

THÈSE

UNIVERSITÉ DE PAU ET DES PAYS DE L'ADOUR

École doctorale des Sciences Exactes et leurs Applications

Présentée et soutenue le 19 décembre 2014

par **Abdelouahed KHOUKH**

pour obtenir le grade de docteur
de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour

Spécialité : Physico-chimie des polymères

Apport de la RMN diffusionnelle à l'étude des
systèmes polymères : extrémités de chaîne,
contrôle des architectures et auto-assemblage

MEMBRES DU JURY

RAPPORTEURS

Valérie RAVAINÉ
Daniel GRANDE

Maître de conférences / ENSCPB, Talence
Directeur de Recherche / ICMPE, Thiais

EXAMINATEURS

Olivier DONARD
Marie-Florence GRENIER-LOUSTALOT
Cécile BESSIBES

Directeur de Recherche / Université de Pau et des Pays de l'Adour
Directeur de Recherche, Emérite
Ingénieur de Recherche / Arkema, Lacq

DIRECTEUR

Laurent BILLON

Professeur / Université de Pau et des Pays de l'Adour





Remerciements

Les travaux présentés dans ce mémoire ont été réalisés au sein de l'Equipe de Physique et Chimie des Polymères, une composante de l'Institut Pluridisciplinaire de Recherche sur l'Environnement et les Matériaux, dirigée successivement par Ahmed Allal puis par Christophe Derail. Je tiens à les remercier pour le soutien qu'ils m'ont apporté tout au long de ce travail.

Je voudrais remercier sincèrement Laurent Billon, Professeur de l'université de Pau et des Pays de l'Adour, d'avoir accepté d'être mon directeur de thèse. Je le remercie vivement pour l'intérêt et la confiance qu'il a su m'accorder tout au long de ma thèse

Tous mes remerciements s'adressent aux lecteurs attentifs de ce manuscrit, Valérie Ravaine, Maître de conférences à l'ENSCP et Daniel Grande, Directeur de Recherche CNRS à l'ICMPE, qui ont accepté d'être les rapporteurs de ce travail.

J'adresse ma plus profonde reconnaissance à Olivier Donard, Directeur de Recherche CNRS à l'IPREM, pour avoir accepté de présider ce jury.

Merci aussi à Marie-Florence Grenier Loustalot, Directeur de Recherche Emérite et Cécile Bessibes, Ingénieur de Recherche à Arkema d'avoir accepté d'être membres du jury.

Je remercie chaleureusement Christine Tachon pour ses encouragements et ses conseils avisés après la lecture du manuscrit.

Je remercie Raber Inoublié et Bruno Grassl pour avoir fourni quelques échantillons essentiels à cette étude. Je les remercie également pour l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail.

Merci enfin à toutes les personnes qui ont contribué de différentes façons à la réalisation de ce travail. (Nabila Chérifi, Charlène Schmitt, Sadia Radji, Céline Clouet, Hélène Josse, Olivier Gilbert, Hussein Awada, Richard Hensch, Frédéric Léonardi, Jacques Desbrières, Jean-Marc Sotiropoulos, Roger Hiorns).

Ces dernières lignes sont pour ma chère et tendre Nisrine, son soutien, son écoute et ses encouragements m'ont permis de donner le meilleur de moi-même. Merci d'avoir pris soin de moi au quotidien et surtout dans les moments difficiles de la rédaction.

Sommaire

<u>Introduction générale</u>	1
---	---

Chapitre I : Etude bibliographique sur la RMN 1D et 2D

1. Introduction	7
2. Schéma général d'une expérience RMN	8
3. Expériences RMN monodimensionnelles	8
3.1 Le déplacement chimique.....	10
3.2 Le couplage scalaire.....	10
3.3 Intensité des signaux.....	10
3.4 Phénomène de relaxation.....	11
3.4.1 La relaxation longitudinale.....	12
3.4.2 La relaxation transversale.....	13
4. Expériences RMN bidimensionnelles (RMN-2D)	15
4.1 Principe.....	15
4.2 Obtention d'une FID à deux dimensions.....	16
4.3 Double transformation de Fourier.....	17
5. Principales techniques RMN 2D	18
5.1 Corrélations homonucléaires.....	18
5.2 Corrélations hétéronucléaires.....	19
5.2.1 Détection directe.....	19
5.2.2 Détection inverse.....	20
6. Application de la RMN haute résolution aux polymères	25
6.1 Étude de la stéréoisomérisation dans les polymères linéaires.....	26
6.1.1 Exemple du poly(chlorure de vinyle) (PVC).....	27
6.1.2 Exemple du polyméthacrylate de méthyle (PMMA).....	28
6.1.3 Exemple du polystyrène (PS).....	30
6.2 Cas des copolymères à gradient de composition.....	32
6.2.1 Exemple du poly(ABu-grad-MMA).....	33
6.2.2 Exemple du poly(S-grad-MA).....	36
6.2.3 Exemple du poly(AcGalEA-co-S).....	37
6.3 Caractérisation des groupements terminaux des polymères.....	39
7. Conclusion	41

Chapitre I : Etude bibliographique sur la RMN diffusionnelle

1. Diffusion	49
2. Les séquences RMN	51

2.1	La première séquence.....	51
2.2	La séquence d'écho de spin stimulé (STE).....	53
2.2.1	Courants de Foucault ⁷	54
2.2.2	Suppression de la convection.....	55
2.3	Optimisation d'une séquence de diffusion.....	56
2.4	Calcul et calibrage de la force des gradients.....	59
3.	De la première à la deuxième dimension : Expérience RMN DOSY.....	61
3.1	Le traitement des données RMN/DOSY.....	62
3.1.1	Les techniques univariées.....	63
3.1.2	Les techniques multivariées.....	63
3.2	Cas des signaux non superposés.....	63
3.3	Cas des signaux superposés.....	66
3.3.1	Exemple d'un mélange de copolymères dibloc poly(MMA- <i>b</i> -BA) et tribloc poly(MMA- <i>b</i> -BA- <i>b</i> -MMA).....	67
3.4	Choix du solvant pour une analyse RMN/DOSY.....	67
3.5	Stabilité de la température pendant une expérience RMN/DOSY.....	68
3.6	La sensibilité de la méthode RMN DOSY.....	69
3.7	Limites de l'expérience RMN DOSY.....	70
3.7.1	Qualité de la séparation des espèces analysées.....	70
3.7.2	Aspects quantitatifs de l'expérience DOSY.....	71
4.	Domaine d'application de la technique DOSY.....	72
4.1	Détermination de la taille d'une molécule.....	72
4.2	« Chromatographie » par analyse RMN/DOSY ¹ H.....	73
4.3	Etude des interactions par RMN DOSY ¹ H.....	74
4.3.1	Inclusion de médicaments dans un vecteur.....	75
4.3.2	Etude des micelles.....	76
4.3.3	Etude des interactions protéines ligands.....	77
4.4	Etude des mélanges complexes par analyse RMN/DOSY ¹ H.....	78
4.4.1	Mélange SDS/ATP/Glucose/HOD.....	78
4.4.2	Formulation du Viagra [®] Pfizer.....	79
4.4.3	Analyse du polyéthylène à basse densité (PEBD).....	80
5.	Conclusion.....	81

Chapitre II : Extrémité des chaînes polymères de faibles masses

1.	Introduction.....	89
2.	Généralités.....	89
3.	Les méthodes de polymérisation.....	90
3.1	La polycondensation.....	90
3.2	La polymérisation vivante.....	90
3.2.1	La polymérisation anionique.....	91
3.2.2	La polymérisation radicalaire (PR).....	91
4.	Les différentes classes de polymères.....	97

4.1	Les homopolymères	98
4.2	Les copolymères.....	98
5.	Microstructure des polymères.....	99
5.1	Structure configurationnelle	100
5.2	Structure moléculaire	100
6.	Caractérisation de la microstructure de polymères de faibles masses ..	101
6.1	RMN quantitative	102
6.2	Poly(oxyde d'éthylène) (POE)	103
6.2.1	Poly(oxyde d'éthylène) (POE 1)	103
6.2.2	Poly(oxyde d'éthylène) (POE 2)	104
6.3	Triton X-100 (TX100).....	105
6.3.1	Spectre ¹ H.....	105
6.3.2	Spectre DOSY	106
6.4	Poloxamère.....	107
6.4.1	Spectre ¹ H.....	107
6.5	Synthèse du poly(acrylamide) (PAM).....	109
6.5.1	PAM par RAFT/MADIX	110
6.5.2	PAM/NMP.....	114
6.6	Cas d'un copolymère poly(AM- <i>b</i> -AMPS).....	119
6.6.1	RMN ¹ H.....	119
6.6.2	RMN ¹³ C.....	121
6.6.3	RMN HMBC	123
6.6.4	RMN DOSY	124
6.7	Poly (3-hexylthiophène) (P3HT).....	125
6.7.1	P3HT modifié par un groupement allylique	125
6.7.2	P3HT modifié par un groupement styrénique	127
7.	Conclusion	129

Chapitre III : Architecture dibloc-tribloc

1.	Etude par RMN 1D et 2D d'architectures de type diblocs et triblocs ...	135
1.1	Analyses par RMN ¹ H, ¹³ C et HSQC	137
1.1.1	Dibloc poly(MMA- <i>b</i> -BA)	137
1.1.2	Tribloc poly(MMA- <i>b</i> -BA- <i>b</i> -MMA).....	140
1.2	Analyse par RMN HMBC	141
1.2.1	Spectre HMBC du dibloc poly(MMA- <i>b</i> -BA).	142
1.2.2	Spectre HMBC du tribloc poly(MMA- <i>b</i> -BA- <i>b</i> -MMA).	143
1.2.3	Mélange de dibloc/tribloc avec un rapport de 50/50	143
1.2.4	Cas du copolymère à bloc à base de (MMA-DMA) et BA	144
1.2.5	Analyses HMBC du dibloc et tribloc	148
2.	Etude par RMN DOSY de quelques architectures dibloc et tribloc	150
2.1	Mélange de deux homopolymères : PMMA et PBA.....	151
2.1.1	Carte DOSY	151
2.1.2	Courbe de Stejskal-Tanner	152
2.2	Analyse du tribloc poly(MMA- <i>b</i> -BA- <i>b</i> -MMA).....	154

3. Mise en évidence des réactions secondaires en PRC par les nitroxydes	155
3.1 Quelques rappels bibliographiques.....	155
3.2 Etude par RMN ¹ H de copolymères di et triblocs.....	157
3.3 Etude par RMN DOSY de copolymères di et triblocs.....	158
3.4 Analyse du tribloc poly(MMA- <i>b</i> -BA- <i>b</i> -MMA) synthétisé par voie anionique.....	159
3.4.1 Analyse par RMN DOSY.....	160
4. Détermination de M_w à partir du coefficient d'autodiffusion.....	161
4.1 Introduction.....	161
4.2 Concentration critique de recouvrement (C^* appelé C star).....	162
4.3 Préparation des courbes d'étalonnage.....	162
4.4 Détermination du M_w d'homopolymères et de bloc à base de PMMA.....	164
4.4.1 Synthèse d'homopolymères PMMA avec ou sans ajout de styrène.....	165
4.4.2 Synthèse de copolymères poly(MMA- <i>b</i> -BA) et poly(MMA- <i>co</i> -S)- <i>b</i> -PBA.....	168
4.4.3 Synthèse de copolymères poly((MMA- <i>co</i> -S)- <i>b</i> -P4VP).....	169
5. Conclusion.....	170

Chapitre IV : Auto-association, encapsulation et relargage

1. Introduction.....	179
2. Détermination de la CMC par les techniques de RMN classiques.....	181
2.1 DodécylSulfate de Sodium (SDS).....	181
2.2 Triton X-100 (TX100).....	183
3. Détermination de la CMC par DOSY/RMN.....	185
3.1 Organisation sous forme de micelles sphériques.....	185
3.2 Dodécylsulfate de sodium (SDS).....	186
3.3 Triton X-100 (TX100).....	187
4. Application à l'étude de micelles mixtes.....	188
4.1 Caractérisation des micelles mixtes par RMN classique.....	189
4.2 Caractérisation par RMN/DOSY.....	195
5. Encapsulation et relargage de principe actif.....	194
5.1 Introduction.....	194
5.2 Auto-assemblage de molécules amphiphiles.....	195
5.2.1 Les micelles à base de polymères.....	195
6. Etude qualitative de l'encapsulation et suivi de libération du principe actif.....	196
6.1 Préparation des solutions micellaires en présence de benzophénone.....	197
6.2 Etude de l'encapsulation et relargage de la benzophénone (Bz) par le vecteur Triton X-100 (TX-100).....	197

6.2.1	Analyse par RMN ¹ H.....	197
6.2.2	Analyse par RMN diffusionnelle.....	200
6.3	Interaction dipolaire et détermination de proximités spatiales inter et intramoléculaires : RMN NOESY	206
6.3.1	Principe.....	206
6.3.2	Analyse par RMN NOESY du système TX-100 Bz.....	207
6.4	Etude de l'encapsulation et relargage de la benzophénone (Bz) par le vecteur Pluronic F127.	209
6.4.1	Analyse par RMN ¹ H.....	209
6.4.2	Analyse par RMN diffusionnelle.....	211
6.4.3	Analyse par RMN bidimensionnelle NOESY	217
7.	Conclusion	220
	<u>Conclusion générale</u>	225
	<u>Annexe</u>	229

Symboles et abréviations

Symboles :

Hz	Hertz
δ	Déplacement chimique (ppm)
nJ	Constante de couplage à n liaisons (Hz)
1H	proton-1
${}^{13}C$	Carbone-13
${}^{31}P$	Phosphore-31
${}^{19}F$	Fluor-19
δ	Durée d'une impulsion gradient (s)
Δ	Temps de diffusion (s)
g	Intensité d'un gradient de champ magnétique ($G.cm^{-1}$)
D	Coefficient de diffusion ou d'autodiffusion ($m^2.s^{-1}$)
Da	Dalton
f	Facteur de friction ($J.s.m^{-2}$)
γ	Rapport gyromagnétique ($rad.G^{-1}.s^{-1}$)
k	Constante de Boltzmann ($J.K^{-1}$)
η	Viscosité (Pa.s)
ω	Vitesse angulaire ($rad.s^{-1}$) ou fréquence de Larmor
<i>Mn</i>	Masse moyenne en nombre ($g.mol^{-1}$)
<i>Mw</i>	Masse moyenne en masse ($g.mol^{-1}$)
C*	Concentration de recouvrement critique

Abréviations :

RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
DMSO	Diméthylsulfoxyde
$CDCl_3$	Chloroforme
C_6D_6	Benzène
D_2O	Oxyde de deuterium
$GdCl_3$	trichlorure de gadolinium
COSY	CORrelation SpectroscopY
DEPT	Distortionless Enhanced Polarization Transfer
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Correlation
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation

DOSY	Diffusion Ordered Spectroscopy
LED	Longitudinal Eddy current Delay
STE	STimulated Echo
ROESY	Rotating-frame Overhauser Effect Spectroscopy
NOESY	Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy
DECRA	Direct Exponential Curve Resolution Algorithm
CORE	COmponent REsolved
MCR	Multivariate Curve Resolution
CMC	Concentration Micellaire Critique
Rh	Rayon hydrodynamique
CAC	Concentration Agrégation Critique
Ip	Indice de polydispersité ou polymolécularité
DP	Degré de polymérisation
POE	Poly(oxyde d'éthylène)
POP	Poly(oxyde de propylène)
PMMA	Poly(méthacrylate de méthyle)
PABu	Polyacrylate de butyle
PAM	Polyacrylamide
PAMPS	poly(2-acrylamido-2-methyl-1-propanesulfonic acid)
PEHD	Polyéthylène haute densité
PET	Polyéthylène téréphtalate
PS	Polystyrène
P4VP	Poly(4-vinylpyridine)
P3HT	Poly(3-hexylthiophène)
Triton X-100 éther	polyéthylène glycol (9-10)-p-1,1,3,3 tétraméthylbutyl)-phényle
PR	polymérisation radicalaire classique ou conventionnelle
PRC	polymérisation radicalaire contrôlée
ATRP	Polymérisation radicalaire par transfert d'atome
RAFT	Addition-fragmentation réversible
MADIX	« Macromolecular Design by Interchange of Xanthates »
SFRP	Polymérisation radicalaire contrôlée par radical libre stable
NMP	Polymérisation radicalaire contrôlée par des nitroxydes
CROP	Polymérisations cationiques par ouverture de cycle
TEMPO	2,2,6,6-tetramethyl-1-piperidinyloxyl
MAMA-SG1	2-methyl-2-[N-tert-butyl-N-(1-diethoxyphosphoryl- 2,dimethylpropyl) aminoxy]propanoic acid
SEC	Size Exclusion Chromatography

Introduction générale

Introduction générale

La synthèse de matériaux polymères aux propriétés innovantes répond à la demande croissante de l'industrie de matériaux technologiquement avancés. La chimie des polymères permet d'envisager l'utilisation de différentes techniques de polymérisation telles que la polycondensation, les polymérisations ioniques et radicalaires.

La polymérisation radicalaire est largement employée dans le milieu industriel car elle s'applique à un grand nombre de monomères vinyliques et les conditions expérimentales sont moins drastiques que les autres techniques de polymérisation. Toutefois la présence de nombreuses réactions secondaires (terminaisons irréversibles et réaction de transfert) conduit à des polymères de masses molaires et de structures mal contrôlées, possédant une large distribution de masses molaires et de fonctionnalité mal définie qui ne permettent généralement pas d'accéder à des architectures complexes. Dès lors, de nombreuses équipes ont tenté d'améliorer le contrôle des architectures macromoléculaires des polymères en tentant de minimiser au maximum les réactions secondaires. C'est ainsi qu'est apparue la polymérisation radicalaire contrôlée ou PRC qui a connu un essor considérable au cours de ces vingt dernières années.

Actuellement la Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) qui fait l'objet des travaux de thèse décrits dans ce manuscrit, figure parmi les techniques spectroscopiques les plus largement utilisées pour caractériser la composition mais aussi la microstructure des polymères et de leurs homologues copolymères.

A l'état liquide, la RMN 1D permet d'obtenir des informations à la fois qualitatives et quantitatives sur la majorité des paramètres microstructuraux¹, depuis la structure et la composition du polymère jusqu'à sa masse molaire et sa tacticité.

La RMN diffusionnelle (RMN PGSE pour Pulsed Gradient Spin Echo) est une technique puissante pour mesurer les coefficients de diffusion des espèces en solution. Elle permet ainsi d'obtenir des informations structurales de par sa dimension RMN conventionnelle mais

¹ Mirau, P. A., *A practical guide to understanding the NMR of polymer materials*. John Wiley & Sons: New Jersey, 2005

également des informations physico-chimiques telles que la taille de la molécule ou encore la formation d'agrégats.

Dans ce contexte, le premier chapitre sera dédié à une étude bibliographique sur l'application de la technique RMN (1D, 2D et PGSE) à la caractérisation des matériaux polymères.

Dans cette partie, après une présentation de la partie théorique liée à cette technique nous aborderons grâce à quelques exemples, l'application de la RMN diffusionnelle aux matériaux polymères. L'optimisation des paramètres RMN diffusionnelle ainsi que les limites de cette technique seront également explicitées dans ce Chapitre.

Le Chapitre II introduira quelques notions théoriques sur les polymères en évoquant les différentes techniques de polymérisation. Par la suite nous nous intéresserons à la caractérisation par RMN de la microstructure de quelques matériaux en s'attardant plus particulièrement sur l'exploration de leurs extrémités de chaînes. Nous verrons dans cette partie comment, faire le lien par RMN (1D, 2D et DOSY) entre l'extrémité de chaîne et la méthode de polymérisation appliquée.

L'identification des extrémités de chaînes dans les copolymères est un problème récurrent en synthèse macromoléculaire. Pour pallier ce problème nous présenterons dans le Chapitre III des séquences RMN (HMBC et/ou DOSY) qui nous permettront :

- ✓ d'appréhender certains paramètres microstructuraux de ces copolymères, nous verrons plus particulièrement comment différencier une architecture dibloc d'une architecture tribloc,
- ✓ d'apporter la preuve du caractère contrôlé d'une copolymérisation radicalaire (cas du Méthacrylate de Méthyle),
- ✓ de déterminer la masse molaire moyenne en masse (M_w) par une simple mesure du coefficient d'autodiffusion,

L'ensemble des travaux présentés dans ce manuscrit sera valorisé grâce à l'étude des interactions par RMN diffusionnelle. En effet lorsqu'une molécule interagit avec un système de taille plus importante, celle-ci voit son coefficient de diffusion diminuer fortement en raison de la formation de liaisons covalentes ou non covalentes.

Dans le Chapitre IV, nous verrons comment la RMN DOSY ^1H permet d'observer des phénomènes de micellisation, d'agrégation, d'encapsulation et de relargage de molécules de principe actif.

Chapitre I :
Etude bibliographique-RMN 1D et 2D

Sommaire

1. Introduction	7
2. Schéma général d'une expérience RMN	8
3. Expériences RMN monodimensionnelles	8
3.1 Le déplacement chimique.....	10
3.2 Le couplage scalaire	10
3.3 Intensité des signaux	10
3.4 Phénomène de relaxation	11
3.4.1 La relaxation longitudinale	12
3.4.2 La relaxation transversale ..	13
4. Expériences RMN bidimensionnelles (RMN 2D)	15
4.1 Principe	15
4.2 Obtention d'une FID à deux dimensions	16
4.3 Double transformation de Fourier	17
5. Principales techniques RMN 2D	18
5.1 Corrélations homonucléaires	18
5.2 Corrélations hétéronucléaires	19
5.2.1 Détection directe.....	19
5.2.2 Détection inverse	20
6. Application de la RMN haute résolution aux polymères	25
6.1 Étude de la stéréoisométrie dans les polymères linéaires	26
6.1.1 Exemple du poly(chlorure de vinyle) (PVC)	27
6.1.2 Exemple du polyméthacrylate de méthyle (PMMA)	28
6.1.3 Exemple du polystyrène (PS).....	30
6.2 Cas des copolymères à gradient de composition	32
6.2.1 Exemple du poly(ABu-grad-MMA).....	33
6.2.2 Exemple du poly(S-grad-MA)	36
6.2.3 Exemple du poly(AcGalEA-co-S).....	37
6.3 Caractérisation des groupements terminaux des polymères.....	39
7. Conclusion	41

Liste des Figures

Figure 1 : Représentation schématique d'une expérience RMN.....	8
Figure 2 : Représentations schématiques des paramètres RMN contribuant à l'analyse de la structure primaire des molécules (d'après van Halbeek 1995).....	9
Figure 3 : Représentation schématique de l'application d'une radiofréquence B_1 sur la magnétisation macroscopique.....	11
Figure 4 : Schéma de la transformée de Fourier du FID (fonction de temps).....	12
Figure 5 : Séquence d'inversion-récupération.....	13
Figure 6 : Séquence d'écho de Hann.....	14
Figure 7 : Schéma récapitulatif du phénomène de relaxation en RMN.....	15
Figure 8 : FID à deux dimensions.....	15
Figure 9 : Les quatre étapes d'une expérience de RMN 2D.....	16
Figure 10 : Principe de construction d'une expérience RMN. à deux dimensions, N1 signaux de précession libre sont collectés (A), et chaque FID obtenue représente une ligne de la matrice 2D (B)	17
Figure 11 : Spectre 2D obtenu après transformation de Fourier à deux dimensions, en représentation pseudo 3D (ou "stacked plot") (A) ou en représentation topographique (ou "contour plot") (B).....	18
Figure 12 : HSQC- $^1\text{H}/^{13}\text{C}$. (a) séquence d'impulsions ; (b) HSQC du monomère Acrylate de Butyle.(ABu), (les tâches de corrélation de couleur verte correspondent aux différents CH_2 du monomère.).....	21
Figure 13 : HMBC- $^1\text{H}/^{13}\text{C}$. (a) séquence d'impulsions ; (b) spectre du monomère d'Acrylate de Butyle. Pour information, la position des raies du spectre HSQC correspondant est indiquée par la couleur bleue et verte.....	22
Figure 14 : Définitions des configurations.....	26
Figure 15 : Spectres (a) ^1H (500 MHz), (b) ^{13}C (125 MHz) et (c) HETCOR $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ d'une solution à 10% en masse de PVC.....	27
Figure 16 : Structure du polyméthacrylate de méthyle (PMMA).....	28
Figure 17 : Stéréoisomères du PMMA isotactique, syndiotactique et atactique.....	29
Figure 18 : Spectre RMN ^1H des PMMA syndiotactique (a), atactique (b) et isotactique (c).....	29
Figure 19 : (a) attributions de la résonance des carbonyles du PMA, PMMA et copolymères PMA/PMMA avec différentes compositions.(b) structures des diades AA, AB et BB montrant l'environnement tactique des protons méthylénique.(A= Acrylamide, B=Méthacrylamide).....	30
Figure 20 : Structure du polystyrène (PS).....	31
Figure 21 : Configuration tactique du polystyrène.....	31
Figure 22 : Déplacements chimiques du carbone quaternaire du polystyrène (CDCl_3 , 25°C).....	32
Figure 23 : Structure schématique des copolymères à gradient de composition.....	33
Figure 24 : Spectres RMN ^{13}C montrant l'évolution des intensités des carbonyles.....	34
Figure 25 : Spectres RMN ^{13}C (CDCl_3 , 25°C).....	34
Figure 26 : Représentation pseudo 3D (a) et topographique (b) montrant l'évolution des pics de corrélation en fonction du temps (cas du semibatch-4.3 mL (MMA). h^{-1}).....	35
Figure 27 : Spectres ^1H (zone aromatiques (S) et zone méthoxy (MA)) de trois copolymères avec différentes compositions en S et MA. (CDCl_3 , 25°C).....	36
Figure 28 : Spectres ^1H (région des $-\text{OCH}_3$) montrant l'évolution de l'intensité des pics en fonction de la distribution des triades(CDCl_3 , 25°C).....	37
Figure 29 : Structure du Glycomonomère AcGalEA.....	38
Figure 30 : Spectres ^1H du PAcGalA-b-PS (III), P(AcGalEA-co-S) (II) et PS-b-P(S-grad-AcGalEA).....	38
Figure 31 : Spectres 2D HSQC-DEPT en représentation topographique (C) et pseudo-3D (D) d'un copolymère à gradient de composition (I) et d'un copolymère à bloc (II).....	39

1. Introduction

La spectroscopie par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) constitue maintenant un des outils les plus puissants d'élucidation des structures chimiques. Dans le cas des polymères en solution, elle permet d'accéder facilement à des informations structurales essentielles (microstructure, tacticité, distribution des motifs). Cependant, l'utilisation de la RMN en phase liquide semble être limitée aux polymères liquides ou solubles. En fait, un grand nombre de polymères insolubles sont « gonflables » dans des solvants adéquats et peuvent être étudiés par cette technique. Certaines expériences plus récentes (HR-MAS, High Resolution Magic Angle Spinning) permettent de travailler sur des échantillons non homogènes ou visqueux, en conservant une résolution proche du liquide. Seuls les polymères infusibles et «non gonflables» nécessitent l'utilisation de la RMN en phase solide à angle magique (CP-MAS : Croised Polarisation-Magic Angle Solid).

A la différence de nombreuses techniques qui nécessitent la séparation, la volatilisation, ou l'ionisation des échantillons (chromatographie, spectrométrie de masse), la RMN est une technique non destructive. Le même échantillon peut être réutilisé pour un grand nombre d'expériences. De surcroît, les produits sont analysés sans prétraitement, ce qui permet de préserver la structure ou les microstructurations du système étudié.

La RMN offre un panel d'expériences très large, permettant de caractériser des molécules organiques, des mélanges complexes ou commerciaux, à l'échelle moléculaire, mais aussi à l'échelle supramoléculaire. Les composés peuvent être séparés « virtuellement » du reste du mélange en s'appuyant sur la présence d'un atome observable en RMN, spécifique des molécules intéressantes (^{31}P , ^{19}F , ^{15}N , ^{29}Si) ou sur les différences de masses moléculaires comme la technique DOSY (Diffusion Ordered SpectroscopY).

Bien évidemment, la RMN connaît également des limites. La première, et sans doute la principale, est la sensibilité. Comparée à des techniques comme la spectrométrie de masse où la sensibilité peut atteindre la femtomole, la RMN est beaucoup moins sensible, avec dans le meilleur des cas des détections de l'ordre de la nanomole. La deuxième difficulté repose sur la dynamique de concentration. Dans des mélanges où de grandes disparités de concentration sont observées, il est parfois difficile de détecter les composés en très faibles concentrations.

Cependant certaines séquences développées tentent de pallier ces défauts, tout comme le développement de spectromètres avec des champs magnétiques plus intenses, et l'augmentation de sensibilité des nouvelles sondes.

Dans cette partie, seules les expériences RMN couramment utilisées par les chimistes seront décrites succinctement, avec les informations spécifiques à chacune d'entre elles. Nous nous limiterons ainsi aux séquences 1D et 2D classiquement utilisées.

2. Schéma général d'une expérience RMN

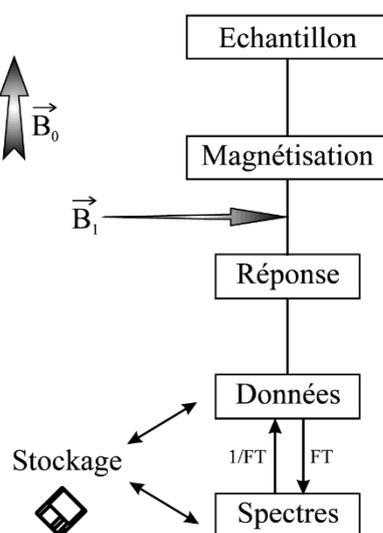


Figure 1 : Représentation schématique d'une expérience RMN.

L'échantillon est placé dans un champ magnétique statique intense (B_0). Les molécules de cet échantillon sont soumises à un champ magnétique appliqué B_1 qui provoque une perturbation des atomes considérés. L'application de ce champ de radiofréquence (RF) choisie (impulsion ou "pulse") est de courte durée, quelques microsecondes. Les noyaux génèrent à leur tour un micro-champ magnétique qui sera capté par une bobine réceptrice, c'est le signal R.M.N. (Données). Ces données sont envoyées à un ordinateur où elles sont analysées et transformées en signal. Le traitement mathématique, permet de transformer le signal en spectre R.M.N.

3. Expériences RMN monodimensionnelles

Les noyaux observables en R.M.N. sont soumis à un champ magnétique B_0 , qui n'est pas perçu de façon identique par toutes les entités. Les électrons propres d'un noyau peuvent créer des champs très faibles qui s'opposent à B_0 . Ce nuage électronique spécifique d'un noyau permet

de différencier des spins de même nature selon leur fréquence de Larmor modifiée à laquelle ils résonnent (Equation 1)

$$\nu = \frac{\gamma B_0(1-\sigma)}{2\pi} = \nu_0(1 - \sigma) \quad \text{Eq. 1}$$

où σ est la constante d'écran représentant les modifications de champs subies par le noyau, γ , le rapport gyromagnétique, B_0 , le champ magnétique, et ν , la fréquence de résonance.

La détermination de la structure primaire des molécules (polymères dans notre cas) dépend de plusieurs paramètres (Figure 2) :

- le déplacement chimique exprimé en ppm (partie par million).
- la constante de couplage dont la grandeur est exprimée en Hertz (Hz).

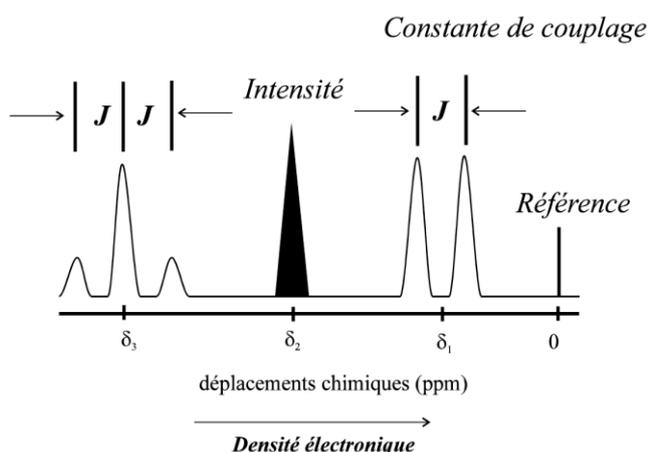


Figure 2 : Représentations schématiques des paramètres RMN contribuant à l'analyse de la structure primaire des molécules (d'après van Halbeek ¹ 1995)

- l'intensité du signal.

A ces paramètres peuvent s'ajouter :

- les effets NOE (Nuclear Overhauser Enhancement) qui sont dus aux interactions dipolaires entre deux noyaux différents et voisins dans l'espace et dont l'intensité de corrélation est inversement proportionnelle à R^6 (R = la distance entre ces noyaux).

- le temps de relaxation longitudinale T_1 (exprimé en seconde) qui décrit la cinétique de retour des noyaux à l'équilibre après une impulsion,

- le temps de relaxation transversale T_2 (en seconde) qui décrit le taux de décroissance de la magnétisation transversale.

¹ van Halbeek et Sheng, *NMR Studies of the Structure and Dynamics of Carbohydrates in Aqueous Solution*.

3.1 Le déplacement chimique

La fréquence ν caractérise un noyau avec un environnement propre. Cependant ν dépend du champ magnétique B_0 . Ainsi le paramètre de déplacement chimique (Equation 2) a été défini indépendamment du champ magnétique, afin de représenter les signaux RMN sur une échelle

$$\delta = \frac{\nu - \nu_0}{\nu_0} \times 10^6 \text{ en ppm} \quad \text{Eq. 2}$$

La différence de fréquence ($\nu - \nu_0$) correspond à la fréquence du signal par rapport à une référence, le TMS (tétraméthylsilane) dans le cas de spectres ^1H et ^{13}C et ν_0 la fréquence de l'appareil R.M.N.

3.2 Le couplage scalaire

Le couplage scalaire (ou couplage spin-spin) traduit l'effet du champ magnétique créé par le spin d'un noyau B sur un noyau A. Le noyau A peut percevoir des champs locaux ($B + \Delta B$) ou ($B - \Delta B$) selon l'orientation du spin du noyau B. Ainsi les spins de protons proches et non équivalents vont conduire à des signaux avec plusieurs raies. Il existe des couplages proton-proton (J_{HH}) ou proton-carbone (J_{CH}), à travers plusieurs atomes. Ainsi on notera $^1J_{CH}$, le couplage d'un proton avec le carbone qui le porte, $^2J_{CH}$, le couplage d'un proton avec le carbone à travers deux liaisons chimiques et ainsi de suite...

Le noyau le plus largement étudié est le proton (^1H). Les spectres RMN ^{13}C sont également couramment utilisés, il s'agit dans la plupart des cas de spectres carbones découplés du proton. Ils existent également des séquences permettant la différenciation des carbones secondaires des carbones primaires et tertiaires (DEPT 135) ou la différenciation des carbones secondaires et quaternaires des carbones primaires et tertiaires (J-Modulé).

3.3 Intensité des signaux

Les protons chimiquement identiques ont la même fréquence de précession (ou fréquence de résonance) et ont, de ce fait, le même déplacement chimique. L'intensité du signal considéré sera directement proportionnelle au nombre de protons impliqués dans le signal. L'intégration du signal par rapport à un signal de référence permet alors de déterminer le nombre de protons. Cette propriété quantitative de l'expérience R.M.N. permet d'analyser le cas échéant un

mélange ou une composition de polymères en passant par la détermination du taux de conversion, paramètre important pour le suivi cinétique d'une polymérisation.

3.4 Phénomène de relaxation

Lorsque l'on applique un champ B_1 perpendiculaire à B_0 , le moment magnétique M va s'incliner et tourner autour de B_0 . Après l'arrêt de l'oscillation du champ B_1 , le moment magnétique M , va rejoindre sa position initiale c'est-à-dire parallèle à B_0 .

Remarque : le basculement du moment magnétique nucléaire par rapport à sa position initiale est habituellement quantifié par l'angle parcouru plutôt que par l'énergie transférée nécessaire à ce basculement. Cet angle est proportionnel à l'intensité de l'onde et à la durée de son émission. A chaque instant de son évolution, le vecteur moment magnétique peut être décrit par sa projection sur la direction de B_0 appelée composante longitudinale notée M_z , et sa projection sur le plan perpendiculaire à B_0 appelée composante transversale notée M_{xy} .

La magnétisation macroscopique, M représente la somme des moments magnétiques des noyaux parallèles (M_z) et antiparallèles (M_{xy}). La population des noyaux dans un état α étant légèrement plus grande que la population β , la magnétisation M est donc orientée suivant la direction du champ B_0 .

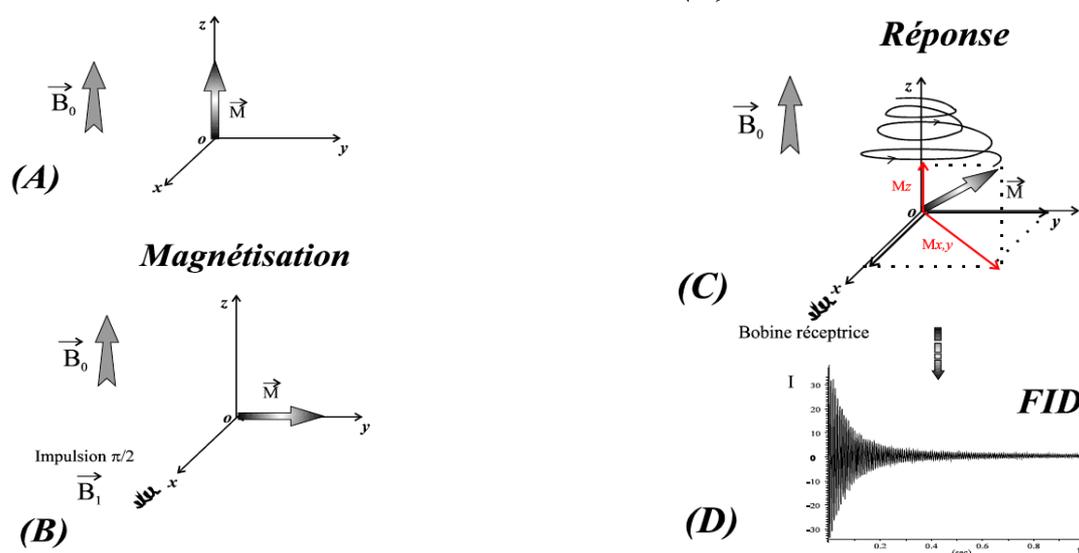


Figure 3 : Représentation schématique de l'application d'une radiofréquence B_1 sur la magnétisation macroscopique

La magnétisation macroscopique M est, dans un champ intense B_0 , parallèle à ce dernier, elle est appelée dans ce cas **magnétisation longitudinale** (Figure 3A).

L'application d'une radiofréquence dont la composante magnétique (externe) B_1 est perpendiculaire au champ B_0 provoque le basculement de cette magnétisation sur un plan xoy pour donner la **magnétisation transversale** : c'est le principe de l'impulsion R.M.N. ou pulse (Figure 3B).

L'application de cette radiofréquence choisie sera de courte durée (quelques microsecondes). Les noyaux, dans une position énergétique défavorable, tendent à revenir dans leur position initiale à l'équilibre.

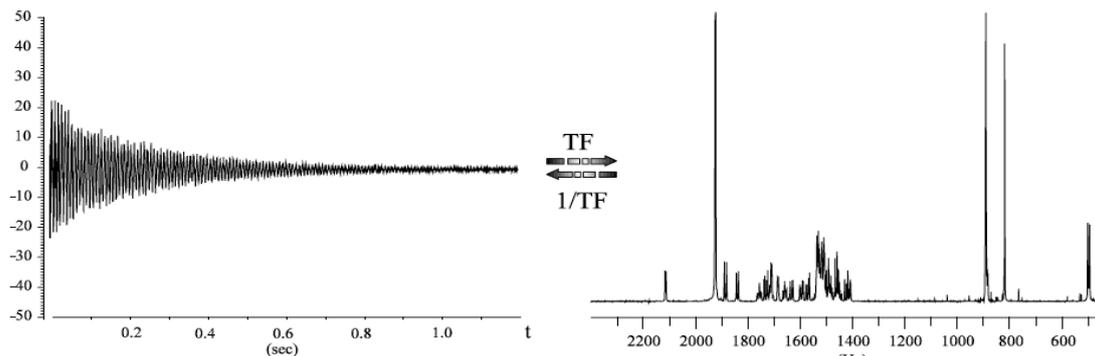


Figure 4 : Schéma de la transformée de Fourier du FID (fonction de temps) en spectre RMN (fonction de fréquences), $f(t) = f(v)$

La magnétisation transversale va revenir à l'équilibre en oscillant autour de l'axe à la fréquence de précession des noyaux (Figure 3C). L'oscillation des noyaux provoque un champ électromagnétique qui est capté par un récepteur situé suivant l'axe y . Le signal obtenu s'appelle une FID pour «Free Induction Decay» ou décroissance d'induction libre (Figure 3D) dont la transformée de Fourier donne le signal fréquentiel (Figure 4).

Au cours d'une expérience de RMN, après l'application d'une impulsion radio-fréquence et donc la perturbation du système, le retour de l'aimantation à l'état d'équilibre se fait par relaxation. Il existe deux types de relaxation :

3.4.1 La relaxation longitudinale

Appelée aussi relaxation spin-réseau et notée T_1 , elle caractérise le retour de l'aimantation à sa valeur initiale. La mesure T_1 est réalisée par la séquence d'inversion récupération.

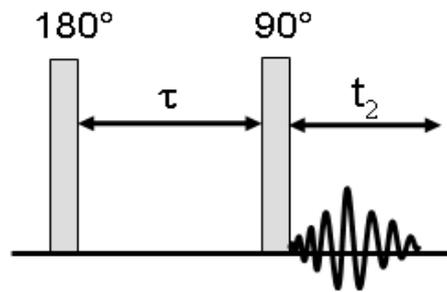


Figure 5 : Séquence d'inversion-récupération

Cette séquence (Figure 5) consiste en :

- une impulsion de 180° inversant l'aimantation suivant l'axe z
- un temps τ permettant la relaxation longitudinale, le système revient à l'équilibre
- une impulsion de 90° rendant observable le phénomène en basculant l'aimantation selon l'axe y.

$$M_z = M_z^0(1 - 2\exp(-\tau/T_1)) \quad \text{Eq. 3}$$

M_z et M_z^0 correspondent respectivement à la composante de l'aimantation suivant l'axe z et l'aimantation à l'équilibre.

$$\ln(M_z - M_z^0) = -\ln(2M_z^0) - \tau/T_1 \quad \text{Eq. 4}$$

A la fin de l'expérience, l'intensité du signal varie selon l'équation 3 :

En effectuant une série de cycles avec différentes valeurs de τ , T_1 peut être déterminé en traçant la courbe $\ln(M_z - M_z^0)$ en fonction de τ .

3.4.2 La relaxation transversale ^{2, 3, 4}

Nous avons indiqué précédemment que l'aimantation transversale et donc le signal RMN, décroissent avec la constante de temps T_2 . En pratique, l'inhomogénéité spatiale du champ B_0 induit un accroissement de la vitesse de décroissance de l'aimantation transversale. Cette inhomogénéité peut être due à l'aimant lui-même, mais aussi aux hétérogénéités microscopiques et macroscopiques de l'échantillon. Par exemple la présence de régions de

² Hahn et Maxwell, « Spin Echo Measurements of Nuclear Spin Coupling in Molecules ».

³ Hahn, « Spin Echoes ».

⁴ Meiboom et Gill, « Modified Spin-Echo Method for Measuring Nuclear Relaxation Times ».

susceptibilités magnétiques différentes introduit des variations locales du champ magnétique et donc de la fréquence de Larmor. La dispersion des fréquences de résonance dans l'échantillon entraîne une décroissance accélérée du signal. Cette décroissance du signal peut être décrite par une constante de temps T_2^* qui modélise les inhomogénéités du champ :

$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \frac{1}{T_2^{inh}} \quad \text{Eq. 5}$$

T_2^{inh} caractérise cette perte de cohérence due aux variations spatiales du champ.

La mesure de T_2^* peut être réalisée par mesure directe sur un spectre protonique à partir des largeurs de raies à mi-hauteur ($\nu_{1/2}$ en Hz), puisque ces dernières sont inversement proportionnelles à T_2 (Eq.6).

$$T_2^* = \frac{1}{\pi \Delta \nu_{1/2}} \quad \text{Eq. 6}$$

Fort heureusement, grâce à la séquence Spin Echo de Hann (Figure 6), on est capable de mesurer le vrai T_2 (dépourvu de la contribution de l'inhomogénéité du champ). Cette séquence est constituée d'un premier pulse à 90° permettant le basculement dans le plan, d'un déphasage pendant le temps τ refocalisé par un second pulse de 180° . L'intensité du signal décroît ensuite exponentiellement pendant le deuxième temps τ selon l'équation.7.

$$M_{xy}^\tau = M_{xy}^0 \exp\left(\frac{-\tau}{T_2}\right) \quad \text{Eq. 7}$$

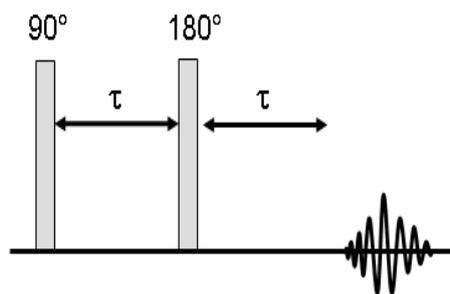


Figure 6 : Séquence d'écho de Hann

La Figure 7 ci-dessous résume le phénomène de relaxation.

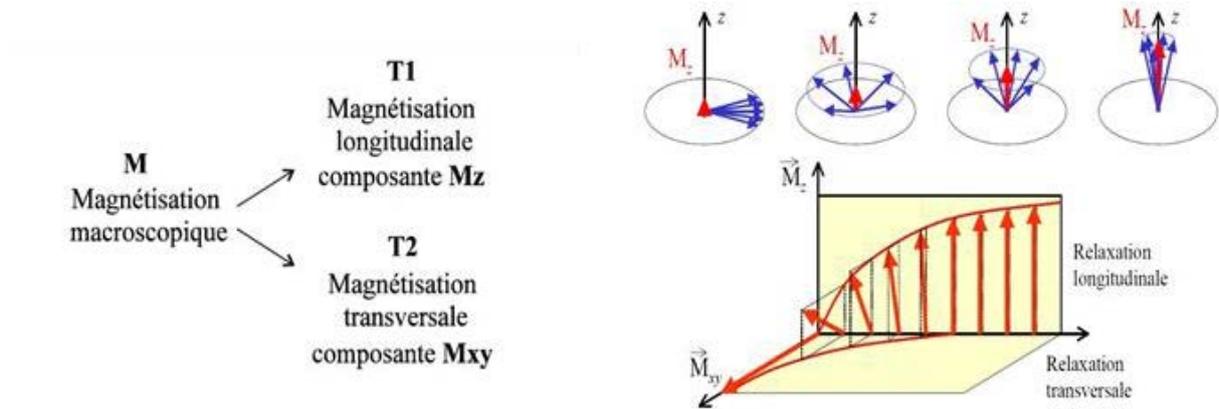


Figure 7 : Schéma récapitulatif du phénomène de relaxation en RMN

4. Expériences RMN bidimensionnelles (RMN 2D)

Dès son introduction en 1971 la RMN 2D s'est avérée être un excellent outil pour étendre les potentialités, déjà importantes, de la RMN impulsionnelle à une dimension. Le passage à la deuxième dimension permet non seulement de mieux séparer les informations mais aussi d'établir des corrélations entre ces informations soit entre les couplages et les déplacements chimiques soit entre les spectres obtenus pour différents noyaux par exemple.

4.1 Principe

Le signal RMN détecté (le FID) est décrit par une fonction $S(t)$ dépendant du temps (cf. paragraphe 3.4). Le spectre est alors obtenu après une transformation de Fourier de $S(t)$ et correspond à une fonction $F(\omega)$.

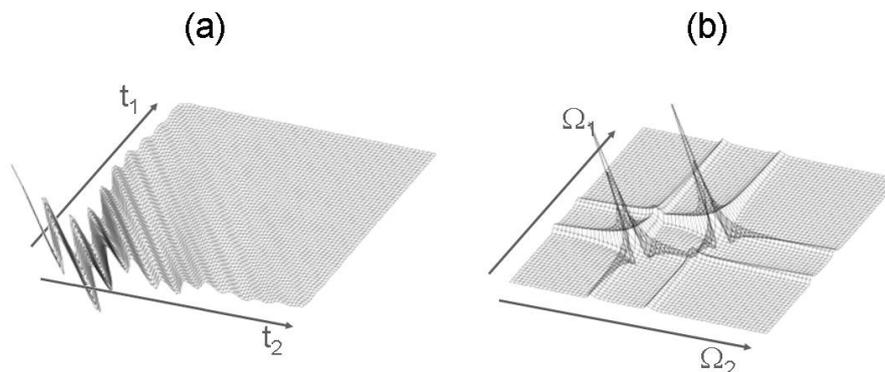


Figure 8 : FID à deux dimensions
(a) et spectre RMN à deux dimensions correspondant (b).

L'obtention d'un spectre RMN-2D, $F(\omega_1, \omega_2)$, suppose d'une part, l'obtention d'une FID à deux dimensions décrite par une fonction $S(t_1, t_2)$ dépendant de deux variables temporelles

indépendantes t_1 et t_2 et d'autre part, une double transformation de Fourier de $S(t_1, t_2)$ (Figure 8). Cependant, physiquement il ne peut y avoir qu'un seul temps lors d'une expérience. Il est donc nécessaire d'utiliser un artifice pour créer une seconde dimension temporelle qui correspondra à t_1 , t_2 correspondant conventionnellement au temps t durant l'enregistrement du signal. Le concept de RMN à deux dimensions (RMN 2D) a été suggéré pour la première fois en 1971 par le physicien belge J. Jeener. Cette idée est pratiquement passée inaperçue, jusqu'à ce que l'équipe de R.R. Ernst ¹ publie les premiers spectres de RMN 2D en 1976. Depuis, la RMN 2D s'est révélée être un outil incontournable dans tous les domaines employant la résonance magnétique comme technique d'analyse.

4.2 Obtention d'une FID à deux dimensions

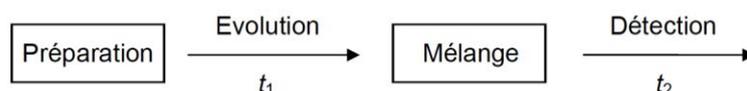


Figure 9 : Les quatre étapes d'une expérience de RMN 2D

La RMN 2D appartient autant à la spectroscopie à transformée de Fourier qu'à la spectroscopie impulsionnelle et repose sur une succession de trois intervalles de temps : **préparation**, **évolution** et **détection**. Dans un certain nombre d'expériences s'y ajoute encore une autre période avant la détection, le temps **mélange** (appelé aussi temps de mixage) (Figure 9).

Lors de la période de préparation, le système de spins est préparé pour l'expérience qui va suivre. Dans sa forme la plus simple, cette étape est constituée d'un délai de relaxation suivi d'une impulsion 90° permettant de basculer les aimantations dans le plan transversal. Après la préparation, le système évolue pendant une durée t_1 qui constituera par la suite la première dimension du FID. Cette évolution peut avoir lieu sous l'effet du déplacement chimique et/ou des couplages pour un noyau donné, en fonction de ce que l'on souhaite observer dans la dimension 1 (déplacements chimiques ^1H , ^{13}C , couplages, etc...). La période de mélange qui suit permet éventuellement un transfert d'aimantation ou de cohérence vers le noyau que l'on souhaite observer dans la dimension 2. Ce transfert peut avoir lieu par un phénomène de couplage scalaire, d'interaction dipolaire (NOE), etc... Enfin, l'aimantation évolue librement et est détectée sous forme de FID pendant le temps t_2 .

Ces quatre étapes sont à la base de la RMN 2D mais ne sont pas suffisantes. En effet, la FID ne peut être détectée qu'à la fin de la séquence d'impulsions, c'est-à-dire durant la période t_2 .

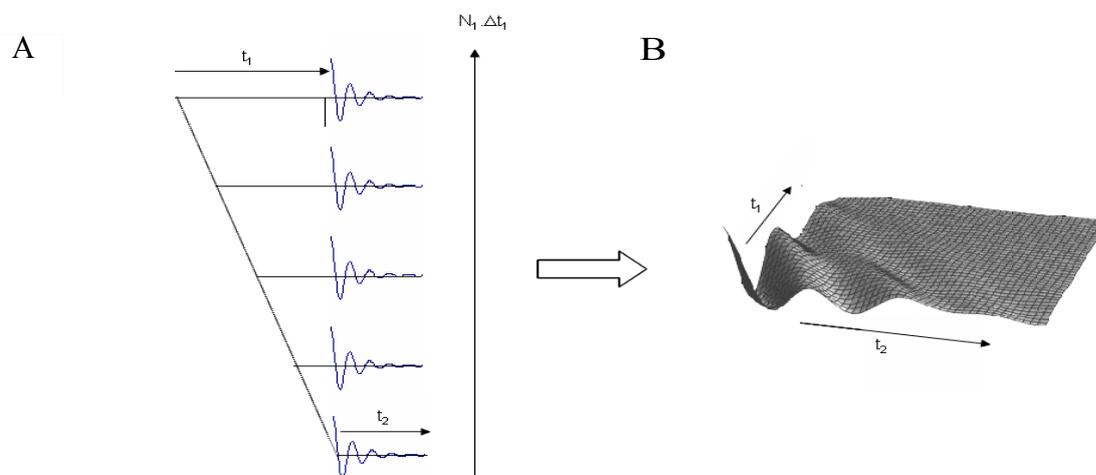


Figure 10 : Principe de construction d'une expérience RMN à deux dimensions, N_1 signaux de précession libre sont collectés (A), et chaque FID obtenue représente une ligne de la matrice 2D (B)

Pour détecter l'information dans la dimension 1, l'idée de Jeener fut de répéter plusieurs fois la séquence d'impulsions en incrémentant régulièrement le temps d'évolution t_1 d'un délai Δt_1 (Figure 10A). Une FID est enregistrée pendant une durée t_2 après chaque incrément de temps t_1 . L'information sur le comportement des spins pendant la période d'évolution t_1 est ainsi détectée indirectement par son influence sur la série de FIDs². Les spins conservent en quelque sorte la mémoire de leur évolution pendant la période t_1 .

L'ensemble des FIDs recueillies constitue une matrice $S(t_1, t_2)$ faisant intervenir les deux variables temporelles souhaitées (Figure 10B).

4.3 Double transformation de Fourier

Afin d'obtenir un spectre 2D, il est nécessaire de traiter la FID à deux dimensions par une double transformation de Fourier³. Celle-ci est conduite en deux temps. Tout d'abord, chaque ligne de la matrice $S(t_1, t_2)$ subit une TF, créant ainsi une matrice $S(t_1, \Omega_2)$, constituée de spectres dans la dimension 2 et de signaux oscillants dans la dimension 1. La transformée de Fourier de chaque colonne est ensuite calculée ; un spectre à deux dimensions $S(\Omega_1, \Omega_2)$ est alors obtenu. Les spectres 2D (Figure 11) peuvent être représentés de deux manières différentes, soit sous forme d'une surface à trois dimensions appelée «stacked plot», soit en traçant des courbes de niveau comme sur une carte géographique, ce mode de représentation

est également appelé «contour plot». Cette dernière représentation est la plus fréquemment utilisée car elle facilite la visualisation et l'exploitation des spectres 2D.

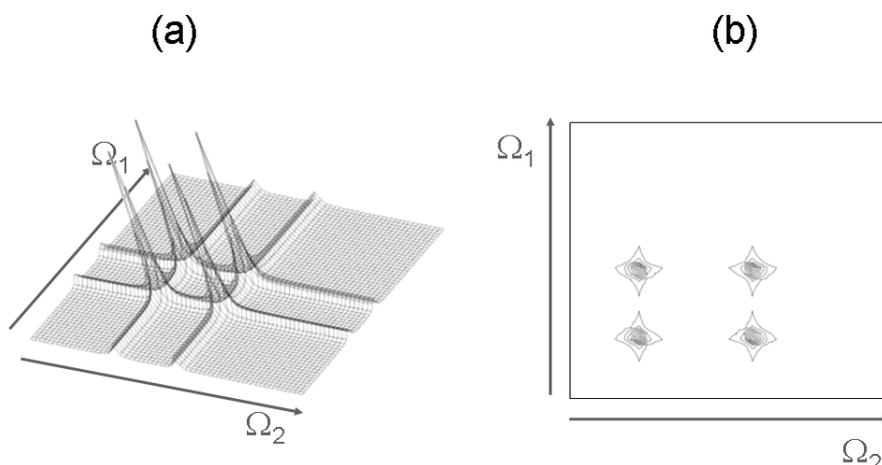


Figure 11 : Spectre 2D obtenu après transformation de Fourier à deux dimensions, en représentation pseudo 3D (ou "stacked plot") (A) ou en représentation topographique (ou "contour plot") (B)

5. Principales techniques RMN 2D

Nous distinguerons deux types de corrélation en RMN 2D.

5.1 Corrélations homonucléaires

Les expériences de corrélations homonucléaires permettent de corréler ensemble les paramètres d'un même noyau (déplacements chimiques, couplages). En l'absence d'enrichissement isotopique, il s'agit principalement de RMN du proton.

En RMN 2D homonucléaire (^1H , ^1H), la diagonale comporte en général les signaux qui seraient obtenus dans l'expérience 1D. Les signaux supplémentaires, hors diagonale, sont les signaux de corrélation caractérisés par les déplacements chimiques des deux noyaux concernés. Tous les types d'interaction peuvent être exploités. Dans le cas du couplage scalaire, les signaux hors diagonale apparaissent si les deux noyaux sont couplés. Il est possible d'utiliser les couplages 2J et 3J (COSY, COSY-DQF)^{4 5}, ou bien de privilégier les couplages plus faibles nJ , même non détectés en RMN 1D (COSYL). L'information peut être relayée entre noyaux non couplés mais appartenant à un système de noyaux couplés deux à deux (HOHAHA ou TOCSY)^{6 1 7}

Il est aussi possible d'exploiter les couplages scalaires avec la séquence J-résolue⁴, cette séquence permet d'obtenir les constantes de couplages sur l'axe F₁ et le déplacement chimique

de chaque proton découplé sur l'axe F_2 . La méthode INADEQUATE (Incredible Natural Abundance Double Quantum Transfert Experiment) permet de mettre en évidence les connectivités entre les carbones du squelette d'une molécule. Elle utilise pour cela les couplages ^{13}C - ^{13}C .

Les corrélations peuvent aussi provenir des couplages dipolaires qui correspondent aux interactions de proximités spatiales intra- ou inter- moléculaires. Les expériences bidimensionnelles NOESY (Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy) et ROESY (Rotating-frame Overhauser Spectroscopy) offrent un moyen simple de visualiser toutes les interactions dipolaires (^1H - ^1H) en une seule expérience. Les deux expériences NOESY et ROESY apportent le même type d'information mais, en fonction de certains paramètres tels que la taille des molécules (polymères), l'effet NOE sera observable avec une plus grande intensité selon l'expérience choisie.

5.2 Corrélations hétéronucléaires

En présence d'un mélange de composés avec des structures similaires, les déplacements chimiques ^1H peuvent être trop proches pour que les séquences de corrélations homonucléaires présentées ci-dessus permettent de les caractériser. Il est alors envisageable d'employer des séquences de corrélations hétéronucléaires, permettant de mettre en évidence l'interaction entre des noyaux différents. Nous nous limiterons ici au couple $^1\text{H}/^{13}\text{C}$.

Deux grands types de détections peuvent être envisagés.

5.2.1 Détection directe

En détection directe, le signal détecté est celui de l'hétéronoyau (^{13}C dans notre cas). La FID est donc détectée à la fréquence du ^{13}C , (éventuellement découplé ^1H) et enregistrée dans la dimension F_2 . Les couplages et/ou déplacements chimiques ^1H s'expriment quant à eux dans la dimension F_1 .

Parmi les techniques de détection directe, on trouve la séquence HETCOR (HETeronuclearCORrelation) ⁸, qui permet de corréler les déplacements chimiques du proton (en F_1) à ceux du ^{13}C (en F_2). Une autre séquence de détection directe est la spectroscopie J-Résolue hétéronucléaire ⁹ qui permet de corréler les déplacements chimiques ^{13}C (dimension F_2) aux couplages ^1H - ^{13}C (dimension F_1).

Les techniques de détections directes souffrent d'une très faible sensibilité, car le signal d'un noyau de faible abondance naturelle doit être détecté (^{13}C dans notre cas). L'acquisition d'un

spectre avec un bon rapport S/B (Signal/Bruit) nécessite donc un grand nombre d'accumulations, c'est pourquoi la détection directe ne sera pas envisagée pour l'analyse de nos polymères dans le cadre de cette étude. En effet, pour caractériser les bouts de chaîne ou déterminer la nature des enchaînements dans certains copolymères la détection directe serait inefficace.

5.2.2 Détection inverse

La détection inverse ou indirecte consiste à obtenir dans la dimension F_1 les paramètres RMN (déplacements chimiques, couplages...) d'un noyau peu sensible (^{13}C dans notre étude), en observant en F_2 le signal RMN d'un noyau beaucoup plus sensible (^1H) grâce à un processus de transfert d'aimantation. Ainsi, les résonances ^{13}C sont détectées avec la sensibilité du ^1H , le même rapport S/B qu'en détection directe est alors atteint avec un nombre d'accumulations inférieur d'où un gain de temps important.¹⁰

On peut citer les séquences HSQC, HMQC et HMBC parmi les séquences les plus utilisées en détection inverses. Cette famille de séquence permet d'atteindre le même type d'information que celle fournies par la séquence HETCOR. Cependant, il s'agit maintenant de détection inverse, ce qui assure une sensibilité nettement meilleure.

Pour la caractérisation par RMN 2D de nos matériaux polymères, nous avons choisi d'utiliser la séquence HSQC-DEPT plutôt que la HMQC. En effet cette expérience de RMN 2D hétéronucléaire est la plus sensible, car elle corrèle les déplacements chimiques des hydrogènes à ceux des carbones auxquels ils sont liés. Elle ne donne toutefois pas d'information sur les carbones quaternaires. Ceux-ci sont accessibles grâce à l'expérience HMBC, qui corrèle les déplacements chimiques des hydrogènes à ceux des carbones séparés par plus d'une liaison, leur nombre étant principalement 2 ou 3, voire plus, si certaines conditions structurales sont réunies (systèmes aromatiques, conjugués, plans).

5.2.2.1 Séquence HSQC

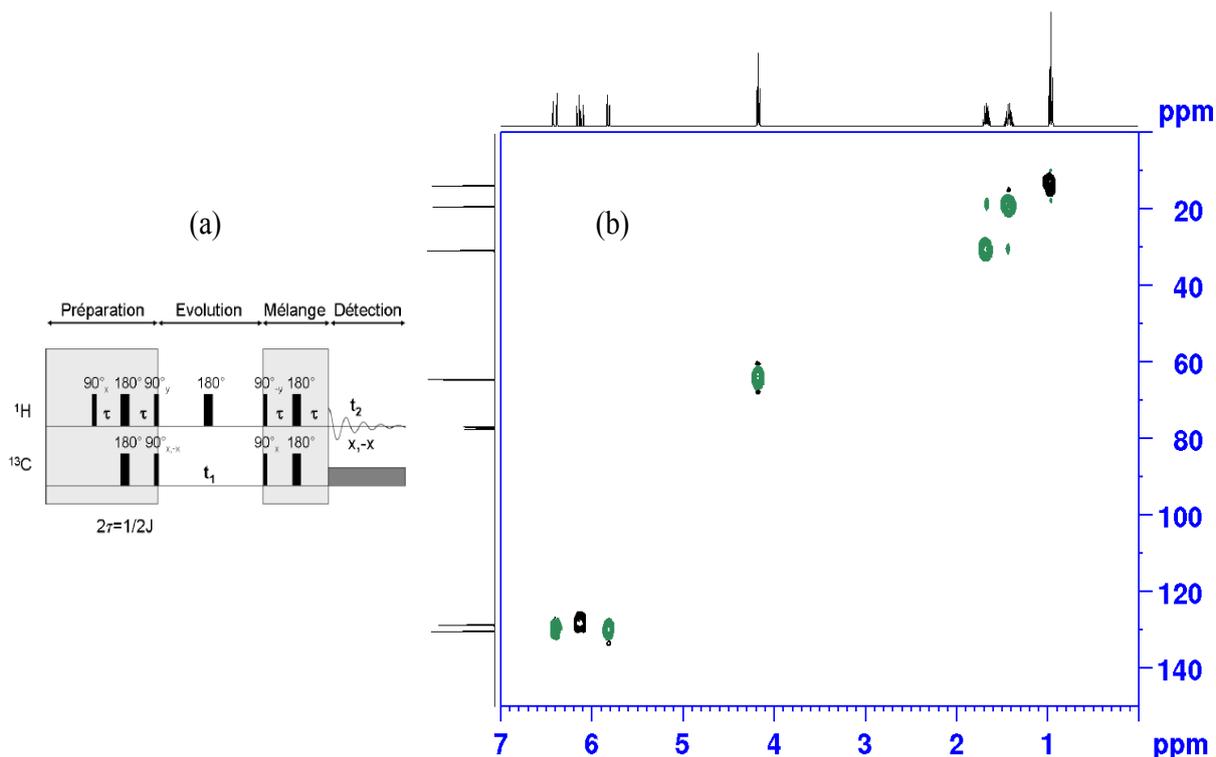


Figure 12 : HSQC-¹H/¹³C. (a) séquence d'impulsions ; (b) HSQC du monomère Acrylate de Butyle.(ABu), (les tâches de corrélation de couleur verte correspondent aux différents CH₂ du monomère.)

Les quatre intervalles de temps qui constituent la séquence HSQC représentée sur la Figure 12a (HSQC : Heteronuclear Single-Quantum Correlation) sont :

➤ la période de préparation est constituée d'un délai permettant le retour à l'équilibre de l'aimantation et d'un motif INEPT qui transfère la polarisation des protons vers les carbones auxquels ils sont directement liés. Pour cela le délai τ doit être ajusté à la valeur $1/4J$ avec :

$$J = {}^1J_{CH}$$

➤ la période d'évolution, de durée t_1 , est un écho de spin, seuls les déplacements chimiques carbones s'expriment pendant le temps t_1 , l'effet des couplages carbone-proton est refocalisé

➤ la période de mélange est un motif rétro-INEPT, il permet de transférer l'aimantation des carbones ¹³C vers les protons qui leur sont couplés.

➤ enfin, durant la période de détection, le signal RMN ^1H est détecté en présence d'un découplage ^{13}C et donc, durant t_2 , les couplages proton-carbone 13 sont éliminés du spectre. La position de la raie (ou des raies) dans la dimension 2 sera donc déterminée par le(s) déplacement(s) chimique(s) du (des) proton(s) directement lié(s) à ce carbone (compte tenu de la nature de la période de détection et du double transfert d'aimantation entre les protons vers le carbone qui leur est couplé (Figure 12b).

5.2.2.2 Séquence HMBC

Les informations apportées par la séquence HMBC (Heteronuclear MultiBond Correlation) en font une séquence quasiment indispensable pour la détermination de structures de molécules complexes. En 1983 Griffey ¹¹ *et al.*, publièrent une version primitive, qui fut modifiée en 1986 par Bax *et al.* ¹² pour aboutir à la séquence utilisée pour les corrélations à longues distances entre proton et carbone.

L'utilisation des impulsions de gradients ¹³ (GE-HMBC « Gradient Enhancedf HMBC») pour la sélection des chemins de cohérence simplifia le cycle de phase et diminua les artefact.(notamment le bruit en t_1).

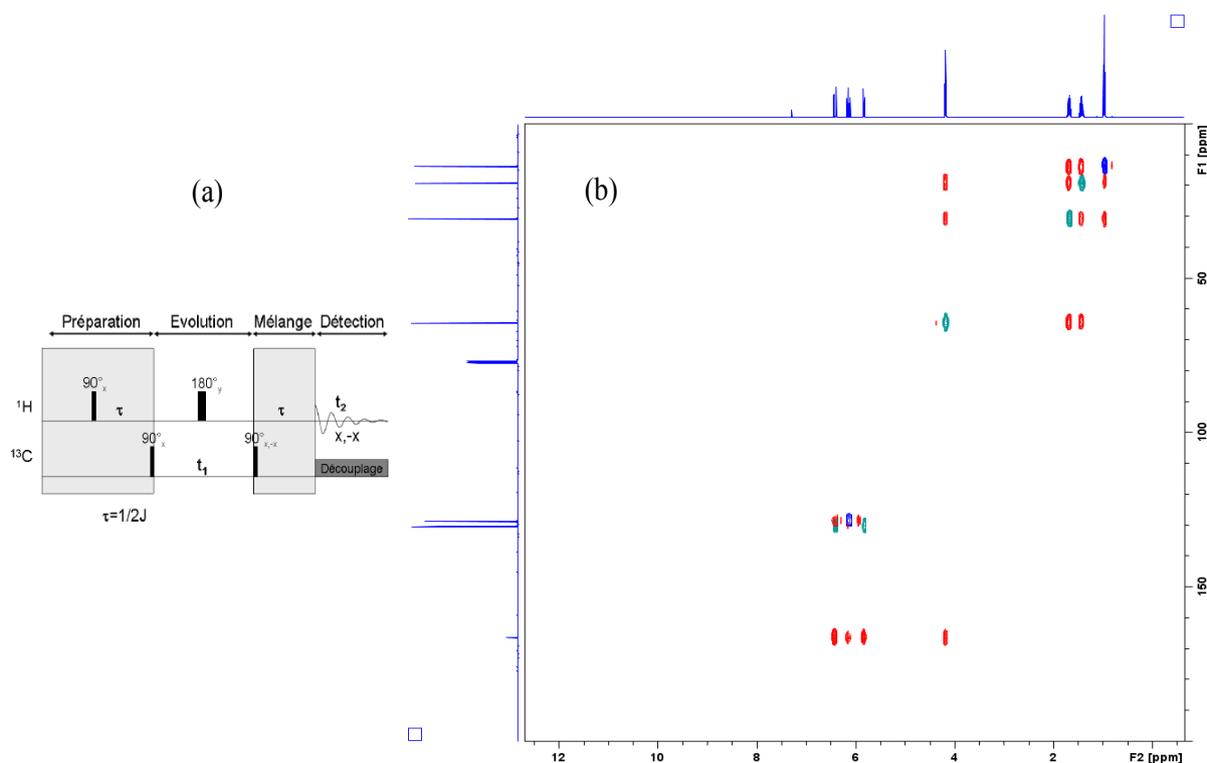


Figure 13 : HMBC- $^1\text{H}/^{13}\text{C}$. (a) séquence d'impulsions ; (b) spectre du monomère d'Acrylate de Butyle. Pour information, la position des raies du spectre HSQC correspondant est indiquée par la couleur bleue et verte

La séquence HMBC de la Figure 13a permet de corrélérer les carbones aux protons qui leur sont liés via le couplage $^2J_{CH}$ ou $^3J_{CH}$. Elle permet ainsi d'établir les connectivités entre les différents groupes CH_n de la molécule (y compris pour $n=0$).

➤ Il s'agit essentiellement d'une séquence HMQC dans laquelle le délai τ de la période de préparation est allongé pour satisfaire : $1/2^n J_{CH}$.

Ce changement d'apparence mineur a deux conséquences importantes : les couplages homonucléaires $^1H-^1H$ (qui sont du même ordre de grandeur que les couplages $^nJ_{CH}$) ont le temps de s'exprimer significativement ce qui induit des variations de phase importantes sur le spectre proton. Ce problème est réglé en représentant le spectre en valeur absolue dans la dimension 2. Par ailleurs, si $(\Delta + \tau)$ est un multiple impair de $1/2^1 J_{CH}$, toute l'aimantation est transférée sur le proton directement lié. Ce second problème est réglé par l'introduction d'une impulsion 90° carbone supplémentaire à $\Delta = 1/2^1 J_{CH}$ après la première impulsion proton. Il s'agit d'un filtre qui, à l'aide d'un cycle de phase approprié, permet d'éliminer les taches de corrélation avec les protons directement liés.

➤ La période d'évolution est là encore un écho de spin. Ainsi, seuls les déplacements chimiques carbones s'expriment pendant le temps t_1 , l'effet des couplages carbone-proton est refocalisé. Durant cette période, l'aimantation est dans un état multi-quanta, ce qui implique une relaxation plus rapide dans le cas de macromolécules.

En pratique l'usage de cette méthode est réservé aux petites ou moyennes molécules.

➤ La période de mélange, constituée d'un 90° carbone et d'un délai τ (égal à $1/2^1 J_{CH}$) provoque le retour à l'état simple quanta et une remise en phase des aimantations.

➤ Lors de la période de détection, l'application d'un découplage carbone supposerait d'ajuster la période de mélange à $1/2^n J_{CH}$ pour refocaliser les multiplets CH. De plus, le fait de ne pas découpler les carbones permet de mieux identifier les taches résiduelles provenant des corrélations avec les protons liés en 1J . C'est la raison pour laquelle ces spectres sont acquis sans découplage.

De nombreuses séquences permettant l'obtention de corrélations bidimensionnelles ont également été développées. Le Tableau 1 résume le rôle de quelques séquences de RMN 2D homonucléaire et hétéronucléaire facilement utilisable.

En fonction des expériences, les informations obtenues sur les dimensions F1 et F2 sont soit le déplacement chimique du noyau étudié (δ_X) soit la constante de couplage (${}^nJ_{XX}$) avec n le nombre de liaisons entre chaque atome étudié.

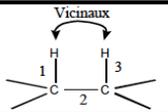
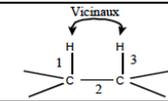
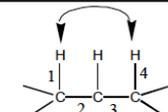
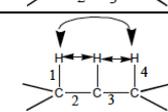
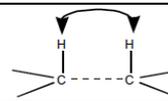
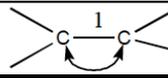
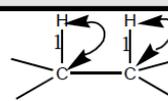
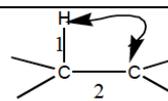
Noms des expériences:	Informations obtenues sur la dimension F ₂	Informations obtenues sur la dimension F ₁	Exemples de liaisons étudiées.
Corrélations Homonucléaires			
2D Homonucléaire J-résolue	δ_H	J_{HH}	 ${}^nJ_{HH} (n \leq 3)$
COSY 45 et 90 COSY DQF TOCSY (Couplage Scalaire)	$\delta_{H'}$, J_{HH}	$\delta_{H'}$, J_{HH}	 ${}^nJ_{HH} (n \leq 3)$
COSY L.R. TOCSY	$\delta_{H'}$, J_{HH}	$\delta_{H'}$, J_{HH}	 ${}^nJ_{HH} (n > 3)$
COSY avec un Relais Homonucléaire	$\delta_{H'}$, J_{HH}	$\delta_{H'}$, J_{HH}	 ${}^nJ_{HH} (n > 3)$
NOESY ROESY (Couplage Dipolaire)	$\delta_{H'}$, J_{HH}	$\delta_{H'}$, J_{HH}	 N.O.E
2D-Inadéquate	δ_C , J_{CC}	δ_C , J_{CC}	 ${}^1J_{CC}$
Corrélations Hétéronucléaires			
XHCORR, 2D J-résolue HSQC (inverse)	δ_C	$\delta_{H'}$, J_{HH}	 ${}^1J_{CH}$
Long-Range XCORFE, COLOC, HSBC (inverse)	δ_C	$\delta_{H'}$, J_{HH}	 ${}^nJ_{CH} (n > 1)$

Tableau 1 : Récapitulatif des informations extraites des différentes expériences bidimensionnelles.

6. Application de la RMN haute résolution aux polymères.

Longtemps cantonnée au domaine des petites molécules organiques la "RMN liquide" est aujourd'hui largement utilisée à des fins d'analyse et de caractérisation des matériaux polymères. Un des domaines d'application parmi les plus importants de la "RMN liquide" concerne la détermination de la microstructure des polymères ¹⁴. Les informations accessibles dans ce cas permettent l'identification :

- des stéréoséquences d'un homopolymère (tacticité),
- des régioséquences d'un homopolymère (enchaînements tête à queue, tête à tête et queue à queue des monomères dans la chaîne macromoléculaire),
- des séquences dans un copolymère (copolymères statistique, alterné, séquencé linéaire, séquencé greffé),
- des branchements (caractéristiques des transferts intra et intermoléculaires),
- des extrémités de chaînes (ce qui rend possible le calcul de la masse molaire moyenne en nombre M_n).

Les renseignements ainsi obtenus peuvent être utilisés pour remonter au mécanisme de la réaction de polymérisation.

Par ailleurs, la RMN liquide est aussi une technique bien adaptée à l'étude :

- des interactions polymère/polymère ou polymère/solvant
- des interactions polymère/tensioactif.
- de la dynamique des chaînes macromoléculaires (transitions conformationnelles) via la mesure des temps de relaxation.

Il existe de nombreux exemples dans la littérature ^{15, 16} sur l'application de la technique RMN dans le domaine des polymères, nous ne décrivons que ceux qui nous semblent être les plus représentatifs et en relation avec ce travail de thèse.

En général, dans les spectres ¹H et/ou ¹³C d'un polymère, les résolutions peuvent être classées en deux catégories selon leur intensité ¹⁷ :

- les signaux de **grande intensité**, faciles à détecter par RMN ^{13}C provenant des unités monomères semblables (homopolymères) ou dissemblables (copolymères) qui se répètent le long de la chaîne,
- les signaux de **faible intensité**, plus faciles à détecter par RMN ^1H (mais, quelquefois, seule la RMN ^{13}C est utilisable), qui révèlent la présence des structures chimiques en faible ou très faible concentration dans le polymère.

6.1 Étude de la stéréoisomérie dans les polymères linéaires

C'est dans l'étude de la stéréoisomérie que cette technique s'avère la plus performante. En effet, elle est pratiquement la seule méthode permettant d'aborder l'analyse des longueurs des stéréoséquences, qui apporte des informations très importantes sur les mécanismes de polymérisation et sur la réactivité chimique du polymère.

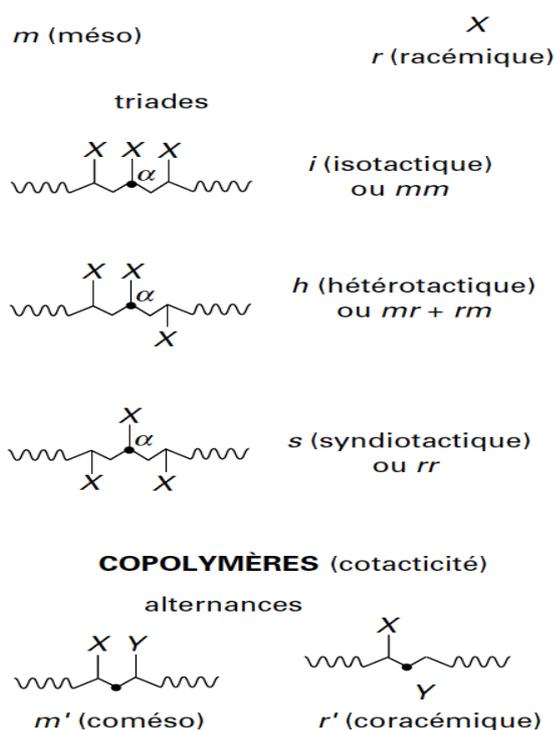


Figure 14 : Définitions des configurations

En ce qui concerne les polymères vinyliques, acryliques et apparentés, on sait que les enchaînements peuvent se faire de façon régulière (isotactique), régulière alternée (syndiotactique) ou irrégulière (hétérotactique ou atactique) (Figure 14).

6.1.1 Exemple du poly(chlorure de vinyle) (PVC)

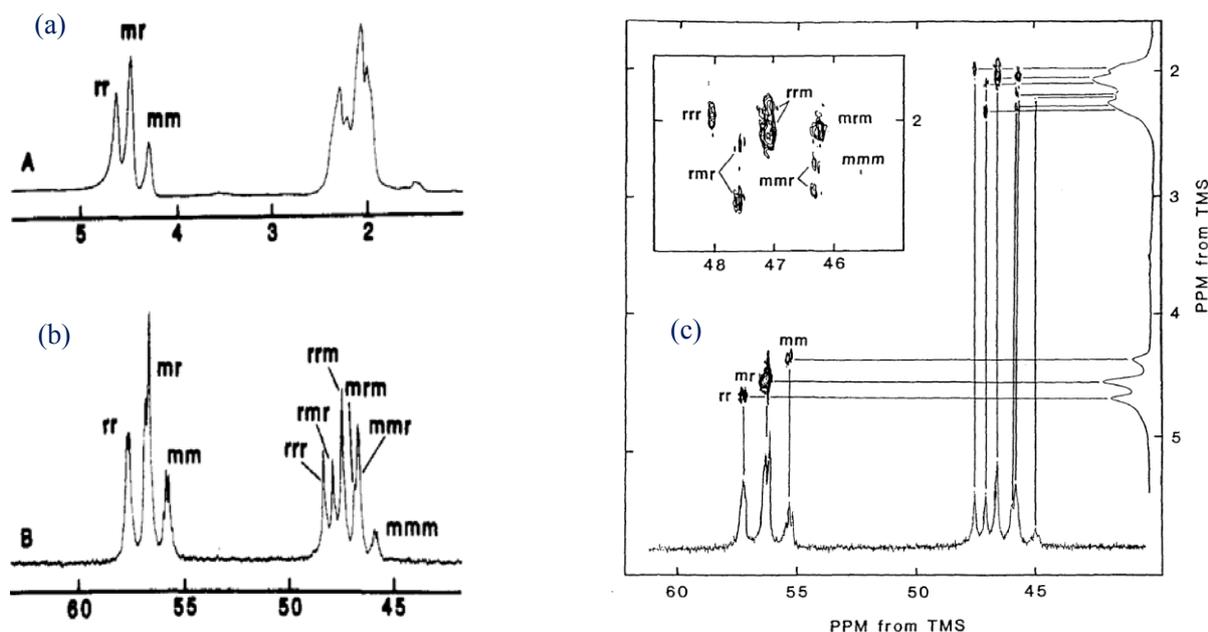


Figure 15 : Spectres (a) ¹H (500 MHz), (b) ¹³C (125 MHz) et (c) HETCOR ¹H-¹³C d'une solution à 10% en masse de PVC.

À titre d'exemple, nous avons, sur les Figures 15 (a) et (b), les spectres proton et carbone du poly(chlorure de vinyle) de masse molaire 83 000 g.mol⁻¹ enregistrés avec un spectromètre à haut champ (500 MHz pour le proton). Mirau *et al.*, ont remarqué que les signaux des protons méthyne (CH, $\delta = 4,5$ ppm) et méthylène (CH₂, $\delta = 2,1$ ppm) sont bien résolus¹⁸. Le signal dans la région des ponts méthylène (1,5 à 2,5 ppm) se présente comme un massif avec plusieurs raies de résonance venant de la non-équivalence des protons méthylène dans les diades méso. Cependant, grâce à des séquences RMN 2D (Figure 15(c)), il est possible d'attribuer toutes les raies observées.

L'étude du même polymère par RMN ¹³C (Figure 15(b)), dans les mêmes conditions de température, de solvant et avec une fréquence de champ de 125 MHz, montre que c'est la technique de choix pour l'étude de ce type de polymère. On remarque que les déplacements chimiques des carbones de la chaîne sont extrêmement sensibles à la microstructure du

polymère. En particulier, seules des triades sont observées sur le spectre protonique, alors que des tétrades sont détectées sur le spectre du carbone-13 (Figure 15(c)).

6.1.2 Exemple du polyméthacrylate de méthyle (PMMA)

Le polyméthacrylate de méthyle (PMMA) (Figure 16), est un polymère synthétique non toxique largement utilisé dans les industries chimiques et biomédicales en raison de son caractère amorphe et de sa facilité de polymérisation. Cependant, des unités monomères prochirales confèrent à la chaîne polymère une série de centres dissymétriques qui peuvent s'arranger de trois manières différentes. Les trois isomères de configuration du PMMA se différencient alors selon la position du groupement ester (-COOCH₃). Cette stéréorégularité a une influence sur les propriétés mécaniques¹⁹ diélectriques¹⁵ et thermiques²⁰ du PMMA.

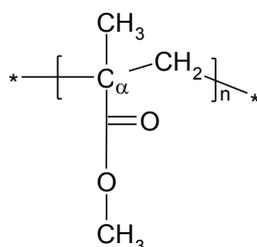


Figure 16 : Structure du polyméthacrylate de méthyle (PMMA).

Les différences de structures configurationnelles du PMMA sont dues au carbone quaternaire C_α de chaque unité monomère qui forme un centre pseudo-asymétrique. Bien que le carbone C_α n'ait pas d'activité optique pour une conformation quelconque, les configurations **R** et **S** de ce dernier peuvent être différenciées. De ce fait, une diade contenant deux carbones C_α de même configuration (**RR** ou **SS**) est définie comme une diade isotactique (**i**) ou méso (**m**), tandis qu'une diade contenant deux carbones C_α de configuration différente (**RS** ou **SR**) est définie comme une diade syndiotactique (**s**) ou racémique (**r**). Ainsi, le PMMA a une configuration dite **isotactique** s'il est entièrement constitué de diades **m**. Considérant le plan défini par l'ensemble des atomes de la chaîne principale, ceci signifie que tous les groupements ester sont situés du même côté de ce plan. Le PMMA a une configuration dite **syndiotactique** s'il est entièrement constitué de diades **r**. Considérant le plan défini par la chaîne principale, ceci signifie que tous les groupements ester sont situés de part et d'autre de ce plan. Une répartition aléatoire de ces diades lui confère alors le nom d'**atactique**.

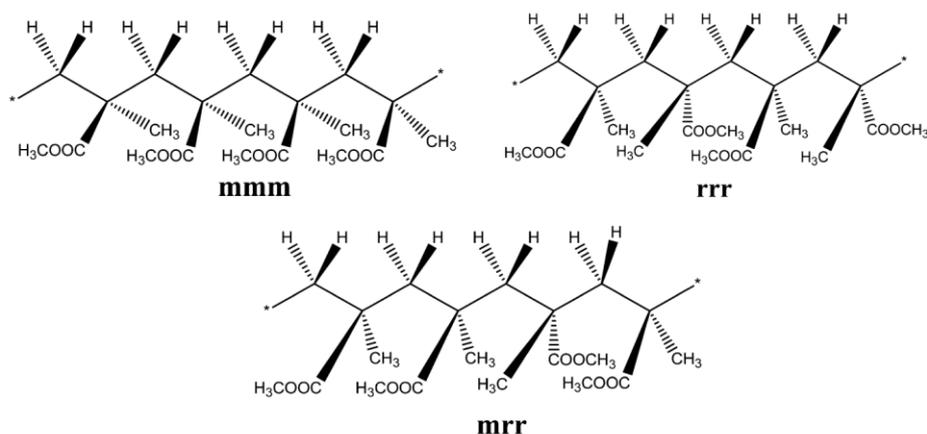


Figure 17 : Stéréoisomères du PMMA isotactique, syndiotactique et atactique.

Comme le montre la Figure 17, le PMMA présente donc trois isomères de configuration selon la position des groupements ester (-COOCH₃).

Cependant, les chaînes de PMMA possèdent des imperfections, il est alors plus aisé de caractériser la tacticité du polymère en fonction de la longueur des séquences isotactiques et syndiotactiques. La structure configurationnelle du PMMA est ainsi générée par la distribution de diades *m* et *r* dans le polymère. Les quantités en triades isotactiques (*mm*), atactiques (*mr* ou *rm*) et syndiotactiques (*rr*) sont faites à partir de l'étude de la zone des trois protons α -méthylque²¹.

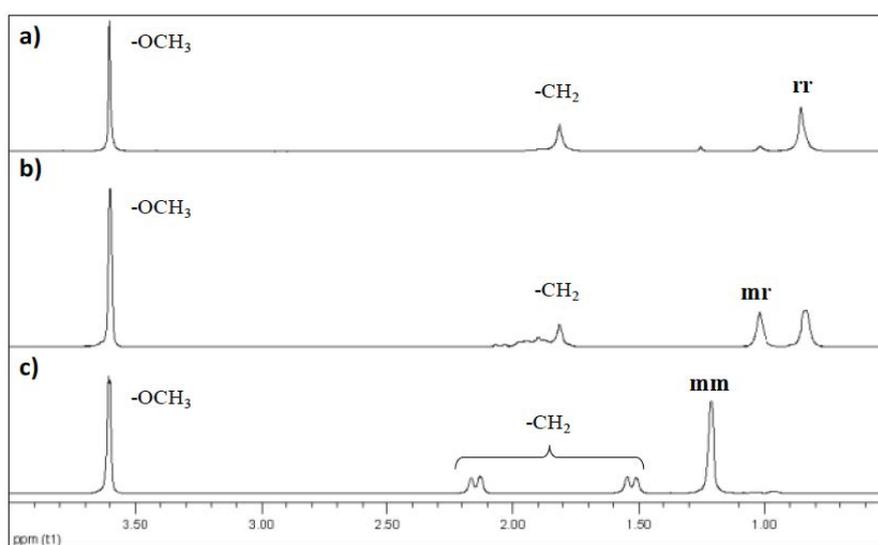


Figure 18 : Spectre RMN ¹H des PMMA syndiotactique (a), atactique (b) et isotactique (c)

Les spectres RMN ^1H de la Figure 18 montrent que les protons des groupements Ca-CH_3 présentent des déplacements différents selon qu'ils appartiennent à une triade syndiotactique (0,87 ppm), atactique (1,02 ppm), ou isotactique 21 (1,21 ppm) . L'évaluation de la surface relative de ces trois pics permet de déterminer la tacticité du polymère 22 . D'autre part, dans le cas du PMMA syndiotactique, les protons du groupement $-\text{CH}_2$ des diades majoritairement r sont équivalents et conduisent à un singulet à 1,84 ppm, contrairement au PMMA isotactique qui présente des diades majoritairement m , les protons non équivalents conduisent à un doublet dédoublé centré à 1,84 ppm.

Brar *et al* 23,24 , ont fait appel à la RMN 2D, pour élucider les structures configurationnelles du PMMA. Leur étude a été réalisée à partir de deux homopolymères, le PMA (polyacrylate de méthyle), le PMMA et quelques copolymères statistiques P(MA-co-MMA) avec différentes compositions. L'attribution et la composition des différentes séquences tactiques ont pu être déterminées par RMN 1D et 2D (TOCSY, HSQC et HMBC). Les corrélations proton-proton et carbone-proton via le couplage $^1J_{\text{CH}}$, $^2J_{\text{CH}}$ ou $^3J_{\text{CH}}$ ont permis de remonter à des séquences tactiques jusqu'au niveau des tétrades (Figure 19).

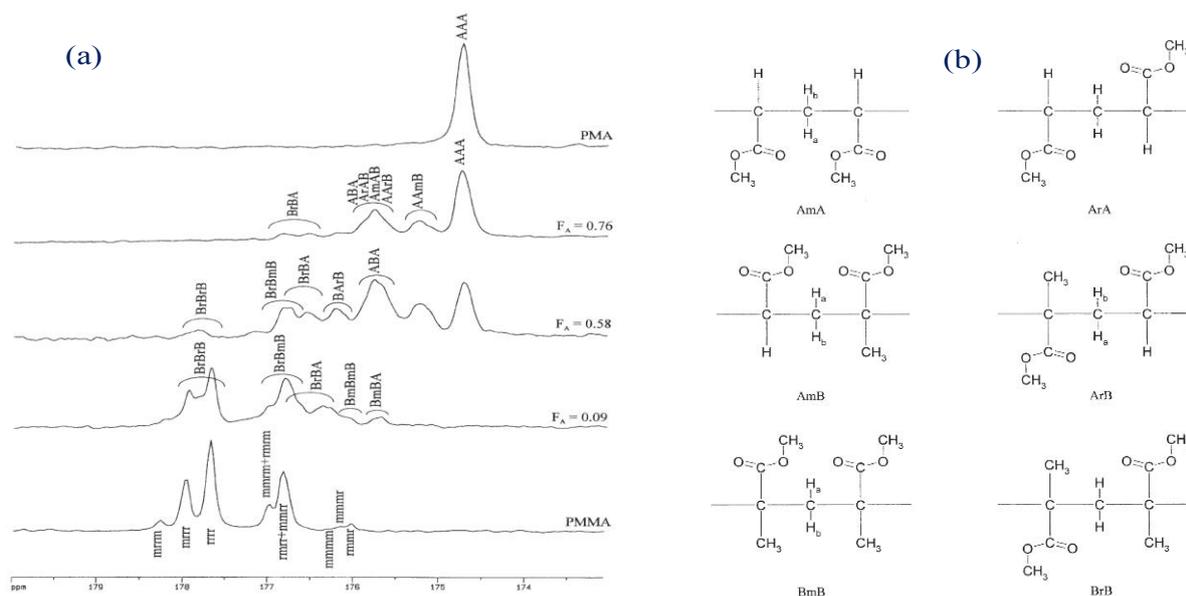


Figure 19 : (a) attributions de la résonance des carbonyles du PMA, PMMA et copolymères PMA/PMMA avec différentes compositions.(b) structures des diades AA, AB et BB montrant l'environnement tactique des protons méthylénique.(A= Acrylamide, B=Méthacrylamide)

6.1.3 Exemple du polystyrène (PS)

Les morphologies et les propriétés physiques des polymères diffèrent de manière importante selon que ceux-ci sont stéréoréguliers (c'est-à-dire ordonnés) ou non. Dans le polystyrène chaque atome de carbone tertiaire de la chaîne constitue un centre chiral (ou centre d'asymétrie)

représenté par un C* sur la Figure 20 pour lequel on peut définir deux configurations absolues différentes (R ou S).

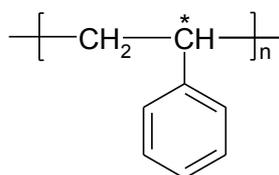


Figure 20 : Structure du polystyrène (PS)

Les noyaux benzéniques peuvent occuper trois types d'arrangements (Figure 21) :

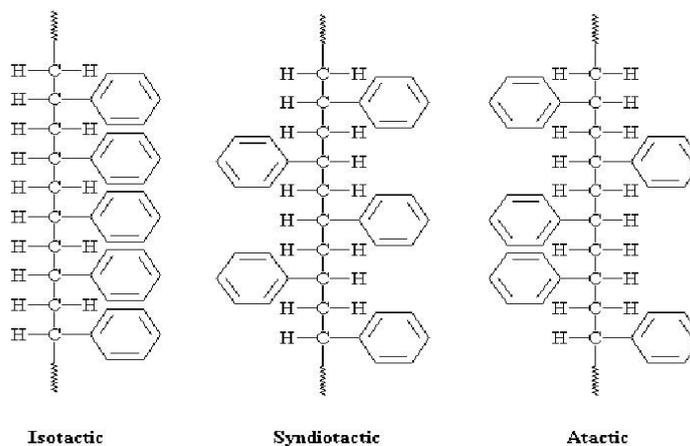


Figure 21 : Configuration tactique du polystyrène

- si les noyaux benzéniques sont distribués de façon aléatoire des deux côtés du plan formé par le squelette carboné de la chaîne principale, le polystyrène ne présente aucun ordre : il est atactique.
- si tous les noyaux benzéniques sont situés du même côté du plan formé par le squelette carboné de la chaîne, le polystyrène est isotactique. Tous les carbones asymétriques ont la même configuration absolue.
- si les noyaux benzéniques sont situés alternativement de part et d'autre de ce plan le polystyrène est syndiotactique. La configuration absolue des carbones asymétriques des unités répétitives adjacentes alterne de manière régulière.

La tacticité conditionne non seulement la vitesse de cristallisation mais aussi la température de fusion. le polystyrène isotactique dont la synthèse a été réalisée pour la première fois par G. Natta²⁵ en 1955 ne présente pas d'intérêt particulier par rapport à l'atactique, en effet il possède la même température de transition vitreuse que l'atactique ($T_g = 100^\circ\text{C}$).

Le polystyrène syndiotactique dont la synthèse a été mise au point en 1995 par N. Ishihara²⁶ a une vitesse de cristallisation suffisamment rapide pour pouvoir présenter un intérêt industriel.

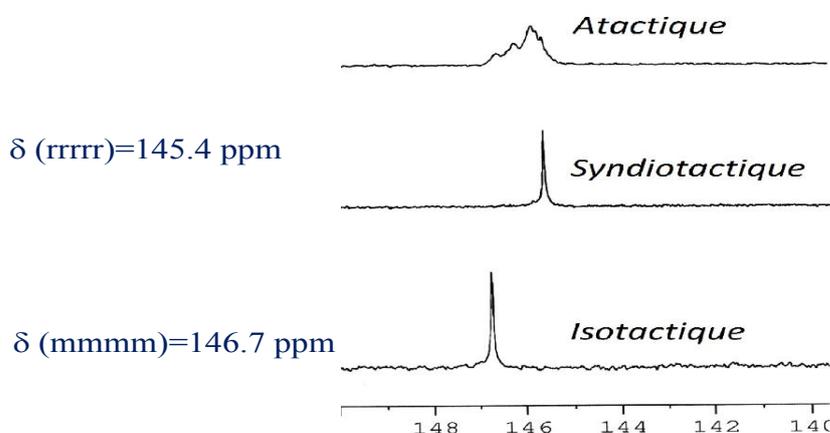


Figure 22 : Déplacements chimiques du carbone quaternaire du polystyrène (CDCl₃, 25°C)

La spectroscopie RMN ¹H et ¹³C est la technique utilisée dans l'étude de la stéré-régularité du polystyrène. En effet les déplacements chimiques du carbone-13 permettent de différencier et de quantifier les trois configurations tactiques (diades iso. syndio. et atactique). D'autre part, ils permettent aussi de déterminer la configuration des unités répétitives pouvant aller jusqu'à une valeur de 7 motifs. Le carbone quaternaire (Figure 22) étant le carbone le plus sensible à la tacticité, son déplacement chimique servira de sonde dans l'étude de la tacticité du polystyrène. R. Hiorns *et al.*, ont préparé un polystyrène isotactique de grande masse (4.7×10^6 mol g⁻¹) avec un faible indice de polymolécularité ($M_w/M_n = 1.6$)²⁷. La polymérisation s'est faite sous ultrasons en présence d'un catalyseur Ziegler-Natta (TiCl₄/AlEt₃). La réaction de polymérisation a été suivie par RMN du carbone-13. Le pourcentage de polystyrène isotactique formé a été estimé à plus de 99%,

6.2 Cas des copolymères à gradient de composition

Les copolymères à gradients occupent un espace matériel, dans lequel les copolymères statistiques et les copolymères à blocs forment deux cas extrêmes. Les copolymères statistiques ne présentent aucune variation graduelle dans leur composition alors que les blocs présentent une composition constante puis un changement total en composition.

Les gradients décrivent par contre une nouvelle topologie de chaînes, caractérisée par une composition graduelle du premier monomère prédominant au deuxième monomère comme illustré sur la Figure 23.

Les structures des copolymères à gradient peuvent être variées, elles dépendent de la technique de polymérisation (en discontinu ou en semi-continu) et de la différence de réactivité des monomères mis en jeu.



Figure 23 : Structure schématique des copolymères à gradient de composition.

Dans cette partie bibliographique notre intérêt s'est porté sur quelques exemples de synthèse où la RMN 1D et/ou 2D était indispensable à la compréhension de la structure fine de ces copolymères à gradient de distribution.

6.2.1 Exemple du poly(ABu-grad-MMA)

N.Cherifi *et al.*, ont préparé par voie NMP (Nitroxide Mediated Polymerization) plusieurs copolymères à gradient de composition à base de deux monomères acrylique : l'acrylate de butyle (ABu) et le méthacrylate de méthyle (MMA)²⁸. La synthèse des poly (ABu-grad-MMA) a été faite par polymérisation discontinue (ou batch) et semi-continue (semi-batch).

La technique de RMN ¹³C a été utilisée comme moyen d'investigation pour caractériser l'enchaînement des atomes de carbone le long du squelette des copolymères. Les résultats obtenus avec le batch 75/25 (mélange de 75% ABu et 25% MMA) montre une augmentation des intensités relatives aux pics attribués aux triades BBB en fonction de la longueur des chaînes polymères. Cette augmentation est accompagnée d'une diminution des intensités relatives aux signaux (A), (B), (C) et (E) (Figure 24), confirmant ainsi l'enrichissement des chaînes polymères en unités d'acrylate de *n*-Butyle pour ce copolymère.

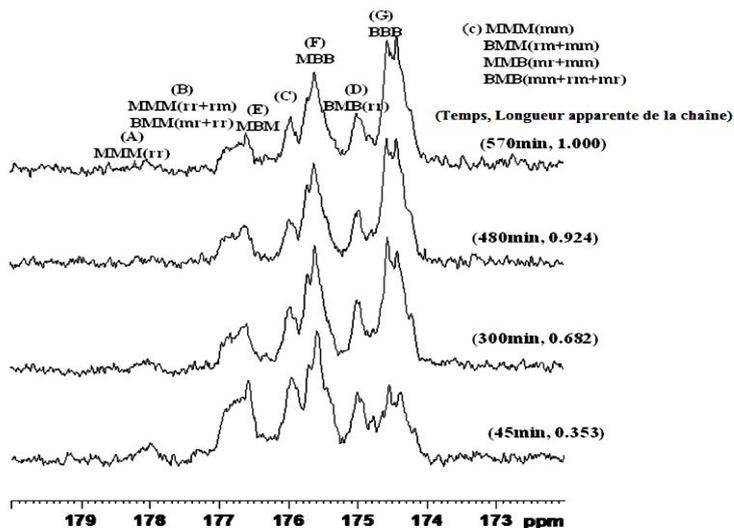


Figure 24 : Spectres RMN ^{13}C montrant l'évolution des intensités des carbonyles.
M : unité MMA, B : unité ABu. (CDCl_3 , 25°C)

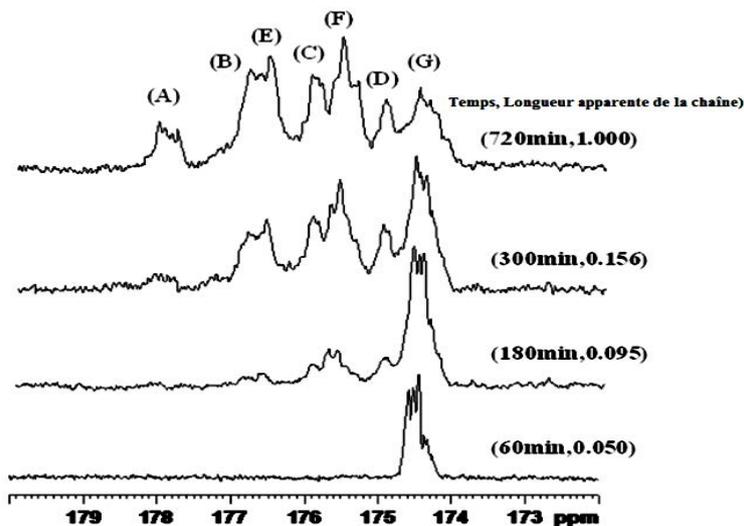


Figure 25 : Spectres RMN ^{13}C (CDCl_3 , 25°C) montrant l'évolution des intensités des carbonyles.

En revanche, le *semi-batch* 2.2 (2.2 étant la vitesse d'addition exprimée en mL du monomère MMA par heure) présente une diminution des intensités relatives aux triades BBB et une augmentation des intensités des signaux (A), (B), (C) et (E) ce qui confirme l'incorporation graduelle des unités MMA le long des chaînes polymères (Figure 25b).

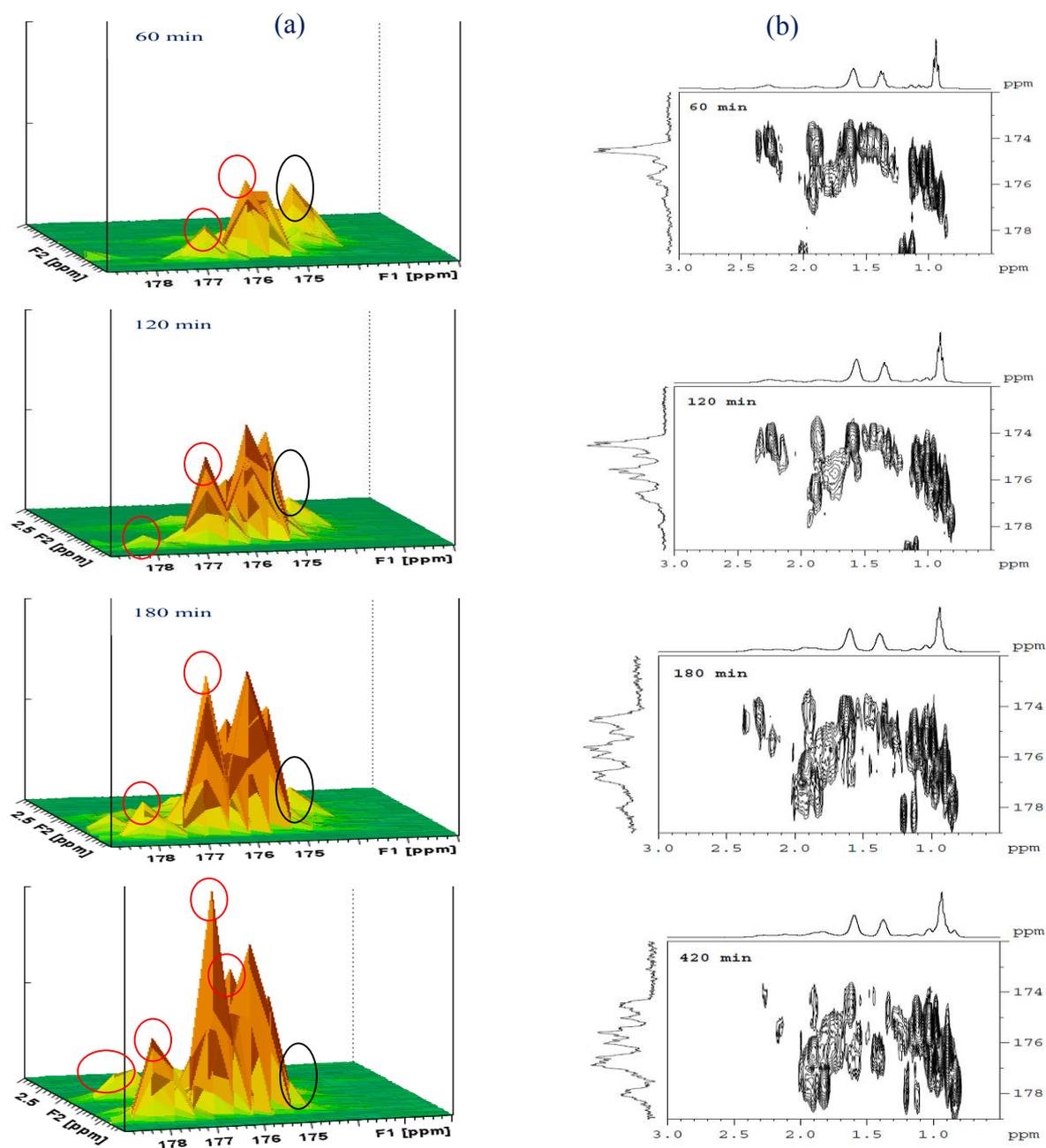


Figure 26 : Représentation pseudo 3D (a) et topographique (b) montrant l'évolution des pics de corrélation en fonction du temps (cas du semibatch-4.3 mL (MMA).h⁻¹)

La formation des différents gradients a été également suivie par RMN 2D HMBC. Cette technique s'est révélée très puissante pour le suivi de la formation des gradients de composition. La Figure 26, illustre bien l'évolution des pics de corrélation caractéristiques de la formation des gradients de composition. En effet l'addition du monomère méthacrylate de méthyle M (rapport de réactivité $r = 2.15$), à la solution déjà « riche » en monomère acrylate de butyle B

(avec un faible rapport de réactivité, $r = 0.39$), se traduit par une diminution des intensités relatives aux triades BBB (cercles noirs sur la Figure 26a) et une augmentation graduelle des intensités relatives à la formation des triades MMB, MBM et MMM (cercles rouges)

6.2.2 Exemple du poly(S-grad-MA)

Le styrène (S) et l'acrylate de méthyle (MA) ont été choisis par K.Karaky *et al.*, pour préparer des copolymères thermoplastiques à gradient de composition par polymérisation radicalaire contrôlée par l'intermédiaire d'un nitroxyle²⁹. Au cours de cette étude, les architectures macromoléculaires élaborées ont été caractérisées selon plusieurs techniques d'analyse.

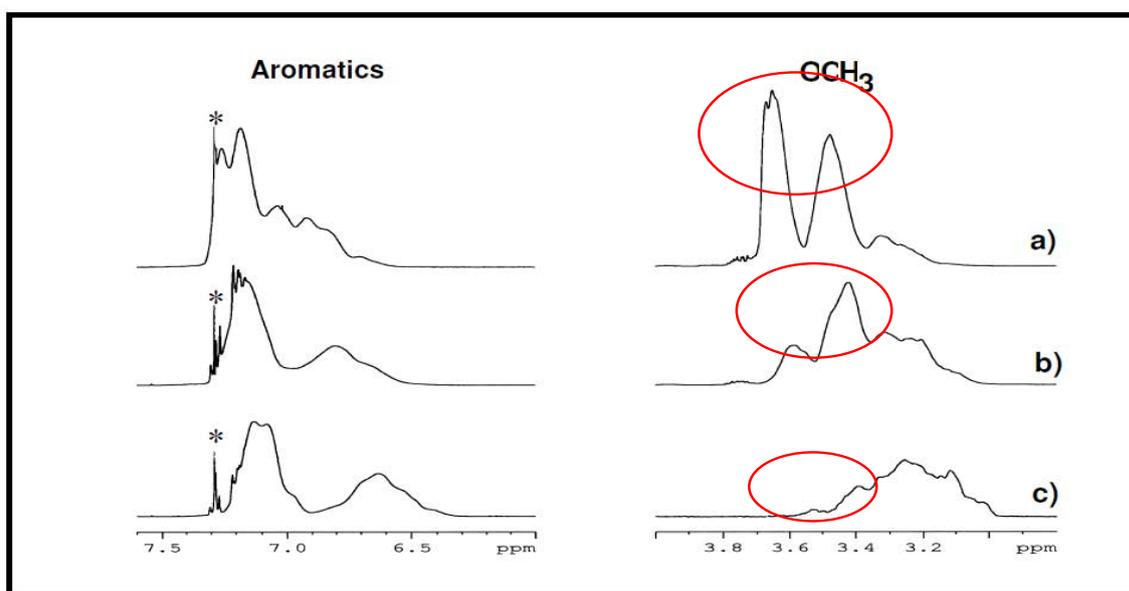


Figure 27 : Spectres ^1H (zone aromatiques (S) et zone méthoxy (MA)) de trois copolymères avec différentes compositions en S et MA. (CDCl_3 , 25°C)

La RMN a été utilisée d'une part pour le suivi cinétique des réactions de polymérisation et d'autre part pour la caractérisation microstructurale de ces copolymères. Ainsi, il a été montré que selon la composition en monomères S et MA on obtient des spectres ^1H avec des « profils » différents. Ces profils peuvent avoir trois explications :

- la composition du copolymère (Figure 27c),
- la distribution des unités monomères (Figure 27b)
- la tacticité (Figures 27a).

En effet, quand on augmente la quantité de MA (cf. cercles rouges sur les spectres en partant du bas sur la figure 27), on observe dans la région des groupements méthoxy ($-\text{OCH}_3$)

l'apparition de deux nouveaux pics (larges) à champ faible. Ce déblindage s'observe également au niveau des protons aromatique (S). Le copolymère (a) représenté sur la Figure 27, montre la présence de trois massifs clairement distincts dans la zone $-OCH_3$ (Figure 28) :

- le massif noté I dont l'intensité augmente avec le temps de polymérisation est attribué aux triades MA/MA/MA.
- les deux autres massifs II et III, correspondent respectivement aux triades MA/MA/S et S/MA/S.

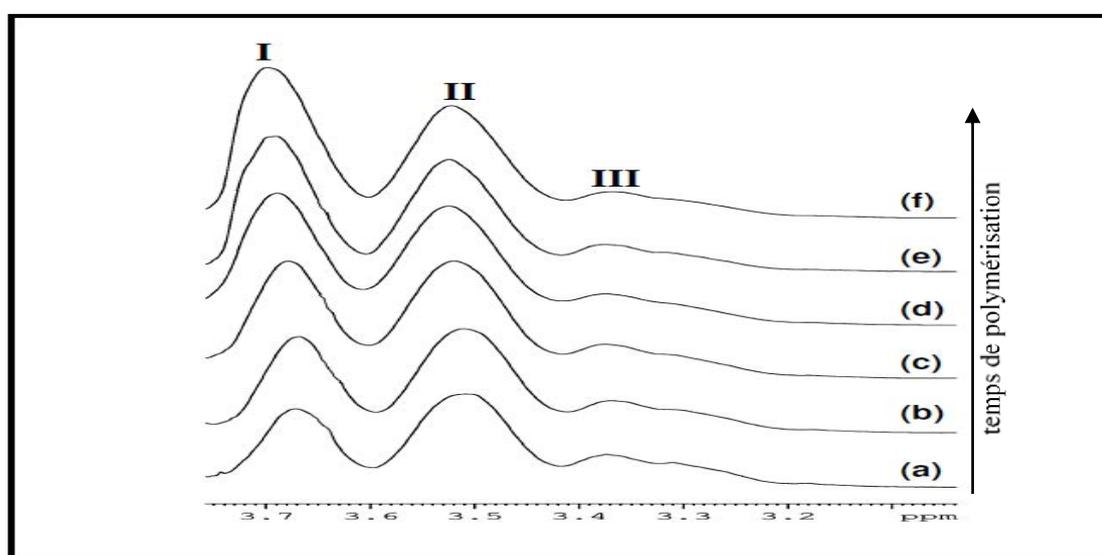


Figure 28 : Spectres 1H (région des $-OCH_3$) montrant l'évolution de l'intensité des pics en fonction de la distribution des triades($CDCl_3$, $25^\circ C$)

6.2.3 Exemple du poly(AcGalEA-co-S)

La synthèse de copolymères amphiphiles diblocs, à gradients et statistiques a été mise point par P. Escalé et al., dans le but d'étudier l'influence de ces structures sur la formation des films en nid d'abeilles³⁰. Ces copolymères amphiphiles sont constitués de styrène et d'unités carbohydate à base d'un glycomonomère, le 2-(2',3',4',6'-tétra-O-acétyl- β -D-galactosyloxy) éthyle (AcGalEA) (Figure 29).

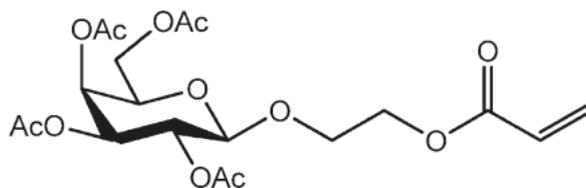


Figure 29 : Structure du Glycomonomère AcGalEA

Pour la caractérisation des différents copolymères synthétisés, plusieurs techniques de caractérisation ont été utilisées. La RMN s'est révélée essentielle pour estimer le rapport de réactivité des deux monomères et ce, par un suivi cinétique par RMN ^1H «*in situ*», elle a aussi permis grâce à la séquence HSQC-DEPT de comprendre la structure des différents copolymères synthétisés (Figure 31).

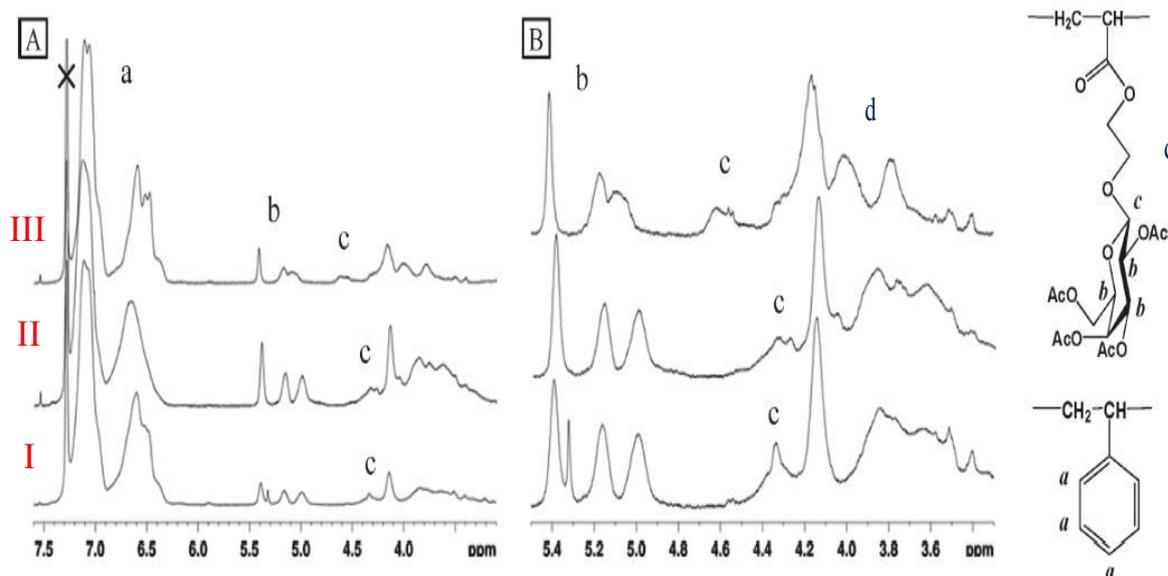


Figure 30 : Spectres ^1H du P(AcGalA-*b*-PS) (III), P(AcGalEA-*co*-S) (II) et PS-*b*-P(S-*grad*-AcGalEA)

La Figure 30, montre que, selon le type de copolymère (à bloc, statistique ou à gradient), le déplacement chimique des protons anomérique (c), des CH (b) et CH₂ (d) est sensible à la différence de structure. Sur la représentation pseudo-3D de la Figure 31, les CH et les CH₂ sont facilement identifiables grâce à leur signe (positif pour CH et négatif pour les CH₂). On remarquera aussi que le déplacement chimique des CH et le profil des pics CH₂ diffèrent selon l'architecture du copolymère à gradient ou à blocs.

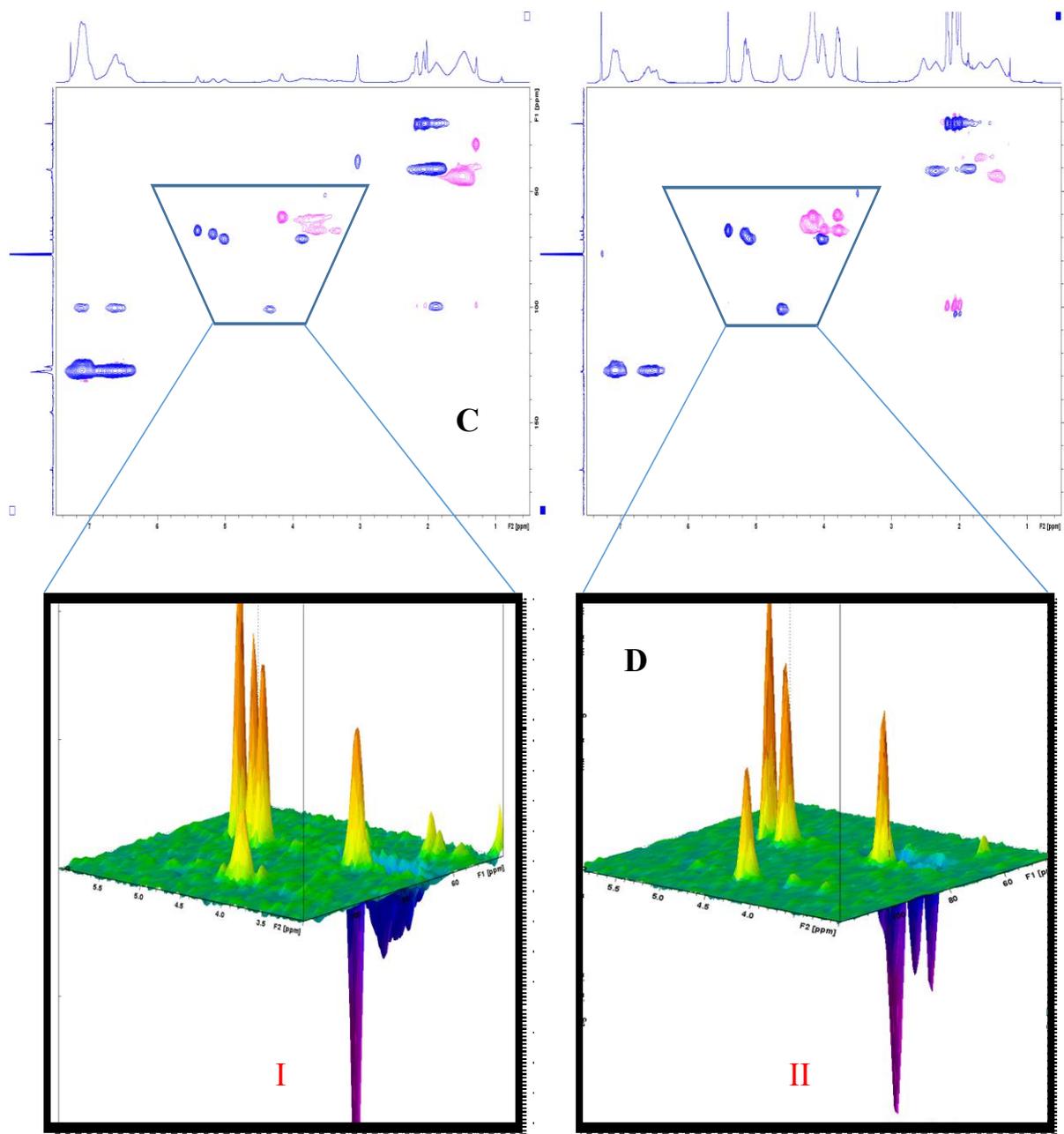


Figure 31 : Spectres 2D HSQC-DEPT en représentation topographique (C) et pseudo-3D (D) d'un copolymère à gradient de composition (I) et d'un copolymère à bloc (II)

6.3 Caractérisation des groupements terminaux des polymères

L'identification de la structure des extrémités de chaînes des polymères apporte des informations fondamentales sur le processus de polymérisation utilisé. Cette information est également essentielle pour envisager des modifications chimiques ultérieures, pour la synthèse

de polymères à architecture complexe par exemple. L'analyse quantitative des groupements terminaux dans les polymères fait souvent appel à des techniques de titrage^{31 32 33 34 35}. Ces méthodes analytiques sont longues à mettre en œuvre, sont spécifiques à certains types de groupements terminaux et exigent une quantité importante de matière et de solvant (toxique).

La RMN est largement utilisée pour caractériser la structure des groupements terminaux d'un polymère. La méthode est assez générale puisqu'elle ne dépend pas, dans la plupart des cas, de la nature chimique des groupements terminaux analysés. Ainsi, dès lors que la sensibilité et la résolution spectrale sont suffisantes, l'analyse et l'interprétation des déplacements chimiques des spectres ^1H et ^{13}C renseignent efficacement sur la présence de certaines fonctions ou groupements particuliers, permettant ainsi de proposer des hypothèses de structures. Celles-ci peuvent ensuite être affinées grâce à l'utilisation d'expériences RMN à une ou deux dimensions.

Un grand nombre d'expériences RMN 2D a été développé dans le but de caractériser la structure de polymères complexes. Les plus utilisées sont fondées sur l'observation des noyaux ^1H et ^{13}C et permettent d'élucider entièrement la structure des groupements terminaux d'un polymère au moyen de corrélations scalaires ou dipolaires de nature homo- ou hétéronucléaire (COSY, NOESY, HSQC, HMBC, HOESY,...)³⁶. Néanmoins, cette analyse structurale se complique sévèrement lorsque la masse molaire du polymère analysé augmente. En effet, les signaux RMN relatifs aux groupements terminaux deviennent dans ce cas difficilement détectables car leur intensité est très faible par rapport à celle des signaux de la chaîne polymère.

La technique par RMN ^1H a été largement utilisée pour la détermination des groupes terminaux de type hydroxyle^{37 38 39} mais il arrive, que les bouts de chaîne ne soient pas visibles par RMN ^1H , ils se retrouvent « noyés » dans les massifs de la chaîne polymère, ou bien s'échangent tout simplement avec le deutérium du solvant RMN (cas des protons échangeables). La RMN multi-noyaux apparaît dans ces cas comme une alternative. Les noyaux auxquels on fait le plus souvent appel sont le Fluor⁴⁰ (^{19}F) et le Phosphore⁴¹ (^{31}P) car ces deux isotopes présentent l'avantage d'avoir la même abondance naturelle que le proton (100%). Pour faire de telles expériences, on procède de la manière suivante, dans un premier temps, on modifie chimiquement les bouts de chaînes par des réactifs fluorés ou phosphorés et dans un deuxième temps on effectue un suivi cinétique par RMN du fluor ou du phosphore. Le suivi cinétique peut se faire soit sur les prélèvements effectués en cours du temps, soit directement dans le tube

RMN (suivi in situ), ce dernier cas présente l'avantage de n'utiliser qu'une petite quantité de produits et surtout de ne plus utiliser de solvants de précipitation (toxiques).

La méthode par modification chimique reste quand même limitée aux polymères présentant des groupements terminaux fonctionnels (alcools, acides....)

Y. Ma *et al*⁴⁰, ont réussi à modifier des groupements terminaux carboxyliques et alcools (Figure 32) du PET (*Poly Ethylène Téréphtalate*) par des réactions de « fluoroestérification ». Ces auteurs ont pu ainsi quantifier les bouts de chaîne par RMN ¹⁹F et déterminer par la suite la masse moyenne en nombre (*Mn*) du polymère.

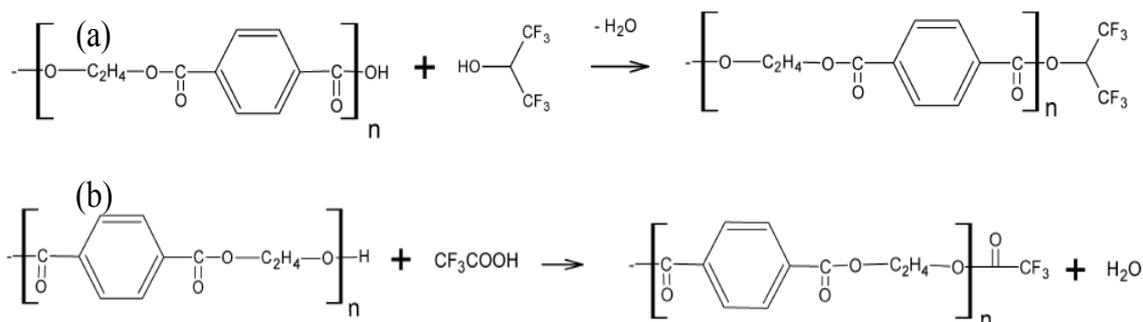


Figure 32 : Fonctionnalisation des groupements alcools (b) et acides carboxyliques (a) du PET par des réactions de « fluoroestérification »

7. Conclusion

La "RMN liquide" est aujourd'hui largement utilisée à des fins d'analyse et de caractérisation des matériaux polymères. Un des domaines d'application parmi les plus importants de la "RMN liquide" concerne la détermination de la microstructure des polymères¹⁴. Les informations accessibles dans ce cas permettent l'identification :

- des stéréoséquences d'un homopolymère (tacticité),
- des régioséquences d'un homopolymère (enchaînements tête-à-queue, tête-à-tête et queue-à-queue des monomères dans la chaîne macromoléculaire),
- des séquences dans un copolymère (copolymères statistique, alterné, séquencé linéaire, séquencé greffé),
- des branchements (caractéristiques des transferts intra et intermoléculaires),
- des extrémités de chaînes (ce qui rend possible le calcul de la masse molaire moyenne en nombre *Mn*).

Les renseignements ainsi obtenus peuvent être utilisés pour remonter au mécanisme de la réaction de polymérisation.

- (1) Braunschweiler, L.; Ernst, R. R. Coherence transfer by isotropic mixing: Application to proton correlation spectroscopy. *J. Magn. Reson.* 1969 **1983**, 53, 521–528.
- (2) Bampos, N. Book Review: A Handbook of Nuclear Magnetic Resonance. Ray Freeman. Addison Wesley Longman, Harlow, 2nd Edition, 1997. ISBN 0 582 25184 2. *Magn. Reson. Chem.* **1998**, 36, 311–311.
- (3) Bodenhausen, G.; Freeman, R.; Niedermeyer, R.; Turner, D. L. Double fourier transformation in high-resolution NMR. *J. Magn. Reson.* 1969 **1977**, 26, 133–164.
- (4) Aue, W. P.; Karhan, J.; Ernst, R. R. Homonuclear broad band decoupling and two-dimensional J-resolved NMR spectroscopy. *J. Chem. Phys.* **1976**, 64, 4226–4227.
- (5) Rance, M.; Sørensen, O. W.; Bodenhausen, G.; Wagner, G.; Ernst, R. R.; Wüthrich, K. Improved spectral resolution in COSY 1H NMR spectra of proteins via double quantum filtering. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1983**, 117, 479–485.
- (6) Hartmann, S.; Hahn, E. Nuclear Double Resonance in the Rotating Frame. *Phys. Rev.* **1962**, 128, 2042–2053.
- (7) Bax, A.; Davis, D. G. MLEV-17-based two-dimensional homonuclear magnetization transfer spectroscopy. *J. Magn. Reson.* 1969 **1985**, 65, 355–360.
- (8) Freeman, R.; Morris, G. A. Experimental chemical shift correlation maps in nuclear magnetic resonance spectroscopy. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1978**, 684–686.
- (9) Müller, L.; Kumar, A.; Ernst, R. R. Two-dimensional carbon-13 spin-echo spectroscopy. *J. Magn. Reson.* 1969 **1977**, 25, 383–390.
- (10) Canet, D. *LA RMN. Concepts et méthodes*; InterEditions, 1991.
- (11) Griffey, R. H.; Poulter, C. D.; Bax, A.; Hawkins, B. L.; Yamaizumi, Z.; Nishimura, S. Multiple quantum two-dimensional 1H--15N nuclear magnetic resonance spectroscopy: chemical shift correlation maps for exchangeable imino protons of Escherichia coli tRNAMetf in water. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1983**, 80, 5895–5897.
- (12) Bax, A.; Summers, M. F. 1H and 13C assignments from sensitivity-enhanced detection of heteronuclear multiple-bond connectivity by 2D multiple quantum NMR. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 2093–2094.
- (13) Hurd, R. E.; John, B. K. Gradient-enhanced proton-detected heteronuclear multiple-quantum coherence spectroscopy. *J. Magn. Reson.* 1969 **1991**, 91, 648–653.

- (14) Grenier-Loustalot, M.-F. *Caractérisation des Polymères par RMN*; Ed. Techniques de l'ingénieur 1996.
- (15) Gourari, A.; Bendaoud, M.; Lacabanne, C.; Boyer, Influence of tacticity on T//g in poly(methyl methacrylate) by the method of thermally stimulated current (TSC) . *J. Polym. Sci. Part -2 Polym. Phys.* **1985**, *23*, 889–916.
- (16) Tonelli, A. E. *NMR Spectroscopy and Polymer Microstructure: The Conformational Connection*; 1 edition.; Wiley-VCH, 1989.
- (17) composites, A. pour les matériaux. *Annales des composites*; Association pour les matériaux composites, 1982.
- (18) Bovey, F. A. *High resolution NMR of macromolecules*; Academic Press, 1972.
- (19) Jasse, B.; Oultache, A. K.; Mounach, H.; Halary, J. L.; Monnerie, L. Influence of tacticity on orientation and relaxation in uniaxially stretched polymethylmethacrylates. *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.* **1996**, *34*, 2007–2017.
- (20) Tribone, J. J.; O'Reilly, J. M.; Greener, J. Analysis of enthalpy relaxation in poly(methyl methacrylate): Effects of tacticity, deuteration, and thermal history. *Macromolecules* **1986**, *19*, 1732–1739.
- (21) Tiers, G. V. D.; Bovey, F. A. Polymer NSR spectroscopy. IV. The stereochemical configuration of polymethacrylic anhydride. *J. Polym. Sci.* **1960**, *47*, 479–480.
- (22) White, A. J.; Filisko, F. E. Tacticity determination of poly(methyl methacrylate) (PMMA) by high-resolution NMR. *J. Polym. Sci. Polym. Lett. Ed.* **1982**, *20*, 525–529.
- (23) Brar, A. S.; Singh, G.; Shankar, R. Microstructure analysis of methyl acrylate/methyl methacrylate copolymers by two-dimensional NMR spectroscopy. *J. Appl. Polym. Sci.* **2006**, *99*, 1437–1445.
- (24) Brar, A. S.; Singh, G.; Shankar, R. Microstructure analysis of methyl acrylate/methyl methacrylate copolymers by two-dimensional NMR spectroscopy. II. *J. Appl. Polym. Sci.* **2006**, *99*, 2174–2181.
- (25) Natta, V. G. Polymères isotactiques. *Makromol. Chem.* **1955**, *16*, 213–237.
- (26) Ishihara, N. Syntheses and properties of syndiotactic polystyrene. *Macromol. Symp.* **1995**, *89*, 553–562.
- (27) Roger C Hiorns, A. K. A convenient route to high molecular weight highly isotactic polystyrene using Ziegler–Natta catalysts and ultrasound. *Polymer* **2002**, *43*, 3365–3369.

- (28) Cherifi, N.; Issoulié, A.; Khoukh, A.; Benaboura, A.; Save, M.; Derail, C.; Billon, L. Synthetic methodology effect on the microstructure and thermal properties of poly(n-butyl acrylate-co-methyl methacrylate) synthesized by nitroxide mediated polymerization. *Polym. Chem.* **2011**, *2*, 1769–1777.
- (29) Karaky, K.; Péré, E.; Pouchan, C.; Garay, H.; Khoukh, A.; François, J.; Desbrières, J.; Billon, L. Gradient or statistical copolymers by batch nitroxide mediated polymerization: effect of styrene/methyl acrylate feed. *New J. Chem.* **2006**, *30*, 698–705.
- (30) Escalé, P.; Ting, S. R. S.; Khoukh, A.; Rubatat, L.; Save, M.; Stenzel, M. H.; Billon, L. Synthetic Route Effect on Macromolecular Architecture: From Block to Gradient Copolymers Based on Acryloyl Galactose Monomer Using RAFT Polymerization. *Macromolecules* **2011**, *44*, 5911–5919.
- (31) Pohl, H. A. Determination of Carboxyl End Groups in Polyester, Polyethylene Terephthalate. *Anal. Chem.* **1954**, *26*, 1614–1616.
- (32) Conix, A. On the molecular weight determination of poly(ethylene terephthalate). *Makromol. Chem.* **1958**, *26*, 226–235.
- (33) Van Lingen, R. L. M. Photometric titration of carboxyl end groups in polyethylene terephthalate. *Fresenius Z. Für Anal. Chem.* **1969**, *247*, 232–235.
- (34) Houwelingen, G. D. B. van. Various applications of functional group analysis. *Analyst* **1981**, *106*, 1057–1070.
- (35) Weiskopf, K. Characterization of polyethylene terephthalate by Gel Permeation Chromatography (GPC). *J. Polym. Sci. Part Polym. Chem.* **1988**, *26*, 1919–1935.
- (36) Mills, N. 150 and More Basic NMR Experiments: A Practical Course, 2nd Edition (Braun, S.; Kalinowski, H.-O.; Berger, S.). *J. Chem. Educ.* **2000**, *77*, 831.
- (37) Kenwright, A. M.; Peace, S. K.; Richards, R. W.; Bunn, A.; MacDonald, W. A. End group modification in poly(ethylene terephthalate). *Polymer* **1999**, *40*, 2035–2040.
- (38) Amiya, S.; Mathumura, K.; Taniguchi, T. Microstructure of poly(ethylene terephthalate). In *Analytical sciences*; Japan Society for Analytical Chemistry, 1991; Vol. 7, pp. 1649–1650.
- (39) Amari, T.; Nishimura, K.; Minou, K.; Kawabata, A.; Ozaki, Y. End-group characterization of homo- and copolyesters of cyclohexane-1,4-dimethanol. *J. Polym. Sci. Part Polym. Chem.* **2001**, *39*, 665–674.

- (40) Ma, Y.; Agarwal, U. S.; Vekemans, J. A. J. M.; Sikkema, D. J. NMR based determination of minute acid functionality: end-groups in PET. *Polymer* **2003**, *44*, 4429–4434.
- (41) Spyros, A.; Argyropoulos, D. S.; Marchessault, R. H. A Study of Poly(hydroxyalkanoate)s by Quantitative ^{31}P NMR Spectroscopy: Molecular Weight and Chain Cleavage. *Macromolecules* **1997**, *30*, 327–329

Chapitre I :
Etude bibliographique-RMN
diffusionnelle DOSY

Sommaire

1. Diffusion	49
2. Les séquences RMN	51
2.1 La première séquence	51
2.2 La séquence d'écho de spin stimulé (STE)	53
2.2.1 Courants de Foucault ⁷	54
2.2.2 Suppression de la convection	55
2.3 Optimisation d'une séquence de diffusion	56
2.4 Calcul et calibrage de la force des gradients	59
3. De la première à la deuxième dimension : Expérience RMN DOSY	61
3.1 Le traitement des données RMN/DOSY	62
3.1.1 Les techniques univariées	63
3.1.2 Les techniques multivariées	63
3.2 Cas des signaux non superposés	63
3.3 Cas des signaux superposés	66
3.3.1 Exemple d'un mélange de copolymères dibloc poly(MMA- <i>b</i> -BA) et tribloc poly(MMA- <i>b</i> -BA- <i>b</i> -MMA)	67
3.4 Choix du solvant pour une analyse RMN/DOSY	67
3.5 Stabilité de la température pendant une expérience RMN/DOSY	68
3.6 La sensibilité de la méthode RMN DOSY	69
3.7 Limites de l'expérience RMN DOSY	70
3.7.1 Qualité de la séparation des espèces analysées	70
3.7.2 Aspects quantitatifs de l'expérience DOSY	71
4. Domaine d'application de la technique DOSY	72
4.1 Détermination de la taille d'une molécule	72
4.2 « Chromatographie » par analyse RMN/DOSY ¹ H	73
4.3 Etude des interactions par RMN DOSY ¹ H	74
4.3.1 Inclusion de médicaments dans un vecteur	75
4.3.2 Etude des micelles	76
4.3.3 Etude des interactions protéines ligands	77
4.4 Etude des mélanges complexes par analyse RMN/DOSY ¹ H	78

4.4.1	Mélange SDS/ATP/Glucose/HOD	78
4.4.2	Formulation du Viagra® Pfizer	79
4.4.3	Analyse du polyéthylène à basse densité (PEBD).....	80
5.	Conclusion	81

Liste des Figures

Figure 1	: Mouvement brownien d'une particule microscopique en suspension dans l'eau.	49
Figure 2	: séquence d'impulsion de l'expérience d'écho de spin à gradient de champs pulsés	51
Figure 3	: (a) Schéma de la séquence d'impulsion de l'expérience d'écho de spin à gradient de champs pulsés (PFG-SE) (b) Représentation de l'aimantation lors d'une PFG-SE avec une diffusion nulle (c) Représentation de l'aimantation de l'expérience lors d'une PFG-SE avec une diffusion.	52
Figure 4	: Schéma de la séquence d'impulsion de l'expérience d'écho de spin stimulé à gradient de champs pulsés (PFG-STE)	53
Figure 5	: Schéma de la séquence d'impulsion de l'expérience d'écho de spin stimulé à gradients de champs pulsés avec un délai LED	54
Figure 6	: Schéma de la séquence d'impulsion de l'expérience d'écho de spin stimulé avec des gradients de champs pulsés bipolaires (STE-Bipolaire Gradient Pulses).....	55
Figure 7	: a). Schéma de la convection dans un tube RMN	55
Figure 8	: Schéma de la séquence Double écho stimulé avec module LED.....	56
Figure 9	: Simulation de l'atténuation du signal en fonction de l'intensité du gradient allant de 5 à 95 % avec différentes optimisations. Les valeurs du temps de diffusion et de la durée du gradient sont A : trop faibles,.....	57
Figure 10	: Superposition du spectre de référence.	57
Figure 11	: Atténuation des signaux avec l'augmentation du gradient	58
Figure 12	: Courbe d'atténuation de l'intensité relative de trois molécules en fonction du gradient ...	59
Figure 13	: Spectre RMN DOSY ¹ H d'un échantillon contenant du glucose, de l'ATP et du SDS	61
Figure 14	: Représentation schématique de l'exploitation des données RMN ¹ H diffusionnelle,.....	65
Figure 15	: (a) Traitement tenant compte d'un seul coefficient de diffusion : décroissance non linéaire de ln (I/I ₀) en fonction de l'intensité du gradient, (b) Traitement avec cette fois-ci deux coefficients de diffusion : Décroissance linéaire de ln (I/I ₀).....	66
Figure 16	: Carte DOSY d'un mélange de copolymère dibloc poly(MMA- <i>b</i> -BA) et du tribloc	67
Figure 17	: Carte DOSY du mélange dibloc poly(MMA- <i>b</i> -BA) et tribloc	68
Figure 18	: Spectre DOSY d'un mélange de taurine, acide hippurique et glutathion enregistrés	69
Figure 19	: (a) DOSY ¹ H du mélange contenant le Tryptophylglycine (Trp-Gly) et la Leucylmethionine (Leu-Met). (b) DOSY ¹ H du même mélange avec rajout du SDS-d ₂₅	73
Figure 20	: DOSY ¹ H d'un mélange contenant de la testostérone et de l'estradiol.	74
Figure 21	: Courbe de diffusion de la quinuclidine en fonction de la concentration en α-cyclodextrine	75
Figure 22	: Représentation théorique de variation du coefficient de diffusion en fonction de la concentration totale en tensio-actif permettant de déterminer la ou (les) Concentration Micellaire Critique (CMC)	76
Figure 23	: Évolution du coefficient de diffusion en fonction de la concentration de C10C10mimCl.	77
Figure 24	: Carte DOSY montrant la séparation des quatre constituants du mélange SDS, ATP, glucose et HOD. (A) Spectre RMN 1D ¹ H du mélange. (B) Spectre DOSY ¹ H du mélange. (C) Spectre RMN 1D ¹ H de chaque composant du mélange extraits du spectre DOSY (B).....	79
Figure 25	: Spectres RMN/DOSY ¹ H de formulations de Viagra. (A) formulation originale Viagra® (Laboratoire Pfizer). (B) contrefaçon en provenance de Syrie (Trefi et al. 2009).....	80
Figure 26	: Carte DOSY ¹ H (avec compensation de la convection) dans C ₂ D ₂ Cl ₄ à 120°C d'un PEHD présentant une séparation nette des additifs utilisés dans la composition du polymère.	81

1. Diffusion

Le phénomène d'autodiffusion appelé aussi le mouvement brownien a été observé pour la première fois par R. Brown, au XVIII^{ème} siècle. Ce botaniste écossais constate en observant au microscope le pollen d'une fleur, appelée *Clarkia pulchella*, la présence de petites particules bougeant de façon chaotique. Ce phénomène a été par la suite étudié par d'éminents physiciens. En 1877, Delsaux suggère que le mouvement brownien résulte de l'ensemble des chocs exercés par les molécules d'eau sur les particules. Albert Einstein en 1905 et indépendamment, M. Smoluchowski en 1906, proposent une théorie complète et unifiée du mouvement brownien. Le mouvement brownien est dû aux innombrables collisions entre les particules et les molécules du fluide environnant.

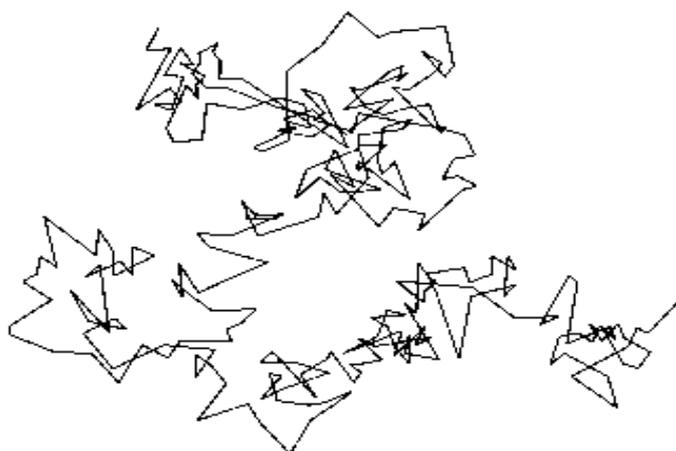


Figure 1 : Mouvement brownien d'une particule microscopique en suspension dans l'eau.
(D'après un dessin de Jean Perrin).

Il faudra attendre jusqu'à 1912 pour que Jean Perrin¹ dessine la trajectoire d'une particule en suspension dans l'eau en l'observant au microscope. Il obtient une ligne brisée, sans direction privilégiée dans l'espace (Figure 1).

En fait, même si on augmente la fréquence des mesures, on trouve toujours une trajectoire ayant la même complexité avec de nombreux changements de direction sans régularité ni périodicité : c'est une courbe fractale. Si l'on repère la position d'un corpuscule à partir d'une position d'origine, on observe que la distance parcourue est, en moyenne, proportionnelle à la racine carré de temps d'observation.

La diffusion de translation ne doit pas être confondue avec la diffusion de spin ou la diffusion de rotation ; c'est la forme la plus fondamentale du mouvement. Le mouvement de translation d'une molécule en solution peut être décrit par un mouvement aléatoire tridimensionnel. Pour l'autodiffusion libre dans les trois dimensions d'un milieu isotrope, Einstein a montré que la

moyenne du déplacement s d'une molécule qui diffuse avec un temps t est donnée par l'équation suivante :

$$\bar{s} = \sqrt{6Dt} \quad \text{Eq. 1}$$

où D est le coefficient d'autodiffusion de la molécule. Le facteur 6 vient des trois degrés de liberté liés à une diffusion tridimensionnelle. Dans le cas d'un déplacement unidimensionnel, l'équation devient :

$$\bar{s} = \sqrt{2Dt} \quad \text{Eq. 2}$$

Le coefficient de diffusion de translation pour des particules non chargées, à dilution infinie, est lié à la viscosité du milieu par l'équation de **Stokes-Einstein**

$$D = \frac{K T}{6 \pi \eta R_H f_t} \quad \text{Eq. 3}$$

où K est la constante de Boltzmann, T la température absolue, f_t le facteur hydrodynamique de frottement (pour une sphère se déplaçant suivant un écoulement laminaire, le facteur f_t de frottement est égal à 1), η et R_H sont respectivement la viscosité et le rayon hydrodynamique ou rayon de Stockes (R_H). Le rayon hydrodynamique R_H d'une molécule peut être lié à son volume spécifique partiel \bar{v} et à sa masse moléculaire M dans l'équation 4

$$R_H = \sqrt[3]{\frac{3M\bar{v}}{4\pi N}} \quad \text{Eq. 4}$$

N nombre d'Avogadro.

Le volume spécifique partiel \bar{v} peut être déterminé expérimentalement. D'après l'équation 3 et 4, on peut voir que le rapport du coefficient de diffusion de deux particules sphériques ayant le même volume spécifique partiel \bar{v} et diffusant dans un même milieu dépend du rapport de leurs masses moléculaires selon :

$$\frac{D_1}{D_2} = \sqrt[3]{\frac{M_2}{M_1}} \quad \text{Eq. 5}$$

Il faut noter, cependant, que différentes théories sont nécessaires pour décrire le facteur hydrodynamique de frottement f_i . En effet, l'analyse précédente est seulement valide quand nous considérons une particule sphérique qui diffuse dans une solution diluée. Sinon l'équation 3 doit être modifiée et le facteur f_i de frottement doit être corrigé pour prendre en compte la forme de la particule diffusant et l'effet de la concentration des particules ².

2. Les séquences RMN

2.1 La première séquence

Dès les premières expériences RMN réalisées dans les années 50, Hahn³ a montré un effet de la diffusion moléculaire sur l'amplitude des signaux en présence de gradients de champ magnétique. Toutes les mesures RMN de diffusion sont basées sur le fait que le coefficient de diffusion peut être calculé à partir de l'atténuation de l'écho si l'amplitude et la durée du gradient de champ magnétique sont connues ⁴.

Stejskal et Tanner⁵ ont proposé une séquence avec gradients de champ pulsés et écho de spin, c'est la première séquence d'impulsion de base utilisée pour déterminer la diffusion par RMN.

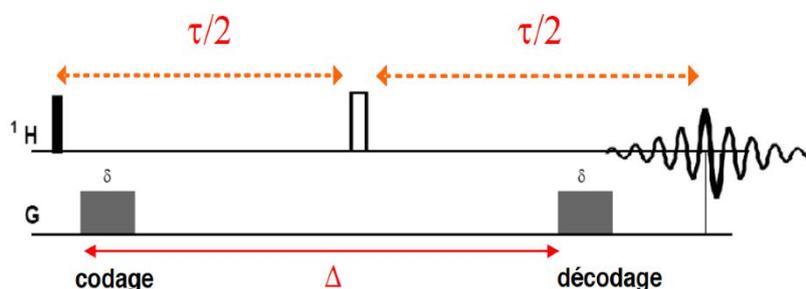


Figure 2 : séquence d'impulsion de l'expérience d'écho de spin à gradient de champs pulsés (PFG-SE)

Dans cette séquence (Figure 2), après avoir basculé l'aimantation dans le plan transversal à l'aide d'une excitation de 90° , un gradient de champ magnétique pulsé (PFG) de durée δ est appliqué. En procédant ainsi, on obtient la dépendance spatiale du degré de déphasage. Une impulsion radiofréquence à 180° est ensuite appliquée afin de changer le signe du déphasage. Puis une seconde impulsion de gradient présentant les mêmes caractéristiques que la première est appliquée juste avant l'acquisition du signal.

Si les spins sont stationnaires durant le délai de diffusion qui sépare les deux PFG, alors le codage et le décodage spatial des phases se compensent comme présenté dans la Figure 3b. L'intensité du signal résultant est alors maximale avec une amplitude seulement gouvernée par la relaxation T_2 .

Toutefois, les molécules en solution subissent des mouvements Browniens et la position des spins le long de l'axe de gradient change au cours de l'intervalle Δ , entraînant un décalage des phases codées et décodées par les deux PFG comme le montre la Figure 3c. Ce décalage de phase est détecté et mesuré par l'atténuation de l'intensité de l'écho de spin résultant.

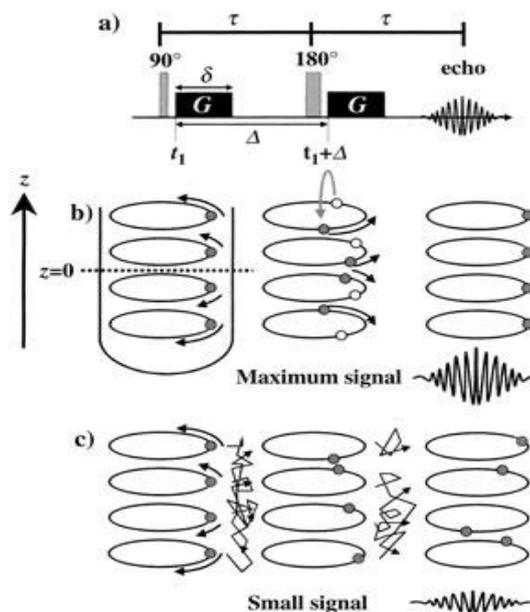


Figure 3 : (a) Schéma de la séquence d'impulsion de l'expérience d'écho de spin à gradient de champs pulsés (PFG-SE) (b) Représentation de l'aimantation lors d'une PFG-SE avec une diffusion nulle (c) Représentation de l'aimantation de l'expérience lors d'une PFG-SE avec une diffusion.

Dans le cas d'une diffusion isotrope dans des liquides, l'atténuation de l'intensité du signal est une fonction exponentielle du coefficient de diffusion. Elle est décrite par l'équation de Stejskal-Tanner :

$$I = I_1 e^{(-\frac{2\tau}{T_2})} * e^{[-\gamma^2 \delta^2 g^2 D (\Delta - \frac{\delta}{3})]} \quad \text{Eq. 6}$$

$$I = I_0 e^{(-SD)} \quad \text{Eq. 7}$$

avec :

$$S = \gamma^2 g^2 \delta^2 \left(\Delta - \frac{\delta}{3} \right) \quad \text{Eq. 8}$$

I_1 : Intensité du signal immédiatement après l'impulsion d'excitation de 90°

2τ : Temps d'écho total

T_2 : Temps de relaxation spin-spin des molécules (s)

γ : Rapport gyromagnétique du noyau observé ($\text{rad} \cdot \text{G}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)

g : Force du gradient ($\text{G} \cdot \text{cm}^{-1}$)

D : Coefficient de diffusion moléculaire ($\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$)

δ : Durée d'application du gradient (s)

Δ : Délai de diffusion (s), délai entre les deux PFG

I_0 : Intensité initiale du signal

En pratique, une série de spectres RMN de diffusion est enregistrée en faisant varier l'amplitude du gradient. L'intensité des signaux recueillis pour chaque espèce moléculaire diffusante de l'échantillon est atténuée selon une décroissance exponentielle en $(-q^2 \Delta D)$, où q est directement proportionnel à l'intensité des gradients utilisés ($q = \gamma \cdot g \cdot \delta$ avec γ rapport gyromagnétique, g et δ respectivement force et durée des gradients pulsés).

La variation de l'intensité des gradients étant la même pour tous les composants de l'échantillon, l'atténuation des signaux ne dépend que du coefficient de diffusion D de chacune des espèces. L'augmentation de l'intensité du gradient de champ magnétique pulsé entraîne la décroissance de l'intensité du signal recueilli dont l'amplitude est proportionnelle à la valeur du coefficient de diffusion de la molécule étudiée. L'analyse de la décroissance exponentielle des signaux en fonction de q^2 permet d'estimer le coefficient de diffusion des espèces moléculaires présentes.

2.2 La séquence d'écho de spin stimulé (STE)

En 1970, Tanner⁵ a proposé d'utiliser la séquence d'écho de spin stimulé à la place de la simple séquence d'écho de spin. Cette séquence comprend trois impulsions 90° qui conduisent à un écho après la troisième impulsion (Figure 4).

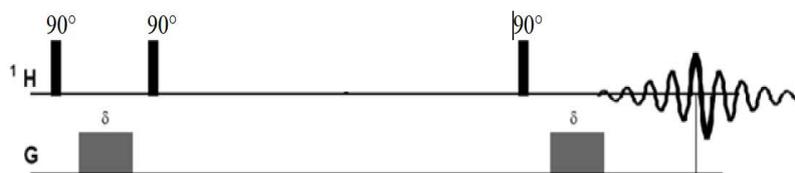


Figure 4 : Schéma de la séquence d'impulsion de l'expérience d'écho de spin stimulé à gradient de champs pulsés (PFG-STE)

Dans cette séquence, l'impulsion à 180° entre les deux gradients est remplacée par deux impulsions à 90° , l'une est appliquée juste après le premier gradient et l'autre un peu avant le second gradient. Le principal avantage de cette séquence vient du fait que la seconde impulsion à 90° bascule la magnétisation selon l'axe z. La relaxation des spins est alors longitudinale au

lieu d'une relaxation transversale dans la séquence PFG-SE. Elle permet donc à l'utilisateur d'allonger le délai de diffusion (Δ) puisque les temps de relaxation transversale (T_2) sont dans la grande majorité des cas plus courts que les temps de relaxation longitudinale (T_1). De plus, la séquence d'écho stimulé permet également de s'affranchir de distorsions dans le spectre dues aux effets des couplages ⁶.

2.2.1 Courants de Foucault ⁷

L'emploi des gradients de champ est responsable de l'apparition d'une force électromotrice à l'intérieur de la bobine. Cette force électromotrice induit des courants appelés courants de Foucault dans la masse conductrice. Ces courants créent un champ magnétique qui d'après la loi de Lenz, s'oppose à la cause de la variation du champ extérieur. Les courants de Foucault peuvent entraîner l'apparition d'artéfacts sur les spectres. De plus, ils provoquent également un échauffement par effet Joule. Une petite variation de température dans l'échantillon suffit à entraîner des phénomènes de convection.

Deux méthodes ont été proposées principalement pour diminuer les courants de Foucault. La première méthode consiste à allonger le délai entre la dernière impulsion de gradient et l'enregistrement de l'écho du signal ⁴. Pour cela, une quatrième impulsion à 90° est réalisée après le deuxième gradient de champ (Figure 5). Elle permet de conserver l'aimantation dans la direction longitudinale pendant que les courants de Foucault s'affaiblissent. Après un délai LED (Longitudinal Eddy current Delay), l'aimantation est basculée dans le plan transversal par l'intermédiaire d'une cinquième impulsion à 90° permettant l'acquisition du signal.

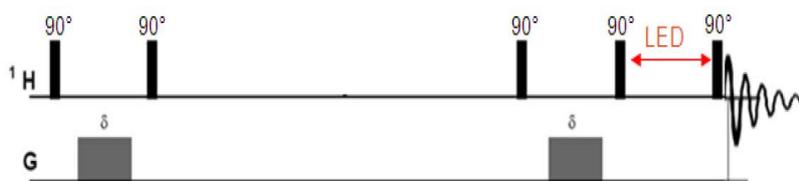


Figure 5 : Schéma de la séquence d'impulsion de l'expérience d'écho de spin stimulé à gradients de champs pulsés avec un délai LED

La seconde méthode est représentée sur la Figure 6. Elle consiste à utiliser des paires de gradients bipolaires. L'idée est de remplacer chaque impulsion de gradient par deux gradients d'intensité divisée par deux, de différentes polarités et séparés d'une impulsion radiofréquence à 180° . En procédant ainsi, le gradient effectif reste identique mais cette série d'impulsions permet de minimiser les courants de Foucault.

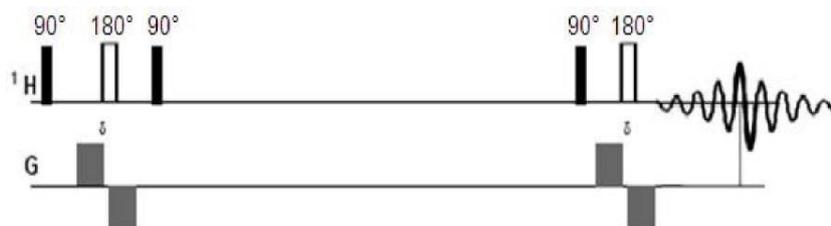


Figure 6 : Schéma de la séquence d'impulsion de l'expérience d'écho de spin stimulé avec des gradients de champs pulsés bipolaires (STE-Bipolaire Gradient Pulses).

2.2.2 Suppression de la convection

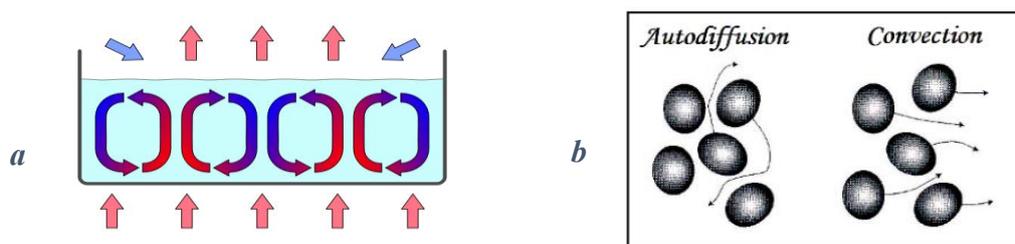


Figure 7 : a). Schéma de la convection dans un tube RMN
b). Mouvement moléculaire : autodiffusion et convection

Pendant les expériences d'écho de spin stimulé avec des gradients de champs pulsés (PFG-SE), l'effet de convection peut influencer la qualité des données de diffusion. La séquence PFG-SE est sensible au mouvement de translation moléculaire dont on distingue deux types: *l'autodiffusion*, dans laquelle les mouvements des molécules voisines sont aléatoires, et la *convection* dans laquelle le mouvement moléculaire a lieu dans une certaine direction particulière du fait d'un gradient de pression externe (Figure 7b). Lorsqu'une molécule est chauffée elle se dilate et devient moins dense (Figure 7a). Sous l'effet de la poussée d'Archimède, elle se déplace verticalement. S'éloignant de la source de chaleur, elle se refroidit et redevient plus dense, elle retombe. Ces mouvements de convection deviennent alors le phénomène dynamique majoritaire dans le tube ce qui empêche la mesure de diffusion.

Les gradients de température ont plusieurs origines comme l'échauffement dû à la radiofréquence, le réchauffement différentiel de l'extérieur de la sonde par les bobines, la conduction le long du tube. Mais la source principale de la convection est le flux d'air utilisé pour régler la température de l'échantillon.

En pratique, les effets de la convection peuvent être compensés par des stratégies différentes comme, par exemple :

- ✓ diminuer le volume de l'échantillon en utilisant des tubes RMN de diamètre inférieur à 5 mm ou bien en réduisant tout simplement la hauteur de l'échantillon (hauteur 40 mm, soit environ 600 µl de solution).
- ✓ utiliser un flux d'air de l'ordre de 600 à 900 L/h.
- ✓ faire tourner l'échantillon à une vitesse modérée (18 Hz).
- ✓ utiliser une séquence impulsionnelle spécialement mise au point pour réduire ces phénomènes de convection, telle que la séquence Double écho stimulé avec module LED représentée sur la Figure 8. (séquence Bruker **dstebpgp3s**)^{8 9}

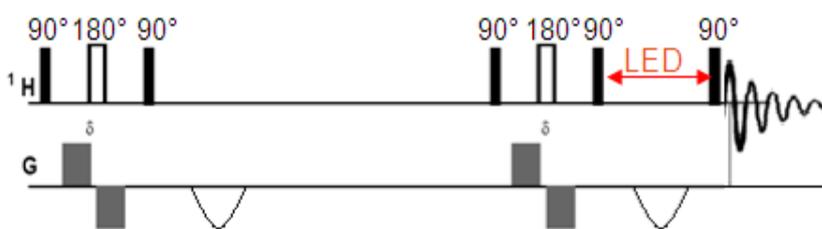


Figure 8 : Schéma de la séquence Double écho stimulé avec module LED

2.3 Optimisation d'une séquence de diffusion

Afin de réaliser une mesure des coefficients de diffusion, il est nécessaire d'optimiser certains paramètres de la séquence, notamment le délai de diffusion Δ et la durée du gradient δ (Cobas¹⁰). Trois cas sont alors possibles (Figure 9) :

- paramètres trop faibles (A) : les molécules n'ont pas beaucoup diffusé ce qui entraîne une faible atténuation des signaux.
- paramètres trop élevés (B) : les molécules ont beaucoup diffusé ce qui entraîne une forte atténuation des signaux voire une totale disparition des signaux.
- paramètres bien optimisés : (C)

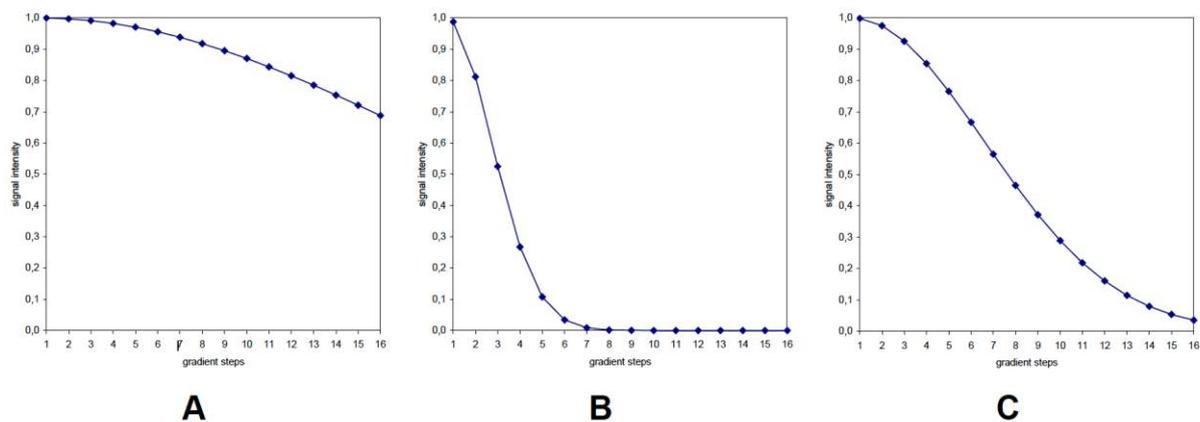


Figure 9 : Simulation de l’atténuation du signal en fonction de l’intensité du gradient allant de 5 à 95 % avec différentes optimisations. Les valeurs du temps de diffusion et de la durée du gradient sont A : trop faibles, B : trop élevées et C : bien optimisés.

En pratique, pour l’optimisation de ces paramètres (δ et Δ), il est nécessaire de faire quelques expériences 1D, une première expérience avec un gradient de 5 % d’amplitude, le spectre obtenu servira alors de référence dans le processus d’optimisation. Ensuite un deuxième spectre est réalisé avec une force de gradient augmentée à 95 % d’amplitude. Le délai de diffusion Δ et la durée du gradient δ doivent être optimisés tel que l’intensité du signal du résiduel doit être inférieur à 10% c’est-à-dire que l’optimisation vise à obtenir plus de 90% d’atténuation liée à la diffusion (Figure 10).

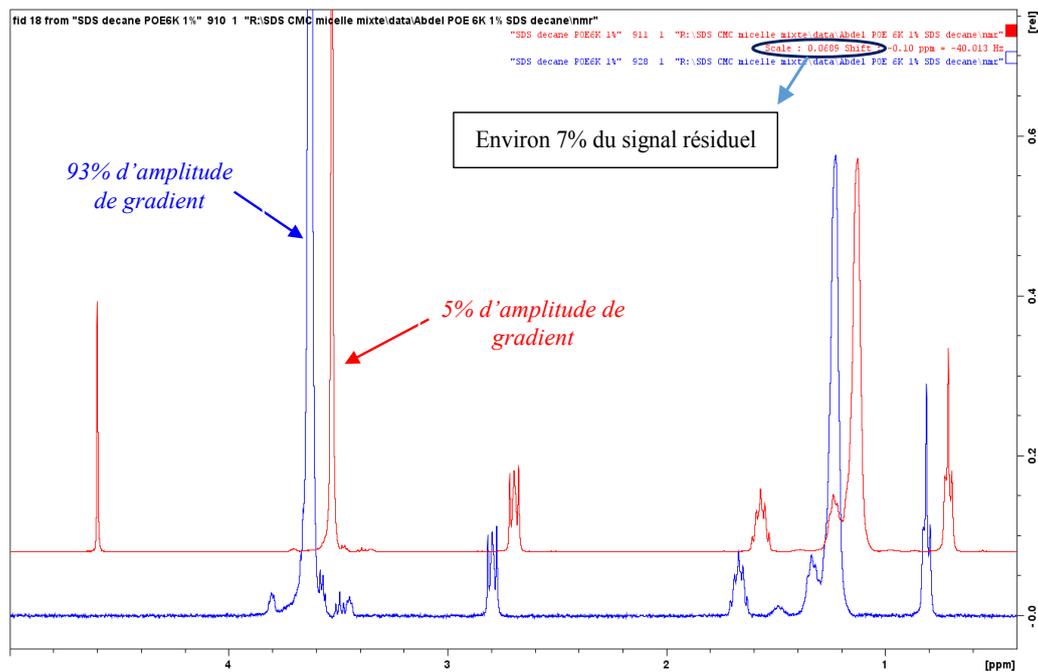


Figure 10 : Superposition du spectre de référence.

Dans le cas de macromolécules (polymères par exemple) ou de milieux visqueux, de faibles diffusions sont observées, il faudra donc augmenter les valeurs du délai de diffusion Δ et de la durée du gradient δ . Inversement, pour les petites molécules, ou dans des milieux peu visqueux, de fortes diffusions sont observées, il faudra donc diminuer les valeurs du délai de diffusion Δ et de la durée du gradient δ . Il sera préférable d'accroître la valeur de δ (au lieu de Δ) car l'atténuation est fonction de δ^2 (alors que Δ intervient sans puissance dans l'équation de la diffusion (équations 7 et 8). En effet, δ^2 détermine l'atténuation du signal alors que Δ influe uniquement sur la linéarité de la fonction de décroissance. Si l'on doit modifier Δ , la valeur du temps de relaxation de la molécule à analyser doit être prise en compte (relaxation longitudinale T_1 pour toutes les séquences de type STE).

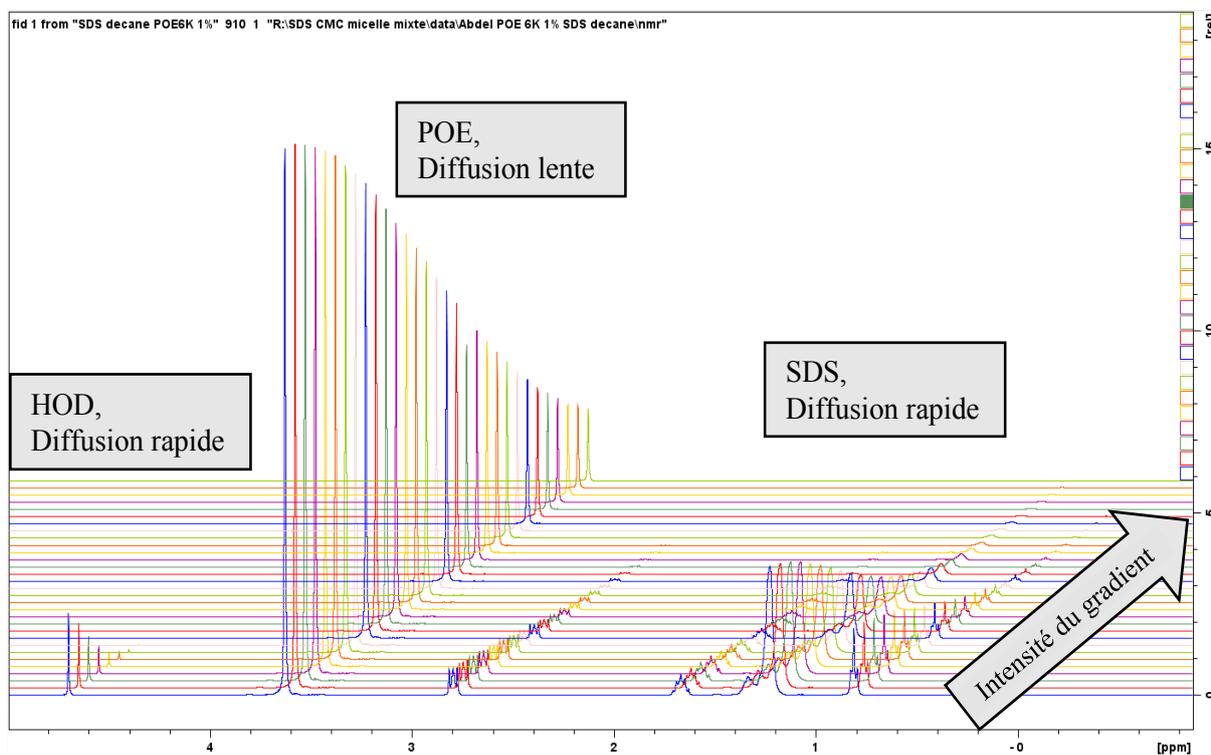


Figure 11 : Atténuation des signaux avec l'augmentation du gradient

Cette optimisation peut s'avérer plus délicate à réaliser pour des mélanges de composés ayant des coefficients de diffusion très différents. Les Figures 11 et 12 représentent la décroissance des signaux de trois molécules (HOD, SDS et le POE 6KDa).

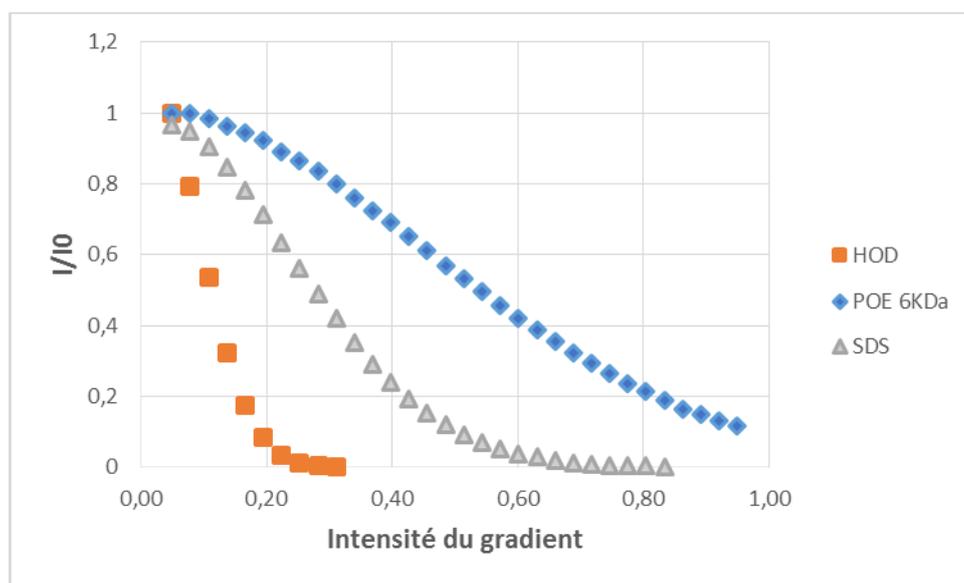


Figure 12 : Courbe d'atténuation de l'intensité relative de trois molécules en fonction du gradient

La courbe **I** de la Figure 12, correspond au signal du solvant HOD. Pour une intensité de gradient de 20%, le signal du solvant est déjà atténué de plus de 99%. Les valeurs du délai de diffusion Δ et la durée du gradient δ sont ici trop élevés.

La courbe **II** représente la décroissance des signaux du SDS. Pour une intensité de gradient de 60% les signaux du tensioactif sont atténués à presque 100%. Les valeurs du délai de diffusion Δ et la durée du gradient δ ne sont pas assez élevées dans ce cas.

Dans le cas du POE 6KDa (courbe **III**) nous obtenons une nette décroissance de I/I_0 . En effet pour une intensité de gradient de 95% les signaux sont atténués à environ 90%. Les valeurs du délai de diffusion Δ et la durée du gradient δ sont bien optimisés pour le POE.

Il est donc très important d'optimiser les paramètres (Δ et δ) sur les entités que l'on souhaite observer.

2.4 Calcul et calibrage de la force des gradients

Le calcul du coefficient de diffusion nécessite la connaissance de la puissance des gradients en valeurs absolues (G/cm). Ces valeurs dépendent de trois paramètres distincts :

- la force de la bobine gradient
- la forme de l'impulsion gradient utilisé (=intégrale de la forme gradient)
- l'intensité délivrée par l'amplificateur gradient utilisé dans la bobine.

La puissance des gradients utilisés au cours d'une expérience de diffusion est égale au produit de ces trois valeurs (force des gradients, intégrale, intensité). Elle dépend du type de bobine gradient de la sonde ainsi que de son design.

Les sondes équipées de gradients Z délivrent environ 5,35 G/cm.A, celles équipées de gradient XYZ délivrent environ 6,35 G/cm.A sur la bobine Z, et 5 G/cm.A sur le autres.

Il n'est pas nécessaire de connaître précisément la force de la bobine gradient pour enregistrer des expériences RMN haute résolution ou des expériences de diffusion qualitatives (pas de mesures précises du coefficient de diffusion). Il est par contre primordial de connaître cette valeur lorsque le coefficient de diffusion doit être mesuré avec précision.

Des valeurs précises du coefficient de diffusion sont relevées dans la littérature^{11 12}.

Pour calculer la constante de calibrage des gradients on utilise la relation suivante :

$$g_{cal} = \sqrt{\left(\frac{g_{calest}^2 * D_{mes}}{D_{litt}}\right)} \quad \text{Eq. 9}$$

avec :

- g_{calest} : constante de calibrage estimée
- D_{mes} : coefficient de diffusion mesuré
- D_{litt} : coefficient de diffusion issu de la littérature

On utilise un échantillon de D₂O contenant 0.1% de GdCl₃ (trichlorure de gadolinium) pour calculer et calibrer la force des gradients

L'intensité délivrée par l'amplificateur gradient correspond au paramètre «GPZ x» dans TopSpin (exprimée en %). Ainsi une valeur de GPZ égale à 100% correspond au maximum de courant envoyé vers la bobine gradient par l'amplificateur gradient. Sur les spectromètres utilisés en RMN haute résolution, l'amplificateur gradient délivre une intensité maximale de l'ordre de 10 A. Avec un équipement destiné à la diffusion, l'intensité maximale délivrée peut atteindre 60 A.

3. De la première à la deuxième dimension : Expérience RMN DOSY

L'utilisation de la Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) pour mesurer la diffusion des molécules en solution a d'abord été décrite en 1965 par Stejskal et Tanner⁵ sous forme d'une expérience d'écho de spin à gradients de champs pulsés (PFG-SE).

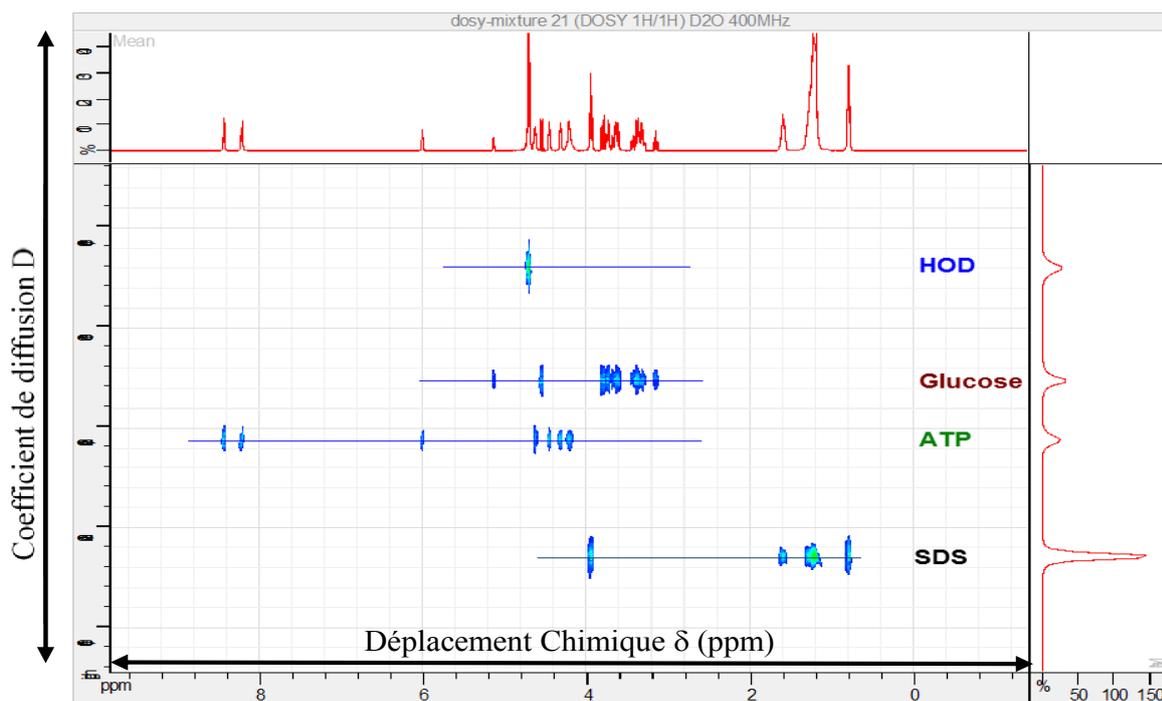


Figure 13 : Spectre RMN DOSY ¹H d'un échantillon contenant du glucose, de l'ATP et du SDS dans de D₂O

En 1992 Morris et Johnson⁴, élargissent le champ de cette technique en proposant une nouvelle approche de la mesure de diffusion par RMN qu'ils nomment DOSY (pour Diffusion Ordred SpectroscopyY). Les spectres obtenus ont donc deux dimensions ; une dimension présentant les déplacements chimiques et l'autre dimension comportant les coefficients de diffusion des espèces présentes en solution (Figure 13).

Généralement, l'acquisition d'une expérience DOSY ¹H consiste à collecter une série de spectres avec une des séquences présentées ci-dessus en augmentant linéairement l'amplitude des impulsions de gradient. L'intensité des signaux recueillie pour chaque espèce moléculaire diffusante de l'échantillon, est atténuée exponentiellement selon l'équation de Stejskal-Tanner (équation 10)

$$I = I_0 e^{-\gamma^2 g^2 \delta^2 (\Delta - \delta/3) D} \quad \text{Eq. 10}$$

- I : intensité observée
- I_0 : intensité initiale du signal (non atténuée)
- γ : rapport gyromagnétique du noyau observé (rad.G⁻¹.s⁻¹)
- g : force du gradient (G.cm⁻¹)
- δ : durée d'application du gradient (s)
- Δ : délai de diffusion (s), délai entre les deux PFG
- D : coefficient de diffusion moléculaire (cm².s⁻¹)

Étant donné que le rapport gyromagnétique (γ), le délai de diffusion entre les deux gradients (Δ), l'intensité et la durée d'application des gradients (g et δ) sont identiques pour tous les composants de l'échantillon, le facteur S (équation 8) est une constante. L'atténuation des signaux ne dépend donc que du coefficient de diffusion D de chacune des espèces. Le coefficient de diffusion étant inversement proportionnel au rayon hydrodynamique des molécules considérées comme sphériques (équation 3), une molécule de grosse taille aura une plus faible diffusion et donc une atténuation des signaux moins importante sera observée que pour une molécule de plus petite taille comme illustrée sur la Figure 11.

3.1 Le traitement des données RMN/DOSY

Le traitement des données de l'expérience RMN DOSY est un point délicat qui a retardé le développement de la méthode. Grâce à l'évolution des systèmes informatiques, aujourd'hui on peut traiter rapidement un spectre RMN DOSY ¹H.

L'approche la plus simple pour traiter un spectre RMN DOSY consiste à ajuster les paramètres de la fonction de Stejskal-Tanner (équation 10). Cette approche peut se faire par la méthode non linéaire des moindres carrés à l'aide de l'algorithme de Levenberg-Marquard¹³. Simple et directe, elle est efficace pour des pics bien résolus. Pour obtenir une carte 2D, chaque colonne devra être ajustée, les taches de corrélation seront générées à partir des résultats de l'ajustement mathématiques, le centre de chaque tache correspond à la constante de diffusion calculée. La largeur de la tache dans la dimension diffusion correspond à l'erreur du traitement

Toutes les colonnes du spectre, sauf celles ne contenant que du bruit de fond, seront analysées par l'intermédiaire de l'algorithme de Levenberg-Marquard.

Cependant, l'analyse par simple ajustement échoue quand les signaux de plusieurs composés ayant des coefficients de diffusion différents se superposent. Cette situation se produit souvent lors de l'analyse de mélanges. Ainsi l'approche la mieux adaptée à l'analyse de mélanges met en œuvre une analyse multiexponentielle et les résultats obtenus peuvent varier selon que les méthodes utilisées sont univariées (analyse de spectre fréquence par fréquence) ou multivariées (analyse du spectre dans sa globalité). Néanmoins, aucune méthode n'est actuellement totalement efficace et il s'avère souvent nécessaire d'en utiliser plusieurs pour s'assurer de la fiabilité des résultats obtenus.

3.1.1 Les techniques univariées

En principe la transformée inverse de Laplace de l'équation de Stejskal-Tanner permet d'obtenir les coefficients de diffusion. Mathématiquement, la transformée inverse de Laplace possède une infinité de solutions. Il existe quelques méthodes pour restreindre le nombre de solutions telles que CONTIN¹ (CONTINuuous diffusion coefficient) et MaxEnt¹⁴. Dans cette dernière approche la transformée inverse de Laplace est exécutée par un algorithme itératif initialisé à partir d'une estimation du profil de diffusion (habituellement un spectre plat) et qui converge vers la solution par modifications successives de l'estimation courante¹⁵. La méthode semble tout à fait efficace et le traitement des spectres est réalisé à l'aide du logiciel Gifa développé par M.A Delsuc.

3.1.2 Les techniques multivariées

Parmi les méthodes multivariées on peut citer comme exemple :

- MCR (Multivariate Curve Resolution)
- CORE (COmponent REsolved)
- DECRA (Direct Exponential Curve Resolution Algorithm)

3.2 Cas des signaux non superposés

Expérimentalement, on fait varier la force du gradient par pas régulier entre 5 et 95% de la valeur maximum de puissance gradient de la sonde utilisée. Le nombre de pas choisi correspond au

¹ W. Provencher, Computer Physics Communications, 1982, 27, 213-227
W. Provencher, Computer Physics Communications, 1982, 27, 229-242

nombre de « lignes » et influence la résolution des données de diffusion. Un FID est enregistré pour chaque force de gradient. Chaque FID constitue une ligne de la carte 2D. Après transformée de Fourier, on obtient un spectre RMN¹H sur chaque ligne. Les signaux des différents spectres sont de plus en plus atténués à mesure que la force du gradient g appliquée augmente.

Comme décrit plus haut, la décroissance exponentielle du signal en fonction de la force du gradient g permet d'accéder à la valeur du coefficient de diffusion D de la molécule analysée (équation 7).

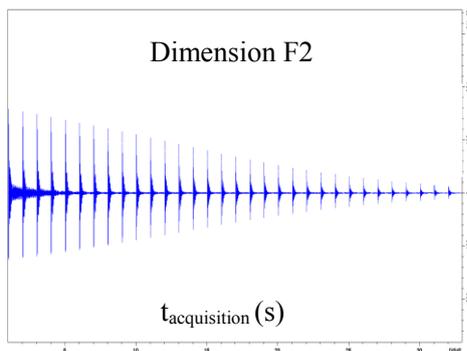
Il existe deux manières de présenter les résultats donnés par la RMN de diffusion : la carte DOSY et la courbe de Stejskal-Tanner (Figure 14)

➤ Les cartes de DOSY représentent le spectre RMN ¹H classique en abscisse et le log D en ordonnée. Ce sont des « pseudo-2D » car on réalise une série de spectre 1D en faisant varier un paramètre. La transformée de Fourier est effectuée sur les FID obtenus dans une seule dimension. En revanche, l'autre dimension exprime le log D calculé à partir de la décroissance des signaux des différents spectres RMN 1D précédemment obtenus. La résolution de la carte est conditionnée par l'optimisation des paramètres de gradients, le nombre de scans de chaque spectre (pour le rapport signal/bruit) et le nombre de lignes (c'est-à-dire le nombre de valeurs de gradient comprises entre 5% et 95%). En mode automatique, le logiciel résout l'équation de diffusion par itération, c'est-à-dire qu'il fixe une valeur de D et de I_0 par défaut puis répète le processus jusqu'à trouver les valeurs qui correspondent le mieux à la décroissance du signal observée.

➤ Les courbes de Stejskal-Tanner sont obtenues par intégration des signaux spectre par spectre. Plus le nombre de « ligne » est important, plus le nombre de point est élevé. Si l'on trace $\ln(I/I_0)$ en fonction de $\gamma^2 g^2 \delta^2 (\Delta - \delta/3)$, on obtient D en calculant le coefficient de la pente de la droite obtenue, dans le cas d'une molécule isolée.

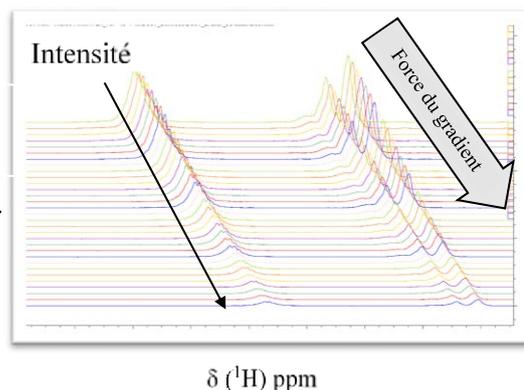
Exploitation des mesures de diffusion par RMN ¹H

1) Acquisition de n FID



Transformée de Fourier suivant F2

2) Obtention de n spectres 1D



3) Traitement des données pour des signaux non superposés

Stejskal-Tanner : Traitement de la décroissance d'un pic par intégration du signal :

$$\ln \frac{I}{I_0} = e^{-D\gamma^2 g^2 \delta^2 (\Delta - \frac{\delta}{3})}$$

Carte DOSY : Traitement global du spectre

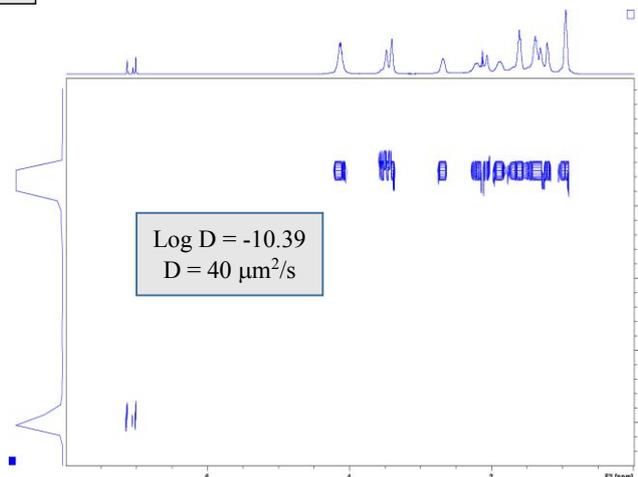
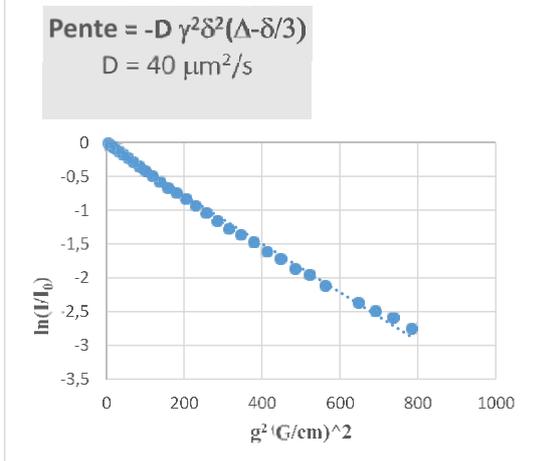


Figure 14 : Représentation schématique de l'exploitation des données RMN¹H diffusionnelle, (cas des signaux non superposés)

3.3 Cas des signaux superposés

Dans le cas d'un mélange de deux composés avec superposition des signaux, la décroissance de l'intensité de chaque signal s'exprime sous forme d'une décroissance biexponentielle :

$$I = I_{01}e^{-D_1\gamma^2 g^2 \delta^2 (\Delta - \frac{\delta}{3})} + I_{02}e^{-D_2\gamma^2 g^2 \delta^2 (\Delta - \frac{\delta}{3})} \quad \text{Eq. 11}$$

Donc :

$$\frac{I}{I_0} = \frac{I_{01}}{I_0}e^{-D_1\gamma^2 g^2 \delta^2 (\Delta - \frac{\delta}{3})} + \frac{I_{02}}{I_0}e^{-D_2\gamma^2 g^2 \delta^2 (\Delta - \frac{\delta}{3})} \quad \text{Eq. 12}$$

où D_1 et D_2 sont les coefficients de diffusion de chaque espèce et I_{01} et I_{02} leurs intensités initiales non atténuées.

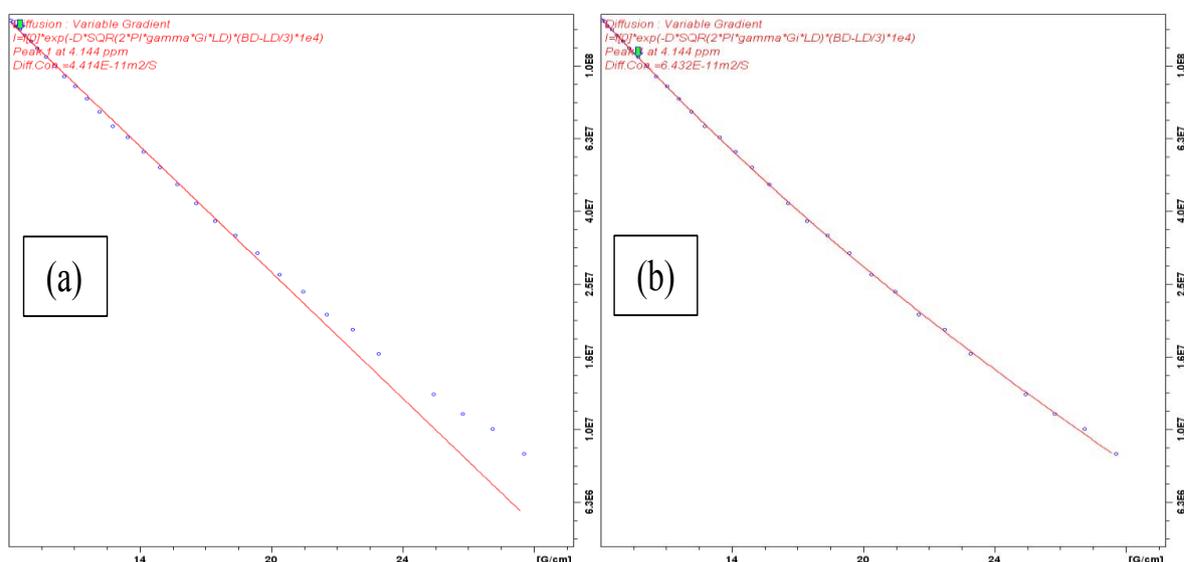


Figure 15 : (a) Traitement tenant compte d'un seul coefficient de diffusion : décroissance non linéaire de $\ln(I/I_0)$ en fonction de l'intensité du gradient, (b) Traitement avec cette fois-ci deux coefficients de diffusion : Décroissance linéaire de $\ln(I/I_0)$.

Comme la décroissance de l'intensité est sous la forme d'une biexponentielle, le tracé de $\ln(I/I_0)$ en fonction de $\gamma^2 g^2 \delta^2 (\Delta - \delta/3)$ ne correspond plus à une droite (Figure 16a). Il peut être modélisé à l'aide de l'équation 11, en attribuant différentes valeurs de D_1 et D_2 , et de I_{01} et I_{02} (Figure 15b) avec :

$$I_{01} + I_{02} = I_0$$

La résolution de l'équation nécessite donc l'application d'une méthode de calcul plus élaborée. La méthode par itération fournie par Topspin est alors une des solutions; cependant,

la détermination de D peut être affinée par l'utilisation de logiciels plus spécialisés, plus complexes, nécessitant des temps de calculs beaucoup plus longs.

3.3.1 Exemple d'un mélange de copolymères dibloc poly(MMA-*b*-BA) et tribloc poly(MMA-*b*-BA-*b*-MMA)

La résolution de la décroissance des deux signaux superposés conduit, suivant la méthode de traitement choisi, à l'apparition de deux taches sur la carte DOSY, correspondant à deux coefficients de diffusion différents (Figure 16, traitement MaxEnt, Gifa)

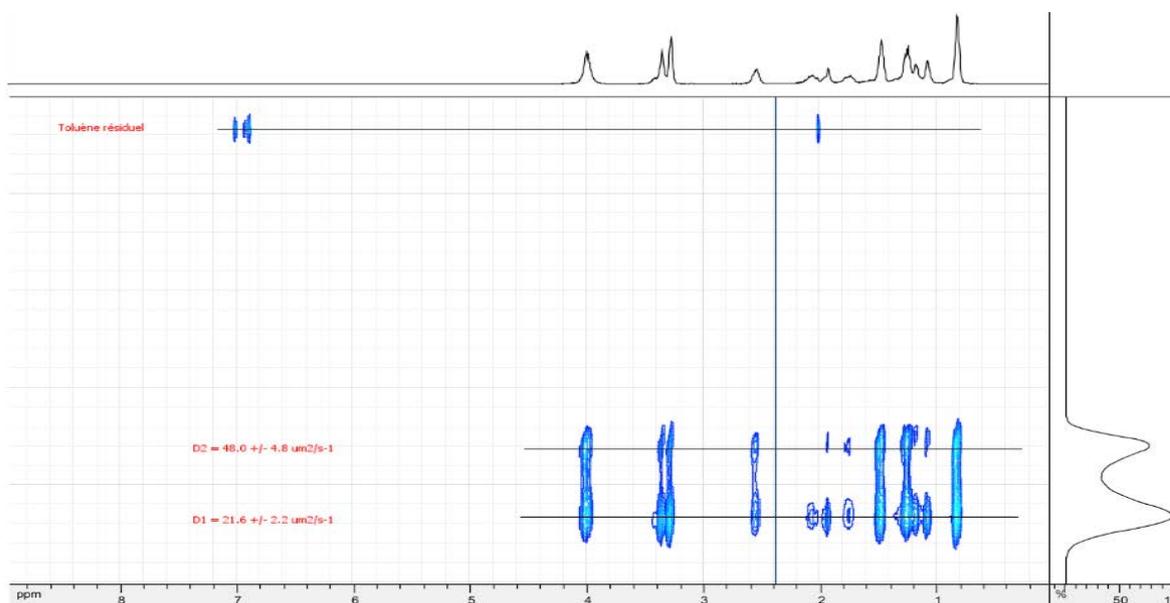


Figure 16 : Carte DOSY d'un mélange de copolymère dibloc poly(MMA-*b*-BA) et du tribloc poly(MMA-*b*-BA-*b*-MMA), (toluène- d_8 , 25°C)

3.4 Choix du solvant pour une analyse RMN/DOSY

En général le choix d'un solvant deutérié en RMN est principalement guidé par :

- la solubilité du composé à analyser dans le solvant,
- la comparaison avec des données de la littérature,
- la comparaison avec des données de la littérature
- la température de fusion ou d'ébullition lorsqu'il faut mener des expériences RMN à certaines températures,
- le prix.

Pour l'enregistrement de spectres DOSY, il est préférable d'utiliser des solvants relativement visqueux comme D₂O, DMSO-d₆, toluène-d₈..... La très faible viscosité d'un solvant (CDCl₃ par exemple) associée au gradient de température dans l'échantillon conduit, comme on l'a déjà décrit (paragraphe 2.2.1), à des phénomènes de convection.

L'analyse DOSY du mélange dibloc/tribloc (poly(MMA-*b*-BA) et poly(MMA-*b*-BA-*b*-MMA)) dans le chloroforme ne permet pas comme dans le cas du toluène (Figure 16) de discriminer les deux copolymères, en effet la carte DOSY du mélange ne présente cette fois-ci qu'une seule ligne correspondant à un seul coefficient de diffusion pour les deux blocs (Figure 17).

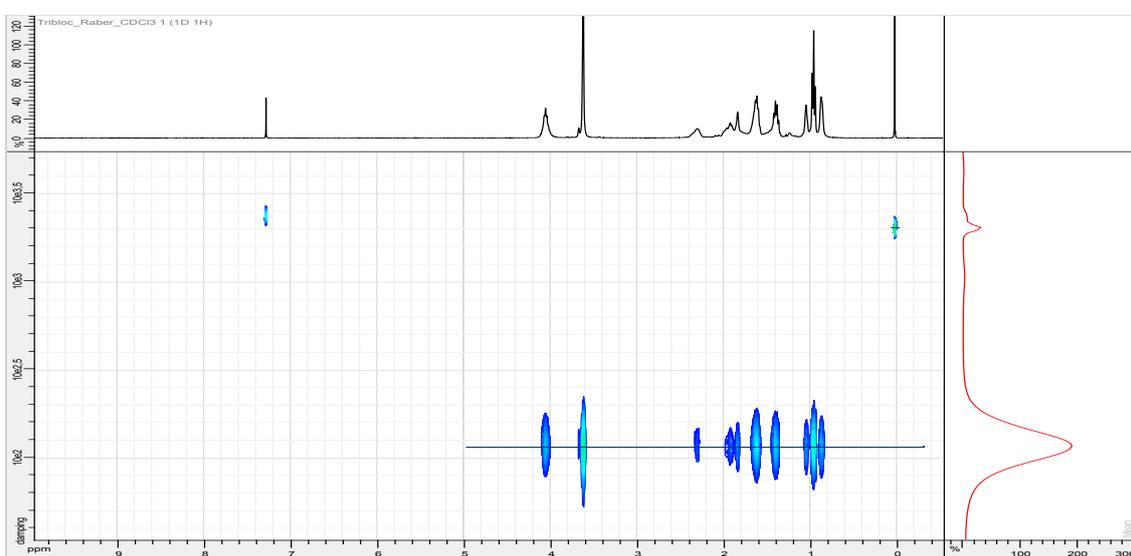


Figure 17 : Carte DOSY du mélange dibloc poly(MMA-*b*-BA) et tribloc poly(MMA-*b*-BA-*b*-MMA), (CDCl₃ à 25°C)

3.5 Stabilité de la température pendant une expérience RMN/DOSY

La stabilité de la température d'analyse par RMN diffusionnelle est un paramètre très important à régler pendant les expériences. La régulation de la température est assurée en introduisant de l'air chaud ou froid à l'extrémité inférieure de l'échantillon. L'air chaud circule le long de l'échantillon, et ressort au niveau de la partie supérieure. Si la température n'est pas stable au cours de l'expérience DOSY, un gradient de température peut se mettre en place, une partie de l'échantillon étant en contact de l'air plus chaud ou plus froid que l'autre partie de l'échantillon. De ce fait les molécules vont adopter un mouvement oscillatoire et leur déplacement au sein du

tube RMN résultera donc d'une combinaison entre ces mouvements et les mouvements translationnels provenant de la diffusion.

Il est très important de contrôler et calibrer (si nécessaire) régulièrement la température d'analyse RMN. Selon Hoffman *et al.*¹⁶, la calibration peut se faire par ajustement de l'écart de déplacement chimique entre le CH₃ et le OH du méthanol-d₄ en fonction de la température recherchée

3.6 La sensibilité de la méthode RMN DOSY

L'analyse DOSY des mélanges dilués avec les sondes conventionnelles ne donne pas d'excellents résultats car un bon rapport signal-bruit est nécessaire pour la détection. Les nouvelles technologies des sondes ont permis d'obtenir des spectres dépourvus d'artefact avec une augmentation de la sensibilité lors de l'analyse en milieu très dilué.

En 2004 SA. Bradley *et al.*, ont travaillé sur les performances de certaines sondes lors des analyses par RMN diffusionnelle¹⁷.

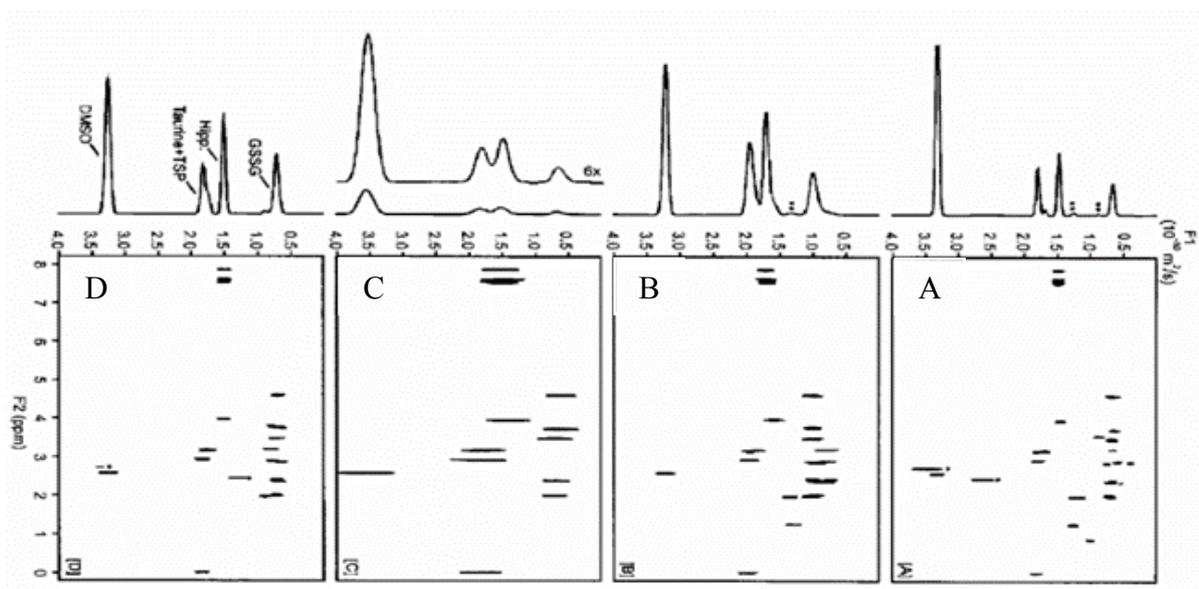


Figure 18 : Spectre DOSY d'un mélange de taurine, acide hippurique et glutathion enregistrés avec une cryosonde (A), une nanosonde (B) et une sonde conventionnelle (C et D)

Ils ont ainsi pu démontrer qu'en cas de mélanges dilués, on obtient de bons résultats qualitatifs avec des cryosondes et nanosondes (Figure 18 A et B) par rapport aux sondes conventionnelles qui donnent, quant à elles des spectres DOSY de meilleure résolution mais uniquement en cas de mélanges concentrés. (Figure 18, spectre D correspondant à un mélange constitué de taurine

(26 µg), d'acide hippurique (37 µg) et de glutathion (62 µg)). Les spectres DOSY d'un mélange constitué de taurine (6,5 µg), d'acide hippurique (9,3 µg) et de glutathion (16 µg) dans un mélange de solvants DMSO/D₂O (75/25), analysé avec une cryosonde (A), une nanosonde (B) ou une sonde conventionnelle (C), sont présentés sur la Figure 18. Ces quantités sont détectées dans des volumes de 180 µL avec la cryosonde et traditionnelle et de 40 µL avec la nanosonde, ce qui correspond à des concentrations respectives en glutathion de $1,45 \cdot 10^{-4}$ et $6,54 \cdot 10^{-4}$ mol.L⁻¹. Le temps total d'acquisition est de l'ordre de 12 heures. Le spectre le mieux résolu est celui enregistré avec la cryosonde (A)

3.7 Limites de l'expérience RMN DOSY

L'analyse par RMN diffusionnelle n'est en aucun cas une technique de caractérisation de routine. En effet, elle comporte de nombreuses limitations qu'il est important de rappeler.

3.7.1 Qualité de la séparation des espèces analysées

Comme la carte DOSY présente une échelle logarithmique du coefficient de diffusion, il est plus difficile de séparer deux espèces de faible D que deux espèces plus mobiles (avec des sondes équipées de gradients «classiques»). Dans le cas des polymères, la différence de volume hydrodynamique entre les espèces à séparer doit donc être assez importante afin que celle-ci puisse être différenciée sur une carte DOSY. En effet le coefficient de diffusion D est proportionnel à la masse du polymère selon la loi de puissance suivante^{18 19} :

$$M \propto D^{-d_f} \quad \text{Eq. 12}$$

où d_f est la dimension fractale du polymère dans un solvant donné. d_f est égal à l'inverse du coefficient de Flory (ν), soit $d_f = 1/\nu$. Donc pour deux polymères de même nature, de même coefficient de diffusion D_i et de masse M_i , analysés dans les conditions de solvant et de concentration identiques, le rapport des coefficients de diffusion est défini selon cette expression :

$$\frac{M_1}{M_2} \propto \left(\frac{D_2}{D_1}\right)^{d_f} \quad \text{Eq. 13}$$

Une solution au problème de séparation des coefficients de diffusion des polymères serait d'utiliser des bobines possédant un gradient plus important que celui des bobines à gradient classiques.

Concernant le traitement mathématique, l'analyse des données DOSY implique une inversion d'une fonction exponentielle décroissante. Cette étape d'inversion est fondamentale et nécessite rigoureusement d'utiliser une transformée de Laplace inverse. Malheureusement, cette opération mathématique est dite : « mal posée ». Cela signifie qu'elle peut donner lieu à une infinité de solutions en fonction du rapport signal/bruit et du nombre de composantes considérées (décroissance mono- ou multiexponentielle). Pour contourner cette difficulté, plusieurs stratégies ont été envisagées, qu'il est possible de regrouper en deux grandes catégories, selon qu'elles jouent sur l'acquisition ou le traitement des données.

➤ La première catégorie se base sur le constat selon lequel le problème dans l'analyse PGSE/DOSY provient du recouvrement spectral²⁰. Diminuer ce recouvrement facilitera donc l'analyse des données. Pour ce faire, plusieurs méthodologies ont été proposées, les principales impliquant soit un découplage homonucléaire, soit l'ajout d'une dimension de fréquence supplémentaire²¹. Dans le premier cas, la multiplicité des signaux (liée au couplage scalaire) est en quelque sorte éliminée du spectre RMN¹H. Autrement dit, chaque signal correspond uniquement à une valeur de déplacement chimique donné. Ceci limite grandement la probabilité de recouvrement car un multiplet s'étend sur une gamme spectrale plus importante qu'un singulet. Dans le second cas, le recouvrement spectral est supprimé en augmentant la résolution grâce à l'ajout d'une dimension de fréquence (homo- ou hétéro-nucléaire) supplémentaire. Ces améliorations ont néanmoins un coût. Dans le premier cas, la sensibilité est fortement réduite tandis que, dans le second cas, la durée de l'expérience augmente dramatiquement.

➤ La seconde catégorie déjà décrite dans ce chapitre (page 16) se base sur l'amélioration des méthodes de traitement des données. De nombreux algorithmes sont en effet disponibles pour analyser les données PGSE/DOSY ^{22 23 24 25 26}.

3.7.2 Aspects quantitatifs de l'expérience DOSY

Une limite supplémentaire de la technique PGSE/DOSY est son manque de quantitativité. En d'autres termes, même lorsque l'expérience parvient à séparer les spectres des molécules d'un mélange, il est généralement impossible de comparer la proportion d'une composante par rapport aux autres. Ce problème vient du fait que les différents noyaux de différentes molécules

n'ont pas les mêmes propriétés de relaxation magnétique. A ce propos, C.Barrère² a apporté une méthodologie qui semble donner de bons résultats grâce à une renormalisation des données PGF-SE basée sur la mesure des temps de relaxation magnétique.

4. Domaine d'application de la technique DOSY

La Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) est un outil puissant, non destructif, qui a trouvé des applications diversifiées en chimie, biochimie, biologie ou médecine. Pour le chimiste, la RMN est surtout connue comme un outil privilégié pour la détermination structurale sur un produit purifié.

La RMN DOSY est aussi une technique puissante pour mesurer les coefficients de diffusion des espèces en solution. Elle permet ainsi d'obtenir des informations structurales de par sa dimension RMN conventionnelle mais également des informations physico-chimiques telles que la taille de la molécule ou encore la formation d'agrégats, de polymère, de complexes.....Ainsi la RMN DOSY ¹H possède de nombreux domaines d'applications.

4.1 Détermination de la taille d'une molécule

D'après l'équation de Stokes-Einstein, la diffusion est proportionnelle au rayon hydrodynamique de la molécule considérée comme sphérique (équation 3). Connaissant le coefficient de diffusion, la taille de la molécule peut donc être estimée. Cependant, cette équation n'est valable que pour les molécules sphériques. Une autre approche consiste à utiliser une loi empirique pour les polymères en solution très diluée ($C < C^*$)³. Cette loi relie le coefficient de diffusion à la masse molaire moyenne en masse selon l'équation suivante :

$$D = KM_w^{-\alpha} \quad \text{Eq. 14}$$

avec :

D : coefficient de diffusion

M_w : masse molaire moyenne en masse

K : constante dépendante de la nature du polymère

α : coefficient dépendant de la forme du polymère

² thèse de C. Barrère (2011), Ecole Doctorale des Sciences Chimiques de Marseille

³ C^* = concentration critique de recouvrement

Les valeurs de K et α étant dépendantes du polymère, cette équation doit être calibrée pour chaque famille de polymères. De plus, le coefficient de diffusion est sensible à la température et à la viscosité. La courbe de calibration permettant de relier D à M_w se fait donc pour une gamme de concentrations, à une température et un solvant donnés. Cette technique a été utilisée pour caractériser, par exemple, les asphaltènes²⁷ issus du pétrole brut, des polysaccharides²⁸ (Viel, *et al.*, 2003), des polyéthylènes²⁹ (Xu, *et al.*, 2010), des nanoparticules³⁰, et plus récemment la technique DOSY a été appliquée avec succès sur des polymères synthétisés par voies ATRP, RAFT et ROMP¹⁸.

4.2 « Chromatographie » par analyse RMN/DOSY¹H

On a vu les limites de la technique DOSY en cas de mélange de deux ou plusieurs produits ayant des coefficients de diffusion très proches. Lorsque la séparation du mélange ne peut pas se faire par le traitement mathématique, une des solutions pourrait être l'utilisation des modifiants organiques, des micelles ou des cyclodextrines qui vont interagir de manière différente entre les différents composés du mélange. Par conséquent, on aura une augmentation de la résolution spectrale dans la dimension de diffusion et une meilleure séparation des constituants du mélange.

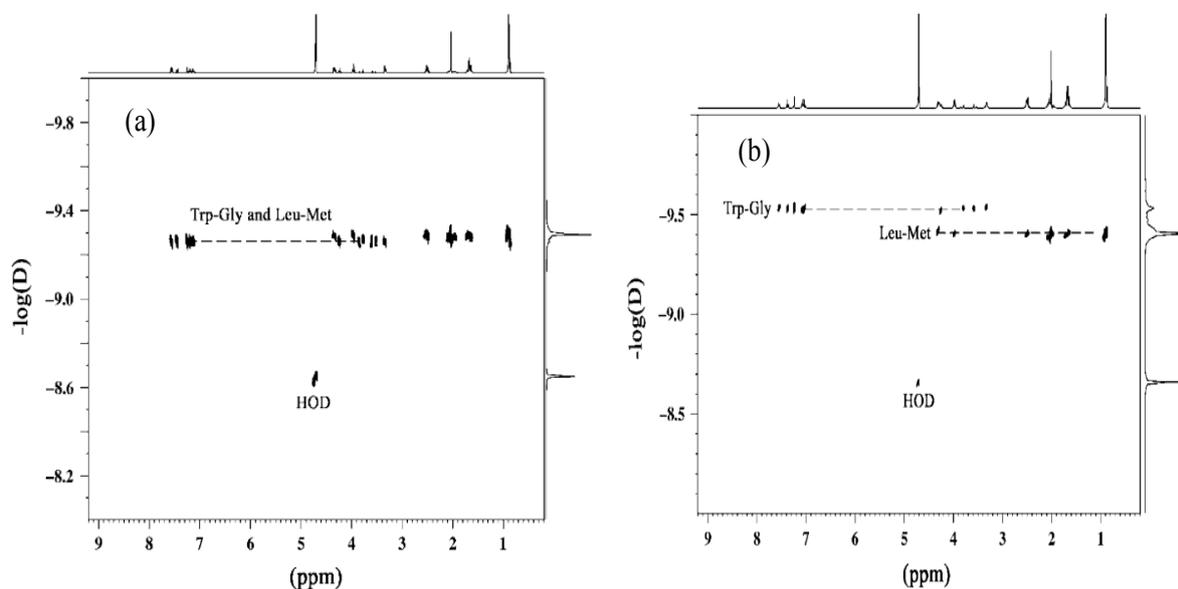


Figure 19 : (a) DOSY ¹H du mélange contenant le Tryptophylglycine (Trp-Gly) et la Leucylmethionine (Leu-Met). (b) DOSY¹H du même mélange avec rajout du SDS-d₂₅

A ce propos, Zielinski³¹ et Morris ont proposé dans leurs travaux d'ajouter des micelles de SDS-d₂₅ dans un mélange de deux dipeptides ayant des coefficients de diffusion très proches.

Ils ont ainsi pu démontrer que le dipeptide le plus hydrophobe en l'occurrence le TRP-GLY aura une interaction plus forte avec la micelle et diffusera ainsi plus lentement que l'autre dipeptide (Figure 19 a et 19b).

On citera aussi les travaux de Kavakka ¹⁹ *et al.*, qui ont pu séparer les constituants d'un mélange complexe juste en ajoutant une quantité de Polyéthylène glycol (PEG). Ils ont pu ainsi obtenir des cartes DOSY bien résolues en plus de l'extraction des spectres individuels de chaque composant du mélange. (Figure 20).

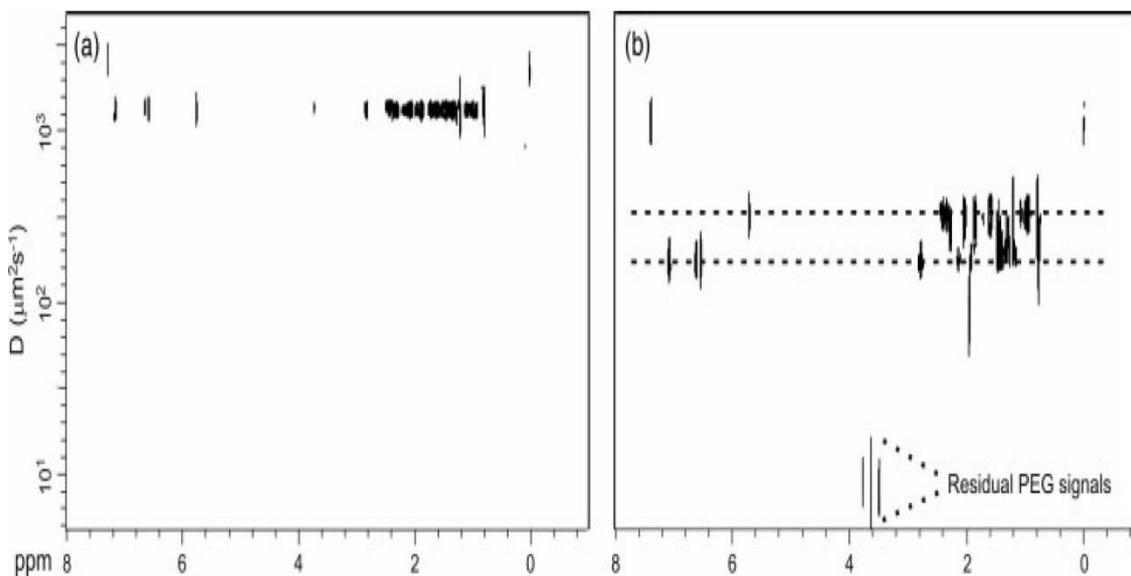


Figure 20 : DOSY ¹H d'un mélange contenant de la testostérone et de l'estradiol.

4.3 Etude des interactions par RMN DOSY¹H

Lorsqu'une molécule interagit avec un système de taille plus importante, celle-ci voit son coefficient de diffusion fortement diminuer. L'interaction peut se faire par des liaisons covalentes ou non covalentes. La RMN DOSY ¹H permet alors d'observer des phénomènes de micellisations, d'agrégations, d'encapsulations de molécules ou encore des interactions ligand-protéines³². Si le système est dynamique, le coefficient de diffusion observé par RMN DOSY ¹H est une moyenne entre le coefficient de diffusion de la molécule à l'état libre et le coefficient de diffusion de la molécule à l'état lié selon l'équation suivante³³.

$$D_{obs} = f_{libre}D_{libre} + f_{lié}D_{lié} \quad \text{Eq. 15}$$

avec :

D_{obs} : coefficient de diffusion observé

f_{libre} : fraction molaire des molécules sous forme libre

D_{libre} : coefficient de diffusion des molécules sous formes libres

$f_{lié}$: fraction molaire des molécules sous formes liées

$D_{lié}$: coefficient de diffusion des molécules sous formes liées

4.3.1 Inclusion de médicaments dans un vecteur

Une autre application de la RMN/DOSY ^1H est la caractérisation de complexes d'encapsulations avec des vecteurs tels que les cyclodextrines ou des nanotubes en rosette. Ces derniers ont été utilisés par Song et al. pour encapsuler la tamoxifène³⁴, un anticancéreux hydrophobe utilisé dans le traitement du cancer du sein. Le contrôle de l'inclusion du principe actif a été effectué par la technique RMN DOSY ^1H .

Aski³⁵ et al., ont suivi l'inclusion de la quinuclidine dans les α -cyclodextrines par RMN DOSY ^1H . Ils ont pu démontrer que, même en cas d'échange rapide, la constante d'association du complexe quinuclidine/cyclodextrine, peut être obtenue par ajustement mathématique de la courbe décrivant l'évolution du coefficient de diffusion de la quinuclidine en fonction de la concentration en cyclodextrine, (Figure 21)

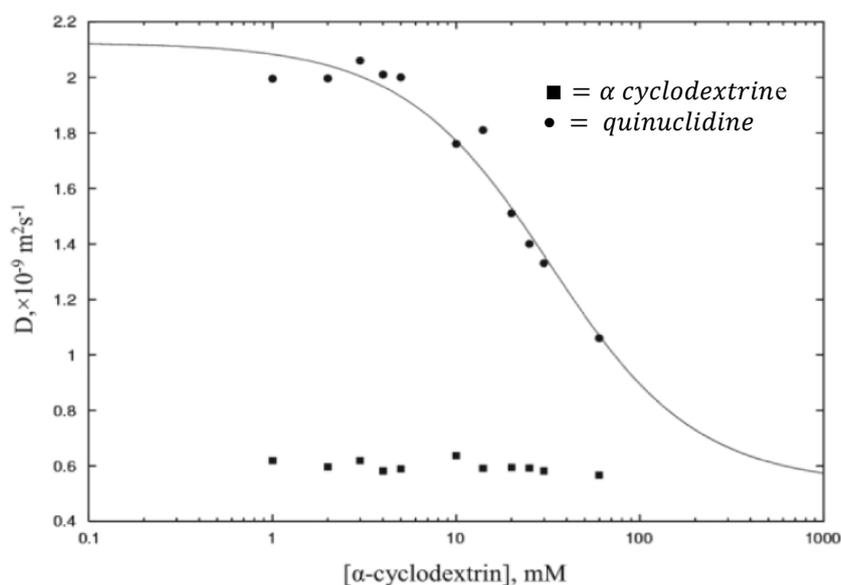


Figure 21 : Courbe de diffusion de la quinuclidine en fonction de la concentration en α -cyclodextrine

4.3.2 Etude des micelles

Un paramètre important lors d'une étude de micellisation est la concentration à laquelle les monomères s'auto-organisent pour former des micelles, c'est la concentration micellaire critique (*CMC*).

Cette *CMC* peut être mesurée en traçant le coefficient de diffusion observé en fonction de la variation de la concentration totale en tensio-actif.

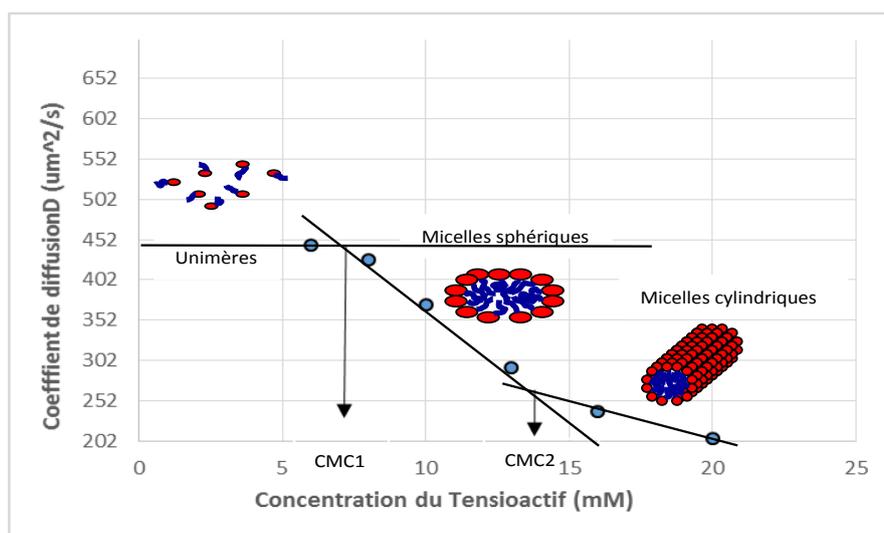


Figure 22 : Représentation théorique de variation du coefficient de diffusion en fonction de la concentration totale en tensio-actif permettant de déterminer la ou (les) Concentration Micellaire Critique (*CMC*)

La courbe théorique présentée sur la Figure 22 se compose de deux portions de droite :

✓ pour une concentration inférieure à la *CMC*, le coefficient de diffusion observé est égal au coefficient de diffusion des surfactants à l'état libre (unimères) : $D_{obs} = D_{libre}$. C'est le premier plateau de la courbe.

✓ pour une concentration supérieure à la *CMC*, le coefficient de diffusion observé décroît avec l'augmentation de la concentration totale en surfactant (C_{tot}) selon l'équation suivante³⁶ :

$$D_{obs} = D_{lié} + \left(\frac{cmc}{C_{tot}}\right)(D_{libre} - D_{lié}) \quad \text{Eq. 16}$$

Récemment Rodriguez-Dafonte *et al.*, ont travaillé sur l'auto-agrégation d'un tensio-actif ionique le chlorure de 1,3-didécyl-2-méthylimidazolium. Ces auteurs ont mis en évidence par

RMN diffusionnelle l'existence de trois formes micellaires : micelles sphériques, micelles cylindriques et micelles en bicouches³⁷ (Figure 23).

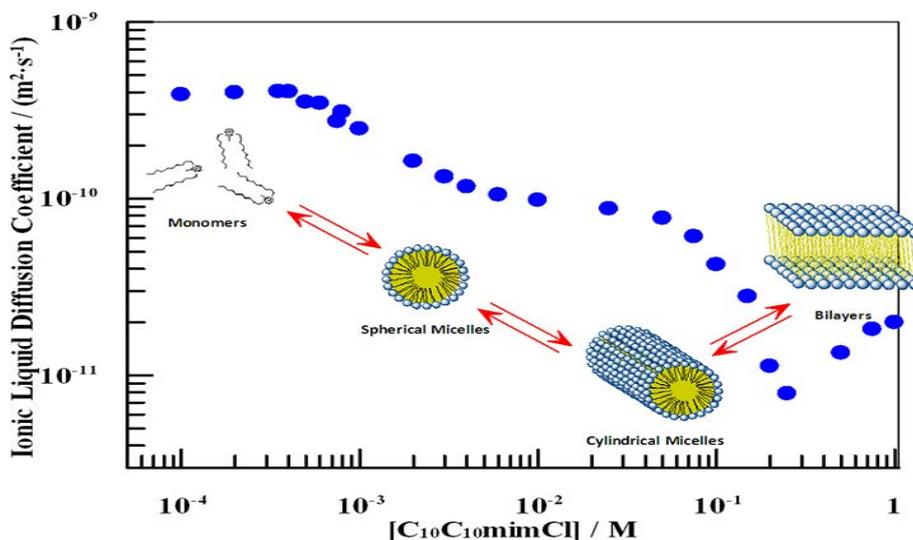


Figure 23 : Évolution du coefficient de diffusion en fonction de la concentration de C10C10mimCl. La figure montre l'auto-association en micelles sphérique, cylindriques et bicouches.

4.3.3 Etude des interactions protéines ligands

Les interactions de type ligand-protéine³⁸ contrôlent la majeure partie des phénomènes biologiques (transport de médicaments par exemple). De ce fait, leur caractérisation est une tâche primordiale. Ces interactions sont réversibles et elles peuvent être décrites quantitativement par une constante appelée constante de dissociation (K_d).

Pour des ligands avec des échanges lents, la constante de dissociation K_d de complexe de stoechiométrie 1:1 peut être mesurée par RMN ¹H selon l'équation 17 :

$$K_d = \frac{[L][P]}{[LP]} = I_{libre} * \frac{[P_{tot}] - [L_{tot}] * \frac{I_{lié}}{I_{libre} + I_{lié}}}{I_{lié}} \quad \text{Eq. 17}$$

I_{libre} : intégration des protons du ligand à l'état libre

$I_{lié}$: intégration des protons du ligand à l'état lié

$[P_{tot}]$: concentration totale de protéine

$[L_{tot}]$: concentration totale de ligand

Cependant, l'échange entre les ligands libres et liés est souvent rapide, ce qui rend impossible la détermination des intégrales. Dans ce cas, la mesure de diffusion par RMN peut être utilisée

pour calculer la constante de dissociation de complexe de stœchiométrie 1:1 selon l'équation suivante :

$$K_d = [P_{tot}] * \left(\frac{D_{lié} - D_{obs}}{D_{obs} - D_{libre}} \right) + [L_{tot}] * \left(\frac{D_{obs} - D_{lié}}{D_{lié} - D_{libre}} \right) \quad \text{Eq. 18}$$

4.4 Etude des mélanges complexes par analyse RMN/DOSY¹H

La deuxième dimension obtenue par RMN DOSY ¹H permet de séparer virtuellement les composés d'un échantillon selon leur coefficient de diffusion. Ainsi on obtient une chromatographie virtuelle des composés sans aucune séparation physique ni dégradation de la formulation.

Dans de nombreux domaines, l'échantillon à analyser est un mélange de plusieurs composés. Par exemple, les formulations pharmaceutiques sont composées d'un ou plusieurs principes actifs et des différents excipients ; les huiles essentielles sont constituées de centaines de composants, la plupart appartenant à la famille des terpènes ; dans l'agro-alimentaire les agents de saveurs sont mélangés avec des agents de textures comme par exemple les gélifiants. Dans tous ces cas, il peut être intéressant d'obtenir une séparation virtuelle de ces composés, en une seule analyse, pour obtenir un éclatement des signaux sur la dimension diffusion facilitant l'identification des différents signaux.

4.4.1 Mélange SDS/ATP/Glucose/HOD

T. Gostan¹⁵ *et al.*, ont assimilé l'expérience DOSY RMN¹H à une « chromatographie en tube » car elle permet la séparation analytique des composants d'un mélange équimolaire de SDS (Sodium Dodécyl Sulfate), d'ATP (Adénosine Tri-Phosphate) et de glucose dans l'eau deutériée.

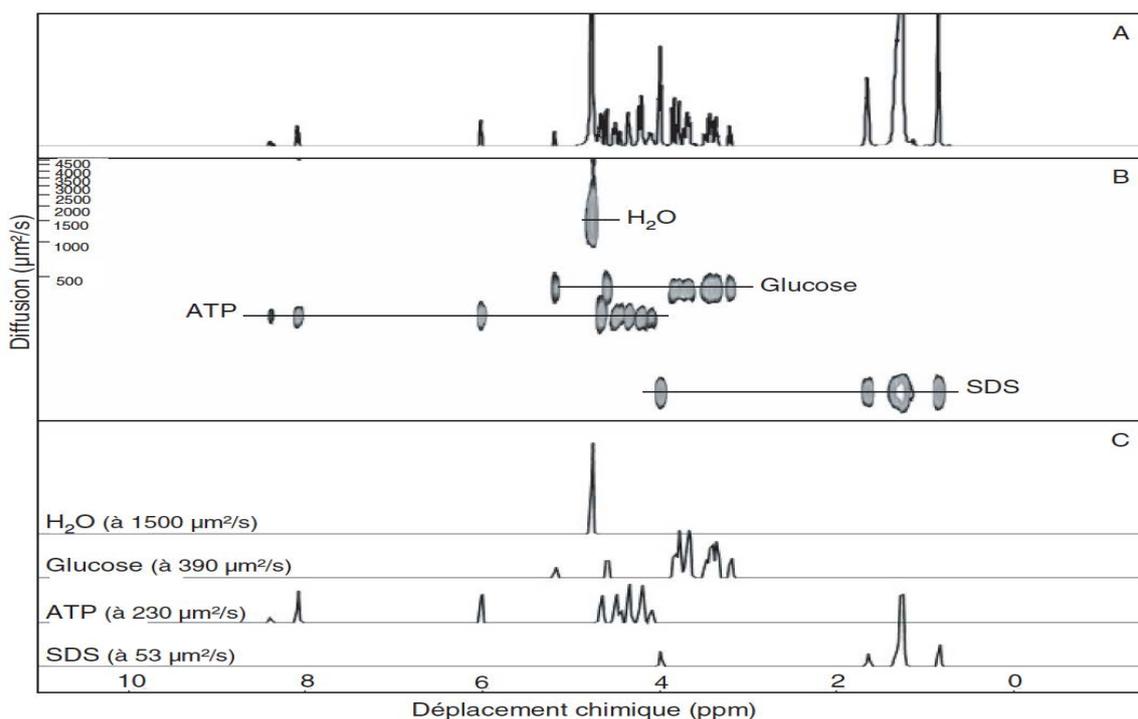


Figure 24 : Carte DOSY montrant la séparation des quatre constituants du mélange SDS, ATP, glucose et HOD. (A) Spectre RMN 1D ^1H du mélange. (B) Spectre DOSY ^1H du mélange. (C) Spectre RMN 1D ^1H de chaque composant du mélange extraits du spectre DOSY (B).

La Figure 24 montre une séparation complète des quatre constituants du mélange (y compris le signal d'eau partiellement deutériée) et leur RMN 1D extraite du spectre DOSY pour chaque composant du mélange. Les données spectrales ont été traitées avec le logiciel de RMN Gifa et les coefficients de diffusion mesurés sont ainsi directement attribuables à l'un ou l'autre des composants du mélange.

4.4.2 Formulation du Viagra® Pfizer

Lors de l'analyse de produits pharmaceutiques, la RMN/DOSY ^1H fournit une empreinte spectrale des formulations analysées. Cette empreinte peut être ensuite utilisée afin de comparer différents échantillons. La figure ci-dessous montre une formulation de Viagra® Pfizer et une contrefaçon en provenance de Syrie. Sur la photo, il est montré que les emballages et les médicaments semblent identiques. Cependant, les spectres DOSY sont visiblement différents. La formulation en provenance de Syrie ne contient pas de triacétine ni de lactose mais du polyéthylène glycol (PEG)³⁹.

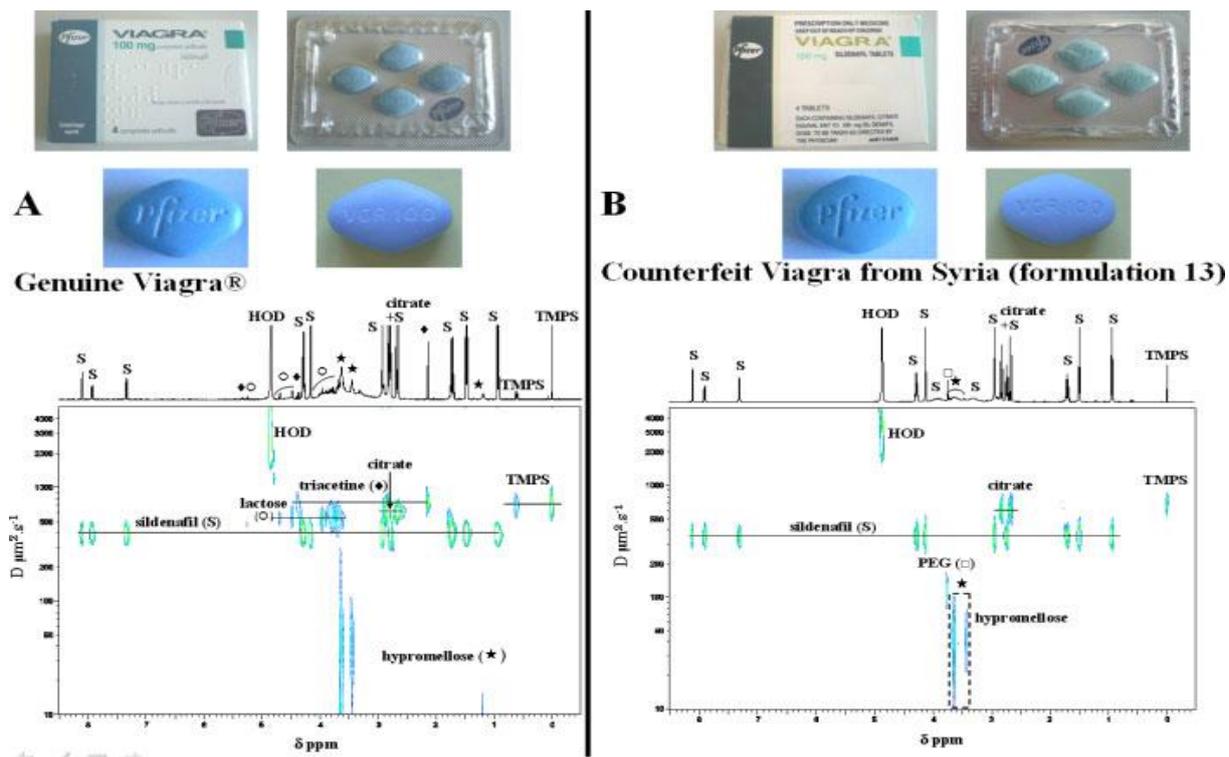


Figure 25 : Spectres RMN/DOSY¹H de formulations de Viagra. (A) formulation originale Viagra® (Laboratoire Pfizer). (B) contrefaçon en provenance de Syrie (Trefi et al. 2009)

Même si dans les deux cas le principe actif, (Sildénafil) est présent, des différences de composition apparaissent clairement. En effet deux des excipients observés dans la formulation originale, le lactose et la triacétine, sont absents de la formulation syrienne dans laquelle on trouve par contre la présence de polyéthylène glycol (PEG). La technique peut presque être considérée comme une technique de déformulation dans la mesure où elle permet d'avoir une information sur l'ensemble des constituants présents dans un médicament, excepté s'ils ne contiennent pas de proton (un excipient comme le talc par exemple ne sera pas détecté) où s'ils sont présents à l'état de trace.

4.4.3 Analyse du polyéthylène à basse densité (PEBD)

Ce polymère thermoplastique de grande consommation est obtenu par polymérisation radicalaire de l'éthylène, en opérant sous très haute pression (1800 à 3000 bars) à environ 200°C. Sa densité, voisine de 0,92, est plus faible que celle du polyéthylène haute densité (PEHD; $d \sim 0,95$), car sa structure révèle un taux de ramification supérieur à celui du PEHD. Si la RMN ¹³C permet une étude facile et informative de la ramification, la RMN/DOSY⁴ permet

⁴ Agilent Technologies, Inc. 2013
Publié aux Etats-Unis, 1^{er} novembre 201

de séparer les spectres des composants en fonction de leur taille, et donc de leurs propriétés de diffusion.

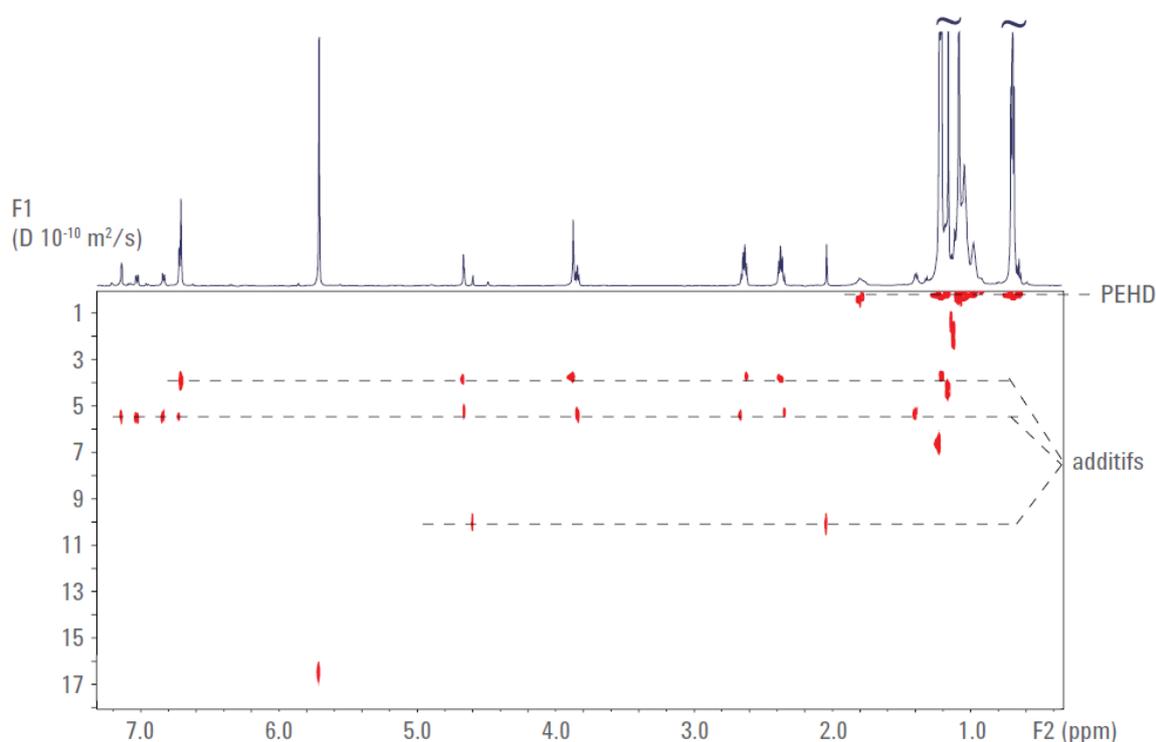


Figure 26 : Carte DOSY ^1H (avec compensation de la convection) dans $\text{C}_2\text{D}_2\text{Cl}_4$ à 120°C d'un PEHD présentant une séparation nette des additifs utilisés dans la composition du polymère.

Le PEHD, comme la plupart des produits industriels est un mélange de plusieurs composants (additifs) présents à des concentrations très différentes. La Figure 26 montre une séparation claire des additifs utilisés dans la composition du PEHD, même à des températures élevées.

5. Conclusion

La RMN DOSY est une technique puissante pour mesurer les coefficients de diffusion des espèces en solution. Elle permet d'obtenir des informations structurales de par sa dimension RMN conventionnelle mais également des informations physicochimiques telles que la taille de la molécule ou encore la formation d'agrégats, de polymères, de complexes.....Ainsi la RMN DOSY ^1H possède de nombreux domaines d'applications.

- (1) Rivet J.P, Barbachoux C. Le mouvement brownien : une trajectoire hors du commun. Le Bulletin de l'A.D.I.O.N. (1997)
- (2) Thureau, P. *RMN [Résonance Magnétique Nucléaire] DOSY [Diffusion Ordered SpectroscopY] : comparaison des méthodes de traitement et application à l'échange chimique*; Aix-Marseille 1, 2006.
- (3) Hahn, E. L. Spin Echoes. *Phys. Rev.* **1950**, *80*, 580–594.
- (4) Morris, K. F.; Johnson, C. S. Diffusion-ordered two-dimensional nuclear magnetic resonance spectroscopy. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 3139–3141.
- (5) Stejskal, E. O.; Tanner, J. E. Spin Diffusion Measurements: Spin Echoes in the Presence of a Time-Dependent Field Gradient. *J. Chem. Phys.* **1965**, *42*, 288.
- (6) Morris, G. A. Diffusion-Ordered Spectroscopy. In *Encyclopedia of Magnetic Resonance*; Harris, R. K., Ed.; John Wiley & Sons, Ltd: Chichester, UK, 2009.
- (7) Wu, D. H.; Chen, A. D.; Johnson, C. S. An Improved Diffusion-Ordered Spectroscopy Experiment Incorporating Bipolar-Gradient Pulses. *J. Magn. Reson. A* **1995**, *115*, 260–264.
- (8) Jerschow, A.; Müller, N. 3D diffusion-ordered TOCSY for slowly diffusing molecules. *J. Magn. Reson. - Ser. A* **1996**, *123*, 222–225.
- (9) Jerschow, A.; Müller, N. Suppression of Convection Artifacts in Stimulated-Echo Diffusion Experiments. Double-Stimulated-Echo Experiments. *J. Magn. Reson.* **1997**, *125*, 372–375.
- (10) Cobas, J.; Groves, P.; Martin-Pastor, M.; Capua, A. New Applications, Processing Methods and Pulse Sequences Using Diffusion NMR. *Curr. Anal. Chem.* **2005**, *1*, 289–305.
- (11) Longworth, L. G. The mutual diffusion of light and heavy water. *J. Phys. Chem.* **1960**, *64*, 1914–1917.
- (12) Holz, M.; Weingartner, H. Calibration in accurate spin-echo self-diffusion measurements using ¹H and less-common nuclei. *J. Magn. Reson.* **1969** **1991**, *92*, 115–125.
- (13) Weisstein, E. W. Levenberg-Marquardt Method
<http://mathworld.wolfram.com/Levenberg-MarquardtMethod.html> (accessed Sep 19, 2014).
- (14) Marc-André Delsuc, T. E. M. Maximum entropy processing of DOSY NMR spectra. *Anal Chem* **1998**, *70*, 2146–2148.

- (15) Gostan, T.; Tramesel, D.; Brun, E.; Prigent, Y.; Delsuc, M.-A. L'expérience DOSY, une puissante méthode RMN pour l'analyse de mélanges complexes et la détection de traces. *Spectra Anal.* **2004**, *33*, 26–32.
- (16) Hoffman, R. E. Standardization of chemical shifts of TMS and solvent signals in NMR solvents. *Magn. Reson. Chem.* **2006**, *44*, 606–616.
- (17) Bradley, S. A.; Paschal, J.; Kulanthaivel, P. DOSY of sample-limited mixtures: comparison of cold, nano and conventional probes. *Magn. Reson. Chem. MRC* **2005**, *43*, 31–35.
- (18) Li, W.; Chung, H.; Daeffler, C.; Johnson, J. A.; Grubbs, R. H. Application of ¹H DOSY for Facile Measurement of Polymer Molecular Weights. *Macromolecules* **2012**, *45*, 9595–9603.
- (19) Kavakka, J. S.; Parviainen, V.; Wähälä, K.; Kilpeläinen, I.; Heikkinen, S. Enhanced chromatographic NMR with polyethyleneglycol. A novel resolving agent for diffusion ordered spectroscopy. *Magn. Reson. Chem.* **2010**, *48*, 777–781.
- (20) Barjat. High resolution diffusion ordered 2D spectroscopy (HR-DOSY)-a new tool for analysis of complex-mixtures
J. Magn. Reson. B **1995**, *108*, 170–172.
- (21) Johnson, C. . Diffusion ordered nuclear magnetic resonance spectroscopy : principles and applications, 1998.
- (22) Stilbs, P.; Paulsen, K.; Griffiths, P. C. . *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 8180–8189.
- (23) Nilsson. Speedy Component Resolution: An Improved Tool for Processing Diffusion-Ordered Spectroscopy Data. *Anal. Chem.* **2008**, *80*, 3777–3782.
- (24) Antalek, B.; Windig, W. Generalized rank annihilation method applied to a single multicomponent pulsed gradient spin echo NMR data set. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 10331–10332.
- (25) Van Gorkom, L. C. M.; Hancewicz, T. M. Analysis of DOSY and GPC-NMR Experiments on Polymers by Multivariate Curve Resolution. *J. Magn. Reson.* **1998**, *130*, 125–130.
- (26) Huo, R.; Geurts, C.; Brands, J.; Wehrens, R.; Buydens, L. M. C. Real-life applications of the MULVADO software package for processing DOSY NMR data. *Magn. Reson. Chem.* **2006**, *44*, 110–117.

- (27) E. Durand, M. C. Aggregation States of Asphaltenes: Evidence of Two Chemical Behaviors by $(1)H$ Diffusion-Ordered Spectroscopy Nuclear Magnetic Resonance. *J. Phys. Chem. C* **2009**, *113*, 16266–16276.
- (28) Stéphane Viel, D. C. Diffusion-ordered NMR spectroscopy: a versatile tool for the molecular weight determination of uncharged polysaccharides. *Biomacromolecules* **2003**, *4*, 1843–1847.
- (29) Min Xu, Q. C. Investigation on extremely dilute solution of PEO by PFG-NMR. *Colloid Polym. Sci.* **2010**, *288*, 85–89.
- (30) Canzi, G.; Mrse, A. A.; Kubiak, C. P. Diffusion-Ordered NMR Spectroscopy as a Reliable Alternative to TEM for Determining the Size of Gold Nanoparticles in Organic Solutions. *J. Phys. Chem. C* **2011**, *115*, 7972–7978.
- (31) Zielinski, M. E.; Morris, K. F. Using perdeuterated surfactant micelles to resolve mixture components in diffusion-ordered NMR spectroscopy. *Magn. Reson. Chem.* **2009**, *47*, 53–56.
- (32) Daniela Smejkalová, A. P. Aggregation and disaggregation of humic supramolecular assemblies by NMR diffusion ordered spectroscopy (DOSY-NMR). *Environ. Sci. Amp Technol.* **2008**, *42*, 699–706.
- (33) Yang, K.; Cheng, Y.; Feng, X.; Zhang, J.; Wu, Q.; Xu, T. Insights into the interactions between dendrimers and multiple surfactants: 5. Formation of miscellaneous mixed micelles revealed by a combination of $1H$ NMR, diffusion, and NOE analysis. *J. Phys. Chem. B* **2010**, *114*, 7265–7273.
- (34) Song, S.; Chen, Y.; Yan, Z.; Fenniri, H.; Webster, T. J. Self-assembled rosette nanotubes for incorporating hydrophobic drugs in physiological environments. *Int. J. Nanomedicine* **2011**, *6*, 101–107.
- (35) Aski, S. N.; Kowalewski, J. Quinuclidine complex with α -cyclodextrin: a diffusion and ^{13}C NMR relaxation study. *Magn. Reson. Chem.* **2008**, *46*, 261–267.
- (36) Denkova, P. S.; Lokeren, L. V.; Verbruggen, I.; Willem, R. Self-Aggregation and Supramolecular Structure Investigations of Triton X-100 and SDP2S by NOESY and Diffusion Ordered NMR Spectroscopy. *J. Phys. Chem. B* **2008**, *112*, 10935–10941.
- (37) Figueira-González, M.; Francisco, V.; García-Río, L.; Marques, E. F.; Parajó, M.; Rodríguez-Dafonte, P. Self-Aggregation Properties of Ionic Liquid 1,3-Didecyl-2-methylimidazolium Chloride in Aqueous Solution: From Spheres to Cylinders to Bilayers. *J. Phys. Chem. B* **2013**, *117*, 2926–2937.

- (38) Lucas, L. H.; Larive, C. K. Measuring ligand-protein binding using NMR diffusion experiments. *Concepts Magn. Reson. Part A* **2004**, *20A*, 24–41.
- (39) Saleh Trefi, V. G. The usefulness of 2D DOSY and 3D DOSY-COSY ¹H NMR for mixture analysis: application to genuine and fake formulations of sildenafil (Viagra). *Magn. Reson. Chem. MRC* **2009**, *47 Suppl 1*, S163–S173.

Chapitre II : **Extrémité des chaînes polymères**

Chapitre II. Extrémité des chaînes polymères de faibles masses

Sommaire

1. Introduction	89
2. Généralités	89
3. Les méthodes de polymérisation	90
3.1 La polycondensation.....	90
3.2 La polymérisation vivante	90
3.2.1 La polymérisation anionique	91
3.2.2 La polymérisation radicalaire (PR)	91
4. Les différentes classes de polymères	97
4.1 Les homopolymères	98
4.2 Les copolymères.....	98
5. Microstructure des polymères	99
5.1 Structure configurationnelle	100
5.2 Structure moléculaire	100
6. Caractérisation de la microstructure de polymères de faibles masses	101
6.1 RMN quantitative	102
6.2 Poly(oxyde d'éthylène) (POE)	103
6.2.1 Poly(oxyde d'éthylène) (POE 1)	103
6.2.2 Poly(oxyde d'éthylène) (POE 2)	104
6.3 Triton X-100 (TX100).....	105
6.3.1 Spectre ¹ H.....	105
6.3.2 Spectre DOSY	106
6.4 Poloxamère.....	107
6.4.1 Spectre ¹ H.....	107
6.5 Synthèse du poly(acrylamide) (PAM).....	109
6.5.1 PAM par RAFT/MADIX	110
6.5.2 PAM/NMP.....	114
6.6 Cas d'un copolymère poly(AM- <i>b</i> -AMPS).....	119
6.6.1 RMN ¹ H.....	119
6.6.2 RMN ¹³ C.....	121
6.6.3 RMN HMBC	123

6.6.4	RMN DOSY	124
6.7	Poly (3-hexylthiophène) (P3HT).....	125
6.7.1	P3HT modifié par un groupement allylique	125
6.7.2	P3HT modifié par un groupement styrénique	127
7.	Conclusion	129

Liste des Figures

Figure 1	: Spectre ^1H du POE 6000 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (DMSO, 25°C)	103
Figure 2	: Spectre ^1H du POE 20000 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (DMSO, 25°C).....	104
Figure 3	: Spectre ^1H du TRITON X100 (DMSO, 25°C).....	105
Figure 4	: Analyse DOSY du Triton X-100 (DMSO, 25°C).....	106
Figure 5	: Spectre ^1H du Pluronic F127 (CDCl_3 , 25°C).....	107
Figure 6	: Spectre ^1H du PAM/RAFT (D_2O , 25°C).....	110
Figure 7	: Analyse DOSY du PAM/RAFT (D_2O , 25°C).....	111
Figure 8	: Spectre ^{13}C du PAM/RAFT (D_2O , 25°C).....	112
Figure 9	: Spectre HMBC du PAM/RAFT (D_2O , 25°C).....	113
Figure 10	: Spectre ^1H du PAM/NMP (D_2O , 25°C).....	115
Figure 11	: Analyse DOSY du PAM/NMP (D_2O , 25°C).....	115
Figure 12	: Spectre ^{13}C du PAM/NMP (D_2O , 25°C).....	116
Figure 13	: Spectre HMBC du PAM/NMP (D_2O , 25°C).....	117
Figure 14	: RMN ^{31}P C du PAM/NMP (D_2O , 25°C).....	118
Figure 15	: Spectres HMBC du PAM/RAFT et du PAM/NMP	119
Figure 16	: Spectre ^1H du poly(AM- <i>b</i> -AMPS) (D_2O , 25°C).....	120
Figure 17	: Spectre ^{13}C de poly(AM- <i>b</i> -AMPS) (D_2O , 25°C).....	122
Figure 18	: Spectre HMBC du copolymère poly(AM- <i>b</i> -AMPS) (D_2O , 25).....	123
Figure 19	: Spectre DOSY du copolymère poly(AM- <i>b</i> -AMPS) synthétisé par RAFT / MADIX (D_2O , 25°C)	124
Figure 20	: Spectre ^1H de P3HT fonctionnalisé par un groupement allyle (CDCl_3 , à 25°C)	125
Figure 21	: Spectre DOSY du P3HT fonctionnalisé par un groupement allyle (CDCl_3 , 25°C)	126
Figure 22	: Spectre ^1H de P3HT fonctionnalisé par un groupement styrène (CDCl_3 , 25°C)	127
Figure 23	: Spectre DOSY de P3HT fonctionnalisé par un groupement styrène (CDCl_3 , 25°C).....	128

Liste des Tableaux

Tableau 1	: M_n et composition en blocs POE et POP du Pluronic F12,	109
Tableau 2	: Attribution des déplacements chimiques des signaux du groupement allyle,	126
Tableau 3	: Attribution des déplacements chimiques des signaux du groupement styrène.	128

1. Introduction

Le chapitre II introduit quelques notions théoriques sur les polymères en évoquant les différentes techniques de polymérisation.

Nous nous sommes intéressés à la caractérisation par la technique de Résonance Magnétique Nucléaire de la microstructure de quelques matériaux polymères en s'attardant plus particulièrement sur l'exploration de leurs groupements terminaux (appelés aussi bouts ou extrémités de chaîne). En effet, il s'agit d'une étape cruciale de l'analyse des polymères car leur connaissance apporte, comme on va le voir dans ce chapitre, des informations essentielles sur le processus de polymérisation utilisé. Cette information est également fondamentale pour envisager des modifications chimiques ultérieures, pour la synthèse de polymère à architecture complexe par exemple.

Quelques systèmes macromoléculaires d'origine diverses et variées ont été caractérisés par RMN afin de mettre en évidence la nature des extrémités de chaîne. Cette caractérisation s'est faite grâce des techniques de RMN avancées telle que, la RMN 2D et surtout la RMN diffusionnelle par la technique DOSY.

Dans ce chapitre, on n'évoquera que le cas de polymères présentant une masse molaire faible (inférieure à 20 kDa) soit correspondant à environ 200 unités monomères.

2. Généralités

Les polymères sont des macromolécules construites à partir d'unités appelées « monomères » reliées les unes aux autres par des liaisons covalentes, et qui, selon leur structure et nature chimique vont donner naissance à des polymères de nature variée. Les liaisons covalentes constituant le squelette macromoléculaire sont le plus souvent des liaisons carbone-carbone (cas des polyoléfines comme le polyéthylène, le polypropylène...), mais peuvent également résulter de la liaison d'atomes de carbone avec d'autres atomes, notamment l'oxygène (cas des polyéthers et des polyesters) ou l'azote (cas des polyamides). Il existe aussi des polymères pour lesquels l'enchaînement résulte de liaisons ne comportant pas d'atomes de carbone (polysilanes, polysiloxanes, etc...).

Les propriétés macroscopiques des polymères dépendent autant de la nature chimique des unités constituant les chaînes que de leur agencement dans une architecture donnée. La caractérisation précise de ces espèces est donc un prérequis nécessaire à la maîtrise des réactions de polymérisation visant à obtenir des polymères de dimension, de structure et d'architecture contrôlées.

3. Les méthodes de polymérisation

3.1 La polycondensation

La polycondensation, aussi désignée par le terme de polymérisation par étapes, consiste en des réactions de condensation successives entre les groupements fonctionnels réactifs des monomères. Ces réactions s'accompagnent généralement de l'élimination de petites molécules. Elles permettent d'augmenter la taille de la chaîne soit par addition de monomères, soit par addition de groupes de monomères. Ainsi, les masses molaires élevées ne sont obtenues que pour un taux de conversion des fonctions réactives proche de 100%. Ce type de polymérisation ne sera pas abordé dans ce travail de thèse.

En effet nous nous consacrerons à la polymérisation en chaîne qui se décline essentiellement en deux principaux types de processus : la polymérisation radicalaire et la polymérisation anionique.

3.2 La polymérisation vivante

La notion de polymérisation « vivante » a été introduite par M. Szwarc lors de la mise au point de la polymérisation anionique¹ en 1956. Il l'a définie comme « une polymérisation au cours de laquelle, à tout instant, toutes les molécules de polymères sont porteuses d'un centre actif ». Son travail a permis la synthèse de nouveaux polymères bien définis et a ouvert des nouvelles voies de synthèse de copolymères à architecture originale (Schéma 1) en particulier, des copolymères à blocs² qui ont la faculté de se structurer à l'échelle du nanomètre offrant des nouvelles propriétés très étudiées en physique des polymères. Ces techniques de polymérisation ont d'abord été appliquées en milieu académique puis furent très vite adaptées à l'échelle industrielle pour mener à la production de plusieurs produits commerciaux, notamment les élastomères thermoplastiques.

3.2.1 La polymérisation anionique

Dans la polymérisation anionique des monomères hydrocarbonés (styrène, diènes), il n'y a ni réaction de terminaison ni réaction de transfert. La polymérisation s'arrête donc seulement lorsque tout le monomère a été converti. La polymérisation anionique demande d'une part un amorçage très rapide et d'autre part une propagation relativement lente pour contrôler les distributions de longueurs de chaîne. L'amorçage est obtenu en utilisant des amorceurs lithiés très réactifs dans des solvants apolaires. La propagation lente est obtenue grâce à la formation de paires d'ions aux bouts des chaînes actives qui, en première approche, peuvent être considérées comme des espèces « dormantes » car elles ont une réactivité de plusieurs ordres de grandeur plus faible que celle des ions libres³. Les processus d'échange d'ions entre espèces actives et dormantes sont très rapides par rapport à la propagation pour assurer le contrôle de la polymérisation.

Si l'amorçage est efficace et plus rapide que la propagation, la masse moyenne sera donc le rapport entre la concentration en monomère et la concentration en amorceur, toutes les macromolécules ayant la même probabilité de croissance, la distribution des masses sera étroite. Il est cependant nécessaire, dans ce but, de prendre soin de purifier les monomères et les solvants, pour éliminer toute impureté protique susceptible de désactiver les centres actifs et, donc les chaînes en croissance.

3.2.2 La polymérisation radicalaire (PR)

La principale caractéristique de cette polymérisation en chaîne est qu'elle se déroule en trois phases. Elles ne se déroulent pas successivement mais on assiste à un mélange des étapes :

- Phase d'amorçage : elle correspond à l'activation d'une molécule de monomère. L'activation d'un monomère M se fait grâce à un amorceur A. Ainsi le début de l'équation de polymérisation en chaîne est de la forme :



M° est le monomère activé ou centre actif.

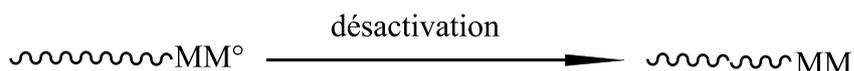
- Phase de propagation : elle correspond à la propagation du centre actif à d'autres monomères. L'activité de ce monomère activé se propage à d'autres monomères.



Ainsi la propagation va être la répétition de cette forme d'équation :



- Phase de terminaison : elle correspond à la rencontre d'un polymère ayant un monomère activé en bout de chaîne et d'une espèce qui désactive ce monomère.



La technique de polymérisation radicalaire (PR) est une technologie qui a permis l'obtention de millions de tonnes d'homopolymères et de copolymères, comme le polyéthylène à basse densité, le polychlorure de vinyle, le polystyrène et ses copolymères avec l'acrylonitrile et le butadiène, les polyacrylates, les polyacrylamides et plusieurs autres, soit l'équivalent de ~50% du tonnage des polymères synthétiques du marché. C'est une technique facile à mettre en œuvre car elle repose sur des conditions très douces et tolère la présence de solvants protiques et de milieux aqueux. Cependant, la grande réactivité des radicaux alkyles produits au cours de cette voie de synthèse, favorise souvent la présence de réactions de terminaison irréversibles, par couplage ou par dismutation. Aussi, l'apparition d'autres réactions parasites de transfert au solvant, aux monomères et au polymère sont souvent inévitables avec les radicaux en croissance. Ceci rend difficile le contrôle des degrés de polymérisation, des distributions de masses molaires, des architectures des chaînes et de la composition des copolymères élaborés. Les polymères obtenus par cette voie classique sont mal définis dans la majorité des cas, et ne permettent pas l'élaboration de polymères à architectures particulières comme les copolymères à blocs, d'où le monopole des polymérisations anioniques vivantes sur les architectures complexes des polymères durant plusieurs années. Ces voies ioniques ne présentent pas de réactions de terminaison mais sont assez difficiles à réaliser et nécessitent des conditions bien particulières. Le couplage de la polymérisation radicalaire libre aux avantages de ces polymérisations anioniques a été longuement souhaitable. C'est ainsi que de nouvelles techniques émergentes ont vu le jour au milieu des années 90, connues sous le nom de **polymérisations radicalaires contrôlées/vivantes**, avec un minimum de réactions de terminaison et/ou de transfert, permettant l'élaboration de nouveaux copolymères possédant des architectures/topologies et des fonctionnalités prédéterminées (Schéma 1).

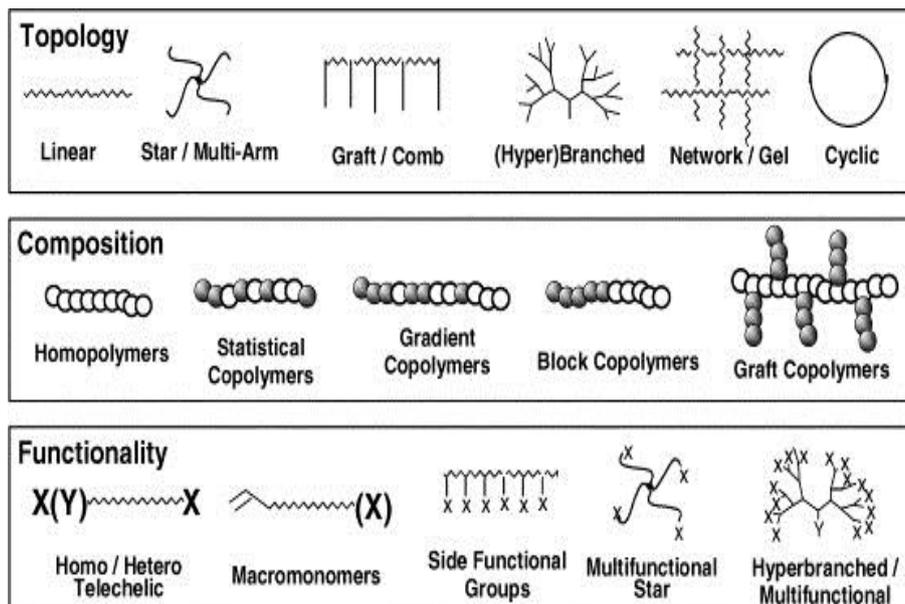


Schéma 1: Architectures macromoléculaires accessibles par voies radicalaires contrôlées⁴.

L'établissement de la dynamique des équilibres entre radicaux en croissance et différentes espèces dormantes est la base de tous les systèmes de Polymérisation Radicalaire Contrôlée (PRC)⁵. La nature de l'espèce dormante permet de distinguer trois principales voies de polymérisation radicalaire contrôlée.

La chaîne dormante peut être un halogénure d'alkyle comme dans la polymérisation par transfert d'atome (ATRP), un thioester comme dans les processus de transfert de chaînes par fragmentation/addition réversible (RAFT) ou une alkoxyamine comme dans la polymérisation contrôlée par un radical libre stable (SFRP ou NMP quand le radical stable est un nitroxyde).

3.2.2.1 La polymérisation radicalaire contrôlée par radical libre stable (SFRP et NMP)

Le contrôle de cette polymérisation repose sur le piégeage réversible des radicaux en croissance (P_n^\bullet) par des radicaux stables ou persistants (X^\bullet), conduisant à la formation d'espèces dormantes (P_n-X) par la création d'une liaison covalente (Schéma 2).

Parmi les différents radicaux X^\bullet utilisés, les nitroxydes présentent les meilleures performances et sont encore aujourd'hui les plus étudiés. Du fait de leur grande aptitude à réagir avec les radicaux carbonés, ces radicaux très stables ont d'abord été utilisés comme agents de piégeage ou « trapping »⁶, avant d'être valorisés en PRC. Le caractère stable du radical X^\bullet vient du fait qu'il ne peut pas réagir sur lui-même selon l'équation $X^\bullet + X^\bullet \longrightarrow X-X$ mais uniquement sur les radicaux en croissance.

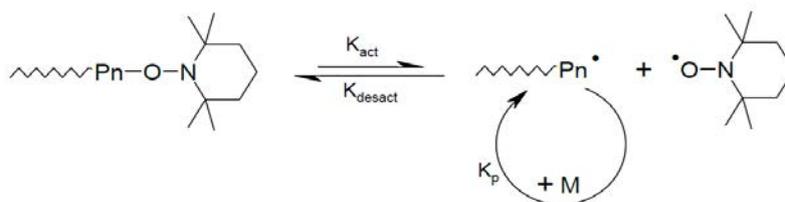


Schéma 2 : Equilibre entre espèce dormante et actives en NMP

Il existe de nombreux radicaux nitroxydes pouvant être utilisés en PRC (Schéma 3) mais le choix du nitroxyde est dicté par la nature des monomères à polymériser.

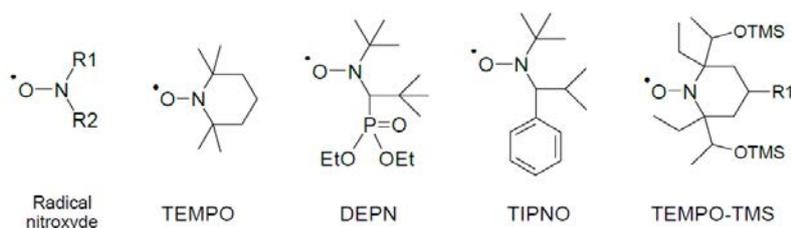


Schéma 3 : Exemples de différents radicaux nitroxydes couramment utilisés en NMP. TEMPO = 2,2,6,6-tétraméthyl-1-pipéridinyloxy, DEPN = SG1 = N-tert-butyle-N-(1-diéthylphosphono-2,2 diméthylpropyl) nitroxyde, TIPNO = 2,2,5-triméthyl-4-phényl-3-azahexane-3-nitroxyde.

Une des principales limites de cette méthode vient du fait qu'à ce jour, on connaît seulement un nombre limité de couples monomère/nitroxyde qui permet un bon contrôle de la polymérisation. Au niveau industriel, la NMP est utilisée principalement pour la synthèse de monomères styréniques et acryliques avec des nitroxydes dérivés du DEPN⁷. Des effets stériques sont responsables du mauvais contrôle des méthacrylates : la formation de l'alkoxyamine est défavorisée au profit de l'arrachage d'un proton en α du radical en croissance⁸. Une solution consiste à copolymériser une petite quantité de styrène avec le MMA (environ 10%) pour obtenir un bon contrôle⁹.

3.2.2.2 La polymérisation radicalaire contrôlée par addition-fragmentation réversible (RAFT)

La RAFT¹⁰ repose sur un mécanisme de transfert de chaîne réversible qui se compose de deux équilibres d'addition-fragmentation mettant en jeu un agent de transfert de type thiocarbonylthio (agents de transfert les plus utilisés). L'initiation ainsi que la terminaison entre radicaux sont les mêmes qu'en polymérisation radicalaire classique. Après décomposition de l'amorceur (de type AIBN: azobisisobutyronitrile) en radicaux, la première espèce radicalaire produite s'additionne

au monomère pour former un radical carboné qui va ensuite réagir rapidement avec l'agent de transfert pour former l'entité radicalaire correspondante (Schéma 4). Cette dernière va se fragmenter en un amorceur et en un nouveau radical capable de réamorcer une polymérisation. La polymérisation RAFT vise à minimiser les réactions de terminaison irréversible grâce à la présence d'un nombre limité de radicaux dans le milieu réactionnel. Toutefois, il est possible qu'une telle réaction se produise entre deux espèces actives et notamment lorsque la concentration en amorceur est trop élevée (le rapport entre la concentration initiale en amorceur et la concentration initiale en agent de transfert doit être suffisamment faible).

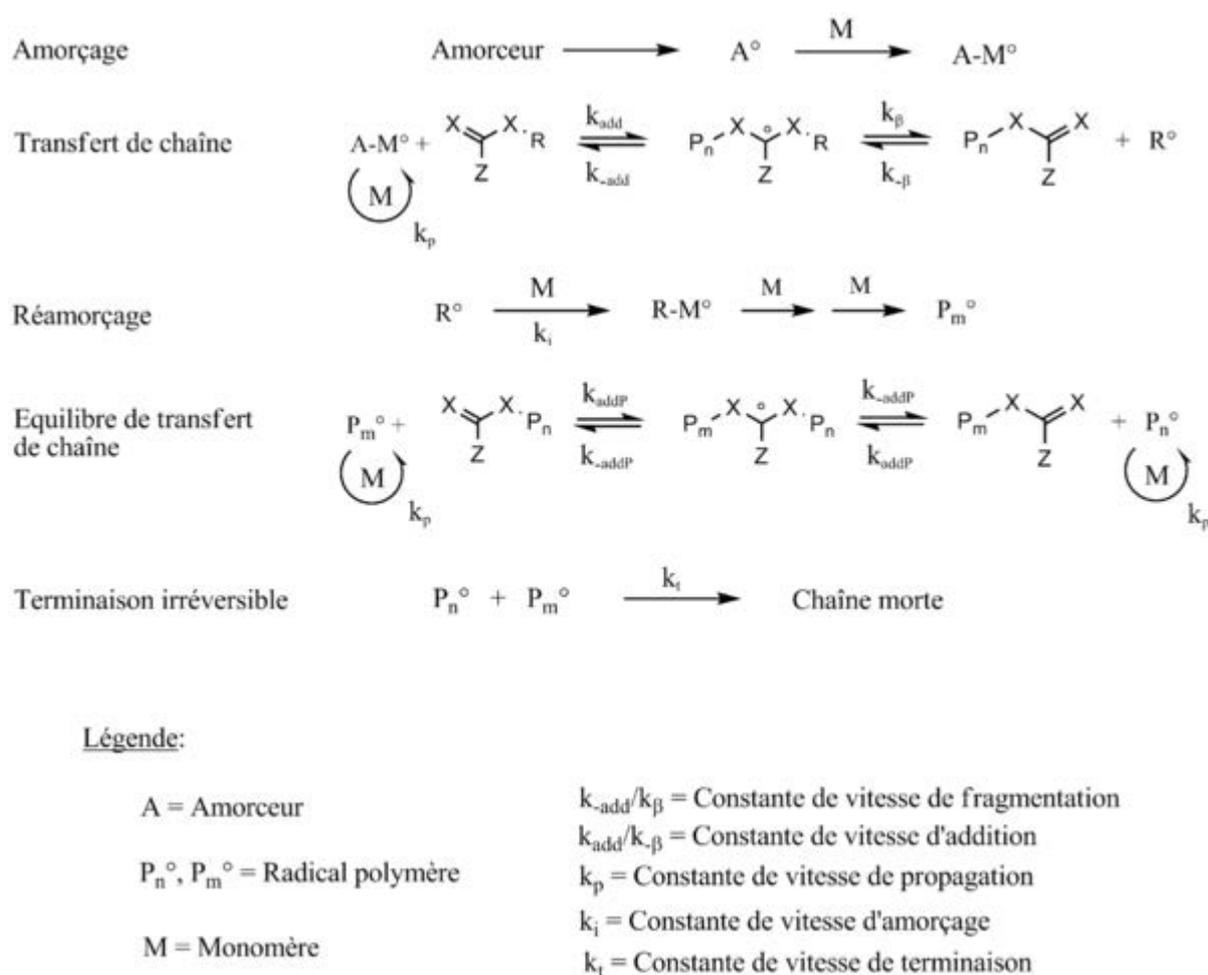


Schéma 4 : Mécanisme de polymérisation de type RAFT

Les agents contrôlant la polymérisation en RAFT possèdent une structure commune analogue à celle représentée sur le Schéma 5.

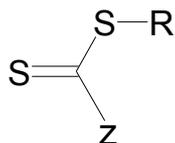


Schéma 5 : Structure générale de l'agent de contrôle de RAFT

Le groupe Z de l'agent de contrôle est présent pour gouverner l'activité et la stabilité de la double liaison C=S régissant sa vitesse d'addition sur la chaîne active. Un grand nombre de groupes Z peuvent être utilisés comme illustré sur le Schéma 6a, où ils sont classés par vitesse d'addition décroissante.

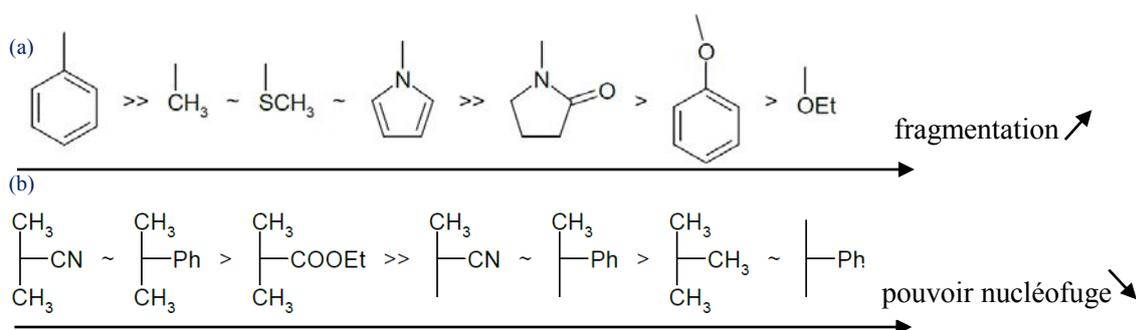


Schéma 6 : (a) Exemples de groupes Z classés par vitesse de fragmentation croissante
(b) Exemples de groupes R classés selon leur pouvoir nucléofuge.

Les groupes Z de type benzyle permettent le contrôle de la polymérisation du styrène ou du MMA, mais pas celle des acrylates ou des esters vinyliques. Au contraire, les groupes de type O-R sont efficaces pour les esters vinyliques mais pas pour les styréniques. Il faut donc adapter le groupe stabilisant Z aux monomères que l'on veut polymériser. Le groupe partant R (Schéma 6b) est présent sur l'agent de contrôle au début de la polymérisation et doit être plus stable que le radical P_n° pour que la polymérisation s'amorce efficacement. De plus, ce groupe partant doit être choisi en fonction de la stabilité de l'espèce dormante et de la vitesse d'addition de celui-ci sur les monomères. La PRC par RAFT est une méthode simple à mettre en œuvre et permet un bon contrôle d'une large gamme de monomères à condition de bien choisir son agent de transfert. Le seul défaut de cette méthode est la présence de soufre sur l'agent de transfert, qui peut être responsable de coloration et de fortes odeurs¹¹.

3.2.2.3 La polymérisation radicalaire contrôlée par transfert d'atome (ATRP)

La polymérisation radicalaire par transfert d'atomes (*Atom Transfer Radical Polymerization*, ATRP) est un type de polymérisation radicalaire contrôlée. L'ATRP fut découverte et décrite pour la première fois en 1995, simultanément et indépendamment, par M. Sawamoto¹² et K. Matyjaszewski¹³.

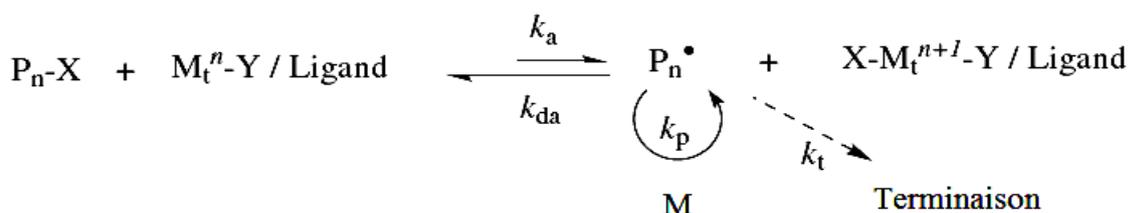


Schéma 7 : Mécanisme de la technique ATRP

Comme illustré sur le Schéma 7, l'ATRP repose sur l'utilisation d'un halogénure d'alkyle $\text{P}_n\text{-X}$ comme amorceur, qui sera impliqué dans un processus réversible redox avec un complexe organométallique $\text{M}_t^n\text{-Y/Ligand}$ (souvent des complexes du cuivre avec un ligand azoté, Y est un contre-ion qui peut former une liaison covalente ou ionique avec le métal de transition). Cette méthode de synthèse est simple à mettre en œuvre et ne nécessite pas la préparation préalable de composés organiques complexes, elle peut être utilisée pour obtenir des polymères possédant de grandes masses molaires et de faibles indices de polymolécularité. De plus, elle permet la synthèse de grandes familles de monomères acrylate, méthacrylate et dérivés styréniques. L'ATRP peut induire la formation d'architectures complexes, tels que les copolymères à blocs, étoilés, greffés... et ce dans une gamme de température très large. Cependant, leur domaine d'application peut être limité en raison de la présence de métaux résiduels dans ces polymères. Par ailleurs, cette technique ne permet pas le contrôle de monomères peu conjugués comme l'acétate de vinyle, ou les monomères trop réactifs capables de réagir avec les complexes métalliques.

4. Les différentes classes de polymères

Dans le cas le plus simple, un polymère est une macromolécule linéaire constituée d'un seul type de monomère : un *homopolymère*. Lorsque plusieurs motifs différents constituent le polymère, on parle d'hétéropolymères ou de *copolymères*.

4.1 Les homopolymères

- les homopolymères linéaires présentent un enchaînement linéaire de leur motif monomère, comme pour un collier de perles (Schéma 8a).



Schéma 8 : Représentation d'homopolymères linéaires (a), ramifiés (b) et en étoiles (c)

- les homopolymères ramifiés présentent des branches latérales, elles-mêmes plus ou moins ramifiées. Ces branches résultent soit d'une réaction chimique parasite au cours de la synthèse du polymère, soit d'une réaction de greffage réalisée volontairement sur les unités monomères pour en modifier les propriétés physico-chimiques (Schéma 8b).
- les homopolymères étoilés présentent l'architecture ramifiée la plus élémentaire, les étoiles ne comportant en effet qu'un seul point de ramification noté X par macromolécule à l'inverse des polymères ramifiés (Schéma 8c).

4.2 Les copolymères

Les copolymères sont des polymères issus de la copolymérisation d'au moins deux types de monomères, chimiquement différents. Ils sont donc formés d'au moins deux motifs répétitifs. Les copolymères peuvent se classer selon plusieurs catégories :

- copolymères statistiques : constitués de macromolécules dans lesquelles la distribution des unités monomères obéit à des lois statistiques connues (Schéma 9a).
- copolymères alternés : constitués de macromolécules comportant deux sortes d'unités monomères distribuées en alternance (Schéma 9b).

- copolymères séquencés (ou à blocs) pour lesquels les différents monomères sont organisés en blocs (Schéma 9d).
- copolymères greffés pour lesquels des segments constitués d'un type de monomère sont ramifiés sur une chaîne principale à base d'un autre type de monomère (Schéma 9e).
- copolymères à gradient pour lesquels la composition moyenne de monomères varie continuellement d'une extrémité de la chaîne à l'autre¹⁴ (Schéma 9c).



Schéma 9 : Représentation des copolymères statistiques(a), alternés (b), à bloc (c) et greffés (d)

5. Microstructure des polymères

Le terme de structure ou de microstructure est bien commode en science des matériaux, car il recouvre tous les aspects de l'architecture du matériau aux différentes échelles : chaînes macromoléculaire, morphologie et texture cristalline, morphologie et structures spécifiques liées à la mise en œuvre..... On distingue trois types de structures :

- **primaire** qui correspond à l'enchaînement covalent des motifs monomères. On en distingue deux types : structure configurationnelle et structure moléculaire.

- **secondaire** qui correspond à la conformation d'une chaîne isolée. Dans la majorité des cas, en solution, les chaînes polymères sont sous forme de pelote statistique sauf pour les polymères rigides.

- **tertiaire** : cette structure concerne l'organisation des chaînes au sein du matériau. Elle influence la nature du matériau obtenu selon que les chaînes sont désorganisées, sous forme de

pelotes statistiques (matériau amorphe) ou au contraire sous forme organisées (matériau cristallin) comme le Téflon®.

5.1 Structure configurationnelle

La notion de tacticité (déjà abordée et illustrée par quelques exemples dans le premier chapitre), implique la présence, dans le polymère, d'unités monomères possédant un centre asymétrique et donc des configurations absolues R ou S . La tacticité d'un polymère est de ce fait définie comme la régularité configurationnelle relative des unités monomères successives. On distingue trois qualifications en termes de tacticité : Isotactique, Syndiotactique et Atactique

- ✓ **isotactique** : toutes les unités monomériques constituant le polymère ont la même configuration absolue (R ou S),
- ✓ **syndiotactique** : il existe une alternance de configurations R et S ,
- ✓ **atactique** : la localisation des monomères de configuration R ou S est totalement aléatoire.

Dans ce chapitre, nous nous intéresserons surtout à l'étude de la structure moléculaire des matériaux polymères et, plus particulièrement à l'exploration de leurs groupements terminaux par la technique de Résonance Magnétique Nucléaire.

5.2 Structure moléculaire

Les matériaux polymères sont généralement utilisés pour leurs propriétés mécaniques particulières et leur aptitude à être mis en œuvre (processabilité). Ces qualités sont étroitement liées à leur structure et il est possible, à partir d'une structure moléculaire donnée, d'imaginer la morphologie qui en découle et les propriétés qui s'y rattachent. La structure moléculaire se caractérise par un certain nombre de paramètres :

- **nature du monomère** : un polymère est une macromolécule, de masse molaire élevée, obtenue par la répétition d'un motif constitutif (le monomère). Le degré de polymérisation (DP) d'une chaîne est le nombre de molécules de monomère inclus dans cette chaîne. Les polymères auront des propriétés différentes selon la nature des monomères qui composent la chaîne.

➤ **composition en monomères** : la composition en monomères est définie comme la proportion de chaque unité monomère présente dans un copolymère. Ce paramètre peut être contrôlé lors de la synthèse et dépend du type de polymérisation choisi.

➤ **enchaînements des unités constitutives** : dans un homopolymère l'enchaînement des unités constitutives peut se faire, localement, de différentes façons (enchaînements tête-à-queue, tête-à-tête et queue-à-queue). Dans le cas des copolymères, le mode d'enchaînement des unités constitutives conduit une classification dans laquelle on trouve des copolymères statistiques, alternés, à blocs, greffés....

➤ **paramètres de distribution** : les notions de poids moléculaire et de distribution en poids moléculaire sont spécifiques aux polymères. Beaucoup de propriétés physiques, mécaniques et rhéologiques dépendent de ces paramètres. Il est évident que la détermination de la distribution en poids moléculaire d'un polymère représente une importance technique considérable. Cette distribution de masses est caractérisée par trois grandeurs : la masse moyenne en nombre (M_n), la masse moyenne en poids (M_w) et l'indice de polydispersité (I_p) défini comme le rapport de M_w / M_n .

➤ **groupements terminaux** : les polymères sont aussi définis par leurs groupements terminaux qui résultent généralement du processus de polymérisation employé. Un groupe terminal n'est lié qu'à un seul motif de répétition.

La chaîne d'un polymère linéaire contient deux groupes terminaux ; les polymères hyperramifiés en possèdent quant à eux un grand nombre. L'influence des groupes terminaux sur les propriétés d'une molécule est d'autant plus élevée que sa masse molaire est plus faible.

6. Caractérisation de la microstructure de polymères de faibles masses

Dans la suite de ce chapitre on ne se limitera qu'à la caractérisation des paramètres microstructuraux décrits à la section précédente et plus particulièrement à l'étude des extrémités de chaîne, qui apporte des informations très importantes sur les mécanismes de polymérisation et sur la réactivité chimique du polymère.

Selon la sensibilité de leurs extrémités de chaînes, on classera les polymères en deux catégories, les polymères de faible masse dont les bouts de chaîne sont faciles à détecter par RMN classique

et d'autre qu'on appellera polymères de grande masse où les bouts de chaînes sont quasiment indétectables par RMN¹H.

6.1 RMN quantitative

La Résonance Magnétique Nucléaire à une dimension (RMN 1D)¹⁵ est un outil extrêmement performant pour l'analyse quantitative. Elle est employée dans des domaines aussi variés que l'authentification de produits d'origine naturelle^{16,17} l'analyse pharmaceutique^{18,19} ou la caractérisation des matériaux polymères^{20,21,22}.

Cependant, l'analyse quantitative précise de mélanges complexes est souvent rendue difficile par la présence d'importants recouvrements entre les pics du spectre 1D. C'est le cas en particulier lorsque l'on souhaite doser des mélanges de composés similaires. La RMN quantitative du carbone-13, apporte une solution partielle à ce problème car elle permet une meilleure discrimination des résonances que la RMN du proton grâce à une plus large gamme de déplacements chimiques. Cependant, elle souffre d'une très faible sensibilité en raison de la faible abondance naturelle du ¹³C.

Pour faire de la RMN quantitative, les expériences doivent être enregistrées de façon à respecter les propriétés de relaxation magnétique des noyaux étudiés. Ainsi, l'intégrale d'un signal RMN donné est proportionnelle au nombre de noyaux contribuant au signal et permet donc d'accéder à la concentration molaire de l'espèce considérée. Dans le cas des polymères, on pourra de cette façon remonter aux paramètres cinétiques, à la composition d'un mélange réactionnel, à la pureté des produits synthétisés et à la composition en monomères en cas d'une réaction de copolymérisation.

S'agissant des polymères de petites masses molaires, les groupements terminaux sont dans la plupart des cas détectables par RMN¹H et par conséquent, la valeur de *M_n* peut être calculée avec beaucoup de précision.

Expérimentalement, la démarche consiste à identifier dans un premier temps les protons des extrémités de chaîne et ceux appartenant aux unités monomères. Une intégration précise de l'aire de tous les signaux est alors effectuée. Le rapport des intégrales des populations protoniques issues des groupements terminaux à celles caractérisant la chaîne polymère permet

le calcul de la valeur de M_n . Cette méthodologie est communément appelée « analyse des groupements terminaux par RMN¹H »²³.

Dans ce chapitre, nous avons choisi d'étudier quelques familles de poly(oxyde d'éthylène), de tensioactifs non ioniques, de polyacrylamides et de polythiophènes. Nous avons ainsi essayé de couvrir une gamme assez large de polymères synthétiques.

6.2 Poly(oxyde d'éthylène) (POE)

Le poly(oxyde d'éthylène) (POE) occupe depuis de nombreuses années une place importante dans le domaine des polymères en raison de sa structure intrinsèque particulière, de sa grande solubilité dans l'eau ainsi que dans de nombreux solvants organiques et de sa biocompatibilité exceptionnelle. La polymérisation par voie anionique par ouverture de cycle²⁴ représente la méthode incontournable pour synthétiser le POE. La caractérisation par RMN¹H a permis d'en confirmer les caractéristiques structurales, fonctionnelles et même de déterminer la masse moyenne en nombre.

6.2.1 Poly(oxyde d'éthylène) (POE 1)

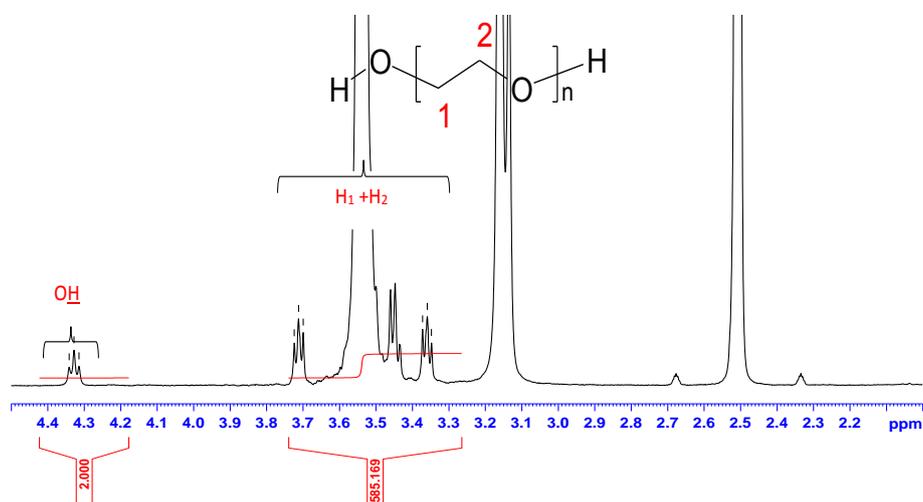


Figure 1 : Spectre ¹H du POE 6000 g.mol⁻¹ (DMSO, 25°C)

L'analyse RMN¹H (Figure 1) est effectuée dans le DMSO-d₆ à la température ambiante. Le triplet à 4.35 ppm, avec une constante de couplage ³J de 8Hz est attribué aux deux hydroxyle (OH) du POE₁. Le signal à 3.55 ppm est attribué aux deux CH₂ de l'unité répétitive du POE. Au vu de la structure présentée ci-dessus (Figure 1), il est possible de formaliser la proportion relative des protons OH par rapport aux deux CH₂ des unités répétitives par :

$$n \times \frac{I_{OH}}{2} = \frac{I_{(CH_2-CH_2)}}{4}$$

où I représente la valeur de l'intégrale du signal protonique correspondant.

On détermine le nombre d'unité monomères n (appelé degré de polymérisation et noté DP) dans le POE₁. Dans notre cas on trouve DP = 146, ce qui va nous permettre de calculer ensuite la valeur de *M_n* de ce POE₁

$$M_n = (146 \times 44) + 2(17)$$

44 étant la masse molaire de l'unité répétitive du POE (CH₂CH₂O) et 17 la masse molaire du groupement hydroxyle (OH).

$$M_n = 6458 \text{ g.mol}^{-1}$$

Ce POE est vendu par Sigma Aldrich pour être un POE de masse 6 kDa.

6.2.2 Poly(oxyde d'éthylène) (POE 2)

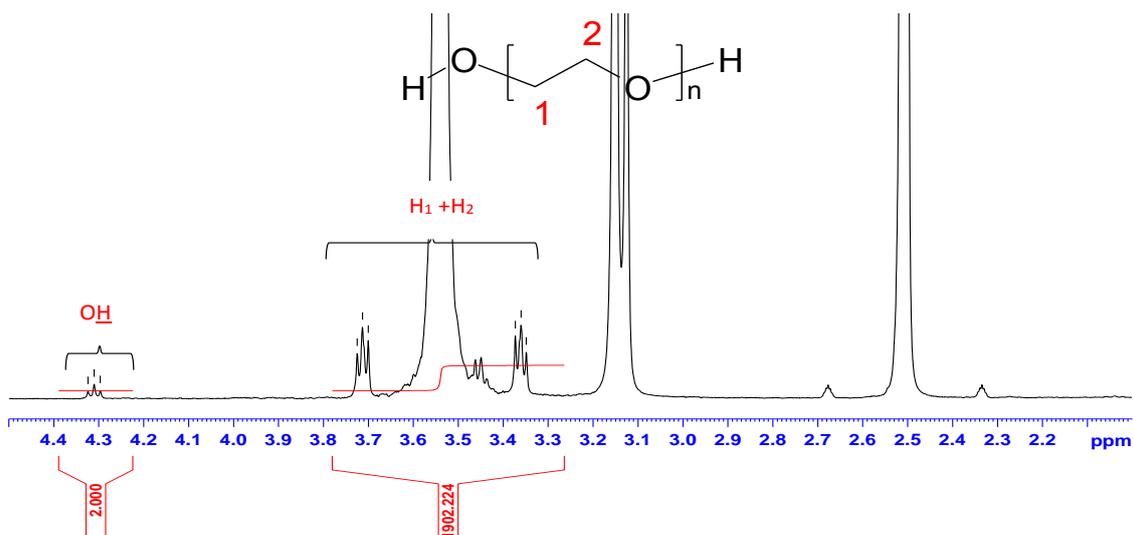


Figure 2 : Spectre ¹H du POE 20000 g.mol⁻¹ (DMSO, 25°C)

De façon analogue au POE₁, nous avons contrôlé la masse moyenne en nombre d'un autre échantillon de POE (20 kDa), commercialisé par Sigma Aldrich.

Les extrémités de chaîne ont été identifiées et quantifiées par une simple RMN¹H (Figure 2). La valeur de *M_n* déterminée comme précédemment : $\overline{M}_n = 20956 \text{ g.mol}^{-1}$ est proche de celle donnée par l'industriel.

En conclusion, la RMN¹H, permet de vérifier les masses moyennes en nombre de polymères à base de POE pour des valeurs de l'ordre de 20000 g.mol⁻¹.

6.3 Triton X-100 (TX100)

Le *triton X-100* s'utilise comme émulsifiant, agent de mouillage et détergent. C'est un polymère tensioactif non ionique biodégradable constitué d'un octyl-phénoxy-polyéthoxyéthanol (Schéma 10).

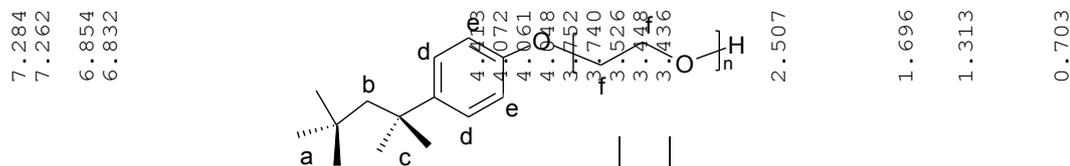


Schéma 10 : Structure du TRITON X100

6.3.1 Spectre ^1H

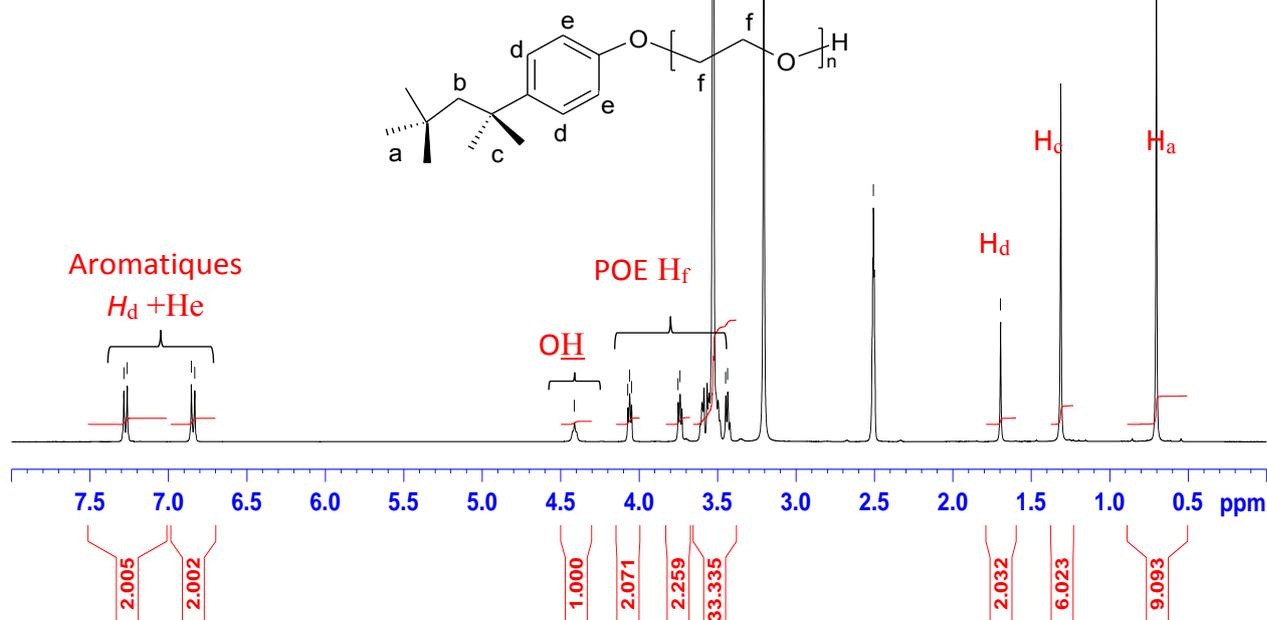


Figure 3 : Spectre ^1H du TRITON X100 (DMSO, 25°C)

La Figure 3 présente l'analyse RMN ^1H du TX100 effectuée dans le DMSO- d_6 à température ambiante.

La structure chimique de ce polymère tensioactif (Schéma 10), présente deux types de groupements terminaux : un groupement hydroxyle à 4.35 ppm qui se présente sous forme d'un triplet avec une constante de couplage ^3J de 8 Hz et un groupement phényle facilement identifiable grâce à un système disubstitué en position para.

Pour calculer la masse du TX100, on détermine d'abord le degré de polymérisation du POE qui est égal à la valeur de l'intégrale du pic correspondant aux deux CH₂ du POE (H_f) divisé par 4. Dans ce cas le nombre de motifs égal à 8.33 nous permet de déduire la valeur de M_n selon la formule :

$$\overline{M}_n = (8.33 \times 44) + M_{EC}$$

M_{EC} : masse molaire des extrémités de chaîne du TX100, cette masse est constituée de 14 atomes de carbone, 22 atomes d'hydrogène et de 2 atomes d'oxygène. (M_{EC} = 222 g.mol⁻¹)

$$\overline{M}_n = 589 (\pm 5 \%) \text{ g.mol}^{-1}$$

(Données industrielles : M_n = 624 g mol⁻¹)

6.3.2 Spectre DOSY

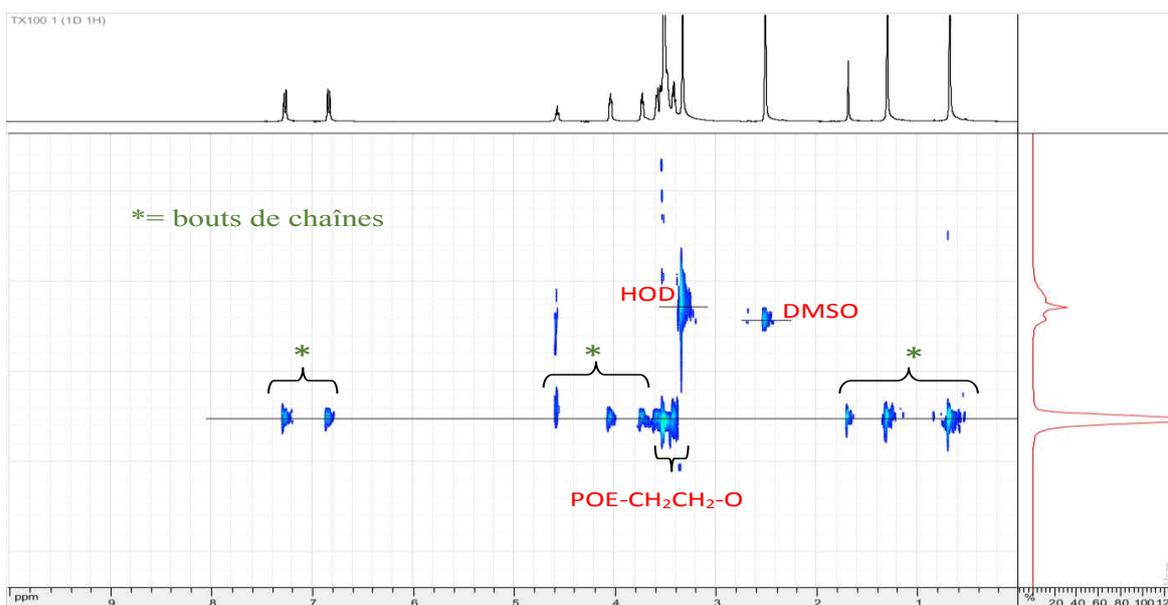


Figure 4 : Analyse DOSY du Triton X-100 (DMSO, 25°C)

La carte DOSY représentée sur la Figure 4 montre que les extrémités de chaînes et le motif répétitifs du POE se trouvent sur la même ligne dans la dimension de diffusion. Ils appartiennent donc à la même entité diffusante (ils possèdent le même coefficient de diffusion). On reviendra plus tard sur la pertinence de la RMN DOSY dans le cas des polymères à architectures complexes.

6.4 Poloxamère

Les *poloxamères* sont des copolymères non-ioniques à trois blocs, possédant typiquement un bloc central « hydrophobe » de polypropylène glycol (aussi appelé poly(oxyde de propylène)) et deux blocs externes hydrophiles de polyéthylène glycol (aussi appelé poly(oxyde d'éthylène)).

Ces copolymères de type poly(oxyde d'éthylène-*b*-oxyde de propylène-*b*-oxyde d'éthylène) ont pour formule générale $H(OCH_2CH_2)_x(OCH(CH_3)CH_2)_y(OCH_2CH_2)_xOH$ ou pour simplifier $(EO)_x(PO)_y(EO)_x$. Les poloxamères sont aussi connus sous les noms commerciaux *Pluronic* (BASF), *Kolliphor* (BASF) et *Synperonic* (Croda International).

La modification de la longueur des blocs du poloxamères permet de moduler légèrement leurs propriétés. On détermine grâce à la RMN du proton la composition monomère des deux blocs constituant les poloxamères (composition molaire et massique) et comme pour les POE, le calcul du degré de polymérisation se fait très facilement à condition d'identifier les bouts de chaîne.

6.4.1 Spectre 1H

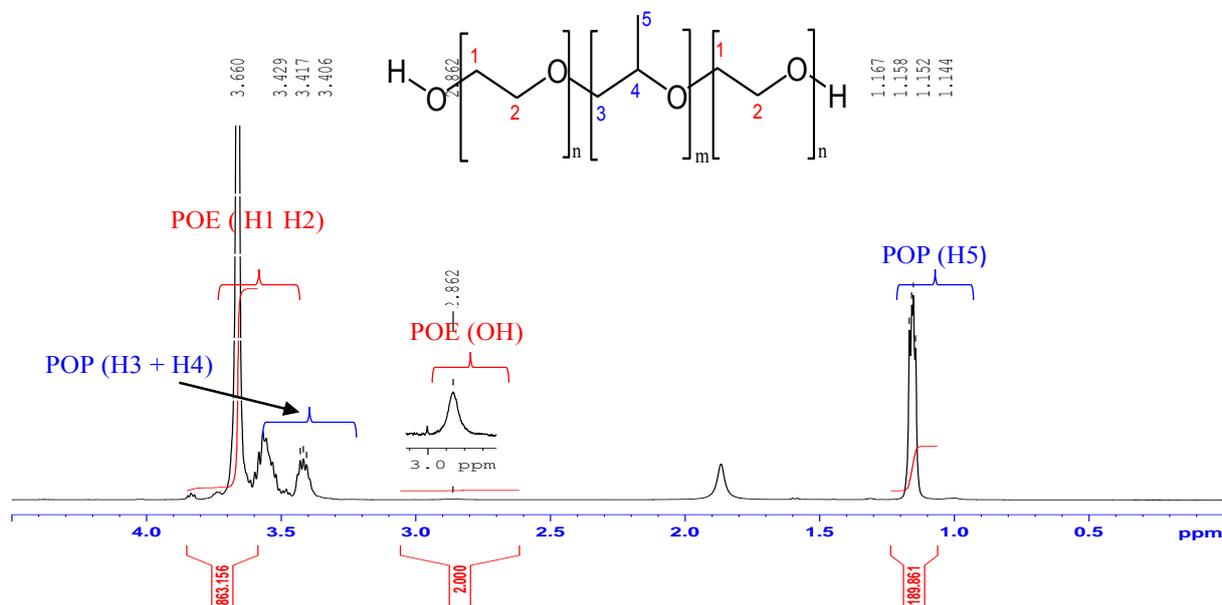


Figure 5 : Spectre 1H du Pluronic F127 ($CDCl_3$, 25°C)

Sur le spectre 1H représenté sur la Figure 5, les deux bouts de chaînes hydroxyle du POE ont été identifiés cette fois-ci à 2.8 ppm (4.35 ppm dans le cas du triton X100) car l'analyse est réalisée dans $CDCl_3$ au lieu du $DMSO-d_6$. Ce changement de solvant a été effectué pour

déplacer le signal à 3.3 ppm de la région spectrale du bloc de POE. Le signal à 3.3 ppm est attribué à la présence d'eau dans le DMSO et dans le polymère.

Le degré de polymérisation (DP) du POE est calculé à partir du pic à 3.65 ppm attribué aux deux CH_2 (H1 et H2) du bloc POE.

$$DP_{POE} = \frac{863.15}{8} = 108$$

La valeur de la masse moyenne en nombre du bloc POE est donnée par la formule :

$$\overline{M}_n = (2 \times 108) \times 44$$

$$\overline{M}_n = 9504 \text{ g.mol}^{-1}$$

Le degré de polymérisation (DP) du POP est calculé à partir du pic à 1.15 ppm correspondant au CH_3 (H5) du bloc POP,

$$DP_{POP} = \frac{189.86}{3} = 63$$

La masse moyenne en nombre du bloc POE :

$$\overline{M}_n = 63 \times 58$$

$$\overline{M}_n = 3654 \text{ g.mol}^{-1}$$

La composition molaire en POE et en POP est déterminée à partir des valeurs de degré de polymérisation (DP_{POE} et DP_{POP}).

$$\% \text{ molaire POE} = \frac{2DP_{POE}}{2DP_{POE} + DP_{POP}} \times 100$$

$$\% \text{ molaire POP} = \frac{DP_{POP}}{2DP_{POE} + DP_{POP}} \times 100$$

Le % massique des deux blocs est calculé à partir du DP_{POE} , du DP_{POP} ainsi que des masses molaires M_{POE} et M_{POP} . (44 g.mol^{-1} pour le POE et 58 g.mol^{-1} pour le POP)

$$\% \text{ massique POE} = \frac{2(DP_{POE} \times 44)}{2(DP_{POE} \times 44) + (58 \times DP_{POP})} \times 100$$

$$\% \text{ massique POP} = \frac{(58 \times DP_{POP})}{2(DP_{POE} \times 44) + (58 \times DP_{POP})} \times 100$$

Pluronic F127				
	DP	M_n (g.mol ⁻¹)	% molaire	% massique
POE	47	9500	67	71 (70)
POP	42	3654 (3600)	23	29

Tableau 1 : M_n et composition en blocs POE et POP du Pluronic F12, les valeurs attendues sont mises entre parenthèse (données industrielles)

Le poloxamère analysé dans cette étude est aussi commercialisé sous le nom de Pluronic F127. Le nom des Pluronics est toujours donné avec un code qui commence avec une lettre correspondant à son état physique à température ambiante (L = liquide, P = pâteux, F = solide), suivie par 2 ou 3 chiffres. Le premier ou les deux premiers chiffres dans les codes à trois chiffres multiplié(s) par 300 donnent la masse molaire approximative du bloc central, et le dernier chiffre multiplié par 10 donne le taux massique de motifs oxyde d'éthylène.

Ainsi dans le cas du Pluronic F127, il s'agit d'un produit solide, la masse molaire du POP est égale à 12 (les deux premiers chiffres) multiplié par 300 (3600 g.mol⁻¹), le taux massique du POE est égal à 7 (dernier chiffre) multiplié par 10 (= 70 %).

Les résultats obtenus par la RMN¹H sont en accord avec ceux donnés par le fabricant (Tableau 1).

L'étude de quatre polymères commerciaux (POE1, POE2, TX100, Pluronic F127) par RMN¹H permet de déterminer avec une bonne précision la valeur de la masse moyenne en nombre M_n ainsi que la composition des blocs dans les architectures comme les triblocs par exemple.

6.5 Synthèse du poly(acrylamide) (PAM)

L'acrylamide a été polymérisé par voie RAFT/MADIX. Le choix de l'agent de transfert est déterminant pour obtenir des polymères d'architecture bien définie. Ainsi, en fonction des groupements présents sur l'agent de transfert, il est possible de polymériser une grande quantité de monomères (acrylamide, acrylate, styrénique...) et d'atteindre par cette voie des masses élevées (M_n de l'ordre de quelques millions).

Dans cette partie, nous nous intéressons à deux échantillons de PAM synthétisés selon deux voies de PRC différentes, notre objectif restant la discrimination de ces deux polymères par caractérisation de leurs extrémités de chaînes.

6.5.1 PAM par RAFT/MADIX

L'agent de transfert utilisé dans cette synthèse est le *O*-éthyle-S-(1-méthoxycarbonyl) éthyle dithiocarbonate, de nom commercial Rhodixan (Schéma 11)

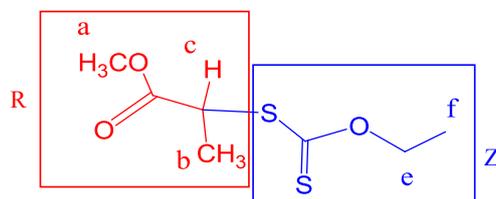


Schéma 11 : Structure du Rhodixan

6.5.1.1 Spectre 1H

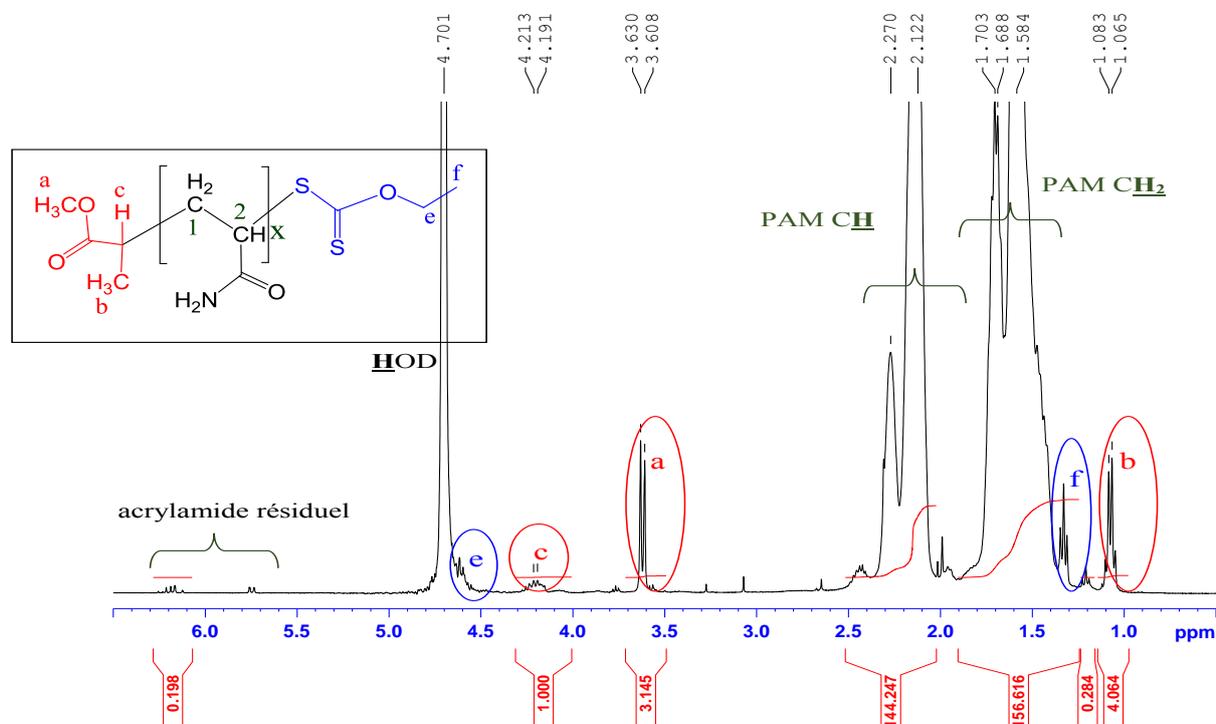


Figure 6 : Spectre 1H du PAM/RAFT (D_2O , $25^\circ C$)

Les analyses RMN 1H ont été réalisées à température ambiante dans D_2O (Figure 6).

Le spectre protonique montre la présence de pics larges correspondant au motif répétitif acrylamide, et des pics bien résolus pouvant être attribués aux groupes R et Z de l'agent RAFT. Les déplacements chimiques sont en accord avec les structures attendues, par contre la multiplicité et la valeur des intégrations sont un peu élevées, ceci pouvant s'expliquer par la présence d'impuretés résiduelles.

L'intégrale de l'aire du pic correspondant au proton Hc ($\delta = 4.2$ ppm) a été calibrée à la valeur

de 1. La surface des pics étant proportionnelle au nombre de protons, l'intégrale de CH₃ b devrait être égale à 3, or cette valeur est de 4. La différence entre les valeurs des intégrations nous permet d'estimer le pourcentage de cette impureté à 25%.

On notera également la présence d'environ 10% d'acrylamide (région des déplacements chimiques entre 5.5 et 6.5 ppm).

6.5.1.2 RMN DOSY

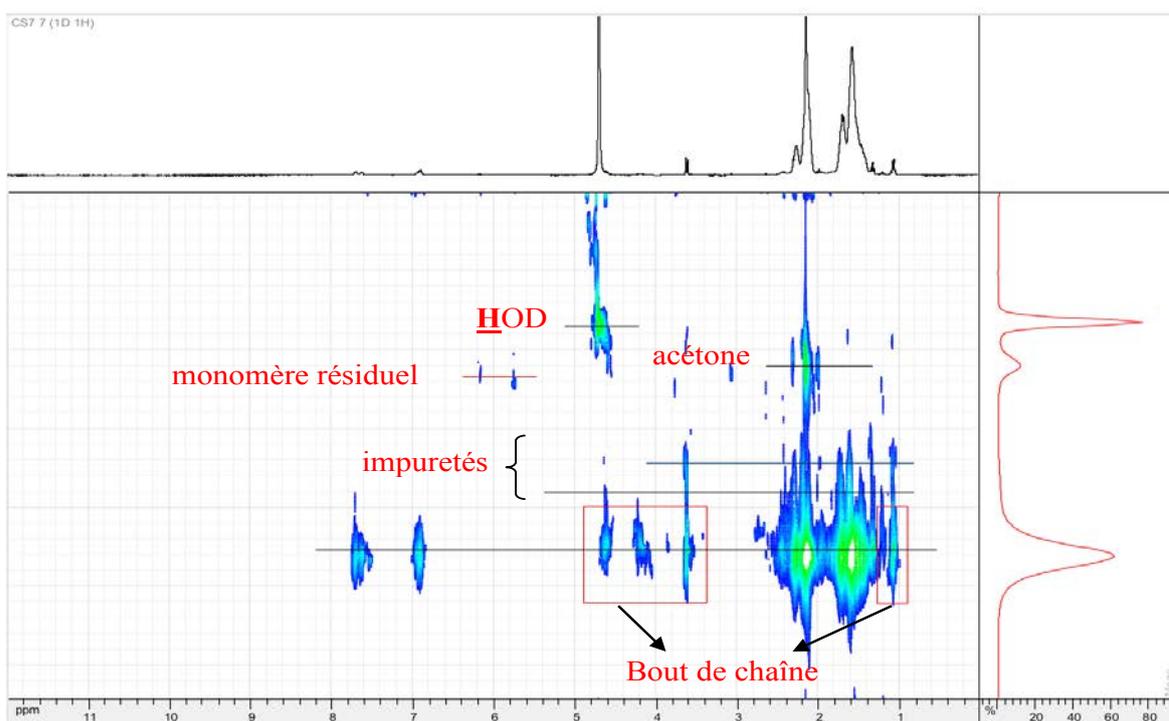


Figure 7 : Analyse DOSY du PAM/RAFT (D₂O, 25°C)

La carte DOSY représentée sur la Figure 7 confirme la fonctionnalisation du poly(acrylamide) par les groupes (R et Z) de l'agent RAFT. En effet le PAM et les extrémités de chaînes apparaissent sur la même ligne dans la dimension de diffusion de la carte DOSY, ce qui signifie qu'ils possèdent le même coefficient de diffusion.

Nous notons également la présence d'impuretés telles que l'acétone et de traces d'acrylamide résiduel. La valeur de la masse moyenne en nombre (M_n) sera estimée à partir du spectre ¹H représenté sur la Figure 6. Pour le calcul, la surface du pic **Hc** ($\delta = 4.2$ ppm) est calibrée à 1, l'intégrale du CH₂ du PAM divisée par 2 donne directement le degré de polymérisation.

Dans ce cas nous obtenons une valeur de DP de 78 qui nous conduit à :

$$\overline{M}_n = (78 \times 71) + M_{EC} = 5750 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$$

M_{EC} étant la masse molaire des extrémités de chaînes, ($\sim 208 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$) et 71 la valeur de la masse molaire de l'acrylamide.

6.5.1.3 RMN ^{13}C

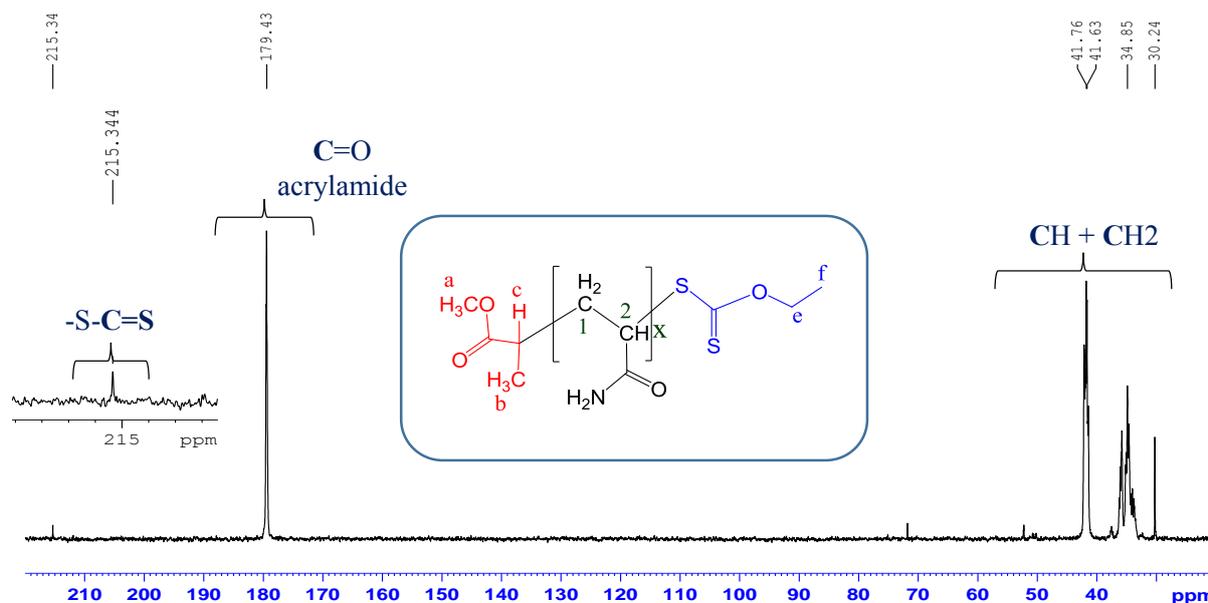


Figure 8 : Spectre ^{13}C du PAM/RAFT (D_2O , 25°C)

Le spectre RMN ^{13}C (Figure 8), apporte deux informations importantes :

- ✓ la présence d'un pic à champ faible (215 ppm), attribué à la fonction C=S de l'agent de transfert.
- ✓ le PAM se trouve sous sa forme acrylamide et non acrylate. En effet, sous certaines conditions (hydrolyse par exemple), les PAM peuvent exister sous deux formes : acrylamide et acrylate²⁵ (Schéma 12)

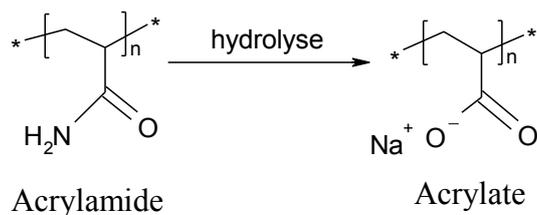


Schéma 12 : Hydrolyse du PAM

L'identification des deux formes ainsi que leur quantification en cas de mélange, se fait par

RMN ^{13}C . En effet le carbonyle de la fonction acrylamide a un déplacement chimique qui se situe aux environs de 179 ppm alors que celui de l'acrylate est légèrement plus déblindé à 184 ppm.

6.5.1.4 RMN 2D HMBC

Les informations apportées par la HMBC (Heteronuclear MultiBond Correlation) en font une séquence quasiment indispensable pour la détermination de structure de polymères.

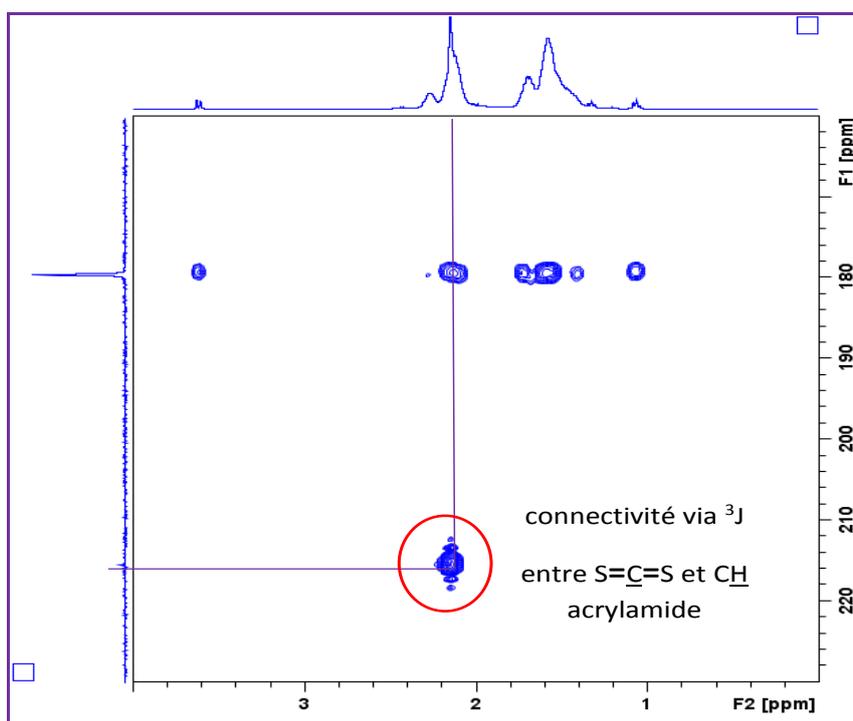


Figure 9 : Spectre HMBC du PAM/RAFT (D_2O , 25°C)

La séquence HMBC représentée sur la Figure 9 permet de corréler les carbones aux protons qui leur sont liés via le couplage $^2\text{J}_{\text{CH}}$ ou $^3\text{J}_{\text{CH}}$. Elle permet ainsi d'établir les connectivités entre les différents groupes CH_n du polymère (y compris pour $n=0$).

La tache de corrélation entre le $\text{C}=\text{S}$ et le CH du dernier motif répétitif acrylamide (Figure 9) apporte la preuve que le groupe Z de l'agent de transfert (Rhodixan) est réellement fixé à l'extrémité de la chaîne du PAM.

6.5.2 PAM/NMP

Le PAM peut être aussi obtenu par polymérisation radicalaire contrôlée par les nitroxydes. Typiquement en NMP l'amorçage de la polymérisation s'effectue au moyen d'une alcoxyamine. En effet, l'homolyse thermique de ce composé conduit à la formation d'un radical R^\bullet transitoire jouant le rôle d'amorçeur, le radical nitroxyde persistant jouant le rôle de contrôleur. En fin de réaction les polymères sont obtenus sous forme de macroalcoxyamines. Ceux-ci peuvent alors être réactivés thermiquement pour amorcer une nouvelle réaction de polymérisation et conduire à l'obtention d'un copolymère à blocs par exemple.

Actuellement, le TEMPO (radical 2,2,6,6-tétraméthylpipéridine-1-oxyle) et le SG1 (radical *N*-tert-butyl-*N*-(1-diéthylphosphoryl-2,2'-diméthylpropyl)aminoxyle), figurent parmi les nitroxydes les plus utilisés. De nombreuses alcoxyamines dérivées du TEMPO et du SG1 ont également été développées, notamment la MAMA-SG1 (acide 2-méthyl-2[*N*-tert-butyl-*N*-(1-diéthylphosphoryl-2,2'-diméthylpropyl)aminoxyle]propanoïque), dont la structure est représentée sur le Schéma 13. Cette alcoxyamine commercialisée par la société ARKEMA sous le nom de BlocBuilder[®], a été utilisée lors de la synthèse par NMP.

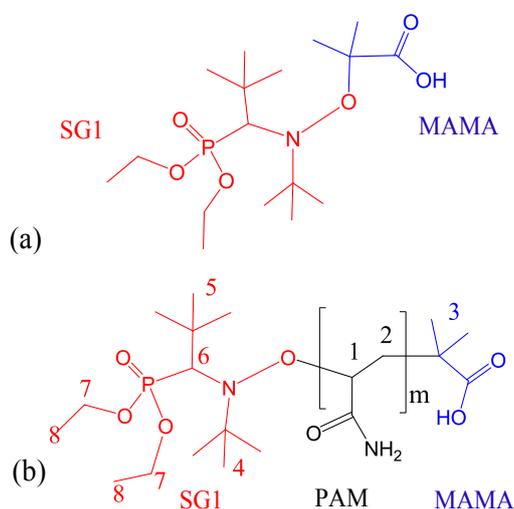


Schéma 13 : Structure de l'alcoxyamine MAMA-SG1 (a) et du SG1-PAM MAMA (b).

6.5.2.1 RMN¹H

Les analyses RMN¹H ont été réalisées dans l'eau lourde à température ambiante. Les attributions sont annotées sur le spectre représenté sur la Figure 10.

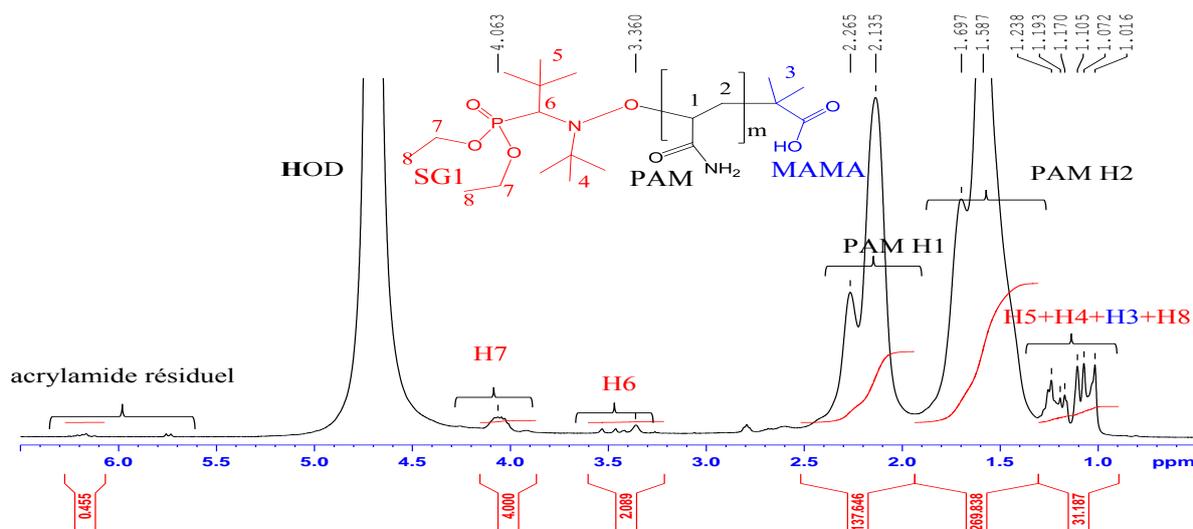


Figure 10 : Spectre ^1H du PAM/NMP (D_2O , 25°C)

Les protons de l'extrémité SG1 sont facilement identifiables. Il n'en est pas de même pour les deux méthyles du groupement MAMA qui résonnent dans la zone des méthyles de SG1 (entre 0.9 et 1.4 ppm). La valeur de Mn est estimée à : $\overline{M}_n = 10100 \text{ g. mol}^{-1}$

6.5.2.2 RMN DOSY

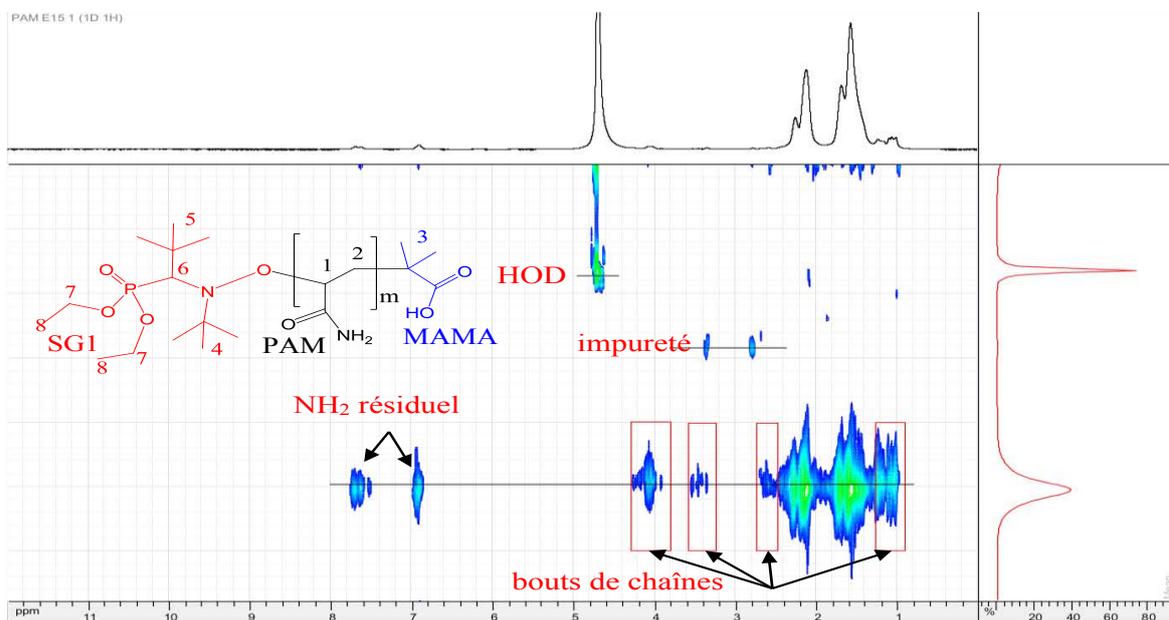


Figure 11 : Analyse DOSY du PAM/NMP (D_2O , 25°C)

La RMN DOSY confirme la fonctionnalisation du PAM par le SG1 et la MAMA. En effet les extrémités de chaînes et le PAM se trouvent sur la même ligne dans la dimension des coefficients de diffusion.

La carte DOSY représentée sur la Figure 11, montre la présence de quelques molécules de petites tailles qui pourraient correspondre à des impuretés.

Les deux pics larges dans la région située entre 6 et 8 ppm correspondent aux protons NH_2 et NHD résiduels car l'échange avec le deutérium (de D_2O) n'est pas total. En effet, les hétéroatomes ont la propriété d'échanger leur protons avec le deutérium en milieu D_2O . Ces «protons échangeables» deviennent indétectables par RMN^1H si l'échange avec le deutérium est total. Il arrive parfois, qu'en fonction de la concentration du produit et/ou de la température, l'échange ne soit pas total (Schéma 14), une partie seulement des protons portés par l'hétéroatome sera alors détectée par la RMN^1H .

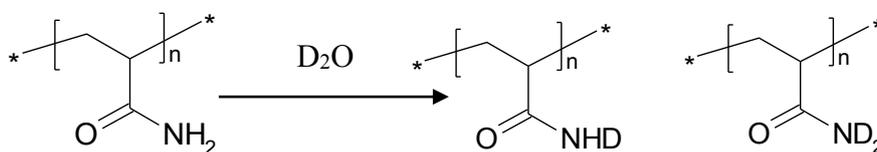


Schéma 14 : Phénomène d'échange en milieu D_2O

6.5.2.3 RMN^{13}C

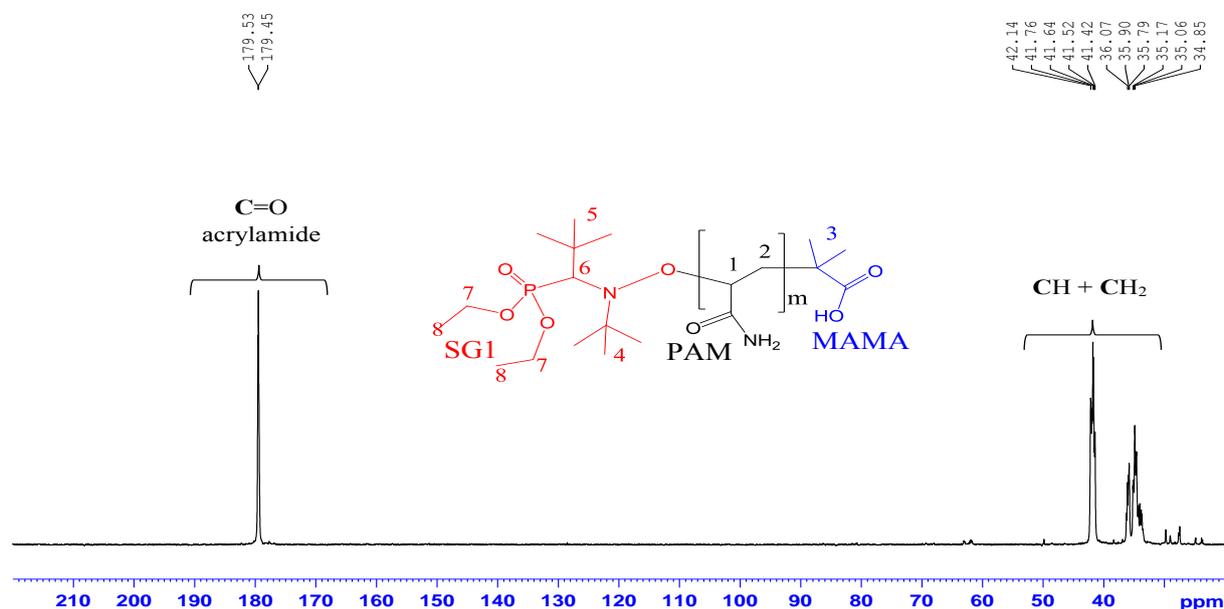


Figure 12 : Spectre ^{13}C du PAM/NMP (D_2O , 25°C)

Un seul carbonyle à 179.4 ppm est détecté (Figure 12), le PAM est donc sous forme acrylamide. Nous rappelons que le carbonyle sous forme acrylate a une valeur déplacement chimique de l'ordre de 184 ppm.

Dans nos conditions d'analyse (appareillage), la fonction acide de la MAMA est indétectable par RMN ^{13}C découplé du proton, ce qui est probablement dû à la faible sensibilité de la RMN ^{13}C .

6.5.2.4 RMN 2D HMBC

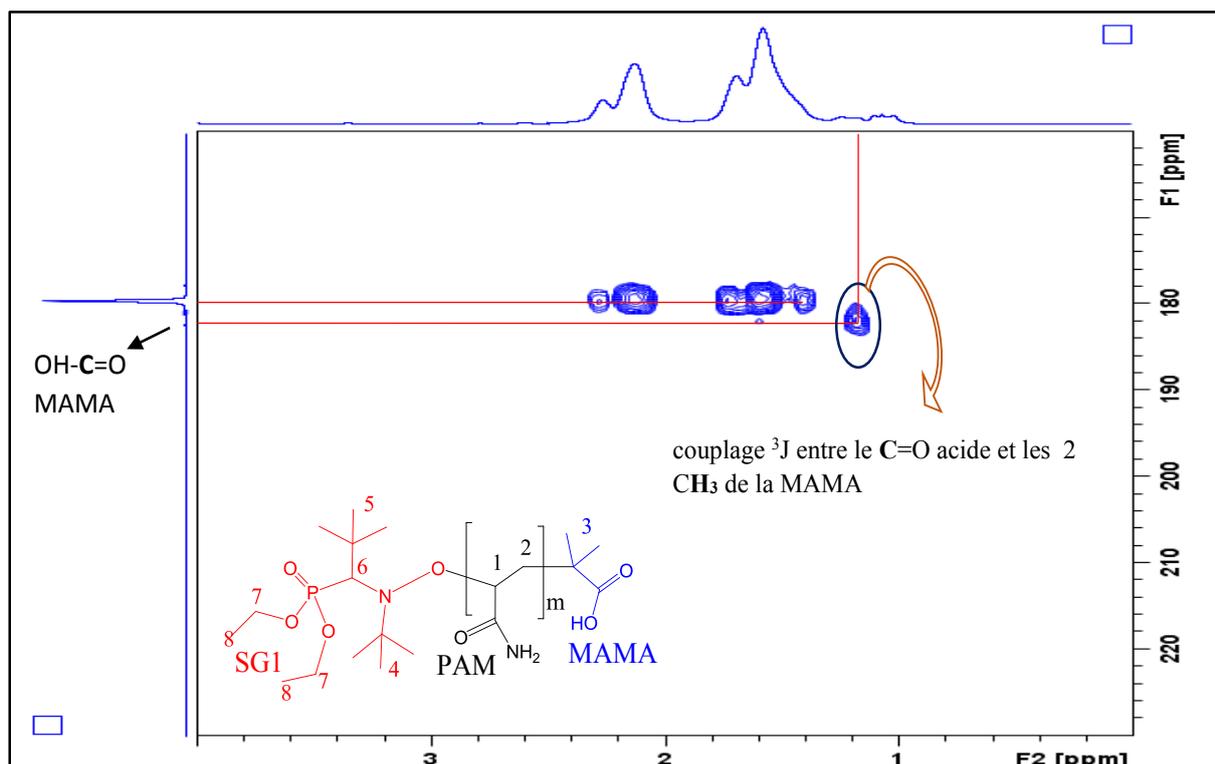


Figure 13 : Spectre HMBC du PAM/NMP (D_2O , 25°C)

Le spectre HMBC représenté sur la Figure 13 montre une tâche de corrélation entre le carbonyle de la fonction carboxylique et les protons méthyle du groupement MAMA. Nous rappelons que la HMBC est une technique basée sur la détection inverse, c'est-à-dire qu'on détecte un noyau peu sensible grâce au(x) protons qui lui sont proches (à 2 et/ou 3 liaisons).

Dans notre cas, la fonction carboxylique de la MAMA est détectée indirectement par les protons des deux méthyles qui lui sont distants à trois liaisons covalentes (couplage scalaire J^3).

La HMBC est une technique puissante qui confirme encore une fois la fonctionnalisation des extrémités de chaîne du PAM.

6.5.2.5 RMN ^{31}P

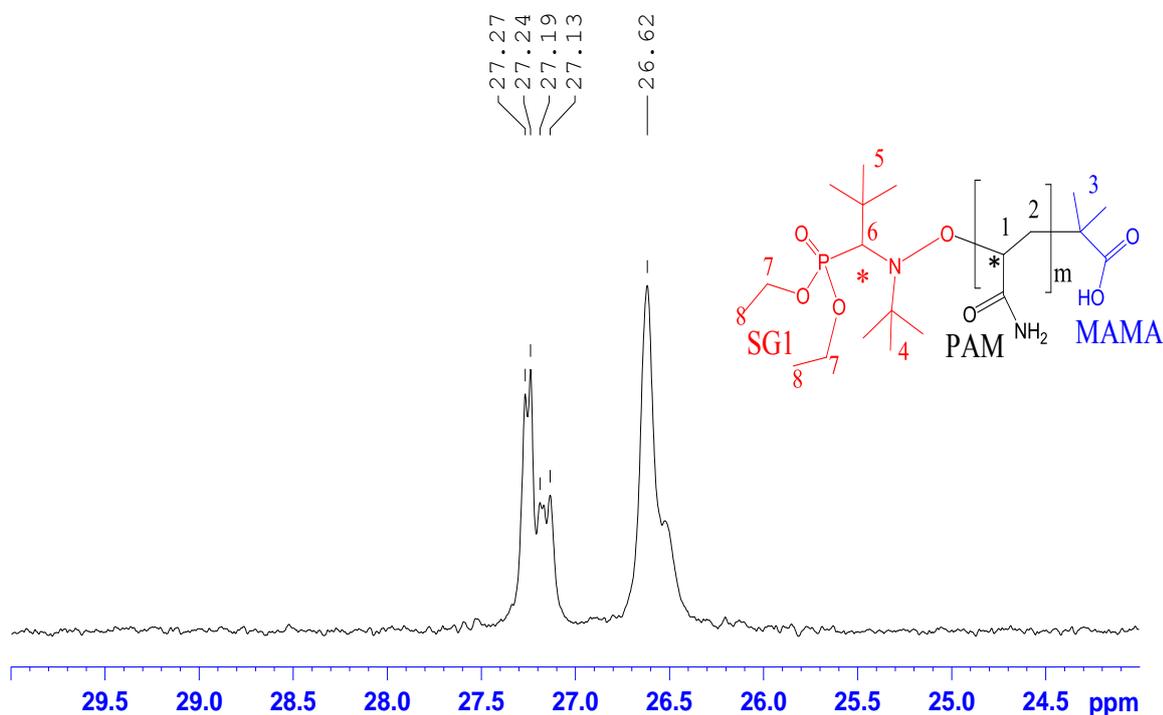


Figure 14 : RMN ^{31}P C du PAM/NMP (D_2O , 25°C)

La RMN du phosphore 31 a été utilisée pour confirmer la présence du SG1 en bout de chaîne du polyacrylamide et par conséquent prouver le caractère vivant du macro-amorceur.

La structure de SG1 ne comporte qu'un seul atome de phosphore, or le spectre RMN ^{31}P représenté sur la Figure 14 montre clairement la présence de deux massifs d'intensités relatives 55/45, centré à 26.6 ppm (55%) et à 27.2 ppm (45%).

La multiplicité des pics est attribuée à l'existence d'un diastéréoisomère dans la structure PAM-SG1 ainsi que par des effets d'unité pénultième et de tacticité.

En résumé :

A travers les quelques exemples d'homopolymères que nous avons étudiés, nous avons pu démontrer que l'étude des extrémités de chaînes par RMN ^1H et ^{31}P associée à des techniques de RMN avancées telles que la HMBC et la DOSY permet de remonter au processus de polymérisation mis en jeu.

Sur la Figure 15, l'agrandissement HMBC montre clairement la différence de microstructure au niveau des extrémités de chaînes des deux polyacrylamides synthétisés par RAFT et NMP.

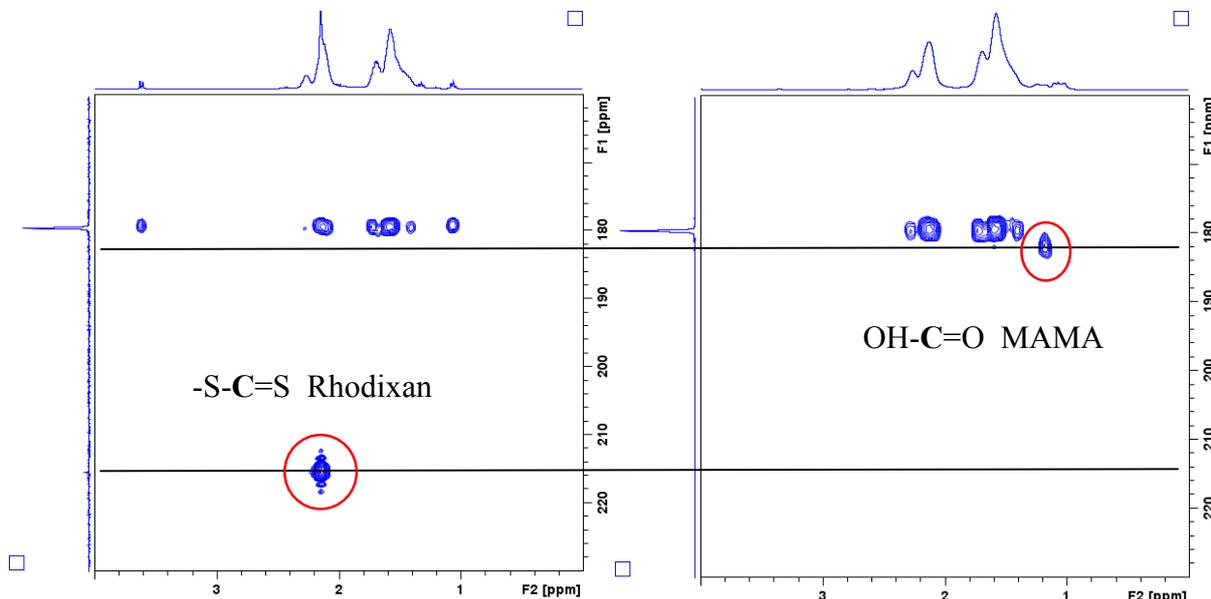


Figure 15 Spectres HMBC du PAM/RAFT et du PAM/NMP

6.6 Cas d'un copolymère poly(AM-*b*-AMPS)

Dans cet exemple, nous nous intéresserons à la caractérisation par RMN d'un copolymère à blocs synthétisé à partir d'un poly(acrylamide) et d'AMPS [poly(2-acrylamido-2-méthyl-1-propanesulfonic acid)] (poly(AM-*b*-AMPS)). La réaction de copolymérisation a été réalisée, comme pour l'exemple précédent, par la technique RAFT/MADIX en choisissant le Rhodixan comme agent de transfert (Schéma 11)

6.6.1 RMN¹H

L'analyse RMN¹H a été réalisée dans D₂O à température ambiante.

Le PAMPS est caractérisé, par un signal large à 3-4 ppm relatif au CH₂SO₃⁻Na⁺, ainsi que par le pic à 1.4 ppm relatifs aux deux groupements méthyle. Le spectre ¹H représenté sur la Figure 16, montre aussi la présence de pics bien résolus (a et b) attribués aux deux extrémités de chaînes du copolymère. Les attributions des déplacements chimiques sont annotées sur le spectre ¹H.

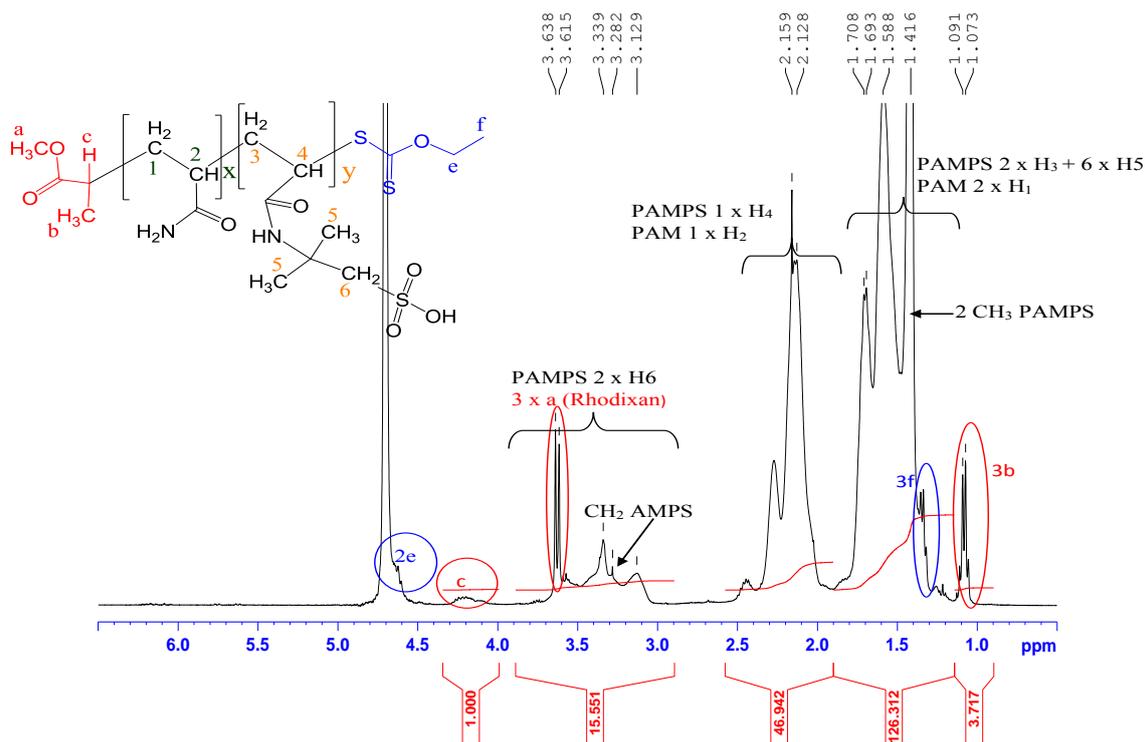


Figure 16 : Spectre ^1H du poly(AM-*b*-AMPS) (D_2O , 25°C)

Pour déterminer la composition en acrylamide et AMPS on procède de la façon suivante :

- le % molaire de l'AMPS est calculé à partir de la valeur de l'intégrale du pic du CH_2SO_3 divisée par 2 après soustraction de la contribution du OCH_3 du Rhodixan (cette valeur sera notée I_1).
- le % molaire de PAM est calculé à partir de la valeur de l'intégrale de CH à 2 -2.5 ppm à laquelle on soustrait la contribution d'un CH AMPS (I_1), la valeur ainsi calculée sera notée I_2

$$\text{AMPS} = \frac{I_1}{I_1 + I_2} \times 100 = \mathbf{13\% \text{ molaire}}$$

$$\text{PAM} = \frac{I_2}{I_1 + I_2} \times 100 = \mathbf{87\% \text{ molaire}}$$

Dans le cas des copolymères, l'analyse quantitative précise est souvent rendue difficile par la présence d'importants recouvrements entre les pics du spectre ^1H . Cette analyse se complique davantage lorsque d'autres composés sont présents dans le mélange (additifs, impuretés...).

La RMN quantitative du carbone-13 pourrait être une alternative, car elle permet une meilleure discrimination des résonances grâce à une gamme de déplacements chimiques plus large que celle en RMN ^1H . Cependant la RMN ^{13}C souffre d'une très faible sensibilité en raison de la faible abondance naturelle du ^{13}C .

6.6.2 RMN ^{13}C

En général, la RMN est extrêmement puissante pour les analyses quantitatives car l'intensité intégrée d'un signal de résonance est directement proportionnelle au nombre de noyaux représentés par ce signal.

Bien qu'utilisée la plupart du temps pour l'analyse structurale, la RMN ^{13}C est de plus en plus considérée comme un outil quantitatif de première importance. Dans une étude récente²⁰ l'analyse quantitative du carbone-13 a été employée pour déterminer la composition de mélanges complexes (diastéréoisomères, peptides, sucres) et également pour quantifier les extrémités de chaînes de polymères de faible masse.

L'effet NOE devra être pris en considération au cours de l'analyse quantitative par RMN ^{13}C . C'est la conséquence de la relaxation mutuelle entre noyaux ^1H et ^{13}C par interaction directe de leurs moments magnétiques. L'effet NOE peut être supprimé en utilisant la technique "gated decoupling" schématisée ci-dessous :

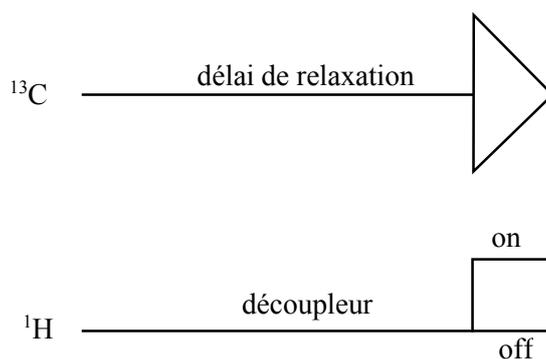


Schéma 15 : Séquence « gated-decoupling »

Dans la séquence envisagée, le découpleur est donc branché pendant la période d'une durée approximative d'une seconde correspondant au temps d'acquisition de la FID (Free Induction Decay) et débranché pendant l'intervalle de temps nécessaire au retour à l'équilibre de la magnétisation. L'effet découplage est instantané alors que l'effet NOE nécessite une durée de l'ordre de grandeur de T_1 pour s'établir.

Concernant le copolymère poly(MA-*b*-AMPS), la composition en acrylamide et AMPS a été déterminée par RMN ^{13}C en faisant le rapport de l'intégrale des pics carbonyle.

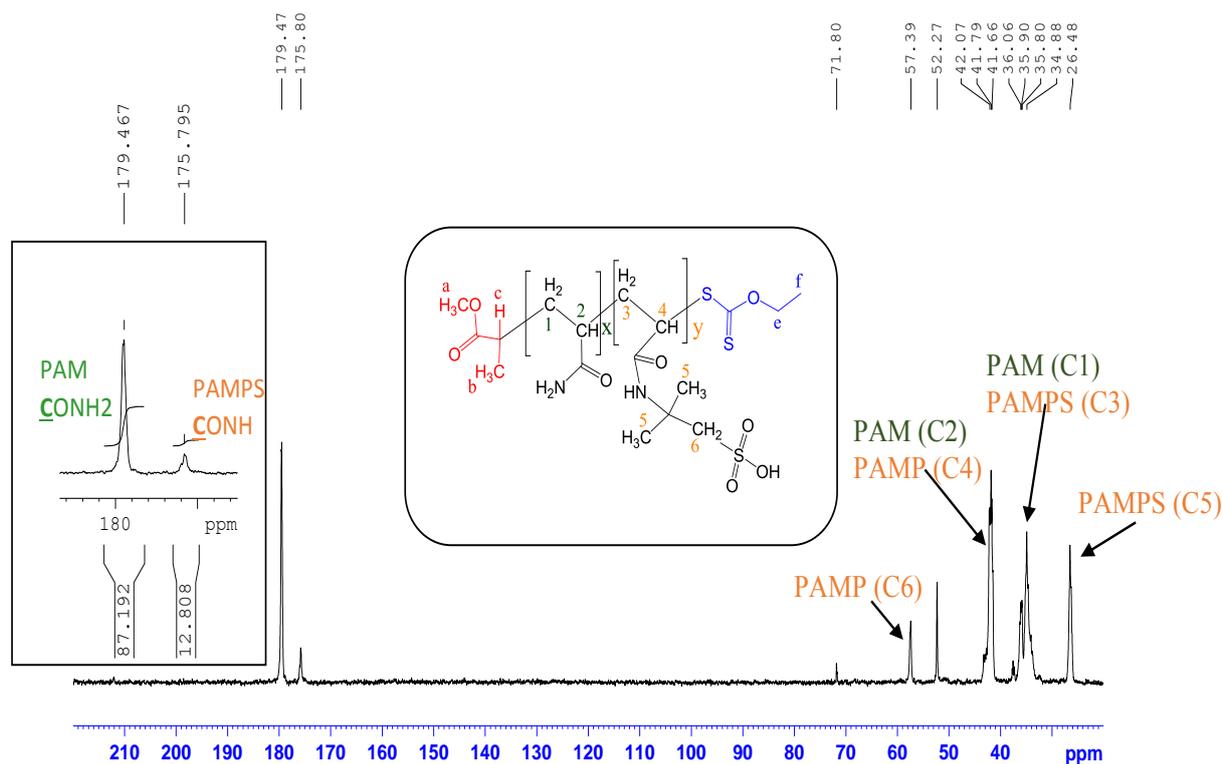


Figure 17 : Spectre ^{13}C de poly(AM-*b*-AMPS) (D_2O , 25°C)

Le spectre ^{13}C enregistré avec un découplage total des protons (Figure 17), montre l'absence de chevauchement des pics. Il est donc possible de déterminer la composition avec une bonne justesse et une bonne précision :

$$\%AMPS = 13 \text{ \% molaire}$$

$$\%PAM = 87 \text{ \% molaire}$$

Sans faire de soustraction (cas du spectre ^1H), nous obtenons, la même composition que celle calculée par RMN ^1H (paragraphe 6.6.1).

L'absence de signal à 184 ppm nous permet d'exclure toute forme acrylate du PAM.

6.6.3 RMN HMBC

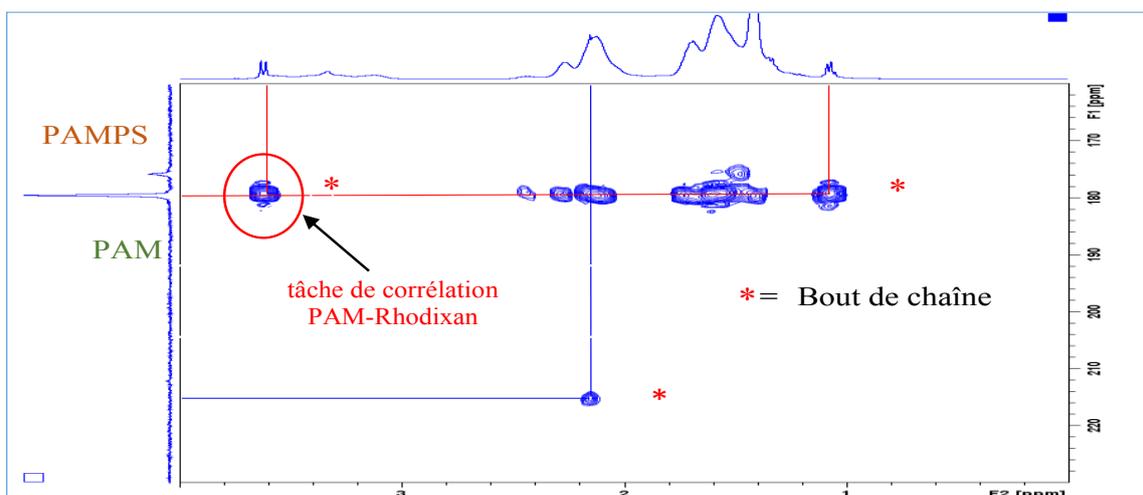


Figure 18 : Spectre HMBC du copolymère poly(AM-*b*-AMPS) (D₂O, 25)

Le spectre HMBC représenté sur la Figure 18, montre que le groupe R de l'agent de transfert (Rhodixan) est fixé à l'extrémité de la chaîne du copolymère. D'après la tache de corrélation PAM-Rhodixan (179.5/3.6 ppm), il semblerait que le groupe R soit plutôt fixé à l'extrémité PAM que du PAMPS.

6.6.4 RMN DOSY

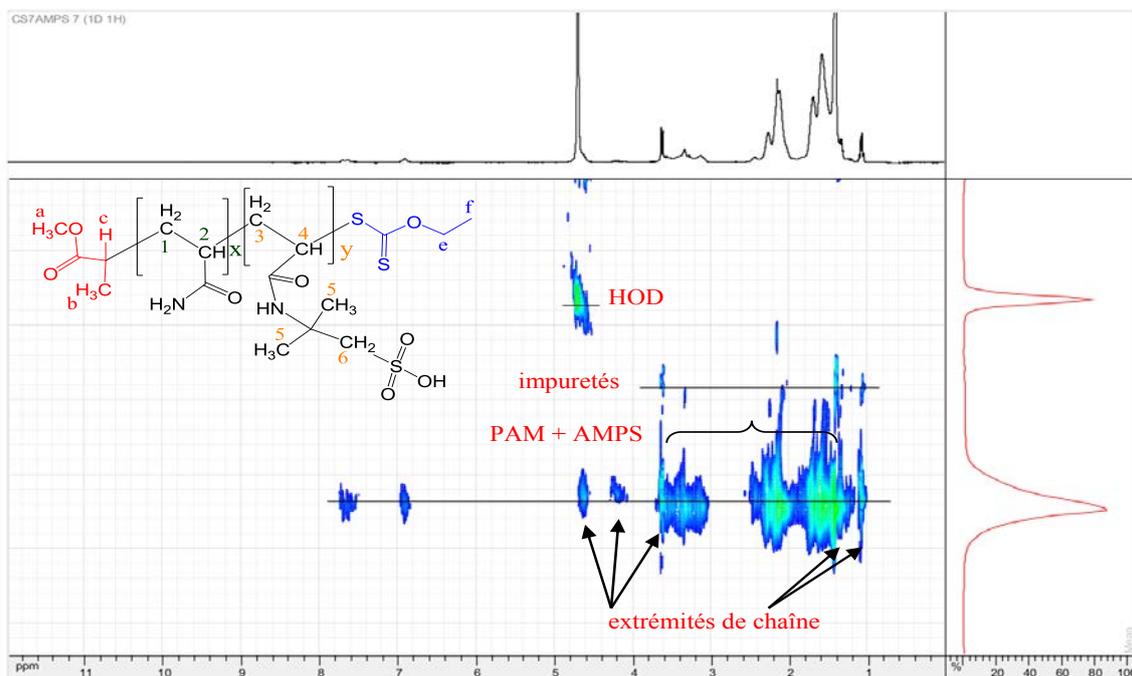


Figure 19: Spectre DOSY du copolymère poly(AM-*b*-AMPS) synthétisé par RAFT / MADIX (D₂O, 25°C)

La RMN DOSY présentée sur la Figure 19 montre clairement que l'acrylamide, l'AMPS et les deux groupes de l'agent de transfert (R et Z) se trouvent sur la même ligne dans la dimension de diffusion. Les extrémités de chaîne du copolymère PAM-*b*-PAMPS sont effectivement fonctionnalisées par les groupes R et Z du Rhodixan. La présence de d'espèces de petite taille ($D = 400 \mu\text{m}^2/\text{s}$), est attribuée à la présence d'impuretés (traces de solvants).

En résumé :

*Comme dans le cas des homopolymères, la RMN 1D, 2D et DOSY s'avèrent indispensables pour la caractérisation des bouts de chaînes des copolymères, nous avons pu ainsi montrer dans le cas du copolymère poly(AM-*b*-AMPS) que :*

- *l'acrylamide et l'AMPS appartiennent à la même entité diffusante (copolymère), puisqu'ils se trouvent sur la même ligne qui apparaît au même coefficient de diffusion (Figure 19),*
- *le groupe R est fixé à l'extrémité du bloc PAM, tandis que Z est plutôt du côté PAMPS,*
- *la RMN ¹³C quantitative, a donné des résultats en accord avec la RMN ¹H (Figure 17).*

6.7 Poly (3-hexylthiophène) (P3HT)

Les poly(3-hexylthiophène) (P3HT) sont des polymères semi-conducteurs donneurs d'électrons structurellement apparentés aux poly(thiophènes). Ils sont activement étudiés dans le cadre de la conception de diodes électroluminescentes organiques^{26,27} et de cellules photovoltaïques en polymères, notamment avec le PCBM ([6,6]-phényl-C₆₁-butanoate de méthyle) comme accepteur d'électrons²⁸.

Dans cette partie, nous caractériserons la microstructure de deux polymères P3HT modifiés par un groupement allylique et styrénique en bout de chaînes.

6.7.1 P3HT modifié par un groupement allylique

6.7.1.1 RMN¹H

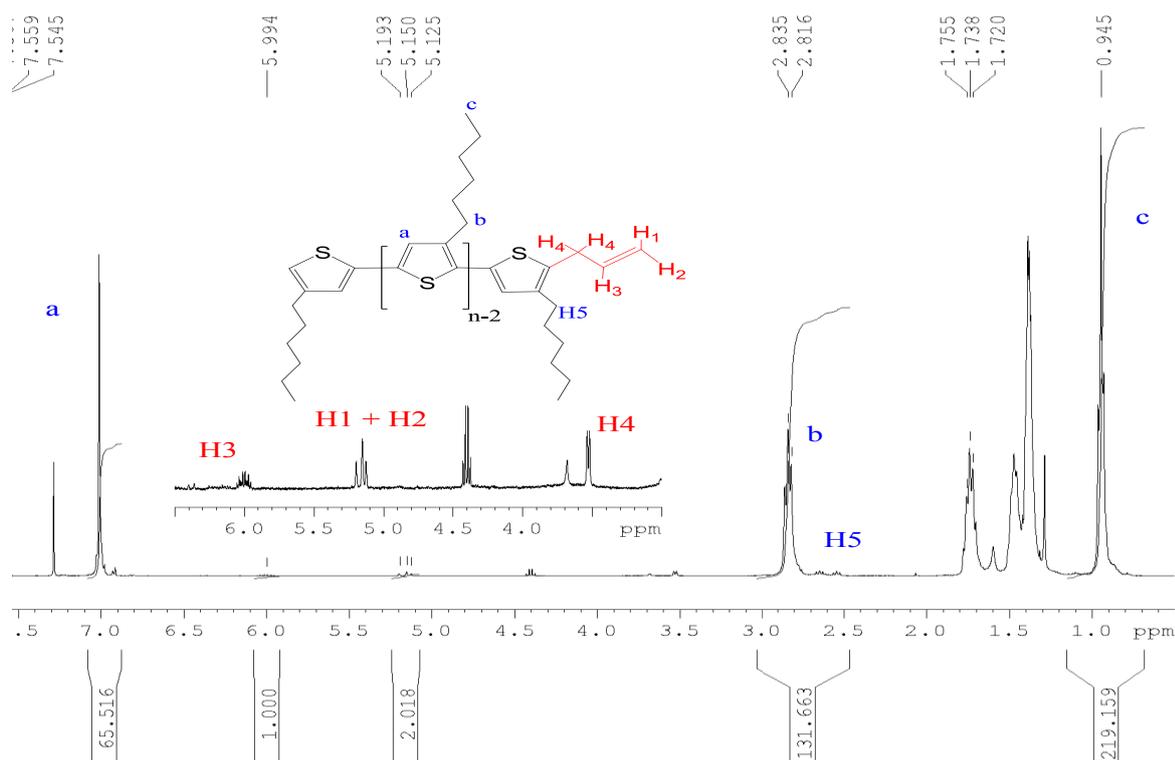


Figure 20 : Spectre ¹H de P3HT fonctionnalisé par un groupement allyle (CDCl₃, à 25°C)

Le P3HT a été solubilisé dans CDCl₃ et analysé par RMN¹H à température ambiante. Le spectre ainsi obtenu est représenté sur la Figure 20.

Les signaux correspondant à la fonction allyle H1, H2, H3 et H4 sont identifiés dans la zone de résonance située entre 3.5 et 6 ppm.

Cette caractérisation s'est faite à partir de la valeur des déplacements chimiques et des constantes de couplage. Ces attributions sont regroupées dans le Tableau 2.

	H1	H2	H3	H4	H5
δ ^1H (ppm)	5.17	5.13	6	3.5	2.5-2.6
^3J (Hz)	18 (d, J_{trans})	11 (d, J_{cis})	m	6 (d)	8 (t)

Tableau 2 : Attribution des déplacements chimiques des signaux du groupement allyle,

6.7.1.2 RMN DOSY

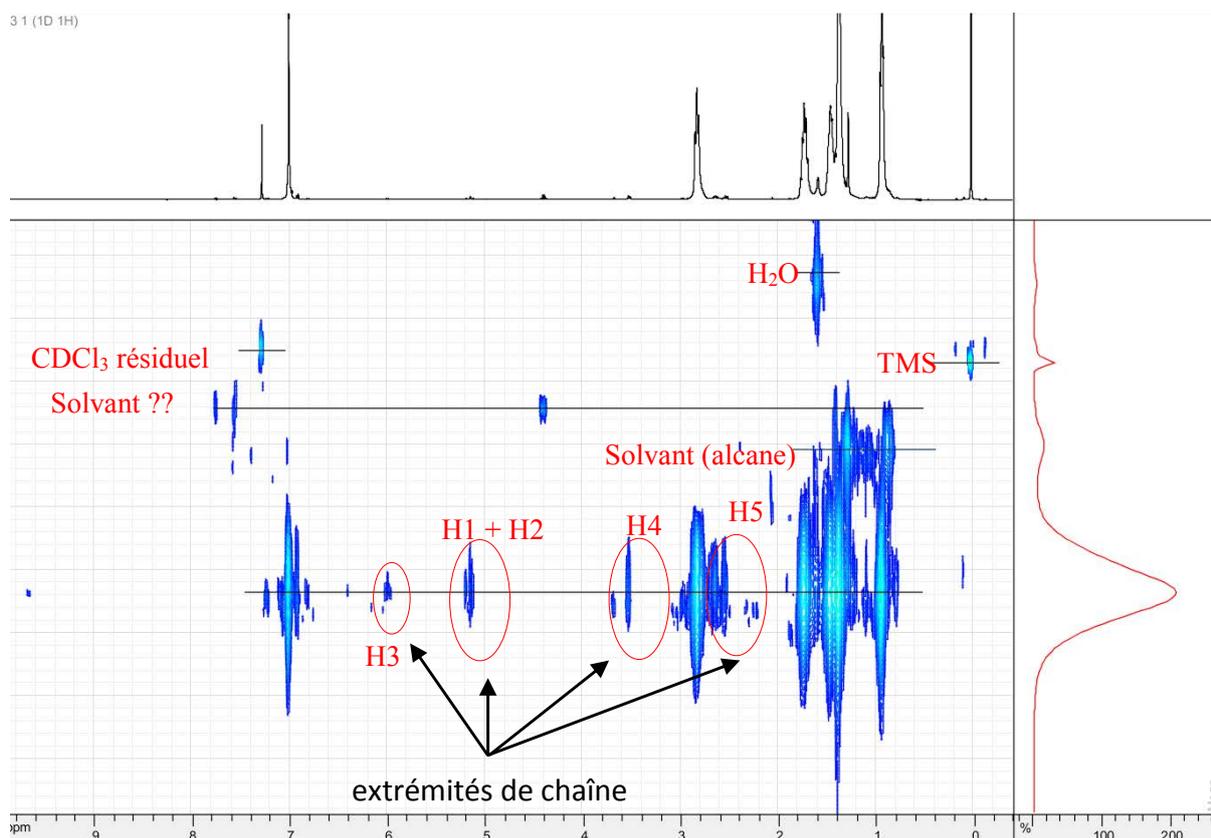


Figure 21 : Spectre DOSY du P3HT fonctionnalisé par un groupement allyle (CDCl_3 , 25°C)

Pour confirmer la fonctionnalisation des chaînes P3HT par le groupement allyle, une RMN DOSY (Figure 21) a été réalisée. La carte obtenue nous a permis ainsi de séparer virtuellement les composés de l'échantillon selon leur coefficient de diffusion. On notera donc la présence de

quelques impuretés qui pourraient correspondre à des molécules de faibles masses (solvants par exemple). L'information importante reste la preuve que le P3HT est bien fonctionnalisé en bouts de chaînes par la fonction allyle. En effet, le P3HT et les extrémités de chaînes se présentent sur la même ligne dans la dimension des coefficients de diffusion, ils appartiennent donc à la même entité diffusante (ils ont le même coefficient de diffusion).

Le degré de polymérisation peut être calculé à partir du spectre ^1H représenté sur la Figure 20.

$$DP = 66$$

$$\overline{Mn} = 10100 \text{ g.mol}^{-1}$$

6.7.2 P3HT modifié par un groupement styrénique

6.7.2.1 RMN ^1H

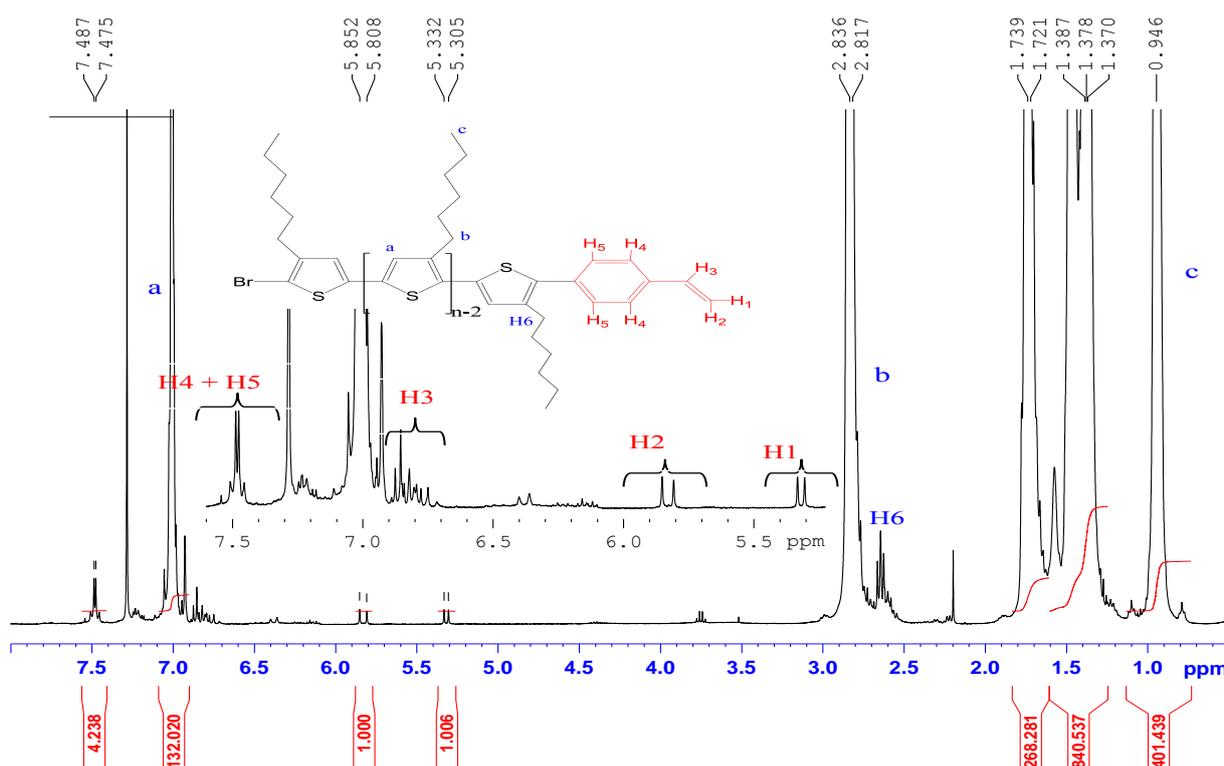


Figure 22 : Spectre ^1H de P3HT fonctionnalisé par un groupement styrène (CDCl_3 , 25°C)

La RMN ^1H dans CDCl_3 à 25°C (Figure 22) indique que la structure obtenue correspond bien au polymère P3HT modifié en bout de chaîne par un groupement styrène. Les attributions sont rapportées dans le tableau suivant :

	H1	H2	H3	H4 + H5	H6
δ ^1H (ppm)	5.13	5.8	6.8	7.48	2.6
^3J (Hz)	11(d, J_{tcis})	18 (d, J_{trans})	11, 18 (dd, $J_{\text{cis}} + J_{\text{trans}}$)	8.5 (dd)	7.5 (t)

Tableau 3 : Attribution des déplacements chimiques des signaux du groupement styrène.

A 7.4 ppm, nous noterons la présence du massif correspondant au noyau aromatique disubstitué en para par le groupement vinyle (système AB avec effet de toit) dont l'identification se fait facilement par la valeur des constantes de couplage en ^3J ($J^3_{\text{trans}} > J^3_{\text{cis}}$).

6.7.2.2 RMN DOSY

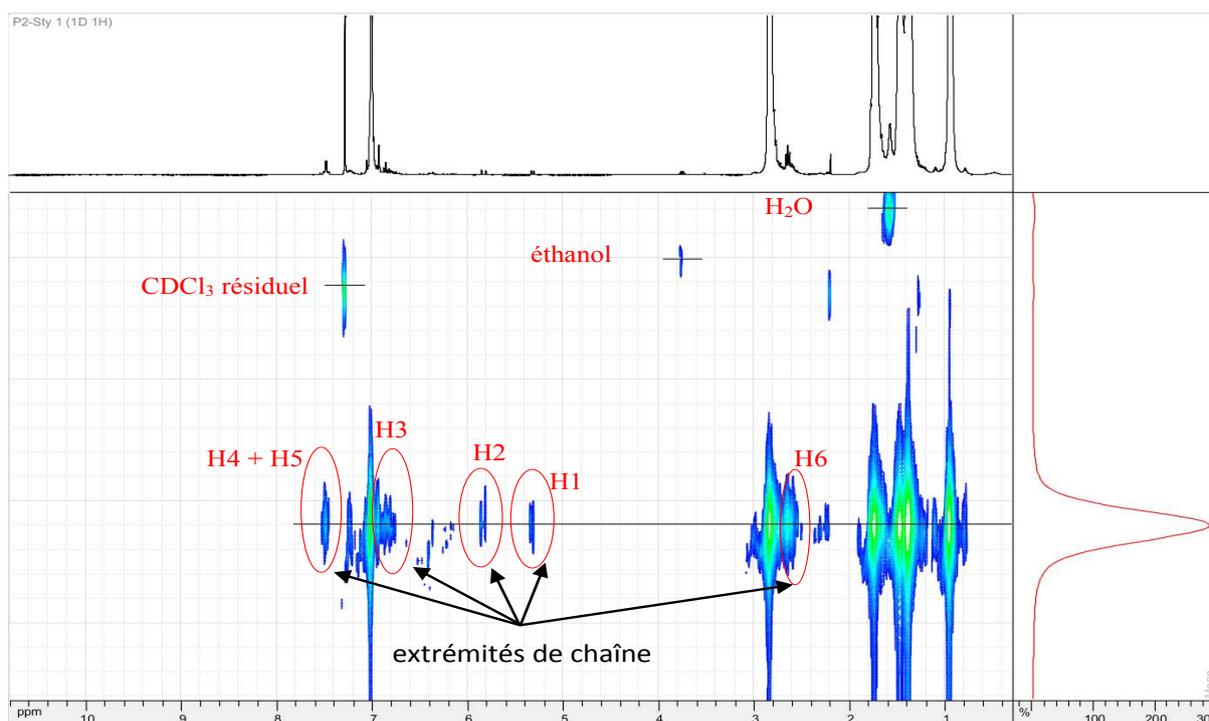


Figure 23 : Spectre DOSY de P3HT fonctionnalisé par un groupement styrène (CDCl_3 , 25°C)

La carte DOSY (Figure 23) montre que le groupement styrène et l'unité répétitive P3HT se trouvent sur la même ligne dans la dimension de diffusion, il s'agit donc bien, d'un P3HT fonctionnalisé en bout de chaîne. Elle montre également la présence de traces de solvants (acétone, éthanol) qui n'interviennent pas dans le calcul de la valeur de M_n de P3HT.

$$DP = 132$$

$$\overline{Mn} = 20000 \text{ gmol}^{-1}$$

7. Conclusion

A travers les différents polymères étudiés, nous avons mis en évidence l'importance de la technique de résonance magnétique nucléaire dans l'étude de la structure primaire des matériaux polymères de faible masse (inférieure à 20 kDa). En effet nous avons clairement démontré que l'association de séquences RMN dites « classiques » (^1H , ^{13}C , ^{31}P) à des techniques de RMN avancée (DOSY et RMN 2D HMBC) permet de :

- *démontrer la fonctionnalisation des extrémités de chaînes des polymères.*
- *déterminer la valeur de la masse molaire moyenne en nombre.*
- *déterminer la nature et la composition des blocs constituant un copolymère.*

Le résultat majeur de notre étude dans ce chapitre est le lien possible entre les extrémités des chaînes de polymères et la voie de polymérisation. En effet, nous avons pu montrer que la connaissance des extrémités de chaîne par des techniques de RMN avancées telles que la HMBC et la RMN diffusionnelle, apporte des informations fondamentales sur le processus de polymérisation utilisé, surtout en polymérisation radicalaire contrôlée. Cependant, l'analyse des groupements terminaux par RMN s'avère limitée à des polymères de faible masse²⁹.

- (1) Szwarc, M. "Living" Polymers. *Nature* **1956**, *178*, 1168–1169.
- (2) Szwarc, M.; Levy, M.; Milkovich, R. Polymerization initiated by electron transfer to monomer. A new method of formation of block polymers. *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, *78*, 2656–2657.
- (3) Szwarc, M. *Ions and Ion Pairs in Organic Reactions*; Volume 1 edition.; Wiley: New York, 1972.
- (4) Braunecker, W. A.; Matyjaszewski, K. Controlled/living radical polymerization: Features, developments, and perspectives. *Prog. Polym. Sci.* **2007**, *32*, 93–146.
- (5) Greszta, D.; Mardare, D.; Matyjaszewski, K. "Living" radical polymerization. 1. Possibilities and limitations. *Macromolecules* **1994**, *27*, 638–644.
- (6) Moad, G.; Rizzardo, E.; Solomon, D. H. Selectivity of the reaction of free radicals with styrene. *Macromolecules* **1982**, *15*, 909–914.
- (7) Benoit, D.; Grimaldi, S.; Robin, S.; Finet, J.-P.; Tordo, P.; Gnanou, Y. Kinetics and Mechanism of Controlled Free-Radical Polymerization of Styrene and n-Butyl Acrylate in the Presence of an Acyclic β -Phosphonylated Nitroxide \ddagger . *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 5929–5939.
- (8) Chauvin, F.; Dufils, P.-E.; Gigmes, D.; Guillaenuef, Y.; Marque, S. R. A.; Tordo, P.; Bertin, D. Nitroxide-Mediated Polymerization: The Pivotal Role of the k_d Value of the Initiating Alkoxyamine and the Importance of the Experimental Conditions. *Macromolecules* **2006**, *39*, 5238–5250.
- (9) Nicolas, J.; Dire, C.; Mueller, L.; Belleney, J.; Charleux, B.; Marque, S. R. A.; Bertin, D.; Magnet, S.; Couvreur, L. Living Character of Polymer Chains Prepared via Nitroxide-Mediated Controlled Free-Radical Polymerization of Methyl Methacrylate in the Presence of a Small Amount of Styrene at Low Temperature. *Macromolecules* **2006**, *39*, 8274–8282.
- (10) Chiefari, J.; Chong, Y. K. (Bill); Ercole, F.; Krstina, J.; Jeffery, J.; Le, T. P. T.; Mayadunne, R. T. A.; Meijs, G. F.; Moad, C. L.; Moad, G.; et al. Living Free-Radical Polymerization by Reversible Addition–Fragmentation Chain Transfer: The RAFT Process. *Macromolecules* **1998**, *31*, 5559–5562.
- (11) Postma, A.; Davis, T. P.; Moad, G.; O'Shea, M. S. Thermolysis of RAFT-Synthesized Polymers. A Convenient Method for Trithiocarbonate Group Elimination. *Macromolecules* **2005**, *38*, 5371–5374.

- (12) Kato, M.; Kamigaito, M.; Sawamoto, M.; Higashimura, T. Polymerization of Methyl Methacrylate with the Carbon Tetrachloride/Dichlorotris-(triphenylphosphine)ruthenium(II)/Methylaluminum Bis(2,6-di-tert-butylphenoxide) Initiating System: Possibility of Living Radical Polymerization. *Macromolecules* **1995**, *28*, 1721–1723.
- (13) Wang, J.-S.; Matyjaszewski, K. Controlled/“living” radical polymerization. atom transfer radical polymerization in the presence of transition-metal complexes. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 5614–5615.
- (14) Matyjaszewski, K.; Ziegler, M. J.; Arehart, S. V.; Greszta, D.; Pakula, T. Gradient copolymers by atom transfer radical copolymerization. *J. Phys. Org. Chem.* **2000**, *13*, 775–786.
- (15) Bloch, F.; Hansen, W. W.; Packard, M. The Nuclear Induction Experiment. *Phys. Rev.* **1946**, *70*, 474–485.
- (16) Tenailleau, E. J.; Lancelin, P.; Robins, R. J.; Akoka, S. Authentication of the Origin of Vanillin Using Quantitative Natural Abundance ¹³C NMR. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 7782–7787.
- (17) Caytan, E.; Remaud, G. S.; Tenailleau, E.; Akoka, S. Precise and accurate quantitative ¹³C NMR with reduced experimental time. *Talanta* **2007**, *71*, 1016–1021.
- (18) Kwakye, J. K. Use of nmr for quantitative analysis of pharmaceuticals. *Talanta* **1985**, *32*, 1069–1071.
- (19) Holzgrabe, U.; Deubner, R.; Schollmayer, C.; Waibel, B. Quantitative NMR spectroscopy—Applications in drug analysis. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2005**, *38*, 806–812.
- (20) Otte, D. A. L.; Borchmann, D. E.; Lin, C.; Weck, M.; Woerpel, K. A. ¹³C NMR spectroscopy for the quantitative determination of compound ratios and polymer end groups. *Org. Lett.* **2014**, *16*, 1566–1569.
- (21) Randall, J. C. A Review of High Resolution Liquid ¹³carbon Nuclear Magnetic Resonance Characterizations of Ethylene-Based Polymers. *J. Macromol. Sci. Part C Polym. Rev.* **1989**, *29*, 201–317.
- (22) Hatada, K.; Kitayama, T. *NMR Spectroscopy of Polymers*; Springer Science & Business Media, 2004.
- (23) Tonelli, A. E. *NMR Spectroscopy and Polymer Microstructure: The Conformational Connection*; 1 edition.; Wiley-VCH, 1989.

- (24) Carothers, W.; Dorough, G. Additions and Corrections - Studies on Polymerization and Ring Formation. IV. Ethylene Succinates. *J. Am. Chem. Soc.* **1930**, *52*, 5307–5307.
- (25) Feng, Y.; Grassl, B.; Billon, L.; Khoukh, A.; François, J. Effects of NaCl on steady rheological behaviour in aqueous solutions of hydrophobically modified polyacrylamide and its partially hydrolyzed analogues prepared by post-modification. *Polym. Int.* **2002**, *51*, 939–947.
- (26) Valadares, M.; Silvestre, I.; Calado, H. D. R.; Neves, B. R. A.; Guimarães, P. S. S.; Cury, L. A. BEHP-PPV and P3HT blends for light emitting devices. *Mater. Sci. Eng. C* **2009**, *29*, 571–574.
- (27) Ouhib, F.; Khoukh, A.; Ledeuil, J.-B.; Martinez, H.; Desbrières, J.; Dagron-Lartigau, C. Diblock and random Donor/Acceptor “Double Cable” polythiophene copolymers via the GRIM method. *Macromolecules* **2008**, *41*, 9736–9743.
- (28) Hiorns, R. C.; Iratçabal, P.; Bégué, D.; Khoukh, A.; De Bettignies, R.; Leroy, J.; Firon, M.; Sentein, C.; Martinez, H.; Preud’Homme, H.; et al. Alternatively linking fullerene and conjugated polymers. *J. Polym. Sci. Part Polym. Chem.* **2009**, *47*, 2304–2317.
- (29) Bozanko, A.; Carswell, W.; Hutchings, L.; Richards, R. Synthesis of alpha,omega-macrozwitterionic polymers. End group analysis by SEC. *Polymer* **2000**, *41*, 8175–8182.

Chapitre III : **Architecture dibloc-tribloc**

Sommaire

1. Etude par RMN 1D et 2D d'architectures de type diblocs et triblocs	135
1.1 Analyses par RMN ^1H , ^{13}C et HSQC	137
1.1.1 Dibloc poly(MMA- <i>b</i> -BA)	137
1.1.2 Tribloc poly(MMA- <i>b</i> -BA- <i>b</i> -MMA).....	140
1.2 Analyse par RMN HMBC	141
1.2.1 Spectre HMBC du dibloc poly(MMA- <i>b</i> -BA).	142
1.2.2 Spectre HMBC du tribloc poly(MMA- <i>b</i> -BA- <i>b</i> -MMA).	143
1.2.3 Mélange de dibloc/tribloc avec un rapport de 50/50	143
1.2.4 Cas du copolymère à bloc à base de (MMA-DMA) et BA	144
1.2.5 Analyses HMBC du dibloc et tribloc	148
2. Etude par RMN DOSY de quelques architectures dibloc et tribloc	150
2.1 Mélange de deux homopolymères : PMMA et PBA	151
2.1.1 Carte DOSY	151
2.1.2 Courbe de Stejskal-Tanner	152
2.2 Analyse du tribloc poly(MMA- <i>b</i> -BA- <i>b</i> -MMA).....	154
3. Mise en évidence des réactions secondaires en PRC par les nitroxydes	155
3.1 Quelques rappels bibliographiques.....	155
3.2 Etude par RMN ^1H de copolymères di et triblocs	157
3.3 Etude par RMN DOSY de copolymères di et triblocs.....	158
3.4 Analyse du tribloc poly(MMA- <i>b</i> -BA- <i>b</i> -MMA) synthétisé par voie anionique	159
3.4.1 Analyse par RMN DOSY	160
4. Détermination de M_w à partir du coefficient d'autodiffusion 161	
4.1 Introduction	161
4.2 Concentration critique de recouvrement (C^* appelé C star)	162
4.3 Préparation des courbes d'étalonnage	162
4.4 Détermination du M_w d'homopolymères et de bloc à base de PMMA.....	164
4.4.1 Synthèse d'homopolymères PMMA avec ou sans ajout de styrène	165
4.4.2 Synthèse de copolymères poly(MMA- <i>b</i> -BA) et poly(MMA- <i>co</i> -S)- <i>b</i> -PBA	168
4.4.3 Synthèse de copolymères poly((MMA- <i>co</i> -S)- <i>b</i> -P4VP)	169

5. Conclusion 170

Liste des Figures

Figure 1 : Spectre ^1H du dibloc poly(MMA-b-BA) (CDCl_3 , 25°C)	137
Figure 2 : Spectre ^{13}C du dibloc poly(MMA-b-BA) (CDCl_3 , 25°C)	138
Figure 3 : HSQC-DEPT du dibloc poly(MMA-b-BA) (CDCl_3 , 25°C)	138
Figure 4 : Superposition des spectres ^1H du copolymère dibloc poly(MMA-b-BA) et tribloc	140
Figure 5 : Superposition des spectres ^{13}C du copolymère dibloc poly(MMA-b-BA) et tribloc	140
Figure 6 : Superposition des spectres HSQC du copolymère dibloc poly(MMA-b-BA) (a) et tribloc	141
Figure 7 : Spectre HMBC du dibloc poly(MMA-b-BA), (CDCl_3 , 25°C)	142
Figure 8 : Spectre HMBC du tribloc poly(MMA-b-BA-b-MMA), (CDCl_3 , 25°C)	143
Figure 9 : Spectre HMBC du mélange dibloc/tribloc (50:50), (CDCl_3 , 25°C)	144
Figure 10 : Spectre ^1H du dibloc poly((MMA-DMA)-b-BA) (CDCl_3 , 25°C)	145
Figure 11 : Spectre ^{13}C du dibloc poly((MMA-DMA)-b-BA) (CDCl_3 , 25°C)	145
Figure 12 : Spectre HSQC-DEPT du dibloc poly((MMA-DMA)-b-BA) (CDCl_3 , 25°C)	146
Figure 13 : Superposition des spectres ^1H du poly((MMA-DMA)-b-BA)	147
Figure 14 : Superposition des spectres ^{13}C du poly((MMA-DMA)-b-BA) et du	147
Figure 15 : Spectres HMBC du poly((MMA-DMA)-b-BA) et du poly((MMA-DMA)-b-BA-b-(MMA-DMA))	148
Figure 16 : Carte DOSY montrant la séparation du PMMA et du PABu (toluène- d_8 , 25°C)	151
Figure 17 : Mélange de PMMA et PBA	153
Figure 18 : Spectre DOSY du poly(MMA-b-BA-b-MMA) synthétisé par voie NMP (C_6D_6 , 25°C) ..	154
Figure 19 : Copolymère tribloc poly(MMA-b-BA-b-MMA)	154
Figure 20 : Superposition des spectres ^1H du dibloc et tribloc (CDCl_3 , 25°C)	157
Figure 21 : Spectre DOSY du poly(MMA-b-BA) (CDCl_3 , 25°C)	158
Figure 22 : Spectre DOSY du poly(MMA-b-BA-b-MMA) synthétisé par voie anionique (C_6D_6 , 25°C)	160
Figure 23 : Effet d'une augmentation de la concentration sur les pelotes de polymère en solution ...	162
Figure 24 : Courbes d'étalonnage à 25°C du : POE et dextrane, (D_2O)	163
Figure 25 : Variation de la masse moyenne en masse (M_w) en fonction du temps de conversion. ...	166
Figure 26 : Carte DOSY du poly(MMA-co-S) (synthèse avec ajout de styrène) (C_6D_6 , 25°C)	167
Figure 27 : Carte DOSY du PMMA (synthèse sans ajout de styrène) (C_6D_6 , 25°C)	167
Figure 28 : Variation de la masse moyenne en masse en fonction du temps de conversion.	168
Figure 29 : Carte DOSY du poly((MMA-co-S)-b-P ₄ VP) (CDCl_3 , 25°C)	169

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Attribution des déplacements chimiques ^1H et ^{13}C du bloc PBA	139
Tableau 2 : Attribution des déplacements chimiques ^1H et ^{13}C du bloc PMMA	139
Tableau 3 : Composition monomérique du dibloc poly(MMA-b-BA)	139
Tableau 4 : Attributions des déplacements chimiques ^1H et ^{13}C du bloc PDMA	146
Tableau 5 : Composition en monomère du dibloc poly((MMA-DMA)-b-BA)	147
Tableau 6 : Détermination du coefficient de diffusion par RMN/PGSE de quatre séries d'homopolymères de taille différente (POE, dextrane, PS et PMMA) (D_2O , 25°C)	163
Tableau 7 : Valeurs du coefficient d'autodiffusion (D) et de la masse moyenne en poids (M_w) du PMMA et	165
Tableau 8 : Valeurs du coefficient d'autodiffusion (D) et de la masse moyenne en masse (M_w) des copolymères poly(MMA-b-BA) et poly((MMA-co-S)-b-BA) en fonction du temps de conversion ..	168
Tableau 9 : Détermination de la M_w par RMN (a) et par SEC (b)	170

1. Etude par RMN 1D et 2D d'architectures de type diblocs et triblocs

Dans cette partie, nous allons étudier des copolymères ayant des extrémités de chaînes non détectables par RMN classique du proton. Différentes séquences RMN permettant d'appréhender certains paramètres microstructuraux de ces matériaux seront appliquées, on insistera plus particulièrement sur la RMN HMBC et la technique DOSY.

Nous nous sommes intéressés à des copolymères acryliques qui nous ont été fournis par la société ARKEMA. Il s'agit de copolymères diblocs et triblocs composés majoritairement d'un bloc « mou » de poly(acrylate de n-butyle) (PnBA) et d'un (ou deux) bloc(s) de poly(méthacrylate de méthyle) (PMMA). Bien que la polymérisation ionique reste la méthode de choix pour préparer des copolymères à blocs d'architectures et de tailles contrôlées et possédant une distribution étroite, elle impose des conditions strictes (température, pureté, nature du milieu réactionnel...) afin d'éliminer toute réaction secondaire et de contrôler la cinétique. Outre quelques solutions récentes, il reste difficile de surmonter les obstacles techniques liés aux monomères d'acrylates. En effet les faibles températures de réaction limitent la production industrielle de copolymères bien définis. Dans ce contexte, la Polymérisation Radicalaire Contrôlée (CRP) s'est révélée être, ces dernières années, une alternative attractive et compétitive de la polymérisation anionique.

Elle repose sur la création d'un équilibre d'activation et de désactivation entre des espèces appelées « dormantes » (P - X) et des espèces « actives » (P• et X•) limitant momentanément la terminaison des macro-radicaux en croissance. Plusieurs voies ont été développées afin d'induire un tel équilibre. Parmi les plus connues, on recense la voie NMP (Nitroxide-Mediated Polymerization) basée sur les équilibres de terminaisons réversibles utilisant des agents nitroxyde (Schéma 1).

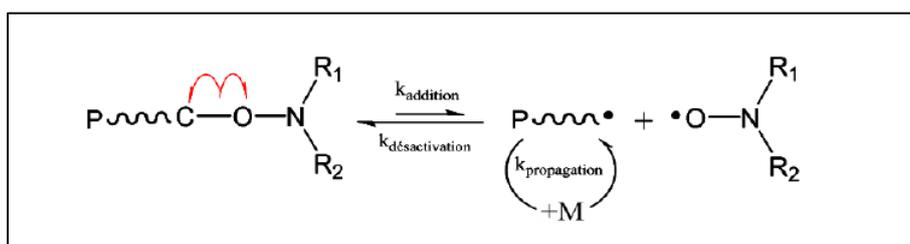


Schéma 1 : Mécanisme réactionnel de la NMP

La société ARKEMA a grandement participé aux développements d'amorceurs de type nitroxyde permettant de polymériser et de copolymériser les monomères styréniques et (méth)acryliques par voie NMP. Le Schéma 2 représente les différents amorceurs mono- et difonctionnels, hydro et/ou organosolubles, développés par la société ARKEMA et basés sur le nitroxyde SG1.

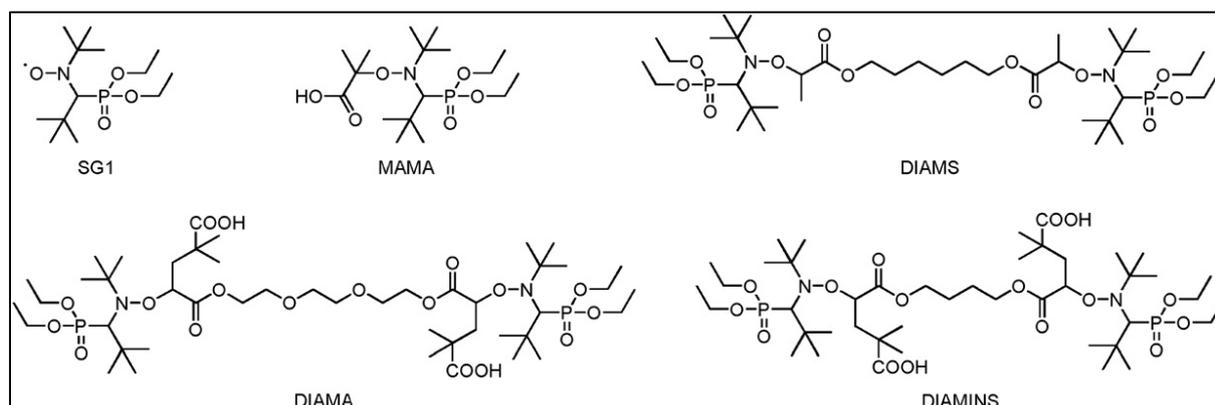


Schéma 2 : Amorceur mono et difonctionnels

La MONAMS¹ et le DIAMS² ont été utilisés respectivement pour la synthèse du dibloc poly(MMA-*b*-BA) et du tribloc poly(MMA-*b*-BA-*b*-MMA) dont les structures sont représentées sur les Schémas 3 et 4.

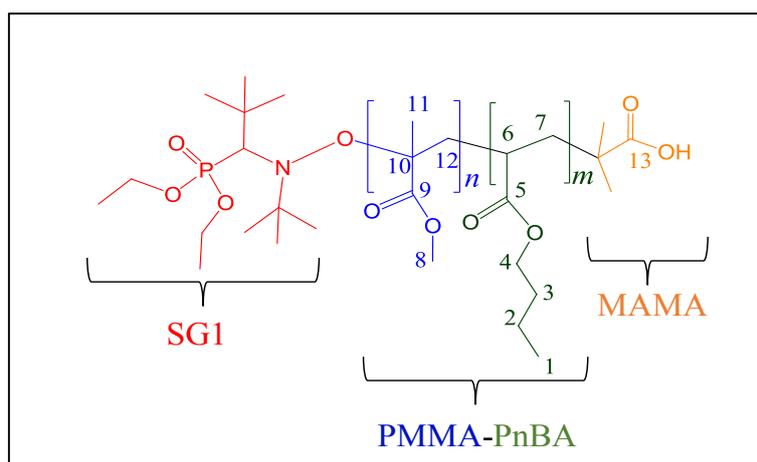


Schéma 3 : Structure du dibloc poly(MMA-*b*-BA)

¹J.L. Couturier, C. Henriet-Bernard, C. Le Mercier, P.Tordo, J.F. Lutz, EP1153030, priority 1999 .

² O. Guerret, J.L. Couturier, J. F. Lutz, C. Le Mercier, S.Robin, B. Vuillemin, EP1178955, priority 1999.

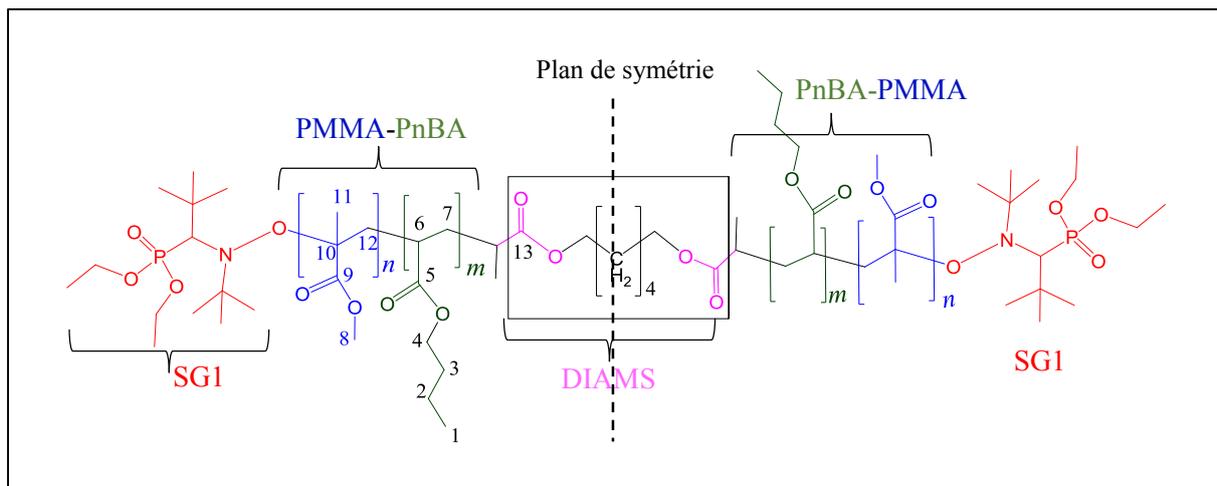


Schéma 4 : Structure du tribloc P (MMA-*b*-BA-*b*-MMA)

La structure du tribloc représentée sur le Schéma 4, présente un plan de symétrie. De ce fait les structures chimiques des deux copolymères sont quasi-identiques.

Peut-on faire, par RMN, la différence entre la structure d'un copolymère dibloc et celle d'un tribloc ? Dans le cas où les deux copolymères sont présents, est-il possible d'identifier sans ambiguïté chacune de ces architectures ?

1.1 Analyses par RMN ^1H , ^{13}C et HSQC

1.1.1 Dibloc poly(MMA-*b*-BA)

Les analyses RMN ont été réalisées dans CDCl_3 à température ambiante.

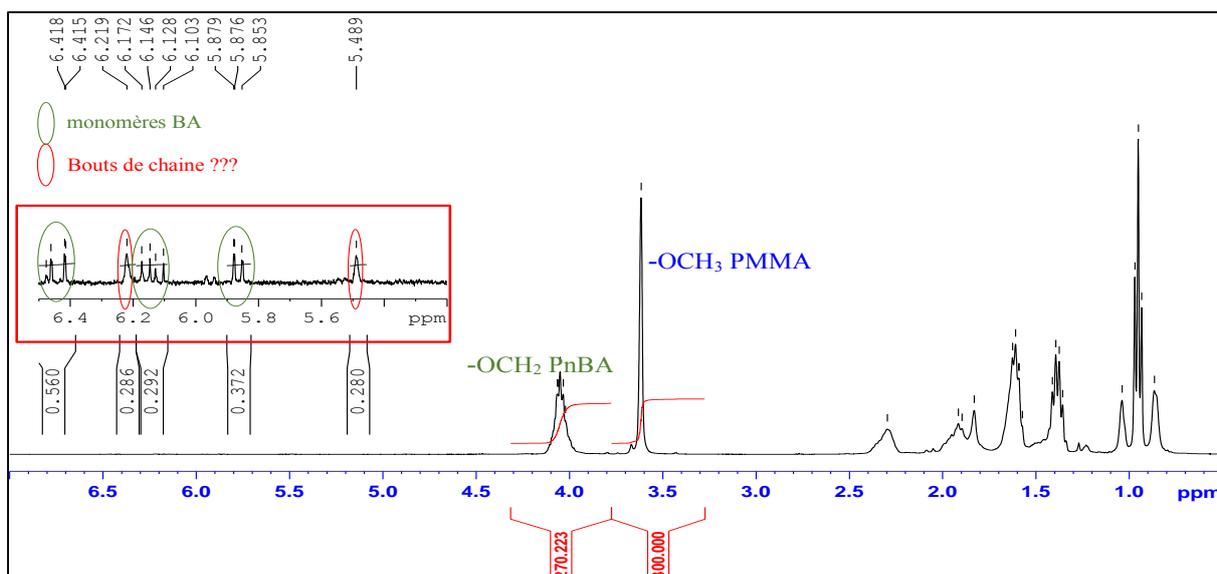


Figure 1 : Spectre ^1H du dibloc poly(MMA-*b*-BA) (CDCl_3 , 25°C)

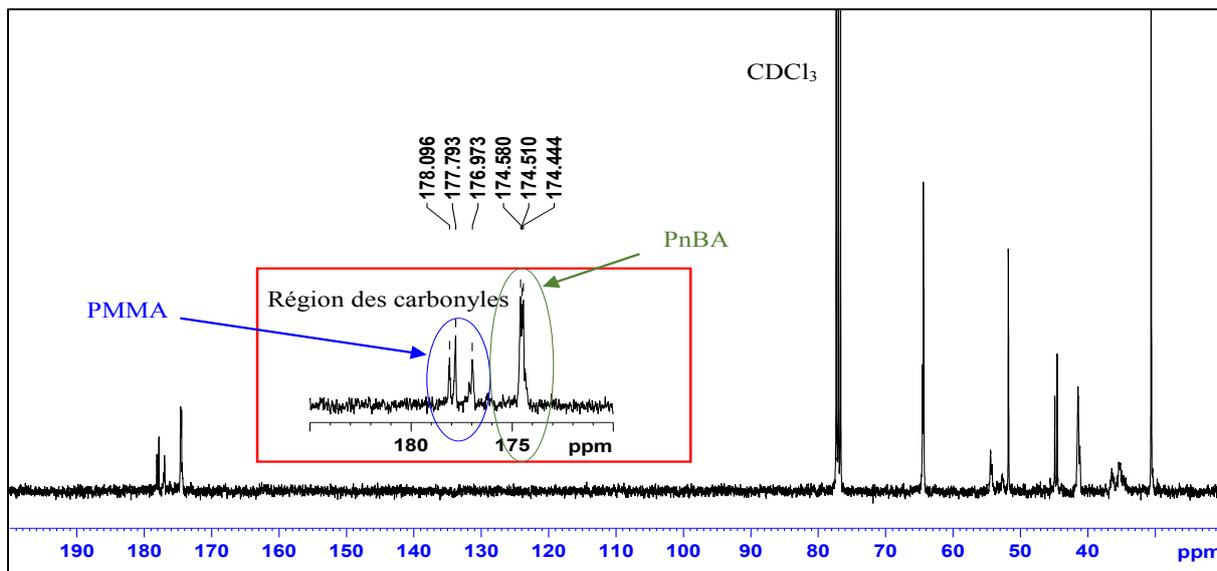


Figure 2 : Spectre ^{13}C du dibloc poly(MMA-*b*-BA) (CDCl_3 , 25°C)

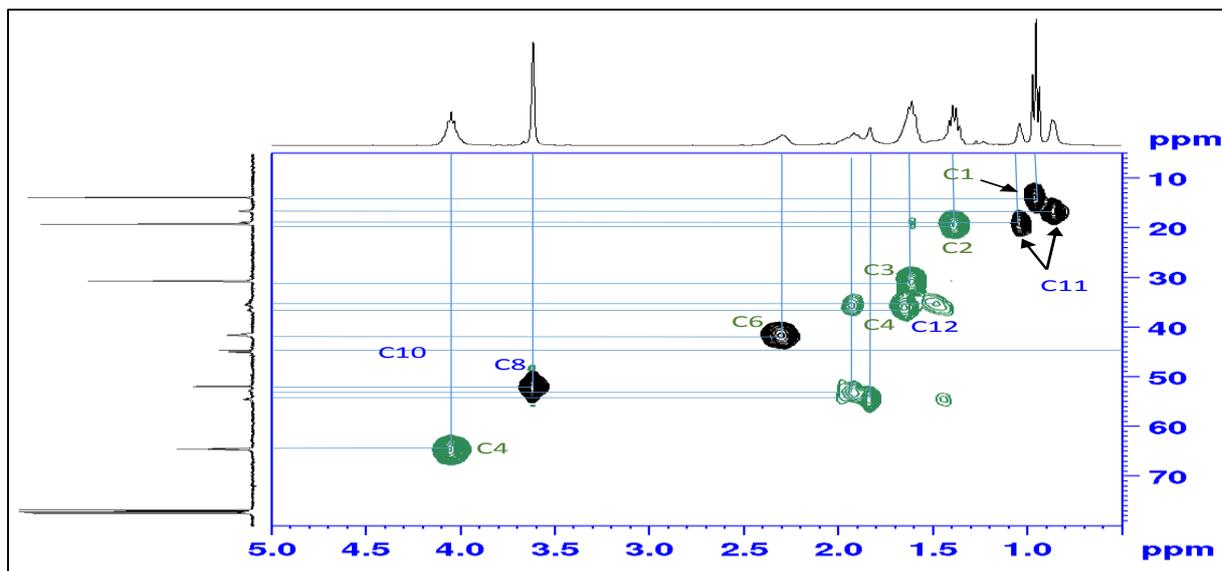


Figure 3 : HSQC-DEPT du dibloc poly(MMA-*b*-BA) (CDCl_3 , 25°C)

Les spectres RMN ^1H , ^{13}C et HSQC sont représentés respectivement sur les Figures 1, 2 et 3. Les attributions des déplacements chimiques sont regroupées dans les Tableaux 4 et 5.

Dans la séquence HSQC, seules les corrélations à une seule liaison covalente (^1J) entre le carbone et son(s) proton(s) sont détectables.

Sur le spectre HSQC-DEPT de la Figure 3, les taches de corrélation en vert, correspondent à des carbones secondaires (CH_2), celles en noir sont attribuées à des CH ou des CH_3 . Le carbone 10 est identifié comme étant un carbone quaternaire car aucune tache de corrélation ne lui est

associée. La numérotation des carbones représentée dans les Tableaux 4 et 5 correspond à celle indiquée sur la structure du dibloc (Schéma 3).

Les attributions des déplacements chimiques du proton et du carbone des deux blocs (PBA et PMMA) sont regroupées dans les Tableaux 1 et 2.

Bloc PBA							
	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7
δ ^1H (ppm)	0.95	1.38	1.6	4.0	/	2.29	1.4-1.9
δ ^{13}C (ppm)	13.7	19.1	30.7	64.5	174.5	41.6	34-37

Tableau 1 : Attribution des déplacements chimiques ^1H et ^{13}C du bloc PBA

Bloc PMMA					
	C8	C9	C10	C11	C12
δ ^1H (ppm)	3.6	/	/	0.86-1.23	1.4-2
δ ^{13}C (ppm)	52.0	176-179	44-46	16-22	52-54

Tableau 2 : Attribution des déplacements chimiques ^1H et ^{13}C du bloc PMMA

La composition en monomères MMA et BA est précisée dans le Tableau 3, a été déterminée par le rapport des intégrales du groupement $-\text{OCH}_3$ de l'unité MMA (pic à 3.6 ppm) et du groupement $-\text{OCH}_2$ de l'unité BA (pic à 4.0 ppm).

Poly (MMA- <i>b</i> -BA)		
	% molaire	% massique
MMA	57	63
BA	43	37

Tableau 3 : Composition monomérique du dibloc poly(MMA-*b*-BA)

Dans la région des protons vinylique (Figure 1), les pics bien résolus sont relatifs au monomère BA. L'attribution des deux signaux larges à 5.49 et 6.22 ppm ne sera possible que grâce à la technique DOSY.

1.1.2 Tribloc poly(MMA-*b*-BA-*b*-MMA)

Les analyses par RMN ^1H du poly(MMA-*b*-BA-*b*-MMA) ont été effectuées dans les mêmes conditions que celles du poly(MMA-*b*-BA).

La composition en monomère du tribloc a également été déterminée en faisant le rapport des intégrales du groupement $-\text{OCH}_3$ de l'unité MMA (pic à 3.6 ppm) et du groupement $-\text{OCH}_2$ de l'unité BA (pic à 4.0 ppm). Le résultat obtenu est identique à celui du dibloc (43% molaire en acrylate de butyle et 57% molaire en méthacrylate de méthyle).

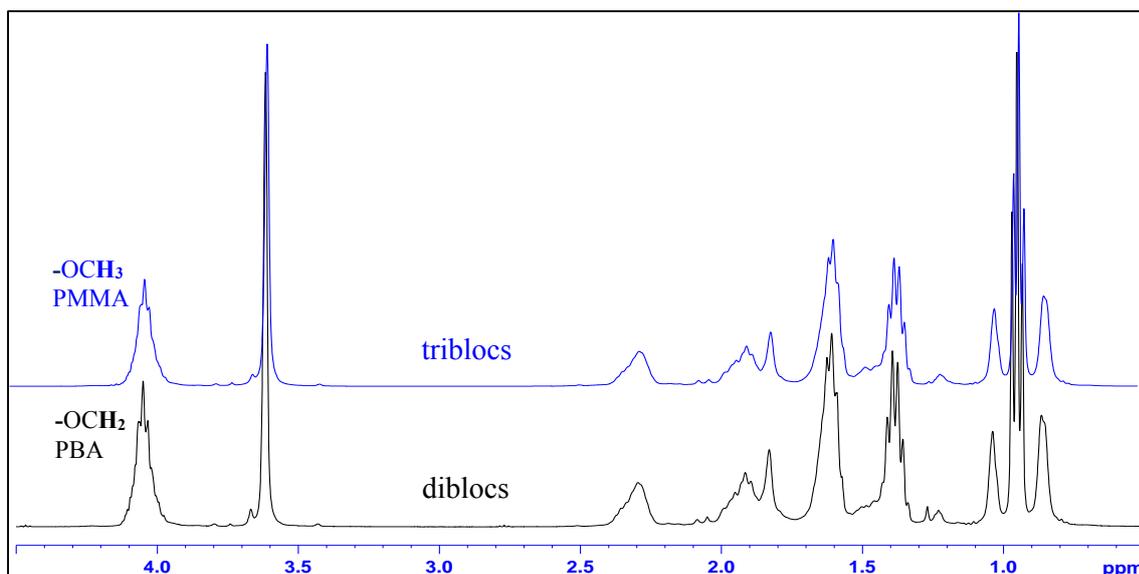


Figure 4 : Superposition des spectres ^1H du copolymère dibloc poly(MMA-*b*-BA) et tribloc poly(MMA-*b*-BA-*b*-MMA) (CDCl_3 , 25°C)

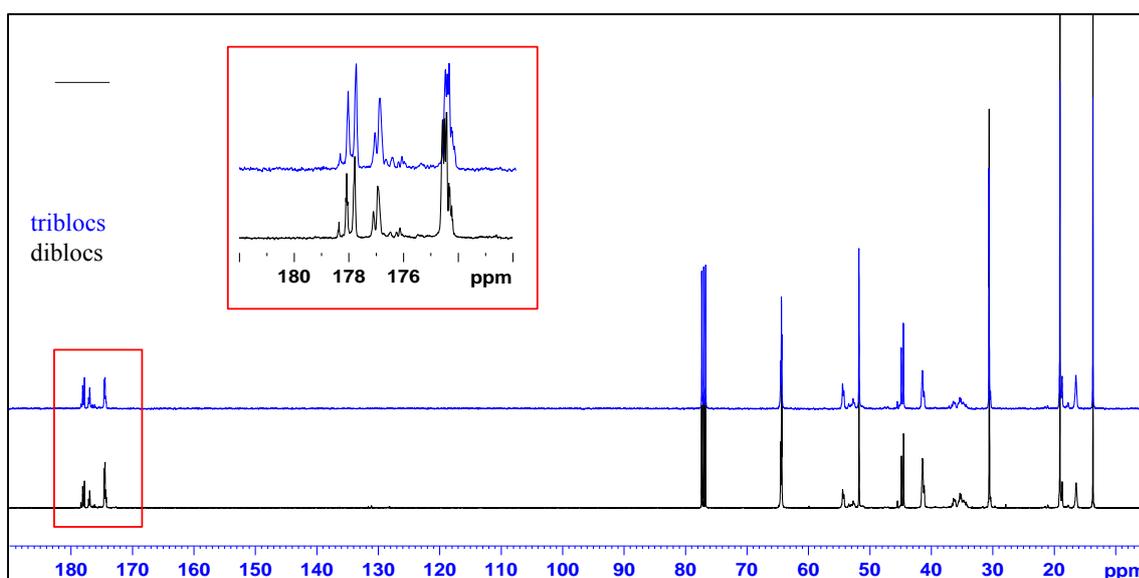


Figure 5 : Superposition des spectres ^{13}C du copolymère dibloc poly(MMA-*b*-BA) et tribloc poly(MMA-*b*-BA-*b*-MMA) (CDCl_3 , 25°C)

Les spectres comparatifs ^1H ^{13}C et HSQC des deux copolymères représentés respectivement sur les Figures 4 5 et 6, montrent qu'il est impossible de différencier les deux architectures en s'appuyant uniquement sur des analyses RMN conventionnelles.

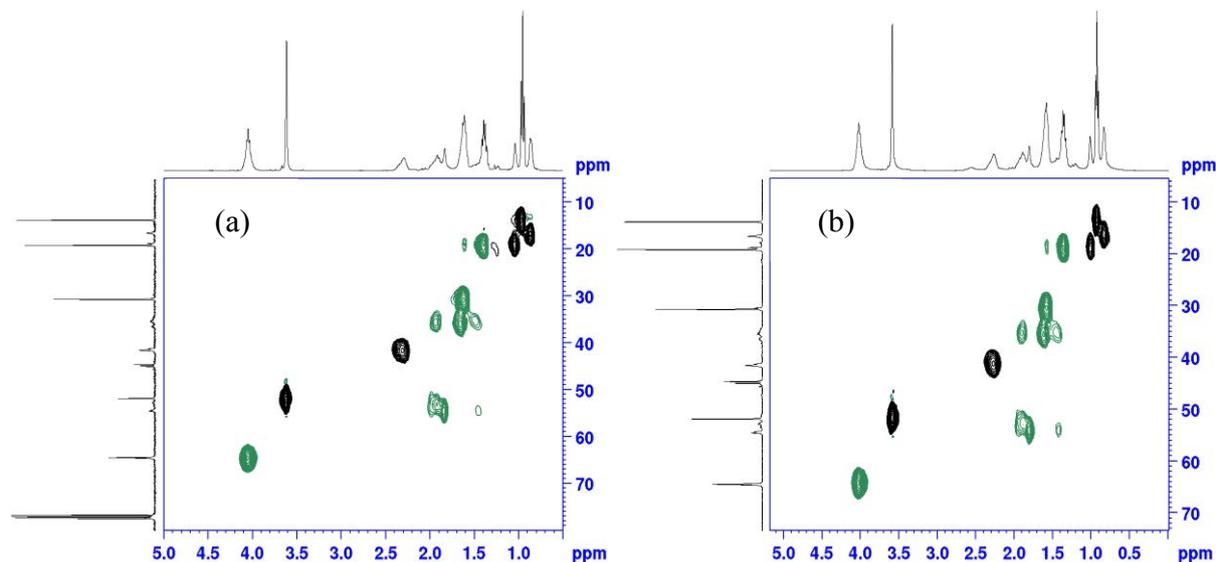


Figure 6 : Superposition des spectres HSQC du copolymère dibloc poly(MMA-*b*-BA) (a) et tribloc poly(MMA-*b*-BA-*b*-MMA) (b) (CDCl_3 , 25°C)

1.2 Analyse par RMN HMBC

La HMBC est une séquence 2D basée sur le principe de la détection inverse ou indirecte, elle permet d'obtenir les paramètres RMN (déplacement chimique, constante de couplage et temps de relaxation spin réseau) du carbone ^{13}C peu sensible, en observant le signal RMN du proton (^1H) beaucoup plus sensible (cf. Chapitre I).

La HMBC s'est avérée incontournable tout au long de cette étude. Elle nous a permis de faire un lien direct entre tache de corrélation et architecture donnée.

Dans la suite de ce travail on désignera par le terme « empreinte 2D architecture » la tache de corrélation spécifique à une architecture donnée, par exemple « empreinte 2D dibloc » désignera la tache de corrélation correspondante à l'architecture dibloc.

Les structures des di et triblocs (Schémas 3 et 4) ont été simplifiées pour ne mettre en évidence que l'extrémité de chaîne (Schémas 5 et 6).

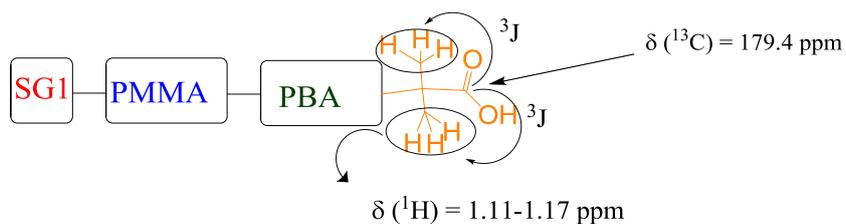


Schéma 5 : Structure simplifiée du dibloc (poly(MMA-*b*-BA))

$\delta(^{13}\text{C}) = 183.7 \text{ ppm}$

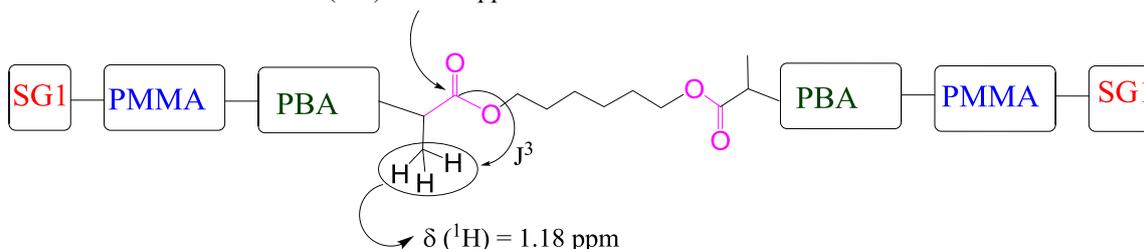


Schéma 6 : Structure simplifiée du tribloc poly(MMA-*b*-BA-*b*-MMA)

1.2.1 Spectre HMBC du dibloc poly(MMA-*b*-BA).

L'analyse HMBC a été faite sur le même échantillon que celui analysé par RMN ^1H , ^{13}C et HSQC. Le spectre obtenu est représenté sous forme topographique (Figure 7a), en pseudo 3D (Figure 7b).

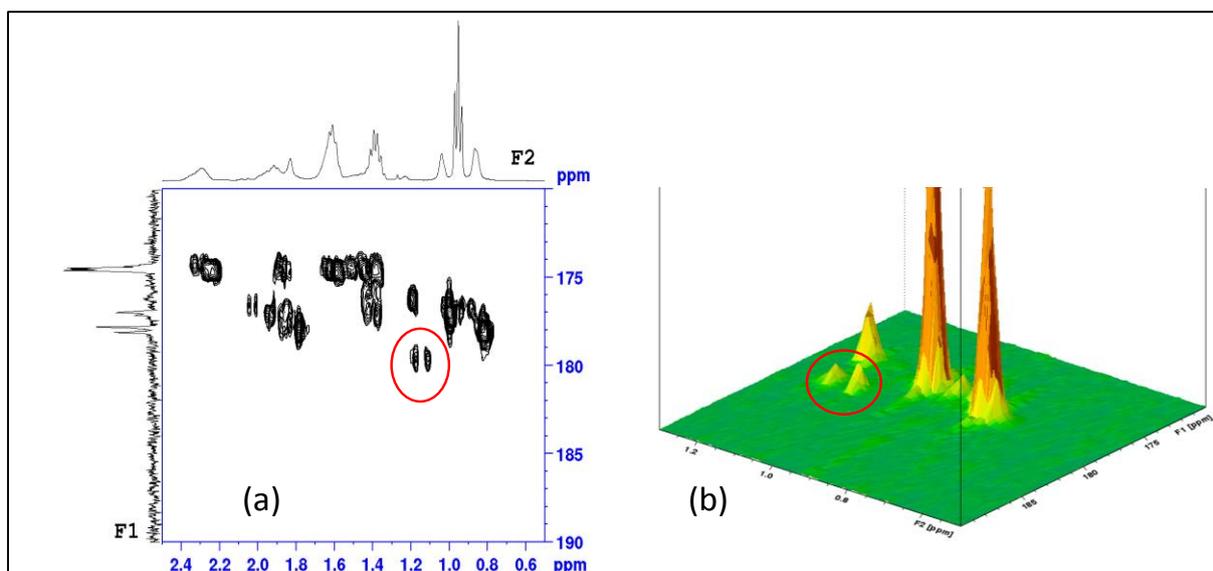


Figure 7 : Spectre HMBC du dibloc poly(MMA-*b*-BA), (CDCl_3 , 25°C).

(a) représentation topographique,

(b) pseudo 3D

1.2.2 Spectre HMBC du tribloc poly(MMA-*b*-BA-*b*-MMA).

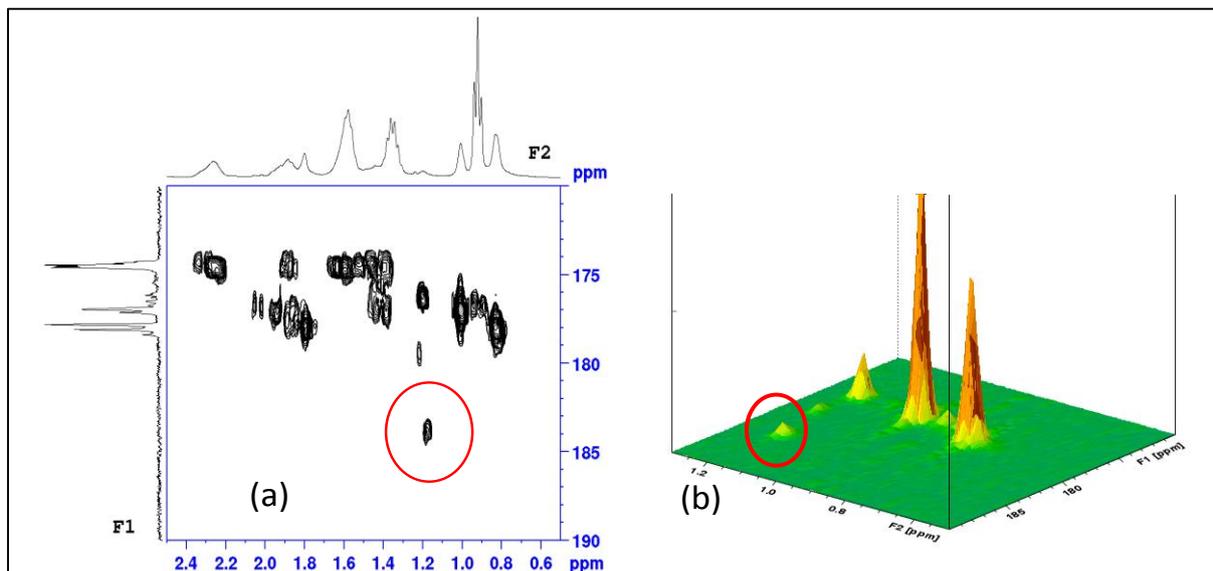


Figure 8 : Spectre HMBC du tribloc poly(MMA-*b*-BA-*b*-MMA), (CDCl₃, 25°C)
 (a) représentation topographique,
 (b) pseudo 3D

Le spectre HMBC et la formule chimique simplifiée du tribloc sont représentés respectivement sur la Figure 8 et le Schéma 6.

L'analyse des spectres HMBC du dibloc et du tribloc montre clairement une différence au niveau des taches de corrélation dans la zone des carbonyles.

La structure chimique du dibloc présente en effet un groupement terminal contenant une fonction acide, alors que dans le cas du tribloc il s'agit d'une fonction ester. Les taches de corrélation correspondantes aux groupements carboxylique et ester, ont donc été reliées respectivement à « l'empreinte 2D dibloc » et à « l'empreinte 2D tribloc ». Les coordonnées des déplacements chimiques de « l'empreinte 2D dibloc » ont été définies à 179.4 ppm et 1.1-1.17 ppm, celles de « l'empreinte 2D tribloc » à 183.7 ppm et 1.18 ppm.

Afin de confirmer ce premier résultat, nous avons réalisé le même type d'analyse RMN HMBC sur un mélange de copolymère et sur d'autres copolymères de nature chimique différente.

1.2.3 Mélange de dibloc/tribloc avec un rapport de 50/50

Cette expérience a pour but de vérifier si la RMN HMBC est capable de détecter les deux architectures (dibloc et tribloc) lorsque celles-ci sont présentes dans un échantillon.

Nous avons préparé un mélange de **poly(MMA-*b*-BA)** et de **poly(MMA-*b*-BA-*b*-MMA)** avec un rapport massique de 50/50. Les analyses RMN ont été effectuées dans CDCl₃ à température ambiante. Les spectres ¹H, ¹³C et HSQC (cf. Annexes 1, 2 et 3) obtenus sont identiques à ceux obtenus dans le cas des analyses réalisées indépendamment sur le dibloc et sur le tribloc.

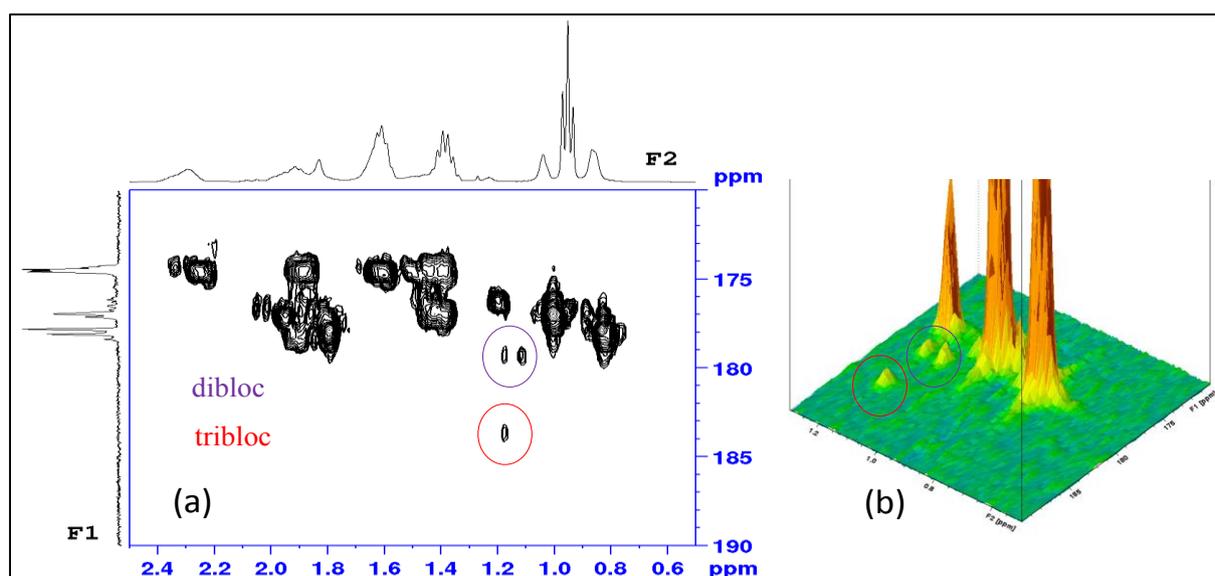


Figure 9 : Spectre HMBC du mélange dibloc/tribloc (50:50), (CDCl₃, 25°C)
 (a) représentation topographique,
 (b) pseudo 3D

Le spectre HMBC représenté sur la Figure 9 est obtenu dans les mêmes conditions que les analyses sans mélange. Sur ce spectre nous notons la présence des taches de corrélation attribuées aux deux « empreintes 2D » et ce, avec une bonne résolution spectrale. Le spectre HMBC ainsi obtenu peut donc être considéré comme « la somme » des deux analyses HMBC du dibloc et du tribloc obtenues séparément.

1.2.4 Cas du copolymère à bloc à base de (MMA-DMA) et BA

Dans cette expérience, nous avons voulu savoir si « l’empreinte 2D architecture » pouvait être extrapolée à d’autres couples de dibloc/tribloc de nature chimique différente.

Nous avons choisi comme exemple d'architecture dibloc, le **poly((MMA-DMA)-*b*-BA)** et comme tribloc le **poly((MMA-DMA)-*b*-BA-*b*-(MMA-DMA))**. Ces deux copolymères nous ont été fournis par la société ARKEMA.

(DMA : diméthyle acrylamide, BA : butyle acrylate, MMA : méthacrylate de méthyle).

1.2.4.1 Analyses ^1H , ^{13}C et HSQC du dibloc

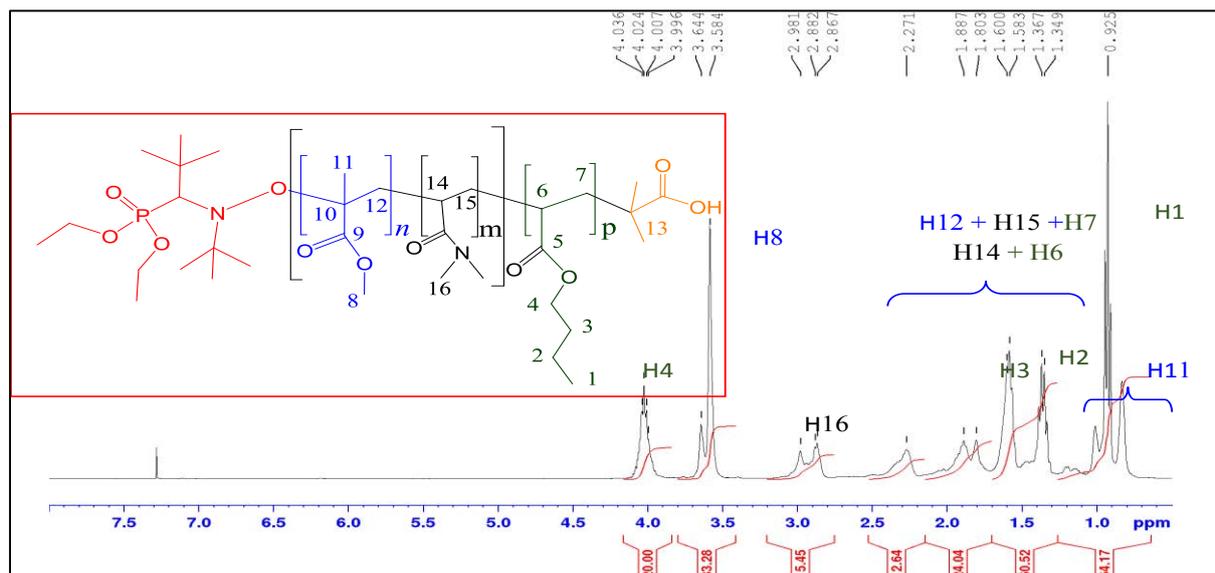


Figure 10 : Spectre ^1H du dibloc poly((MMA-DMA)-*b*-BA) (CDCl_3 , 25°C)

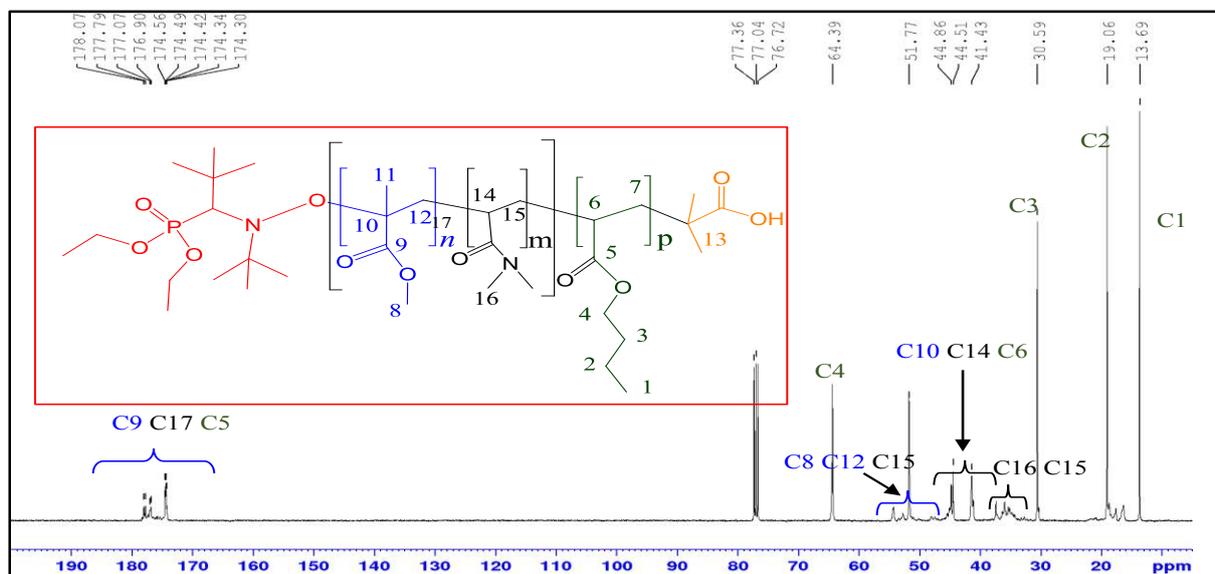


Figure 11 : Spectre ^{13}C du dibloc poly((MMA-DMA)-*b*-BA) (CDCl_3 , 25°C)

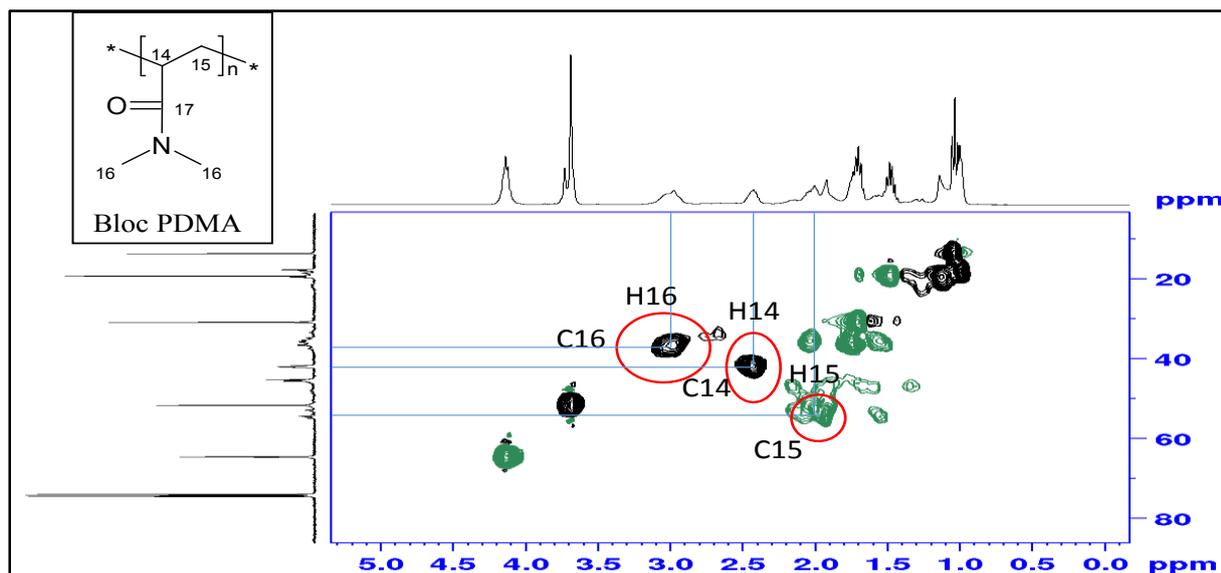


Figure 12 : Spectre HSQC-DEPT du dibloc poly((MMA-DMA)-*b*-BA) (CDCl₃, 25°C)

Les analyses RMN du **poly((MMA-DMA)-*b*-BA)** ont été effectuées à température ambiante dans CDCl₃. Les attributions des déplacements chimiques ont été faites par RMN ¹H, ¹³C et HSQC. Les spectres obtenus sont présentés respectivement sur les Figures 10, 11 et 12.

Dans le Tableau 4, nous n'avons présenté que les attributions des déplacements chimiques du bloc PDMA du poly((MMA-DMA)-*b*-BA). Le PMMA et le PBA ont été identifiés grâce aux valeurs de déplacements chimiques rapportés dans les Tableaux 1 et 2.

Bloc PDMA				
	C14	C15	C16	C17
δ ¹ H (ppm)	2.44	1.8-2.2	2.96	/
δ ¹³ C (ppm)	41.7	53.6-55.0	36.7	175-176.5

Tableau 4 : Attributions des déplacements chimiques ¹H et ¹³C du bloc PDMA

La composition monomère des trois constituants du copolymère poly ((MMA-DMA)-*b*-BA) a été déterminée en s'appuyant sur le rapport des intégrales des signaux des groupements OCH₂ (4.0 ppm), OCH₃ (3.6 ppm) et N(CH₃)₂ (2.8 ppm) correspondant respectivement aux blocs PBA, PMMA et PDMA. Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 5.

Poly ((MMA-DMA)- <i>b</i> -BA)		
	% molaire	% massique
MMA	47	42
BA	42	48
DMA	11	10

Tableau 5 : Composition en monomère du dibloc poly((MMA-DMA)-*b*-BA)

1.2.4.2 Analyses 1H , ^{13}C et HSQC du tribloc

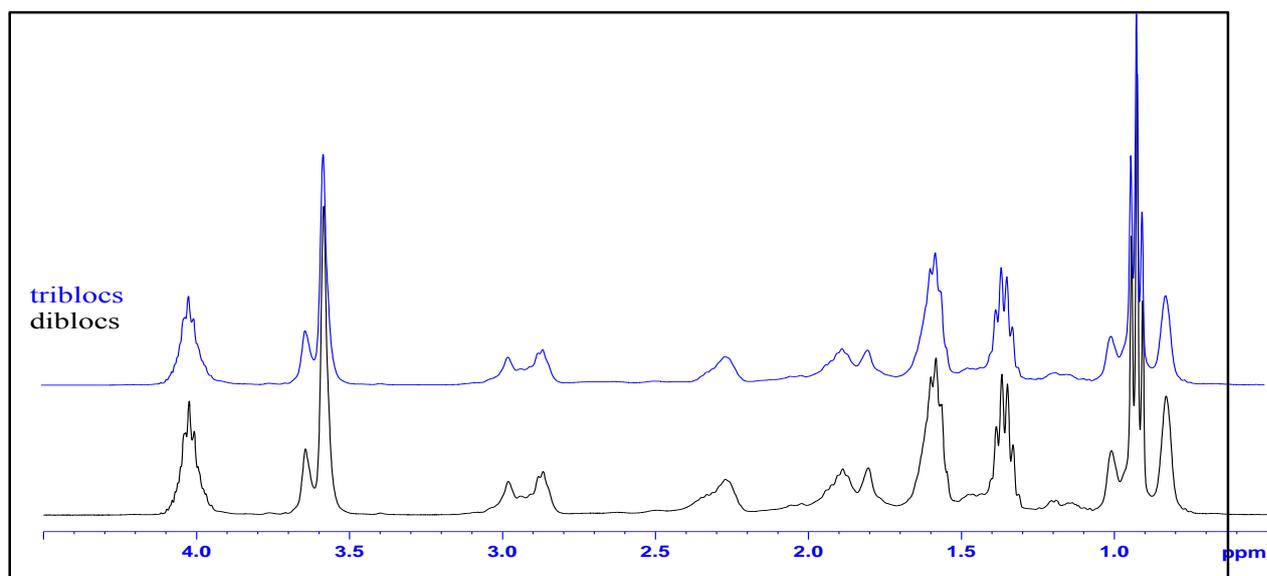


Figure 13 : Superposition des spectres 1H du poly((MMA-DMA)-*b*-BA) et du poly((MMA-DMA)-*b*-BA-*b*-(MMA-DMA)) ($CDCl_3$, 25°C)

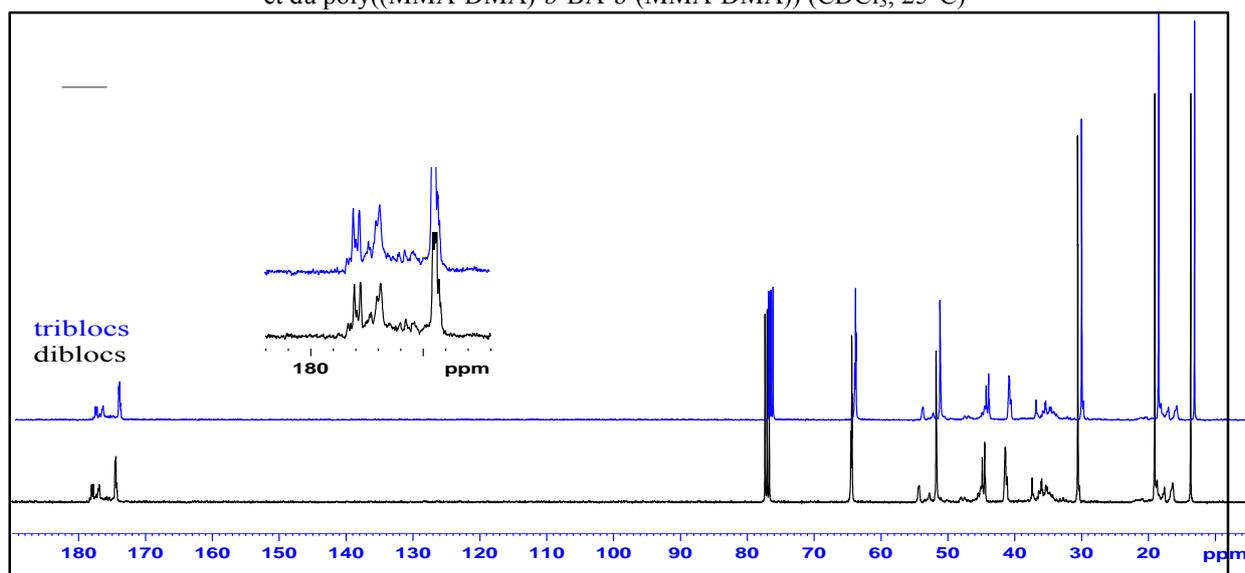


Figure 14 : Superposition des spectres ^{13}C du poly((MMA-DMA)-*b*-BA) et du poly((MMA-DMA)-*b*-BA-*b*-(MMA-DMA)) ($CDCl_3$, 25°C)

Le poly((MMA-DMA)-*b*-BA-(MMA-DMA)) a été analysé dans CDCl₃ à température ambiante. Sur les Figures 13 et 14 nous présentons la superposition des spectres ¹H et ¹³C correspondant aux dibloc poly((MMA-DMA)-*b*-BA) et triblocs poly((MMA-DMA)-*b*-BA-(MMA-DMA)). Ces spectres comparatifs montrent que l'analyse par RMN ¹H et ¹³C n'est pas suffisamment puissante pour différencier les deux copolymères.

1.2.5 Analyses HMBC du dibloc et tribloc

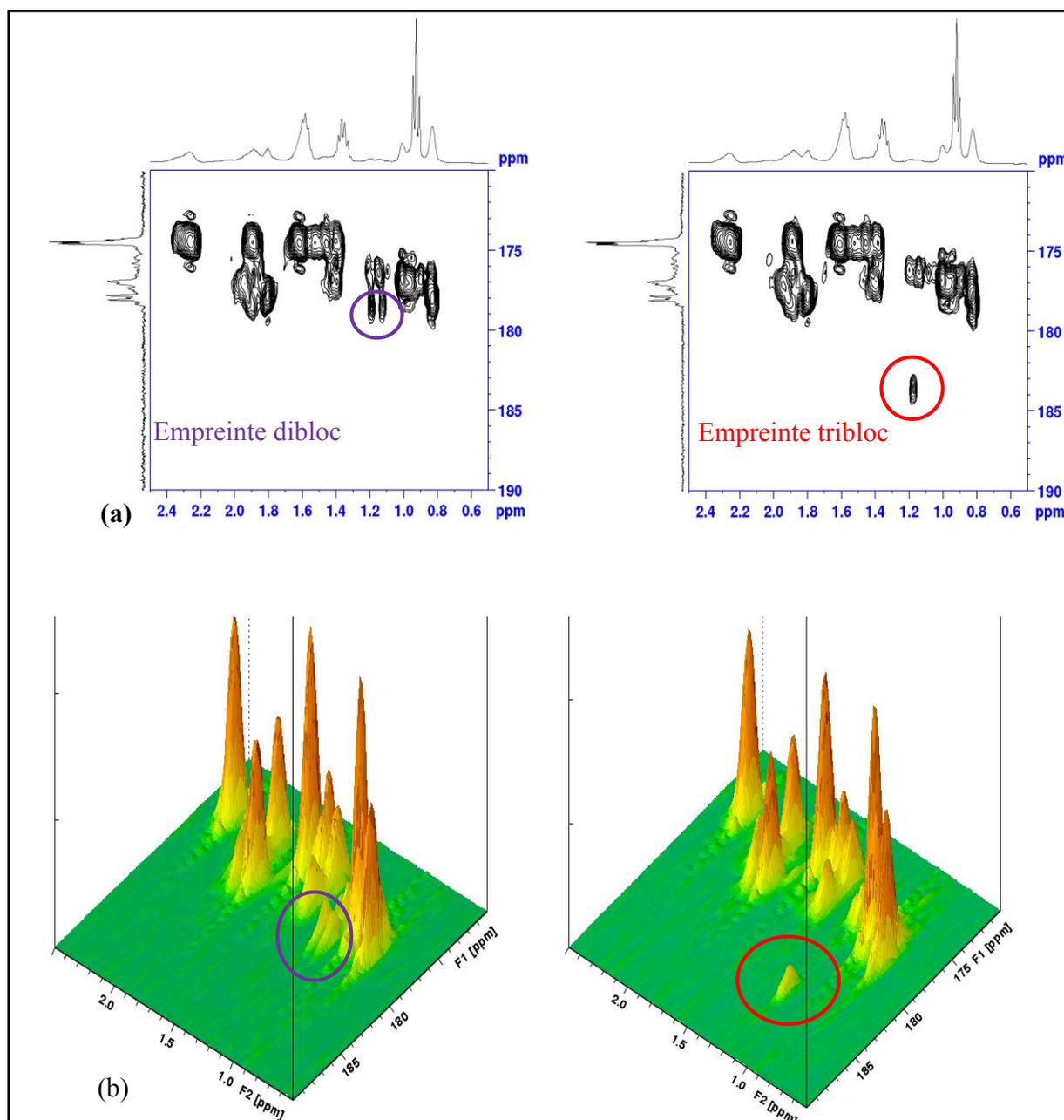


Figure 15 : Spectres HMBC du poly((MMA-DMA)-*b*-BA) et du poly((MMA-DMA)-*b*-BA-*b*-(MMA-DMA))
 (a) représentation topographique, (b) représentation "pseudo 3D" (CDCl₃, 25°C)

Les analyses RMN 2D HMBC du **poly((MMA-DMA)-*b*-BA)** et du **poly((MMA-DMA)-*b*-BA-*b*-(MMA-DMA))** ont été effectuées dans CDCl₃ à température ambiante.

La HMBC du dibloc présentée sur la Figure 15 montre la présence d'une raie caractéristique dont les coordonnées de déplacements chimiques (en ppm) corrélées avec une constante de couplage ³J sont données à 178 ppm et 1.1-1.2 ppm tandis que le tribloc présente une raie avec des déplacements chimiques légèrement différents se situant à 184 ppm et 1.2 ppm.

Comme pour l'exemple précédent ces taches de corrélation ont été attribuées respectivement aux carbonyles de la fonction acide (Schéma 7) et de la fonction ester du DIAMS (Schéma 8).

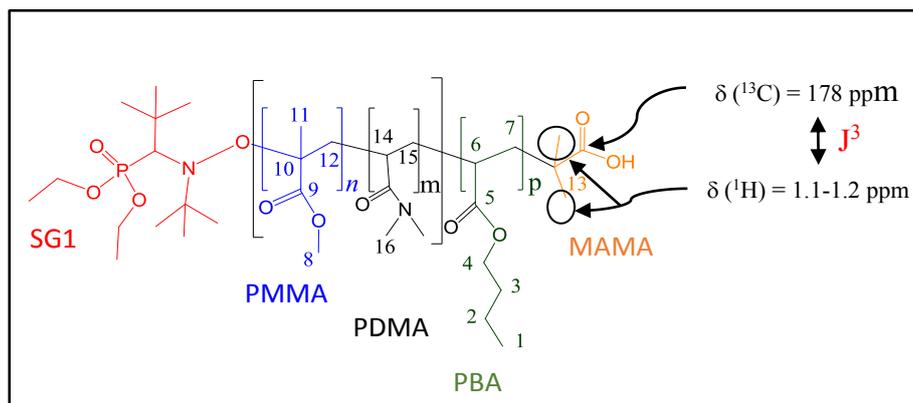


Schéma 7 : Structure du dibloc poly((MMA-DMA)-*b*-BA)

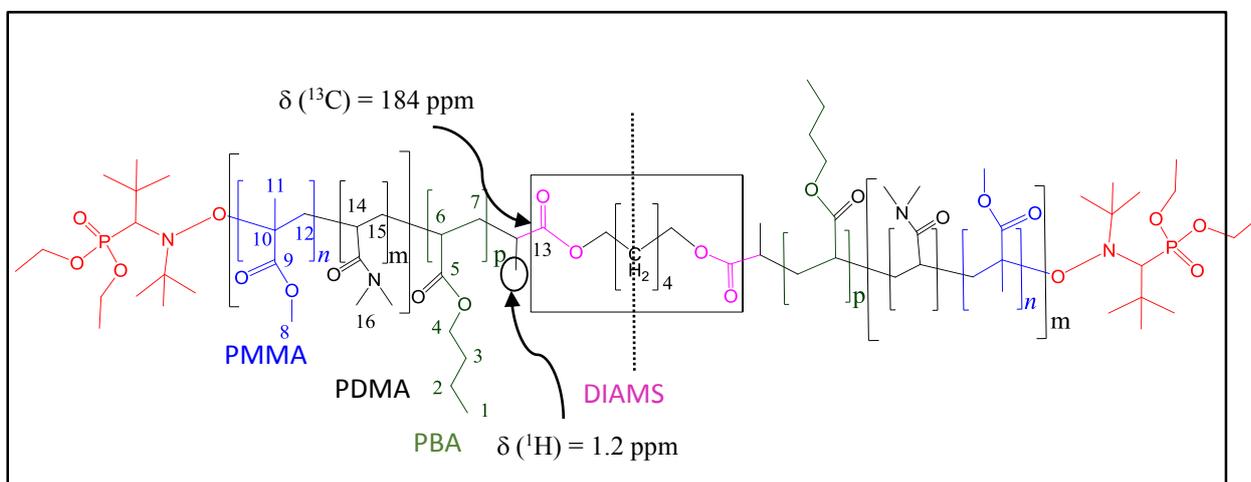


Schéma 8 : Structure du tribloc poly((MMA-DMA)-*b*-BA-(MMA-DMA))

En résumé, les « empreintes 2D dibloc » et celle du tribloc sont une fois encore présentes dans les copolymères à base de (MMA-DMA) et BA et ce, avec une très bonne résolution spectrale.

La MONAMS³ et le DIAMS⁴ ont été utilisés respectivement pour la synthèse du dibloc et du tribloc. Ceci peut expliquer la similitude entre les « empreintes 2D » dans les deux exemples étudiés.

2. Etude par RMN DOSY de quelques architectures dibloc et tribloc

Nous avons vu dans le premier chapitre que la technique PGF-SE (séquence RMN avec gradients de champ pulsés et écho de spin) permet de mesurer le coefficient d'autodiffusion d'une molécule et ainsi de déterminer sa taille. Elle est donc tout naturellement adaptée à l'analyse des mélanges complexes^{1,2,3}. Morris et Johnson⁴ ont introduit en 1992 la technique DOSY (Diffusion Ordered Spectroscopy). Ces auteurs représentent les données PGF-SE sous la forme d'une carte à deux dimensions montrant les déplacements chimiques sur un axe horizontal et les coefficients de diffusion sur un axe vertical. Cette représentation permet par conséquent d'établir des corrélations entre les signaux RMN¹H de noyaux donnés et le coefficient de diffusion de la molécule à laquelle ces noyaux appartiennent.

Récemment, la caractérisation par RMN¹H diffusionnelle⁵ d'un copolymère à blocs polystyrène-*b*-poly(oxyde d'éthylène) (PS-*b*-POE) et son macro-amorceur POE a démontré qu'il était possible de vérifier la réaction de copolymérisation ainsi que la présence de macro-amorceur résiduel. Ces deux matériaux possèdent en effet des volumes hydrodynamiques différents et donc des coefficients de diffusion distincts. .

Dans les expériences de RMN diffusionnelle, il est préférable d'utiliser des solvants relativement visqueux comme D₂O, DMSO-d₆, C₆D₆, toluène-d₈....La très faible viscosité d'un solvant (CDCl₃ par exemple) associée au gradient de température dans l'échantillon conduit, comme nous l'avons déjà décrit dans le premier chapitre, à des phénomènes de convection.

Dans ce chapitre, nous proposons de montrer l'apport de la technique RMN DOSY pour vérifier (confirmer) d'une part l'accrochage (la fixation) des blocs de copolymères à architecture complexe (di et tribloc), et d'autre part pour accéder à des informations pertinentes sur la présence ou non de réactions secondaires en relation avec la méthode de polymérisation. Grace

³J.L. Couturier, C. Henriët-Bernard, C. Le Mercier, P.Tordo, J.F. Lutz, EP1153030, priority **1999** .

⁴ O. Guerret, J.L. Couturier, J. F. Lutz, C. Le Mercier, S.Robin, B. Vuillemin, EP1178955, priority **1999**.

à une droite d'étalonnage établie au préalable à l'aide de polymère étalon de même nature⁶, la RMN diffusionnelle a été mise à profit pour estimer la masse M_w de quelques matériaux polymères

2.1 Mélange de deux homopolymères : PMMA et PBA

Un mélange de poly(méthacrylate de méthyle) (PMMA de masse $M_n = 6000 \text{ g.mol}^{-1}$) et de poly(butyle acrylate) (PBA de masse $M_n 20000 \text{ g.mol}^{-1}$) a été préparé et analysé par RMN DOSY dans le toluène deutérié à température ambiante.

Il existe deux manières de présenter les résultats donnés par la RMN de diffusion : *la carte DOSY* et *la courbe de Stejskal-Tanner*.

2.1.1 Carte DOSY

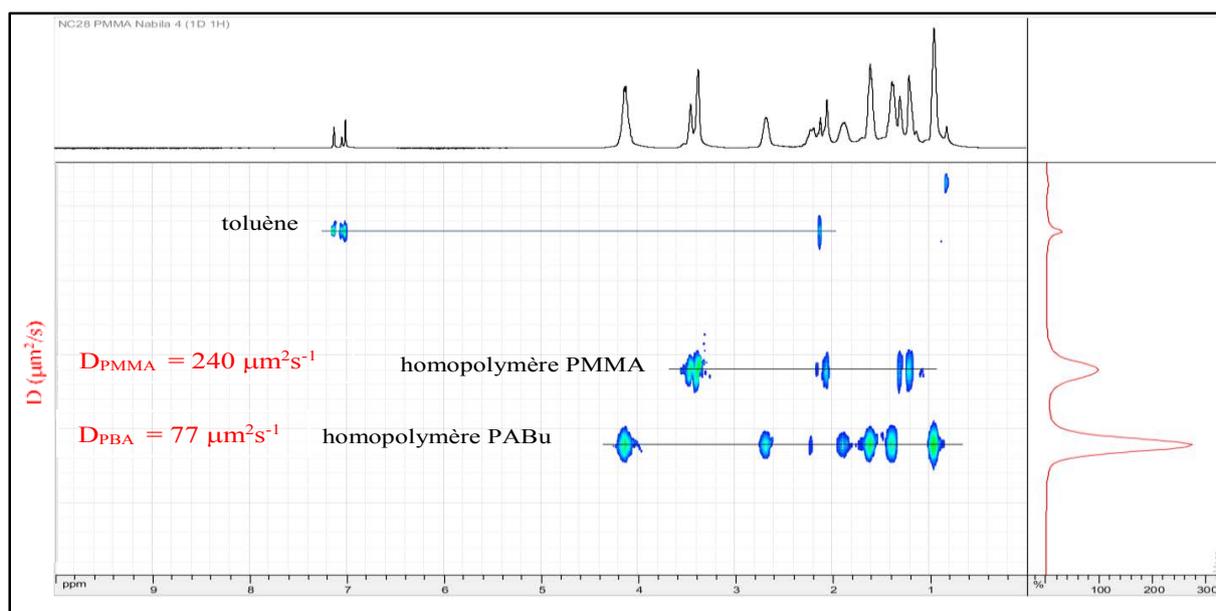


Figure 16 : Carte DOSY montrant la séparation du PMMA et du PABu (toluène- d_8 , 25°C)

La Figure 16, présente la carte DOSY réalisée par traitement MaxEnt⁷ à l'aide du logiciel Gifa, le spectre ^1H classique est représenté en abscisse et le coefficient de diffusion en ordonnée.

Nous rappelons que le coefficient de diffusion est lié aux propriétés hydrodynamiques des molécules diffusantes. Il dépend de la taille, de la forme, de la charge de la molécule ainsi de la température et de la viscosité du milieu. En effet selon l'équation de Stokes-Einstein :

$$D = \frac{KT}{6\pi\eta R_H} \quad \text{Eq 1}$$

K est la constante de Boltzmann, T la température absolue, η et R_H sont respectivement la viscosité et le rayon hydrodynamique

La carte DOSY représentée sur la Figure 15 nous permet de bien séparer les deux homopolymères grâce une bonne résolution spectrale

2.1.2 Courbe de Stejskal-Tanner

Selon Stejskal-Tanner⁸, l'intensité du signal RMN mesuré est fonction à la fois du coefficient d'autodiffusion D du composé étudié, du délai de diffusion Δ , ainsi que de l'intensité g et de la durée du gradient selon l'équation :

$$I = I_0 e^{-D\gamma^2 g^2 \delta^2 (\Delta - \delta/3)} \quad \text{Eq.2}$$

avec :

- I : intensité observée,
- I_0 : intensité référence (signal non atténué, i.e. en l'absence de gradient),
- D : coefficient de diffusion en $\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$,
- γ : rapport gyromagnétique $\text{rad} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{G}^{-1}$,
- G : intensité du gradient en $\text{G} \cdot \text{cm}^{-1}$,
- Δ : temps de diffusion en s.

Expérimentalement, le coefficient d'autodiffusion est obtenu par ajustement mathématique des données de l'équation 2 en maintenant constant δ et Δ . C'est donc l'intensité g du gradient qui varie et l'équation 2 devient alors :

$$\frac{I}{I_0} = e^{-qDg^2} \quad \text{Eq.3}$$

$$\ln\left(\frac{I}{I_0}\right) = -qDg^2 \quad \text{Eq.4}$$

où I/I_0 représente l'intensité normalisé du signal RMN mesuré et q une constante expérimentale connue.

$$q = -\gamma^2 \delta^2 \left(\Delta - \frac{\delta}{3} \right) \quad \text{Eq.5}$$

En suivant l'évolution du logarithme de l'intensité ou de l'aire normalisée du signal RMN en fonction du carré de l'intensité du gradient, on peut déterminer D par ajustement non linéaire des moindres carrés comme l'illustre la Figure 17.

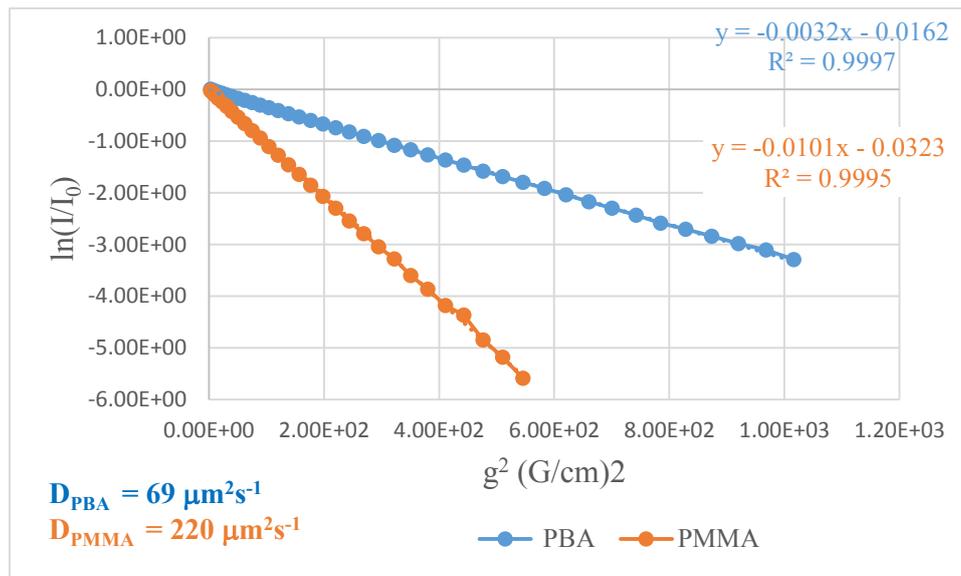


Figure 17 : Mélange de PMMA et PBA.

Superposition des courbes de Stejskal-Tanner obtenues par intégration des signaux OCH_2 (PBA) et OCH_3 (PMMA) (toluène- d_8 , 25°C)

En accord avec l'équation 4, nous observons une parfaite linéarité de $\ln(I/I_0)$ en fonction de l'intensité du gradient, le coefficient de diffusion est alors déterminé en calculant la pente de la droite ($-D\gamma^2\delta^2(\Delta - \delta/3)$). Les courbes de Stejskal-Tanner de la Figure 16 ont été tracées à partir des signaux des protons OCH_2 et OCH_3 représentant respectivement le bloc PBA et le celui du PMMA. La différence de pente entre les deux courbes est très significative :

$$D_{\text{PBA}} = 69 \mu\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}, D_{\text{PMMA}} = 220 \mu\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}.$$

Les courbes de Stejskal-Tanner montrent, comme la carte DOSY la présence de deux coefficients de diffusion bien distincts correspondant aux deux homopolymères.

Quelle que soit la méthode de traitement employée (carte DOSY ou courbes de Stejskal-Tanner), la séparation « virtuelle » des deux homopolymères (PMMA et PBA) est bien mise en évidence.

2.2 Analyse du tribloc poly(MMA-*b*-BA-*b*-MMA)

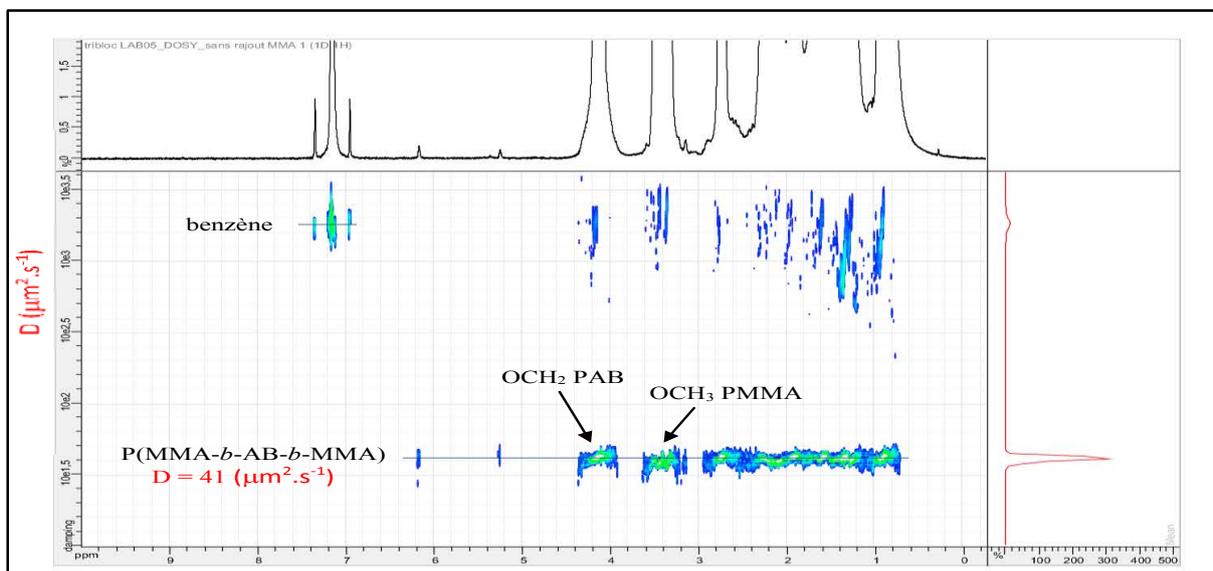


Figure 18: Spectre DOSY du poly(MMA-*b*-BA-*b*-MMA) synthétisé par voie NMP (C₆D₆, 25°C)

La RMN diffusionnelle du tribloc poly(MMA-*b*-BA-*b*-MMA) a été effectuée dans C₆D₆ à température ambiante. Les traitements des données RMN sous forme de carte DOSY et de courbes de Stejskal-Tanner sont représentés respectivement sur les Figure 18 et 19.

Sur la carte DOSY, les blocs PMMA et PBA se trouvent sur la même ligne dans la dimension de diffusion et possèdent donc le même coefficient de diffusion (41 μm²s⁻¹).

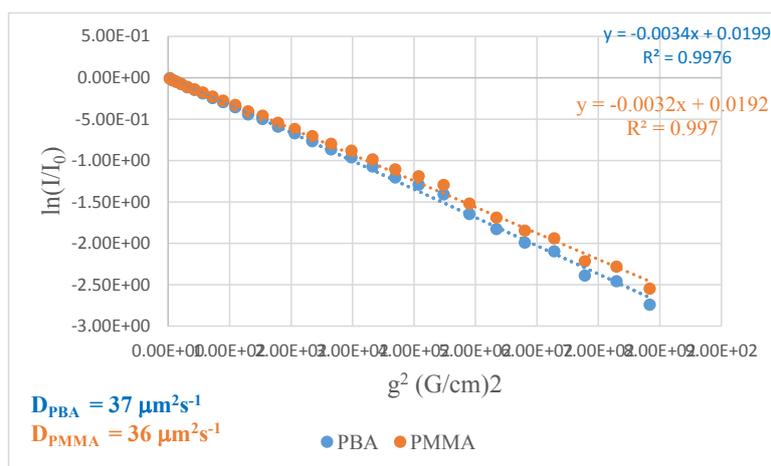


Figure 19 : Copolymère tribloc poly(MMA-*b*-BA-*b*-MMA). Superposition des courbes de Stejskal-Tanner obtenues par intégration des signaux OCH₂ (PBA) et OCH₃ (PMMA) (C₇D₈, 25°C)

La détermination du coefficient de diffusion à partir de la pente des courbes de Stejskal-Tanner montre comme dans le cas du traitement de la carte DOSY, l'existence d'un seul coefficient de diffusion ($\sim 37 \mu\text{m}^2\text{s}^{-1}$) pour le poly(MMA-*b*-BA-*b*-MMA)

Les deux méthodes de traitement des données RMN diffusionnelle confirment la fixation des blocs de PMMA et de PBA.

3. Mise en évidence des réactions secondaires en PRC par les nitroxydes

3.1 Quelques rappels bibliographiques

Les systèmes à base de nitroxyde sont définis par un processus réversible de dissociation/recombinaison selon le Schéma 9 :

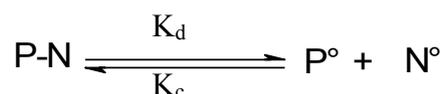


Schéma 9 : Equilibre entre espèces dormantes/actives

où P° représente un radical polymère, N° un nitroxyde et P-N l'espèce sous forme dormante.

La valeur de la constante de vitesse de dissociation (k_d) d'un adduit polymère-nitroxyde est essentielle dans l'évaluation de la performance du système considéré. La constante k_d définit le nombre moyen d'activations qu'une chaîne peut subir par unité de temps. Elle doit être suffisamment élevée pour assurer des temps de polymérisation acceptables, mais inférieure à une valeur seuil au-delà de laquelle la concentration en radicaux est trop élevée.

En polymérisation radicalaire contrôlée par les nitroxydes, les chaînes sous forme dormante (Schéma 9) peuvent se décomposer selon le Schéma 10.

Cette décomposition produit alors un polymère « mort » insaturé en bout de chaîne et une hydroxylamine. Cette dernière peut subir par la suite une oxydation par les chaînes en croissance⁹.

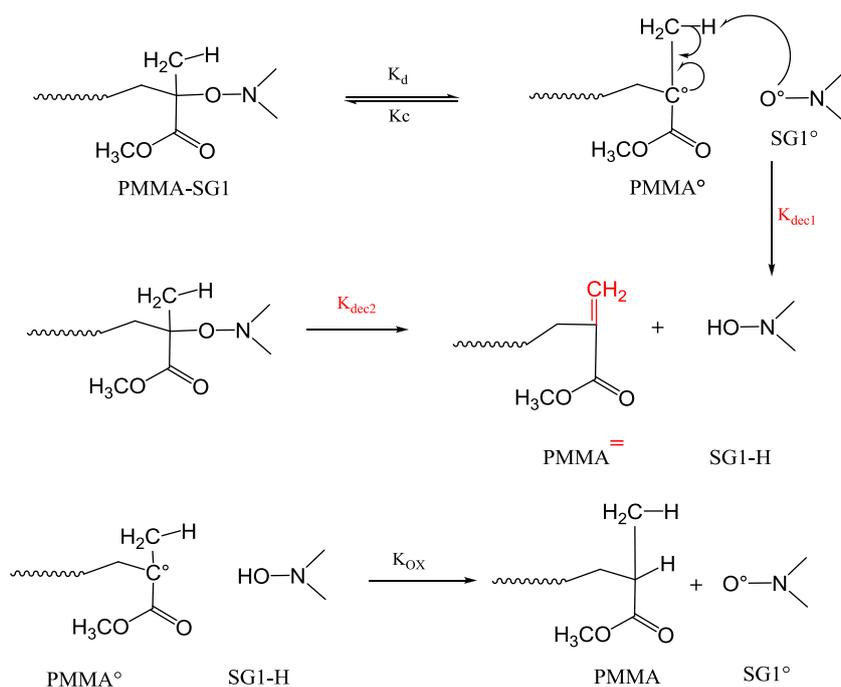


Schéma 10 : Décomposition d'une alcoxyamine à base de polyméthacrylate de méthyle.

La décomposition peut se produire par dismutation directe entre le nitroxyde et le radical polymère pendant la réaction de recombinaison réversible ($k_{\text{dec}1}$) et/ou par fragmentation directe de l'alcoxyamine¹⁰ ($k_{\text{dec}2}$). Ces réactions de décomposition furent en premier lieu observées par Li¹¹, puis étudiées cinétiquement par RMN par Fukuda¹² pour des (macro)alcoxyamines à base de TEMPO et de styrène.

Cette partie du chapitre III consiste à mettre en évidence la présence des réactions secondaires lors de la polymérisation radicalaire contrôlée par les nitroxydes. Pour cela, nous allons continuer l'étude sur les copolymères di et tribloc à base de MMA et BA en mettant en avant les atouts de la RMN diffusionnelle.

3.2 Etude par RMN¹H de copolymères di et triblocs

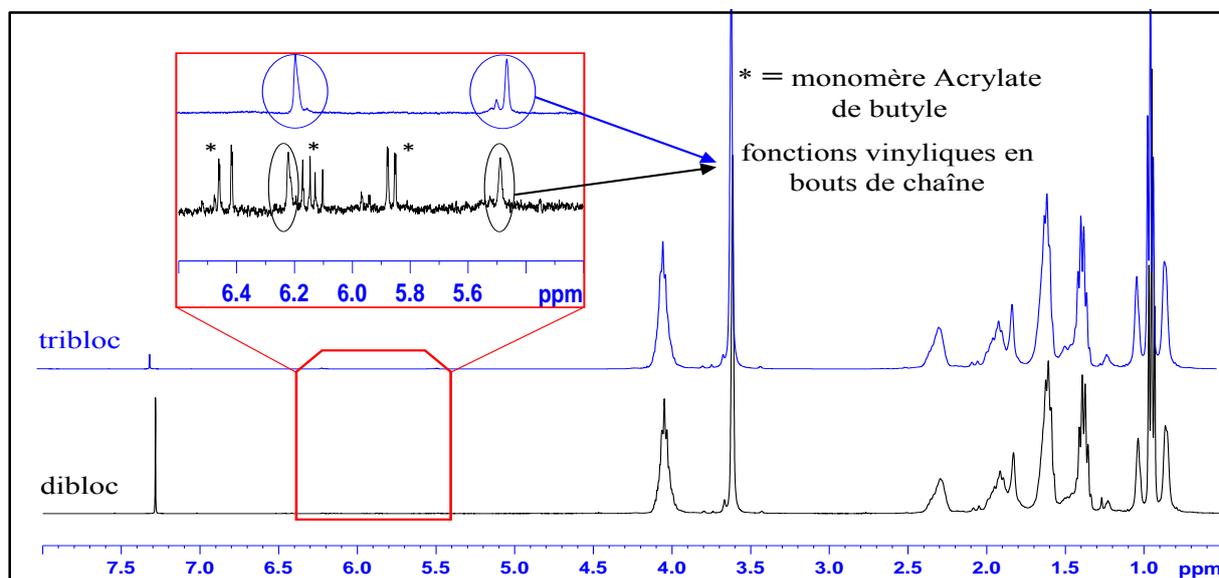


Figure 20 : Superposition des spectres ¹H du dibloc et tribloc (CDCl₃, 25°C)

Dans la région des protons vinylique de la Figure 20 (entre 5 et 7 ppm), l'analyse par RMN¹H montre la présence de signaux bien résolus ainsi que de pics plus larges. Nous ne pouvons pas savoir par une simple RMN¹H, si ces doubles liaisons appartiennent aux monomères résiduels ou bien s'ils sont fixés en bout de chaînes des copolymères. Nous faisons appel à la RMN DOSY pour vérifier l'environnement chimique de ces instaurations.

3.3 Etude par RMN DOSY de copolymères di et triblocs

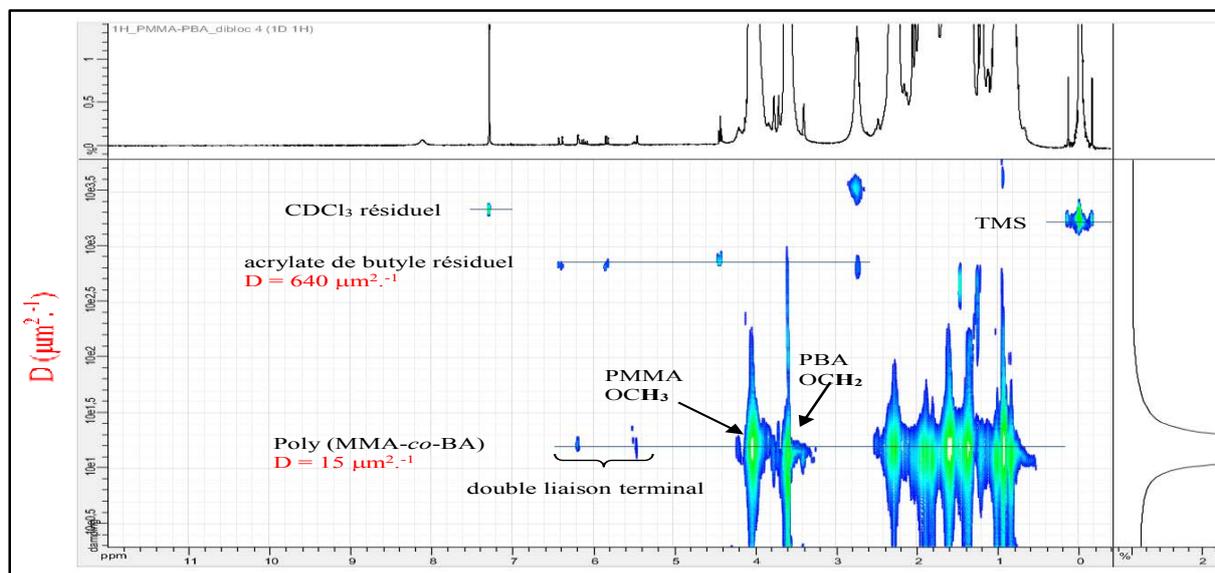


Figure 21 : Spectre DOSY du poly(MMA-*b*-BA) (CDCl₃, 25°C)

La carte DOSY du copolymère dibloc présentée sur la Figure 21, montre la présence d'une molécule de petite taille ($D=640 \mu\text{m}^2/\text{s}$) dont la structure déterminée par RMN¹H est attribuée au monomère d'acrylate de butyle.

Nous notons également la présence d'un groupement vinyle qui diffuse avec le même coefficient que le dibloc ($D=15 \mu\text{m}^2/\text{s}$). Nous nous trouvons donc en présence d'un copolymère de masse élevée dont les extrémités sont fonctionnalisées par un groupement vinyle (Figure 20).

Nous venons de mettre en évidence la présence de doubles liaisons en bouts de chaîne du poly(MMA-*b*-BA). La double liaison terminale est probablement le résultat de la réaction de dismutation due à la décomposition de l'alkoxyamine (Schéma 10). Elle peut correspondre également au produit de la réaction entre deux radicaux terminés par une unité méthyl méthacrylate en présence de SG1 en excès¹³ (Schéma 11).

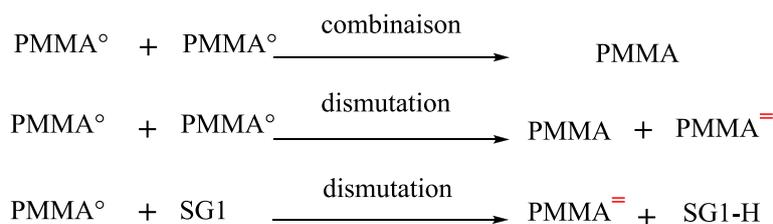


Schéma 11: Réaction de terminaison dans la polymérisation du MMA en présence de SG1

Il est à noter que les pics relatifs à cette double liaison sont parfois larges, signe de la présence de plusieurs espèces insaturées.

3.4 Analyse du tribloc poly(MMA-*b*-BA-*b*-MMA) synthétisé par voie anionique

Nous avons caractérisé par RMN DOSY deux copolymères, le **poly(MMA-*b*-BA)** et le **poly(MMA-*b*-BA-*b*-MMA)**. Ces deux matériaux synthétisés par voie anionique nous ont été fournis par l'entreprise KURARAY. L'objectif de cette étude est de montrer par la technique RMN l'absence de réaction de terminaison et de transfert. En effet l'obtention de polymères bien définis par Szwarc¹⁴ repose sur l'élimination des réactions de terminaison et de transfert dans le cas des polymérisations en chaîne. Cela vient de la nature même des centres actifs utilisés : des anions, qui se repoussent empêchant les réactions de terminaison. De plus, les autres processus de rupture de chaînes sont évités par des techniques de vide poussé afin de minimiser les traces d'eau (<1 ppm) et d'air qui pourraient détruire les anions des chaînes en croissance.

3.4.1 Analyse par RMN DOSY

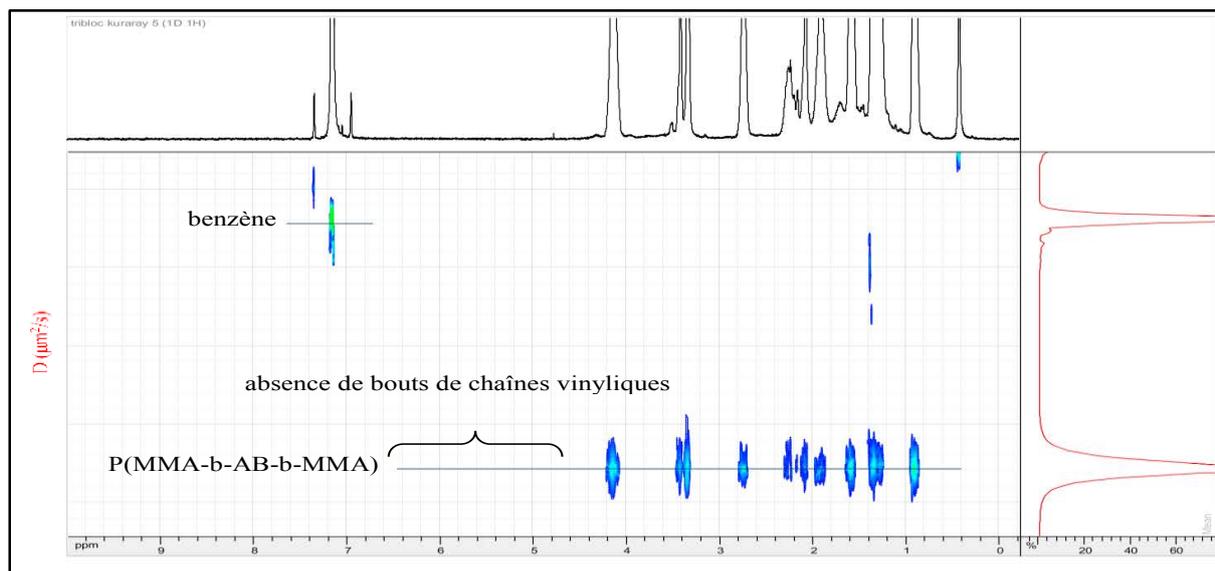


Figure 22 : Spectre DOSY du poly(MMA-*b*-BA-*b*-MMA) synthétisé par voie anionique (C₆D₆, 25°C)

La carte DOSY (Figure 22) correspondant à l'analyse du tribloc, montre que le PMMA et le PBA apparaissent sur la même ligne dans la dimension de diffusion, les deux blocs possédant le même coefficient de diffusion ($52 \mu\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$) appartiennent donc à la même entité diffusante. Nous notons également qu'aucune double liaison terminale n'a été détectée par RMN lors de cette analyse

En résumé :

Au cours de la polymérisation radicalaire contrôlée par les nitroxydes, les doubles liaisons terminales ont été mises en évidence par la RMN DOSY. Leur présence s'explique par des possibilités de réaction de dismutation et non pas des traces résiduelles de monomères.

*Dans le cas de la polymérisation anionique, aucune insaturation n'a été détectée lors de l'analyse par RMN du poly(MMA-*b*-BA-*b*-MMA) ceci confirme l'absence de réaction secondaires dans ce type de polymérisation.*

4. Détermination de M_w à partir du coefficient d'autodiffusion D

4.1 Introduction

Les masses molaires moyennes sont parmi les paramètres les plus importants qu'il convient de caractériser pour un polymère. Comme cela a été souligné au chapitre II, la RMN quantitative du proton donne accès à la masse moyenne en nombre des polymères, à condition que la résolution spectrale soit suffisante et qu'au moins un signal des groupements terminaux soit identifié. Lorsque ces conditions ne sont pas réunies, la technique DOSY/PGSE pourrait être l'alternative. En effet, d'après l'équation de Stokes-Einstein (équation 1), la diffusion est proportionnelle au rayon hydrodynamique de la molécule considérée comme sphérique. Connaissant le coefficient de diffusion, la taille de la molécule peut donc être estimée.

Dans la mesure où la conformation adoptée par le polymère en solution n'est pas fonction de sa masse molaire (« random coil »), la loi empirique de Flory¹⁵ fait état que :

$$D = KM_w^{-\alpha} \quad \text{Eq.6}$$

où :

- D : coefficient de diffusion
- M_w : masse molaire moyenne en masse
- K : constante dépendante de la nature du polymère
- α : coefficient dépendant de la forme du polymère.

K et α sont fixés pour un polymère donné en solution très diluée. Il est donc possible d'établir une courbe d'étalonnage en portant sur un graphe doublement logarithmique le coefficient d'autodiffusion D (obtenu par RMN PGSE) en fonction de la masse molaire M_w d'un nombre donné d'étalons. La courbe d'étalonnage ainsi obtenue permet d'évaluer la masse moléculaire de n'importe quel polymère de même nature.

Pour faire face à d'éventuels *effets de concentration* (agrégation, micellisation,...), les courbes d'étalonnage sont établies à partir de solutions diluées de polymère et réalisées sur une large gamme de masses encadrant la masse de l'échantillon à analyser. Le polymère à analyser doit

ensuite être préparé à la même concentration, c'est à dire à une concentration inférieure à la concentration critique de recouvrement.

4.2 Concentration critique de recouvrement (C^* appelé C star)

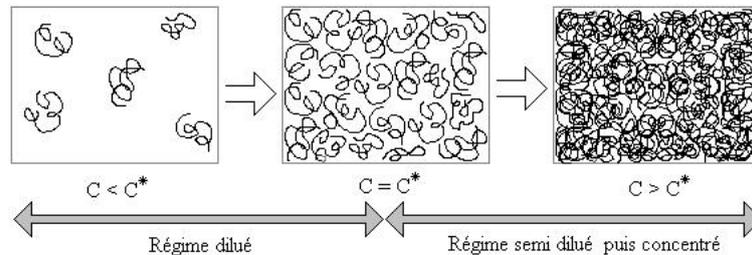


Figure 23 : Effet d'une augmentation de la concentration sur les pelotes de polymère en solution

Pour des raisons entropiques, les chaînes de polymère ne sont pas dépliées mais elles se contractent sur elles-mêmes pour former des *pelotes*. Il existe une concentration spéciale, appelée concentration de recouvrement (ou seuil), C^* , telle que les chaînes arrivent les unes sur les autres et se touchent sans s'interpénétrer (Figure 23). Dans ce cas on a pavage complet de la solution par des pelotes.

Il existe différents régimes, selon la concentration et la masse du polymère en solution. Lorsqu'on augmente la concentration, la distance entre pelotes diminue, il y a contact entre ces dernières et on appelle alors *concentration critique de recouvrement* la concentration associée. Elle marque la transition entre le *régime dilué* et le *régime semi dilué*.

4.3 Préparation des courbes d'étalonnage

Ces courbes d'étalonnage vont nous permettre de déterminer la masse moyenne en masse d'un homopolymère par une simple mesure de son coefficient d'autodiffusion. La mesure se fait dans les mêmes conditions expérimentales que celles ayant permis d'établir les courbes d'étalonnage. A l'image de la SEC, les résultats pourraient être exprimés en termes « d'équivalents standards ».

Afin de balayer une large gamme de polymères, nous avons choisi quatre séries d'homopolymères commerciaux. Leur coefficient d'autodiffusion calculé par RMN/PGSE a été reliée à la masse moyenne en poids (M_w), les courbes d'étalonnage ainsi obtenues sont présentées sur la Figure 24 qui regroupe les séries de, poly(oxyde d'éthylène), dextrane,

polystyrène, et de poly(méthacrylate de méthyle). Les séries des standards polymères ainsi que leur coefficient de diffusion sont représentées dans le Tableau 6.

POE (D ₂ O)		DEXTRANE (D ₂ O)		PS (C ₆ D ₆)		PS (CDCl ₃)		PMMA (C ₆ D ₆)	
D (μm ² /s)	Mw (g/mol)	D (μm ² /s)	Mw (g/mol)	D (μm ² /s)	Mw (g/mol)	D (μm ² /s)	Mw (g/mol)	D (μm ² /s)	Mw (g/mol)
347	400	118	5000	323	2000	266.7	4000	244.1	3800
119	3000	78.8	12000	234	4000	124.3	17500	181.2	6950
56.2	12000	54.4	25000	150	9000	70.41	47700	127	14300
26.6	35000	37.2	50000	115	17500	38.63	120200	82.97	28300
10.9	108000	21.4	150000	63.5	47500	28.63	380000	58.54	53000
4.86	235000	16.3	270000	36.1	120000	/	/	34.99	107000
/	/	13.6	410000	27.3	207700	/	/	/	/
/	/	/	/	19.4	442000	/	/	/	/

Tableau 6 : Détermination du coefficient de diffusion par RMN/PGSE de quatre séries d'homopolymères de taille différente (POE, dextrane, PS et PMMA) (D₂O, 25°C)

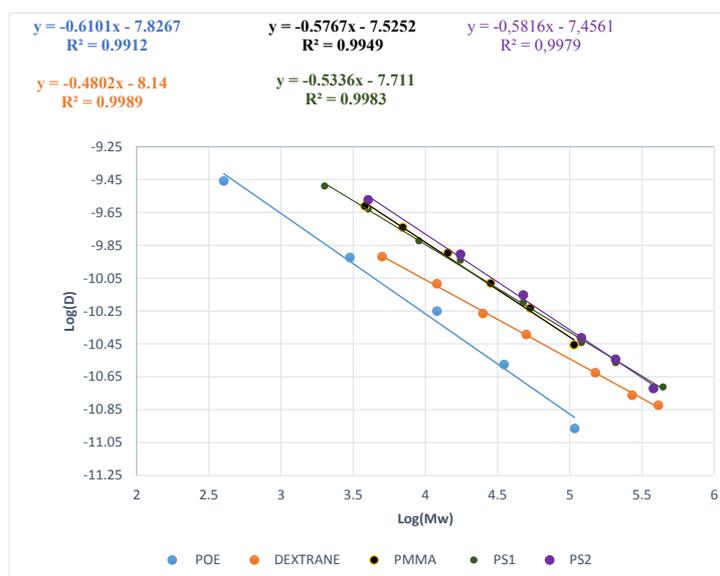


Figure 24 : Courbes d'étalonnage à 25°C du : POE et dextrane, (D₂O) PS1 et PMMA (C₆D₆), PS2 (CDCl₃)

Nous observons une parfaite linéarité ($R^2 > 99\%$) en accord avec l'équation de Flory (équation. 6) ; le paramètre α pour chaque standard est alors déterminé en calculant la pente de la droite des courbes de calibration, nous trouvons alors :

$$\alpha^{\text{POE}} = -0.61, \alpha^{\text{dextrane}} = -0.48, \alpha^{\text{PS}} = -0.53 \text{ et } \alpha^{\text{PMMA}} = -0.57.$$

Les expériences ont été enregistrées à 25°C dans D₂O (POE et dextrane), dans C₆D₆ (PS et PMMA) et dans CDCl₃ (PS). Les analyses ont été faites à différentes concentrations afin de

s'assurer que les échantillons analysés étaient suffisamment dilués ($C < C^*$). Une concentration de 2 mg.mL^{-1} a ainsi été choisie.

Il est à noter que, dans la mesure où la température et les gradients appliqués sont correctement calibrés, les coefficients de diffusion obtenus par RMN PGF-SE ne dépendent pas du spectromètre RMN utilisé. De fait, une courbe d'étalonnage établie sur un instrument donné peut être utilisée pour estimer une valeur de D , et donc évaluer un paramètre M_w , à partir de n'importe quel autre spectromètre¹⁶.

Comme décrit dans le premier chapitre, la stabilité de la température d'analyse par RMN diffusionnelle est un paramètre très important à régler pendant les expériences. La température a été ajustée à 25°C par un flux d'air d'environ 545 L.h^{-1} , la calibration a été faite avec du méthanol- d_4 par mesure de l'écart de déplacement chimique entre le CH_3 et le OH en fonction de la température¹⁷. La séquence d'impulsions mise en jeu est basée sur un double écho stimulé et utilise des impulsions de gradient de champs magnétiques bipolaires (microprogramme Bruker : *dstebpgp3s*). Cette séquence limite les effets de la convection et réduit l'impact des courants de Foucault générés par les impulsions de gradient.

4.4 Détermination du M_w d'homopolymères et de bloc à base de PMMA

A l'heure actuelle, la polymérisation radicalaire contrôlée par les nitroxydes ne permet pas de contrôler la famille des polymères méthacryliques^{18,19}. Les travaux concernant la polymérisation du méthacrylate de méthyle par les méthodes usuelles montrent sans ambiguïté que la voie NMP ne présente que peu de résultats satisfaisants par rapport à l'ATRP ou à la RAFT. En effet, ces dernières méthodes permettent de synthétiser aisément des PMMA de masses molaires prédictibles et relativement élevées avec des indices de polymolécularité faibles, tout en atteignant des conversions élevées. Néanmoins, en présence de nitroxydes acycliques tel que le SG1, il semblerait que le meilleur moyen d'atteindre un bon contrôle en NMP soit de réduire de manière significative la constante d'équilibre d'activation/désactivation. Cela aurait pour conséquence de réduire la concentration instantanée en radicaux propageant et donc de diminuer l'apparition des réactions de terminaison

irréversibles. L'une des possibilités, purement basée sur l'aspect cinétique, est de copolymériser le MMA avec une faible quantité de styrène en présence de SG1²⁰.

A ce stade de notre étude, nous allons mettre à profit la technique de RMN diffusionnelle (DOSY /PGSE) pour suivre le contrôle de la polymérisation du MMA avec et sans rajout de comonomères (styrène). Ensuite le caractère vivant des polymères ainsi formés, c'est-à-dire leur aptitude à réamorcer une polymérisation va être aussi étudiée par suivi de l'évolution de M_w en fonction du temps de conversion. La masse moyenne en masse (M_w) sera déterminée à partir des courbes étalons de la Figure 24 et du coefficient d'autodiffusion calculé par RMN/PGF-SE.

4.4.1 Synthèse d'homopolymères PMMA avec ou sans ajout de styrène

Deux homopolymères à base de *méthacrylate de méthyle* ont été synthétisés à 80°C, par polymérisation radicalaire contrôlée en présence de SG1 (NMP). La synthèse est effectuée avec et sans ajout de 10% de styrène dans le milieu réactionnel.

Des prélèvements ont été réalisés au cours de ces deux synthèses, et ce après : 10 min, 20 min, 40 min, 60 min, 120 min 150 min, 180 min et 240 min de réaction. Le suivie cinétique par RMN ¹H de la polymérisation du méthacrylate de méthyle est présenté en annexe 4 et 5. Pour chaque prélèvement le coefficient d'autodiffusion a été mesuré par RMN/PGSE dans les mêmes conditions que les analyses des homopolymères standards (C₆D₆, 25°C avec une concentration de 2 mg/mL). La valeur de M_w a été déterminée grâce à la courbe étalon des standards PMMA (Figure 24). Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 7 :

t (min)	PMMA		P(MMA-co-S)	
	D (μm ² /s)	Mw (g/mol)	D (μm ² /s)	Mw (g/mol)
10	112	16100	183	6850
20	112	16100	188	6540
60	112	16100	158	8880
120	112	16100	137	11300
150	112	16100	132	12100
180	107	17500	127	12900
240	102	19000	112	16100

Tableau 7 : Valeurs du coefficient d'autodiffusion (D) et de la masse moyenne en poids (M_w) du PMMA et poly(MMA-co-S) en fonction du temps de conversion

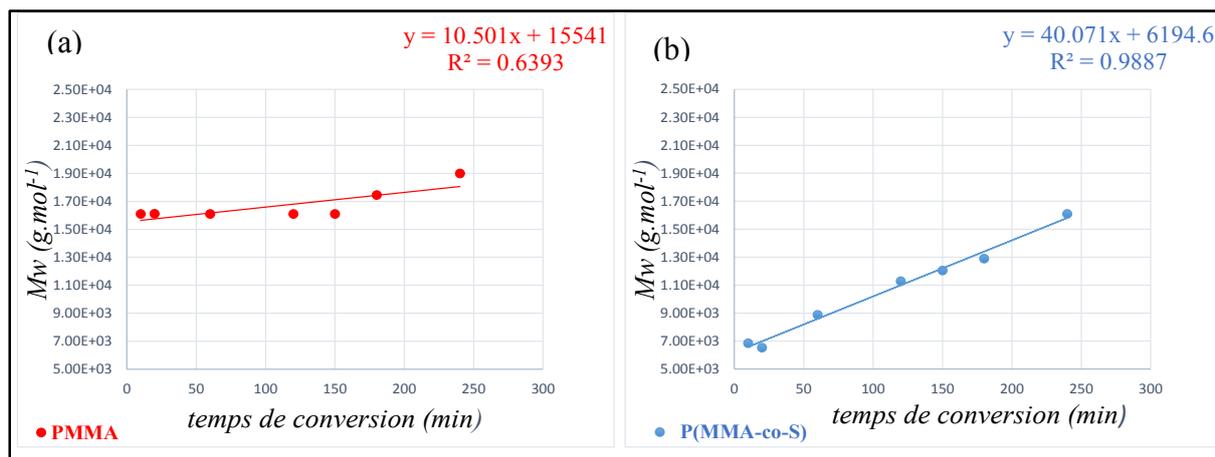


Figure 25 : Variation de la masse moyenne en masse (M_w) en fonction du temps de conversion.
(a) : PMMA, (b) : poly(MMA-co-S)

En absence de styrène, la polymérisation du méthacrylate de méthyle s'arrête à faible conversion en très peu de temps, indiquant la prédominance des réactions de terminaison irréversibles. Le PMMA obtenu possède une masse moyenne en poids (M_w) de l'ordre de $16000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (Figure 25a) et ce, dès les premières minutes de réaction. A partir 180 min, nous remarquons une légère augmentation de M_w ($19000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) due probablement à des réactions secondaires mettant en jeu la double liaison terminale issue des réactions de dismutation (Schéma 10).

En revanche, lorsque 10% de styrène sont ajoutés, nous constatons que la valeur de M_w augmente linéairement en fonction du temps de conversion (Figure 25b) indiquant un bon contrôle de la réaction de polymérisation.

Les cartes DOSY ^1H montrant l'évolution des coefficients de diffusion du PMMA (synthétisé en présence et en absence du styrène) en fonction du temps sont présentées en annexe 8.

4.4.1.1 Carte DOSY/RMN du poly (MMA-co-s)

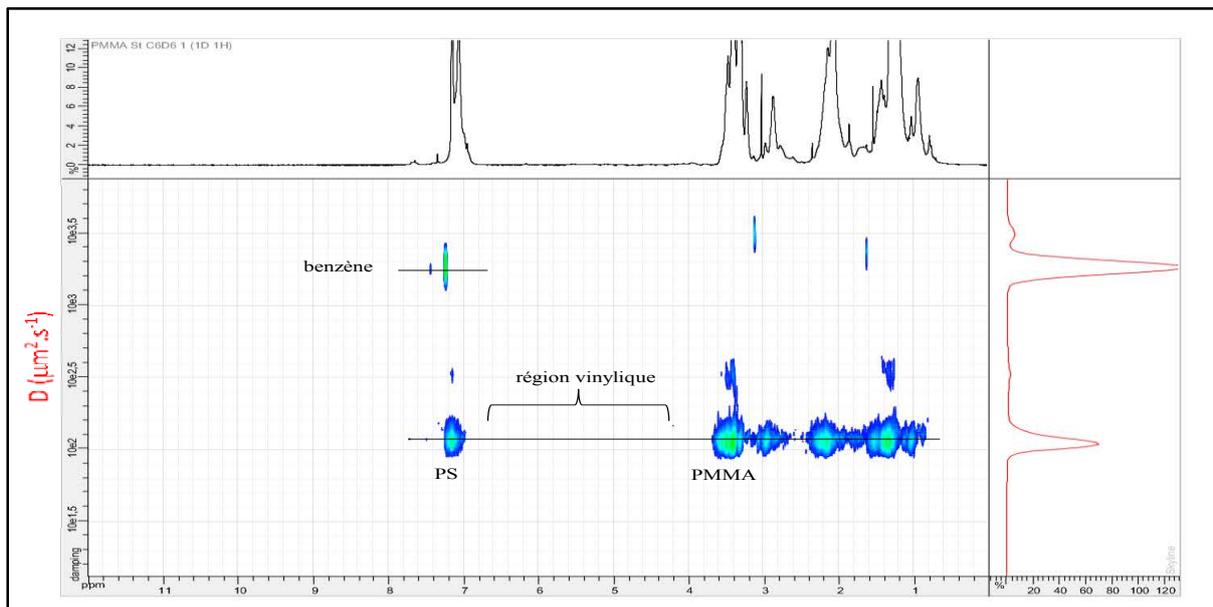


Figure 26 : Carte DOSY du poly(MMA-co-S) (synthèse avec ajout de styrène) (C_6D_6 , 25°C)

L'analyse du poly(MMA-co-S) ($t = 240$ min) par RMN DOSY présentée sur la Figure 26, ne détecte pas la présence de doubles liaisons terminales responsables de réactions de dismutation.

4.4.1.2 Carte DOSY/RMN du PMMA)

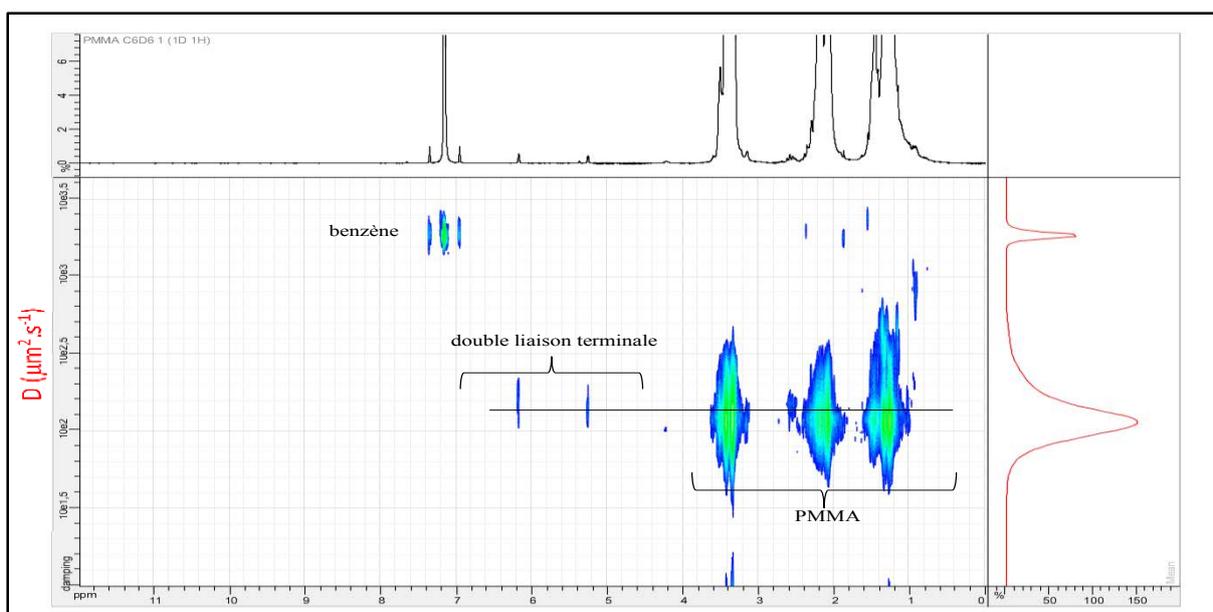


Figure 27 : Carte DOSY du PMMA (synthèse sans ajout de styrène) (C_6D_6 , 25°C)

Sur la Figure 27, des doubles liaisons en bout de chaînes de PMMA ont été détectées par RMN DOSY. Leur présence est due aux réactions de terminaison irréversibles empêchant le contrôle de la polymérisation du PMMA.

4.4.2 Synthèse de copolymères poly(MMA-*b*-BA) et poly(MMA-*co*-S)-*b*-PBA

Les deux homopolymères obtenus par polymérisation du MMA en présence et en l'absence de styrène, ont été par la suite utilisés comme macroamorceurs pour copolymériser le monomère d'acrylate de butyle.

L'objectif est de synthétiser deux blocs : le poly(MMA-*b*-BA) et le poly((MMA-*co*-S)-*b*-BA). Un excès de SG1 (6%) a été également introduit dans le milieu réactionnel. Des prélèvements ont été effectués après 30, 60, 150 et 240 min de réaction. Le suivi cinétique par RMN ¹H de la copolymérisation de l'acrylate de butyle est présenté en annexe 6 et 7.

Pour chaque analyse le coefficient d'autodiffusion a été mesuré par RMN/PGSE et la valeur de *M_w* a été déterminée grâce à la courbe étalon présentée sur la Figure 24. Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 8.

t (min)	PMMA		P(MMA- <i>co</i> -S)	
	D (μm ² /s)	M _w (g/mol)	D (μm ² /s)	M _w (g/mol)
30	102	19000	102	17500
60	107	17500	102	19000
150	107	17500	86.4	25200
240	107	17500	71.2	35300

Tableau 8 : Valeurs du coefficient d'autodiffusion (D) et de la masse moyenne en masse (M_w) des copolymères poly(MMA-*b*-BA) et poly((MMA-*co*-S)-*b*-BA) en fonction du temps de conversion

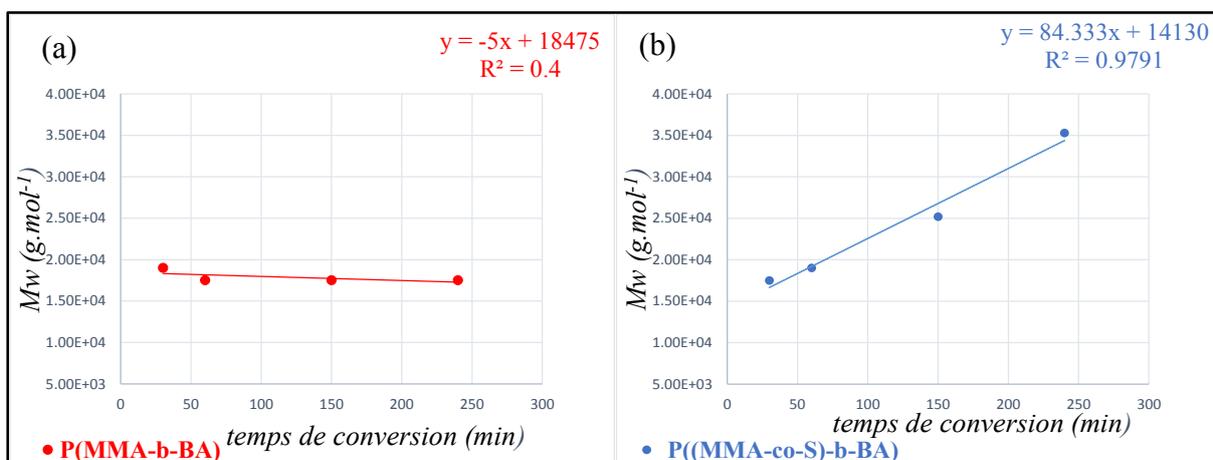


Figure 28 : Variation de la masse moyenne en masse en fonction du temps de conversion. (a): poly(MMA-*b*-BA), (b): poly((MMA-*co*-S)-*b*-BA).

La figure 28a montre clairement une constance dans la variation de la masse moyenne en nombre traduisant une conversion quasi nulle du monomère acrylate de butyle associée à une non activité du réamorçage des chaînes. En revanche sur la Figure 28b, nous observons une augmentation linéaire de la valeur de M_w en fonction du temps de conversion, au bout de quatre heures de réaction, nous obtenons une valeur de M_w de l'ordre de 35000 g.mol^{-1} et un taux de conversion de 43% (déterminée par RMN¹H), ce phénomène traduit un réamorçage des chaînes et donc une extension de leurs longueurs.

4.4.3 Synthèse de copolymères poly((MMA-co-S)-b-P4VP)

Le copolymère poly(MMA-co-S)-SG1 est utilisé comme macroamorceur cette fois-ci lors de la polymérisation en masse de la vinylpyridine. Trois copolymères ont été synthétisés et caractérisés par RMN DOSY afin de vérifier d'une part le caractère vivant du macroamorceur et d'autre part pour déterminer la valeur de M_w à partir du coefficient de diffusion et des courbes de calibration.

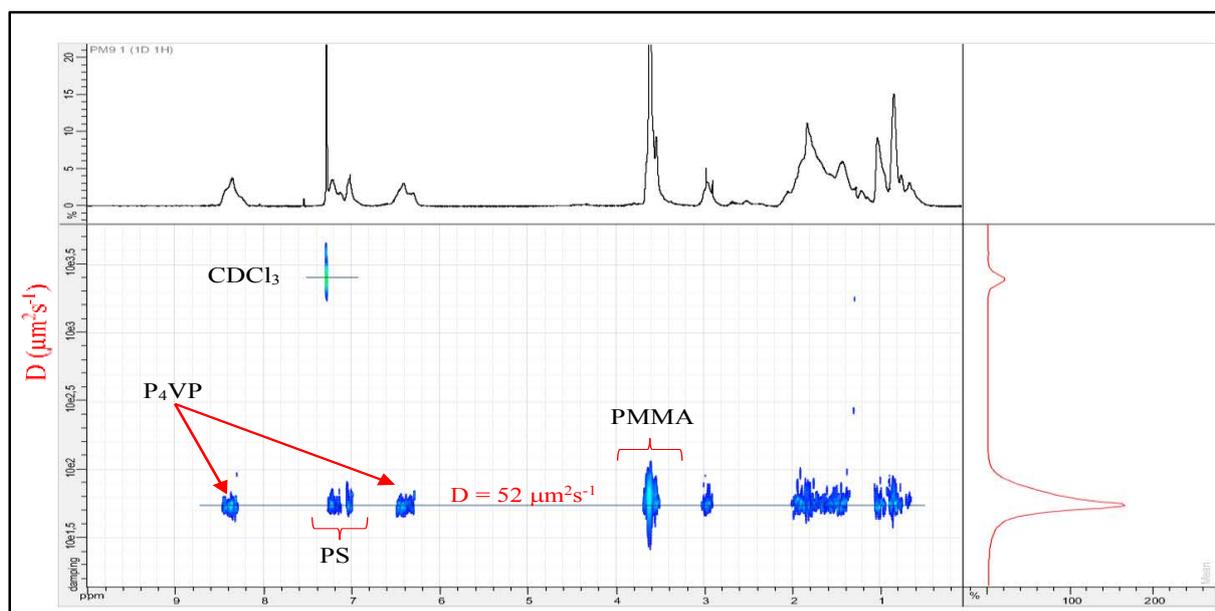


Figure 29 : Carte DOSY du poly((MMA-co-S)-b-P₄VP) (CDCl₃, 25°C)

La carte DOSY présentée sur la Figure 29, montre que les trois blocs, PS, PMMA et P₄VP sont bien fixés à la même entité diffusante ($D = 52 \mu\text{m}^2\text{s}^{-1}$). On peut donc confirmer l'incorporation du monomère vinylpyridine sur le macroamorceur poly(MMA-co-S)-SG1.

La masse moyenne en masse (M_w) de trois copolymères poly((MMA-co-S)-b-P₄VP) a été déterminée à partir de la mesure du coefficient d'autodiffusion et des courbes d'étalonnage de

la Figure 23. Les valeurs de M_w obtenues sont en accord avec celles déterminées par la SEC. (Tableau 9)

	D ($\mu\text{m}^2.\text{s}^{-1}$)	M_w ($\text{g}.\text{mol}^{-1}$) ^a	M_w ($\text{g}.\text{mol}^{-1}$) ^b
Copo1	52.1	66230	65000
Copo2	47.8E	77826	77400
Copo3	44.8	87798	85000

Tableau 9 : Détermination de la M_w par RMN (a) et par SEC (b)

En résumé :

La technique de RMN diffusionnelle nous a permis de :

- *lors de la copolymérisation radicalaire contrôlée par les nitroxydes, une nette amélioration de la polymérisation du méthacrylate de méthyle en présence de SG1 a été obtenue par l'ajout de 10% de styrène.*
- *la polymérisation a pu être conduite jusqu'à 37% de conversion (détermination par RMN ¹H) tout en présentant les caractéristiques d'un système contrôlé.*
- *le macroamorceur poly(MMA-co-S) a permis la synthèse de copolymères à bloc de type poly((MMA-co-S)-b-PAB) et poly((MMA-co-S)-b-P₄VP) avec différentes masses M_w prouvant ainsi le caractère vivant du macroamorceur.*

5. Conclusion

La séquence 2D HMBC et la technique de RMN/DOSY se sont avérées incontournables dans la caractérisation de deux exemples d'architectures complexes (dibloc et tribloc), à base de monomères acrylique.

La technique HMBC nous a permis de faire un lien direct entre tache de corrélation et architecture donnée. De ce fait, grâce aux différents spectres HMBC que nous avons obtenus avec une très bonne résolution spectrale, il est possible de différencier une structure dibloc d'une structure tribloc même dans le cas de mélanges.

La RMN diffusionnelle s'est montrée pertinente dans cette partie de travail. Elle a permis de mettre en évidence :

- ✓ la présence de doubles liaisons terminales au cours d'une polymérisation radicalaire contrôlée par les nitroxydes. Leur présence serait attribuable à des réactions de dismutation. Quant à la polymérisation anionique, aucune insaturation n'a été détectée lors de l'analyse du poly(MMA-*b*-BA-*b*-MMA) ce qui confirme l'absence de réactions secondaires dans ce type de polymérisation.
- ✓ une nette amélioration de la polymérisation du méthacrylate de méthyle en présence de SG1 a été mise en évidence par l'ajout d'une faible quantité de styrène.
- ✓ la synthèse de copolymères dibloc a également été abordée grâce au très fort caractère ré-amorçable des macroamorceurs poly(MMA-*co*-S).
- ✓ la masse moyenne en poids (M_w) de trois copolymères poly((MMA-*co*-S)-*b*-P₄VP) a été déterminée à partir de la mesure du coefficient d'autodiffusion et des courbes d'étalonnage, les valeurs de M_w sont en accord avec celles déterminées par SEC.

- (1) Stilbs, P. Molecular self-diffusion coefficients in Fourier transform nuclear magnetic resonance spectrometric analysis of complex mixtures. *Anal. Chem.* **1981**, *53*, 2135–2137.
- (2) E. Durand, M. C. H-1 diffusion-ordered spectroscopy (DOSY) nuclear magnetic resonance (NMR) as a powerful tool for the analysis of hydrocarbon mixtures and asphaltenes. *Energy Amp Fuels* **2008**, *22*, 2604–2610.
- (3) Gostan, T.; Tramesel, D.; Brun, E.; Prigent, Y.; Delsuc, M.-A. L’expérience DOSY, une puissante methode RMN pour l’analyse de melanges complexes et la detection de traces. *Spectra Anal.* **2004**, *33*, 26–32.
- (4) Morris, K. F.; Johnson, C. S. Diffusion-ordered two-dimensional nuclear magnetic resonance spectroscopy. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 3139–3141.
- (5) Viel, S.; Mazarin, M.; Giordanengo, R.; Phan, T. N. T.; Charles, L.; Caldarelli, S.; Bertin, D. Improved compositional analysis of block copolymers using Diffusion Ordered NMR Spectroscopy. *Anal. Chim. Acta* **2009**, *654*, 45–48.
- (6) Li, W.; Chung, H.; Daeffler, C.; Johnson, J. A.; Grubbs, R. H. Application of ¹H DOSY for facile measurement of polymer molecular weights. *Macromolecules* **2012**, *45*, 9595–9603.
- (7) Marc-André Delsuc, T. E. M. Maximum entropy processing of DOSY NMR spectra. *Anal Chem* **1998**, *70*, 2146–2148.
- (8) Stejskal, E. O.; Tanner, J. E. Spin Diffusion Measurements: Spin Echoes in the Presence of a Time-Dependent Field Gradient. *J. Chem. Phys.* **1965**, *42*, 288.
- (9) Gridnev, A. A. Hydrogen Transfer Reactions of Nitroxides in Free Radical Polymerizations†. *Macromolecules* **1997**, *30*, 7651–7654.
- (10) Skene, W. G.; Scaiano, J. C.; Yap, G. P. A. An Improved Mimetic Compound for Styrene “Living” Free Radical Polymerization. An Initiator Containing the “Penultimate” Unit. *Macromolecules* **2000**, *33*, 3536–3542.
- (11) Li, I.; Howell, B. A.; Matyjaszewski, K.; Shigemoto, T.; Smith, P. B.; Priddy, D. B. Kinetics of decomposition of 2,2,6,6-tetramethyl-1-(1-phenylethoxy)piperidine and its implications on nitroxyl-mediated styrene polymerization. *Macromolecules* **1995**, *28*, 6692–6693.
- (12) Ohno, K.; Tsujii, Y.; Fukuda, T. Mechanism and Kinetics of Nitroxide-Controlled Free Radical Polymerization. Thermal Decomposition of 2,2,6,6-Tetramethyl-1-polystyroxypiperidines. *Macromolecules* **1997**, *30*, 2503–2506.

- (13) Mchale, R.; Aldabbagh, F.; Zetterlund, P. B. The role of excess nitroxide in the SG1 (N-tert-butyl-N-[1-diethylphosphono-(2,2-dimethylpropyl)] nitroxide)-mediated polymerization of methyl methacrylate. *J. Polym. Sci. Part Polym. Chem.* **2007**, *45*, 2194–2203.
- (14) Szwarc, M. *Ions and Ion Pairs in Organic Reactions*; Volume 1 edition.; Wiley: New York, 1972.
- (15) Feldman, D. The theory of polymer dynamics, by M. Doi and S. F. Edwards, the Clarendon Press, Oxford University Press, New York, 1986, 391 pp. Price: \$78.50. *J. Polym. Sci. Part C Polym. Lett.* **1989**, *27*, 239–240.
- (16) Mazarin, M.; Viel, S.; Allard-Breton, B.; Thévand, A.; Charles, L. Use of pulsed gradient spin-echo NMR as a tool in MALDI method development for polymer molecular weight determination. *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 2758–2764.
- (17) Hoffman, R. E. Standardization of chemical shifts of TMS and solvent signals in NMR solvents. *Magn. Reson. Chem.* **2006**, *44*, 606–616.
- (18) Moad, G.; Anderson, A. G.; Ercole, F.; Johnson, C. H. J.; Krstina, J.; Moad, C. L.; Rizzardo, E.; Spurling, T. H.; Thang, S. H. *Controlled-Growth Free-Radical Polymerization of Methacrylate Esters: Reversible Chain Transfer versus Reversible Termination*; ACS Symposium Series; 1998; Vol. 685.
- (19) Burguière, C.; Dourges, M.-A.; Charleux, B.; Vairon, J.-P. Synthesis and characterization of ω -unsaturated poly(styrene-*b*-*n*-butyl methacrylate) block copolymers using TEMPO-mediated controlled radical polymerization. *Macromolecules* **1999**, *32*, 3883–3890.
- (20) Nicolas, J.; Dire, C.; Mueller, L.; Belleney, J.; Charleux, B.; Marque, S. R. A.; Bertin, D.; Magnet, S.; Couvreur, L. Living Character of Polymer Chains Prepared via Nitroxide-Mediated Controlled Free-Radical Polymerization of Methyl Methacrylate in the Presence of a Small Amount of Styrene at Low Temperature. *Macromolecules* **2006**, *39*, 8274–8282.

Chapitre IV :
Auto-association, encapsulation et
relargage

Chapitre IV : Auto-association, encapsulation et relargage

Sommaire

1. Introduction	179
2. Détermination de la CMC par les techniques de RMN classiques	181
2.1 DodécylSulfate de Sodium (SDS)	181
2.2 Triton X-100 (TX100).....	183
3. Détermination de la CMC par DOSY/RMN	185
3.1 Organisation sous forme de micelles sphériques.....	185
3.2 Dodécylsulfate de sodium (SDS)	186
3.3 Triton X-100 (TX100).....	187
4. Application à l'étude de micelles mixtes	188
4.1 Caractérisation des micelles mixtes par RMN classique.....	189
4.2 Caractérisation par RMN/DOSY	191
5. Encapsulation et relargage de principe actif	194
5.1 Introduction	194
5.2 Auto-assemblage de molécules amphiphiles	195
5.2.1 Les micelles à base de polymères.....	195
6. Etude qualitative de l'encapsulation et suivi de libération du principe actif	196
6.1 Préparation des solutions micellaires en présence de benzophénone.....	196
6.2 Etude de l'encapsulation et relargage de la benzophénone (Bz) par le vecteur Triton X-100 (TX-100).....	197
6.2.1 Analyse par RMN ¹ H.....	197
6.2.2 Analyse par RMN diffusionnelle.....	200
6.3 Interaction dipolaire et détermination de proximités spatiales inter et intramoléculaires : RMN NOESY.....	206
6.3.1 Principe.....	206
6.3.2 Analyse par RMN NOESY du système TX-100 Bz.....	207
6.4 Etude de l'encapsulation et relargage de la benzophénone (Bz) par le vecteur Pluronic F127.	209
6.4.1 Analyse par RMN ¹ H.....	209
6.4.2 Analyse par RMN diffusionnelle.....	211

6.4.3	Analyse par RMN bidimensionnelle NOESY	217
7.	Conclusion	220

Liste des Figures

Figure 1 :	Spectres ¹ H de solutions de SDS préparées à différentes concentrations (D ₂ O, 25°C)	181
Figure 2 :	(a) Agrandissement de la zone du déplacement chimique du groupement terminal CH ₃ du SDS,	182
Figure 3 :	(a) Agrandissement de la zone CH ₂ en position α de groupements sulfate,	182
Figure 4 :	Spectres ¹ H de solutions de Triton X100 préparées à différentes concentrations (D ₂ O, 25°C)	183
Figure 5 :	Spectres ¹ H de solutions micellaires du Triton X-100 (a) agrandissement zone aromatique, (b) agrandissement zone aliphatique correspondant au tertiobutyle du TX100	184
Figure 6 :	Variation du déplacement chimique du groupement tertiobutyle	184
Figure 7 :	Courbe montrant l'évolution du coefficient de diffusion	187
Figure 8 :	Courbe montrant l'évolution du coefficient de diffusion	187
Figure 9 :	Spectres ¹ H de solutions de micelle mixte Triton X100/SDS (D ₂ O, 25°C)	190
Figure 10 :	Spectres ¹ H de solutions de micelles mixtes Triton X100 /SDS,	190
Figure 11 :	Variation du déplacement chimique de SDS1 et TX1 en fonction de la concentration en SDS	191
Figure 12 :	Evolution des coefficients de diffusion (D) en fonction de la concentration en SDS,	193
Figure 13 :	Spectres ¹ H du Triton X-100 (5 % en poids) en présence de différentes concentrations en benzophénone (D ₂ O, 25°C)	197
Figure 14 :	Agrandissement de la zone aliphatique	198
Figure 15 :	Suivi de la variation du déplacement chimique des protons du groupement tertiobutyle	198
Figure 16 :	Suivi de la variation du déplacement chimique des protons du groupement tertiobutyle (a)	199
Figure 17 :	Spectre DOSY du TX-100 (5 % en poids) benzophénone (2.7 mM) (D ₂ O, 25°C)	200
Figure 18 :	Superposition des courbes de Stejskal-Tanner obtenues par intégration des signaux caractéristiques de la benzophénone et du copolymère Triton X-100 (D ₂ O, 25°C)	201
Figure 19 :	Spectre DOSY du TX-100 (5 % en poids) benzophénone (2.7 mM) (D ₂ O, 40°C)	201
Figure 20 :	Superposition des courbes de Stejskal-Tanner obtenues par intégration des signaux caractéristiques de la benzophénone et du copolymère Triton X-100 (D ₂ O, 40°C)	202
Figure 21 :	Effet de la concentration en benzophénone sur la valeur du Rayon hydrodynamique (Rh) du	203
Figure 22 :	Effet de la concentration en benzophénone sur le Rayon hydrodynamique (Rh) du	204
Figure 23 :	Effet de la température sur le Rayon Hydrodynamique (Rh) du TX100 (5 % en poids)_Bz (5.4 mM)	205
Figure 24 :	Carte bidimensionnelle NOESY du TX-100 (5 % en poids) benzophénone (2.7 mM) (D ₂ O, 25°C)	207
Figure 25 :	Carte bidimensionnelle du TX-100 (5 % en poids)_benzophénone (2.7 mM). (D ₂ O, 25°C) Agrandissement de la région 7.6-6 ppm (benzophénone) et de la région 4.4-0 ppm (Triton-X100) ..	207
Figure 26 :	Carte bidimensionnelle du TX-100 (5 % en poids) benzophénone (2.7 mM) (D ₂ O, 40°C)	208
Figure 27 :	Carte bidimensionnelle du TX-100 (5 % en poids) benzophénone (2.7 mM) (D ₂ O, 40°C)	209
Figure 28 :	Spectres ¹ H du Pluronic F127 (5 % en poids) en présence de différentes concentrations en benzophénone (D ₂ O, 25°C)	210
Figure 29 :	Agrandissement de la région des déplacements chimiques du groupement méthyle du POP	210

Figure 30 : Spectre DOSY du Pluronic F127 (5 % en poids)_benzophénone (2.7 mM). (D ₂ O, 25°C)	211
Figure 31 : Superposition des courbes de Stejskal-Tanner obtenues par intégration des signaux caractéristiques de la benzophénone et du copolymère Pluronic F127 (D ₂ O, 25°C)	212
Figure 32 : Superposition des courbes de Stejskal-Tanner obtenues par intégration des signaux caractéristiques de la benzophénone et du copolymère Pluronic F127 (D ₂ O, 40°C)	212
Figure 33 : Spectre DOSY du Pluronic F127 (5 % en poids)_benzophénone (2.7 mM) (D ₂ O, 40°C)	213
Figure 34 : Effet de la concentration en benzophénone sur le Rayon Hydrodynamique (Rh)	214
Figure 35 : Effet de la concentration en benzophénone sur le Rayon Hydrodynamique (Rh)	215
Figure 36 : Effet de la température sur le Rayon Hydrodynamique (Rh) du PF127 (5 % en poids)_Bz (5.4 mM)	216
Figure 37 : Carte bidimensionnelle du Pluronic F127 (5 % en poids)_benzophénone (2.7 mM) (D ₂ O, 25°C)	217

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Variation du déplacement chimique de SDS1 et TX1 en fonction de la concentration en SDS	190
Tableau 2 : Variation du coefficient de diffusion (D) et du rayon hydrodynamique (Rh) du SDS et du TX100	192
Tableau 3 : Variation du coefficient de diffusion (D) et du rayon hydrodynamique (Rh) du TX100 (5 % en poids)_Bz en fonction de la température et de la concentration en tensioactif	203
Tableau 4 : Effet de la température et de la concentration en benzophénone sur la valeur du Rayon hydrodynamique (Rh) des micelles de PF127 (5 % en poids)_Bz	214
Tableau 5 : Effet de la température et de la concentration en benzophénone sur la valeur du Rayon hydrodynamique (Rh) des micelles de PF127 (5 % en poids)_Bz	214

1. Introduction

Un tensioactif ou surfactant est un composé qui modifie la tension superficielle entre deux surfaces ou interfaces. Les composés tensioactifs sont des molécules amphiphiles, c'est-à-dire qu'elles présentent deux parties de polarités différentes, l'une lipophile (qui retient les matières grasses) et apolaire, l'autre hydrophile (miscible dans l'eau) et polaire. Ils permettent ainsi de solubiliser deux phases non miscibles, en interagissant, par sa partie hydrophobe avec la phase apolaire (c'est-à-dire lipophile donc hydrophobe), tandis que sa partie hydrophile sera en interaction avec la phase polaire.

Les molécules hydrophiles sont caractérisées par leur affinité élevée pour des solvants polaires. Ces molécules vont créer des liaisons hydrogène avec les molécules d'eau sans trop perturber la structure locale de celles-ci, cette dernière étant également régie par des liaisons hydrogène.

En revanche, les molécules hydrophobes comme les hydrocarbures, perturbent fortement cette structure. Leur interaction avec l'eau est défavorable d'un point de vue énergétique. Ces molécules vont donc s'agréger lorsqu'elles sont en solution afin de limiter la surface de contact avec le solvant.

Une espèce chimique (molécule ou ion) est dite amphiphile lorsqu'elle possède à la fois un groupe hydrophile et un groupe hydrophobe.

Le groupe hydrophobe est généralement une longue chaîne carbonée de la forme $:\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n$, avec n compris entre 4 et 16. Il peut être ramifié, contenir des noyaux aromatiques, des polyoxypropylènes, des perfluorates, des polysiloxanes...

Une molécule tensioactive peut également contenir deux ou plusieurs chaînes hydrophobes. Suivant la nature et la longueur de la chaîne, les propriétés des tensioactifs vont changer et le groupe hydrophile, quant à lui, détermine la famille à laquelle appartient l'espèce amphiphile :

- *tensioactifs anioniques*
- *tensioactifs cationiques*
- *tensioactifs zwitterioniques*
- *tensioactifs non ioniques*

Si des molécules tensioactives sont en solution aqueuse, elles vont s'adsorber à l'interface air-liquide pour réduire le contact entre leur partie hydrophobe et l'eau tout en conservant leur partie hydrophile en solution. En conséquence, certaines molécules d'eau à l'interface vont être remplacées par des molécules tensioactives à l'origine d'une diminution de la tension superficielle.

Cette diminution facilite de nombreux phénomènes tels que la formation de mousse, d'émulsion, le mouillage d'une surface, etc. Plus généralement, la diminution de la tension superficielle favorise l'affinité de deux phases non miscibles et la dispersion de l'une dans l'autre.

La propriété essentielle des tensioactifs qui détermine leurs domaines d'applications est le processus de micellisation ou d'auto-association/assemblage qui gouverne les propriétés de solubilisation et d'émulsification.

La Concentration Micellaire Critique (*CMC*) est la concentration à laquelle un composé tensioactif s'auto-associe sous forme micellaire en solution aqueuse. Cette formation est régie, généralement, par la loi d'action de masse¹ dans le cas de tensioactifs ioniques, et met en jeu des forces antagonistes d'origines diverses.

Les micelles peuvent avoir différentes formes en fonction de la concentration du tensioactif en solution et les additifs vont déterminer les propriétés des solutions. A une faible concentration, les micelles sont plus ou moins sous forme sphérique (globulaire) et à des concentrations plus importantes on observe des micelles cylindriques, lamellaires, vésicules... les micelles sont alors plus compactes².

Les techniques classiques de RMN ont été utilisées pour la caractérisation de tensioactifs commerciaux. La première caractérisation par RMN¹H d'un mélange de tensioactifs non ioniques dérivés d'oxyde d'éthylène a été réalisée par Flanagan *et al.*³. Par la suite, différents tensioactifs anioniques (alkylbenzène sulfonates, alkyléthoxy sulfates et savons), non-ioniques (alcools éthoxylés), cationiques (ammoniums quaternaires), ainsi que des hydrotropes ont été caractérisés par leurs déplacements chimiques en RMN¹³C⁴. Les auteurs se sont principalement basés sur quelques signaux caractéristiques des molécules, par exemple ceux des carbones situés en position α des groupements sulfate, sulfonate, ou éther et possédant des déplacements chimiques bien distincts de la chaîne alkyle.

Nous avons déterminé par RMN¹H et RMN diffusionnelle (DOSY/RMN¹H) la *CMC* de solutions micellaires d'un tensioactif ionique : le *DodécylSulfate de Sodium* (SDS) et d'un polymère tensioactif non ionique : le Triton X-100 (TX100).

2. Détermination de la CMC par les techniques de RMN classiques

2.1 DodécylSulfate de Sodium (SDS)

A partir d'une solution mère du tensioactif SDS 100 mM dans D₂O, nous avons préparé plusieurs solutions à des concentrations allant de 1 à 50 mM. Les solutions micellaires ainsi obtenues ont été analysées par RMN¹H à température ambiante.

La Figure 1 présente la variation des déplacements chimiques des protons du SDS en fonction de la concentration micellaire.

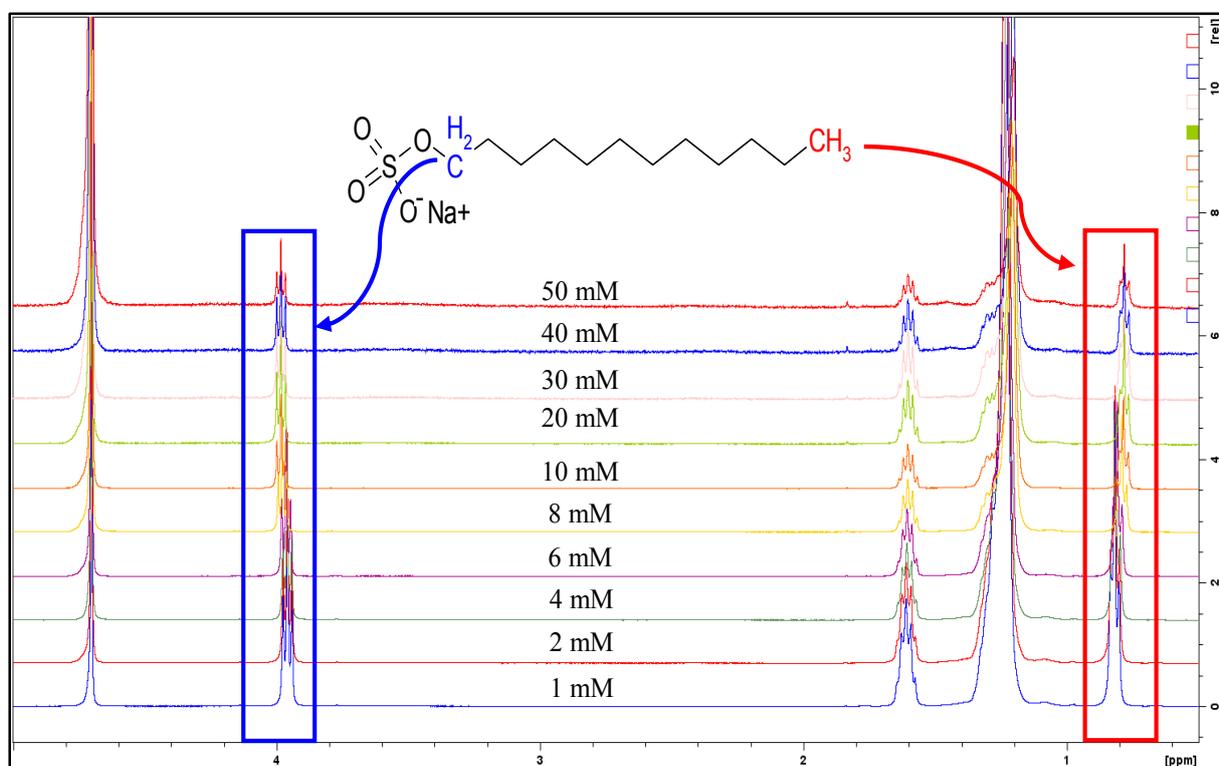


Figure 1 : Spectres ¹H de solutions de SDS préparées à différentes concentrations (D₂O, 25°C)

Nous nous sommes intéressés plus particulièrement à la variation des déplacements chimiques du CH₃ en bout de chaîne SDS et du CH₂ en position α du groupement sulfate car ils représentent les noyaux les plus engagés dans la formation des micelles.

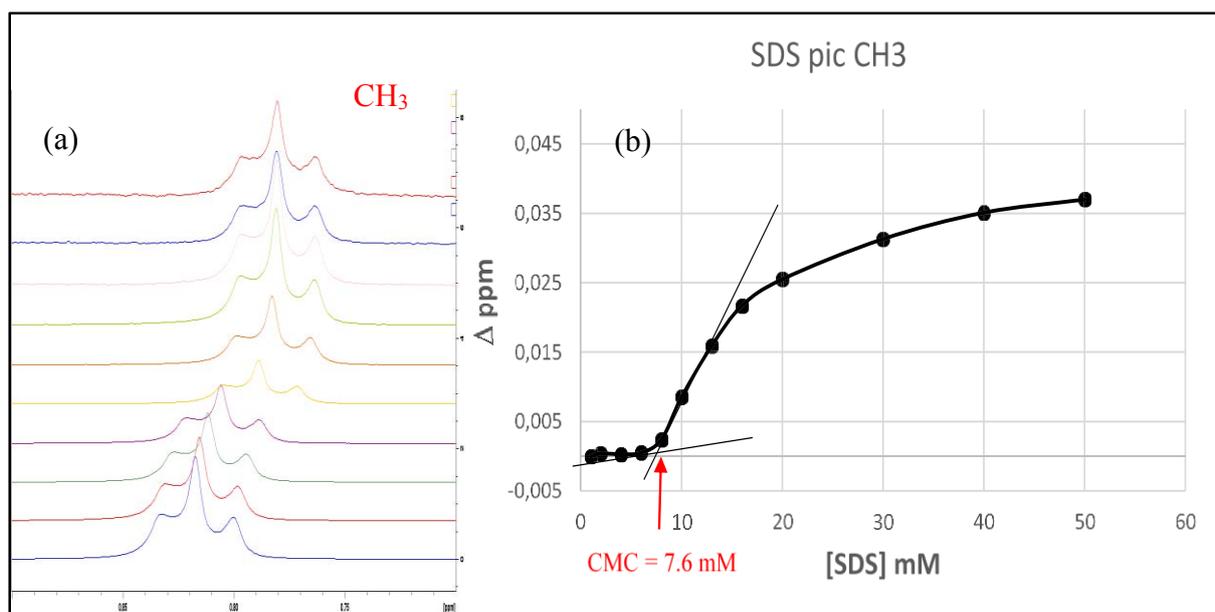


Figure 2 : (a) Agrandissement de la zone du déplacement chimique du groupement terminal CH₃ du SDS, (b) Variation du déplacement chimique du CH₃ du SDS en fonction de la concentration en SDS.

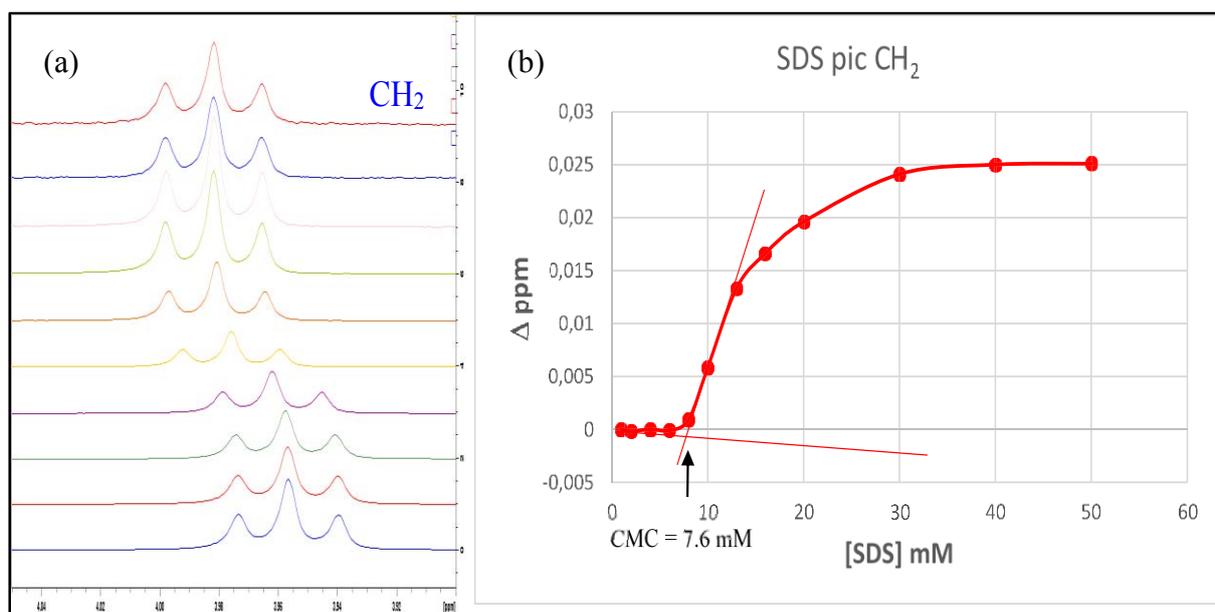


Figure 3 : (a) Agrandissement de la zone CH₂ en position α de groupements sulfate, (b) Variation du CH₂ en position α du groupement sulfate en fonction de la concentration en SDS.

Les courbes présentées sur les Figure 2 et 3 peuvent être décomposés d'au moins deux portions de droite. Pour une concentration inférieure à la CMC, le déplacement chimique observé est égal à celui des surfactants à l'état libre : $\delta_{\text{obs}} = \delta_{\text{libre}}$. Dans ce cas, les atomes appartenant à la partie hydrophobe du SDS sont entourés de molécules d'eau, alors qu'au-delà de la CMC (7.6

mmol.L⁻¹), la partie hydrophobe est située dans un environnement aliphatique à l'intérieur de la micelle et l'écart de déplacement chimique entre δ_{obs} et δ_{libre} varie en fonction de la concentration totale en surfactant. Les échanges molécules libres/molécules associées sont rapides (10^{-5} s - 10^{-3} s), le spectre proton représente une moyenne des deux populations libre et associée⁵.

La valeur de *CMC* que nous avons déterminée est très proche des valeurs de référence trouvées dans la littérature où la *CMC* a été déterminée par d'autres techniques analytiques (tensiométrie⁶, conductimétrie^{7,8})

2.2 Triton X-100 (TX100)

Comme pour l'exemple précédent, plusieurs solutions micellaire ont été préparées à partir d'une solution mère de TX100, à une faible concentration (1 mM).

La Figure 4 montre l'évolution de la variation des déplacements chimiques des noyaux protoniques en fonction de la concentration en tensioactif TX100.

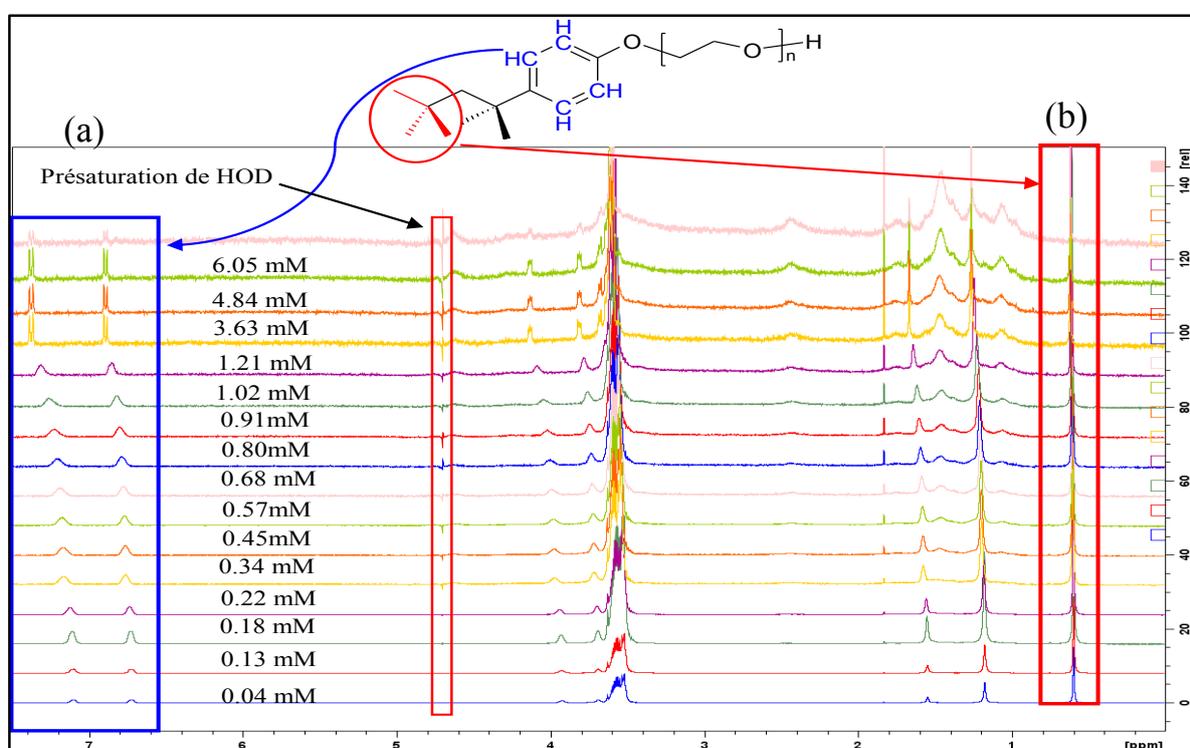


Figure 4 : Spectres ¹H de solutions de Triton X100 préparées à différentes concentrations (D₂O, 25°C)

Sur la Figure 5, nous avons présenté les agrandissements des régions aromatiques (a) et aliphatiques (b) correspondant au groupement tertibutyle du bout de chaîne TX100.

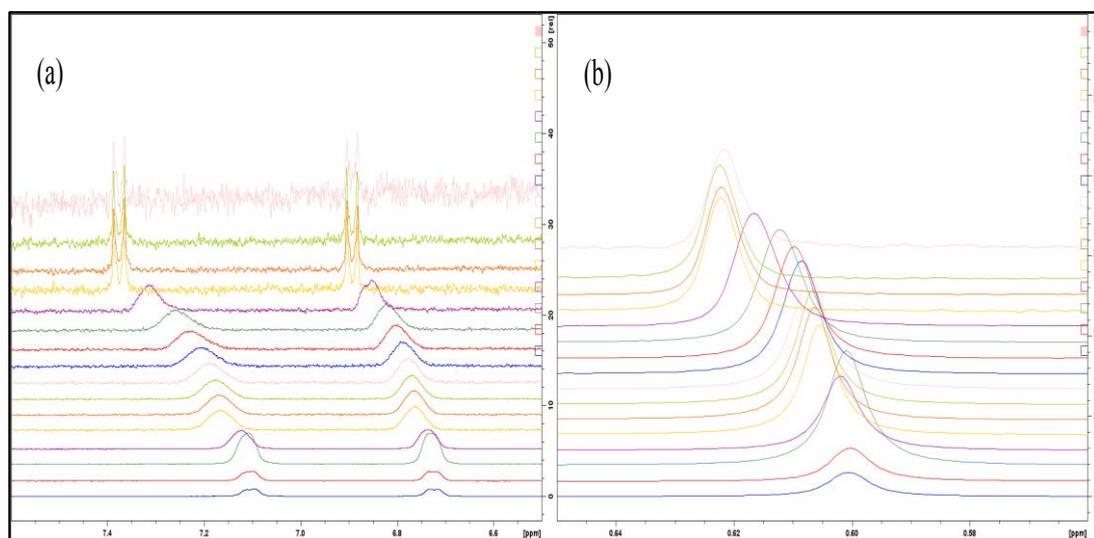


Figure 5 : Spectres ^1H de solutions micellaires du Triton X-100 (a) agrandissement zone aromatique, (b) agrandissement zone aliphatique correspondant au tertibutyle du TX100

La *CMC* a été mesurée à partir de la variation des déplacements chimique du groupement tertibutyle en fonction de la concentration du TX100 (Figure 6). Nous avons trouvé une valeur de *CMC* de 0.22 mM, valeur relativement faible par rapport à celle du SDS (~8 mM)

Pour une détection avec un bon rapport signal sur bruit, nous avons utilisé la séquence « presat » pour supprimer le signal relatif à HOD.

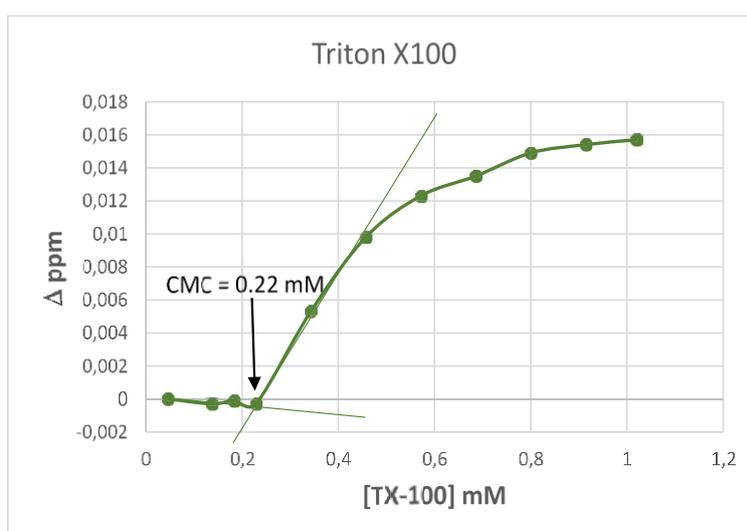


Figure 6 : Variation du déplacement chimique du groupement tertibutyle en fonction de la concentration en TX100.

En rapportant les valeurs de la variation des déplacements chimiques en fonction de la concentration en tensioactif, la CMC peut être calculée même pour des concentrations relativement faibles (cas du TX100). Il a été montré que les noyaux ayant des gammes de déplacements chimiques plus importantes^{9,10,11,12} (¹³C, ³¹P et ¹⁹F) montrent de grandes variations de déplacements chimiques facilitant ainsi la détermination de la CMC.

Le problème du carbone 13 réside néanmoins dans sa faible abondance naturelle et sa faible sensibilité, impliquant des temps d'acquisition longs surtout à faible concentration.

3. Détermination de la CMC par DOSY/RMN

Tout comme le déplacement chimique, la valeur du coefficient de diffusion (D) pour une molécule à l'état libre ou à l'état associé est très différente. Ainsi pour les molécules amphiphiles, les phénomènes d'agrégation ont une influence directe sur le déplacement des molécules en solution et donc sur la valeur des coefficients de diffusion.

De nombreuses informations peuvent être extraites de la mesure de D , notamment la valeur de la CMC, la taille et la forme des agrégats, les interactions entre agrégats ou les équilibres de solubilisation.

Pour une concentration inférieure à la CMC, le coefficient de diffusion observé est égal au coefficient de diffusion des surfactants à l'état libre (unimères) : $D_{obs} = D_{libre}$.

Pour une concentration supérieure à la CMC, le coefficient de diffusion observé décroît avec l'augmentation de la concentration totale en surfactant (C_{tot}) selon l'équation suivante¹³ :

$$D_{obs} = D_{lié} + \left(\frac{CMC}{C_{tot}}\right)(D_{libre} - D_{lié}) \quad \text{Eq. 1}$$

3.1 Organisation sous forme de micelles sphériques

Une micelle est une association de molécules amphiphiles. La tête polaire occupe un volume plus important que l'unique queue hydrophobe (Schéma 1).

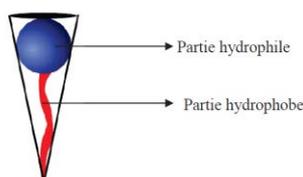


Schéma 1 : Représentation d'une molécule amphiphile à géométrie conique

Pour cette raison, en milieu aqueux et au-dessus d'une concentration critique (CMC), la géométrie de la molécule n'engendre pas une structure lamellaire mais privilégie la formation d'une sphère avec des groupements polaires en périphérie (la couronne) et les parties hydrophobes au cœur (Schéma 2). Cette structure sphérique est appelée micelle.

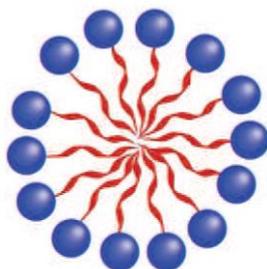


Schéma 2 : Représentation schématique d'une micelle

Les micelles présentent une taille située entre 5 et 100 nm¹⁴. Elles ont la particularité d'être, pour la plupart, dans un équilibre dynamique entre la forme isolée (unimère) et la forme agrégée (micelle). Il existe plusieurs types de micelles :

- *des micelles de tensioactifs classiques* (SDS, tween...)
- *des micelles à base de polymères.*

3.2 Dodécylsulfate de sodium (SDS)

Sur la Figure 7 montrant l'évolution du coefficient de diffusion du SDS, nous observons deux ruptures de pentes sur la courbe qui correspondent à deux valeurs de concentration micellaire critique : la valeur de *CMC* à 7.7 mmol.L⁻¹ (*CMC1*) correspond à la formation de micelles sphériques, la valeur de *CMC* à 16.5 mmol.L⁻¹ (*CMC2*) traduit l'évolution du SDS sous forme de micelles cylindriques.⁹

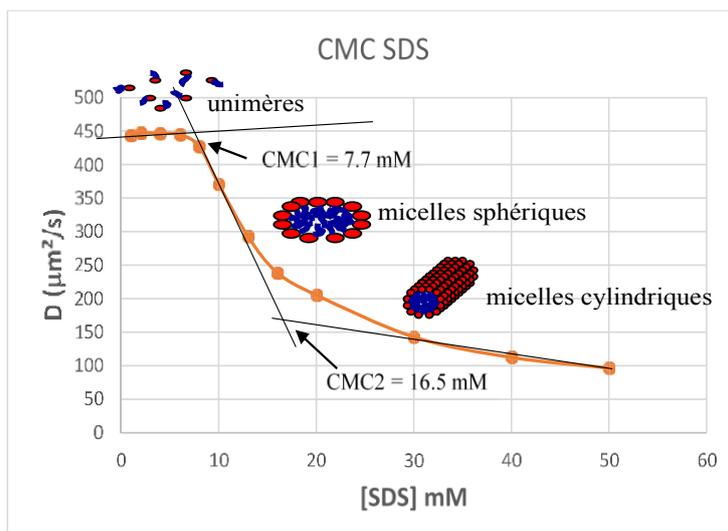


Figure 7 : Courbe montrant l'évolution du coefficient de diffusion en fonction de la concentration totale en tensioactif SDS.

3.3 Triton X-100 (TX100)

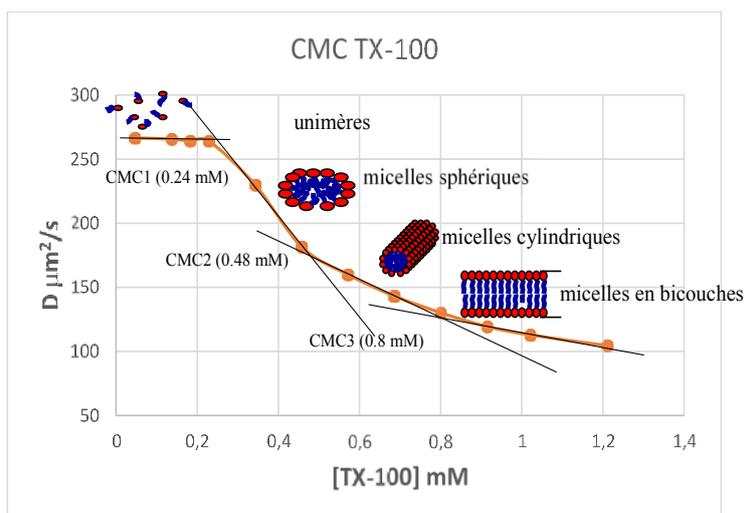


Figure 8 : Courbe montrant l'évolution du coefficient de diffusion en fonction de la concentration totale en tensioactif TX-100

Sur la Figure 8 montrant l'évolution du coefficient de diffusion du TX-100, nous observons trois changements de pente qui correspondent à trois valeurs de concentration micellaire critique. Récemment Rodriguez-Dalfonte *et al.*², ont également observé trois valeurs de *CMC* pour un tensioactif cationique (1,3-Didecyl-2-methylimidazolium Chloride).

Le TX-100 possède donc une première *CMC* à 0.24 mM (*CMC1*) correspondant à la formation de micelles sphériques, une seconde à 0.48 mM (*CMC2*) correspondant à l'évolution de la

forme des micelles sphériques vers des micelles cylindriques puis une troisième à 0.8 mM (CMC_3) correspondant à l'évolution de la forme cylindrique vers le forme en bicouche.

En résumé :

La concentration micellaire critique (CMC) est la concentration à partir de laquelle les molécules amphiphiles passent de l'état libre à l'état micellaire. La détermination des CMC est basée sur la mesure du suivi d'une des propriétés physiques (Conductimétrie, Diffractométrie, Fluorimétrie, etc...). La méthode par RMN diffusionnelle est rapide et sensible et ne nécessite aucune condition opératoire particulière (0.24 mM pour la CMC du Triton X100).

Les exemples du DodécylSulfate de sodium (SDS) et du Triton X-100 illustrent la force des expériences de RMN (même les plus classiques), pour caractériser, outre des structures moléculaires, des phénomènes de micellisation c'est-à-dire d'auto-assemblage de molécules amphiphile qui pourraient être extrapolé à des espèces macromoléculaires.

4. Application à l'étude de micelles mixtes

Le suivi de la variation des déplacements chimiques ainsi que la mesure de coefficient de diffusion dans des solutions de tensioactifs rendent possibles l'étude de micelles mixtes.

De nombreuses études RMN, utilisant, entre autres, la mesure des coefficients de diffusion, ont permis de mettre en évidence la co-micellisation de divers systèmes. Par exemple, la co-micellisation d'un tensioactif non-ionique le dodécylmalonobis(N-méthylglucamide) avec un tensioactif anionique de même longueur de chaîne hydrophobe (SDS) a été mise en évidence par RMN diffusionnelle¹⁵ La formation des micelles mixtes a été détectée à une concentration très proche de la CMC du tensioactif non-ionique¹⁶, c'est-à-dire dans le cas de la CMC la plus faible.

De nombreuses techniques peuvent être utilisées pour l'étude de micelles mixtes, cependant la RMN de diffusion se révèle un outil approprié puisqu'il est possible de suivre le coefficient de diffusion de chaque espèce en présence dans le mélange¹⁷.

La technique RMN NOESY est également utilisée pour la mise en évidence de micelles mixtes¹⁸. En effet cette séquence RMN 2D est capable de révéler la proximité spatiale entre les protons de différentes molécules se trouvant à proximité les unes des autres. Gjerde *et al.*, ont appliqué cette séquence pour un mélange de POE/SDS¹⁹. Les auteurs ont pu ainsi montrer par cette technique que le POE pénètre à l'intérieur de la micelle.

Dans cette partie, nous allons poursuivre notre étude sur le Triton X-100 et le SDS mais cette fois-ci les deux tensioactifs vont être mis en solution dans D₂O. Pour cela, nous avons préparé dix solutions mixtes en faisant varier la concentration en SDS tout en maintenant la concentration en TX100 à 2.8 mmol.L⁻¹ soit environ 10 fois la *CMC*. Nous avons choisi la même gamme de concentration que celle qui a servi pour la détermination de la *CMC* (paragraphe 2.1). Les solutions ainsi préparées ont été caractérisées par RMN¹H et par DOSY/RMN à température ambiante

4.1 Caractérisation des micelles mixtes par RMN classique

Les spectres RMN¹H des solutions de micelles mixtes sont présentés sur la Figure 9, montrant la variation des déplacements chimiques des protons des deux tensioactifs (SDS et TX100) en fonction de la concentration en SDS. Nous nous sommes intéressés plus particulièrement au groupement méthyle en bout de chaîne SDS (noté SDS1 sur la Figure 10) et au groupement tertio-butyle en bout de chaîne TX100 (noté TX1 sur la Figure 10).

Les valeurs de la variation des déplacements chimiques ainsi que la concentration du SDS sont reportées sur le Tableau 1.

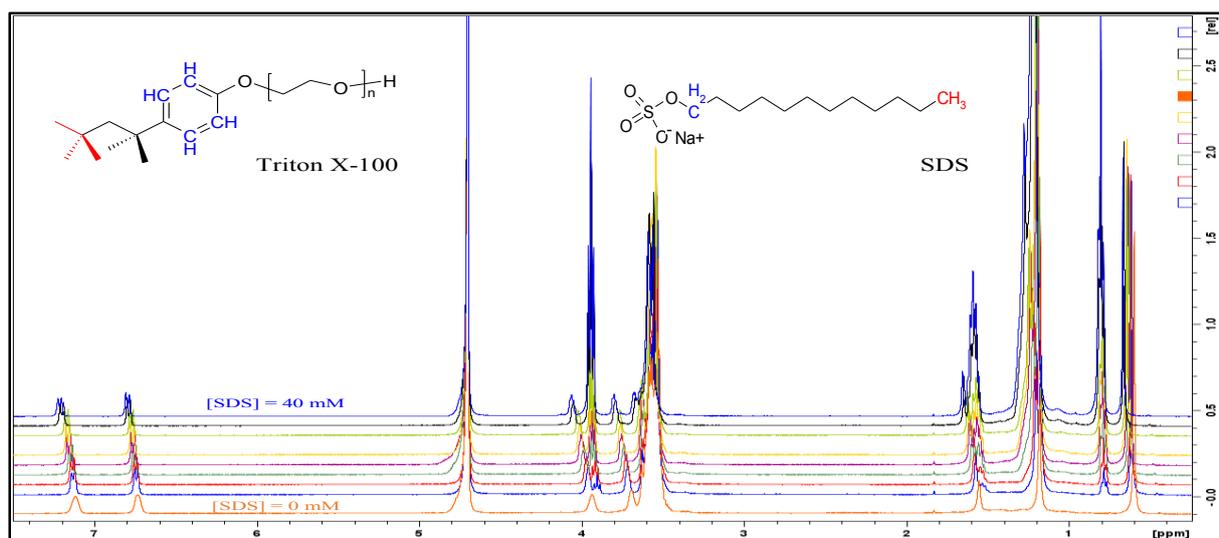


Figure 9 : Spectres ^1H de solutions de micelle mixte Triton X100/SDS (D_2O , 25°C)

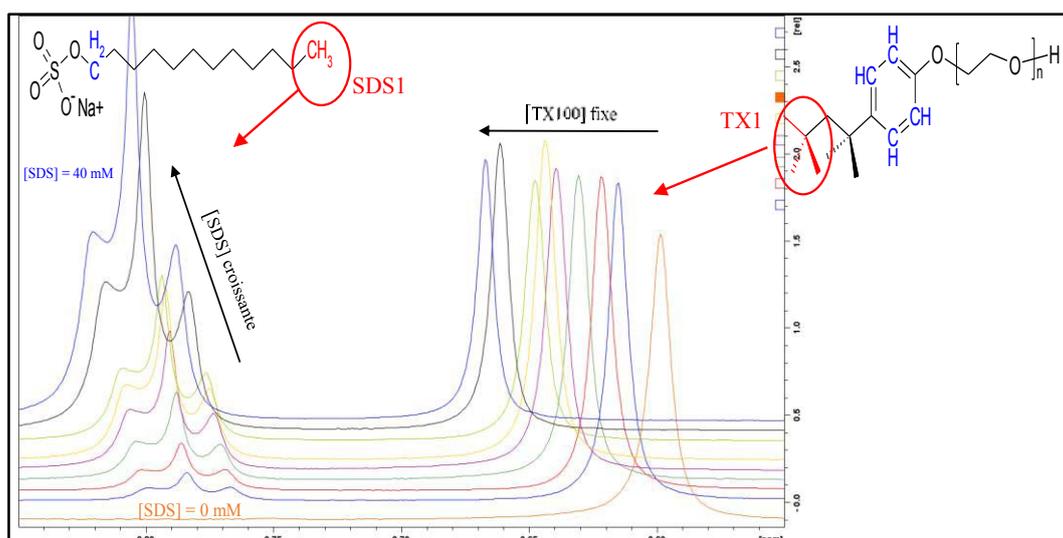


Figure 10 : Spectres ^1H de solutions de micelles mixtes Triton X100 /SDS, agrandissement de la zone aliphatique (D_2O , 25°C)

[SDS] mM	SDS Δ ppm (CH_3) bout de chaîne	TX100 Δ ppm (CH_3) bout de chaîne
0	/	0.5983
1	0.7837	0.6149
2	0.7859	0.6214
4	0.7879	0.6304
6	0.7905	0.6392
8	0.7921	0.6434
10	0.7935	0.6474
20	0.8003	0.6611
30	0.8053	0.6668
40	0.809	0.6701

Tableau 1 : Variation du déplacement chimique de SDS1 et TX1 en fonction de la concentration en SDS.

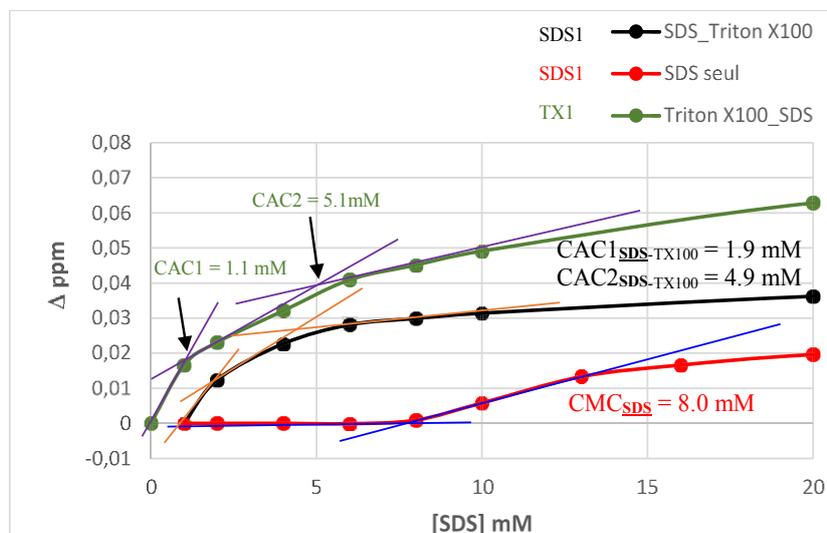


Figure 11 : Variation du déplacement chimique de SDS1 et TX1 en fonction de la concentration en SDS

La Figure 11 présente la variation des déplacements chimiques de SDS1 et TX1 en fonction de la concentration en SDS. La CMC de chaque tensioactif (du système mixte) est extraite graphiquement, en déterminant l'intersection des tangentes à la courbe correspondante. A titre comparatif, nous avons rajouté sur la Figure 11 la courbe présentant la variation des Δ ppm des solutions micellaires SDS (sans TX100).

La Figure 11 indique la présence de deux valeurs pour la CMC du mélange de tensioactifs, une valeur légèrement supérieure à celle du TX100 pur (1.1 mM ou 1.9 mM) et une valeur inférieure à celle du SDS pur (4.9 mM ou 5.1 mM)

La variation de la CMC en fonction de la fraction molaire en SDS en solution montre également une attraction entre les deux surfactants dont les origines peuvent être diverses : diminution des répulsions électrostatiques entre les têtes polaires sulfate du SDS par la présence du TX100 ou bien une interaction favorable entre les têtes sulfates et les groupes hydroxyles du surfactant non ionique (TX100).

4.2 Caractérisation par RMN/DOSY

Comme cela a été souligné précédemment, le coefficient de diffusion est une grandeur physique permettant de caractériser l'environnement d'une molécule, et donc d'obtenir des informations sur son organisation à l'état libre ou associé.

Les analyses par RMN de diffusion ont été réalisées sur les mêmes solutions préparées pour le suivi de la variation des déplacements chimiques.

Les coefficients de diffusion ont été mesurés en utilisant la séquence double écho stimulé avec module LED (séquence Bruker dstebpgp3s)^{20,21}, le traitement des données a été réalisé avec le logiciel topspin utilisant le module de relaxation T₁/T₂. Les valeurs des coefficients de diffusion, déterminées grâce à la modélisation des courbes de diffusion, sont présentées dans le Tableau 2. Dans le cas de micelles sphériques, ces valeurs permettent d'accéder aux rayons hydrodynamiques en utilisant l'équation de Stokes-Einstein :

$$R_h = \frac{k_b T}{6\pi\eta D_{mic}} \quad \text{Eq. 2}$$

k_B la constante de Boltzmann, T la température en °K, η la viscosité du solvant et D_{mic} , le coefficient de diffusion micellaire.

Les valeurs du R_h calculées avec le modèle sphérique sont rapportées dans le Tableau 2.

[SDS] mM	TX100 D (μm ² .s ⁻¹)	SDS D (μm ² .s ⁻¹)	TX100 Rh (nm)	SDS Rh (nm)
0	69.71	/	2.61	/
1	64.31	212	2.83	0.80
2	63.53	214	2.86	0.81
4	63.35	223.2	2.87	0.81
6	63.4	221	2.87	0.82
8	63.4	216.7	2.87	0.84
10	63.44	208.1	2.87	0.87
20	62.34	157.1	2.97	1.16
30	60.21	124	3.02	1.45
40	58.64	103.5	3.12	1.76

Tableau 2 : Variation du coefficient de diffusion (D) et du rayon hydrodynamique (R_h) du SDS et du TX100

En même temps que la concentration en SDS augmente, les deux tensioactifs voient leur coefficient de diffusion diminuer et leur rayon hydrodynamique augmenter. Ainsi le R_h du SDS passe de 0.8 nm à 1.76 nm et celui du TX100 passe de 2.6 nm à 3.12 nm. La variation de la valeur du coefficient de diffusion est plus importante pour le SDS (212 μm² s⁻¹ à 103 μm² s⁻¹) que pour le polymère tensioactif (69.7 μm².s⁻¹ à 58.6 μm².s⁻¹). Tous ces résultats indiquent que les deux tensioactifs interagissent pour former des micelles mixtes. Les échanges tensioactif libre/tensioactif associé sont rapides et les valeurs des coefficients de diffusion obtenues représentent une moyenne des deux populations.

Les valeurs de CMC obtenues sur les courbes de la variation du coefficient de diffusion D en fonction de la concentration en SDS (Figure 12) sont similaires à celle trouvées par l'étude de la variation des déplacements chimiques (0.9 mM et 4.7 mM contre 1.1 mM et 5.1 mM)

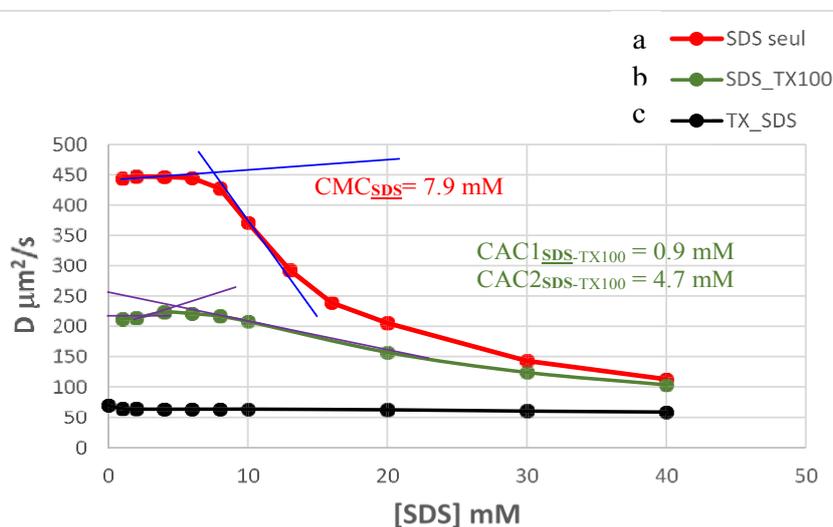


Figure 12 : Evolution des coefficients de diffusion (D) en fonction de la concentration en SDS, a : micelle SDS, b : SDS dans les micelles mixtes, c : TX-dans les micelles mixtes.

En résumé :

La mesure du coefficient de diffusion par les techniques avancées de RMN utilisant des séquences d'écho de spin à gradient de champs pulsés (PGF-SE) a permis de mettre en évidence la co-micellisation entre le dodécylsulfate de sodium (SDS) et le TRITON X-100 (TX100).

La formation des micelles mixtes a été détectée à une concentration d'agrégation critique (CAC) dont la valeur est inférieure à la CMC du tensioactif ionique (SDS) mais supérieure à celle du tensioactif non ionique (TX100).

L'interaction entre le polymère tensioactif et le SDS a également été mise en évidence par l'augmentation du rayon hydrodynamique calculé par le modèle sphérique, cette augmentation est liée à la formation de micelle mixte. La variation de la CMC en fonction de la fraction molaire en SDS en solution montre une attraction entre les deux surfactants dont les origines peuvent être diverses : comme la diminution des répulsions électrostatiques entre les têtes polaires sulfate du SDS, par la présence du Triton X-100 ou bien une

interaction favorable entre les têtes sulfates et les groupes hydroxyles du surfactant non ionique (TX100).

La technique de RMN PFG-SE permet de mesurer simultanément les coefficients de diffusion de différentes espèces en solution, contrairement à d'autres techniques qui ne peuvent les différencier (diffusion de la lumière) et qui fournissent donc des valeurs moyennes.

5. Encapsulation et relargage de principe actif

5.1 Introduction

Les systèmes de vectorisation font l'objet, depuis plusieurs décennies, de nombreuses études afin d'apporter une solution aux problèmes de stabilité et d'efficacité des médicaments

Les moyens de vectorisation correspondent aux supports capables d'acheminer un principe actif jusqu'à la zone cible. Il existe de nombreux systèmes qui vont du greffage du principe actif directement sur une chaîne de polymère linéaire à l'encapsulation au sein d'un assemblage complexe de chaînes macromoléculaires. Parmi ces vecteurs nous pouvons citer les suivants

- *polymère-principe actif conjugué*
- *liposomes*
- *dendrimères*
- *hydrogels*
- *nanoparticules*
- *micelles*

Le vecteur doit être capable d'encapsuler le principe actif améliorant de ce fait sa solubilité et sa biocompatibilité²². L'encapsulation a également d'autres avantages comme la protection du principe actif du milieu extérieur évitant ainsi sa désactivation²³. Un bon système de vectorisation doit montrer une excellente solubilité dans l'eau.

Grâce à la chimie moderne, il est possible de synthétiser une grande variété de polymères et de moduler leur architecture selon les propriétés désirées. Ces systèmes sont de plus en plus perfectionnés avec l'utilisation de polymères intelligents (pH ou thermosensibles).

En effet, afin d'augmenter l'efficacité du principe actif, la libération par le vecteur se fait dans des conditions de pH et/ou de température données. On parle alors de libération contrôlée.

5.2 Auto-assemblage de molécules amphiphiles

5.2.1 Les micelles à base de polymères

Les micelles à base de polymère sont constituées de copolymère amphiphile²⁴. La partie hydrophile n'est donc plus une tête polaire mais une pelote constituée d'une longue chaîne de polymère hydrophile.

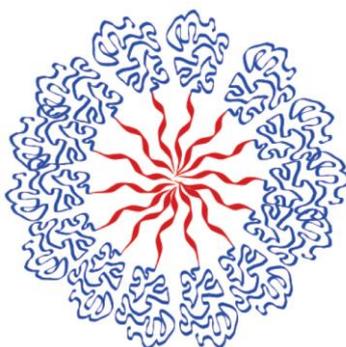


Schéma 3 : Représentation d'une micelle de copolymère amphiphile

Les micelles à base de copolymère amphiphile allient les propriétés avantageuses des micelles et du copolymère utilisé. La couronne hydrophile joue un rôle clé, elle permet de stabiliser la micelle tout en assurant la protection du principe actif contenu à l'intérieur¹⁴. Le poly(éthylène glycol) (PEG) est le polymère le plus utilisé pour former la couronne des micelles du fait de sa très grande solubilité dans l'eau et de sa biocompatibilité.²⁵

Les micelles à base de copolymère amphiphile sont plus stables que les micelles de tensioactif²⁶. Elles possèdent une concentration micellaire critique plus faible. Ceci est accentué par le levier qu'offre l'utilisation de polymère sur la longueur de la chaîne hydrophobe. En effet, plus la chaîne hydrophobe est longue, plus la CMC devient faible améliorant ainsi la stabilité de la micelle. Cela augmente également le volume du cœur et donc, la capacité d'encapsulation.

Le Pluronic²⁷, est un vecteur de médicament commercialisé par BASF. Il est aussi connu sous le nom de Poloxamer ou de Synperonic. Il s'agit d'un polymère tribloc comportant une chaîne hydrophobe de poly (oxyde de propylène) et deux chaînes hydrophiles de poly(éthylène glycol) avec des proportions variables (le Pluronic F127 a été étudié par RMN dans le chapitre II, paragraphe 6.4).

Ces copolymères s'auto-assemblent en milieu aqueux sous forme de micelles très stables grâce à une *CMC* de l'ordre de la micromole par litre. Le Pluronic se montre efficace pour encapsuler de nombreux principes actifs dont la doxorubicine²⁸.

6. Etude qualitative de l'encapsulation et suivi de libération du principe actif

A partir de deux espèces amphiphiles, le Pluronic F127 et le Triton X-100, respectivement macromoléculaire et moléculaire, nous avons préparé plusieurs solutions micellaires avec concentrations variables en benzophénone.

Afin de déterminer l'efficacité de ces deux copolymères en tant que vecteur d'actifs biologiques, chimiques voire physiques, nous allons donc nous attacher à étudier leur capacité d'encapsulation et de relargage de la benzophénone.

La benzophénone est une molécule très hydrophobe qui possède une faible solubilité dans l'eau (0.4 g/L à 25°C).

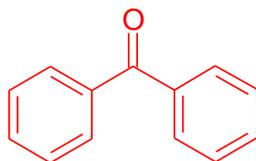


Schéma 4 : Structure de la benzophénone

6.1 Préparation des solutions micellaires en présence de benzophénone

Deux solutions de polymères à 5 % en poids (50 mg/mL) ont été préparées dans D₂O, sous agitation magnétique à température ambiante. Ces solutions notées SPT et SPP correspondent respectivement aux solutions de polymères Triton X-100 et Pluronic F127.

Deux solutions mères de benzophénone à 0.5 % en poids ont été préparées à partir de SPT et SPP (5 mg de benzophénone mis en solution dans 1 mL de SPT ou SPP). La mise en solution s'est faite sous agitation magnétique à 70°C pendant 2 heures. Des prélèvements ont été effectués à partir de cette solution mère et mélangés avec un volume (selon la concentration

voulue) de SPT ou SPP. Nous avons ainsi préparé des solutions à 0.67 mM, 1.37 mM, 2.7 mM, 5.4 mM et 8.1 mM en benzophénone tout en gardant la concentration du polymère constante.

6.2 Etude de l'encapsulation et relargage de la benzophénone (Bz) par le vecteur Triton X-100 (TX-100)

6.2.1 Analyse par RMN¹H

6.2.1.1 Analyse à 25°C

L'influence de la concentration en principe actif en présence de TX100 (5 % en poids) a été étudiée par RMN¹H dans D₂O (Figure 13).

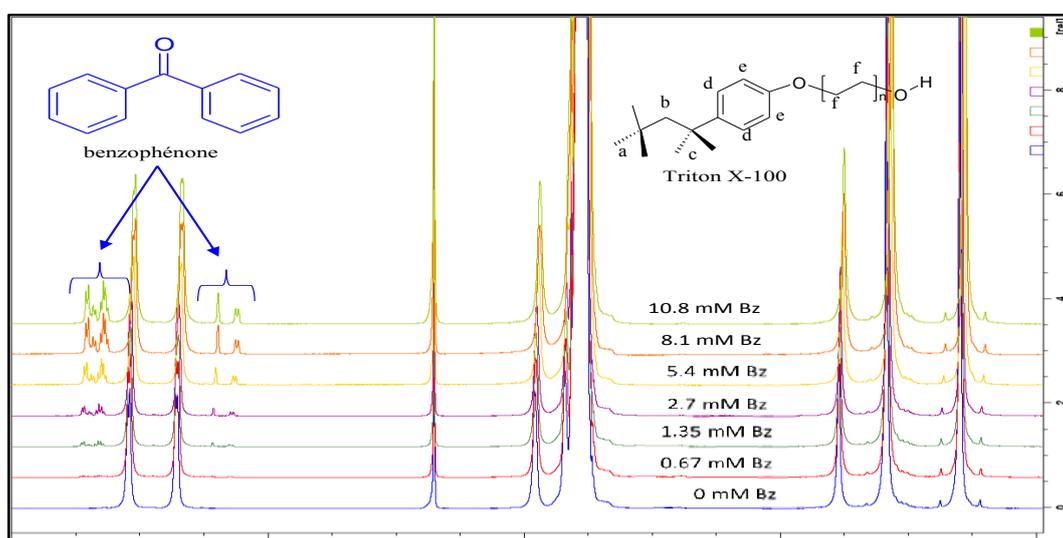


Figure 13 : Spectres ¹H du Triton X-100 (5 % en poids) en présence de différentes concentrations en benzophénone (D₂O, 25°C)

Nous noterons que l'intensité des signaux relatifs à la benzophénone est proportionnelle à sa concentration. Les spectres ainsi obtenus présentent une bonne résolution spectrale. La bonne solubilité de la benzophénone s'explique par la présence dans le milieu de micelles de TX-100 au cœur hydrophobe. La benzophénone étant une molécule insoluble dans l'eau, elle doit se trouver localisée dans le cœur de la micelle.

La Figure 14, présente l'agrandissement de la région aliphatique montrant un déplacement des signaux RMN (a), (b) et (c) (cf. annotation sur structure du TX-100) vers les champs faibles.

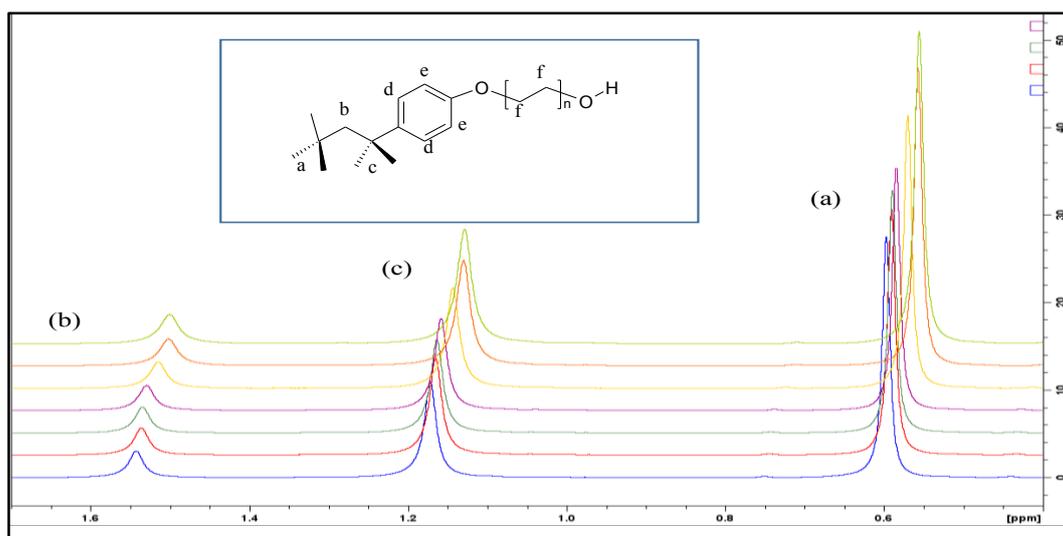


Figure 14 : Agrandissement de la zone aliphatique

Ce blindage ne peut s'expliquer que par des interactions se produisant entre le TX-100 et la benzophénone, la concentration du polymère TX-100 étant constante dans toutes les préparations.

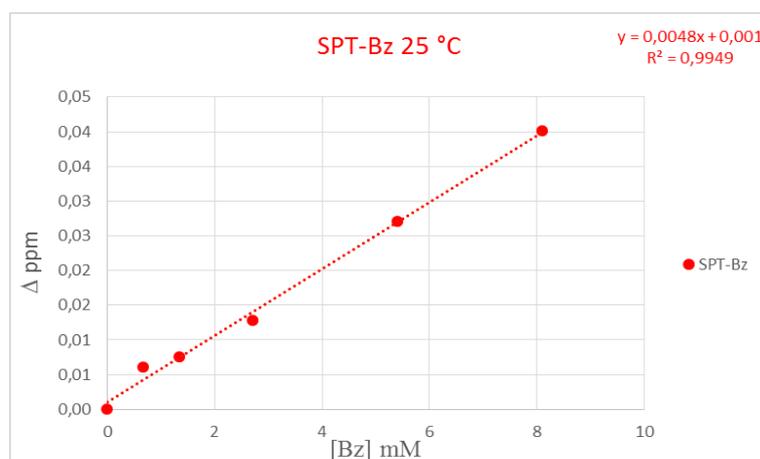


Figure 15 : Suivi de la variation du déplacement chimique des protons du groupement tertibutyle (a) du TX-100 (D₂O, 25°C)

La Figure 15, présente la variation du déplacement chimique (due au déblindage) des protons (a) en fonction de la concentration de la benzophénone. La courbe obtenue présente une bonne linéarité avec un coefficient de régression de plus de 99 %.

6.2.1.2 Analyse à 40°C

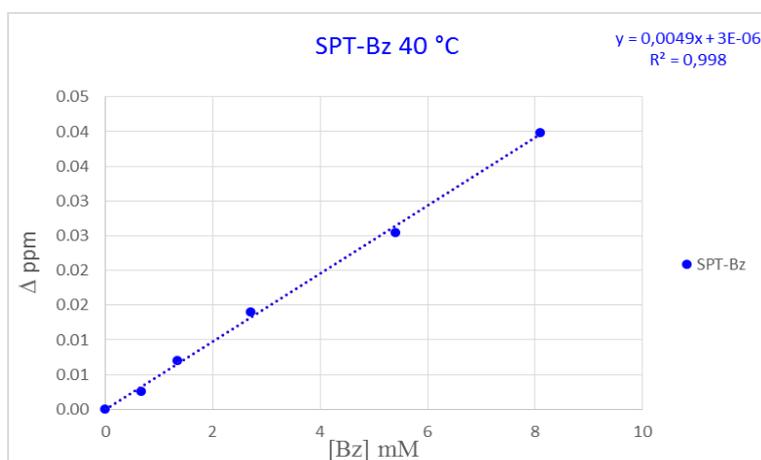


Figure 16 : Suivi de la variation du déplacement chimique des protons du groupement tertio-butyle (a) du Triton X-100 (D₂O, 40°C)

La Figure 16, présente la variation du déplacement chimique des protons (a) du TX-100 en fonction de la concentration en benzophénone à 40°C. La courbe ainsi obtenue est identique à celle représentée sur la Figure 15.

L'étude du suivi de déplacements chimiques par RMN ¹H montre, qu'à 25°C comme à 40°C, des interactions entre le Triton X-100 et la benzophénone sont présentes (variation linéaire des déplacements chimique en fonction de la concentration en benzophénone). Cependant cette étude ne nous renseigne pas sur le phénomène d'encapsulation et de relargage de la benzophénone puisque les mêmes variations sont observées pour les mêmes températures.

6.2.2 Analyse par RMN diffusionnelle

6.2.2.1 Analyse DOSY/RMN

a) Analyse à 25 °C

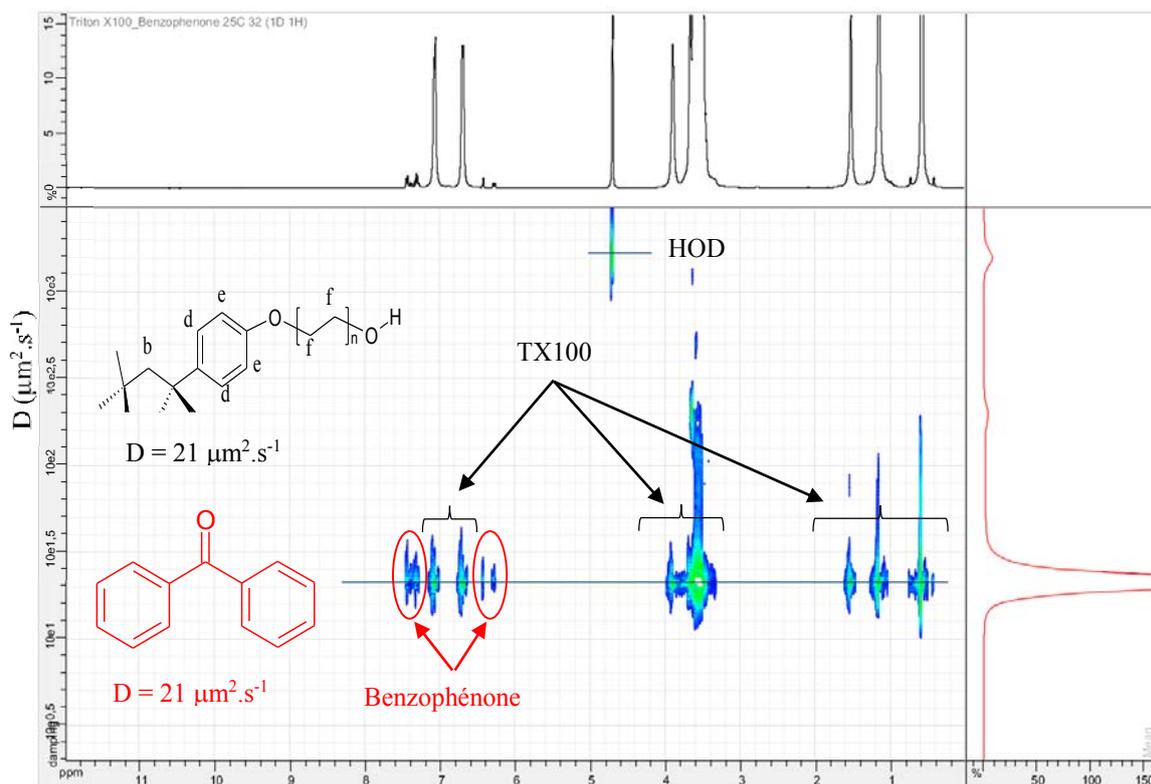


Figure 17 : Spectre DOSY du TX-100 (5 % en poids) benzophénone (2.7 mM) (D_2O , 25°C)

L'influence de la concentration en benzophénone a également été étudiée par RMN diffusionnelle. Sur la carte DOSY présentée sur la Figure 17, le TX-100 et la benzophénone se trouvent sur la même ligne dans la dimension de diffusion, ces molécules possèdent donc le même coefficient de diffusion ($21 \mu\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$). Ce résultat est confirmé par le traitement des courbes de Stejskal-Tanner (Figure 18).

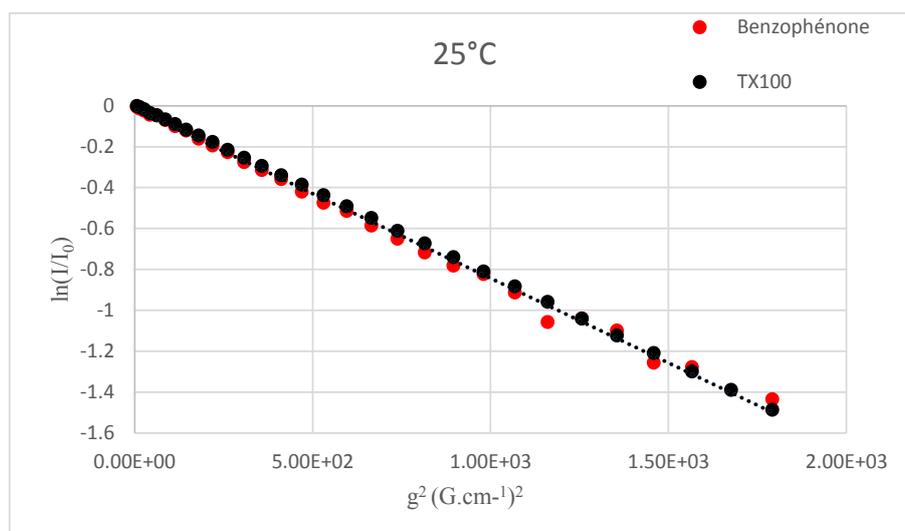


Figure 18 : Superposition des courbes de Stejskal-Tanner obtenues par intégration des signaux caractéristiques de la benzophénone et du copolymère Triton X-100 (D₂O, 25°C)

b) Analyse à 40°C

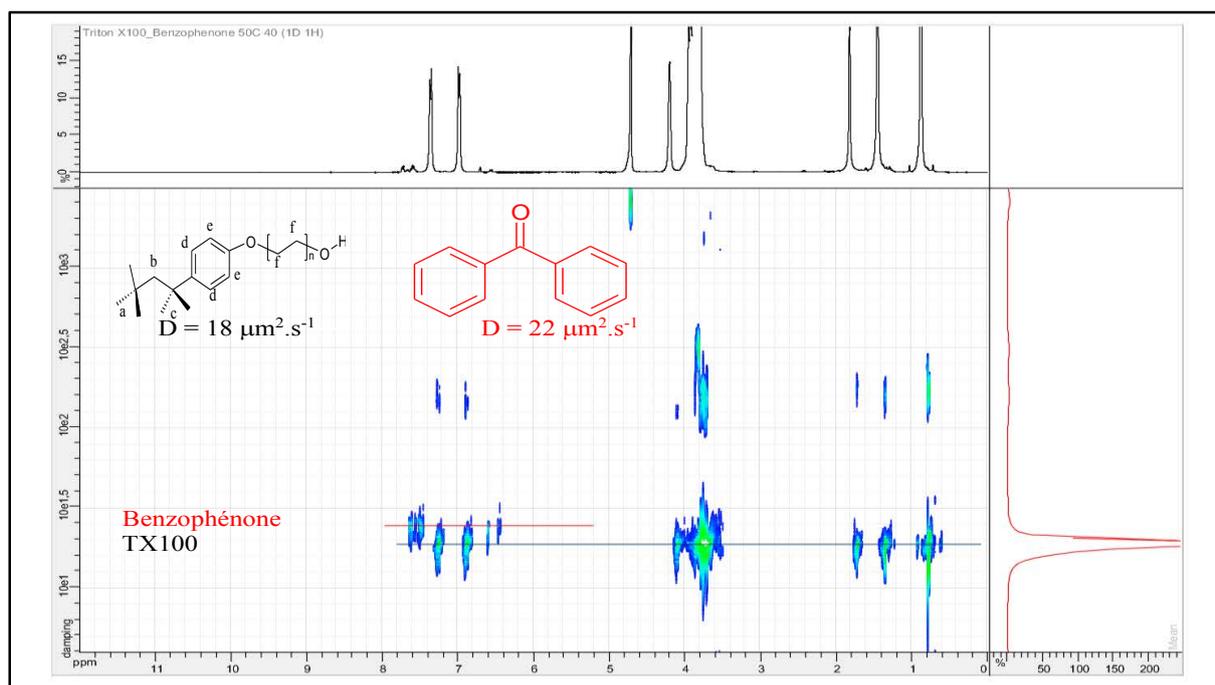


Figure 19 : Spectre DOSY du TX-100 (5 % en poids) benzophénone (2.7 mM) (D₂O, 40°C)

L'analyse par RMN/DOSY effectuée sur le même échantillon à 40°C (Figure 19) ne donne pas cette fois-ci le même coefficient de diffusion pour le TX-100 et la benzophénone.

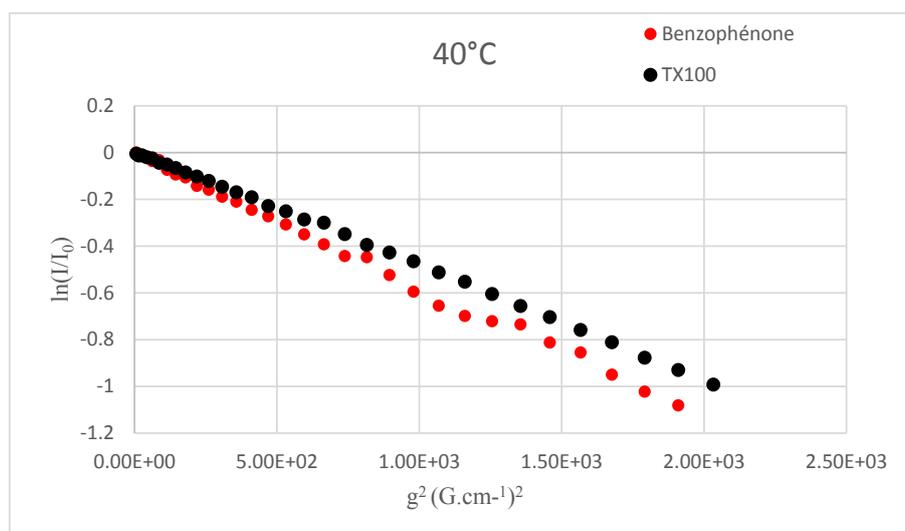


Figure 20 : Superposition des courbes de Stejskal-Tanner obtenues par intégration des signaux caractéristiques de la benzophénone et du copolymère Triton X-100 (D_2O , 40°C)

La détermination du coefficient de diffusion à partir de la pente des courbes de Stejskal-Tanner (Figure 20) montre comme dans le cas du traitement de la carte DOSY, l'existence de deux coefficients de diffusion, $18 \mu\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$ et $22 \mu\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$ attribués respectivement au TX100 et à la benzophénone. Les deux valeurs de coefficients de diffusion obtenues étant proches, nous pensons qu'à 40°C , la benzophénone se trouve toujours à l'intérieur des micelles du TX-100 et il n'y aurait donc pas eu de phénomène de relargage.

6.2.2.2 Etude du Rayon hydrodynamique

Pour affirmer la localisation de la benzophénone par rapport à la micelle de TX100, nous allons nous intéresser cette fois-ci à l'étude de l'effet de la température et de la concentration en benzophénone sur le rayon hydrodynamique (Rh) du système micellaire TX100 (5% en poids) Bz. Les valeurs des coefficients de diffusion (D) déterminées grâce à la modélisation des courbes de diffusion sont présentées dans le Tableau 3. Dans le cas de micelles sphériques, ces valeurs permettent d'accéder aux rayons hydrodynamiques en utilisant l'équation 2 de Stokes-Einstein. Les valeurs de Rh sont reportées dans le Tableau 3.

[Bz] mM	benzophénone						Triton X-100					
	25°C		30°C		40°C		25°C		30°C		40°C	
	D ($\mu\text{m}^2.\text{s}^{-1}$)	R_h (nm)										
0	/	/	/	/	/	/	26.4	6.8	25.8	7.9	24.4	10.4
0.67	26.7	6.8	27.4	6.6	32.0	7.94	25.7	7.1	25.08	8.2	22.5	11.2
1.35	24.6	7.3	25.2	7.2	26.6	9.55	23.8	7.6	23.86	8.6	21.8	11.6
2.7	22.2	8.2	23.1	7.9	22.0	11.5	21.2	8.7	21.23	9.6	17.8	14.2
5.4	18.0	10.1	17.7	10.2	17.3	14.7	17.0	10.7	15.6	13.1	12.1	21.0
8.1	14.3	12.7	14.0	12.9	12.9	19.7	13.1	13.9	11.9	17.2	8.9	28.5

Tableau 3 : Variation du coefficient de diffusion (D) et du rayon hydrodynamique (R_h) du TX100 (5 % en poids)_Bz en fonction de la température et de la concentration en tensioactif.

Pour faciliter la lecture du Tableau 3, nous avons présenté sous forme de graphique la variation du rayon hydrodynamique en fonction de la concentration en benzophénone du système TX100 (5 % en poids) Bz à 25 °C (Figure 21) et à 40°C (Figure 22).

a) Analyse à 25°C

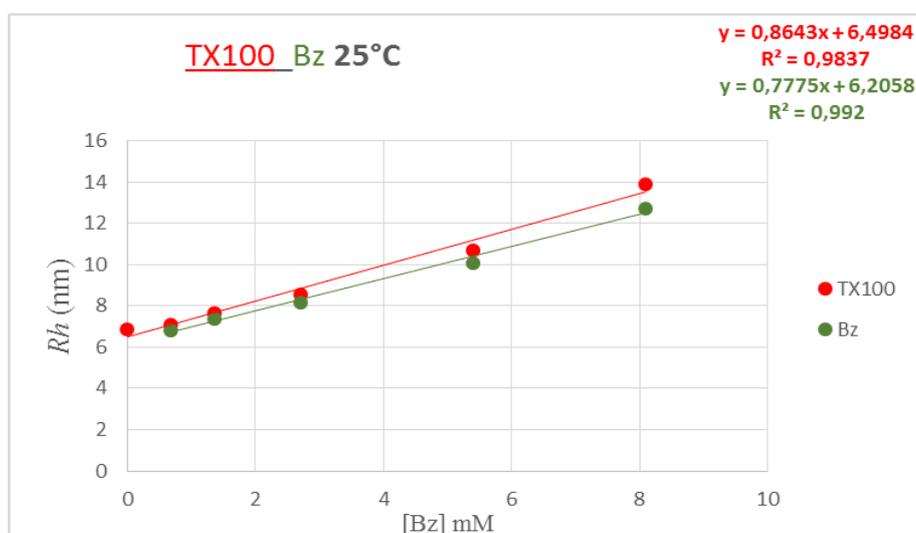


Figure 21 : Effet de la concentration en benzophénone sur la valeur du Rayon hydrodynamique (R_h) du TX-100 (5 % en poids)_Bz à 25°C

Sur la courbe notée TX100 (en rouge) de la Figure 21, les valeurs du R_h ont été calculées à partir des coefficients de diffusion caractéristiques des micelles de Triton X-100. Celle notée Bz (en vert) représente les R_h calculés à partir des coefficients de diffusion de la benzophénone. Les deux courbes obtenues présentent une augmentation linéaire de R_h en fonction de la concentration en benzophénone. Les rayons hydrodynamiques de la benzophénone et du Triton X-100 augmentent globalement de 7 nm à 14 nm. Le TX100 et la benzophénone appartiennent

donc à la même entité diffusante (même Rh). Nous constaterons qu'en même temps que le TX100 solubilise la benzophénone, les micelles se gonflent jusqu'à atteindre un rayon hydrodynamique avec une valeur largement supérieure à celle obtenue dans le cas des micelles sans benzophénone.

b) Analyse à 40°C

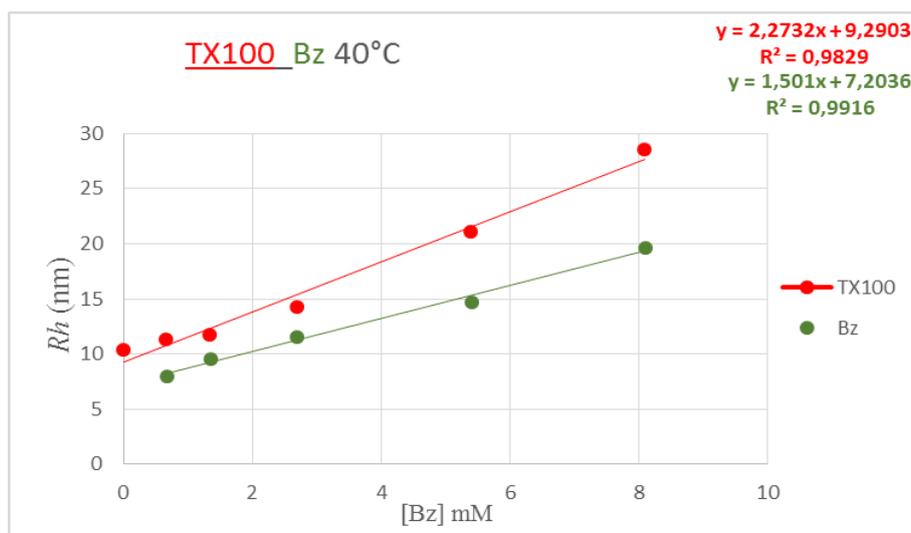


Figure 22 : Effet de la concentration en benzophénone sur le Rayon hydrodynamique (Rh) du TX-100 (5 % en poids) Bz à 40°C

A 40 °C les deux courbes présentées sur la Figure 22 montrent (comme à 25°C) une augmentation linéaire du rayon hydrodynamique du TX100 en fonction de la concentration en benzophénone. La valeur du Rh du TX100 passe de 10.4 nm (TX100 libre) à 28.5 nm en présence de 8.1 mM de benzophénone. Au même temps le Rh de la benzophénone augmente de 8 nm à 20 nm. La différence de taille entre la benzophénone (20 nm) et le TX-100 (28.5 nm) pourrait s'expliquer par une libération partielle de la benzophénone qui se trouverait en équilibre dynamique avec la benzophénone encapsulée se traduisant par une augmentation du coefficient de diffusion (cf. DOSY présentée sur la Figure 19) et par conséquent une diminution du Rh .

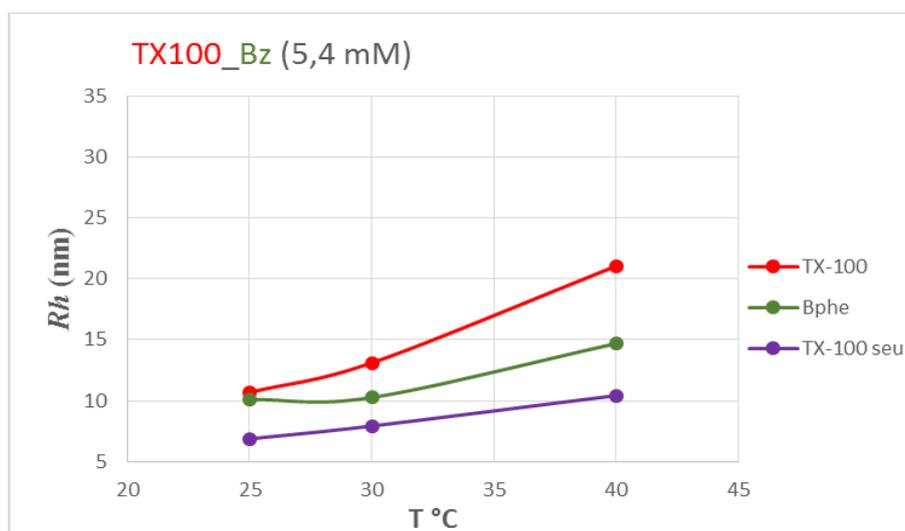


Figure 23 : Effet de la température sur le Rayon Hydrodynamique (R_h) du TX100 (5 % en poids)_Bz (5.4 mM)

La Figure 23, présente l'influence de la température sur le diamètre des micelles de TX100 (5% en poids) en présence de 5.4 mM de benzophénone. Sur cette figure nous constatons une augmentation en fonction de la température du diamètre des micelles de TX100 (y compris le TX100 sans benzophénone). Nous expliquons ce phénomène de la manière suivante : au fur et à mesure que la température augmente, les chaîne POE (tête hydrophile du Triton X-100) se désolvatent, ce qui produit une réduction de l'hydrophilicité des micelles de TX100. La valeur de CMC diminue et le nombre d'agrégation croît entraînant une augmentation de la taille des micelles.

En résumé :

La benzophénone, molécule de nature très hydrophobe, est solubilisée grâce aux micelles de TX-100 (CMC de 0.2-0.3 mM, cf. paragraphe 3.2).

Les analyses par la technique DOSY/RMN montrent qu'à 25°C, le Triton X-100 et le principe actif (benzophénone) possèdent le même coefficient de diffusion. De ce fait, le principe actif se trouve à l'intérieur de la micelle du TX-100. Il semblerait qu'à 40°C, la benzophénone quitte partiellement la micelle (relargage) car son coefficient de diffusion ne se différencie que très peu de celui du TX-100.

L'étude du rayon hydrodynamique des micelles a permis de confirmer l'encapsulation de la benzophénone à l'intérieur des solutions micellaire du TX-100 et de mettre évidence un

relargage partiel du principe actif suite à une sollicitation thermique. Le Triton X-100 ne possède pas les propriétés d'un vecteur de principe actif, il se comporte plutôt comme agent pseudo-chélatant de molécules hydrophobes.

Le problème de la localisation du principe actif reste entier. La benzophénone est-elle située au sein du cœur hydrophobe ou en périphérie dans la couronne hydrophile ?

6.3 Interaction dipolaire et détermination de proximités spatiales inter et intramoléculaires : RMN NOESY

6.3.1 Principe

Les interactions dipolaires correspondent aux interactions de proximités spatiales intra- ou intermoléculaires. Les expériences bidimensionnelles NOESY (Nuclear Overhauser Enhancement SpectroscopY) et ROESY (Rotating-frame Overhauser SpectroscopY) offrent un moyen simple de visualiser toutes les interactions dipolaires (^1H - ^1H) en une seule expérience (Schéma 5). Les deux expériences NOESY et ROESY apportent le même type d'information mais, en fonction de paramètres tels que la valeur du champ magnétique (ω_0) et le temps de corrélation (τ_c) des systèmes étudiés, l'effet NOE sera observable avec une plus grande intensité, avec l'une ou l'autre des expériences.

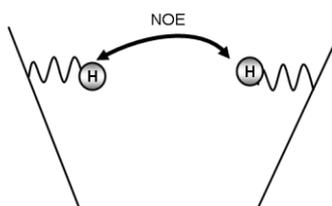


Schéma 5 : Représentation schématique des interactions observées par NOESY et ROESY

La technique 2D NOESY est capable de mettre en évidence des relations spatiales entre les protons de différentes molécules se trouvant à proximité l'une de l'autre. L'existence de taches de corrélations sur le spectre NOESY 2D indique que la distance entre les protons est inférieure à 5 Å. Cette distance relative entre les protons est inversement proportionnelle à l'intensité des taches observées ($I \approx 1/r^6$).

Nous avons appliqué cette séquence RMN 2D sur le système TX-100_Bz 2.7mM afin de pouvoir localiser la benzophénone dans les micelles de Triton X-100, et ce, à 25°C et à 40°C.

6.3.2 Analyse par RMN NOESY du système TX-100 Bz

a) Analyse à 25°C

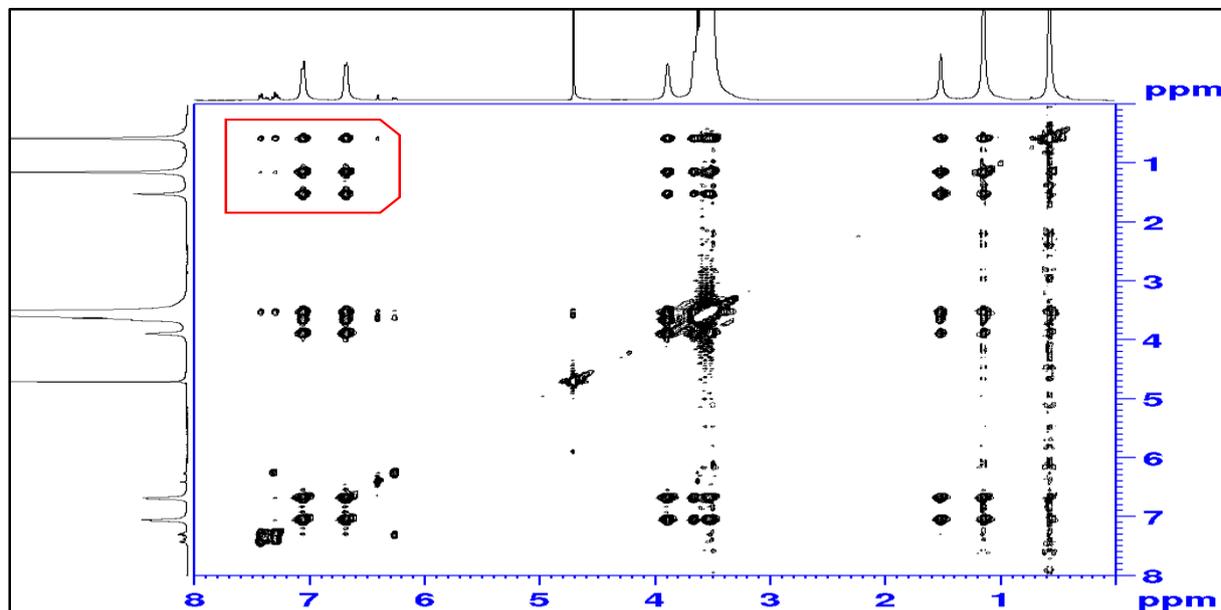


Figure 24 : Carte bidimensionnelle NOESY du TX-100 (5 % en poids) benzophénone (2.7 mM) (D₂O, 25°C)

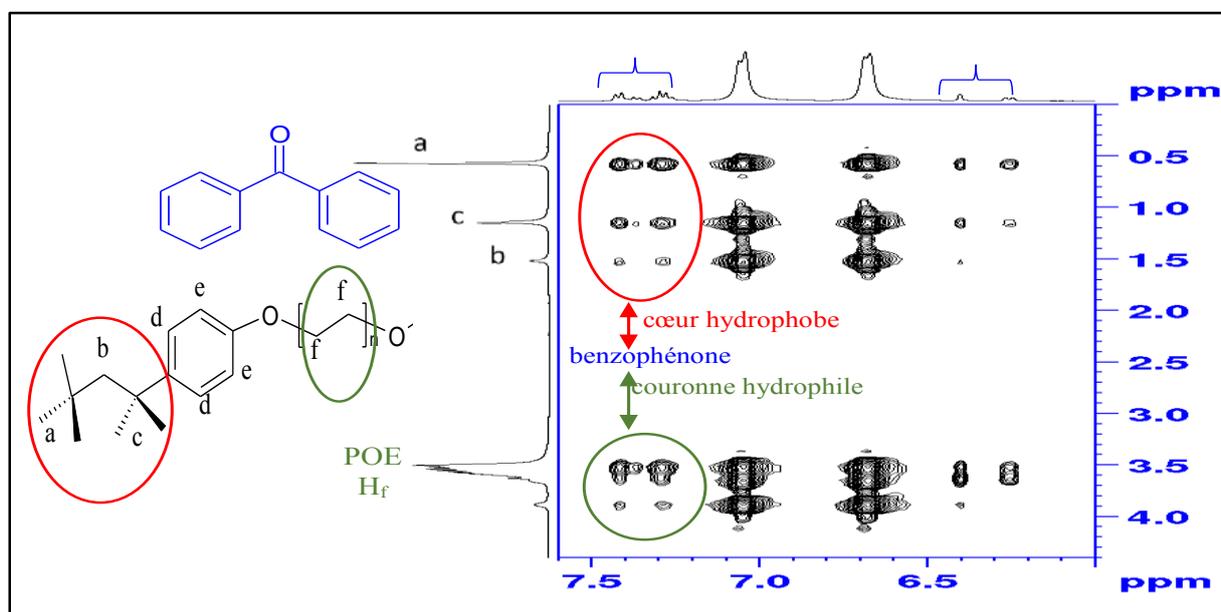


Figure 25 : Carte bidimensionnelle du TX-100 (5 % en poids)_ benzophénone (2.7 mM). (D₂O, 25°C)
Agrandissement de la région 7.6-6 ppm (benzophénone) et de la région 4.4-0 ppm (Triton-X100)

La Figure 24 présente la carte bidimensionnelle NOESY du TX-100 (5 % en poids) en présence de benzophénone (2.7mM) dans D₂O à 25 °C.

Nous noterons la présence de taches de corrélation entre le cœur hydrophobe du TX-100 (bouts de chaîne (a), (b) et (c)) et les noyaux aromatique de la benzophénone (Figure 25).

La présence de ces interactions dipolaires nous permet de localiser la benzophénone à l'intérieur des micelles de TX100.

Des interactions dipolaires entre la benzophénone et la couronne hydrophile sont également présentes sur la Figure 25.

b) Analyse à 40 °C

Les interactions dipolaires observées à 25°C disparaissent à 40°C. (Figures 26 et 27).

L'absence de taches de corrélation nous à 40 °C traduit le fait que la benzophénone est localisée à une distance de plus de 5 Å des micelles de TX100. Deux possibilités pour expliquer cette localisation : la benzophénone est libérée du cœur des micelles (relargage) ou bien la taille des micelles de TX100 augmente. L'étude précédente concernant le rayon hydrodynamique (R_h) confirme cette deuxième possibilité.

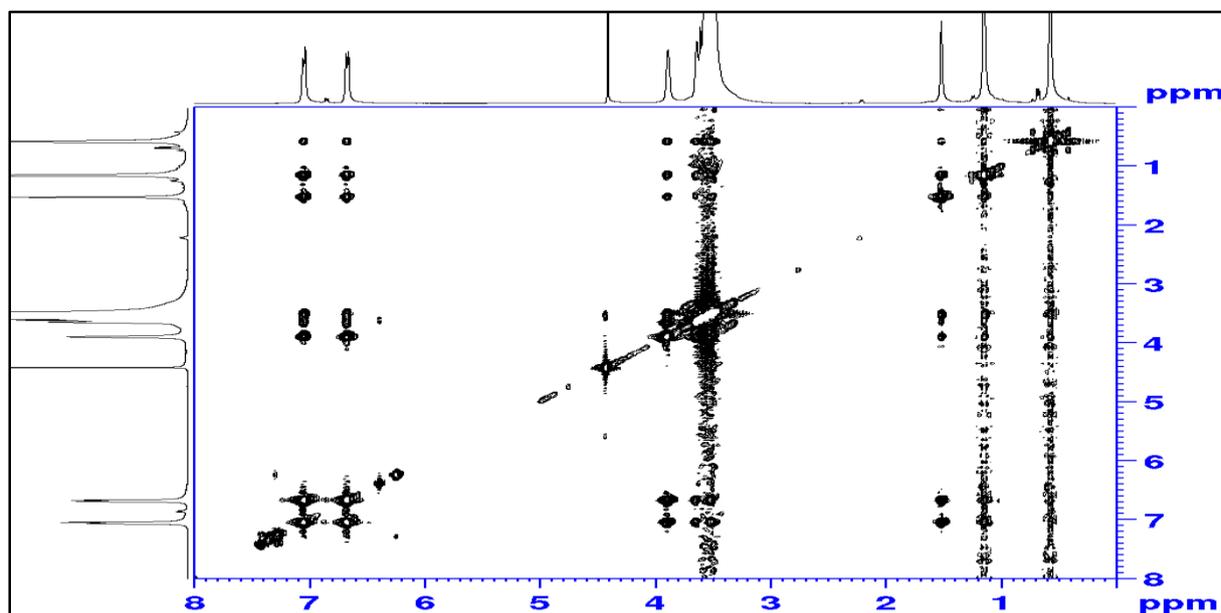


Figure 26 : Carte bidimensionnelle du TX-100 (5 % en poids) benzophénone (2.7 mM) (D_2O , 40°C)

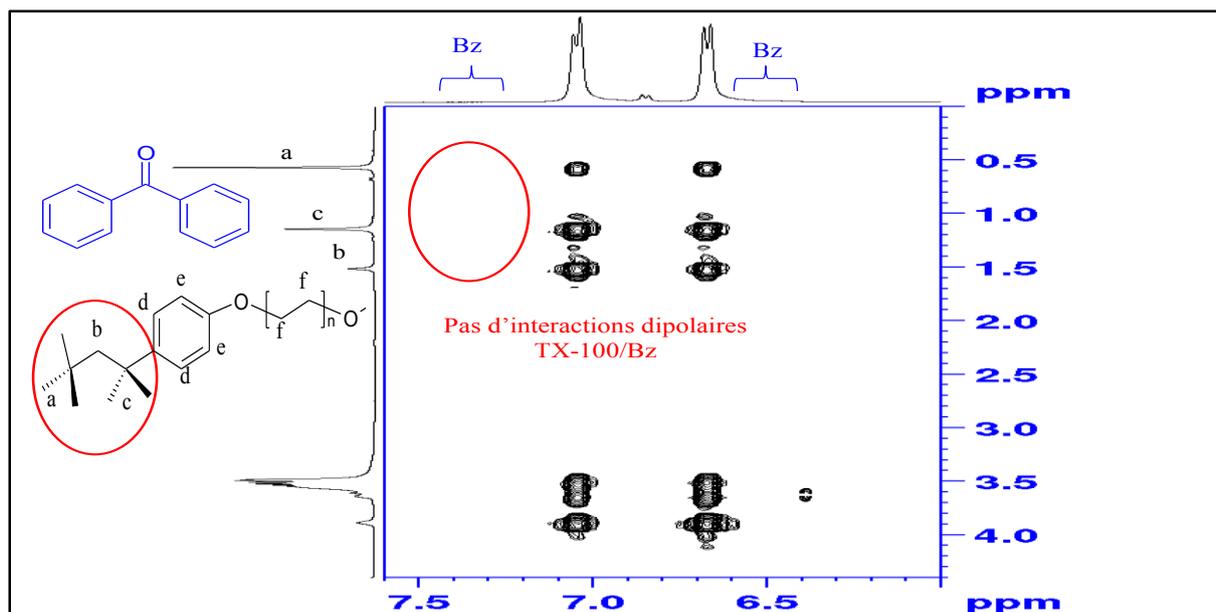


Figure 27 : Carte bidimensionnelle du TX-100 (5 % en poids) benzophénone (2.7 mM) (D₂O, 40°C)
Agrandissement de la région 7.6-6 ppm (benzophénone) et de la région 4.4-0 ppm (Triton-X100)

En résumé :

A 25°C, la benzophénone a été localisée par RMN 2D NOESY à une distance inférieure à 5 Å dans le cœur hydrophobe et à proximité de la couronne hydrophile.

A 40 °C, aucune proximité spatiale inférieure à la distance de 5 Å n'est détectée par RMN bidimensionnelle NOESY, les micelles du TX-100 ont augmenté de volume et la benzophénone y est toujours encapsulée.

6.4 Etude de l'encapsulation et relargage de la benzophénone (Bz) par le vecteur Pluronic F127

6.4.1 Analyse par RMN¹H

L'influence de la concentration en benzophénone en présence du Pluronic F127 (5% en poids) a également été étudiée par RMN¹H (Figure 28). Comme dans le cas précédent, l'intensité des pics relatifs à la benzophénone est proportionnelle à sa concentration dans le milieu.

A la différence du Triton X-100, l'étude par RMN protonique montre que le Pluronic F127 se trouve dans deux états pouvant être attribués à la forme libre et la forme liée.

En effet, la Figure 29 montre la présence de deux massifs larges dans la région des déplacements chimiques du groupement méthyle du POP (polyoxyde de propylène) :

- un premier massif avec un déplacement chimique ne variant pas en fonction de la concentration de benzophénone est attribué à la forme libre.
- par contre le déplacement chimique du deuxième massif varie en fonction de la concentration en benzophénone, nous sommes donc en présence du Pluronic sous sa forme liée.

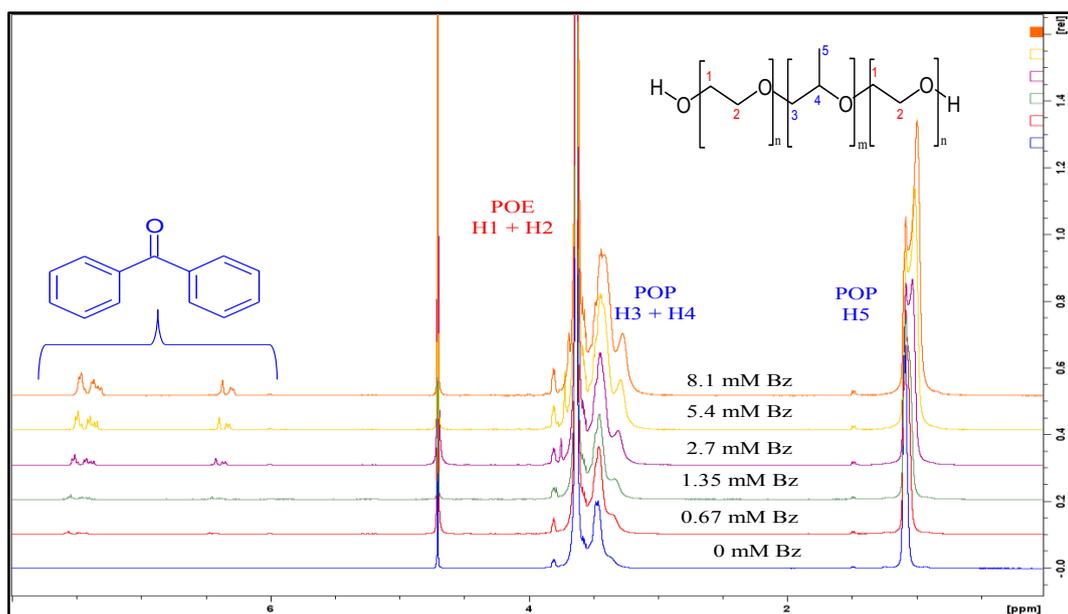


Figure 28 : Spectres ^1H du Pluronic F127 (5 % en poids) en présence de différentes concentrations en benzophénone (D_2O , 25°C)

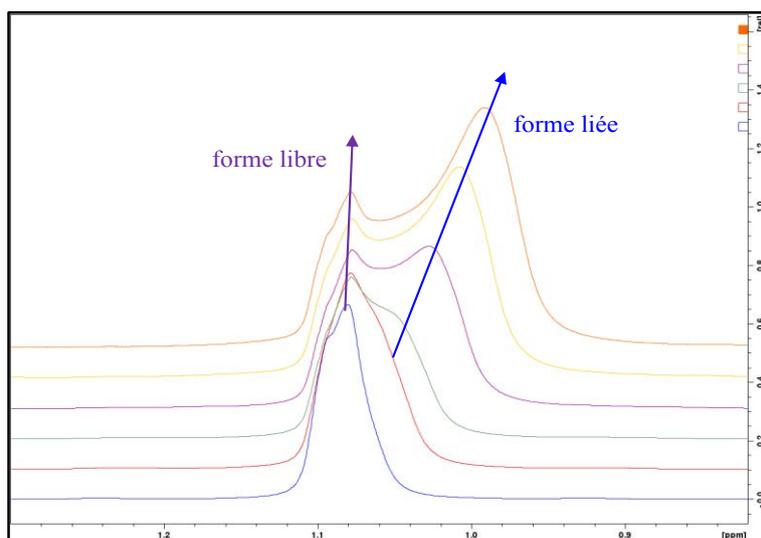


Figure 29 : Agrandissement de la région des déplacements chimiques du groupement méthyle du POP

6.4.2 Analyse par RMN diffusionnelle

6.4.2.1 Analyse DOSY/RMN

a) Analyse à 25°C

La Figure 30, présente la carte DOSY du mélange Pluronic F127 (5% en poids) Bz 2.7 mM analysée dans D₂O à 25°C. Le traitement sous forme de courbes de Stejskal-Tanner est présenté sur la Figure 31.

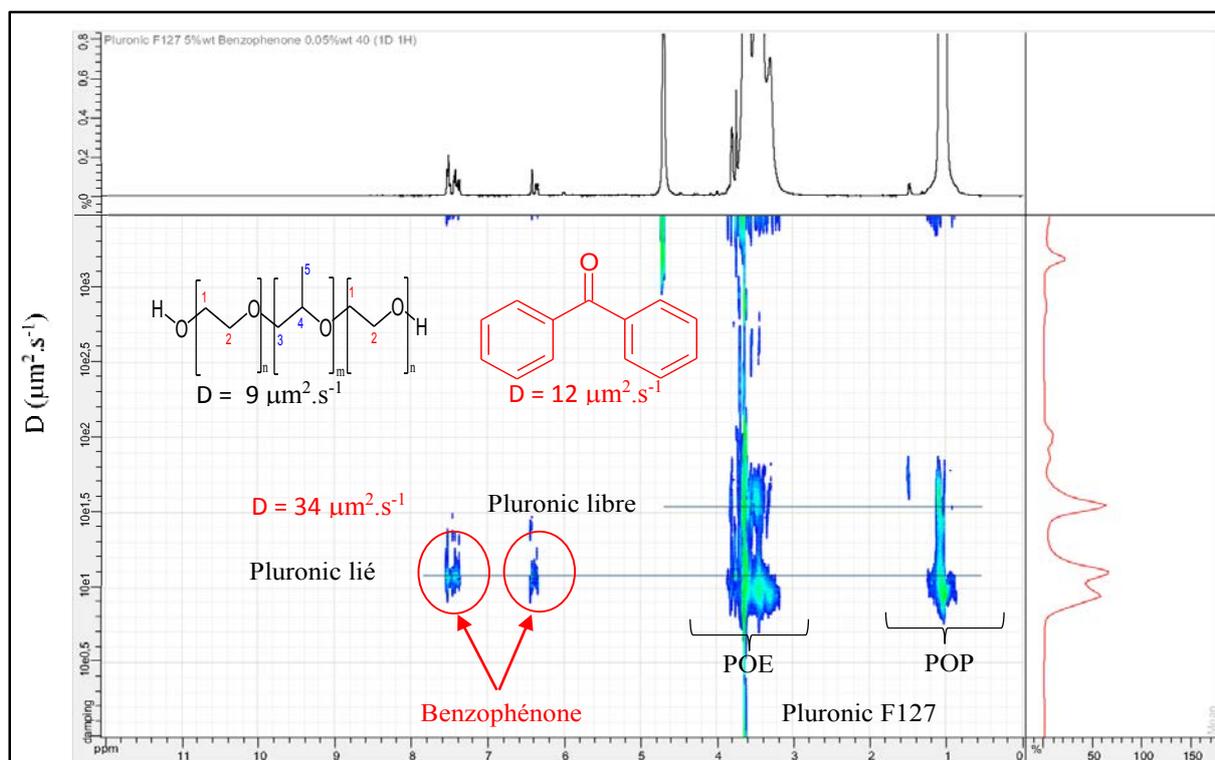


Figure 30 : Spectre DOSY du Pluronic F127 (5 % en poids)_benzophénone (2.7 mM). (D₂O, 25°C)

Les deux méthodes confirment la présence de deux coefficients de diffusion avec des valeurs très proches ($9 \mu\text{m}^2.\text{s}^{-1}$ et $12 \mu\text{m}^2.\text{s}^{-1}$) que nous attribuons à la forme liée (Pluronic-benzophénone).

La Figure 34, montre également la présence d'une entité diffusante ($D = 34 \mu\text{m}^2.\text{s}^{-1}$) de taille inférieure à celle du complexe Pluronic Bz : il s'agit du copolymère Pluronic sous sa forme libre.

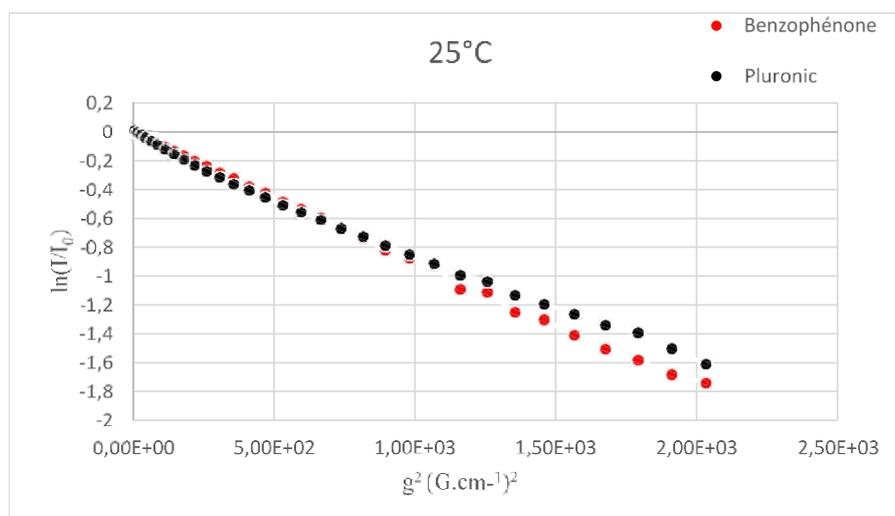


Figure 31 : Superposition des courbes de Stejskal-Tanner obtenues par intégration des signaux caractéristiques de la benzophénone et du copolymère Pluronic F127 (D_2O , 25°C)

b) Analyse à 40°C

La détermination du coefficient de diffusion à partir de la pente des courbes de Stejskal-Tanner (Figure 32) montre comme dans le cas du traitement de la carte DOSY (Figure 33), l'existence de deux coefficients de diffusion à $41.5 \mu\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$ et $100 \mu\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$ attribués respectivement à la forme libre du Pluronic et à la benzophénone.

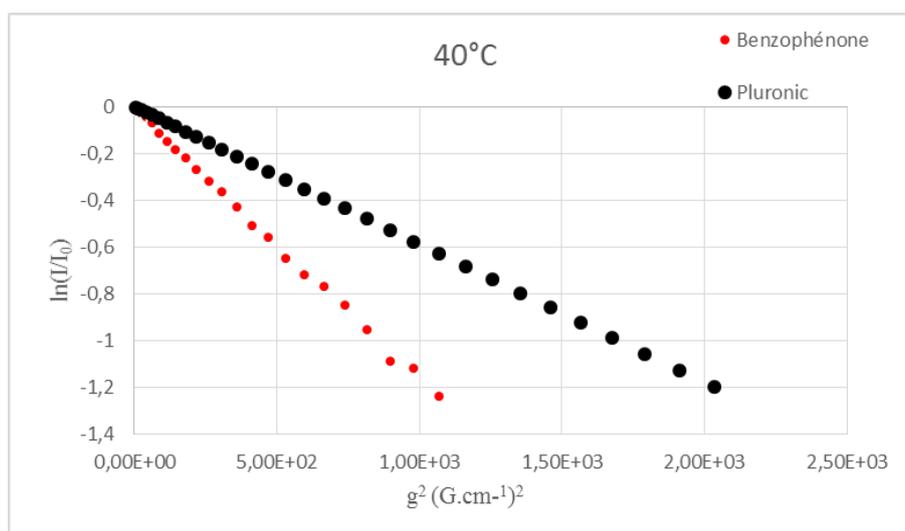


Figure 32 : Superposition des courbes de Stejskal-Tanner obtenues par intégration des signaux caractéristiques de la benzophénone et du copolymère Pluronic F127 (D_2O , 40°C)

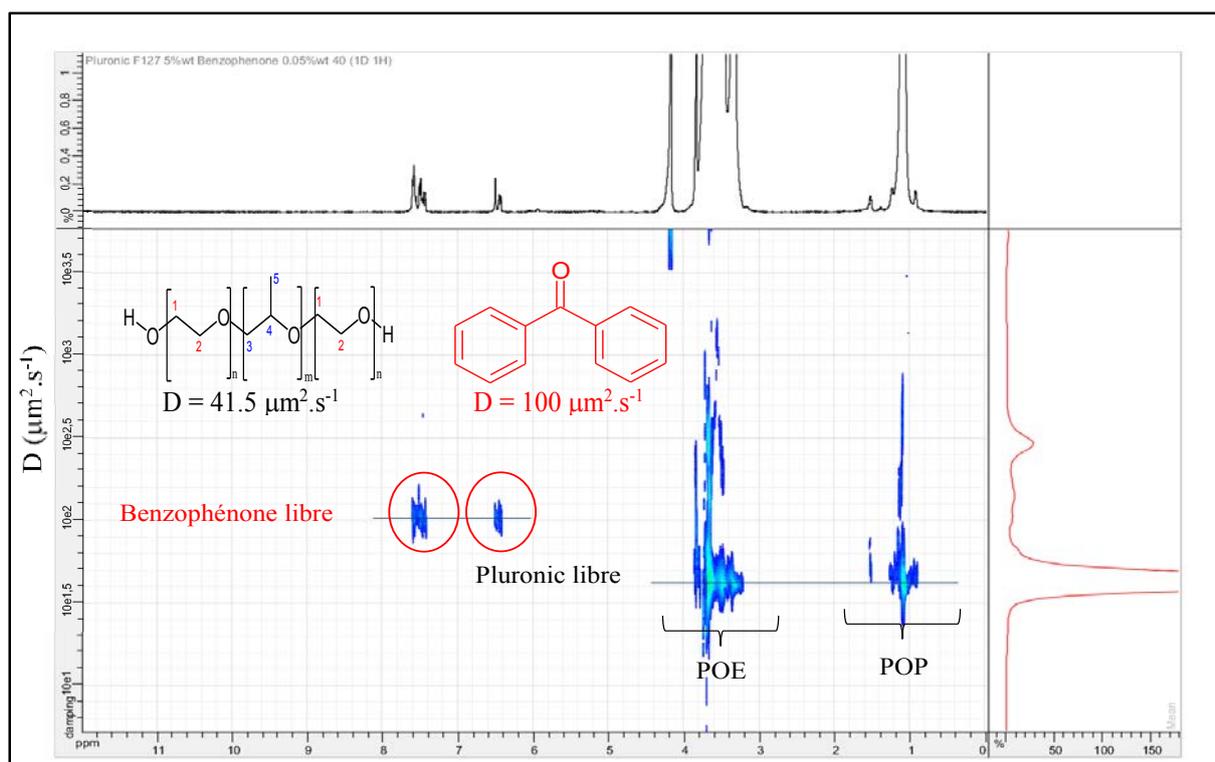


Figure 33 : Spectre DOSY du Pluronic F127 (5 % en poids)_benzophénone (2.7 mM) (D₂O, 40°C)

A 40 °C, la carte DOSY montre clairement la disparition de la forme liée Pluronic_benzophénone, il semblerait donc que la benzophénone ait été expulsée des solutions micellaires du polymère tensioactif. Pour vérifier cela, nous allons étudier l'effet de la température et de la concentration en benzophénone sur le rayon hydrodynamique (Rh) des micelles

6.4.2.2 Etude du Rayon hydrodynamique

Comme pour l'étude du Triton X-100, les valeurs des coefficients de diffusion (D) ont été déterminées grâce à la modélisation des courbes de diffusion. Dans le cas de micelles sphériques, ces valeurs permettent d'accéder aux rayons hydrodynamiques (Rh) en utilisant l'équation 2 de Stokes-Einstein. Les valeurs de Rh ainsi que les coefficients de diffusion sont indiquées dans le Tableau 4 (valeurs de D et de Rh du Pluronic dans les solutions micellaires) et le Tableau 5 (valeurs de D et de Rh de la benzophénone dans les solutions micellaires).

Suivi du Pluronic F127								
	25°C		30°C		40°C		60°C	
[Bz] mM	D ($\mu\text{m}^2.\text{s}^{-1}$)	R_h (nm)						
0	13.0	13.9	9.6	21.2	11.7	21.6	22.4	16.2
0.67	10.6	17.1	8.7	23.6	10.8	23.5	23.4	15.5
1.35	9.6	18.9	9.5	21.4	11.8	21.4	22.1	16.4
2.7	8.2	22.1	9.1	22.4	11.6	21.8	21.9	16.5
5.4	7.99	22.7	9.05	22.6	11.5	22.1	21.9	16.5

Tableau 4 : Effet de la température et de la concentration en benzophénone sur la valeur du Rayon hydrodynamique (R_h) des micelles de **PF127** (5 % en poids)_Bz

Suivi du benzophénone								
	25°C		30°C		40°C		60°C	
[Bz] mM	D ($\mu\text{m}^2.\text{s}^{-1}$)	R_h (nm)						
0.67	13.6	13.3	14.2	14.4	19.3	13.1	46.4	7.8
1.35	11.9	15.2	14.6	14.0	23.6	10.7	45.8	7.9
2.7	10.9	16.6	13.7	14.9	20.7	12.2	49.7	7.3
5.4	10.3	17.6	13.4	15.3	20.7	12.2	49.7	7.3

Tableau 5 : Effet de la température et de la concentration en benzophénone sur la valeur du Rayon hydrodynamique (R_h) des micelles de PF127 (5 % en poids) **Bz**

a) Analyse à 25°C

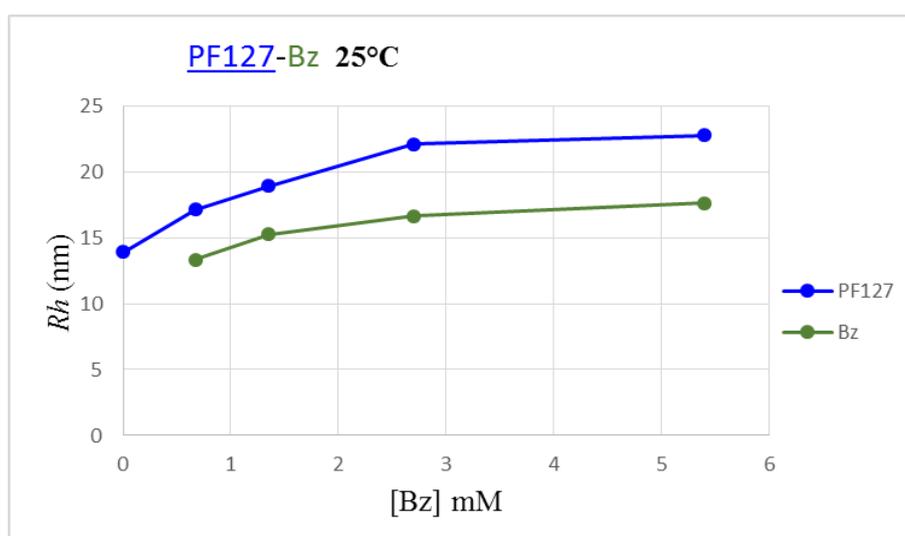


Figure 34 : Effet de la concentration en benzophénone sur le Rayon Hydrodynamique (R_h) du Pluronic F127 (5 % en poids) à 25°C

Les courbes représentées sur la Figure 34 ne présentent pas comme dans le cas du TX100 une augmentation linéaire de R_h en fonction de la concentration en benzophénone à 25°C.

Le rayon hydrodynamique du Pluronic augmente de 14 nm (micelle à l'état libre) à 23 nm (micelle à l'état lié), cette augmentation étant due à l'encapsulation de la benzophénone par les solutions micellaire du Pluronic F127. A partir d'une concentration de 2.7 mM en benzophénone, le Rh des micelles varie faiblement, ce qui indique très probablement qu'à cette concentration il n'y a plus (ou peu) d'encapsulations de la benzophénone.

a) Analyse à 40 °C

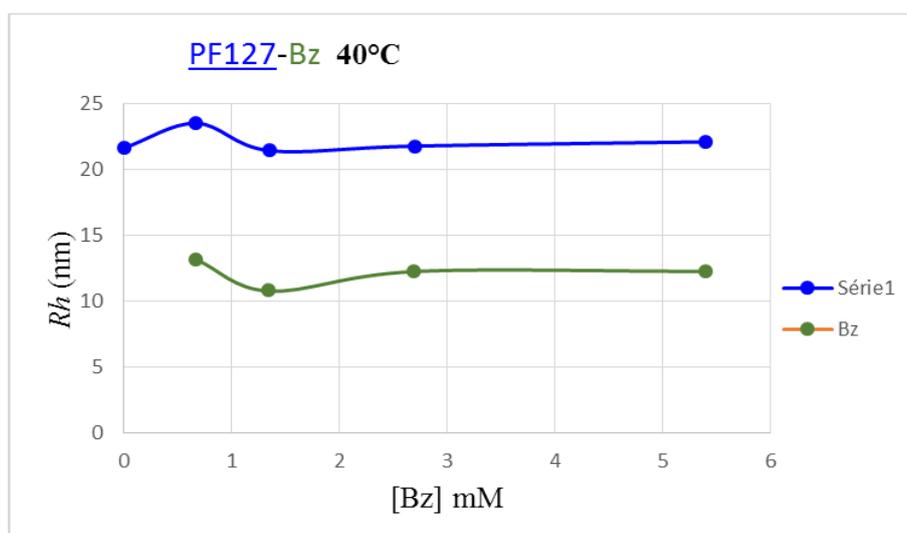


Figure 35 : Effet de la concentration en benzophénone sur le Rayon Hydrodynamique (Rh) du Pluronic F127 (5 % en poids) à 40°C

A 40 °C les courbes présentées sur la Figure 35 montrent que les tailles des micelles restent relativement constantes lorsque la concentration en benzophénone varie ($Rh = 22$ nm pour le Pluronic F127 et $Rh = 12$ nm pour la benzophénone). Seule une légère variation est observée mais ceci n'est pas révélateur d'une réelle influence.

L'effet de la température sur la solution micellaire du Pluronic F127 en présence de la benzophénone 5.4 mM est représenté sur la Figure 36.

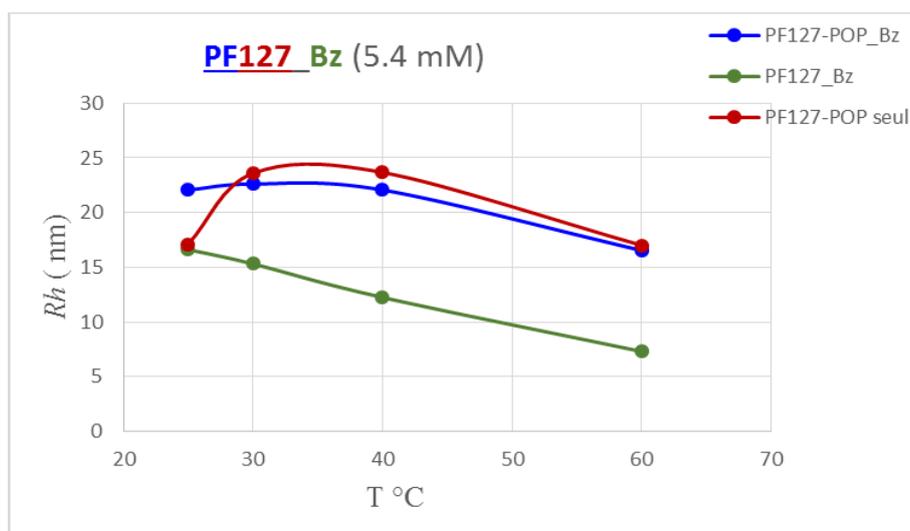


Figure 36 : Effet de la température sur le Rayon Hydrodynamique (R_h) du PF127 (5 % en poids)_Bz (5.4 mM)

Au fur et à mesure que la température augmente, le rayon hydrodynamique du Pluronic F127 diminue. La valeur du R_h de la benzophénone chute de 18 nm à 7 nm quand la température passe de 25 °C à 60°C (libération de la benzophénone).

A faible concentration et à température ambiante, le Pluronic F127 (POE-POP-POE) forme des micelles dans l'eau. L'augmentation de température conduit à une déshydratation du POP et engendre un écrasement des micelles avec libération du principe actif.

En résumé :

La benzophénone, molécule de nature très hydrophobe, est solubilisée grâce au polymère tensioactif Pluronic F127 (PF127) qui s'auto-assemble en milieu aqueux sous forme de micelles très stables grâce à une CMC de l'ordre de la micromole par litre.

Les analyses par DOSY/RMN montrent qu'à 25°C, le PF127 et la benzophénone possèdent le même coefficient de diffusion. De ce fait, le principe actif se trouve encapsulé à l'intérieur de la micelle du PF127. A 40°C, la benzophénone quitte la micelle (relargage) car son coefficient de diffusion se différencie aisément de celui du PF127.

L'étude du rayon hydrodynamique des micelles a permis de :

- ✓ confirmer l'encapsulation de la benzophénone à l'intérieur des solutions micellaire du PF127 (augmentation du Rh des micelles)
- ✓ de mettre évidence le relargage du principe actif suite à une sollicitation thermique (diminution du Rh des micelles)

A l'inverse du Triton X-100, le Pluronic F127 possède les propriétés d'un vecteur de molécules hydrophobes.

Le problème de la localisation du principe actif reste entier. La benzophénone est-elle située au sein du cœur hydrophobe ou en périphérie dans la couronne hydrophile ?

6.4.3 Analyse par RMN bidimensionnelle NOESY

a) Analyse à 25°C

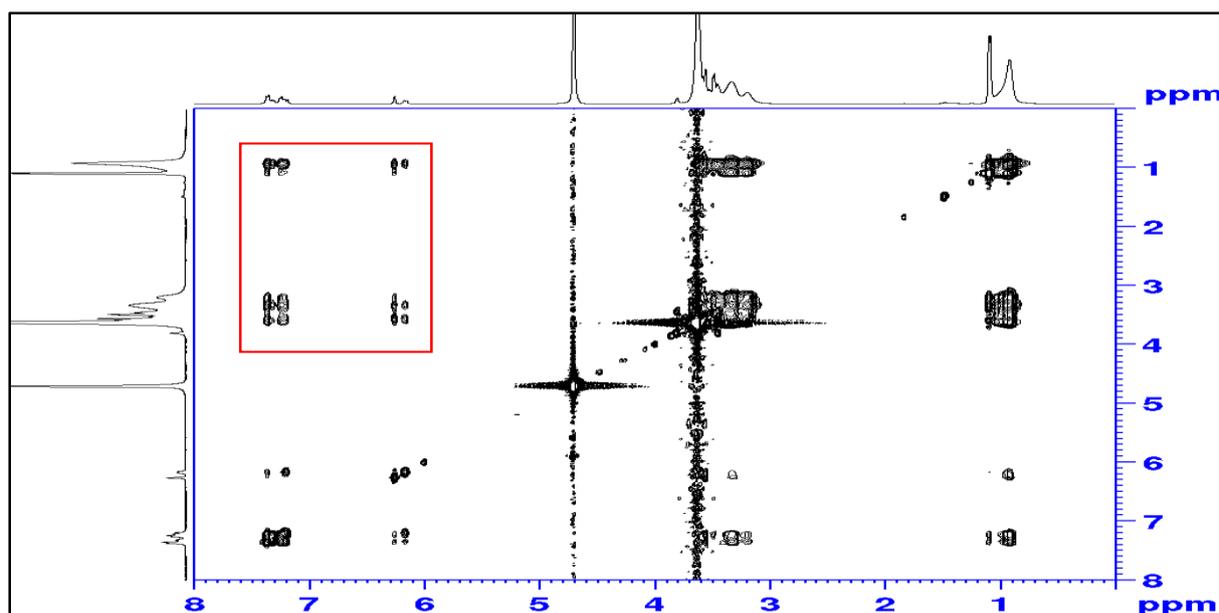


Figure 37 : Carte bidimensionnelle du Pluronic F127 (5 % en poids)_benzophénone (2.7 mM) (D₂O, 25°C).

La Figure 37 présente la carte bidimensionnelle NOESY du Pluronic (5 % en poids) en présence de la benzophénone (2.7 mM) dans D₂O à 25 °C.

Nous noterons la présence (avec une bonne résolution spectrale) d'interactions dipolaires entre le cœur hydrophobe du Pluronic (bloc POP) et les noyaux aromatique de la benzophénone (Figure 38). La présence de ces taches de corrélation nous permet de localiser à une distance inférieure à 5 Å la benzophénone à l'intérieur des micelles du Pluronic F127.

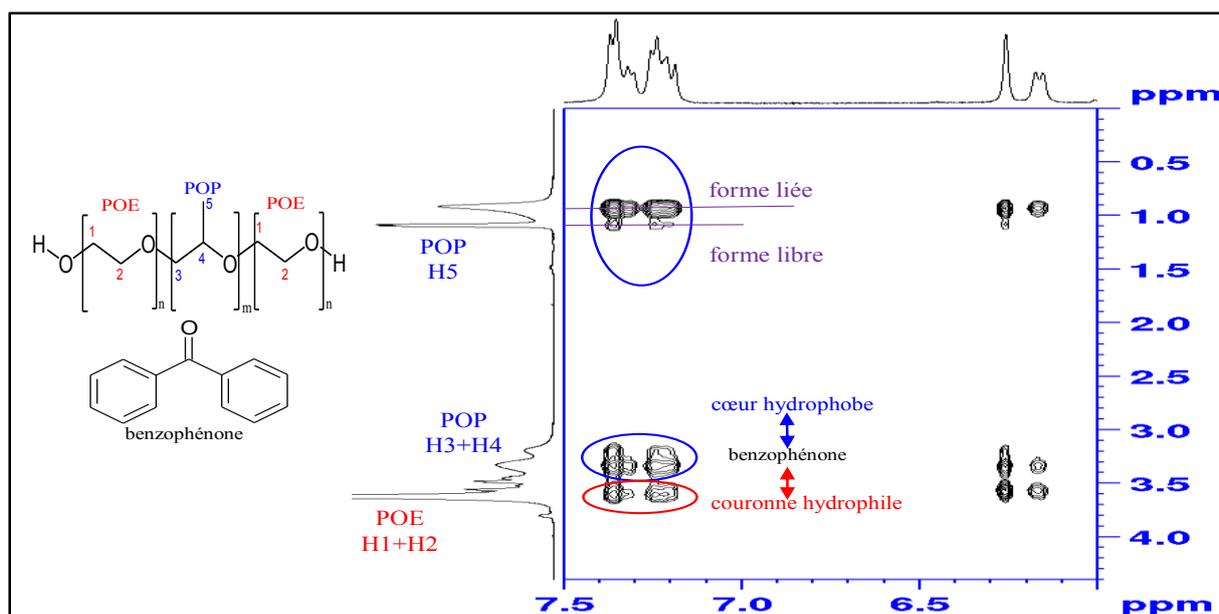


Figure 38 : Carte bidimensionnelle du Pluronic F127 (5 % en poids)_benzophénone (2.7 mM) (D₂O, 25°C)
Agrandissement de la région 7.6-6 ppm (benzophénone) et de la région 4.4-0 ppm (Pluronic F127).

La présence des formes libre et liée du Pluronic F127 est confirmée par la technique NOESY. En effet, les taches de corrélation sont quasiment inexistantes au niveau de la forme libre et plus intenses au niveau de la forme liée.

Des interactions dipolaires entre la benzophénone et la couronne hydrophile (bloc POE) sont également présentes sur la Figure 38.

b) Analyse à 40°C

Toutes les interactions mises en évidence à 25°C ont tendance à disparaître lorsque la température d'enregistrement des spectres passe à 40°C (Figures 39 et 40).

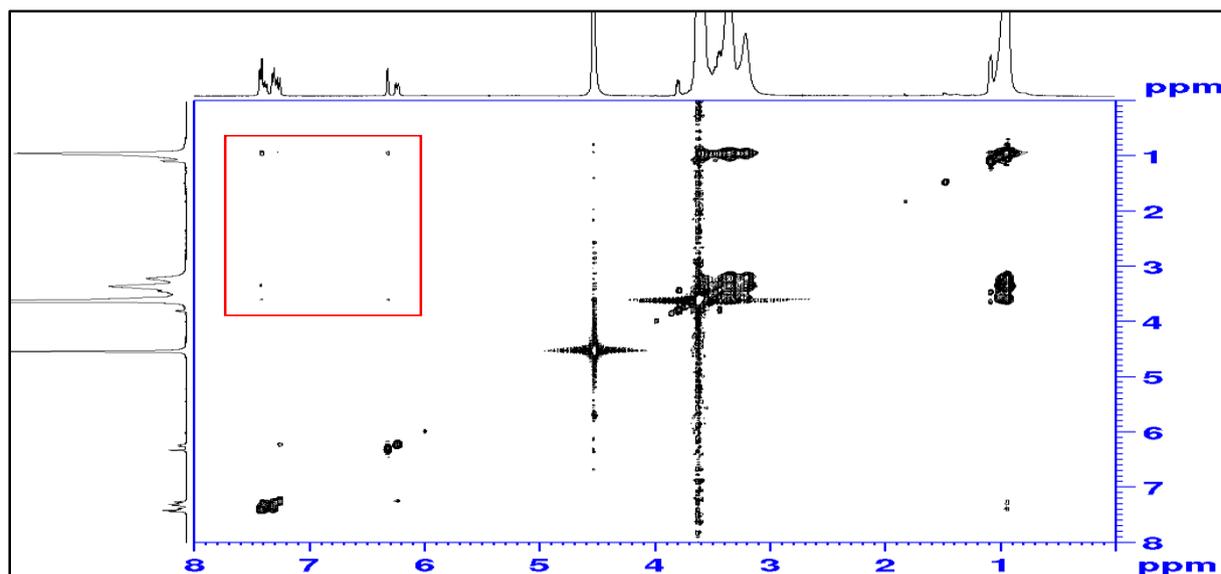


Figure 39 : Carte bidimensionnelle du Pluronic F127 (5 % en poids) benzophénone (2.7 mM) (D₂O, 40°C).

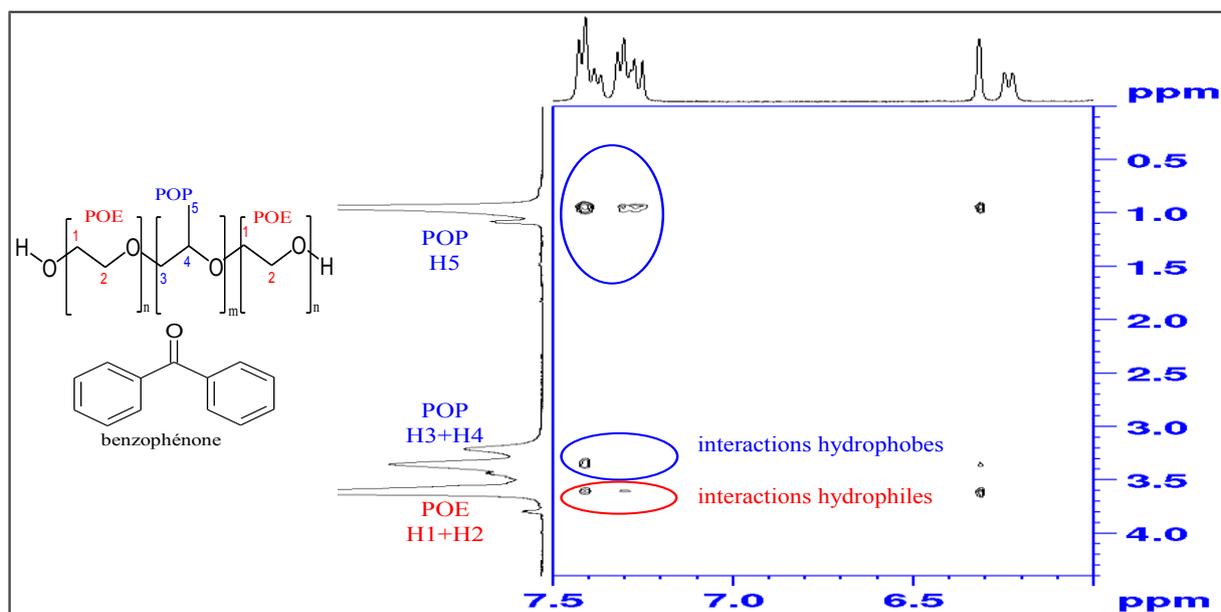


Figure 40 : Carte bidimensionnelle du Pluronic F127 (5 % en poids)_benzophénone (2.7 mM). (D₂O, 40°C)
Agrandissement de la région 7.6-6 ppm (benzophénone) et de la région 4.4-0 ppm (Pluronic F127).

En résumé :

A 25°C, la benzophénone a été localisée par RMN 2D NOESY à une distance de moins de 5 Å dans le cœur hydrophobe et à proximité de la couronne hydrophile.

A 40 °C, Quelques interactions hydrophobes et hydrophiles persistent. L'étude du rayon hydrodynamique a montré une diminution du diamètre des micelles du Pluronic F127, avec relargage de la benzophénone.

7. Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons appliqué avec succès les techniques de RMN avancées (NOESY, et RMN diffusionnelle) à l'étude d'interactions entre deux tensioactifs non ionique (Pluronic F127 et Triton X-100) en présence d'un tensioactif ionique (SDS) et d'une molécule hydrophobe (benzophénone).

La méthode par RMN diffusionnelle ne nécessite aucune conditions de mesures particulières, elle est rapide et les mesures sont assez sensibles (CMC du Triton X100, 0.2 mM).

Les exemples du DodécylSulfate de Sodium (SDS) et du Triton X-100 illustrent la force des expériences de RMN même les plus classiques (RMN¹H), pour caractériser, outre des structures moléculaires, des phénomènes de micellisation c'est-à-dire d'auto-assemblage de molécules amphiphile qui pourraient être extrapolés à des espèces macromoléculaires.

La technique de RMN diffusionnelle permet de mesurer simultanément les coefficients de diffusion de différentes espèces en solution, contrairement à d'autres techniques qui ne peuvent les différencier (diffusion de la lumière) et qui fournissent donc des valeurs moyennes.

Nous avons pu mettre en évidence la formation de micelles mixtes en étudiant les interactions entre le Triton X-100 et le SDS. En effet, la formation des micelles mixtes a été détectée à une concentration d'agrégation critique (CAC) dont la valeur est inférieure à la CMC du tensioactif ionique (SDS) mais supérieure à celle du tensioactif non ionique (TX100).

La variation de la CMC en fonction de la fraction molaire en SDS en solution montre une attraction entre les deux surfactants dont les origines peuvent être diverses : diminution des répulsions électrostatiques entre les têtes polaires (sulfate du SDS) par la présence du TX100, ou bien une interaction favorable entre les têtes sulfate et les groupes hydroxyle du surfactant non ionique (TX100).

Nous avons également mis en évidence l'importance et la pertinence de la technique de RMN bidimensionnelle (NOESY et RMN diffusionnelle) à l'étude du phénomène d'encapsulation et du relargage d'un principe actif par un vecteur polymère.

La benzophénone, molécule très hydrophobe, est solubilisée grâce aux micelles de TX100 ($CMC = 0.2 \text{ mM}$). Elle a été localisée par RMN 2D NOESY à une distance inférieure à 5 Å dans le cœur hydrophobe et à proximité de la couronne hydrophile des micelles du tensioactif. L'étude du rayon hydrodynamique (Rh) a permis de confirmer l'encapsulation de la benzophénone et surtout de mettre en évidence le caractère pseudo-chélatant du TX100.

En effet, suite à une sollicitation thermique (40-60°C) le diamètre des micelles TX100 augmente. Cette augmentation a été expliquée de la manière suivante : au fur et à mesure que la température augmente, les chaînes polyoxyde d'éthylène (tête hydrophile du Triton) se désolvatent, ce qui produit une réduction de l'hydrophilicité, la CMC du TX100 diminue et le nombre d'agrégation croît entraînant une augmentation de la taille des micelles.

La même étude menée sur le Pluronic F127 comme vecteur de benzophénone nous a permis de mettre en évidence le relargage de la benzophénone après une sollicitation thermique des micelles de Pluronic F127. En effet, notre étude a montré que sous l'effet d'une élévation de température, le diamètre des micelles de tensioactif tend à diminuer, preuve de la libération de molécules de benzophénone.

- (1) Ulmius, J.; Lindman, B.; Lindblom, G.; Drakenberg, T. ^1H , ^{13}C , ^{35}Cl , and ^{81}Br NMR of aqueous hexadecyltrimethylammonium salt solutions: Solubilization, viscoelasticity, and counterion specificity. *J. Colloid Interface Sci.* **1978**, *65*, 88–97.
- (2) Figueira-González, M.; Francisco, V.; García-Río, L.; Marques, E. F.; Parajó, M.; Rodríguez-Dafonte, P. Self-Aggregation Properties of Ionic Liquid 1,3-Didecyl-2-methylimidazolium Chloride in Aqueous Solution: From Spheres to Cylinders to Bilayers. *J. Phys. Chem. B* **2013**, *117*, 2926–2937.
- (3) Flanagan, P. W.; Greff, R. A.; Smith, H. F. Applications of high resolution nuclear magnetic resonance spectrometry to the identification and quantitative analysis of nonionic surfactants. *Anal. Chem.* **1963**, *35*, 1283–1285.
- (4) Carminati, G.; Cavalli, L.; Buosi, F. Application of ^{13}C NMR to the identification of surfactants in mixture. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1988**, *65*, 669–677.
- (5) Furó, I. NMR spectroscopy of micelles and related systems. *J. Mol. Liq.* **2005**, *117*, 117–137.
- (6) Almoazen, H.; Simonelli, A. P. Determining the critical micelle concentration in O/W emulsion using the rate constant of hydrolysis for benzyl acetate. *J. Dispers. Sci. Technol.* **2008**, *29*, 958–965.
- (7) Dubey, N. A conductometric study of interaction between sodium dodecyl sulfate and 1-propanol, 1-butanol, 1-pentanol and 1-hexanol at different temperatures. *J. Surf. Sci. Technol.* **2008**, *24*, 139–148.
- (8) Pérez-Rodríguez, M.; Varela, L. M.; García, M.; Mosquera, V.; Sarmiento, F. Conductivity and Relative Permittivity of Sodium n-Dodecyl Sulfate and n-Dodecyl Trimethylammonium Bromide. *J. Chem. Eng. Data* **1999**, *44*, 944–947.
- (9) Zhao, J.; Fung, B. M. NMR study of the transformation of sodium dodecyl sulfate micelles. *Langmuir* **1993**, *9*, 1228–1231.
- (10) Heatley, F. Coupled ^{13}C longitudinal and transverse magnetic relaxation in micellar and non-micellar sodium octanoate. *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 1 Phys. Chem. Condens. Phases* **1987**, *83*, 2593–2603.

- (11) Ahlnäs, T.; Karlström, G.; Lindman, B. Dynamics and order of nonionic surfactants in neat liquid and micellar solution from multifield ^{13}C NMR relaxation and ^{13}C NMR chemical shifts. *J. Phys. Chem.* **1987**, *91*, 4030–4036.
- (12) Barthélémy, P.; Tomao, V.; Selb, J.; Chaudier, Y.; Pucci, B. Fluorocarbon-hydrocarbon nonionic surfactants mixtures: A study of their miscibility. *Langmuir* **2002**, *18*, 2557–2563.
- (13) Denkova, P. S.; Lokeren, L. V.; Verbruggen, I.; Willem, R. Self-Aggregation and Supramolecular Structure Investigations of Triton X-100 and SDP2S by NOESY and Diffusion Ordered NMR Spectroscopy. *J. Phys. Chem. B* **2008**, *112*, 10935–10941.
- (14) Torchilin, V. P. Structure and design of polymeric surfactant-based drug delivery systems. *J. Controlled Release* **2001**, *73*, 137–172.
- (15) Kjellin, U. R. M.; Reimer, J.; Hansson, P. An investigation of dynamic surface tension, critical micelle concentration, and aggregation number of three nonionic surfactants using NMR, time-resolved fluorescence quenching, and maximum bubble pressure tensiometry. *J. Colloid Interface Sci.* **2003**, *262*, 506–515.
- (16) Wang, T.-Z.; Mao, S.-Z.; Miao, X.-J.; Zhao, S.; Yu, J.-Y.; Du, Y.-R. ^1H NMR study of mixed micellization of sodium dodecyl sulfate and triton X-100. *J. Colloid Interface Sci.* **2001**, *241*, 465–468.
- (17) Gharibi, H.; Javadian, S.; Sohrabi, B.; Behjatmanesh, R. Investigation of interaction parameters in mixed micelle using pulsed field gradient NMR spectroscopy. *J. Colloid Interface Sci.* **2005**, *285*, 351–359.
- (18) Gao, H.-C.; Zhao, S.; Mao, S.-Z.; Yuan, H.-Z.; Yu, J.-Y.; Shen, L.-F.; Du, Y.-R. Mixed micelles of polyethylene glycol (23) lauryl ether with ionic surfactants studied by proton 1D and 2D NMR. *J. Colloid Interface Sci.* **2002**, *249*, 200–208.
- (19) Gjerde, M. I.; Nerdal, W.; Høiland, H. A NOESY NMR study of the interaction between sodium dodecyl sulfate and poly(ethylene oxide). *J. Colloid Interface Sci.* **1996**, *183*, 285–288.
- (20) Jerschow, A.; Müller, N. 3D diffusion-ordered TOCSY for slowly diffusing molecules. *J. Magn. Reson. - Ser. A* **1996**, *123*, 222–225.

- (21) Jerschow, A.; Müller, N. Suppression of Convection Artifacts in Stimulated-Echo Diffusion Experiments. Double-Stimulated-Echo Experiments. *J. Magn. Reson.* **1997**, *125*, 372–375.
- (22) Sawant, R. R.; Torchilin, V. P. Multifunctionality of lipid-core micelles for drug delivery and tumour targeting. *Mol. Membr. Biol.* **2010**, *27*, 232–246.
- (23) Jones, M.; Leroux, J. Polymeric micelles - a new generation of colloidal drug carriers. *Eur. J. Pharm. Biopharm. Off. J. Arbeitsgemeinschaft Für Pharm. Verfahrenstechnik EV* **1999**, *48*, 101–111.
- (24) Sawant, R. R.; Torchilin, V. P. Multifunctionality of lipid-core micelles for drug delivery and tumour targeting. *Mol. Membr. Biol.* **2010**, *27*, 232–246.
- (25) Allen, C.; Maysinger, D.; Eisenberg, A. Nano-engineering block copolymer aggregates for drug delivery. *Colloids Surf. B Biointerfaces* **1999**, *16*, 3–27.
- (26) Kwon, G. S.; Naito, M.; Kataoka, K.; Yokoyama, M.; Sakurai, Y.; Okano, T. Block copolymer micelles as vehicles for hydrophobic drugs. *Colloids Surf. B Biointerfaces* **1994**, *2*, 429–434.
- (27) Kabanov, A. V.; Lemieux, P.; Vinogradov, S.; Alakhov, V. Pluronic® block copolymers: Novel functional molecules for gene therapy. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2002**, *54*, 223–233.
- (28) Kabanov, A. V.; Batrakova, E. V.; Alakhov, V. Y. Pluronic® block copolymers as novel polymer therapeutics for drug and gene delivery. *J. Controlled Release* **2002**, *82*, 189–212.

Conclusion générale

Conclusion générale

L'objectif de ce travail de thèse était la mise à profit des techniques avancées de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN), et plus particulièrement la RMN diffusionnelle à l'étude des matériaux polymères.

Dans une première partie consacrée à l'étude de la structure primaire des matériaux polymères de faible masse (inférieure à 20 kDa), nous avons clairement démontré que l'association de séquences RMN dites « classiques » (^1H , ^{13}C , ^{31}P) à des techniques de RMN avancée (DOSY et RMN 2D HMBC) permet de déterminer:

- la fonctionnalisation des extrémités de chaînes des polymères,
- la valeur de la masse moyenne en nombre,
- la nature et la composition des blocs constituant un copolymère,

Le résultat majeur dans cette partie est le lien que nous avons pu établir entre les extrémités des chaînes de polymères et la voie de polymérisation. En effet, nous avons pu montrer que la caractérisation des extrémités de chaîne par des techniques de RMN avancées telles que la HMBC et la RMN diffusionnelle, apporte des informations fondamentales sur le processus de polymérisation utilisé. Cependant, l'analyse des groupements terminaux par RMN s'avère limitée à des polymères de faible masse molaire

La deuxième partie de ces travaux s'est focalisée sur l'étude de matériaux à architectures complexes dont les extrémités de chaînes ne sont pas (ou peu) détectées par des techniques de RMN classique (RMN ^1H). La séquence 2D HMBC et la technique de RMN/DOSY se sont avérées incontournables dans le cas de deux exemples d'architectures complexes (dibloc et tribloc), à base de monomères acrylique.

La technique HMBC nous a permis de faire un lien direct entre tache de corrélation et architecture donnée. De ce fait, grâce aux différents spectres HMBC que nous avons obtenus avec une très bonne résolution spectrale, il nous est possible de différencier une structure dibloc d'une structure tribloc même dans le cas de mélanges.

La RMN diffusionnelle s'est montrée pertinente dans cette partie de travail. Elle nous a permis de mettre en évidence :

- ✓ la présence de doubles liaisons terminales au cours d'une polymérisation radicalaire contrôlée par les nitroxydes. Leur présence serait attribuable à des réactions de dismutation. Quant à la polymérisation anionique, aucune insaturation n'a été détectée lors de l'analyse du poly(MMA-*b*-BA-*b*-MMA) ce qui confirme l'absence de réactions secondaires dans ce type de polymérisation.
- ✓ une nette amélioration de la polymérisation du méthacrylate de méthyle en présence de SG1 a été mise en évidence par l'ajout d'une faible quantité de styrène.
- ✓ la synthèse de copolymères dibloc a également été abordée grâce au très fort caractère ré-amorçable des macroamorceurs poly(MMA-*co*-S).
- ✓ la masse moyenne en poids (M_w) de trois copolymères poly((MMA-*co*-S)-*b*-P₄VP) a été déterminée à partir de la mesure du coefficient d'autodiffusion et des courbes d'étalonnage, les valeurs de M_w sont en accord avec celles déterminées par SEC.

La détermination de la *CMC* est basée sur la mesure du suivi d'une propriété physique (Conductimétrie, Diffractométrie, Fluorimétrie, etc...) Toutes ces méthodes sont spécifiques à certains types de détergents et donc spécifiques aux types de micelles formées. Elles nécessitent toutes, des conditions particulières.

Nous avons présenté dans cette dernière partie l'utilisation de la RMN diffusionnelle pour la détermination de la *CMC*. Cette méthode par RMN diffusionnelle ne nécessite aucune conditions de mesures particulières, elle est rapide et les mesures sont assez sensibles (*CMC* du Triton X100, 0.2 mM). Les exemples du DodécylSulfate de Sodium (SDS) et du Triton X-100 illustrent la force des expériences de RMN même les plus classiques (RMN¹H), pour caractériser, outre des structures moléculaires, des phénomènes de micellisation c'est-à-dire d'auto-assemblage de molécules amphiphile qui pourraient être extrapolé à des espèces macromoléculaires.

Nous avons appliqué avec succès les techniques de RMN 2D NOESY et RMN diffusionnelle à l'étude d'interactions entre deux tensioactifs non ioniques (Pluronic F127 et Triton X-100) en présence d'un tensioactif ionique (SDS) et d'une molécule hydrophobe (benzophénone).

La technique de RMN diffusionnelle permet de mesurer simultanément les coefficients de diffusion de différentes espèces en solution, contrairement à d'autres techniques qui ne peuvent les différencier (diffusion de la lumière) et qui fournissent donc des valeurs moyennes.

Nous avons pu mettre en évidence la formation de micelles mixtes en étudiant les interactions entre le Triton X-100 et le SDS. En effet, la formation des micelles mixtes a été détectée à une concentration d'agrégation critique (*CAC*) dont la valeur est inférieure à la *CMC* du tensioactif ionique (SDS) mais supérieure à celle du tensioactif non ionique (TX100). La variation de la *CMC* en fonction de la fraction molaire en SDS en solution montre une attraction entre les deux surfactants dont les origines peuvent être diverses : diminution des répulsions électrostatiques entre les têtes polaires sulfate du SDS par la présence du TX100 ou bien une interaction favorable entre les têtes sulfates et le bloc POE du surfactant non ionique (TX100).

Nous avons mis évidence également l'importance et la pertinence de la technique de RMN bidimensionnelle (NOESY et la RMN diffusionnelle) à l'étude du phénomène d'encapsulation et du relargage d'un principe actif par un vecteur polymère.

La benzophénone, molécule très hydrophobe, est solubilisée grâce aux micelles de TX100 (*CMC* = 0.2 mM). Elle a été localisée par RMN 2D NOESY à une distance inférieure à 5 Å dans le cœur hydrophobe et à proximité de la couronne hydrophile des micelles du tensioactif. L'étude du rayon hydrodynamique (*R_h*) a permis de confirmer l'encapsulation de la benzophénone et surtout de mettre en évidence le caractère pseudo-chélatant du TX100. En effet, suite à une sollicitation thermique (40-60°C) le diamètre des micelles TX100 augmente. Cette augmentation a été expliquée de la manière suivante : au fur et à mesure que la température augmente, les chaînes polyoxyde d'éthylène (tête hydrophile du Triton) se désolvatent, ce qui produit une réduction de l'hydrophilicité, la *CMC* du TX100 diminue et le nombre d'agrégation croît, les micelles augmentent de taille par conséquent.

La même étude menée avec le Pluronic F127 comme vecteur de benzophénone. Mais cette fois-ci, nous avons pu mettre en évidence le relargage de la benzophénone après une sollicitation thermique des micelles de Pluronic F127. En effet, au fur et à mesure que la température augmente, le diamètre des micelles de tensioactif diminue suite à la libération de molécules de benzophénone.

Les travaux présentés dans ce mémoire ont mis en lumière la diversité des études réalisables et des informations accessibles par la RMN de diffusion, et ce à deux niveaux de complexité,

l'un moléculaire, pour l'identification et la quantification des produits, et l'autre est supramoléculaire, pour la caractérisation des associations et agrégats formés.

Ces travaux ont ainsi permis de montrer que la RMN est un outil analytique performant pour la caractérisation des matériaux polymères.

Annexes

Spectroscopie RMN

Les expériences RMN 1D (^1H , ^{13}C et ^{31}P) et les expériences bidimensionnelles ont été réalisées sur un spectromètre Bruker Avance 400 équipé d'une sonde BBFO avec gradient Z. et d'une unité de régulation de température BCU 05 permettant des analyses de 0 à 150°C.

Les séquences Bruker classiques HSQC, HMBC, NOESY et DOSY ont été utilisées. Les spectres ^{13}C ont été accumulés sur une nuit. Les données RMN ont été traitées à l'aide du logiciel Bruker Topspin version 2.1

Spectres RMN ^1H (400.13 MHz)

- ✓ temps d'acquisition (AQ) : 2,72 s
- ✓ fenêtre spectrale (SW) : 6000 Hz
- ✓ taille de FID : 32 k
- ✓ délai de relaxation : 2 s
- ✓ accumulation : 64 scans

Spectres RMN ^{13}C (100,6 MHz)

- ✓ temps d'acquisition (AQ) : 1,36 s
- ✓ fenêtre spectrale (SW) : 24000 Hz
- ✓ taille de FID : 64 k
- ✓ délai de relaxation : 2 s
- ✓ accumulation : 12000 scans

Spectres RMN ^{31}P (161,9 MHz)

- ✓ temps d'acquisition (AQ) : 0,25 s
- ✓ fenêtre spectrale (SW) : 16180 Hz
- ✓ taille de FID : 8 k
- ✓ délai de relaxation : 2 s
- ✓ accumulation : 1024 scans

RMN NOESY ^1H - ^1H (séquence Bruker **noesygpph**), le temps d'expérience est estimé à 1h01

- ✓ temps d'acquisition (AQ) : 0,2 s

- ✓ fenêtre spectrale (SW) : 4800 Hz
- ✓ taille de FID : 1 k
- ✓ délai de relaxation : 1 s
- ✓ accumulation : 8 scans
- ✓ durée d'impulsion : 9.8 μ s (ce qui correspond à un angle de basculement d'environ 90°)
- ✓ temps de mélange (D8) : 800 ms

HSQC ^1H - ^{13}C (séquence Bruker **hsqcedgpph**), le temps d'expérience est estimé à 4h50.

- ✓ fenêtre spectrale (SW) : 20125 Hz (F1)* 5340 Hz (F2)
- ✓ taille de FID de (F1)* (F2) : 128 * 1024
- ✓ durée d'impulsion : P1 = 9.8 μ s, P3 = 7 μ s (P1 et P3 correspondent respectivement aux angles de basculement d'environ 90° pour le carbone ^{13}C et le proton ^1H)
- ✓ délai de relaxation : 2 s
- ✓ accumulation : 64 scans

HMBC ^1H - ^{13}C (séquence Bruker **hmbcgpndqf**), le temps d'expérience est estimé à 4h50.

- ✓ fenêtre spectrale (SW) : 20125 Hz (F1)* 5340 Hz (F2)
- ✓ –taille de FID de (F1)* (F2) : 128 * 4096
- ✓ durée d'impulsion : P1 = 9.8 μ s, P3 = 7 μ s (P1 et P3 correspondent respectivement aux angles de basculement d'environ 90° pour le carbone ^{13}C et le proton ^1H)
- ✓ CNST13 = 10.
- ✓ délai de relaxation : 2 s
- ✓ accumulation : 64 scans

RMN DOSY ^1H

L'ensemble des échantillons a été analysé par RMN DOSY ^1H , la séquence utilisée est un écho stimulé avec module LED (séquence Bruker : **ledbpg2s**)

Dans le cas de solvant peu visqueux (CDCl_3 par exemple), nous avons utilisé un double écho stimulé avec module LED afin de réduire les effets de convection (séquence Bruker : **dstebpgp3s**)

Nous avons également utilisé la séquence d'écho stimulé avec module LED et présaturation du signal de l'eau pendant le temps de relaxation afin d'augmenter le rapport signal/bruit. (séquence Bruker : **ledbpgpr2s**)

En pratique une série de 40 expériences est enregistrée en faisant varier linéairement l'intensité du gradient de 5 à 95 % avec une intensité maximale du gradient de 46.25 G/cm-1. Le délai de relaxation entre les impulsions est fixé à 2 s.

Après optimisation de la séquence DOSY, le délai de diffusion D20 varie de 50 ms à 200 ms et la durée du gradient P30 varie de 1,5 ms à 3,5 ms selon les échantillons. Les autres paramètres d'acquisitions sont identiques à ceux utilisés pour les expériences RMN 1D.

Suivant l'information recherchée, les données spectrales ont été traitées soit avec le logiciel Gifa 5.2® développé par M.A Delsuc et commercialisé par la société NMRtec (Illkirch, France). Soit avec le module de relaxation T_1/T_2 du logiciel Bruker Topspin.

Le logiciel Gifa utilise la méthode numérique d'optimisation par entropie maximum (MaxEnt) pour la transformée inverse de Laplace des spectres DOSY, celui de Topspin utilise l'approche par la méthode non linéaire des moindres carrés à l'aide de l'algorithme de Levenberg-Marquard.

Produits utilisés

Les solvants RMN ($CDCl_3$, Toluène- D_8 , C_6D_6 , et D_2O) ont été fournis par Euriso-top.

Le POE (6K et 20K), la benzophénone, le Triton X-100 ont été fournis par Aldrich. et le Pluronic F127 par BASF.

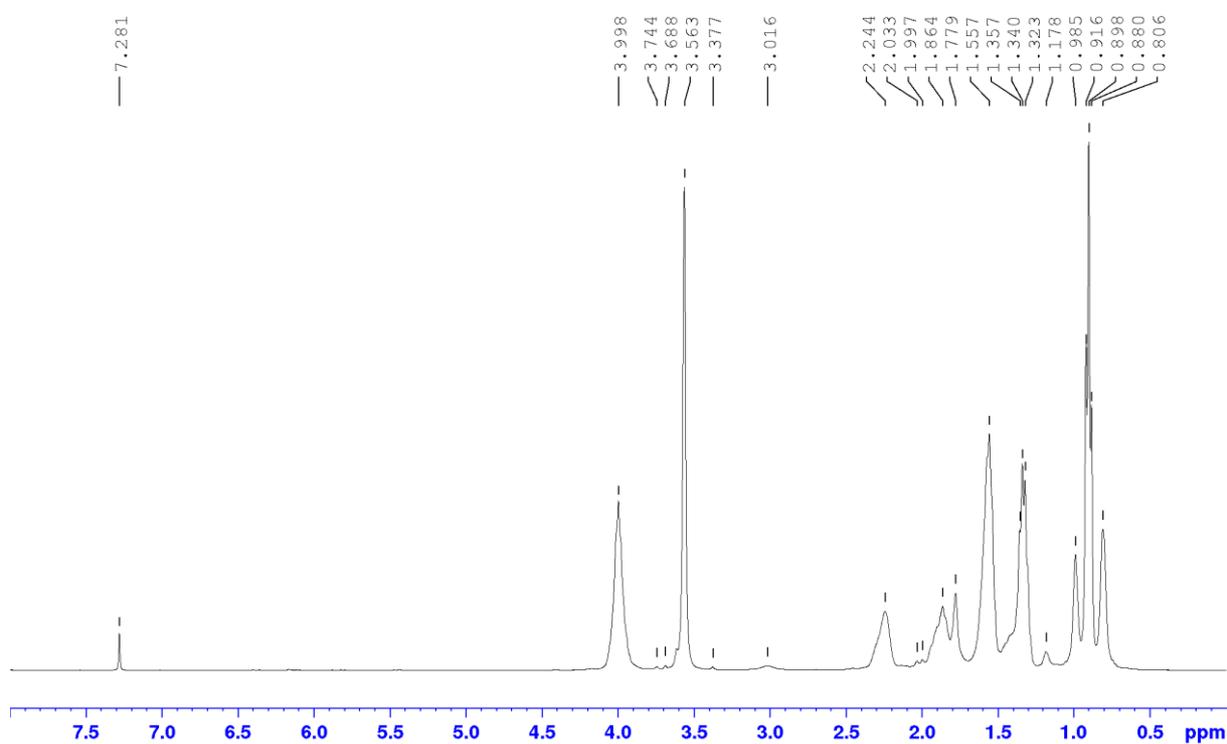
Les produits suivants ont été fournis par Arkéma :

- Dibloc poly(MMA-*b*-BA,
- Tribloc poly(MMA-*b*-BA-*b*-MMA),
- poly((MMA-DMA)-*b*-BA)
- poly((MMA-DMA)-*b*-BA-*b*-(MMA-DMA))

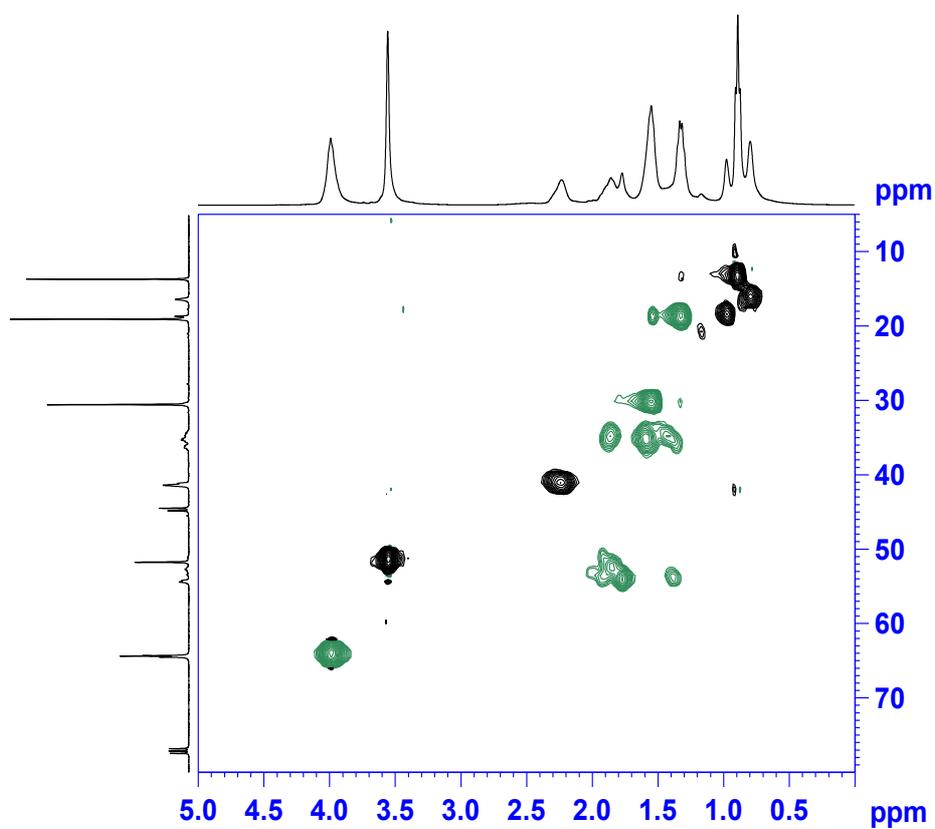
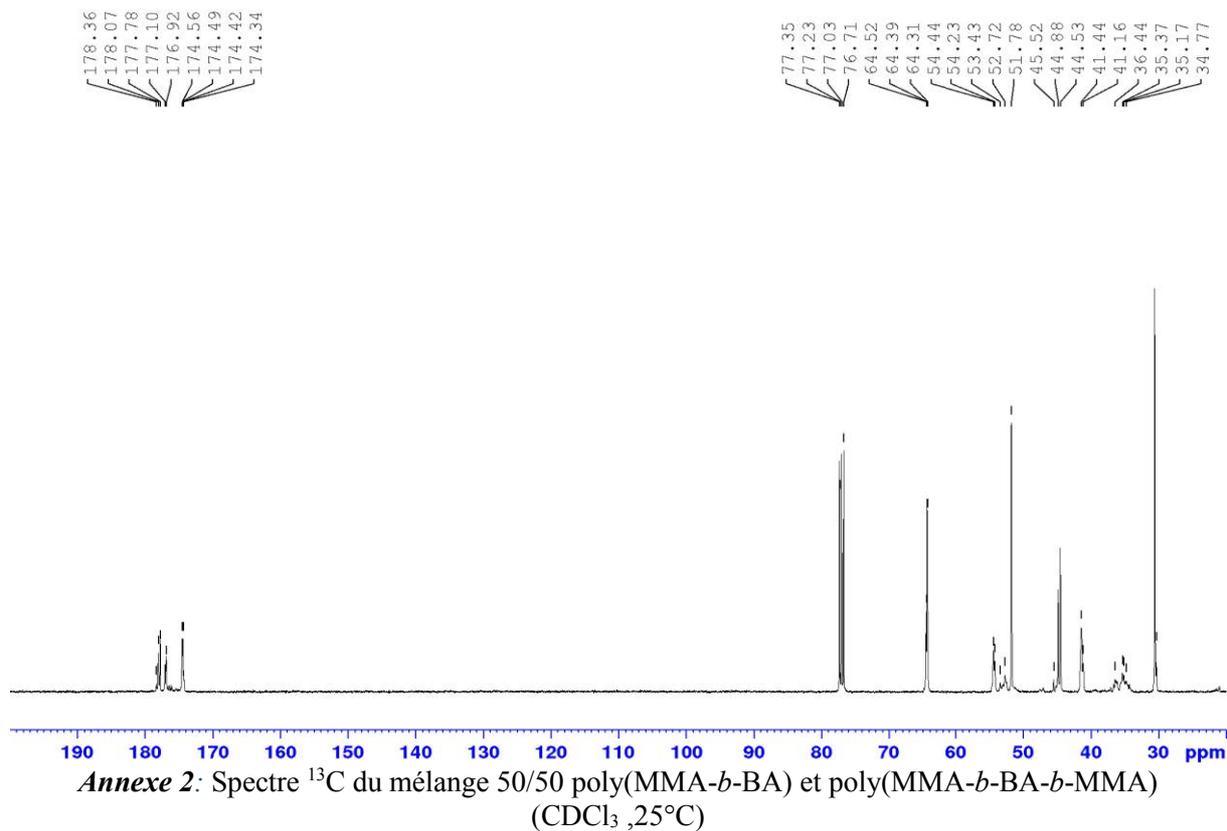
Les produits suivants ont été synthétisés au sein de l'équipe physique et chimie des polymères.(EPCP) :

- PAM/NMP,
- PAM/RAFT,
- PAM-*b*-PAMPS,

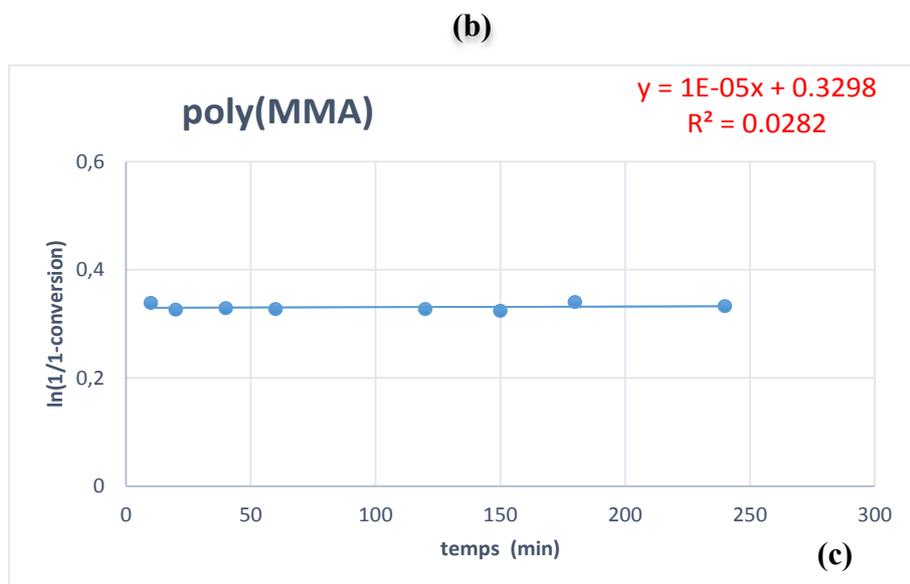
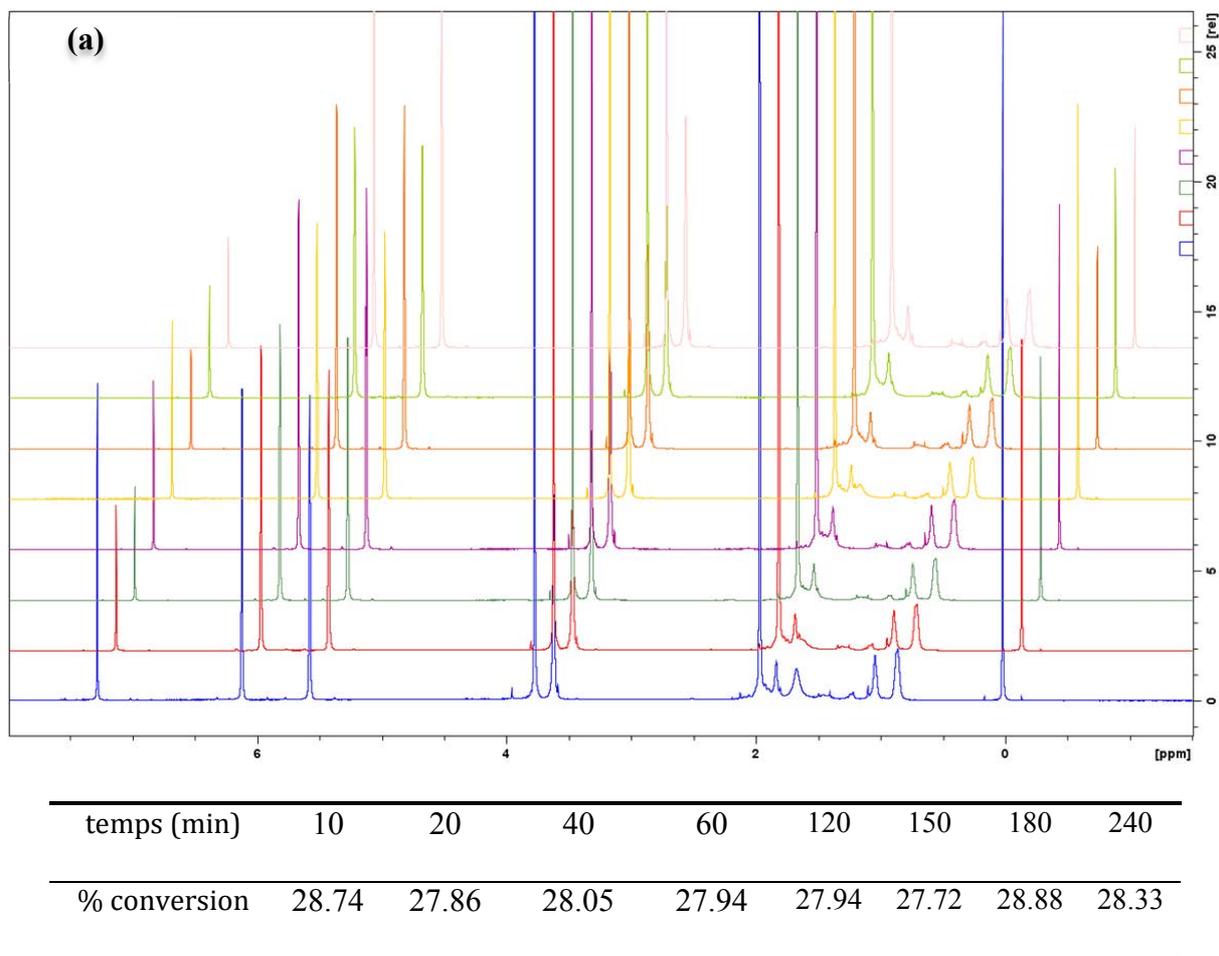
- P3HT modifié par un groupement allylique,
- P3HT modifié par un groupement styrénique
- Poly(MMA) et poly(MMA-*co*-S)
- poly(MMA-*b*-BA)
- poly(MMA-*co*-S)-*b*-PBA
-
-



Annexe 1: Spectre ^1H du mélange 50/50 poly(MMA-*b*-BA) et poly(MMA-*b*-BA-*b*-MMA) (CDCl_3 , 25°C)

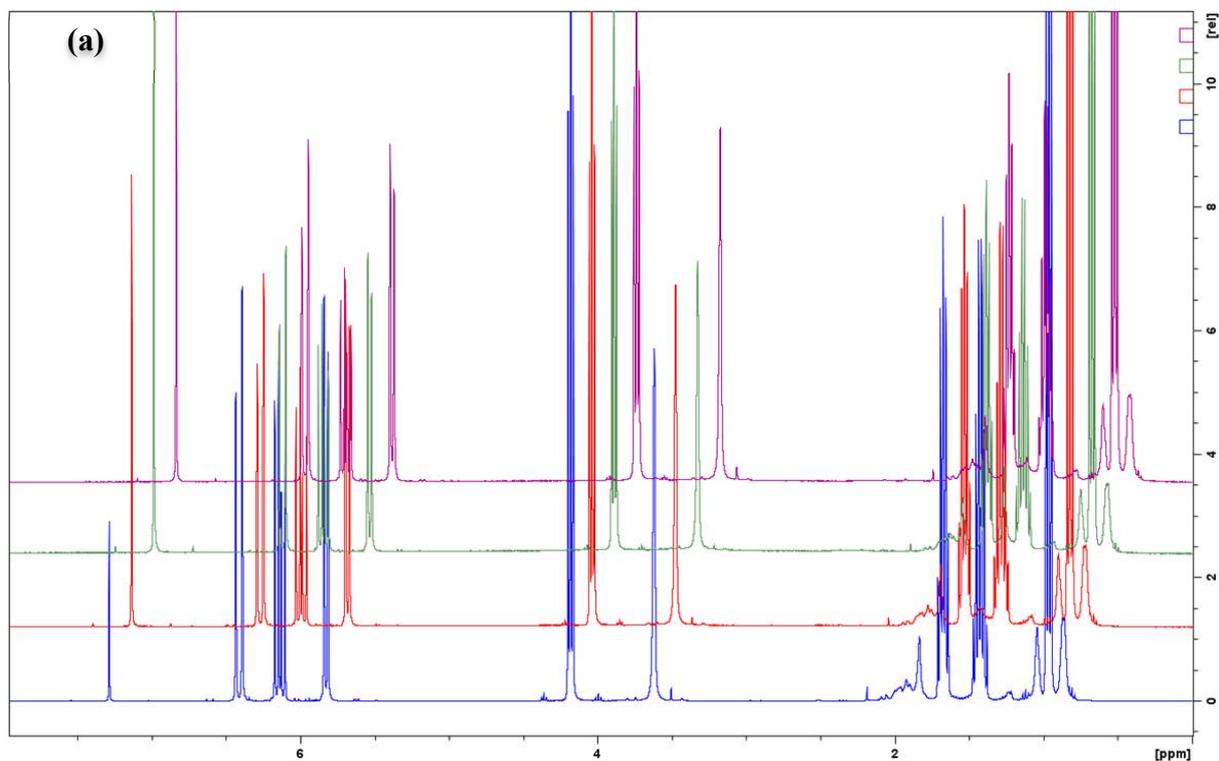


Annexe 3: Spectre HSQC du mélange 50/50 poly(MMA-*b*-BA) et poly(MMA-*b*-BA-*b*-MMA) (CDCl_3 , 25°C)



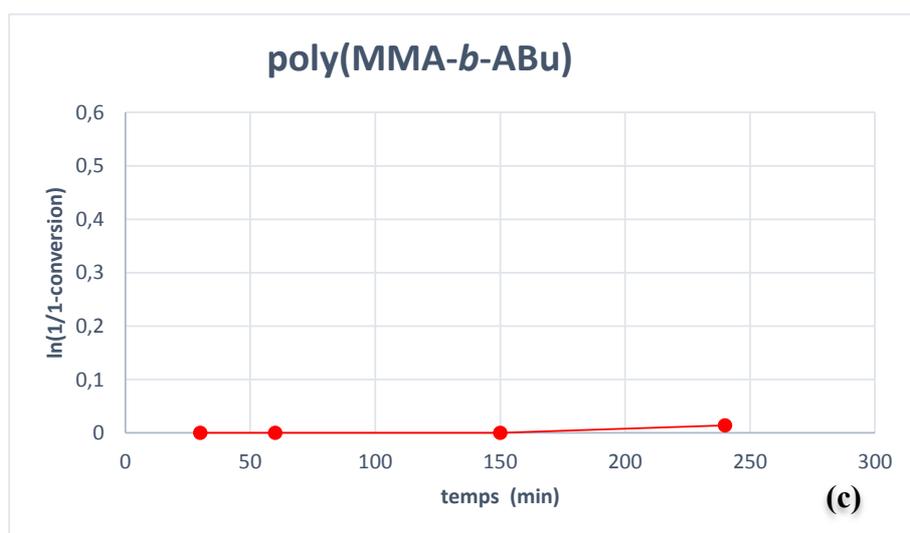
Annexe 4: Suivi par RMN ^1H de la polymérisation du MMA sans ajout de styrène.

(a) Superposition des spectres ^1H , (b) tableau des conversions du MMA, (c) évolution logarithmique de la conversion en fonction du temps.



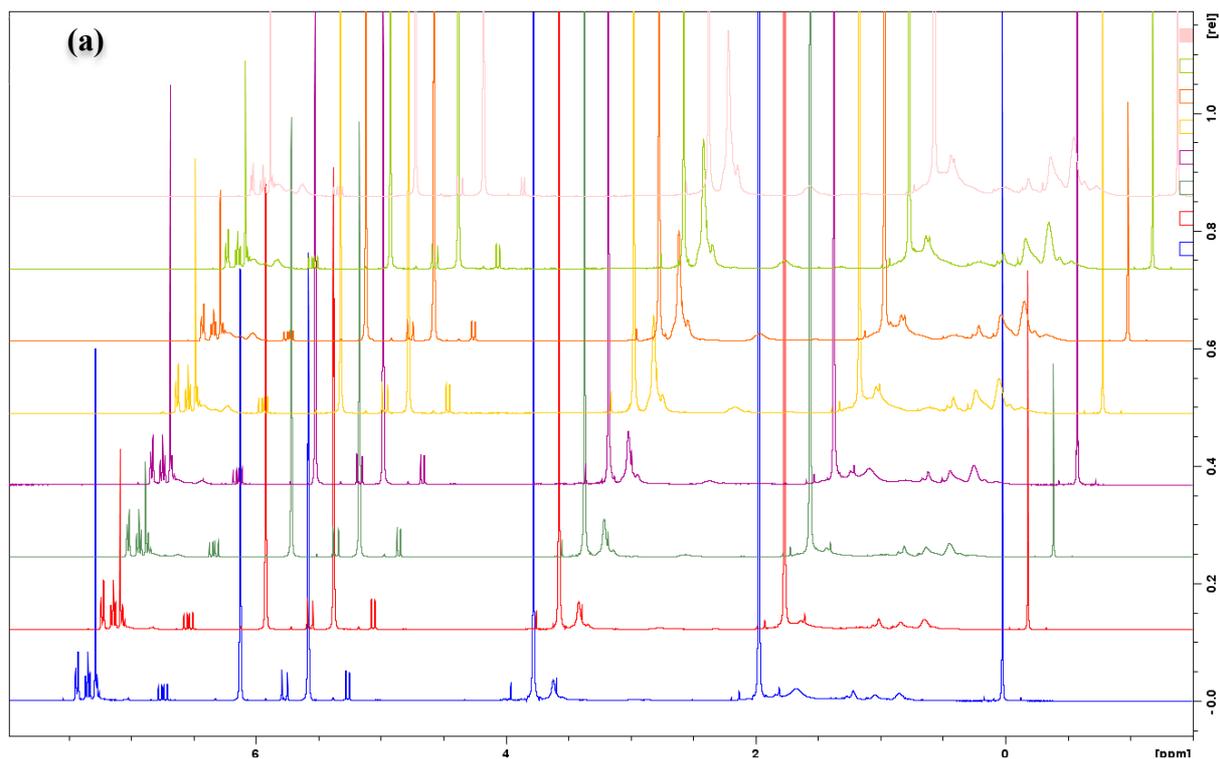
temps (min)	30	60	150	240
% conversion	0	0	0	1.4

(b)



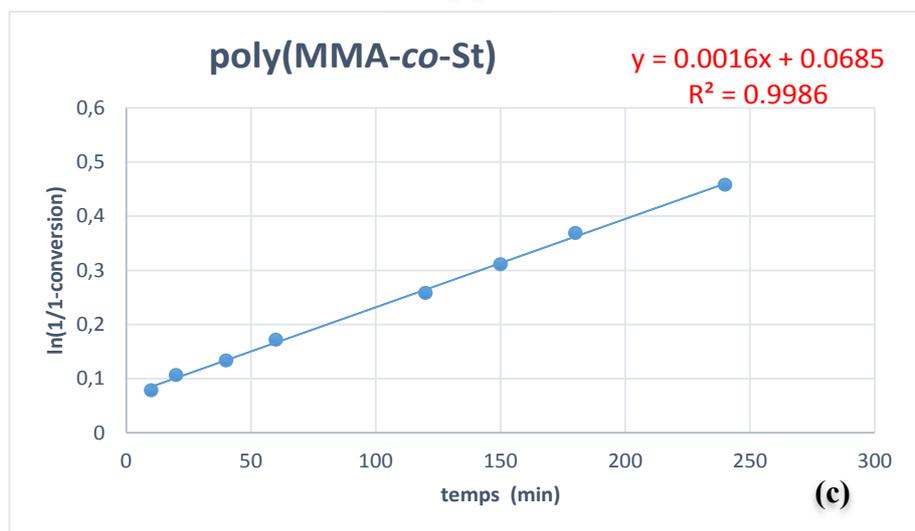
Annexe 5: Suivi par RMN ^1H de la copolymérisation de ABu en présence du PMMA

(a) Superposition des spectres ^1H , (b) tableau des conversions de ABu, (c) évolution logarithmique de la conversion de ABu en fonction du temps.



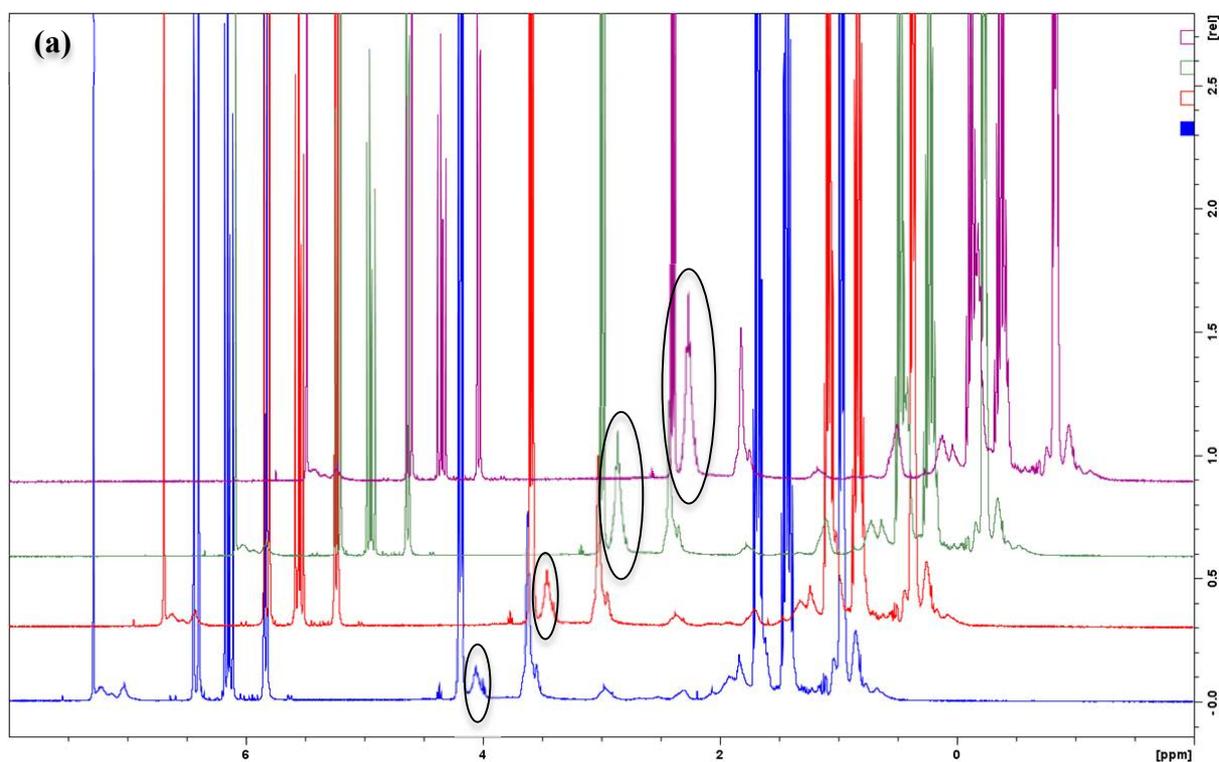
temps (min)	10	20	40	60	120	150	180	240
% conversion	7.53	10.09	12.48	15.75	22.77	26.74	30.83	36.73

(b)



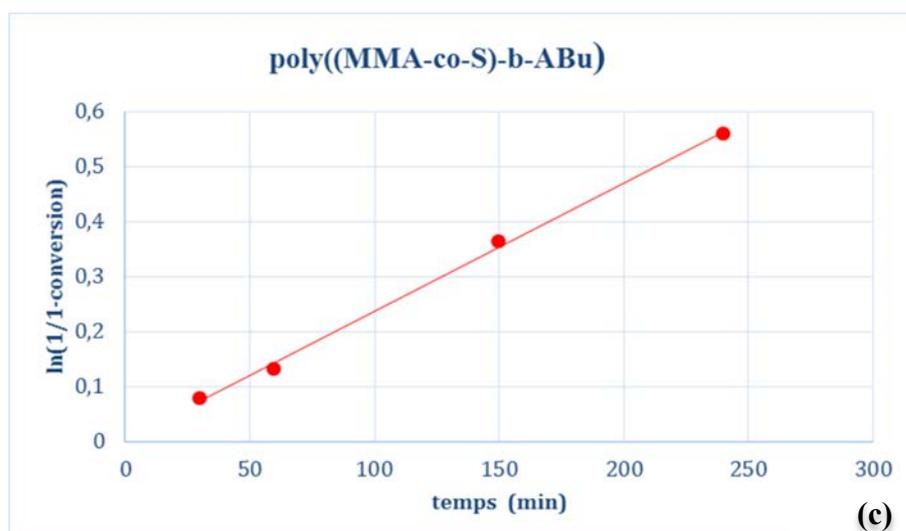
Annexe 6: Suivi par RMN ^1H de la polymérisation du MMA en présence du styrene

Superposition des spectres ^1H , (b) tableau des conversions du MMA, (c) évolution logarithmique de la conversion de MMA en fonction du temps.



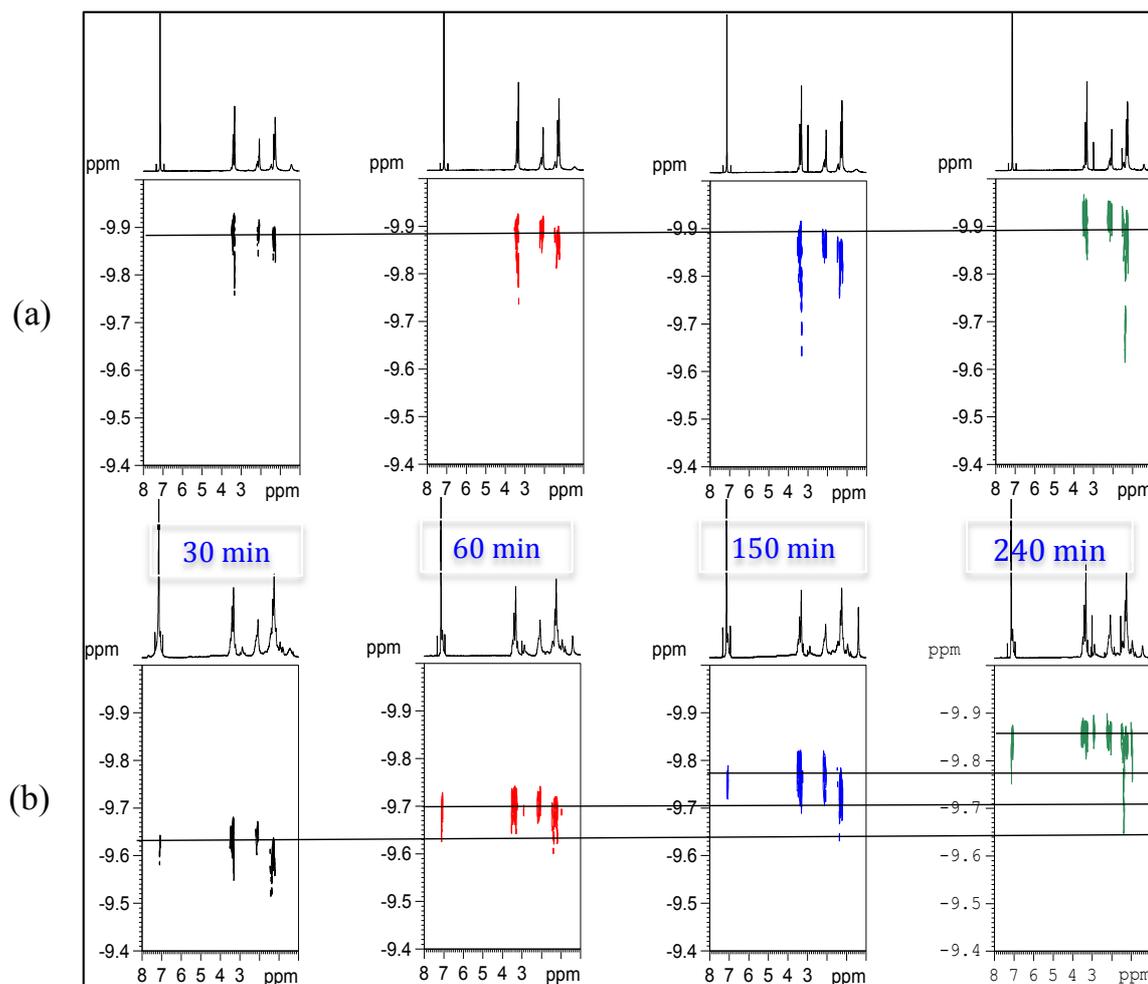
temps (min)	30	60	150	240
% conversion	7.5	12.2	30.4	42.8

(b)



Annexe 7: Suivi par RMN ^1H la copolymérisation de ABu en présence du poly(MMA-co S)

(a) Superposition des spectres ^1H , (b) tableau des conversions du ABu, (c) évolution logarithmique de la conversion de ABu en fonction du temps.



Annexe 8 : Suivi de la polymérisation du MMA par RMN DOSY¹H

(a) Polymérisation en absence de Styrène

(b) Polymérisation avec ajout de Styrène

Apport de la RMN diffusionnelle à l'étude des systèmes polymères : extrémités de chaîne, contrôle des architectures et auto-assemblage

Résumé : La Résonance Magnétique Nucléaire RMN DOSY (Diffusion Ordered Spectroscopy) ^1H est une technique permettant de mesurer les coefficients de diffusion des espèces en solution. Elle permet ainsi d'obtenir des informations structurales de par sa dimension RMN conventionnelle mais également des informations physico-chimiques telles que la taille de la (macro)molécule ou encore la formation d'agrégats.

L'objectif de ces travaux a été d'examiner comment les méthodes de RMN (RMN 1D, 2D et DOSY), permettent de fournir des informations sur la caractérisation des matériaux polymères.

La première partie de ce travail souligne l'intérêt de la RMN pour la caractérisation de la microstructure de quelques matériaux polymères en s'attardant plus particulièrement sur l'exploration de leurs extrémités de chaînes. La RMN s'est en effet révélée très performante pour établir le lien entre extrémité de chaîne et méthode de polymérisation appliquée.

Le deuxième volet de ces travaux concerne l'étude de quelques architectures complexes (type dibloc et tribloc) et la mise en évidence du caractère contrôlé d'une copolymérisation radicalaire grâce à la RMN diffusionnelle. Nous avons également vu comment déterminer la masse moyenne en poids (M_w) par une simple mesure du coefficient d'autodiffusion.

Finalement, l'ensemble des travaux présentés dans ce manuscrit a été valorisé grâce à l'étude des interactions par RMN diffusionnelle. Plus particulièrement la RMN DOSY ^1H a permis d'observer des phénomènes de micellisation, d'agrégation, d'encapsulation et de relargage de molécules de principe actif.

Mots clés : Polymérisation radicalaire contrôlée, RMN, DOSY, extrémités de chaîne, copolymères dibloc, tribloc, auto-assemblage, CMC, encapsulation, relargage.

Contribution of DOSY NMR to the study of polymer systems : Chain ends groups, control architectures and self-assembly

Abstract: Diffusion Ordered Spectroscopic Nuclear Magnetic Resonance (DOSY NMR ^1H) makes it possible to determine physicochemical data such diffusion coefficients. While typical NMR data on the structure of molecules can be obtained, this technique also permits determinations of the physicochemical characteristics, such as molecular sizes or aggregate formation.

The objective of this work was to examine how various NMR methodologies, specifically, 1 and 2 dimensional DOSY NMR, can be applied to the characterization of polymers.

The first part of the manuscript relates the NMR characterization of some polymeric materials with a special interest in chain-end groups. In particular, we demonstrate the relationships between chain-ends and the polymerization methods employed.

In a second part, the potential of the DOSY technique is used to determine controlled features of a radical polymerization resulting in di- and triblock architectures. Molecular weights are also determined by self-diffusion coefficient measurements.

The results presented herein demonstrate that diffusional NMR can be effectively employed to understand interactions in polymeric structures. Indeed, DOSY ^1H -NMR provides new interesting results concerning micellization, aggregation, encapsulation phenomena and the release of active molecules.

Keywords: controlled free radical polymerization, NMR, DOSY, chain-end groups, diblock copolymers, triblock copolymers, CMC, self-assembly, encapsulation, release.

ECOLE DOCTORALE :
Sciences Exactes et leurs Applications
LABORATOIRE :
Equipe de Physique et Chimie des Polymères
IPREM-EPCP
UPPA-CNRS / UMR 5254

**Apport de la RMN diffusionnelle à l'étude des systèmes polymères :
extrémités de chaîne, contrôle des architectures et auto-assemblage**

Résumé : La Résonance Magnétique Nucléaire RMN DOSY (Diffusion Ordered Spectroscopy) ^1H est une technique permettant de mesurer les coefficients de diffusion des espèces en solution. Elle permet ainsi d'obtenir des informations structurales de par sa dimension RMN conventionnelle mais également des informations physico-chimiques telles que la taille de la (macro)molécule ou encore la formation d'agrégats.

L'objectif de ces travaux a été d'examiner comment les méthodes de RMN (RMN 1D, 2D et DOSY), permettent de fournir des informations sur la caractérisation des matériaux polymères.

La première partie de ce travail souligne l'intérêt de la RMN pour la caractérisation de la microstructure de quelques matériaux polymères en s'attardant plus particulièrement sur l'exploration de leurs extrémités de chaînes. La RMN s'est en effet révélée très performante pour établir le lien entre extrémité de chaîne et méthode de polymérisation appliquée.

Le deuxième volet de ces travaux concerne l'étude de quelques architectures complexes (type dibloc et tribloc) et la mise en évidence du caractère contrôlé d'une copolymérisation radicalaire grâce à la RMN diffusionnelle. Nous avons également vu comment déterminer la masse moyenne en poids (M_w) par une simple mesure du coefficient d'autodiffusion.

Finalement, l'ensemble des travaux présentés dans ce manuscrit a été valorisé grâce à l'étude des interactions par RMN diffusionnelle. Plus particulièrement la RMN DOSY ^1H a permis d'observer des phénomènes de micellisation, d'agrégation, d'encapsulation et de relargage de molécules de principe actif.

Mots clés : Polymérisation radicalaire contrôlée, RMN, DOSY, extrémités de chaîne, copolymères dibloc, tribloc, auto-assemblage, CMC, encapsulation, relargage.

**Contribution of DOSY NMR to the study of polymer systems :
chain ends groups, control architectures and self assembly**

Abstract: Diffusion Ordered Spectroscopic Nuclear Magnetic Resonance (DOSY NMR ^1H) makes it possible to determine physicochemical data such diffusion coefficients. While typical NMR data on the structure of molecules can be obtained, this technique also permits determinations of the physicochemical characteristics, such as molecular sizes or aggregate formation.

The objective of this work was to examine how various NMR methodologies, specifically, 1 and 2 dimensional DOSY NMR, can be applied to the characterization of polymers.

The first part of the manuscript relates the NMR characterization of some polymeric materials with a special interest in chain-end groups. In particular, we demonstrate the relationships between chain-ends and the polymerization methods employed.

In a second part, the potential of the DOSY technique is used to determine controlled features of a radical polymerization resulting in di- and triblock architectures. Molecular weights are also determined by self-diffusion coefficient measurements.

The results presented herein demonstrate that diffusional NMR can be effectively employed to understand interactions in polymeric structures. Indeed, DOSY ^1H -NMR provides new interesting results concerning micellization, aggregation, encapsulation phenomena and the release of active molecules.

Keywords: controlled free radical polymerization, NMR, DOSY, chain-end groups, diblock copolymers, triblock copolymers, CMC, self-assembly, encapsulation, release.