS_4. Le transfert de chiralité est donc plus important quand la concentration en H_2TPPS_4 augmente.

Le mélange d'une solution de CDs et de H_2TPPS_4 comportant un mélange de tubes et de monomères conduit donc également à la formation de tubes chiraux à partir des monomères de H_2TPPS_4 présents en solution. Ces tubes chiraux coexistent probablement avec les tubes achiraux de H_2TPPS_4 initialement formés.

c. Etude de l'interaction entre H_2TPPS_4 et la β-CD 20

Quand un mélange de H_2TPPS_4 à 0.02 mM et de composé témoin **20** à 5 mM est réalisé, un précipité se forme (**Tableau 7**). L'analyse UV du surnageant montre la diminution des bandes d'absorption à 433 et 644 nm associée aux monomères (**Figure 28-a**). On constate également l'apparition de la bande d'absorption à 420 nm associée aux agrégats H ainsi que celle associée aux agrégats J à 490 nm. Cependant, cette dernière présente une intensité deux fois plus faible que celle observée pour le composé **23** dans les mêmes conditions. Un jour après la

préparation du mélange, l'intensité de la bande d'absorption à 433 nm associée au monomère diminue encore, et il en est de même pour la bande d'absorption à 490 nm des agrégats J. Par contre, l'intensité de la bande d'absorption des agrégats H augmente.

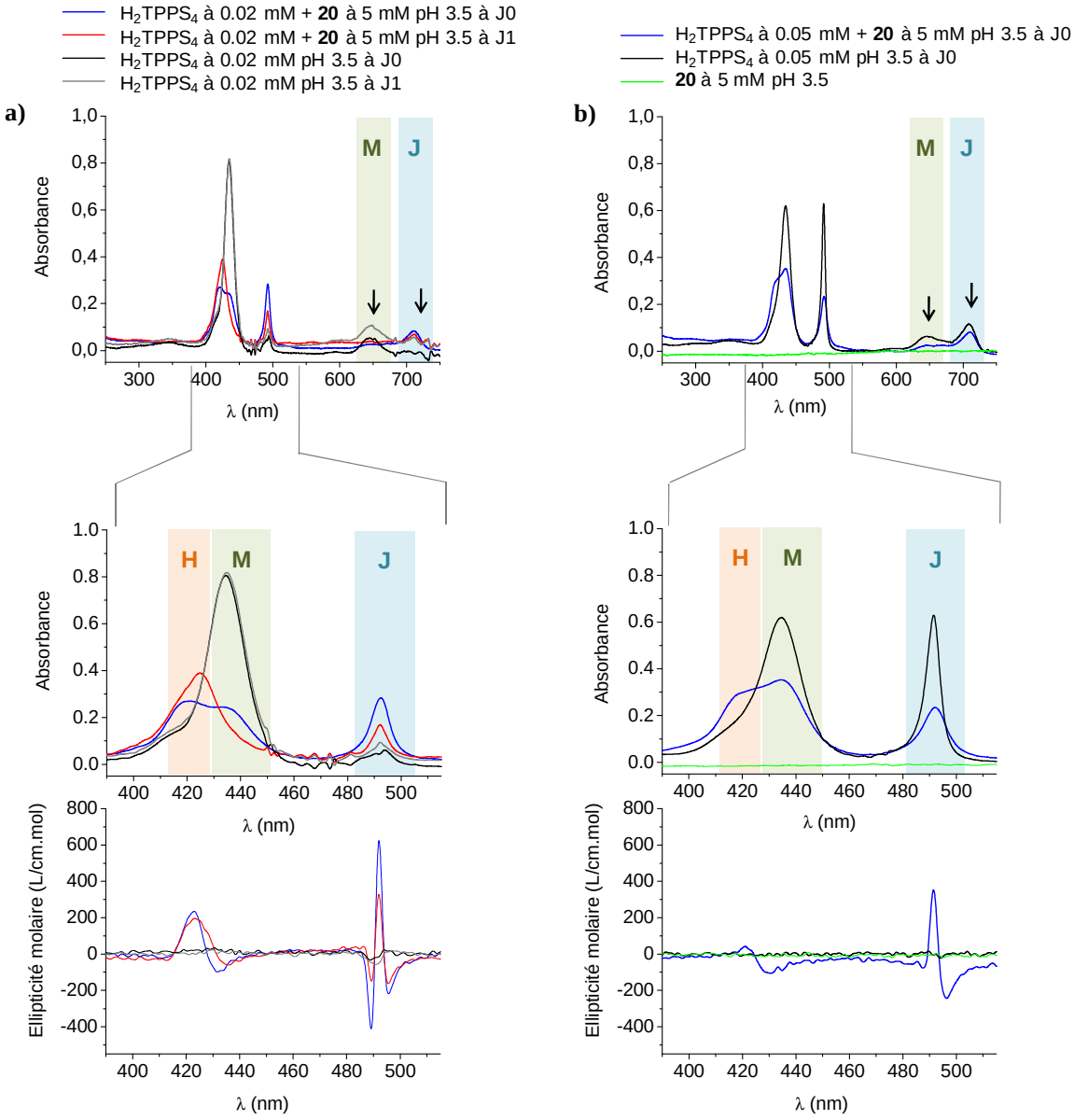


Figure 28 : *Spectres UV et cd de la H_2TPPS_4 à **a)** 0.02 mM et **b)** 0.05 mM en absence et présence de composé **20** à 5 mM. **b)** Spectres UV et cd du composé **20** à 5 mM à pH 3.5. Dans le cas du mélange comprenant la H_2TPPS_4 à 0.02 mM, les mesures ont été réalisées le jour de la préparation du mélange (J0) et le lendemain (J1).). M, J et H représentent respectivement les signaux des formes monomères, agrégats J et H.*

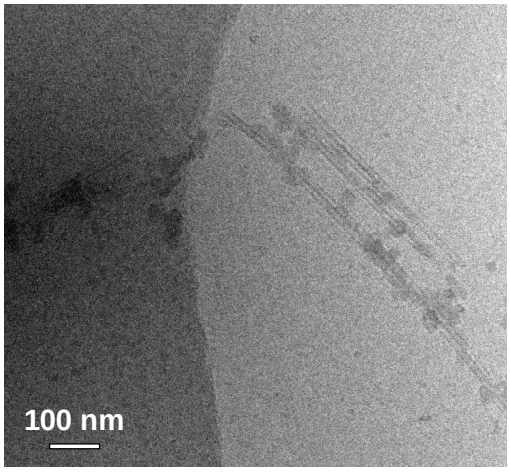
Le spectre cd de ce mélange montre des signaux cd associés aux bandes d'absorption des agrégats J et H (**Figure 28-a**). Cependant, l'intensité de ces signaux diminue un jour après le mélange. Ce résultat confirme l'instabilité colloidale des assemblages formés.

Bien que le composé **20** puisse comme tout polycation promouvoir la formation d'assemblages de H_2TPPS_4, l'instabilité de ces derniers indique que leur nature est probablement différente de celle des assemblages formés avec le composé **23**. De plus, les signaux cd obtenus au niveau de la bande H sont différents de ceux obtenus avec le composé **23** et les signaux obtenus au niveau de la bande des agrégats J sont moins importants que ceux obtenus avec le composé **23** (**Figure 30-a**).

Quand le composé **20** à 5 mM est en présence de H_2TPPS_4 à 0.05 mM, i.e. sous forme de mélange de tubes et de monomères, la solution précipite également (**Tableau 7**). Au niveau du spectre UV, on observe la diminution des bandes d'absorption à 433 et 644 nm associées aux monomères (**Figure 28-b**). De plus, on observe l'apparition de la bande d'absorption des agrégats H et la diminution de celle associée aux agrégats J.

Ces deux bandes d'absorption J et H sont associées à un faible signal cd (**Figure 28-b**). Cependant, une interprétation quantitative des spectres UV et cd est délicate car cet échantillon a fortement précipité.

Des analyses Cryo-MET ont été effectuées sur le mélange comportant la H_2TPPS_4 à 0.02 mM et le composé **20** à 5 mM, un jour après sa préparation (J1). Des tubes agglomérés entourés d'amas difformes ont été observés lors de ces analyses (**Figure 29**). Ces amas pourraient correspondre à des amas de composés **20** ayant précipité à la périphérie des tubes. La présence de ces agglomérats est cohérente avec la faible stabilité colloïdale de cette solution observée macroscopiquement. Les tubes agglomérés observés ont un diamètre externe de 14.5 ± 0.8 nm, en accord avec les valeurs reportées dans la littérature pour les tubes de H_2TPPS_4[23] et un diamètre interne de 7.5 nm ± 1.1 nm. Par contre, leur longueur de 350 à 850 nm est plus courte que celle des tubes observés en présence de composé **23**. Cette observation va dans le sens d'une faible stabilité de ce système qui ne favoriserait pas la formation de longs tubes de H_2TPPS_4.



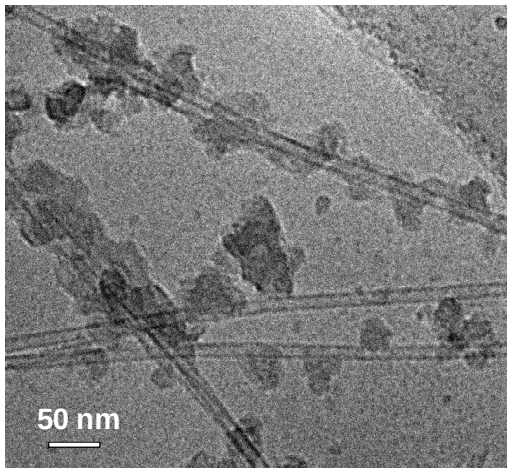


Figure 29 : *Images de Cryo-MET de la solution comportant le mélange de H_2TPPS_4 à 0.02 mM et de composé **20** à 5 mM à pH 3.5*

d. Conclusion sur l'influence du premier niveau d'assemblage inter-CDs sur la formation de tubes de H_2TPPS_4

La capacité du composé **23** à promouvoir la formation d'agrégats chiraux de H_2TPPS_4 a été évaluée par spectroscopie UV, mesures de dichroïsme circulaire et analyses Cryo-MET. Les résultats obtenus en spectroscopie montrent que le composé **23** à 5 mM permet la formation de tubes chiraux de H_2TPPS_4 à 0.02 mM (**Figure 26-a**). En effet, à cette concentration, lorsqu'elle est seule la H_2TPPS_4 se trouve sous forme de monomères, son interaction avec les PSM de **23** favorise donc la formation des tubes.

Par ailleurs, la différence de couleur entre la solution de tubes composés uniquement de H_2TPPS_4, i.e. à 0.05 mM et celle comportant des tubes issus du mélange H_2TPPS_4 à 0.02 mM / composé **23** à 5 mM montrent que ces deux types d'assemblages ont des propriétés différentes, ce qui laisse penser que le composé **23**, ne sert pas uniquement à nucléer la formation de tubes chiraux de H_2TPPS_4 mais fait également partie des structures formées. Cependant, une quantification des CDs présentes dans les tubes est nécessaire pour confirmer cette hypothèse.

Lors de la comparaison des mélanges entre la H_2TPPS_4 et les composés **20** ou **23**, réalisés dans les mêmes conditions, on observe, à l'œil nu, une mauvaise stabilité colloïdale du mélange comportant le composé **20** comparé à celui comportant le composé **23** (**Tableau 7**). Ce résultat montre l'importance de la forme assemblée du composé **23** pour la formation des tubes stables de H_2TPPS_4. En effet, si les cations assurent la cohésion entre deux feuillets de

H_2TPPS_4 via des liaisons électrostatiques, comme décrit par J. Ribo et al.[23], il est alors cohérent que le PSM de **23** soit plus favorable à la croissance et à la cohésion des structures formées que le composé monomère **20**. A concentrations égales en CDs et H_2TPPS_4, l'intensité de la bande d'absorption à 490 nm associée aux agrégats J est effectivement plus importante dans le cas du mélange comprenant le composé **23** (**Figure 30**). De plus, les mesures de cd de ces deux solutions montrent que le composé **23** induit une conversion plus efficace de la H_2TPPS_4 en tubes chiraux que le composé **20** (**Figure 30**).

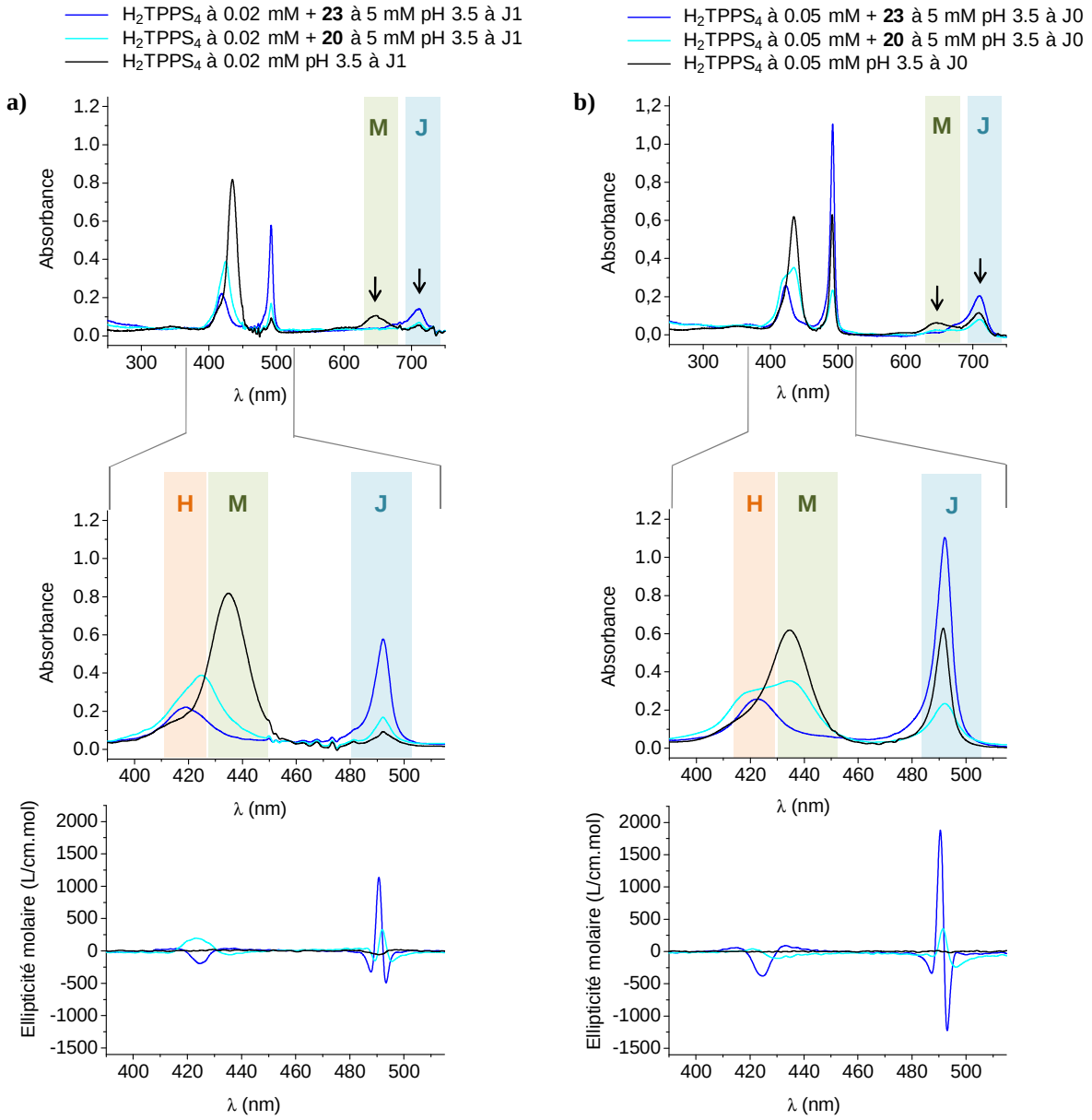


Figure 30 : *Spectres UV et cd de la H_2TPPS_4 à* ***a)*** *0.02 mM et* ***b)*** *0.05 mM en absence et présence de composés* ***20*** *et* ***23*** *à 5 mM.). M, J et H représentent respectivement les signaux des formes monomères, agrégats J et H.*

L'ensemble des résultats obtenus lors de cette étude permet de confirmer l'intérêt du premier niveau d'assemblage que constitue l'interaction hôte/invite du PSM de composé **23** pour la formation efficace de tubes chiraux de H_2TPPS_4 via des interactions électrostatiques entre CDs et H_2TPPS_4. Cependant, des analyses complémentaires restent à effectuer sur le système H_2TPPS_4/**23**, afin mieux comprendre sa composition, sa structure et ses modalités de formation.

III- Conclusion

Pour conclure, cette étude montre que la formation d'assemblages hiérarchiques à base de PSM de CDs nécessite, dans un premier temps, d'ajuster la balance entre la force de l'interaction du premier niveau d'association et la solubilité des complexes formés. Cet équilibre est plus difficile à atteindre dans le cas des systèmes α-CDs/phényle du fait des constantes d'associations peu élevées de ces systèmes. La formation de PSM hiérarchiques à partir des systèmes α-CDs/phényle est donc inhibée par la formation peu favorable du premier niveau d'association.

Dans le cas des systèmes β-CD/adamantane, la constante d'association de ce premier niveau d'association est plus importante ce qui favorise l'établissement d'interactions secondaires directionnelles. Cependant, l'étude de la formation de PSM hiérarchiques à base de systèmes β-CD/adamantane via des interactions secondaires de type électrostatique avec des dianions ou des polyanions montre que la force du premier niveau d'interaction n'est pas une condition suffisante pour la formation de structures hiérarchiques stables. Certains paramètres tels que la distance entre charges et la rigidité du polyanion utilisé sont importants. En effet, cela confère une directionnalité aux interactions électrostatiques qui permet la formation de structures plus ordonnées. On constate ainsi que la formation d'assemblages avec **23** est favorisée quand la rigidité du dianion augmente (**Tableau 2-b**). La position de la charge sur la CD, i.e. son accessibilité, ainsi que le rapport de charges entre polyanions et CDs sont également des paramètres importants pour la stabilité des structures formées.

A l'issue de cette étude préliminaire, différentes architectures ont été obtenues à l'échelle macroscopique (sphères, réseau de fibres, tubes rigides). Leurs structures à l'échelle moléculaire restent à étudier de manière plus approfondie à l'aide de techniques telles que la spectroscopie UV et de fluorescence, l'analyse par AFM, l'analyse SANS ou la diffraction de rayons X. Cette étude permettra d'obtenir des informations complémentaires sur l'organisation locale des différents composés au sein des structures hiérarchiques formées.

Bibliographie

(1) Antoniuk, I.; Amiel, C. *J. Pharm. Sci.* **2016**, *105* (9), 2570–2588.

(2) Ménand, M.; Adam de Beaumais, S.; Chamoreau, L.-M.; Derat, E.; Blanchard, S.; Zhang, Y.; Bouteiller, L.; Sollogoub, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53* (28), 7238–7242.

(3) Liu, Y.; Chen, G.-S.; Chen, Y.; Zhang, N.; Chen, J.; Zhao, Y.-L. *Nano Lett.* **2006**, *6* (10), 2196–2200.

(4) Schmidt, B. V.; Barner-Kowollik, C. *Macromol. Self-Assem.* **2016**, 1–32.

(5) Liu, H.; Zhang, Y.; Hu, J.; Li, C.; Liu, S. *Macromol. Chem. Phys.* **2009**, *210* (24), 2125–2137.

(6) Yan, Q.; Zhang, H.; Zhao, Y. *ACS Macro Lett.* **2014**, *3* (5), 472–476.

(7) Colesnic, D. Architectures supramoléculaires hiérarchiques à base de cyclodextrines. Thèse de doctorat, Université Pierre et Marie Curie: Paris, France, 2015.

(8) Zhao, D.; Moore, J. S. *Org Biomol Chem* **2003**, *1* (20), 3471–3491.

(9) Gröhn, F.; Klein, K.; Brand, S. *Chem. - Eur. J.* **2008**, *14* (23), 6866–6869.

(10) Zhai, L.; Pilston, R. L.; Zaiger, K. L.; Stokes, K. K.; McCullough, R. D. *Macromolecules* **2003**, *36* (1), 61–64.

(11) Kim, S.; Jackiw, J.; Robinson, E.; Schanze, K. S.; Reynolds, J. R.; Baur, J.; Rubner, M. F.; Boils, D. *Macromolecules* **1998**, *31* (4), 964–974.

(12) Kojima, T.; Koizumi, T.; Sei, Y.; Shiozaki, S.; Abe, M.; Oota, M.; Kishi, K.; Naoi, K.; Yamamoto, T. *Eur. Polym. J.* **2014**, *55*, 179–185.

(13) Kim, H.; Litt, M. H.; Nam, S. Y.; Shin, E. *Macromol. Res.* **2003**, *11* (6), 458–466.

(14) Tanahatoe, J. J.; Kuil, M. E. *Macromolecules* **1997**, *30* (20), 6102–6106.

(15) Evenou, P. Assemblages supramoléculaires hiérarchiques de cyclodextrines fonctionalisées et de siRNA application à la thérapie antisens, Université Pierre et Marie Curie: Paris, France, 2017.

(16) Nakagaki, S.; Ferreira, G.; Ucoski, G.; Dias de Freitas Castro, K. *Molecules* **2013**, *18* (6), 7279–7308.

(17) Lang, K.; Mosinger, J.; Wagnerová, D. M. *Coord. Chem. Rev.* **2004**, *248* (3–4), 321–350.

(18) Guthrie, J. P. *Can. J. Chem.* **1978**, *56* (17), 2342–2354.

(19) Kano, K.; Tanaka, N.; Minamizono, H.; Kawakita, Y. *Chem. Lett.* **1996**, *25* (11), 925–926.

(20) Ribó, J. M.; Crusats, J.; Farrera, J.-A.; Valero, M. L. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1994**, No. 6, 681–682.

(21) Short, J. M.; Berriman, J. A.; Kübel, C.; El-Hachemi, Z.; Naubron, J.-V.; Balaban, T. S. *ChemPhysChem* **2013**, *14* (14), 3209–3214.

(22) El-Hachemi, Z.; Escudero, C.; Acosta-Reyes, F.; Casas, M. T.; Altoe, V.; Aloni, S.; Oncins, G.; Sorrenti, A.; Crusats, J.; Campos, J. L.; Ribó, J. M. *J. Mater. Chem. C* **2013**, *1* (20), 3337.

(23) El-Hachemi, Z.; Balaban, T. S.; Campos, J. L.; Cespedes, S.; Crusats, J.; Escudero, C.; Kamma-Lorger, C. S.; Llorens, J.; Malfois, M.; Mitchell, G. R.; Tojeira, A. P.; Ribó, J. M. *Chem. - Eur. J.* **2016**, *22* (28), 9740–9749.

(24) Sorrenti, A.; El-Hachemi, Z.; Arteaga, O.; Canillas, A.; Crusats, J.; Ribo, J. M. *Chem. - Eur. J.* **2012**, *18* (28), 8820–8826.

(25) Arteaga, O.; El-Hachemi, Z.; Canillas, A.; Crusats, J.; Rovira, M.; Ribó, J. M. *Chem Commun* **2016**, *52* (72), 10874–10877.

(26) D'Urso, A.; Randazzo, R.; Lo Faro, L.; Purrello, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49* (1), 108–112.

(27) Zeng, L.; He, Y.; Dai, Z.; Wang, J.; Cao, Q.; Zhang, Y. *ChemPhysChem* **2009**, *10* (6), 954–962.

(28) Koti, A. S. R.; Periasamy, N. *Chem. Mater.* **2003**, *15* (2), 369–371.

(29) D'Urso, A.; Mammana, A.; Balaz, M.; Holmes, A. E.; Berova, N.; Lauceri, R.; Purrello, R. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131* (6), 2046–2047.

(30) Jintoku, H.; Takafuji, M.; Oda, R.; Ihara, H. *Chem. Commun.* **2012**, *48* (40), 4881–4883.

(31) de Torres, M.; van Hameren, R.; Nolte, R. J. M.; Rowan, A. E.; Elemans, J. A. A. W. *Chem. Commun.* **2013**, *49* (92), 10787.

(32) Wang, Q.; Zhang, L.; Yang, D.; Li, T.; Liu, M. *Chem Commun* **2016**, *52* (84), 12434–12437.

(33) Ribó, J. M.; Farrera, J.-A.; Valero, M. L.; Virgili, A. *Tetrahedron* **1995**, *51* (12), 3705–3712.

Conclusion générale

L'objectif de ce projet a consisté à élaborer des polymères supramoléculaires (PSM) hiérarchiques solubles dans l'eau, de diamètre monodisperse et ayant une structure modulable contrôlée à l'échelle moléculaire. Pour cela, nous avons choisi comme unité moléculaire modulable des cyclodextrines sélectivement difonctionnalisées par un invité et une fonction additionnelle, dans le but de développer une boite à outils moléculaires constituée de monomères hétéro-ditopiques de CDs pouvant s'assembler sous forme de PSM puis de faisceaux de PSM.

Sur la base de la littérature existant sur l'étude des PSM de CDs, divers partenaires α-CD/dérivés benzéniques et β-CD/adamantane ont été choisis et étudiés afin de déterminer des monomères hétéro-ditopiques efficaces pour la formation de PSM. Dans ce cadre, un protocole de préparation des échantillons de CDs a, tout d'abord, été mis au point dans le but d'éliminer les agrégats non spécifiques de CDs pouvant perturber la caractérisation des propriétés en solution de ces composés. Ensuite, l'étude de ces partenaires, comparée à celles de monomères hétéro-ditopiques CD-invité, a permis de mettre en évidence, par analyses RMN ROESY, ITC, SANS et viscosimétrie, l'inhibition de la formation de PSM par le phénomène d'auto-inclusion.

Pour remédier à cela, un pont aliphatique dicationique a été ajouté sur le col primaire des CDs. L'étude, par analyses ITC, de l'influence de la longueur de ce pont sur l'association entre des molécules invités et des CDs pontées modèles a montré que la complexation est favorisée par l'augmentation de la taille du pont. Cependant, la caractérisation de l'association des CDs pontées hétéro-ditopiques ainsi élaborées, par analyses ITC, SANS et viscosimétrie, a montré que la faible constante d'association du couple α-CD/dérivés benzéniques ne permettait pas de favoriser la formation de longs PSM solubles en milieu aqueux, malgré l'optimisation de leur structure et l'application de conditions expérimentales favorables à l'association.

Dans le cas des monomères hétéro-ditopiques de β-CD, nous avons constaté que la présence d'un pont plus ou moins rigide, associée à la forte constante d'association du couple β-CD/adamantane, permettait de favoriser la formation de PSM solubles dans l'eau en inhibant tout phénomène d'auto-inclusion. L'élimination des phénomènes inhibiteurs de polymérisation, tels que l'auto-inclusion, et le choix de partenaires hôte/invité présentant une constante d'association suffisamment élevée sont donc deux points clés permettant de favoriser la formation de PSM.

Les charges présentes sur les PSM élaborés à base des composés **23** et **24** ont ensuite été utilisées pour induire la formation de structures hiérarchiques via des interactions électrostatiques avec des composés anioniques. Dans ce cadre, la structure et les différentes propriétés de ces PSM, ajoutées à un choix de partenaires anioniques ayant des structures rigides, nous ont permis d'élaborer des PSM hiérarchiques de CDs solubles dans l'eau, présentant des architectures et des propriétés variées (**Figure 1**).

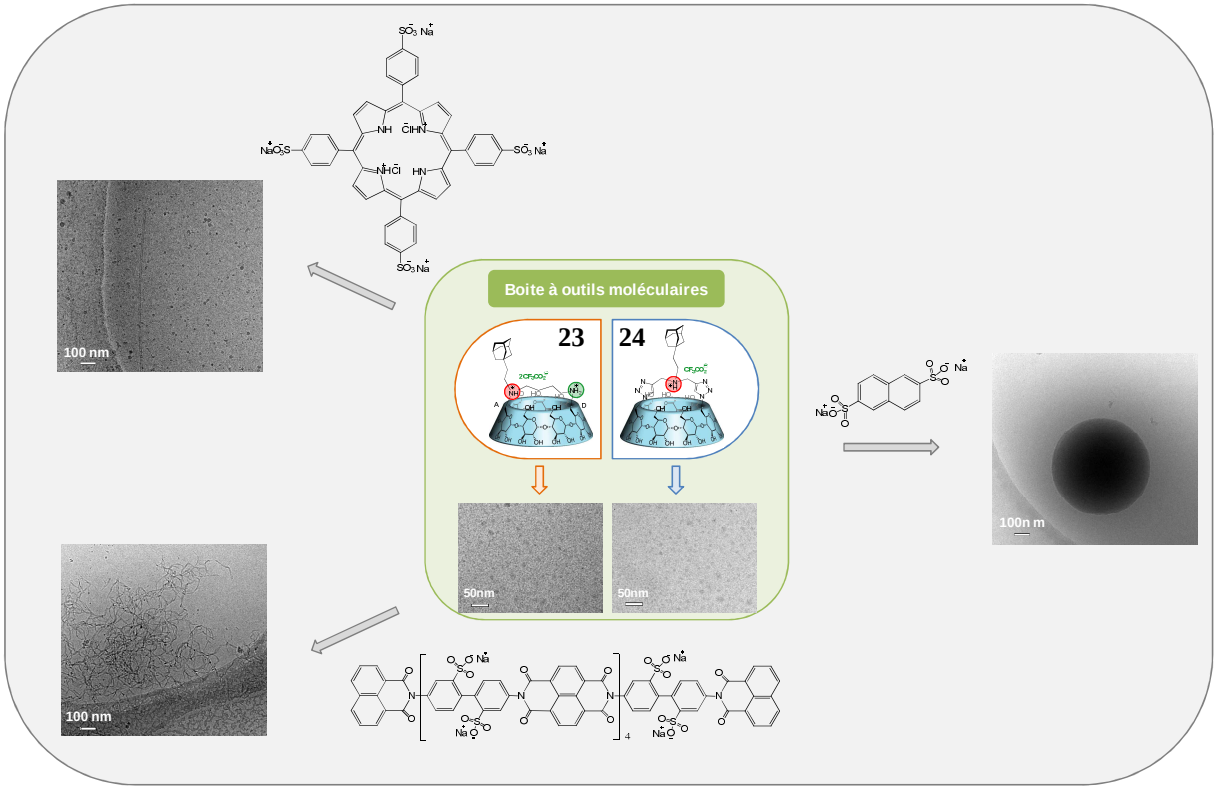


Figure 1 : *Schéma des différentes architectures de PSM hiérarchiques développés à partir des monomères hétéro-ditopiques de β-CDs* ***23*** *et* ***24****.*

La détermination des conditions, i.e. concentration en CDs et rapport molaire en charges, permettant leurs formations a été effectuée en s'appuyant sur les différentes techniques que sont la DLS, la spectroscopie UV, la mesure de dichroïsme circulaire et l'analyse Cryo-MET. L'ensemble de ces analyses a permis de mettre en évidence les propriétés et la morphologie des assemblages formés. Cependant, leur structure à l'échelle moléculaire reste à étudier de manière plus approfondie, afin de déterminer l'organisation locale des PSM de CDs au sein de ces assemblages. Cette démarche pourra être effectuée à l'aide de techniques telles que l'AFM, les spectroscopies UV et de fluorescence et la mesure de diffusion des neutrons. Le

contrôle de la taille des assemblages formés ainsi que la réversibilité de leurs formations sont aussi deux propriétés qui seront à évaluer. Le contrôle de la taille et l'étude de la réversibilité pourront être réalisés via des expériences de compétition en ajoutant une molécule invitée compétitrice de l'interaction hôte/invité des PSM ou en faisant varier les paramètres physico-chimiques des systèmes, tels que la force ionique, afin de moduler la force des interactions électrostatiques.

La connaissance et le contrôle de tous ces paramètres pourront nous permettre de proposer ces systèmes pour des applications variées, telles que l'encapsulation de matériel génétique ou la formation de supports calibrés pour l'élaboration de matériaux poreux.

De plus, la formation d'objets chiraux obtenus en présence de porphyrines pourrait également ouvrir la voie sur des applications tournées vers la catalyse ou la détection énantiosélective.

Ces assemblages supramoléculaires de par leur facilité de mise en œuvre, la modularité et la réversibilité potentielle de leur formation possèdent de nombreux avantages qui pourront apporter un effet synergique aux fonctions visées.

Partie expérimentale

Table des matières

I- Informations générales 275
A - Centrifugation 275
B - DLS 275
C - ITC 275
D - Viscosimétrie à chute de bille 276
E - Dispersion de Taylor 276
F - Dichroïsme circulaire 277
G - SANS 278
H - Cryo-MET 278
I - Spectroscopie infrarouge (Fourier Transformed Infra-Red spectroscopy - FTIR) 278
J - UV 278
K - RMN 279
1 - RMN ^{1}H 279
2 - RMN ^{13}C 279
3 - Dosage de l'ion trifluoroacétate par RMN ^{19}F 279
4 - RMN DOSY ^{19}F 279
II- Synthèse et caractérisation du polymère 31 281
A - Synthèse de 31 281
B - Analyses RMN 283
1 - RMN ^{1}H de 31 283
a. RMN ^{1}H de 31 dans D_2O à 27°C 283
b. RMN ^{1}H de 31 dans DMSO-d_6 à 27°C 284
c. RMN ^{1}H de 31 dans DMSO-d_6 à différentes températures 285
d. RMN ^{1}H dans DMSO-d_6 de 31 à 100°C 287

e. RMN COSY ^{1}H-^{1}H de 31 dans DMSO-d_6 à 100°C 289

2 - RMN ^{13}C de 31 290

a. RMN ^{13}C quantitatif de 31 dans DMSO-d_6 à 27°C 292

b. RMN HSQC ^{1}H - ^{13}C de 31 dans DMSO-d_6 à 100°C 293

c. RMN HMBC ^{1}H-^{13}C de 31 dans DMSO-d_6 à 100°C 294

3 - Evaluation du degré moyen de polymérisation en nombre de 31 294

4 - RMN ^{1}H annexes des monomères et de l'acide benzoïque dans DMSO-d_6 297

a. Anhydride 1,8-Naphtalique (NA) 297

b. Acide 4,4'-diamino-1,1'-biphényl-2,2'-disulfonique (DAPS) 298

c. 1,4,5,8-Naphthalène tétracarboxylique (NTDA) 300

d. Acide benzoïque 301

C - Analyse FTIR de 31 303

D - Analyse UV et mesure de dichroïsme circulaire de 31 304

Bibliographie 305

I- Informations générales

A - Centrifugation

La centrifugation des échantillons de CDs a été réalisée à 15300 g (ou 21380 g) pendant 30 minutes, à l'aide d'une centrifugeuse Eppendorf 5804 munie d'un adaptateur pour tubes Eppendorf de 1.5 à 2 mL.

B - DLS

Les analyses de diffusion dynamique de la lumière (DLS) ont été réalisées sur un Zetasizer nano S90 fournit par la société Malvern Instruments. Cet appareil détecte la lumière diffusée à un angle de 90°. Il possède une lampe He-Ne qui émet à une longueur d'onde de 632.8nm et permet la mesure d'une gamme de diamètres hydrodynamiques de particules allant de 0.3nm à 5 µm selon la densité de l'échantillon.

Les mesures ont été réalisées à 25°C après filtration des échantillons sur membrane de 0.2µm. Pour chaque analyse, le résultat présenté est issu de la moyenne sur 2 mesures constituées chacune soit d'un scan de 180 secondes soit d'un nombre de scan de 10 secondes ajusté automatiquement par l'appareil en fonction de la qualité de l'échantillon.

Le traitement des données a été réalisé avec le logiciel Malvern Instruments associé à l'appareil. L'algorithme « General purpose » a été utilisé. Ce dernier permet de déterminer la distribution de tailles de particules par la méthode NNLS et également d'obtenir la taille moyenne et le pdI via la méthode des cumulants (en agrément avec la norme ISO133121).

C - ITC

Les analyses ITC ont été réalisées à 20°C avec le microcalorimètre ITC_{200} fournit par la société Malvern Instruments. Des injections de 2 µL ont été réalisées progressivement à l'aide d'une seringue automatique de 40 µL animée d'un mouvement de rotation de 1000 rpm. Ces injections ont été réalisées avec un intervalle de 180 s dans une cellule de 202.7 µL contenant soit de l'eau, soit une solution d'hôte ou d'invité. Le traitement des analyses a été réalisé par le logiciel Origin pour l'ITC fournit avec l'appareil. Lors d'expériences de complexation

hôte/invité, l'isotherme a été traite à l'aide du modèle « 1 type de site » inclus dans le logiciel qui suppose la présence de sites d'interactions indépendants. Dans le cas d'expériences de dilution, l'isotherme a été exportée sur Excel et modélisée par le modèle isodesmique selon le procédé décrit par A. Arnaud et al[1].

D - Viscosimétrie à chute de bille

Les mesures de viscosité ont été réalisées à 25°C avec un viscosimètre à chute de bille automatique Anton-Paar AMVn comportant un capillaire d'un diamètre interne de 1.8 mm et une bille calibrée de 1.5 mm de diamètre. Les solutions ont été préparées 24h avant analyse puis centrifugées pendant 30 min et filtrées sur membrane PTFE de porosité 0.2 µm le jour des analyses. Pour chaque solution six mesures de viscosité ont été réalisées à deux angles d'inclinaison différents (20° et 70°). La viscosité relative a ensuite été déterminée en normalisant chaque mesure par la viscosité du solvant mesurée dans les mêmes conditions.

E - Dispersion de Taylor

Les analyses de dispersion de Taylor ont été réalisées sur un appareil d'électrophorèse capillaire (CE) Agilent HP3D fourni par la société Agilent Technologies et équipé d'un détecteur UV à barrettes de diodes. Cet appareil comporte un passeur d'échantillons qui permet la gestion automatique d'une séquence d'analyses incluant le rinçage du capillaire, l'application de la pression lors de l'analyse, le contrôle de la température et des paramètres de détection. Le pilotage de l'appareil et l'acquisition des données ont été effectués à l'aide du logiciel Chemstation fourni par la société Agilent Technologies. Un capillaire en silice Polymicro Technologies fourni par la société Photonlines a été utilisé. Sur ce capillaire, d'une longueur de 60 cm et de 55 µm de diamètre interne, une fenêtre de détection a été créée à 8.5 cm de la sortie. Lors de l'utilisation d'un nouveau capillaire, des rinçages successifs de 10 min à 950 mbar à la soude 1 M, 0.1 M puis à l'eau ont été effectués avant analyses. En cas d'utilisation d'un capillaire non neuf stocké à sec, seul un rinçage de 10 min à 950 mbar à l'eau a été effectué. Les analyses ont été réalisées à 25°C en utilisant une pression d'injection et de mobilisation de 50 mbar. La détection des composés a été effectuée à une longueur d'onde de 235 nm avec une bande-passante de ± 4 nm et une longueur d'onde référence de 350 nm avec une bande-passante de ± 40 nm. Un temps d'injection de 6 s a été utilisé de

façon à avoir un volume injecté inférieur à 1% du volume total du capillaire. Les données obtenues ont ensuite été exportées et modélisées à l'aide d'une fonction gaussienne puis après application des corrections dues au volume d'injection et à la rampe de pression les paramètres expérimentaux déterminés ont permis de remonter au coefficient de diffusion à l'aide de la relation de Taylor (cf. Chapitre 2 ; équation 50).

F - Dichroïsme circulaire

Les mesures de dichroïsme circulaire (cd) ont été réalisées avec un spectromètre Jasco J-1500 équipé d'un laser Xe (lampe XBO 150W/4). Les analyses ont été effectuées à 25°C entre 200 et 800 nm avec les paramètres suivants : une vitesse de scan de 100 nm/min, une largeur de bande de 1nm et un point enregistré tous les 0.05 nm. La largeur des dispositifs de mesure en quartz utilisés a été adaptée en fonction de la concentration de la solution analysée. Des lamelles de 0.01 à 0.5 mm ou des cellules de 1 à 10 mm ont été utilisées. L'acquisition et le traitement des données a été effectué à l'aide du logiciel SpectraManager. Pour le traitement des données, les signaux provenant de la cellule et du solvant ont été soustrait puis un lissage du signal a été réalisé. Les ellipticités θ (mdeg) ainsi mesurées ont ensuite été converties en ellipticité molaire à l'aide de l'expression (**E-1**) :

$$\Delta\varepsilon = \theta/(32980 \times l \times c) \qquad \textbf{(E-1)}$$

θ ellipcité (mdeg)

l largeur de la cellule (cm)

c concentration (mol/L)

$\Delta\varepsilon$ ellipticité molaire (L/mol.cm)

Pour l'ensemble des échantillons la contribution du dichroïsme linéaire (LD) est négligeable (ΔLD < 0.005) et la forme du signal cd est indépendante de l'orientation du dispositif en quartz. Le spectre d'absorption UV-vis a aussi été extrait de chaque mesure de cd puis corrigé de l'absorption de la cellule et du solvant.

G - SANS

Les mesures de SANS ont été effectuées au LLB (Saclay) sur PACE et PA20 et à l'ILL (Grenoble) sur D11. Les analyses ont été effectuées dans D_2O à 25°C. Deux longueurs d'onde ont été utilisées afin de sonder une gamme de vecteurs d'onde allant de $6.9.10^{-3}$ à 0.37 $Å^{-1}$. Les intensités mesurées ont été corrigées du bruit de fond i.e. du signal de la cellule de mesure ainsi que de l'intensité diffusée incohérente provenant du soluté et du solvant. Elles ont également été normalisées en cm^{-1} par l'intensité diffusée d'un échantillon d'eau (D_2O). Les données obtenues ont ensuite été modélisées à l'aide du logiciel SasView.

H - Cryo-MET

Les analyses de cryomicroscopie ont été réalisées sur un appareil JEOL JEM2001F équipé d'une camera GATAN Ultrascan 4000. Quelques microlitres d'échantillon ont été déposés sur une grille métallique recouverte d'un film poreux de carbone afin d'avoir une fine couche de solution (100 à 200 nm). L'échantillon a ensuite été congelé par trempe dans l'éthane liquide afin d'éviter la formation de cristaux de glace. Un faisceau d'électrons de faible intensité (10 $e^-/Å^2.s^1$) a ensuite été utilisé durant les acquisitions. La mesure des dimensions des structures observées a été réalisée à l'aide du logiciel Image J.

I - Spectroscopie infrarouge (Fourier Transformed Infra-Red spectroscopy - FTIR)

Les spectres Infrarouge ont été enregistrés sur un spectromètre NICOLET IS10 Thermo Scientific en mode ATR (réflexion), de 675 à 4000 cm^{-1}, avec une résolution de 4 cm^{-1} et une moyenne de 32 scans.

J - UV

Les spectres d'absorption UV ont été réalisés avec un spectrophotomètre UV-Vis à double faisceau de la marque Varian Cary 300 et dans des cuves en quartz à deux faces de 1 centimètre d'épaisseur.

K - RMN

Les expériences ont été réalisées avec un spectromètre Bruker Avance 400MHz ou avec un spectromètre Bruker Avance III 600 MHz. Une sonde BBFO 5 mm est utilisée sur ces spectromètres. L'acquisition et le retraitement des données ont été faits avec le logiciel Topspin 3.5 (Bruker). Tous les spectres ont été calibrés avec le signal du solvant d'analyse.

1 - RMN ^{1}H

Les analyses ont été réalisées à 27°C dans D_2O ou à 27°C, 50°C et 100°C dans DMSO-d_6. Les spectres ^{1}H ont été enregistrés en utilisant une séquence proton avec une fenêtre spectrale de 12335 Hz, un temps d'acquisition de 2,6 s et un délai de relaxation de 1 s.

2 - RMN ^{13}C

Les expériences ont été effectuées dans DMSO-d_6 à 27°C et 100°C. Pour la réalisation du spectre RMN ^{13}C quantitatif, du polymère **31**, du $Cr(acac)_3$ a été ajouté à l'échantillon afin de favoriser la relaxation des carbones quaternaires. Le tube n'étant pas assez concentré, il n'a pas été possible de faire la mesure de T_1 avec une séquence d'Inversion - Récupération. Les acquisitions de carbone quantitatif ont donc été réalisées à l'aide d'une séquence inverse gate (suppression de l'effet NOE). Le délai de relaxation D_1 a été défini à 5 s.

3 - Dosage de l'ion trifluoroacétate par RMN ^{19}F

Les expériences ont été effectuées dans DMSO-d_6 à 27°C. Les spectres ^{19}F ont été enregistrés avec une séquence ^{19}F découplé ^{1}H, dont la fenêtre spectrale est de 39682 Hz, un temps d'acquisition de 1,6 s et un délai de relaxation de 5 s. Afin de déterminer le délai de relaxation D_1, une étude du temps de relaxation T_1 a été faite sur l'ensemble des composés à analyser en utilisant la séquence d'Inversion-Récupération.

4 - RMN DOSY ^{19}F

Les analyses ont été effectuées dans D_2O à 27°C. L'expérience DOSY ^{19}F a été réalisée avec un pulse programme corrigeant les effets de courants de Foucault et est composée d'une impulsion 180° composite sur le noyau ^{19}F. La rotation du tube a été désactivée pour éviter la

convection. La puissance du gradient a évolué entre 2 % et 98 % de la valeur maximum de la sonde. La force du gradient maximum était de 5.35 G/cm.A. Seize scans ont été enregistrés pour chaque expérience avec une durée de l'impulsion gradient P30 fixée entre 900 - 1000 µs et un délai de diffusion D_2O fixé à 50 ms.

II- Synthèse et caractérisation du polymère 31

A - Synthèse de 31

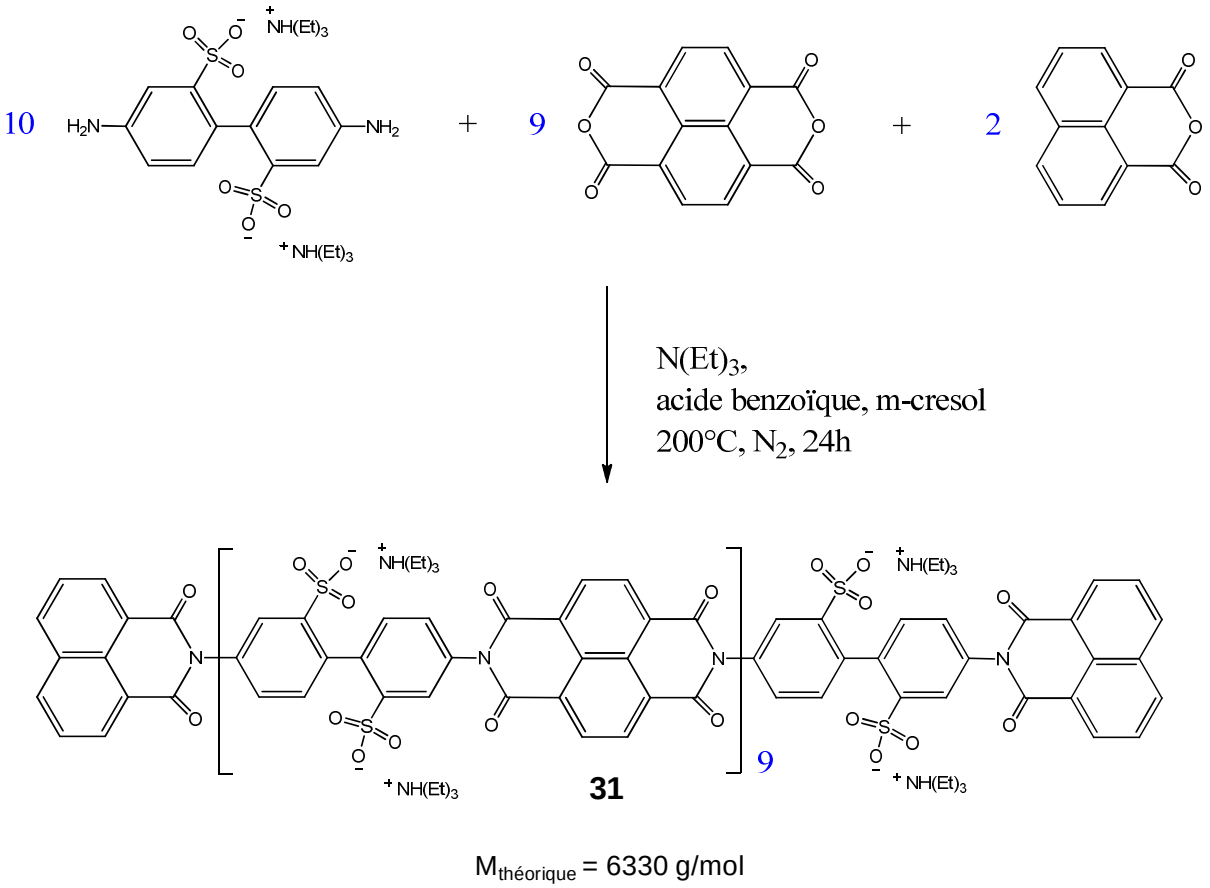


Figure E - 1 : *Synthèse du composé **31** selon la référence*[2]

La synthèse du composé **31** est basée sur les travaux de H.-J. Kim et al.[2]. Le dianhydride 1,4,5,8-naphthalène tétracarboxylique (NTDA) et l'anhydride 1,8-naphtalique (NA) ont été purifiés par sublimation sous vide (0.001 mbar) respectivement à 290 °C et 220 °C. L'acide 4,4'-diamino-1,1'-biphényl-2,2'-disulfonique (DAPS) a été purifié par recristallisation à chaud en milieu acide. Pour cela, de la triéthylamine (TEA) (2 eq) a été ajouté à une solution aqueuse de DAPS à 75°C. Le mélange a été décoloré sur charbon actif puis filtré sur célite. Une solution d'acide chlorhydrique concentrée a finalement été ajouté à la solution jusqu'à formation de cristaux blancs (2 eq). Après une nuit, le précipité obtenu a été filtré et séché sous vide à 80°C pendant 48h. Le solvant de synthèse, le m-crésol a aussi été préalablement purifié par distillation sous vide à 84°C.

Le DAPS (0.52 g, 1.505 mmol, 1 eq) a été dissous à 140°C sous atmosphère inerte (N_2) en présence de TEA sèche (0.38 g, 3.76 mmol, 2.5 eq) dans du m-crésol (8 mL) pendant 30 min. Le NTDA (0.36 mg, 1.36 mmol, 0.9 eq), le NA (0.06 mg, 0.3 mmol, 0.2 eq) et l'acide benzoïque (0.37 mg, 3.08 mmol, 2 eq) servant de catalyseur, ont été dissous sous atmosphère inerte dans 14.5 mL de m-crésol avant d'être progressivement ajoutés à la solution de DAPS. Le mélange a ensuite été laissé à 200°C sous agitation et atmosphère inerte pendant 24 h.

Le milieu réactionnel a été dialysé contre de l'éthanol avec une membrane ayant une porosité de 1000 g/mol. Le polymère (sous forme basique) a précipité dans le boudin de dialyse. Le précipité a été séché sous vide à 40°C pendant une nuit.

Le polyimide a ensuite été solubilisé dans l'eau et purifié des éventuels monomères résiduels par dialyse (seuil de coupure de 1000 g/mol) contre l'eau. Afin de remplacer le contre-ion triéthylammonium par des ions sodium, une fraction (0.35 g) du lot de polyimide purifié a été dialysé dans l'eau contre une solution de NaCl concentrée. Pour finir, une dernière dialyse du polyimide contre l'eau a finalement été réalisée afin d'éliminer l'excès de NaCl avant le séchage et la caractérisation du produit final. A l'issue de cette étape, 0.25 g de polymère ont été obtenus, soit un rendement de 61 %.

B - Analyses RMN

1 - RMN ^{1}H de 31

a. RMN ^{1}H de 31 dans D_2O à 27°C

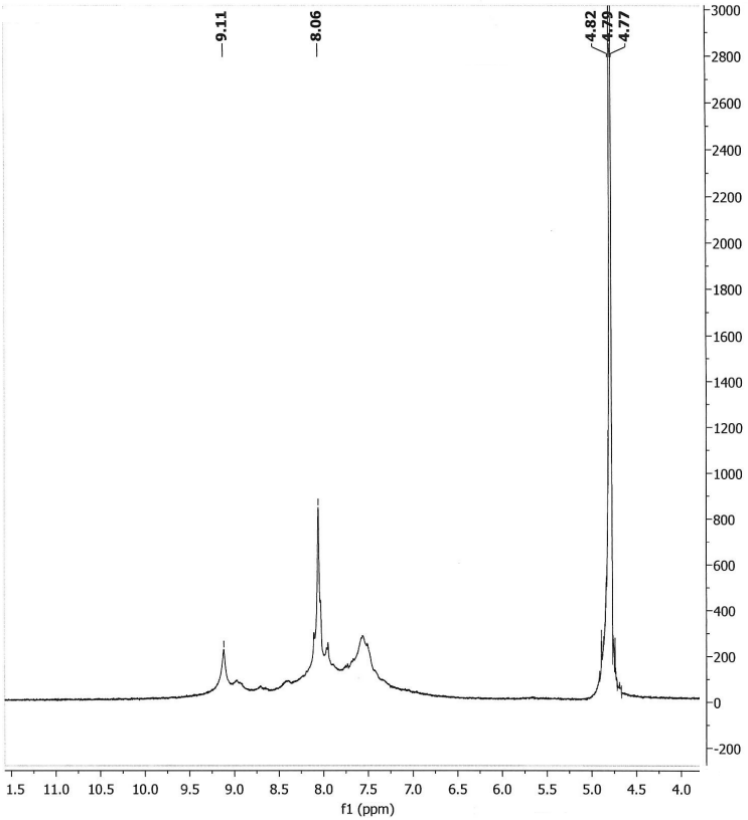


Figure E - 2 : *Spectre RMN ^{1}H (400MHz, D_2O, 27°C) du compose **31***

La majorité des déplacements chimiques des protons de **31** dans D_2O sont proches et les signaux non résolus. L'attribution des signaux et la détermination du nombre d'unités de répétition (n) n'est donc pas possible sur le spectre obtenu dans ces conditions. En conséquence, la caractérisation par RMN ^{1}H et ^{13}C de **31** a par la suite été effectuée dans le DMSO comme le sont les polyimides de même nature décrits dans la littérature sur laquelle nous nous sommes appuyés pour cette étude[2,3].

b. RMN ^{1}H de 31 dans DMSO-d$_6$ à 27°C

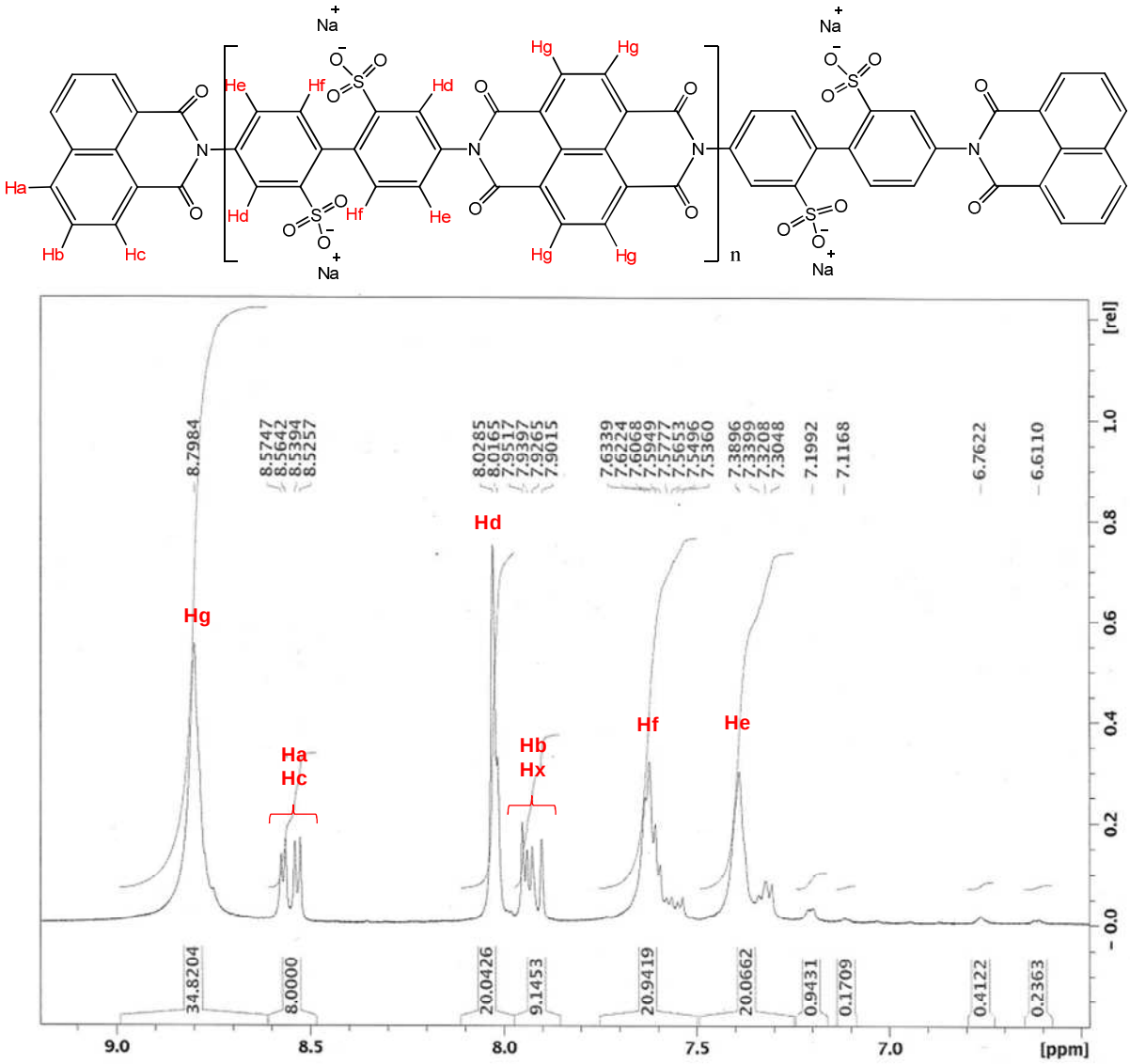


Figure E - 3 : *Spectre RMN ^{1}H (600MHz, DMSO-d$_6$, 27°C) du compose* ***31***

RMN ^{1}H (600MHz, DMSO-d$_6$, 27°C) : δ = 8.8 (**m**, 34.8 H, 35 x Hg), **8.57 – 8.52** (**d**, 8 H, 4 x Ha, 4 x Hc), **8.03 – 8.02** (**m**, 20 H, 20 x Hd), **7.95 – 7.90** (**m**, 9 H, 4 x Hb, 5 x Hx), **7.63 – 7.53** (**m**, 20.9 H, 21 x Hf), **7.39 – 7.30** (**m**, 20 H, 20 x He), **7.2** (**m**, 0.94 H, 1 x Hy), **7.1** (**s**, 0.17 H, 0.17 x Hy), **6.76** (**s**, 0.4 H, 0.4 x Hy), **6.6** (**s**, 0.2 H, 0.2 x Hy).

Hx et Hy correspondent à des protons non identifiés.

Le multiplet situé entre 7.95 et 7.90 ppm devrait théoriquement comporter uniquement les signaux correspondant aux 4 Hb. Cependant, 5 H supplémentaires sont comptabilisés dans ce multiplet.

c. RMN ^{1}H de 31 dans DMSO-d_6 à différentes températures

Les analyses RMN ont été effectuées à différentes températures (27°C, 50°C et 100°C) afin de déterminer si une augmentation de la température permettait d'augmenter la résolution du spectre. On constate qu'à 100°C la résolution est meilleure, la caractérisation de **31** par RMN a donc été poursuivie à cette température.

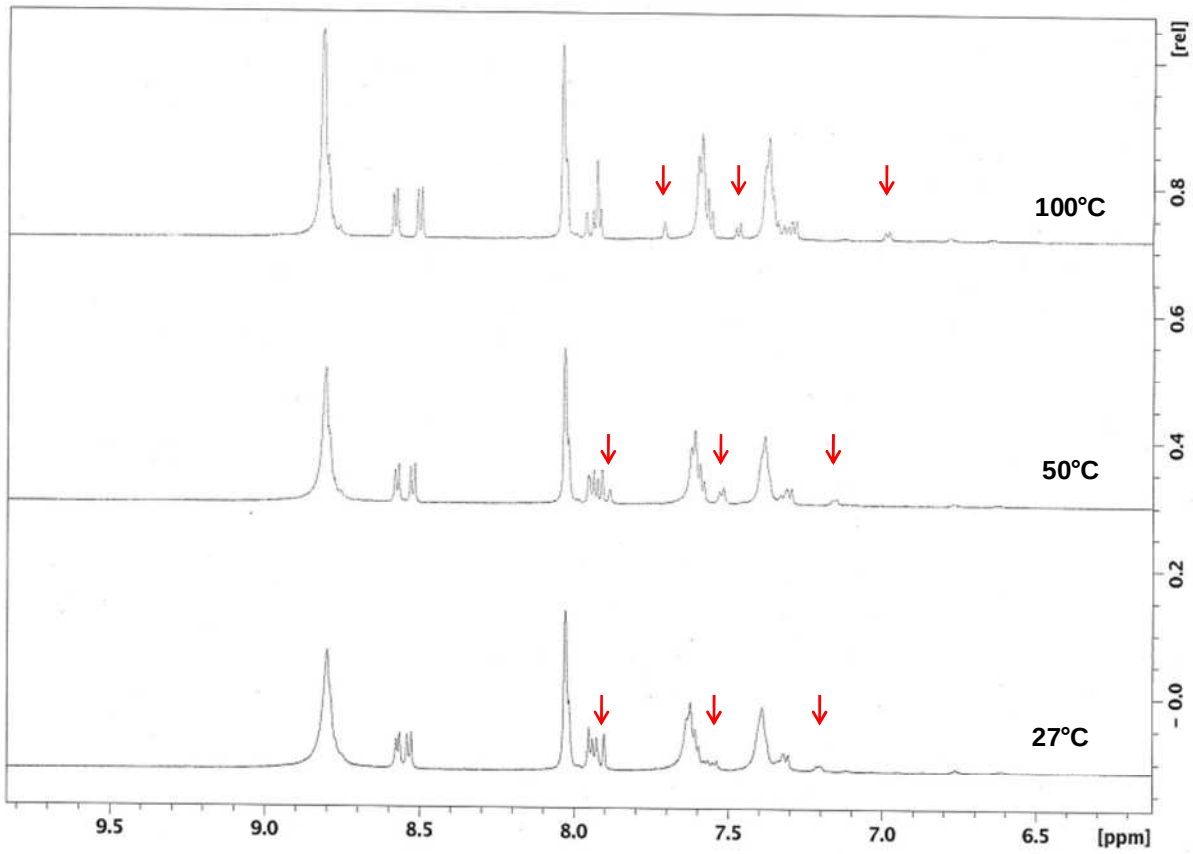


Figure E - 4 : *Spectre RMN ^{1}H (600MHz, DMSO-d_6, 27, 50 et 100°C) du compose* ***31***

On constate également que les déplacements chimiques de certains pics sont modifiés quand la température d'analyse augmente. Cela n'est pas dû à une dégradation du polymère car l'analyse à 27°C de la solution précédemment chauffée conduit à un spectre identique à celui de la solution avant chauffage.

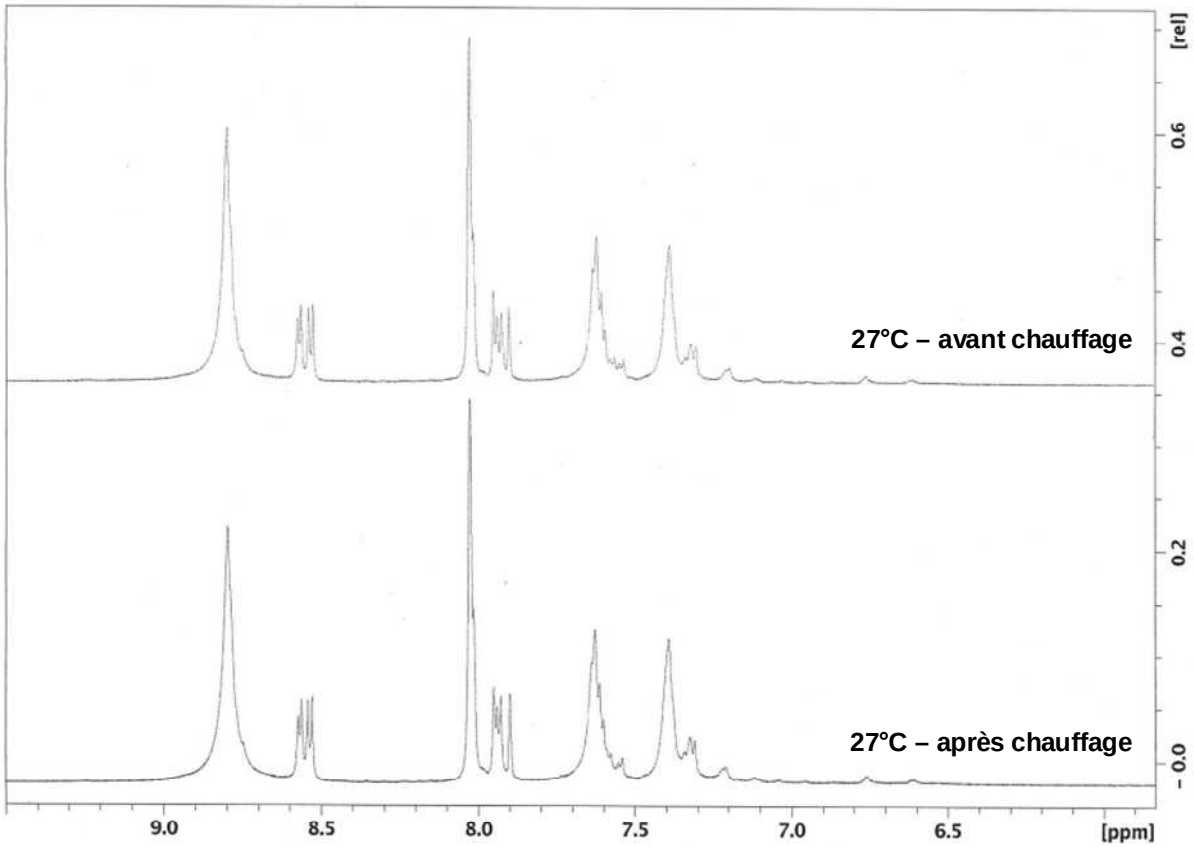


Figure E - 5 : *Spectre RMN ^{1}H (600MHz, DMSO-d_6, 27°C) du compose* ***31*** *avant et après chauffage à 100°C.*

d. RMN ^{1}H dans DMSO-d$_6$ de 31 à 100°C

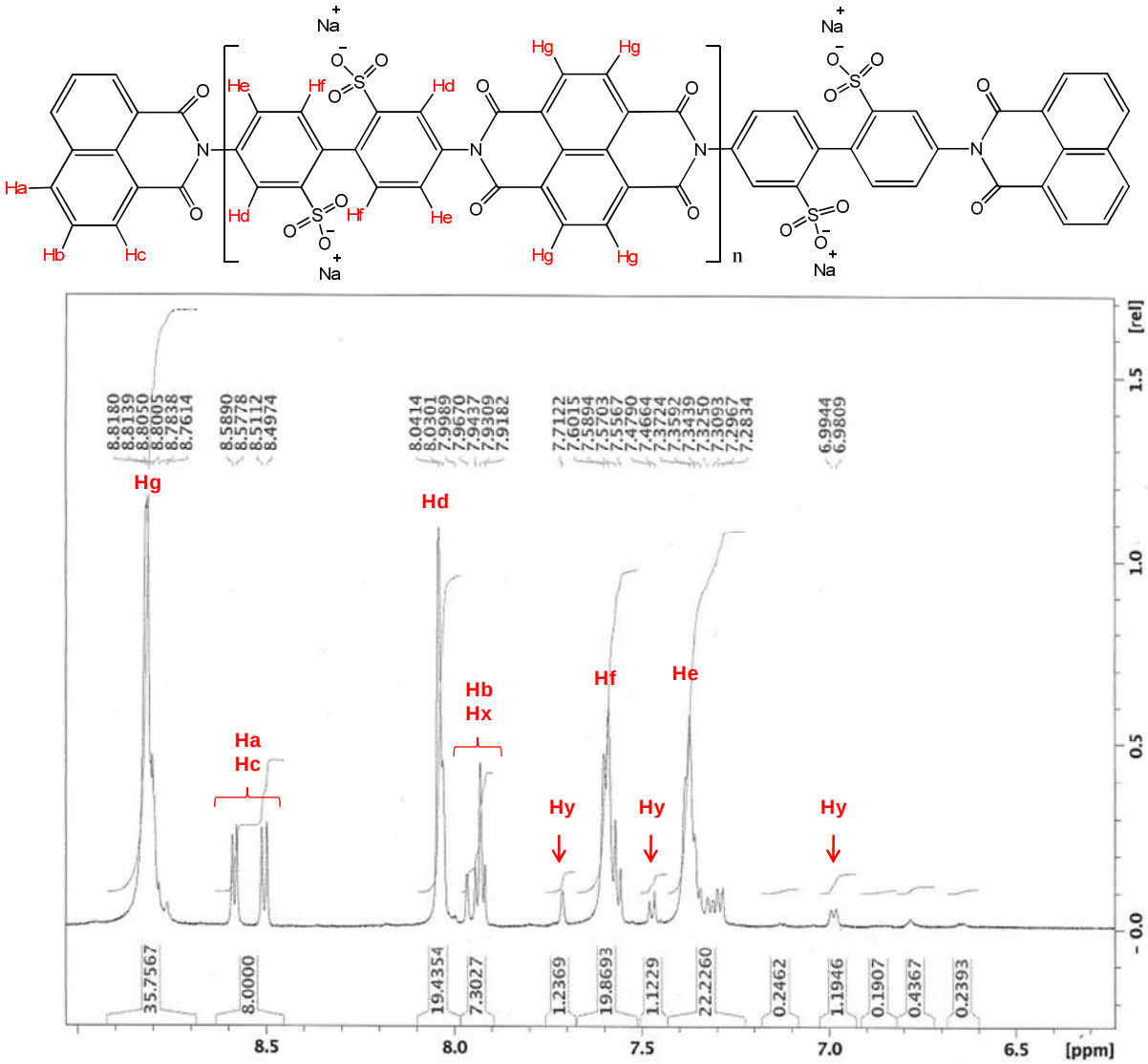


Figure E - 6 : *Spectre RMN ^{1}H (600MHz, DMSO-d$_6$, 100°C) du compose* ***31***

RMN ^{1}H (600MHz, DMSO-d$_6$, 373K) : δ = 8.8 – 8.76 (**m**, 35.7 H, 36 x Hg), **8.59 – 8.49** (**d**, 8 H, 4 x Ha, 4 x Hc), **8.04 – 7.99** (**m**, 19.4 H, 20 x Hd), **7.97 – 7.92** (**m**, 7.3 H, 4 x Hb, 4 x Hx), **7.7** (**s**, 1.2 H, 1 x Hy), **7.6 – 7.2** (**m**, 19.9 H, 20 x Hf), **7.48 – 7.47** (**d**, 1.1 H, 1 x Hy), **7.37 – 7.28** (**m**, 22.2 H, 20 x He), **6.99 – 6.98** (**d**, 1.2 H, 1 x Hy).

Hx et Hy correspondent à des protons non identifiés.

Le multiplet situé entre 7.97 et 7.92 ppm qui devrait théoriquement comporter uniquement les signaux correspondant aux 4 Hb comporte, à 100°C, 3 H supplémentaires.

Les analyses RMN ^{1}H des monomères dans DMSO-*d$_6$* à 100°C montrent que les signaux non identifiés ne proviennent pas de résidus de monomères NTDA car son spectre présente

uniquement un singulet à 8.7 ppm (**Figure E - 18**), ni du DAPS dont les pics ne se situent pas dans cette zone (**Figure E - 16** ; **Figure E - 17**). On note cependant que les signaux Hy situés à 7.7 ppm, 7.48 - 7.47 ppm et 6.99 - 6.98 ppm ont une signature similaire à celle des protons du DAPS. La présence de ces pics pourrait donc indiquer qu'une partie des chaines comporte une terminaison amine. Les signaux Hx situés entre 7.97 et 7.92 ppm pourraient quant à eux provenir de l'acide benzoïque (**Figure E - 19** ; **Figure E - 20**) ajouté lors de la synthèse. En effet, il est possible que certaines des fonctions amines aient réagit avec ce dernier pour former des amides.

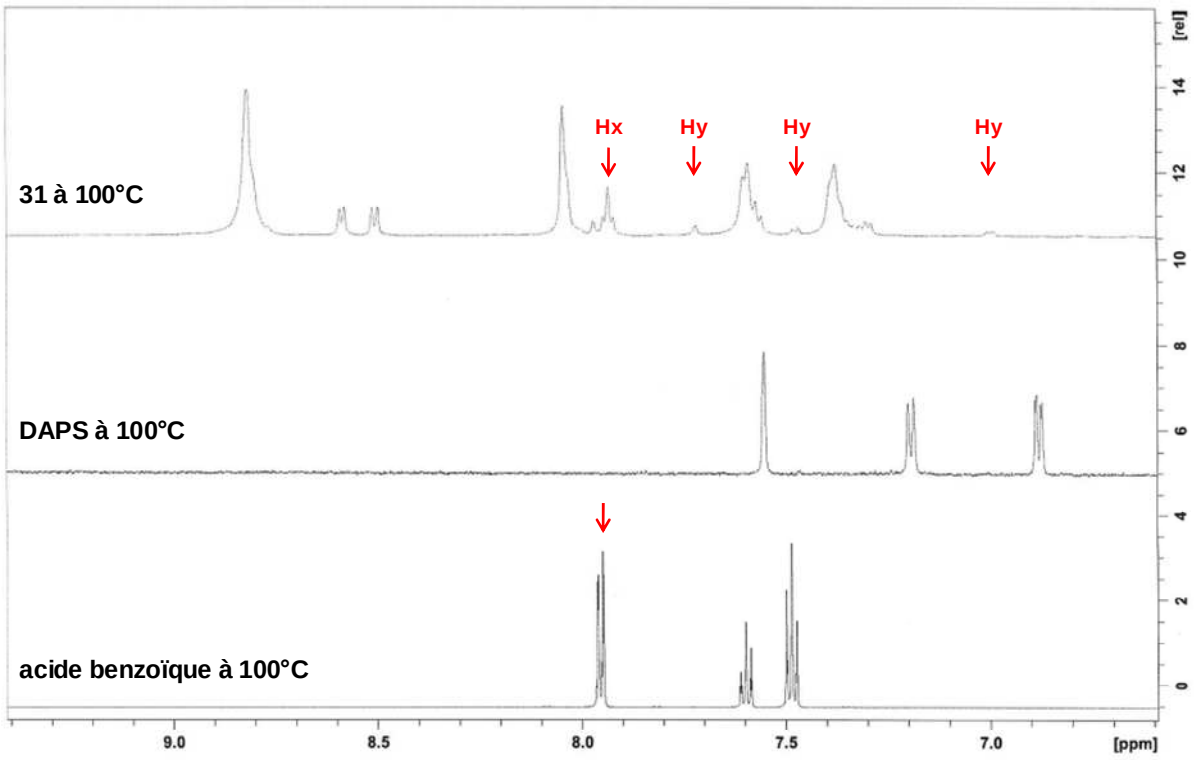


Figure E - 7 : *Spectre RMN ^{1}H (600MHz, DMSO-d_6, 100°C) du compose **31**, de l'acide 4,4'-diamino-1,1'-biphényl-2,2'-disulfonique (DAPS) et de l'acide benzoïque*

Afin de vérifier ces hypothèses des spectres RMN COSY ^{1}H-^{1}H et ^{13}C ont été effectués.

e. RMN COSY ^{1}H-^{1}H de 31 dans DMSO-d_6 à 100°C

Le spectre RMN COSY ^{1}H-^{1}H confirme que trois types de bouts de chaines sont présents, une terminaison par le monomère NA (**a**), une terminaison par le monomère DAPS (**b**) et une dernière qui pourrait être l'acide benzoïque (**x**).

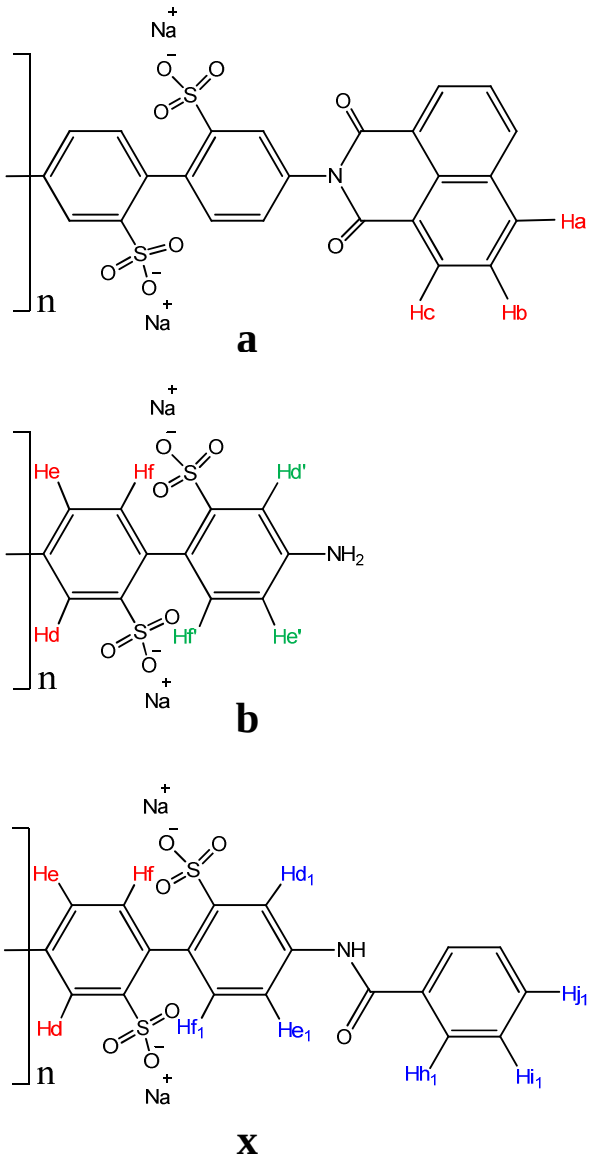


Figure E - 8 : *Structures des trois types de bouts de chaines hypothétiquement présents sur* ***31****.*

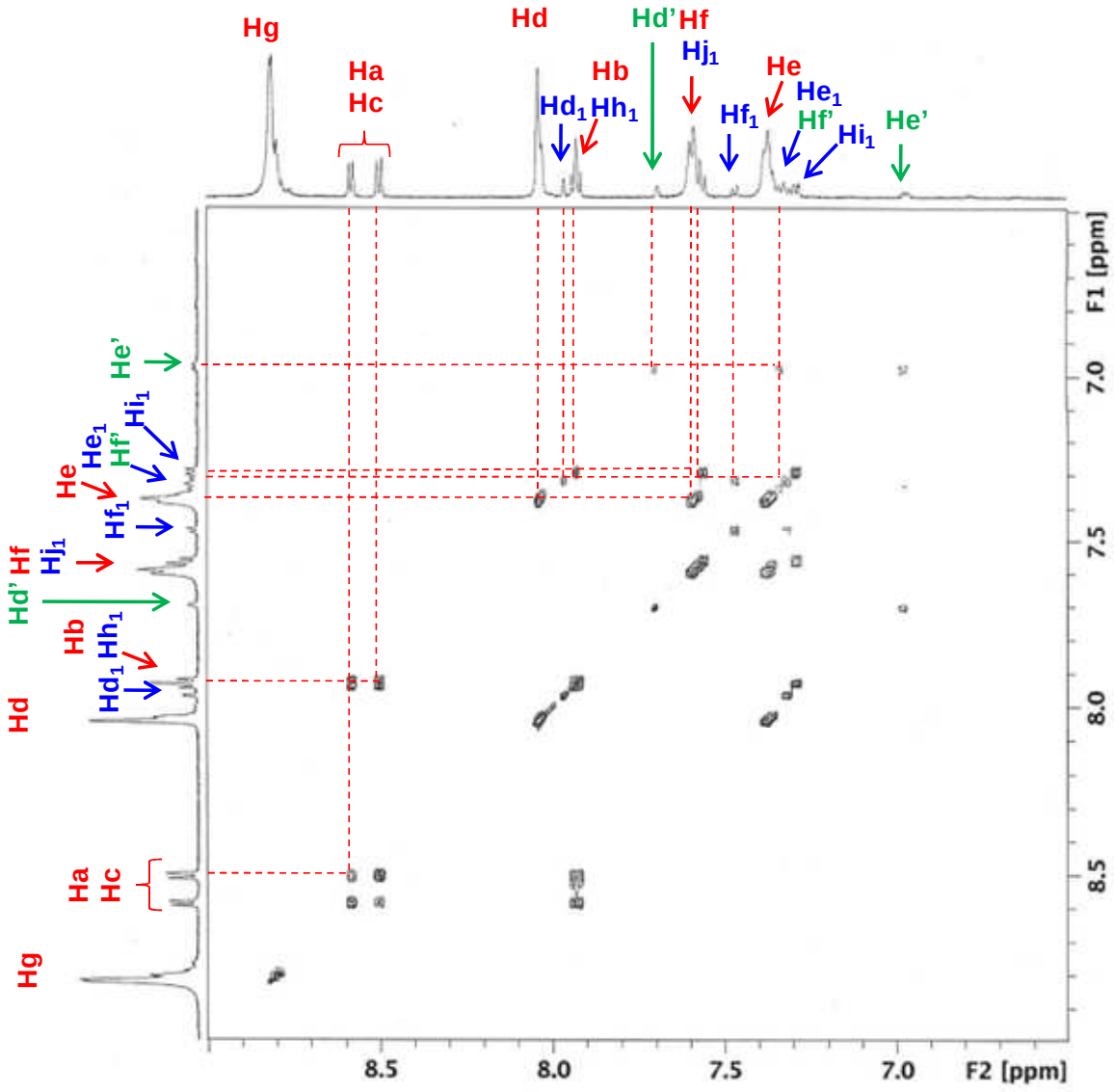


Figure E - 9 : *Spectre RMN COSY ^{1}H-^{1}H (600MHz, DMSO-d_6, 100°C) du compose* ***31***

2 - RMN ^{13}C de 31

L'attribution des déplacements chimiques du spectre RMN ^{13}C quantitatif (**Figure E - 11**) a été réalisée à l'aide des spectres HSQC (**Figure E - 12**) et HMBC ^{1}H - ^{13}C (**Figure E - 13**). La présence du pic à 163.7 ppm confirme la formation de liaisons imides. De plus, d'après les travaux de R. Mercier et al.[3], l'absence de pics à 160 ppm, 168.77 ppm et 168.41/167.79 ppm indique l'absence respective d'anhydride, d'acide et d'acide-amide.

Cependant le spectre HMBC montre l'absence de corrélation entre les Hh_1 et une fonction amide qui serait à 165 ppm. Cela indique que le troisième type de terminaison identifié par la RMN COSY n'est pas la terminaison (**x**). De plus, les corrélations similaires entre Hd_1 et Hh_1

suggèrent que Hh_1 appartiendrait à un monomère DAPS qui serait impliqué dans un autre type de terminaison. Ce résultat confirme la présence des deux types d'extrémités précédemment décrites (**a** et **b**) et montre qu'un troisième type d'extrémité de nature non déterminée, impliquant probablement le DAPS (**c**), est présent :

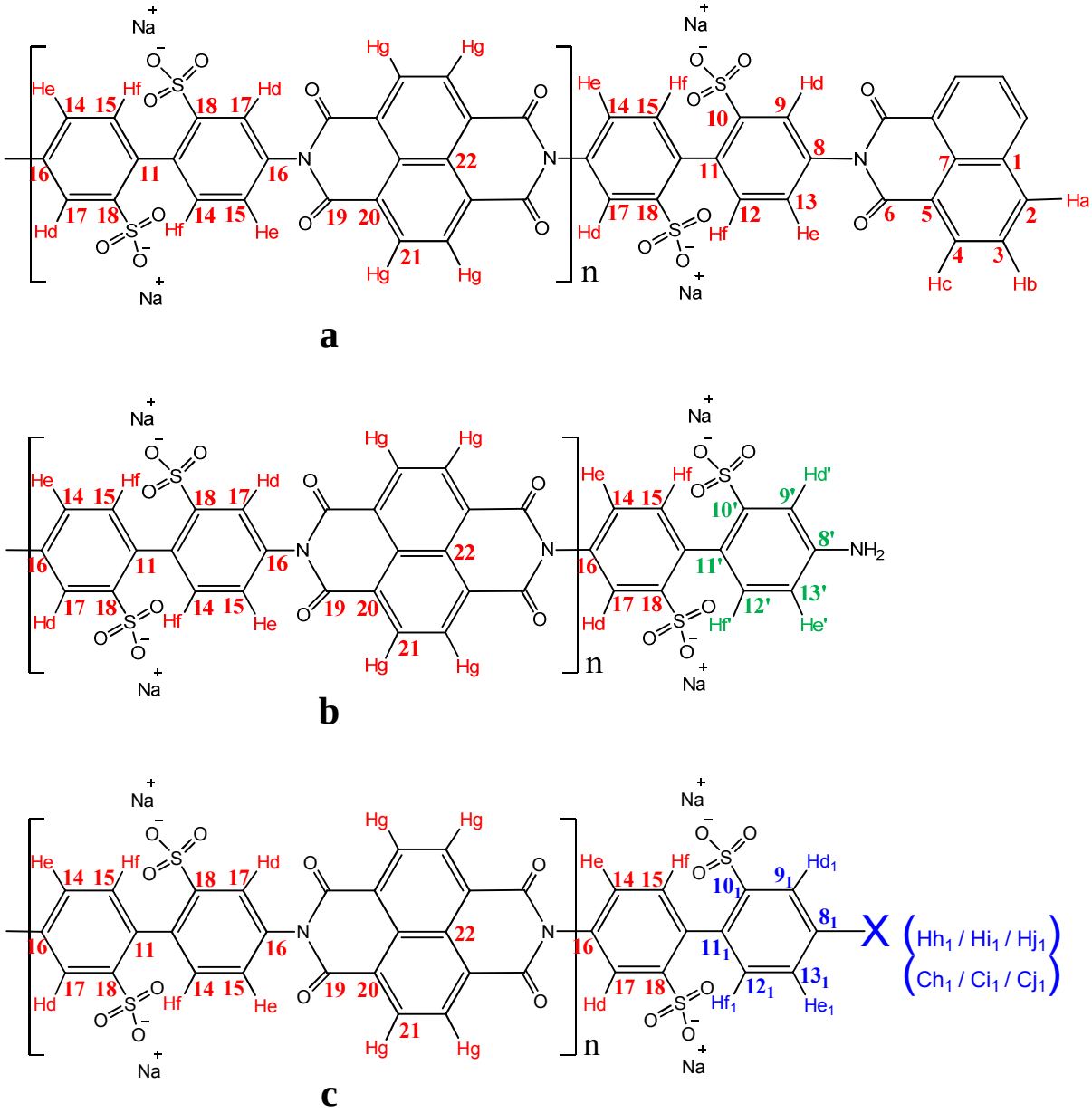


Figure E - 10 : *Structures des trois types de terminaisons hypothétiquement présentes sur* ***31****.*

a. RMN ^{13}C quantitatif de 31 dans DMSO-d$_6$ à 27°C

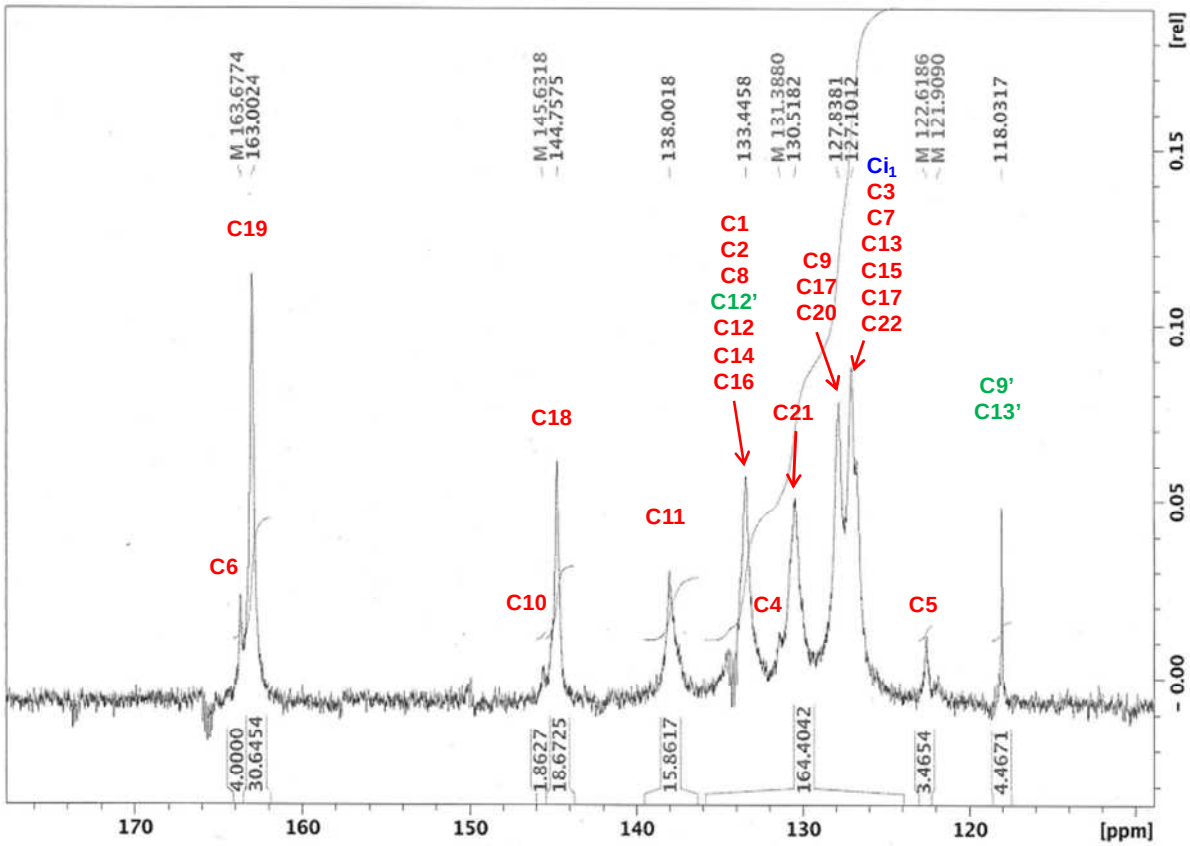


Figure E - 11 : *Spectre RMN ^{13}C quantitatif (600MHz, DMSO-d$_6$, 27°C) du compose **31**.*

RMN ^{13}C (600MHz, DMSO-d$_6$, 300 K) : δ = 163.7 (4 C, 4 x C6), **163** (30.6 C, 31 x C19), **145.6** (1.8 C, 2 x C10), **144.7** (18.7 C, 19 x C18), **138** (15.86 C, 16 x C11), **133.4 - 127.1** (164 C, C1, C2, C3, C4, C7, C8, C9, C12, C12', C13, C14, C15, C16, C17, C20, C21, C22, Ci$_1$), **122.6 – 121.9** (3.5 C, 4 x C5), **118** (4.46 C, 2 x C9', C13').

b. RMN HSQC ^{1}H - ^{13}C de 31 dans DMSO-d_6 à 100°C

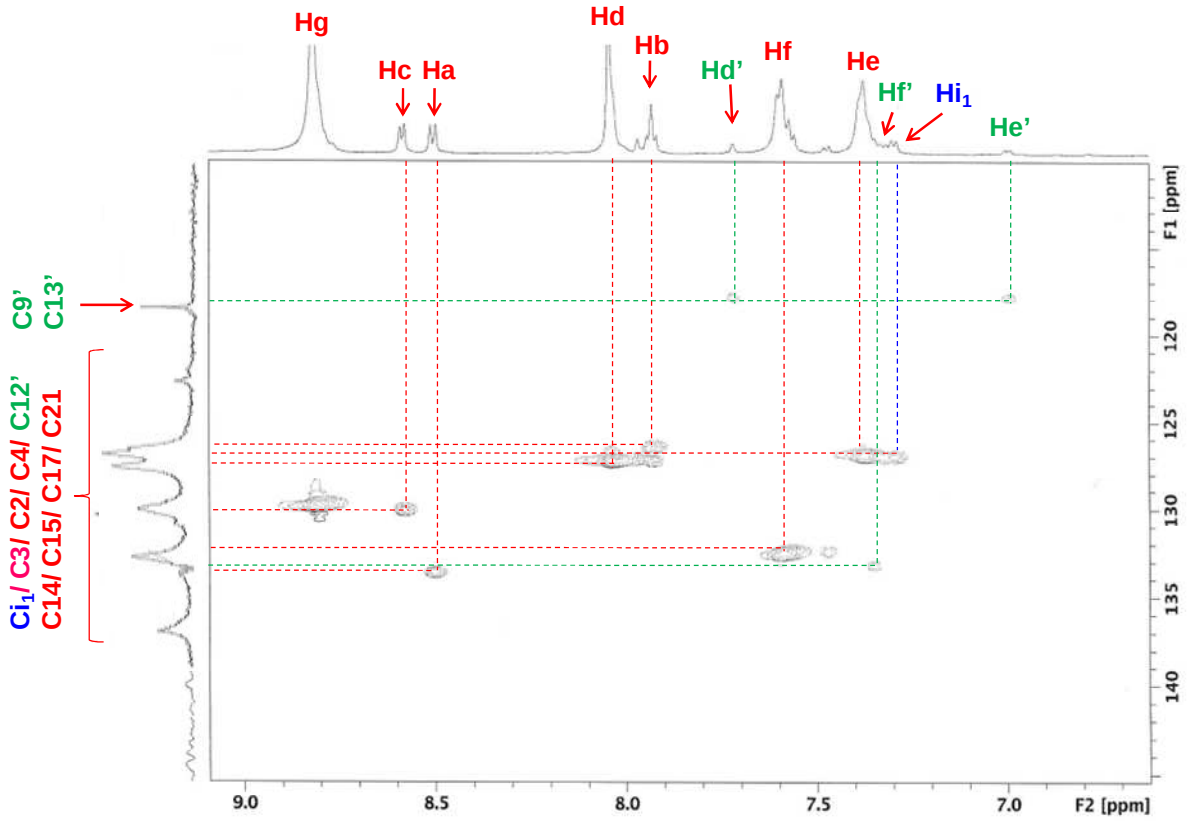


Figure E - 12 : *Spectre RMN HSQC ^{1}H - ^{13}C (600MHz, DMSO-d_6, 100°C) du compose* ***31***.

c. RMN HMBC ^{1}H-^{13}C de 31 dans DMSO-d_6 à 100°C

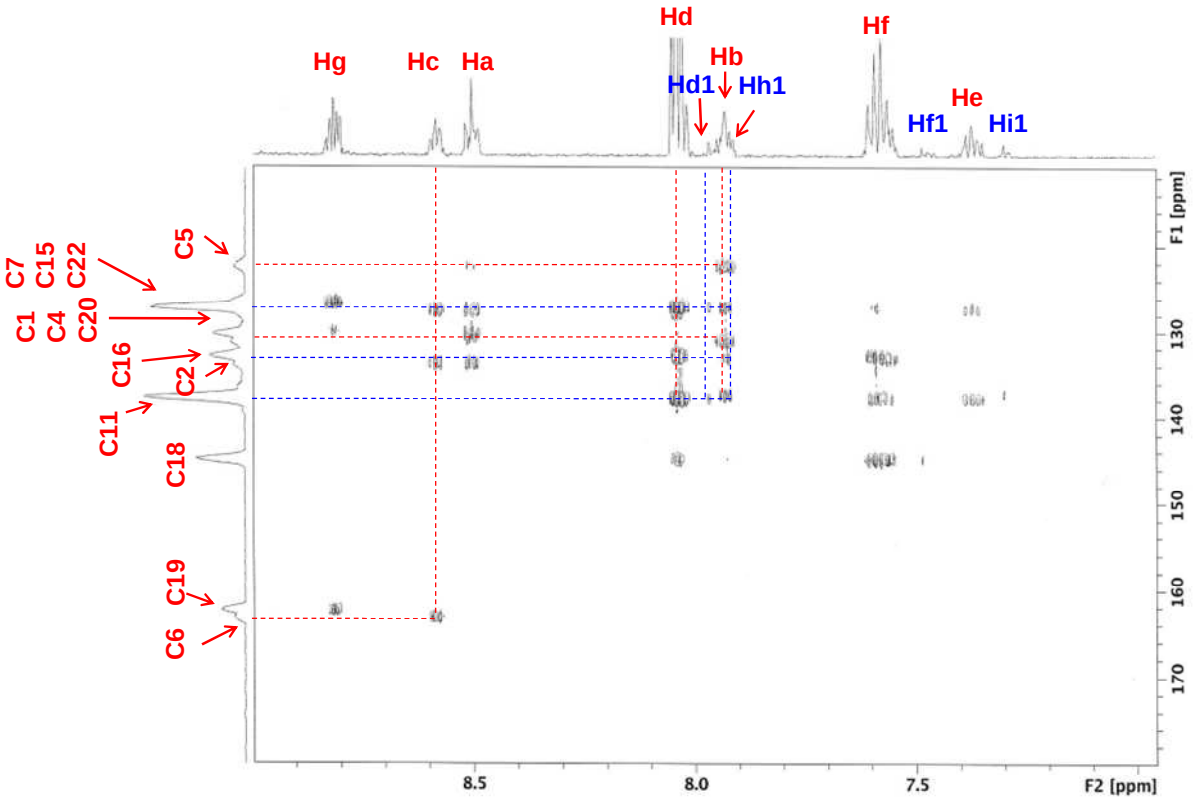
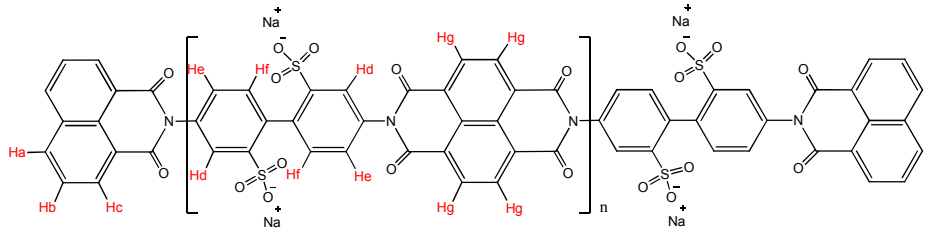


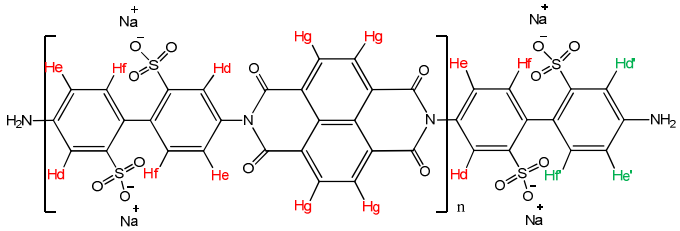
Figure E - 13 : *Spectre RMN HMBC ^{1}H-^{13}C (600MHz, DMSO-d_6, 100°C) du compose **31**.*

3 - Evaluation du degré moyen de polymérisation en nombre de 31

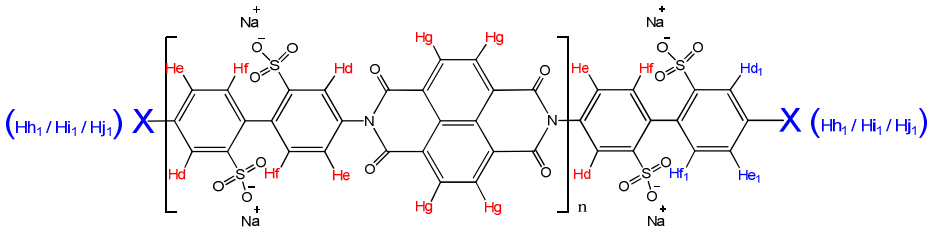
Si on fait l'hypothèse que ce dernier type de signal (**c**) fait également office de stoppeur de chaines, six structures de macromolécules comportant différentes extrémités seraient alors présentes, les composés **31a**, **b**, **c**, **d**, **e** et **f** :



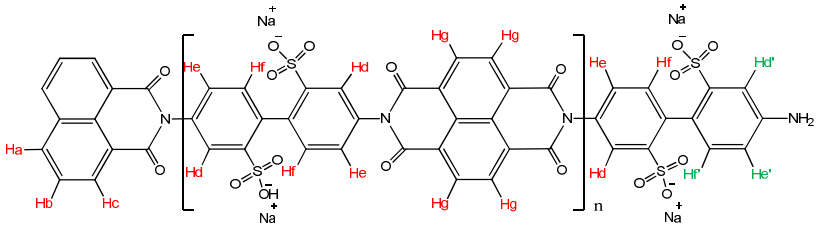
31a



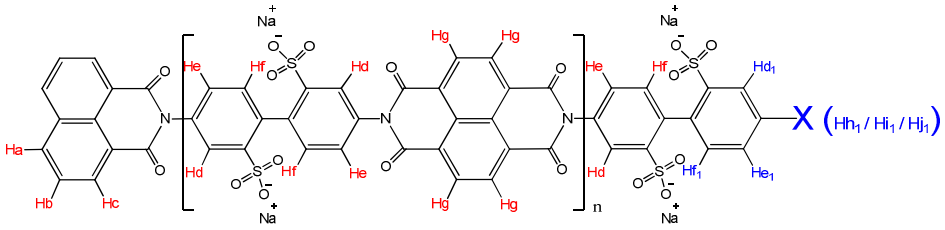
31b



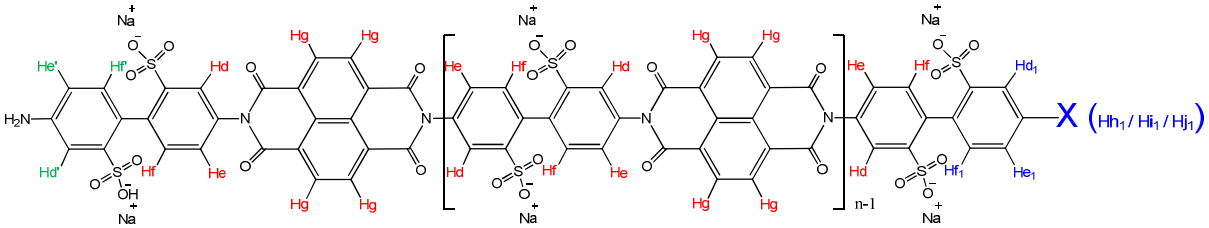
31c



31d



31a



31e

Figure E - 14 : *Structures des six types de macromolécules* ***31*** *hypothétiquement présentes (**31a**, **b**, **c**, **d**, **e** et **f**).*

D'après l'analyse RMN COSY ^{1}H-^{1}H, nous pouvons estimer le degré moyen de polymérisation en nombre n. Pour cela, l'intégration de chaque type de terminaison et celle relative au motif de répétition ont été ramenées à un proton. L'intégration des protons Ha et Hc a été utilisée dans le cas de la terminaison par le monomère NA (**a**), celle du proton He' pour la terminaison par le monomère DAPS (**b**) et celle du proton Hf_1 a été utilisée pour la terminaison (**c**). De même, pour la chaine principale l'intégration relative au proton Hg du NTDA a été utilisée. Nous pouvons donc écrire les équations suivantes :

$$\frac{n}{2} = \frac{I(Hg)/4}{\left(I(Ha+Hb)/4\right) + I(Hf_1) + I(He')} \qquad \textbf{(E-2)}$$

$$n = 2 \cdot \frac{(35.7/4)}{(8/4) + 1.12 + 1.2} = 4 \qquad \textbf{(E-3)}$$

L'analyse RMN COSY ^{1}H-^{1}H permet donc l'estimation d'un n d'une valeur de 4.

Le rapport des intégrations comptant pour un proton de chaque type de terminaison sur leur somme permet d'estimer la proportion de chaque type de terminaison à 46 % pour la terminaison par le NA, à 26 % pour la terminaison (**c**) et à 28 % par le monomère DAPS. Il est alors possible de déterminer par un calcul statistique les proportions relatives de chaque macromolécule présente, soit 21 % de macromolécules **31a**, 8 % de **31b**, 7 % de **31c**, 26 % de **31d**, 24 % de **31e** et 14 % de **31f**.

4 - RMN ^{1}H annexes des monomères et de l'acide benzoïque dans DMSO-d_6

a. Anhydride 1,8-Naphtalique (NA)

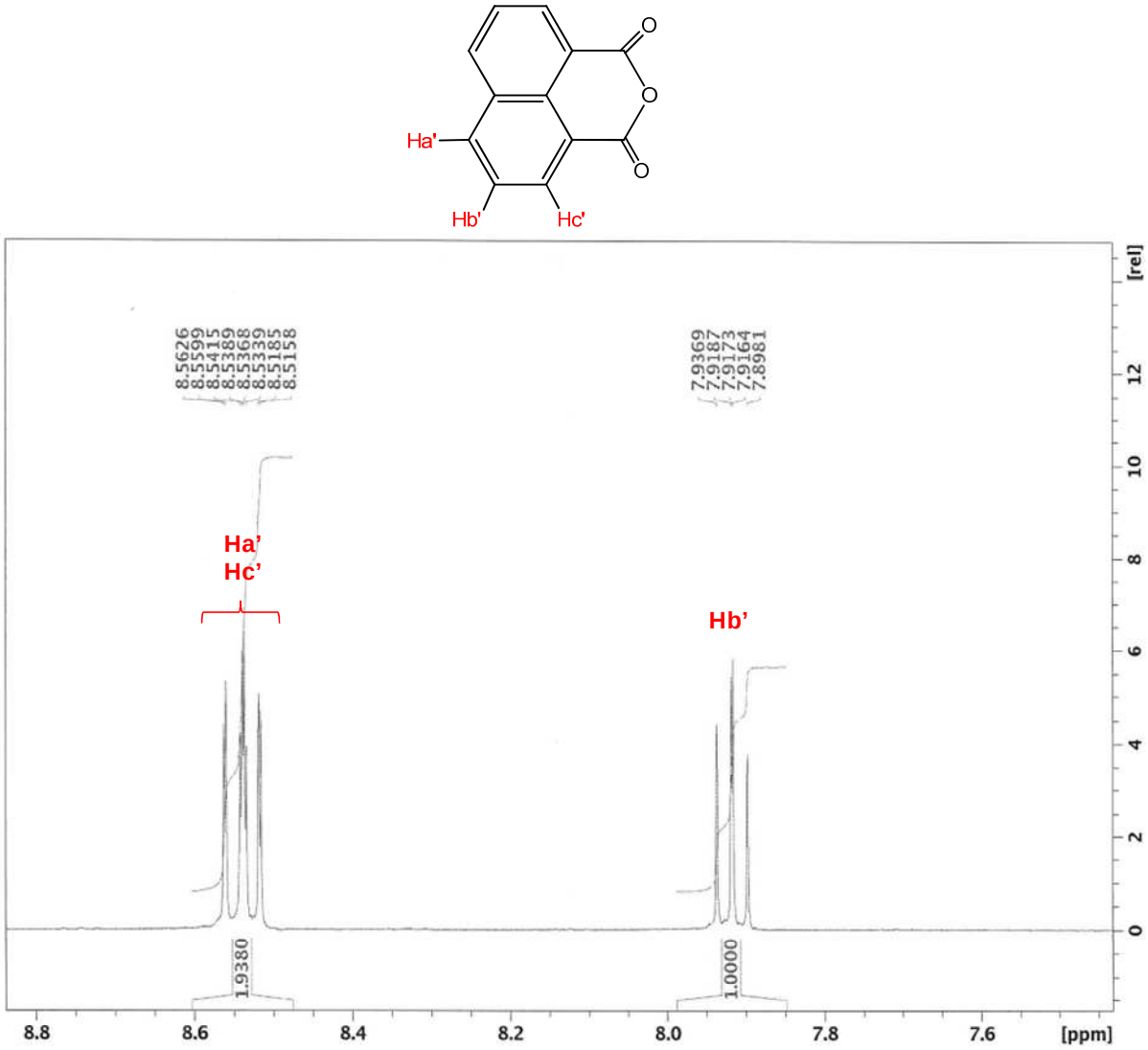
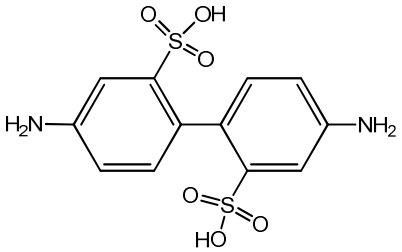


Figure E - 15 : *Spectre RMN ^{1}H (600MHz, DMSO-d_6, 27°C) de l'anhydride 1,8-Naphtalique (NA)*

RMN ^{1}H (600MHz, DMSO-d_6, 300 K) : δ = 8.56 – 8.51 (**m**, 3.8 H, 2 x Ha', 2 x Hc'), **7.93 – 7.9** (**m**, 2 H, 2 x Hb')

b. Acide 4,4'-diamino-1,1'-biphényl-2,2'-disulfonique (DAPS)



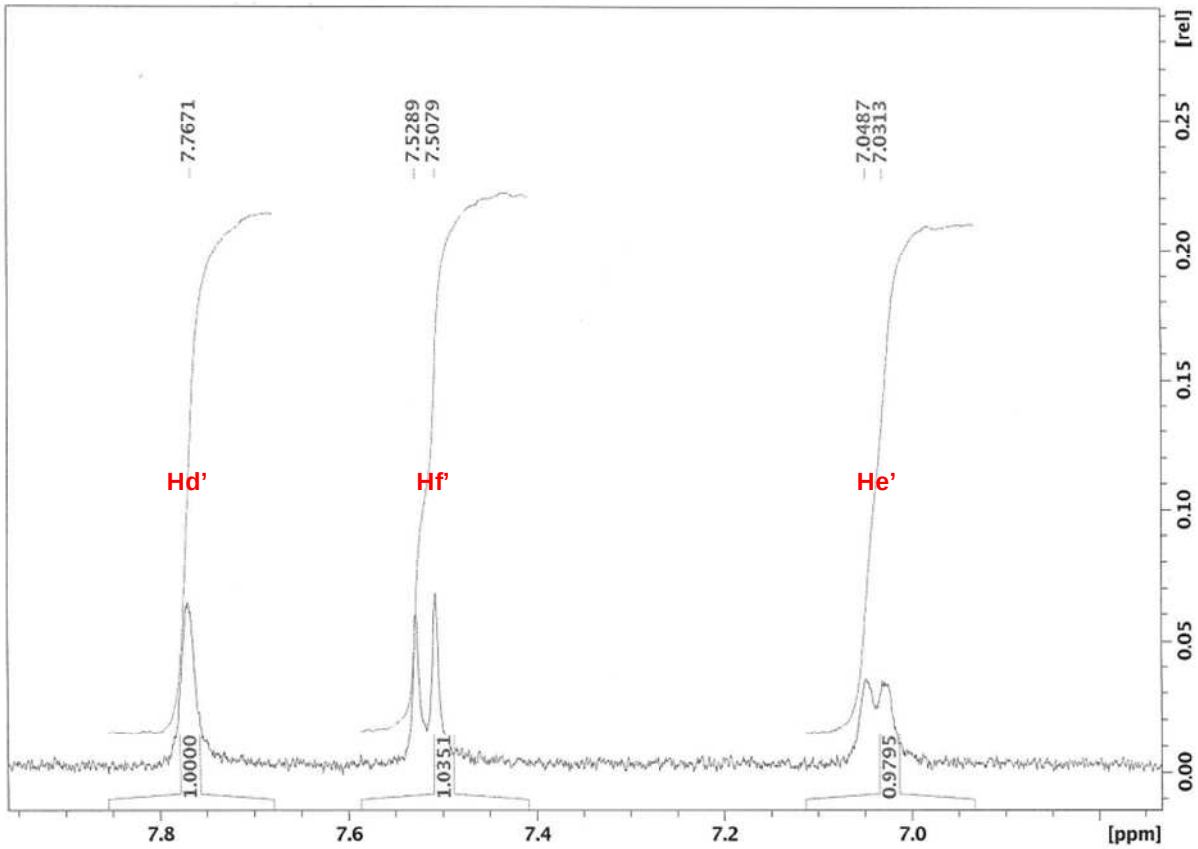


Figure E - 16 : *Spectre RMN ^{1}H (600MHz, DMSO-d$_6$, 27°C) de l'acide 4,4'-diamino-1,1'-biphényl-2,2'-disulfonique (DAPS)*

RMN ^{1}H (600MHz, DMSO-d$_6$, 300 K) : δ = 7.76 (**s**, 2 H, 2 x Hd'), **7.52 – 7.51** (**d**, 2 H, 2 x Hf'), **7.05 – 7.03** (**d**, 2 H, 2 x He')

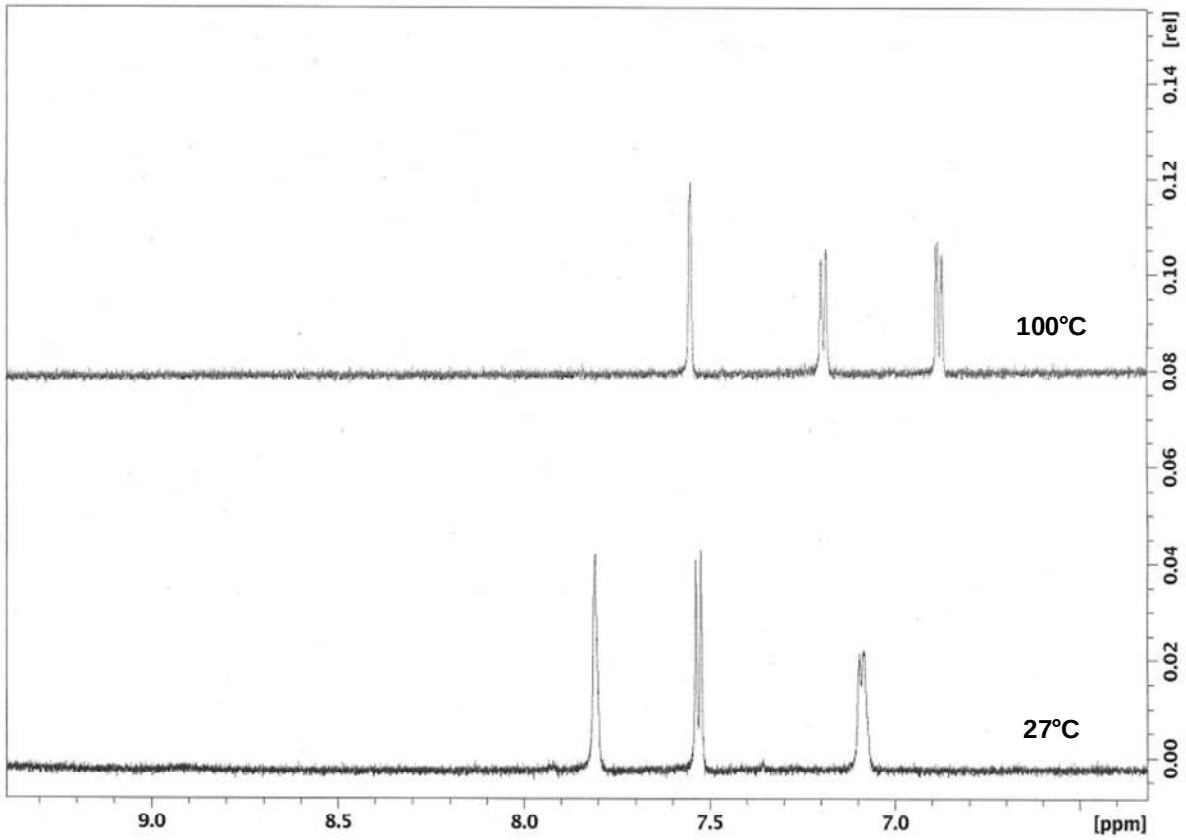


Figure E - 17 : *Spectre RMN ^{1}H (600MHz, DMSO-d_6, à 27°C et 100°C) de l'acide 4,4'-diamino-1,1'-biphényl-2,2'-disulfonique (DAPS)*

c. 1,4,5,8-Naphthalène tétracarboxylique (NTDA)

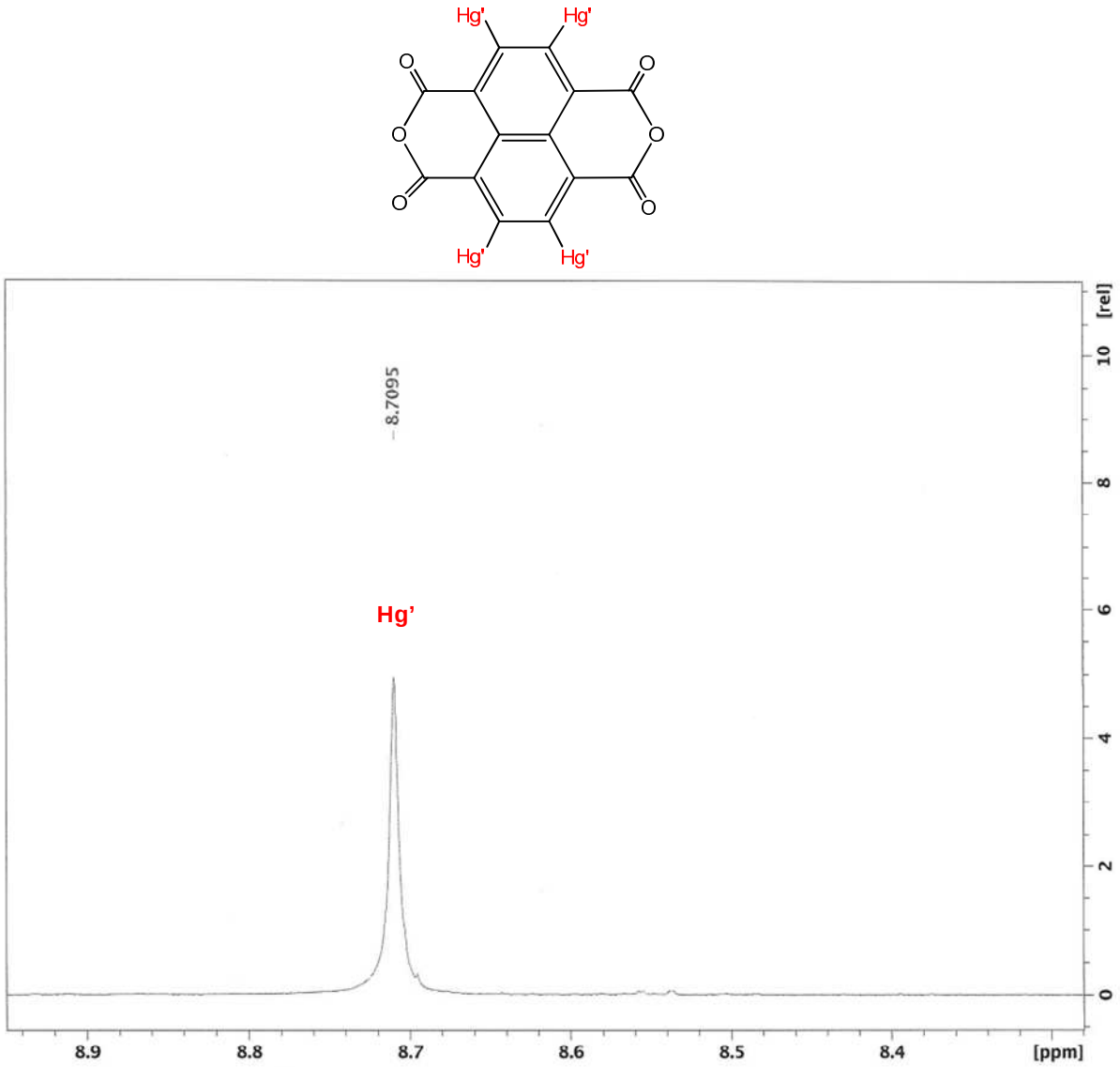


Figure E - 18 : *Spectre RMN ^{1}H (600MHz, DMSO-d_6, 27°C) du 1,4,5,8-Naphthalène tétracarboxylique (NTDA)*

RMN ^{1}H (600MHz, DMSO-d_6, 300 K) : δ = 8.71 (**s**, 4 H, 4 x Hg')

d. Acide benzoïque

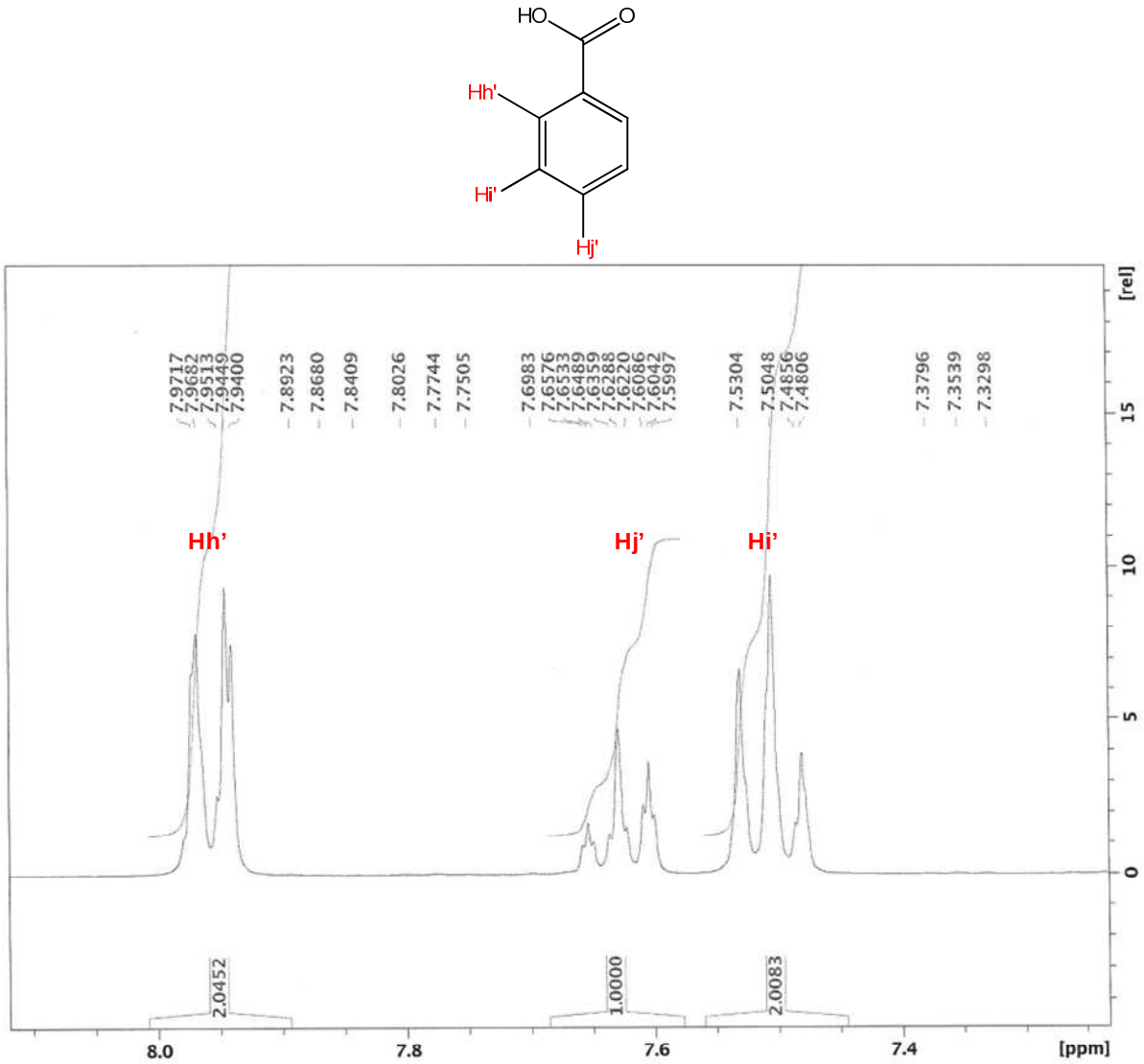


Figure E - 19 : *Spectre RMN ^{1}H (600MHz, DMSO-d$_6$, 27°C) de l'acide benzoïque*

RMN ^{1}H (600MHz, DMSO-d$_6$, 300 K) : δ = 7.97 – 7.94 (**m**, 2 H, 2 x Hh'), **7.70 – 7.60** (**m**, 1 H, 1 x Hj'), **7.53 – 7.48** (**m**, 2 H, 2 x Hi')

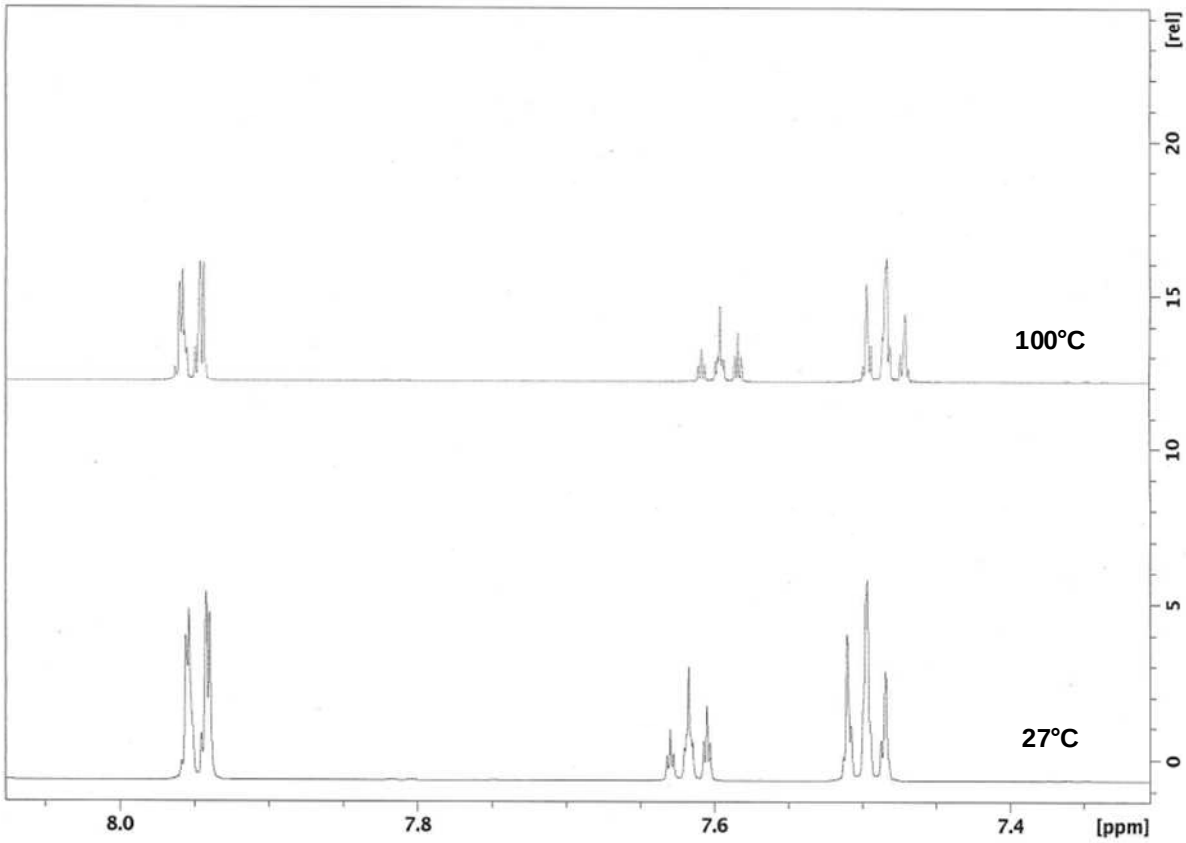


Figure E - 20 : *Spectre RMN ^{1}H (600MHz, DMSO-d_6, à 27°C et 100°C) de l'acide benzoïque*

C - Analyse FTIR de 31

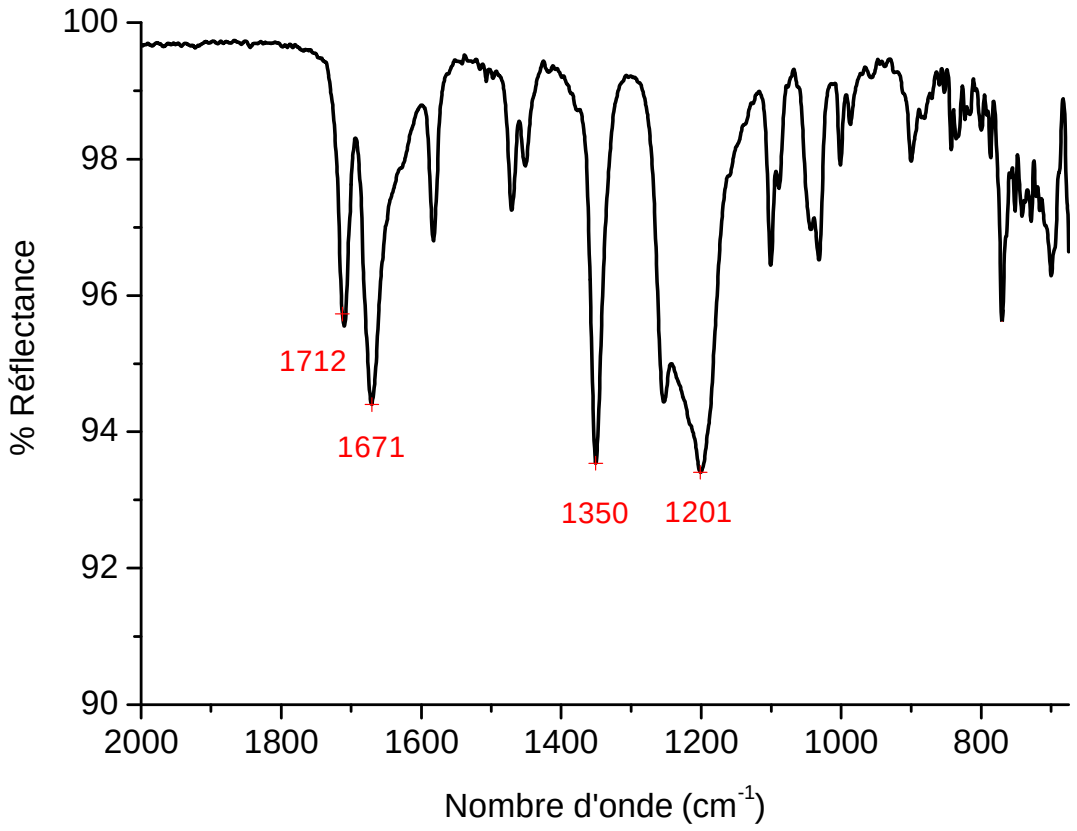


Figure E - 21 : *Spectre ATR du composé* ***31*** *sous forme basique*

1712 et 1671 cm^{-1}: C=O

1350 cm^{-1}: CN

1201 cm^{-1} : S=O

D - Analyse UV et mesure de dichroïsme circulaire de 31

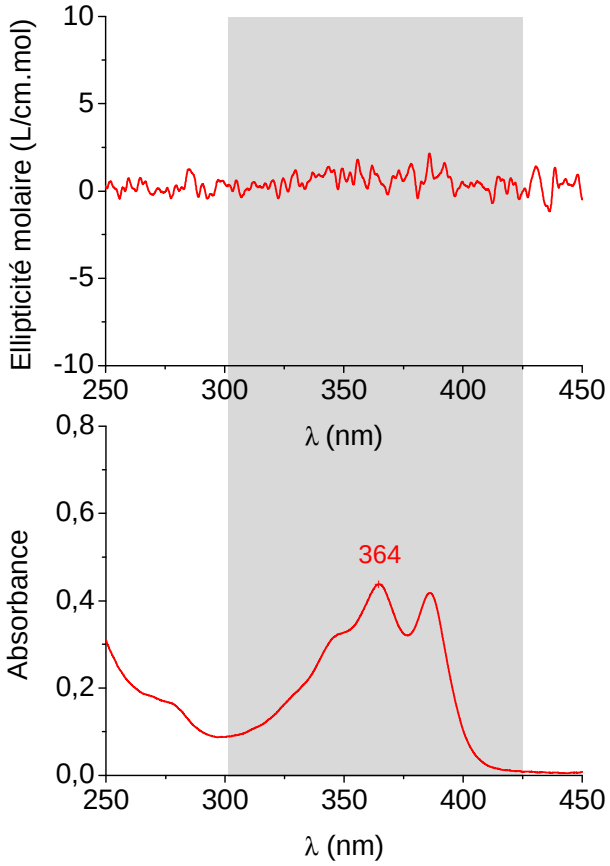


Figure E - 22 : *Spectres cd* ***a)*** *et UV* ***b)*** *effectués sur une solution de* ***31*** *sous forme basique à 0.02 mM dans* H_2O

λ_{max} = 364 nm

Pas de signal cd

Bibliographie

(1) Arnaud, A.; Bouteiller, L. *Langmuir* **2004**, *20* (16), 6858–6863.

(2) Kim, H.; Litt, M. H.; Nam, S. Y.; Shin, E. *Macromol. Res.* **2003**, *11* (6), 458–466.

(3) Genies, C.; Mercier, R.; Sillion, B.; Petiaud, R.; Cornet, N.; Gebel, G.; Pineri, M. *Polymer* **2001**, *42* (12), 5097–5105.

Annexes

Table des matières

I- Annexe 1 : Algorithmes permettant de déterminer D_t à partir des mesures de DLS 311

A- Méthode des cumulants (en agrément avec la norme ISO133121) 311

B- Méthodes NNLS et CONTIN 312

II- Annexe 2 : TDA – Corrections dues aux conditions expérimentales..... 313

A- Correction due à la géométrie du capillaire 313

B- Correction due à la pression d'injection 314

C- Correction due au volume d'injection 315

Bibliographie 317

III- Annexe 3 : Figures et tableaux de résultats d'analyses annexes effectuées sur les composés présentés dans les chapitres 3 et 4 319

A- Analyses DLS des composés étudiés dans le chapitre 3 - partie I..... 319

1- Mesure de la taille et de la polydispersité des agrégats en fonction du lot et de la concentration en solution mère de CDs..... 319

2- Suivi par DLS de l'élimination des agrégats non spécifiques de CDs..... 320

B- Préparation et analyses annexes des solutions de composés étudiés dans le chapitre 3 - partie II – A-1..... 321

1- Analyses DLS des solutions de composés utilisés lors de l'étude de l'interaction des CDs pontées avec l'acide benzoïque..... 321

2- Préparation des solutions pour les mesures de cd 323

3- pH des solutions utilisées pour les analyses ITC 323

4- Calcul de la concentration en acide benzoïque ionisé en absence et en présence de tampon acide formique 40 mM, pH=3.5 325

5- Analyses DLS des composés utilisés lors de l'étude de l'interaction des CDs pontées avec les dérivés de l'aniline 326

6- Calcul du pH des solutions acides de CDs pontées (CDCn) à l'aide du pKa des diamines primaires correspondantes 328

7- Analyses DLS des composés utilisés lors de l'étude du coefficient de diffusion du TFA 329

8- Analyses DLS effectuées avant les mesures viscosimétriques des composés 9 et 11 329

C- Analyses annexes des composés étudiés dans le chapitre 3- partie II - A - 2..... 330

1- Analyses DLS effectuées sur les α-CD-C_4 monosubstituées..... 330

2- Analyses DLS effectuées sur les α-CD-C_4 monosubstituées lors de l'étude de l'effet d'additifs et de la température 335

D- Analyses annexes des β-CDs pontées étudiées dans le chapitre 3 - partie II - B - 1341

E- Analyses annexes des composés étudiés dans le chapitre 3 - partie II – B-2 lors de l'étude des β-CDs pontées monosubstituées 345

1- Analyses DLS effectuées sur le composé 20 345

2- Analyses effectuées sur le composé 23..... 346

3- Analyses effectuées sur le composé 24..... 348

4- Détermination du facteur de dilution de l'analyse TDA en mode impulsion 350

F- Analyses annexes des composés étudiés dans le chapitre 4 - partie I 351

1- Analyses DLS effectuées sur les α-CDs substituées..... 351

2- Caractérisation du composé 30 354

G- Analyses annexes des composés étudiés dans le chapitre 4 - partie II 356

1- Analyses DLS des β-CDs..... 356

2- Analyses RMN DOSY des composés 20, 23 et 23b effectuée par l'équipe GOBS 358

3- Analyses de dichroïsme circulaire de la H_2TPPS_4 à différentes concentration ... 358

4- Etude de l'interaction β-CD native/H_2TPPS_4 par mesures de cd..... 359

Bibliographie 362

I- Annexe 1 : Algorithmes permettant de déterminer D_t à partir des mesures de DLS

La taille de particules peut être obtenue en utilisant différents algorithmes classés en deux types d'approches.

A-Méthode des cumulants (en agrément avec la norme ISO133121)

Dans la première approche, on considère que la distribution est monomodale donc seule une valeur moyenne du coefficient de diffusion est déterminée. Dans ce cadre, la fonction d'autocorrélation est modélisée par un polynôme (**Figure A - 1**).

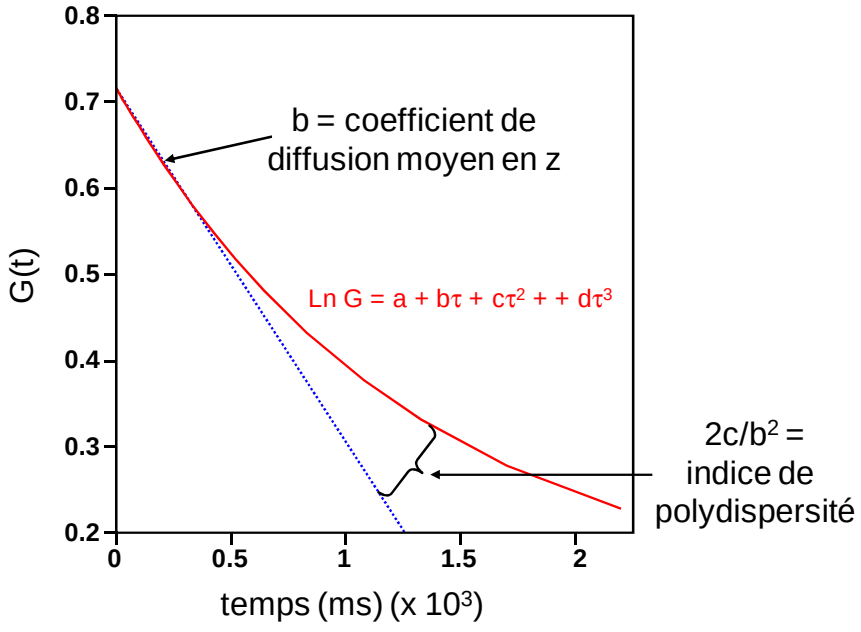


Figure A - 1 : *traitement de la fonction d'autocorrélation par la méthode des cumulants. (figure issue d'un document support de la société Malvern Instruments)*

Si l'échantillon est monodisperse la fonction sera une droite et s'il est polydisperse la fonction d'autocorrélation sera une courbe. Ce polynôme permet d'obtenir la taille moyenne des

particules de l'échantillon ainsi que la largeur de la distribution de taille de particules i.e., indice de polydispersité. Dans le cas d'un échantillon polydisperse, l'écart à la linéarité de la courbe permettra de déterminer la polydispersité.

L'expression de la polydipersité (pdI) est la suivante :

$$pdI = \left(\frac{\sigma}{d}\right)^2 \qquad \textbf{(A-1)}$$

σ écart-type

d diamètre moyen

Cette méthode ne donne que la taille moyenne en intensité et le pdI et n'est donc juste que pour des échantillons considérés comme monodisperses i.e. pdI < 0.25.

B- Méthodes NNLS et CONTIN

La deuxième approche s'applique dans le cas d'échantillons multimodaux et permet d'accéder la distribution de tailles de particules. Pour cela, la fonction d'autocorrélation est modélisée par une fonction simple ou multi exponentielle via les algorithmes NNLS (non-negative least square) ou CONTIN (Constrained Regularization Method for Inverting Data). Dans les deux cas, on accède à la distribution de particules présentes dans l'échantillon. Cependant, dans le cas de l'algorithme CONTIN, aucune hypothèse préalable n'est faite sur le nombre de populations présentes dans l'échantillon. C'est un algorithme général, certains paramètres peuvent toutefois être fixés tels que la gamme de distribution de tailles, le nombre de points ou le niveau de bruit.

II- Annexe 2 : TDA – Corrections dues aux conditions expérimentales

La théorie de Taylor-Aris a été développée en supposant des conditions idéales. Pour palier aux écarts à l'idéalité rencontrés expérimentalement, différentes corrections sont effectuées lors du traitement des données expérimentales.

A-Correction due à la géométrie du capillaire

Le capillaire utilisé en TDA est enroulé bien qu'il soit analytiquement considéré comme droit dans la théorie de Taylor-Aris. Quand une solution traverse un capillaire de rayon interne *R* et enroulé avec un rayon de courbure a_0, un flux secondaire s'ajoute au flux principal. Ce flux additionnel contribue alors aux phénomènes de dispersion de la matière qui ont lieu au sein du capillaire. A. Alizadeh et al. [1] ont été les premiers à étudier les effets de la non idéalité des conditions expérimentales sur la diffusion. Parmi les paramètres utilisés pour caractériser la dispersion dans un tube enroulé, ils ont plus particulièrement utilisé les suivants :

$\omega = R/a_o$	rapport de rayons	(**A-2**)
$R_e = 2a_0 u_x \rho/\eta$	Nombre de Reynolds	(**A-3**)
	$R_e < 2000$ dans le cas d'un flux laminaire	
$Sc = \eta/\rho D_m$	Nombre de Schmidt	(**A-4**)
$D_e = R_e \omega^{-1/2}$	Nombre de Dean	(**A-5**)

Leurs travaux ont permis de conclure que l'effet de la courbure du capillaire sur la dispersion est négligeable quand les conditions suivantes sont respectées :

$\omega \geq 100$ i.e., pour des capillaires de rayon de courbure élevé

$D_e^2 Sc \leq 20$

Ces deux conditions sont généralement remplies dans les conditions de dispersion de Taylor.

B- Correction due à la pression d'injection

Dans les appareils de CE commerciaux, il existe un délai entre le moment où la pression d'injection est appliquée et le temps où le solvant atteint la vitesse d'analyse. Ce délai change le temps de détection (t_d), ce qui peut induire une erreur dans la détermination du coefficient de dispersion. Sharma et al.[2] ont montré que ce temps de détection observé dépend de la vitesse à laquelle la pression appliquée atteint la pression d'analyse (u_i). Ils ont alors proposé une correction du temps de détection prenant en compte ce paramètre (**équation A-6**) :

$$t_{d,corrP} = \frac{t_{d,obs} + \sqrt{t_{d,obs}^2 - \frac{16\eta L l_d}{R^2 u_i}}}{2} \qquad \textbf{(A-6)}$$

$t_{d,corrP}$ temps de détection corrigé du délai dû à la rampe de pression (s)

$t_{d,obs}$ temps de détection observé expérimentalement (s)

L longueur du capillaire (m)

l_d longueur de détection (m)

u_i vitesse d'augmentation de la pression pour atteindre la pression d'analyse (Pa/s)

En pratique, on applique la relation (**A-7**) :

$$t_{d,corrP} = t_{d,obs} - \frac{t_i}{2} \qquad \textbf{(A-7)}$$

t_i temps nécessaire pour atteindre pression d'analyse (P_i) (s)

C-Correction due au volume d'injection

En théorie, on suppose que le volume injecté est infiniment petit ce qui n'est pas le cas en réalité, car un volume fini V_i occupant une largeur l_i est injecté. Le temps de détection sera alors décalé du fait de la largeur de ce pic d'injection. De même, ce pic d'injection a une certaine variance correspondant à sa largeur qui s'additionnera à la variance due à la dispersion. H. Cottet et al. [3] ont proposé une correction de ces deux paramètres.

Le temps de détection observé expérimentalement ($t_{d,corr,P}$) est le temps nécessaire pour que le centre de cette bande d'injection atteigne le détecteur :

$$t_{d,corrP} = \frac{l_d - \frac{l_i}{2}}{u_x} \qquad \textbf{(A-8)}$$

Avec : $u_x = \frac{l_d - \frac{l_i}{2}}{t_{d,corrP}} = \frac{l_d}{t_{d,corrV}}$ **(A-9)**

$t_{d,corr,V}$ temps de détection corrigé du délai dû au volume d'injection (s)

u_x vitesse de convection moyenne dans le capillaire (m/s)

En combinant les équations (**A-8**) et (**A-9**), on obtient alors la relation suivante (**équation A-10**) qui permet de corriger le temps de détection observé :

$$t_{d,corr,V} = t_{d,corr,P} \cdot \frac{1}{1 - \frac{V_i}{2V_d}} \qquad \textbf{(A-10)}$$

Avec : $\frac{l_i}{l_d} = \frac{V_i}{V_d}$ **(A-11)**

La variance du pic obtenu (**équation A-12**) est la somme de la variance d'une bande de taille infiniment petite ayant parcourue la distance l_d - l_i (**équation A-13**) et d'une variance additionnelle due au volume d'injection fini (**équation A-14**) :

$$\sigma_{corr}^2 = \sigma^2 + \sigma_{inj}^2 \qquad \textbf{(A-12)}$$

$$\sigma^2 = \frac{H \cdot (l_d - l_i)}{u_x^2} \qquad \textbf{(A-13)}$$

$$\sigma_{inj}^2 = \frac{l_i^2}{12 u_x^2} \qquad \textbf{(A-14)}$$

Ce qui conduit à l'expression (A-**15**) :

$$\sigma_{corr}^2 = \frac{1}{u_x^2} \cdot \left(H \cdot (l_d - l_i) + \frac{l_i^2}{12} \right) \qquad \textbf{(A-15)}$$

Après recombinaison, on obtient alors l'équation (**A-16**) :

$$\sigma_{corr}^2 = \frac{1}{1 - \frac{V_i}{V_d}} \cdot \left(\sigma^2 - \frac{t_{d,corr,P}^2}{12} \cdot \frac{\left(\frac{V_i}{V_d} \right)^2}{\left(1 - \frac{V_i}{2V_d} \right)^2} \right) \qquad \textbf{(A-16)}$$

On constate que σ_{corr} dépendant du ratio V_i/V_d.

Pour éviter l'effet du volume d'injection sur le profil d'élution, on se place dans des conditions où :

$$V_i / V_d \leq 1\% \qquad \textbf{(A-17)}$$

Par ailleurs, l'utilisation d'appareil de dispersion de Taylor comportant deux fenêtres de détection au lieu d'une permet de s'affranchir des corrections dues au volume d'injection [4].

Bibliographie

(1) Alizadeh, A.; De Castro, C. N.; Wakeham, W. A. *Int. J. Thermophys.* **1980**, *1* (3), 243–284.

(2) Sharma, U.; Gleason, N. J.; Carbeck, J. D. *Anal. Chem.* **2005**, *77* (3), 806–813.

(3) Cottet, H.; Martin, M.; Papillaud, A.; Souaïd, E.; Collet, H.; Commeyras, A. *Biomacromolecules* **2007**, *8* (10), 3235–3243.

(4) Chamieh, J.; Cottet, H. *J. Chromatogr. A* **2012**, *1241*, 123–127.

III- Annexe 3 : Figures et tableaux de résultats d'analyses annexes effectuées sur les composés présentés dans les chapitres 3 et 4

A-Analyses DLS des composés étudiés dans le chapitre 3 - partie I

1- Mesure de la taille et de la polydispersité des agrégats en fonction du lot et de la concentration en solution mère de CDs

Tableau A - 1 : *Mesures de DLS effectuées sur* ***6*** *à 10 mM préparé avec 1 équivalent de NaOH. Les mesures ont été réalisées un jour après la préparation des solutions.*

Lot	**NT185[b]**	**NT185[b]**	**NT186.1[b]**	**NT186.2[b]**	**NT185[c]**	**NT186.1[d]**
kcoups / s	**1080**	**825 ± 10**	**4730 ± 180**	**120**	**640 ± 140**	**4760**
D_h (nm)[a]	**780 ± 240**	**310 ± 10**	**630 ± 100**	**240 ± 1**	**1850 ± 790**	**400 ± 10**
Indice de polydispersité	0.34	0.31	0.33	0.39	0.47	0.2
Nombre de mesures	8	2	6	2	6	4

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Solution directement préparée à 10 mM.
[c] Solution préparée par dilution d'une solution mère à 20 mM.
[d] Solution préparée par dilution d'une solution mère à 50 mM.

Une variation de la taille des agrégats est observée pour deux solutions préparées directement à 10 mM avec le même lot (NT185). Une variation de la taille des agrégats est également observée pour des lots différents lot ou en fonction de la concentration de la solution mère utilisée pour la préparation de l'échantillon. Ces résultats montrent que la formation d'agrégats non spécifiques est non reproductible.

2- Suivi par DLS de l'élimination des agrégats non spécifiques de CDs

Lors des différentes études effectuées sur les CDs modifiées, les solutions mères de CDs sont restées une nuit sous agitation après leur préparation. Le lendemain, elles ont été centrifugées puis filtrées selon le protocole de retrait des agrégats non spécifiques de CDs mis au point (centrifugation pendant 30min à 15300 g ou 21380 g, en fonction de l'équipement à notre disposition, puis filtration sur membrane de porosité de 0.2 µm). Les résultats de caractérisation par DLS ainsi que le pourcentage d'agrégats retirés sont décrits dans cette annexe. Les solutions de CDs natives ont été agitées durant une nuit suite à leur préparation. Elles ont ensuite été utilisées sans traitement de retrait des agrégats et ont servi de référence pour l'association avec les invités choisis.

Tableau A - 2 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration des solutions mères de composés* ***a) 6*** *et* ***b) 7*** *utilisées pour les analyses ITC (Chapitre 3 ; figure 11).*

a)	**6 à 12 mM (lot NT186.2)**	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**120**	**4**
D_h (nm)[a]	240 ± 1	2.8 ± 0.5
Indice de polydispersité	0.39	0.44 ± 0.28
Nombre de mesures	2	2
% d'agrégats retirés	/	**3.7**
Conc. finale (mM)	/	**11.6**

b)	**7 à 12 mM**	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**220**	**3**
D_h (nm)[a]	560 ± 10	195 ± 30
Indice de polydispersité	0.69	0.55
Nombre de mesures	2	2
% d'agrégats retirés	/	**6.8**
Conc. finale (mM)	/	**11.3**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

B- Préparation et analyses annexes des solutions de composés étudiés dans le chapitre 3 - partie II – A-1

1- Analyses DLS des solutions de composés utilisés lors de l'étude de l'interaction des CDs pontées avec l'acide benzoïque

Composé 8 :

Tableau A - 3 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration des solutions de composé* ***8 a)*** *à 22.1 mM et* ***b)*** *à 22 mM.*

a)	**8 à 22.1 mM (lot RB1068)**	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**750**	**4**
D_h (nm)[a]	440 ± 10	90 ± 220
Indice de polydispersité	0.34	0.44 ± 0.28
Nombre de mesures	2	2
% d'agrégats retirés	/	**2.8**
Conc. finale (mM)	/	**21.5**

b)	**8 à 22 mM (lot RBC21116)**	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**170 ± 80**	**4**
D_h (nm)[a]	990 ± 110	6 ± 1
Indice de polydispersité	0.39	0.30
Nombre de mesures	4	2
% d'agrégats retirés	/	**1.8**
Conc. finale (mM)	/	**21.6**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

Composé 9 :

Tableau A - 4 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration des solutions de composé* ***9 a)*** *à 43.4 mM et* ***b)*** *à 20.05 mM.*

a)	**9 à 43.4 mM (lot DC356)**	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**30**	**4**
D_h (nm)[a]	330 ± 5	2.1 ± 0.5
Indice de polydispersité	0.62	0.23
Nombre de mesures	2	2
% d'agrégats retirés	/	**4.1**
Conc. finale (mM)	/	**41.6**

b)	**9 à 20.05 mM (lot RBC40416)**	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**2770**	**3.4**
D_h (nm)[a]	330 ± 8	3.9 ± 0.3
Indice de polydispersité	0.26	0.26
Nombre de mesures	2	2
% d'agrégats retirés	/	**1.8**
Conc. finale (mM)	/	**19.69**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

Composé 10 :

Tableau A - 5 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration des solutions de composé* ***10 a)*** *à 20.6 mM et* ***b)*** *à 19.96 mM.*

a)	**10 à 20.6 mM (lot RB1069)**	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**95 ± 30**	**5**
D_h (nm)[a]	450 ± 270	5 ± 3
Indice de polydispersité	0.55 ± 0.21	0.37 ± 0.1
Nombre de mesures	3	4
% d'agrégats retirés	/	**2.8**
Conc. finale (mM)	/	**20**

b)	10 à 19.96 mM (lot RBC60416)	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**705**	**5**
D_h (nm)[a]	540 ± 80	90 ± 220
Indice de polydispersité	0.55	3.5 ± 1
Nombre de mesures	2	2
% d'agrégats retirés	/	**2.4**
Conc. finale (mM)	/	**19.5**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

2- Préparation des solutions pour les mesures de cd

Pour les mesures de cd, une solution mère d'acide benzoïque a été mélangée soit à une solution d'α-CD native soit aux solutions mères de CDs pontées afin d'obtenir des solutions ayant une concentration finale de 8 mM en CD et 1 mM en acide benzoïque.

Tableau A - 6 : *Préparation des solutions CD/acide benzoïque pour les mesures de cd.*

	α-CD	8 (lot RB1068)	9 (lot DC356)	10 (lot RB1069)
Concentration finale en CDs (mM)	**8.1**	**8.3**	**8.6**	**8.3**
Concentration finale en invité (mM)	**1**	**1**	**1**	**1**

3- pH des solutions utilisées pour les analyses ITC

Tableau A - 7 : *Concentrations et pH des solutions d'acide benzoïque préparées pour les analyses ITC.*

	Acide benzoïque			
Concentration (mM)	**0.41**	**1.01**	**2**	**9.98**
pH	**n.m.[a]**	**3.8**	**n.m.[a]**	**3.19**

[a] non mesuré

Tableau A - 8 : *Concentrations et pH des solutions de CDs préparées pour les analyses ITC.*

a)	α-CD	
Concentration (mM)	**1**	**10**
pH	**6.02**	**6.15**

b)	8 (lot RB1068)	8 (lot RBC21116)
Concentration (mM)	**4.16**	**10.33**
pH	**n.m.[a]**	**2.19**

c)	9 (lot RBC40416)
Concentration (mM)	**19.7**
pH	**n.m.[a]**

d)	10 (lot RBC60416)
Concentration (mM)	**19.5**
pH	**n.m.[a]**

[a] non mesuré

Pour la préparation des solutions tamponnées, des solutions mères d'acide benzoïque, d'α-CD native et de composé **8** (lot RBC21116) précédemment préparées dans l'eau ont été mélangées à une solution de tampon acide formique à 100 mM de façon à obtenir une concentration finale de 40 mM en tampon acide formique à pH 3.5 et la concentration souhaitée en invité et CDs.

Tableau A - 9 : *Préparation des solutions d'invité en milieu tamponné (acide formique 40 mM, pH=3.5).*

	Acide benzoïque	
Concentration (mM)	**0.99**	**9.99**
pH	**3.56**	**3.51**

Tableau A - 10 : *Préparation des solutions de CDs en milieu tamponné (acide formique 40 mM, pH=3.5)*

	α-CD		8 (lot RBC21116)	
Concentration (mM)	**1**	**10**	**1.04**	**10.28**
pH	**3.56**	**3.58**	**3.59**	**3.38**

4- Calcul de la concentration en acide benzoïque ionisé en absence et en présence de tampon acide formique 40 mM, pH=3.5

$$HA \rightleftharpoons A^- + H^+$$

En absence de tampon :

La concentration en acide faible est déterminée à l'aide des relations suivantes :

La loi d'action de masse : $K = A^- \cdot H^+ / HA$ (**A-18**)

L'équation de conservation de la matière : $Ca = HA + A^-$ (**A-19**)

L'équation d'électroneutralité : $H^+ = A^- + OH^- \approx A^-$ (**A-20**)

Ces relations permettent d'aboutir à une équation du second degré (**équation A-21**) dont la solution permet d'obtenir la concentration en acide faible (HA) en fonction des paramètres initiaux connus (**équation A-22**) :

$$(HA)^2 - (2 \cdot Ca + K) \cdot HA + Ca^2 = 0 \qquad \textbf{(A-21)}$$

$$HA = Ca - \frac{K}{2} \cdot \left[\sqrt{1 + \frac{4 \cdot Ca}{K}} - 1 \right] \qquad \textbf{(A-22)}$$

En présence de tampon acide formique 40 mM, pH=3.5 :

La concentration en acide faible en milieu tamponné peut être déterminée à l'aide de la loi d'action de masse et de l'équation de conservation de la matière. On obtient alors la relation (**A-23**) qui permet de déterminer HA, connaissant le pH fixé par le tampon :

$$HA = \frac{Ca}{1 + \frac{K}{[H^+]}} \qquad \textbf{(A-23)}$$

5- Analyses DLS des composés utilisés lors de l'étude de l'interaction des CDs pontées avec les dérivés de l'aniline

Composé 8 :

Tableau A - 11 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration d'une solution de composé **8** à 20 mM.*

	8 à 20 mM (lot RBC20416)	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**190 ± 45**	**4**
D_h (nm)[a]	540 ± 30	7 ± 5.7
Indice de polydispersité	0.36	0.39
Nombre de mesures	2	2
% d'agrégats retirés	/	**1.5**
Conc. finale (mM)	/	**19.69**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

Composé 9 :

cf. ***Tableau A - 4-b***

Tableau A - 12 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration d'une solution de composé **9** à 22.04 mM.*

	9 à 22.04 mM (lot RB1072-73)	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**27**	**4**
D_h (nm)[a]	340 ± 15	6 ± 1
Indice de polydispersité	0.68	0.30
Nombre de mesures	2	2
% d'agrégats retirés	/	**2.7**
Conc. finale (mM)	/	**21.4**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

Composé 10 :

cf. ***Tableau A - 5-b***

Tableau A - 13 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration d'une solution de composé **10** à 21.69 mM.*

	10 à 21.69 mM (lot RBC61116)	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**730**	**5**
D_h (nm)[a]	1500 ± 100	910 ± 1800
Indice de polydispersité	0.35	0.32
Nombre de mesures	2	2
% d'agrégats retirés	/	**1.3**
Conc. finale (mM)	/	**21.4**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

Tableau A - 14 : *Préparation des solutions de CDs en milieu tamponné (pipérazine à 40mM, pH=6).*

a)	**α-CD**			
Concentration (mM)	**1**	**1.01**	**9.96**	**10**
pH	**5.89**	**5.94**	**6.09**	**5.93**

b)	**9 (lot RB1072-73)**	
Concentration (mM)	**1.05**	**10.24**
pH	**6.2**	**5.9**

c)	**10 (lot RBC61116)**		
Concentration (mM)	**1.03**	**1.02**	**10.24**
pH	**5.93**	**6.13**	**5.98**

6- Calcul du pH des solutions acides de CDs pontées (CDCn) à l'aide du pKa des diamines primaires correspondantes

Deux équilibres de protonation des amines secondaires du pont ont lieu en présence de l'acide trifluoroacétique (TFA) :

(1) $H^+ + CDCn \rightleftharpoons CDCnH^+$

(2) $H^+ + CDCnH^+ \rightleftharpoons CDCnH_2^+$

Le pH d'une solution contenant une concentration totale en CDs pontées CDCn0 et une concentration totale en acide TFA0 est déterminé à l'aide des relations suivantes :

La loi d'action de masse : $K_1 = H^+ \cdot CDCn / CDCnH^+$ (**A-24**)

$K_2 = H^+ \cdot CDCnH^+ / CDCnH_2^{2+}$ (**A-25**)

L'équation de conservation de la matière : $CDCn0 = CDCn + CDCnH^+ + CDCnH_2^{2+}$ (**A-26**)

L'équation d'électroneutralité : $H^+ + CDCnH^+ + 2 \cdot CDCnH_2^{2+} = TFA0 + OH^-$ (**A-27**)

En supposant que le pH des solutions est acide, on peut négliger OH^- devant H^+ et en supposant qu'au moins un équivalent de TFA est présent par rapport aux CD pontées, on peut négliger CDCn.

Ces 2 hypothèses permettent d'aboutir à une équation du second degré (**équation A-28**) dont la solution permet d'obtenir la concentration en protons en fonction des paramètres initiaux connus (**équation A-29**) :

$$(H^+)^2 + H^+ \cdot (K_2 + 2 \cdot CDCn0 - TFA0) + (CDCn0 - TFA0) \cdot K_2 = 0 \quad \textbf{(A-28)}$$

$$H^+ = \left[\sqrt{(K_2^2 + 2CDCn0 - TFA0)^2 - 4 \cdot K_2 \cdot (CDCn0 - TFA0)} - (K_2^2 + 2CDCn0 - TFA0) \right] / 2$$

(A-29)

7- Analyses DLS des composés utilisés lors de l'étude du coefficient de diffusion du TFA

Composé 9 dans D_2O :

Tableau A - 15 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration d'une solution de composé **9** à 20.88 mM.*

	9 à 20.88 mM dans D_2O (lot RB1072)	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**850**	**3**
D_h (nm)[a]	590 ± 160	1990 ± 40
Indice de polydispersité	0.4	0.46
Nombre de mesures	2	2
% d'agrégats retirés	/	**4.5**
Conc. finale (mM)	/	**19.95**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

8- Analyses DLS effectuées avant les mesures viscosimétriques des composés 9 et 11

La solution mère d'α-CD native référence a été préparée à 50 mM, un jour avant les analyses puis diluée progressivement afin de réaliser les mesures à différentes concentrations. Les solutions de **9** ont été préparées par dilutions successives à partir d'une solution mère préparée la veille puis centrifugée et filtrée le jour des analyses (**Tableau A - 16**).

Tableau A - 16 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration d'une solution de composé **9** à 20.32 mM.*

	9 à 20.32 mM (lot RB1072-73)	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**120 ± 5**	**2**
D_h (nm)[a]	300 ± 15	2.4 ± 1.9
Indice de polydispersité	0.3	0.28
Nombre de mesures	2	4
% d'agrégats retirés	/	**4**
Conc. finale (mM)	/	**19.5**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

Dans le cas du composé **11,** une solution mère a été préparée la veille à une concentration de 26 mM en unités de CDs et les agrégats non spécifiques de CDs ont été également été retirés le jour des analyses (**Tableau A - 17**).

Tableau A - 17 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration d'une solution de composé **11** à 26 mM en unités de CDs.*

	11 à 26 mM	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**1300**	**20**
D_h (nm)[a]	**740 ± 180**	**170 ± 6**
Indice de polydispersité	0.32	0.9
Nombre de mesures	2	2
% d'agrégats retirés	/	**4.7**
Conc. finale (mM)	/	**25**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

C-Analyses annexes des composés étudiés dans le chapitre 3-partie II - A - 2

1- Analyses DLS effectuées sur les α-CD-C_4 monosubstituées

Composé 9 : cf. ***Tableau A - 16***

Composé 9 dans D_2O :

Tableau A - 18 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration d'une solution de composé **9** à 45.5 mM.*

	9 à 45.5 mM dans D_2O (lot DC356)	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**1800 ± 280**	**5**
D_h (nm)[a]	1240 ± 260	1.8 ± 0.2
Indice de polydispersité	0.33	0.31
Nombre de mesures	2	2
% d'agrégats retirés	/	**1.8**
Conc. finale (mM)	/	**44.7**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

Composé 12 :

Les premières analyses effectuées sur les lots DC132 et DC202 du composé **12** ont été effectuées avant la mise au point du protocole de retrait des agrégats par centrifugation suivie d'une filtration. Dans le cas du lot DC132, la solution mère a été filtrée sur une membrane 0.2 µm mais la quantité d'agrégats retirés n'a pas été mesurée (**Tableau A - 19 - a**). Dans le cas du lot DC202, la solution mère a été centrifugée et 5.4% d'agrégats ont été retirés (**Tableau A - 19 - b**).

Tableau A - 19 : *Elimination des agrégats par centrifugation ou filtration des solutions de composé* ***12*** *à* ***a)*** *20 mM et* ***b)*** *29.6 mM.*

a)	**12 à 20 mM (lot DC132)**	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**30**	**2**
D_h (nm)[a]	580 ± 90	2.4 ± 1.9
Indice de polydispersité	0.5	0.28
Nombre de mesures	2	**4**
% d'agrégats retirés	/	**n.q.[c]**

b)	**12 à 29.6 mM (lot DC202)**	
Traitement effectué	/	[d]
kcoups/s	**194**	**20**
D_h (nm)[a]	860 ± 20	430 ± 70
Indice de polydispersité	0.33	0.74
Nombre de mesures	2	2
% d'agrégats retirés	/	**5.4**
Conc. finale (mM)	/	**27.8**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Filtration (0.2 µm)
[c] non quantifié
[d] Centrifugation (15300 g / 30 min)

Composé 12 dans D_2O :

Tableau A - 20 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration des solutions de composé* ***12 a)*** *à 49 mM et* ***b)*** *à 52.3 mM.*

a)	**12 à 49.3 mM dans D_2O (lot DC202)**	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**2500 ± 100**	**20**
D_h (nm)[a]	1330 ± 115	104 ± 1
Indice de polydispersité	0.5	0.73
Nombre de mesures	2	2
% d'agrégats retirés	/	**6.1**
Conc. finale (mM)	/	**46.3**

b)	**12 à 52.3 mM dans D_2O (lot RB1-036)**	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**140**	**7**
D_h (nm)[a]	620 ± 300	1.3 ± 0.8
Indice de polydispersité	0.35	0.6
Nombre de mesures	2	2
% d'agrégats retirés	/	**2.9**
Conc. finale (mM)	/	**50.8**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

Composé 13 :

Tableau A - 21 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration d'une solution de composés* ***13*** *à 19.2 mM.*

	13 à 19.2 mM (lot DC207)	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**1800 ± 280**	**7**
D_h (nm)[a]	1240 ± 260	2.2 ± 0.1
Indice de polydispersité	0.33	0.66
Nombre de mesures	2	4
% d'agrégats retirés	/	**2.3**
Conc. finale (mM)	/	**18.8**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

Composé 14 :

Tableau A - 22 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration d'une solution de composé **14** à 16 mM.*

	14 à 16 mM (lot DC209)	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**230 ± 240**	**4**
D_h (nm)[a]	1600 ± 1830	2.3 ± 0.9
Indice de polydispersité	0.7	0.29
Nombre de mesures	4	4
% d'agrégats retirés	/	**2.6**
Conc. finale (mM)	/	**15.6**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

Composé 15 :

Les analyses effectuées sur le composé **15** ont été effectuées avant la mise au point du protocole de retrait des agrégats par centrifugation suivie d'une filtration. La solution de composé **15** a donc été uniquement centrifugée et 7.4% d'agrégats ont été retirés (**Tableau A - 23**).

Tableau A - 23 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation d'une solution de composé **15** à 6.2 mM.*

	15 à 6.2 mM (lot DC294)	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**1660 ± 250**	**3**
D_h (nm)[a]	1940 ± 470	3 ± 1
Indice de polydispersité	0.42 ± 0.1	0.37
Nombre de mesures	4	3
% d'agrégats retirés	/	**7.4**
Conc. finale (mM)	/	**5.8**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min).

Composé 16 :

Tableau A - 24 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration d'une solution de composé* ***16*** *à 52.6 mM.*

	16 à 52.6 mM (lot DC359)	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**20**	**10**
D_h (nm)[a]	1330 ± 110	2.3
Indice de polydispersité	0.6	0.2
Nombre de mesures	2	2
% d'agrégats retirés	/	**2.2**
Conc. finale (mM)	/	**51.3**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

Composé 16 dans D_2O :

Tableau A - 25 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration d'une solution de composé* ***16*** *à 52.6 mM.*

	16 à 52.6 mM dans D_2O (lot DC364)	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**80 ± 20**	**9**
D_h (nm)[a]	560 ± 80	2
Indice de polydispersité	0.98	0.5
Nombre de mesures	2	2
% d'agrégats retirés	/	**2.6**
Conc. finale (mM)	/	**51.2**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

Composé 17 :

Tableau A - 26 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration d'une solution de composé **17** à 28.4 mM.*

	17 à 28.4 mM (lot DC298)	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**650**	**20**
D_h (nm)[a]	970 ± 150	220 ± 6
Indice de polydispersité	0.74	0.99
Nombre de mesures	4	2
% d'agrégats retirés	/	**4.8**
Conc. finale (mM)	/	**27.1**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

2- Analyses DLS effectuées sur les α-CD-C_4 monosubstituées lors de l'étude de l'effet d'additifs et de la température

Effet de $CaCl_2$

Composé 9 :

Tableau A - 27 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration d'une solution de composé **9** à 43.4 mM.*

	9 à 43.4 mM (lot DC356)	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**30**	**4**
D_h (nm)[a]	330 ± 6	2.1 ± 0.5
Indice de polydispersité	0.62	0.23
Nombre de mesures	2	2
% d'agrégats retirés	/	**4.1**
Conc. finale (mM)	/	**41.6**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

Composé 12 :

Tableau A - 28 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration d'une solution de composé **12** à 43.3 mM.*

	12 à 43.3 mM (lot RB1-036)	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**40**	**6**
D_h (nm)[a]	1720 ± 1400	2.2 ± 0.2
Indice de polydispersité	0.99	0.28
Nombre de mesures	2	4
% d'agrégats retirés	/	**3.6**
Conc. finale (mM)	/	**41.8**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

Effet de la température

Composé 12 :

Tableau A - 29 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration d'une solution de composé **12** à 20.8 mM.*

	12 à 20.8 mM (lot DC304)	
Traitement effectué	/	/
kcoups/s	**280**	**5**
D_h (nm)[a]	250 ± 20	2 ± 0.1
Indice de polydispersité	0.76	0.2
Nombre de mesures	2	4
% d'agrégats retirés	/	**3.3**
Conc. finale (mM)	/	**20.2**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

Composé 16 :

Tableau A - 30 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration d'une solution de composé* ***16*** *à 42 mM.*

	16 à 42 mM (lot DC364+lot DC359)	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**20 ± 4**	**7**
D_h (nm)[a]	290 ± 410	2.4 ± 0.5
Indice de polydispersité	0.92	0.24
Nombre de mesures	2	4
% d'agrégats retirés	/	**1.5**
Conc. finale (mM)	/	**41.4**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

Effet de l'état de charges

Composé 9 :

Tableau A - 31 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration des solutions de composé* ***9*** *à* ***a)*** *40.9 mM et* ***b)*** *43.8 mM.*

a)	**9 à 40.9 mM (lot DC356)**	
Traitement effectué	/	/
kcoups/s	**60 ± 30**	**18**
D_h (nm)[a]	860 ± 180	0.6
Indice de polydispersité	0.92	0
Nombre de mesures	2	1
% d'agrégats retirés	/	**6.9**
Conc. finale (mM)	/	**38**

b)	**9 à 43.8 mM (lot RB1-072)**	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**310**	**4**
D_h (nm)[a]	310 ± 10	3 ± 2
Indice de polydispersité	0.21	0.27
Nombre de mesures	2	6
% d'agrégats retirés	/	**3.1**
Conc. finale (mM)	/	**42.5**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

Composé 9 dans D_2O :

Tableau A - 32 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration d'une solution de composé **9** à 49.7 mM.*

	9 à 49.7 mM dans D_2O (lot RB1-072)	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**180**	**5**
D_h (nm)[a]	300 ± 30	1.4 ± 0.1
Indice de polydispersité	0.2	0.27
Nombre de mesures	2	2
% d'agrégats retirés	/	**1.1**
Conc. finale (mM)	/	**49.2**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

Dans le cadre de l'étude par SANS de l'effet de K_2CO_3 sur le composé témoin **9**, 2 équivalents de K_2CO_3 ont été ajoutés sur 20 mM de **9**, préparée par dilution de la solution mère à 49.2 mM. Le mélange a ensuite été centrifugé et filtré afin de retirer d'éventuels agrégats qui pourraient se former suite à l'ajout de K_2CO_3. La quantification des agrégats ainsi éliminés a ensuite permis de corriger la concentration de CDs en solution lors du traitement des données de SANS.

Tableau A - 33 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration du mélange de **9** à 19.68 mM + K_2CO_3 2 équivalents.*

	9 à 20 mM (lot RB1-072)	**9 à 19.68 mM (lot RB1-072) + K_2CO_3 2 eq. dans D_2O**	
Traitement effectué	/	/	[b]
kcoups/s	**4**	**370**	**4**
D_h (nm)[a]	70 ± 140	1480 ± 20	3 ± 0.6
Indice de polydispersité	0.43	0.2	0.27
Nombre de mesures	4	2	2
% d'agrégats retirés	/	/	**3.29**
Conc. finale (mM)	/	/	**19.03**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

Composé 12 :

Tableau A - 34 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration des solutions de composé **12** à **a)** 37.6 mM et **b)** 43.5 mM.*

a)	**12 à 37.6 mM (lot RB1-036)**	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**210**	**6**
D_h (nm)[a]	700 ± 160	2 ± 0.4
Indice de polydispersité	0.45	0.27
Nombre de mesures	2	6
% d'agrégats retirés	/	**3.4**
Conc. finale (mM)	/	**34.2**

b)	**12 à 43.5 mM (lot RB1-083)**	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**80 ± 30**	**6**
D_h (nm)[a]	700 ± 70	6.2 ± 0.2
Indice de polydispersité	0.4	0.27
Nombre de mesures	2	2
% d'agrégats retirés	/	**2.7**
Conc. finale (mM)	/	**42.3**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

Composé 12 dans D_2O :

Tableau A - 35 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration d'une solution de composé **12** à 53.7 mM.*

	12 à 53.7 mM dans D_2O (lot RB1-083)	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**150 ± 10**	**9**
D_h (nm)[a]	390 ± 120	3 ± 0.3
Indice de polydispersité	0.55	0.26
Nombre de mesures	2	2
% d'agrégats retirés	/	**2.7**
Conc. finale (mM)	/	**52.2**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

Dans le cadre de l'étude par SANS de l'effet de K_2CO_3 sur le composé **12**, 2 équivalents de K_2CO_3 ont été ajouté sur 20 mM de **12**, préparée par dilution de la solution mère à 52.2 mM. Le mélange a ensuite été centrifugé et filtré afin de retirer les éventuels agrégats. La quantification des agrégats ainsi éliminés a ensuite permis de corriger la concentration de CDs en solution lors du traitement des données de SANS.

Tableau A - 36 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration du mélange de **12** à 20 mM + K_2CO_3 2 équivalents.*

	12 à 20 mM (lot RB1-083)	**12 à 20 mM (lot RB1-083) + K_2CO_3 2 eq. dans D_2O**	
Traitement effectué	/	/	[b]
kcoups/s	**12**	**430 ± 190**	**6**
D_h (nm)[a]	1150± 1920	700 ± 650	3 ± 0.4
Indice de polydispersité	0.89	0.6	0.28
Nombre de mesures	4	4	2
% d'agrégats retirés	/	/	**4.49**
Conc. finale (mM)	/	/	**18.98**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

Par la suite, un mélange de **12** (lot RB1-045) et de 2 équivalents de K_2CO_3 a été préparé par l'équipe GOBS pour les analyses T-ROESY. Cet échantillon a ensuite été analysé par SANS, sans filtration préalable. Un résultat similaire à celui du mélange **12** à 20 mM (lot RB1-083) + K_2CO_3 2 eq., précédemment analysé, a été obtenu (cf. Chapitre 3 ; Tableau 23). Au vu de la faible quantité d'agrégats formés dans ces conditions, la filtration du mélange n'est donc pas nécessaire avant l'analyse SANS.

Composé 16 :

Tableau A - 37 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration d'une solution de composé **16** à 42 mM.*

	16 à 42 mM (lot DC364+lot DC359)	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**20 ± 4**	**7**
D_h (nm)[a]	290 ± 400	2.4 ± 0.5
Indice de polydispersité	0.92	0.24
Nombre de mesures	2	4
% d'agrégats retirés	/	**1.5**
Conc. finale (mM)	/	**41.4**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

Composé 16 dans D_2O :

Un mélange de **16** (lot DC374) à 22 mM et de 1.5 équivalents de K_2CO_3 a été préparé par l'équipe GOBS pour les analyses T-ROESY. Cet échantillon a ensuite été analysé par SANS.

D-Analyses annexes des β-CDs pontées étudiées dans le chapitre 3 - partie II - B - 1

Composé 18 :

Tableau A - 38 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration d'une solution de composé **18** à 15 mM.*

	18 à 15 mM (lot WbC20416)	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**570**	**3**
D_h (nm)[a]	620 ± 31	16 ± 15
Indice de polydispersité	0.42	0.32
Nombre de mesures	2	2
% d'agrégats retirés	/	**1.9**
Conc. finale (mM)	/	**14.7**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

Composé 19 :

Tableau A - 39 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration d'une solution de composé* ***19*** *à 15.2 mM.*

	19 à 15.2 mM (lot WbC304)	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**50 ± 20**	**4**
D_h (nm)[a]	430 ± 30	2.3 ± 0.7
Indice de polydispersité	0.7	0.47
Nombre de mesures	2	4
% d'agrégats retirés	/	**5.4**
Conc. finale (mM)	/	**14.4**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

Composé 20 :

Tableau A - 40 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration des solutions de composé* ***20*** *à* ***a)*** *15.1 mM,* ***b)*** *15 mM,* ***c)*** *15.2 mM et* ***d)*** *10.2 mM.*

a)	**20 à 15.1 mM (lot PE093.1)**	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**40**	**3**
D_h (nm)[a]	580 ± 40	9 ± 7
Indice de polydispersité	0.43	0.34
Nombre de mesures	2	3
% d'agrégats retirés	/	**12.7**
Conc. finale (mM)	/	**13.2**

b)	**20 à 15 mM (lot JUC40516)**	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**200**	**3**
D_h (nm)[a]	370	1.6 ± 1
Indice de polydispersité	0.44	0.45
Nombre de mesures	2	2
% d'agrégats retirés	/	**1.2**
Conc. finale (mM)	/	**14.8**

c)	20 à 15.2 mM (lot JUC40516)	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**200**	**4**
D_h (nm)[a]	340 ± 70	2.7 ± 0.6
Indice de polydispersité	0.43 ± 0.14	0.4
Nombre de mesures	2	2
% d'agrégats retirés	/	**2.4**
Conc. finale (mM)	/	**14.8**

d)	20 à 10.2 mM (lot PE209.1)	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**90 ± 10**	**3**
D_h (nm)[a]	350 ± 20	200 ± 140
Indice de polydispersité	0.59	0.52
Nombre de mesures	2	4
% d'agrégats retirés	/	**6.8**
Conc. finale (mM)	/	**9.56**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

Composé 21 :

Tableau A - 41 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration des solutions de composé **21** à **a)** 15 mM et **b)** 8.4 mM.*

a)	21 à 15 mM (lot WbC50416)	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**80 ± 30**	**4**
D_h (nm)[a]	500	4 ± 3
Indice de polydispersité	0.61	0.35
Nombre de mesures	2	2
% d'agrégats retirés	/	**8.5**
Conc. finale (mM)	/	**13.7**

b)	21 à 8.4 mM (lot WbC51016)	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**360 ± 200**	**10**
D_h (nm)[a]	890 ± 90	280 ± 40
Indice de polydispersité	0.64	0.56
Nombre de mesures	2	2
% d'agrégats retirés	/	**9.7**
Conc. finale (mM)	/	**7.5**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

Composé 22 :

Tableau A - 42 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration d'une solution de composé **22** à 17.2 mM.*

	22 à 17.2 mM (lot WbC60716)	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**8 ± 4**	**5**
D_h (nm)[a]	220 ± 310	100 ± 8
Indice de polydispersité	0.66	0.72
Nombre de mesures	2	2
% d'agrégats retirés	/	**1.4**
Conc. finale (mM)	/	**16.9**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

E- Analyses annexes des composés étudiés dans le chapitre 3 - partie II – B-2 lors de l'étude des β-CDs pontées monosubstituées

1- Analyses DLS effectuées sur le composé 20

Composé 20 :

Tableau A - 43 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration des solutions de composé **20** à **a)** 15.5 mM et **b)** 15.1 mM.*

a)	**20 à 15.5 mM (lot PE093.1)**	
Traitement effectué	**/**	**[b]**
kcoups/s	/	**10**
D_h (nm)[a]	**/**	290 ± 410
Indice de polydispersité	/	0.66
Nombre de mesures	/	2
% d'agrégats retirés	/	**5.8**
Conc. finale (mM)	/	**14.6**

b)	**20 à 15.1 mM (lot PE209.1)**	
Traitement effectué	**/**	**[b]**
kcoups/s	**70**	**2**
D_h (nm)[a]	1040 ± 10	20 ± 20
Indice de polydispersité	0.41	0.33
Nombre de mesures	2	2
% d'agrégats retirés	/	**4.7**
Conc. finale (mM)	/	**14.4**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

2- Analyses effectuées sur le composé 23

Composé 23 :

Tableau A - 44 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration des solutions de composé* ***23*** *à* ***a)*** *16 mM,* ***b)*** *15.5 mM,* ***c)*** *14.5 mM et* ***d)*** *15.3 mM.*

a)	**23 à 16 mM (lot PE089.1)**	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**4000**	**7**
D_h (nm)[a]	660 ± 25	3 ± 0.6
Indice de polydispersité	0.21	0.48
Nombre de mesures	2	4
% d'agrégats retirés	/	**36.8**
Conc. finale (mM)	/	**10.1**

b)	**23 à 15.5 mM (lot PE089.1)**	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	/	14
D_h (nm)[a]	/	**3.4 ± 0.3**
Indice de polydispersité	/	0.48
Nombre de mesures	/	4
% d'agrégats retirés	/	**64.6**
Conc. finale (mM)	/	**5.2**

c)	**23 à 14.5 mM (lot PE089.1)**	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**1900 ± 300**	**60 ± 80**
D_h (nm)[a]	2700 ± 1300	3.5 ± 0.6
Indice de polydispersité	0.49	0.53 ± 0.16
Nombre de mesures	4	4
% d'agrégats retirés	/	**9.4**
Conc. finale (mM)	/	**13.1**

d)	23 à 15.3 mM (lot PE230.1)	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**3300**	**7**
D_h (nm)[a]	370 ± 80	3.9 ± 0.2
Indice de polydispersité	0.64	0.25
Nombre de mesures	4	3
% d'agrégats retirés	/	**18**
Conc. finale (mM)	/	**12.6[c]**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.
[c] Solution centrifugée et filtrée un jour avant l'analyse Cryo-MET

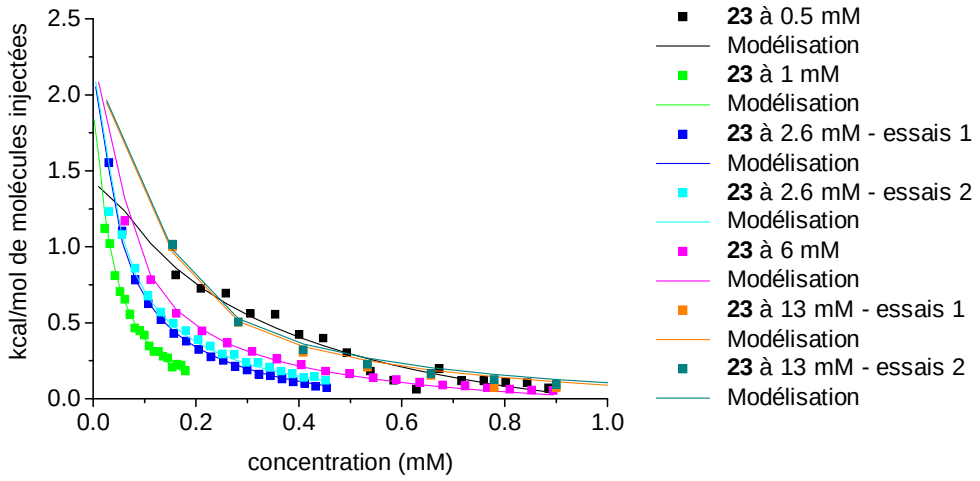


Figure A - 2 : *Isothermes obtenues lors de la dilution dans l'eau du composé **23** à différentes concentrations. La modélisation a été effectuée avec le modèle isodesmique.*

Tableau A - 45 : *Résultats de la modélisation, avec le modèle isodesmique, de l'auto-association du composé **23**.*

	23[a] (lot PE089.1)
Ka (M^{-1})	11000
ΔG (kcal/mol)	-7.8
ΔH (kcal/mol)	-2.9
-TΔS (kcal/mol)	-4.9

[a] Modélisation globale sur sept essais effectués à cinq différentes concentrations : à 13 mM, 5.2 mM, 2.6 mM, 1 mM et 0.52 mM après retrait respectivement des troisième et deuxième points des isothermes obtenues avec les solutions à 0.5 mM et 1 mM.

Composé 23 dans D_2O :

Tableau A - 46 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration d'une solution de composé **23** à 15.7 mM.*

	23 à 15.7 mM dans D_2O (lot PE089.1)	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**2400 ± 90**	**10**
D_h (nm)[a]	1500 ± 400	2.9 ± 0.2
Indice de polydispersité	1	0.71
Nombre de mesures	2	2
% d'agrégats retirés	/	**55.7**
Conc. finale (mM)	/	**6.9**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

3- Analyses effectuées sur le composé 24

Composé 24 :

Tableau A - 47 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration des solutions de composé **23** à **a)** 15.1 mM et **b)** 15.4 mM.*

a)	**24 à 15.1 mM (lot JU332)**	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**3600**	**30**
D_h (nm)[a]	920 ± 20	9
Indice de polydispersité	0.25	0.54
Nombre de mesures	2	2
% d'agrégats retirés	/	**5.5**
Conc. finale (mM)	/	**14.3**

b)	24 à 15.4 mM (lot JU332)	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**570**	**20**
D_h (nm)[a]	370 ± 20	7 ± 3
Indice de polydispersité	0.28	0.33
Nombre de mesures	2	2
% d'agrégats retirés	/	**3**
Conc. finale (mM)	/	**14.9[c]**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.
[c] Solution centrifugée et filtrée deux jours avant l'analyse Cryo-MET

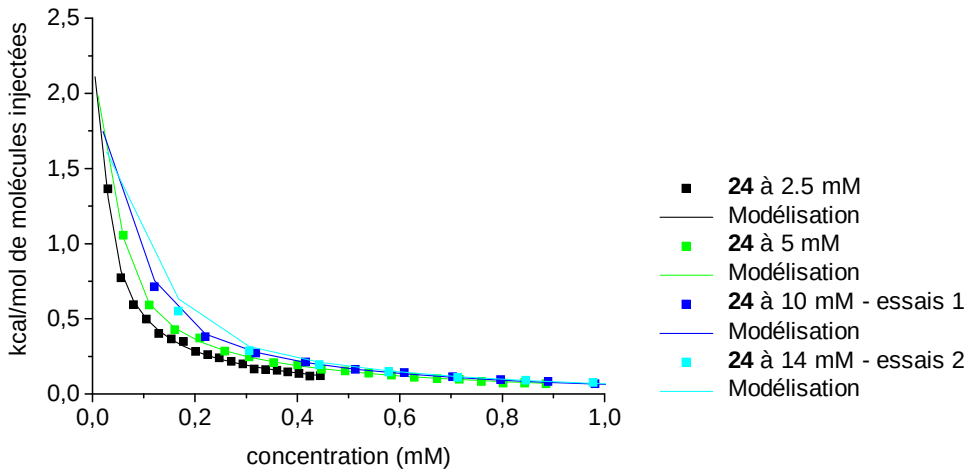


Figure A - 3 : *Isothermes obtenues lors de la dilution dans l'eau du composé **24** à différentes concentrations. La modélisation a été effectuée avec le modèle isodesmique.*

Tableau A - 48 : *Résultats de la modélisation, avec le modèle isodesmique, de l'auto-association du composé **23**.*

	24[a] (lot JU332)
Ka (M^{-1})	28000
ΔG (kcal/mol)	-8.3
ΔH (kcal/mol)	-2.8
-TΔS (kcal/mol)	-5.5

[a] Modélisation globale sur quatre essais effectués aux quatre concentrations suivantes : à 14.3 mM, 10.3 mM, 5.2 mM et 2.6 mM

Composé 24 dans D_2O :

Tableau A - 49 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration d'une solution de composé **24** à 15.4 mM.*

	24 à 15.4 mM dans D_2O (lot JU332)	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**3200**	**30**
D_h (nm)[a]	800 ± 50	7.4 ± 0.1
Indice de polydispersité	0.13	0.66
Nombre de mesures	2	2
% d'agrégats retirés	/	**13.9**
Conc. finale (mM)	/	**13.3**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

Composé 6 dans D_2O :

Tableau A - 50 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration d'une solution de composé **6** à 12 mM préparée dans NaOH 1 équivalent un jour avant les mesures par DLS.*

	6 à 12.6 mM dans D_2O (lot NT186.2)	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	**140 ± 20**	**4**
D_h (nm)[a]	630 ± 2	2.3 ± 2
Indice de polydispersité	0.55	0.4
Nombre de mesures	2	2
% d'agrégats retirés	/	**3.5**
Conc. finale (mM)	/	12.1

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

4- Détermination du facteur de dilution de l'analyse TDA en mode impulsion

Pour la détermination du facteur de dilution de l'analyse TDA en mode impulsion, une solution de composé **24** à 14.9 mM d'une part et une solution d'un polymère à 15.2 mM (un poly(styrène sulfonate) (PSS) de 1800 g/mol) d'autre part, ont été injectées en mode front. En

mode front, l'injection du composé est continue tout au long de l'analyse, il n'y a donc pas de dilution de l'échantillon (**Figure A - 4**). Le facteur de dilution a été déterminé en faisant le rapport de l'intensité du signal UV en mode impulsion sur l'intensité en mode front.

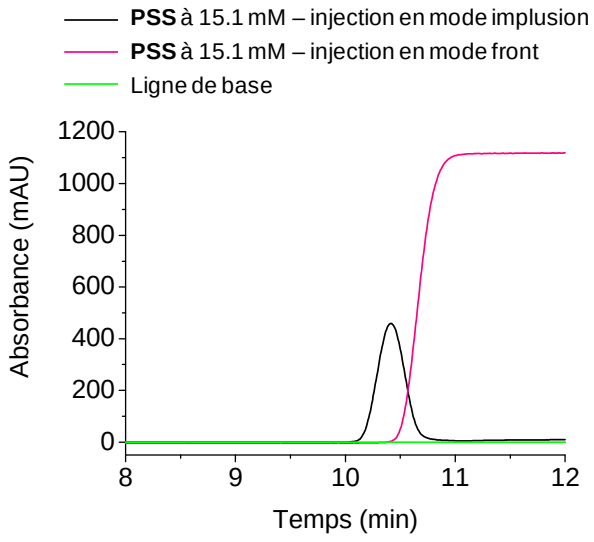


Figure A - 4 : *Taylorgrammes obtenus pour le PSS injecté en modes impulsion et front.*

F- Analyses annexes des composés étudiés dans le chapitre 4 - partie I

1- Analyses DLS effectuées sur les α-CDs substituées

Composé 26 :

Tableau A - 51 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration d'une solution de composé **26** à 31.2 mM.*

	26 à 31.2 mM (lot RB1-062)	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	210	7
D_h (nm)[a]	**410 ± 10**	**170 ± 130**
Indice de polydispersité	0.24	0.48
Nombre de mesures	2	6
% d'agrégats retirés		**2.5**
Conc. finale (mM)		**30.4**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

Composé 26 dans D_2O :

Tableau A - 52 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration d'une solution de composé **26** à 31.2 mM.*

	26 à 25.7 mM dans D_2O (lot DC362)	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	30 ± 20	5
D_h (nm)[a]	**370 ± 220**	**3 ± 1**
Indice de polydispersité	0.95	0.25
Nombre de mesures	2	2
% d'agrégats retirés		**3.9**
Conc. finale (mM)		**24.7**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

Composé 27 :

Tableau A - 53 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration d'une solution de composé **27** à 14.95 mM.*

	27 à 14.95 mM (lot DC263)	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	2100	70
D_h (nm)[a]	**920 ± 280**	**230 ± 20**
Indice de polydispersité	0.4	0.33
Nombre de mesures	2	8
% d'agrégats retirés		**0.9**
Conc. finale (mM)		**14.8**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

Composé 28 :

Tableau A - 54 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration d'une solution de composé* ***28*** *à 13.9 mM.*

	28 à 13.9 mM (lot DC266)	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	800 ± 80	5
D_h (nm)[a]	**370 ± 5**	**3.1 ± 0.2**
Indice de polydispersité	0.62 ± 0.18	0.35
Nombre de mesures	2	2
% d'agrégats retirés		**7.8**
Conc. finale (mM)		**12.8**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

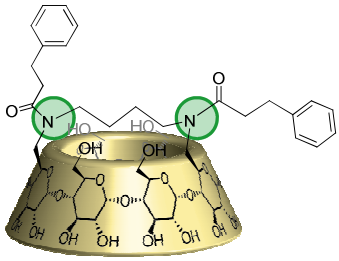
Composé 29 :

Tableau A - 55 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration d'une solution de composé* ***29*** *à 20 mM.*

	29 à 20 mM (lot DC236)	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	220	20
D_h (nm)[a]	**260 ± 2**	**190 ± 20**
Indice de polydispersité	0.25	0.76
Nombre de mesures	2	4
% d'agrégats retirés		**2.1**
Conc. finale (mM)		**19.3**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

2- Caractérisation du composé 30



30

La caractérisation structurale par RMN du composé **30** a été effectuée dans MeOD par l'équipe GOBS[1]. Ils ont effectué un essai de cristallisation et ont obtenu des cristaux sous forme d'aiguilles. Ces cristaux ont été caractérisés par diffraction de rayons X. Cela a permis de mettre en évidence un arrangement cristallin dans lequel un des phényles est inclus dans la cavité de la CD adjacente permettant ainsi la formation d'un PSM linéaire de CDs présentant un espacement de 1.01 nm entre chaque unité monomère. Le 2e phényle permet quant à lui l'établissement d'un 2e niveau d'assemblage via la formation de domaines hydrophobes entre les phényles de 6 colonnes de PSM de CDs. Les unités constitutives de ce 2e niveau d'assemblage sont également associées entre elles par des liaisons hydrogène permettant ainsi la formation d'un 3e niveau d'assemblage hiérarchique (**Figure A - 5**). Par ailleurs, cette étude par diffraction de rayons X, a aussi permis de confirmer que le pont à 4 carbones n'induisait par de déformation de la cavité de l'α-CD.

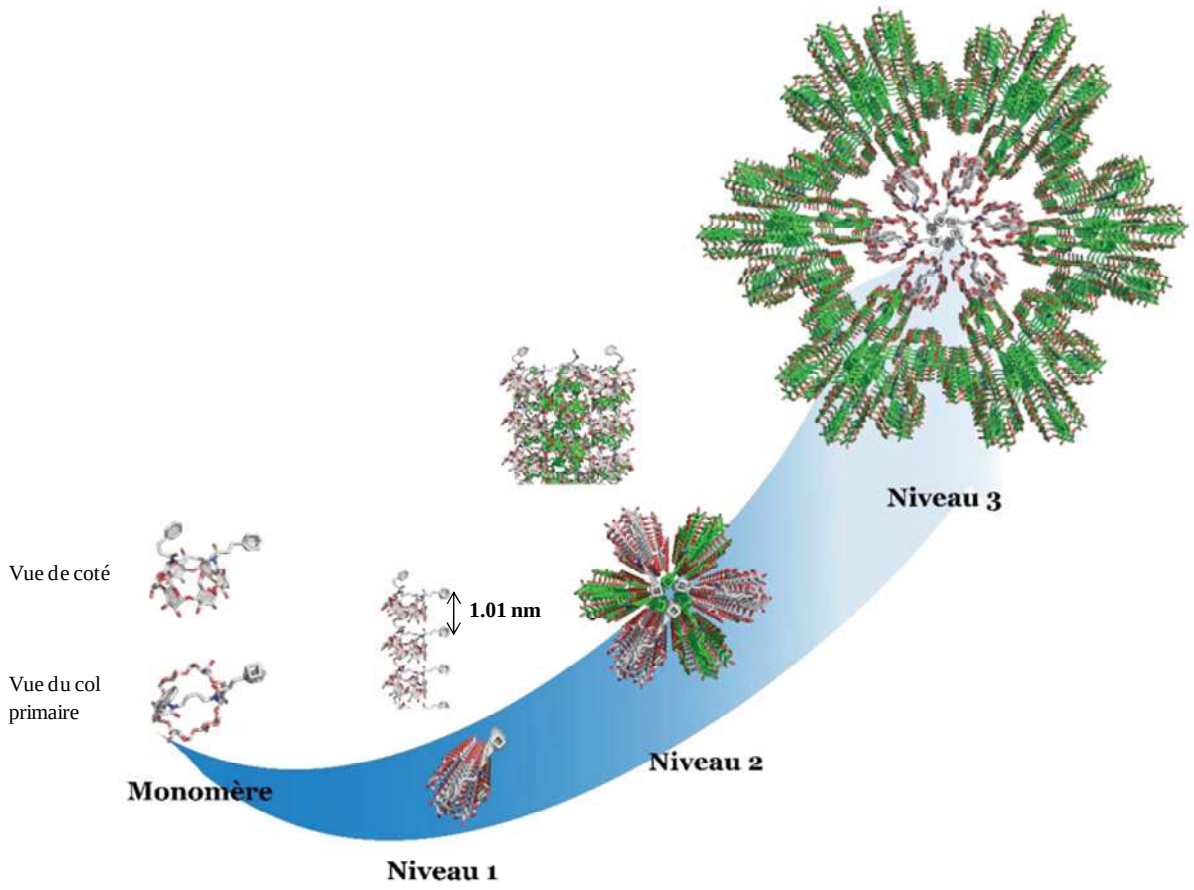


Figure A - 5 : *Schéma des différents niveaux de hiérarchie de l'arrangement cristallin du composé* ***30*** *(adaptation à partir de la ref. [1]).*

La distance de 1.01 nm entre chaque unité monomère déterminée sur ce composé a ensuite été utilisée comme distance inter-monomères lors de la caractérisation des autres composés étudiés durant ce projet.

G-Analyses annexes des composés étudiés dans le chapitre 4 - partie II

1- Analyses DLS des β-CDs

Composé 20 :

Tableau A - 56 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration d'une solution de composé **20** à 15 mM.*

	20 à 15 mM (lot PE234.1)	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	230 ± 40	2
D_h (nm)[a]	**570 ± 100**	**3.6 ± 3**
Indice de polydispersité	0.35 ± 0.13	0.36
Nombre de mesures	2	2
% d'agrégats retirés		**14.5**
Conc. finale (mM)		**3.4**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

Composé 23 :

Tableau A - 57 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration d'une solution de composé **23** à 15 mM.*

	23 à 15.1 mM (lot PE253.1)	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	270	9
D_h (nm)[a]	**450 ± 30**	**260 ± 20**
Indice de polydispersité	0.32± 0.01	0.71
Nombre de mesures	2	2
% d'agrégats retirés		**8.8**
Conc. finale (mM)		**14.4**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

Composé 23b :

Tableau A - 58 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration d'une solution de composé* ***23b*** *à 15.1 mM.*

	23b à 15 mM (lot PE219.1)	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	2060	10
D_h (nm)[a]	**560 ± 5**	**3.2 ± 0.1**
Indice de polydispersité	0.38	0.44
Nombre de mesures	2	3
% d'agrégats retirés		**4.2**
Conc. finale (mM)		**14.4**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

Composé 24 :

Tableau A - 59 : *Elimination et quantification des agrégats par centrifugation et filtration d'une solution de composé* ***24*** *à 15.3 mM.*

	24 à 15.3 mM (lot JU332)	
Traitement effectué	/	[b]
kcoups/s	1280	20
D_h (nm)[a]	**570 ± 30**	**6.8 ± 0.6**
Indice de polydispersité	0.31	0.36
Nombre de mesures	2	2
% d'agrégats retirés		**3.9**
Conc. finale (mM)		**14.7**

[a] La taille de particule relevée correspond à celle du pic majoritaire en intensité.
[b] Centrifugation (15300 g / 30 min) et filtration (0.2 µm) avec filtration consécutive à la centrifugation.

2- Analyses RMN DOSY des composés 20, 23 et 23b effectuée par l'équipe GOBS

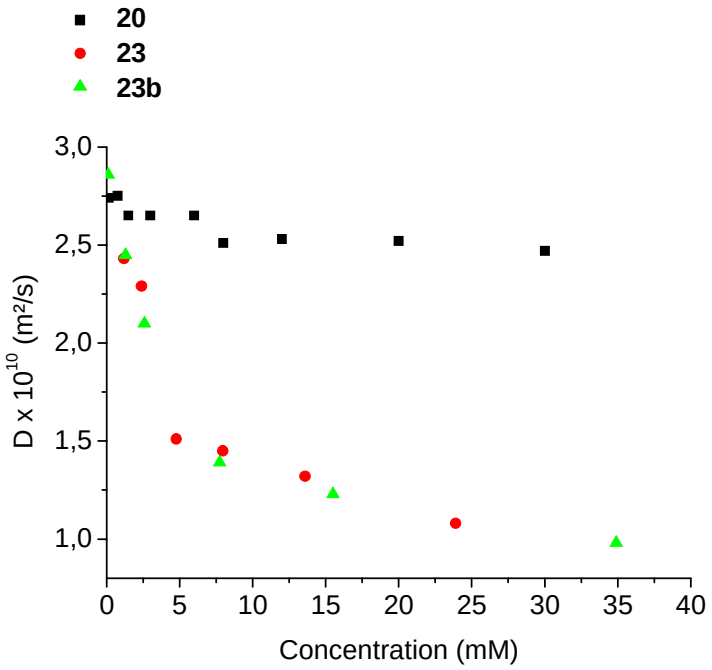


Figure A - 6 : *RMN DOSY en fonction de la concentration (D_2O, 600 MHz, 300 K) des composés* ***20****,* ***23*** *et* ***23b.***

3- Analyses de dichroïsme circulaire de la H_2TPPS_4 à différentes concentration

Afin de vérifier l'absence d'assemblage dans la solution à 0.02 mM de H_2TPPS_4 ainsi que l'absence de signal de dichroïsme circulaire (cd) dans nos solutions de porphyrine, nous avons effectué les mesures UV et cd des solutions témoins (**Figure A - 7**).

Pour la préparation des solutions de H_2TPPS_4, une solution mère à 5 mM de TPPS a été réalisée puis diluée le lendemain de sa préparation par une solution tampon d'acide formique à 300 mM de manière à former une solution à 0.1 mM à pH 3.5 qui a ensuite été diluée à 0.05 ou 0.02 mM.

Quand la concentration de H_2TPPS_4 passe de 0.1 mM à 0.02mM on observe la disparition des bandes associées aux agrégats J ainsi que l'augmentation de la bande à 644 nm associée aux monomères.

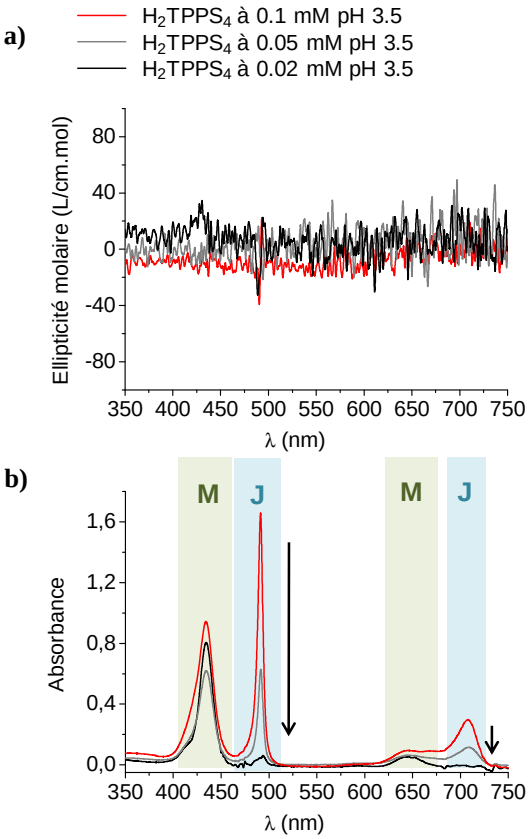


Figure A - 7 : *Spectres cd* ***a)*** *et UV* ***b)*** *de H_2TPPS_4 à 0.1, 0.05 et 0.02 mM*

4- Etude de l'interaction β-CD native/H_2TPPS_4 par mesures de cd

Les CDs sont connues pour interagir avec les TPPS via l'inclusion de deux des fonctions sulfonates (**Figure A - 8**)[2].

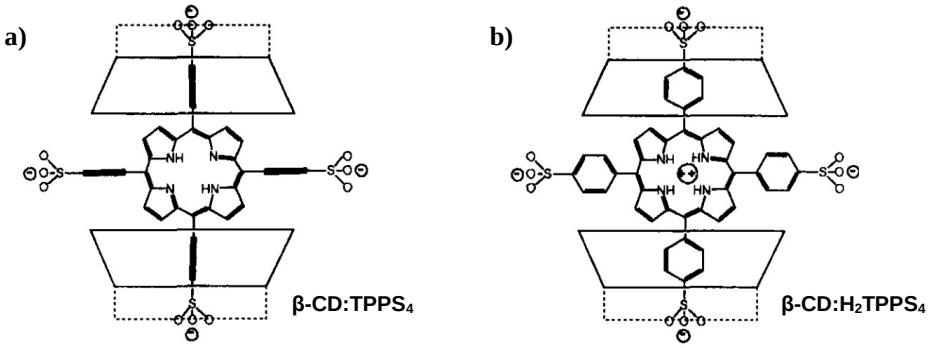


Figure A - 8 : *Schéma de l'interaction entre* ***a)*** *la β-CD native et la $TPPS_4$ sous forme basique et entre* ***b)*** *la β-CD native et la H_2TPPS_4 (figure issue de la ref. [2]).*

Nous avons donc caractérisé, par analyses UV et cd, les mélanges tamponnés à pH 3.5 de β-CDs natives à 5 mM et de H_2TPPS_4 à 0.02 mM, i.e. sous forme monomère, et 0.05 mM, i.e. sous forme associée, afin d'avoir des spectres références nous permettant de vérifier la présence d'éventuelle interactions par inclusion de la H_2TPPS_4 dans nos composés (**Figure A - 9**).

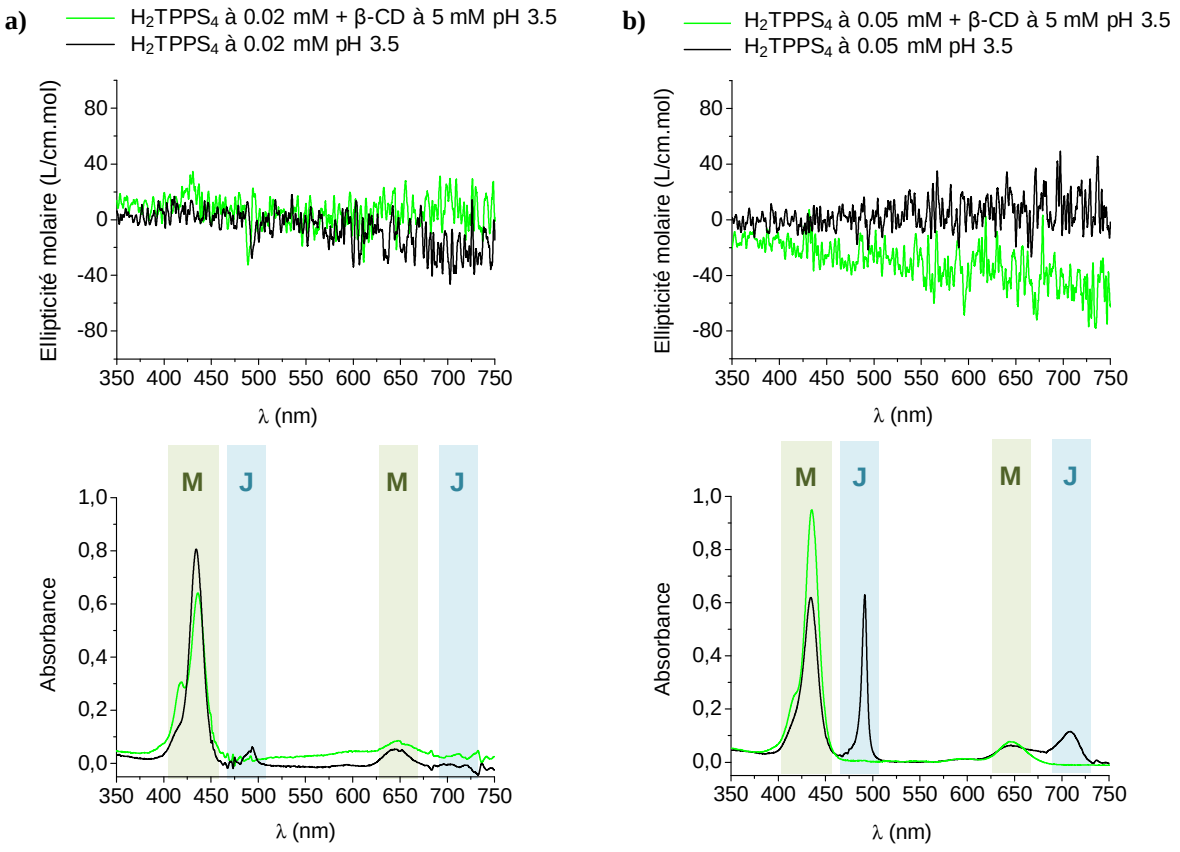


Figure A - 9 : *Spectres cd et UV de la H_2TPPS_4 à* ***a)*** *0.02 mM et* ***b)*** *0.05 mM en absence et présence de β-CD à 5 mM. J et H représentent respectivement les signaux des agrégats J et H*

		J0
[H_2TPPS_4] (mM)		+ β-CD
0.02		
0.05		

Figure A - 10 : *Photos des solutions à pH 3.5 de H_2TPPS_4 à 0.02 et 0.05 mM en absence et présence de β-CD à 5 mM*

Lorsque la β-CD native à 5 mM est ajoutée à la H_2TPPS_4 à 0.05 mM, on observe la disparition des bandes d'absorption des agrégats J à 490 et 705 nm et l'augmentation d'intensité des bandes d'absorption du monomère à 433 et 644 nm (**Figure A - 9-b**).

Lors du mélange de la β-CD native avec la H_2TPPS_4 quelle que soit sa forme, on note l'apparition sur le pic du monomère d'un épaulement à 418 nm (**Figure A - 9-a** et **b**). En effet, l'inclusion des sulfonates entraine une diminution du pKa des amines de la porphyrine qui se retrouve alors sous forme basique[3]. Cela explique l'apparition de ce pic d'absorption proche de la bande d'absorption de la $TPPS_4$ basique[4].

On constate également l'absence de signal cd en présence et absence de CD quel que soit la concentration en H_2TPPS_4.

Cet essai, nous indique que la disparition des bandes d'absorption des agrégats J au profit de l'apparition de celles des monomères lors de l'ajout de CDs pourrait être le signe d'une inclusion. Dans le cas des CDs pontées, on peut cependant s'attendre à ce que la présence du pont empêche ce phénomène.

Bibliographie

(1) Colesnic, D. Architectures supramoléculaires hiérarchiques à base de cyclodextrines. Thèse de doctorat, Université Pierre et Marie Curie: Paris, France, 2015.

(2) Ribó, J. M.; Farrera, J.-A.; Valero, M. L.; Virgili, A. *Tetrahedron* **1995**, *51* (12), 3705–3712.

(3) Kano, K.; Tanaka, N.; Minamizono, H.; Kawakita, Y. *Chem. Lett.* **1996**, *25* (11), 925–926.

(4) Mosinger, J.; Slavětínská, L.; Lang, K.; Coufal, P.; Kubát, P. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7* (18), 3797–3804.

Pembouong Gaëlle – Caractérisation de Polymères Supramoléculaires Hiérarchiques à Base de Cyclodextrines Fonctionnalisées - 2018

Résumé :

Les systèmes moléculaires de taille nanométrique sont impliqués dans une grande variété de procédés et de fonctions biologiques. La compréhension des mécanismes permettant le contrôle de leur structure à plusieurs échelles présente un grand intérêt. Par exemple, malgré le défi que cela représente, il n'existe actuellement aucun système synthétique permettant la formation d'objets fibrillaires de diamètre monodisperse et modulable en milieu aqueux. L'objectif de ce travail est de développer une boite à outils moléculaires de cyclodextrines (CDs) sélectivement di-fonctionnalisées de façon à pouvoir s'auto-assembler sous forme de fibres pouvant ensuite s'associer pour former des assemblages hiérarchiques via des interactions secondaires. L'étude de la formation du premier niveau d'assemblage de ces composés par viscosimétrie, ITC et SANS a montré que l'utilisation de CDs pontées permet de favoriser la polymérisation de ces composés en supprimant le phénomène d'auto-inclusion. Cette étude a permis de développer deux polymères supramoléculaires (PSM) cationiques à base de β-CDs fonctionnalisées possédant des degrés de polymérisation relativement élevés. Leur capacité à former des PSM hiérarchiques en présence de polyanions rigides a ensuite été évaluée par analyses DLS, spectroscopie et cryo-MET. Dans des conditions de concentration en CDs et de rapport en charges optimisées, trois différents assemblages hiérarchiques solubles dans l'eau ont été formés. Nous avons montré que le premier niveau d'association ainsi que la directionnalité des interactions secondaires étaient des paramètres clés pour la formation d'assemblages hiérarchiques stables et de morphologies bien définies. Ces structures modulables nous serviront donc de plateformes pour étudier et mieux comprendre les mécanismes impliqués dans la formation des assemblages hiérarchiques.

Mots clés : Cyclodextrines, interaction hôte-invité, auto-assemblage, hiérarchie, calorimétrie

Characterization of Hierarchical Supramolecular Polymers Based on Functionalized Cyclodextrins

Abstract :

Molecular systems with nanometer-sized dimensions are involved in a wide variety of processes and biological functions. Understanding the mechanisms controlling their multi-lengthscale structure presents a major interest. For instance, despite this challenge, there is so far no reliable synthetic system forming well-defined tunable fibrillar objects with a monodisperse diameter in aqueous solution. The aim of this work is to develop a tool box of di-functionalized cyclodextrins (CDs) specifically designed to self-assemble into supramolecular rods that could then reach higher levels of hierarchy via interactions mediated by the secondary functionalization. The study of the first level of association of these compounds by viscosimetry, ITC and SANS showed that the use of bridged CDs allows the polymerization by suppressing the self-inclusion phenomenon. As a result, we developed two tunable cationic supramolecular polymers (SMP) based on functionalized β-CD with relatively high polymerization degrees. Their ability to form hierarchical SMP with rigid polyanionic species was then assessed by DLS, spectroscopy and cryo-TEM. In optimized concentration and charge ratio conditions, three different water-soluble hierarchical assemblies were formed. We showed that the first level of association and the high directionality of the secondary interactions are key parameters to achieve these stable, well-defined, hierarchical assemblies. These tunable structures will be therefore used as a platform to get greater insight into hierarchical assembling processes.

Keywords : Cyclodextrin, host-guest interaction, self-assembly, hierarchy, calorimetry