Copolymères amphiphiles supramoléculaires pour l'encapsulation déclenchable de composés

Maïssa-Hado Farroux

▶ **To cite this version:**

Maïssa-Hado Farroux. Copolymères amphiphiles supramoléculaires pour l'encapsulation déclenchable de composés. Matériaux. Université Paris sciences et lettres, 2018. Français. NNT : 2018PSLET042 . tel-03081141

HAL Id: tel-03081141

https://pastel.hal.science/tel-03081141

Submitted on 18 Dec 2020

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

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

THÈSE DE DOCTORAT

de l'Université de recherche Paris Sciences et Lettres
PSL Research University

Préparée à l'ESPCI Paris

Copolymères amphiphiles supramoléculaires pour l'encapsulation déclenchable de composés

Ecole doctorale n°397

PHYSIQUE ET CHIMIE DES MATERIAUX

Spécialité CHIMIE DES MATERIAUX

CONFIDENTIEL – FIN DE CONFIDENTIALITE : 17 Décembre 2020

COMPOSITION DU JURY :

Mme. MENAGER Christine
PHENIX – Sorbonne Université, Présidente du Jury

M. GANACHAUD François
IMP – INSA Lyon, Rapporteur

Mme. MARCHI Valérie
MaCSE – Université Rennes I, Rapporteur

Mme. RUIZ-CARRETERO Amparo
ICS – Université Strasbourg, Examinatrice

Mme. SOULIE-ZIAKOVIC Corinne
MMC – ESPCI Paris, Directrice de thèse

Mme. ALARD Valérie
LVMH Recherche, Invitée

M. CHOUGRANI Kamel
LVMH Recherche, Invité

Soutenue par Maïssa-Hado FARROUX
le 17 décembre 2018

Dirigée par **Corinne SOULIE-ZIAKOVIC**

ESPCI PARIS | PSL

ESPCI PARIS
EDUCATION SCIENCE INNOVATION

PSL
RESEARCH UNIVERSITY PARIS

Remerciements

Le doctorat est l'aboutissement d'un long travail de recherche, demandant un fort investissement. Ces trois années ont été menées à bien grâce au soutien de nombreuses personnes que je souhaiterais chaleureusement remercier ci-après.

J'adresse tout d'abord mes remerciements les plus sincères à François Ganachaud et Valérie Marchi, respectivement directeur de recherche CNRS à l'INSA Lyon et à l'université de Rennes 1, pour avoir accepté de rapporter ce manuscrit. Je remercie également Christine Ménager et Amparo Ruiz-Carretero, respectivement directeur de recherche à Sorbonne Université et chargé de recherche CNRS à l'université de Strasbourg, d'être venues examiner mon travail. Merci pour tous nos échanges ainsi que toutes vos remarques et critiques constructives.

Je remercie très chaleureusement mes encadrants de thèse, Corinne Soulié-Ziakovic, maitre de conférence au laboratoire Matière Molle et Chimie, ainsi que Valérie Alard et Kamel Chougrani, chercheurs au sein de la société LVMH Recherche.
Corinne, je te remercie pour ton aide au quotidien et ta disponibilité pour discuter. J'ai beaucoup appris en travaillant avec toi, tant d'un point de vue scientifique que d'un point de vue humain. De la rédaction des rapports, à la présentation des résultats, en passant par les expériences en laboratoire, je veux te remercier pour toute ta confiance dans mon travail, ton soutient moral qui a été sans faille pendant ces 3 ans et ton optimisme à tout épreuve.

Valérie, je te remercie sincèrement pour ta confiance ainsi que pour le temps et le soutien que tu as toujours su m'accorder, malgré ton emploi du temps bien souvent plein ! Merci pour ta grande culture scientifique appliquée aux cosmétiques que tu as su me faire partager, ta bienveillance et ton dynamisme. Je garde également un souvenir admiratif et inspirant de la façon dont tu interagis au quotidien avec tes équipes et collègues. Ce fut un réel plaisir de travailler et d'apprendre à tes côtés. Grâce à toi j'ai pu avoir un premier pied en industrie et j'espère que l'on se recroisera dans le monde de la cosmétique.

Kamel, tu es arrivé chez LVMH Recherche quelques mois après le début de ma thèse, et tu as vite su contribuer efficacement au bon déroulement de mes différents projets. En effet, je te suis infiniment reconnaissante pour ton temps, ta gentillesse et ton soutien, notamment vers la fin de ma thèse. Merci également pour toutes nos discussions, toutes nos réunions à préparer des réunions et à débriefer. Mes co-bureaux peuvent témoigner, après chaque réunion téléphonique, je revenais en disant : « Ah ! Il est vraiment bien mon chef LVMH ». Tu m'impressionnes par tes connaissances et expertises en chimie organique et des polymères, et par ton humilité. J'espère que tes collègues réalisent la chance qu'ils ont de pouvoir travailler avec quelqu'un comme toi et j'espère qu'un jour j'aurais moi-même de nouveau cette chance.

Je tiens également à remercier le professeur Ludwik Leibler, directeur du laboratoire lors de mon arrivée, pour m'avoir accueilli au sein du MMC et donné la chance de travailler dans un environnement stimulant.

Je veux remercier ensuite tous les membres permanents du laboratoire pour leur aide et les discussions que nous avons pu avoir. Je remercie Michel Cloître, actuel directeur du laboratoire, pour nos discussions très intéressantes sur la diffusion de la lumière et la caractérisation physico-chimique des colloïdes en général. Je remercie Sylvie Tencé-Girault pour son aide en TEM, et Laurent Corté pour son aide en microscopie optique et surtout confocale. Je remercie également François Tournilhac, Renaud Nicolaÿ, Sophie Norvez et Zorana Zeravcic pour des interactions constructives, notamment en séminaire interne.

Un grand merci également à Isabelle Marlart pour son aide en informatique et son investissement dans la sécurité au laboratoire, indispensable au bon fonctionnement du MMC. Merci à Anne-Claire pour son aide dans la gestion des stocks et commandes du petit matériel. Un merci tout particulier à Marie-France Boucher, que j'ai eu la chance de côtoyer quelques mois, et à Aroul Radja pour leur très précieuse aide administrative au quotidien.

Merci aux personnes extérieurs au MMC pour leur contribution dans mes travaux. Je remercie vivement Marie-Noëlle Rager, responsable du service de RMN de l'ENSCP, pour tout son temps passé à caractériser et comprendre mes systèmes d'étude. Merci pour ton investissement et toute ton aide, ta brillante maitrise des diverses techniques de RMN m'a été infiniment précieuse. Je remercie également Frédéric Gobeaux, du laboratoire LIONS au CEA, pour ces analyses en cryo-TEM. Merci pour ton temps, ta gentillesse et l'aide précieuse que tu m'as accordé. Enfin, merci également à Franz Pirolt de l'université de Graz, pour avoir accepté de passer des échantillons en SAXS pour moi, et merci aussi pour les bons moments partagés à la conférence ECIS de Madrid ! Je remercie également Thomas Aubineau et Laurine Gonnard pour toutes les RMN faites au laboratoire de Chimie Organique de l'ESPCI. Merci pour votre temps et pour tous ces spectres réalisés. Sans vous, nous n'aurions jamais pu travailler.

Du coté de LVMH Recherche, j'adresse tout d'abord mes remerciements aux équipes de Valérie et Kamel. Notamment, un grand merci à Thierry Pouget pour son humeur toujours au beau fixe, son expertise en cryo-fracture TEM et son implication dans mes projets. Je suis vraiment ravie d'avoir pu travailler avec toi, tu sais rendre les longues heures devant un microscope passionnantes et agréables. Je remercie également Laurent Néau, pour son aide sur la caractérisation mécanique des films de latex core-shell, et Angélique Pichon, pour son aide sur le logiciel Optiva et l'envoi de matières premières. Bien sûr, j'ai une pensée pour Jean-François Tranchant : je vous remercie pour nos quelques interactions au tout début de ma thèse, et regrette fortement que nous n'ayons pas pu avoir plus d'échanges. Je suis convaincue que vos grandes connaissances en physico-chimie des colloïdes m'auraient été plus que profitables. Enfin, je remercie Karl Pays et Bruno Bavouzet pour nos divers échanges, que j'ai beaucoup appréciés. Bruno, j'ai été ravie de vous voir dans l'audience le jour de ma soutenance, merci de votre présence.

Je remercie également tous les apprentis et stagiaires que j'ai eu le plaisir de côtoyer durant les divers évènements LVMH, comme la journée des Catherinettes, la rencontre avec Manuel Valls lors d'une visite d'Hélios (où j'ai fini en première page d'un journal), les fameux « Dior

Day » qui me manquent déjà ou les Journées de la Recherche. Merci donc à Charlotte, Jeanne, Aude, Kevin, Marie et les autres. J'en profite pour souhaiter bon courage et bonne chance aux actuels doctorants LVMH, notamment Nicolas Benoot et Eva Dieuzy.

Je n'oublie pas les personnes du côté RH avec qui j'ai adoré échanger. Un grand merci à Delphine de Quéral, Nathalie Renaudeau, Gaëlle Scheider et Alexandre Fillatre pour votre bonne humeur et pour avoir grandement simplifié ma vie administrative. Merci également à Mickaël Aguillon pour avoir toujours su résoudre tous mes soucis informatiques. Merci enfin à toutes les personnes que j'ai pu rencontrer et avec qui j'ai apprécié discuter, notamment Fréderic Bonte, Jean Christophe Archambault et Patrick Omarjee.

C'est maintenant au tour de mes stagiaires. Grâce à eux, j'ai pu faire avancer un projet supplémentaire en parallèle des copolymères supramoléculaires, il s'agit des latex core-shell. Je veux remercier Jérémy Lagneau, qui a été le premier. Après un démarrage qui m'a donné un sacré fil à retordre, tu as su abattre une montagne de travail, de façon très rigoureuse et investie, ce dont je suis fière. Merci pour toutes nos discussions et toutes nos spéculations sur les paris sportifs lors de la coupe d'Europe 2016 ! (Premier au Scorecast ! J'attends toujours mon invitation au resto…) Merci à Camille Fuzier, pour sa bonne humeur et son efficacité. Un grand merci à Chloé Seyrig et à Louise Breloy, que j'ai été immensément chanceuse d'avoir à mes côtés en dernière année de thèse. Chloé, je me souviens encore de notre première discussion ! Merci pour tout ton travail sur les core-shell, et surtout pour toute ton aide sur mes expériences de formulation d'émulsions ! Louise (« coucou ! »), merci infiniment pour tes avancées sur la chimie des imines. A toutes les deux, merci pour votre bonne humeur légendaire, toutes vos petites attentions et votre gentillesse. Le labo m'a paru bien calme après votre départ. Je vous souhaite tout le meilleur pour votre thèse (vous êtes des championnes !), ainsi que dans votre vie personnelle. Enfin, je n'oublie pas la promo de stagiaires et projets de 2018 du labo : Elodie, Thomas, Cyprien, Samuel, Maïka, etc., vous étiez au top, meilleure ambiance !

Les étudiants du laboratoire MMC. Je vais d'abord commencer par remercier les anciens. Merci à Lucie Imbernon et à Charlotte Pellet qui ont soutenues le mois où j'ai commencé ma thèse. Grâce à vous, j'ai vu mes premières soutenances et pris part à mes premiers (fameux) pots de thèses ! Un grand merci à Fanny Angot et Aurélie Legrand pour leur aide en laboratoire, leur bonne humeur et leur soutien moral. Merci aussi à Chirine Ben Osman, Atika Chemni et Hasina Ramanitra pour leur sourire, leur gentillesse, les pauses thé et leur disponibilité. Vincent Woeling, merci pour ton aide en TEM. Un très grand merci à Marie Gracia et à Réda Agnaou, à qui je dois beaucoup pour l'après-thèse. Je vous remercie de vos conseils, de votre temps et de votre confiance, je suis ravie à l'idée de pouvoir vous recroiser. Un merci spécial à David Moreau, avec qui on a bien rigolé, et à Adrien Demongeot, que je suis contente de lors de retrouver lors des week-ends labo à Bruxelles, Clermont ou au ski. Merci également à Max Rottger, Julien Caroux, Lise Devès, Rémi Fournier, Miki Hayashi, Tyler Stukenbroeker et Rob Van der Weegen d'avoir participé à mettre une super ambiance au laboratoire mais aussi pour toutes les discussions scientifiques. Julien, merci pour toutes les sucreries ! Tyler, je n'oublierai pas ton site perso avec ta photo en compagnie d'Obama, et

Rob, je garde en mémoire ta blague sur la Heineken et toutes les soirées autour d'une vraie bière, à la cerise pour moi.

Merci à ceux encore présent au laboratoire. Les post-docs, merci pour tout : Mohamad Maaz, Iurii Antoniuk, Bogdan Tarus, Esther Cazares, Takeshi Kondo, Nathan van Zee et Marta Abellan. Mohamad, merci mille fois pour les tips pour compiler mon manuscrit final sans douleur. Les doctorants, aka les petits, à qui je souhaite un très bon courage pour la suite de leur thèse et que je remercie pour la bonne ambiance du midi et des pauses : Alexis Brastel, Sélène Chappuis, Phuong-Anh Dang, Maïlie Roquart, Stefania Traettino, Olivia Kool, Sarah Goujard, Quentin Nozet et Julien Crozzolo. J'espère vous recroiser autour d'une bonne bouffe (pas au « libanais » de Monge), d'un gâteau fait par Phuong-Anh (que je remercie au passage pour l'organisation du summer BBQ) ou d'une Margarita à la Perla ! Les tous petits (en première année), j'ai bien rigolé avec vous et je suis contente de vous avoir côtoyé ces quelques mois. Quentin, merci encore infiniment pour tout ce que tu as fait pour mon pot de thèse (sans oublier tous ceux qui y ont contribué), j'en garde le meilleur souvenir. Merci pour ta gentillesse, le PPT et toutes les rigolades, je te souhaite le meilleur dans tous tes futurs projets. Julien, merci pour tellement de choses ! Tu as d'abord partagé mon labo en tant que stagiaire, puis ton stock de thé pendant les pauses. Merci pour toutes nos discussions et nos échanges de bons plans bouffe (« ce week-end j'suis allé là, tu connais ? »), les soirées et les week-ends labo à Naples ou Bernay, et le temps passé en conférence à Bordeaux. J'ai beaucoup apprécié que tu sois là une si grande partie de ma thèse.

Vient maintenant mon Bureau Des Lâches, et d'autres qualités non citées ici. Pendant (presque) 3 ans, j'ai été la seule fille, partageant ce bureau avec 5 garçons. On a tous bien rigolé, tout en étant un bureau très studieux, respectant la tradition du « vendredi sucreries ». D'abord une pensée pour les post-docs : Adrien Guimet, Ralm Ricarte, Trystan Domenech et Florent Caffy. Merci beaucoup pour la super bonne ambiance et pour tout ce que j'ai appris grâce à votre expertise en chimie. Ralmouche, désolée de ne « pas avoir dit bonjour » lors de ton premier jour (je maintiens que c'est faux) et sois pas deg de mon départ ! J'ai adoré toutes nos discussions. Keep up the great work and stay fun. All the best and see you in Florida ! Trystouille, merci mille fois pour toutes tes blagues et tous tes gâteaux dans ton tiroir secret pas si secret ! Merci de m'avoir toujours convié à tes déjeuners avec les cool post-docs, et pour la roue du « vendredi sucreries » que j'ai parfois trafiqué. J'ai adoré t'avoir comme co-bureau, quel vide après ton départ. Heureusement que Floflo est arrivé ! Expert chimie et sécurité, c'est toi le vrai patron du MMC. Merci pour tout. Merci aux doctorants : Larissa Hammer, Antoine Breuillac et Jérémie Lacombe. Larissa, tu es maintenant la seule fille, profites-en pour régner sur le bureau ! Antoine, tu es maintenant un grand en 3^{e} année, c'est fini le stage ! Mais je te vois encore comme mon petit Breubreu. Tu as mis l'ambiance dans le bureau dès ton arrivé, même si on n'a pas dansé sur les tables ensemble. Merci pour tout ton soutien, toutes nos discussions et nos rigolades. Les débats et tes talents d'acteur dans les vidéos des pots de thèses me manqueront. Merci d'avoir été là jusqu'à la fin de ma thèse. Jérémie, je ne te remercierai jamais assez pour tout ce que tu as fait pour moi durant ces 3 ans. Du début où tu m'as fait visité le labo, à la fin où tu me proposais de l'aide avec ma rédaction. Je te dois énormément, merci pour toute ton aide si précieuse. Je suis hyper fière de dire qu'on

avait le labo le plus propre du MMC. Quelle ironie qu'il ait brûlé… Merci pour tous les supers moments passés ensembles, les soirées et les week-ends. J'ai beaucoup rigolé, notamment avec tes carnages et autres scandales devant le biathlon, Roland-Garros ou la DSC de TA, et la chasse à la biche aux SMD : magique.

Je remercie ensuite les personnes avec qui j'ai passé le plus clair de mon temps durant cette thèse au MMC : Maddalena Mattiello, Raphaël Michel, François Bargain, Thibault Derouineau, Coralie Teulère et Jérémie cité plus haut. Vous m'avez fait passer (presque) trois folles années, et ma thèse est inoubliable en partie grâce à vous. Merci pour votre présence au quotidien et tous nos fous rires. Vos départs ont laissé les plus gros vides. Maintenant que la thèse est finie, j'espère que l'on restera en contact longtemps. Maddie, merci pour avoir été parmi les premiers à m'accueillir au labo, et à me soutenir jusqu'au bout durant ma rédaction. Affronter les mêmes épreuves à quelques mois d'intervalles, ça rapproche. Je te remercie aussi pour le voyage à Naples (« Maddie ça c'est quoi ? On mange quand ? On va où ? ») et toutes les découvertes culinaires napolitaines : la pizza fritta, le limoncello maison de tes parents, la vraie mozzarella, la sfogliatella et la pizza dolce, pour m'arrêter là. Je suis très contente à l'idée de te retrouver pour l'après-thèse. Raphaël, nous sommes arrivés la même semaine au MMC, et tu as bien failli en partir au même moment que moi. Je te remercie pour les moussinettes et les Reese's partagés, ta bonne humeur à toute épreuve, ta passion pour les bleus, le val café et pour Johnny, tes magnifiques musiques pour le labo, tes blagues, ton côté jackos et ta malchance qui m'ont toujours fait rire, tes PRT de légende, ton soutien et toutes nos discussions. Place maintenant au BDA. François, je te remercie pour ta gentillesse et le fait que l'on puisse toujours compter sur toi. Merci de nous avoir organisés des soirées, des week-ends et des pots de thèse avec une facilité déconcertante, j'ai eu du mal à prendre le relais. Heureusement pour nous, tu continues d'occuper ce genre de fonctions de temps en temps. Thibault, je te remercie pour toutes tes imitations, tes expertises qui vont de la synthèse des polymères aux sujets les plus improbables, sans oublier tous les débats que j'ai pu arbitrer entre toi et Coralie dans votre bureau ou au RU, si drôles. Merci aussi pour tous les nouveaux mots que tu m'as appris, que je ne peux citer ici. J'ai énormément apprécié le temps passé ensemble et ta gentillesse, notamment lors d'une certaine soirée poubelle. Enfin, on arrive à Coralie. Tu as été mon tout premier contact au MMC, je me souviens de notre échange de mail cordial. Tellement de souvenirs me viennent, et je t'en suis reconnaissante : la Zumba, les soirées au foyer ou ailleurs, où tu me faisais finir si mal (« Shooter ! Ricard ! »), les férias, notre gloire ratée chez BMF TV (t'es une vraie star Coco #loupblanc), ta passion pour les Tuches (« J'aime le veau ! ») et bien sûr toutes tes blagues, tes potins et ta poisse si drôle au labo. Ta pire blague restera le « vol » de mes Haribo ! N'oublions jamais. La liste est longue et j'espère qu'elle s'allongera encore. Merci pour ta présence et ton soutien.

Beaucoup de gens le savent, je suis du MMC, mais il y a un autre laboratoire que j'aime beaucoup, et c'est le labo du SIMM. Je le connais depuis mes études à Jussieu, c'est un peu comme une seconde maison. Quand les temps étaient durs au 4^{e} étage, j'ai toujours trouvé un accueil plus que chaleureux au -1. Je remercie sincèrement tous ceux que j'ai pu y côtoyer, notamment aux permanents (dont les cours étaient mes préférés à Jussieu) Nicolas Sanson, Patrick Perrin, Dominique Hourdet, Nadège Pantoustier, et Julien Essayed et Julie Godefroid

coté étudiants. Merci Nicolas pour ton aide qui m'a été plus que précieuse, tu m'as tout simplement sortie de l'eau à une période critique de ma thèse. Merci Dominique pour toutes nos discussions et ton écoute. Julien et Julie je vous remercie infiniment pour votre aide en laboratoire, votre bonne humeur sans faille et tous les bons moments passés au sport ou au bar ! Nadège, je devrais écrire un roman pour te remercier pour toute ta gentillesse et ton soutien depuis maintenant plusieurs années. Tout a commencé en 2014 pour un projet entre Givaudan et l'ESPCI. Durant ma thèse j'ai eu la chance de t'avoir à mes côtés, dans les bons et moins bons moments, pour discuter autour d'un thé. Tu fais partie de mes meilleures rencontres durant mes études, et s'il y avait plus de gens comme toi sur Terre, le monde irait mieux. Merci pour tout ce que tu es, ne change rien.

C'est au tour des zouzs et des copains de Jussieu (Jus-sieu !) et d'ailleurs. Un immense merci à Lucile Audoin, Juliette Briselet, Camille Dubois, Dr. Aïda El Kilany, Dr. Marion Iseppi, Aïda Moussa, Me Abeba Negga et Timothée Ossorguine. Un merci et une reconnaissance toute particulière à celles et ceux qui m'ont soutenue dans mes moments les plus difficiles, notamment en fin de rédaction : Lucia Cantegrit, Dr. Marianne Janowski, Sarah Frémaux, Me Fanny Levassor, Abozar Kya et Marion Martin. A tous et toutes, merci pour tout votre soutien, votre capacité à me motiver, et tout simplement pour votre amour. Merci pour les magnifiques moments passés ensemble, depuis déjà 10 ans pour la plupart ! La galère des révisions en B.U, le BDE, les soirées plus si étudiantes, les interrails, les voyages… J'espère qu'on se n'arrêtera jamais. Iseppix, merci mille fois pour notre break post-thèse chez Cilelu (merci de nous avoir accueillies !), on en avait besoin et je n'aurais pas trouvé meilleur binôme pour sauver des tortues. Mar, merci pour tous tes conseils et ton soutien plein d'amour, étant toi-même passé par les joies de la thèse. Fafa, merci de m'irradier de ta joie de vivre et de kiffer avec moi sur mon remixe d'Angèle : « cette thèse, si je le veux je l'aurais – et tu l'as ! ». Abo, merci de me faire pleurer de rire avec tes memes et vidéos improbables, et d'être mon modèle pour rester « fraîche et ambitieuse ». Marion, merci d'être une amie en or, de me faire danser (la valse ou sur le bar), et ma sœur de cœur depuis tant d'année.

Je veux remercier maintenant mes parents. Merci pour votre éducation, vos valeurs et la culture que vous m'avez transmis. Merci pour votre dévouement total et pour votre soutien en toute circonstance. Merci de toujours m'avoir poussé vers le haut, dans mes études, pour devenir ingénieur puis docteur. Vous m'avez donné le goût du travail et de la réussite. Tout ce que je fais, c'est pour vous rendre fières. Merci pour tout. Je remercie également mon grand frère, Nassim, et ma sœur petite Zena-Laure, pour leur amour et leur confiance absolue en moi. Vous êtes ma meilleure motivation et ma force. Vous avez tous votre part de responsabilité dans le succès de cette thèse, et pas qu'un peu. Merci à vous.

Pour finir, je dois remercier Raïth. « On a eu mon diplôme ! On est docteur ! » Personne n'est plus gentil, patient et généreux que toi, et personne n'a autant encaissé durant cette thèse, qui est clairement un peu la tienne. J'ai une gratitude infinie pour tout ce que tu fais pour moi. Merci d'avoir été à mes côtés, depuis déjà 8 ans. Je suis la plus chanceuse et je compte bien le rester.

Table des matières

Liste des abréviations 3

Introduction générale 7

Chapitre 1 : Des tensio-actifs aux systèmes intelligents pour l'encapsulation et le relargage déclenchable 11

Chapitre 2 : Copolymères amphiphiles supramoléculaires à blocs PEG et PPG 63

Chapitre 3 : Copolymères amphiphiles supramoléculaires en solution aqueuse 115

Chapitre 4 : Objets formés par les copolymères supramoléculaires en solution aqueuse..... 159

Chapitre 5 : Formulation d'émulsions et encapsulation - Preuve de concept..... 189

Conclusion et perspectives 231

Annexes 237

Abréviations

Techniques expérimentales

DSC : Calorimétrie différentielle à balayage

FTIR : Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

MET : Microscopie optique en transmission

POM : Microscopie optique polarisée

RMN : Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire

RMN DOSY : RMN diffusionnelle / *Diffusion Ordered SpectroscopY*

RMN HMBC : RMN à corrélation hétéronucléaire multiple / *Heteronuclear Multi-Bond Connectivity*

RMN HSQC : RMN à corrélation hétéronucléaire simple / *Heteronuclear Single Quantum Coherence*

TOCSY : *TOtal Correlated SpectrscopY*

NOESY : *Nuclear Overhauser Effect SpectroscopY*

ROESY : *Rotating frame Overhause Effect SpectroscopY*

SAXS : Diffraction des rayons X aux petits angles

UV : Ultraviolet

Polymères

PCL : poly(caprolactone)

PDMS : poly(diméthylsiloxane)

PE : poly(éthylène)

PEG : poly(éthylène glycol)

PIB : poly(isobutylène)

PPG : poly(propylène glycol)

PS : poly(styrène)

Chimie

$CDCl_3$: chloroforme deutéré

DAT : 2,6-diamino-1,3,5-triazine

DIEA : N,N-diisopropyléthylamine

DMF : N,N-diméthylformamide

DMPA : 2,2-diméthoxy-2-phénylacetophénone

DMSO : Diméthylsulfoxyde

TBTU : *O*-(Benzotriazol-1-yl)-*N*,*N*,*N*′,*N*′-tetraméthyluronium tetrafluoroborate

Thy : Thymine

THF : Tétrahydrofurane

Upy : 2-ureido-4[1H]-pyrimidinone

Termes physico-chimiques

CMC : concentration micellaire critique

CMT : température critique de micellisation

D : coefficient de diffusion translationnel

K : constante d'association/d'équilibre

M_n : masse molaire en nombre

M_w : masse molaire en poids

LCST : température critique inférieure de solubilité / *Lower Critical Solution Temperature*

R : constante des gaz parfaits

T_g : Température de transition vitreuse

T_c : Température de cristallisation

T_f : Température de fusion

T_{onset} : température où débute l'évènement thermodynamique mesuré par µ-DSC

T_{end} : température de fin de l'évènement thermodynamique mesuré par µ-DSC

UCST : température critique supérieur de solubilité / *Upper Critical Solution Temperature*

wt% : concentration en pourcentage massique

δ : paramètre de solubilité

ΔH_c : enthalpie de cristallisation

ΔH_f : enthalpie de fusion

χ : paramètre de Flory

Introduction générale

Les formulations liquides sont actuellement employées dans de nombreux domaines de la vie quotidienne : agroalimentaire, médecine ou cosmétique. Les avancées techniques et l'expertise formulatoire permettent de mettre au point des formulations toujours plus sophistiquées et performantes, notamment avec l'incorporation de nouveaux principes actifs.

Dans ces formulations complexes, le premier défi est leur stabilisation, c'est-à-dire s'assurer de la bonne *cohabitation* des différents ingrédients présents : solvants, tensio-actifs, additifs spécifiques et principes actifs. Ces derniers étant particulièrement fragiles, ils doivent être protégés du reste de la formulation. Le second défi est d'assurer l'efficacité de la formulation pour répondre aux exigences des consommateurs en termes d'innovation et de performance. L'une des stratégies les plus intéressantes et répondant à ce cahier des charges, consiste à encapsuler les principes actifs et à contrôler leur relargage. Cette approche est en plein essor aussi bien dans le domaine industriel que dans le milieu académique.

Pour construire des édifices encapsulants déclenchables, il existe de nombreux blocs élémentaires de taille, structure et chimie variées. Pour faire un choix adapté à l'application visée, plusieurs critères doivent être respectés. Tout d'abord, les blocs élémentaires doivent former des édifices déclenchables mais robustes dans des conditions standards. Ensuite, la chimie à l'origine de la déclenchabilité doit être facile à implémenter, notamment à l'échelle industrielle, et à actionner dans l'application. Elle doit être robuste dans les conditions standards mais sensible à un ou plusieurs stimuli externes pour un relargage contrôlé aisé.

L'objectif de ce travail de thèse a donc été de développer et d'étudier des édifices encapsulants à partir de copolymères amphiphiles supramoléculaires qui répondent à cette dualité. Les blocs polymères élémentaires choisis sont le poly(éthylène glycol) hydrophile et le poly(propylène glycol) hydrophobe. Ce choix est inspiré des Pluronics® commerciaux, utilisés dans l'industrie notamment pour stabiliser les émulsions. Les blocs PEG et PPG sont rendus supramoléculaires par greffage d'unités thymine (Thy) et diaminotriazine (DAT) à leur(s) extrémité(s). Ces deux motifs, très étudiés dans le domaine des matériaux supramoléculaires, sont sélectifs et s'associent par trois liaisons hydrogène parallèles, ce qui permet de former différents copolymères supramoléculaires. L'auto-assemblage de ces derniers en solvant sélectif, notamment dans l'eau ou dans des mélanges biphasiques aqueux, conduit à la formation d'objets encapsulants, destinés à des applications cosmétiques.

Le Chapitre 1 présente une revue bibliographique (état de l'art) sur l'encapsulation et le relargage contrôlé de composés. Après avoir présenté le concept et les avantages de l'encapsulation, nous montrons l'évolution des systèmes existants, des plus simples aux plus sophistiqués (*smart systems*), ces derniers étant constitués de copolymères amphiphiles rendus stimulables. Les stimuli les plus fréquemment utilisés et les mécanismes de relargage associés sont ensuite détaillés. Après avoir illustré à travers plusieurs exemples l'intérêt de la chimie supramoléculaire pour l'élaboration d'édifices encapsulants stimulables, nous exposerons le concept de la thèse qui repose sur une interaction de type *clé-serrure* (liaisons hydrogène

sélectives). En se formant, elle permet d'obtenir des copolymères amphiphiles capables de s'auto-assembler dans l'eau et donc d'encapsuler des composés. En se rompant, elle permet de déstabiliser les objets encapsulants en réduisant les copolymères à l'état de blocs élémentaires non amphiphiles (relargage).

Dans le Chapitre 2, nous présentons le greffage des unités thymine (Thy) ou diaminotriazine (DAT) à l'(aux) extrémité(s) de chaines PEG et PPG mono et difonctionnelles et le mode opératoire permettant de former les différents copolymères à blocs amphiphiles supramoléculaires (diblocs, triblocs et multiblocs). La caractérisation et l'étude des propriétés thermiques des blocs élémentaires et des copolymères sont ensuite présentées et discutées. La force de l'interaction supramoléculaire Thy/DAT est également étudiée, par RMN ^{1}H dans différents solvants organiques (DMSO-d_6, $CDCl_3$, toluène-d_8). Cette étude révèle que la constante d'association $K_{Thy/DAT}$ dépend non seulement de la nature du solvant, phénomène déjà bien connu, mais également de la position relative des unités Thy et DAT sur les chaines polymères PEG et PPG. On observera notamment que les chaines PEG joue un rôle de « solvant » de l'unité Thy, en masse comme en solution, néfaste à la formation d'un copolymère robuste.

Les systèmes étant élaborés à des fins cosmétiques, ils seront utilisés dans un milieu majoritairement aqueux. L'eau étant compétiteur des liaisons hydrogène, son impact potentiel sur la stabilité des interactions supramoléculaires Thy/DAT est évalué dans le Chapitre 3. Dans un premier temps, nous avons fait appel à une méthode directe pour estimer sa force et sa résistance à l'eau, à une température où le bloc PPG est en bon solvant (5 °C). Une étude par RMN dans l'eau lourde ou légère a donc été conduite : ^{1}H (1D), corrélation ^{1}H-^{15}N et RMN DOSY (2D). Il apparaît qu'il n'est pas possible de mesurer la constante d'association ni d'affirmer que la liaison Thy/DAT est réellement formée. Cependant, les résultats tendent à montrer l'existence d'une organisation micellaire des copolymères, les chaines PEG et PPG étant solubles (à 5 °C) et les unités Thy/DAT hydrophobes. Ceci est confirmé par l'étude des propriétés thermiques et thermodynamiques des solutions aqueuses de copolymères par µ-DSC, avec la mesure des températures critiques de micellisation (CMT) et des enthalpies de micellisation. De fait, la capacité du bloc PPG à effectuer une transition de phase (soluble/insoluble) en fonction de son environnement est évaluée.

Dans le Chapitre 4, nous étudions les objets formés par l'auto-assemblage de nos copolymères à blocs amphiphiles supramoléculaires en solution aqueuse. La concentration micellaire critique (CMC) d'un dibloc supramoléculaire est évaluée et suivie dans le temps par spectroscopie de fluorescence. La taille et la forme des objets formés avant et après la CMT des copolymères ont été déterminées par diffusion dynamique de la lumière. Cette étude révèle notamment la transition entre deux morphologies micellaires, la première pilotée par l'hydrophobie des unités Thy/DAT et la seconde par l'hydrophobie des blocs PPG. Ces résultats sont complétés par la visualisation directe des objets formés en microscopie cryo-MET.

Enfin, le Chapitre 5 est consacré à établir la preuve de concept de l'encapsulation d'un composé lipophile par les copolymères supramoléculaires en solution biphasique. Après une

brève revue bibliographique sur les émulsions et les procédés d'émulsification, la réalisation et la stabilité d'émulsions directes et indirectes, et de dispersions liquide-liquide sont présentées. Il apparaît que le procédé le plus efficace est celui par déplacement de solvant ou émulsification spontanée. Cependant, le taux d'encapsulation restant faible, nous proposons une alternative pour former des émulsions stables par apport d'énergie : dans ce cas, les copolymères sont formés en attachant les blocs par un lien covalent réversible imine. La déclenchabilité de l'émulsion est modulée selon la réactivité du lien imine : rapide lorsqu'il s'échange avec une amine, lent lorsqu'il s'hydrolyse en conditions acides.

Chapitre 1

Des tensio-actifs aux systèmes intelligents pour l'encapsulation et le relargage déclenchable

Chapitre 1 : Des tensio-actifs aux systèmes intelligents pour l'encapsulation et le relargage déclenchable

Introduction **13**

I. Encapsulation et relargage – Etat de l'art **14**

1. Définition 14
2. Pourquoi encapsuler ? 16
3. Comment encapsuler : blocs élémentaires pour la construction d'édifices encapsulants 17
   a. Edifices à base de tensio-actifs 17
   b. Edifices à base de phospholipides 23
   c. Edifices à base de copolymères à blocs 26
4. Comment effectuer un relargage contrôlé : les stimuli 32
   a. Mécanismes de relargage 33

II. Encapsulation supramoléculaire déclenchable **39**

1. Définition de la chimie supramoléculaire - amphiphiles supramoléculaires existants. 39
   a. Amphiphiles formés par des molécules cages 40
   b. Amphiphiles formés par transfert de charge et interactions redox 42
   c. Amphiphiles formés par liaisons hydrogène 44
2. Copolymères supramoléculaires – Concept de la thèse 46

Conclusion **49**

Références **50**

Introduction

Les formulations liquides atteignent de nos jours de hauts niveaux de complexité et doivent être stables dans le temps sous de nombreuses conditions tout en étant toujours plus performantes et innovantes. Ces formulations sont généralement une combinaison de solvants, de tensio-actifs et d'un ou plusieurs principes actifs tels que des parfums, pigments, arômes, agents thérapeutiques ou cosmétiques. Des additifs tels des solutions tampons, des dispersants et/ou des agents rhéologiques, peuvent être présents pour assurer la stabilité et les performances de la formulation.

Les avancées techniques dans le domaine des formulations complexes ont permis aux industriels d'accéder à de nouveaux marchés en proposant des produits novateurs répondant à la demande et aux exigences des consommateurs, notamment avec l'incorporation de nouveaux principes actifs plus performants. Cependant, les additifs présents dans les formulations peuvent provoquer un stress chimique (oxydation, hydrolyse…) sur ces principes actifs, altérant ainsi leur intégrité et leurs propriétés. Le défi majeur pour ces nouvelles formulations complexes est donc de stabiliser et de protéger ces principes actifs de toute interaction avec les autres ingrédients présents, tout en garantissant la performance et l'efficacité du produit final.

Pour répondre à cette dualité, la stratégie la plus commune est l'encapsulation du principe actif et son relargage. Le développement de ces technologies, qui présentent de nombreux avantages, suscite un engouement certain aussi bien dans le milieu académique qu'industriel.

Dans ce chapitre, nous définissons dans un premier temps le concept de l'encapsulation et les avantages de cette technologie. Nous réalisons ensuite une revue non exhaustive des édifices encapsulants, de leurs méthodes de préparation et de leur mode de relargage. Nous présentons l'évolution de ces systèmes, en commençant par les plus simples (tensio-actifs formant des micelles) jusqu'aux plus sophistiqués, à base de copolymères amphiphiles et souvent qualifiés d'intelligents (*smart systems*). Nous montrons également à travers différents exemples comment l'utilisation de la chimie supramoléculaire peut ouvrir de nouvelles voies pour l'élaboration d'édifices encapsulants stimulables. Enfin, nous concluons en présentant le concept de copolymères amphiphiles supramoléculaires formés par interactions hydrogène sélectives entre blocs et pouvant s'auto-assembler par incompatibilité des blocs (forces de dispersion). La réalisation et l'étude de ces nouveaux systèmes encapsulants déclenchables sont le cœur de ce travail de thèse.

I. Encapsulation et relargage – Etat de l'art

1. Définition

L'encapsulation consiste à isoler et stabiliser un ou plusieurs principe(s) actif(s) au sein d'un édifice encapsulant, principe(s) qui pourra(ont) ensuite être relargué(s) de façon contrôlée en une zone ciblée.[1] L'édifice encapsulant doit donc être une barrière efficace pour protéger les principes actifs de leur environnement (lumière, température, oxygène, eau…) et des ingrédients potentiellement déstabilisants présents dans la formulation, mais doit pouvoir se décomposer sous l'action d'un stimulus spécifique.

Le terme « encapsulation » ne fait pas référence à une gamme de taille ou à une morphologie particulière. On distingue cependant la « microencapsulation » lorsque la taille de l'édifice encapsulant est comprise entre 1 micron et 1 mm et « nanoencapsulation » pour une taille de 1 nm à quelques microns.[1,2] Il est possible de classer les édifices encapsulants de plusieurs façons, par exemple selon leur morphologie :

- les **édifices matriciels** sont des particules, *sphères* ou *latex*, formées d'un réseau de matière dans lequel le ou les principes actifs sont dispersés (Figure 1.A). Les particules peuvent être entourées d'une fine membrane protectrice, et sont de taille nanométrique à millimétrique.
- les **édifices cœur-écorce** (*core-shell*) sont des capsules creuses entourées d'une ou plusieurs membranes dans lesquelles le ou les principes actifs sont confinés (Figure 1.B). Dans la littérature, ils sont souvent qualifiés de *systèmes réservoisr* et leur taille peut aller de quelques dizaines de nanomètres à 1 mm.
- les **édifices organisés** sont des structures mono ou multi-lamellaires formant une barrière liquide organisée en 3 dimensions, comme des micelles (Figure 1.C), cylindres, lamelles ou vésicules. Les émulsions directes ou inverses, simples ou multiples, mini, nano ou standard forment également ce genre d'édifices. Les vésicules sont également qualifiées de *systèmes réservoirs*.

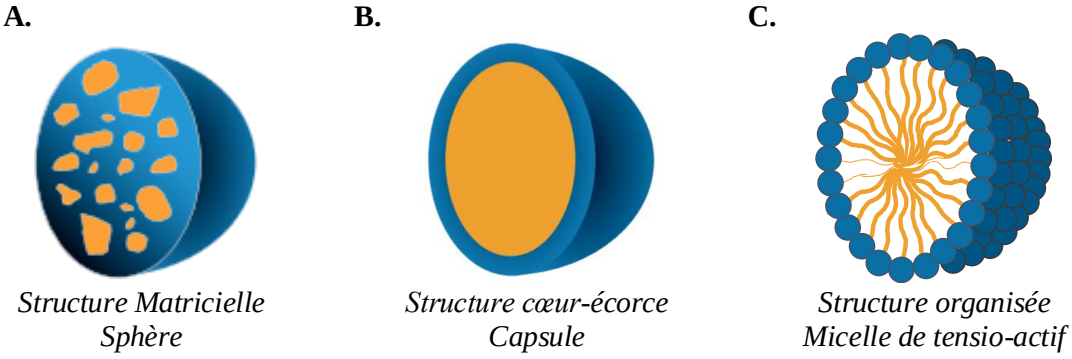


Figure 1 – Représentation schématique des différents types de morphologies d'édifices encapsulants.

Le taux d'encapsulation, qui indique la teneur massique en principe actif, dépend de la nature et de la structure de l'édifice. Il est d'environ 20 à 35 % pour les microsphères, avec quelques exceptions allant jusqu'à 50 %, et peut avoisiner les 85 à 90 % pour les microcapsules.[3]

Les principes actifs peuvent être de nature variée : parfums, arômes, médicaments, enzymes, ingrédients cosmétiques, catalyseurs, micro-organismes, etc. Ils sont donc de natures, structures chimiques et polarités différentes, peuvent être hydrophiles ou hydrophobes, et se présenter sous différents états physiques (solide, liquide ou gazeux).

Pour être efficace, il est donc nécessaire de développer des solutions encapsulantes adaptées aux caractéristiques physico-chimiques du principe actif. Le mode de relargage, choisi selon l'application finale, doit également être pris en considération. Ainsi, le choix du procédé d'encapsulation détermine les caractéristiques des objets encapsulants : leur forme et leur taille moyenne, leur polydispersité, leur taux d'encapsulation, le processus de relargage (mécanisme et cinétique).

Les principaux types de procédés d'encapsulation sont mécaniques (cisaillement, extrusion, …), physico-chimiques (solvant sélectif, conditions de précipitation, …) et chimiques (formation *in situ* du matériau encapsulant).[1,3] Le Tableau 1 montre quel procédé permet d'obtenir une morphologie spécifique.

Tableau 1 – Classification des morphologies d'édifices encapsulants en fonction de leur taille et de leurs procédés de fabrication principaux.[1]

Morphologie	Taille	Classe	Procédés principaux
Cœur-écorce	< 0,5 µm	Nanocapsules	Polymérisation interfaciale en nanoémulsion
	0,5 à 250 µm	Microcapsules	Polymérisation interfaciale en émulsion Coacervation complexe/Séparation de phase Assemblage couche par couche Émulsions structurées
	> 250 µm	Millicapsules-macrocapsules	Co-extrusion de gouttes Microfluidique
Matricielle	< 0,1 µm	Nanoparticules	Polymérisation radicalaire en microémulsions Polycondensation Séparation de phase et évaporation de solvant
	0,1 à 1 µm	Nanoparticules	Polymérisation radicalaire en émulsions et miniémulsions Polycondensation Séparation de phase et évaporation de solvant
	0,5 à 250 µm	Microparticules	Polymérisation en suspension Séparation de phase et évaporation de solvant
	> 250 µm	Microparticules	Polymérisation en suspension Gélification/congélation de gouttes
	10 à 250 µm	Poudres	Séchage par atomisation simple ou multi-étage
	> 250 µm	Granules	Agglomération en lit fluidisé Séchage et granulation mécanique Granulation mécanique
Organisée	< 0,1 µm	Microémulsions	Formation spontanée
	0,05 à 0,5 µm	Miniémulsions	Dispersion sous très haut cisaillement Sonication Homogénéisation sous haute pression
	0,5 à 100 µm	Émulsions	Dispersion sous cisaillement Homogénéisation sous haute pression
	0,05 à 200 µm	Liposomes et vésicules	Auto-organisation par évaporation de solvant ou coextrusion ; Microfluidique

2. Pourquoi encapsuler ?

L'encapsulation est une technologie qui présente de nombreux avantages. En premier lieu, elle permet la protection et la stabilisation du principe actif au sein de la formulation sur des temps plus ou moins longs, et son relargage à l'endroit et au moment voulus. Dans le même ordre d'idée, elle permet d'isoler des composés pouvant déstabiliser la formulation, par interaction avec des ingrédients-clés comme des dispersants ou des modificateurs de rhéologie. Par exemple, les bactéricides utilisés pour inhiber le développement de microbes dans un revêtement peuvent oxyder les additifs assurant la stabilité de la formulation. Ceci résulte d'une part en la diminution de l'activité antimicrobienne et, d'autre part, en celle de la qualité du produit.[4]

Au-delà de cette fonction intrinsèque d'isolement du principe actif, l'encapsulation peut aussi permettre d'obtenir une meilleure efficacité, d'atteindre de nouvelles performances avec des produits innovants, d'assurer une meilleure innocuité ou encore de réduire les coûts du produit final.[5] Son utilisation est particulièrement indiquée pour des systèmes complexes, c'est-à-dire contenant une combinaison de solvants, de surfactants, d'additifs (conservateurs, agents anti-mousse, agents rhéologiques…) et de principes actifs.

L'encapsulation augmente l'efficacité du produit en limitant la perte/dégradation du principe actif durant la préparation, le stockage et l'utilisation du produit. Ainsi, les molécules volatiles telles que les parfums ou les composés de faible masse molaire sont mieux préservés au sein de la formule.[6] De la même façon, l'encapsulation d'une substance thérapeutique dans un édifice spécialement fonctionnalisé pour cibler les cellules cancéreuses (*vectorisation*), augmente l'efficacité du traitement car le médicament est protégé lors de son transit dans le corps jusqu'à la zone d'intérêt (pas ou peu de perte ou de dégradation du produit au franchissement des barrières biologiques et enzymatiques). De plus, un édifice encapsulant mimant les membranes cellulaires (niosomes, liposomes, polymersomes) pourra être mieux absorbé par les cellules et le médicament sera relargué uniquement sur la zone d'intérêt (cellules, organes ou tissus biologiques spécifiques). En limitant ainsi la perte du principe actif (protection du milieu extérieur et ciblage), il devient possible de diminuer la quantité nécessaire à la performance désirée, limitant la toxicité et le coût global du produit.

Un autre atout majeur de l'encapsulation est la possibilité de formuler des produits innovants et d'atteindre de nouvelles performances. En effet, depuis plusieurs années, la demande des consommateurs en terme de produits novateurs et originaux, tant d'un point de vue fonctionnel que sensoriel, n'a cessé de croître. En réponse, les laboratoires ont fourni des formulations toujours plus performantes utilisant la technique de l'encapsulation. Il est ainsi possible de maximiser les synergies entre deux composés en les encapsulant séparément jusqu'à leur utilisation, où ils réagiront ensemble (par exemple, oxydants ou produits de coloration capillaire). Il existe également des *cosméto-textiles* contenant des microcapsules libérant leurs principes actifs (hydratants, amincissants) sous le mouvement de l'utilisateur, ou encore des déodorants contenant des parfums et des bactéricides encapsulés qui seront libérés lorsque le corps est en mouvement et que sa température augmente.

Enfin, l'encapsulation peut être une réponse pour renforcer l'innocuité d'un principe actif. En effet, en encapsulant, il est possible d'éviter l'exposition non voulue des utilisateurs à un principe actif (ex : protéases dans les détergents), ou d'assurer la stabilité chimique d'un composé jusqu'à son utilisation finale. L'encapsulation peut donc réduire l'impact environnemental des composés chimiques en évitant leur dispersion non désirée. Cette stratégie a permis notamment à l'industrie agrochimique de conquérir de nouveaux marchés en garantissant la sécurité des utilisateurs de pesticides, souvent dangereux à haute concentration. Dans le domaine de la vectorisation de médicaments, les effets secondaires et toxiques indésirables peuvent être diminués : l'encapsulation et le relargage ciblé limitent la diffusion des agents thérapeutiques vers les cellules saines, qui sont ainsi préservées.

Comme on le voit, les avantages de l'encapsulation et du relargage contrôlé sont mis à profit dans de nombreux domaines : agroalimentaire, bâtiment, pharmaceutique, cosmétique, détergence, peintures ou textiles. En fonction de l'application recherchée, de la formulation souhaitée, du mode de relargage, de la nature des principes actifs, il est nécessaire de choisir le procédé, la morphologie et les caractéristiques physico-chimiques de l'édifice encapsulant le plus adéquat.

3. Comment encapsuler : blocs élémentaires pour la construction d'édifices encapsulants

Depuis les premiers travaux sur l'encapsulation de Green[7] au début des années 40, de nombreux édifices encapsulants, toujours plus complexes, ont été réalisés. Le choix des blocs élémentaires pour concevoir ces édifices est aujourd'hui vaste. Il s'étend des blocs les plus simples formant des édifices classiques (tensio-actifs formant des micelles) aux blocs les plus sophistiqués formant des édifices souvent qualifiés d'intelligents (*smart systems*), sensibles à un ou plusieurs stimuli permettant un relargage ciblé et contrôlé.

On se propose de présenter ici trois grandes catégories de blocs élémentaires : les tensio-actifs, les lipides et les polymères, dont l'auto-assemblage conduit à des micelles, des sphères, des capsules ou des polymersomes. Bien que ces blocs aient des structures et des natures chimiques différentes, ils sont tous amphiphiles, condition nécessaire à leur auto-assemblage, et plus loin à leur fonction d'encapsulation.

a. Edifices à base de tensio-actifs

Les tensio-actifs sont des molécules amphiphiles présentant une tête polaire hydrophile et une queue apolaire hydrophobe. Leur amphiphilie leur donne la capacité de s'adsorber entre deux milieux non miscibles, ce qui diminue leur tension interfaciale et permet de les faire cohabiter. L'interface peut être entre deux liquides, un liquide et un solide, un liquide et un gaz. Les tensio-actifs peuvent être d'origine naturelle ou synthétique, ioniques ou non ioniques.

i. Types de tensio-actifs

Les tensio-actifs peuvent être classés selon la structure chimique de leur tête polaire (anionique, cationique, zwitterionique, catanioniques ou non chargée, Figure 2)[8,9] mais la structure de la partie hydrophobe (longueur, architecture, nature chimique, …) sera déterminante pour la forme des objets auto-assemblés.

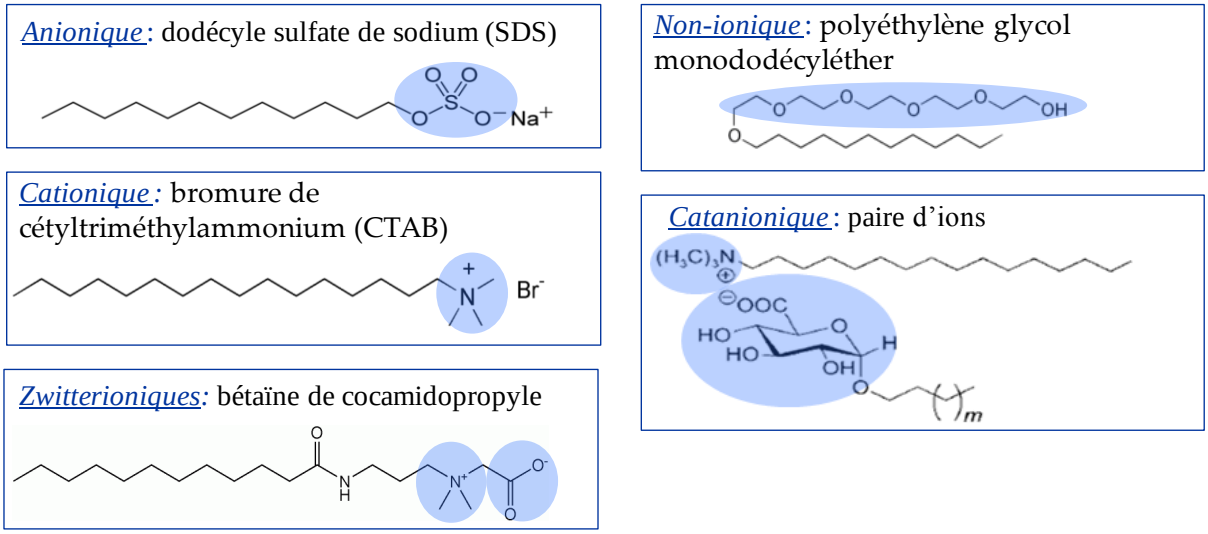


Figure 2 – Représentation schématique d'exemples des différentes classes de tensio-actifs. Les têtes polaires sont surlignées en bleu.

Les **tensio-actifs anioniques** forment la classe la plus répandue. Ils possèdent une tête polaire chargée négativement, sulfate ($RSO_4^-M^+$), sulfonate ($RSO_3^-M^+$), carboxylate ($RCOO^-M^+$) ou phosphate ($RHPO_4^-M^+$), où R est une chaine alkyle plus ou moins longue et M un cation alcalin, alcalino-terreux ou ammonium. L'exemple le plus connu est le dodécylsulfate de sodium (SDS). Ils sont très utilisés dans les détergents ainsi qu'en cosmétique, leur coût étant minime. Néanmoins, ils sont irritants, et les formulateurs tendent de plus en plus à les remplacer par des tensio-actifs moins agressifs pour l'utilisateur.

Les **tensio-actifs cationiques** sont chargés positivement et portent une fonction ammonium quaternaire ($RNH_3^+X^-$, $RN(CH_3)^{3+}X^-$, avec X^- : chlorure ou bromure). La fonction amine est sous sa forme acide conjugué à des pH inférieurs à 10. Ces tensio-actifs sont utilisés pour la modification de surface (métaux, plastiques…) et dans les produits capillaires cosmétiques. En termes de production, ils représentent la 3ème classe de tensio-actifs.

Les **tensio-actifs zwitterioniques** possèdent à la fois un groupe cationique et un groupe anionique, parmi ceux cités précédemment. Etant moins toxiques, ils sont très utilisés en cosmétique, mais sont peu produits à cause de leur coût relativement élevé. Les amino-acides tensio-actifs sont sensibles au pH et qualifiés d'*amphotères* : aux faibles pH, ils se comportent comme des tensio-actifs cationiques, aux pH élevés comme des tensio-actifs anioniques, et aux pH intermédiaires comme des tensio-actifs zwitterioniques.

Il existe également des **tensio-actifs catanioniques**,[10] constitués d'une paire d'ions : ce sont des systèmes bicaténaires, avec deux têtes polaires de charges opposées et deux queues

apolaires, résultant du mélange de tensio-actifs anioniques et cationiques. Lors de leur préparation, les mélanges équimolaires de tensio-actifs de charges opposées ont tendance à précipiter.[11–13] En effet, les paires d'ions tendent à s'agréger par interactions électrostatiques : l'hydrophilie des systèmes diminuant, ils sont moins solubles.[14] Pour y remédier, on élimine les contre-ions inorganiques associés, créant ainsi un excès de tensio-actifs chargés positivement ou négativement.[15]

La dernière catégorie est celle des **tensio-actifs non ioniques**. Ils sont classés selon la nature de la jonction entre les parties hydrophiles et hydrophobes (liens ester, éther, amide). On peut par exemple citer les esters d'acides gras et de polyoxyéthylène sorbitane, plus connus sous le nom de *polysorbates*. Après les tensio-actifs anioniques, cette catégorie représente la deuxième classe la plus produite. Ils sont compatibles avec d'autres tensio-actifs, sont utilisés comme agents dispersants dans les détergents, les cosmétiques et la vectorisation de médicaments, et sont particulièrement plébiscités pour leur caractère non irritant.

Enfin, les tensio-actifs peuvent posséder plusieurs têtes polaires - chargées ou non, identiques ou non - et/ou une ou plusieurs queues hydrophobes. On distinguera les structures linéaires *bolaforme*[16] et ramifiées *gemini*[17] (Figure 3).

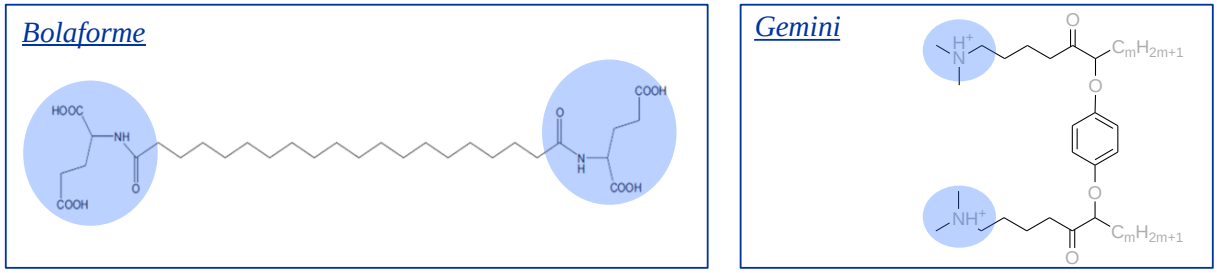


Figure 3 – Représentation schématique de tensio-actifs *bolaforme* et *gemini*.

ii. Edifices formés par les tensio-actifs

Parce qu'ils sont amphiphiles, et plus précisément grâce à leur(s) chaine(s) hydrophobe(s), les tensio-actifs ont la capacité de s'auto-organiser en édifices dynamiques après avoir dépassé leur *concentration micellaire critique* (CMC, propre à chaque type de tensio-actifs). La CMC est généralement comprise entre 10^{-4} et 10^{-2} mol/L et varie en fonction de la taille, de l'architecture et de la masse molaire du tensio-actif. Dans l'eau, les édifices les plus simples sont les *micelles directes* dans lesquelles les têtes polaires sont orientées vers l'eau, la surface de la micelle formant ainsi une *couronne*, et les parties apolaires rassemblées en un cœur hydrophobe dense pour minimiser leur contact avec l'eau. La taille moyenne de ces objets varie entre 1 et 100 nm de diamètre et ils peuvent contenir des composés hydrophobes. Dans un solvant apolaire/hydrophobe, les tensio-actifs formeront des *micelles inverses*, avec une couronne de chaines apolaires et un cœur de têtes polaires pouvant contenir des composés polaires et/ou hydrophiles.

Le passage de simples micelles à des édifices plus complexes peut être expliqué par la théorie d'Israelachvili, qui permet de prévoir la forme des tensio-actifs auto-assemblés en solution.[18]

En effet, chaque tensio-actif possède un paramètre propre d'empilement (*packing) P* qui dépend de sa composition et de sa structure chimique. Ce paramètre, sans dimension, est défini comme : $$P = \frac{v_0}{a.l_c}$$

avec v_0 et *lc* le volume et la longueur de la queue hydrophobe, et *a* l'aire optimale occupée par la tête polaire à l'interface. Ce paramètre donne une vision simplifiée de la relation entre la structure d'une molécule et l'objet qu'elle peut former (Figure 4).

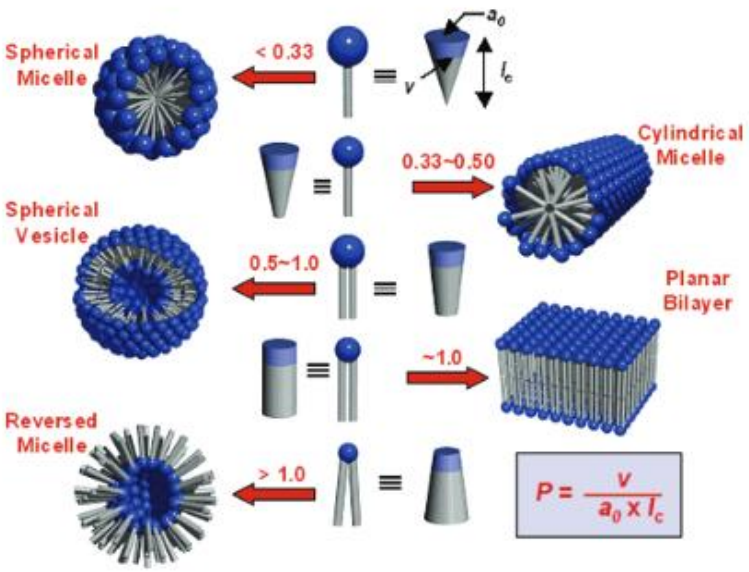


Figure 4 – Différentes morphologies attendues selon le paramètre de *packing P* du tensio-actif.[19]

Grâce à ce concept, il est également possible d'anticiper les transitions de morphologies lorsque les paramètres physico-chimiques du milieu sont modifiés. En effet, v_0 et l_0 étant fixes par nature (molécule de tensio-actif), *a* dépendra des interactions de la tête polaire (entres elles et avec leur environnement), c'est-à-dire des conditions du milieu. Ainsi, pour un tensio-actif non ionique, l'élévation de température rompt les interactions hydrogène entre les têtes polaires et les molécules d'eau. La valeur de *a* diminue donc et celle du paramètre *P* augmente : on passe ainsi d'une micelle sphérique à cylindrique (Figure 5). La Figure 6 montre les effets de variation des paramètres externes du milieu (température, pH, force ionique, hydratation) sur la morphologie des tensio-actifs.

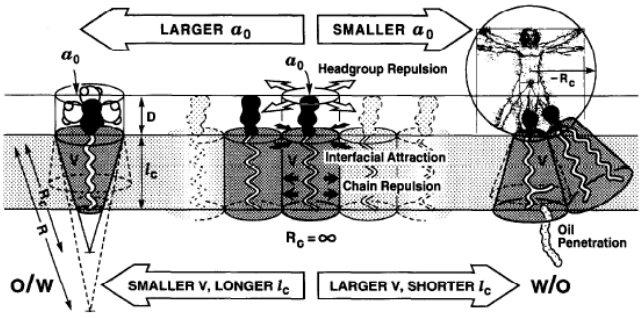


Figure 5 – Evolution du paramètre de *packing*.[20]

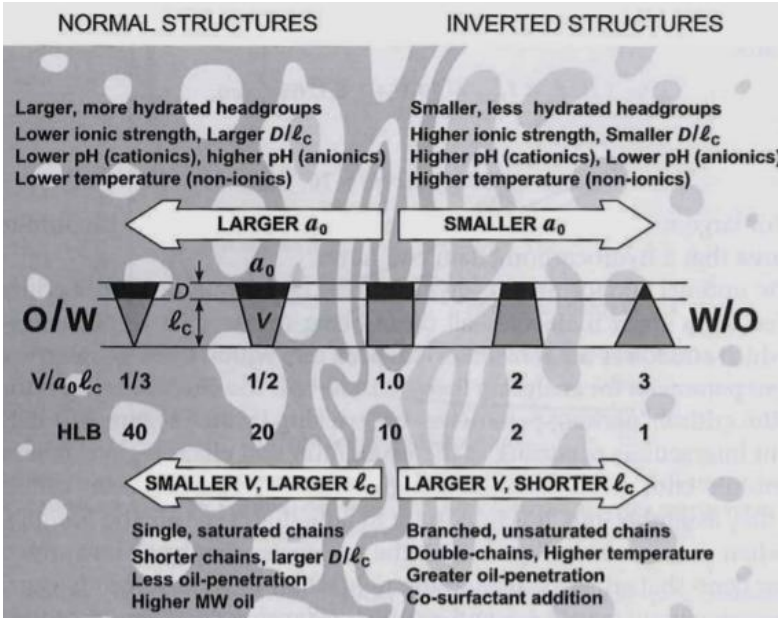


Figure 6 – Effets des conditions du milieu (force ionique, pH, température,) et de l'architecture du tensio-actif (volume et longueur de la queue hydrophobe) sur la valeur du paramètre de *packing*.[20]

Par la suite, cette théorie a été enrichie par les travaux de Nagarajan *et al.* qui ont démontré l'importance et l'impact de la partie hydrophobe des tensio-actifs sur la taille et la forme des édifices obtenus.[21]

La théorie d'Israelachvili est vérifiée pour de nombreux systèmes de tensio-actifs conventionnels ou plus sophistiqués. Parmi les objets complexes formés, nous pouvons citer les niosomes,[22,23] les vésicules catanioniques[10,14] et les édifices à base de tensio-actifs *bolaformes*.[24,25]

Les **niosomes**[26] résultent de l'auto-organisation de tensio-actifs non ioniques et de cholestérol, et forment des édifices sphériques avec une membrane en bicouche hydrophobe et une cavité hydrophile (*vésicules*). Ils peuvent être obtenus par réhydratation de film ou injection des tensio-actifs fondus dans l'eau chaude sous forte agitation. Leur taille, de l'ordre du micron, peut être réduite jusqu'à quelques centaines de nanomètres par procédés mécaniques (sonication, microfluidique, extrusion, filtration). Les substances hydrophiles sont encapsulées dans la cavité des niosomes par dissolution dans la phase aqueuse qui va réhydrater le film (méthode *passive*). Les substances hydrophobes sont encapsulées dans la membrane des niosomes par mélange avec les tensio-actifs en amont de leur formation. Dans les deux cas, l'encapsulation est donc simultanée à la formation des niosomes. Initialement développés pour la cosmétique, les niosomes ont fait l'objet de nombreuses études pour la vectorisation de médicaments.[27] Hood *et al.* ont développé des niosomes fonctionnalisés en surface par des anticorps et capables de relargage très ciblé.[28] Sharma *et al.* ont réalisé des niosomes encapsulant des principes actifs hydrophiles et hydrophobes pour un traitement contre le cancer.[29] Dans ce cas, le relargage se fait en deux temps : le principe actif hydrophile est relargué en 2 jours, tandis que le principe hydrophobe est relargué en 7 jours grâce à la dégradation progressive des niosomes.

Les tensio-actifs **catanioniques** ont également la capacité de s'auto-organiser en vésicules aptes à encapsuler. Soussan *et al.* ont élaboré des tensio-actifs catanioniques pour la vectorisation de médicaments, en associant un tensio-actif issu des sucres à une substance thérapeutique anti-inflammatoire pour la peau.[10] Dans ce système, la substance à délivrer est elle-même un bloc élémentaire de l'édifice encapsulant. Les études récentes montrent que les tensio-actifs catanioniques sont de très bons candidats pour la vectorisation de médicaments grâce à leurs interactions électrostatiques.[30] En effet, ces dernières peuvent induire de nombreux processus de fusion de la membrane avec les cellules, et donc mieux délivrer les principes actifs.

Enfin, les tensio-actifs ***bolaformes*** ont la capacité de s'auto-organiser en solution ou aux interfaces (air/liquide, solide/liquide).[24] En solution, la morphologie des édifices varie avec la structure des tensio-actifs (deux têtes polaires identiques ou non) et les paramètres du milieu. Ainsi, à partir de bolaformes amides terminés par des acides benzoïques, Matsui *et al.* ont obtenus des nanotubes à pH 7 et des microsphères à pH 8 (Figure 7).[31]

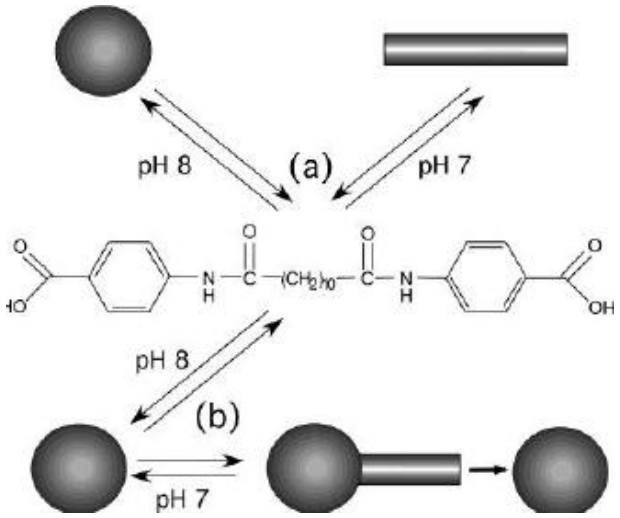


Figure 7 – Formation de microsphères et nanotubes selon le pH.[31]

Bien que l'espaceur entre les deux parties polaires soit généralement hydrophobe, Ghosh *et al.* ont synthétisé un bolaforme zwitterionique avec deux têtes polaires à base de L-cystéine reliées par une chaine PEG hydrophile, formant des vésicules monocouches stables en solution aqueuse.[32]

Conclusion

La production industrielle des tensio-actifs est relativement maitrisée et peu onéreuse (excepté pour les tensio-actifs non ioniques) et ils se conservent aisément. Les édifices de tensio-actifs (micelles, niosomes, vésicules catanioniques…) se forment spontanément dans l'eau et sont modulables, toutefois dans une gamme de concentration souvent très faible. Selon le principe actif à encapsuler et l'application visée, les paramètres du tensio-actif et/ou de l'édifice (taille, forme, propriétés de surface, etc.) ou les paramètres physico-chimiques du milieu peuvent être ajustés. Les systèmes bicouches présentent également la capacité d'encapsuler à la fois des

molécules hydrophiles et hydrophobes. Enfin, ils peuvent être utilisés dans de nombreuses applications, notamment en médecine et en cosmétique, certains édifices présentant une bonne biocompatibilité (niosomes et vésicules catanioniques notamment).

Cependant, ces édifices sont peu robustes, essentiellement parce que les tensio-actifs sont des molécules de faible masse molaire. Ils ont donc tendance à se défaire lorsqu'ils sont dilués et sont peu stables dans le temps, un relargage prématuré du principe actif (fuite) pouvant se produire à travers la membrane perméable. De plus, leur taille reste relativement modeste et ne permet pas d'encapsuler de grandes quantités de principe actif. Enfin, certains tensio-actifs sont très irritants, et beaucoup de questions liées à leur innocuité restent en suspens, les études de toxicité étant peu nombreuses. Ce point est particulièrement problématique pour leur utilisation dans la vectorisation de médicaments.

Pour réaliser des édifices mieux tolérés, plus robustes, plus stables, encapsulants une plus grande quantité de principes actifs, en un mot plus efficaces, les lipides, et plus particulièrement les phospholipides, peuvent être utilisés, notamment sous forme réticulée.

b. Edifices à base de phospholipides

Les phospholipides sont des molécules amphiphiles dont la tête polaire peut être neutre ou chargée, généralement composée d'un groupement phosphate et d'un ammonium quaternaire (Figure 8). La partie hydrophobe est une combinaison de deux chaines d'acides gras, plus ou moins longues, saturées ou non. Les phosphoglycérides, les glycosylglycérides ou stérols, ainsi que d'autres types de molécules comme la stéarylamine, sont des lipides extraits de cellules animales ou végétales.

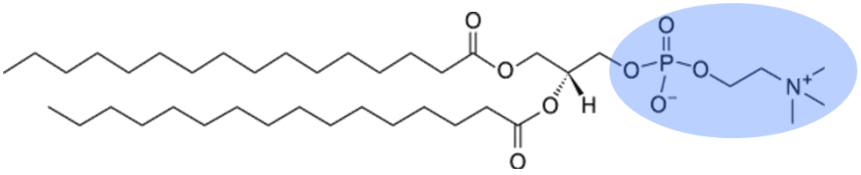


Figure 8 – Représentation schématique du phospholipide DPPC (1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine).

Ces lipides s'auto-organisent et forment des édifices encapsulants constitués d'une ou plusieurs membranes bicouches entourant une cavité d'eau : les *liposomes*.[33] Leur conception est inspirée de la biologie, la membrane bicouche mimant la membrane phospholipidique des cellules vivantes et leur permettant d'interagir de façon préférentielle avec les cellules pour y délivrer des principes actif.[34] Dans ces objets, le principe actif (hydrophile) peut-être encapsulé dans la cavité d'eau, ou bien dans la membrane (hydrophobe), en quantité conséquente ce qui permet d'utiliser/administrer moins d'objets. Ils peuvent également être constitués de plusieurs membranes et cavités, ce qui leur confère des stabilités et des profils de relargage variables.[34,35]

Les liposomes unilamellaires existent en trois tailles (Figure 9) :

- « petits » de 20 à 100 nm, formés par sonication.
- « larges » au-dessus de 100 nm, formés par congélation-séchage (*freeze-drying)*.
- « géants » au-dessus de 1 micron (GUV), formés par électro-formation.

Les liposomes géants sont très utilisés dans l'industrie pharmaceutique, leur structure et leur taille étant très similaires à celles des cellules. Leur mode de préparation utilise un courant électrique pour disperser et faire gonfler le film lipidique déposé sur une plaque de silicone.[36]

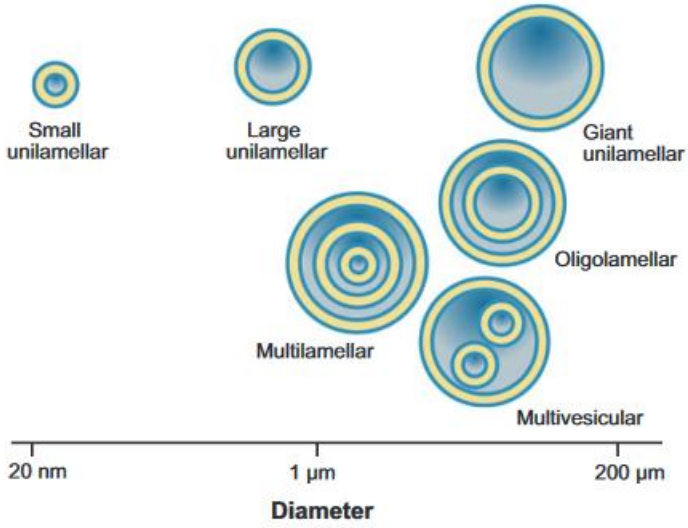


Figure 9 – Représentation schématique de liposomes de différentes tailles.[34]

La structure des liposomes dépend non seulement de leur composition mais également de leur mode de préparation. Celui-ci se décompose typiquement en 3 étapes : i) dissolution des lipides dans un solvant organique volatile, ii) évaporation du solvant et formation d'un film, iii) dispersion du film lipidique dans l'eau par sonication, extrusion, électro-formation, etc.[37] C'est au cours de la dernière étape que les lipides s'auto-assemblent en bicouches lamellaires puis en liposomes par repliement de la membrane (Figure 10).

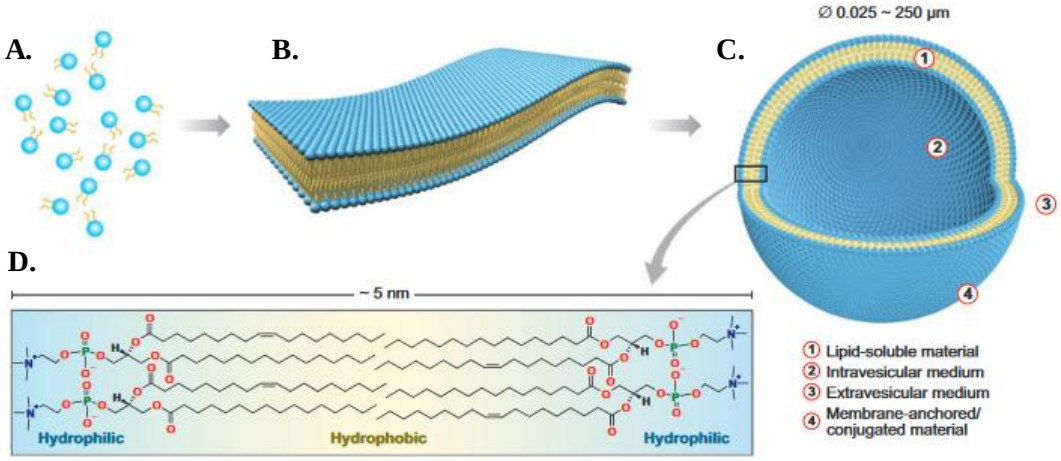


Figure 10 – Représentation schématique de la formation de liposomes : A) les phospholipides individuels s'auto-assemblent en B) membrane bicouche, se repliant pour donner un C) liposome.[34]

Le mode d'encapsulation dans les liposomes est similaire à celui décrit précédemment pour les niosomes. La méthode la plus simple consiste en la dispersion des lipides séchés dans une solution du principe actif (*encapsulation passive*).[38] L'encapsulation des substances hydrophobes dans la membrane des liposomes est réalisée en mélangeant le principe actif avec les phospholipides avant leur redispersion. Une solution organique de lipides peut également être injectée dans une solution aqueuse du principe actif, puis le solvant organique est évaporé.[37] L'encapsulation dans des liposomes déjà formés peut être réalisée en utilisant des gradients de pH ou de concentrations (*encapsulation active*).[39]

Les liposomes peuvent être conçus en fonction du mode de relargage souhaité et de l'application. Ils peuvent ainsi être modifiés pour être sensibles au pH,[40] au potentiel redox du milieu,[41] à la température,[42]… Ils peuvent aussi être fonctionnalisés par des ligands, comme pour les *virosomes*, utilisés pour la vaccination et la vectorisation d'antigènes, qui miment les virus et permettent un relargage très ciblé.[43,44]

Conclusion

Les liposomes sont des systèmes *réservoirs*, protégeant le principe actif de son environnement, augmentant sa biodisponibilité et réduisant les effets indésirables éventuels. Ils peuvent transporter simultanément des molécules hydrophiles et hydrophobes et peuvent être modifiés en fonction de l'application, pour obtenir un relargage ciblé et contrôlé.

Contrairement aux édifices tensio-actifs, leur nature chimique rend les liposomes biocompatibles et d'une grande innocuité. Ils sont bien tolérés par l'organisme et interagissent efficacement avec les cellules. Ils sont donc très plébiscités en cosmétique et par l'industrie pharmaceutique pour la vectorisation. De plus, leur CMC est 4 à 5 fois plus faible que celle des tensio-actifs : il en faut donc moins pour former des édifices, dont les tailles plus importantes permettent également d'atteindre de plus grands taux d'encapsulation.

Néanmoins, les liposomes restent peu robustes et leurs stabilités chimique et mécanique sont limitées dans le temps.[45] En effet, les lipides sont sensibles à l'oxydation et à l'hydrolyse de leurs liens esters. Les membranes peuvent donc fuir ou les liposomes s'agréger. Ces défauts ont conduit l'industrie pharmaceutique a préférer les liposomes modifiés. Gabizon *et al.* ont par exemple réalisé des liposomes modifiés en surface par des chaines poly(éthylène glycol) (PEG), pour l'encapsulation du Doxil (anticancéreux). Ainsi protégés, les liposomes ne sont plus détectés par les monocytes et les macrophages du foie et peuvent circuler plus longtemps dans le système sanguin.[46] Par ailleurs, les techniques de préparation sont difficilement transposables à l'échelle industrielle, et les solvants organiques utilisés pour dissoudre les lipides peuvent laisser des traces toxiques.

Les défis pour une préparation à grande échelle d'édifices encapsulants stables et efficaces ont conduit à explorer d'autres stratégies, notamment l'utilisation de copolymères à blocs pouvant former en solution des analogues synthétiques des liposomes.

c. Edifices à base de copolymères à blocs

Les copolymères à blocs amphiphiles sont une combinaison de deux ou trois blocs hydrophiles et hydrophobes, pouvant être de natures chimiques différentes (AB, ABA, ABC), chargés ou non. Les copolymères peuvent présenter différentes architectures, et mener à différents types d'édifices que nous présentons ci-après.

i. Blocs des copolymères amphiphiles

La nature chimique des blocs polymères utilisés pour la conception des copolymères amphiphiles est très variée (Tableau 2).[35]

Tableau 2 - Les principaux blocs hydrophiles et hydrophobes mis en œuvre dans les copolymères à blocs destinés à l'encapsulation.

Blocs hydrophobes	Blocs hydrophiles
Poly(styrène)	Poly(éthylène glycol)
Poly(butadiène)	Poly(acide acrylique)
Poly(oxyde de butylène)	Polymères issus des sucres
Poly(propylène glycol)	Poly(glycérols)
Poly(caprolactone)	
Poly(lactate)	

Les copolymères à bloc PEG ont été particulièrement étudiés, ce bloc étant très fortement hydraté. De plus, les fortes interactions répulsives entre chaines PEG conduisent à la formation de micelles de grand volume et participent à leur stabilisation.[47] Les principes actifs peuvent donc être délivrés sur une longue période de temps.[48] Ces dernières années, les polymères issus des sucres[49] et les polyglycérols[50] sont largement utilisés comme blocs hydrophiles en raison de leur biocompatibilité accrue.

Concernant les parties hydrophobes, les polymères biodégradables comme les poly(lactates) sont de plus en plus souvent utilisés.[51] Ainsi, Zeng *et al.* ont synthétisé un copolymère à blocs PEG et poly(lactate), qui forme un édifice dont le temps de demi-vie est de 48 h et dont la substance thérapeutique encapsulée peut être relarguée par ultrasons. La biodégradabilité du bloc poly(lactate) permet d'éliminer plus facilement le polymère *in vivo*. [52]

Les avancées en polymérisation contrôlée permettent de synthétiser des copolymères à blocs de faible polydispersité, de masses molaires et d'architectures contrôlées, et de les fonctionnaliser selon le besoin.[53,54] En effet, la fonctionnalisation des chaines polymères conduit à des édifices sensibles à des stimuli (lumière, pH…), utilisés pour déclencher le relargage. Les (co)polymères peuvent présenter une architecture linéaire, ramifiée, en peigne,

en brosse, en étoile (Figure 11) et des structures plus sophistiquées comme les dendrimères. Cette polyvalence de structure est un avantage-clé pour concevoir des édifices encapsulants adaptés aux besoins de l'application visée.

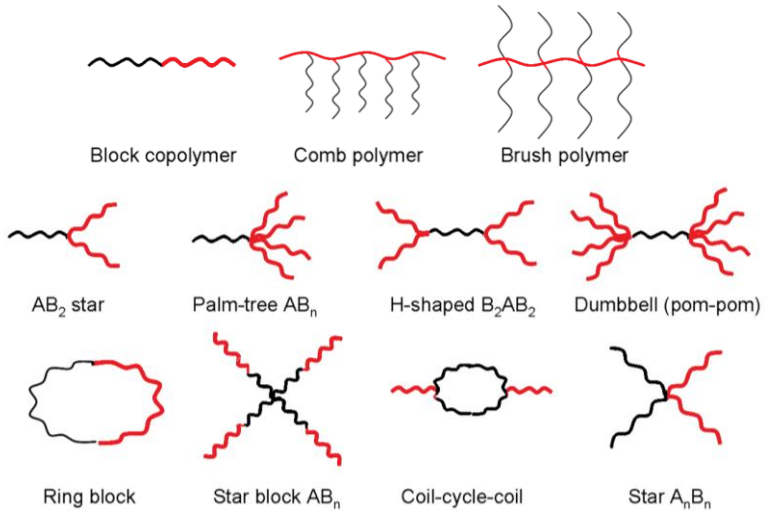


Figure 11 – Représentation schématique de différentes architectures de copolymères à blocs.

Le squelette des copolymères en peigne et en brosse peut être hydrophile et les chaines pendantes hydrophobes, ou inversement.[55] Le principe actif peut également être intégré dans la structure copolymère. Ainsi, Burts *et al.* ont préparé des copolymères en brosse étoilés (*brush-arm star polymer*, BASP) sur lesquels une substance thérapeutique (doxorubicine, DOX) est liée de façon covalente par réaction *clic* et relarguée par irradiation sous 365 nm (Figure 12).[56]

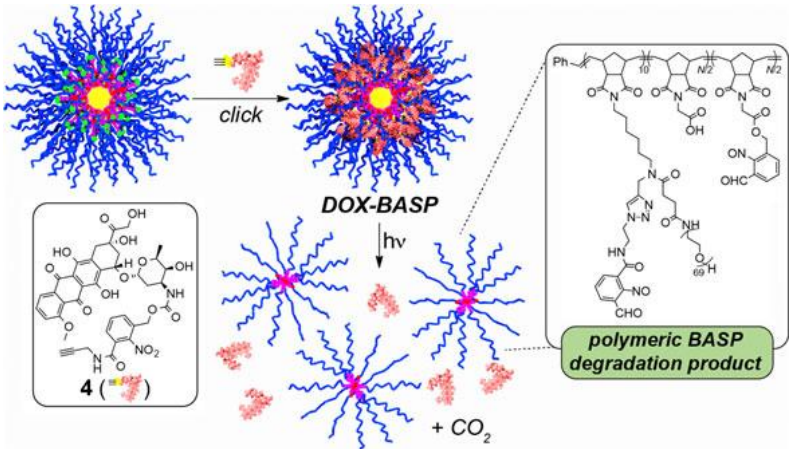


Figure 12 – Copolymères en brosse étoilés contenant la substance active (DOX) dans leur structure.[56]

Des copolymères en forme d'étoile et de Y à base de PEG et de poly(caprolactone) (PCL) ont été synthétisés pour la vectorisation de vinorelbine (anticancéreux) (Figure 13).[57] Leurs structures complexes leur permettent de former des édifices encapsulants à faible CMC et de transporter une plus grande quantité de médicament. Les blocs PCL hydrophobes mobiles facilitent leur auto-assemblage en micelle dans l'eau.

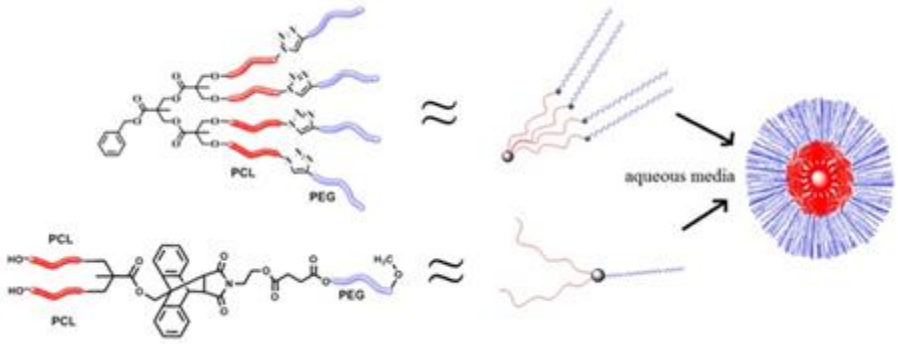


Figure 13 – Copolymères en étoile et en Y pour la vectorisation de médicament.[57]

Comme on le voit, l'architecture (simple ou complexe) des copolymères conduit à des édifices auto-assemblés singuliers, que nous détaillons dans ce qui suit.

ii. Edifices formés

Les copolymères à blocs amphiphiles peuvent former divers objets dont la forme dépend de plusieurs paramètres : composition chimique et taille des blocs, architecture du copolymère. Letchford *et al.* donnent une vision globale des édifices formés, en distinguant les objets organisés (micelles, polymersomes), matriciels (nanosphères) et cœur-écorce (nanocapsules).[58] L'auto-assemblage des copolymères à blocs, diblocs AB ou triblocs ABA ou ABC, en micelles sphériques, cylindres,[59,60] lamelles, vésicules,[61,62] et autres objets organisés [63] est particulièrement bien documenté en masse,[64] en solution ou dans un solvant sélectif d'un des blocs.[65–69]

En 1980, Leibler a développé une théorie sur la micro-séparation de phase des copolymères à blocs en masse.[70] Cette théorie permet notamment de prédire la morphologie d'un copolymère dibloc selon la fraction volumique d'un des blocs et de l'incompatibilité des blocs exprimée par la variable χN, où N est le nombre d'unités monomères du copolymère et χ le paramètre d'interaction de Flory qui traduit l'affinité des blocs entre eux. Selon cette théorie, la micro-séparation de phase ne peut avoir lieu que si $\chi N > 10,5$, ce qui a été vérifié pour de nombreux systèmes (par exemple PI-PS, Figure 14).[71] Les différentes morphologies - sphères, cylindres, gyroïde, lamelles - sont obtenues pour des fractions volumiques croissantes de l'un des blocs, l'interface entre blocs étant de moins en moins courbée.

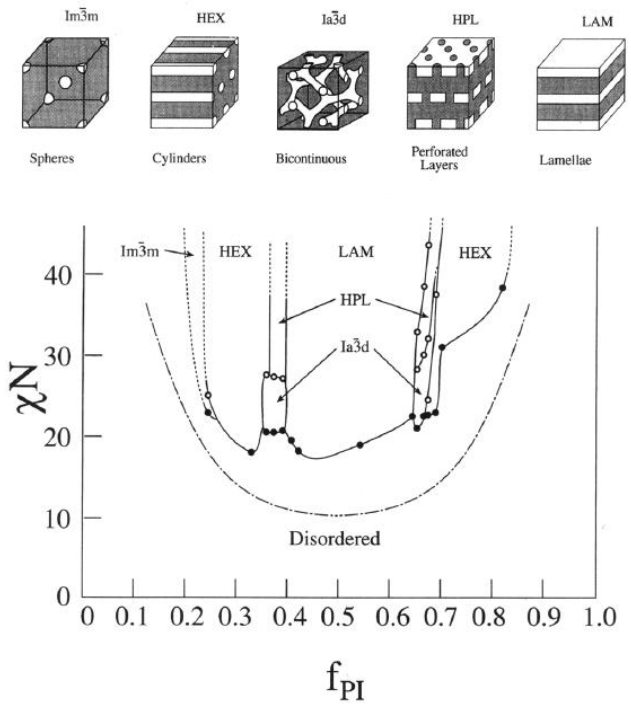


Figure 14 – Diagramme de phase expérimental du copolymère dibloc poly(isoprène)-poly(styrène).[71]

Dans l'eau, par analogie avec la théorie d'Israelachvili[18,20] et les travaux de Nagarajan[21] sur les tensio-actifs, la morphologie des édifices formés par des copolymères diblocs amphiphiles peut être prédite par la courbure spontanée C_0 et l'équation suivante :

$$P = \frac{V}{a_0 \, . \, l_c}$$

Dans cette équation, *P* est le paramètre de *packing*, *V* le volume du bloc hydrophobe, a_0 l'aire interfaciale optimale par chaine et *lc* l'extension du bloc hydrophobe.[72,73] La Figure 15 montre l'évolution de la morphologie en fonction de ces paramètres.

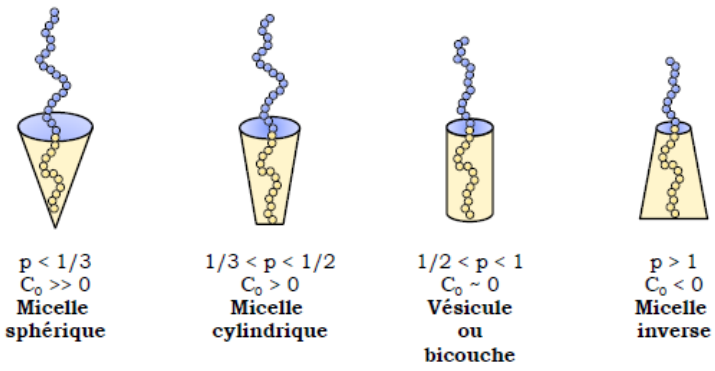


Figure 15 – Représentation des morphologies adoptées par un copolymère dibloc amphiphile en fonction du paramètre de packing p, et de la courbure spontanée C_0.[74]

Sugihara *et al.* ont illustré cette évolution pour des copolymères à blocs amphiphiles en solution aqueuse : en augmentant le volume du bloc hydrophobe, les forment successivement des micelles, des cylindres et des vésicules (Figure 16).[75]

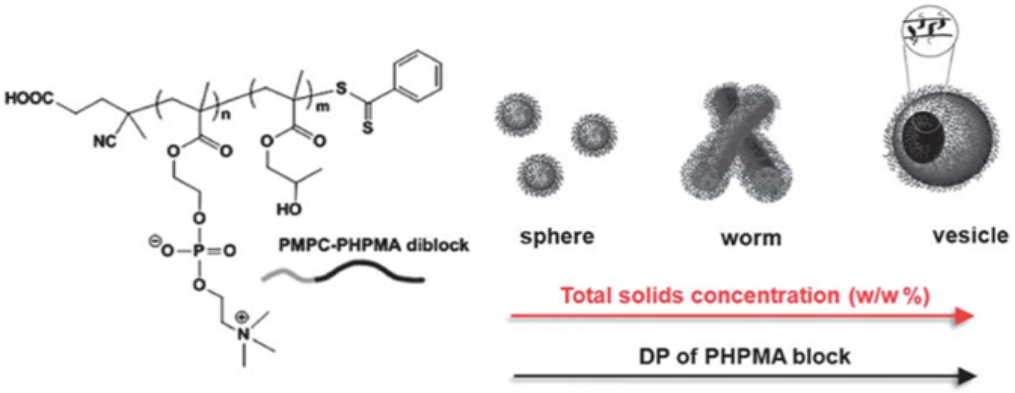


Figure 16 – Evolution de la morphologie des édifices formés par un copolymère dibloc amphiphile dans l'eau en fonction de la taille du bloc hydrophobe (PHPMA).[75]

Il reste toutefois difficile de prédire précisément la morphologie des édifices en solution (monophasique ou biphasique). En effet, les chaines polymères étant longues, il est difficile de prévoir leur conformation aux interfaces, comme dans le cas des tensio-actifs. Par exemple, pour minimiser les interactions répulsives entre l'huile et ses segments hydrophiles, un copolymère amphiphile statistique se répartira de part et d'autre de l'interface en formant des boucles, et donc une couche très dense (Figure 17).[76] Par ailleurs, l'adsorption du copolymère à l'interface dépend fortement du rapport de ses motifs hydrophiles et hydrophobes. En effet, si l'un des blocs est très majoritaire par rapport à l'autre, le copolymère restera en solution, dans la phase huileuse ou aqueuse selon qu'il contient plus de motifs hydrophobes ou hydrophiles, et ne pourra pas s'adsorber à l'interface.[74,77]

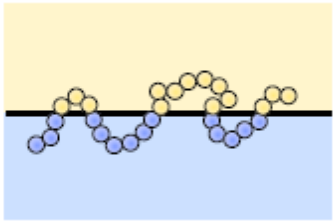


Figure 17 – Représentation de la conformation adoptée par un copolymère amphiphile statistique à l'interface huile/eau.[74]

Dans le cas de copolymères amphiphiles diblocs, plusieurs situations sont possibles. Les chaines peuvent s'adsorber (Figure 18, C et D) ou non (Figure 18, A et B) à l'interface en formant une couche plus ou moins dense. On parle de *régime de brosse* pour une couche dense (Figure 18, A et C) et de *régime champignon* dans le cas contraire (Figure 18, B et D).[74]

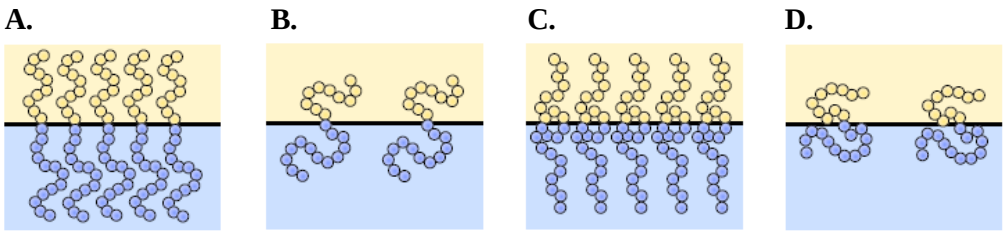


Figure 18 – Représentation des arrangements de copolymères diblocs amphiphiles à l'interface eau/huile.[74]

Comme évoqué au début de ce chapitre et de cette section, les édifices formés peuvent être classés en trois catégories : matriciels, cœur-écorce et organisés. Dans la suite de ce chapitre, et en relation avec les travaux de la thèse, nous ne nous intéresserons qu'aux édifices organisés. Parmi ceux-ci, on retrouve les micelles, les cylindres, les lamelles et les vésicules (*polymersomes*) qui nous intéressent plus particulièrement.

Les **polymersomes** sont les analogues synthétiques des liposomes, d'une taille inférieure au micron, formés par l'auto-assemblage de copolymères à blocs amphiphiles.[61,62] Dans un premier temps, les copolymères s'organisent en micelles sphériques qui par la suite gonflent pour former des micelles sphériques ou cylindriques avec une membrane bicouche. Un gonflement supplémentaire des micelles sphériques conduit directement aux polymersomes, tandis que les micelles cylindriques doivent se replier et se refermer pour les former (Figure 19).

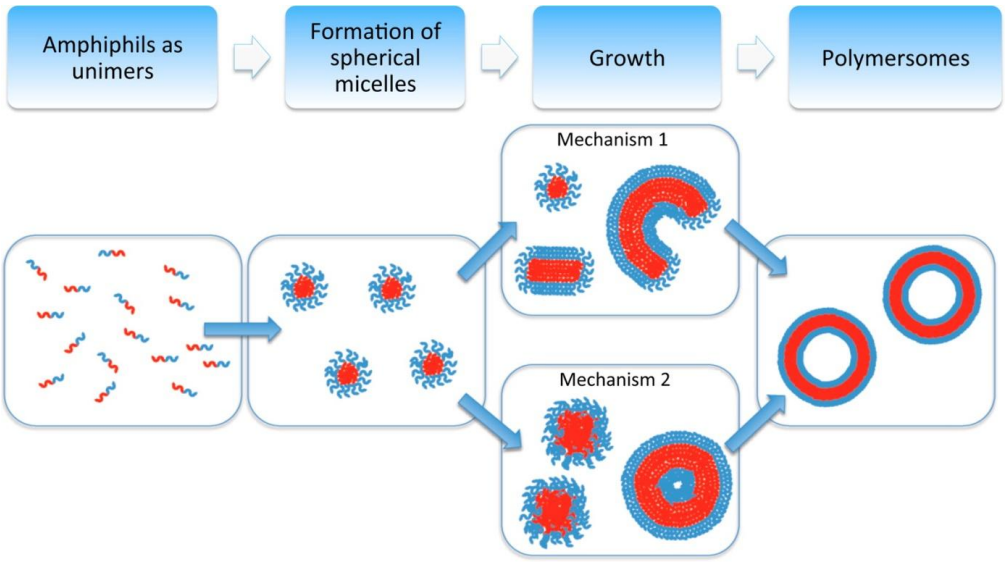


Figure 19 – Schéma représentant la formation de polymersomes selon deux mécanismes : le premier se fait par repliement d'une micelle cylindrique, et le second par gonflement d'une micelle sphérique.[78]

Ces vésicules comportent un cœur aqueux et une membrane bicouche de quelques nanomètres d'épaisseur. On les qualifie de *systèmes réservoirs*, car elles peuvent encapsuler des molécules hydrophiles dans leur cœur et hydrophobes dans leur membrane. Elles peuvent être obtenus par réhydratation de film, de la même façon que les liposomes, par polymérisation *in situ* et auto-assemblage des chaines[79] (*Polymerisation Induced Self-Assembly*, PISA, Figure 20.A) ou encore par microfluidique (Figure 20.B).[80]

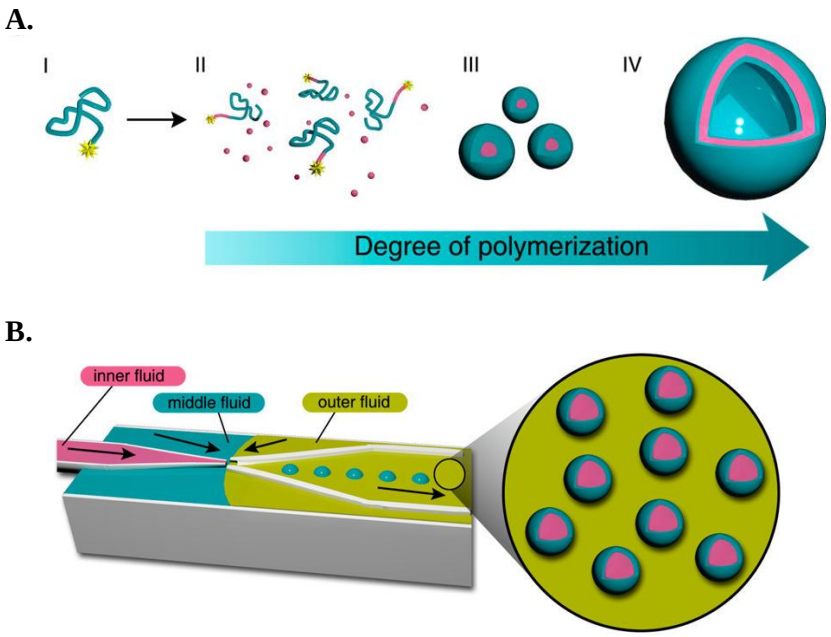


Figure 20 – Schéma représentant la formation de polymersomes par A) polymérisation *in situ* et B) microfluidique.[35]

L'encapsulation de composés hydrosolubles est réalisée principalement pendant l'élaboration des objets (*encapsulation passive*) mais peut également se faire après formation des vésicules.[81] Le relargage des composés se fait par diffusion ou par dégradation de la membrane polymère.

Conclusion

Comparés aux tensio-actifs et aux lipides, les copolymères amphiphiles, de masses molaires bien plus élevées, permettent d'obtenir des vésicules plus robustes chimiquement et mécaniquement, leur membrane étant plus épaisse, plus rigide et moins perméable.[62] Contrairement aux tensio-actifs, les vésicules ne sont pas sensibles à la dilution. De plus, il est possible de fonctionnaliser les chaines polymères et de conférer des propriétés spécifiques à la membrane des polymersomes : réticuler la membrane la rendra plus robuste mécaniquement, greffer certains groupes chimiques la rendra sensible à un ou des stimuli externes permettant un relargage à la demande.[81,82,83]

Les différents stimuli et modes de relargage utilisés avec des systèmes auto-assemblés de copolymères sont maintenant exposés.

4. Comment effectuer un relargage contrôlé : les stimuli

La conception d'un édifice encapsulant ne peut se faire sans anticiper le moyen de relarguer.[84,85] Les mécanismes de relargage sont très variés : ils peuvent s'appuyer sur la rupture de liaisons covalentes, des changements de solubilité ou des actions physiques telles que le cisaillement. Industriellement, le mécanisme de relargage doit être simple, facile à implémenter et à mettre en œuvre. Si le relargage est d'origine chimique, les fonctions stimulables doivent être stables aux conditions de préparation et de stockage du produit final ainsi qu'aux autres ingrédients présents dans la formulation.

Selon le mécanisme, les profils de relargage sont différents. Par pression mécanique ou osmotique, ou encore par dégradation thermique, le relargage peut être brutal. Par diffusion à travers l'édifice encapsulant (perméable par nature) ou dégradation partielle de l'édifice, la libération des principes actifs sera prolongée dans le temps. Enfin, les systèmes multi-stimulables combinent ces deux profils de relargage et permettent une libération en deux temps.

Les stimuli les plus courants sont la température, le pH, la lumière et la force mécanique (Figure 21). Ils sont ici brièvement présentés au travers de quelques exemples.

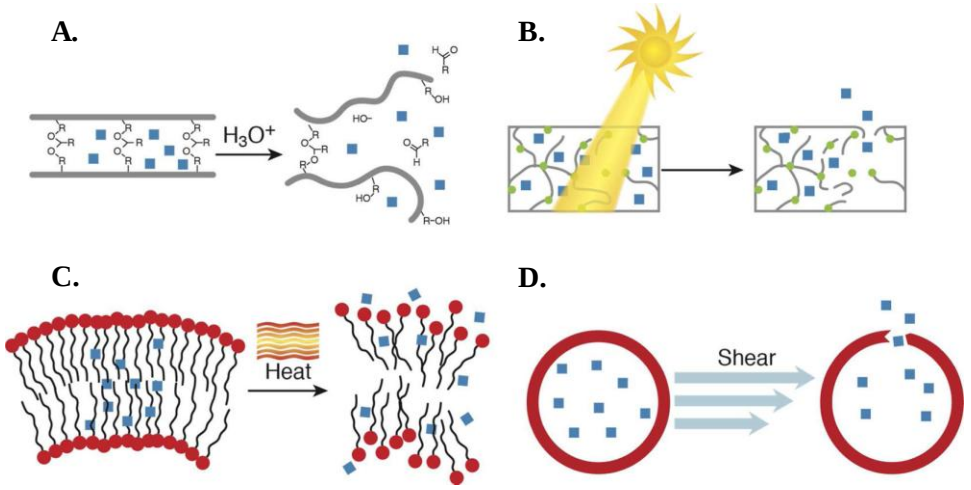


Figure 21 – Exemples de mécanismes de relargage induit par : A) un changement de pH ; B) l'exposition à la lumière ; C) une élévation de la température ; D) l'application d'un cisaillement.[86]

a. Mécanismes de relargage

i. Force mécanique

Le relargage par action mécanique est déjà très utilisé dans l'industrie, car il est simple à déclencher (rupture, cisaillement des capsules) et rapide (brutal). Il est employé notamment pour les matériaux auto-cicatrisants,[87] les textiles cosmétiques, les produits détergents ou le maquillage.

On distingue deux types de mécanismes. Le premier consiste en la rupture physique ou la déstabilisation du système encapsulant par une action mécanique. Le second s'appuie sur le déclenchement de réactions chimiques par l'apport d'énergie mécanique (*mécanochimie*), par exemple un changement de phase ou la rupture de liaisons covalentes. A titre d'exemple, des vésicules lenticulaires de phospholipides synthétiques sont stables sous conditions statiques mais se déstabilisent sous fort cisaillement et relarguent alors les principes actifs encapsulés.[88] Le développement de *mécanophores* (molécules susceptibles de réagir sous action mécanique) a suivi deux stratégies. Dans la première, ils servent à déclencher la rupture contrôlée et plus ou moins complète des chaines polymères, ce qui conduit à la déstabilisation de l'auto-assemblage (Figure 22.A). Une illustration de cette stratégie est la dépolymérisation totale sous ultrasons d'un poly(acétal) métastable (rupture hétérolytique des liaisons covalentes, Figure 22.D).[89] Dans la seconde stratégie, les mécanophores libèrent eux-mêmes

de petites molécules (Figure 22.C). Larsen *et al.* ont ainsi réalisé un matériau élastomère contenant de l'oxanorbornadiène qui élimine une molécule de furane par rétro-Diels-Alder sous pression (Figure 22.B).[90]

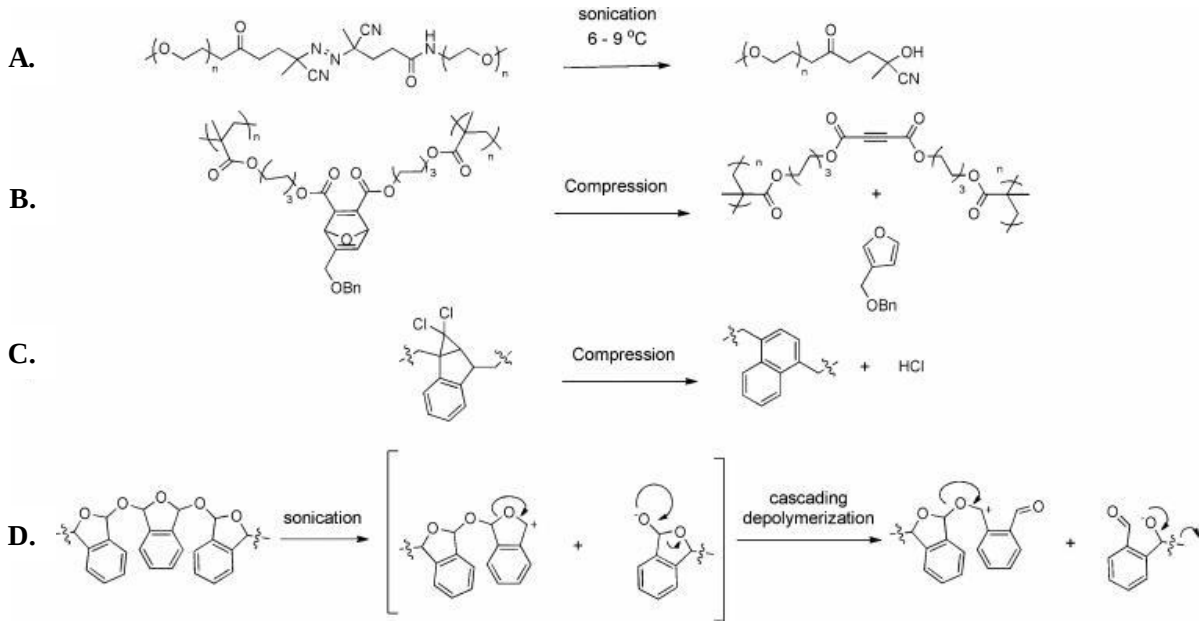


Figure 22 – A) rupture de chaines par sonication ; B) élimination d'un furane et C) de HCl par retro-Diels-Alder provoquée par compression ; D) dépolymérisation d'un poly(acétal) par sonication.[86]

Bien que prometteurs, ces systèmes à mécanophores soulèvent de nombreux défis. En effet, leur stabilité avant relargage est faible et l'énergie mécanique utile est trop élevée nécessitant des appareils spécifiques (sonicateurs, compresseurs).

ii. Lumière

L'utilisation de la lumière comme stimulus de relargage des principes actifs est une option intéressante car elle permet un relargage à la demande (mode *on/off*) contrôlé à distance (en dehors du système) et avec une grande précision spatio-temporelle.[91] Les systèmes sensibles à la lumière sont simples à manipuler, ne nécessitent pas de réactifs extérieurs et ne génèrent qu'une quantité limitée de sous-produits.[92] Ils sont déjà utilisés en industrie, notamment dans l'agriculture et les revêtements extérieurs. Les profils de relargage peuvent être ajustés avec la longueur d'onde de la lumière, son intensité et le temps d'exposition.

Les polymersomes sensibles à la lumière sont généralement obtenus par incorporation de groupes photo-sensibles au sein des chaines polymères. Les plus communs sont des dérivés d'azobenzène, de spiropyrane, de la coumarine et de l'*ortho*-nitrobenzène (ONB). La déstabilisation et la dissociation de l'édifice sont opérées selon deux mécanismes principaux : i) la modification de la structure ou des propriétés des chaines polymères, ii) la dégradation chimique des chaines polymères.

Dans le premier cas, des changements de polarité/solubilité (modification de la balance hydrophile/hydrophobe) ou de propriétés mécaniques (réticulation réversible de la membrane) s'opèrent. L'isomérisation du spiropyrane ou de l'azobenzène permet d'induire ces

changements de structures et de propriétés. En effet, sous irradiation et de façon réversible (UV et visible), l'azobenzène passe d'une configuration *trans* à une configuration *cis* (Figure 23.A). Lorsque ce groupe est présent en concentration suffisante, son changement de configuration déstabilise, voire endommage, la membrane de l'édifice.[93] Samanta *et al.* ont ainsi réalisé des vésicules dont la membrane est réticulée par des dérivés d'azobenzène. Selon les longueurs d'onde appliquées, les édifices se font et se défont totalement.[94] Le spiropyrane s'isomérise également sous UV-Visible et passe réversiblement d'une structure cyclique neutre à une structure ouverte chargée (Figure 23.B).[95] Ce processus est notamment exploité pour réguler la perméabilité des édifices.[96] Ainsi, Tong *et al.* ont induit le gonflement réversible de nanoparticules polymères pour permettre leur pénétration dans des tissus biologiques et le relargage de substances thérapeutiques, tout en conservant l'intégrité de l'édifice.[97] Ces systèmes souffrent néanmoins de *photo-fatigue* et perdent de leur efficacité avec le nombre de cycles.

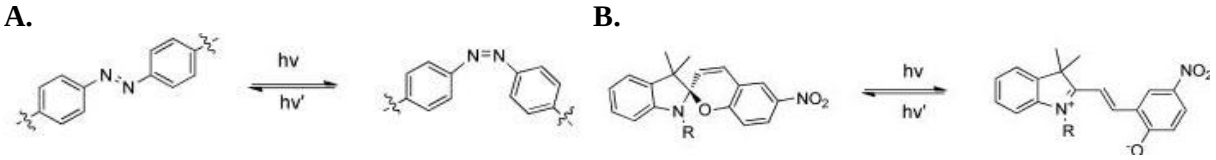


Figure 23 – Photoisomérisation de l'azobenzène (A) et du spiropyrane (B).[86]

Le second mécanisme fait intervenir des réactions de photo-clivage qui initient la fragmentation ou la dépolymérisation des chaines polymères de façon irréversible. Les systèmes les plus courants sont à base de *ortho*-nitrobenzyle, de dérivés de la coumarine ou du pyrène (Figure 24).[98–100]

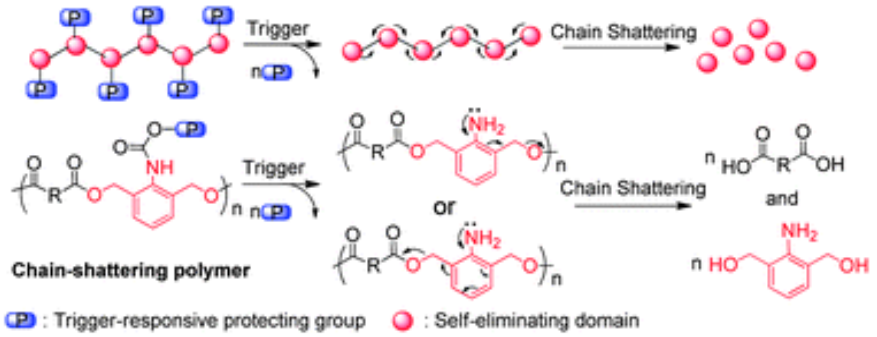


Figure 24 – Fragmentation d'une chaine de polymère induite par l'élimination du groupement photolabile O-nitrobenzyloxycarbonyle.[98]

De façon plus singulière, Wang *et al.* ont réalisé des polymersomes dont la membrane, réticulée sous UV par réaction des groupements ONB, présente des canaux hydrophiles qui la rendent perméable et permettent le relargage de composés.[101] Les dérivés de la coumarine peuvent également réagir par cyclo-additions réversibles permettant ainsi la réticulation des membranes de polymersomes ou des réactions irréversibles de photo-clivage des liaisons covalentes.[99,102]

iii. Température

Beaucoup d'applications sont exposées à des changements de température. Ce stimulus est donc largement exploité dans de très nombreux domaines de l'industrie comme la récupération assistée du pétrole, les adhésifs et revêtements, l'agroalimentaire… La vectorisation de médicaments par des systèmes thermosensibles sur des gammes restreintes de température fait l'objet d'une recherche académique intensive.

La température peut induire un changement de phase, une déstabilisation de la structure, une diffusion poussée du principe actif ou une combinaison des trois. Parmi les polymères thermosensibles les plus cités de la littérature, on retrouve les poly(acrylamides), notamment le poly(N-isopropylacrylamide) (PNIPAM).[103] Son utilisation dans les applications médicales (vectorisation, gel injectable) est fréquente car sa température critique inférieure de solubilité (*Lower Critical Solution Temperature*, LCST) est légèrement inférieure à la température corporelle (entre 30 et 35 °C en moyenne, soit 32 °C). Sous sa LCST, le PNIPAM est hydrophile et les chaines sont en expansion dans l'eau. Au-delà, il devient hydrophobe et les chaines se contractent. La stratégie la plus courante consiste à incorporer le PNIPAM dans un copolymère à blocs pour induire un changement de la polarité et/ou de la conformation spatiale de la chaine. Ainsi, la solubilité et/ou la perméabilité/porosité de l'édifice encapsulant sont modifiées, ce qui permet le relargage (Figure 25).[104,105]

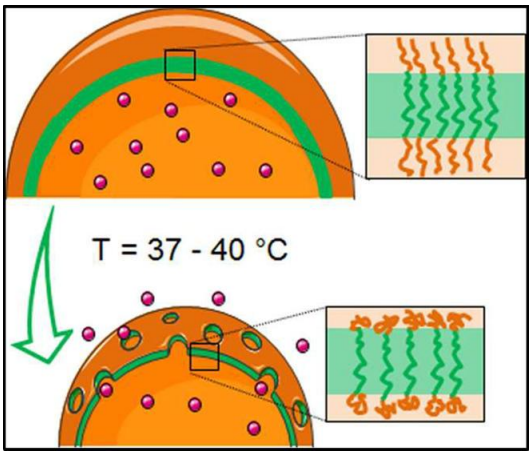


Figure 25 – Polymersomes à base de copolymères triblocs thermosensibles. Le relargage se fait par diffusion à travers les pores de la membrane créés par l'action de la température.[105]

A l'application du gradient de température, la chaleur se propage et se dissipe spontanément. Pour obtenir un relargage plus finement contrôlé, la température peut être associée à d'autres stimuli comme la lumière et le pH.[106,107] Une autre approche consiste en l'utilisation de matériaux qui, sous effet d'un stimulus externe, s'échauffent localement.[108] Ainsi, Pradhan *et al* ont synthétisé des liposomes magnétiques thermosensibles. A l'application d'un champ magnétique oscillant, les particules magnétiques convertissent l'énergie reçue en chaleur, ce qui entraîne la déstabilisation de la structure et le relargage de composés.[109] Toutefois, bien que le relargage soit plus précis et mieux contrôlé, l'utilisation à grande échelle de ces systèmes multi-sensibles est limitée par leur mise en œuvre complexe (nécessité de réactifs et de dispositifs supplémentaires).

Enfin, la température peut déclencher la modification/rupture des liaisons covalentes d'un système. Bien que des réactions réversibles thermo-activées telles que Diels-Alder soient bien connues, de tels systèmes sont encore peu exploités. Koehler *et al.* ont développé un hydrogel de PEG contenant des groupements furane-maléimide qui se fragmentent par rétro Diels-Alder entre 37 °C et 80 °C (Figure 26), et permettent le relargage des peptides liés aux cycles furanes.[110]

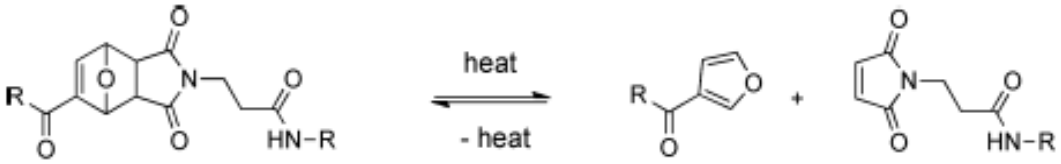


Figure 26 – Fragmentation par rétro Diels−Alder d'un composé Furane−Maléimide sous l'effet de la température.[86]

iv. pH

La variation de pH, c'est-à-dire la variation de la concentration en ions hydronium, peut déclencher une réaction chimique ou un changement des propriétés du matériau. Les polymersomes sensibles au pH sont parmi les systèmes stimulables les plus étudiés, notamment en vectorisation, différents gradients de pH étant présents dans le corps et dans la nature.[111] Aussi, les études menées sont le plus souvent limitées à des systèmes réagissant sur des gammes restreintes de pH : pH physiologiquement neutre (7.4), pH plus acides des tissus malades (6.5 – 7.2) ou des compartiments subcellulaires comme les endosomes (5 – 5.5) et les lyosomes (5 – 4.5).[84] Le pH est un déclencheur lors de la prise orale de médicaments mais reste sous-exploité dans des domaines comme les revêtements, les produits ménagers ou la cosmétique.

Les deux principales stratégies exploitant le pH comme stimulus sont i) la rupture de liaisons covalentes catalysée par des acides (ou des bases mais moins courant), et ii) les changements de polarité (hydrophile/hydrophobe) par modification des états de protonation. Dans la plupart des cas, les polymersomes sensibles au pH comportent des liens clivables par catalyse acide (acétals, esters, imines et hydrazones) ou des groupements ionisables.[112] L'hydrolyse acide des liaisons peut conduire à la fragmentation de l'édifice, à la dépolymérisation des chaines. La modification du degré de neutralisation d'un bloc conduit à un changement de sa polarité, et entraine la perméabilité ou la déstabilisation totale de la membrane de l'édifice. Wang *et al.* ont développé un monomère sensible au pH, avec une extrémité acétal benzylidène et un lien carbamate. Après polymérisation avec un macro-agent RAFT à base de PEG, le dibloc amphiphile obtenu forme des polymersomes capables d'être internalisés par des cellules cancéreuses (HeLa) où le pH acide entraine l'hydrolyse des acétals et le relargage de la substance thérapeutique (Figure 27).[113]

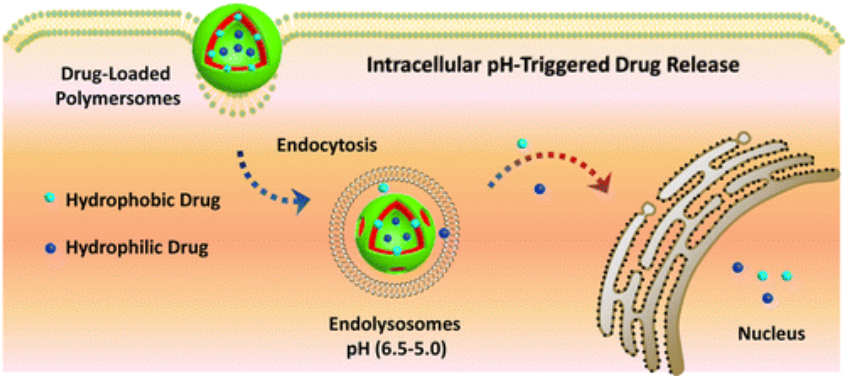


Figure 27 – Vectorisation de médicament par un polymersome sensible au pH.[113]

Dans le cas d'édifices encapsulants polyélectrolytes, les variations de pH altèrent le degré d'ionisation par protonation ou déprotonation. Il en résulte une variation des interactions électrostatiques, de la conformation et/ou de la solubilité des chaines polymères. Ces polymères ionisables possèdent typiquement des fonctions faiblement acides comme les acides carboxyliques ou sulfoniques (polyacides) et/ou des fonctions faiblement basiques (polybases). A titre d'exemple, les copolymères méthacrylates porteurs d'amines tertiaires forment des polymersomes stables à pH physiologique.[114] A pH acide (~6.4), les amines tertiaires se protonent et le bloc devient hydrophile. La perte d'amphiphilie du copolymère par changement de polarité d'un de ses blocs conduit à la déstructuration du polymersome.[115]

Conclusion

Pour conclure cette section consacrée aux stimuli, différentes approches de déstabilisation des édifices encapsulants ont été dégagées. Elles peuvent se combiner dans une approche unique consistant à utiliser des *polymères sacrificiels*, c'est-à-dire comportant des fonctions chimiques clivables par action de l'un des quatre stimuli évoqués précédemment. Ces fonctions réactives peuvent être introduites tout au long de la chaine polymère, à ses extrémités, à sa jonction avec un autre bloc de polarité différente, etc. Sous l'action du stimulus, leur rupture entrainera la déstabilisation de l'édifice, soit par fragmentation (Figure 28.B et .E) ou dépolymérisation partielle ou totale (Figure 28.A et .D) de la chaine polymère, soit par modification de sa polarité (Figure 28.C).

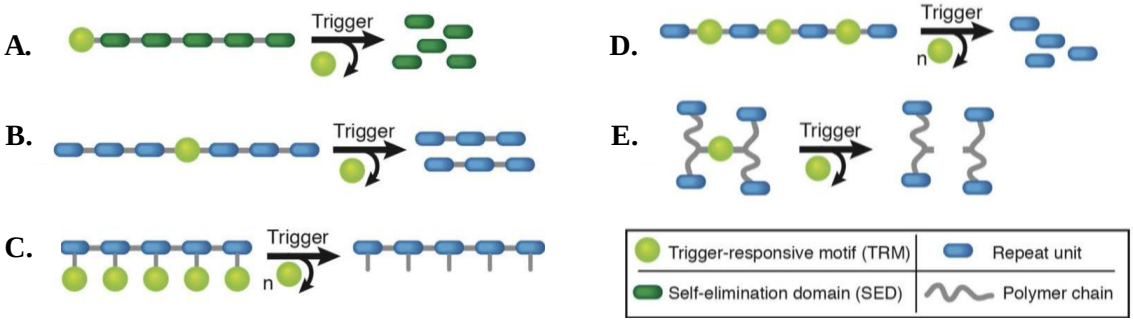


Figure 28 – Représentation schématique de polymères sacrificiels utilisés pour déstabiliser des édifices auto-assemblés : mécanismes de dégradation des chaines après application d'un stimulus.[86]

Cette stratégie permet d'envisager un contrôle plus fin du relargage. Ainsi, en changeant la perméabilité de la membrane par modification de la polarité d'un bloc, des canaux peuvent se former et permettre la diffusion lente des composés encapsulés (Figure 29.A).[116] Si la variation de polarité supprime le caractère amphiphile du copolymère, l'édifice sera totalement déstabilisé et le relargage rapide (Figure 29.B). L'édifice peut également se défaire par rupture de la jonction entre les blocs du copolymère (Figure 29.C) et de façon encore plus *explosive* par la fragmentation ou la dépolymérisation des blocs (Figure 29.D).

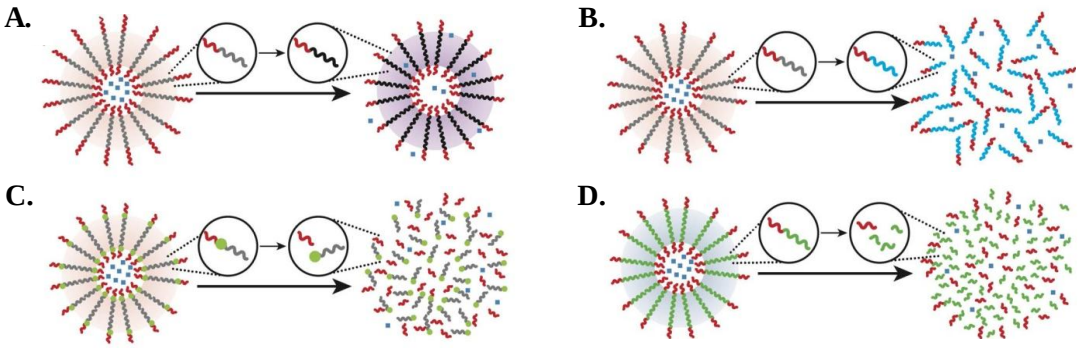


Figure 29 – Représentation de mécanismes de déstabilisation des édifices auto-assemblés soit par variation de la polarité d'un des blocs du copolymère conduisant à A) la perméabilité de la membrane ou B) à la perte de l'amphiphilie du copolymère ; soit par rupture de liaisons C) à la jonction des blocs ou D) le long des chaines.[86]

Parmi les stimuli évoqués précédemment, le pH et la température sont particulièrement intéressants pour des applications cosmétiques. Toutefois, comme nous l'avons expliqué, les édifices couramment utilisés dans ce domaine, essentiellement formés de copolymères à blocs amphiphiles covalents, sont particulièrement stables. La chimie supramoléculaire, introduite comme fonction sacrificielle à la jonction des blocs des copolymères, peut alors servir d'outil pour contrôler le relargage.

II. Encapsulation supramoléculaire déclenchable

Dans cette partie, on s'intéresse à la chimie supramoléculaire utilisée comme moteur de la déclenchabilité des systèmes. Après avoir décrit quelques exemples de la littérature en lien avec l'encapsulation, nous expliquerons les motivations qui nous ont conduit à choisir le système supramoléculaire de cette étude. Nous montrerons notamment comment son intégration à la jonction des blocs de copolymères amphiphiles peut conduire à des édifices encapsulants déclenchables de façon contrôlée.

1. Définition de la chimie supramoléculaire - amphiphiles supramoléculaires existants

La chimie supramoléculaire repose sur les interactions non covalentes telles que les liaisons hydrogène, les interactions π-π, les liaisons de coordination métal-ligand, etc. Les liaisons hydrogène sont directionnelles et peuvent être très sélectives quand les deux unités sont

complémentaires (paires *clé-serrure*). L'association par liaisons hydrogène est réversible et dynamique ce qui suppose, qu'à tout instant, il existe des paires associées et des unités libres. On comprend donc qu'une association supramoléculaire sera d'autant plus efficace qu'elle est forte (constante d'association *K*) et que son temps de vie est long (constante cinétique *k*). Dans certaines conditions, l'équilibre peut être déplacé vers la forme libre de la paire supramoléculaire : élévation de la température (cinétique) ou ajout d'une molécule compétitrice de la liaison hydrogène (thermodynamique).[117,118] La sélectivité de certaines associations supramoléculaires peut être mise à profit pour former des systèmes amphiphiles complexes et difficilement réalisables par des voies covalentes classiques. La réversibilité de ces interactions permet de contrôler l'amphiphilie des systèmes et donc leur déclenchabilité (Figure 30).

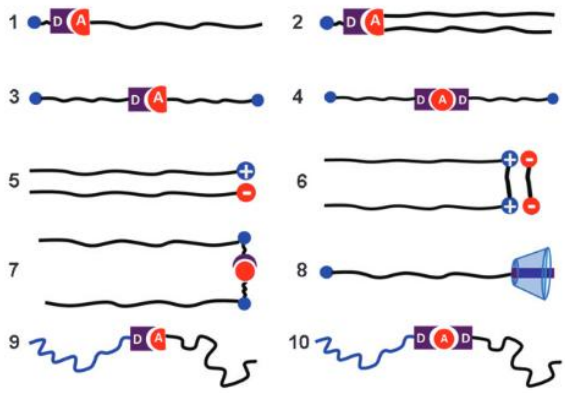


Figure 30 – Différentes topologies d'amphiphiles supramoléculaires (linéaire, ramifié, *gemini*, *clé-serrure*), avec D et A signifiant Donneur et Accepteur de liaisons hydrogène.[119]

Les amphiphiles supramoléculaires suscitent beaucoup d'intérêts et sont développés dans de nombreux domaines et applications comme la catalyse, les technologies de séparation, les applications pharmaceutiques et biomédicales, l'agroalimentaire et l'encapsulation de composés. Plus sensibles aux stimuli que les systèmes covalents correspondants, ils ouvrent la voie à de nouveaux édifices encapsulants à relargage/réponse rapide.[120,121] Il est possible de classer ces amphiphiles selon le type d'interaction impliquée, mais il est important de noter que, dans la plupart des cas, plusieurs interactions s'opèrent, avec éventuellement l'une d'elles prépondérante. Nous présenterons ci-après quelques systèmes amphiphiles supramoléculaires, avec des applications potentielles pour l'encapsulation de composés.

a. Amphiphiles formés par des molécules cages

Plusieurs *molécules cages* comprenant une cavité interne hydrophobe et une surface externe hydrophile ont été étudiées pour l'inclusion de petites molécules. Tout particulièrement, les cyclodextrines (CD) sont des oligomères cycliques à base de sucres, hydrosolubles, de taille variable et de structure interne bien définie.[122] Elles sont capables d'encapsuler des molécules hydrophobes, généralement des huiles essentielles, des flavonoïdes ou des composés aromatiques volatiles (Figure 31). Leur inclusion dans la cavité des CD est favorisée non seulement par l'établissement d'interactions intermoléculaires faibles (contribution enthalpique) mais aussi par la libération des molécules de solvant de la cavité (contribution

entropique).[123] Après inclusion/encapsulation, les formulations sont stables dans le temps et faciles à manipuler. Elles sont couramment utilisées dans les industries alimentaire, pharmaceutique et chimique (désodorisant), les nanotechnologies, la nanomédecine et la science des matériaux.[124]

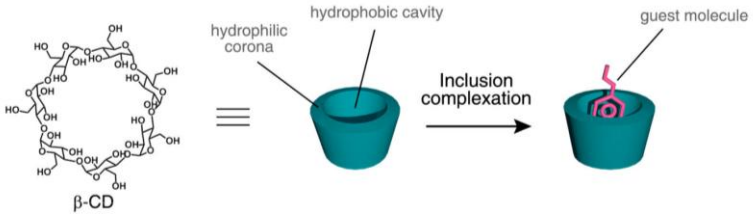


Figure 31 – Représentation schématique d'une cyclodextrine (CD).[35]

Les CD induisent l'amphiphilie de molécules aliphatiques, comme des acides ou alcools gras, en complexant leurs parties hydrophobes. La présence de groupements azobenzènes terminaux sensibles à la lumière (isomérie *trans/cis*) donne accès à des rotaxanes amphiphiles : une CD complexant la chaine polymère peut ainsi glisser le long de la chaine sous irradiation. Selon la lumière appliquée, ces amphiphiles peuvent alors s'auto-assembler pour former des vésicules et encapsuler un composé actif ou se désassembler pour le libérer (Figure 32).[125]

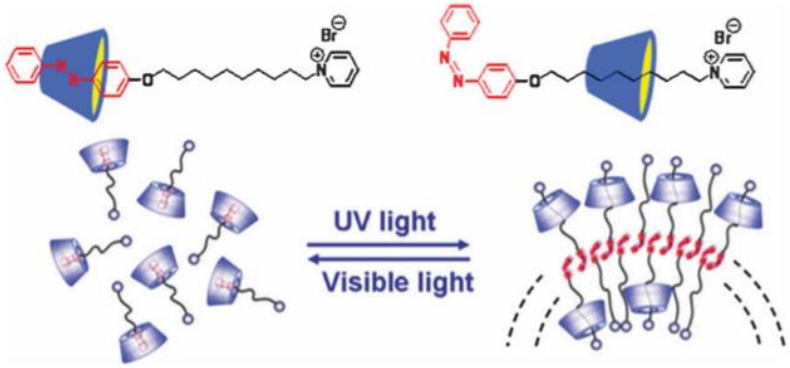


Figure 32 – Auto-organisation réversible de rotaxanes amphiphiles en vésicules déclenchée sous irradiation par l'isomérisation d'un groupe azobenzène terminal .[119]

La solubilité des CD peut être ajustée par leur modification chimique, fonctionnalisation ou greffage de chaines alkyles. De telles CD sont commercialisées sous le nom de Cavitron et Cavasol, du fournisseur Ashland. De la même façon, il est possible de former un réseau dense de CD en les greffant sur des chaines polymères et/ou en les réticulant, on parle alors de *nano-éponges CD* (Figure 33).[126] Cette immobilisation permet d'augmenter la stabilité du complexe encapsulant. Le profil de relargage des molécules piégées peut être ajusté en modifiant la structure des nano-éponges CD. Ainsi, Ranucci *et al.* ont élaboré des nano-éponges CD sensibles au pH, se gonflant pour relarguer les protéines qu'elles contiennent.[126,127]

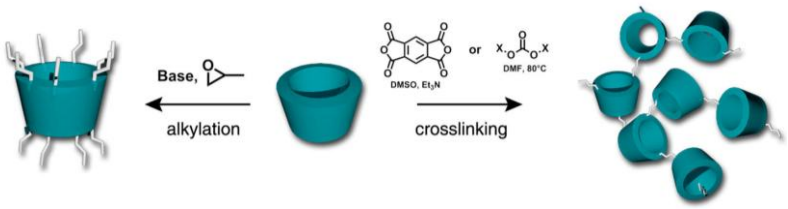


Figure 33 – CD fonctionnalisée par alkylation *et nano-éponges* CD.[35]

Les cucurbit[n]urils (CB) se distinguent des CD par leur géométrie non tronquée et un diamètre identique à leur ouverture et fermeture.[35] Ils sont utilisés pour le traitement des eaux polluées[128] (captures de colorants organiques) et la vectorisation de médicaments,[129] mais leur synthèse et leur fonctionnalisation sont encore trop coûteuses pour envisager leur utilisation industrielle.

b. Amphiphiles formés par transfert de charge et interactions redox

Les interactions *par transfert de charge* s'établissent entre une entité riche en électrons (donneur) et une entité pauvre en électrons (accepteur). Elles permettent de réaliser des structures originales, comme montré dans la Figure 34 avec l'association de deux molécules *bolaformes*. Dans l'étude de Wang *et al.*, un premier *bolaforme* (PYR) s'auto-assemble pour former des cylindres. Ajouté dans le milieu, le second *bolaforme* (DNB) s'associe au premier par transfert de charge. L'architecture du système, et donc sa courbure, sont alors modifiées, entraînant une transition irréversible de la morphologie cylindrique à une morphologie vésiculaire.[119,130]

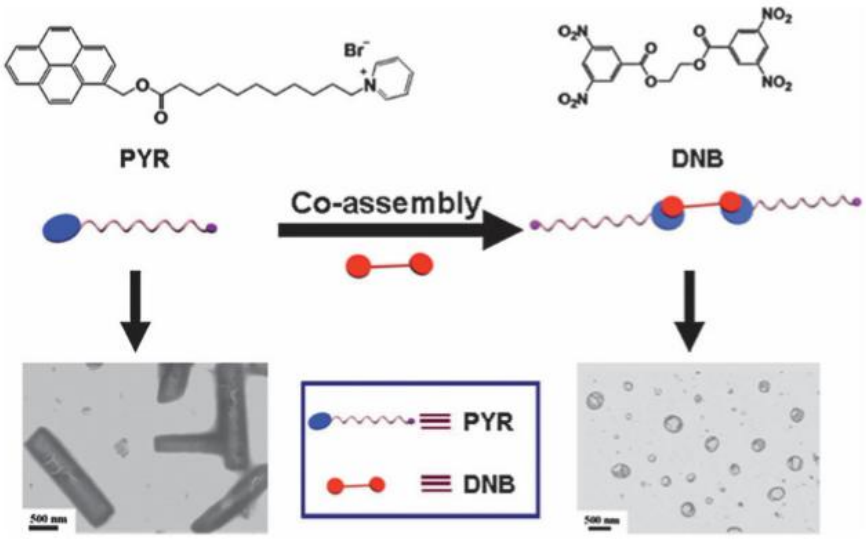


Figure 34 – Amphiphiles supramoléculaires *bolaformes*, formant des cylindres ou des vésicules.[119]

Napoli *et al.* ont exploité les interactions *redox* pouvant s'établir dans des polymersomes utilisés pour la vectorisation de médicaments.[131] L'enzyme glucose oxidase est encapsulée dans le polymersome formé par le tribloc PEG-PPS-PEG (PPS : poly(propylène sulfide)). Lorsqu'il est ajouté (stimulus), l'enzyme oxyde le glucose en H_2O_2 et gluconolactone.

Le H_2O_2 produit oxyde alors les thioéthers du bloc PPS hydrophobe en sulfoxides et sulfones (Figure 35). Le bloc devenu plus hydrophile rend le polymersome soluble.

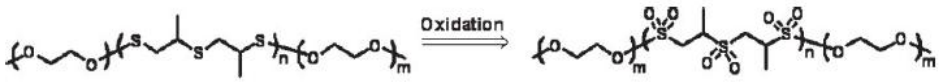


Figure 35 – Changement de la balance hydrophile-lipophile du copolymère PEG-PPS-PEG par oxydation des thioéthers du bloc PPS, entrainant la dissolution du polymersome formé par le tribloc.[132]

Il existe des systèmes plus complexes combinant des interactions de type clé-serrure et des interactions redox, construits à partir de la molécule hôte cyclobis(paraquat-*p*-phénylène) ($CBPQT^{4+}$),[133] communément appelée *blue box* (Figure 36). Cette molécule cyclique pauvre en électrons s'associe à des molécules riches en électrons pour former des complexes colorés déclenchables aussi bien en solutions organiques ($10^3 < K_{asso} < 10^5\ M^{-1}$) qu'aqueuses ($10^6\ M^{-1}$).[134] Il est également possible de l'associer à des systèmes sensibles à la température,[135] au pH [136] ou à des molécules compétitrices.[137] Le motif *blue box* est central dans la conception de structures pseudo-rotaxane, rotaxane ou caténane, et de matériaux polymères multi-stimulables.[138,139] Sa synthèse à des échelles raisonnables étant aisée, il est actuellement l'un des systèmes supramoléculaires les plus étudiés.

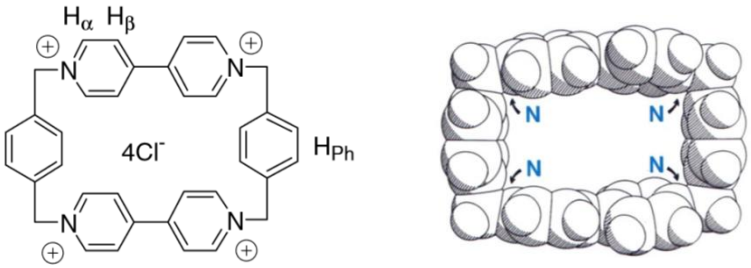


Figure 36 – Représentation de la *blue box*.[133,134]

Le groupe de Woisel a ainsi mené plusieurs études pour former des hydrogels,[138,140] des surfaces stimulables, des capteurs supramoléculaires colorés,[139] ainsi que des copolymères amphiphiles supramoléculaires multi-stimulables[141] s'organisant en micelles, cylindres ou vésicules.[142–144] La micellisation a notamment été mise en évidence par DLS, cryo-TEM et AFM.[144]

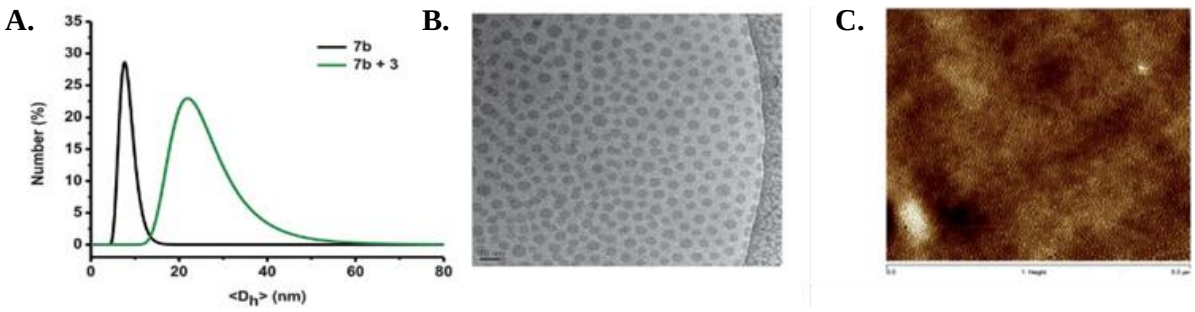


Figure 37 – Analyse et observations de micelles de copolymères amphiphiles formées par interactions redox (*blue box*) par A) DLS (trait noir : bloc polymère unique, D_h = 6 nm ; trait vert : copolymère dibloc formant des sphères de 24 nm), B) cliché de cryo-TEM et C) image AFM.[144]

c. Amphiphiles formés par liaisons hydrogène

Les interactions hydrogène sélectives de type *clé-serrure* sont les interactions supramoléculaires les plus utilisées, leur sélectivité et leur force étant largement modulables. Ces interactions sont sensibles au pH, à la température et à la présence de molécules compétitrices des liaisons hydrogène. Pour former un copolymère amphiphile supramoléculaire, la stratégie consiste à utiliser des unités capables de s'associer par plusieurs liaisons hydrogène parallèles, garantissant ainsi une interaction hautement sélective et forte. On citera à titre d'exemple la paire supramoléculaire uréido-pyrimidone/naphthyridine (UPy/NaPy) associée *via* quatre liaisons hydrogène parallèles et dont la constante d'association avoisine 6.10^6 M^{-1}.[145]

En 1990, Lehn *et al*. ont synthétisé les premiers polymères supramoléculaires à partir d'un mélange de petites molécules, des diamidopyridines difonctionnelles et des dérivés d'uracile. Les motifs pyridine et uracile s'associent par trois liaisons hydrogène et forment des chaines linéaires. Contrairement aux monomères, le polymère possède des propriétés de cristal liquide.[146] Les premiers amphiphiles ont été réalisés par Kunitake et Kimizuka en 1993, par interactions complémentaires entre mélamines substituées et dérivés d'acide isocyanurique.[132,147] Dispersés dans l'eau, ces amphiphiles supramoléculaires forment des membranes bicouches très ordonnées (Figure 38).

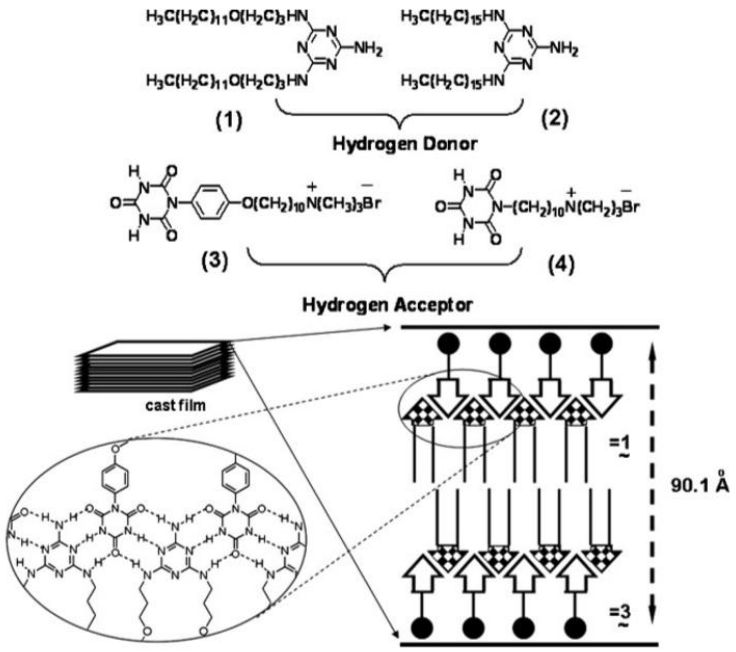


Figure 38 – Amphiphiles supramoléculaires formés par interactions hydrogène et s'organisant en bicouche.[132]

En modifiant la longueur et/ou la structure des chaines alkyles, différentes morphologies sont obtenues (disques, demi-lune, cylindres…),[148] comme observé avec des homologues amphiphiles covalents. Enfin, la force des interactions supramoléculaires étant sensible à la température, l'organisation en bicouche peut être formée ou détruite de façon réversible (transition ordre-désordre).[132]

Pour les copolymères, les unités supramoléculaires peuvent être introduites au milieu ou aux extrémités d'un bloc (mono ou difonctionnel), ou en motifs pendants le long de la chaine. Parmi les paires les plus utilisées, on retrouve celles des bases azotées telles que thymine ou uracile/adénine[149] et thymine/diaminotriazine (Thy/DAT).[150]

Wang *et al.* ont ainsi greffé des unités uracile sur des chaines PEG et des unités adénine sur des chaines PCL.[151] Par association des motifs uracile et adénine par liaisons hydrogène, il se forme des copolymères diblocs amphiphiles pouvant s'auto-organiser en micelles dans l'eau, et encapsuler une substance anti-cancer (doxorubicine, DOX). A pH acide (~ 5), l'association uracile/adénine est rompue : le copolymère dibloc se réduit à ses blocs élémentaires. La disparition de l'amphiphilie conduit à la déstabilisation des micelles et au relargage rapide de la DOX (Figure 39).

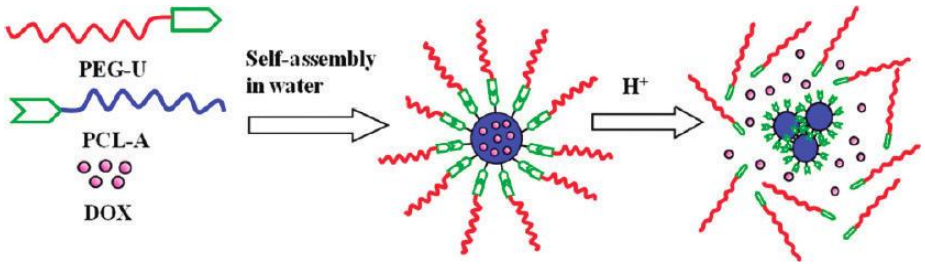


Figure 39 – Auto-assemblage dans l'eau du copolymère supramoléculaire PEG-U/A-PCL et relargage induit par la déstabilisation des micelles provoquée par la rupture de la jonction supramoléculaire entre les blocs par augmentation du pH.[151]

Kuang *et al.* ont synthétisé des copolymères triblocs de PEG difonctionnels greffés thymine et de dextranes acétalisées monofonctionnels greffés adénine.[152] Dans l'eau, ils forment des micelles *fleurs*, doublement sensibles au pH, ce qui permet un relargage en deux temps de la substance encapsulée (DOX) (Figure 40). En effet, à pH 5, seules les interactions thymine/adénine sont rompues, et les chaines dextranes acétalisées restent agrégées dans le cœur hydrophobe. Le relargage de la DOX est lent et diffus. Le relargage total n'est possible que dans le temps, lorsque l'acidité du milieu est suffisamment importante pour catalyser l'hydrolyse des fonctions acétals des chaines dextranes et les rendre ainsi hydrophiles.

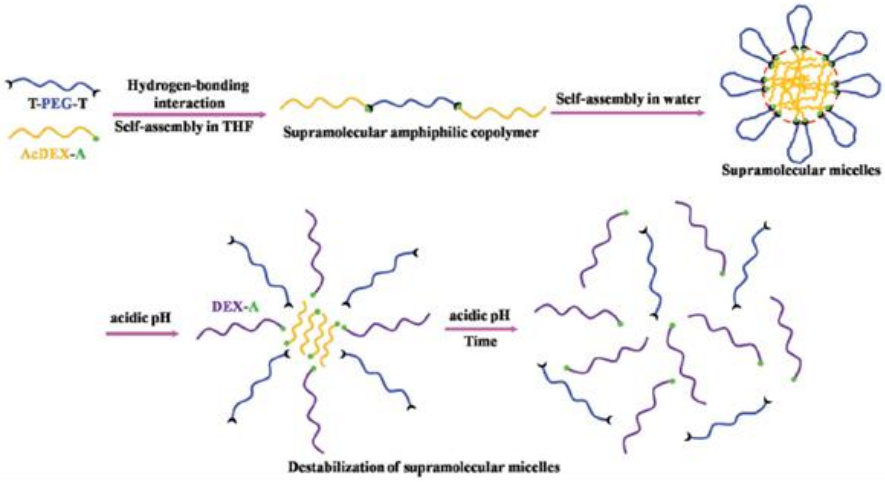


Figure 40 – Formation et déstabilisation de micelles supramoléculaires de PEG/dextranes acétalisées. La déstabilisation intervient à deux pH différents : rupture de la jonction supramoléculaire Thy/Ade et modification de la polarité du bloc dextrane par hydrolyse des fonctions acétals latérales.[152]

La paire Thy/DAT est particulièrement bien connue dans notre laboratoire. Cortese *et al.* ont mis en évidence l'association et l'organisation, en masse et en solutions organiques, d'homopolymères PPG mono ou difonctionnalisés par des unités Thy et DAT. Notamment, l'organisation lamellaire des systèmes greffés thymine est pilotée par la cristallisation des thymines et est perdue à leur fusion (transition ordre-désordre).[153,154]

Prevoteau *et al.* ont exploité la sélectivité de l'association Thy/DAT pour contrôler la dispersion et l'agrégation de nanotubes de carbone en solutions organiques et aqueuses. Les unités thymines greffées à la surface des nanotubes s'associent sélectivement aux unités DAT terminales de chaines polymères monofonctionnelles, ce qui résulte, en bon solvant des chaines, en la stabilisation stérique des nanotubes. Par ajout d'un compétiteur de liaison hydrogène (DMSO par exemple), l'interaction supramoléculaire est rompue et les chaines polymères sont détachées de la surface des nanotubes. La stabilisation stérique disparait et les nanotubes s'agrègent (Figure 41).[155]

Plus récemment, Lacombe *et al.* ont mis en évidence l'organisation lamellaire de différentes chaines polymères greffées par ces unités (PDMS, PE, PEG, PPG) et ont montré que la ségrégation entre les chaines et les unités supramoléculaires est nécessaire pour conduire à des structures organisées, fixées ensuite par la cristallisation des unités ou des chaines (PE).[156] Ils ont également réalisé les premiers copolymères PE-*supra*-PDMS et montré qu'au-delà de la fusion des chaines de PE, ils obéissent aux mêmes critères que les copolymères classiques : leur morphologie dépend de la fraction volumique des blocs et du paramètre χN. Toutefois, ces paramètres doivent être adapté à la force de la jonction supramoléculaire.[157]

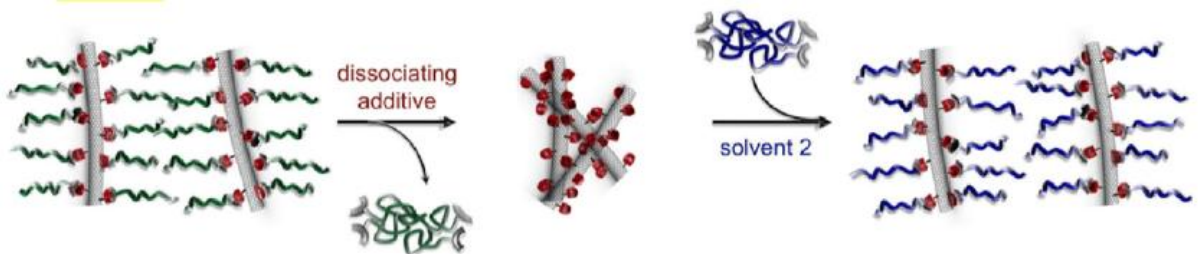


Figure 41 – Dispersion et recyclage de nanotubes de carbone greffés en surface par des unités Thymine, en présence de chaines polymères portant une unité DAT à l'une de leurs extrémités.[155]

2. Copolymères supramoléculaires – Concept de la thèse

Notre objectif est de former des polymersomes (ou d'autres formes d'édifices) stimulables. Il est donc nécessaire d'avoir des copolymères à blocs amphiphiles capables de s'auto-organiser en solution, et porteurs d'une fonction stimulable. Une interaction supramoléculaire sélective obéit à ces deux critères : d'une part, elle sert à lier des blocs incompatibles pour former un copolymère amphiphile capable, dans un solvant sélectif, de s'auto-assembler pour encapsuler un principe actif. D'autre part, elle peut être rompue, réduisant le copolymère à ses blocs élémentaires. L'amphiphilie du système étant perdue, l'auto-assemblage se déstabilise et conduit au relargage du principe actif.

Notre démarche consiste donc à synthétiser des copolymères amphiphiles supramoléculaires (diblocs et triblocs) en greffant des unités associatives sélectives aux extrémités de blocs polymères hydrophiles et hydrophobes commerciaux. Les jonctions supramoléculaires pourront ensuite être rompues par des stimuli extérieurs comme la température, le pH ou l'ajout d'un compétiteur de liaisons hydrogène. Les systèmes formés seront donc réversibles, avec la capacité de s'auto-assembler dans un solvant sélectif et de se désorganiser sous l'effet d'un stimulus.

Notre choix des blocs supramoléculaires s'inspire des copolymères triblocs amphiphiles, Pluronics® ou Synperonic®, constitués de blocs poly(éthylène glycol) hydrophiles (PEG) et de blocs poly(propylène glycol) hydrophobes (PPG).[158–160] Ces copolymères, très utilisés en cosmétique, en médecine et dans l'agroalimentaire, nous serviront de références covalentes. Par ailleurs, dans le domaine cosmétique, ils obéissent à la réglementation REACH qui régit par des lois strictes l'origine et l'innocuité des matières premières. Le choix des blocs PEG et PPG nous permet donc d'espérer pouvoir nous affranchir *a priori* d'une homologation.

A partir d'une bibliothèque de blocs PEG et PPG mono et difonctionnalisés par des unités Thy ou DAT, nous pouvons réaliser des diblocs, des triblocs directs (PEG-PPG-PEG) ou inverses (PPG-PEG-PPG) et des multiblocs (Figure 42). La masse molaire des blocs a été choisie pour être comparable à celle des blocs de copolymères spécialement destinés à la cosmétique, les Pluracare®.

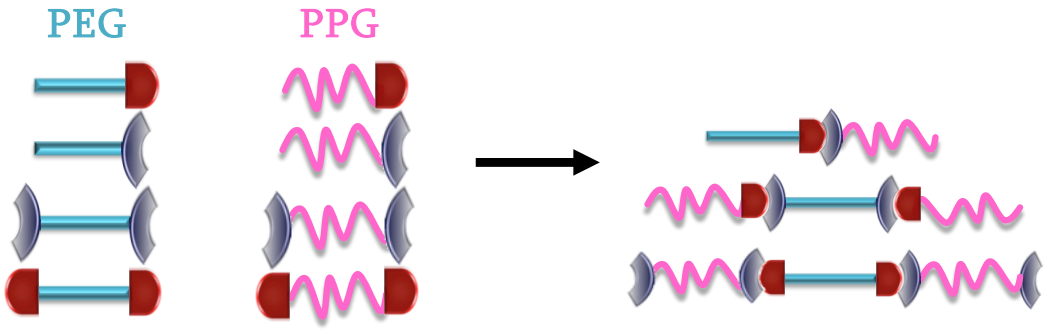


Figure 42 – Représentation schématique des copolymères à blocs amphiphiles supramoléculaires de l'étude.

Pour lier les blocs et former les copolymères amphiphiles supramoléculaires, notre choix se porte sur la paire Thymine/Diaminotriazine, qui remplit les critères de sélectivité, de force et de réversibilité souhaitables pour la jonction supramoléculaire (Thy/DAT, Figure 43 ; Chap.2)

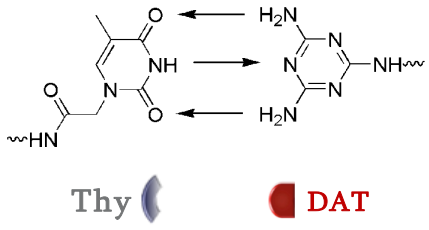


Figure 43 – Unités supramoléculaires thymine (Thy) et diaminotriazine (DAT) s'associant sélectivement par 3 liaisons hydrogène.

Par ailleurs, bien que protiques et donc capables de former des liaisons hydrogène avec l'eau, ces unités ne sont pas solubles dans l'eau. De plus, la paire associée étant globalement peu polaire et hydrophobe, sa stabilité dans l'eau semble possible.

Enfin, la déstabilisation des édifices auto-assemblés reposant sur la rupture de la jonction supramoléculaire Thy/DAT, le profil de relargage peut être variable en fonction du stimulus et de son intensité. Par exemple, une élévation rapide et importante de la température rompra toutes les interactions en même temps, et provoquera donc un relargage rapide et *explosif*. Pour un relargage contrôlé, diffus et/ou lent, on peut imaginer un processus en deux temps (Figure 44). En premier lieu, un stimulus permet de créer des trous/canaux dans la membrane bicouche des édifices supramoléculaires et ainsi la diffusion lente du principe actif. En second lieu, l'augmentation de l'intensité du premier stimulus ou l'application d'un second permet d'achever la déstabilisation de l'édifice.

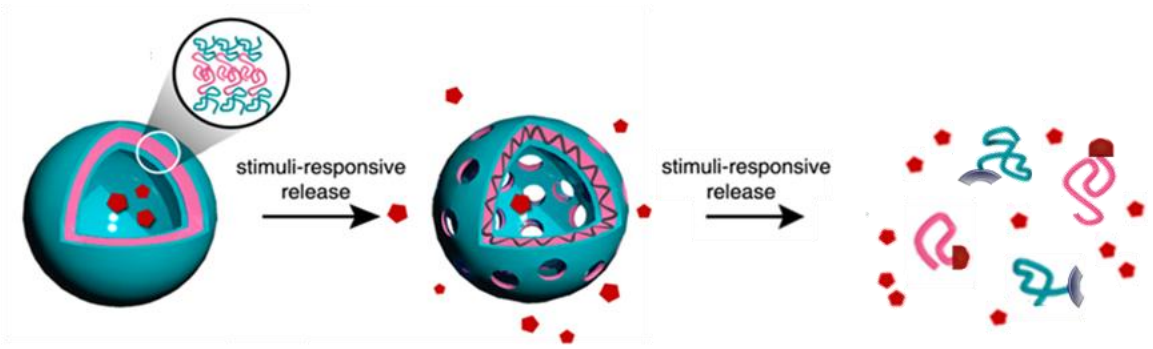


Figure 44 – Principe de relargage contrôlé par les polymersomes supramoléculaires, adaptée de la référence.[35]

Conclusion

L'encapsulation et le relargage contrôlé de principes actifs présentent de nombreux avantages, notamment leur protection vis-à-vis de l'extérieur (réactifs de la formulation, conditions de stockage, …) et l'augmentation de l'efficacité du produit final. Dans ce chapitre, nous avons présenté différents blocs de construction, des plus simples aux plus sophistiqués, permettant l'élaboration d'édifices encapsulants utilisables notamment en cosmétique. De toutes les solutions envisageables, celles des copolymères à blocs amphiphiles est la plus satisfaisante puisqu'elle permet d'obtenir, même à grande échelle, des édifices stables et robustes, capables d'encapsuler une quantité importante de principe actif (voire différents principes actifs), et pouvant être fonctionnalisés pour devenir sensibles aux stimuli tels que la lumière, le pH ou la température.

Nous souhaitons exploiter la capacité avérée des copolymères amphiphiles à blocs PEG et PPG à s'auto-organiser en solution aqueuse. Pour les rendre stimulables, des motifs supramoléculaires, Thymine (Thy) et Diaminotriazine (DAT), sont greffés aux extrémités de chaque bloc (mono ou difonctionnel). Ainsi, par association sélective Thy/DAT, les blocs se lient et forment un copolymère amphiphile supramoléculaire, a priori capable de s'auto-assembler. Par action d'un stimulus, typiquement la température ou le pH, la rupture de la jonction Thy/DAT du copolymère conduit à la déstabilisation de l'édifice et donc au relargage. Le profil de relargage peut être contrôlé par application soit de stimuli différents soit d'un gradient de stimulus.

Dans le chapitre suivant, nous décrivons la synthèse et la caractérisation des blocs supramoléculaires PEG et PPG fonctionnalisés par les unités Thy et DAT. Les différents copolymères supramoléculaires obtenus à partir de ces blocs élémentaires sont ensuite étudiés : détermination des constantes d'association Thy/DAT en solutions organiques et propriétés thermiques des copolymères.

Références

(1) Quellet, C. Microencapsulation Des Parfums En Cosmétique. *Tech. Ing.* **2016**, *J2216 V1*.
(2) Singh, M. N.; Hemant, K. S. Y.; Ram, M.; Shivakumar, H. G. Microencapsulation: A Promising Technique for Controlled Drug Delivery. *Res. Pharm. Sci.* **2010**, *5* (2), 65–77.
(3) Benoît, J.-P.; Richard, J.; Venir-Julienne, M.-C. Microencapsulation. **2013**, *J2210 V2*.
(4) Paulus, W. *Microbicides for the Protection of Materials: A Handbook*; Springer Netherlands, 1993.
(5) Ho, L. T. T. *Formulating Detergents and Personal Care Products a [Complete] Guide to Product Development*; AOCS Press: Champaign, Ill., 2000.
(6) *Principles of Polymer Science and Technology in Cosmetics and Personal Care*; Goddard, E. D., Gruber, J. V., Eds.; Cosmetic science and technology; Marcel Dekker: New York, 1999.
(7) Vandegaer, J. E. *Microencapsulation: Processes and Applications*; Springer US, 1974.
(8) *Surfactants and Polymers in Aqueous Solution*, 2nd ed.; Holmberg, K., Ed.; John Wiley & Sons: Chichester, West Sussex, England ; Hoboken, NJ, 2003.
(9) Rosen, M. J. Surfactants And Interfacial Phenomena. 15.
(10) Soussan, E.; Cassel, S.; Blanzat, M.; Rico-Lattes, I. Drug Delivery by Soft Matter: Matrix and Vesicular Carriers. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48* (2), 274–288. https://doi.org/10.1002/anie.200802453.
(11) Menger, F. M.; Binder, W. H.; Keiper, J. S. Cationic Surfactants with Counterions of Glucuronate Glycosides. *Langmuir* **1997**, *13* (12), 3247–3250. https://doi.org/10.1021/la970111k.
(12) Fukuda, H.; Kawata, K.; Okuda, H.; Regen, S. L. Bilayer-Forming Ion Pair Amphiphiles from Single-Chain Surfactants. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112* (4), 1635–1637. https://doi.org/10.1021/ja00160a057.
(13) Fischer, A.; Hebrant, M.; Tondre, C. Glucose Encapsulation in Catanionic Vesicles and Kinetic Study of the Entrapment/Release Processes in the Sodium Dodecyl Benzene Sulfonate/Cetyltrimethylammonium Tosylate/Water System. *J. Colloid Interface Sci.* **2002**, *248* (1), 163–168. https://doi.org/10.1006/jcis.2001.8187.
(14) Kaler, E. W.; Murthy, A. K.; Rodriguez, B. E.; Zasadzinski, J. A. Spontaneous Vesicle Formation in Aqueous Mixtures of Single-Tailed Surfactants. *Science* **1989**, *245* (4924), 1371–1374. https://doi.org/10.1126/science.2781283.
(15) Zemb, T.; Dubois, M.; Demé, B.; Gulik-Krzywicki, T. Self-Assembly of Flat Nanodiscs in Salt-Free Catanionic Surfactant Solutions. *Science* **1999**, *283* (5403), 816–819. https://doi.org/10.1126/science.283.5403.816.
(16) Fuhrhop, J.-H.; Wang, T. Bolaamphiphiles. *Chem. Rev.* **2004**, *104* (6), 2901–2938. https://doi.org/10.1021/cr030602b.
(17) Menger, F. M.; Littau, C. A. Gemini-Surfactants: Synthesis and Properties. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113* (4), 1451–1452. https://doi.org/10.1021/ja00004a077.
(18) Israelachvili, J. N.; Mitchell, D. J.; Ninham, B. W. Theory of Self-Assembly of Hydrocarbon Amphiphiles into Micelles and Bilayers. *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 2 Mol. Chem. Phys.* **1976**, *72* (0), 1525–1568. https://doi.org/10.1039/F29767201525.
(19) Shimizu, T.; Masuda, M.; Minamikawa, H. Supramolecular Nanotube Architectures Based on Amphiphilic Molecules. *Chem. Rev.* **2005**, *105* (4), 1401–1444. https://doi.org/10.1021/cr030072j.

(20) Israelachvili, J. The Science and Applications of Emulsions — an Overview. *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.* **1994**, *91*, 1–8. https://doi.org/10.1016/0927-7757(94)02743-9.
(21) Nagarajan, R. Molecular Packing Parameter and Surfactant Self-Assembly: The Neglected Role of the Surfactant Tail. *Langmuir* **2002**, *18* (1), 31–38. https://doi.org/10.1021/la010831y.
(22) Vanlerberghe, G.; Handjani-Vila, R.; Berthelot, C.; Sebag, H. Synthèse et Activité de Surface Comparée d'une Série de Nouveaux Dérivés Non-Ioniques. *Proc 6th Int Congr. Surf. Act. Zurich 139* **1972**.
(23) Handjani-Vila, R. M.; Ribier, A.; Rondot, B.; Vanlerberghie, G. Dispersions of Lamellar Phases of Non-Ionic Lipids in Cosmetic Products. *Int. J. Cosmet. Sci.* **1979**, *1* (5), 303–314. https://doi.org/10.1111/j.1467-2494.1979.tb00224.x.
(24) Nuraje, N.; Bai, H.; Su, K. Bolaamphiphilic Molecules: Assembly and Applications. *Prog. Polym. Sci.* **2013**, *38* (2), 302–343. https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2012.09.003.
(25) Okahata, Y.; Kunitake, T. Formation of Stable Monolayer Membranes and Related Structures in Dilute Aqueous Solution from Two-Headed Ammonium Amphiphiles. *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101* (18), 5231–5234. https://doi.org/10.1021/ja00512a020.
(26) Uchegbu, I. F.; Vyas, S. P. Non-Ionic Surfactant Based Vesicles (Niosomes) in Drug Delivery. *Int. J. Pharm.* **1998**, *172* (1), 33–70. https://doi.org/10.1016/S0378-5173(98)00169-0.
(27) Khoee, S.; Yaghoobian, M. Chapter 6 - Niosomes: A Novel Approach in Modern Drug Delivery Systems. In *Nanostructures for Drug Delivery*; Andronescu, E., Grumezescu, A. M., Eds.; Micro and Nano Technologies; Elsevier, 2017; pp 207–237. https://doi.org/10.1016/B978-0-323-46143-6.00006-3.
(28) Hood, E.; Gonzalez, M.; Plaas, A.; Strom, J.; VanAuker, M. Immuno-Targeting of Nonionic Surfactant Vesicles to Inflammation. *Int. J. Pharm.* **2007**, *339* (1), 222–230. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2006.12.048.
(29) Sharma, V.; Anandhakumar, S.; Sasidharan, M. Self-Degrading Niosomes for Encapsulation of Hydrophilic and Hydrophobic Drugs: An Efficient Carrier for Cancer Multi-Drug Delivery. *Mater. Sci. Eng. C* **2015**, *56*, 393–400. https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.06.049.
(30) Dhawan, V. V.; Nagarsenker, M. S. Catanionic Systems in Nanotherapeutics – Biophysical Aspects and Novel Trends in Drug Delivery Applications. *J. Controlled Release* **2017**, *266*, 331–345. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2017.09.040.
(31) Matsui, H.; Holtman, C. Organic Nanotube Bridge Fabrication by Controlling Molecular Self-Assembly Processes between Spherical and Tubular Formations. *Nano Lett.* **2002**, *2* (8), 887–889. https://doi.org/10.1021/nl025606v.
(32) Ghosh, R.; Dey, J. An Unconventional Zwitterionic Bolaamphiphile Containing PEG as Spacer Chain: Surface Tension and Self-Assembly Behavior. *Langmuir* **2017**, *33* (31), 7741–7750. https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.7b01877.
(33) Bangham, A. D.; Standish, M. M.; Watkins, J. C. Diffusion of Univalent Ions across the Lamellae of Swollen Phospholipids. *J. Mol. Biol.* **1965**, *13* (1), 238-IN27. https://doi.org/10.1016/S0022-2836(65)80093-6.
(34) Jesorka, A.; Orwar, O. Liposomes: Technologies and Analytical Applications. *Annu. Rev. Anal. Chem. Palo Alto Calif* **2008**, *1*, 801–832. https://doi.org/10.1146/annurev.anchem.1.031207.112747.

(35) Andrade, B.; Song, Z.; Li, J.; Zimmerman, S. C.; Cheng, J.; Moore, J. S.; Harris, K.; Katz, J. S. New Frontiers for Encapsulation in the Chemical Industry. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2015**, *7* (12), 6359–6368. https://doi.org/10.1021/acsami.5b00484.

(36) Tsai, F.-C.; Stuhrmann, B.; Koenderink, G. H. Encapsulation of Active Cytoskeletal Protein Networks in Cell-Sized Liposomes. *Langmuir* **2011**, *27* (16), 10061–10071. https://doi.org/10.1021/la201604z.

(37) Akbarzadeh, A.; Rezaei-Sadabady, R.; Davaran, S.; Joo, S. W.; Zarghami, N.; Hanifehpour, Y.; Samiei, M.; Kouhi, M.; Nejati-Koshki, K. Liposome: Classification, Preparation, and Applications. *Nanoscale Res. Lett.* **2013**, *8* (1), 102. https://doi.org/10.1186/1556-276X-8-102.

(38) Colletier, J.-P.; Chaize, B.; Winterhalter, M.; Fournier, D. Protein Encapsulation in Liposomes: Efficiency Depends on Interactions between Protein and Phospholipid Bilayer. *BMC Biotechnol.* **2002**, *2*, 9.

(39) Abraham, S. A.; McKenzie, C.; Masin, D.; Ng, R.; Harasym, T. O.; Mayer, L. D.; Bally, M. B. In Vitro and in Vivo Characterization of Doxorubicin and Vincristine Coencapsulated within Liposomes through Use of Transition Metal Ion Complexation and PH Gradient Loading. *Clin. Cancer Res.* **2004**, *10* (2), 728–738. https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-1131-03.

(40) Drummond, D. C.; Zignani, M.; Leroux, J. Current Status of PH-Sensitive Liposomes in Drug Delivery. *Prog. Lipid Res.* **2000**, *39* (5), 409–460.

(41) Zhang, J. X.; Zalipsky, S.; Mullah, N.; Pechar, M.; Allen, T. M. Pharmaco Attributes of Dioleoylphosphatidylethanolamine/Cholesterylhemisuccinate Liposomes Containing Different Types of Cleavable Lipopolymers. *Pharmacol. Res.* **2004**, *49* (2), 185–198.

(42) Needham, D.; Dewhirst, M. W. The Development and Testing of a New Temperature-Sensitive Drug Delivery System for the Treatment of Solid Tumors. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2001**, *53* (3), 285–305.

(43) Zurbriggen, R.; Novak-Hofer, I.; Seelig, A.; Glück, R. IRIV-Adjuvanted Hepatitis A Vaccine: In Vivo Absorption and Biophysical Characterization. *Prog. Lipid Res.* **2000**, *39* (1), 3–18. https://doi.org/10.1016/S0163-7827(99)00017-X.

(44) Chen, Y.; Minh, L. V.; Liu, J.; Angelov, B.; Drechsler, M.; Garamus, V. M.; Willumeit-Römer, R.; Zou, A. Baicalin Loaded in Folate-PEG Modified Liposomes for Enhanced Stability and Tumor Targeting. *Colloids Surf. B Biointerfaces* **2016**, *140*, 74–82. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2015.11.018.

(45) Kulkarni, V. S. 13 - Liposomes in Personal Care Products. In *Delivery System Handbook for Personal Care and Cosmetic Products*; Rosen, M. R., Ed.; Personal Care & Cosmetic Technology; William Andrew Publishing: Norwich, NY, 2005; pp 285–302. https://doi.org/10.1016/B978-081551504-3.50018-3.

(46) Safra, T.; Muggia, F.; Jeffers, S.; Tsao-Wei, D. D.; Groshen, S.; Lyass, O.; Henderson, R.; Berry, G.; Gabizon, A. Pegylated Liposomal Doxorubicin (Doxil): Reduced Clinical Cardiotoxicity in Patients Reaching or Exceeding Cumulative Doses of 500 Mg/M2. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* **2000**, *11* (8), 1029–1033.

(47) Kataoka, K. Design of Nanoscopic Vehicles for Drug Targeting Based on Micellization of Amphiphiuc Block Copolymers. *J. Macromol. Sci. Part A* **1994**, *31* (11), 1759–1769. https://doi.org/10.1080/10601329408545880.

(48) Kwon, G. S.; Kataoka, K. Block Copolymer Micelles as Long-Circulating Drug Vehicles. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **1995**, *16* (2), 295–309. https://doi.org/10.1016/0169-409X(95)00031-2.

(49) Francis, M. F.; Cristea, M.; Winnik, F. M. Polymeric Micelles for Oral Drug Delivery: Why and How. *Pure Appl. Chem.* **2004**, *76* (7–8), 1321–1335. https://doi.org/10.1351/pac200476071321.
(50) Gosecki, M.; Gadzinowski, M.; Gosecka, M.; Basinska, T.; Slomkowski, S. Polyglycidol, Its Derivatives, and Polyglycidol-Containing Copolymers—Synthesis and Medical Applications. *Polymers* **2016**, *8* (6), 227. https://doi.org/10.3390/polym8060227.
(51) Katz, J. S.; Zhong, S.; Ricart, B. G.; Pochan, D. J.; Hammer, D. A.; Burdick, J. A. Modular Synthesis of Biodegradable Diblock Copolymers for Designing Functional Polymersomes. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132* (11), 3654–3655. https://doi.org/10.1021/ja910606y.
(52) Zeng, Y.; Pitt, W. G. A Polymeric Micelle System with a Hydrolysable Segment for Drug Delivery. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **2006**, *17* (5), 591–604. https://doi.org/10.1163/156856206776986297.
(53) Jagur-Grodzinski, J. *Living and Controlled Polymerization: Synthesis, Characterization, and Properties of the Respective Polymers and Copolymers*; Nova Publishers, 2006.
(54) *Progress in Controlled Radical Polymerization: Mechanisms and Techniques*; Matyjaszewski, K., Sumerlin, B. S., Tsarevsky, N. V., Eds.; ACS Symposium Series; American Chemical Society: Washington, DC, 2012; Vol. 1100. https://doi.org/10.1021/bk-2012-1100.
(55) Verduzco, R.; Li, X.; Pesek, S. L.; Stein, G. E. Structure, Function, Self-Assembly, and Applications of Bottlebrush Copolymers. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44* (8), 2405–2420. https://doi.org/10.1039/C4CS00329B.
(56) Burts, A. O.; Liao, L.; Lu, Y. Y.; Tirrell, D. A.; Johnson, J. A. Brush-First and Click: Efficient Synthesis of Nanoparticles That Degrade and Release Doxorubicin in Response to Light. *Photochem. Photobiol.* **2014**, *90*, 380–385.
(57) Fatemeh Bahadori, A. D. Synthesis and Characterization of Biodegradable Amphiphilic Star and Y-Shaped Block Copolymers as Potential Carriers for Vinorelbine. *Polymers* **2014**, *6* (1), 214–242. https://doi.org/10.3390/polym6010214.
(58) Letchford, K.; Burt, H. A Review of the Formation and Classification of Amphiphilic Block Copolymer Nanoparticulate Structures: Micelles, Nanospheres, Nanocapsules and Polymersomes. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2007**, *65* (3), 259–269. https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2006.11.009.
(59) Won, Y.-Y.; Davis, H. T.; Bates, F. S. Giant Wormlike Rubber Micelles. *Science* **1999**, *283* (5404), 960–963. https://doi.org/10.1126/science.283.5404.960.
(60) Wang, X.; Guerin, G.; Wang, H.; Wang, Y.; Manners, I.; Winnik, M. A. Cylindrical Block Copolymer Micelles and Co-Micelles of Controlled Length and Architecture. *Science* **2007**, *317* (5838), 644–647. https://doi.org/10.1126/science.1141382.
(61) Discher, D. E.; Eisenberg, A. Polymer Vesicles. *Science* **2002**, *297* (5583), 967–973. https://doi.org/10.1126/science.1074972.
(62) Discher, B. M.; Won, Y.-Y.; Ege, D. S.; Lee, J. C.-M.; Bates, F. S.; Discher, D. E.; Hammer, D. A. Polymersomes: Tough Vesicles Made from Diblock Copolymers. *Science* **1999**, *284* (5417), 1143–1146. https://doi.org/10.1126/science.284.5417.1143.
(63) Pochan, D. J.; Chen, Z.; Cui, H.; Hales, K.; Qi, K.; Wooley, K. L. Toroidal Triblock Copolymer Assemblies. *Science* **2004**, *306* (5693), 94–97. https://doi.org/10.1126/science.1102866.
(64) Hillmyer, M. A.; Bates, F. S.; Almdal, K.; Mortensen, K.; Ryan, A. J.; Fairclough, J. P. A. Complex Phase Behavior in Solvent-Free Nonionic Surfactants. *Science* **1996**, *271* (5251), 976–978. https://doi.org/10.1126/science.271.5251.976.

(65) Cui, H.; Chen, Z.; Zhong, S.; Wooley, K. L.; Pochan, D. J. Block Copolymer Assembly via Kinetic Control. *Science* **2007**, *317* (5838), 647–650. https://doi.org/10.1126/science.1141768.
(66) Jain, S.; Bates, F. S. On the Origins of Morphological Complexity in Block Copolymer Surfactants. *Science* **2003**, *300* (5618), 460–464. https://doi.org/10.1126/science.1082193.
(67) Zhang, L.; Eisenberg, A. Multiple Morphologies of "Crew-Cut" Aggregates of Polystyrene-b-Poly(Acrylic Acid) Block Copolymers. *Science* **1995**, *268* (5218), 1728–1731. https://doi.org/10.1126/science.268.5218.1728.
(68) Zhang, L.; Yu, K.; Eisenberg, A. Ion-Induced Morphological Changes in "Crew-Cut" Aggregates of Amphiphilic Block Copolymers. *Science* **1996**, *272* (5269), 1777–1779. https://doi.org/10.1126/science.272.5269.1777.
(69) Hawker, C. J.; Wooley, K. L. The Convergence of Synthetic Organic and Polymer Chemistries. *Science* **2005**, *309* (5738), 1200–1205. https://doi.org/10.1126/science.1109778.
(70) Leibler, L. Theory of Microphase Separation in Block Copolymers. *Macromolecules* **1980**, *13* (6), 1602–1617.
(71) Khandpur, A. K.; Foerster, S.; Bates, F. S.; Hamley, I. W.; Ryan, A. J.; Bras, W.; Almdal, K.; Mortensen, K. Polyisoprene-Polystyrene Diblock Copolymer Phase Diagram near the Order-Disorder Transition. *Macromolecules* **1995**, *28* (26), 8796–8806.
(72) Holder, S. J.; Sommerdijk, N. A. J. M. New Micellar Morphologies from Amphiphilic Block Copolymers: Disks, Toroids and Bicontinuous Micelles. *Polym. Chem.* **2011**, *2* (5), 1018–1028. https://doi.org/10.1039/C0PY00379D.
(73) Antonietti, M.; Förster, S. Vesicles and Liposomes: A Self-Assembly Principle Beyond Lipids. *Adv. Mater.* *15* (16), 1323–1333. https://doi.org/10.1002/adma.200300010.
(74) Protat, M. Formation d'émulsions multiples stimulables en une seule étape d'émulsification : effet du sel et évolution vers des architectures biocompatibles. phdthesis, Université Pierre et Marie Curie (Paris 6), 2016.
(75) Sugihara, S.; Blanazs, A.; Armes, S. P.; Ryan, A. J.; Lewis, A. L. Aqueous Dispersion Polymerization: A New Paradigm for in Situ Block Copolymer Self-Assembly in Concentrated Solution. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133* (39), 15707–15713. https://doi.org/10.1021/ja205887v.
(76) Torn, B.; Lyklema, J.; Koopal, L. .; Keizer, A. de. *Polymers and surfactants in solution and at interfaces: a model study on detergency*; 2000.
(77) Netz, R. R.; Andelman, D. Neutral and Charged Polymers at Interfaces. *Phys. Rep.* **2003**, *380* (1–2), 1–95. https://doi.org/10.1016/S0370-1573(03)00118-2.
(78) Bleul, R.; Thiermann, R.; Maskos, M. Techniques To Control Polymersome Size. *Macromolecules* **2015**, *48* (20), 7396–7409. https://doi.org/10.1021/acs.macromol.5b01500.
(79) Sun, J.-T.; Hong, C.-Y.; Pan, C.-Y. Recent Advances in RAFT Dispersion Polymerization for Preparation of Block Copolymer Aggregates. *Polym. Chem.* **2013**, *4* (4), 873–881. https://doi.org/10.1039/C2PY20612A.
(80) Utada, A. S.; Lorenceau, E.; Link, D. R.; Kaplan, P. D.; Stone, H. A.; Weitz, D. A. Monodisperse Double Emulsions Generated from a Microcapillary Device. *Science* **2005**, *308* (5721), 537–541. https://doi.org/10.1126/science.1109164.
(81) Messager, L.; Gaitzsch, J.; Chierico, L.; Battaglia, G. Novel Aspects of Encapsulation and Delivery Using Polymersomes. *Curr. Opin. Pharmacol.* **2014**, *18*, 104–111. https://doi.org/10.1016/j.coph.2014.09.017.

(82) Li, M.-H.; Keller, P. Stimuli-Responsive Polymer Vesicles. *Soft Matter* **2009**, *5* (5), 927. https://doi.org/10.1039/b815725a.
(83) Le Meins, J.-F.; Sandre, O.; Lecommandoux, S. Recent Trends in the Tuning of Polymersomes' Membrane Properties. *Eur. Phys. J. E Soft Matter* **2011**, *34* (2), 14. https://doi.org/10.1140/epje/i2011-11014-y.
(84) Fleige, E.; Quadir, M. A.; Haag, R. Stimuli-Responsive Polymeric Nanocarriers for the Controlled Transport of Active Compounds: Concepts and Applications. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2012**, *64* (9), 866–884. https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.01.020.
(85) Hu, X.; Zhang, Y.; Xie, Z.; Jing, X.; Bellotti, A.; Gu, Z. Stimuli-Responsive Polymersomes for Biomedical Applications. *Biomacromolecules* **2017**, *18* (3), 649–673. https://doi.org/10.1021/acs.biomac.6b01704.
(86) Wang, H.-C.; Zhang, Y.; Possanza, C. M.; Zimmerman, S. C.; Cheng, J.; Moore, J. S.; Harris, K.; Katz, J. S. Trigger Chemistries for Better Industrial Formulations. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2015**, *7* (12), 6369–6382. https://doi.org/10.1021/acsami.5b00485.
(87) Hillewaere, X. K. D.; Teixeira, R. F. A.; Nguyen, L.-T. T.; Ramos, J. A.; Rahier, H.; Prez, F. E. D. Autonomous Self-Healing of Epoxy Thermosets with Thiol-Isocyanate Chemistry. *Adv. Funct. Mater.* *24* (35), 5575–5583. https://doi.org/10.1002/adfm.201400580.
(88) Holme, M. N.; Fedotenko, I. A.; Abegg, D.; Althaus, J.; Babel, L.; Favarger, F.; Reiter, R.; Tanasescu, R.; Zaffalon, P.-L.; Ziegler, A.; et al. Shear-Stress Sensitive Lenticular Vesicles for Targeted Drug Delivery. *Nat. Nanotechnol.* **2012**, *7* (8), 536–543. https://doi.org/10.1038/nnano.2012.84.
(89) Diesendruck, C. E.; Peterson, G. I.; Kulik, H. J.; Kaitz, J. A.; Mar, B. D.; May, P. A.; White, S. R.; Martínez, T. J.; Boydston, A. J.; Moore, J. S. Mechanically Triggered Heterolytic Unzipping of a Low-Ceiling-Temperature Polymer. *Nat. Chem.* **2014**, *6* (7), 623–628. https://doi.org/10.1038/nchem.1938.
(90) Larsen, M. B.; Boydston, A. J. Successive Mechanochemical Activation and Small Molecule Release in an Elastomeric Material. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136* (4), 1276–1279. https://doi.org/10.1021/ja411891x.
(91) Katz, J. S.; Burdick, J. A. Light-Responsive Biomaterials: Development and Applications. *Macromol. Biosci.* *10* (4), 339–348. https://doi.org/10.1002/mabi.200900297.
(92) Schumers, J.-M.; Fustin, C.-A.; Gohy, J.-F. Light-Responsive Block Copolymers. *Macromol. Rapid Commun.* **2010**, *31* (18), 1588–1607. https://doi.org/10.1002/marc.201000108.
(93) Blasco, E.; Serrano, J. L.; Piñol, M.; Oriol, L. Light Responsive Vesicles Based on Linear–Dendritic Block Copolymers Using Azobenzene–Aliphatic Codendrons. *Macromolecules* **2013**, *46* (15), 5951–5960. https://doi.org/10.1021/ma4009725.
(94) Samanta, A.; Stuart, M. C. A.; Ravoo, B. J. Photoresponsive Capture and Release of Lectins in Multilamellar Complexes. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134* (48), 19909–19914. https://doi.org/10.1021/ja3101837.
(95) Klajn, R. Spiropyran-Based Dynamic Materials. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *43* (1), 148–184. https://doi.org/10.1039/C3CS60181A.
(96) Wang, X.; Hu, J.; Liu, G.; Tian, J.; Wang, H.; Gong, M.; Liu, S. Reversibly Switching Bilayer Permeability and Release Modules of Photochromic Polymersomes Stabilized by Cooperative Noncovalent Interactions. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137* (48), 15262–15275. https://doi.org/10.1021/jacs.5b10127.

(97) Tong, R.; Hemmati, H. D.; Langer, R.; Kohane, D. S. Photoswitchable Nanoparticles for Triggered Tissue Penetration and Drug Delivery. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134* (21), 8848–8855. https://doi.org/10.1021/ja211888a.

(98) Zhang, Y.; Ma, L.; Deng, X.; Cheng, J. Trigger-Responsive Chain-Shattering Polymers. *Polym. Chem.* **2012**, *4* (2), 224–228. https://doi.org/10.1039/C2PY20838E.

(99) Han, D.; Tong, X.; Zhao, Y. Fast Photodegradable Block Copolymer Micelles for Burst Release. *Macromolecules* **2011**, *44* (3), 437–439. https://doi.org/10.1021/ma102778d.

(100) Yan, Q.; Han, D.; Zhao, Y. Main-Chain Photoresponsive Polymers with Controlled Location of Light-Cleavable Units: From Synthetic Strategies to Structural Engineering. *Polym. Chem.* **2013**, *4* (19), 5026–5037. https://doi.org/10.1039/C3PY00804E.

(101) Wang, X.; Liu, G.; Hu, J.; Zhang, G.; Liu, S. Concurrent Block Copolymer Polymersome Stabilization and Bilayer Permeabilization by Stimuli-Regulated "Traceless" Crosslinking. *Angew. Chem. Int. Ed. 53* (12), 3138–3142. https://doi.org/10.1002/anie.201310589.

(102) Jiang, J.; Qi, B.; Lepage, M.; Zhao, Y. Polymer Micelles Stabilization on Demand through Reversible Photo-Cross-Linking. *Macromolecules* **2007**, *40* (4), 790–792. https://doi.org/10.1021/ma062493j.

(103) Schild, H. G. Poly(N-Isopropylacrylamide): Experiment, Theory and Application. *Prog. Polym. Sci.* **1992**, *17* (2), 163–249. https://doi.org/10.1016/0079-6700(92)90023-R.

(104) Qin, S.; Geng, Y.; Discher, D. E.; Yang, S. Temperature-Controlled Assembly and Release from Polymer Vesicles of Poly(Ethylene Oxide)-Block- Poly(N-Isopropylacrylamide). *Adv. Mater. 18* (21), 2905–2909. https://doi.org/10.1002/adma.200601019.

(105) Liu, F.; Kozlovskaya, V.; Medipelli, S.; Xue, B.; Ahmad, F.; Saeed, M.; Cropek, D.; Kharlampieva, E. Temperature-Sensitive Polymersomes for Controlled Delivery of Anticancer Drugs. *Chem. Mater.* **2015**, *27* (23), 7945–7956. https://doi.org/10.1021/acs.chemmater.5b03048.

(106) Jochum, F. D.; Theato, P. Temperature- and Light-Responsive Smart Polymer Materials. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42* (17), 7468–7483. https://doi.org/10.1039/c2cs35191a.

(107) Agut, W.; Brûlet, A.; Schatz, C.; Taton, D.; Lecommandoux, S. PH and Temperature Responsive Polymeric Micelles and Polymersomes by Self-Assembly of Poly[2-(Dimethylamino)Ethyl Methacrylate]-b-Poly(Glutamic Acid) Double Hydrophilic Block Copolymers. *Langmuir* **2010**, *26* (13), 10546–10554. https://doi.org/10.1021/la1005693.

(108) Hribar, K. C.; Metter, R. B.; Ifkovits, J. L.; Troxler, T.; Burdick, J. A. Light-Induced Temperature Transitions in Biodegradable Polymer and Nanorod Composites. *Small 5* (16), 1830–1834. https://doi.org/10.1002/smll.200900395.

(109) Pradhan, P.; Giri, J.; Rieken, F.; Koch, C.; Mykhaylyk, O.; Döblinger, M.; Banerjee, R.; Bahadur, D.; Plank, C. Targeted Temperature Sensitive Magnetic Liposomes for Thermo-Chemotherapy. *J. Controlled Release* **2010**, *142* (1), 108–121. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2009.10.002.

(110) Koehler, K. C.; Anseth, K. S.; Bowman, C. N. Diels–Alder Mediated Controlled Release from a Poly(Ethylene Glycol) Based Hydrogel. *Biomacromolecules* **2013**, *14* (2), 538–547. https://doi.org/10.1021/bm301789d.

(111) Mura, S.; Nicolas, J.; Couvreur, P. Stimuli-Responsive Nanocarriers for Drug Delivery. *Nat. Mater.* **2013**, *12* (11), 991–1003. https://doi.org/10.1038/nmat3776.

(112) Binauld, S.; Stenzel, M. H. Acid-Degradable Polymers for Drug Delivery: A Decade of Innovation. *Chem. Commun.* **2013**, *49* (21), 2082–2102. https://doi.org/10.1039/C2CC36589H.
(113) Wang, L.; Liu, G.; Wang, X.; Hu, J.; Zhang, G.; Liu, S. Acid-Disintegratable Polymersomes of PH-Responsive Amphiphilic Diblock Copolymers for Intracellular Drug Delivery. *Macromolecules* **2015**, *48* (19), 7262–7272. https://doi.org/10.1021/acs.macromol.5b01709.
(114) Hu, J.; Zhang, G.; Ge, Z.; Liu, S. Stimuli-Responsive Tertiary Amine Methacrylate-Based Block Copolymers: Synthesis, Supramolecular Self-Assembly and Functional Applications. *Prog. Polym. Sci.* **2014**, *39* (6), 1096–1143. https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2013.10.006.
(115) Massignani, M.; Canton, I.; Sun, T.; Hearnden, V.; MacNeil, S.; Blanazs, A.; Armes, S. P.; Lewis, A.; Battaglia, G. Enhanced Fluorescence Imaging of Live Cells by Effective Cytosolic Delivery of Probes. *PLOS ONE* **2010**, *5* (5), e10459. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010459.
(116) Liu, X.; Ma, R.; Shen, J.; Xu, Y.; An, Y.; Shi, L. Controlled Release of Ionic Drugs from Complex Micelles with Charged Channels. *Biomacromolecules* **2012**, *13* (5), 1307–1314. https://doi.org/10.1021/bm2018382.
(117) Atwood, J. L.; Lehn, J.-M. *Comprehensive Supramolecular Chemistry*; Pergamon: New York, 1996.
(118) Aida, T.; Meijer, E. W.; Stupp, S. I. Functional Supramolecular Polymers. *Science* **2012**, *335* (6070), 813–817. https://doi.org/10.1126/science.1205962.
(119) Zhang, X.; Wang, C. Supramolecular Amphiphiles. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *40* (1), 94–101. https://doi.org/10.1039/B919678C.
(120) Lehn, J.-M. Supramolecular Polymer Chemistry—Scope and Perspectives. *Polym. Int.* **2002**, *51* (10), 825–839. https://doi.org/10.1002/pi.852.
(121) Brunsveld, L.; Folmer, B. J. B.; Meijer, E. W.; Sijbesma, R. P. Supramolecular Polymers. *Chem. Rev.* **2001**, *101* (12), 4071–4098. https://doi.org/10.1021/cr990125q.
(122) Crini, G. Review: A History of Cyclodextrins. *Chem. Rev.* **2014**, *114* (21), 10940–10975. https://doi.org/10.1021/cr500081p.
(123) Pluth, M. D.; Raymond, K. N. Reversible Guest Exchange Mechanisms in Supramolecular Host–Guest Assemblies. *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36* (2), 161–171. https://doi.org/10.1039/B603168B.
(124) Schmidt, B. V. K. J.; Hetzer, M.; Ritter, H.; Barner-Kowollik, C. Complex Macromolecular Architecture Design via Cyclodextrin Host/Guest Complexes. *Prog. Polym. Sci.* **2014**, *39* (1), 235–249. https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2013.09.006.
(125) Wang, Y.; Ma, N.; Wang, Z.; Zhang, X. Photocontrolled Reversible Supramolecular Assemblies of an Azobenzene-Containing Surfactant with Alpha-Cyclodextrin. *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* **2007**, *46* (16), 2823–2826. https://doi.org/10.1002/anie.200604982.
(126) Trotta, F.; Zanetti, M.; Cavalli, R. Cyclodextrin-Based Nanosponges as Drug Carriers. *Beilstein J. Org. Chem.* **2012**, *8* (1), 2091–2099. https://doi.org/10.3762/bjoc.8.235.
(127) Ranucci, E.; Ferruti, P.; Manfredi, A.; Cavalli, R. Cross-Linked Resins by Stepwise Polyaddition of β-Cyclodextrin with Bisacrylamides and Assessment of Their Potential as PH-Sensitive NPs for Site-Specific Protein Delivery; Controlled Release Society - Smart Materials: From Innovation to Translation: Quebec City, Canada, 2012; p 99.
(128) Nagy, H. J.; Sallay, P.; Varga, M. L.; Rusznák, I.; Bakó, P.; Víg, A. Removal of Dyes from Industrial Wastewater by Cucurbiturils. *Text. Res. J.* **2009**, *79* (14), 1312–1318. https://doi.org/10.1177/0040517508095601.

(129) Walker, S.; Oun, R.; McInnes, F. J.; Wheate, N. J. The Potential of Cucurbit[n]Urils in Drug Delivery. *Isr. J. Chem.* **2011**, *51* (5–6), 616–624. https://doi.org/10.1002/ijch.201100033.

(130) Wang, C.; Yin, S.; Chen, S.; Xu, H.; Wang, Z.; Zhang, X. Controlled Self-Assembly Manipulated by Charge-Transfer Interactions: From Tubes to Vesicles. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47* (47), 9049–9052. https://doi.org/10.1002/anie.200803361.

(131) Napoli, A.; Boerakker, M. J.; Tirelli, N.; Nolte, R. J. M.; Sommerdijk, N. A. J. M.; Hubbell, J. A. Glucose-Oxidase Based Self-Destructing Polymeric Vesicles. *Langmuir* **2004**, *20* (9), 3487–3491. https://doi.org/10.1021/la0357054.

(132) Wang, Y.; Xu, H.; Zhang, X. Tuning the Amphiphilicity of Building Blocks: Controlled Self-Assembly and Disassembly for Functional Supramolecular Materials. *Adv. Mater.* **2009**, *21* (28), 2849–2864. https://doi.org/10.1002/adma.200803276.

(133) Odell, B.; Reddington, M. V.; Slawin, A. M. Z.; Spencer, N.; Stoddart, J. F.; Williams, D. J. Cyclobis(Paraquat-p-Phenylene). A Tetracationic Multipurpose Receptor. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 27* (11), 1547–1550. https://doi.org/10.1002/anie.198815471.

(134) Bria, M.; Cooke, G.; Cooper, A.; Garety, J. F.; Hewage, S. G.; Nutley, M.; Rabani, G.; Woisel, P. An Investigation of the Complexation Properties of Cyclobis(Paraquat-p-Phenylene) in Water. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48* (2), 301–304. https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2006.11.003.

(135) Bigot, J.; Fournier, D.; Lyskawa, J.; Marmin, T.; Cazaux, F.; Cooke, G.; Woisel, P. Synthesis of Thermoresponsive Phenyl- and Naphthyl-Terminated Poly(NIPAM) Derivatives Using RAFT and Their Complexation with Cyclobis(Paraquat-p-Phenylene) Derivatives in Water. *Polym. Chem.* **2010**, *1* (7), 1024–1029. https://doi.org/10.1039/C0PY00085J.

(136) Sue, C.-H.; Basu, S.; Fahrenbach, A. C.; Shveyd, A. K.; Dey, S. K.; Botros, Y. Y.; Stoddart, J. F. Enabling Tetracationic Cyclophane Production by Trading Templates. *Chem. Sci.* **2010**, *1* (1), 119–125. https://doi.org/10.1039/C0SC00176G.

(137) Bria, M.; Bigot, J.; Cooke, G.; Lyskawa, J.; Rabani, G.; Rotello, V. M.; Woisel, P. Synthesis of a Polypseudorotaxane, Polyrotaxane, and Polycatenane Using 'Click' Chemistry. *Tetrahedron* **2009**, *65* (1), 400–407. https://doi.org/10.1016/j.tet.2008.10.005.

(138) Fumagalli, M.; Belal, K.; Guo, H.; Stoffelbach, F.; Cooke, G.; Marcellan, A.; Woisel, P.; Hourdet, D. Supramolecular Polymer Hydrogels Induced by Host–Guest Interactions with Di-[Cyclobis(Paraquat-p-Phenylene)] Cross-Linkers: From Molecular Complexation to Viscoelastic Properties. *Soft Matter* **2017**, *13* (31), 5269–5282. https://doi.org/10.1039/C7SM01051F.

(139) Yeniad, B.; Ryskulova, K.; Fournier, D.; Lyskawa, J.; Cooke, G.; Woisel, P.; Hoogenboom, R. Complexation of Thermoresponsive Dialkoxynaphthalene End-Functionalized Poly(Oligoethylene Glycol Acrylate)s with CBPQT4+ in Water. *Polym. Chem.* **2016**, *7* (22), 3681–3690. https://doi.org/10.1039/C6PY00303F.

(140) Belal, K.; Stoffelbach, F.; Lyskawa, J.; Fumagalli, M.; Hourdet, D.; Marcellan, A.; Smet, L. D.; de la Rosa, V. R.; Cooke, G.; Hoogenboom, R.; et al. Recognition-Mediated Hydrogel Swelling Controlled by Interaction with a Negative Thermoresponsive LCST Polymer. *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* **2016**, *55* (45), 13974–13978. https://doi.org/10.1002/anie.201605630.

(141) Sambe, L.; Stoffelbach, F.; Poltorak, K.; Lyskawa, J.; Malfait, A.; Bria, M.; Cooke, G.; Woisel, P. Elaboration of Thermoresponsive Supramolecular Diblock Copolymers in Water from Complementary CBPQT4+ and TTF End-Functionalized Polymers.

Macromol. Rapid Commun. **2014**, *35* (4), 498–504. https://doi.org/10.1002/marc.201300729.

(142) Bigot, J.; Charleux, B.; Cooke, G.; Delattre, F.; Fournier, D.; Lyskawa, J.; Sambe, L.; Stoffelbach, F.; Woisel, P. Tetrathiafulvalene End-Functionalized Poly(N-Isopropylacrylamide): A New Class of Amphiphilic Polymer for the Creation of Multistimuli Responsive Micelles. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132* (31), 10796–10801. https://doi.org/10.1021/ja1027452.

(143) Sambe, L.; Stoffelbach, F.; Lyskawa, J.; Delattre, F.; Fournier, D.; Bouteiller, L.; Charleux, B.; Cooke, G.; Woisel, P. Host–Guest Modulation of the Micellization of a Tetrathiafulvalene-Functionalized Poly(N-Isopropylacrylamide). *Macromolecules* **2011**, *44* (16), 6532–6538. https://doi.org/10.1021/ma2009854.

(144) Sambe, L.; Belal, K.; Stoffelbach, F.; Lyskawa, J.; Delattre, F.; Bria, M.; Sauvage, F. X.; Sliwa, M.; Humblot, V.; Charleux, B.; et al. Multi-Stimuli Responsive Supramolecular Diblock Copolymers. *Polym Chem* **2014**, *5* (3), 1031–1036. https://doi.org/10.1039/C3PY01093G.

(145) Ligthart, G. B. W. L.; Ohkawa, H.; Sijbesma, R. P.; Meijer, E. W. Complementary Quadruple Hydrogen Bonding in Supramolecular Copolymers. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127* (3), 810–811. https://doi.org/10.1021/ja043555t.

(146) Fouquey, C.; Lehn, J.-M.; Levelut, A.-M. Molecular Recognition Directed Self-Assembly of Supramolecular Liquid Crystalline Polymers from Complementary Chiral Components. *Adv. Mater.* **1990**, *2* (5), 254–257. https://doi.org/10.1002/adma.19900020506.

(147) Kimizuka, N.; Kawasaki, T.; Kunitake, T. Self-Organization of Bilayer Membranes from Amphiphilic Networks of Complementary Hydrogen Bonds. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115* (10), 4387–4388. https://doi.org/10.1021/ja00063a077.

(148) Kimizuka, N.; Kawasaki, T.; Hirata, K.; Kunitake, T. Supramolecular Membranes. Spontaneous Assembly of Aqueous Bilayer Membrane via Formation of Hydrogen Bonded Pairs of Melamine and Cyanuric Acid Derivatives. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120* (17), 4094–4104. https://doi.org/10.1021/ja974379+.

(149) Biemann, L.; Häber, T.; Maydt, D.; Schaper, K.; Kleinermanns, K. Structural Assignment of Adenine Aggregates in CDCl3. *J. Chem. Phys.* **2008**, *128* (19), 195103. https://doi.org/10.1063/1.2912064.

(150) Beijer, F. H.; Sijbesma, R. P.; Vekemans, J. A. J. M.; Meijer, E. W.; Kooijman, H.; Spek, A. L. Hydrogen-Bonded Complexes of Diaminopyridines and Diaminotriazines: Opposite Effect of Acylation on Complex Stabilities. *J. Org. Chem.* **1996**, *61* (18), 6371–6380. https://doi.org/10.1021/jo960612v.

(151) Wang, D.; Su, Y.; Jin, C.; Zhu, B.; Pang, Y.; Zhu, L.; Liu, J.; Tu, C.; Yan, D.; Zhu, X. Supramolecular Copolymer Micelles Based on the Complementary Multiple Hydrogen Bonds of Nucleobases for Drug Delivery. *Biomacromolecules* **2011**, *12* (4), 1370–1379. https://doi.org/10.1021/bm200155t.

(152) Kuang, H.; Wu, Y.; Zhang, Z.; Li, J.; Chen, X.; Xie, Z.; Jing, X.; Huang, Y. Double PH-Responsive Supramolecular Copolymer Micelles Based on the Complementary Multiple Hydrogen Bonds of Nucleobases and Acetalated Dextran for Drug Delivery. *Polym. Chem.* **2015**, *6* (19), 3625–3633. https://doi.org/10.1039/C5PY00042D.

(153) Cortese, J.; Soulié-Ziakovic, C.; Tencé-Girault, S.; Leibler, L. Suppression of Mesoscopic Order by Complementary Interactions in Supramolecular Polymers. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134* (8), 3671–3674. https://doi.org/10.1021/ja2119496.

(154) Cortese, J.; Soulié-Ziakovic, C.; Leibler, L. Binding and Supramolecular Organization of Homo- and Heterotelechelic Oligomers in Solutions. *Polym. Chem.* **2013**, *5* (1), 116–125. https://doi.org/10.1039/C3PY00638G.

(155) Prevoteau, A.; Soulié-Ziakovic, C.; Leibler, L. Universally Dispersible Carbon Nanotubes. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134* (49), 19961–19964. https://doi.org/10.1021/ja309029n.

(156) Lacombe, J.; Soulié-Ziakovic, C. Lamellar Mesoscopic Organization of Supramolecular Polymers: A Necessary Pre-Ordering Secondary Structure. *Polym. Chem.* **2017**, *8* (38), 5954–5961. https://doi.org/10.1039/C7PY01219E.

(157) Lacombe, J. Organisation Multi-Échelle de Matériaux Polymères Contrôlée Par La Chimie Aux Interfaces. Thèse, Paris Sciences et Lettres, 2017.

(158) Schmolka, I. R. A Review of Block Polymer Surfactants. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1977**, *54* (3), 110–116. https://doi.org/10.1007/BF02894385.

(159) Alexandridis, P.; Alan Hatton, T. Poly(Ethylene Oxide)□poly(Propylene Oxide)□poly(Ethylene Oxide) Block Copolymer Surfactants in Aqueous Solutions and at Interfaces: Thermodynamics, Structure, Dynamics, and Modeling. *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.* **1995**, *96* (1), 1–46. https://doi.org/10.1016/0927-7757(94)03028-X.

(160) Pham Trong, L. C.; Djabourov, M.; Ponton, A. Mechanisms of Micellization and Rheology of PEO–PPO–PEO Triblock Copolymers with Various Architectures. *J. Colloid Interface Sci.* **2008**, *328* (2), 278–287. https://doi.org/10.1016/j.jcis.2008.09.029.

Chapitre 2

Copolymères amphiphiles supramoléculaires à blocs PEG et PPG

Chapitre 2 : Copolymères amphiphiles supramoléculaires à blocs PEG et PPG

Introduction 66

I. Synthèse de blocs supramoléculaires par greffage d'unités associatives Thymine et Diaminotriazine 66

1. Définition du système supramoléculaire 66
   a. Choix des blocs polymères et de leur fonctionnalisation 66
   b. Choix du couple d'unités supramoléculaires 68
2. Synthèse des blocs supramoléculaires 70
   a. Greffage de la thymine 70
   b. Greffage de la diaminotriazine 71
3. Propriétés thermiques des blocs supramoléculaires 72
   a. Blocs supramoléculaires à extrémité(s) thymine 73
   b. Blocs supramoléculaires à extrémité(s) diaminotriazine 77

II. Formation et caractérisation des copolymères à blocs amphiphiles supramoléculaires 80

1. Copolymères supramoléculaires – un équilibre délicat 80
2. Préparation des copolymères par évaporation de solvant 83
   a. Mode opératoire 83
   b. Types de copolymères obtenus : diblocs, triblocs, multiblocs 83
3. Propriétés thermiques des copolymères à blocs supramoléculaires 84
   a. Copolymères diblocs supramoléculaires 84
   b. Copolymères multiblocs supramoléculaires 87
   c. Copolymères triblocs supramoléculaires 89

III. Caractérisation de l'association Thy/DAT : effet du solvant 94

1. Analyses préalables des blocs supramoléculaires 95
2. Détermination de la constante d'association $K_{Thy\text{-}DAT}$ par titration 96
   a. Copolymères supramoléculaires en solvant polaire (DMSO-d_6) 97
   b. Copolymères supramoléculaires en solvant peu polaire et non sélectif ($CDCl_3$) 100

3. Détermination de la constante d'association $K_{Thy/DAT}$ en solvant apolaire sélectif (toluène-d_8) – Etude en température 102

4. Position relative des unités Thy et DAT : modulation de la constante d'association des blocs PEG et PPG supramoléculaires pour un concept de relargage progressif 106

Conclusion 108

Références 109

Introduction

Comme évoqué dans le premier chapitre, notre stratégie est de réaliser des copolymères à blocs amphiphiles supramoléculaires obtenus grâce à des interactions de type *clé-serrure* et capables de former des édifices encapsulants. La rupture des liens supramoléculaires permettra de déstabiliser les édifices et ainsi de réaliser un relargage à la demande dans des applications cosmétiques. Pour cela, nous avons choisi de fonctionnaliser la ou les extrémité(s) de blocs poly(éthylène glycol) (PEG) et poly(propylène glycol) (PPG) avec des unités associatives formant des liaisons hydrogène, interactions supramoléculaires les plus étudiées. Au sein du laboratoire Matière Molle et Chimie notamment, plusieurs études ont été menées sur des systèmes impliquant la paire Thymine/Diaminotriazine (Thy/DAT), qui sont parmi les unités associatives les plus citées dans la littérature.

Dans ce chapitre, nous présentons la synthèse et la caractérisation des blocs et des copolymères amphiphiles supramoléculaires. Après avoir défini notre système d'étude (chaines polymères et unités associatives), nous présenterons les réactions de greffage conduisant aux blocs supramoléculaires hydrophiles (PEG) et hydrophobes (PPG). Nous détaillerons ensuite le mode de formation des copolymères amphiphiles supramoléculaires et leurs propriétés physico-chimiques en masse. Enfin, nous étudierons l'association supramoléculaire Thy/DAT en solvants organiques par RMN ^{1}H. Nous montrerons notamment que l'association des unités, et donc la force des interactions hydrogène, dépend fortement du solvant ainsi que de la nature de la chaine polymère sur laquelle les unités sont greffées.

I. Synthèse de blocs supramoléculaires par greffage d'unités associatives Thymine et Diaminotriazine

1. Définition du système supramoléculaire

a. Choix des blocs polymères et de leur fonctionnalisation

Pour former nos copolymères amphiphiles, nous choisissons d'utiliser le poly(propylène glycol) comme bloc hydrophobe/apolaire, et le poly(éthylène glycol) comme bloc hydrophile/polaire. Ce choix nous a été inspiré par des copolymères amphiphiles triblocs connus et commerciaux, de type ABA : les poloxamères. Dénommés ainsi par Schmolka,[1] on les retrouve commercialement sous les noms de Pluronics®, Kolliphor® ou encore Synperonic®, selon le fournisseur (BASF, Croda…). Ainsi, nous disposons de références covalentes auxquelles comparer nos systèmes supramoléculaires. De plus, nous nous affranchissons, *a priori*, de toute contrainte éventuelle liée à la réglementation cosmétique, ces polymères étant déjà utilisés dans l'industrie.

La taille de nos copolymères à blocs a été ajustée à celle de poloxamères spécialement conçus pour des applications cosmétiques : les Pluracare® (BASF). Leurs masses molaires étant

comprises entre 2000 et 12 000 g/mol, pour les valeurs extrêmes, et entre 4000 et 8000 g/mol en moyenne, nous avons choisis des blocs PEG et PPG de 1000 et 2500 g/mol environ. Les copolymères supramoléculaires de l'étude et les références ont donc des masses molaires comparables.

Il est important de noter que le PPG est une chaine polymère à LCST (*Lower Critical Solution Temperature*) : il est hydrophile pour une température située sous sa LCST, qui varie entre 15 et 40 °C selon sa masse molaire,[2] et hydrophobe pour une température supérieure. Cette LCST pourrait nous servir à élaborer un système sensible à plusieurs stimuli (température, force ionique, pH, …). Les chaines PEG présentent également une LCST, mais celle-ci étant supérieure à 80 °C, elle ne peut être exploitée dans les applications visées.[3–5]

Les blocs PEG et PPG sont tous deux disponibles commercialement, dans différentes tailles et fonctionnalisations terminales. Au laboratoire Matière Molle et Chimie, plusieurs voies de greffage des unités thymine et diaminotriazine ont été explorées, pour des chaines polymères de diverses natures (PPG, PEG, PDMS, PE[6]) et fonctionnalités. Notamment, des réactions de greffage sur des PPG terminés par des fonctions amines ou acrylates ont permis d'introduire les unités thymine (Thy) avec respectivement un lien amide ou ester. Les unités diaminotriazine (DAT) ne peuvent être greffées que sur les fonctions amine terminales.

La nature chimique du lien de greffage (amide, ester) a un impact sur l'organisation mésoscopique des polymères supramoléculaires en masse. En effet, Lacombe *et al.* ont mis en évidence la présence d'interactions secondaires entre les liens amides comparables à celle des organisation en feuillets β des peptides.[7] Ces interactions secondaires (liaisons hydrogène) induisent une pré-organisation des unités supramoléculaires qui conduit à leur cristallisation. Dans notre cas, en solution, nous espérons que ces interactions secondaires renforceront les forces de dispersion d'auto-assemblage (ségrégation des blocs PEG et PPG) menant à des édifices encapsulant plus robustes.

Notre stratégie est donc de partir d'oligomères commerciaux terminés à une ou deux extrémités par des amines, pour y greffer les unités supramoléculaires Thy/DAT. En partant de polymères commerciaux, on s'inscrit dans une démarche où l'on souhaite pouvoir accéder aisément aux produits d'intérêt, avec un procédé transposable industriellement. Ce type d'oligomères est commercialisé sous le nom de Jeffamine® par Huntsman (Figure 1).

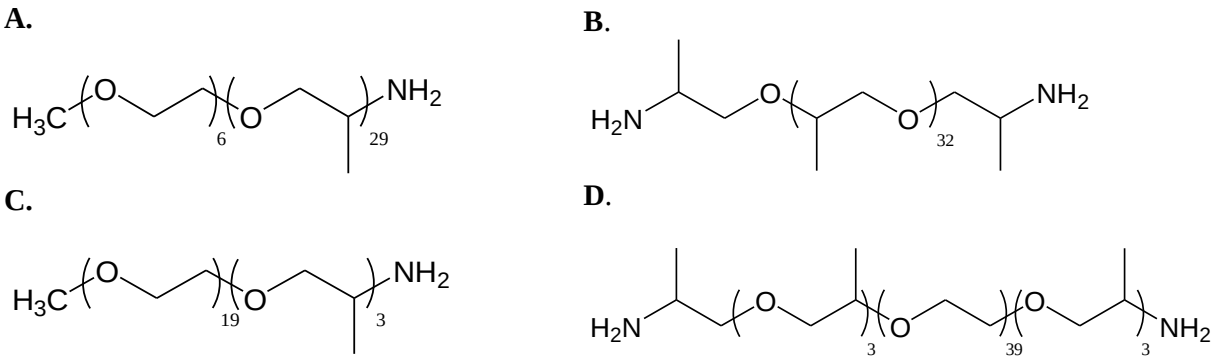


Figure 1 – Structure chimique des 4 Jeffamines® utilisées dans notre étude : A) PPG M-2005 ; B) PPG D-2000 ; C) PEG M-1000 ; D) PEG ED-2003. Nomenclature : M = monoamine, D = diamine, ED = diamine avec une prépondérance en motif PEG.

Les Jeffamines PEG M-1000 (PEG_{1000}-NH_2, voir Annexe 2 pour analyse RMN ^1H, DMSO-d_6) et PPG M-2005 (PPG_{2000}-NH_2) sont des copolymères statistiques poly(oxyde d'éthylène-*st*-oxyde de propylène). La très grande prépondérance d'un motif par rapport à l'autre fait qu'ils peuvent être assimilés à des chaines PEG ou PPG.

Comme il n'existe pas de chaines PEG terminées par des fonctions amine commercialisées à des prix raisonnables, nous avons choisi d'utiliser la Jeffamine PEG ED-2003. Ce copolymère tribloc H_2N-PPG_x-PEG_y-PPG_z-NH_2, avec y = 42 et x + z = 5 (RMN ^1H, annexe 2), peut être assimilé à une chaine PEG téléchélique diamine (H_2N-PEG_{2000}-NH_2), les groupes PPG terminaux jouant le rôle d'espaceurs entre l'unité supramoléculaire et la chaine PEG.

On note que l'on parle ici de PEG car ce sont des chaines de faible masse molaire, la dénomination PEO, ou poly(oxyde d'éthylène), étant réservée à des chaines de masse molaire allant au-delà de 20 000 g/mol.[8]

Ces quatre polymères ont été caractérisées par spectroscopie RMN ^1H et ^{13}C, chromatographie d'exclusion stérique SEC et analyse calorimétrique différentielle à balayage (*Differential Scanning Calorimetry*, DSC). Le Tableau 1 résume leurs caractéristiques.

Tableau 1 – Résumé des caractéristiques des polymères Jeffamines® utilisés.

Jeffamine®	M_n [a] (g/mol)	Ratio EG/PG[a]	M_n [b] (g/mol)	Ratio EG/PG[b]	M_n [c] (g/mol)	I_p [c]	T_g [d] (°C)	LCST (°C)
PPG M-2005	2000	6/29	2430	7/36	2540	1,02	- 75	~10
PPG D-2000	2000	0/33	2050	0/34	2100	1,04	- 73	~18
PEG M-1000	1000	19/3	910	16/3	1020	1,03	- 71	> 80
PEG ED-2003	2000	39/6	2230	42/5	2170	1,04	- 62	> 80

[a]Données par Huntsman, [b]déterminées par RMN ^1H (DMSO-d_6), [c]déterminées par SEC, [d]déterminées par DSC.

Dans la suite de ce chapitre, par souci de clarté et de mise en évidence des structures chimiques des Jeffamines®, nous utiliserons les dénominations listées dans le Tableau 2, plutôt que leur nom commercial.

Tableau 2 – Noms commerciaux des Jeffamines® et dénominations chimiques correspondantes utilisées.

Nom commercial des Jeffamines®	Dénomination chimique correspondante
PPG M-2005	PPG_{2000}-NH_2
PPG D-2000	H_2N-PPG_{2000}-NH_2
PEG M-1000	PEG_{1000}-NH_2
PEG ED-2003	H_2N-PEG_{2000}-NH_2

b. Choix du couple d'unités supramoléculaires

Pour élaborer les copolymères à blocs supramoléculaires, nous avons choisi le couple thymine et 2,6-diamino-1,3,5-triazine, deux unités complémentaires, désigné par Thy/DAT dans le reste du manuscrit. La thymine est une nucléobase de l'ADN formant deux liaisons hydrogène avec l'adénine, sa base complémentaire. De nombreux systèmes utilisant ce couple sont

mentionnés dans la littérature.[9–16] Leur interaction étant toutefois faible ($K_{Thy/Ade}$ ~ 10^2 M^{-1}, mesurée dans $CDCl_3$ [17]), nous nous sommes tournés vers la diaminotriazine,[18–24] pouvant s'associer plus fortement avec la thymine *via* trois liaisons hydrogène parallèles ($K_{Thy/DAT}$ ~ 10^3 M^{-1}, mesurée dans $CDCl_3$ [25,26]). On notera que des interactions de type π-π peuvent également exister, ces molécules étant aromatiques.[25]

Les constantes d'associations correspondant à leur auto-association (dimérisation) étant très faibles ($K_{Thy\text{-}Thy}$ ~ $K_{DAT\text{-}DAT}$ ~ 10 M^{-1}, mesurées dans $CDCl_3$, Figure 2.B) comparées à celle de leur hétéro-association ($K_{Thy/DAT}$ ~ 10^3 M^{-1}, mesurée dans $CDCl_3$, Figure 2.A),[25] l'association Thy/DAT est sélective. Ceci est un autre avantage motivant le choix de ce couple.

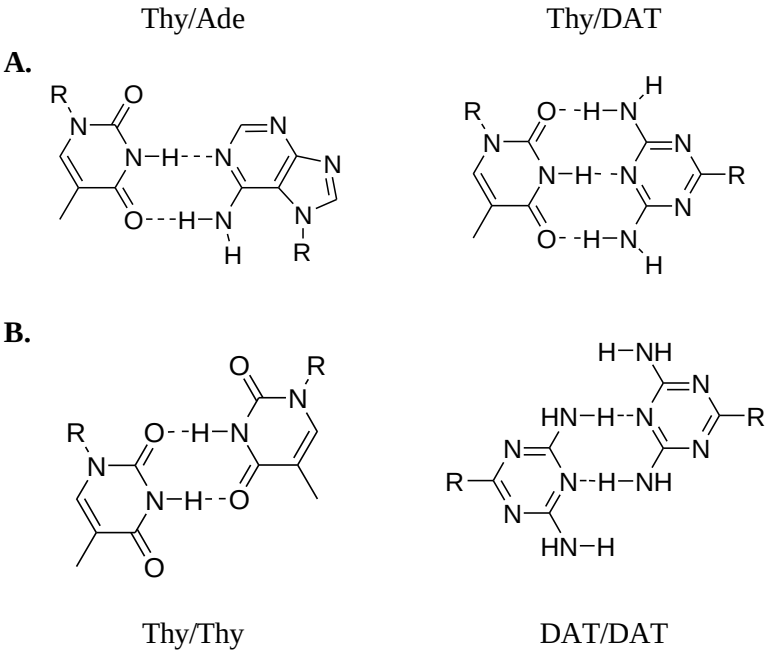


Figure 2 – A) Association complémentaire (hétéro-association) entre thymine/adénine et thymine/diaminotriazine, B) Dimérisation (auto-association) de la thymine et de la diaminotriazine.

Il a été montré que la valeur de la constante d'association et le temps de vie relativement long de la paire Thy/DAT permettent d'obtenir des systèmes supramoléculaires stables à température ambiante.[27] Des unités supramoléculaires formant des associations beaucoup plus fortes, telles UPy/NaPy ($K_{UPy\text{-}NaPy}$ ~ 10^7 M^{-1}),[28] seraient hors champ de l'application cosmétique visée, car elles ne se dissocient qu'à haute température, au-delà de 100 °C.[29] De plus, l'association UPy/NaPy n'est pas sélective, la valeur de la constante de dimérisation de UPy étant très proche de la constante d'association entre les deux unités ($K_{UPy\text{-}UPy}$ ~ 10^6 M^{-1} [30]).

L'association Thy/DAT peut être déstabilisée à des températures raisonnables, aux alentours de 40 °C, en solution dans le toluène-d_8.[31] De plus, les unités Thy et DAT sont protiques et plutôt polaires. La liaison Thy/DAT peut donc être rompue en présence d'une molécule compétitrice des liaisons hydrogène, notamment des solvants protiques et/ou polaires comme les alcools ou le DMSO.

Cette double sensibilité, à la température et/ou à un compétiteur de liaisons H, est un avantage pour notre application car elle permet d'envisager différents scénarii de relargage à la demande.

Enfin, comme nous le montrerons dans le paragraphe suivant, les unités Thy et DAT étant commercialisés sous la forme de dérivés fonctionnels, leur greffage peut être réalisé en une seule étape, ce qui représente un avantage certain au développement de ces systèmes supramoléculaires.

2. Synthèse des blocs supramoléculaires

Les réactions de greffage des unités Thy et DAT par un lien amide ont été précédemment décrites par Cortese *et al.*[21] Elles sont réalisables aussi bien pour des chaines PPG que PEG, monofonctionnelles ou difonctionnelles. Les détails des réactions sont présentés en annexe 2.

a. Greffage de la thymine

Le greffage de la thymine se fait en une seule étape d'amidification par réaction de la fonction amine terminale du PPG ou PEG sur l'acide carboxylique pendant de la thymine (Schéma 1). La réaction est assistée par un agent de couplage (TBTU, *O*-(Benzotriazol-1-yl)-*N,N,N′,N′*-tetraméthyluronium tetrafluoroborate),[32] et est quantitative en 24 h.

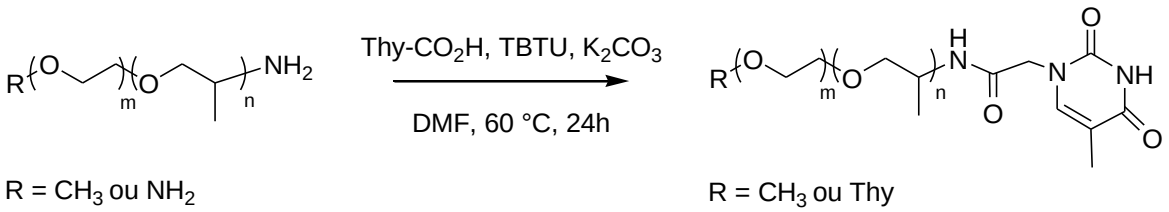


Schéma 1 – Réaction de greffage de la thymine sur les Jeffamines® mono ou difonctionnelles.

i. Caractérisation du produit final

Les structures chimiques des 4 Jeffamines® greffées Thy sont confirmées par RMN ^{1}H, réalisée dans DMSO-d_6. Les unités éthylène glycol ou propylène glycol terminales des chaines polymères présentant des signaux clairement identifiables, il est possible d'estimer la masse molaire des blocs greffés (Tableau 3). On remarque notamment le déplacement caractéristique du signal du proton méthine (f), situé en α des fonctions terminales (amine ou amide) de la chaine polymère. A titre d'exemple, on observe sur le spectre RMN ^{1}H du PEG_{1000}-Thy, le déblindage de ce signal de 2.85 ppm (amine) à plus de 3.8 ppm (Figure 3).

Tableau 3 – Masses molaires des Jeffamines® avant et après greffage de la thymine, estimées par RMN ^{1}H (DMSO-d_6).

Jeffamines®	M_n initiale (g/mol)	Ratio EG/PG	M_n après greffage de la thymine (g/mol)	Blocs supramoléculaires
PPG_{2000}-NH_2	2430	7/36	2600	PPG_{2000}-Thy
H_2N-PPG_{2000}-NH_2	2050	0/34	2400	Thy-PPG_{2000}-Thy
PEG_{1000}-NH_2	910	16/3	1080	PEG_{1000}-Thy
H_2N-PEG_{2000}-NH_2	2230	42/5	2560	Thy-PEG_{2000}-Thy

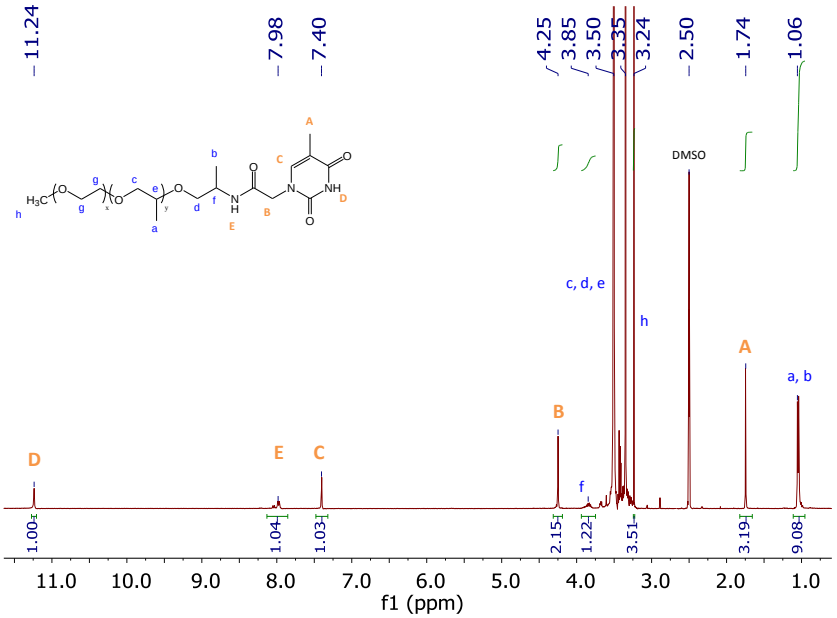


Figure 3 – Spectre RMN ^{1}H de PEG_{1000}-Thy, à 0.06 g/cm^3, dans DMSO-d_6.

b. Greffage de la diaminotriazine

Le greffage du DAT se fait par substitution nucléophile aromatique du dérivé chloré du DAT avec la ou les amines terminales des chaines PEG et PPG (Schéma 2). Les conversions, estimées par RMN ^{1}H, sont typiquement autour de 90 % après 24 h de réaction.

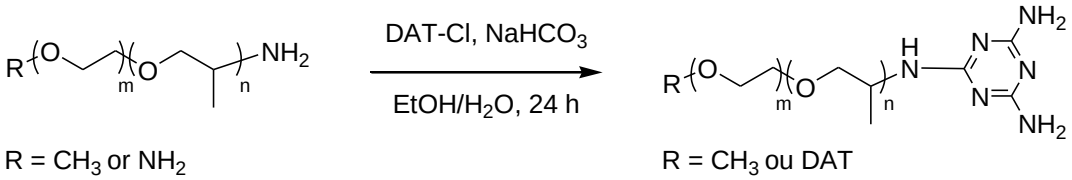


Schéma 2 – Réaction de greffage de la diaminotriazine sur les Jeffamines® mono ou difonctionnelles.

i. Caractérisation du produit final

Les RMN ^{1}H dans DMSO-d_6 montrent que les produits désirés ont bien été formés pour les 4 Jeffamines®. Les masses molaires estimées des blocs greffés sont rassemblées dans le Tableau 4. Comme précédemment, on note le déplacement caractéristique du proton méthine (f) qui se déblinde au-delà de 4 ppm après greffage (Figure 4, PPG_{2000}-DAT).

Tableau 4 – Masses molaires des Jeffamines® avant et après greffage de la DAT, estimées par RMN ^{1}H (DMSO-d_6).

Jeffamines®	M_n initiale (g/mol)	Ratio EG/PG	M_n après greffage de la DAT (g/mol)	Blocs supramoléculaires
PPG_{2000}-NH_2	2430	7/36	2500	PPG_{2000}-DAT
H_2N-PPG_{2000}-NH_2	2050	0/34	2270	DAT-PPG_{2000}-DAT
PEG_{1000}-NH_2	910	16/3	1020	PEG_{1000}-DAT
H_2N-PEG_{2000}-NH_2	2230	42/5	2550	DAT-PEG_{2000}-DAT

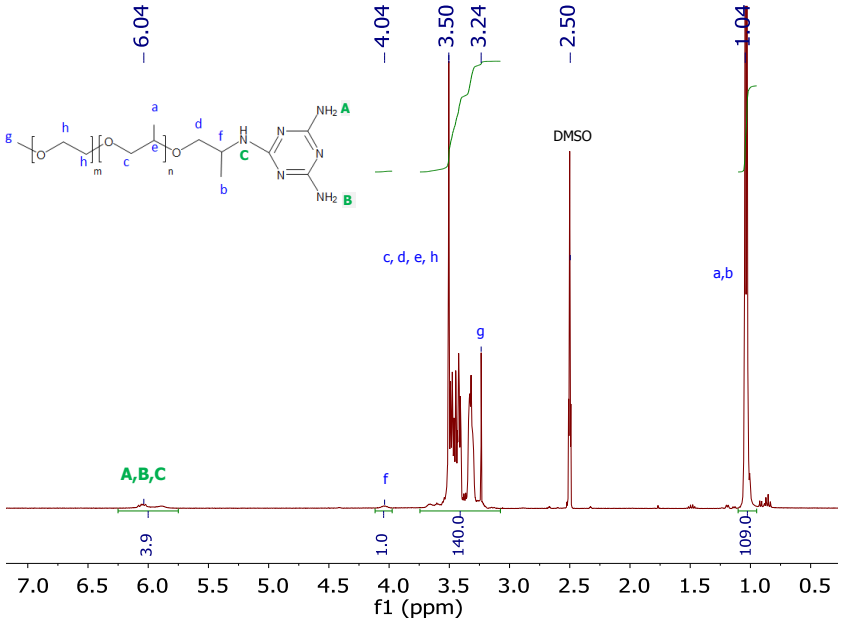


Figure 4 – Spectre RMN ^{1}H de PPG_{2000}-DAT à 0.06 g/cm^3, dans DMSO-d_6.

En résumé, le Tableau 5 rassemble les blocs supramoléculaires synthétisés.

Tableau 5 – Liste des blocs supramoléculaires PPG et PEG synthétisés.

Blocs PPG	Blocs PEG
PPG_{2000}-DAT	PEG_{1000}-DAT
PPG_{2000}-Thy	PEG_{1000}-Thy
DAT-PPG_{2000}-DAT	DAT-PEG_{2000}-DAT
Thy-PPG_{2000}-Thy	Thy-PEG_{2000}-Thy

3. Propriétés thermiques des blocs supramoléculaires

Les propriétés thermiques des Jeffamines® initiales ont été préalablement étudiées (Tableau 6), voir Annexe 1 pour la procédure détaillée.

Les Jeffamines PPG_{2000}-NH_2 (M-2005) et H_2N-PPG_{2000}-NH_2 (D-2000) sont liquides et présentent des T_g voisines, autour de -75 °C. Comme évoqué précédemment, les quelques motifs PEG du M-2005 (rapport EG/PG : 7/36) ne suffisent pas à perturber le comportement de la chaine PPG.

Le PEG_{1000}-NH_2 (M-1000) est pâteux tandis que le H_2N-PPG_{2000}-NH_2 (ED-2003) est solide (granules). Leur analyse DSC révèle la présence d'un endotherme de fusion, d'un exotherme de cristallisation et d'une T_g. Les températures de transition dépendent de la taille de la chaine PEG. Comme précédemment, la présence des 6 unités PG ne perturbe pas les propriétés thermiques de la chaine PEG.

Tableau 6 – Propriétés thermiques des Jeffamines® PPG et PEG, mesurées par DSC (10 °C/min).

Jeffamines®	M_n (g/mol)	T_g (°C)	T_c (°C)	ΔH_c (J/g)	T_f (°C)	ΔH_f (J/g)
PPG_{2000}-NH_2	2430	-75				
H_2N-PPG_{2000}-NH_2	2050	-73				
PEG_{1000}-NH_2	910	-71	-4	120	24	132
H_2N-PEG_{2000}-NH_2	2230	-64	7	112	38	119

On s'intéresse maintenant aux propriétés thermiques des blocs supramoléculaires synthétisés. Dans la suite du chapitre, les enthalpies discutées sont celles ramenées à la fraction massique de chaines PEG ou PPG. Les enthalpies de fusion et cristallisation des thymines ont également été rapportées à la fraction massique de thymine dans le bloc supramoléculaire.

a. Blocs supramoléculaires à extrémité(s) thymine

Les blocs supramoléculaires greffés Thy sont pâteux, à l'exception de Thy-PPG_{2000}-Thy, qui est solide et cassant. Les propriétés thermiques de ces blocs supramoléculaires ont été étudiées par DSC (Figure 5) et sont rassemblées dans le Tableau 7.

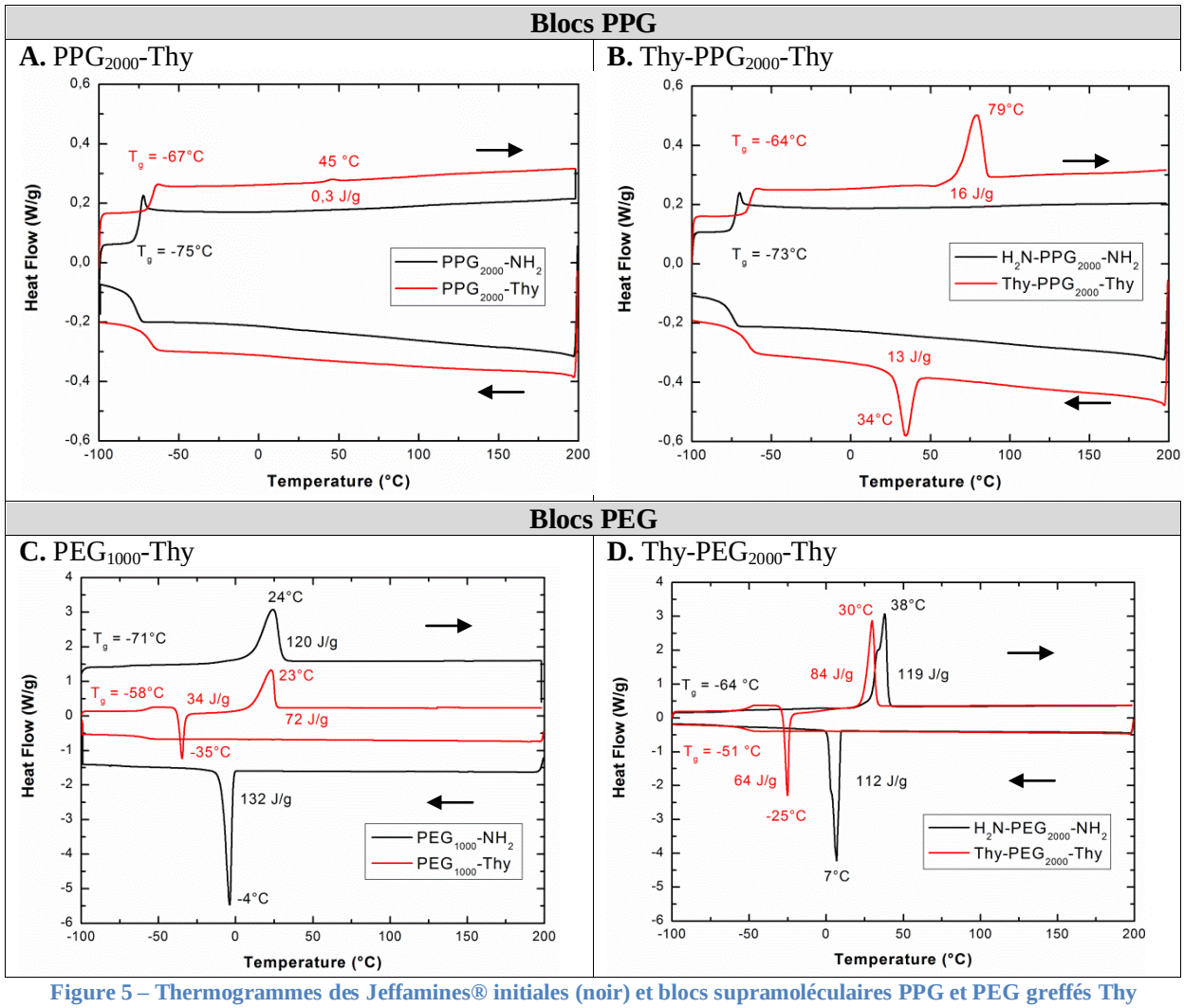


Figure 5 – Thermogrammes des Jeffamines® initiales (noir) et blocs supramoléculaires PPG et PEG greffés Thy (rouge), à 10 °C/min (exo down). Valeur en ordonnée arbitraire.

Tableau 7 – Propriétés thermiques des blocs supramoléculaires PPG et PEG greffés Thy, mesurées par DSC.

Blocs supramoléculaires	M_n[a] (g/mol)	T_g (°C)	T_c (°C)	ΔH_c (J/g)	T_f (°C)	ΔH_f (J/g)
PPG_{2000}-Thy	2600	-67	-	-	45	0,3 (4,3)[b]
Thy-PPG_{2000}-Thy	2400	-64	34	13 (87)[b]	79	16 (107)[b]
PEG_{1000}-Thy	1080	-58	-35	34 (41)[c]	23	72 (86)[c]
Thy-PEG_{2000}-Thy	2560	-51	-25	64 (74)[c]	30	84 (98)[c]

[a]Masses molaires estimées par RMN ^{1}H, [b]enthalpie rapportée au pourcentage massique des unités thymines, [c]enthalpie rapportée au pourcentage massique de la chaine PEG.

i. Effet du greffage de la thymine sur la T_g des chaines PEG et PPG

Pour tous les échantillons supramoléculaires greffés avec des unités thymine, on observe une augmentation de la T_g. Cette *anti-plastification* est un phénomène observé communément pour les polymères supramoléculaires et le plus souvent relié aux liaisons hydrogène s'établissant entre unités supramoléculaires qui réduisent la mobilité des chaines.[20,22,33] Cependant, il a été montré récemment au laboratoire que ce phénomène résulte plus probablement de plusieurs facteurs liés aux caractéristiques chimiques des unités supramoléculaires, et qui leur confèrent la capacité d'agir comme des *ancres* sur la chaine polymère. On distingue ainsi leur polarité et donc leur capacité à s'agréger/cristalliser, leur capacité à former des liaisons hydrogène, et enfin leur rigidité et leur volume molaire.[27,34] C'est cette dernière contribution qui est prépondérante.[27] En effet, la thymine étant une unité aromatique rigide, suffisamment polaire pour se ségréger et capable de s'auto-associer par liaison H et interactions π, possède toutes les caractéristiques nécessaires à l'ancrage des bouts de chaines.

ii. Cristallisation des unités thymine et interactions avec les chaines polymères

Les thymines en bout de chaines sont cristallisables dans certains cas et conduisent alors à une organisation mésoscopique lamellaire des polymères supramoléculaires. En effet, il a été montré que ces unités peuvent former des plans cristallins s'il existe des interactions latérales entre les liens qui les attachent aux chaines (liens amides). Néanmoins, leur ségrégation est un pré-requis à leur cristallisation, ce qui implique que les chaines polymères soient suffisamment peu polaires.[7] Ainsi, pour les chaines PPG peu polaires, on observe bien les endothermes de fusion des thymines cristallines à haute température (45 °C pour PPG_{2000}-Thy et 79 °C pour Thy-PPG_{2000}-Thy), mais pas pour les chaines PEG polaires. Ce phénomène de ségrégation entre unités supramoléculaires et chaines polymères a également été rapporté par Bobade *et al.* qui ont mis en évidence l'agrégation d'unités UPy lorsqu'elles sont greffées sur du poly(butadiène) mais pas quand elles le sont sur du poly(n-butyle acrylate) plus polaire.[35] De la même façon, Krutyeva *et al.* ont montré par une analyse SANS l'absence d'agrégation des unités Thy et DAT greffées sur des chaines PEG.[36]

En effet, les chaines PEG sont polaires et connues pour solvater les molécules polaires et les ions, à la manière des éthers-couronne.[37] Pour confirmer et mettre en évidence l'affinité entre Thy et PEG, nous comparons leurs paramètres de solubilité et leurs paramètres de Flory.[50]
Le paramètre de solubilité s'exprime selon l'Équation 1, avec ρ la masse volumique, M la masse molaire et F la constante d'attraction molaire du groupement j :

$$\delta = \frac{\rho}{M} \sum F_j$$

Équation 1 – Paramètre de solubilité.

Le paramètre d'interaction de Flory s'exprime selon l'Équation 2, avec δ_p le paramètre de solubilité du polymère p, δ_i le paramètre de solubilité de l'unité supramoléculaire i, V_i le volume molaire de l'unité supramoléculaire i, R la constante des gaz parfaits et T la température :

$$\chi = 0.34 + \frac{V_i}{RT} (\delta_p - \delta_i)^2$$

Équation 2 – Paramètre d'interaction de Flory, pour un mélange polymère-unité supramoléculaire.

Cette équation, destinée à l'origine à calculer un paramètre d'interaction pour un mélange polymère-solvant, peut s'appliquer ici si l'on considère le polymère comme le solvant.[38]

Le Tableau 8 rassemble les valeurs de ces paramètres. Les paramètres de solubilité des chaines PEG et PPG sont issus de la littérature,[39] celui de l'unité Thy a été estimé précédemment,[21] à partir des paramètres de Fedors.[40]

Tableau 8 – Valeurs moyennes des paramètres de solubilité et de Flory pour PPG, PEG et Thy.

	V (cm^3/mol)	δ ($J^{1/2}/cm^{3/2}$)	χ
PEG	39	20.8	**1.05**
Thy	111.5	27.5	
PPG	57.6	17.2	**2.8**
Thy	111.5	27.5	

Le paramètre de Flory est plus faible pour un mélange PEG + Thy que pour un mélange PPG + Thy, ce qui traduit une affinité plus grande entre PEG et Thy. En un mot, une chaine PEG peut mieux « solvater » la thymine qu'une chaine PPG.

Les thymines, unités très polaires, peuvent donc être « solvatées » par les chaines PEG, ce qui empêche leur agrégation et, plus loin, leur cristallisation. C'est pourquoi, on observe seulement les endothermes de fusion des chaines PEG à 23 °C pour PEG_{1000}-Thy et 30 °C pour Thy-PEG_{2000}-Thy, températures voisines de celles des chaines PEG initiales non greffées (24 °C et 38 °C respectivement, Tableau 6). De plus, en microscopie optique polarisée, aucune sphérolite caractéristique des thymines cristallines n'est observée au-delà de la fusion des chaines PEG (annexe 2).

Enfin, la cristallisation des thymines dépend également de leur fraction massique. Pour le dérivé monofonctionnel PPG_{2000}-Thy, la fraction massique des thymines est de 7 %, ce qui est trop faible pour permettre leur cristallisation au refroidissement. L'endotherme de fusion est par ailleurs très faible (45 °C, 4.3 J/g) confirmant la difficulté pour ces unités très « diluées » dans la matrice polymère à diffuser et cristalliser. En revanche, leur fraction massique est de 15 % pour le difonctionnel Thy-PPG_{2000}-Thy, et on observe que leur cristallisation et leur fusion sont effectives (34 °C, 87 J/g et 79 °C, 107 J/g respectivement).

iii. Effet des thymines sur la cristallisation des chaines PEG

Comme nous venons de l'expliquer, la différence de polarité entre chaines PEG et unités Thy est insuffisante pour permettre la ségrégation/cristallisation de ces dernières. De plus, les chaines PEG ayant la capacité de « solvater » les thymines, de nombreuses interactions « de solvatation » s'établissent entre PEG et Thy, au détriment des interactions entre chaines polymères. Il en résulte que la cristallisation des chaines PEG est perturbée.

En effet, pour les deux composés greffés Thy, on observe l'absence de cristallisation au refroidissement et l'apparition d'une cristallisation froide au chauffage. De plus, les enthalpies associées sont fortement abaissées par rapport à celles des chaines PEG non greffées. Cette diminution de l'enthalpie de cristallisation est de -66 % pour PEG_{1000}-Thy (120 à 41 J/g) et de -34 % pour Thy-PEG_{2000}-Thy (112 à 74 J/g).

On remarque qu'à fraction massique équivalente d'unités Thy (~ 15 %), la diminution d'enthalpies est plus marquée pour le monofonctionnel que pour le difonctionnel. L'impact plus limitée sur la chaine PEG_{2000} peut être due à sa taille mais aussi à sa structure (difonctionnelle). En effet, d'une part, les chaines PEG de masse supérieure ou égale à 2000 g/mol sont connues pour former des structures lamellaires avec des chaines étendues ou partiellement repliées.[41] D'autre part, comme nous l'avons expliqué, les unités thymine terminales agissent comme des ancres en bout de chaines et réduisent la mobilité de la chaine centrale. Ainsi, elle ne peut adopter toutes les conformations nécessaires à la solvatation des thymines (comparables à celles d'un éther-couronne) et ces interactions seraient moindres. Les chaines difonctionnelles présentent donc une organisation et une cristallinité que l'on n'aurait pas pour les chaines monofonctionnelles de masse molaire moindre.

Ces résultats indiquent donc clairement que les thymines impactent et réduisent fortement la mobilité des chaines PEG (T_g, T_c) ainsi que leur cinétique de cristallisation. Ceci est confirmé sur les clichés de microscopie optique polarisée : les cristallites de l'échantillon Thy-PEG_{2000}-Thy sont plus petits que ceux de la chaine PEG non greffée (Figure 6).

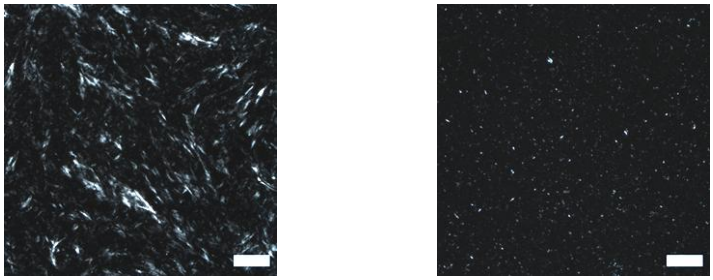


Figure 6 – Clichés de microscopie optique polarisée de H_2N-PEG_{2000}-NH_2 (gauche) et Thy-PEG_{2000}-Thy (droite), 20 °C.

b. Blocs supramoléculaires à extrémité(s) diaminotriazine

Le bloc DAT-PEG$_{2000}$-DAT est un solide cassant. Les blocs PPG greffés DAT (mono et difonctionnel) ainsi que le bloc PEG$_{1000}$-DAT sont des liquides visqueux. Les propriétés thermiques de ces blocs supramoléculaires ont été étudiées par DSC (Figure 7, valeur en ordonnée arbitraire) et sont rassemblées dans le Tableau 9.

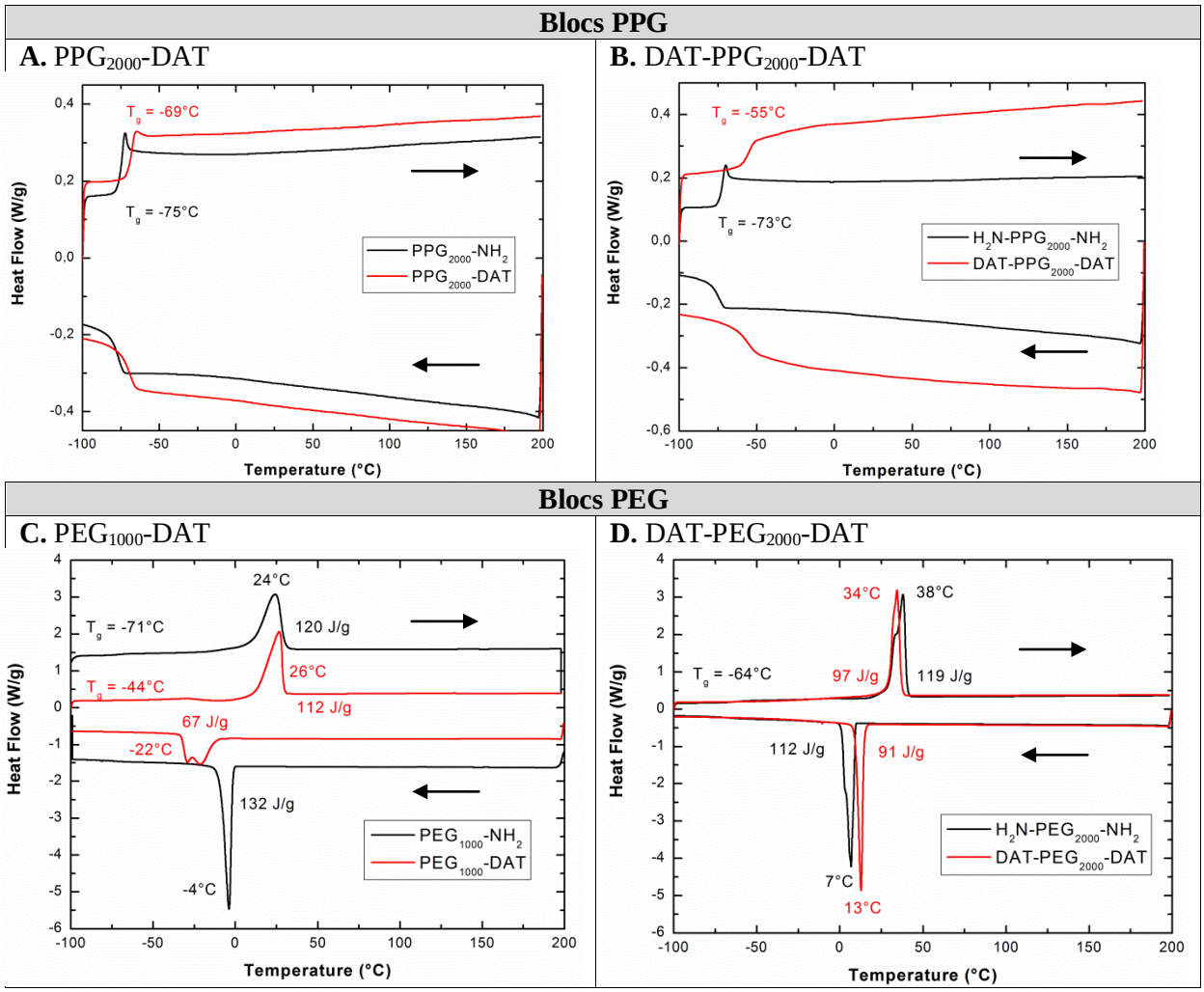


Figure 7 – Thermogrammes des Jeffamines® initiales (noir) et des blocs supramoléculaires PPG et PEG greffés DAT (rouge), à 10 °C/min (exo down). Valeur en ordonnée arbitraire.

Tableau 9 – Propriétés thermiques des blocs supramoléculaires PPG et PEG terminés DAT, mesurées par DSC.

Blocs supramoléculaires	M_n [a] (g/mol)	T_g (°C)	T_c (°C)	ΔH_c (J/g)	T_f (°C)	ΔH_f (J/g)
PPG$_{2000}$-DAT	2500	-69				
DAT-PPG$_{2000}$-DAT	2270	-55				
PEG$_{1000}$-DAT	1020	-44	-22	67 (75)[b]	26	112 (126)[b]
DAT-PEG$_{2000}$-DAT	2550	-	13	91 (100)[b]	34	97 (107)[b]

[a]Masses molaires estimées par RMN ^{1}H, [b]enthalpies rapportées au pourcentage massique de la chaine PEG.

i. Effet du greffage de la diaminotriazine sur la T_g des chaines PEG et PPG

Pour la chaine DAT-PEG_{2000}-DAT, on note que la T_g n'est plus observable. Ceci est probablement dû au fait que l'échantillon est trop cristallin, la chaine PEG étant plus longue que pour l'échantillon monofonctionnel.

Pour tous les autres échantillons, comme pour la série Thy, on observe une augmentation de la T_g. L'effet d'ancrage est le même : le motif DAT étant, comme le motif Thy, une unité polaire, rigide et capable de former des liaisons H et des interactions π, elle diminue la mobilité des chaines polymères PPG et PEG.

ii. Interactions entre unités diaminotriazine et chaines polymères

De la même façon que pour l'unité Thy, les paramètres d'interactions de Flory sont calculés pour un mélange DAT - chaines polymères, considérées comme le solvant (Équation 2). Le Tableau 10 rassemble les valeurs de ces paramètres. Le paramètre de solubilité de l'unité DAT a précédemment été estimé,[21] à partir des paramètres de Fedors.[40]

Tableau 10 – Valeurs moyennes des paramètres de solubilité et de Flory pour PPG, PEG et Thy.

	V (cm^3/mol)	δ ($J^{1/2}/cm^{3/2}$)	χ
PEG	39	20.8	**1.2**
DAT	91.3	28	
PPG	57.6	17.2	**3.1**
DAT	91.3	28	

Les valeurs obtenues sont légèrement supérieures à celles obtenues avec la thymine. L'unité DAT est donc moins susceptible d'être solvatée par les chaines PEG (Figure 8), et encore moins par les chaines PPG.

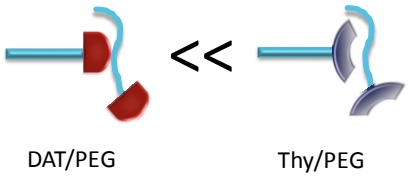


Figure 8 – Représentation des interactions de « solvatation » entre unités supramoléculaires et chaines PEG. Les interactions Thy/PEG sont prépondérantes.

iii. Effet des diaminotriazine sur la cristallisation des chaines PEG

Le greffage des unités DAT aux extrémités des chaines PEG perturbe plus ou moins fortement leur cristallinité. Par rapport aux chaines non greffées, on note une diminution des enthalpies de cristallisation d'environ -40 % pour PEG_{1000}-DAT (120 à 75 J/g) et d'environ -10 % pour DAT-PEG_{2000}-DAT (112 à 100 J/g).

Pour le bloc monofonctionnel PEG_{1000}-DAT, on observe également que la cinétique de cristallisation est retardée à -22 °C (-4 °C pour le non greffé). Ce phénomène, observé par Cheng *et al.* pour des PEG_{1000} mono et difonctionnalisés par des unités U-DPy, s'explique par la mobilité réduite des chaines due aux interactions entre motifs supramoléculaires

(agrégation, liaisons H)[42] ainsi qu'à leur effet d'ancrage. Le retard cinétique à la cristallisation est beaucoup moins marqué pour DAT-PEG_{2000}-DAT : les chaines PEG supramoléculaires cristallisent à 13 °C contre 7 °C pour les chaines non greffées.

Comme pour la série Thy, alors qu'ils présentent une fraction massique identique d'unités DAT (~ 10 %), les propriétés thermiques du bloc difonctionnel sont moins impactées que celles du monofonctionnel. Là encore, la chaine PEG est plus longue[41] mais l'effet d'ancrage à ses deux extrémités l'empêche d'adopter les conformations nécessaires à la « solvatation » des unités DAT, ce qui perturbe moins sa cristallisation.

iv. Comparaison de l'impact de Thy et DAT sur la cristallisation des chaines PEG

L'impact des unités supramoléculaires sur les propriétés thermiques de la chaine PEG est d'autant plus marqué que sa fonctionnalité est faible. Ceci traduit la mobilité et l'aptitude de la chaine monofonctionnelle à adopter les conformations nécessaires à la solvatation des unités Thy ou DAT. Lorsqu'elle est « ancrée » à chacune de ses extrémités, cette possibilité est alors grandement réduite : la perturbation de la cristallinité est moindre.

L'impact est également plus marqué pour la série Thy. Ceci traduit la force des interactions de « solvatation » de la chaine PEG, assimilable à un pouvoir de solvatation. L'unité Thy étant plus polaire que l'unité DAT, les interactions PEG/Thy seront plus fortes que les interactions PEG/DAT. Les perturbations sont donc plus importantes (Tableau 11).

Tableau 11 – Comparaison des enthalpies de cristallisation des chaines PEG greffées DAT ou Thy.

Chaine polymère	ΔH_c[a] (J/g)	Diminution de ΔH_c[a] (%) comparé aux Jeffamines®
PEG_{1000}-DAT	75	40
PEG_{1000}-Thy	41	66
DAT-PEG_{2000}-DAT	100	10
Thy-PEG_{2000}-Thy	74	34

[a]Enthalpies rapportées au pourcentage massique de la chaine PEG.

Conclusion

Le greffage des unités Thy et DAT impacte les propriétés thermiques des chaines PPG et PEG. Parce qu'elles sont polaires, rigides, capables de s'agréger et/ou de cristalliser, les unités supramoléculaires ont un effet d'ancrage sur les bouts de chaines qui réduit leur mobilité. Cet effet, d'autant plus marqué que les chaines sont courtes ou difonctionnelles, se traduit par une augmentation forte de la T_g (*anti-plastification*) quelle que soit la nature de la chaine.

Les thymines ont un impact particulièrement notable. Greffées aux chaines PPG par des liens amides, elles se ségrégent des chaines polymères et cristallisent en plans (moteur de l'organisation mésoscopique lamellaire du matériau).[7] Avec les chaines PEG, la différence de polarité est insuffisante à la ségrégation des thymines. Les interactions Thy/PEG (« solvatation ») sont prépondérantes par rapport aux interactions Thy/Thy (Figure 9). Il en résulte que les unités Thy ne peuvent cristalliser et, en retour, perturbent fortement la cristallisation des chaines PEG. On observe ainsi une cristallisation froide des chaines PEG associée à une forte diminution de l'enthalpie de cristallisation.

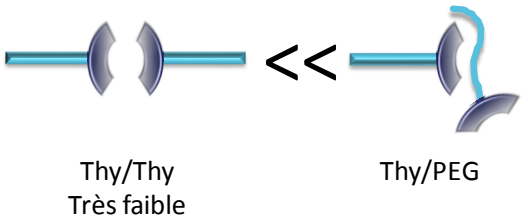


Figure 9 – Représentation des interactions supramoléculaires (Thy/Thy) et de « solvatation » (Thy/PEG).

Nous allons maintenant étudier la formation et les propriétés physico-chimiques principales des copolymères à blocs amphiphiles supramoléculaires.

II. Formation et caractérisation des copolymères à blocs amphiphiles supramoléculaires

1. Copolymères supramoléculaires – un équilibre délicat

Les polymères sont généralement immiscibles entre eux, leur entropie de mélange étant trop faible pour compenser les pénalités enthalpiques de leur incompatibilité chimique. Dans le cas des copolymères à blocs, pour lesquels les blocs incompatibles sont liés les uns aux autres par des liaisons covalentes, cette immiscibilité peut conduire à une micro-séparation de phase selon la fraction volumique de chaque bloc et le produit χN.[43]

Pour les copolymères à blocs supramoléculaires, les changements entropiques et enthalpiques induits par l'association des unités supramoléculaires aux extrémités des chaines viennent compliquer cet équilibre délicat. L'emploi d'unités supramoléculaires hétéro-complémentaires fonctionnalisées sur les chaines incompatibles est un pré-requis. En effet, l'étude théorique, basée sur un modèle en champ moyen, pour des polymères supramoléculaires téléchéliques a montré que les unités homo-complémentaires favorisent la formation de mélanges biphasiques (séparation de phase macroscopique) tandis que des unités hétéro-complémentaires favorisent la formation de mélange monophasiques (polymères miscibles ou micro-séparés).[44]

Ainsi, en utilisant un couple d'unités hétéro-complémentaires, on peut en théorie obtenir des copolymères diblocs, triblocs et multiblocs.

Feng *et al.* ont développé un modèle pour des copolymères à blocs supramoléculaires constitués de deux chaines monofonctionnalisées par des unités hétéro-complémentaires.[45] A partir de celui-ci, un diagramme de phase peut être tracé sous la forme $1/\chi N$ en fonction de $h/\chi N$ avec h la diminution d'énergie induite par la formation d'une liaison supramoléculaire. χ dépendant de T et h étant proportionnel à 1/T, il apparaît que $h/\chi N$ est indépendant de la température et qu'une augmentation de température résulte en une augmentation proportionnelle de $1/\chi N$.

Pour le dibloc *A-supra-B* avec des blocs de même taille ($N_A = N_B = N$), le diagramme de phase de la Figure 10.A est obtenu. Celui-ci traduit l'équilibre entre l'énergie libre

d'association, l'incompatibilité chimique des blocs polymères et la perte d'entropie translationnelle liée à la formation du copolymère (liaison supramoléculaire). Trois régions apparaissent : une avec une macro-séparation de phase, une avec une micro-séparation de phase lamellaire et une monophasique désordonnée. Le diagramme suggère que pour obtenir la phase lamellaire, l'énergie de liaison H doit être du même ordre de grandeur que χN. En d'autres termes, la diminution d'énergie liée à l'association supramoléculaire compense le coût énergétique lié à l'incompatibilité des blocs polymères. Plus précisément, la phase lamellaire est prédite pour $1/\chi N < 0,1$ et $h/\chi N > 0,5$. Ainsi, pour une association supramoléculaire de 50 kJ.mol^{-1}, il faut une gamme de $10 < \chi N < 100$ et pour une association de 20 kJ.mol^{-1} (comme Thy/DAT), la gamme se réduit à $10 < \chi N < 40$. Pour de grandes valeurs de N, un système biphasique est attendu. En effet, la fraction d'unités supramoléculaires étant faible, peu de diblocs se forment sauf si l'énergie d'association est très importante. Pour de faibles valeurs de N, un système monophasique est attendu, le coût enthalpique d'immiscibilité étant trop faible.

Dans le cas de blocs symétriques ($N_A = N_B$) et lorsque l'association supramoléculaire compense l'incompatibilité des blocs, les morphologies dépendent, comme les copolymères à blocs classiques, de la fraction volumique de chaque bloc. Ainsi, pour des fractions volumiques identiques ($\varphi_A = \varphi_B$), la morphologie est lamellaire, mais pour des fractions volumiques différentes, les morphologies cubique face centrée, cylindrique ou encore gyroïde bicontinue apparaissent (Figure 10.B). On peut penser que des copolymères supramoléculaires diblocs non symétriques conduisent aux mêmes morphologies.

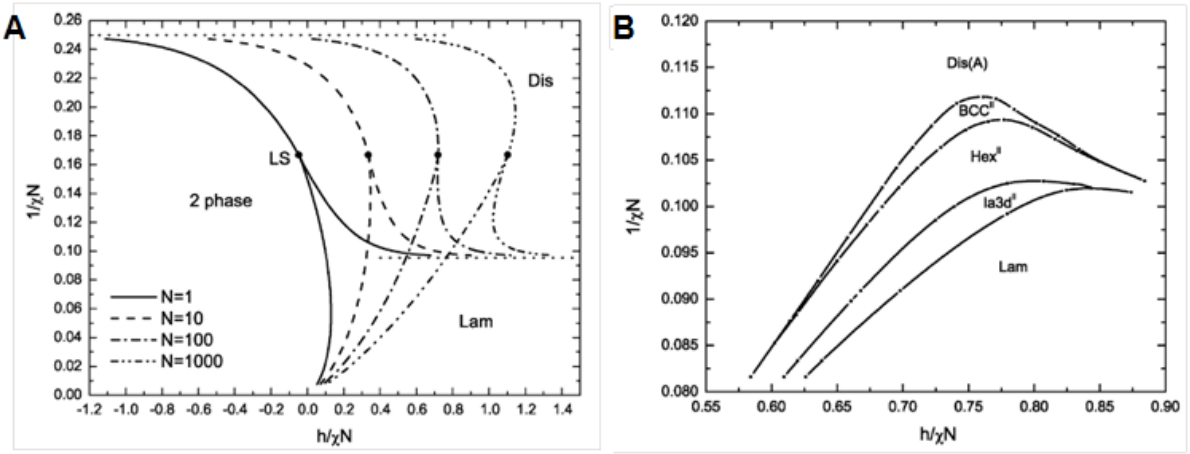


Figure 10 – Diagramme de phase correspondant à l'équilibre thermodynamique pour un copolymère dibloc supramoléculaire symétrique ($N_A = N_B = N$) avec (A) $\varphi_A = \varphi_B$ et (B) des fractions volumiques différentes.[45]

Binder *et al.* ont étudié l'influence de la constante d'association des unités associatives sur la structuration de copolymères à blocs supramoléculaires constitués de poly(éthercétone) (PEK) et de PIB monofonctionnalisés soit avec le couple acide barbiturique/récepteur Hamiltonien ($K \sim 10^6$ M^{-1}) soit avec le couple thymine/DAT ($K \sim 10^3$ M^{-1}).[46] Dans les deux cas, une micro-séparation de phase lamellaire est observée. Avec le système Thy/DAT, une macro-séparation de phase apparaît au-delà de la T_g du PEK (155 °C), alors qu'avec le système acide barbiturique/récepteur Hamiltonien, elle n'est observée qu'à partir de 230 °C, bien au-delà de la T_g du PEK. Ce résultat illustre l'importance de la constante d'association

supramoléculaire : plus elle est élevée, plus la macro-séparation de phase est retardée. De plus, cette macro-séparation est irréversible : en refroidissant le mélange reste macro-séparé (Figure 11).

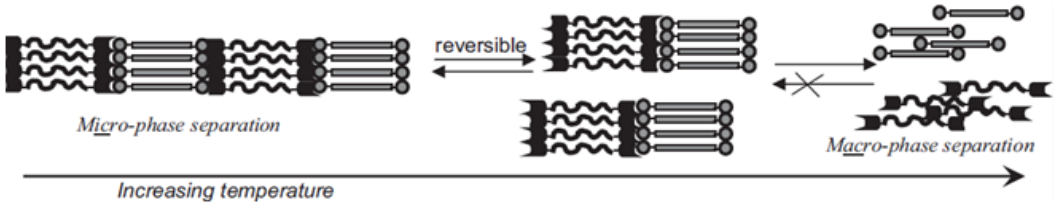


Figure 11 – Effet de la température sur l'auto-assemblage de polymères supramoléculaires PEK/PIB à unités hétéro-complémentaires.[46]

On voit donc que pour limiter la propension des blocs à se macroséparer du fait de leur incompatibilité chimique, il est essentiel que les associations supramoléculaires soient suffisamment fortes pour compenser l'incompatibilité des polymères. Si les polymères sont hautement incompatibles (ségrégation forte), l'association supramoléculaire doit être d'autant plus forte que les blocs sont grands. Si les polymères sont moins incompatibles, l'association supramoléculaire peut être plus modérée.

L'incompatibilité des blocs PEG et PPG peut être estimée par le paramètre de Flory (Équation 3) où *Vi* est le volume molaire et *δi* le paramètre de solubilité de polymère i :

$$\chi = \frac{(V_A V_B)^{1/2}}{RT} (\delta_A - \delta_B)^2$$

Équation 3 – Paramètre de Flory.

A température ambiante, on estime le paramètre de Flory pour le système PEG/PPG à $\chi_{PEG/PPG}$ = 0.25, en prenant : V_{PEG} = 39 cm^3/mol, V_{PPG} = 57.6 cm^3/mol, δ_{PEG} = 20.8 ($MPa^{½}$), δ_{PPG} = 17.2 ($MPa^{½}$).

On note que le système n'est pas en ségrégation forte (χ < 0.5). Néanmoins, le mélange des deux oligomères non fonctionnels PEG_{1000}-NH_2 et PPG_{2000}-NH_2 présente une macro-séparation de phase (microscopie optique, Figure 12), ce qui traduit une incompatibilité réelle des deux blocs.

Ainsi, l'interaction Thy/DAT, de force modérée, doit être suffisante pour compenser l'incompatibilité des blocs PEG et PPG de nos systèmes, qui sont par ailleurs de petite taille (1000 - 2500 g/mol). C'est ce que l'on observe par microscopie optique, par exemple pour le copolymère dibloc PEG_{1000}-Thy/DAT-PPG_{2000}, qui présente une phase homogène au-delà de la fusion du bloc PEG (T_f = 23 °C), ce qui confirme la miscibilité, voire la micro-séparation, des blocs PEG et PPG.

A. **B.**

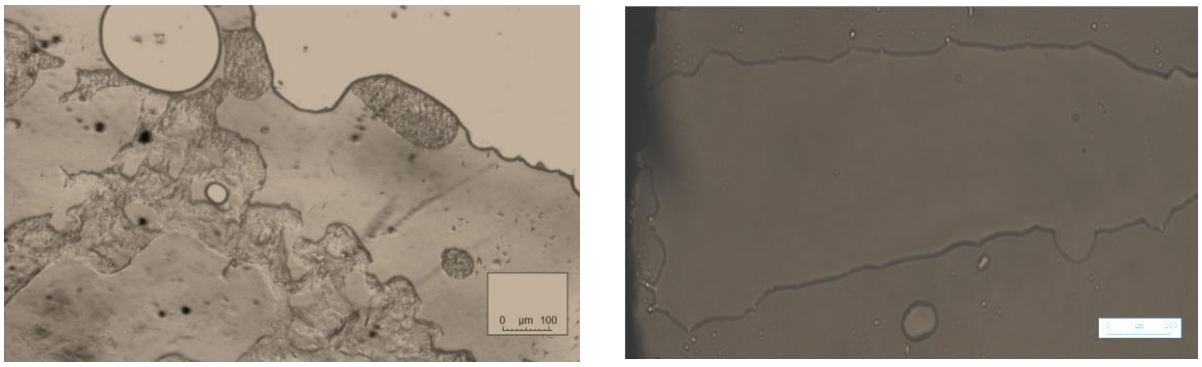


Figure 12 – Microscopie optique d'un mélange PEG_{1000}-NH_2 et PPG_{2000}-NH_2 (A) et du copolymère dibloc 1 supramoléculaires PEG_{1000}-Thy et PPG_{2000}-DAT.

Dans ce qui suit, par clarté, nous décrivons la formation des copolymères supramoléculaires (diblocs, triblocs et multiblocs) et leurs propriétés thermiques. Nous n'avons pas cherché à caractériser leurs éventuelles microséparations, mais avons vérifié optiquement l'absence de macroséparation de phase des blocs PEG et PPG supramoléculaires. La force de la liaison supramoléculaire Thy/DAT sera ensuite étudiée en solvant organique par RMN ^{1}H.

2. Préparation des copolymères par évaporation de solvant

a. Mode opératoire

Les copolymères à blocs amphiphiles supramoléculaires sont obtenus par évaporation de solvant d'un mélange équimolaire en unités supramoléculaires de différents blocs (*solvent casting*), un procédé décrit par Cortese *et al.*[21] Cette étape permet de s'assurer de la formation des liaisons Thy/DAT. Le choix du solvant obéit à certains critères : il doit être un bon solvant des chaines PEG et PPG, mais un mauvais solvant des unités Thy et DAT, forçant ainsi leur association. Il en résulte que le solvant doit être aprotique et/ou peu polaire (non compétiteur des liaisons hydrogène et favorable à l'association Thy/DAT) et suffisamment volatile pour que son évaporation soit aisée et la plus totale possible. Le dichlorométhane (DCM) répond à ces critères.

Les blocs supramoléculaires PEG et PPG sont dissous séparément dans le DCM jusqu'à l'obtention de solutions homogènes. Les deux solutions sont ensuite mélangées sous agitation magnétique et après homogénéisation, le solvant est évaporé à 100 °C sous cloche à vide pendant une nuit.

b. Types de copolymères obtenus : diblocs, triblocs, multiblocs

Différents copolymères à blocs amphiphiles supramoléculaires ont ainsi été réalisés : diblocs, triblocs et multiblocs. Par la suite, certains seront comparés à des homologues covalents, soit commerciaux (Synperonic®) soit synthétisés pour l'étude (dibloc covalent). Les multiblocs seront comparés aux systèmes « tout PPG » réalisés et étudiés par Jessalyn Cortese durant sa thèse. Nous pourrons évaluer l'effet de l'introduction des blocs PEG en masse et en solution. En résumé, 8 copolymères amphiphiles supramoléculaires ont été réalisés (Tableau 12).

Tableau 12 – Copolymères à blocs amphiphiles supramoléculaires réalisés (mélanges équimolaires en fonctions).

Diblocs	Triblocs	Multiblocs
PPG_{2000}-DAT + PEG_{1000}- Thy	PPG_{2000}-DAT + Thy- PEG_{2000}-Thy	DAT-PPG_{2000}-DAT + Thy- PEG_{2000}-Thy
PPG_{2000}-Thy + PEG_{1000}-DAT	PPG_{2000}-Thy + DAT- PEG_{2000}-DAT	DAT- PEG_{2000}-DAT + Thy- PPG_{2000}-Thy
	PEG_{1000}-DAT + Thy-PPG_{2000}-Thy	
	PEG_{1000}-Thy + DAT- PPG_{2000}-DAT	

3. Propriétés thermiques des copolymères à blocs supramoléculaires

Après avoir étudié les blocs supramoléculaires PEG et PPG greffés Thy et DAT, nous nous intéressons aux copolymères à blocs amphiphiles supramoléculaires réalisés. Nous souhaitons notamment observer l'influence de la paire sélective non cristallisable Thy/DAT sur les propriétés thermiques selon l'architecture des copolymères (nombre et taille des blocs, rapport PEG/PPG, position relative des unités Thy et DAT sur les chaines polymères).

Dans la suite de cette section, les masses molaires sont théoriques et les enthalpies discutées sont celles ramenées à la fraction massique de chaine PEG dans le copolymère.

a. Copolymères diblocs supramoléculaires

Les copolymères diblocs sont équimolaires en fonction Thy et DAT. Le rapport massique des blocs PEG et PPG est 30/70 environ. La fraction massique d'unités supramoléculaires dans ces copolymères est de 8 %. Les deux copolymères étudiés sont les suivants :

- **Dibloc 1** : PEG_{1000}-Thy + PPG_{2000}-DAT
- **Dibloc 2** : PPG_{2000}-Thy + PEG_{1000}-DAT

Par microscopie optique, on observe que les mélanges sont homogènes au-delà de la fusion du bloc PEG, indiquant que la liaison Thy/DAT est bien formée (dibloc 1, Figure 12.B).

Leurs thermogrammes sont présentés Figure 13 et Figure 14, et leurs données thermiques rassemblées dans le Tableau 13.

Tableau 13 – Données thermiques des diblocs supramoléculaires 1 et 2 mesurées par DSC (10 °C/min).

Diblocs supramoléculaires	M_n[a] (g/mol)	T_g (°C)	T_c (°C)	ΔH_c (J/g)	T_f (°C)	ΔH_f (J/g)
Dibloc 1 PEG_{1000}-Thy + PPG_{2000}-DAT	3600	-68	-21	19 (76)[a]	20	19 (76)[a]
Dibloc 2 PPG_{2000}-Thy + PEG_{1000}-DAT	3600	-68	-32	24 (96)[a]	24	21 (84)[a]

[a] Enthalpies rapportées au pourcentage massique de la chaine PEG.

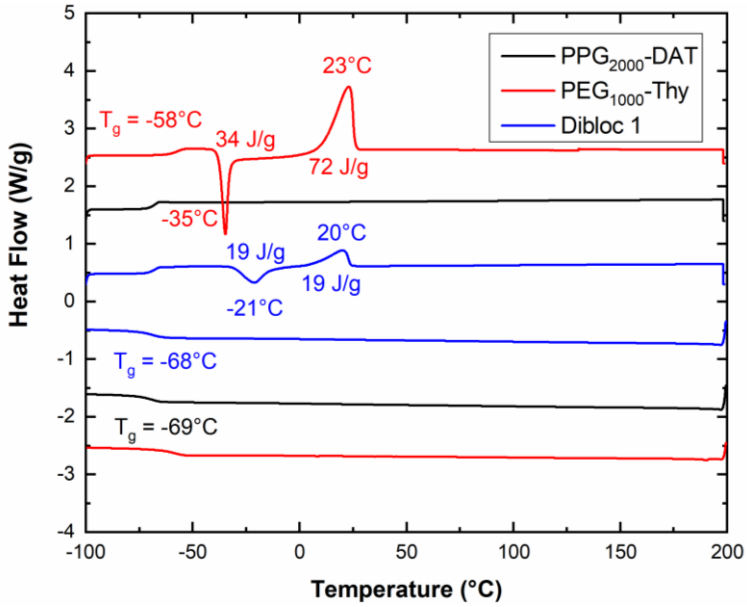


Figure 13 – Thermogrammes du dibloc 1 (bleu) et des blocs PPG_{2000}-DAT (noir) et PEG_{1000}-Thy (rouge) hors mélange (10 °C/min, exo down). Valeur en ordonnée arbitraire.

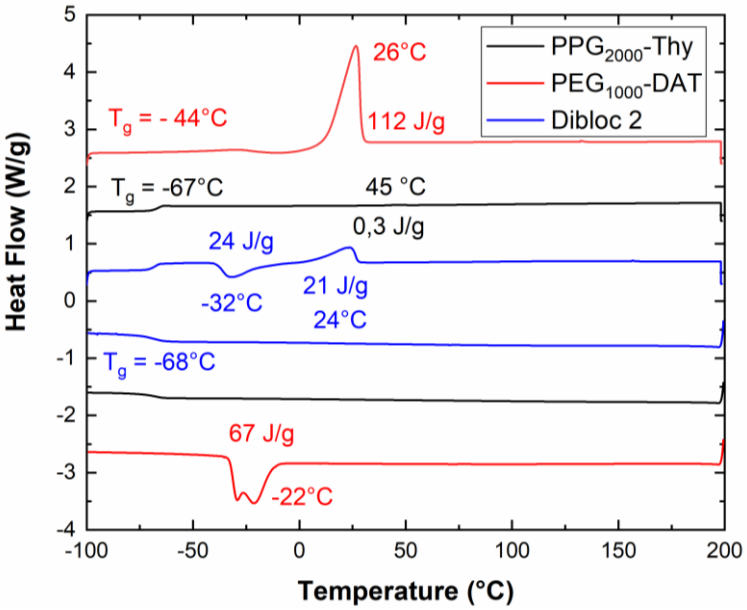


Figure 14 – Thermogrammes du dibloc 2 (bleu) et des blocs PEG_{1000}-DAT (et PPG_{2000}-Thy hors mélange (10 °C/min, exo down). Valeur en ordonnée arbitraire.

Les deux diblocs présentent des thermogrammes similaires avec une T_g unique, un exotherme de cristallisation froide et un endotherme de fusion.

La T_g des **diblocs 1** et **2** (-68 °C) correspond à celle du bloc PPG_{2000}, sa valeur étant comparable à celle des blocs PPG_{2000}-Thy et PPG_{2000}-DAT hors mélange (-67 °C et -69 °C respectivement). Ce résultat indique que le bloc PEG_{1000} attaché par l'interaction Thy/DAT ne renforce pas l'effet d'ancrage sur le bloc PPG_{2000}. La T_g du bloc PEG_{1000} n'est pas observée clairement ici (-58 °C pour PEG_{1000}-Thy et -44 °C pour PEG_{1000}-DAT, hors mélange), sa proportion massique dans le copolymère étant plus faible que celle de PPG (30/70) la rendant plus difficilement détectable.

Pour le **dibloc 2**, on n'observe plus le léger endotherme de fusion associé aux thymines cristallisées (visible à 45 °C pour le bloc PPG_{2000}-Thy, Figure 14) ce qui indique que l'interaction Thy/DAT, sélective et plus forte, est formée.

Les pics de cristallisation et de fusion observés sur les deux thermogrammes sont associés au bloc PEG_{1000}, les températures de fusion des **dibloc 1** et **2** (T_f = 20 °C et T_f = 24 °C respectivement) étant comparables à celles des blocs hors mélange PEG_{1000}-Thy (T_f = 23 °C) et PEG_{1000}-DAT (T_f = 26 °C).

On observe cependant que les températures de cristallisation et les enthalpies associées évoluent différemment selon la nature de l'unité supramoléculaire greffée sur le bloc PEG_{1000}.

Ainsi, pour le **dibloc 1** (contenant le bloc PEG_{1000}-Thy), la cristallisation froide se fait plus tardivement : T_c augmente de + 14 °C (-35 °C seul *vs* -21 °C dibloc). De plus, l'enthalpie de cristallisation associée augmente de + 85 % (41 J/g seul *vs* 76 J/g dibloc) : les chaines PEG_{1000}-Thy ont donc récupéré de leur cristallinité dans le **dibloc 1**, comparé au bloc seul. Ainsi, le bloc PPG_{2000}-DAT introduit des interactions supramoléculaires sélectives Thy/DAT, beaucoup plus fortes que les interactions Thy/Thy et permet de limiter les interactions Thy/PEG (« solvatation »). De plus, les paires Thy/DAT formées sont moins polaires et n'interagissent pas (ou peu) avec les chaines PEG qui peuvent alors mieux cristalliser. La compétition entres les différentes interactions Thy/Thy, Thy/PEG et Thy/DAT est schématisée Figure 15.

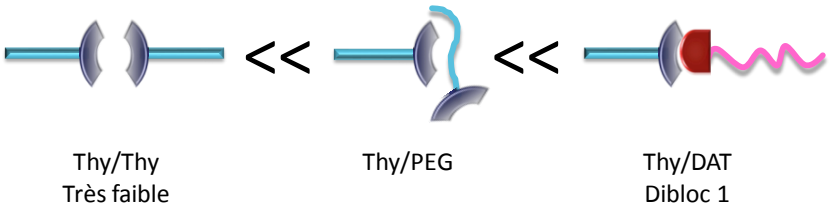


Figure 15 – Représentation schématique des interactions qui s'établissent dans le dibloc 1 (PEG : bleu, PPG : rose).

Pour le **dibloc 2** (contenant le bloc PEG_{1000}-DAT), la cristallisation se fait également plus tardivement : on passe d'une cristallisation classique pour le bloc seul (-22 °C) à une cristallisation froide pour le dibloc (-32 °C). L'enthalpie augmente également, mais seulement de + 28 % avec l'introduction du bloc PPG_{2000}-Thy, et donc des interactions Thy/DAT (75 J/g seul *vs* 96 J/g dibloc). On explique ceci comme suit.

Pour le bloc PEG_{1000}-DAT seul, la cristallinité des chaines PEG est optimale car les interactions DAT/PEG sont faibles et peu nombreuses, l'unité DAT n'étant que légèrement polaire. L'ajout du bloc PPG_{2000}-Thy introduit non seulement des interactions Thy/DAT, fortes et sélectives, mais également des interactions de « solvatation » Thy/PEG, plus fortes que les interactions de « solvatation » DAT/PEG (Figure 16). Ces dernières contribuent à limiter l'augmentation de la cristallinité des chaines PEG dans le copolymère.

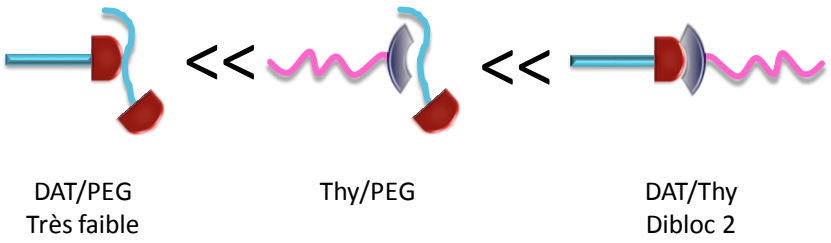


Figure 16 – Représentation des interactions se produisant dans le dibloc 2 (PEG : tracé bleu, PPG : tracé rose).

En résumé, la cinétique de cristallisation des blocs PEG_{1000} est ralentie pour les diblocs supramoléculaires, leur mobilité étant réduite par rapport aux blocs PEG_{1000} seuls. De plus, dans les copolymères, de nouvelles interactions apparaissent et sont en compétition : supramoléculaire Thy/DAT et de « solvatation » Thy/PEG et DAT/PEG. Selon qu'elles se manifestent ou non, elles modifient la cristallinité des chaines PEG : les interactions Thy/PEG ont un effet négatif (augmentation moindre de la cristallinité) tandis que les interactions DAT/PEG ont un effet positif (augmentation plus marquée de la cristallinité).

b. Copolymères multiblocs supramoléculaires

Les copolymères multiblocs sont équimolaires en fonction Thy et DAT. Le rapport massique des blocs PEG et PPG est d'environ 50/50. La fraction massique d'unités supramoléculaires dans les copolymères est de 12%. Les deux copolymères étudiés sont les suivants :

- **Multibloc 1** : Thy-PEG_{2000}-Thy + DAT-PPG_{2000}-DAT
- **Multibloc 2** : Thy-PPG_{2000}-Thy + DAT-PEG_{2000}-DAT

Leurs thermogrammes sont présentés Figure 17 et Figure 18, et leurs données thermiques rassemblées dans le Tableau 14.

Tableau 14 – Données thermiques des multiblocs supramoléculaires 1 et 2 mesurées par DSC (10 °C/min).

Multiblocs supramoléculaires	M_n (g/mol)	T_g (°C)	T_c (°C)	ΔH_c (J/g)	T_f (°C)	ΔH_f (J/g)
Multibloc 1 Thy-PEG_{2000}-Thy + DAT-PPG_{2000}-DAT	4890	-55	-9	42 (91)[a]	28	51 (111)[a]
Multibloc 2 Thy-PPG_{2000}-Thy + DAT-PEG_{2000}-DAT	4890	-58	-3	51 (113)[a]	33	54 (120)[a]

[a]Enthalpies rapportées au pourcentage massique de la chaine PEG.

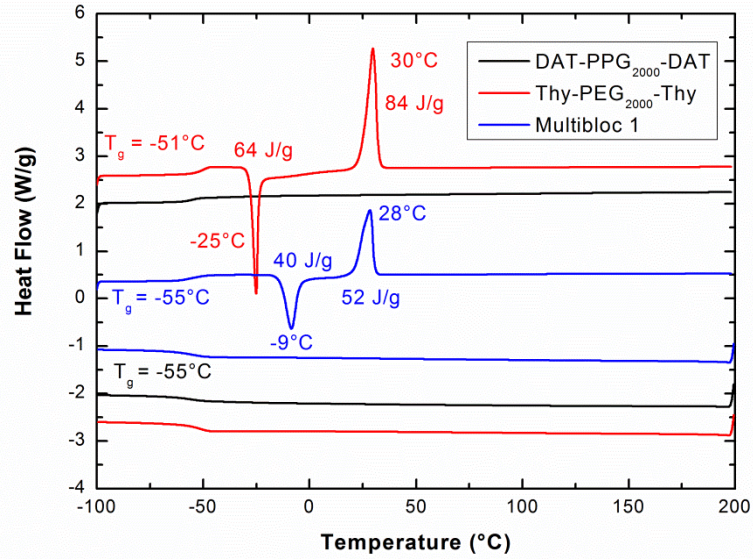


Figure 17 – Thermogrammes du multibloc 1 (bleu) et des blocs DAT-PPG$_{2000}$-DAT (noir) et Thy-PEG$_{2000}$-Thy (rouge) hors mélange (10 °C/min, exo down). Valeur en ordonnée arbitraire.

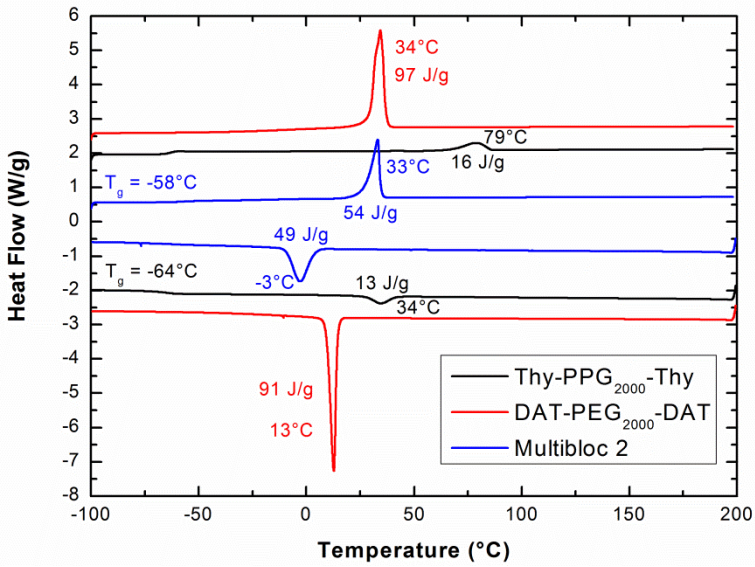


Figure 18 – Thermogrammes du multibloc 2 (tracé bleu) et des blocs DAT-PEG$_{2000}$-DAT et Thy-PPG$_{2000}$-Thy hors mélange (10 °C/min, exo down). Valeur en ordonnée arbitraire.

Les deux multiblocs présentent une T_g unique, un exotherme de cristallisation et un endotherme de fusion. On note que pour le **multibloc 1** (contenant le bloc Thy-PEG$_{2000}$-Thy), il s'agit d'une cristallisation froide. Sur le thermogramme du **multibloc 2**, l'absence du pic de fusion associé aux thymines cristallisées (visible pour Thy-PPG$_{2000}$-Thy, à 79 °C, Figure 18) atteste de la formation des interactions supramoléculaires Thy/DAT.

Les T_g des deux multiblocs sont comparables à celles des blocs PPG$_{2000}$ et PEG$_{2000}$ supramoléculaires hors mélange (ex : -55 °C pour le **multibloc 1**, -55 °C pour DAT-PPG$_{2000}$-DAT, -51 °C pour Thy-PEG$_{2000}$-Thy). Les associations Thy/DAT ne perturbent donc pas davantage la mobilité des chaines.

Les pics de cristallisation et de fusion sont associés au bloc PEG_{2000} difonctionnel. Les températures de fusion, 28 °C pour le **multibloc 1** et 33 °C pour le **multibloc 2**, sont comparables à celles des blocs Thy-PEG_{2000}-Thy et DAT-PEG_{2000}-DAT hors mélange respectivement (30 °C et 34 °C). Cependant, les enthalpies de fusion sont supérieures d'environ + 13 % pour les deux multiblocs, indiquant une cristallinité plus importante des chaines PEG_{2000} : 98 J/g pour Thy-PEG_{2000}-Thy seul *vs* 111 J/g pour le **multibloc 1** et 107 J/g pour DAT-PEG_{2000}-DAT seul *vs* 120 J/g pour le **multibloc 2**.

La cristallisation froide du bloc Thy-PEG_{2000}-Thy du **multibloc 1** intervient plus tardivement que hors mélange (-9 °C *vs* -25 °C hors mélange), ce qui indique que la mobilité des blocs PEG_{2000} est restaurée à une plus haute température, et l'enthalpie associée est supérieure de + 23 % (74 J/g seul *vs* 91 J/g multibloc). De même, la cristallisation classique du bloc DAT-PEG_{2000}-DAT, présent dans le **multibloc 2,** intervient plus tardivement que hors mélange (-3 °C *vs* 13 °C hors mélange) avec une enthalpie associée supérieure seulement de + 13 %, à cause des interactions Thy/PEG introduite, comme vu et expliqué pour le **dibloc 2** (100 J/g seul *vs* 113 J/g multibloc).

Ces résultats démontrent une meilleure cristallinité des chaines PEG_{2000} dans les multiblocs plutôt que hors mélange. Comme pour les diblocs, les interactions Thy/DAT, fortes et sélectives, limitent les interactions Thy/PEG qui nuisent à la cristallinité des blocs PEG. En outre, pour les multiblocs, les associations Thy/DAT induisent potentiellement une séparation de phase des blocs PPG peu polaires et PEG polaires (organisée ou non). La formation des interactions Thy/DAT est alors limitée par la diffusion des unités au sein du matériau, et par conséquent par la diffusion des blocs PEG et PPG dans le fondu, ici nécessairement ralentie par la polarité différente des domaines. Cette possible séparation de phase pourrait alors expliquer le retard à la cristallisation (diffusion) et la plus grande cristallinité des blocs PEG.

c. Copolymères triblocs supramoléculaires

Les copolymères triblocs sont équimolaires en fonction Thy et DAT. Le rapport massique des blocs PEG et PPG est d'environ 30/70 pour les triblocs à bloc central PEG (1 et 2) et environ 50/50 pour les triblocs à bloc central PPG (3 et 4). La fraction massique d'unités supramoléculaires dans les copolymères est de 6 % et 11 % respectivement. Les quatre copolymères étudiés sont les suivants :

- **Tribloc 1** : Thy-PEG_{2000}-Thy + PPG_{2000}-DAT
- **Tribloc 2 :** DAT-PEG_{2000}-DAT + PPG_{2000}-Thy
- **Tribloc 3** : Thy-PPG_{2000}-Thy + PEG_{1000}-DAT
- **Tribloc 4** : DAT-PPG_{2000}-DAT + PEG_{1000}-Thy

Par microscopie optique, on observe que les mélanges sont homogènes au-delà de la fusion des blocs PEG, indiquant que les liaisons Thy/DAT sont bien formées (Tribloc 1, annexe 2).

Leurs thermogrammes sont présentés sur la Figure 19 (bloc central PEG_{2000}) et la Figure 22 (bloc central PPG_{2000}) et leurs données thermiques rassemblées dans le Tableau 15 et le Tableau 16 respectivement.

*i. Triblocs supramoléculaires à bloc central PEG_{2000} - **1** et **2***

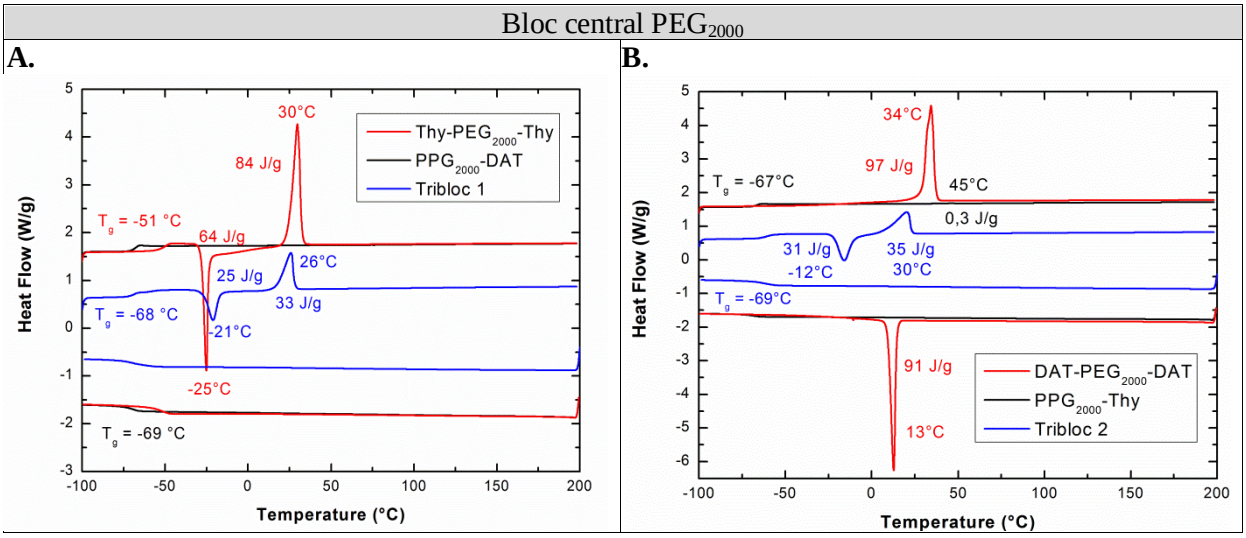


Figure 19 – Thermogrammes des triblocs supramoléculaires 1 (A) et 2 (B) (bleu), et du bloc central (rouge) et des blocs extérieurs (noir) hors mélange (10 °C/min, exo down). Valeur en ordonnée arbitraire.

Tableau 15 – Données thermiques des triblocs supramoléculaires 1 et 2 mesurées par DSC.

Triblocs supramoléculaires	M_n (g/mol)	T_g (°C)	T_c (°C)	ΔH_c (J/g)	T_f (°C)	ΔH_f (J/g)
Bloc central PEG_{2000}						
Tribloc 1 Thy-PEG_{2000}-Thy + PPG_{2000}-DAT	7650	-68	-21	25 (86)[a]	26	33 (114)[a]
Tribloc 2 DAT-PEG_{2000}-DAT + PPG_{2000}-Thy	7650	-69	-12	31 (107)[a]	30	35 (121)[a]

[a]Enthalpie rapportées au pourcentage massique de la chaine PEG.

Les deux triblocs présentent une T_g unique, un exotherme de cristallisation froide et un endotherme de fusion. L'absence du pic de fusion associé aux thymines cristallisées (observé à 45 °C pour PPG_{2000}-Thy, Figure 19) sur le thermogramme du **tribloc 2** atteste de la formation des interactions supramoléculaires Thy/DAT.

La T_g des deux triblocs (~ -68 °C) correspond à celle des blocs extérieurs supramoléculaires PPG_{2000} monofonctionnels, comparable aux valeurs mesurées pour les blocs PPG_{2000}-Thy et PPG_{2000}-DAT hors mélange (-67 °C et -69 °C respectivement). La T_g du bloc central difonctionnel PEG_{2000} n'est pas observée clairement (~ -50 °C pour Thy-PEG_{2000}-Thy, hors mélange), sa proportion massique dans le copolymère étant plus faible que celle de PPG (30/70) et la rendant plus difficilement détectable.

Les pics de cristallisation et de fusion des deux triblocs sont associés au bloc central PEG_{2000} difonctionnel. Les températures de fusion (autour de 30 °C) sont comparables à celles des blocs Thy-PEG_{2000}-Thy et DAT-PEG_{2000}-DAT hors mélange (30 °C et 34 °C respectivement). De la même façon que pour les multiblocs, la cristallinité des blocs PEG dans les **triblocs 1** et

2 est améliorée : les enthalpies de fusion augmentent de façon similaire, + 16 % (98 J/g Thy-PEG_{2000}-Thy seul *vs* 114 J/g **tribloc 1**) et + 13 % (107 J/g DAT-PEG_{2000}-DAT seul *vs* 121 J/g dans le **tribloc 2**).

La température de cristallisation froide du bloc Thy-PEG_{2000}-Thy du **tribloc 1** est similaire à celle du bloc hors mélange (-21 °C *vs* -25 °C hors mélange) mais inférieure à celle du **multibloc 1** (-9 °C). La cristallisation froide se produit plus tôt dans le **tribloc 1** que dans le **multibloc 1.** L'enthalpie de cristallisation associée (86 J/g, **tribloc 1**) est similaire à celle **multibloc 1** (91 J/g), et supérieur de + 23 % par rapport au bloc hors mélange (74 J/g seul *vs* 91 J/g multibloc 1). Comme évoqué pour les diblocs et les multiblocs, cette amélioration de la cristallinité du bloc PEG est dû à l'introduction des interactions Thy/DAT, compétitrices des interactions Thy/PEG néfastes à la cristallisation des blocs PEG.

Le fait que la cristallisation froide du bloc central Thy-PEG_{2000}-Thy se produise plus tôt dans le **tribloc 1** que dans le **multibloc 1** suggère une plus grande mobilité. Comme pour les multiblocs, les interactions Thy/DAT induisent une potentielle séparation de phase des blocs PEG/PPG et, par conséquent, la nécessité pour les unités supramoléculaires de diffuser au sein de domaines de polarité différente. Cependant, les blocs extérieurs n'étant liés que par une seule extrémité, ils permettent une diffusion plus rapide.

La différence de comportement du bloc Thy-PEG_{2000}-Thy seul ou dans un copolymère est résumée Figure 20.

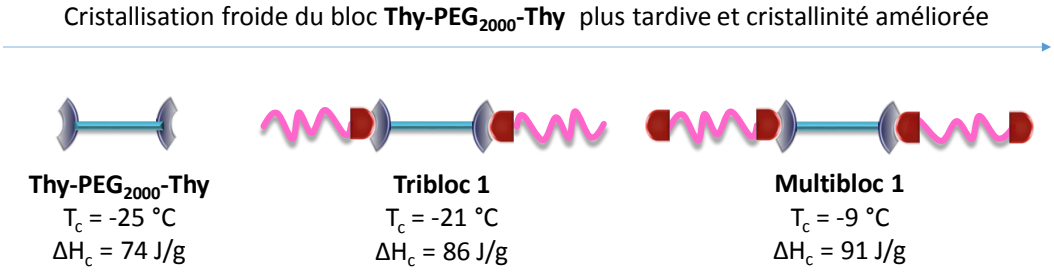


Figure 20 – Représentation schématique de Thy-PEG_{2000}-Thy, du tribloc 1 et du multibloc 1. Comparaison de leurs données thermiques de cristallisation : de gauche à droite, cinétique plus lente mais cristallinité renforcée.

Dans le **tribloc 2**, le bloc DAT-PEG_{2000}-DAT cristallise au chauffage (cristallisation froide à -12 °C) alors qu'il cristallise au refroidissement dans le **multibloc 2** (-3 °C) ou quand il est seul (13 °C). Sa cinétique de cristallisation dans le **tribloc 2** est donc ralentie mais l'enthalpie de cristallisation associée (107 J/g, **tribloc 2**) est similaire (100 J/g, bloc seul et 113 J/g, **multibloc 2**).

Comme pour le **dibloc 2** et le **multibloc 2**, l'amélioration de la cristallinité du bloc central DAT-PEG_{2000}-DAT est moins marquée que pour les copolymères à bloc PEG greffés Thy. Là encore, les blocs PEG greffés DAT ayant de base une cristallinité optimale, l'introduction des unités Thy, et par conséquent d'interactions Thy/PEG, est néfaste.

Contrairement aux **tribloc** et **multibloc 1**, copolymères à bloc central Thy-PEG_{2000}-Thy, la mobilité du bloc DAT-PEG_{2000}-DAT est plus faible dans le **tribloc 2** que dans le **multibloc 2** (Figure 21). Ce résultat peut s'expliquer également par l'introduction des interactions de

« solvatation » Thy/PEG qui ralentissent la diffusion des unités et des chaines PEG dans le fondu. Ce phénomène serait moindre dans le **multibloc 2** car les blocs « ancrés » à leurs deux extrémités interagissent moins ensemble (conformations limitées). Il y a donc moins d'interactions Thy/PEG et la chaine est plus mobile.

La différence de comportement du bloc DAT-PEG_{2000}-DAT seul ou dans un copolymère est résumée Figure 21.

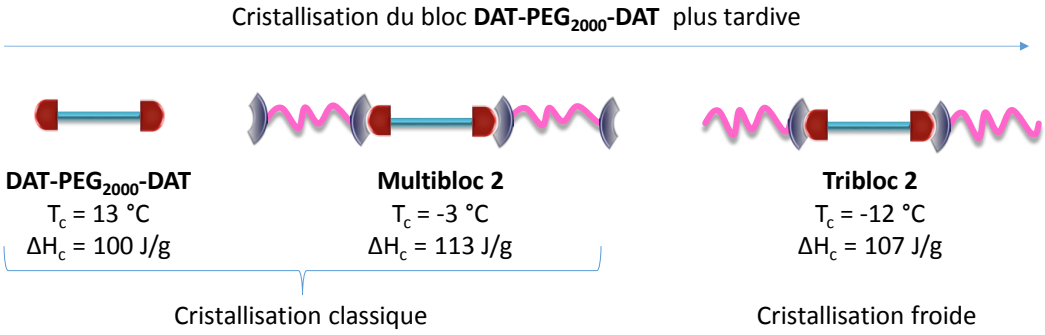


Figure 21 – Représentation schématique de DAT-PEG_{2000}-DAT, du multibloc 2 et du tribloc 2. Comparaison de leurs données thermiques de cristallisation. De gauche à droite : cinétique plus lente mais cristallinité stable.

*ii. Triblocs supramoléculaire à bloc central PPG_{2000} - **3** et **4***

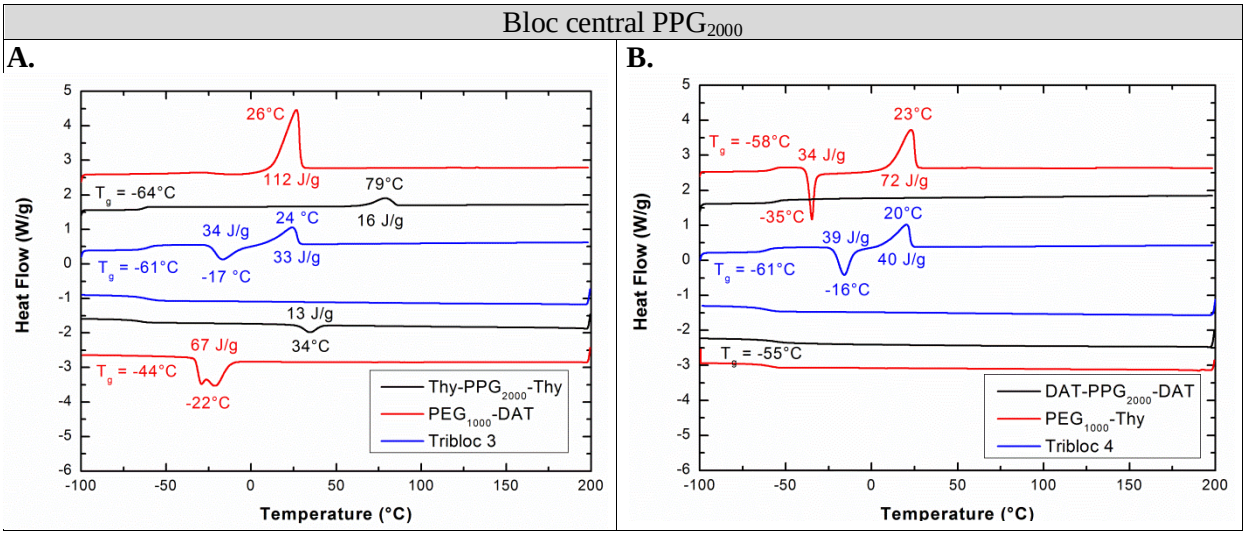


Figure 22 – Thermogrammes des triblocs supramoléculaires 3 (A) et 4 (B) (bleu), du bloc central (noir) et des blocs extérieurs (rouge) hors mélange (10 °C/min, exo down). Valeur en ordonnée arbitraire.

Tableau 16 – Données thermiques des triblocs supramoléculaires 1 et 2 mesurées par DSC.

Triblocs supramoléculaires	M_n (g/mol)	T_g (°C)	T_c (°C)	ΔH_c (J/g)	T_f (°C)	ΔH_f (J/g)
Bloc central PPG_{2000}						
Tribloc 3 Thy-PPG_{2000}-Thy + PEG_{1000}-DAT	4440	-61	-17	34 (83)[a]	24	33 (81)[a]
Tribloc 4 DAT-PPG_{2000}-DAT + PEG_{1000}-Thy	4440	-61	-16	39 (95)[a]	20	40 (98)[a]

[a]Enthalpies rapportées au pourcentage massique de la chaine PEG.

Les deux triblocs présentent une T_g unique, un exotherme de cristallisation froide et un endotherme de fusion. L'absence du pic de fusion associé aux thymines cristallisées (visible pour Thy-PPG_{2000}-Thy à 79 °C, Figure 22) sur le thermogramme du **tribloc 3** atteste de la formation des interactions supramoléculaires Thy/DAT.

La T_g (-61 °C) est dans la même gamme que celle des blocs centraux Thy-PPG_{2000}-Thy et DAT-PPG_{2000}-DAT hors mélange (-64 °C et -55 °C respectivement) et des blocs externes PEG_{1000}-DAT et PEG_{1000}-Thy (-44 et -58 °C hors mélange). Il est difficile de faire une attribution plus précise.

Les pics de cristallisation et de fusion des deux triblocs sont associés aux blocs externes PEG_{1000}. Les températures de fusion (~ 20 °C) sont légèrement inférieures à celles des blocs hors mélange (DAT : 26 °C et Thy : 23 °C) avec une enthalpie de fusion diminuée de - 36% pour le **tribloc 3** (126 J/g PEG_{1000}-DAT seul *vs* 81 J/g **tribloc 3**) mais augmentée de + 14 % pour le **tribloc 4** (86 J/g PEG_{1000}-Thy seul *vs* 98 J/g **tribloc 4**).

Ce phénomène s'observe également pour les températures et enthalpies de cristallisation. Pour les blocs externes PEG_{1000}-DAT (**tribloc 3**), on observe désormais une cristallisation froide (-17 °C) et une augmentation de l'enthalpie de + 11 % (75 J/g PEG_{1000}-DAT seul *vs* 83 J/g **tribloc 3**). Pour les blocs externes PEG_{1000}-Thy (**tribloc 4**), la cristallisation froide est plus tardive (-16 °C vs -35 °C) avec une très forte augmentation de l'enthalpie associée de +132% (41 J/g PEG_{1000}-Thy seul *vs* 95 J/g **tribloc 4**).

Pour le **tribloc 4**, comme observé pour les copolymères supramoléculaires contenant un bloc PEG greffé Thy (**dibloc 1**, **multibloc 1**, **tribloc 1**), l'ajout d'un bloc PPG greffé DAT introduit des interactions Thy/DAT compétitrices des interactions de « solvatation » Thy/PEG : la cristallinité des blocs PEG est améliorée.

Pour le **tribloc 3**, comme observé pour les copolymères contenant un bloc PEG greffé DAT (**dibloc 2**, **multibloc 2**, **tribloc 2**), la cristallinité des blocs PEG déjà optimale est impactée par l'introduction des unités thymines. De nouvelles interactions Thy/PEG s'établissent et entrainent une augmentation moindre de la cristallinité des blocs PEG.

Conclusion

L'étude des blocs supramoléculaires hors mélange nous apprend que le greffage des unités supramoléculaires aux extrémités des chaines PEG et PPG réduit leur mobilité, ce qui se traduit par une augmentation de la T_g. Cet effet d'ancrage est attribué à la rigidité des motifs, leur aptitude à s'agréger et à former des liaisons hydrogène. Toutefois, l'étude des copolymères supramoléculaires nous montre que la force de la liaison supramoléculaire n'a que peu d'incidence sur cet effet d'ancrage : la T_g des blocs PPG (seule détectable sur les thermogrammes) reste similaire que la liaison soit faible (DAT/DAT, Thy/Thy) ou forte (Thy/DAT).

Le véritable impact concerne la cristallisation des blocs PEG. Comme nous l'avons montré pour les blocs hors mélange, la chaine PEG peut interagir (« solvater ») les unités thymines très polaires, et dans une moindre mesure, les unités DAT (moins polaires). Dans les

copolymères à blocs, il y a alors compétition entre l'interaction supramoléculaire Thy/DAT et la « solvatation » Thy/PEG. La première étant directionnelle, sélective et forte, est prépondérante. Ainsi, tous les copolymères construits à partir d'un bloc PEG greffé Thy (mono ou difonctionnel) auront une meilleure cristallinité que le bloc seul correspondant hors mélange. Les copolymères construits à partir d'un bloc PEG greffé DAT auront également une cristallinité améliorée, mais dans une moindre mesure.

En DSC, la formation des liaisons Thy/DAT entre blocs est démontrée par la disparation des pics de fusion/cristallisation des thymines cristallisées à haute température. En microscopie optique, on observe également que tous les mélanges supramoléculaires sont homogènes, même après la fusion des blocs PEG, alors qu'un mélange non fonctionnel est macro-séparé quelle que soit la température.

La compétition entre interactions Thy/DAT et Thy/PEG se manifeste en masse par la variation de cristallinité des blocs PEG. Les liaisons Thy/DAT, proportionnellement moins nombreuses que les liaisons Thy/PEG dans les copolymères, sont donc particulièrement fortes. Nous cherchons maintenant à caractériser la force des liaisons Thy/DAT en solution, par la mesure des constantes d'association $K_{Thy/DAT}$ pour les copolymères supramoléculaires en solution par RMN ^{1}H.

III. Caractérisation de l'association Thy/DAT : effet du solvant

De nombreuses études ont été réalisées sur les polymères supramoléculaires en solution.[47–49] Leur association est influencée par des paramètres thermodynamiques (constante d'association K) et cinétiques (temps de vie de l'association τ) (Figure 23). L'association entre deux unités supramoléculaires est donc un équilibre dynamique, non figé, entre la forme associée AB et les formes libres A et B.

Figure 23 – Association entre deux unités supramoléculaires A et B, formant un complexe AB, avec K_{AB} la constante d'équilibre de l'association AB, k_1 la constante de vitesse d'association, k_{-1} la constante de vitesse de dissociation, [AB] la concentration du complexe AB, [A] la concentration de l'unité A libre, et [B] la concentration de l'unité B libre.

Il a été montré que la nature du solvant peut grandement influencer la force des interactions supramoléculaires.[50] C'est le cas des polymères greffés avec les unités Thy/DAT utilisées dans notre étude. En effet, Cortese *et al.* ont démontré l'impact du solvant sur un système supramoléculaire constitué de chaines PPG, hétéro ou homo difonctionnalisées par des unités Thy et DAT (Figure 24), par RMN ^{1}H et des mesures de viscosités.[25]

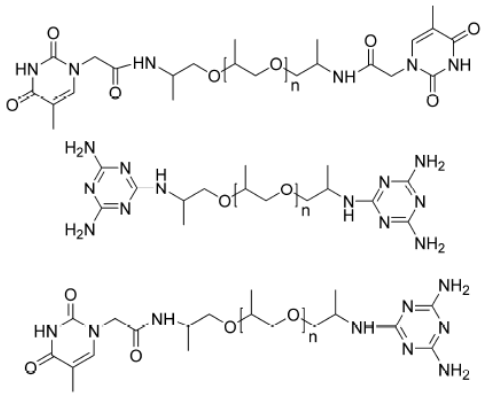


Figure 24 – Polymères PPG supramoléculaires difonctionnels étudiés par Cortese *et al.*[25]

Les solvants protiques et/ou polaires comme le DMSO sont des solvants *dissociants*, c'est-à-dire compétiteurs des liaisons hydrogène entre les unités associatives Thy/DAT. Le DMSO solubilise préférentiellement les unités supramoléculaires, polaires, mais pas ou peu les chaines PPG peu polaires. Il en résulte que les polymères forment des micelles avec les unités supramoléculaires à l'extérieur et les chaines PPG à l'intérieur. Au contraire, dans des solvants peu polaires comme le toluène, seules les chaines PPG sont en bon solvant. Dans ce cas, les unités supramoléculaires s'associent fortement au cœur de micelles formées de chaines PPG à l'extérieur, et la constante d'association Thy/DAT ne dépend pas de la concentration. Enfin, dans le chloroforme, solvant aprotique mais non sélectif, bon solvant des chaines PPG et des motifs Thy et DAT, les polymères difonctionnels s'associent et forment des chaines dont la taille dépend de la concentration, la constante d'association est donc variable. Ainsi, pour optimiser l'association Thy/DAT, il est essentiel d'utiliser un solvant apolaire, mauvais solvant des unités supramoléculaires et non compétiteur des liaisons hydrogène (aprotique).

On a cherché à déterminer les constantes d'association des copolymères supramoléculaires en fonction de la nature du solvant et de la température. Leur analyse thermique (DSC) nous a appris que le nombre de blocs (di-, tri- et multiblocs), leur nature chimique (rapport PEG/PPG) ainsi que la nature des motifs supramoléculaires qu'ils portent (Thy ou DAT) avaient un fort impact sur la cristallinité des blocs PEG. En effet, celle-ci dépend de la compétition entre les interactions Thy/DAT et les interactions de « solvatation » Thy/PEG (et dans une moindre mesure DAT/PEG). Le bloc PEG peut alors être vu comme un compétiteur des liaisons hydrogène puisqu'il empêche les unités supramoléculaires de s'associer. Il semble donc probable que dans un même solvant, les constantes d'association dépendront de la structure et de la composition du copolymère étudié, selon que la solvatation de la chaine PEG est plus ou moins effective.

1. Analyses préalables des blocs supramoléculaires

Les blocs supramoléculaires hors mélange - PEG et PPG, mono et difonctionnels – sont analysés préalablement. On s'intéresse aux déplacements chimiques des protons des unités supramoléculaires impliqués dans les auto-associations : le proton imino de la thymine, NH_{Thy}

(D), dans l'association Thy/Thy ; et les protons des amines des diaminotriazines, $NH_{2\ DAT}$ (A, B), dans l'association DAT/DAT (Figure 25).

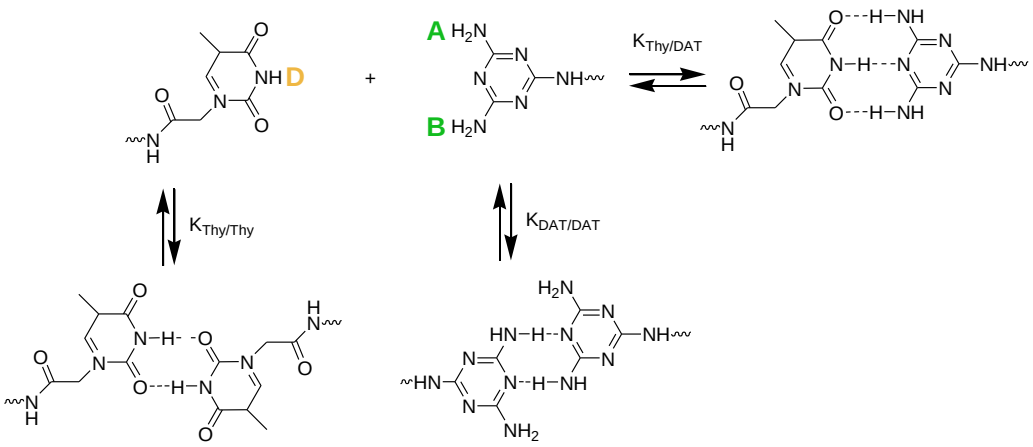


Figure 25 – Association complémentaire Thy/DAT, et auto-associations Thy/Thy, DAT/DAT.

L'étude est conduite dans le DMSO-d_6, $CDCl_3$ et le toluène-d_8 (concentration de 0.07 g/cm^3). Les déplacements chimiques des protons imino (D) et amino (A, B) sont reportés dans le Tableau 17.

Tableau 17 – Déplacements chimiques des protons imino NH_{Thy} (D) et amino $NH_{2\ DAT}$ (A, B) pour différentes solutions de blocs hors mélange, à 0.07 g/cm^3.

Bloc supramoléculaire	DMSO-d_6	$CDCl_3$	Toluène-d_8
$\delta_{NH\ Thy\ (D)}$ (ppm)			
PPG_{2000}-Thy	11.2	9	10
Thy-PPG_{2000}-Thy	11.2	9.2	10.2
PEG_{1000}-Thy	11.2	9	10.2
Thy-PEG_{2000}-Thy	11.2	9	10.2
$\delta_{NH2\ DAT\ (A,B)}$ (ppm)			
PPG_{2000}-DAT	6.1	4.9	5.9
DAT-PPG_{2000}-DAT	5.9	5.1	6
PEG_{1000}-DAT	6.1	5	6
DAT-PEG_{2000}-DAT	6.0	5	6.1

Les déplacements chimiques des NH_{Thy} (D) et $NH_{2\ DAT}$ (A, B) des PPG_{2000} difonctionnels sont identiques à ceux relevés par Cortese *et al.*[25] On observe ici que, pour un solvant donné, ces déplacements chimiques n'évoluent ni avec la nature chimique ni avec la fonctionnalité de la chaine.

2. Détermination de la constante d'association $K_{Thy\text{-}DAT}$ par titration

Les constantes d'association des polymères supramoléculaires peuvent être déterminées par titration RMN ^{1}H, en supposant que le mécanisme d'association est isodesmique[51,52] et que les

valeurs des constantes sont inférieures à 10^4 ou 10^5 L/mol.[51] En effet, les déplacements chimiques des protons des unités Thy et DAT impliqués dans les liaisons hydrogène (**D** et **A, B**, Figure 25) varient de façon notable selon que les unités sont libres, auto ou hétéro-associées. Ces déplacements chimiques reflètent la force de l'association Thy/DAT : plus ils sont déblindés, plus l'équilibre supramoléculaire est déplacé vers sa forme associée Thy/DAT, et par conséquent, plus la constante d'association $K_{Thy\text{-}DAT}$ est forte (Figure 26, pour le mélange équimolaire PPG_{2000}-DAT+PEG_{1000}-Thy, **dibloc 1**). On notera par ailleurs que le temps de vie des espèces libres et associées étant plus court que le temps d'acquisition de la RMN, les déplacements chimiques observés sont une moyenne des déplacements chimiques de chacune des espèces. Les constantes d'auto-associations ($K_{Thy\text{-}Thy}$ et $K_{DAT\text{-}DAT}$) et d'hétéro-association Thy/DAT ($K_{Thy\text{-}DAT}$) dans le DMSO-d_6 et dans le $CDCl_3$ sont calculées à partir des déplacements chimiques de NH_{Thy} (**D**) en fonction de la concentration de chaque espèce. Les courbes de titrages obtenues sont fittées par la méthode des moindres carrés à l'aide du programme EQNMR.[53] Les détails de cette procédure sont disponibles en annexe 3.

La détermination des constantes d'association dans le toluène-d_8 sera abordée plus loin, les valeurs attendues étant supérieures à 10^4 L/mol et ne pouvant être mesurées que par des expériences en température.[25]

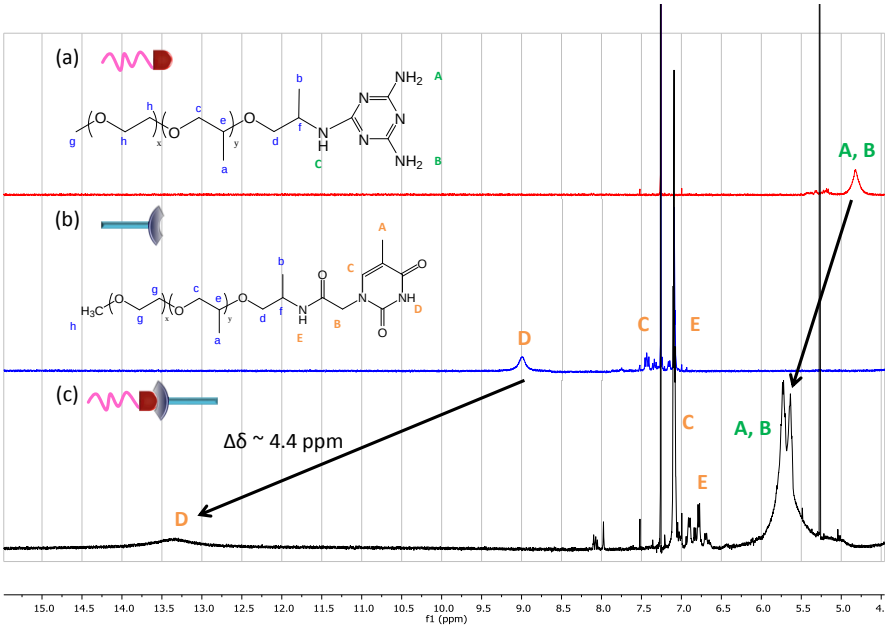


Figure 26 – RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 25 °C) à 0.13 g/cm^3 de : a) PPG_{2000}-DAT, b) PEG_{1000}-Thy, c) dibloc 1, formé au préalable.

Une correspondance est donnée entre les concentrations en g/cm^3 et celles en mol/L en annexe 2.

a. Copolymères supramoléculaires en solvant polaire (DMSO-d_6)

Les expériences sont conduites à 25 °C dans le DMSO-d_6. Une solution de PEG_{1000}-Thy à 0.12 mol/L est titrée par des solutions de concentrations croissantes de PPG_{2000}-DAT (système **dibloc 1**). Les mêmes expériences sont reproduites pour le titrage d'une solution de PPG_{2000}-Thy à 0.12 mol/L par des solutions de PEG_{1000}-DAT (système **dibloc 2**).

Les déplacements chimiques du proton imino NH_{Thy} (**D**) sont reportés en fonction de la concentration en titrant, PPG_{2000}-DAT ou PEG_{1000}-DAT. Les résultats expérimentaux et le fit réalisé avec EQNMR sont reportés Figure 27 et Figure 29. Le fit se fait par ajustement des déplacements chimiques du proton imino NH_{Thy} (**D**) complètement libre et complètement associé.

Les constantes d'associations $K_{Thy/DAT}$ obtenues pour les deux diblocs sont identiques à celle mesurée pour le système « tout PPG » de Cortese dans le même solvant[25] : 1.3 L/mol. Cette faible valeur reflète la solvatation des unités Thy et DAT polaires par le solvant polaire et aprotique (constante diélectrique ε_{DMSO} = 46.7, polarité relative du DMSO = 0.444),[54] qui supprime toute interaction supramoléculaire Thy/DAT.

Pour le **dibloc 1**, PPG_{2000}-DAT+PEG_{1000}-Thy, la présence de chaine PEG n'a aucun effet : les déplacements chimiques des protons labiles NH_{Thy} (**D**) et $NH_{2\ DAT}$ (**A, B**) sont identiques pour les solutions de blocs séparés ou mélangés (Figure 28). On note toutefois que l'intensité du signal du NH_{Thy} (**D**) est diminuée dans le mélange.

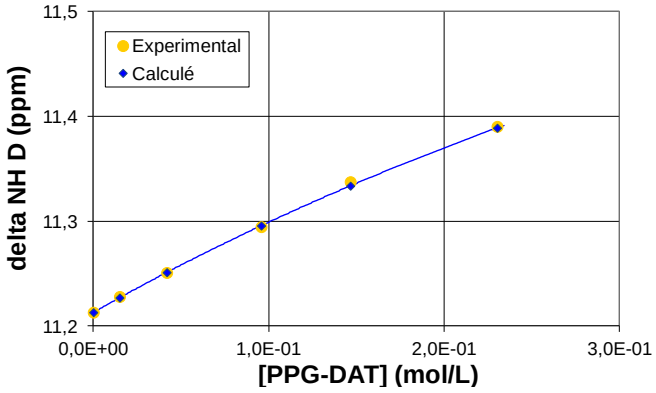


Figure 27 – Dibloc 1 : titration par RMN ^{1}H dans DMSO-d_6 à 25 °C de PEG_{1000}-Thy (0.12 mol/L) par des solutions de PPG_{2000}-DAT (0 à 0.23 mol/L), $K_{Thy/DAT}$ = 1.3 L/mol, $\delta_{Thy\ libre}$ = 11.21 ppm, $\delta_{Thy\ associé}$ = 12.4 ppm.

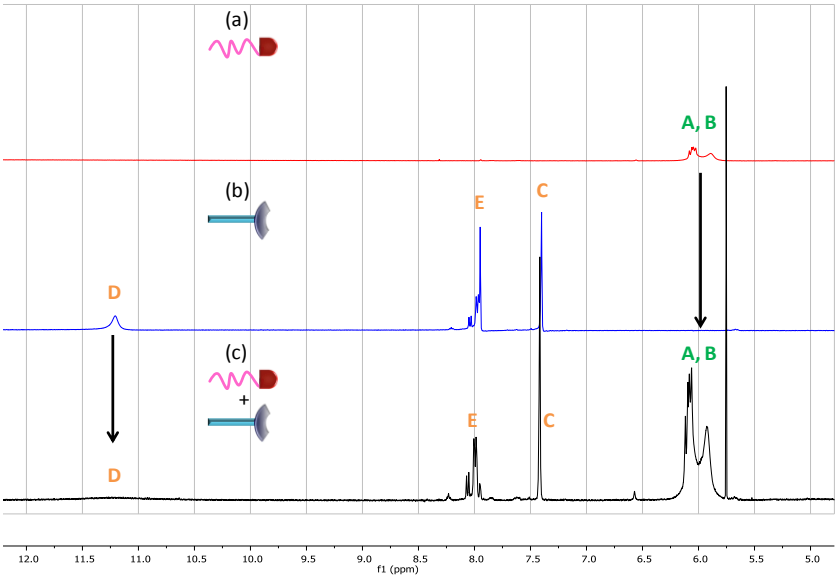


Figure 28 – RMN ^{1}H à 25 °C à 0.13 g/cm^3 dans DMSO-d_6 : (a) PPG_{2000}-DAT, (b) PEG_{1000}-Thy, (c) dibloc 1.

Pour le **dibloc 2** (PPG_{2000}-Thy+PEG_{1000}-DAT), le déplacement chimique des $NH_{2\ DAT}$ (**A**, **B**) est inchangé mais celui du NH_{Thy} (**D**) se blinde de 11.2 ppm pour le bloc seul à 10.7 ppm pour le dibloc (Figure 30). On obtient ainsi une courbe de titration décroissante. Ce déplacement chimique « négatif » pourrait s'expliquer par l'augmentation des interactions de « solvatation » Thy/PEG à mesure que le titrant est introduit. Pour solvater l'unité Thy, la chaine PEG doit adopter une conformation spécifique, comparable aux éthers-couronnes,[37] qui favorise les interactions Thy/PEG par effet coopératif. L'unité Thy est donc non associée mais aussi isolée du solvant. Ces résultats confirment l'analyse DSC qui a montré que l'introduction d'unités Thy induit des interactions Thy/PEG diminuant la cristallinité des chaines PEG.

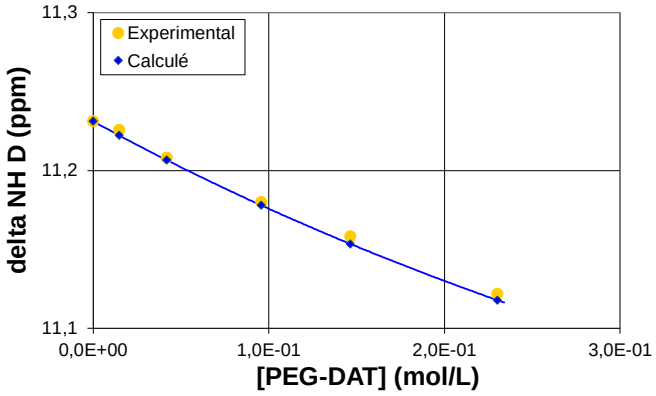


Figure 29 – Dibloc 2 : titration par RMN ^{1}H dans DMSO-d_6 à 25 °C de PPG_{2000}-Thy (0.12 mol/L) par des solutions de PEG_{1000}-DAT (0 à 0.23 mol/L), $K_{Thy/DAT}$ = 1.3 L/mol, $\delta_{Thy\ libre}$ = 11.23 ppm, $\delta_{Thy\ final}$ = 10.7 ppm.

A. **B.**

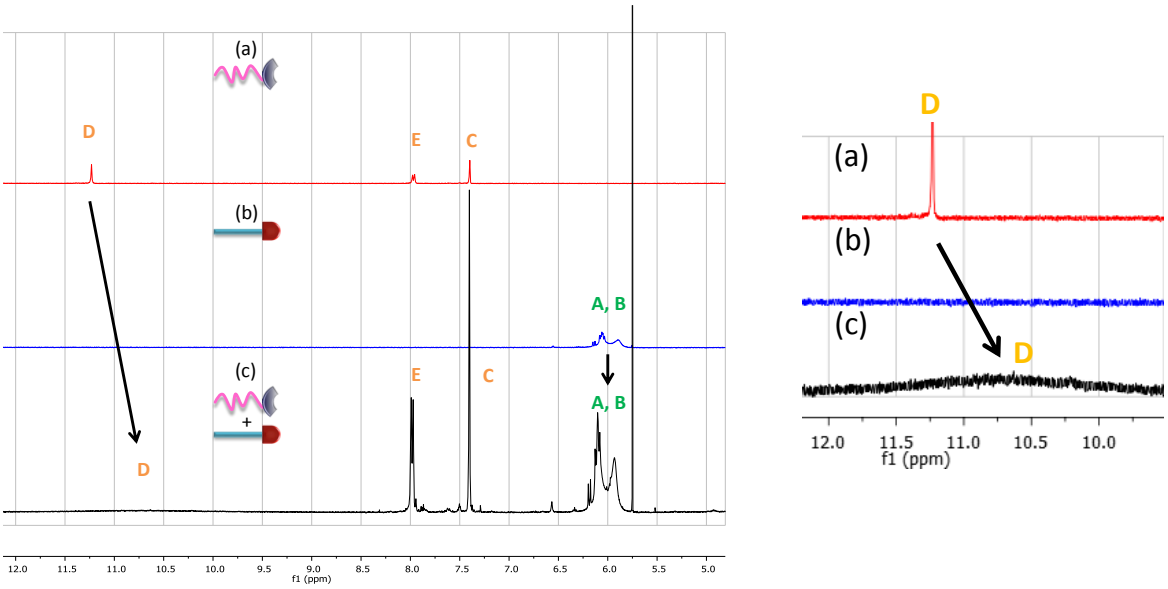


Figure 30 – RMN ^{1}H à 25 °C de solutions à 0.13 g/cm^3 dans DMSO-d_6 : (a) PPG_{2000}-DAT, (b) PEG_{1000}-Thy, (c) dibloc 2 et zoom sur la zone d'intérêt (B).

Le blindage de NH_{Thy} (**D**) est également observé pour le **tribloc 3** (à 10.4 ppm) qui contient le bloc PEG_{1000}-DAT.

Les autres copolymères supramoléculaires présentent un comportement similaire au **dibloc 1** dans le DMSO-d_6 aucune évolution des déplacements chimiques des protons labiles NH_{Thy} (**D**) et $NH_{2\ DAT}$ (**A**, **B**) entre les solutions de blocs séparés ou mélangés.

b. Copolymères supramoléculaires en solvant peu polaire et non sélectif ($CDCl_3$)

Les mêmes expériences que précédemment sont conduites dans $CDCl_3$ à 25 °C : une solution de PEG_{1000}-Thy à 0.12 mol/L est titrée par des solutions de concentrations croissantes de PPG_{2000}-DAT (système **dibloc 1**) et une solution de PPG_{2000}-Thy à 0.12 mol/L est titrée par des solutions de PEG_{1000}-DAT (système **dibloc 2**).

Les déplacements chimiques du proton imino NH_{Thy} (**D**) sont reportés en fonction de la concentration en chaine polymère greffée DAT. Les résultats expérimentaux et le fit réalisé avec EQNMR sont reportés Figure 31.

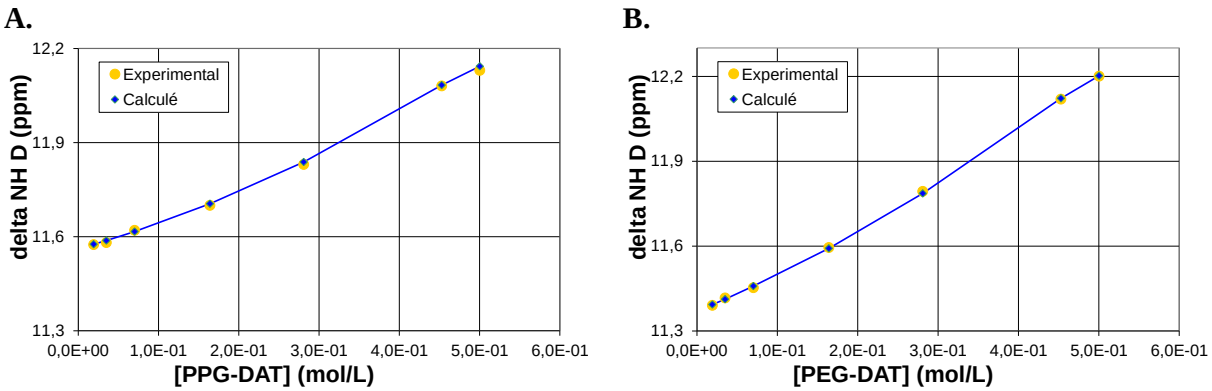


Figure 31 – Titration par RMN ^{1}H dans $CDCl_3$ à 25 °C de (A) dibloc 1 : PEG_{1000}-Thy par PPG_{2000}-DAT ($K_{Thy/DAT}$ = 916 L/mol, $\delta_{Thy\ libre}$ = 10.8 ppm, $\delta_{Thy\ associé}$ = 12.9 ppm) et (B) dibloc 2 : PPG_{2000}-Thy par PEG_{1000}-DAT ($K_{Thy/DAT}$ = 610 L/mol, $\delta_{Thy\ libre}$ = 10.82 ppm, $\delta_{Thy\ associé}$ = 12.3 ppm).

Les constantes d'associations sont calculées à 916 L/mol pour la titration de PPG_{2000}-DAT par PEG_{1000}-Thy (**dibloc 1**) et à 610 L/mol pour celle de PEG_{1000}-DAT par PPG_{2000}-Thy (**dibloc 2**). Bien que du même ordre de grandeur que celles reportées dans la littérature pour Thy/DAT dans le chloroforme,[25,26] il apparaît que la force de l'association Thy/DAT dépend clairement de la position relative des blocs PEG et PPG.

L'association Thy/DAT plus faible pour le système PPG_{2000}-Thy+PEG_{1000}-DAT (**dibloc 2**) indique que la thymine n'est pas exclusivement en interaction avec le DAT. De nouveau, la chaine PEG joue un rôle de compétiteur en « solvatant » les thymines polaires à la façon des éthers-couronnes.[37] Bien que moins forte que l'interaction Thy/DAT, l'effet coopératif des unités EG favorise la solvatation de la thymine par la chaine PEG (Figure 32). Ce résultat confirme également ceux de l'analyse thermique : la cristallinité du bloc PEG est inférieure dans le **dibloc 2** (augmentation de l'enthalpie de cristallisation par rapport au bloc PEG seul : + 28% pour **dibloc 2** et + 85% pour **dibloc 1**).

Néanmoins, cette interaction Thy/PEG dans le $CDCl_3$ est moins forte que l'interaction Thy/DMSO et n'empêche pas complètement la formation des paires associées Thy/DAT : la constante d'association est donc plus faible mais non nulle.

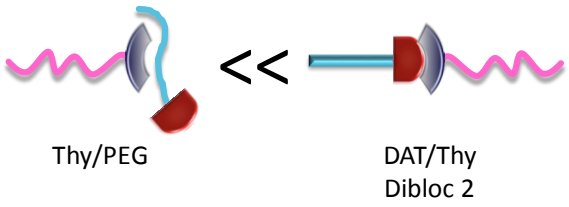


Figure 32 – Représentation des interactions Thy/PEG et Thy/DAT pour le dibloc 2, dans $CDCl_3$.

Hors mélange, on observe déjà l'effet de solvatation de la chaine PEG : le déplacement chimique du proton imino NH_{Thy} (**D**) est à 9 ppm pour PEG_{1000}-Thy, légèrement plus déblindé que pour PPG_{2000}-Thy (8.5 ppm). Dans les **diblocs 1** et **2**, le signal se déblinde à 13.4 ppm ($\Delta\delta$ ~ 4.4 ppm, Figure 26) et à 11.3 ppm ($\Delta\delta$ ~ 2.8 ppm), respectivement. Ces deux valeurs encadrent celle mesurée pour les systèmes « tout PPG » de Cortese (12.2 ppm) pour lesquels il n'y a pas d'interaction compétitrice de la liaison Thy/DAT. Ce comportement est également observé pour les protons amino $NH_{2\ DAT}$ (**A**, **B**) mais de façon moins marquée ($\Delta\delta$ ~ 0.9 ppm), ce qui confirme que l'interaction DAT/PEG est moins forte que Thy/PEG et donc moins compétitrice.

Ainsi, les chaines PEG diminuent les interactions Thy/DAT en « solvatant » partiellement les unités Thy, et ce d'autant plus efficacement qu'elles ne lui sont pas attachées, comme le montrent les valeurs des constantes d'association dans les différents systèmes (Tableau 18) :

Tableau 18 – Constantes d'associations $K_{Thy/DAT}$ pour différents diblocs dans $CDCl_3$.

Diblocs supramoléculaires	Composition	Constante d'association (L/mol)
dibloc 1	PEG_{1000}-Thy + PPG_{2000}-DAT	916
système « tout PPG » [25]	PPG_{2000}-Thy + PPG_{2000}-DAT	810
dibloc 2	PEG_{1000}-DAT + PPG_{2000}-Thy	610

Cet effet se retrouve pour les triblocs comme le montre l'évolution du déplacement chimique du proton imino NH_{Thy} (**D**) (Tableau 19). Avec le bloc PEG_{1000}-Thy, les interactions Thy/DAT sont optimales (**tribloc 4**, entrée 3), mais moins efficaces avec le bloc difonctionnel Thy-PEG_{2000}-Thy (**tribloc 1**, entrée 4). La même tendance est observée pour le **multibloc 1** constitué de Thy-PEG_{2000}-Thy (entrée 7). Dans ce cas, même si la chaine PEG est plus longue, sa mobilité est restreinte par les unités thymine terminales. Il lui est donc plus difficile d'adopter les conformations nécessaires à la solvatation des Thy

Cette mobilité restreinte des chaines PEG difonctionnelle, et donc leur difficulté à adopter une conformation de solvatation efficace s'observe également pour le **multibloc 2** à bloc DAT-PEG_{2000}-DAT (entrée 8). Il en résulte que δ_{NHThy} est similaire pour les deux multiblocs et comparable à la valeur enregistrée pour le système multiblocs « tout PPG » (12.2 ppm).[25]

Tableau 19 – Déplacements chimiques de NH_{Thy} des copolymères supramoléculaires dans $CDCl_3$.

Entrée	Copolymères supramoléculaires	Composition	δ NH_{Thy} (ppm)
1	**dibloc 1**	**PEG_{1000}-Thy** + PPG_{2000}-DAT	**13.4**
2	**dibloc 2**	**PPG_{2000}-Thy** + PEG_{1000}-DAT	**11.3**
3	**tribloc 4**	**PEG_{1000}-Thy** + DAT-PPG_{2000}-DAT	**13.2**
4	**tribloc 1**	**Thy-PEG_{2000}-Thy** + PPG_{2000}-DAT	**12.3**
5	**tribloc 2**	**PPG_{2000}-Thy** + DAT-PEG_{2000}-DAT	**11.8**
6	**tribloc 3**	**Thy-PPG_{2000}-Thy** + PEG_{1000}-DAT	**11.7**
7	**multibloc 1**	**Thy-PEG_{2000}-Thy** + DAT-PPG_{2000}-DAT	**12.4**
8	**multibloc 2**	Thy-PPG_{2000}-Thy + DAT-PEG_{2000}-DAT	**12.3**

3. Détermination de la constante d'association $K_{Thy/DAT}$ en solvant apolaire sélectif (toluène-d_8) – Etude en température

Dans le toluène-d_8, quel que soit le copolymère, le déplacement chimique du proton imino NH_{Thy} (D) est plus déblindé que dans $CDCl_3$ (≈ + 1 ppm, Tableau 20). L'association Thy/DAT est donc particulièrement forte. Les unités polaires Thy et DAT sont moins solvatés par le toluène peu polaire ($\varepsilon_{toluène}$ = 2.4, polarité relative = 0.099[54]), que par le $CDCl_3$ plus polaire ($\varepsilon_{Chorofomre}$ = 4.8, polarité relative = 0.259[55]). Les unités Thy/DAT tendent alors à « se cacher » au milieu des chaines PPG et PEG en bon solvant, ce qui renforce leur association.

Tableau 20 – Déplacements chimiques de NH_{Thy} (D) des copolymères supramoléculaires dans toluène-d_8.

Entrée	Copolymères supramoléculaires	Copolymères supramoléculaires	δ NH_{Thy} (ppm)
1	**dibloc 1**	**PEG_{1000}-Thy** + PPG_{2000}-DAT	**14.4**
2	**dibloc 2**	**PPG_{2000}-Thy** + PEG_{1000}-DAT	**12.3**
3	**tribloc 4**	**PEG_{1000}-Thy** + DAT-PPG_{2000}-DAT	**14.4**
4	**tribloc 1**	**Thy-PEG_{2000}-Thy** + PPG_{2000}-DAT	**13.8**
5	**tribloc 2**	**PPG_{2000}-Thy** + DAT-PEG_{2000}-DAT	**13.4**
6	**tribloc 3**	**Thy-PPG_{2000}-Thy** + PEG_{1000}-DAT	**12.6**
7	**multibloc 1**	**Thy-PEG_{2000}-Thy** + DAT-PPG_{2000}-DAT	**14**
8	**multibloc 2**	Thy-PPG_{2000}-Thy + DAT-PEG_{2000}-DAT	**13.8**

Comme précédemment, l'effet des chaines PEG sur la force de l'association supramoléculaire Thy/DAT est observé. Lorsque la chaine PEG est attachée à la thymine, l'association Thy/DAT est optimale (δ NH_{Thy} = 14.4 ppm, entrées 1 et 3), alors que lorsqu'elle est attachée au DAT et suffisamment mobile (monofonctionnelle) pour solvater les unités thymines, l'association est minimale (δ NH_{Thy} = 12.3 ppm, entrée 2 et 6). Comme précédemment, l'effet de solvatation des chaines PEG difonctionnelles est moins marqué, leur mobilité étant réduite par l'effet d'ancrage des bouts de chaines (δ NH_{Thy} à 13.8 et 14 ppm, entrées 4 et 7).

Les constantes d'association $K_{Thy/DAT}$ mesurées dans le toluène-d_8 pour les systèmes « tout PPG » sont égales à 2.10^4 L/mol à 25 °C. Comme observé dans $CDCl_3$, on s'attend à des mesures qui encadrent cette valeur pour les systèmes amphiphiles PPG/PEG. Il n'est donc pas possible de procéder par titration RMN ^1H, cette technique étant limitée à des constantes

inférieures à 10^4 L/mol[52] ou 10^5 L/mol.[51] Les constantes d'auto et d'hétéro-associations sont donc déterminées en température.

Par itération d'un système d'équations à multiples inconnues (équations 1 à 6), il est possible d'estimer $K_{Thy-Thy}^{T,toluene}$. Le détail des calculs est donné en annexe 3.

$$\delta_{Thy\ exp}(T) = \frac{[Thy]}{C_{Thy}}\delta_{Thy\ libre} + \frac{2[Thy=Thy]}{C_{Thy}}\delta_{Thy\ dim} + \frac{[Thy=DAT]}{C_{Thy}}\delta_{Thy\ asso} \quad (1)$$

$$C_{Thy} = [Thy] + 2[Thy=Thy] + [Thy=DAT] \quad (2)$$

$$C_{DAT} = [DAT] + 2[DAT=DAT] + [Thy=DAT] \quad (3)$$

$$K_{Thy-DAT} = \frac{[Thy=DAT]}{[Thy][DAT]} \quad (4)$$

$$K_{Thy-Thy} = \frac{[Thy=Thy]}{[Thy]^2} \quad (5)$$

$$K_{DAT-DAT} = \frac{[DAT=DAT]}{[DAT]^2} \quad (6)$$

Pour résoudre ce système, il est nécessaire de déterminer préalablement les inconnues suivantes : les valeurs extrêmes des déplacements chimiques de NH_{Thy} (**D**) et $NH_{2\ DAT}$ (**A**, **B**), sous forme libre, associée et auto-associée, et les constantes d'auto-associations ($K_{Thy-Thy}^{T,toluene}$ et $K_{DAT-DAT}^{T,toluene}$).

Les déplacements chimiques extrêmes des formes libres ($\delta_{Thy\ libre}$, $\delta_{DAT\ libre}$) et auto-associées ($\delta_{Thy\ dim}$, $\delta_{DAT\ dim}$) des unités supramoléculaires peuvent être estimés par extrapolation des mesures expérimentales en la température. L'extrapolation à très basse température fournit celui de la forme complètement auto-associée (δ_{dim}), c'est-à-dire quand la cinétique association/dissociation est très ralentie (temps de vie de l'espèce auto-associée infini). L'extrapolation à très haute température fournit celui de la forme totalement dissociée (δ_{libre}), c'est-à-dire quand la cinétique association/dissociation est très rapide (temps de vie de l'espèce auto-associée nul). Ces valeurs extrêmes sont indépendantes du solvant.

Des solutions à 0,11 mol/L dans le toluène-d_8 de PPG_{2000}-DAT, PPG_{2000}-Thy, PEG_{1000}-DAT et PEG_{1000}-Thy ont été étudiées par RMN ^1H entre 0 °C et 70 °C. Le fit sigmoïdal des déplacements chimiques mesurés de NH_{Thy} (**D**) et $NH_{2\ DAT}$ (**A**, **B**) permet de déterminer les valeurs extrêmes (Tableau 21, Figure 33).

Tableau 21 – Déplacements chimiques extrêmes de NH_{Thy} (D) et de $NH_{2\ DAT}$ (A, B) sur des chaines PEG et PPG monofonctionnelles, dans le toluène-d_8.

δ (ppm)	PPG_{2000}	PEG_{1000}
$\delta_{Thy\ libre}$	4,3	5,7
$\delta_{Thy\ dim}$	13,3	12,6
$\delta_{DAT\ libre}$	4,9	5,1
$\delta_{DAT\ dim}$	7,3	7,2

On note que les valeurs extrêmes du proton imino NH_{Thy} (D) sont sensibles à la nature chimique de la chaine polymère. Pour l'espèce libre, il apparaît plus déblindé avec la chaine PEG qu'avec la chaine PPG, mais plus blindé pour l'espèce complètement associée. Ce résultat traduit là aussi l'effet de solvatation de la chaine PEG : pour l'espèce libre, les interactions PEG/Thy déblindent le proton imino ; pour l'espèce associée, elles sont en compétition avec l'interaction Thy/Thy, plus forte, et diminue son efficacité. Le même effet, mais beaucoup moins marqué, est observé pour les protons amine $NH_{2\ DAT}$ (A, B) de l'unité DAT.

Ces valeurs sont en accord avec la littérature[56] et du même ordre de grandeur que celles trouvées par Cortese pour le système de référence PPG : $\delta_{Thy\ libre}$ = 7.90 ppm, $\delta_{Thy\ dim}$ = 11.17 ppm, $\delta_{DAT\ libre}$ = 4.40 ppm, $\delta_{DAT\ dim}$ = 7.63 ppm.[25] Cependant, comparé aux blocs PPG de notre étude, les valeurs extrêmes de la thymine sont décalées : plus faible pour l'espèce libre (4.3 ppm) et plus forte pour l'espèce associée (13.3 ppm). Ces différences sont probablement dues à la fonctionnalité des chaines, difonctionnelles dans le cas de Cortese, monofonctionnelles dans notre étude. En effet, dans le cas d'un polymère difonctionnel, la probabilité de former des cycles n'est pas négligeable, notamment aux plus faibles concentrations : l'espèce totalement dissociée est difficilement atteignable. De la même façon, l'espèce totalement associée est statistiquement plus difficile à atteindre.

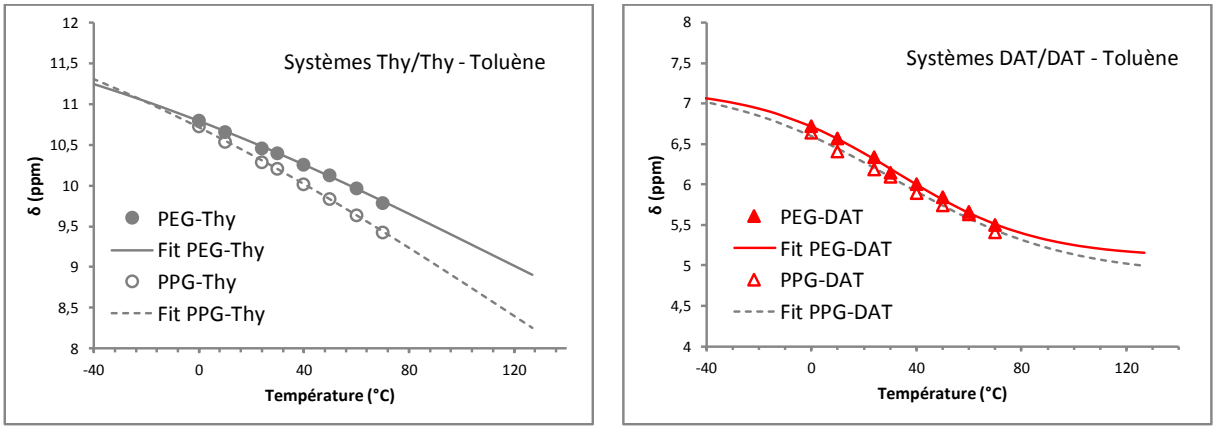


Figure 33 – Détermination des valeurs extrêmes des déplacements chimiques de chimiques de NH_{Thy} (D) et de $NH_{2\ DAT}$ (A, B), par expériences RMN ^1H en température dans toluène-d_8 et fit sigmoïdal.

Connaissant $\delta_{libre\ X}$ et $\delta_{dim\ X}$ (X = Thy ou DAT), $K_{exp\ X}$ pour une solution de PPG-X et PEG-X à une température donnée dans le toluène, et la concentration totale d'unités X (C_X) dans la solution, il est possible d'estimer $K_{X\text{-}X}$ (T, toluène) à partir des équations 7 à 9 (trois équations, trois inconnues, [X], [X=X] et $K_{X\text{-}X}$). Les valeurs des constantes de dimérisation en fonction de la température dans le toluène-d_8 (0 à 70 °C) sont ressemblées dans le Tableau 23.

$$\delta_{\text{exp X}}(T) = \frac{[X]}{C_X}\delta_{\text{X libre}} + \frac{2\,[X=X]}{C_X}\delta_{\text{X dim}} \quad (7)$$

$$C_X = [X] + 2\,[X=X] \quad (8)$$

$$K_{X-X} = \frac{[X=X]}{[X]^2} \quad (9)$$

De la même façon, on estime les déplacements chimiques extrêmes de NH_{Thy} (**D**) sous sa forme libre et associée Thy/DAT ($\delta_{\text{Thy min et asso}}$), dans des solutions de PPG_{2000}-DAT + PEG_{1000}-Thy (**dibloc 1**) et PPG_{2000}-Thy + PEG_{1000}-DAT (**dibloc 2**). Le fit sigmoïdal du déplacement chimique de NH_{Thy} (**D**) conduit aux valeurs extrêmes du Tableau 22 (Figure 34). Les valeurs de $\delta_{\text{Thy asso}}$ encadrent celle obtenue pour le système « tout PPG » (14,5 ppm), l'effet compétiteur de solvatation de la chaine PEG étant maximal pour le **dibloc 2** (blindage) et diminué pour le **dibloc 1** (déblindage).

Tableau 22 - Valeurs des déplacements chimiques extrêmes de NH_{Thy} (D) sous forme associée, dans les mélanges diblocs 1 et 2, dans toluène-d_8.

δ (ppm)	**Dibloc 1** PPG_{2000}-DAT + PEG_{1000}-Thy	**Dibloc 2** PPG_{2000}-Thy + PEG_{1000}-DAT
$\delta_{\text{Thy min}}$	12,4	10,6
$\delta_{\text{Thy asso}}$	15,8	13,8

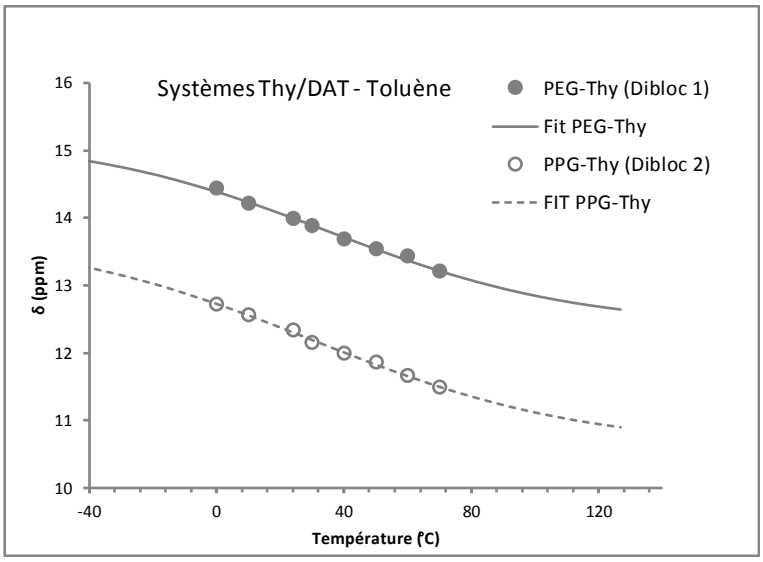


Figure 34 - Détermination des valeurs extrêmes des déplacements chimiques de NH_{Thy} (D) sous forme associée avec l'unité DAT, dans les mélanges dibloc 1 (A) et 2 (B), dans toluène-d_8, par RMN ^{1}H en température et fit sigmoïdal.

En utilisant les paramètres précédemment déterminés, $\delta_{\text{Thy libre}}$, $\delta_{\text{Thy dim}}$, et $\delta_{\text{Thy asso}}$, $K_{T}^{T,t}$ et $K_{DAT-DAT}^{T,toluene}$ pour une température donnée dans le toluène, connaissant $\delta_{e}^{T,t}$ pour les deux diblocs, et la concentration totale en unités Thy et DAT dans ces solutions ($C_{Thy} = C_{DAT}$), on

estimer $K_{T\ hDy,}^{T,t\ o}$ par itération dans le système d'équations 1 à 6. Les résultats pour chaque température (0-70 °C) sont rassemblés dans le Tableau 23.

A 25 °C, on obtient $K_{Thy/DAT}$ = 4,3.10^4 L/mol pour le **dibloc 1** et $K_{Thy/DAT}$ = 10^4 L/mol pour le **dibloc 2**, de très hautes valeurs comme attendu et encadrant la valeur du système « tout PPG » (2,2.10^4 L/mol).

Tableau 23 – Constantes d'association (L/mol) mesurées par RMN ^{1}H en température, pour les dibloc 1, PPG_{2000}-DAT + PEG_{1000}-Thy, et le dibloc 2, PPG_{2000}-Thy + PEG_{1000}-DAT.

	Dibloc 1 PPG_{2000}-DAT + PEG_{1000}-Thy			**Dibloc 2** PPG_{2000}-Thy + PEG_{1000}-DAT		
T (°C)	$K_{Thy-Thy}$	$K_{DAT-DAT}$	$K_{Thy-DAT}$	$K_{Thy-Thy}$	$K_{DAT-DAT}$	$K_{Thy-DAT}$
0	9,2.10^3	473	5,5.10^5	3.10^3	178	1,2. 10^5
10	579	144	10^5	269	85	6.10^4
25	245	65	4,3.10^4	134	47	10^4
30	136	37	9.10^3	125	36	5,2.10^3
40	117	24	5,4.10^3	107	22	1,3.10^3
50	103	16	1,2.10^3	94	15	785
60	89	9	567	80	12	177
70	77	5	364	67	6	113

4. Position relative des unités Thy et DAT : modulation de la constante d'association des blocs PEG et PPG supramoléculaires pour un concept de relargage progressif

L'analyse thermique des copolymères supramoléculaires en masse et l'analyse en RMN ^{1}H de leurs solutions montrent clairement que les propriétés des copolymères dépendent fortement de la position relative des unités supramoléculaires sur les blocs PEG et PPG.

La chaine PEG est capable de « solvater » les unités polaires thymine (et dans une moindre mesure DAT), et de ce fait entre en compétition avec l'interaction supramoléculaire sélective Thy/DAT. La « solvatation » est d'autant plus efficace que la chaine est flexible et mobile, c'est-à-dire qu'elle est suffisamment longue, qu'elle n'est pas attachée directement au motif thymine pour éviter un repliement sur elle-même, et qu'elle est monofonctionnelle pour limiter l'effet d'ancrage des unités supramoléculaires terminales.

La compétition entre l'interaction supramoléculaire Thy/DAT et la « solvatation » Thy/PEG se traduit, en masse, par une augmentation moindre de la cristallinité des chaines PEG (analyse DSC) et, en solution, une diminution de la constante d'association $K_{Thy/DAT}$ (analyse

RMN ^{1}H). Ces deux observations, qui témoignent du même phénomène, laissent supposer que les constantes d'association en masse sont perturbées de la même manière.

Ainsi, si l'on souhaite privilégier un système supramoléculaire robuste, il conviendra de choisir les systèmes où la solvatation des unités thymines par les chaines PEG est la plus faible possible. On privilégiera alors des blocs PEG greffés thymine, de petites masses et/ou difonctionnels, pour lesquels $K_{Thy/DAT}$ sera élevée (masse et solution) et la cristallinité des chaines PEG importante (masse). A l'inverse, les copolymères constitués de blocs PPG greffés thymine, de grandes masses et/ou monofonctionnels, conduiront en solution à des édifices supramoléculaires moins stables.

Cette possible modulation des propriétés des différents copolymères supramoléculaires PEG/PPG ouvre une voie intéressante pour les applications visées, notamment le relargage. En effet, en réalisant des édifices encapsulants à partir de copolymères supramoléculaires de constantes d'association différentes, il serait possible de moduler le profil de relargage.

Ainsi, on peut imaginer mélanger des diblocs très associés PEG_{1000}-Thy+PPG_{2000}-DAT (**dibloc 1**, « fort ») à des diblocs moins associés PPG_{2000}-Thy+PEG_{1000}-DAT (**dibloc 2**, « faible »). Sous l'action d'un même stimulus dont l'intensité augmenterait graduellement ou de deux stimuli successifs - pH, température, composé compétiteur – les diblocs « faibles » seront rompus avant les diblocs « forts » et entraineront une déstabilisation partielle de l'édifice auto-assemblé avec une diffusion lente des actifs encapsulés (Figure 35). La déstabilisation sera totale par rupture des diblocs « forts ». En réglant la proportion de chaque dibloc, on peut espérer contrôler la vitesse de relargage : elle sera d'autant plus rapide que la proportion de diblocs « faibles » sera importante.

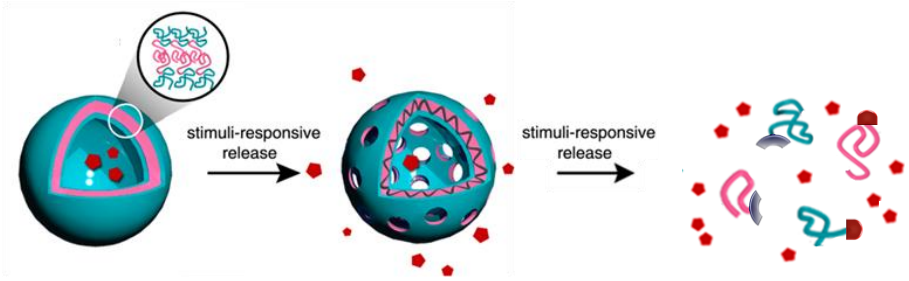


Figure 35 – Représentation d'un édifice formé d'un mélange de diblocs « faibles » et « forts ». Les diblocs « faibles » sont rompus en premier, entrainant un relargage lent des actifs encapsulés. Les diblocs « forts » sont rompus dans un second temps, et la totalité des actifs est alors libérée.

Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons présenté la synthèse et la caractérisation par RMN ^{1}H des blocs supramoléculaires PEG et PPG greffés Thy ou DAT. Le greffage des unités supramoléculaires, réalisé en une seule étape à partir d'oligomères mono et difonctionnels commerciaux, est de l'ordre de 90 % (DAT) à 100 % (Thy).

Leur analyse thermique par DSC montre clairement l'impact des unités supramoléculaires sur la mobilité des blocs (effet d'*anti-plastification*, augmentation de la T_g) et la cristallinité des chaines PEG. Plusieurs contributions sont à l'origine de la mobilité réduite des blocs : les unités sont rigides, capables de s'agréger et de former des liaisons hydrogène. Parce qu'elles sont également polaires, les unités supramoléculaires peuvent se ségréger des chaines polymères, contribuant ainsi à renforcer l'effet d'ancrage.

Cependant, les chaines PEG étant polaires, elles peuvent interagir avec les unités supramoléculaires en les « solvatant », notamment avec la thymine très polaire. Dans ce cas, la thymine n'est plus ségrégée et ne peut pas cristalliser, et la cristallisation des chaines PEG est perturbée. A l'inverse, l'unité DAT peu polaire se ségrége des chaines PEG qui peuvent alors cristalliser aisément.

Dans les copolymères, la liaison Thy/DAT, sélective et forte, se forme préférentiellement. Cependant, les interactions Thy/PEG, existantes ou ajoutées par la formation du copolymère, sont compétitrices. Ainsi, le(s) bloc(s) PEG greffé(s) Thy d'un copolymère supramoléculaire sera d'autant plus cristallin(s) et les interactions supramoléculaires Thy/DAT d'autant plus fortes que les interactions PEG/Thy seront diminuées, c'est-à-dire que l'on ajoutera un(des) bloc(s) PPG greffé(s) DAT. L'effet inverse sera obtenu si on additionne un(des) bloc(s) PEG-DAT au(x) bloc(s) PPG-Thy. Ce résultat est observé en masse par DSC (cristallinité des blocs PEG) et en solution par RMN ^{1}H ($K_{Thy/DAT}$).

Les copolymères supramoléculaires obtenus sont amphiphiles et peuvent s'auto-associer par forces de dispersion des blocs entre eux ou dans des solvants sélectifs. Ils sont donc *a priori* capables d'encapsuler un principe actif. La stabilité de l'auto-assemblage dépendra du caractère amphiphile des copolymères. En effet, si la liaison Thy/DAT est rompue, le copolymère est dissocié en deux blocs non amphiphiles : l'auto-assemblage est détruit et le principe actif libéré. Si toutes les liaisons supramoléculaires ont la même force, leur rupture se produira sur un temps court : le relargage sera rapide. En revanche, l'auto-assemblage de copolymères de même nature chimique ayant des liaisons supramoléculaires entre blocs de force variable sera déstabilisé de façon progressive : le relargage sera plus lent.

Le relargage modulable peut être intéressant, notamment dans une application cosmétique. Les formulations cosmétiques comprenant des solutions aqueuses, on s'intéresse dans le chapitre suivant au comportement des copolymères supramoléculaires PEG et PPG en solution aqueuse et à la force/stabilité de la liaison supramoléculaire Thy/DAT.

Références

(1) Schmolka, I. R. A Review of Block Polymer Surfactants. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1977**, *54* (3), 110–116. https://doi.org/10.1007/BF02894385.

(2) Dai, S.; Tam, K. C. Isothermal Titration Calorimetric Studies on the Temperature Dependence of Binding Interactions between Poly(Propylene Glycol)s and Sodium Dodecyl Sulfate. *Langmuir* **2004**, *20* (6), 2177–2183. https://doi.org/10.1021/la0357559.

(3) Sardon, H.; Tan, J. P. K.; Chan, J. M. W.; Mantione, D.; Mecerreyes, D.; Hedrick, J. L.; Yang, Y. Y. Thermoresponsive Random Poly(Ether Urethanes) with Tailorable LCSTs for Anticancer Drug Delivery. *Macromol. Rapid Commun.* **2015**, *36* (19), 1761–1767. https://doi.org/10.1002/marc.201500247.

(4) Lutz, J.-F. Polymerization of Oligo(Ethylene Glycol) (Meth)Acrylates: Toward New Generations of Smart Biocompatible Materials. *J. Polym. Sci. Part Polym. Chem.* **2008**, *46* (11), 3459–3470. https://doi.org/10.1002/pola.22706.

(5) Lutz, J.-F.; Hoth, A. Preparation of Ideal PEG Analogues with a Tunable Thermosensitivity by Controlled Radical Copolymerization of 2-(2-Methoxyethoxy)Ethyl Methacrylate and Oligo(Ethylene Glycol) Methacrylate. *Macromolecules* **2006**, *39* (2), 893–896. https://doi.org/10.1021/ma0517042.

(6) Lacombe, J.; Pearson, S.; Pirolt, F.; Norsic, S.; D'Agosto, F.; Boisson, C.; Soulié-Ziakovic, C. Structural and Mechanical Properties of Supramolecular Polyethylenes. *Macromolecules* **2018**, *51* (7), 2630–2640. https://doi.org/10.1021/acs.macromol.8b00270.

(7) Lacombe, J.; Soulié-Ziakovic, C. Lamellar Mesoscopic Organization of Supramolecular Polymers: A Necessary Pre-Ordering Secondary Structure. *Polym. Chem.* **2017**, *8* (38), 5954–5961. https://doi.org/10.1039/C7PY01219E.

(8) Yamaguchi, Y.; Li, Z.; Zhu, X.; Liu, C.; Zhang, D.; Dou, X. Polyethylene Oxide (PEO) and Polyethylene Glycol (PEG) Polymer Sieving Matrix for RNA Capillary Electrophoresis. *PLoS ONE* **2015**, *10* (5). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123406.

(9) Nowick, J. S.; Chen, J. S.; Noronha, G. Molecular Recognition in Micelles: The Roles of Hydrogen Bonding and Hydrophobicity in Adenine-Thymine Base-Pairing in SDS Micelles. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115* (17), 7636–7644.

(10) Shimizu, T.; Iwaura, R.; Masuda, M.; Hanada, T.; Yase, K. Internucleobase-Interaction-Directed Self-Assembly of Nanofibers from Homo- and Heteroditopic 1, ω -Nucleobase Bolaamphiphiles. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123* (25), 5947–5955.

(11) Michas, J.; Paleos, C. M.; Skoulios, A.; Weber, P. Structural Study of Recognizable Adenine and Thymine Nucleobases Functionalized with Long Aliphatic Chains. *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **1994**, *239* (1), 245–255.

(12) Lutz, J.-F.; Thünemann, A. F.; Rurack, K. DNA-like "Melting" of Adenine- and Thymine-Functionalized Synthetic Copolymers. *Macromolecules* **2005**, *38* (20), 8124–8126.

(13) Lutz, J.-F.; Pfeifer, S.; Chanana, M.; Thünemann, A. F.; Bienert, R. H-Bonding-Directed Self-Assembly of Synthetic Copolymers Containing Nucleobases: Organization and Colloidal Fusion in a Noncompetitive Solvent. *Langmuir* **2006**, *22* (17), 7411–7415.

(14) Sartorius, J.; Schneider, H.-J. A General Scheme Based on Empirical Increments for the Prediction of Hydrogen-Bond Associations of Nucleobases and of Synthetic Host–Guest Complexes. *Chem. Eur. J.* **1996**, *2* (11), 1446–1452.

(15) Itahara, T.; Yokogawa, Y. Self-Organization of Adenine and Thymine Derivatives in Thermotropic Liquid Crystal. *J. Mol. Struct.* **2007**, *827* (1), 95–100. https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2006.05.010.

(16) Karikari, A. S.; Mather, B. D.; Long, T. E. Association of Star-Shaped Poly(d,l-Lactide)s Containing Nucleobase Multiple Hydrogen Bonding. *Biomacromolecules* **2007**, *8* (1), 302–308. https://doi.org/10.1021/bm060869v.

(17) Sartorius, J.; Schneider, H.-J. A General Scheme Based on Empirical Increments for the Prediction of Hydrogen-Bond Associations of Nucleobases and of Synthetic Host–Guest Complexes. *Chem. – Eur. J.* *2* (11), 1446–1452. https://doi.org/10.1002/chem.19960021118.

(18) Oktay Uzun; Benjamin L. Frankamp; Amitav Sanyal, and; Rotello*, V. M. Recognition-Mediated Assembly of Nanoparticle-Diblock Copolymer Micelles with Controlled Size https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/cm0614968 (accessed Aug 22, 2018). https://doi.org/10.1021/cm0614968.

(19) Allgaier, J.; Hövelmann, C. H.; Wei, Z.; Staropoli, M.; Pyckhout-Hintzen, W.; Lühmann, N.; Willbold, S. Synthesis and Rheological Behavior of Poly(1,2-Butylene Oxide) Based Supramolecular Architectures. *RSC Adv.* **2016**, *6* (8), 6093–6106. https://doi.org/10.1039/C5RA24547H.

(20) Herbst, F.; Binder, W. H. Comparing Solution and Melt-State Association of Hydrogen Bonds in Supramolecular Polymers. *Polym. Chem.* **2013**, *4* (12), 3602–3609. https://doi.org/10.1039/C3PY00362K.

(21) Cortese, J.; Soulié-Ziakovic, C.; Tencé-Girault, S.; Leibler, L. Suppression of Mesoscopic Order by Complementary Interactions in Supramolecular Polymers. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134* (8), 3671–3674. https://doi.org/10.1021/ja2119496.

(22) Kunz, M. J.; Hayn, G.; Saf, R.; Binder, W. H. Hydrogen-Bonded Supramolecular Poly(Ether Ketone)S. *J. Polym. Sci. Part Polym. Chem.* **2004**, *42* (3), 661–674. https://doi.org/10.1002/pola.10858.

(23) Ostas, E.; Schröter, K.; Beiner, M.; Yan, T.; Thurn-Albrecht, T.; Binder, W. H. Poly(ε-Caprolactone)–Poly(Isobutylene): A Crystallizing, Hydrogen-Bonded Pseudo-Block Copolymer. *J. Polym. Sci. Part Polym. Chem.* **2011**, *49* (15), 3404–3416. https://doi.org/10.1002/pola.24777.

(24) Ostas, E.; Yan, T.; Thurn-Albrecht, T.; Binder, W. H. Crystallization of Supramolecular Pseudoblock Copolymers https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/ma400622w (accessed Aug 22, 2018). https://doi.org/10.1021/ma400622w.

(25) Cortese, J.; Soulié-Ziakovic, C.; Leibler, L. Binding and Supramolecular Organization of Homo- and Heterotelechelic Oligomers in Solutions. *Polym. Chem.* **2013**, *5* (1), 116–125. https://doi.org/10.1039/C3PY00638G.

(26) Beijer, F. H.; Sijbesma, R. P.; Vekemans, J. A. J. M.; Meijer, E. W.; Kooijman, H.; Spek, A. L. Hydrogen-Bonded Complexes of Diaminopyridines and Diaminotriazines: Opposite Effect of Acylation on Complex Stabilities. *J. Org. Chem.* **1996**, *61* (18), 6371–6380. https://doi.org/10.1021/jo960612v.

(27) Lacombe, J. Organisation Multi-Échelle de Matériaux Polymères Contrôlée Par La Chimie Aux Interfaces. Thèse, Paris Sciences et Lettres, 2017.

(28) Ligthart, G. B. W. L.; Ohkawa, H.; Sijbesma, R. P.; Meijer, E. W. Complementary Quadruple Hydrogen Bonding in Supramolecular Copolymers. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127* (3), 810–811. https://doi.org/10.1021/ja043555t.

(29) Feldman, K. E.; Kade, M. J.; de Greef, T. F. A.; Meijer, E. W.; Kramer, E. J.; Hawker, C. J. Polymers with Multiple Hydrogen-Bonded End Groups and Their Blends. *Macromolecules* **2008**, *41* (13), 4694–4700. https://doi.org/10.1021/ma800375r.

(30) Sijbesma, R. P.; Beijer, F. H.; Brunsveld, L.; Folmer, B. J.; Hirschberg, J. H.; Lange, R. F.; Lowe, J. K.; Meijer, E. W. Reversible Polymers Formed from Self-Complementary Monomers Using Quadruple Hydrogen Bonding. *Science* **1997**, *278* (5343), 1601–1604.

(31) Cortese, J. Organisations Dans Les Polymères Supramoléculaires : Du Comportement En Solution Au Comportement En Masse, Université Pierre et Marie Curie (Paris 6): ESPCI Paris, 2013.
(32) Balalaie, S.; Mahdidoust, M.; Eshaghi-Najafabadi, R. 2-(1H-Benzotriazole-1-Yl)-1,1,3,3-Tetramethyluronium Tetrafluoroborate as an Efficient Coupling Reagent for the Amidation and Phenylhydrazation of Carboxylic Acids at Room Temperature. *J. Iran. Chem. Soc.* **2007**, *4* (3), 364–369. https://doi.org/10.1007/BF03245987.
(33) Zha, R. H.; de Waal, B. F. M.; Lutz, M.; Teunissen, A. J. P.; Meijer, E. W. End Groups of Functionalized Siloxane Oligomers Direct Block-Copolymeric or Liquid-Crystalline Self-Assembly Behavior. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138* (17), 5693–5698. https://doi.org/10.1021/jacs.6b02172.
(34) Cowie, J. M. .; Arrighi, V. Polymers: Chemistry and Physics of Modern Materials, Third Edition CRC Press: Boca Raton, 2008.
(35) Bobade, S.; Wang, Y.; Mays, J.; Baskaran, D. Synthesis and Characterization of Ureidopyrimidone Telechelics by CuAAC "Click" Reaction: Effect of Tg and Polarity. *Macromolecules* **2014**, *47* (15), 5040–5050. https://doi.org/10.1021/ma5007705.
(36) Krutyeva, M.; Brás, A. R.; Antonius, W.; Hövelmann, C. H.; Poulos, A. S.; Allgaier, J.; Radulescu, A.; Lindner, P.; Pyckhout-Hintzen, W.; Wischnewski, A.; et al. Association Behavior, Diffusion, and Viscosity of End-Functionalized Supramolecular Poly(Ethylene Glycol) in the Melt State. *Macromolecules* **2015**, *48* (24), 8933–8946. https://doi.org/10.1021/acs.macromol.5b02060.
(37) Yoshio, M.; Noguchi, H. Crown Ethers for Chemical Analysis: A Review. *Anal. Lett.* **1982**, *15* (15), 1197–1276. https://doi.org/10.1080/00032718208065134.
(38) Krevelen, D. W. van; Nijenhuis, K. te. *Properties of Polymers: Their Correlation with Chemical Structure: Their Numerical Estimation and Prediction from Additive Group Contributions*, 4th, completely rev. ed ed.; Elsevier: Amsterdam, 2009.
(39) Barton, A. F. M. *CRC Handbook of Solubility Parameters and Other Cohesion Parameters, Second Edition*; CRC Press; 1991.
(40) Brandrup, J. Polymer Data Handbook. *Oxf. Univ. Press Inc* **1999**, 1102.
(41) Dosière, M. Lamellar Structure of Poly(Ethylene Oxide) Molecular Complexes. *Macromol. Symp.* **1997**, *114* (1), 51–62. https://doi.org/10.1002/masy.19971140107.
(42) Cheng, C.-C.; Liao, Z.-S.; Huang, J.-J.; Lee, D.-J.; Chen, J.-K. Supramolecular Polymer Micelles as Universal Tools for Constructing High-Performance Fluorescent Nanoparticles. *Dyes Pigments* **2017**, *137*, 284–292. https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2016.10.028.
(43) Leibler, L. Theory of Microphase Separation in Block Copolymers. *Macromolecules* **1980**, *13* (6), 1602–1617. https://doi.org/10.1021/ma60078a047.
(44) Anthamatten, M. Phase Behavior Predictions for Polymer Blends Containing Reversibly Associating Endgroups. *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.* **2007**, *45* (24), 3285–3299.
(45) Feng, E. H.; Lee, W. B.; Fredrickson, G. H. Supramolecular Diblock Copolymers: A Field-Theoretic Model and Mean-Field Solution. *Macromolecules* **2007**, *40* (3), 693–702.
(46) Binder, W. H.; Bernstorff, S.; Kluger, C.; Petraru, L.; Kunz, M. J. Tunable Materials from Hydrogen-Bonded Pseudo Block Copolymers. *Adv. Mater.* **2005**, *17* (23), 2824–2828.
(47) Fox, J. D.; Rowan, S. J. Supramolecular Polymerizations and Main-Chain Supramolecular Polymers. *Macromolecules* **2009**, *42* (18), 6823–6835. https://doi.org/10.1021/ma901144t.

(48) Ciferri, A. Supramolecular Polymerizations. *Macromol. Rapid Commun.* **2002**, *23* (9), 511–529. https://doi.org/10.1002/1521-3927(20020601)23:9<511::AID-MARC511>3.0.CO;2-F.
(49) De Greef, T. F. A.; Smulders, M. M. J.; Wolffs, M.; Schenning, A. P. H. J.; Sijbesma, R. P.; Meijer, E. W. Supramolecular Polymerization. *Chem. Rev.* **2009**, *109* (11), 5687–5754. https://doi.org/10.1021/cr900181u.
(50) Jonkheijm, P.; Schoot, P. van der; Schenning, A. P. H. J.; Meijer, E. W. Probing the Solvent-Assisted Nucleation Pathway in Chemical Self-Assembly. *Science* **2006**, *313* (5783), 80–83. https://doi.org/10.1126/science.1127884.
(51) Fielding, L. Determination of Association Constants (Ka) from Solution NMR Data. *Tetrahedron* **2000**, *56* (34), 6151–6170. https://doi.org/10.1016/S0040-4020(00)00492-0.
(52) Steed, J. W.; Atwood, J. L. *Supramolecular Chemistry*, 2. ed., reprinted with corrections.; Wiley: Chichester, 2009.
(53) Hynes, M. J. EQNMR: A Computer Program for the Calculation of Stability Constants from Nuclear Magnetic Resonance Chemical Shift Data. *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1993**, *0* (2), 311–312. https://doi.org/10.1039/DT9930000311.
(54) Pagni, R. Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry, Third Edition (Christian Reichardt). *J. Chem. Educ.* **2005**, *82* (3), 382. https://doi.org/10.1021/ed082p382.2.
(55) Zimmerman, S. C.; Corbin, P. S. Heteroaromatic Modules for Self-Assembly Using Multiple Hydrogen Bonds. In *Molecular Self-Assembly Organic Versus Inorganic Approaches*; Fuiita, M., Ed.; Structure and Bonding; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2000; pp 63–94. https://doi.org/10.1007/3-540-46591-X_3.
(56) González, M. S. B. G. F. J. Enthalpy and Entropy Contributions to the Equilibrium of the Hydrogen Bonding Interaction between 1-Octylthymine and 9-Octyladenine. *ARKIVOC 2003* (11). https://doi.org/http://dx.doi.org/10.3998/ark.5550190.0004.b09.

Chapitre 3

Copolymères amphiphiles supramoléculaires en solution aqueuse

Chapitre 3 : Copolymères amphiphiles supramoléculaires en solution aqueuse

Introduction 117

I. Caractérisation de la liaison Thy/DAT par RMN 1D et 2D 119

1. La RMN pour l'étude de liaisons hydrogène en solution aqueuse 119
2. RMN ^{1}H à basse température des blocs et copolymères supramoléculaires 120
   a. Blocs supramoléculaires élémentaires 121
   b. Copolymères à blocs supramoléculaires – **Dibloc 1** et **multibloc 1** 123
3. RMN corrélation ^{1}H-^{15}N – HSQC et HMBC 128
   a. Chaine PPG_{2000}-NH_2 et unité supramoléculaire DAT-Cl 129
   b. Blocs supramoléculaires élémentaires 129
   c. Copolymère **dibloc 1** – PEG_{1000}-Thy + PPG_{2000}-DAT 130
4. RMN DOSY 131
   a. Partie théorique 131
   b. Blocs supramoléculaires élémentaires 132
   c. Copolymère **dibloc 1** – PEG_{1000}-Thy + PPG_{2000}-DAT 134

II. Exploitation des propriétés thermiques et thermodynamiques pour l'étude des copolymères supramoléculaires en solutions aqueuses 136

1. LCST : définition 137
   a. Polymères thermosensibles 137
   b. Impact du greffage d'unités hydrophiles sur des chaines polymères à LCST 139
2. La LCST : levier de l'auto-organisation des chaines polymères en solution aqueuse 139
   a. LCST et séparation de phase : contribution enthalpiques et entropiques 139
   b. LCST et micellisation des poloxamères 140
3. Mesure de la LCST des blocs et copolymères supramoléculaires par UV-Visible 141
4. Etude des propriétés thermiques et thermodynamiques par µ-DSC 143
   a. Etude par µ-DSC : informations sur les évènements et la structure des systèmes 143
   b. Partie expérimentale 144
   c. Analyse du **dibloc 1** – PEG_{1000}-Thy + PPG_{2000}-DAT 144
   d. Analyse du **tribloc 1** – PPG_{2000}-DAT + Thy-PEG_{2000}-Thy 147
   e. Analyse du **tribloc 4** – PEG_{1000}-Thy + DAT-PPG_{2000}-DAT 148

Conclusion 150

Références 152

Introduction

La force de la liaison Thy/DAT est sensible à différents paramètres comme la température, la présence de molécules compétitrices et le solvant.[1] On distingue notamment, les solvants polaires et/ou protiques *dissociants*, et les solvants apolaires et aprotiques *associants*.[2]

Dans le chapitre précédent, nous avons estimé, par une analyse en RMN ^{1}H, la force de la liaison Thy/DAT dans différents solvants organiques (DMSO-d_6, $CDCl_3$, toluène-d_8) pour nos copolymères à blocs amphiphiles supramoléculaires (**diblocs 1** et **2**). Les constantes les plus élevées sont obtenues dans le toluène-d_8 ($K_{Thy/DAT}$ = 4,3.10^4 L/mol, à 25 °C), solvant apolaire et aprotique, qui favorise l'association des unités supramoléculaires. Dans le DMSO-d_6, solvant très polaire et aprotique, les constantes sont les plus faibles, démontrant ainsi son pouvoir dissociant ($K_{Thy/DAT}$ = 1.3 L/mol, à 25 °C).

Nos copolymères supramoléculaires sont destinés à former des édifices auto-assemblés encapsulants pouvant être utilisés dans des applications cosmétiques. Idéalement, on souhaite utiliser l'eau comme solvant majoritaire de la formulation. Cependant, l'eau est un solvant protique et très polaire (ε_{eau} = 78.5) avec un fort pouvoir dissociant. De prime abord, il semble être une molécule compétitrice efficace de la liaison Thy/DAT. Toutefois, les unités Thy et DAT, bien que polaires et protiques, sont hydrophobes et ne se dissolvent pas dans l'eau. Elles ont ainsi été utilisées efficacement dans de nombreux systèmes en solution aqueuse,[3–5] comme notamment pour la dispersion de nanotubes de carbones dans l'eau, stable jusqu'à 48h.[6] Les unités Thy et DAT étant hydrophobes, elles ont tendance à s'associer pour minimiser leurs interactions avec l'eau. La paire Thy/DAT formée est elle aussi hydrophobe et globalement peu polaire (cycles aromatiques).

Néanmoins, comme nous l'avons expliqué précédemment, il existe un équilibre dynamique entre la paire Thy/DAT associée et les unités libres Thy et DAT. Sous leur forme dissociée, les unités supramoléculaires, parce qu'elles sont protiques et polaires, peuvent former des liaisons hydrogène avec des molécules d'eau. Il ne s'agit pas à proprement parler de *solvatation* (pas de sphère de molécules d'eau autour des unités), mais plutôt de *compétition* des liaisons hydrogène. De proche en proche, l'eau forme des liaisons hydrogène avec les unités libres et empêche leur réassociation sélective, la concentration de l'eau étant toujours plus importante que celle des unités complémentaires. La liaison supramoléculaire n'est donc pas stable à long terme dans l'eau, et sa cinétique de rupture dépend de l'équilibre entre forme associée et unités libres, autrement dit de sa force ($K_{Thy/DAT}$). On notera que dans un solvant organique protique et polaire capable de solvater les unités Thy et DAT (ex : éthanol), la liaison supramoléculaire ne se forme pas.[6]

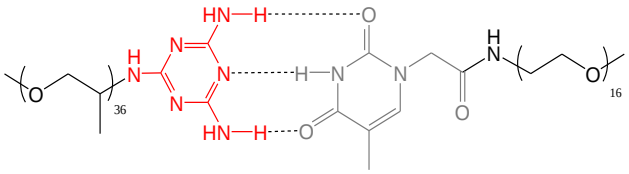
Dans le cas des auto-assemblages de copolymères supramoléculaires PEG/PPG, nous espérons une stabilité accrue de la liaison Thy/DAT dans l'eau, comparée au cas des nanotubes. En effet, alors que les unités Thy greffées sur les nanotubes étaient relativement espacées et libres d'accès par rapport au solvant (1 Thy pour 50 carbones), les liens Thy/DAT seraient regroupés de façon compacte à l'interface entre les blocs hydrophobes (au cœur) et les blocs hydrophiles (en bon solvant dans l'eau), et donc moins accessibles à l'eau.

Nous avons également montré dans le chapitre précédent que la nature chimique de la chaine polymère sur laquelle est greffée l'unité supramoléculaire affecte les liaisons hydrogène. Ainsi, les chaines polaires comme le PEG peuvent « solvater » les unités les plus polaires, comme nous l'avons constaté pour les motifs thymine de nos systèmes, et ainsi entrer en compétition avec les interactions supramoléculaires Thy/DAT. Pour optimiser l'interaction Thy/DAT, il est nécessaire de construire le copolymère supramoléculaire à partir d'un bloc PEG greffé Thy, mono ou difonctionnel.

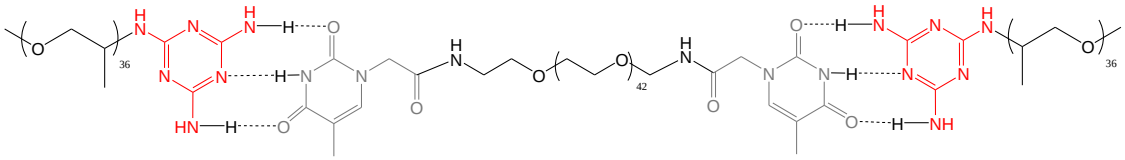
Dans ce chapitre, on s'intéresse donc à la force des interactions Thy/DAT en solution aqueuse. Pour cela, nous utilisons des méthodes de caractérisations physico-chimiques directes (RMN) ou indirectes (µ-DSC) des copolymères supramoléculaires en solution aqueuse. La RMN, comme au chapitre précédent, est *a priori* une technique permettant d'évaluer l'existence et la force de la liaison Thy/DAT. Par ailleurs, l'établissement de cette liaison peut potentiellement être confirmé en exploitant le changement de solubilité du bloc PPG. En effet, celui-ci présente une température à laquelle sa solubilité dans l'eau est modifiée (LCST), température qui peut être augmentée si l'hydrophilie de la chaine PPG est renforcée, par exemple en y attachant des groupes hydrophiles comme le bloc PEG.[7,8] Toutefois, la LCST de certains systèmes n'étant pas impactée,[9,10] démontrer l'existence de la liaison supramoléculaire par simple mesure de la température de transition peut se révéler insuffisant et doit être complété par la mesure des enthalpies de transition associées, par expériences de µ-DSC.

Pour s'assurer que la liaison Thy/DAT est la plus forte possible, nous avons limité notre étude aux copolymères constitués de blocs PEG greffés Thy : PPG_{2000}-DAT + PEG_{1000}- Thy (**dibloc 1**), PPG_{2000}-DAT + Thy-PEG_{2000}-Thy (**tribloc 1**) et PEG_{1000}-Thy + DAT-PPG_{2000}-DAT (**tribloc 4**) (Figure 1). Les données obtenues en µ-DSC sont comparées à celles de leurs homologues covalents : Synperonic PE/P84 pour le **tribloc 1** et un dibloc covalent synthétisé au laboratoire pour le **dibloc 1**.

A.



B.



C.

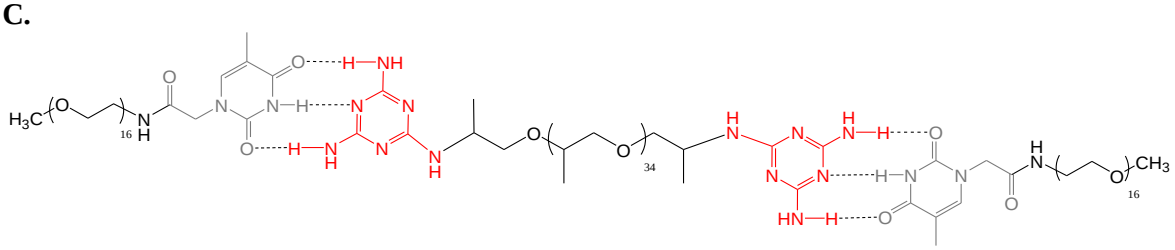


Figure 1 - Copolymères à blocs amphiphiles supramoléculaires : A) dibloc 1, B) tribloc 1 et C) tribloc 4.

I. Caractérisation de la liaison Thy/DAT par RMN 1D et 2D

Toutes les expériences de RMN présentées ci-après ont été réalisées par Marie-Noëlle Rager, responsable du service de RMN de l'ENSCP.

1. La RMN pour l'étude de liaisons hydrogène en solution aqueuse

Plusieurs études utilisant des expériences de RMN ^{1}H plus ou moins sophistiquées (1D et/ou 2D) ont été réalisées pour caractériser les interactions hydrogène dans l'eau lourde ou dans des mélanges D_2O/H_2O.[11]

Fennir *et al.* ont ainsi étudié l'association supramoléculaire de la paire cytosine/guanine et l'auto-assemblage de molécules résultantes en structures nanotubulaires par des séquences fb-TOCSY, NOESY et ROESY.[12] Les unités supramoléculaires sont greffées sur des éthers couronne B15C5 et s'associent par liaisons hydrogène pour former un macrocycle (18 liaisons hydrogène) (Figure 2). L'empilement de ces macrocycles supramoléculaires conduit à la formation de nanotubes. Les expériences de RMN ^{1}H 1D et 2D permettent d'identifier les protons impliqués dans les liaisons hydrogène (déplacements chimiques déblindés et/ou élargissement des signaux) (Figure 3).

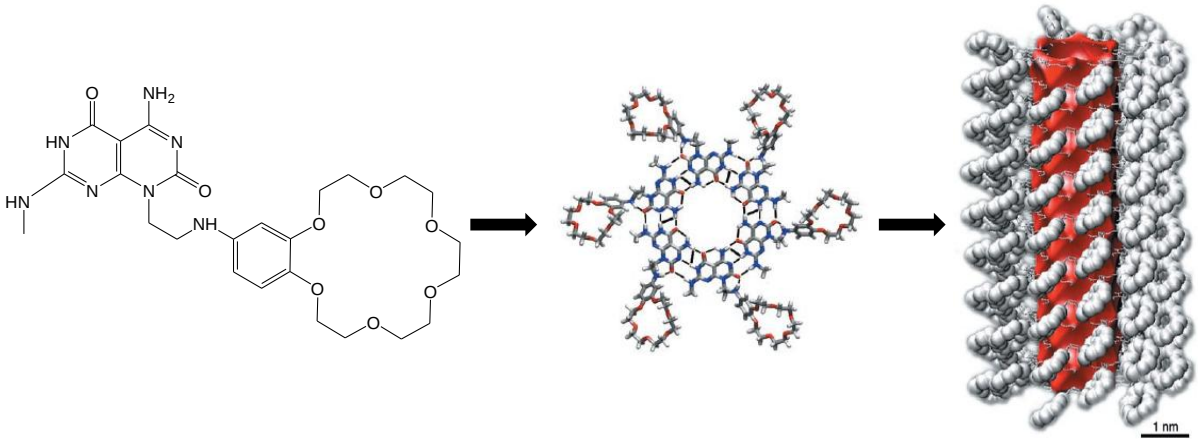


Figure 2 – Exemple de macrocycles formés par liaisons hydrogène entre motifs guanine/cytosine et leur empilement conduisant à la formation de structures nanotubulaires.[12]

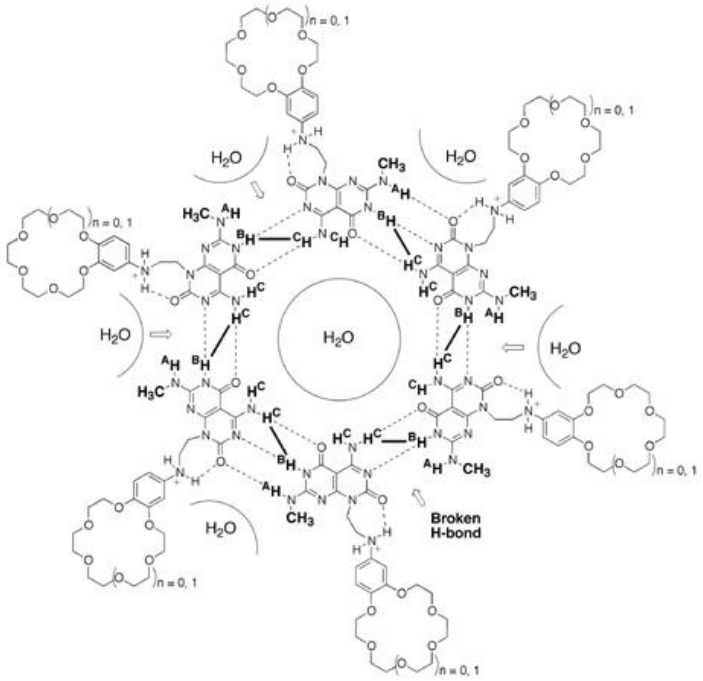


Figure 3 – Représentation des liaisons hydrogène identifiées par RMN 2D pour un macrocycle supramoléculaire (traits pleins et pointillés).[12]

Dans un autre exemple, Tian *et al.* ont utilisé la RMN ^{1}H 1D dans le D_2O pour caractériser les interactions hydrogène d'un réseau organique supramoléculaire (*Supramolecular Organic Framework*, SOF) composé d'un assemblage périodique 3D de macrocycles (cucurbit[8]uriles) et de dérivés *bis*-pyridinium (4-(4-méthoxyphényl)pyridin-1-ium).[13] Des expériences de RMN 2D (DOSY) ont également été réalisées dans l'eau lourde afin de caractériser la structure générale du SOF formé.

De la même façon, Besenius *et al.* ont caractérisé les interactions hydrogène de polymères supramoléculaires comprenant, entre autres, l'unité auto-associative benzène-1,3,5-tricarboxamide (BTA). Les expériences de RMN ^{1}H (1D et 2D) se sont révélées efficaces pour suivre l'auto-assemblage de ces polymères dans l'eau lourde.[14]

On notera que, dans toutes ces études, les expériences de RMN ^{1}H sont toujours corrélées à des techniques de caractérisations physico-chimiques complémentaires telles que la diffusion dynamique de la lumière, la spectroscopie UV ou la diffusion des rayons X aux petits angles (SAXS).

2. RMN ^{1}H à basse température des blocs et copolymères supramoléculaires

Les expériences ont été réalisées dans l'eau lourde D_2O, avec des solutions à 10 wt%. Cette concentration relativement élevée est choisie pour s'assurer de la bonne détection des signaux d'intérêts. La chaine PPG_{2000} présentant une LCST voisine de 15 °C,[15,16] les spectres RMN ^{1}H ont été enregistrés à basse température (5 °C) pour s'assurer de la totale dissolution des copolymères supramoléculaires dans ce solvant.

Comme expliqué au Chapitre 2, l'analyse consiste à suivre le proton imine de la thymine NH_{Thy}(**D**) dont le déplacement chimique caractéristique dépend de son degré d'implication dans une liaison hydrogène.

a. Blocs supramoléculaires élémentaires

Les blocs supramoléculaires PEG greffés Thy et PPG greffés DAT (mono et difonctionnels) ont d'abord été analysés seuls, hors mélange.

i. PEG greffés Thy – mono et difonctionnels

Le spectre RMN ^{1}H de PEG_{1000}-Thy dans D_2O à 5°C est donné Figure 4. Le proton imine NH_{Thy} (**D**) est identifié vers 11.01 ppm, déplacement chimique comparable à celui observé dans DMSO-d_6 (11.2 ppm). On note cependant que ce signal est plus faible que dans les solvants organiques deutérés (Chapitre 2), et que le proton (**E**) de l'amide n'intègre que pour 0.57 H sans que la raie soit élargie. On observe un comportement identique, mais plus marqué, pour le composé difonctionnel Thy-PEG_{2000}-Thy : le signal du proton amide (**E**) est très diminué et celui de NH_{Thy} (**D**) disparait (Figure 5). Ces résultats suggèrent que ces deux protons labiles s'échangent partiellement ou totalement avec un deutérium de l'eau lourde.

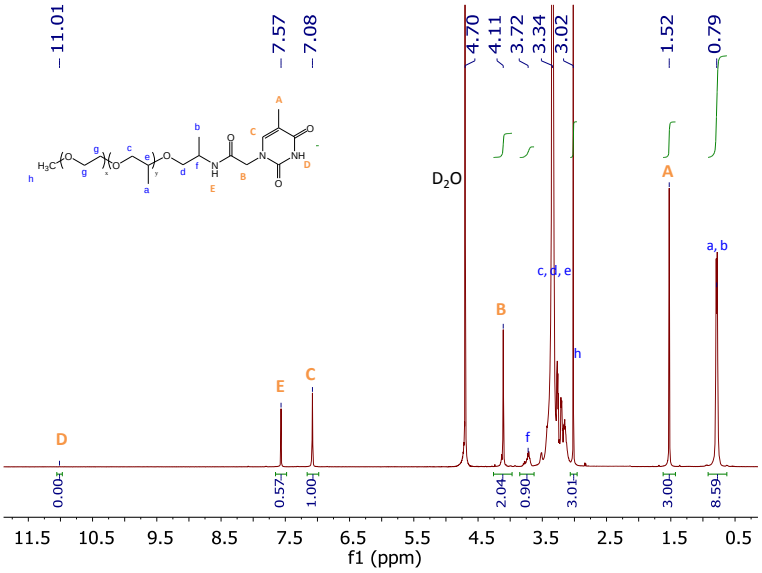


Figure 4 – Spectre RMN ^{1}H de PEG_{1000}-Thy dans D_2O, à 5 °C, à 10 wt% (NS = 128, délai = 2.59 s).

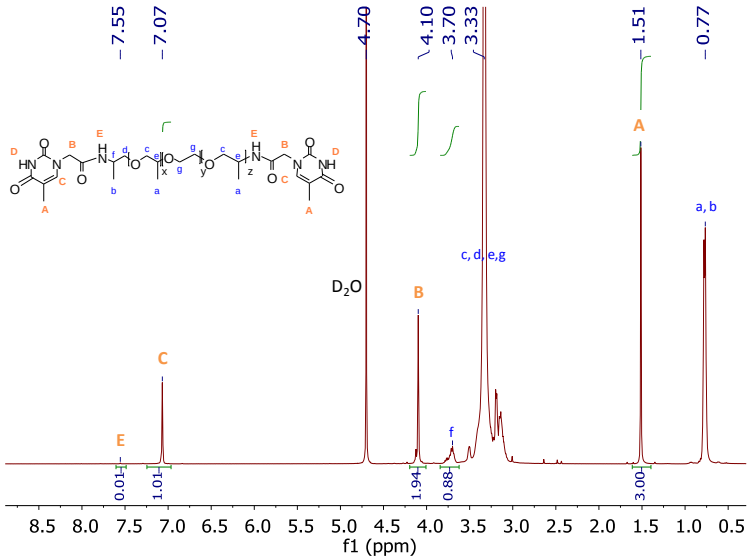


Figure 5 - Spectre RMN ^{1}H de Thy-PEG$_{2000}$-Thy dans D_2O, à 5 °C, à 10 wt% (NS = 128, délai = 2.59 s).

ii. PPG greffés DAT – mono et difonctionnels

Le spectre RMN ^{1}H de PPG$_{2000}$-DAT dans D_2O à 5 °C est donné Figure 6. Les protons amines NH_2 (**A, B**) sont identifiés vers 5.8 ppm, déplacement chimique comparable à celui observé dans DMSO-d_6 (5.88 ppm), avec une intégration de 2.55 H au lieu des 5 attendus. Le signal est cependant partiellement recouvert par le signal de l'eau à 4.70 ppm. Un traitement *watergate* permet d'affiner le signal de l'eau mais fait disparaitre le massif des protons amines **A** et **B**. Pour le composé difonctionnel DAT-PPG$_{2000}$-DAT, le spectre réalisé avec *watergate* révèle un signal très amoindri des protons amines (Figure 7). De nouveau, ces résultats suggèrent que les protons amines s'échangent partiellement avec le deutérium de l'eau lourde.

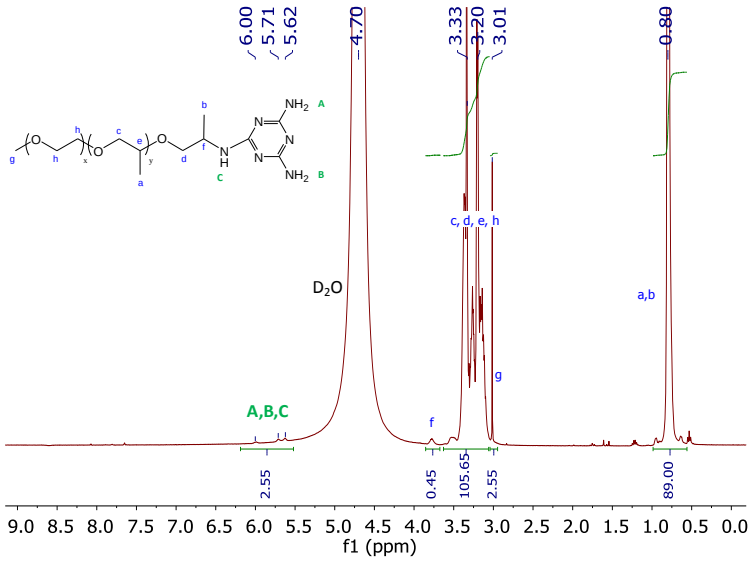


Figure 6 - Spectre RMN ^{1}H de PPG$_{2000}$-DAT dans D_2O, à 5 °C, à 10 wt% (NS = 128, délai = 2.59 s).

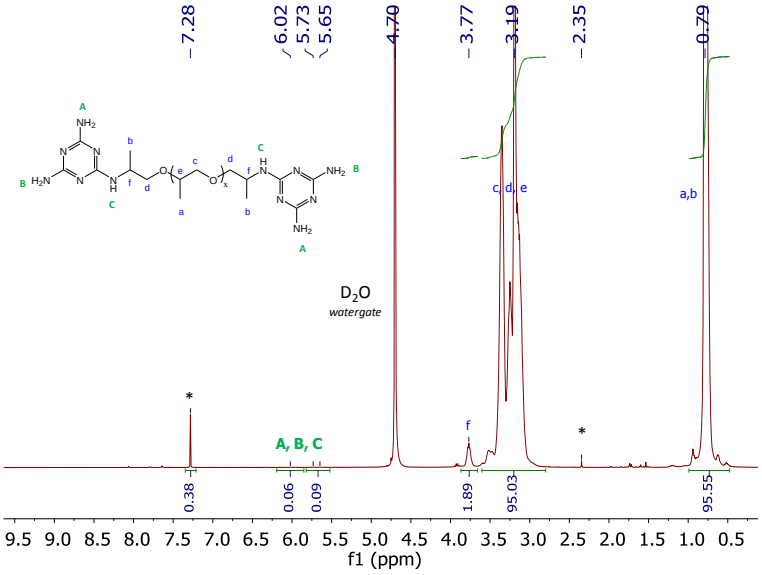


Figure 7 – Spectre RMN ^{1}H de DAT-PPG$_{2000}$-DAT dans D_2O, à 5°C, enregistré avec filtre *watergate*., à 10 wt% (NS = 128, délai = 2.59 s).

Conclusion

Les protons labiles NH_{Thy} (**D**) et $NH_{2\ DAT}$ (**A**, **B**) ont des déplacements chimiques dans D_2O comparables à ceux enregistrés dans DMSO-d_6 avec qui ils forment des liaisons hydrogène. Leur intensité est cependant très amoindrie, par échange avec les deutériums de D_2O. Ces observations semblent compromettre *a priori* l'étude des interactions Thy/DAT par RMN ^{1}H.

b. Copolymères à blocs supramoléculaires – **Dibloc 1** et **multibloc 1**

Pour s'assurer que la liaison Thy/DAT est la plus forte possible, l'étude se porte sur les copolymères formés à partir de blocs PEG greffés Thy : PPG$_{2000}$-DAT + PEG$_{1000}$- Thy (**dibloc 1**) et Thy-PEG$_{2000}$-Thy + DAT-PPG$_{2000}$-DAT (**multibloc 1**). Pour ces deux copolymères, le déplacement chimique de NH_{Thy} (**D**) et la constante d'association sont les plus élevés (14.4 ppm et $K_{Thy/DAT} = 4{,}3.10^4$ L/mol pour le **dibloc 1** à 25 °C, dans le toluène-d_8, Chapitre 2).

L'étude est conduite sur des solutions à 10 % en masse. Il est important de noter qu'à cette concentration, nous nous situons en dessous de la température micellaire critique (CMT) du **dibloc 1** (~ 11 °C), dont la mesure sera explicitée dans la suite de ce chapitre (section µ-DSC).

On rappelle que, comme dans le chapitre précédent, les copolymères ont été formés par *solvent cast* (dissolution dans CH_2Cl_2 puis évaporation) et séchés avant d'être mis en solution dans le D_2O. La liaison Thy/DAT est donc préformée en masse. Il s'agit ici de voir si elle est *maintenue* dans l'eau.

i. ***Dibloc 1*** - *PPG_{2005}-DAT + PEG_{1000}- Thy*

Le spectre RMN^{1}H du **dibloc 1** dans D_2O à 5 °C est reporté sur la Figure 8. On observe la disparition totale des signaux des protons labiles NH_{Thy} (**D**) et $NH_{2\ DAT}$ (**A**, **B**). Par ailleurs, le signal du proton amide (**E**) est très amoindri et n'intègre que pour 0.07 H.

L'augmentation du nombre de scans (400) et l'allongement du délai entre séquences d'impulsion (10 s), deux paramètres permettant d'améliorer le rapport signal/bruit, ne permettent pas de récupérer totalement les signaux. A température ambiante, le spectre est identique.

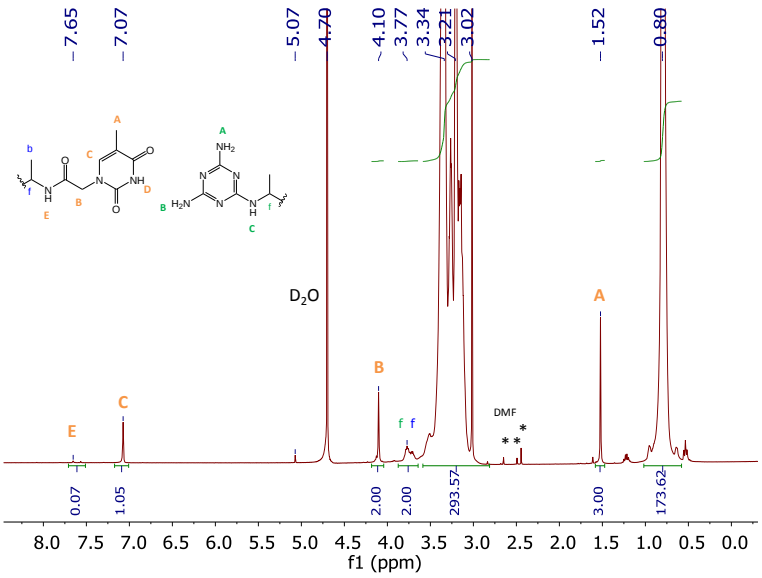


Figure 8 - RMN ^{1}H du dibloc 1 dans D_2O, à 5 °C, à 10 wt% (NS = 400, délai = 2.59 s).

La disparition du signal n'est cependant pas une preuve de l'absence de liaison supramoléculaire Thy/DAT, les spectres RMN ^{1}H des blocs seuls ayant montré l'échange des protons labiles avec D_2O (Figure 4 à Figure 7). La faible intégration du proton amide (**E**) montre que cet échange a également lieu pour le **dibloc 1**. En se souvenant que l'interaction supramoléculaire Thy/DAT est un équilibre dynamique entre la paire associée et les unités libres, il apparaît possible que ces dernières puissent échanger leurs protons labiles avec D_2O si la cinétique d'échange est plus rapide que celle de l'association supramoléculaire. L'association des unités Thy et DAT deutérées peut alors se produire par une liaison deutérium (*D bond*) même si supposée plus faible/longue qu'une liaison hydrogène.[17–24]

Pour confirmer cette hypothèse, l'analyse est réalisée dans l'eau légère à 5 °C, en présence d'un insert de D_2O dans le tube RMN (Figure 9). Les signaux des protons labiles NH_2/NH (**A**, **B**, **C**) et NH_{Thy} (**D**) réapparaissent vers 5.80 ppm et 11.01 ppm respectivement. Ainsi, l'échange avec D_2O est confirmé, mais les déplacements chimiques, identiques à ceux des blocs seuls (Figure 4 à Figure 7), semblent indiquer que la liaison Thy/DAT n'est pas formée.

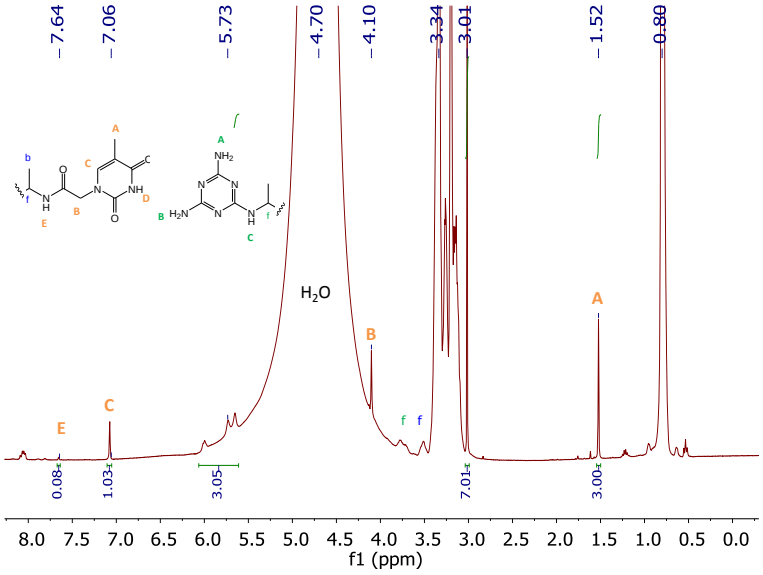


Figure 9 - RMN ^{1}H du dibloc 1 dans l'eau légère, à 5 °C, à 10 wt% (NS = 400, délai = 2.59 s, insert D_2O).

ii. ***Multibloc 1*** *– Thy-PEG_{2000}-Thy + DAT-PPG_{2000}-DAT*

Alors que les signaux des protons labiles étaient absents pour les blocs seuls (Figure 5 et Figure 7), ils réapparaissent pour le **multibloc 1** (Figure 10). Les protons NH_2/NH (**A**, **B**, **C**) sont visibles vers 6 ppm et le NH_{Thy} (**D**) à 11 ppm. Comme pour le **dibloc 1**, les déplacements chimiques semblent indiquer que la liaison Thy/DAT n'est pas formée.

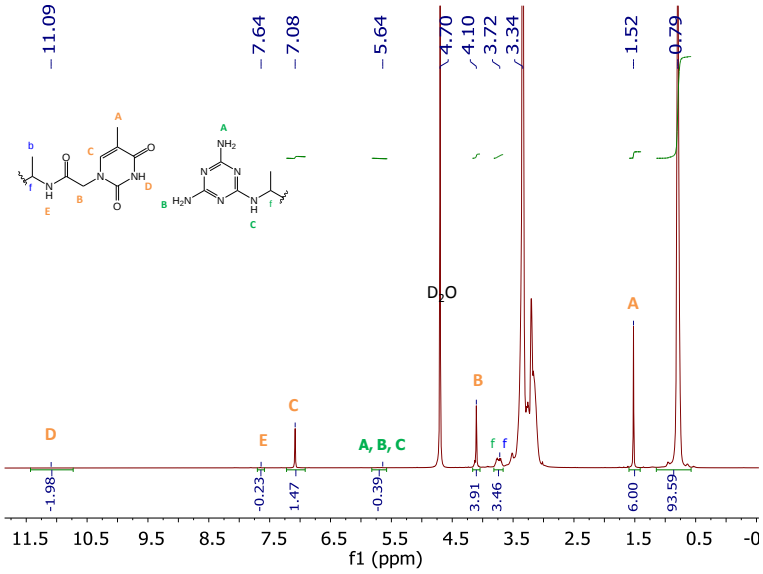


Figure 10 - RMN ^{1}H du multibloc 1 dans D_2O, à 5 °C, à 10 wt% (NS = 400, délai = 2.59 s).

iii. Existence de la liaison Thy/DAT : discussion autour des valeurs de $\delta_{CH3/Thy}$ selon le solvant et organisation des copolymères sous la LCST des blocs PPG

Nous observons que, pour une solution de **dibloc 1** supramoléculaire, le déplacement chimique des protons méthyles (**A**) de la thymine varie avec la nature du solvant deutéré (Tableau 1, spectres en annexe 2 et Figure 8).

Tableau 1 – Valeurs du déplacement chimique des protons méthyles de la thymine pour le copolymère supramoléculaire dibloc 1 (PEG_{1000}-Thy + PPG_{2000}-DAT) dans différents solvants.

Solvant	$\delta_{Thy/CH3}$ (**A**) (ppm)
$CDCl_3$	1.88
toluène-d_8	1.77
DMSO-d_6	1.75
D_2O ou H_2O	1.52

Pour expliquer ces résultats, il faut considérer la solubilité des unités supramoléculaires dans ces solvants : solubles dans le $CDCl_3$ et le DMSO, insolubles dans le toluène et l'eau. Ainsi, lorsqu'elles sont insolubles, les unités auront tendance à s'associer et à se regrouper au cœur d'une couronne de chaines PEG et PPG en bon solvant. Ce comportement a été observé pour les systèmes homologues « tout PPG » difonctionnels qui s'organisent en micelles avec un cœur d'unités Thy/DAT empilées et une couronne de chaines PPG (Figure 11.A).[2] L'analyse RMN de ces systèmes, notamment par l'observation du déplacement chimique du méthyle (**A**) de la thymine, a également montré que les paires Thy/DAT s'auto-assemblent par interactions π (Figure 11.B).[25]

A. **B.**

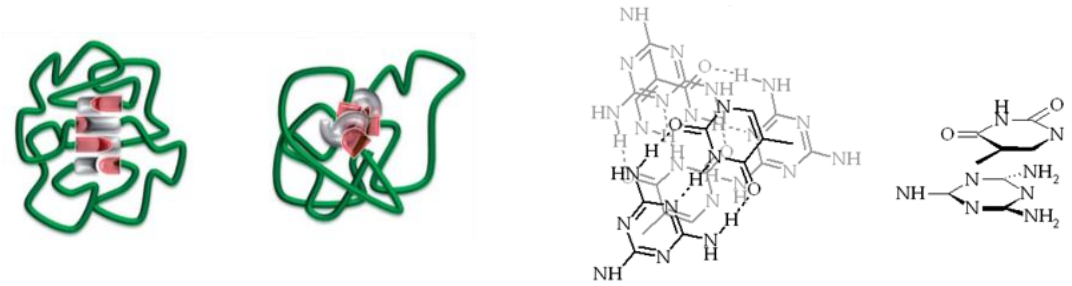


Figure 11 – A) Micelles de polymères supramoléculaires Thy-PPG_{2000}-DAT dans le toluène vue de face et de dessus, avec un cœur rigide cylindrique d'unités associées Thy/DAT (gris et rouge) et une couronne de chaines PPG (vert) ; B) Représentation schématique de l'empilement de Thy et DAT par interactions π.[2]

Dans cette précédente étude, les interactions π ont été mises en évidence par le blindage du signal du méthyle de la thymine. En effet, Thy et DAT sont des molécules aromatiques et la circulation des électrons de ces cycles (courant de cycle) induit un champ magnétique local qui blindent les protons se situant au centre.[26] Ainsi, le blindage des protons méthyles (**A**) par rapport à leur déplacement chimique dans un bon solvant ($CDCl_3$ par exemple, Figure 12.B) suggère que ce substituant est à l'aplomb d'un cycle aromatique (Figure 11.B), c'est-à-dire présente une interaction π.[2] Dans le toluène, les unités sont fortement associées et les motifs Thy peuvent former des interactions π avec tout motif aromatique présent dans le cœur de la micelle : autres unités Thy,[27–29] unités DAT,[30] molécules de toluène ayant pu diffuser dans le cœur.[31]

Pour le **dibloc 1**, on retrouve un comportement identique : le signal du méthyle de la thymine est blindé dans le toluène (non solvant, 1.77 ppm) par rapport au $CDCl_3$ (bon solvant, 1.88 ppm). Pour le DMSO, on observe également un déplacement chimique blindé (1.75 ppm), ce qui suggère là encore des interactions π entre unités Thy et DAT. En effet, il a été montré que les systèmes « tout PPG » s'organisaient en micelles, avec un cœur de chaines PPG insolubles (en mauvais solvant dans le DMSO) et une couronne d'unités libres Thy et DAT (Figure 12.A).[2] Cette organisation permet du π-stacking entre les unités de la couronne de la micelle.

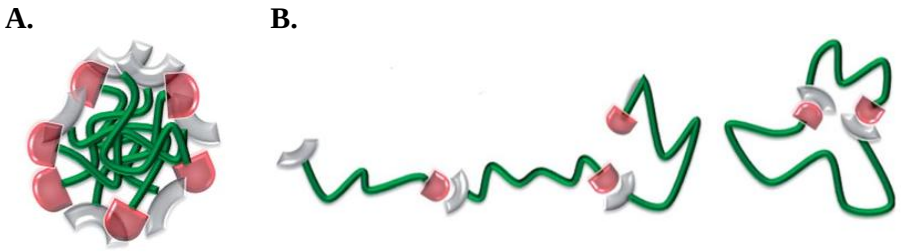


Figure 12 – A) DMSO : micelle avec un cœur PPG et une couronne d'unités supramoléculaires libres Thy et DAT formant des interactions π ; B) $CDCl_3$: chaines linéaires et cycles de PPG supramoléculaires formés par liaisons hydrogène.[2]

Dans l'eau, le signal du méthyle est particulièrement blindé, à 1.52 ppm. Les unités Thy et DAT étant hydrophobes et les chaines PPG et PEG en bon solvant à la température de l'expérience (5 °C), l'organisation du **dibloc 1** en micelles comparables à celles formées dans le toluène est vraisemblable. Le blindage accru de ce signal indique également que les interactions π entre unités Thy et DAT sont plus fortes que dans le toluène. Les molécules de toluène peuvent diffuser dans le cœur des micelles pour participer aux interactions π avec les unités Thy/DAT. L'eau, en revanche, est expulsée du cœur hydrophobe de Thy/DAT, ce qui conduit à un empilement plus compact des unités et donc à des interactions π plus fortes.

L'auto-assemblage probable du **dibloc 1** dans l'eau en micelles constituées, au cœur, d'un empilement compact d'unités supramoléculaires Thy/DAT et d'une couronne de chaines PPG et PEG (Figure 13), en bon solvant à 5 °C, sera également observé par DLS (Chapitre 4).

Figure 13 – Représentation schématique des micelles cylindriques formées à 5 °C par le copolymère supramoléculaire dibloc 1 vue de face (gauche) et de dessus (droite).

Conclusion

La solubilité relative des chaines PEG et PPG et des unités supramoléculaires impose que les copolymères s'organisent pour minimiser les interactions défavorables, c'est-à-dire forment des micelles avec un cœur rigide et cylindrique d'unités hydrophobes Thy et DAT et une couronne de chaines PEG et PPG, hydrophiles à 5 °C. Cette hypothèse est confirmée par le

blindage du méthyle CH_{3Thy} (**A**) dans l'eau par rapport au $CDCl_3$ (bon solvant de la thymine) résultant des interactions π entre les unités aromatiques Thy/DAT.

Hors mélange, les blocs greffés Thy présentent dans l'eau un déplacement chimique identique pour CH_{3Thy} (**A**), 1.52 ppm, ce qui suggère un comportement identique d'organisation, i.e. micelles avec les unités supramoléculaires associées au cœur (liaisons H et interactions π).

L'absence de déblindage du proton imino NH_{Thy} (**D**) (~11 ppm) pour les copolymères **dibloc 1** et **multibloc 1** par rapport à celui des blocs hors mélange suggérait que la liaison supramoléculaire Thy/DAT n'était pas formée dans l'eau. Néanmoins, si l'on considère que blocs et copolymères s'organisent en micelles, les cœurs hydrophobes sont constitués d'unités aromatiques interagissant par liaisons hydrogène et interactions π. Or, ces deux types d'interactions ont des effets antagonistes sur les déplacements chimiques des protons impliqués : la liaison hydrogène déblinde tandis que l'interaction π blinde.

On sait d'expérience (Chapitre 2), que la liaison Thy/DAT est plus forte que les liaisons Thy/Thy et DAT/DAT, et que le proton imino NH_{Thy} (**D**) est d'autant plus déblindé que la liaison supramoléculaire est forte. A l'inverse, ce proton sera d'autant plus blindé que les interactions π sont importantes, c'est-à-dire que le volume stérique des unités est faible (empilement compact). Or, du fait de l'encombrement stérique des méthyles, les unités Thy/Thy s'empileront de façon moins compacte que les unités Thy/DAT. Les interactions π sont donc fortes et compensent la force d'association par liaison hydrogène. Ainsi, le déplacement chimique du proton imine NH_{Thy} (**D**) pourrait être fortuitement identique dans les deux cas (blocs et copolymères supramoléculaires).

3. RMN corrélation ^{1}H-^{15}N – HSQC et HMBC

Pour identifier et suivre les protons labiles portés par les azotes et impliqués dans des liaisons hydrogène, des expériences RMN 2D, en corrélation hétéronucléaire ^{1}H-^{15}N, ont été réalisées à 5 °C sur des solutions à 10 wt%.

La corrélation courte distance (*Heteronuclear Single Quantum Coherence*, HSQC) permet d'identifier les protons portés par des azotes (corrélation ^{1}J). La corrélation longue distance (*Heteronuclear Multi-Bond Connectivity*, HMBC) peut mettre en évidence les protons corrélant avec des azotes proches (corrélation ^{n}J, avec $n \leq 3$).

Sur les spectres 2D HSQC et HMBC, les abscisses correspondent aux déplacements chimiques enregistrés pour le spectre RMN ^{1}H, et les ordonnées correspondent au spectre RMN ^{15}N.

a. Chaine PPG_{2000}-NH_2 et unité supramoléculaire DAT-Cl

Les corrélations ^{1}H-^{15}N sont au préalable réalisées sur les réactifs suivants : le bloc PPG_{2000}-NH_2 et l'unité supramoléculaire DAT-Cl. La corrélation longue distance (HMBC) effectuée à 5 °C dans l'eau légère permet d'identifier l'amine terminale de la chaine à 35.9 ppm (annexe 2). Connaissant cette valeur, il est possible d'estimer le taux de greffage de la chaine.

Le DAT-Cl étant insoluble dans l'eau, sa corrélation longue distance est réalisée dans le DMSO-d_6 à 25 °C (HMBC, annexe 2). Les signaux des amines et des azotes du cycle triazine sont ainsi identifiés (Figure 14.A). L'analyse nous apprend également que le réactif contient une impureté, DAT-NH_2 (Figure 14.B), ce qui peut expliquer la conversion plus faible de la réaction de greffage du DAT sur les chaines polymères PEG et PPG.

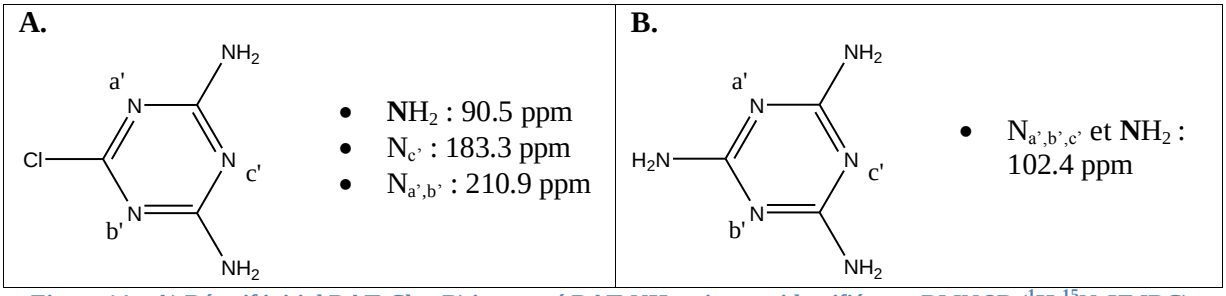


Figure 14 – A) Réactif initial DAT-Cl et B) impureté DAT-NH_2 ; signaux identifiés par RMN 2D (^{1}H-^{15}N, HMBC).

b. Blocs supramoléculaires élémentaires

La HSQC de PPG_{2000}-DAT réalisée dans l'eau légère à 5 °C permet d'identifier les deux amines primaires du DAT à 80.8 ppm et le lien amine secondaire (NH_C) entre la chaine PPG et l'unité DAT à 102.1 ppm (Figure 15).

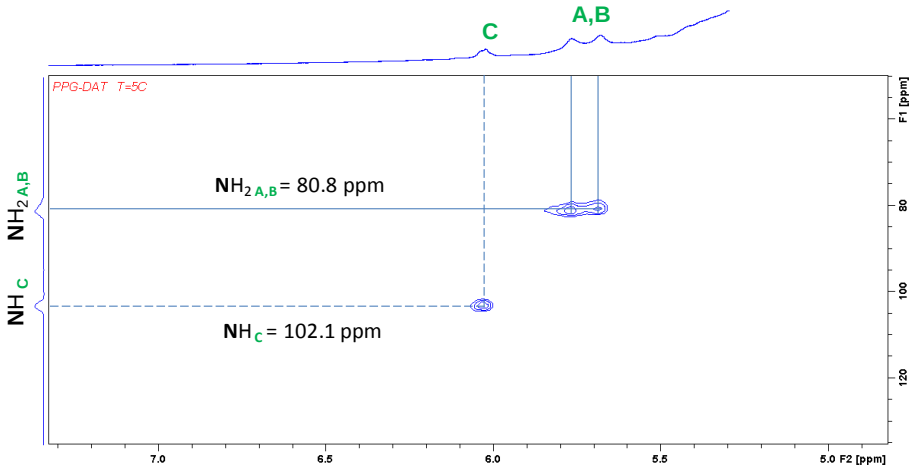


Figure 15 - RMN 2D de PPG_{2000}-DAT (HSQC, ^{1}H-^{15}N) effectuée dans l'eau légère à 5 °C, avec insert D_2O.

La corrélation longue distance (HMBC, 5 °C, D_2O, Figure 16) permet également d'identifier le lien amine, et les azotes du cycle triazine ($N_{a',b'}$ et $N_{c'}$). Par ailleurs, cette analyse révèle la présence résiduelle de chaines PPG_{2000}-NH_2 non greffées : l'azote terminal est identifié à 35.4 ppm. Comme indiqué au Chapitre 2, la réaction de greffage du DAT est efficace à environ 90 %. Les résultats sont rassemblés dans la Figure 17.

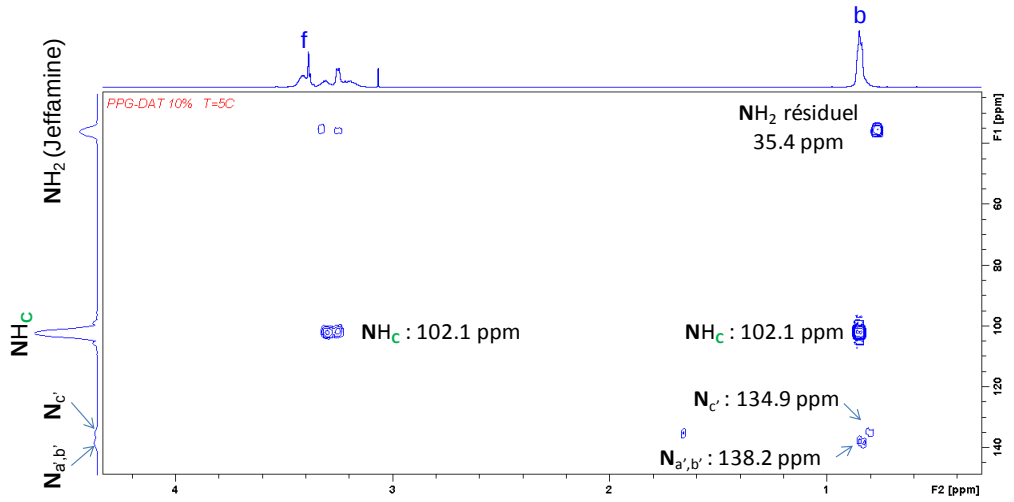
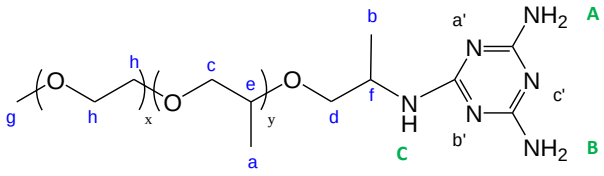


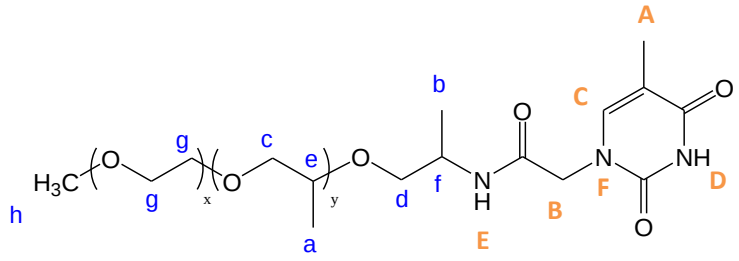
Figure 16 - RMN 2D (HMBC, ^{1}H-^{15}N) de PPG_{2000}-DAT effectuée dans D_2O à 5 °C.



- $NH_{2\ A,B}$: 80.8 ppm
- NH_C : 102.1 ppm
- $N_{c'}$: 134.9 ppm
- $N_{a',b'}$: 138.2 ppm

Figure 17 - Chaine PPG_{2000}-DAT et liste des signaux identifiés par HSQC et HMBC.

De la même façon, les expériences HSQC et HMBC réalisées sur le bloc supramoléculaire PEG_{1000}-Thy dans D_2O à 5 °C permettent d'identifier les azotes du cycle thymine et du lien amide (annexe 2). Les résultats sont rassemblés dans la Figure 18.



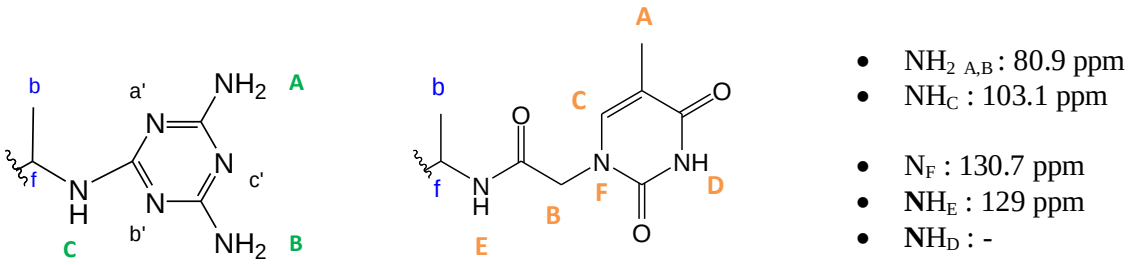
- NH_E : 128.5 ppm
- N_F : 130.3 ppm
- NH_D : 156.7 ppm

Figure 18 - Chaine PEG_{1000}-Thy et liste des signaux identifiés par HSQC et HMBC.

c. Copolymère **dibloc 1** – PEG_{1000}-Thy + PPG_{2000}-DAT

L'analyse HSQC du **dibloc 1** dans l'eau lourde à 5 °C ne nous permet pas d'identifier les protons d'intérêts. En effet, comme nous l'avons observé pour les spectres ^{1}H réalisés dans D_2O, les protons labiles portés par les azotes s'échangent avec le solvant.

L'analyse HSQC est reconduite dans l'eau légère, avec un insert de D_2O, complétée d'une corrélation longue distance HMBC dans l'eau légère (annexe 2). Les signaux réapparaissent (Figure 19) excepté celui du proton imine NH_D.



- $NH_{2\ A,B}$: 80.9 ppm
- NH_C : 103.1 ppm

- N_F : 130.7 ppm
- NH_E : 129 ppm
- NH_D : -

Figure 19 – Représentation partielles des chaines PEG_{1000}-Thy et PPG_{2000}-DAT et liste des signaux identifiés par HSQC et HMBC pour le copolymère dibloc 1.

Conclusion

Ces analyses ne nous permettent pas de conclure sur l'existence de la liaison Thy/DAT entre les blocs supramoléculaires dans l'eau. Il s'agit ici de difficultés propres au système et aux conditions d'étude : liaison supramoléculaire dynamique, échanges des protons labiles des unités supramoléculaires avec le solvant, protique et polaire, et nécessité de travailler à 5 °C pour que la chaine PPG reste en bon solvant dans l'eau.

Toutefois, l'analyse du déplacement chimique des protons méthyles (**A**) de la thymine qui a conduit à faire l'hypothèse d'une organisation en micelle des blocs élémentaires et des copolymères supramoléculaires nous amène à poursuivre l'étude par RMN DOSY. Cette séquence permet de remonter au coefficient de diffusion des molécules dans le milieu et peut renseigner sur leur organisation.

4. RMN DOSY

a. Partie théorique

La RMN DOSY (*Diffusion Ordered SpectroscopY)* évalue la diffusion des molécules en solution.[32,33] En plus des données classiques de RMN (déplacements chimiques, constantes de couplage), ces expériences 2D permettent de mesurer les coefficients d'autodiffusion translationnel des molécules dans une solution. Ainsi, dans un mélange, chaque constituant peut être distingué des autres par son propre coefficient de diffusion.

Lors d'une expérience de RMN DOSY, des gradients de champ pulsés (PFG) sont appliqués simultanément à une expérience d'écho de spin stimulé (STE). La vitesse de décroissance du signal est exponentielle et reliée directement au coefficient de diffusion (D). Ainsi, on observe que les signaux de petites molécules (D élevé) diminuent plus rapidement que ceux des grosses molécules (D faible) lorsque le gradient de champ pulsé est incrémenté.[34] Le coefficient de diffusion dépend donc de la structure de la molécule (masse molaire, taille, forme, charge) mais aussi des paramètres expérimentaux tels que la température ou la nature du solvant (solubilité/agrégation).

Les spectres DOSY sont obtenus par transformée de Fourier du signal de RMN et par transformée de Laplace inverse de la décroissance des signaux. Les déplacements chimiques sont reportés sur l'axe des abscisses (δ en ppm) et les coefficients de diffusion des espèces

présentes en solution sur l'axe des ordonnées (D en m^2/s). Les taches (déplacements chimiques) d'une même espèce apparaissent alignées pour une valeur unique de coefficient de diffusion.

La mesure de ces coefficients permet donc de caractériser la structure des molécules et il est possible de remonter à la masse molaire moyenne en poids M_w d'un polymère. Cette technique permet également d'observer des phénomènes mésoscopiques. En effet, lorsque qu'une molécule interagit (agrégation, interactions intermoléculaires) ou s'auto-organise en un système de taille plus importante (micellisation, encapsulation), son coefficient de diffusion diminue fortement.

La RMN DOSY a été fréquemment utilisée pour caractériser des assemblages supramoléculaires dans l'eau.[35] Elle semble donc particulièrement adaptée à nos systèmes pour statuer sur l'existence de la liaison Thy/DAT dans l'eau.

b. Blocs supramoléculaires élémentaires

i. Mesures préalables : DAT-Cl, PPG_{2000}-NH_2 et PEG_{1000}-NH_2

Ces mesures sont faites dans un premier temps pour estimer quantitativement la différence entre le coefficient de diffusion d'une petite molécule, DAT-Cl, et celui d'une chaine polymère (1000-2500 g/mol). Pour les chaines polymères, on opère sur des solutions à 10 % et à 5 °C, température à laquelle elles sont parfaitement hydrophiles. Les coefficients mesurés sont présentés dans le Tableau 2 (spectres en annexe 2).

Tableau 2 – Mesure des coefficients de diffusion par RMN DOSY (solutions à 10 wt%).

Référence	Solvant	Température (°C)	Coefficient de diffusion (m^2/s)
DAT-Cl	DMSO-d_6	25	$2{,}75.10^{-10}$
PPG_{2000}-NH_2	H_2O + insert D_2O	5	$3{,}02.10^{-11}$
PEG_{1000}-NH_2	D_2O	5	$7{,}76.10^{-11}$

Les valeurs obtenues sont effectivement éloignées d'un ordre de grandeur, et comme attendu, la petite molécule diffuse plus vite que les chaines polymères. Les coefficients de diffusion des chaines sont consistants avec ceux rapportés dans la littérature. A titre d'exemple, dans D_2O à 5 °C, le coefficient d'une chaine PEG de 400 g/mol est de $17{,}1.10^{-11}$ m^2/s, celui d'une chaine de 3000 g/mol de $5{,}12.\ 10^{-11}$ m^2/s.[36] La chaine PEG, plus petite que la chaine PPG, diffuse plus rapidement.

On notera toutefois que les solvants et les températures de mesures sont différents, DAT-Cl étant insoluble dans l'eau, ce qui peut fausser l'analyse. En effet, la polarité, le degré de solvatation et la viscosité du solvant sont des paramètres qui impactent la diffusion. On reporte les coefficients de diffusion de PEG_{1000}-NH_2 mesurés dans D_2O à différentes températures (Tableau 3). On observe que la diffusion s'accélère avec la température quand la viscosité de l'eau lourde diminue (1.5 mPa.s à 5 °C et 0.89 mPa.s à 25 °C).[36]

Tableau 3 – Mesures des coefficients de diffusion pour le PEG_{1000}-NH_2 en température dans D_2O.

Température (°C)	Coefficient de diffusion de PEG_{1000}-NH_2 (m^2/s)
5	$7{,}76.10^{-11}$
10	$9{,}12.10^{-11}$
15	$1{,}2.10^{-10}$
25	$1{,}7.10^{-10}$

ii. Blocs supramoléculaires PPG_{2000}-DAT et PEG_{1000}-Thy

Les spectres DOSY de PPG_{2000}-DAT (Figure 20) et PEG_{1000}-Thy (Figure 21) à 10 wt% sont enregistrés dans D_2O à 5 °C.

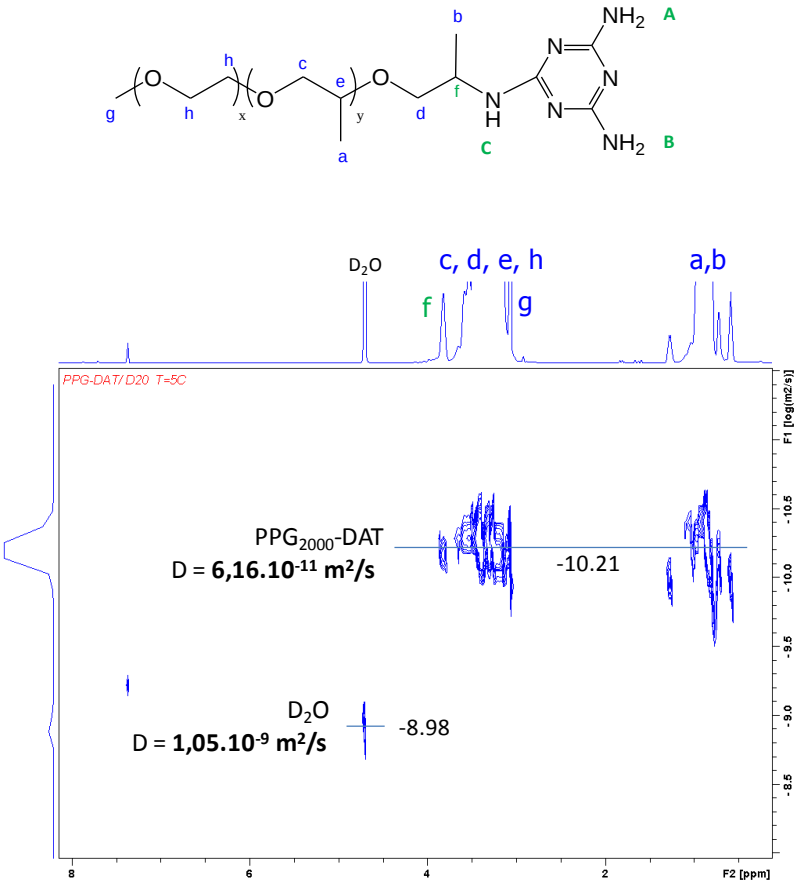


Figure 20 – Spectre DOSY de PPG_{2000}-DAT, dans D_2O à 5 °C (10 wt%).

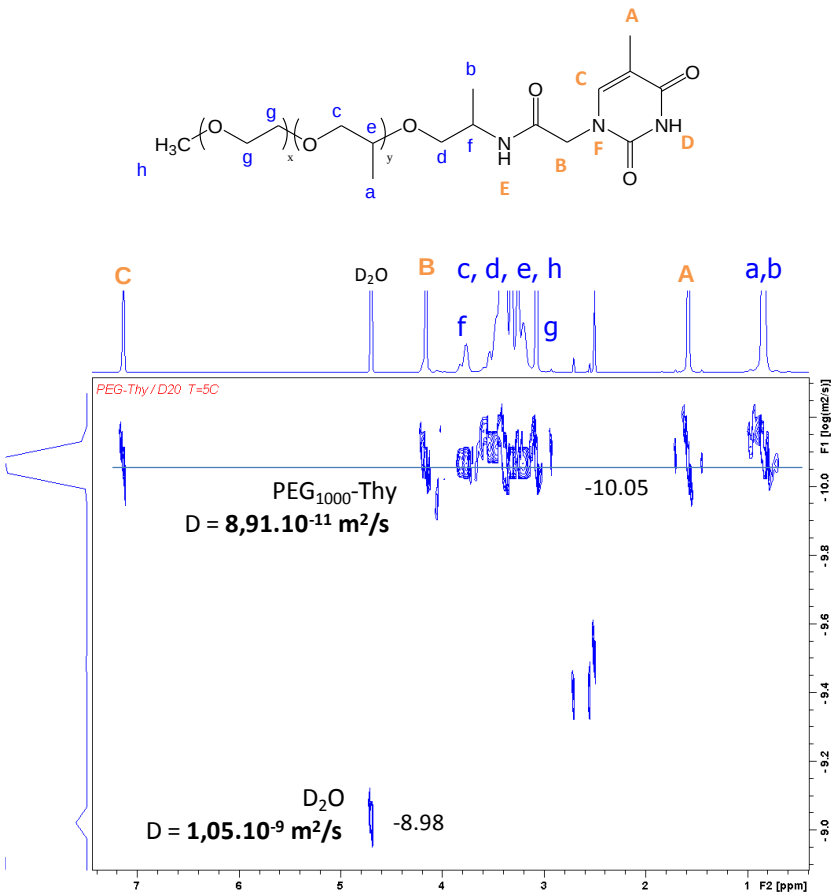


Figure 21 - Spectre DOSY de PEG_{1000}-Thy, dans D_2O à 5 °C (10 wt%).

Pour PPG_{2000}-DAT et PEG_{1000}-Thy, les coefficients de diffusion sont respectivement de **$6{,}16.10^{-11}$ m^2/s** et **$8{,}91.10^{-11}$ m^2/s**. Les blocs supramoléculaires diffusent donc plus rapidement que les chaines non greffées PPG_{2000}-NH_2 ($3{,}02.10^{-11}$ m^2/s) et PEG_{1000}-NH_2 ($7{,}76.10^{-11}$ m^2/s).

Ce résultat semble confirmer le raisonnement précédent sur l'organisation des blocs supramoléculaires en micelles. En effet, on s'attend à ce que de tels objets aient un volume plus petit que celui des chaines non greffées complètement hydrophiles et formant des pelotes statistiques gonflées. Dans le cas des blocs supramoléculaires, les chaines PPG ou PEG sont confinées à proximité du cœur d'unités supramoléculaires. Les chaines PEG étant plus courtes que les chaines PPG, les objets formés par PEG_{1000}-Thy sont plus petits et diffusent plus rapidement.

c. Copolymère **dibloc 1** – PEG_{1000}-Thy + PPG_{2000}-DAT

Pour le **dibloc 1**, les mesures, réalisées dans D_2O à 5 °C révèlent deux coefficients de diffusion distincts : le plus faible correspond au bloc PPG_{2000}-DAT, le plus élevé correspondant au bloc PEG_{1000}-Thy (Figure 22). Les coefficients de diffusion obtenus sont présentés dans le Tableau 4.

Tableau 4 - Mesures des coefficients de diffusion du dibloc 1 dans D_2O.

Température (°C)	Coefficient PPG_{2000}-DAT (m^2/s)	Coefficient PEG_{1000}-Thy (m^2/s)
5	$5{,}88.10^{-11}$	$8{,}71.10^{-11}$

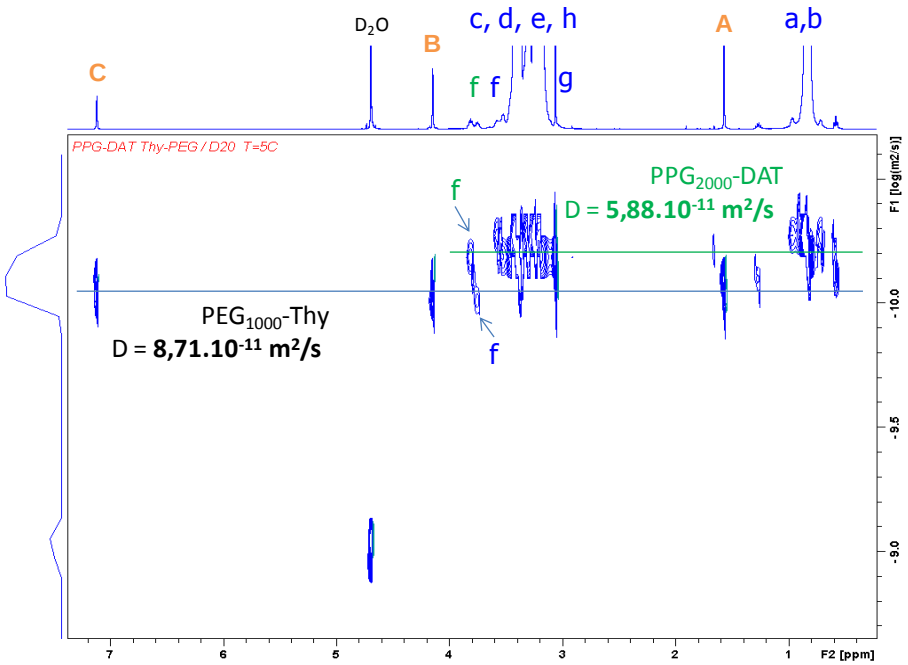


Figure 22 - Spectre DOSY du dibloc 1 (PEG_{1000}-Thy+PPG_{2000}-DAT), dans D_2O à 5 °C (10 wt%).

L'observation de deux coefficients, spécifiques à chaque bloc, tendrait à prouver que les blocs sont dissociés et que l'interaction Thy/DAT est rompue. On rappelle que les copolymères (et donc les liaisons Thy/DAT) ont été préalablement formés par *solvent cast* dans le dichlorométhane avant d'être mis en solution dans l'eau. Toutefois, on note que les coefficients mesurés sont légèrement plus faibles que ceux des blocs élémentaires seuls, ce qui impliquerait que les blocs PPG et PEG soient plus « volumineux ».

Dans l'hypothèse où les blocs et les copolymères supramoléculaires forment des micelles avec un cœur hydrophobe plus dense pour Thy/DAT que pour Thy/Thy ou DAT/DAT (constante d'association et interactions π plus fortes pour Thy/DAT), on peut imaginer que les objets formés par le **dibloc 1** soient mieux définis et plus stables. La densité d'empilement des unités Thy/DAT permettrait alors d'introduire dans une micelle plus de molécules de **dibloc 1**. En retour, le volume de la couronne (chaines PEG et PPG gonflées) serait plus important.

Avec un copolymère covalent, on n'observerait qu'un seul coefficient de diffusion, mais pour le copolymère supramoléculaire, l'équilibre dynamique entre paire associée et unités libre doit être pris en compte : à tout instant, il peut donc exister des chaines PPG_{2000}-DAT et PEG_{1000}-Thy non associées et dont les unités forme des liaisons hydrogène avec des molécules d'eau. Dans ce cas, elles sont hydrophiles et comparables aux chaines non greffées étudiées précédemment, sous forme de pelotes statistiques gonflées qui diffusent rapidement. Les coefficients observés seraient alors la moyenne du coefficient de diffusion du **dibloc 1** auto-associé en micelles cylindriques (micelles de volume important, coefficient de diffusion faible) et du coefficient de diffusion des blocs supramoléculaires libres (pelotes statistiques de petit volume, coefficients de diffusion plus élevés).[37–39] Les valeurs mesurées semblent indiquer que les micelles de **dibloc 1** sont prépondérantes.

Enfin, l'expérience DOSY a été réalisée dans l'eau légère avec un insert de D_2O, à 5 °C. Comme dans l'eau lourde, on observe deux coefficients distincts quoique moins différents : $2{,}09.10^{-11}$ m^2/s pour PPG_{2000}-DAT et $3{,}23.10^{-11}$ m^2/s pour PEG_{1000}-Thy. Il ne s'agit pas ici d'un effet de la viscosité du solvant, H_2O étant moins visqueux que D_2O (à 25 °C, 0.89 et 1.09 mPa.s respectivement)[40] mais plus vraisemblablement de l'aptitude du solvant à solvater, donc à gonfler, les chaines PEG et PPG (constante diélectrique : 78.5 et 78.06 à 25 °C respectivement).

Conclusion générale sur la RMN

L'analyse RMN des copolymères supramoléculaires dans l'eau, lourde ou légère, ne nous permet pas de conclure clairement ni sur l'existence (ou la persistance) de la liaison supramoléculaire Thy/DAT ni sur la formation d'objets auto-assemblés. Les conditions opératoires sont en effet limitantes : nécessité de travailler à basse température pour conserver les blocs PPG sous leur LCST (milieu visqueux), échange des protons mobiles avec le solvant (diminution voire disparition des signaux), et effet compétiteur du solvant à long terme (déplacement de l'équilibre supramoléculaire). Néanmoins, en s'appuyant sur d'autres techniques, notamment la DLS qui sera présentée au Chapitre 4, et en considérant que l'eau est un solvant sélectif des chaines PEG et PPG (à 5 °C), nous avons formulé l'hypothèse que blocs et copolymères supramoléculaires s'organisent en micelles constituées d'un cœur cylindrique d'unités Thy et/ou DAT et d'une couronne de chaines PEG et/ou PPG. L'analyse RMN dans différents solvants, sélectifs ou non, tend à confirmer cette hypothèse, mais est compliquée par l'effet compétiteur de l'eau. Pour pallier ces difficultés opératoires, il faudrait reproduire les analyses DOSY dans le toluène, bon solvant des chaines PPG et PEG et mauvais solvant des unités Thy et DAT. Le toluène est également moins visqueux (0.56 mPa .s), n'est pas un solvant θ des chaines ni un compétiteur des liaisons hydrogène. On peut donc anticiper que les copolymères s'organiseront en micelles avec un cœur cylindrique de paires Thy/DAT, sans rupture irréversible des copolymères.

Dans le cadre de la thèse, nous avons cherché à montrer plus indirectement l'existence (persistance) de la liaison supramoléculaire Thy/DAT en étudiant les propriétés thermiques et thermodynamiques des solutions aqueuses des copolymères par µ-DSC.

II. Exploitation des propriétés thermiques et thermodynamiques pour l'étude des copolymères supramoléculaires en solutions aqueuses

La LCST des blocs PPG supramoléculaires est un paramètre important à prendre en compte pour la caractérisation et l'utilisation de nos systèmes encapsulants. Dans cette section, après avoir expliqué le phénomène de LCST (*Lower Critical Solution Temperature*) et montrer comment il peut être exploité pour induire l'auto-organisation des chaines de poloxamères en solution aqueuse, nous montrerons comment l'analyse quantitative des propriétés thermiques et thermodynamiques de ces systèmes par µ-DSC permet de mettre en évidence l'existence de la liaison supramoléculaire Thy/DAT en solutions aqueuses.

Nous nous intéresserons notamment aux valeurs des températures et des enthalpies de micellisation.

1. LCST : définition

a. Polymères thermosensibles

Lors d'un changement de température, les solutions de polymères thermosensibles présentent une séparation de phase : les polymères qu'ils contiennent subissent une transition de phase réversible en passant d'un état soluble (en bon solvant) à un état effondré (en mauvais solvant). La transition peut se produire par élévation de température, on parle alors de LCST (*Lower Critical Solution Temperature* ou température critique inférieure de solubilité) ou par abaissement de température, on parle alors de UCST (*Upper Critical Solution Temperature* ou température critique supérieure de solubilité) (Figure 23).

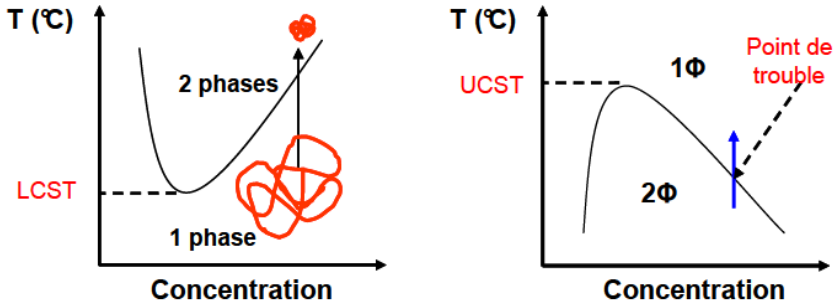


Figure 23 – Diagrammes de phase de polymères thermosensibles de type LCST (à gauche) et UCST (à droite).[41]

Classiquement, la solubilité des polymères augmente avec la température, mais les polymères thermosensibles présentent la particularité de devenir insolubles à une certaine température. Le changement conformationnel des chaines à la transition entraine la turbidité de la solution (*point trouble*) et se poursuit jusqu'à la précipitation du polymère. La solution présente alors deux phases : l'une riche en polymère et l'autre riche en solvant. La température de transition de phase dépend de la concentration en polymère mais aussi de sa masse moléculaire. Pour un polymère de masse donnée, la température minimum (ou maximum) mesurée sur la gamme de concentrations correspond à la LCST (ou UCST).

Le comportement des polymères thermosensibles en solution (séparation de phase due à la température ou à la dissolution) repose sur la nature et la force des interactions polymère-solvant et polymère-polymère. Pour les polymères thermosensibles hydrosolubles à LCST, il s'agit des interactions hydrophobes (entre segments de la chaine polymère) et des liaisons hydrogène (polymère-eau). Avec l'augmentation de la température, les liaisons hydrogène entre le polymère et l'eau sont rompues au profit des interactions polymère-polymère. Il s'en suit un changement de conformation des chaines et donc de leur solubilité.[42]

Dans la suite de ce manuscrit, on ne s'intéressera qu'aux polymères thermosensibles hydrosolubles, notamment à LCST.

i. Polymères à LCST

La Figure 24 présente un diagramme de phase de type LCST. On observe que les températures de transition de phase dépendent de la fraction volumique (composition) du polymère en solution et du type de séparation de phase (*binodale* ou *spinodale*). La LCST correspond à la concentration critique, se trouvant à l'intersection des courbes spinodale et binodale.

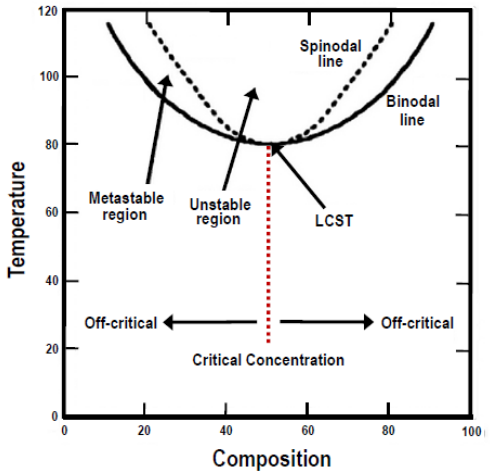


Figure 24 – Diagramme de phase de type LCST.[43]

Le poly(*N*-isopropyl acrylamide), ou PNiPAm, figure parmi l'exemple le plus connu de polymères hydrosolubles thermosensibles.[42,44] Compte tenu de sa LCST (32 °C) proche de la température corporelle, ce polymère a été particulièrement étudié pour des applications diverses, notamment la vectorisation de substances thérapeutiques. Son changement de conformation lors de sa transition de phase est représenté Figure 25. Il est intéressant de noter que lors de cette transition, les chaines polymère ne sont pas totalement déshydratées. En effet, lors de son changement de conformation de chaine gonflée à globule, le PNiPAm retient 66 % d'eau à l'intérieur de son volume hydrodynamique.[45]

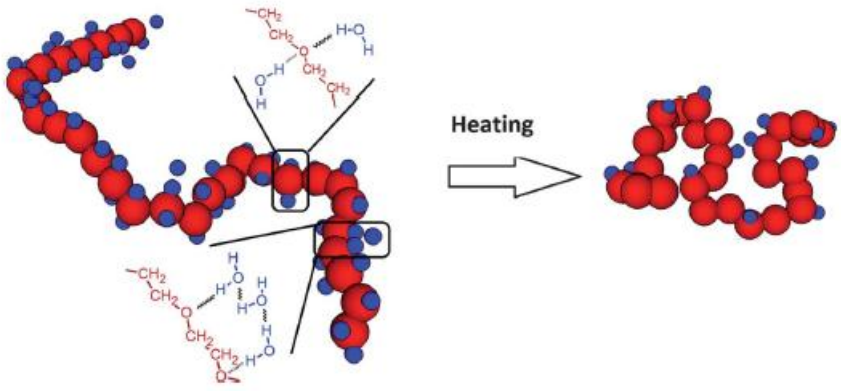


Figure 25 – Transition de phase du PNiPAm.[42] Sous la LCST, la chaine polymère est gonflée et présente de nombreuses liaisons hydrogène avec les molécules d'eau. Au-dessus de la LCST, la chaine se replie sur elle-même, formant une globule dense pour minimiser les contacts avec l'eau et favoriser les interactions polymère-polymère.

ii. Polymères à UCST

Les polymères à UCST sont solubles en solution aqueuse au-dessus de la température critique et deviennent insolubles lors d'une diminution de la température. Dans ce cas, ce ne sont plus les liaisons hydrogène qui sont le moteur de la transition de phase mais les interactions électrostatiques qui se forment entre chaines polymères (paires d'ions).

Très peu de polymères thermosensibles hydrosolubles présentent une UCST. L'exemple le plus cité est celui de polymères zwitterioniques possédant sur chacune de leurs unités monomères une charge positive et une charge négative (Figure 26).[46,47]

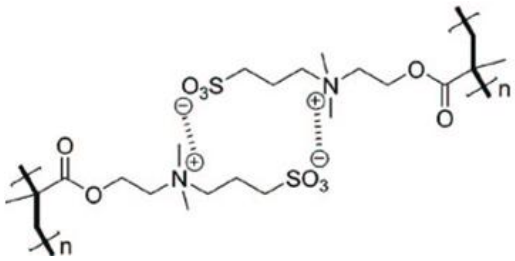


Figure 26 - Association de paires d'ions entre unités zwitterioniques.[48]

b. Impact du greffage d'unités hydrophiles sur des chaines polymères à LCST

La méthode la plus fréquente pour modifier la LCST d'un polymère thermosensible consiste en la modification chimique de la chaine. Ainsi, incorporer des unités hydrophiles permet d'augmenter sa solubilité dans l'eau et, par conséquent, sa température critique. La séparation de phase est alors plus tardive. C'est ce qu'a par exemple démontré Lutz, en greffant des chaines PEG sur un squelette de poly(méthacrylate), chaine hydrophobe ne présentant aucune LCST. En faisant varier la taille et le taux de greffage des chaines PEG, le système amphiphile formé présente une LCST allant de 26 à 90 °C.[7,8] La variation de la LCST est également observée pour des copolymères à blocs statistiques,[49] des copolymères diblocs de type AB[50] ou des chaines pendantes greffées sur un squelette hydrophobe comme dans le cas de Lutz. Il existe toutefois des systèmes où la LCST n'est pas impactée par la modification de la chaine polymère. C'est le cas pour les systèmes développés par Agut *et al.*[32] et Topp *et al.*[33] pour lesquels le greffage d'unités hydrophiles ne modifie pas la LCST de la chaine initiale (formation d'un copolymère à blocs de type AB).

2. La LCST : levier de l'auto-organisation des chaines polymères en solution aqueuse

a. LCST et séparation de phase : contribution enthalpiques et entropiques

Pour les polymères thermosensibles hydrosolubles, il est généralement admis que les interactions dépendantes de la température sont les liaisons hydrogène (eau-polymère) et les interactions hydrophobes (polymère-polymère).[42,44,51,52] La force de ces deux types d'interaction évolue avec la température, ce qui résulte en une variation de la solubilité des chaines polymères qui, par suite, changent de conformation. Plus précisément, la

solubilisation d'un polymère hydrosoluble est déterminée par l'enthalpie libre du système *G*, définie par :

$$G = H - TS$$

où *H* et *S* sont respectivement l'enthalpie et l'entropie du système, et *T* la température.[42]

La contribution enthalpique vient de la compétition entre les interactions intra (polymère-polymère) et intermoléculaires (solvant-polymère), comme les interactions de Van der Waals et les liaisons hydrogène.[53–55] La dissolution des chaines polymères hydrophiles est favorisée lorsque l'enthalpie de mélange est dominée par les liaisons hydrogène formées entre les molécules d'eau et les groupes polaires hydrophiles des chaines polymères ($\Delta H < 0$).[53–55]

Les contributions entropiques proviennent du mélange des chaines polymères et du solvant (favorable à la dissolution) et de l'organisation spécifique des molécules d'eau à proximité des groupes hydrophobes de la chaine polymère (défavorable à la dissolution). Cette organisation spécifique des molécules d'eau est prépondérante : elle entraîne une diminution de l'entropie du système et est à l'origine des *interactions hydrophobes*.[56]

Sous la LCST, les interactions polymère-solvant prédominent. Les molécules d'eau établissent, avec les groupes hydrophiles des polymères, des liaisons hydrogène très organisées autour des chaines et forment ainsi une *cage de solvatation*. Les liaisons hydrogène étant enthalpiquement et entropiquement favorables, on a donc $\Delta G < 0$, les chaines polymères sont bien solubles, sous forme d'unimères hydrophiles gonflés.

Au-delà de la LCST, les liaisons hydrogène entre le polymère et le solvant sont faibles et moins nombreuses. L'enthalpie favorable à la dissolution n'est plus assez élevée pour compenser la perte d'entropie due à l'organisation des molécules d'eau autour des groupements hydrophobes ($\Delta G > 0$). Les interactions hydrophobes polymère-polymère sont alors favorisées,[44] ce qui entraine une déshydratation des chaines polymères qui deviennent hydrophobes et insolubles dans l'eau. Elles expulsent l'eau et se replient sur elles-mêmes afin de présenter une surface minimale en solution : elles passent ainsi de chaines gonflées à des globules effondrées et denses.[45,57,58] Ce changement de conformation permet de diminuer les interactions défavorables polymère-solvant et l'énergie libre du système. Macroscopiquement, la solution devient turbide et le polymère précipite, c'est la séparation de phase.

b. LCST et micellisation des poloxamères

Comme décrit dans les chapitres précédents, les *poloxamères* sont des copolymères amphiphiles triblocs de structure PEG-PPG-PEG, les blocs PEG externes étant hydrophiles et le bloc PPG central étant hydrophobe.[59] Il existe également des poloxamères dit « inverses », avec un bloc PEG central et deux blocs PPG externes. Les blocs PPG et PEG présentant chacun une LCST, les poloxamères peuvent être considérés comme des copolymères amphiphiles thermosensibles. La valeur de la LCST varie avec la masse molaire de la chaine et se situe autour de 15 °C pour un PPG d'environ 3000 g/mol[16] et au-delà de 80 °C pour un PEG de 1000 g/mol.[15,49]

Ces copolymères peuvent s'auto-organiser en solution aqueuse en obéissant aux mêmes contributions enthalpiques et entropiques que celles évoquées précédemment pour les homopolymères thermosensibles (non amphiphiles). Les températures de transition de chaque bloc étant très différentes, on n'observe pas de séparation de phase du système comme observé pour des homopolymères (agrégation et précipitation des chaines) mais la formation d'objets en solution résultant de leur auto-organisation. Ainsi, lorsque la température de la solution ou la concentration en poloxamère augmente, les chaines s'auto-organisent selon un processus de micellisation.[60–63] Le bloc PPG passant sa LCST devient hydrophobe tandis que le bloc PEG reste hydrophile. Une température micellaire critique (CMT) et une concentration micellaire critique (CMC) peuvent alors être définies.

La micellisation des copolymères en solution aqueuse à une concentration précise repose sur leur amphiphilie et les interactions de chaque bloc avec le solvant, le système cherchant à diminuer son énergie libre.[42,64] Sous la CMT, ce qui revient à dire sous la température critique des blocs PPG (LCST), tous les blocs étant en bon solvant, le copolymère est sous forme d'unimères gonflés et hydratés.[60,62]

Lorsque la température augmente, les blocs PPG passent leur LCST et deviennent hydrophobes : les interactions hydrogène sont rompues et entrainent la déshydratation des chaines.[65,66] Cette température correspond à la CMT du copolymère. La contribution enthalpique pour les blocs PPG devient donc thermodynamiquement défavorable et c'est la contribution entropique qui gouverne la micellisation : elle augmente lorsque les molécules d'eau cessent d'être organisées autour des blocs PPG (*cage de solvatation*) et bougent librement en solution.[64]

Ainsi, la déshydratation des blocs PPG, et par conséquent leur séparation du milieu aqueux, est le moteur de la micellisation des chaines.[60,63,67–70] La formation de micelles avec un cœur hydrophobe majoritairement composé de PPG permet de minimiser les interactions défavorables polymère-eau. De plus, l'auto-assemblage des blocs PEG hydrophiles en une couronne dense hydratée confère aux micelles une stabilisation stérique.

Enfin, à forte concentration, certains poloxamères peuvent présenter une grande augmentation de leur viscosité avec la température, menant à un phénomène de gélation réversible. Ce phénomène ne sera pas développé ici.

Les revues de Kataoka *et al.* [71] ainsi que de Voets *et al.* [72] explicitent en détails le processus de micellisation en solution aqueuse pour des chaines copolymères.

3. Mesure de la LCST des blocs et copolymères supramoléculaires par UV-Visible

La LCST d'un polymère peut être déterminée par diffusion de la lumière,[73] par analyse calorimétrique différentielle à balayage[74–77] (*Differential Scanning Calorimetry*, DSC) ou par mesure de la transmittance en UV-visible (méthode du point de trouble).[77,78] C'est cette dernière méthode que nous avons utilisé pour déterminer la LCST du **dibloc 1**.

Le bloc PPG_{2000}-DAT entrant dans la composition de différents copolymères à blocs amphiphiles de l'étude (**dibloc 1, tribloc 1**, …), sa LCST a été préalablement déterminée. Son diagramme de phase dans l'eau a été établi par la méthode de point de trouble pour des concentrations de 0,35 à 25 % en masse (Figure 27.A).

Dans ces expériences, l'intensité transmise par une solution de concentration donnée est mesurée en fonction de la température. Le point de trouble correspond à la température critique T_c (ou température de transition de phase) pour laquelle l'intensité transmise atteint 50 % de l'intensité incidente. La LCST est la température minimum du diagramme de phase et est liée à un pourcentage massique particulier.

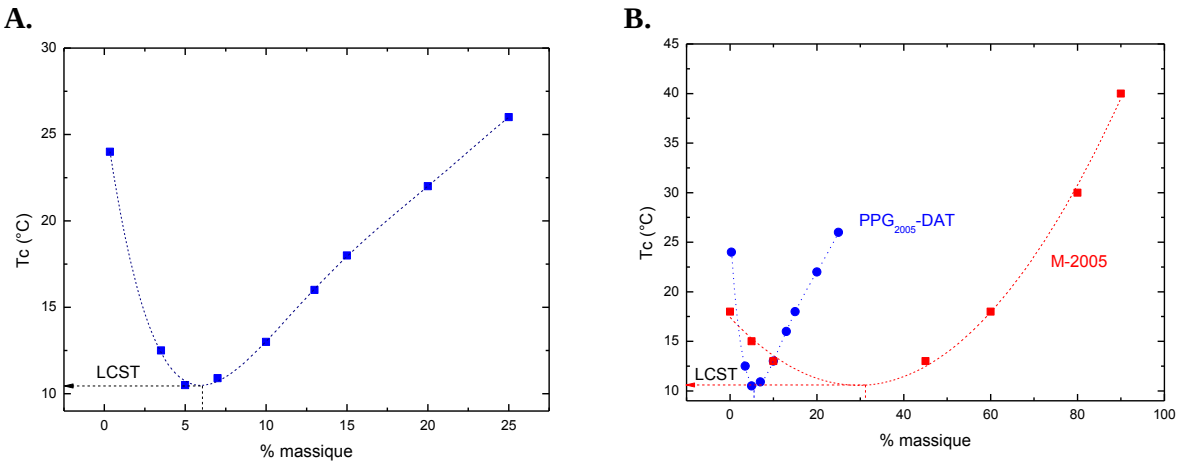


Figure 27 – A) Diagramme de phase de PPG_{2000}-DAT en solution aqueuse, B) comparaison avec le diagramme de phase de la Jeffamine M-2005 (PPG_{2000}-NH_2).[79]

La LCST du bloc élémentaire PPG_{2000}-DAT est voisine de 10 °C pour une solution à 5 % en masse (Figure 27.A). La LCST du PPG_{2000}-NH_2, précurseur de PPG_{2000}-DAT, a été mesurée à la même température mais pour une solution à 30% en masse (Figure 27.B).[79] Cette différence notable peut être attribuée à l'augmentation de l'hydrophobie introduite par l'unité DAT, qui comme nous l'avons expliqué précédemment est hydrophobe, bien que capable de former des liaisons hydrogène.[3–5]

Dans le copolymère **dibloc 1**, PPG_{2000}-DAT + PEG_{1000}-Thy, on pourrait anticiper *a priori* que le bloc PEG hydrophile renforce l'hydrophilie du système et augmente ainsi la LCST, comme il a été observé pour les copolymères PMMA/PEG de Lutz.[7] Le diagramme de phase du **dibloc 1**, construit de la même façon que précédemment, est identique à celle du bloc élémentaire PPG_{2000}-DAT. La présence du bloc PEG_{1000}-Thy n'affecte donc pas *a posteriori* la solubilité et la LCST du bloc PPG_{2000}-DAT.

Cependant, ce résultat ne confirme pas nécessairement l'absence de la liaison supramoléculaire Thy/DAT. En effet, comme mentionné précédemment, le greffage d'unités hydrophiles n'induit pas systématiquement une augmentation de la LCST d'une chaine polymère hydrosoluble.[9,10] La liaison Thy/DAT peut donc être formée sans que l'on note de modification de la LCST du système. Pour confirmer ou infirmer cette hypothèse, les propriétés thermiques et thermodynamiques des copolymères supramoléculaires ont été étudiées par µ-DSC.

4. Etude des propriétés thermiques et thermodynamiques par µ-DSC

a. Etude par µ-DSC : informations sur les évènements et la structure des systèmes

La µ-DSC permet de mesurer les données thermodynamiques d'évènements se produisant pour un système polymère en solution aqueuse, tel qu'une transition de phase de type LCST ou une micellisation.[60]

Lors du chauffage, ces processus sont repérés par un endotherme plus ou moins symétrique et pouvant s'étaler sur une plage de températures plus ou moins large. Dans notre étude, ce pic correspond à la déshydratation des blocs PPG qui conduit soit à la transition de phase (bloc PPG seul, LCST) soit à la micellisation (copolymère, CMT). On repère deux températures : T_{onset}, la température où débute l'évènement, et T_{end}, qui marque la fin de cet évènement. Selon le système étudié, l'enthalpie mesurée est celle de la transition de phase ou de la micellisation.[62,63]

Dans le cas d'un copolymère, T_{onset} correspond à la CMT, que l'on peut assimiler à la LCST du bloc hydrophobe du poloxamère. Sa valeur diminue avec l'augmentation de la taille et de la fraction volumique des blocs hydrophobes, preuve que le PPG est déterminant dans le processus de micellisation.[63]

La DSC et la µ-DSC ont été utilisées pour caractériser des mélanges binaires de polymères et des copolymères de différentes architectures (greffés, à blocs, en Y).[64,80,81] Par rapport à la méthode du point de trouble, cette méthode permet une mesure plus fine des températures de transition de phase.[82] De plus, elle va plus loin avec l'analyse des enthalpies des transitions de phases qui permet de caractériser l'effet de l'incorporation d'unités hydrophiles et l'impact de l'architecture macromoléculaire du système. En effet, les chaines contraintes spatialement par la présence d'un branchement obtenu par le greffage d'une nouvelle chaine hydrophile (copolymères en peigne, étoiles, réseaux) ou par la présence d'une chaine polymère libre, présentent des enthalpies de transition de phase plus faibles : la contrainte spatiale limite le nombre de conformations possibles pour la chaine.

L'influence du greffage d'unités PEG sur des chaines de PNiPAm a ainsi été démontrée, en comparant l'enthalpie de la chaine PNiPAm seule à celle de copolymères diblocs PNiPAm -*b*-PEG et celle de copolymères de type AB_2 (architecture en Y).[64,80] Les enthalpies des blocs PNiPAm des deux types de copolymères sont plus faibles que celle de la chaine seule : les blocs PNiPAm sont donc contraints par les blocs PEG hydrophiles. De plus, à teneur égale en unités PEG, les blocs PNiPAm des copolymères AB_2 présentent les enthalpies les plus faibles, c'est-à-dire une plus grande contrainte conformationnelle. Tang *et al.*[64] ont observé une diminution des températures critiques en fonction du nombre croissant d'unités PEG, résultats qui n'ont cependant pas été confirmés par Spěváček *et al.*[80]

Pour caractériser l'influence des blocs PEG sur le comportement en solution aqueuse des copolymères supramoléculaires et statuer sur l'existence/persistance de la liaison Thy/DAT, nous nous sommes donc tournés vers cette technique.

b. Partie expérimentale

Les analyses calorimétriques à balayage (*Differential Scanning Calorimetry*, DSC) ont été réalisées sur un appareil de µ-DSC7 evo (Setaram) sous atmosphère inerte (azote). Comparé à un appareil de DSC classique, la µ-DSC7 a une sensibilité accrue et est spécialement conçue pour l'analyse d'échantillons liquides.

Les copolymères étudiés sont le **dibloc 1** (PPG_{2000}-DAT + PEG_{1000}-Thy), le **tribloc 1** (PPG_{2000}-DAT + Thy-PEG_{2000}-Thy) et le **tribloc 4** (PEG_{1000}-Thy + DAT-PPG_{2000}-DAT).

Leur formation par évaporation de solvant (*solvent casting*) est décrite au Chapitre 2. Ils ont ensuite été solubilisés dans l'eau à 4 °C sans agitation et maintenus à cette température 24 h avant d'être analysés (procédé de solubilisation des poloxamères dans l'eau, appelé *cold method*[62,83,84]). Trois concentrations ont été étudiées : 0.5 – 5 – 10 % en masse de copolymère.

Les solutions aqueuses de copolymère (V ≈ 0.8 mL) sont équilibrées avec une référence contenant la même quantité d'eau pure, et sont soumises à des cycles de montée et de descente en température, de 5 à 50 °C, avec une rampe de 0.1 °C/min. Chaque analyse débute par une stabilisation de l'échantillon à 5 °C pendant 2 h.

c. Analyse du **dibloc 1** – PEG_{1000}-Thy + PPG_{2000}-DAT

Le **dibloc 1**, PPG_{2000}-DAT + PEG_{1000}-Thy, est analysé par µ-DSC.

Pour mesurer l'effet du bloc PEG_{1000} sur l'enthalpie de transition du bloc PPG_{2000}, ces résultats sont comparés à ceux du bloc PPG_{2000}-DAT seul (Figure 28.A), d'un mélange de PPG_{2000}-DAT et de MeO-PEG_{1000}-OMe ne pouvant se lier par leurs extrémités (Figure 28.B) et d'un homologue **dibloc covalent** PPG_{2000}-NH-PEG_{1000} synthétisé pour l'étude (annexe 1) (Figure 28.D).

Les échantillons B, C et D contiennent la même proportion de PPG_{2000} et de PEG_{1000} (70 et 30% en masse respectivement). Les solutions de PPG_{2000}-DAT seul tiennent compte de cette proportion (70 %).

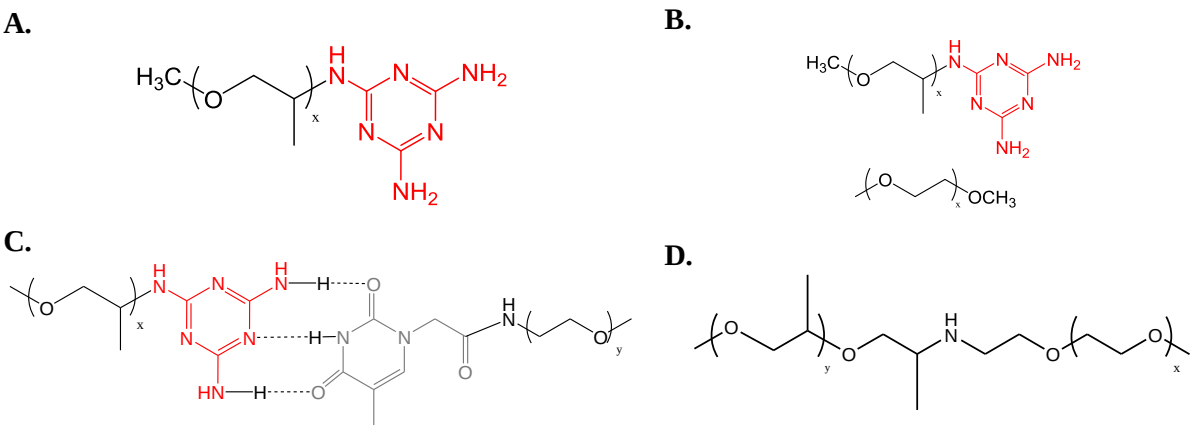


Figure 28 - Systèmes (co)polymères étudiés : A) PPG_{2000}-DAT, B) PPG_{2000}-DAT + PEG non fonctionnel, C) dibloc 1 PPG_{2000}-DAT + PEG_{1000}-Thy, D) homologue dibloc covalent PPG_{2000}-NH-PEG_{1000}.

Les thermogrammes obtenus au chauffage pour ces quatre échantillons à 0.5 % sont donnés Figure 29. Pour tous, on observe un endotherme dont la température de début T_{onset} correspond au début de la transition de phase. Le changement d'enthalpie est maximal à T_{max}. Aucun autre événement thermique n'est observé au-delà de 45 °C.

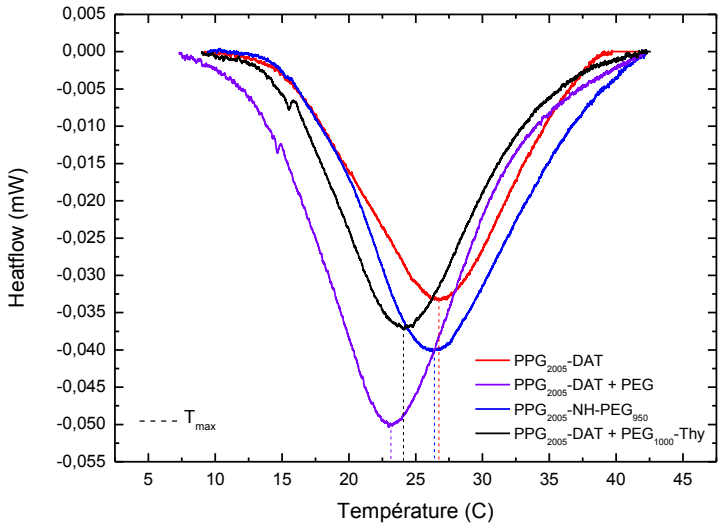


Figure 29 – Thermogrammes des solutions à 0.5% des systèmes (co)polymères à base de PPG_{2000}.

L'intégration du flux de chaleur en fonction du temps fournit l'enthalpie de transition ΔH. Cette valeur est rapportée au nombre d'unités monomères PG du bloc (Tableau 5). On suppose ici que les quelques unités EG du bloc PPG ne participent pas à la déshydration.

Tableau 5 – Données thermodynamiques mensurées par µ-DSC, à 0.5 % wt.

Echantillon	T_{onset} (°C)	T_{max} (°C)	ΔH (kJ/mol) par unité de PG
PPG_{2000}-DAT	15.4	27	5.7
PPG_{2000}-DAT + PEG_{1000}	13.7	23	4.4
Dibloc covalent PPG_{2000}-NH-PEG_{1000}	19.9	26.2	3.8
Dibloc 1 PPG_{2000}-DAT + PEG_{1000}-Thy	15.7	26.5	3

De façon générale, les températures et les enthalpies de transition dépendent de la concentration et du degré de polymérisation du polymère. Cependant, aux faibles concentrations et/ou pour des masses molaires faibles (M_n < 4000 g/mol), l'enthalpie de transition est de l'ordre de 5 à 8 kJ/mol par unité PG.[62,85] Ainsi, une solution aqueuse à 0.5 wt% en PPG de masse M_n = 2000 g/mol montre une transition de phase vers 22 °C, avec une enthalpie ΔH = 7.5 kJ/mol par unité PG.[86]

On observe que pour cette concentration de 0.5 %, les échantillons constitués de blocs PPG_{2000} ont des températures de transition comparables (23 à 27 °C), mais des enthalpies associées plus faibles (3 à 5.7 kJ/mol) que pour la chaine PPG_{2000} non fonctionnelle (22 °C et 7.5 kJ/mol). Ce résultat suggère que les blocs PPG_{2000} des systèmes étudiés sont contraints de manière plus ou moins forte. Ces contraintes, c'est-à-dire le nombre limité de conformations

que peut prendre le bloc PPG dans le système, sont liées d'une part à la rigidité des unités supramoléculaires à son extrémité (unités aromatiques DAT, effet d'ancrage et interactions Thy/DAT)[87,88] et d'autre part à son incompatibilité avec le bloc PEG. On se souviendra également que, suite aux résultats de la RMN sous la CMT, nous avons émis l'hypothèse que blocs et copolymères supramoléculaires s'organisent en micelles cylindriques avec un cœur hydrophobe d'unités Thy et/ou DAT et une couronne de chaines hydrophiles PEG et/ou PPG. L'analyse DLS du **dibloc 1** à 0.5 % confirme la formation d'objets à 5 et 10 °C (Chapitre 4). Cette organisation est propre à contraindre les chaines PPG.

Ainsi, la rigidité de l'unité DAT et/ou l'organisation en micelles cylindriques se manifestent par une diminution de l'enthalpie de transition de la chaine PPG_{2000} non fonctionnelle (pelote statistique non contrainte) : elle passe de 7.5 à 5.7 kJ/mol pour le bloc PPG_{2000}-DAT (-24 %). L'incompatibilité entre la chaine PPG_{2000}-DAT et une chaine PEG_{1000} libre se traduit par une diminution supplémentaire de l'enthalpie de transition de -23 % (5.7 à 4.4 kJ/mol).

Lorsque le bloc PEG_{1000} est lié au bloc PPG_{2000} par une liaison covalente (lien amine, **dibloc covalent**), l'enthalpie de transition chute de 49 % par rapport à la chaine PPG_{2000} non fonctionnelle (7.5 à 3.8 kJ/mol). Ce résultat traduit la frustration du bloc PPG contraint de s'organiser pour minimiser ses interactions défavorables avec le bloc PEG.

Pour le **dibloc 1**, on a fait l'hypothèse que les interactions entre unités Thy/DAT du cœur des micelles cylindriques (liaisons hydrogène et interactions π) sont particulièrement fortes : le cœur et la couronne est donc très denses. Dans ce cas, on anticipe donc une contrainte supplémentaire par rapport au mélange PPG_{2000}-DAT (micelles moins denses) et PEG_{1000} non fonctionnel (incompatibilité des blocs). C'est bien ce que l'on observe puisque l'enthalpie est abaissée de 32 % : elle passe de 4.4 à 3 kJ/mol.

Pour confirmer que cette baisse enthalpique est bien due à la liaison supramoléculaire Thy/DAT, on réalise l'analyse µ-DSC d'un mélange PPG_{2000}-DAT et PEG_{1000}-Thy non associés préalablement par évaporation de solvant (*solvent cast*). Les blocs supramoléculaires sont dissous séparément dans l'eau à 5 °C et maintenus pendant 72 h, avant d'être mélangés pour être analysés. Dans ce cas, chaque bloc s'organisera potentiellement en micelles cylindriques, sans possibilité de se réarranger pour former des micelles de dibloc. Par ailleurs, l'eau pouvant établir des liaisons hydrogène avec les unités Thy et DAT libres, une certaine quantité de blocs pourraient être sous la forme de pelote statistique (chaine toute hydrophile). Les résultats obtenus sont comparés à ceux du **dibloc 1** (liaison supramoléculaire préformée en masse) et du mélange non associatif PPG_{2000}-DAT + PEG_{1000} non fonctionnel (Tableau 2).

Tableau 2 – Comparaison des données thermodynamiques de systèmes contenant le bloc PPG_{2000}-DAT à 0.5 % wt.

Echantillon	T_{onset} (°C)	T_{max} (°C)	ΔH (kJ/mol) par unité de PG
Mélange solvaté PPG_{2000}-DAT + PEG_{1000}-Thy	13.5	22	4.6
Mélange non associatif PPG_{2000}-DAT + PEG_{1000}	13.7	23	4.4
Dibloc 1 PPG_{2005}-DAT + PEG_{1000}-Thy	15.7	26.5	3

Il apparaît que le mélange solvaté se comporte de la même façon que le mélange non associatif : les blocs PPG et PEG sont indépendants. Ce résultat confirme que l'abaissement d'enthalpie de transition observée pour le **dibloc 1** a bien pour origine l'existence de la liaison supramoléculaire entre les blocs et son organisation en micelles cylindriques denses, stables tout du moins durant le temps de l'expérience (~ 18 h).

La même tendance est observée pour des solutions plus concentrées, à 5 et 10 % (Tableau 3).

Tableau 3 - Données thermodynamiques mensurées par µ-DSC à 5 % et 10wt%.

Concentration (wt%)	Echantillon	T_{onset} (°C)	T_{max} (°C)	ΔH (kJ/mol) par unité de PG
5 %	PPG_{2000}-DAT	13.6	21.5	6.7
	PPG_{2000}-DAT + PEG_{1000}	11.8	19	4.4
	Dibloc covalent PPG_{2000}-NH-PEG_{1000}	21.2	24	3.4
	Dibloc 1 PPG_{2000}-DAT + PEG_{1000}-Thy	13	21.1	3.2
10 %	PPG_{2000}-DAT	12.5	20	6.4
	PPG_{2000}-DAT + PEG_{1000}	10.3	17.1	3.9
	Dibloc covalent PPG_{2000}-NH-PEG_{1000}	11.8	20.3	3.1
	Dibloc 1 PPG_{2000}-DAT + PEG_{1000}-Thy	11.3	18.1	2.9

Les valeurs de T_{onset} mesurées pour PPG_{2000}-DAT aux trois concentrations ne sont pas exactement celles mesurées par l'expérience du point trouble, ce qui peut s'expliquer par une différence de sensibilité de la mesure. De plus, on note que les évènements thermiques du **dibloc 1** se produisent aux mêmes températures que pour le bloc monofonctionnel PPG_{2000}-DAT seul, pour les trois concentrations. Ceci montre que les blocs PEG_{1000}-Thy n'ont pas d'effet sur l'hydrophilie du bloc PPG_{2000}.

d. Analyse du **tribloc 1** – PPG_{2000}-DAT + Thy-PEG_{2000}-Thy

Dans le Chapitre 2, nous avons observé que le **tribloc 1**, PPG_{2000}-DAT + Thy-PEG_{2000}-Thy, se caractérise par une constante d'association Thy/DAT forte dans le toluène. L'analyse µ-DSC de son comportement en solution dans l'eau sera comparée à celle du bloc PPG_{2000}-DAT seul et celle du **dibloc 1** étudié précédemment, contenant également le bloc PPG_{2000}-DAT et présentant le même ratio PPG/PEG de 70/30. On se limite ici à des solutions à 5 % en masse. Les résultats sont rassemblés dans le Tableau 4.

Tableau 4 – Données thermodynamiques mesurées par µ-DSC, à 5 % wt.

Echantillon	T_{onset} (°C)	T_{max} (°C)	ΔH (kJ/mol) par unité de PG
PPG_{2000}-DAT	13.6	21.5	6.7
Dibloc 1 PPG_{2000}-DAT + PEG_{1000}-Thy	13	21.1	3.2
Tribloc 1 PPG_{2000}-DAT + Thy-PEG_{2000}-Thy	14	21.2	2.7

Comme observé pour le **dibloc 1**, les évènements thermiques du bloc élémentaire PPG_{2000}-DAT seul et du copolymère **tribloc 1** sont comparables. L'ajout du bloc central Thy-PEG_{2000}-Thy ne semble pas modifier l'hydrophilie du bloc PPG_{2000}-DAT. Toutefois, là encore, l'enthalpie de transition du **tribloc 1** est fortement abaissée par rapport au bloc PPG_{2000}-DAT seul : 6.7 à 2.7 kJ/mol pour le **tribloc 1** (-60 %). On observe donc également l'effet des associations supramoléculaires Thy/DAT couplée à l'incompatibilité avec le bloc central PEG_{2000}. La structure, tribloc *vs* dibloc, joue également un rôle, bien que moins marqué, la perte d'enthalpie étant de -16 % entre le **dibloc 1** et le **tribloc 1**.

e. Analyse du **tribloc 4** – PEG_{1000}-Thy + DAT-PPG_{2000}-DAT

Comme le **tribloc 1**, le **tribloc 4**, DAT-PPG_{2000}-DAT + PEG_{1000}-Thy, présente une constante d'association Thy/DAT des plus élevées dans le toluène (Chapitre 2). Son comportement en solution aqueuse est comparé à celui du bloc difonctionnel DAT-PPG_{2000}-DAT et à celui de son homologue covalent, le Synperonic PE/P84 (EO_{19}-PO_{43}-EO_{19}, M_n = 4200 g/mol). L'analyse en µ-DSC est conduite sur des solutions à 0.5, 5 et 10 % en masse. Les résultats sont rassemblés dans le Tableau 5.

Tableau 5 - Données thermodynamiques mensurées par µ-DSC pour le tribloc 4, à 0.5, 5 et 10 wt%.

Concentration (wt%)	Echantillon	T_{onset} (°C)	T_{max} (°C)	ΔH (kJ/mol) par unité de PG
0.5	PPG_{2000}-DAT	15.4	27	5.7
	DAT-PPG_{2000}-DAT	13.9	20.7	6.1
	Synperonic PE/P84	25.4	26.7	1.1
	Tribloc 4 DAT-PPG_{2000}-DAT + PEG_{1000}-Thy	14.8	20.5	1
5	PPG_{2000}-DAT	13.6	21.5	6.7
	DAT-PPG_{2000}-DAT	6.7	13.3	4.7
	Synperonic PE/P84	21.1	24	2
	Tribloc 4 DAT-PPG_{2000}-DAT + PEG_{1000}-Thy	8.6	14	1.5
10	PPG_{2000}-DAT	12.5	20	6.4
	DAT-PPG_{2000}-DAT	6.3	12.2	5.1
	Synperonic PE/P84	19	22	2
	Tribloc 4 DAT-PPG_{2000}-DAT + PEG_{1000}-Thy	7.2	12.2	1.4

A titre de comparaison, les données de PPG_{2000}-DAT ont également été reportées dans le Tableau 5.

On observe que si le comportement du bloc difonctionnel DAT-PPG_{2000}-DAT est comparable à celui du monofonctionnel PPG_{2000}-DAT à faible concentration (0.5 %), sa LCST intervient beaucoup plus tôt aux plus fortes concentrations (~6 °C *vs* ~13 °C). Ce résultat traduit une diminution de l'hydrophilie de la chaine PPG_{2000} difonctionnelle par l'introduction des unités

DAT hydrophobes. De la même façon, on observe que ses enthalpies de transition sont plus faibles (~ 5 vs 6.5 kJ/mol) ce qui reflète la contrainte supplémentaire apportée par la seconde unité en bout de chaine. En effet, les deux unités terminales de la chaine PPG imposent que cette dernière adopte des conformations spécifiques pour minimiser les répulsions DAT/eau. Les chaines s'organisent alors sous forme de micelles cylindriques : à 0.5 %, sous la CMT, la DLS montre l'existence d'objets de taille comparable à celle du **dibloc 1** (Chapitre 4).

La forte diminution de la température de transition aux plus fortes concentrations est également observée pour le **tribloc 4**, les événements thermiques se produisant environ aux mêmes températures que pour le bloc élémentaire DAT-PPG_{2000}-DAT seul. Comme observé pour le **dibloc 1** et le **tribloc 1**, ce résultat montre que les blocs PEG_{1000}-Thy externes n'ont pas d'effet sur l'hydrophilie du bloc PPG_{2000}. En revanche, les enthalpies de transition du **tribloc 4** sont très fortement diminuées, quelle que soit la concentration, par rapport au bloc difonctionnel DAT-PPG_{2000}-DAT (~ -80 %).

Comme pour les autres copolymères supramoléculaires, on retrouve en plus de l'effet d'incompatibilité avec les blocs PEG, l'effet de contrainte imposée par les liens Thy/DAT et la micellisation cylindrique du tribloc. En effet, l'analyse DLS de cette solution montre que sous la CMT des objets sont formés (Chapitre 4). Pour le **tribloc 4**, la diminution de l'enthalpie par rapport au bloc élémentaire correspondant est beaucoup plus marquée que pour le **dibloc 1** (-80 % vs -47 %). Là encore, c'est la difonctionnalité qui impose un nombre très réduit de conformations pour le bloc central PPG_{2000}. L'homologue covalent Synperonic PE/P84 présente des enthalpies de transition comparables à celles du **tribloc 4**. L'analyse DLS de sa solution à 0.5 % montre la présence d'objets de taille voisine (Chapitre 4).

Conclusion sur les études en µ-DSC

La µ-DSC se révèle être un outil puissant et fiable pour caractériser les copolymères supramoléculaires et mettre en évidence les contraintes imposées sur les blocs PPG par leur organisation avant la CMT. Alors que les températures de transition ne mettent pas en évidence l'impact des blocs hydrophiles PEG sur le comportement thermosensible des blocs PPG, l'analyse des enthalpies de transition de phase le permet. On distingue ainsi les différentes contributions du système aux contraintes exercées sur le bloc PPG : l'incompatibilité avec les blocs hydrophiles PEG, la fonctionnalité de la chaine PPG et la densité des micelles formées qui dépend des forces supramoléculaires entre unités Thy et DAT (liaisons hydrogène et interactions π). L'ensemble de ces résultats tend à prouver que les interactions Thy/DAT sont établies et perdurent, au moins sur le temps de l'expérience de µ-DSC (18 h).

Conclusion

Dans ce chapitre, notre de but était de caractériser la liaison Thy/DAT en solution aqueuse et de mettre en évidence sa persistance, en partant de copolymères supramoléculaires dont les liaisons Thy/DAT sont préformées en masse.

Sous la CMT des copolymères en solution aqueuse, le suivi des déplacements chimiques caractéristiques des unités Thy et DAT en RMN ^{1}H dans l'eau lourde n'apporte aucune information et ne permet pas d'évaluer la constante d'association $K_{Thy/DAT}$, les protons labiles permettant de quantifier la force de l'interaction Thy/DAT s'échangeant avec D_2O. Dans l'eau légère, les résultats semblent de prime abord indiquer que la liaison est rompue, les déplacements chimiques des protons labiles impliqués dans la liaison ne variant pas. Toutefois, l'analyse du déplacement chimique des protons méthyliques de la thymine suggère l'établissement d'interactions π très fortes dans l'eau. L'effet antagoniste des liaisons hydrogène (déblindant) et des interactions π (blindant) sur les protons impliqués dans l'interaction Thy/DAT pourraient alors expliquer la constante (fortuite !) de leur déplacement chimique.

Corrélés aux résultats de DLS qui montrent que les copolymères forment des objets de taille bien supérieure à celle d'un unimère (Chapitre 4), et en considérant l'hydrophobie des unités Thy et DAT, nous pensons que les blocs élémentaires et les copolymères s'organisent en micelles cylindriques avec un cœur d'unités supramoléculaires associées (liaisons hydrogène et interactions π) et une couronne de chaine PEG et/ou PPG. Lorsque les interactions supramoléculaires sont plus fortes (Thy/DAT *vs* Thy/Thy ou DAT/DAT ; interactions π renforcées par un volume stérique plus faible), les micelles cylindriques sont plus denses (cœur et couronne). L'expérience de RMN DOSY montre en effet que les coefficients de diffusion des copolymères sont plus faibles que ceux des blocs élémentaires.

L'analyse en μ-DSC appuie également cette hypothèse. Alors que les températures de transition ne varient pas entre les blocs élémentaires PPG et leurs copolymères, on observe une diminution importante de leur enthalpie de transition associée (déshydratation). Cette diminution traduit les contraintes imposées au bloc PPG : l'organisation en micelles cylindriques contraint les blocs PPG et ce, d'autant plus fortement que le bloc est plus fonctionnel. De même, les contraintes seront d'autant plus fortes que les micelles cylindriques sont plus denses, ce qui est le cas pour les copolymères.

La persistance de la liaison Thy/DAT dans l'eau reste cependant en question. Comme nous l'avons expliqué, cette association est en équilibre dynamique avec ses unités non associées. Bien qu'hydrophobes, les motifs Thy et DAT sont polaires et protiques, et donc capables de former des liaisons hydrogène avec quelques molécules d'eau. Ainsi, l'eau agissant comme un compétiteur de liaison hydrogène empêcherait la réassociation des unités et, de proche en proche, déplacerait l'équilibre thermodynamique dans le sens de la dissociation. Au final, les liaisons Thy/DAT seraient rompues, ce qui aboutirait à la disparition du caractère amphiphile nécessaire à la formation des objets encapsulants.

Toutefois, on notera que sous la CMT, les unités Thy/DAT sont au cœur des micelles et empilées de façon dense avec des interactions π supplémentaires. L'équilibre et la diffusion des molécules d'eau vers le cœur hydrophobe sont donc vraisemblablement très ralentis. En revanche, au-delà de la CMT, les chaines PPG devenant hydrophobes, la morphologie pourrait évoluer et modifier la dynamique de l'association Thy/DAT.

Dans le chapitre suivant, on s'intéresse donc à caractériser les objets formés par les copolymères supramoléculaires dans l'eau, avant et après leur CMT, et à leur stabilité.

Références

(1) Jonkheijm, P.; Schoot, P. van der; Schenning, A. P. H. J.; Meijer, E. W. Probing the Solvent-Assisted Nucleation Pathway in Chemical Self-Assembly. *Science* **2006**, *313* (5783), 80–83. https://doi.org/10.1126/science.1127884.

(2) Cortese, J.; Soulié-Ziakovic, C.; Leibler, L. Binding and Supramolecular Organization of Homo- and Heterotelechelic Oligomers in Solutions. *Polym. Chem.* **2013**, *5* (1), 116–125. https://doi.org/10.1039/C3PY00638G.

(3) Kurihara, K.; Ohto, K.; Honda, Y.; Kunitake, T. Efficient, Complementary Binding of Nucleic Acid Bases to Diaminotriazine-Functionalized Monolayers on Water. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113* (13), 5077–5079. https://doi.org/10.1021/ja00013a063.

(4) Shih, P.; Pedersen, L. G.; Gibbs, P. R.; Wolfenden, R. Hydrophobicities of the Nucleic Acid Bases: Distribution Coefficients from Water to Cyclohexane11Edited by I. Tinoco. *J. Mol. Biol.* **1998**, *280* (3), 421–430. https://doi.org/10.1006/jmbi.1998.1880.

(5) Liu, B.; Liu, W. Poly(Vinyl Diaminotriazine): From Molecular Recognition to High-Strength Hydrogels. *Macromol. Rapid Commun.* **2018**, *39* (16), 1800190. https://doi.org/10.1002/marc.201800190.

(6) Prevoteau, A.; Soulié-Ziakovic, C.; Leibler, L. Universally Dispersible Carbon Nanotubes. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134* (49), 19961–19964. https://doi.org/10.1021/ja309029n.

(7) Lutz, J.-F. Polymerization of Oligo(Ethylene Glycol) (Meth)Acrylates: Toward New Generations of Smart Biocompatible Materials. *J. Polym. Sci. Part Polym. Chem.* **2008**, *46* (11), 3459–3470. https://doi.org/10.1002/pola.22706.

(8) Lutz, J.-F.; Hoth, A. Preparation of Ideal PEG Analogues with a Tunable Thermosensitivity by Controlled Radical Copolymerization of 2-(2-Methoxyethoxy)Ethyl Methacrylate and Oligo(Ethylene Glycol) Methacrylate. *Macromolecules* **2006**, *39* (2), 893–896. https://doi.org/10.1021/ma0517042.

(9) Agut, W.; Brûlet, A.; Taton, D.; Lecommandoux, S. Thermoresponsive Micelles from Jeffamine-b-Poly(l-Glutamic Acid) Double Hydrophilic Block Copolymers. *Langmuir* **2007**, *23* (23), 11526–11533. https://doi.org/10.1021/la701482w.

(10) Topp, M. D. C.; Dijkstra, P. J.; Talsma, H.; Feijen, J. Thermosensitive Micelle-Forming Block Copolymers of Poly(Ethylene Glycol) and Poly(N-Isopropylacrylamide). *Macromolecules* **1997**, *30* (26), 8518–8520. https://doi.org/10.1021/ma9710803.

(11) Fenniri, H.; Mathivanan, P.; Vidale, K. L.; Sherman, D. M.; Hallenga, K.; Wood, K. V.; Stowell, J. G. Helical Rosette Nanotubes: Design, Self-Assembly, and Characterization. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123* (16), 3854–3855. https://doi.org/10.1021/ja005886l.

(12) Fenniri, H.; Deng, B.-L.; Ribbe, A. E.; Hallenga, K.; Jacob, J.; Thiyagarajan, P. Entropically Driven Self-Assembly of Multichannel Rosette Nanotubes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2002**, *99* (suppl 2), 6487–6492. https://doi.org/10.1073/pnas.032527099.

(13) Tian, J.; Zhou, T.-Y.; Zhang, S.-C.; Aloni, S.; Altoe, M. V.; Xie, S.-H.; Wang, H.; Zhang, D.-W.; Zhao, X.; Liu, Y.; et al. Three-Dimensional Periodic Supramolecular Organic Framework Ion Sponge in Water and Microcrystals. *Nat. Commun.* **2014**, *5*, 5574. https://doi.org/10.1038/ncomms6574.

(14) Besenius, P.; Portale, G.; Bomans, P. H. H.; Janssen, H. M.; Palmans, A. R. A.; Meijer, E. W. Controlling the Growth and Shape of Chiral Supramolecular Polymers in Water. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2010**, *107* (42), 17888–17893. https://doi.org/10.1073/pnas.1009592107.

(15) Aseyev, V.; Tenhu, H.; Winnik, F. M. Non-Ionic Thermoresponsive Polymers in Water. In *Self Organized Nanostructures of Amphiphilic Block Copolymers II*; Müller, A. H. E.,

Borisov, O., Eds.; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2010; Vol. 242, pp 29–89. https://doi.org/10.1007/12_2010_57.

(16) Dai, S.; Tam, K. C. Isothermal Titration Calorimetric Studies on the Temperature Dependence of Binding Interactions between Poly(Propylene Glycol)s and Sodium Dodecyl Sulfate. *Langmuir* **2004**, *20* (6), 2177–2183. https://doi.org/10.1021/la0357559.

(17) Shi, C.; Zhang, X.; Yu, C.-H.; Yao, Y.-F.; Zhang, W. Geometric Isotope Effect of Deuteration in a Hydrogen-Bonded Host–Guest Crystal. *Nat. Commun.* **2018**, *9* (1), 481. https://doi.org/10.1038/s41467-018-02931-8.

(18) Calvin, M.; Hermans, J.; Scheraga, H. A. Effect of Deuterium on the Strength of Hydrogen Bonds1. *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, *81* (19), 5048–5050. https://doi.org/10.1021/ja01528a009.

(19) Scheiner, S.; Čuma, M. Relative Stability of Hydrogen and Deuterium Bonds. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118* (6), 1511–1521. https://doi.org/10.1021/ja9530376.

(20) Buckingham, A. D.; Fan-Chen, L. Differences in the Hydrogen and Deuterium Bonds. *Int. Rev. Phys. Chem.* **1981**, *1* (2), 253–269. https://doi.org/10.1080/01442358109353322.

(21) Grimison, A. THE DEUTERIUM ISOTOPE EFFECT IN THE HYDROGEN BONDING OF IMIDAZOLE IN NAPHTHALENE SOLUTIONS. *J. Phys. Chem.* **1963**, *67* (5), 962–964. https://doi.org/10.1021/j100799a002.

(22) Bonner, O. D. A Comparison of Hydrogen- and Deuterium-Bonding in Carbon Tetrachloride Solutions of Methanol. *J. Chem. Thermodyn.* **1970**, *2* (4), 577–581. https://doi.org/10.1016/0021-9614(70)90106-0.

(23) Sobczyk, L.; Obrzud, M.; Filarowski, A.; Sobczyk, L.; Obrzud, M.; Filarowski, A. H/D Isotope Effects in Hydrogen Bonded Systems. *Molecules* **2013**, *18* (4), 4467–4476. https://doi.org/10.3390/molecules18044467.

(24) Rao, C. N. R. Effect of Deuteration on Hydrogen Bonds. *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 1 Phys. Chem. Condens. Phases* **1975**, *71* (0), 980–983. https://doi.org/10.1039/F19757100980.

(25) Tewari, A. K.; Dubey, R. Emerging Trends in Molecular Recognition: Utility of Weak Aromatic Interactions. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16* (1), 126–143. https://doi.org/10.1016/j.bmc.2007.09.023.

(26) Gomes, J. A. N. F.; Mallion, R. B. Aromaticity and Ring Currents. *Chem. Rev.* **2001**, *101* (5), 1349–1384. https://doi.org/10.1021/cr990323h.

(27) Iwaura, R.; Hoeben, F. J. M.; Masuda, M.; Schenning, A. P. H. J.; Meijer, E. W.; Shimizu, T. Molecular-Level Helical Stack of a Nucleotide-Appended Oligo(p-Phenylenevinylene) Directed by Supramolecular Self-Assembly with a Complementary Oligonucleotide as a Template. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128* (40), 13298–13304. https://doi.org/10.1021/ja064560v.

(28) Surin, M.; Janssen, P. G. A.; Lazzaroni, R.; Leclère, P.; Meijer, E. W.; Schenning, A. P. H. J. Supramolecular Organization of SsDNA-Templated π-Conjugated Oligomers via Hydrogen Bonding. *Adv. Mater.* **2009**, *21* (10–11), 1126–1130. https://doi.org/10.1002/adma.200801701.

(29) Umezawa, Y.; Nishio, M. Thymine-Methyl/π Interaction Implicated in the Sequence-Dependent Deformability of DNA. *Nucleic Acids Res.* **2002**, *30* (10), 2183–2192.

(30) Mooibroek, T. J.; Gamez, P. The S-Triazine Ring, a Remarkable Unit to Generate Supramolecular Interactions. *Inorganica Chim. Acta* **2007**, *360* (1), 381–404. https://doi.org/10.1016/j.ica.2006.07.061.

(31) Rahman, M. H.; Liao, S.-C.; Chen, H.-L.; Chen, J.-H.; Ivanov, V. A.; Chu, P. P. J.; Chen, S.-A. Aggregation of Conjugated Polymers in Aromatic Solvent. *Langmuir* **2009**, *25* (3), 1667–1674. https://doi.org/10.1021/la802526d.

(32) Johnson, C. S. Diffusion Ordered Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy: Principles and Applications. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **1999**, *34* (3–4), 203–256. https://doi.org/10.1016/S0079-6565(99)00003-5.
(33) Morris, K. F.; Johnson, C. S. Diffusion-Ordered Two-Dimensional Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114* (8), 3139–3141. https://doi.org/10.1021/ja00034a071.
(34) Folmer, B. J. B.; Sijbesma, R. P.; Meijer, E. W. Unexpected Entropy-Driven Ring-Opening Polymerization in a Reversible Supramolecular System. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123* (9), 2093–2094. https://doi.org/10.1021/ja005754s.
(35) Cohen, Y.; Avram, L.; Frish, L. Diffusion NMR Spectroscopy in Supramolecular and Combinatorial Chemistry: An Old Parameter—New Insights. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44* (4), 520–554. https://doi.org/10.1002/anie.200300637.
(36) Waggoner, R. A.; Blum, F. D.; Lang, J. C. Diffusion in Aqueous Solutions of Poly(Ethylene Glycol) at Low Concentrations. *Macromolecules* **1995**, *28* (8), 2658–2664. https://doi.org/10.1021/ma00112a010.
(37) Vaysse-Dufaure, J. Apport de La Résonance Magnétique Nucléaire Pour Le Contrôle et La Qualité de Médicaments Conventionnels, de Phytomédicaments et de Compléments Alimentaires. Thèses, Toulouse 3, 2011.
(38) Lin, M.; Jayawickrama, D. A.; Rose, R. A.; DelViscio, J. A.; Larive, C. K. Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopic Analysis of the Selective Complexation of the Cis and Trans Isomers of Phenylalanylproline by β-Cyclodextrin. *Anal. Chim. Acta* **1995**, *307* (2), 449–457. https://doi.org/10.1016/0003-2670(95)00006-L.
(39) 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* (21), 7265–7273. https://doi.org/10.1021/jp1026493.
(40) Cooper, J.; Dooley, R. The International Association for the Properties of Water and Steam.; 2008.
(41) Thèse Céline Durand-Gasselin https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00662431/document (accessed Oct 16, 2017).
(42) Hocine, S.; Li, M.-H. Thermoresponsive Self-Assembled Polymer Colloids in Water. *Soft Matter* **2013**, *9* (25), 5839–5861. https://doi.org/10.1039/C3SM50428J.
(43) Nichols, M. Factors Affecting Size and Swelling of Poly(Ethylene Glycol) Hydrogel Microspheres Formed in Aqueous Sodium Sulfate Solutions. *Theses Diss. ETDs* **2009**, *485.*, 65.
(44) Schild, H. G. Poly(N-Isopropylacrylamide): Experiment, Theory and Application. *Prog. Polym. Sci.* **1992**, *17* (2), 163–249. https://doi.org/10.1016/0079-6700(92)90023-R.
(45) Wang, X.; Qiu, X.; Wu, C. Comparison of the Coil-to-Globule and the Globule-to-Coil Transitions of a Single Poly(N-Isopropylacrylamide) Homopolymer Chain in Water. *Macromolecules* **1998**, *31* (9), 2972–2976. https://doi.org/10.1021/ma971873p.
(46) Kudaibergenov, S.; Jaeger, W.; Laschewsky, A. Polymeric Betaines: Synthesis, Characterization, and Application. In *Supramolecular Polymers Polymeric Betains Oligomers*; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2006; Vol. 201, pp 157–224. https://doi.org/10.1007/12_078.
(47) Singh, P. K.; Singh, V. K.; Singh, M. Zwitterionic Polyelectrolytes: A Review. *E-Polym.* **2007**, *7* (1). https://doi.org/10.1515/epoly.2007.7.1.335.
(48) Cheng, N.; Brown, A. A.; Azzaroni, O.; Huck, W. T. S. Thickness-Dependent Properties of Polyzwitterionic Brushes. *Macromolecules* **2008**, *41* (21), 8288–8288. https://doi.org/10.1021/ma8021103.

(49) Sardon, H.; Tan, J. P. K.; Chan, J. M. W.; Mantione, D.; Mecerreyes, D.; Hedrick, J. L.; Yang, Y. Y. Thermoresponsive Random Poly(Ether Urethanes) with Tailorable LCSTs for Anticancer Drug Delivery. *Macromol. Rapid Commun.* **2015**, *36* (19), 1761–1767. https://doi.org/10.1002/marc.201500247.
(50) Forder, C.; Patrickios, C. S.; Billingham, N. C.; Armes, S. P. Novel Hydrophilic–Hydrophilic Block Copolymers Based on Poly(Vinyl Alcohol). *Chem. Commun.* **1996**, *0* (7), 883–884. https://doi.org/10.1039/CC9960000883.
(51) Karlstorm, G. Amphiphilic Block Copolymers, Self Assembly and Applications. *Ed P Alexandridis B Lindman* **2000**, 41.
(52) Dormidontova, E. E. Role of Competitive PEO−Water and Water−Water Hydrogen Bonding in Aqueous Solution PEO Behavior. *Macromolecules* **2002**, *35* (3), 987–1001. https://doi.org/10.1021/ma010804e.
(53) Doi, M.; See, H. *Introduction to Polymer Physics*; Oxford University Press: Oxford, New York, 1995.
(54) Ebdon, R. J. Polymer Physics, Ulf W. Gedde. Chapman & Hall. *Polym. Int.* **1995**, *39* (4), 345–345. https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0126(199604)39:4<345::AID-PI521>3.0.CO;2-8.
(55) Gennes, P.-G. *Scaling Concepts in Polymer Physics*; Cornell University Press, 1979.
(56) Clarke, S. The Hydrophobic Effect: Formation of Micelles and Biological Membranes, 2nd Edition (Tanford, Charles). *J. Chem. Educ.* **1981**, *58* (8), A246. https://doi.org/10.1021/ed058pA246.1.
(57) Wu, C.; Wang, X. Globule-to-Coil Transition of a Single Homopolymer Chain in Solution. *Phys. Rev. Lett.* **1998**, *80* (18), 4092–4094. https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.80.4092.
(58) Hammouda, B.; Ho, D. L. Insight into Chain Dimensions in PEO/Water Solutions. *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.* **2007**, *45* (16), 2196–2200. https://doi.org/10.1002/polb.21221.
(59) Schmolka, I. R. A Review of Block Polymer Surfactants. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1977**, *54* (3), 110–116. https://doi.org/10.1007/BF02894385.
(60) Wanka, G.; Hoffmann, H.; Ulbricht, W. Phase Diagrams and Aggregation Behavior of Poly(Oxyethylene)-Poly(Oxypropylene)-Poly(Oxyethylene) Triblock Copolymers in Aqueous Solutions. *Macromolecules* **1994**, *27* (15), 4145–4159. https://doi.org/10.1021/ma00093a016.
(61) Altinok, H.; Yu, G.-E.; Nixon, S. K.; Gorry, P. A.; Attwood, D.; Booth, C. Effect of Block Architecture on the Self-Assembly of Copolymers of Ethylene Oxide and Propylene Oxide in Aqueous Solution. *Langmuir* **1997**, *13* (22), 5837–5848. https://doi.org/10.1021/la970586b.
(62) Artzner, F.; Geiger, S.; Olivier, A.; Allais, C.; Finet, S.; Agnely, F. Interactions between Poloxamers in Aqueous Solutions: Micellization and Gelation Studied by Differential Scanning Calorimetry, Small Angle X-Ray Scattering, and Rheology. *Langmuir* **2007**, *23* (9), 5085–5092. https://doi.org/10.1021/la062622p.
(63) Alexandridis, P.; Alan Hatton, T. Poly(Ethylene Oxide)□poly(Propylene Oxide)□poly(Ethylene Oxide) Block Copolymer Surfactants in Aqueous Solutions and at Interfaces: Thermodynamics, Structure, Dynamics, and Modeling. *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.* **1995**, *96* (1), 1–46. https://doi.org/10.1016/0927-7757(94)03028-X.
(64) Tang, X.; Liang, X.; Yang, Q.; Fan, X.; Shen, Z.; Zhou, Q. AB2-Type Amphiphilic Block Copolymers Composed of Poly(Ethylene Glycol) and Poly(N-Isopropylacrylamide) via Single-Electron Transfer Living Radical Polymerization:

Synthesis and Characterization. *J. Polym. Sci. Part Polym. Chem.* **2009**, *47* (17), 4420–4427. https://doi.org/10.1002/pola.23495.

(65) Shibayama, M.; Morimoto, M.; Nomura, S. Phase Separation Induced Mechanical Transition of Poly(N-Isopropylacrylamide)/Water Isochore Gels. *Macromolecules* **1994**, *27* (18), 5060–5066. https://doi.org/10.1021/ma00096a031.

(66) Mitchard, N. M.; Beezer, A. E.; Mitchell, J. C.; Armstrong, J. K.; Chowdhry, B. Z.; Leharne, S.; Buckton, G. Thermodynamic Analysis of Scanning Calorimetric Transitions Observed for Dilute Aqueous Solutions of ABA Block Copolymers. *J. Phys. Chem.* **1992**, *96* (23), 9507–9512. https://doi.org/10.1021/j100202a079.

(67) Mortensen, K.; Pedersen, J. S. Structural Study on the Micelle Formation of Poly(Ethylene Oxide)-Poly(Propylene Oxide)-Poly(Ethylene Oxide) Triblock Copolymer in Aqueous Solution. *Macromolecules* **1993**, *26* (4), 805–812. https://doi.org/10.1021/ma00056a035.

(68) Guo, C.; Wang, J.; Liu, H.; Chen, J. Hydration and Conformation of Temperature-Dependent Micellization of PEO−PPO−PEO Block Copolymers in Aqueous Solutions by FT-Raman. *Langmuir* **1999**, *15* (8), 2703–2708. https://doi.org/10.1021/la981036w.

(69) Caragheorgheopol, A.; Caldararu, H.; Dragutan, I.; Joela, H.; Brown, W. Micellization and Micellar Structure of a Poly(Ethylene Oxide)/Poly(Propylene Oxide)/Poly(Ethylene Oxide) Triblock Copolymer in Water Solution, As Studied by the Spin Probe Technique. *Langmuir* **1997**, *13* (26), 6912–6921. https://doi.org/10.1021/la970450d.

(70) Yang, L.; Alexandridis, P.; Steytler, D. C.; Kositza, M. J.; Holzwarth, J. F. Small-Angle Neutron Scattering Investigation of the Temperature-Dependent Aggregation Behavior of the Block Copolymer Pluronic L64 in Aqueous Solution. *Langmuir* **2000**, *16* (23), 8555–8561. https://doi.org/10.1021/la000008m.

(71) Kataoka, K.; Harada, A.; Nagasaki, Y. Block Copolymer Micelles for Drug Delivery: Design, Characterization and Biological Significance. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2001**, *47* (1), 113–131. https://doi.org/10.1016/S0169-409X(00)00124-1.

(72) Voets, I. K.; de Keizer, A.; Cohen Stuart, M. A. Complex Coacervate Core Micelles. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2009**, *147–148*, 300–318. https://doi.org/10.1016/j.cis.2008.09.012.

(73) Luzon, M.; Boyer, C.; Peinado, C.; Corrales, T.; Whittaker, M.; Tao, L.; Davis, T. P. Water-Soluble, Thermoresponsive, Hyperbranched Copolymers Based on PEG-Methacrylates: Synthesis, Characterization, and LCST Behavior. *J. Polym. Sci. Part Polym. Chem.* **2010**, *48* (13), 2783–2792. https://doi.org/10.1002/pola.24027.

(74) Fell, H.; Han, Y.; Feijen, J.; Kim, S. W. Effect of Comonomer Hydrophilicity and Ionization on the Lower Critical Solution Temperature of IV-Isopropylacrylamide. **1993**, *26* (10), 5.

(75) Shah, S. S.; Wertheim, J.; Wang, C. T.; Pitt, C. G. Polymer-Drug Conjugates: Manipulating Drug Delivery Kinetics Using Model LCST Systems. *J. Controlled Release* **1997**, *45* (1), 95–101. https://doi.org/10.1016/S0168-3659(96)01550-7.

(76) Van Durme, K.; Verbrugghe, S.; Du Prez, F. E.; Van Mele, B. Influence of Poly(Ethylene Oxide) Grafts on Kinetics of LCST Behavior in Aqueous Poly(N-Vinylcaprolactam) Solutions and Networks Studied by Modulated Temperature DSC. *Macromolecules* **2004**, *37* (3), 1054–1061. https://doi.org/10.1021/ma035319t.

(77) Boutris, C.; Chatzi, E. G.; Kiparissides, C. Characterization of the LCST Behaviour of Aqueous Poly(N-Isopropylacrylamide) Solutions by Thermal and Cloud Point Techniques. *Polymer* **1997**, *38* (10), 2567–2570. https://doi.org/10.1016/S0032-3861(97)01024-0.

(78) Taylor, D. K.; Jayes, F. L.; House, A. J.; Ochieng, M. A. Temperature-Responsive Biocompatible Copolymers Incorporating Hyperbranched Polyglycerols for Adjustable

Functionality. *J. Funct. Biomater.* **2011**, *2* (3), 173–194. https://doi.org/10.3390/jfb2030173.

(79) Podhajecka, K. *Associating Water-Soluble Copolymers : The Role of Hydrophobic Side-Chains on the Self-Assembling Properties of Grafted Macromolecules*; PhD Thesis, Université Paris 6, 2005.

(80) Spěváček, J.; Konefał, R.; Dybal, J.; Čadová, E.; Kovářová, J. Thermoresponsive Behavior of Block Copolymers of PEO and PNIPAm with Different Architecture in Aqueous Solutions: A Study by NMR, FTIR, DSC and Quantum-Chemical Calculations. *Eur. Polym. J.* **2017**, *94* (Supplement C), 471–483. https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2017.07.034.

(81) Van Durme, K.; Van Assche, G.; Aseyev, V.; Raula, J.; Tenhu, H.; Van Mele, B. Influence of Macromolecular Architecture on the Thermal Response Rate of Amphiphilic Copolymers, Based on Poly(N-Isopropylacrylamide) and Poly(Oxyethylene), in Water. *Macromolecules* **2007**, *40* (10), 3765–3772. https://doi.org/10.1021/ma062538g.

(82) Desponds, A.; Freitag, R. Synthesis and Characterization of Photoresponsive N-Isopropylacrylamide Cotelomers. *Langmuir* **2003**, *19* (15), 6261–6270. https://doi.org/10.1021/la020944x.

(83) Schmolka, I. R. Artificial Skin I. Preparation and Properties of Pluronic F-127 Gels for Treatment of Burns. *J. Biomed. Mater. Res.* **1972**, *6* (6), 571–582. https://doi.org/10.1002/jbm.820060609.

(84) Qian, Y.; Wang, F.; Li, R.; Zhang, Q.; Xu, Q. Preparation and Evaluation of in Situ Gelling Ophthalmic Drug Delivery System for Methazolamide. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **2010**, *36* (11), 1340–1347. https://doi.org/10.3109/03639041003801893.

(85) Beezer, A. E.; Loh, W.; Mitchell, J. C.; Royall, P. G.; Smith, D. O.; Tute, M. S.; Armstrong, J. K.; Chowdhry, B. Z.; Leharne, S. A. An Investigation of Dilute Aqueous Solution Behavior of Poly(Oxyethylene) + Poly(Oxypropylene) + Poly(Oxyethylene) Block Copolymers. *Langmuir* **1994**, *10* (11), 4001–4005. https://doi.org/10.1021/la00023a017.

(86) Batsberg, W.; Ndoni, S.; Trandum, C.; Hvidt, S. Effects of Poloxamer Inhomogeneities on Micellization in Water. *Macromolecules* **2004**, *37* (8), 2965–2971. https://doi.org/10.1021/ma030567a.

(87) Lacombe, J.; Soulié-Ziakovic, C. Lamellar Mesoscopic Organization of Supramolecular Polymers: A Necessary Pre-Ordering Secondary Structure. *Polym. Chem.* **2017**, *8* (38), 5954–5961. https://doi.org/10.1039/C7PY01219E.

(88) Cowie, J. M. .; Arrighi, V. Polymers: Chemistry and Physics of Modern Materials, Third Edition CRC Press: Boca Raton, 2008.

Chapitre 4

Objets formés par les copolymères supramoléculaires en solution aqueuse

Chapitre 4 : Objets formés par les copolymères supramoléculaires en solution aqueuse

Introduction 161

I. Concentration micellaire critique et formation d'objets en solution aqueuse 162

1. Introduction 162
   a. Association Thy/DAT et formation d'objets 162
   b. Concentration Micellaire Critique 162
2. Mesure de la CMC par spectroscopie de fluorescence 163
   a. Partie théorique 163
   b. Partie expérimentale 163
   c. Mesure de la CMC du **dibloc 1** 164
   d. Stabilité du **dibloc 1** en solution aqueuse 165

II. Détermination de la taille et de la forme des objets formés par les copolymères supramoléculaires par DLS 166

1. Introduction 166
   a. Etude des poloxamères en DLS 166
   b. Partie théorique 167
   c. Partie expérimentale 168
2. Analyses DLS du dibloc 1 en température 168
   a. Estimation de la longueur des blocs du copolymère 168
   b. Mesures en températures 169
3. Analyses DLS du tribloc 4 et du Synperonic PE/P84 en température 174

III. Essais d'observation des objets par cryo-MET 179

1. Introduction 179
   a. Partie théorique 179
   b. Partie expérimentale 180
2. Observation du dibloc 1 et du dibloc covalent 180
3. Observation du tribloc 4 et du Synperonic PE/P84 182

Conclusion 184

Références 185

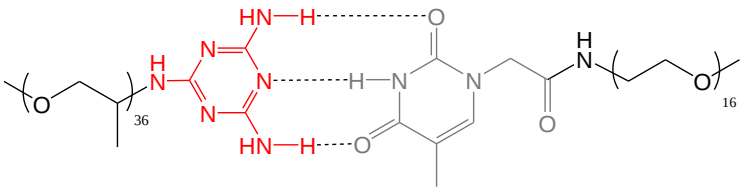
Introduction

Dans le chapitre précédent, nous avons montré qu'à basse température, quand les blocs PEG et PPG sont en bon solvant, les copolymères supramoléculaires sont amphiphiles et s'auto-assemblent pour minimiser les interactions défavorables des paires Thy/DAT hydrophobes avec l'eau. L'hypothèse d'un auto-assemblage cylindrique où elles sont empilées par interaction π est supportée par les analyses RMN et µ-DSC.

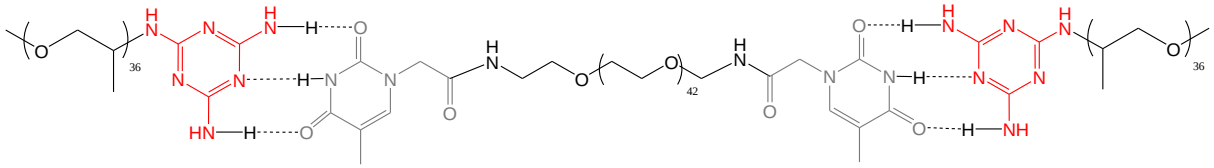
Dans ce chapitre, nous cherchons à confirmer cette hypothèse en caractérisant ces objets formés à basse température (blocs PEG et PPG en bon solvant, paires Thy/DAT hydrophobes) et à plus haute température quand les blocs PPG se déshydratent. L'étude est réalisée sur les copolymères formant les liaisons Thy/DAT les plus fortes : le **dibloc 1** (PPG_{2000}-DAT + PEG_{1000}- Thy) et les **triblocs 1** et **4** (PPG_{2000}-DAT + Thy-PEG_{2000}-Thy et PEG_{1000}-Thy + DAT-PPG_{2000}-DAT) (Figure 1).

Les objets supramoléculaires sont caractérisés par différentes techniques physico-chimiques : spectroscopie de fluorescence (détermination de la concentration micellaire critique), diffusion dynamique de la lumière en température et microscopie cryo-MET.

A.



B.



C.

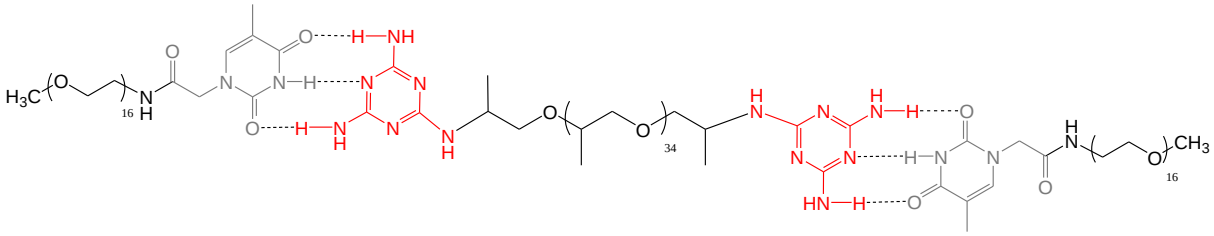


Figure 1 – Structure chimique des copolymères à blocs amphiphiles supramoléculaires : A) dibloc 1, B) tribloc 1 et C) tribloc 4.

I. Concentration micellaire critique et formation d'objets en solution aqueuse

1. Introduction

a. Association Thy/DAT et formation d'objets

Les blocs supramoléculaires PEG greffés Thy donnent des solutions aqueuses homogènes quelle que soit la température, les chaines PEG étant en bon solvant. En revanche, les solutions aqueuses des blocs PPG greffés DAT ne sont homogènes qu'à basse température mais précipitent à plus haute température.[1] Ainsi, à haute température, la chaine PPG greffés DAT est totalement hydrophobe.

Pour le **dibloc 1**, nous avons montré au Chapitre 3 que la liaison Thy/DAT, préalablement formée par évaporation de solvant chloré (Chapitre 2) était bien maintenue dans l'eau. Les blocs PPG et PEG, ainsi attachés, forment un copolymère à bloc amphiphile supramoléculaire, avec le bloc PEG_{1000}-Thy hydrophile polaire, et le bloc PPG_{2000}-DAT hydrophobe apolaire. Sous la LCST du bloc PPG, les deux blocs sont hydrophiles tandis que la paire Thy/DAT est hydrophobe. Nous avons posé l'hypothèse que le copolymère s'organise alors en micelles au cœur hydrophobe cylindrique avec les paires supramoléculaires (liaisons hydrogène et interactions π) protégées du milieu par les chaines PEG et PPG gonflées. Lorsque les blocs PPG dépassent leur LCST (CMT, température critique de micellisation), le copolymère adopte une nouvelle auto-organisation pour diminuer l'énergie du système (*micellisation*).[1–4] Ces objets micellaires sont formés d'un cœur de blocs PPG et d'une couronne de blocs PEG. Les paires Thy/DAT sont probablement situées à l'interface des deux domaines.

b. Concentration Micellaire Critique

En µ-DSC, nous avons observé le processus de micellisation déclenché par la température (CMT, Chapitre 3). On cherche ici à déterminer la concentration micellaire critique (CMC).[3]

La CMC est un paramètre important pour caractériser l'auto-assemblage des systèmes amphiphiles. Au-delà de cette concentration, dont la valeur varie avec la masse molaire, la composition et l'architecture des copolymères, ces derniers s'auto-organisent pour former des objets.[5] Comme exposé dans le Chapitre 1, selon la taille respective des blocs hydrophiles et hydrophobes, de la concentration en copolymère et de la température, ces objets peuvent être de forme sphérique, cylindrique ou lamellaire.[6]

Sous la CMC, les copolymères amphiphiles classiques sont sous forme d'unimères non assemblés. Au-delà de la CMC, il existe un équilibre dynamique entre les copolymères auto-assemblés dans les micelles et les unimères en solution.[2,3,7–9] Lorsque la concentration en copolymère augmente, le nombre de micelles augmente, mais à l'équilibre, la concentration en unimères reste constante et égale à la CMC. La micellisation et l'évolution des morphologies peuvent se faire sur une gamme de concentrations au voisinage de la CMC.

Comme évoqué précédemment, la valeur de la CMC des copolymères à blocs dépend fortement de la taille des blocs. Ainsi, augmenter celle du bloc hydrophobe relève l'hydrophobie du copolymère et favorise sa ségrégation dans le cœur hydrophobe des micelles : la CMC diminue.[2] A l'inverse, l'augmentation de la taille du bloc hydrophile diminue l'hydrophobie du copolymère et augmente sa solubilité : la CMC n'est dépassée que pour de fortes concentrations.

Enfin, connaître la CMC d'un système amphiphile destiné à l'encapsulation est crucial car celle-ci détermine la stabilité des micelles à la dilution.[10,11] Différentes techniques permettent de déterminer la CMC de copolymères à blocs : mesure de la tension de surface,[12] diffusion dynamique de la lumière,[13] diffusion de neutrons ou de rayons X aux petits angles (SANS[14] et SAXS[15]), DSC,[15] ou encore spectroscopie de fluorescence.[16] Dans notre étude, nous avons choisi cette dernière méthode.

2. Mesure de la CMC par spectroscopie de fluorescence

a. Partie théorique

Les techniques par diffusion (lumière, neutrons ou rayons X) permettent de détecter le début de la micellisation seulement si celle-ci se produit dans une gamme de concentrations où la technique est opérationnelle. La spectroscopie de fluorescence autorise de sonder des gammes de concentrations plus étendues. Dans cette expérience, une molécule-sonde fluorescente et hydrophobe migre dans le cœur hydrophobe des micelles pour minimiser ses interactions défavorables avec la solution aqueuse. Expérimentalement, on suit l'évolution de sa fluorescence avec la polarité de son environnement proche. La sonde fluorescente la plus fréquemment utilisée est le pyrène, un hydrocarbure polyaromatique hydrophobe. Son spectre de fluorescence présente une bande d'émission à 333 nm très sensible à la polarité du milieu.[16,17] Aux faibles concentrations, sous la CMC, le pyrène est soluble dans l'eau (0.13 mg/L à 25 °C). Au-dessus de la CMC, le pyrène migre vers les cœurs hydrophobes des micelles : la polarité de son environnement change radicalement. On observe alors un déplacement de sa bande d'émission vers les grandes longueurs d'ondes (déplacement *bathochrome* à 336.5 nm) et l'augmentation de son intensité. La CMC est déterminée en traçant le rapport des intensités à ces deux longueurs d'onde, $I_{336.5}/I_{333,}$ pour différentes concentrations. La valeur de la CMC correspond à la rupture de pente (intersection de deux droites).

b. Partie expérimentale

Les mesures de CMC ont été réalisées avec un spectromètre de fluorescence Jasco FP-8200. Les spectres d'émission des solutions de copolymères en présence de pyrène ont été enregistrés à température ambiante entre 310 à 350 nm avec une longueur d'onde d'excitation de 373 nm.

Des solutions aqueuses de (co)polymères supramoléculaires sont préparées avec des concentrations allant de 0.02 mg/L à 740 mg/L. 100 µL d'une solution de pyrène ($12 .10^{-5}$

mol/L dans l'acétone) sont ajoutés et l'acétone est évaporée sous hotte à température ambiante. Les solutions de (co)polymère sont ajoutées aux piluliers, et une concentration de 6.10^{-7} mol/L en pyrène est atteinte. En effet, la concentration en pyrène doit être la plus basse possible de sorte que la rupture de pente soit la plus marquée possible. Les solutions sont ensuite équilibrées 24 h à température ambiante et dans le noir, avant d'effectuer les mesures.

c. Mesure de la CMC du **dibloc 1**

La détermination de la CMC du **dibloc 1** est réalisée (solutions de 0.02 à 740 mg/L) et comparée à celle du bloc élémentaire PPG_{2000}-DAT. Le rapport PEG/PPG étant de 30/70 dans le **dibloc 1**, les solutions aqueuses de PPG_{2000}-DAT ont été ajustées pour respecter les mêmes concentrations en PPG (solutions de 0.015 à 520 mg/L).

Les résultats sont présentés Figure 2.

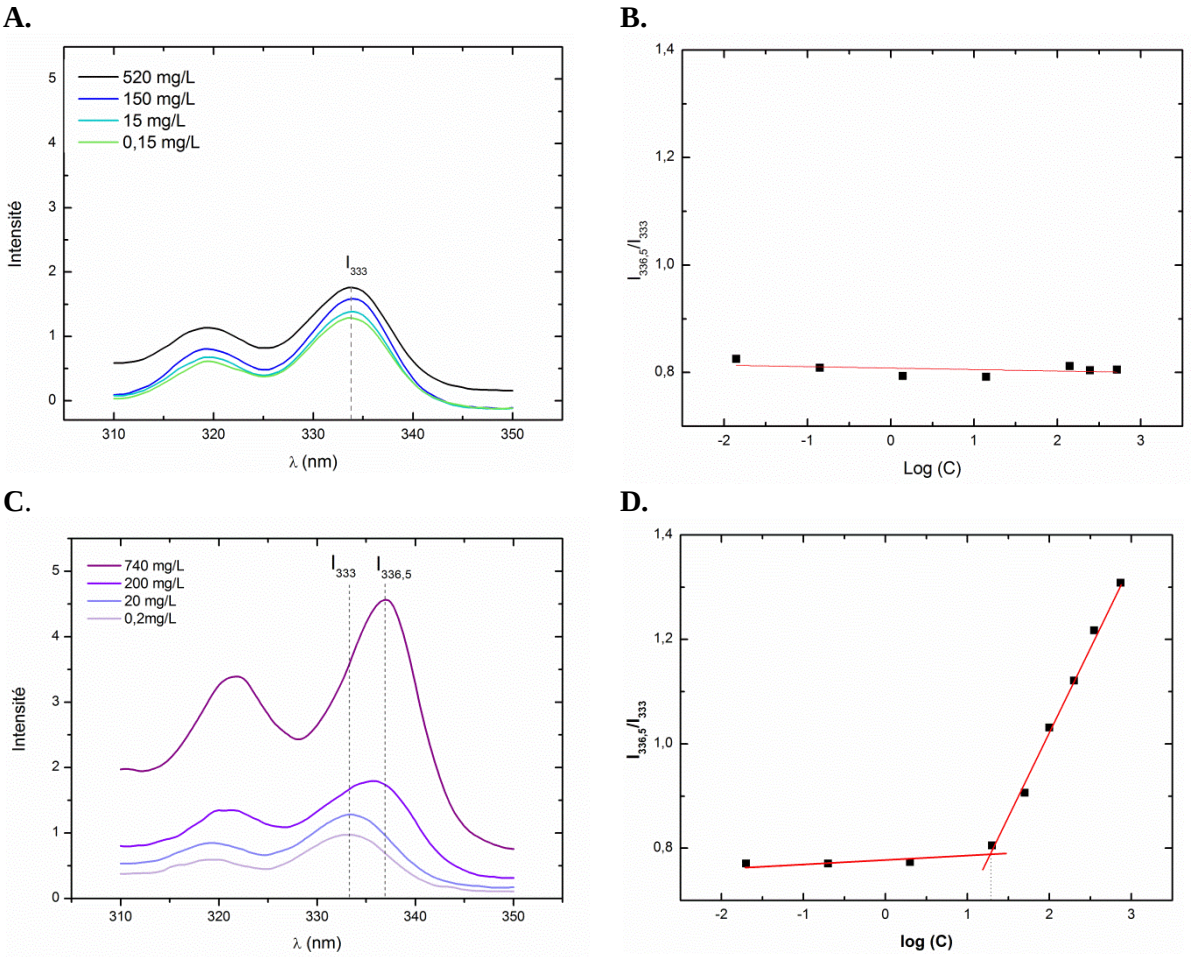


Figure 2 – A) Spectres d'émission du pyrène en solution aqueuse de A) PPG_{2000}-DAT et C) dibloc 1 à différentes concentrations (λ_{ex} = 373 nm). Variation du rapport d'intensité $I_{336.5}/I_{333}$ en fonction du log de la concentration en B) PPG_{2000}-DAT et D) dibloc 1.

Pour le bloc élémentaire PPG_{2000}-DAT, aucun déplacement de la bande d'émission du pyrène ni augmentation significative de son intensité ne sont observés sur la gamme de concentrations analysée (Figure 2.A et B). En effet, le bloc n'est amphiphile que pour des températures faibles (5°C, hypothèse de micelles cylindriques), quand la chaine PPG est hydrophile et l'unité DAT hydrophobe. Au-delà, comme c'est le cas pour cette mesure à

température ambiante, l'ensemble du bloc est totalement hydrophobe et ne peut donc s'auto-organiser pour former des objets.

Pour le **dibloc 1**, le déplacement bathochrome de la bande d'émission et l'augmentation de l'intensité sont en revanche très nettes (Figure 2.C), et la rupture de pente correspond à une concentration de 22 mg/L, soit $6{,}1.10^{-6}$ mol/L. Ce résultat démontre la formation d'objets en solution aqueuse comme pour les copolymères amphiphiles classiques (poloxamères).[2,3,5] Dans ce cas, le caractère amphiphile est apporté par les chaines PPG hydrophobes, au cœur, et la chaine PEG hydrophile, dans la couronne.

d. Stabilité du **dibloc 1** en solution aqueuse

Afin d'évaluer la stabilité des objets formés en solution aqueuse par le **dibloc 1**, la CMC a été mesurée dans le temps à J+1, J+14 et J+30 sur les solutions préparées initialement (Figure 3). Alors que la valeur reste stable sur deux semaines (22 mg/L), elle croît drastiquement à 178 mg/L après 30 jours (Figure 3B). La perturbation de la CMC indique que la formation des objets est plus difficile, ce qui suggère que la balance amphiphile est fortement diminuée. Comme nous l'avons expliqué précédemment, l'interaction supramoléculaire Thy/DAT est en équilibre dynamique avec les unités non associées. Bien qu'hydrophobes, les unités Thy et DAT sont polaires et protiques et donc capables de former les liaisons hydrogène avec des molécules d'eau. Ainsi l'eau peut agir sur ces unités, non comme un solvant mais comme un compétiteur de liaisons hydrogène, qui empêche la réassociation des unités Thy et DAT. En conséquence, de proche en proche, le copolymère est rompu en blocs élémentaires PPG_{2000}-DAT et PEG_{1000}-Thy, peu amphiphiles et incapables de s'auto-organiser dans l'eau.

Pour résumer, après 30 jours, la concentration réelle en copolymère supramoléculaire a fortement diminuée, ce qui se traduit par une CMC apparente très perturbée. Ce résultat démontre néanmoins que la liaison supramoléculaire Thy/DAT du **dibloc 1** est stable au moins 14 jours, ce qui est une avancée considérable si l'on compare à la stabilité de 48 h de dispersions de nanotubes greffés Thy sur lesquels sont attachées de chaines PPG_{2000}-DAT.[18]

A. **B.**

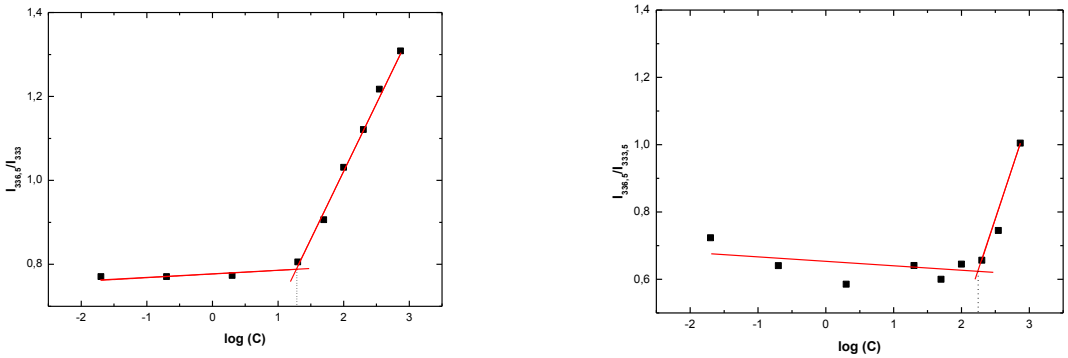


Figure 3 – Variation du rapport d'intensité $I_{336.5}/I_{333}$ en fonction du log de la concentration du dibloc 1 mesurée A) le jour même et B) après 30 jours.

Néanmoins, une stabilité dans l'eau inférieure à un mois n'est pas satisfaisante pour une application cosmétique, dont le temps de vie exigé est de 3 ans. Toutefois, les formulations cosmétiques contiennent également des solvants hydrophobes. On peut donc penser que le contact direct et prolongé avec l'eau y sera plus limité et que la stabilité des copolymères sera renforcée. Il sera nécessaire d'évaluer cette stabilité pour ces formulations, ainsi qu'en présence de molécules hydrophobes encapsulées.

II. Détermination de la taille et de la forme des objets formés par les copolymères supramoléculaires par DLS

1. Introduction

a. Etude des poloxamères en DLS

Les poloxamères sont de formule chimique générale suivante : $H(OCH_2CH_2)_x(OCH(CH_3)CH_2)_y(OCH_2CH_2)_xOH$. Les objets formés par les poloxamères en solution aqueuse ont fait l'objet de nombreuses études, notamment en diffusion de la lumière (statique ou dynamique),[3,19–24] cette technique permettant de déterminer la taille et la forme des objets micellaires. Pour les poloxamères L64, P85, F88, F68 et F127, la taille (rayon hydrodynamique) des unimères triblocs et des micelles formées est d'environ 1 nm et 10 nm respectivement, au-delà de leur CMT (Tableau 1).[3]

Tableau 1 – Caractéristiques de 5 références poloxamères : masses molaires et rayons hydrodynamiques.[3]

Référence	M_n (g/mol)	Fraction massique de PEG (%)	R_H des unimères (nm)	R_H des micelles (nm)
L64	2900	40	-	10 – 12.5
P85	4600	50	1.8	8
F68	8400	80	2.3	8
F88	11400	80	-	10.5 – 13
F127	12600	70	-	10.2

L'analyse DLS de différents poloxamères révèle la présence en solution de populations distinctes : unimères, micelles et « agrégats de micelles ». Leur proportion relative dépend fortement de la concentration en polymère et de la température à laquelle la mesure est réalisée.[3,21,24,25] Ainsi, Zhou *et al.* ont défini trois domaines de température : le premier où les poloxamères sont majoritairement sous forme d'unimères, le second dit *de transition* où coexistent unimères et micelles et le troisième où les micelles sont prépondérante.[26] Ces trois domaines de température correspondent au procédé de micellisation décrit et étudié par µ-DSC au Chapitre 3 : le domaine *de transition* débute à la CMT (T_{onset} mesurée en µ-DSC, début de la micellisation) et se termine à la température T_{offset} (fin de la micellisation). Au-delà de cette température, les micelles sont majoritaires. A titre d'exemple, la micellisation du poloxamère P85 débute vers 25 °C (T_{onset}) et se poursuit jusqu'à 40°C (T_{offset}). Sur cette plage de température, les unimères et les micelles coexistent. Au-delà, seules des micelles sont observées.[23]

b. Partie théorique

La diffusion dynamique de la lumière (*Dynamic Light Scattering*, DLS) est une technique permettant de déterminer la taille de particules en suspension ou de polymères en solution, mesurant typiquement moins d'un micron. Elle repose sur la mesure de la vitesse du mouvement Brownien des particules sur une période de temps donnée, et relie ces fluctuations à la taille des objets. La vitesse du mouvement Brownien est définie par le coefficient translationnel de diffusion D.[27]

En DLS, les fluctuations temporelles de l'intensité diffusée, dues au mouvement Brownien des particules, sont détectées. Pour analyser le mouvement des particules, l'appareil (corrélateur) enregistre une fonction d'auto-corrélation pendant toute la durée de l'expérience : il évalue comment l'intensité mesurée à t_0 est corrélée avec l'intensité mesurée à t_{0+t}. Cette fonction d'auto-corrélation est mono-exponentielle si l'échantillon ne contient qu'une taille unique de particules, il convient donc de travailler sur des solutions diluées pour éviter toute forme d'agrégation. Sur les temps courts, la fonction d'auto-corrélation est constante car l'intensité varie peu. Sur les temps longs, elle varie et peut être totalement différente de son état initial : la fonction de corrélation diminue donc avec le temps.

Cette diminution traduit le mouvement des particules en solution : plus le temps passe, plus les particules diffusent et leur nouvelle position est indépendante de leur position initiale. Le fit de la fonction d'auto-corrélation par la *méthode des cumulants* permet de déterminer le temps de corrélation τ et le coefficient de diffusion D des particules. En injectant ces données dans l'équation de Stokes-Einstein (Équation 1), on détermine le rayon hydrodynamique R_H des particules, avec η la viscosité du solvant, T la température et k_B la constante de Boltzmann :

Équation 1 – Relation de Stokes-Einstein.

$$R_h = \frac{k_B T}{6\pi\eta D}$$

On note que le rayon mesuré par DLS réfère à la façon dont une particule diffuse en solution (rayon *hydrodynamique*) et correspond à une sphère de même coefficient de diffusion que la particule étudiée. Le coefficient de diffusion dépend de la taille de la particule mais également de sa structure, de sa concentration en solution et du type d'ions en solution.

La DLS renseigne également sur la polydispersité de l'échantillon, la largeur de la distribution en taille des objets présents en solution étant présumée gaussienne. L'allure de la fonction d'auto-corrélation est une première indication de la polydispersité d'un échantillon : si elle s'approche d'une mono-exponentielle, l'échantillon est monodisperse. L'indice de polydispersité (PDI) est calculé par analyse des cumulants de la fonction d'auto-corrélation. Il est sans unité et varie typiquement entre 0.05 et 0.7. Une valeur inférieure à 0.05 est rarement atteinte, exception faite des solutions très monodisperses. Une valeur supérieure à 0.7 indique que l'échantillon est très polydisperse (agrégation, objets non sphériques) et ne peut être

analysé par DLS. Dans la pratique, une valeur proche de 0.1 indique un échantillon relativement monodisperse.

c. Partie expérimentale

Le dispositif utilisé est un appareil ALV/CGS-3 Compact Goniometer System à laser He-Ne (λ = 632,8 nm), qui permet de travailler en diffusion statique (SLS) ou dynamique (DLS) de la lumière. Les solutions à analyser sont introduites dans une cuve cylindrique en verre (3 mL). La cuve est ensuite placée dans une cellule immergée dans un bain thermostaté de toluène. Le bain et l'échantillon sont stabilisés 1 h à la température choisie avant la mesure. Le faisceau laser est envoyé sur l'échantillon et l'intensité diffusée est collectée par un détecteur (photomultiplicateur) placé à un angle θ par rapport au rayon incident (θ peut varier entre 30 ° et 150 °).

Les solutions de copolymères ont été préparées et laissés à 4 °C pendant une nuit. Les mesures ont été réalisées à un angle de 90° pour différentes températures (5, 10, 20 et 40 °C). La fonction d'auto-corrélation de l'intensité a été enregistrée pendant des périodes de 60 s et la valeur de la viscosité du solvant corrigée en fonction de la température.

2. Analyses DLS du dibloc 1 en température

Par μ-DSC, nous avons montré que la CMT le **dibloc 1** (T_{onset}) se situait entre 11 °C et 16 °C pour des concentrations de 10 % et 0.5 % en masse (soit 10^4 et 5.10^3 mg/L) et que la fin de la micellisation se situait vers 40 °C (Chapitre 3). On cherche maintenant à estimer la taille des objets formés sur les trois domaines de température : à 5 °C avant la micellisation, à 10 °C et 20 °C pendant le processus de micellisation (domaine de transition) et enfin à 40 °C à la fin du processus de micellisation.

a. Estimation de la longueur des blocs du copolymère

En amont des analyses de DLS, la longueur de chaque bloc élémentaire complètement étiré a été estimée selon l'expression (chaine idéale) :

$$d = a \times N_{PEG} + b \times N_{PPG} + d_{DAT\ ou\ Thy}$$

avec a la longueur de l'unité EG (0.40 nm), N_{PEG} le nombre d'unités monomères PEG, b la longueur de l'unité PG (0.46 nm), N_{PPG} le nombre d'unités monomères PPG et $d_{DAT\ ou\ Thy}$ la longueur du motif supramoléculaire (0.55 nm).[28] La longueur des unités est obtenue à partir de leurs volumes molaires (v_{EG} = 96.5 Å^3 et v_{PG} = 64.6 Å^3). Le nombre d'unités PEG et PPG dans chaque bloc a été estimé par RMN ^{1}H (Chapitre 2).

Pour PPG_{2000}-DAT (EG/PG = 7/36), la longueur est estimée à 19.9 nm et pour PEG_{1000}-Thy (EG/PG = 16/3) à 8.3 nm. La longueur totale du copolymère est donc de 28.2 nm. Dans le cas où les deux blocs sont en bon solvant, la taille de la pelote statistique (distance bout à bout, $\langle r \rangle = (aN)^{½}$) peut être approximée à 5-6 nm.

b. Mesures en températures

i. Mesures à 5°C

Compte tenu des contraintes expérimentales (nécessité de se placer en régime dilué en DLS), on se place à des concentrations inférieures à la plupart de celles utilisées en µ-DSC (0.5, 5 et 10 %) et dont les CMT sont respectivement 16 °C, 13 °C et 11 °C. A 5 °C, nous nous situons donc sous la CMT des solutions. Cependant, nous sommes au-delà de la CMC du **dibloc 1**, mesurée à l'ambiante, à 22 mg/L (0.002 %).

Les résultats obtenus pour le **dibloc 1** sont rassemblés dans le Tableau 2.

Tableau 2 - Mesures de R_H par DLS pour le dibloc 1, à 5 °C, pour différentes concentrations.

C (g/L)	C (mg/L)	C (%wt)	R_H (nm)	PDI
0.35	$3{,}5.10^2$	0.035	38 et 94.5	0.018 et 0.459
0.5	5.10^2	0.05	130	0.417
10	10^4	10	171	0.355

En dessous de la CMT, lorsque tous les blocs sont en bon solvant, un copolymère amphiphile du type poloxamère est attendu majoritairement sous forme d'unimères, c'est-à-dire de chaines indépendantes les unes des autres en solution, hydratées et gonflées, de rayon hydrodynamique de l'ordre de 1 à 2 nanomètres (Tableau 1). Par ailleurs, nous avons estimé à 5-6 nm la taille d'un unimère de **dibloc 1**. Il apparait donc que les valeurs de R_H mesurées pour le **dibloc 1** sont bien trop élevées.

Par ailleurs, la taille des objets augmente avec la concentration, ce qui est contraire à ce qui est généralement observé : note généralement une diminution de la taille des objets lorsque la concentration en copolymère augmente.[2,3] Pour les trois concentrations, les PDI sont supérieures à 0.1, indiquant que les échantillons sont polydisperses, et la solution à 0.035 % présentent même deux valeurs de PDI et plusieurs temps caractéristiques sur la fonction d'auto-corrélation, indiquant la présence de deux populations distinctes (Figure 5).

Ces observations suggèrent que les copolymères ne sont donc pas sous forme d'unimères mais déjà auto-assemblés. Ainsi, bien que les deux blocs soient en bon solvant à cette température, le copolymère présente un caractère amphiphile par les paires supramoléculaires Thy/DAT qui sont hydrophobes. Pour limiter les interactions entre les paires Thy/DAT et l'eau, les copolymères doivent donc s'organiser avec un cœur hydrophobe d'unités supramoléculaires et une couronne hydrophile de blocs PEG et PPG. Les paires supramoléculaires étant rigides, planes et aromatiques, elles auront tendance à s'empiler par interaction π pour former un cœur en *bâtonnet* plutôt qu'une sphère (Figure 4).[29] L'analyse RMN ^{1}H du **dibloc 1** a mis en évidence l'existence de ces interactions (Chapitre 3), préalablement démontrées pour les systèmes « tout PPG » dans le toluène.[29] Ainsi, les micelles formées seraient plutôt cylindriques et pourraient « s'allonger » avec la concentration en copolymère, et donc présenter un rayon hydrodynamique apparent plus grand.

Figure 4 – Représentation schématique des micelles cylindriques formées à 5 °C par les copolymères supramoléculaires (dibloc 1) vue de face (gauche) et de dessus (droite).

Cette hypothèse est également confortée par l'allure de la fonction d'auto-corrélation (Figure 5). En effet, très fluctuante, aux temps courts comme aux temps longs, elle présente plusieurs temps caractéristiques, ce qui semble typique des micelles cylindriques ou des transitions vers ce type de micelles.[30] Son approximation par une exponentielle simple (ligne rouge) corrèle difficilement la fonction expérimentale g_2 (cercles évidés).

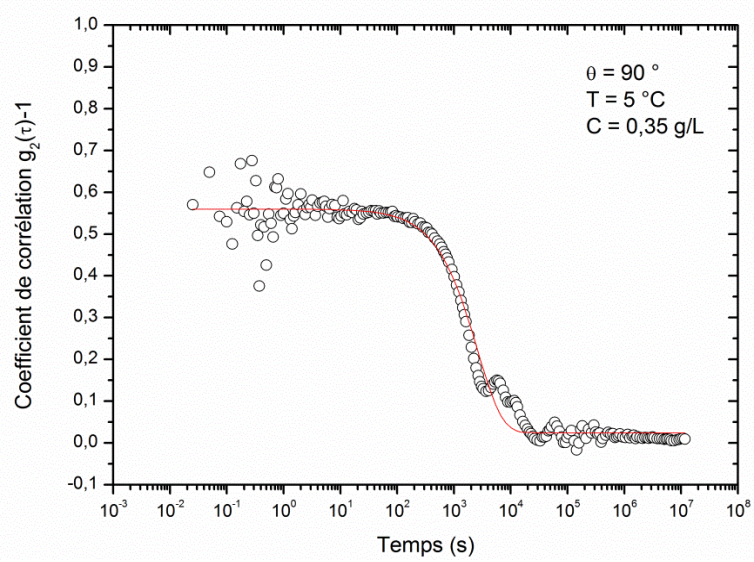


Figure 5 - Fonction d'auto-corrélation de l'intensité pour le dibloc 1 à 5 °C, à 0.035%.

ii. Mesures à 10 °C

A cette température, on est toujours sous la CMT des solutions (estimées entre 16 °C et 20 °C). Les résultats sont reportés dans le Tableau 3.

Tableau 3- Mesures de R_H par DLS pour le dibloc 1, à 10 °C, pour différentes concentrations.

C (g/L)	R_H (nm)	PDI
0.35 (0.035%)	44 et 126	0.12 et 0.492
0.5 (0.05%)	129	0.482

Les mesures à 10 °C sont assez similaires à celles obtenues à 5 °C (Tableau 2) : présence d'une double population à 0.035 % et augmentation du R_H apparent avec la concentration. Par ailleurs, les R_H déterminés pour les échantillons à 0.05 % sont identiques aux deux températures, suggérant que le même type d'objets est formé.

La fonction d'auto-corrélation reste fluctuante au temps courts et même si l'approximation par une exponentielle simple semble légèrement plus satisfaisante, elle n'est pas optimale (ligne rouge, Figure 6). Cependant, la valeur du coefficient de corrélation au début de la mesure est légèrement plus haute, 0.7 contre 0.6 à 5 °C, suggérant des objets mieux définis. La température étant plus haute, on peut penser que les objets, formés par auto-assemblage des paires Thy/DAT (interactions π + hydrophobes), atteignent leur « taille » d'équilibre, celle-ci apparaissant moins sensible à la concentration.

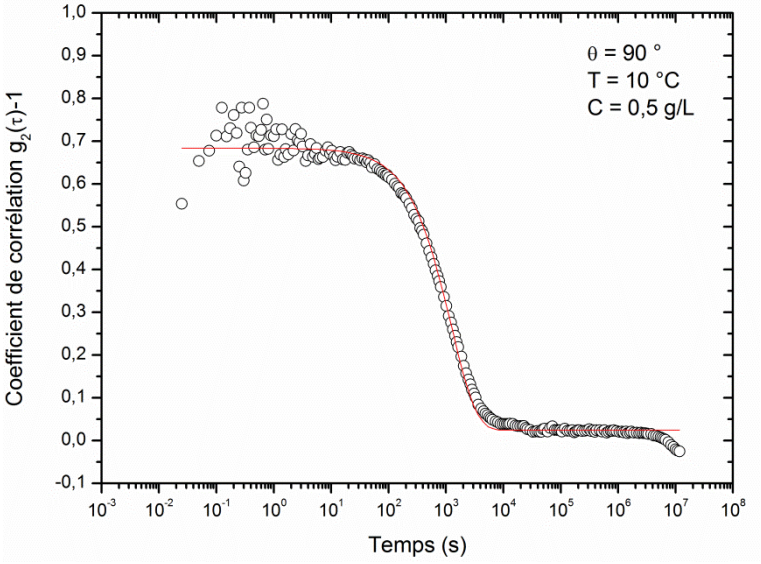


Figure 6 - Fonction d'auto-corrélation de l'intensité pour le dibloc 1 à 10 °C, à 0.05%.

iii. Mesures à 20 °C

Les résultats des mesures réalisées à 20 °C sont rassemblés dans le Tableau 4. A cette température, les solutions de **dibloc 1** ont dépassé leur CMT.

Tableau 4 - Mesures de R_H par DLS pour le dibloc 1, à 20 °C, pour différentes concentrations.

C (g/L)	R_H (nm)	PDI
0.35 (0.035%)	106	0.0966
0.5 (0.05%)	107	0.101

A cette température, on observe une population unique dont le rayon hydrodynamique est d'environ 100 nm et constant avec la concentration. Par ailleurs, la PDI est faible (≤ 0.1), confirmant que les échantillons sont monodisperses. La fonction d'auto-corrélation ne présente aucune fluctuation parasite et l'approximation par une exponentielle simple (ligne rouge) est très satisfaisante (Figure 7). La valeur du coefficient de corrélation aux temps courts est remontée à 0.9, ce qui confirme une distribution monodisperse d'objets bien définis.

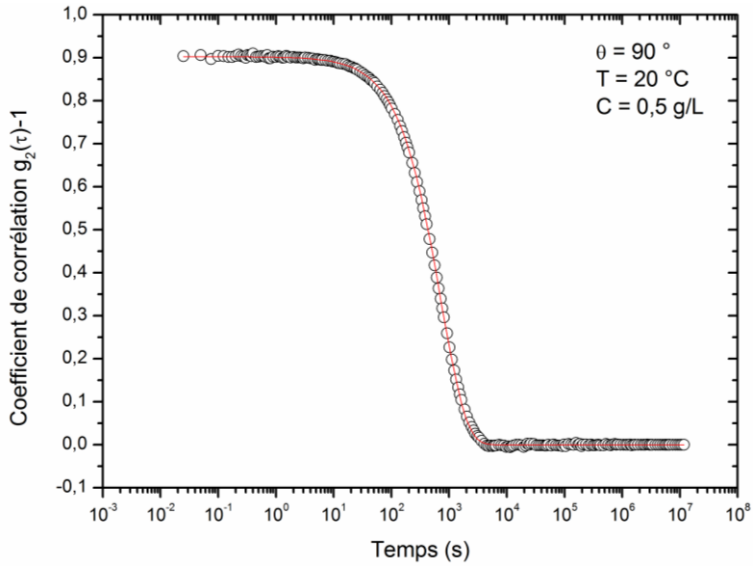


Figure 7 - Fonction d'auto-corrélation de l'intensité pour le dibloc 1 à 20 °C, à 0.05%.

Ainsi, les objets formés à 20 °C sont différents de ceux formés à plus basse température, sous la CMT des solutions de **dibloc 1**. A cette température, c'est la déshydratation de la chaine PPG qui gouverne le processus de micellisation, la proportion de PPG étant bien supérieure à celle des unités supramoléculaires Thy/DAT. On repasse donc dans un processus de micellisation « classique », conduisant à des micelles sphériques avec un cœur dense de chaines PPG hydrophobes et une couronne de chaines PEG hydrophiles (Figure 8). Les associations Thy/DAT hydrophobes, mais plus polaires et rigides que les blocs PPG, sont vraisemblablement réparties à l'interface cœur/couronne.

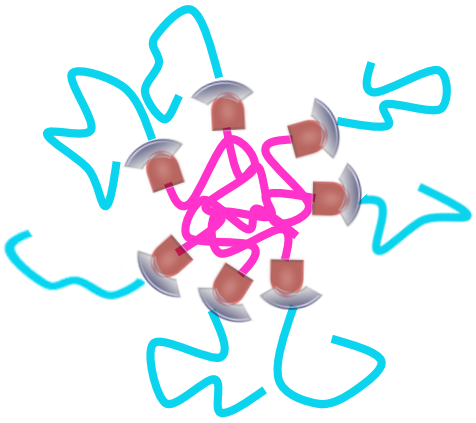


Figure 8 - Représentation schématique d'une micelle sphérique formée au-delà de la CMT (= LCST des blocs PPG). Les copolymères supramoléculaires sont amphiphiles.

iv. Mesures à 40 °C

A 40 °C, le processus de micellisation est terminé. Les mesures réalisées à cette température sont rassemblées dans le Tableau 5.

Tableau 5 - Mesures de R_H par DLS pour le dibloc 1, à 40 °C, pour différentes concentrations.

C (g/L)	R_H (nm)	PDI
0.35 (0.035%)	21 et 62	0.2 et 0.387
0.5 (0.05%)	55	0.378

On observe que le R_H a sensiblement diminué, passant de 100 nm à 20 °C, à 55-60 nm à 40 °C. En effet, en augmentant la température, on pourrait supposer que l'eau résiduelle est expulsée du cœur PPG, qui devient plus dense (hydrophobie accentuée). Cependant, on note que deux populations apparaissent pour la concentration 0.035 %. Par ailleurs, l'approximation de la fonction d'auto-corrélation par une exponentielle simple (ligne rouge) est moins satisfaisante qu'à 20 °C, la PDI est plus élevée (Figure 9). La valeur du coefficient de corrélation chute à 0.4, ce qui traduit la présence d'objets mal définis.

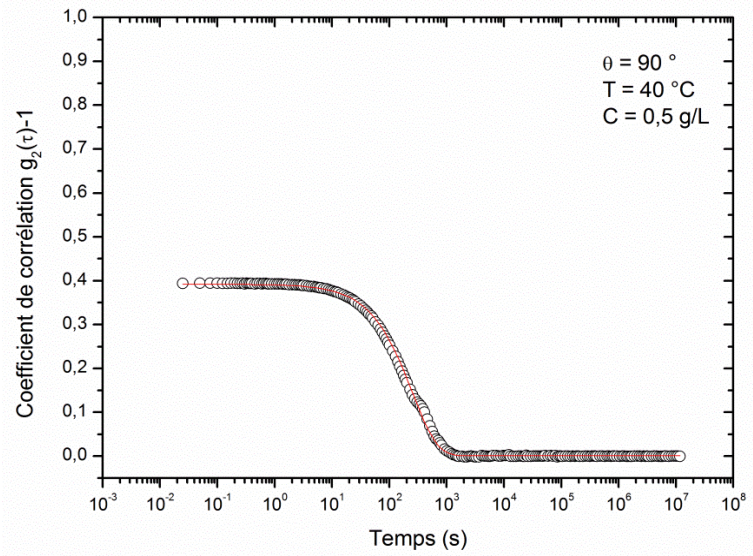


Figure 9 - Fonction d'auto-corrélation de l'intensité pour le dibloc 1 à 40 °C, à 0.05%

Ces résultats semblent traduire la déstabilisation des micelles. Nous avons montré précédemment que l'équilibre dynamique entre paires Thy/DAT et leurs unités non associées permet à l'eau d'agir comme un compétiteur des liaisons hydrogène et, de proche en proche, rompre les copolymères en leurs blocs élémentaires. A 20 °C, nous avons montré que la liaison est stable pendant au moins deux semaines (cf. mesures de la CMC). A 40 °C, cet équilibre est plus rapide et le temps de vie des espèces associées diminue.[31] Il en résulte que l'action compétitrice de l'eau est plus efficace.

Ainsi, la rupture des copolymères auto-associés à l'interface entre le cœur dense hydrophobe de PPG et la couronne hydrophile de PEG tend à déstabiliser les micelles. Les micelles perdent une partie de leurs blocs PEG (couronne) qui assurent leur stabilisation stérique. La concentration réelle en copolymère diminue. En solution, à coté des micelles, on retrouve des blocs PEG gonflés mais incapables de s'auto-assembler et des blocs PPG effondrés, donnant une forte turbidité aux échantillons. On notera enfin que les mesures à 40 °C sont peu reproductibles.

3. Analyses DLS du tribloc 4 et du Synperonic PE/P84 en température

De la même façon que le **dibloc 1**, les solutions aqueuses de **tribloc 4**, DAT-PPG_{2000}-DAT + PEG_{1000}-Thy, et de son homologue covalent, Synperonic PE/P84 ont été analysés par DLS à 5, 10, 20 et 40 °C. L'analyse en µ-DSC a révélé que la transition de phase se produit autour de 15 °C pour une solution à 0.5 % de **tribloc 4** et vers 25 °C pour le Synperonic.

Comme précédemment, la longueur des blocs élémentaires peut être estimée par :

$$d = a \times N_{PEG} + b \times N_{PPG} + xd_{DAT\ ou\ Thy} \qquad (x = 1 \text{ ou } 2)$$

avec *a* la longueur de l'unité EG (0.40 nm), N_{PEG} le nombre d'unités monomères PEG, *b* la longueur de l'unité PG (0.46 nm), N_{PPG} le nombre d'unités monomères PPG et $d_{DAT\ ou\ Thy}$ la longueur du motif supramoléculaire (0.55 nm).[28]

Pour DAT-PPG_{2000}-DAT (PG = 34), la longueur est estimée à 17.7 nm et pour PEG_{1000}-Thy (EG/PG = 16/3) à 8.3 nm. La longueur total du copolymère tribloc est donc de 34.2 nm. Dans le cas où les deux blocs sont en bon solvant, la taille de la pelote statistique (distance bout à bout, $\langle r \rangle = (aN)^{½}$) peut être approximée à 6-7 nm.

Pour le Synperonic PE/P84, constitué de 38 unités PEG et 43 unités PPG,[32] sa longueur de chaine étirée est estimée à environ 35 nm et la distance bout-à-bout à 6 nm.

i. Mesures à 5 °C

Les résultats obtenus sont rassemblés dans le Tableau 6.

Tableau 6 - Mesures de R_H par DLS pour le tribloc 4 et le Synperonic PE/P84, à 5 °C.

Echantillon	C (g/L)	R_H (nm)	PDI
Tribloc 4	0.5 (0.05%)	75	0.291
Synperonic PE/P84		67	0.623

Les rayons hydrodynamiques sont similaires mais, comme pour le cas du **dibloc 1**, très supérieurs à ceux d'unimères. Les PDI sont élevées (> 0.1), notamment pour le Synperonic PE/P84, indiquant la présence de différentes populations d'objets (échantillons polydisperses).

Les fonctions d'auto-corrélation des deux échantillons sont également très fluctuantes aux temps cours et l'approximation par une simple exponentielle n'est guère satisfaisante (Figure 10). Les coefficients de corrélation aux temps courts sont faibles : 0.65 pour le **tribloc 4** et 0.45 pour le Synperonic PE/P84. Ces faibles valeurs reflètent donc l'absence d'assemblages bien définis en solution.

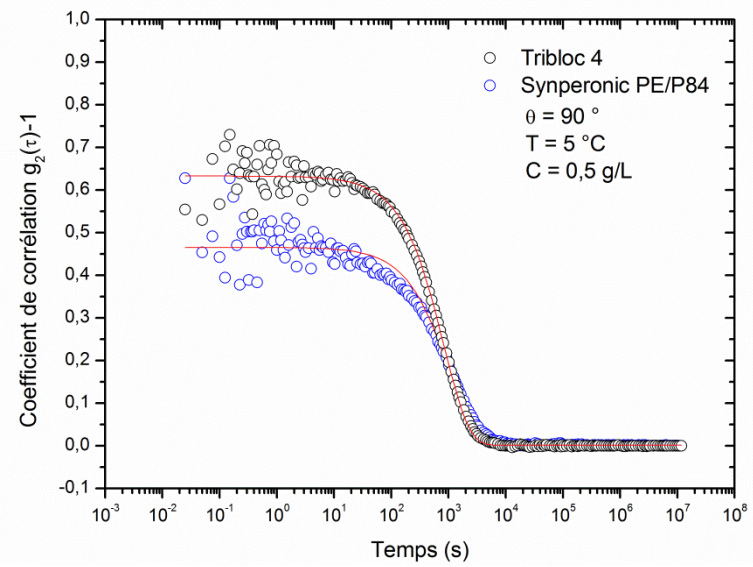


Figure 10 - Fonctions d'auto-corrélation de l'intensité pour le tribloc 4 (cercles noirs) et le Synperonic PE/P84 (cercles bleus), à 5 °C, à 0.05%.

Le Synperonic PE/P84 est connu pour former des micelles cylindriques et présenter une transition vers des micelles sphériques vers 40 °C.[32–34] Ainsi, les résultats expérimentaux corrèlent difficilement le modèle d'une sphère. Le comportement similaire du **tribloc 4** suggère que celui-ci forme également des micelles cylindriques, ce qui conforte l'hypothèse de paires Thy/DAT empilées par interactions π et hydrophobes une couronne de chaines PEG et PPG gonflées dans l'eau.

ii. Mesures à 10 °C

A cette température, on est toujours sous la CMT des solutions, estimées supérieures à 15 °C et 25 °C à la concentration de 0.05%. Les résultats sont reportés dans le Tableau 7.

Tableau 7 - Mesures de R_H par DLS pour le tribloc 4 et le Synperonic PE/P84, à 10 °C.

Echantillon	C (g/L)	R_H (nm)	PDI
Tribloc 4	0.5 (0.05%)	108	0.118
Synperonic PE/P84		76	0.54

On note cependant que les R_H mesurés sont supérieurs à ceux obtenus à 5 °C et que la PDI s'est améliorée notablement pour le **tribloc 4** (0.12), ce qui traduit la formation d'objets plutôt monodisperses bien définis. Sa fonction d'auto-corrélation présente un coefficient de corrélation optimal (0.9), peu de fluctuations aux temps courts et une approximation exponentielle satisfaisante (Figure 11). Le **tribloc 4** semble donc avoir changé de morphologie, passant de micelles cylindriques à des micelles sphériques.

Pour le Synperonic PE/84, le rayon a légèrement augmenté et la PDI légèrement diminuée. Sa fonction d'auto-corrélation est similaire à celle enregistrée à 5 °C : fluctuations aux temps courts, faible coefficient de corrélation (0.4) et approximation exponentielle peu satisfaisante. A cette température, il reste donc sous forme de micelles cylindriques mal définies.

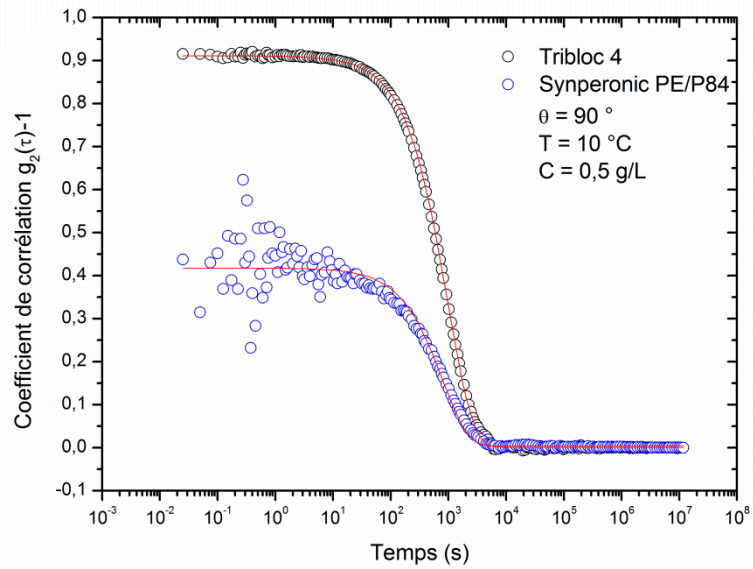


Figure 11 - Fonctions d'auto-corrélation de l'intensité pour le tribloc 4 (cercles noirs) et le Synperonic PE/P84 (cerlces bleus), à 10 °C, à 0.05%

iii. Mesures à 20 °C

A 20 °C, la CMT du **tribloc 4** est dépassée et on approche de celle du Synperonic PE/P84. Les résultats sont rassemblés dans le Tableau 8.

Tableau 8 - Mesures de R_H par DLS pour le tribloc 4 et le Synperonic PE/P84, à 20 °C.

Echantillon	C (g/L)	R_H (nm)	PDI
Tribloc 4	0.5 (0.05%)	233	0.101
Synperonic PE/P84		97	0.427

Le **tribloc 4** forme des objets deux fois plus gros qu'à 10 °C avec une PDI de 0.101 (objets monodisperses bien définis) et une fonction d'auto-corrélation encore mieux définie (Figure 12). Ce rayon hydrodynamique est conforme à l'observation macroscopique de la solution qui est opaque et non transparente. Cette valeur est toutefois trop élevée pour que les objets formés soient de simples micelles sphériques. Par ailleurs, si tel était le cas, la taille des micelles devrait diminuer avec la température.[35] Nous suspectons donc une transition de morphologie des micelles sphériques vers des micelles à nouveau cylindriques mais beaucoup plus grosses, transitions qui ont été observées pour des poloxamères en solution aqueuse avec la température.[36–38] La transition vers des polymersomes est également envisagée. La visualisation directe des objets par cryo-TEM devrait nous aider à identifier la morphologie (cf. section suivante). Une autre technique aurait été de comparer le R_g et le R_H de ces objets en DLS.

Pour le Synperonic PE/P84, de nouveau, la taille des objets augmente légèrement et la PDI diminue légèrement. La fonction d'auto-corrélation présente toujours des fluctuations aux temps courts, son approximation exponentielle reste peu satisfaisante, et son coefficient de

corrélation faible. A cette température, il reste donc sous forme de micelles cylindriques mal définies.

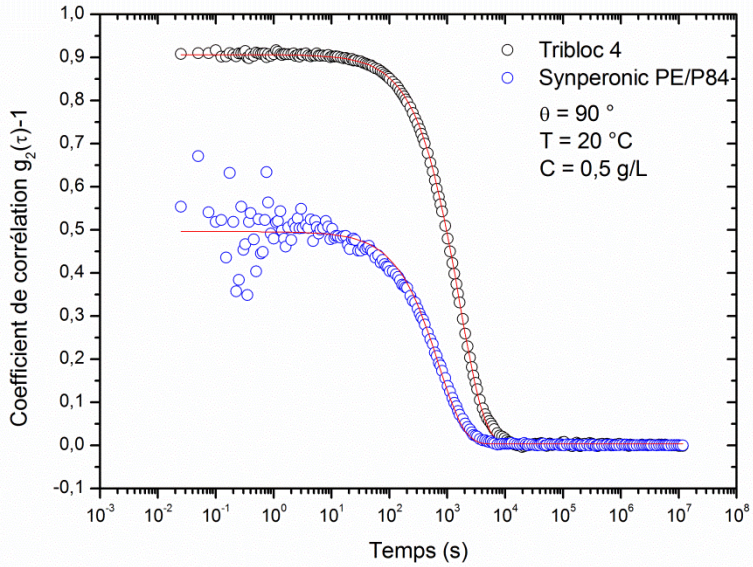


Figure 12 - Fonctions d'auto-corrélation de l'intensité pour le tribloc 2 (cercles noirs) et le Synperonic PE/P84 (cercles bleus), à 20 °C, à 0.05%.

iv. Mesures à 40 °C

A 40 °C, la CMT des deux solutions de copolymères est largement dépassée. Les résultats obtenus sont rassemblés dans le Tableau 9.

Tableau 9 - Mesures de R_H par DLS pour le tribloc 2 et le Synperonic PE/P84, à 40 °C.

Echantillon	C (g/L)	R_H (nm)	PDI
Tribloc 4	0.5 (0.05%)	223	0.199
Synperonic PE/P84		10.56	0.181

Le rayon hydrodynamique du **tribloc 4** a légèrement diminué (223 nm contre 233 nm à 20 °C) et sa PDI est plus élevée, indiquant une certaine polydispersité. Comme pour le **dibloc 1**, cette observation peut montrer que la rupture des liaisons Thy/DAT est responsable de la déstabilisation des objets. Cependant, dans l'hypothèse où le **tribloc 4** adopte une forme complexe de type cylindre ou vésicule et en supposant que la cinétique de rupture est identique à celle du **dibloc 1** (cinétique de dissociation de Thy/DAT), le détachement des blocs PEG stabilisants a un effet moins marqué.

Pour le Synperonic PE/P84, le R_H est de l'ordre de 10 nm, valeur en accord avec celles mentionnées dans la littérature pour le Synperonic PE/P84 en morphologie micellaire sphérique (7 nm). Le copolymère a donc effectué sa transition sphères-cylindres.[32–34] Cependant, l'allure de sa fonction d'auto-corrélation présente quelques irrégularités, son approximation exponentielle n'est pas parfaite, son coefficient de corrélation est de 0.85 et sa

PDI supérieure à 0.1 (Figure 13). L'échantillon est donc être légèrement polydisperse, suggérant qu'il est encore dans le domaine de transition.

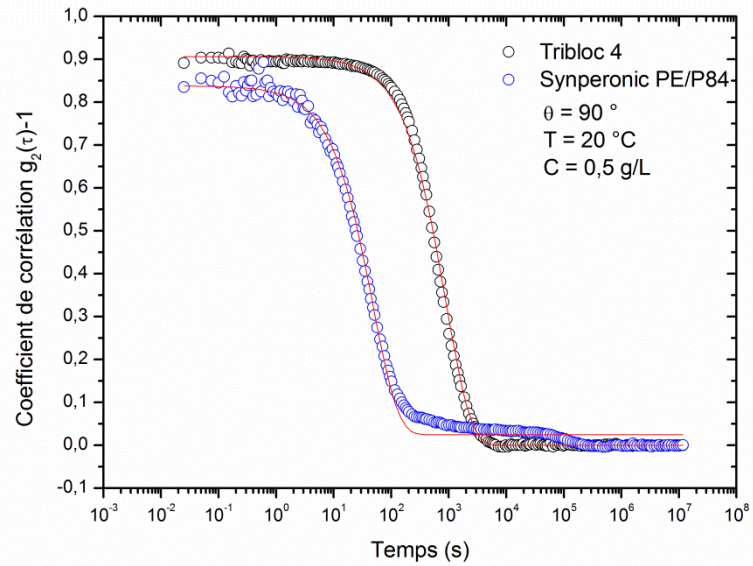


Figure 13 - Fonctions d'auto-corrélation de l'intensité pour le tribloc 2 (cercles noirs) et le Synperonic PE/P84 (cercles bleus), à 40 °C, à 0.05%.

Conclusion

La DLS nous a permis d'obtenir une première estimation de la taille des objets formés par le **dibloc 1**, le **tribloc 4** et sa référence covalente Synperonic PE/P84, en fonction de la concentration et de la température.

Sous la CMT du **dibloc 1**, il apparaît que les copolymères ne sont pas sous forme d'unimères mais forment déjà des objets dont la taille dépend de la concentration et de la température. On suggère que les copolymères s'auto-assemblent par leurs paires supramoléculaires Thy/DAT. Ces unités s'empilent par interactions π et hydrophobes, les blocs PPG et PEG se déployant autour pour minimiser l'énergie du système. A 5 °C, la taille de ces objets dépend de la concentration (95 – 170 nm). A 10 °C, les objets semblent atteindre une taille critique de 175 nm environ. Au-delà de la CMT (20 °C), on retrouve un comportement classique des surfactants thermosensibles, et ils forment des micelles sphériques bien définies et monodisperses d'environ 100 nm. La proportion de PPG étant largement supérieure à celle des unités Thy/DAT, c'est bien la déshydratation de ce bloc qui pilote la micellisation. Les unités Thy/DAT se situent globalement à l'interface entre le cœur PPG hydrophobe et la couronne PEG hydrophile. Par élévation de la température, elles commencent à se rompre, ce qui conduit à une déstabilisation des micelles, caractérisée par une augmentation de la polydispersité et la diminution de la taille des objets.

A 5 °C, sous la CMT, le **tribloc 4** se comporte de la même façon que le **dibloc 1** et forme vraisemblablement des micelles cylindriques avec des cœurs de paires supramoléculaires Thy/DAT empilées (R_H = 75 nm). A 10° C, toujours sous la CMT, on observe une transition vers une population unique de micelles sphériques d'environ 100 nm. A 20 °C, au-delà de la CMT, la taille des objets est double (230 nm), ce qui ne peut s'expliquer que par une transition vers une autre morphologie vraisemblablement de type cylindre ou vésicule,

l'approximation sphérique étant satisfaisante. L'effet de la température (40 °C) sur la déstabilisation des micelles est moins marqué que pour le **dibloc 1**, probablement à cause de leur forme plus complexe (mobilité et accessibilité réduites des unités).

Dans une dernière partie, on discute la forme et la taille des objets formés observés par visualisation directe en microscopie cryo-TEM.

III. Essais d'observation des objets par cryo-MET

On a souhaité observer la forme des objets formés par les copolymères en solution au-delà de leur CMT par leur visualisation directe en microscopie. Le choix s'est porté sur la microscopie électronique à transmission en cryométrie (cryo-TEM). Les observations ont été réalisées par Frédéric Gobeaux du LIONS, au laboratoire de Physique du Solide (LPS) à Orsay

Au préalable, des essais de visualisation par MET et cryo-fracture MET se sont révélés infructueux, les objets étant trop fragiles dans les conditions expérimentales. Les observations par MET ont été réalisées par Malika Ouldali, à l'Institut de Biologie Intégrative de la Cellule de Paris Saclay (Gif-sur-Yvette). Les analyses par cryo-fracture MET ont été réalisées par Thierry Pouget, au sein du centre de recherche Hélios de LVMH Recherche (Saint-Jean de Braye).

1. Introduction

a. Partie théorique

En cryo-MET, le contraste entre le solvant et les structures observées provient des différences de densité électronique des molécules de l'échantillon. La densité électronique d'une molécule est définie selon l'Équation 2 :

Équation 2 – Calcul de la densité électronique

$$\delta = \frac{\lambda^2}{2\pi} N_m \sum r_e Z_i n_i$$

où δ est la densité électronique, λ la longueur du faisceau incident d'électrons, N_m la densité de molécules, r_e le rayon de l'électron, Z_i le nombre atomique de l'atome i et n_i le nombre d'atomes i dans la molécule. La densité d'une molécule N_m est reliée à sa masse volumique μ, à sa masse molaire M et au nombre d'Avogadro N_A par l'équation Équation 3. Elle s'exprime en molécules.$Å^{-1}$.

Équation 3 – Calcul de la densité d'une molécule

$$N_m = \frac{\mu N_A}{M}$$

b. Partie expérimentale

Les grilles de cryo-MET sont préparées à l'aide d'un appareil Vitrobot. Quelques gouttes de la solution sont déposées sur des grilles recouvertes d'un film de carbone (Quantifoil R2/2) ayant préalablement subit un traitement plasma. L'excès de liquide est essuyé avec du papier filtre. Les grilles sont alors immédiatement immergées dans de l'éthane liquide, afin de former un film de glace vitreux. L'observation des échantillons est faite sur un microscope JEOL 2010 FEG utilisé à 200 kV à basse température (-180°C). La défocalisation est fixée à 7000 – 10000 nm afin d'obtenir un contraste suffisant entre les phases tout en observant l'échantillon dans des conditions les plus douces possibles. Les images sont prises à l'aide d'une caméra Gatan.

Les solutions à 10 %wt sont préparées selon la *cold method* : les copolymères sont dissous dans l'eau pendant 24h à 4 °C. Après homogénéisation, les solutions sont stabilisées à température ambiante pendant 2 h.

2. Observation du dibloc 1 et du dibloc covalent

Les clichés du **dibloc 1** sont présentés sur la Figure 14 et Figure 15, et ceux de son homologue covalent sur la Figure 16. On rappelle qu'à 20°C, les micelles sphériques d'une solution à 0.05% ont un R_H de 107 nm (PDI = 0.101).

Les observations se révèlent difficiles. En effet, des objets sphériques sont repérés, mais les grilles semblent tapissées d'une couche de polymère, qui « bulle » sous le faisceau à la seconde observation. Les grilles ne sont donc pas « propres ».

Sur les clichés de la Figure 14 (première observation), la taille des objets varie entre 50 et 80 nm de diamètre, mais entre 30 et 100 nm lors de la seconde observation (Figure 15). Les objets observés sont donc bien plus petits et plus polydisperses que ce qui a été mesuré par DLS. La technique de préparation des échantillons pour la cryo-TEM peut être à l'origine de ce changement, et perturber les tailles des objets fragiles.

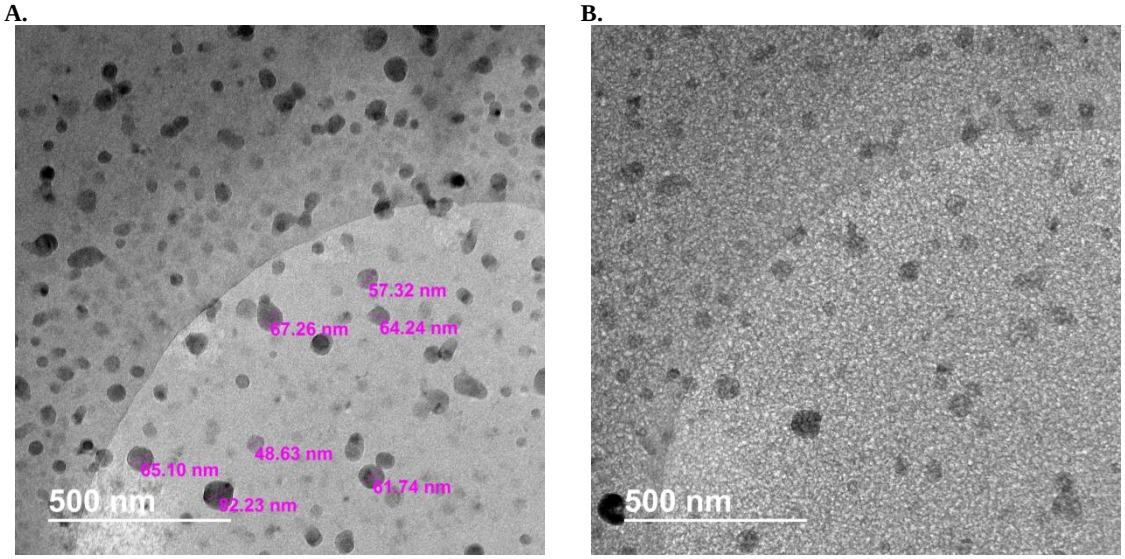


Figure 14 - Clichés de cryo-MET du dibloc 1 supramoléculaire : A) première observation, B) deuxième observation : les objets sont fragiles et bullent. On note que le fond des grilles est tapissé de polymère.

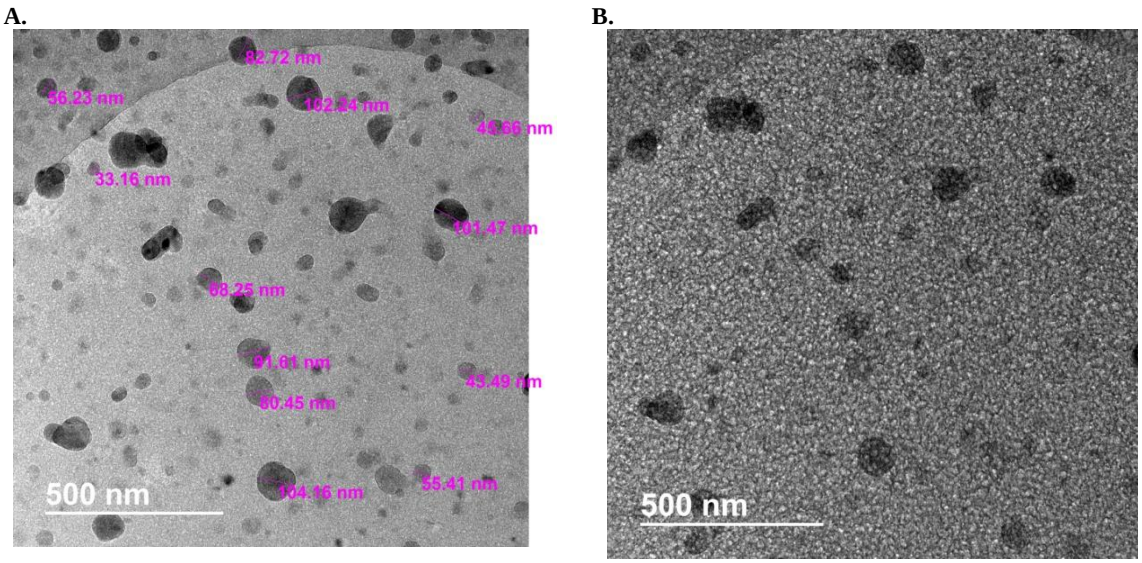


Figure 15 - Clichés de cryo-MET du dibloc covalent : A) première observation, B) deuxième observation : les objets sont fragiles et disparaissent.

Pour comparaison, on a réalisé la même analyse du **dibloc covalent**, PPG_{2000}-NH-PEG_{1000} (Figure 16).

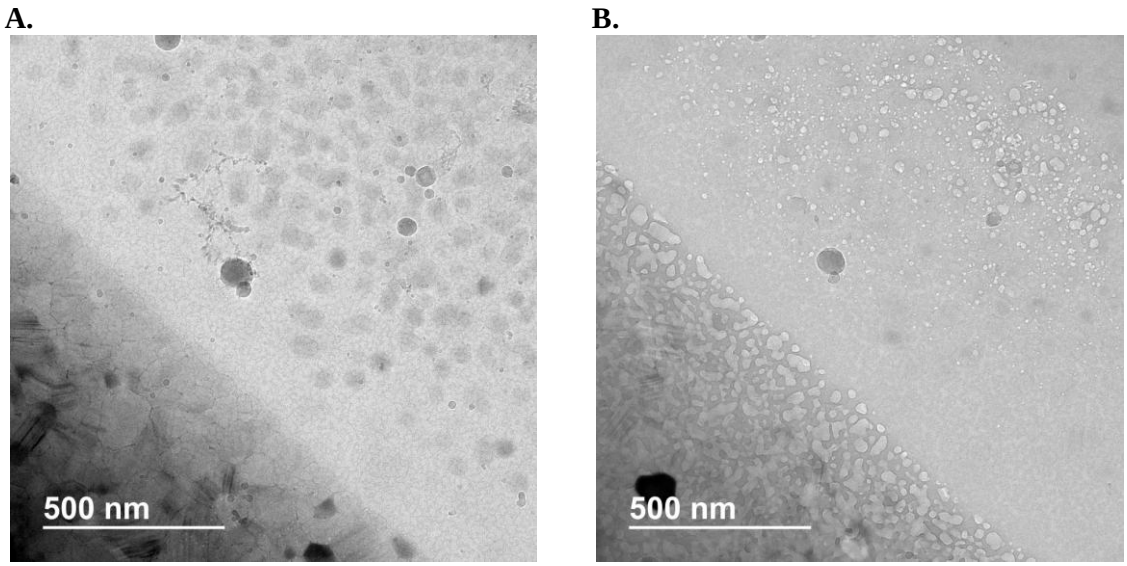


Figure 16 - Clichés de cryo-MET du dibloc covalent : A) première observation, B) deuxième observation : les objets sont fragiles et disparaissent.

Contrairement au **dibloc 1**, on observe des objets plutôt sphériques et relativement monodisperses, avec un diamètre d'environ 50 nm. Là encore, les objets sont fragiles et disparaissent sous le faisceau d'analyse.

Pour les deux diblocs, on note toutefois que leur forme sphérique est en accord avec les analyses de DLS : à 20 °C, les copolymères supramoléculaires sont amphiphiles et forment des micelles sphériques avec un cœur dense de PPG et une couronne hydrophile de PEG.

3. Observation du tribloc 4 et du Synperonic PE/P84

Les clichés du **dibloc 1** sont présentés sur la Figure 17 et ceux de son homologue covalent Synperonic PE/P84 sur la Figure 18. On rappelle qu'à 20 °C et une concentration de 0.05%, le tribloc 4 forme des micelles sphériques avec un R_H de 233 nm (PDI = 0.101) et que le Synperonic PE/P84 forme des micelles cylindriques avec un R_H de 97.5 nm (PDI = 0.427)

A la première observation, le **tribloc 4** montre des objets sphériques mais l'échantillon est polydisperse. Il présente majoritairement des sphères de 100 nm de diamètre, nettement inférieure à ce qui a été mesuré par DLS. Le changement de taille des objets observés comparé à la DLS peut s'expliquer par la fragilité des objets supramoléculaires. Leur taille peut être modifiée par la préparation de l'échantillon.

Sur la seconde observation, on note que les objets « bullent », ce qui témoigne de leur grande fragilité. Néanmoins, ce phénomène apporte la preuve les objets observés sont bien les objets formés par le copolymère supramoléculaire et non des artefacts.

A. **B.**

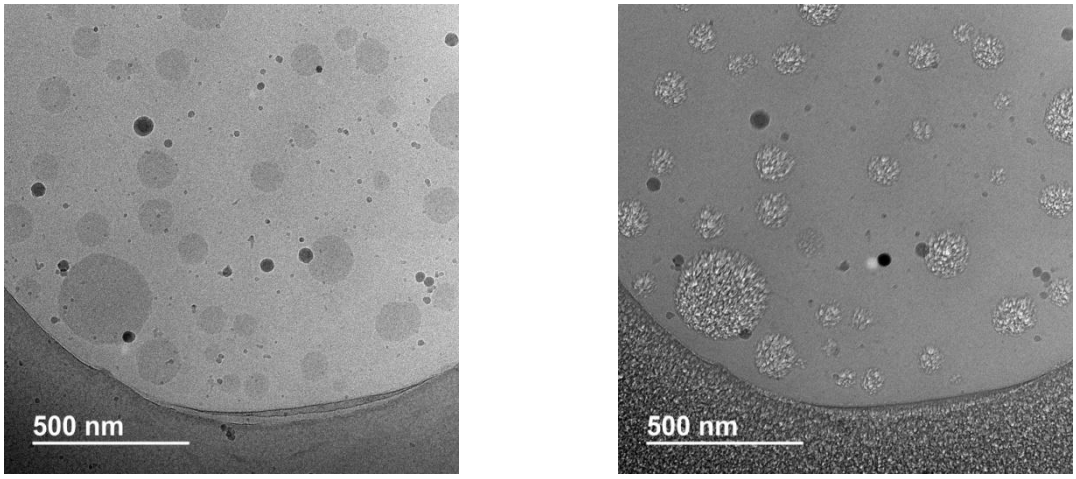


Figure 17 – Clichés de cryo-MET du tribloc 4, A) première observation, B) deuxième observation : les objets sont très fragiles et bullent.

Le Synperonic PE/P84 étant un copolymère covalent et commercial, on s'attendait à une observation aisée. Cependant, celle-ci n'est pas concluante : des objets sont visibles, entre 15 et 30 nm de diamètre, plus petits que ceux mesurés en DLS (Figure 18), mais les grilles semblent contaminées. De plus, les objets ne « bullent » pas sous le faisceau à la seconde observation, mettant en doute leur nature (polymère ou contamination ?).

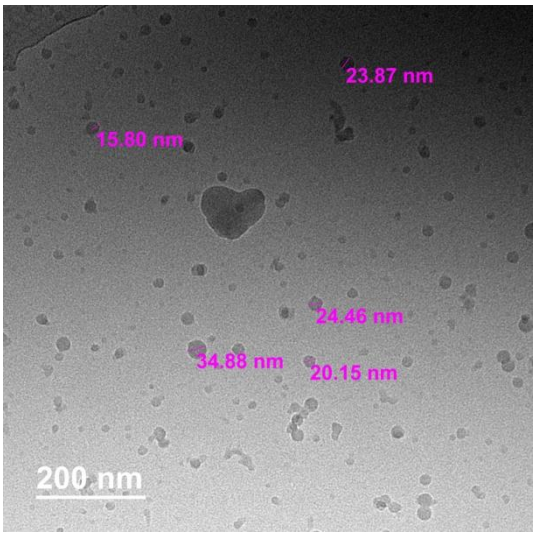


Figure 18 - Clichés de cryo-MET du Synperonic PE/P84.

D'autres essais (grilles différentes, solutions à 5 et 10 %) n'ont pas permis de faire de meilleures observations.

Conclusion

La visualisation des objets formés en solution aqueuse par cryo-MET ne s'est pas révélée totalement satisfaisante. Conformément aux résultats de DLS, elle a permis de mettre en évidence la présence d'objets sphériques, mais leur taille et leur polydispersité sont différentes. Les conditions expérimentales, préparation des grilles et observations sous faisceau, semblent donc impacter les objets formés (fragiles) et ne permettent pas d'avoir une vision juste. Les difficultés rencontrées pour réaliser d'autres expériences TEM (coloration négative) et cryo-fracture TEM indiquent que ce genre d'expériences n'est tout simplement pas adapté à l'étude de ces systèmes.

Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons étudié la formation d'objets en solution aqueuse des copolymères amphiphiles supramoléculaires, en fonction de la température et de la concentration.

A température ambiante, la CMC du **dibloc 1** est mesurée à 0.002 % (22 mg/L) par spectroscopie de fluorescence, ce qui démontre la formation d'objets. Leur stabilité en solution aqueuse (c'est-à-dire la stabilité des interactions Thy/DAT) a pu être évaluée à au moins deux semaines.

L'analyse en DLS des **dibloc 1**, **tribloc 4** et Synperonic PE/P84, conduite à différentes températures (en-dessous et au-dessus de la température critique de micellisation, CMT) et à différentes concentrations, a mis en évidence la formation d'objets, dont la taille et la forme dépend de la température et, dans certains cas, de la concentration.

A basse température, sous la CMT où les blocs PEG et PPG sont hydrophiles, on observe des objets non sphériques (PDI > 0.1, fonctions de corrélation fluctuantes). L'hypothèse émise pour expliquer les résultats de l'analyse RMN (Chapitre 3) et selon laquelle les paires Thy/DAT hydrophobes s'empilent par interactions π pour se protéger du solvant avec les blocs polymères gonflés autour (micelles cylindriques) semble donc confirmée. On remarque par ailleurs que pour le **dibloc 1**, la taille de ces micelles évolue avec la concentration et semble atteindre une taille critique de 175 nm de rayon. Pour le **tribloc 4**, on observe une transition de morphologie cylindres-sphères, avec un rayon de 105 nm environ.

Au-delà de la CMT, le bloc PPG devenant hydrophobe, on observe une transition de morphologie. Le **dibloc 1** passe des micelles cylindriques à des micelles sphériques avec un cœur de chaines PPG, de taille constante quelle que soit la concentration (R_H = 100 nm environ). Le **tribloc 4** passe des micelles sphériques à des objets doubles qui pourraient être des vésicules (R_H = 230 nm environ).

A plus haute température (40 °C), on observe que la taille des objets diminue légèrement et que la polydispersité augmente. La température accélérant l'équilibre entre la paire Thy/DAT et ses unités libres, les copolymères sont partiellement détruits. Il en résulte que les objets se déstabilisent.

Enfin, l'observation en cryo-MET des solutions à 10 % à 20 °C confirme la présence d'objets sphériques. Toutefois, leur taille et leur polydispersité sont très différentes de celles mesurées par DLS sur des solutions plus diluées (0.05 %). Cette différence de concentration peut en être à l'origine, mais il semble surtout que les copolymères sont trop fragiles aux conditions de préparation et d'observation, ce qui ne permet pas d'en avoir une vision juste.

Dans le dernier chapitre, nous étudions les copolymères supramoléculaires en milieu biphasique, eau-solvant lipophile. Nous espérons que la phase lipophile ralentira l'hydratation des unités supramoléculaires et garantira ainsi une bonne stabilité aux émulsions formées.

Références

(1) Hocine, S.; Li, M.-H. Thermoresponsive Self-Assembled Polymer Colloids in Water. *Soft Matter* **2013**, *9* (25), 5839–5861. https://doi.org/10.1039/C3SM50428J.

(2) Alexandridis, P.; Holzwarth, J. F.; Hatton, T. A. Micellization of Poly(Ethylene Oxide)-Poly(Propylene Oxide)-Poly(Ethylene Oxide) Triblock Copolymers in Aqueous Solutions: Thermodynamics of Copolymer Association. *Macromolecules* **1994**, *27* (9), 2414–2425. https://doi.org/10.1021/ma00087a009.

(3) Alexandridis, P.; Alan Hatton, T. Poly(Ethylene Oxide)□poly(Propylene Oxide)□poly(Ethylene Oxide) Block Copolymer Surfactants in Aqueous Solutions and at Interfaces: Thermodynamics, Structure, Dynamics, and Modeling. *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.* **1995**, *96* (1), 1–46. https://doi.org/10.1016/0927-7757(94)03028-X.

(4) Artzner, F.; Geiger, S.; Olivier, A.; Allais, C.; Finet, S.; Agnely, F. Interactions between Poloxamers in Aqueous Solutions: Micellization and Gelation Studied by Differential Scanning Calorimetry, Small Angle X-Ray Scattering, and Rheology. *Langmuir* **2007**, *23* (9), 5085–5092. https://doi.org/10.1021/la062622p.

(5) 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* (2), 189–212. https://doi.org/10.1016/S0168-3659(02)00009-3.

(6) Nagarajan, R. Solubilization of Hydrocarbons and Resulting Aggregate Shape Transitions in Aqueous Solutions of Pluronic® (PEO–PPO–PEO) Block Copolymers. *Colloids Surf. B Biointerfaces* **1999**, *16* (1), 55–72. https://doi.org/10.1016/S0927-7765(99)00061-2.

(7) Nicolai, T.; Colombani, O.; Chassenieux, C. Dynamic Polymeric Micelles versus Frozen Nanoparticles Formed by Block Copolymers. *Soft Matter* **2010**, *6* (14), 3111–3118. https://doi.org/10.1039/B925666K.

(8) Zana, R.; Marques, C.; Johner, A. Dynamics of Micelles of the Triblock Copolymers Poly(Ethylene Oxide)-Poly(Propylene Oxide)-Poly(Ethylene Oxide) in Aqueous Solution. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2006**, *123–126*, 345–351. https://doi.org/10.1016/j.cis.2006.05.011.

(9) Tiberg, F.; Malmsten, M.; Linse, P.; Lindman, B. Kinetic and Equilibrium Aspects of Block Copolymer Adsorption. *Langmuir* **1991**, *7* (11), 2723–2730. https://doi.org/10.1021/la00059a053.

(10) Alakhov, V. Y.; Kabanov, A. V. Block Copolymeric Biotransport Carriers as Versatile Vehicles for Drug Delivery. *Expert Opin. Investig. Drugs* **1998**, *7* (9), 1453–1473. https://doi.org/10.1517/13543784.7.9.1453.

(11) Kabanov, A. V.; Nazarova, I. R.; Astafieva, I. V.; Batrakova, E. V.; Alakhov, V. Y.; Yaroslavov, A. A.; Kabanov, V. A. Micelle Formation and Solubilization of Fluorescent Probes in Poly(Oxyethylene-b-Oxypropylene-b-Oxyethylene) Solutions. *Macromolecules* **1995**, *28* (7), 2303–2314. https://doi.org/10.1021/ma00111a026.

(12) Yang, X.; Li, L.; Wang, Y.; Tan, Y. Preparation, Pharmacokinetics and Tissue Distribution of Micelles Made of Reverse Thermo-Responsive Polymers. *Int. J. Pharm.* **2009**, *370* (1), 210–215. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2008.11.028.

(13) Topel, Ö.; Çakır, B. A.; Budama, L.; Hoda, N. Determination of Critical Micelle Concentration of Polybutadiene-Block-Poly(Ethyleneoxide) Diblock Copolymer by Fluorescence Spectroscopy and Dynamic Light Scattering. *J. Mol. Liq.* **2013**, *177*, 40–43. https://doi.org/10.1016/j.molliq.2012.10.013.

(14) Mortensen, K.; Pedersen, J. S. Structural Study on the Micelle Formation of Poly(Ethylene Oxide)-Poly(Propylene Oxide)-Poly(Ethylene Oxide) Triblock Copolymer in Aqueous Solution. *Macromolecules* **1993**, *26* (4), 805–812. https://doi.org/10.1021/ma00056a035.
(15) Glatter, O.; Scherf, G.; Schillen, K.; Brown, W. Characterization of a Poly(Ethylene Oxide)-Poly(Propylene Oxide) Triblock Copolymer (EO27-PO39-EO27) in Aqueous Solution. *Macromolecules* **1994**, *27* (21), 6046–6054. https://doi.org/10.1021/ma00099a017.
(16) Yang, Y. Q.; Guo, X. D.; Lin, W. J.; Zhang, L. J.; Zhang, C. Y.; Qian, Y. Amphiphilic Copolymer Brush with Random PH-Sensitive/Hydrophobic Structure: Synthesis and Self-Assembled Micelles for Sustained Drug Delivery. *Soft Matter* **2011**, *8* (2), 454–464. https://doi.org/10.1039/C1SM06314F.
(17) Xue, Y.-N.; Huang, Z.-Z.; Zhang, J.-T.; Liu, M.; Zhang, M.; Huang, S.-W.; Zhuo, R.-X. Synthesis and Self-Assembly of Amphiphilic Poly(Acrylic Acid-b-Dl-Lactide) to Form Micelles for PH-Responsive Drug Delivery. *Polymer* **2009**, *50* (15), 3706–3713. https://doi.org/10.1016/j.polymer.2009.05.033.
(18) Prevoteau, A.; Soulié-Ziakovic, C.; Leibler, L. Universally Dispersible Carbon Nanotubes. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134* (49), 19961–19964. https://doi.org/10.1021/ja309029n.
(19) Wanka, G.; Hoffmann, H.; Ulbricht, W. Phase Diagrams and Aggregation Behavior of Poly(Oxyethylene)-Poly(Oxypropylene)-Poly(Oxyethylene) Triblock Copolymers in Aqueous Solutions. *Macromolecules* **1994**, *27* (15), 4145–4159. https://doi.org/10.1021/ma00093a016.
(20) Altinok, H.; Yu, G.-E.; Nixon, S. K.; Gorry, P. A.; Attwood, D.; Booth, C. Effect of Block Architecture on the Self-Assembly of Copolymers of Ethylene Oxide and Propylene Oxide in Aqueous Solution. *Langmuir* **1997**, *13* (22), 5837–5848. https://doi.org/10.1021/la970586b.
(21) Caragheorgheopol, A.; Caldararu, H.; Dragutan, I.; Joela, H.; Brown, W. Micellization and Micellar Structure of a Poly(Ethylene Oxide)/Poly(Propylene Oxide)/Poly(Ethylene Oxide) Triblock Copolymer in Water Solution, As Studied by the Spin Probe Technique. *Langmuir* **1997**, *13* (26), 6912–6921. https://doi.org/10.1021/la970450d.
(22) Mortensen, K.; Brown, W. Poly(Ethylene Oxide)-Poly(Propylene Oxide)-Poly(Ethylene Oxide) Triblock Copolymers in Aqueous Solution. The Influence of Relative Block Size. *Macromolecules* **1993**, *26* (16), 4128–4135. https://doi.org/10.1021/ma00068a010.
(23) Artzner, F.; Geiger, S.; Olivier, A.; Allais, C.; Finet, S.; Agnely, F. Interactions between Poloxamers in Aqueous Solutions: Micellization and Gelation Studied by Differential Scanning Calorimetry, Small Angle X-Ray Scattering, and Rheology. *Langmuir* **2007**, *23* (9), 5085–5092. https://doi.org/10.1021/la062622p.
(24) Brown, W.; Schillen, K.; Almgren, M.; Hvidt, S.; Bahadur, P. Micelle and Gel Formation in a Poly(Ethylene Oxide)/Poly(Propylene Oxide)/Poly(Ethylene Oxide) Triblock Copolymer in Water Solution: Dynamic and Static Light Scattering and Oscillatory Shear Measurements. *J. Phys. Chem.* **1991**, *95* (4), 1850–1858. https://doi.org/10.1021/j100157a064.
(25) Mortensen, K.; Brown, W. Poly(Ethylene Oxide)-Poly(Propylene Oxide)-Poly(Ethylene Oxide) Triblock Copolymers in Aqueous Solution. The Influence of Relative Block Size. *Macromolecules* **1993**, *26* (16), 4128–4135. https://doi.org/10.1021/ma00068a010.
(26) Zhou, Z.; Chu, B. Light-Scattering Study on the Association Behavior of Triblock Polymers of Ethylene Oxide and Propylene Oxide in Aqueous Solution. *J. Colloid Interface Sci.* **1988**, *126* (1), 171–180. https://doi.org/10.1016/0021-9797(88)90111-7.

(27) Schärtl, W. *Light Scattering from Polymer Solutions and Nanoparticle Dispersions*; Springer Laboratory; Springer-Verlag: Berlin Heidelberg, 2007.
(28) German, I.; D'Agosto, F.; Boisson, C.; Tencé-Girault, S.; Soulié-Ziakovic, C. Microphase Separation and Crystallization in H-Bonding End-Functionalized Polyethylenes. *Macromolecules* **2015**, *48* (10), 3257–3268. https://doi.org/10.1021/ma502304k.
(29) Cortese, J.; Soulié-Ziakovic, C.; Leibler, L. Binding and Supramolecular Organization of Homo- and Heterotelechelic Oligomers in Solutions. *Polym. Chem.* **2013**, *5* (1), 116–125. https://doi.org/10.1039/C3PY00638G.
(30) Amin, S.; Blake, S.; Kennel, R.; Lewis, E. Revealing New Structural Insights from Surfactant Micelles through DLS, Microrheology and Raman Spectroscopy. *Materials* **2015**, *8* (6), 3754–3766. https://doi.org/10.3390/ma8063754.
(31) Cortese, J. Organisations Dans Les Polymères Supramoléculaires : Du Comportement En Solution Au Comportement En Masse, Université Pierre et Marie Curie (Paris 6): ESPCI Paris, 2013.
(32) Kadam, Y.; Yerramilli, U.; Bahadur, A. Solubilization of Poorly Water-Soluble Drug Carbamezapine in Pluronic® Micelles: Effect of Molecular Characteristics, Temperature and Added Salt on the Solubilizing Capacity. *Colloids Surf. B Biointerfaces* **2009**, *72* (1), 141–147. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2009.03.027.
(33) Singla, P.; Singh, O.; Chabba, S.; Aswal, V. K.; Mahajan, R. K. Sodium Deoxycholate Mediated Enhanced Solubilization and Stability of Hydrophobic Drug Clozapine in Pluronic Micelles. *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.* **2018**, *191* (Supplement C), 143–154. https://doi.org/10.1016/j.saa.2017.10.015.
(34) Ganguly, R.; Kadam, Y.; Choudhury, N.; Aswal, V. K.; Bahadur, P. Growth and Interaction of the Tetronic 904 Micelles in Aqueous Alkaline Solutions. *J. Phys. Chem. B* **2011**, *115* (13), 3425–3433. https://doi.org/10.1021/jp1074829.
(35) Overstreet, D. J.; Von Recum, H. A.; Vernon, B. L. Drug Delivery Applications of Injectable Biomaterials. In *Injectable Biomaterials*; Vernon, B., Ed.; Woodhead Publishing Series in Biomaterials; Woodhead Publishing, 2011; pp 95–141. https://doi.org/10.1533/9780857091376.2.95.
(36) Schillen, K.; Brown, W.; Johnsen, R. M. Micellar Sphere-to-Rod Transition in an Aqueous Triblock Copolymer System. A Dynamic Light Scattering Study of Translational and Rotational Diffusion. *Macromolecules* **1994**, *27* (17), 4825–4832. https://doi.org/10.1021/ma00095a025.
(37) Landazuri, G.; Fernandez, V. V. A.; Soltero, J. F. A.; Rharbi, Y. Kinetics of the Sphere-to-Rod like Micelle Transition in a Pluronic Triblock Copolymer. *J. Phys. Chem. B* **2012**, *116* (38), 11720–11727. https://doi.org/10.1021/jp3009089.
(38) Mortensen, K. Structural Studies of Aqueous Solutions of PEO - PPO - PEO Triblock Copolymers, Their Micellar Aggregates and Mesophases; a Small-Angle Neutron Scattering Study. *J. Phys. Condens. Matter* **1996**, *8* (25A), A103–A124. https://doi.org/10.1088/0953-8984/8/25A/008.

Chapitre 5

Formulation d’émulsions et encapsulation - Preuve de concept

Chapitre 5 : Formulation d'émulsions et encapsulation - Preuve de concept

Introduction **192**

I. Les émulsions – un bref état de l'art **192**

1. Les émulsions 193
   a. Les différents types d'émulsions 193
   b. Les différents émulsifiants 194
   c. Mécanismes de déstabilisation 194
   d. Prédire le type d'émulsion 195
2. Préparation d'émulsions 198
   a. Méthodes avec apport d'énergie extérieur 198
   b. Méthodes avec apport d'énergie moindre ou nul 199

II. Formulation d'émulsions **202**

1. Emulsions préparées avec apport d'énergie 202
   a. Matériel et méthodes 202
   b. Emulsions directes – Myristate d'isopropyle (IPM)/Eau : copolymères dissous en phase aqueuse 203
   c. Emulsions directes – IPM/Eau : copolymères dissous en phase organique 206
   d. Emulsions inverses : copolymère **tribloc 1** dissous en phase organique 207
2. Emulsification spontanée par effet Ouzo 208
   a. Matériel et méthodes 208
   b. Emulsions directes à teneur 60/40 en eau/THF 209
   c. Emulsions directes à teneur 40/60 en eau/THF 213

III. Evolution du système : vers la chimie covalente dynamique 215

1. Introduction à la chimie covalente dynamique 215
   a. Définition 215
   b. L'exemple des vitrimères 215
   c. La chimie des imines 216
2. Présentation du système imines 217
   a. Fonctionnalisation des polymères 217

b. Formation de copolymères à liens imines..... 218
c. Etude du comportement dans l'eau et en émulsion..... 219
Conclusion 223
Références.....224

Introduction

Dans les deux chapitres précédents, nous avons montré que les copolymères amphiphiles supramoléculaires en solution aqueuse, **dibloc 1** et **triblocs 1** et **4**, forment des objets auto-assemblés au-delà de leur CMT. Toutefois, leur stabilité dans l'eau, 1 mois pour le **dibloc 1**, est insatisfaisante au regard d'une application cosmétique. Pour y remédier, les copolymères ont été introduits dans des systèmes biphasiques d'eau et de solvants lipophiles.

Dans ce dernier chapitre, nous étudions la capacité des copolymères supramoléculaires à stabiliser des émulsions directes (huile dans eau) et indirectes (eau dans huile), des dispersions liquides-liquides, et leur capacité à encapsuler des composés lipophiles. Diverses méthodes d'émulsification sont testées pour déterminer la formulation la plus stable. Les émulsions sont réalisées en présence d'eau et de solvants hydrophobes tels que le toluène mais également de solvants lipophiles cosmétiques (myristate d'isopropyle, Miglyol). Les émulsions obtenues avec les copolymères supramoléculaires sont comparées à des émulsions stabilisées par des références covalentes.

Enfin, en guise de perspective, nous présentons également des systèmes copolymères utilisant la chimie covalente réversible, plus robustes et plus stables et avec des profils de relargage modulables selon la nature du stimulus.

I. Les émulsions – un bref état de l'art

La stabilité de la liaison supramoléculaire Thy/DAT dans l'eau est limitée à quelques jours ou quelques semaines. En effet, l'équilibre dynamique entre paire associée et unités libres est déplacé par l'effet compétiteur des molécules d'eau, formant des liaisons hydrogène avec les motifs supramoléculaires et les empêchant de se réassocier. Cette rupture irréversible de la liaison Thy/DAT est donc à l'origine de la déstabilisation des objets auto-assemblés de copolymères supramoléculaires. A l'inverse, les solvants peu polaires favorisent la formation de la paire associée et ralentissent fortement l'équilibre dynamique avec les unités libres, comme le montre la valeur très élevée de la constante d'association mesurée dans le toluène ($4{,}3.10^4$ L/mol, Chapitre 2). On espère donc que dans un mélange biphasique, où le copolymère se situera *a priori* à l'interface eau/huile, la liaison supramoléculaire Thy/DAT sera moins sensible à l'effet compétiteur de l'eau. Les émulsions biphasiques stabilisées par les copolymères supramoléculaires peuvent s'apparenter à une encapsulation, un solvant étant encapsulé dans un autre (dispersion liquide-liquide).

Dans cette section, nous présentons une courte revue bibliographique définissant les émulsions et décrivant les différents procédés permettant de les réaliser. Sur cette base, nous indiquons les méthodes retenues pour notre étude.

1. Les émulsions

Une émulsion est le mélange métastable de deux liquides *a priori* non miscibles entre eux, typiquement de l'eau et de l'huile.[1] Plus précisément, l'un des liquides est dispersé dans l'autre, ce qui requiert la création d'interfaces. La formation de ces interfaces est coûteuse en énergie mais peut être facilitée par l'ajout d'un émulsifiant qui s'adsorbe aux interfaces pour diminuer la tension interfaciale. L'émulsifiant permet donc de stabiliser le système et de retarder cinétiquement la séparation des deux phases incompatibles.

Les émulsions peuvent être classées en sous-catégories selon leur stabilité thermodynamique et la taille des gouttes de la phase dispersée :

- Les ***macro-émulsions***, appelées communément émulsions, présentent une taille moyenne de goutte supérieure au micron.[1] Ces systèmes sont thermodynamiquement instables et leur préparation nécessite un apport énergétique extérieur. Elles sont généralement soumises au crémage ou à la sédimentation sous l'effet de la gravité.
- Les ***nano-émulsions*** sont des systèmes dont la taille des gouttes dispersées est de l'ordre de 20 à 200 nm, et plus généralement autour de 100 nm.[2] Elles sont préparés par des procédés hautement énergétiques ou, à l'inverse, faiblement énergétiques mais complexes qui exploitent certaines propriétés spécifiques du système (ex : inversion de phase). Elles sont ainsi moins sensibles à la sédimentation et au crémage que les macro-émulsions, mais sont cependant instables.
- Les ***microémulsions*** sont des dispersions de l'ordre du nanomètre, sous forme de micelles gonflées ou de phases bi-continues.[3] Ces systèmes ne nécessitent aucun apport énergétique pour leur formation et sont thermodynamiquement stables.

a. Les différents types d'émulsions

Selon la nature de la phase dispersée, on distingue différents types d'émulsions :

- les émulsions ***directes***, huile dans eau (H/E) (Figure 1.A),
- les émulsions ***indirectes*** ou ***inverses***, eau dans huile (E/H) (Figure 1.B),
- les émulsions ***multiples*** (H/E/H) ou (E/H/E) (Figure 1.C),[4]
- les émulsions ***Janus*** ($(H_1 + H_2)/E$), contenant au moins 3 phases (Figure 1.D). En général, deux huiles immiscibles sont dispersées dans l'eau, donnant une émulsion directe dont chaque goutte contient les deux huiles.[5,6]

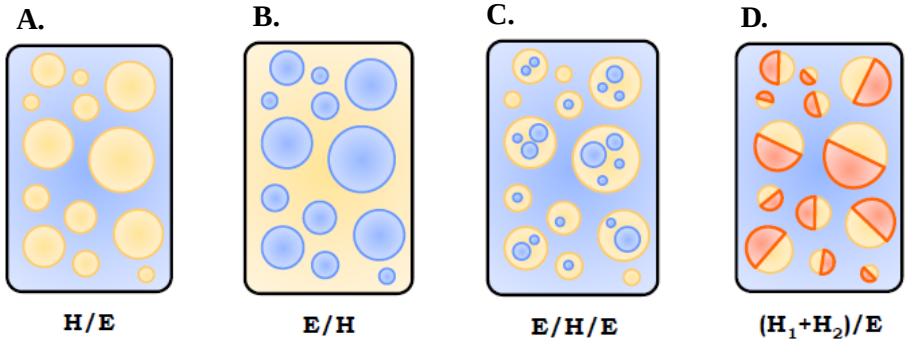


Figure 1 – Différents type d'émulsions : A) directe, B) indirecte, C) multiple à phase continue eau, D) Janus.[7]

b. Les différents émulsifiants

Différentes entités chimiques peuvent stabiliser les émulsions : les tensioactifs, les protéines et phospholipides, les particules et les copolymères.[8]

Les ***tensio-actifs*** sont les plus employés et les plus étudiés. Déjà décrits dans le chapitre 1, nous ajouterons simplement que leur petite taille leur permet de s'adsorber de façon rapide et réversible aux interfaces.[9] Les tensio-actifs ioniques apportent une stabilisation électrostatique et les tensio-actifs non ioniques une stabilisation stérique qui reste limitée compte tenu de leurs faibles masses.

Les ***protéines*** sont des macromolécules biologiques formées d'une ou plusieurs chaînes d'enchaînements d'acides aminés et présentent une organisation spatiale complexe. Elles permettent de stabiliser efficacement les émulsions par répulsion stérique et électrostatique,[10] notamment les émulsions multiples.[11] A titre exemple, citons la β-caséine, une protéine du lait très utilisée pour stabiliser des émulsions dans l'industrie agroalimentaire.[12]

Lorsqu'une émulsion est stabilisée par des ***particules solides***, on parle *d'émulsion de Pickering*.[13,14] Dès que leur taille excède 0.5 nm, les particules s'adsorbent de façon quasi irréversible à l'interface des deux liquides,[15] stabilisant l'émulsion sur des temps très longs. Les gouttes formées sont de taille bien contrôlée et monodisperses, les particules formant une barrière qui empêche leur coalescence.[16,17] Les particules peuvent être de nature inorganique (silice,[18,19] argile[20,21]) ou organique (latex,[19,22] microgels[23,24]). Leur structure peut être homogène, cœur-écorce[25] ou Janus.[26] Dans ce dernier cas, elles sont modifiées en surface (par greffage ou adsorption) afin de présenter un caractère amphiphile.

Enfin, les ***copolymères*** sont des émulsifiants efficaces. Comme évoqué dans le chapitre 1, ils peuvent être d'origine naturelle ou synthétique et présenter des compositions chimiques et des architectures très diverses. Grâce à leur masse molaire élevée, ils peuvent créer une répulsion stérique importante entre les gouttes, stabilisant les émulsions à long terme sans qu'il soit besoin d'en ajouter de grandes quantités.[27]

c. Mécanismes de déstabilisation

Les émulsions sont des systèmes hors équilibre, instables thermodynamiquement, et toute la difficulté de leur formulation est d'atteindre une bonne stabilité. Selon la nature des phases dispersées et continues et des émulsifiants utilisés, les émulsions peuvent être stables plusieurs heures, plusieurs mois, voire plusieurs années. En général, la stabilité de l'émulsion diminue avec des tailles de gouttes plus importantes.

La déstabilisation d'une émulsion peut se produire selon plusieurs mécanismes (Figure 2), pouvant conduire à une modification de leur morphologie et jusqu'à une séparation de phase macroscopique.[8] Ces mécanismes peuvent être réversibles ou irréversibles.

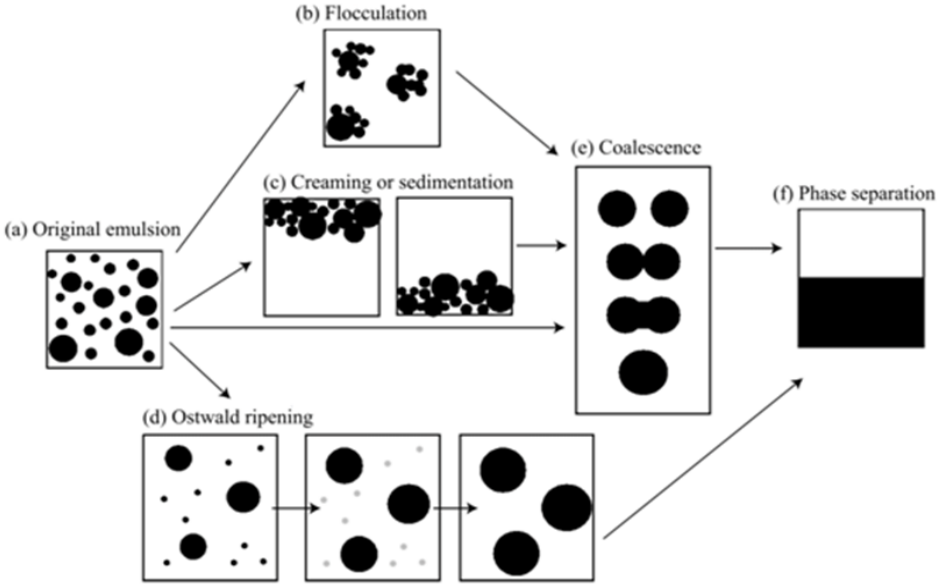


Figure 2 – Les différents mécanismes de déstabilisation d'une émulsion.

Le *crémage*, la *sédimentation* et la *floculation* rentrent dans la première catégorie, et ne conduisent pas à une déstabilisation macroscopique de l'émulsion[8] : les gouttes dispersées restent structurellement intactes (pas de drainage de liquide entre elles), leur distribution de taille n'est pas impactée, l'émulsion devient simplement inhomogène.
Le crémage et la sédimentation résultent de la différence de densité entre les deux phases (Figure 2.c).[28] La phase dispersée remonte à la surface de la phase continue (crémage) ou se concentre en dessous (sédimentation). Ces phénomènes se produisent lorsque les forces de gravité dominent l'agitation thermique.
La floculation a lieu lorsque les forces attractives entre gouttes (déplétion, pontage des gouttes, interaction de Van der Waals…)[8,29] l'emportent sur les forces répulsives (interactions électrostatiques ou stériques) (Figure 2.b).
Pour ces trois phénomènes, la redispersion du système permet de revenir à son état initial homogène.

Le *mûrissement d'Ostwald* et la *coalescence* mènent à la séparation de phase irréversible de l'émulsion. Lors de la coalescence, les gouttes fusionnent par rupture du film interfacial,[30] ce qui est favorisé lorsque les gouttes dispersées sont proches, notamment après crémage, sédimentation ou floculation de l'émulsion (Figure 2.e). Lors du mûrissement d'Ostwald, les plus petites gouttes disparaissent par transfert vers les plus grosses,[31,32] par différence de pression de Laplace, la pression étant plus importante dans les petites gouttes qui se vident au profit des plus grosses (Figure 2.d).

d. Prédire le type d'émulsion

Pouvoir prédire le type d'émulsion formée selon les liquides et émulsifiant utilisés est capital. On expose ici rapidement les moyens permettant de faire ces prédictions selon la nature de l'émulsifiant, tensioactif, particules ou polymère.

i. Emulsions stabilisées par des tensio-actifs

Dans ce premier cas, plusieurs méthodes existent :

- **règle empirique de Bancroft**.[33,34] Dans sa « théorie de l'émulsification », Brancroft relie le type d'émulsion formée à la solubilité du tensioactif utilisé dans les phases de l'émulsion. Il énonce que la phase continue de l'émulsion est généralement celle dans laquelle le tensioactif est le plus soluble.

- **balance hydrophile – lipophile (HLB).**[35] Ce paramètre classe les tensioactifs selon leur affinité pour l'eau et permet de choisir un tensioactif en fonction du type d'émulsion recherché. Pour les tensioactifs non ioniques, cette échelle va de 0 à 20. Une HLB élevée correspond à un tensioactif plutôt hydrophile qui stabilisera préférentiellement les émulsions directes. Inversement, un tensioactif de faible HLB sera plutôt lipophile et stabilisera les émulsions inverses. La HLB d'un tensioactif, seul ou en mélange, se calcule selon la fraction massique des groupes, hydrophiles et lipophiles, qui le constituent.[36] Par exemple, pour les alkyles éthoxylés (C_iE_j) :

$$HLB = 20\ \frac{W_{Ej}}{W_{Ci} + W_{Ej}}$$

  avec W_{Ej} la fraction massique en groupements éther et W_{Ci} celle en groupements alkyles.

  Davies a attribué un nombre HLB à chaque groupement chimique, d'autant plus élevé que le groupement est hydrophile.[37] La HLB peut alors être calculée comme suit :

$$HLB = 7 + \sum HLB\ hydrophile + \sum HLB\ lipophile$$

  Cette méthode est toutefois limitée car elle ne prend pas en compte l'environnement du tensioactif (température, pH, force ionique, etc.) qui aura pourtant un impact certain sur le type d'émulsion formé.

- **rapport R de Winsor**.[38] S'appliquant aux microémulsions, le rapport R définit empiriquement les interactions des tensioactifs à l'interface avec les molécules proches de l'huile et de l'eau. Selon la valeur de R, on obtient respectivement des microémulsions de type Winsor I (R > 1, microémulsion H/E), Winsor II (R < 1, microémulsion E/H) ou Winsor III (R = 1, microémulsion bi-continue).

- **courbure spontanée C_0 à l'interface eau-huile**. Déjà évoqué dans le chapitre 1, le paramètre de *packing* P est défini par :

$$P = \frac{V}{a_0\ l_c}$$

  avec V le volume du bloc hydrophobe, a_0 l'aire interfaciale optimale par chaîne et l_c la longueur de la chaine hydrophobe étirée.[39,40] La valeur de ce paramètre peut être reliée à la courbure spontanée C_0. Harkins et Langmuir ont été parmi les premiers à relier la

notion de courbure spontanée du tensioactif au type d'émulsion.[41,42] Ainsi, un tensioactif de courbure moyenne positive (tête polaire dominante par rapport à la chaîne hydrophobe) favorisera la formation d'une émulsion directe. A l'inverse, un tensioactif de courbure moyenne négative (chaine hydrophobe dominante par rapport à la tête polaire) favorisera la formation d'une émulsion inverse. Ce paramètre permet de prédire correctement le type d'émulsion formée, mais il faut se garder de relier directement la courbure de l'interface des gouttes de l'émulsion à la courbure spontanée du tensio-actif.[43] En effet, Kabalnov et Wennertröm ont montré que c'est la stabilité des films interfaciaux (à l'interface de deux gouttes coalescentes) qui contrôle la stabilisation des émulsions directes et indirectes.[44]

ii. Emulsions stabilisées par des particules (Pickering)

Dans le cas des émulsions de Pickering, les travaux de Finkle *et al.* relient la mouillabilité des particules au type d'émulsion formée.[45] La mouillabilité à l'interface eau-huile est estimée par la valeur de l'angle de contact θ, mesuré du côté de la phase aqueuse (Figure 3). Ainsi, les particules formant un angle de contact inférieur à 90 ° sont préférentiellement mouillées par l'eau (*hydrophiles*) et stabiliseront des émulsions directes. A l'inverse, pour un angle de contact supérieur à 90 °, les particules sont *hydrophobes* et stabiliseront préférentiellement des émulsions inverses.[46]

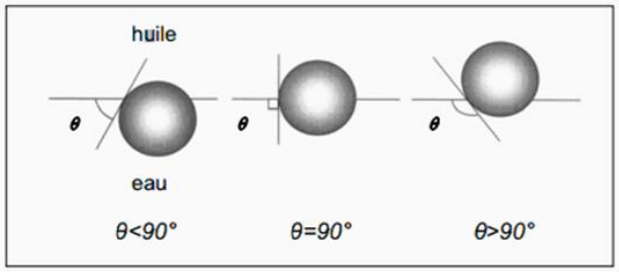


Figure 3 – Position d'une particule sphérique à l'interface huile – eau, pour différents angles θ.

Pour les émulsions Pickering, la règle de Bancroft ne peut être appliquée directement pour prédire de façon fiable le type de l'émulsion. En effet, des comportements « anti-Bancroft » ont été observés pour des émulsions de Pickering où les particules sont majoritairement solubilisées dans la phase dispersée.[47] Le critère de courbure spontanée reste toutefois vérifié : même si les particules sont solubilisées dans la phase dispersée, après adsorption à l'interface, leur mouillage les dirige majoritairement vers la phase continue.[47]

iii. Emulsions stabilisées par des copolymères

Il n'existe actuellement aucune règle fiable permettant de prédire le type d'émulsion stabilisée par des copolymères. En effet, comme pour les émulsions de Pickering, certains systèmes ne suivent pas la règle de Bancroft.[48] D'autre part, la conformation des copolymères à l'interface eau – huile est souvent complexe à déterminer et il est difficile de raisonner sur leur courbure spontanée à l'interface. Ainsi, si l'on considère un copolymère dibloc amphiphile à une interface eau-huile, les blocs peuvent soit se positionner dans la phase avec laquelle ils ont le plus d'affinité (comportement de brosse, Figure 4.A), soit s'adsorber à l'interface, ce qui est le cas le plus fréquent (Figure 4.B).[49] Plusieurs paramètres interviennent : affinité des blocs

dans les deux phases, température, force ionique, pH, etc., la conformation étant encore plus aléatoire pour un copolymère statistique (Figure 4.C).

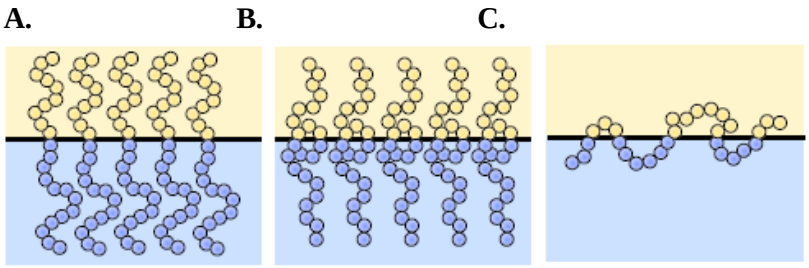


Figure 4 – Schémas de la conformation d'un copolymère à l'interface eau – huile : A) conformation brosse d'un dibloc, B) adsorption à l'interface d'un dibloc et C) conformation d'un copolymère statistique.[7]

2. Préparation d'émulsions

Dans l'industrie, les émulsions sont généralement préparées en deux étapes. La première, *pré-émulsification*, consiste à mettre en suspension les gouttes de la phase dispersée (environ 100 nm) dans la phase continue. La deuxième étape, *homogénéisation*, consiste à réduire la taille et la distribution des gouttes.

Souhaitant réaliser des émulsions pouvant éventuellement être développées à l'échelle industrielle, nous avons recherché les méthodes déjà mises en place dans l'industrie. Cependant, ces méthodes étant généralement couteuses en énergie, on s'est aussi intéressé aux méthodes ne nécessitant aucun apport d'énergie extérieur.

a. Méthodes avec apport d'énergie extérieur

Dans la majorité des cas, un apport d'énergie extérieur au système phase aqueuse/phase grasse/émulsifiant est nécessaire pour former une émulsion, l'énergie libre interfaciale de l'émulsion étant supérieure à celle du mélange non émulsifié.[50] Cette énergie est le plus souvent d'origine mécanique, notamment un cisaillement ou une cavitation (Figure 5).

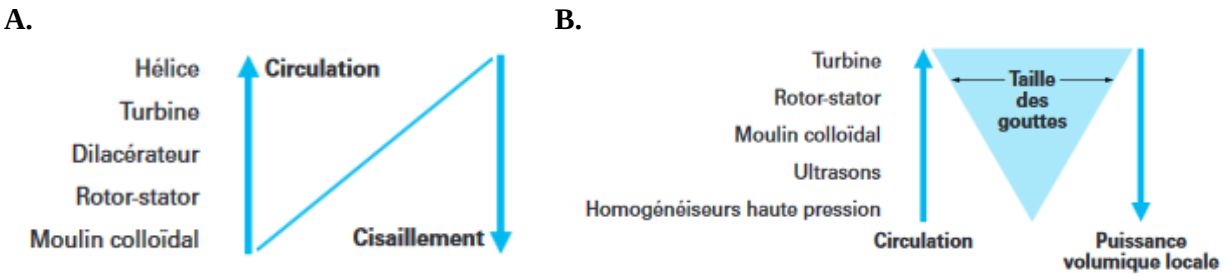


Figure 5 – A) Comparaison de la circulation et de l'intensité du cisaillement pour différentes méthodes d'émulsification par agitation mécanique, et B) comparaison de la taille des gouttes obtenues selon les différentes techniques.[51]

i. Émulsification par agitation mécanique

Deux types d'appareils fournissent une énergie mécanique : les ***disperseurs*** (turbines, hélices) et les ***homogénéiseurs*** (rotor-stators, broyeurs colloïdaux). Ils génèrent des zones de fort cisaillement entrainant la rupture des gouttes.

Plus en détails, les disperseurs doivent présenter une bonne recirculation pour fournir une distribution de taille assez étroite, les gouttes ayant tendance à coalescer lorsqu'elles s'éloignent de la zone de cisaillement. Les homogénéiseurs utilisent de très forts taux de cisaillement pour ramener la taille des gouttes dispersées sous le micron et conférer à l'émulsion sa granulométrie finale. Les rotor-stators, les plus couramment utilisés, sont constitué d'un stator percé d'orifices ou de fentes plus ou moins fines et resserrées, et d'un rotor tournant à grande vitesse (Figure 6). Les homogénéiseurs peuvent également être utilisés directement pour former une émulsion en une seule étape.

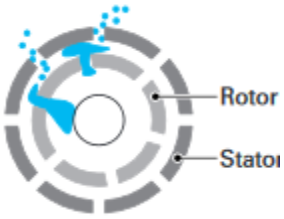


Figure 6 – Schéma d'un rotor-stator vu de dessous.[51]

Dans ces procédés, la majorité de l'énergie mécanique est dissipée dans le mélange sous forme de chaleur. Actuellement, on tend à améliorer leur efficacité, notamment pour l'élaboration de gouttelettes de petites tailles requérant une plus grande quantité d'énergie.

ii. Émulsification par phénomène de cavitation

Différents appareils peuvent être utilisés :

- **Homogénéiseurs haute pression**.[52] Dans ces dispositifs, la pré-émulsion est fortement comprimée et forcée de passer par un orifice de très petite taille. En sortie, la dépression subite engendre la cavitation et provoque l'éclatement, la pulvérisation des gouttes.

- **Mélangeurs statiques**.[53] Un mélangeur statique est un tube composé de plusieurs éléments immobiles placés bout à bout, dont chacun présente une structure géométrique rigide particulière qui divise et recombine le flux.

- **Procédés ultrasonores**.[54] Les ultrasons sont des ondes sonores dont les fréquences f sont comprises entre 16 kHz et 1 MHz (l'oreille humaine perçoit entre 20 Hz et 20 kHz). Elles se propagent avec une célérité c et une longueur d'onde λ = c/f. Dans un premier temps, lors de l'émulsification, les ondes forment des bulles de cavitation et génèrent ainsi des instabilités à l'interface liquide-liquide. L'implosion des bulles au voisinage des gouttes de liquide permet de les casser et de réduire progressivement leur diamètre moyen.

b. Méthodes avec apport d'énergie moindre ou nul

i. Emulsification par procédé à membrane

Ce procédé permet d'obtenir des émulsions peu concentrées par faible cisaillement.[55–57] Il requiert donc peu d'énergie et est adapté aux entités sensibles au cisaillement. Une première

technique consiste à faire passer la phase dispersée dans la phase continue à travers une membrane de filtration dont la taille des pores peut être réglée. Après formation, les gouttes se détachent de la membrane par écoulement de la phase (Figure 7.A). Une seconde technique consiste à faire passer une émulsion déjà formée à travers la membrane, afin d'obtenir une taille de goutte réduite et homogène (Figure 7.B).

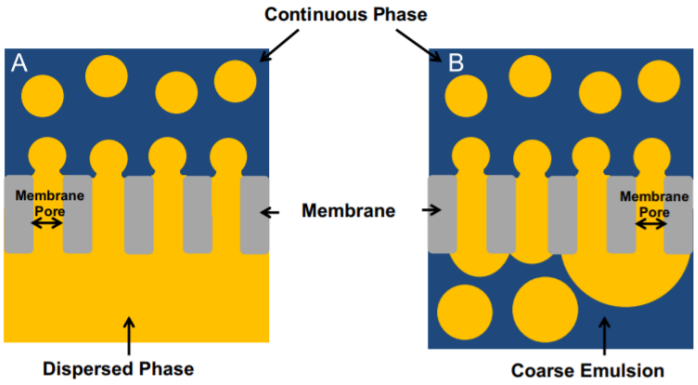


Figure 7 – A) Emulsification directe par procédé à membrane, B) Réduction de la taille de gouttes d'une émulsion grossière.[55]

ii. Emulsification par inversion de phase

Les techniques d'inversions de phases (passage d'une émulsion H/E à E/H ou inversement) sont notamment utilisées pour former des nano-émulsions à partir de macro-émulsions, avec un faible apport d'énergie. Le phénomène d'inversion peut être déclenché par un changement de composition de l'émulsion initiale,[58] typiquement une augmentation de la fraction volumique de la phase dispersée, ou par un changement de température (Figure 8).[59] Dans le premier cas, on parle *d'inversion de phase catastrophique*.[60] Dans le second, la variation de température provoque une modification de l'affinité de l'émulsifiant pour les phases de l'émulsion. En d'autres termes, il se produit une modification de la HLB de l'émulsifiant, provoquant alors le changement de sens de l'émulsion.

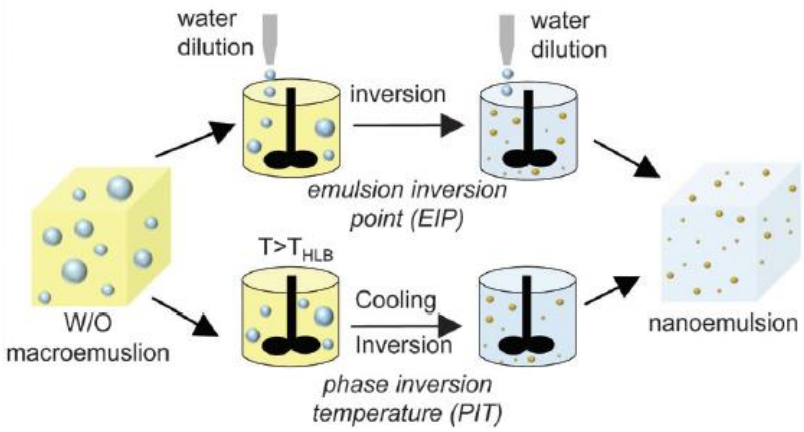


Figure 8 – Emulsification par inversion de phase.[2]

iii. Emulsification spontanée : effet Ouzo

L'émulsification spontanée de deux liquides non miscibles est réalisée sans apport d'énergie extérieure ni ajout d'émulsifiant, mais en présence d'un co-solvant. Le système est donc composé d'au moins trois substances : le solvant (phase continue), le soluté (phase dispersée) et le co-solvant miscible dans les deux phases. Dans la littérature, de nombreuses références traitent de ce phénomène,[61–64] Vitale, Ganachaud et Katz faisant figures de pionniers.[65,66]

La préparation de la boisson grecque alcoolisée Ouzo (équivalent du Pastis en France) est l'exemple le plus connu illustrant ce phénomène d'émulsification spontanée à qui il a donné son nom (*effet Ouzo*). Ici, le système ternaire est composé d'eau (solvant), d'éthanol (co-solvant) et d'anéthol (soluté), l'huile essentielle d'anis faiblement miscible à l'eau. Lorsque l'eau est ajoutée à l'ouzo (éthanol + anéthol), l'anéthol nuclée spontanément et forme de nombreuses petites gouttelettes,[65] qui diffusent la lumière, donnant à la boisson son aspect laiteux.

Plus en détails, l'eau ajoutée diffuse au sein du co-solvant (éthanol) qui contient des zones d'huile. L'huile est alors sursaturée et la nucléation de gouttes homogènes d'environ 1 nm se déclenche. Ces gouttes diffusent alors et croissent jusqu'à ce que la sursaturation diminue, mettant ainsi fin à la nucléation (Figure 9).[66]

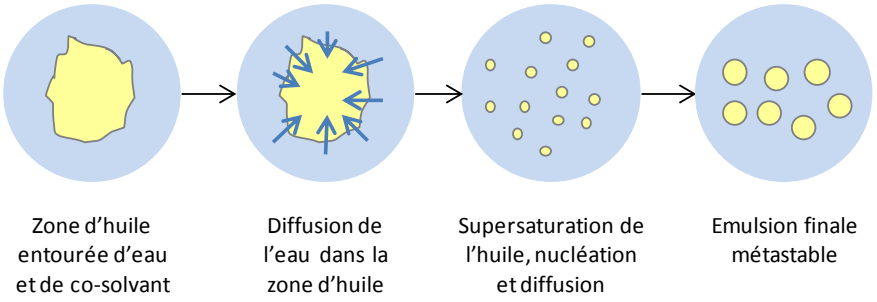


Figure 9 – Représentation schématique du processus d'émulsification spontanée ou *effet Ouzo*, d'après.[66]

Les gouttes formées sont monodisperses avec des tailles typiques de 1 à 4 µm qui permettent de retarder le mûrissement d'Ostwald et de ralentir le crémage. Les émulsions ainsi obtenues peuvent être stables sur de longues périodes, jusqu'à plusieurs mois, notamment lorsque la phase huileuse utilisée présente une densité proche de celle de l'eau. La taille des gouttes dépend uniquement de la proportion d'huile et de co-solvant et leur distribution dépend de la température et de la nature du co-solvant.[66] Ainsi, des gouttes allant jusqu'à 200 nm peuvent être obtenues.[67]

Ce phénomène d'émulsification spontanée n'a lieu que pour certaines proportions de soluté, solvant et co-solvant. Sur leur diagramme ternaire, apparaissent les zones métastables où se produit l'effet Ouzo, situées entre la séparation binodale et la séparation spinodale (Figure 10).[61] On note qu'il est possible de réaliser des émulsions directes et indirectes.

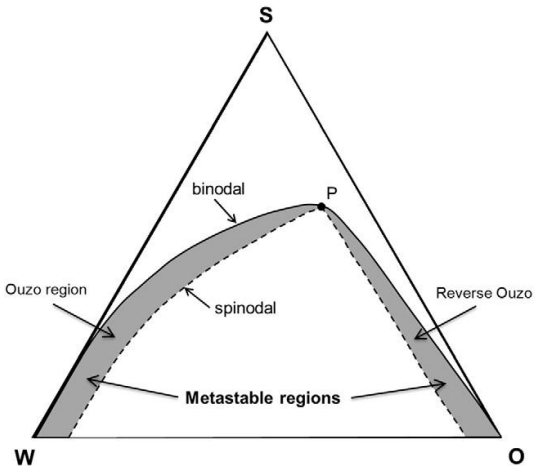


Figure 10 – Diagramme ternaire d'un système eau(W)/huile(O)/co-solvant(S), représentant les zones pour lesquelles l'effet Ouzo se produit, P étant le point critique, à l'intersection des zones Ouzo directe et inverse.[61]

L'effet Ouzo est utilisé, entre autres, pour la préparation de nanocapsules [68] et de nanoparticules (polymères, silices, etc.),[69–71] notamment pour l'encapsulation et la vectorisation de substances thérapeutiques. Le co-solvant se partitionne d'avantage dans l'eau que dans l'huile, ne gonfle pas les objets formés et est généralement évaporé après l'obtention des objets.[66]

Très simple à mettre en œuvre, ce processus présente toutefois le désavantage de ne permettre qu'un faible taux d'encapsulation, généralement entre 1 et 5 %.

II. Formulation d'émulsions

Pour les copolymères supramoléculaires, différentes méthodes de préparation d'émulsions directes et inverses ont été retenues et testées : des voies avec apport d'énergie modérée à élevée, et une voie sans apport d'énergie.

1. Emulsions préparées avec apport d'énergie

a. Matériel et méthodes

Les émulsions directes et indirectes ont été réalisées par émulsification mécanique, à l'aide d'un rotor-stator Ultra-Turrax IKA T25 (haut apport d'énergie) ou d'un agitateur magnétique (apport d'énergie modéré). Le rapport phase continue/phase dispersée est fixé à 80/20 en volume, et la teneur en copolymère supramoléculaire à 5 % en masse.

La phase aqueuse est de l'eau miliQ de résistivité 18.2 MΩ.cm. Les solvants lipophiles utilisés sont pour certains cosmétiques (myristate d'isopropyle, Miglyol 812, isododécane) et pour d'autres non (THF, toluène).

Les copolymères amphiphiles supramoléculaires étudiés sont comparés à leurs homologues covalents qui servent de références. Les copolymères testés sont ceux présentant les plus grandes constantes d'association dans l'eau :

- Emulsions directes :
  - **Dibloc 1**, PEG_{1000}-Thy + PPG_{2000}-DAT, et son homologue covalent synthétisé en laboratoire, PPG-NH_{1000}-PEG.
  - **Tribloc 4**, PEG_{1000}-Thy + DAT-PPG_{2000}-DAT, et son homologue covalent Synperonic PE/P84.

- Emulsions inverses :
  - **Tribloc 1**, PPG_{2000}-DAT + Thy-PEG_{2000}-Thy.

Leur balance HLB a été estimée à 6.6, 10 et 6.6 respectivement, selon la théorie de Griffin.[35,36] Les tensioactifs de HLB comprise entre 1 et 6 sont considérés comme hydrophobes, ceux de HLB supérieure à 10 comme hydrophiles. Le **tribloc 4** est donc plutôt hydrophile et les **dibloc 1** et **tribloc 1** à la limite de l'hydrophobie.

Deux méthodes de préparation des émulsions ont été suivies, et sont détaillées ci-après.

i. Préparation d'émulsions directes : copolymères dissous en phase aqueuse

Les copolymères sont dissous à 4 °C dans la phase aqueuse pendant 24 h, selon le procédé de *cold method*.[72] On obtient des solutions transparentes et limpides. Après 2 h à température ambiante, la solution se trouble, les copolymères s'auto-organisant en solution. La phase organique est alors ajoutée et le mélange est émulsionné soit à l'ultra-Turrax (11.000 rpm, pendant 2 min) soit par agitation magnétique (500 rpm, 5 min).
Les émulsions directes obtenues sont alors suivies visuellement toutes les 5 min pendant 2 h.

ii. Préparation d'émulsions directes et inverses : copolymères dissous en phase organique

Les polymères sont dissous en phase organique sous agitation pendant deux heures. L'eau est ensuite ajoutée à la phase organique et le mélange est émulsifié soit à l'ultra-Turrax soit par agitation magnétique.

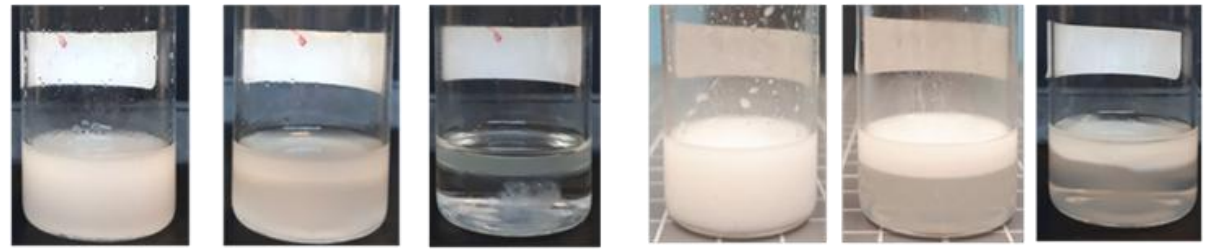
b. Emulsions directes – Myristate d'isopropyle (IPM)/Eau : copolymères dissous en phase aqueuse

i. Diblocs supramoléculaires et covalents

Deux émulsions directes myristate d'isopropyle (IPM)/eau du **dibloc 1** sont préparées, l'une avec l'ultra-Turrax (émulsion **d1-ut**) et l'autre par agitation magnétique (**d1-am**). Deux émulsions sont préparées de la même façon avec le **dibloc covalent** PPG_{2000}-NH-PEG_{1000} (émulsions **dc-ut** et **dc-am**).

L'évolution de l'aspect des émulsions juste après leur préparation et après 30 mn ou 2 h et 2 mois à température ambiante est présentée Figure 11.

A. Emulsion **d1-ut** (t_0, t_{2h}, t_{2mois}) **B.** Emulsion **dc-ut** (t_0, t_{2h}, t_{2mois})



C. Emulsion **d1-am** (t_0, t_{30mn}, t_{2mois}) **D.** Emulsion **dc-am** (t_0, t_{30mn}, t_{2mois})

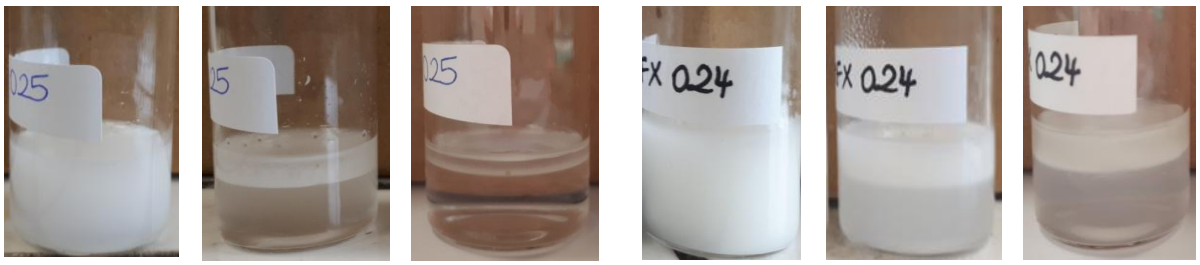


Figure 11 – Emulsions directes IPM/eau du dibloc 1 (d1) et du dibloc covalent (dc) préparées avec l'ultra-Turrax (ut) ou avec agitation magnétique (am) visualisées à leur préparation, après 30 mn ou 2 h, et 2 mois.

Les émulsions préparées à l'ultra-Turrax (Figure 11.A et B, gauche) sont légèrement plus stables que celles préparées par agitation magnétique (Figure 11.C et D, gauche). En effet, une démixtion apparaît après deux heures pour les premières mais en seulement 30 minutes pour les secondes.

Les émulsions préparées à l'ultra-Turrax ont été observées en microscopie optique, juste après préparation (Figure 12). Les deux échantillons sont polydisperses, avec des gouttes de 1 à environ 15 µm de diamètre, alors qu'on s'attendrait à des tailles plus petites avec ce procédé. Leur taille assez grande explique le phénomène de crémage rapide, l'huile étant plus légère que l'eau.

A. Emulsion **d1-ut** (t_0) **B.** Emulsion **dc-ut** (t_0)

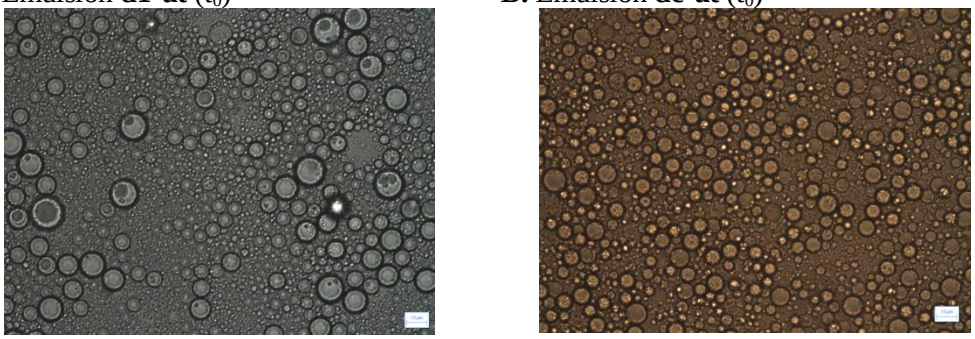


Figure 12 –Clichés de microscopie optique (x10) des émulsions directes préparées à l'ultra-Turrax avec A) le dibloc 1 et B) le dibloc covalent.

Après 30 min (**dc-am**) ou 2 h (**dc-ut**), les émulsions du **dibloc covalent** crèment (Figure 11.B et D, centre). Après deux mois, les émulsions présentent une phase aqueuse assez claire, une phase huileuse limpide, et une couche blanche plus dense à l'interface (Figure 11.B et D, droite). Les émulsions sont brisées. Aucun amas ni précipité de copolymère n'est observé.

Lorsque l'on redisperse les échantillons manuellement, les émulsions se reforment mais se brisent de nouveau rapidement (10 min).

Après 30 min (**d1-am**) ou 2 h (**d1-ut**), les émulsions de **dibloc 1** sont déjà brisées : elles présentent une phase aqueuse trouble, une phase huileuse claire et une troisième phase laiteuse à leur interface (Figure 11.A et C, centre). Ces émulsions sont donc moins stables que leur version covalente. Toutefois, le **dibloc 1** est vraisemblablement toujours formé : aucun précipité n'est observé et les émulsions se reforment sous agitation (déstabilisation en 2h).

Après deux mois (Figure 11.A et C, droite), la phase huileuse est légèrement trouble et la phase aqueuse limpide contient une pelote gonflée de polymère et un précipité blanc, apparu dès un mois. La fine couche blanche interfaciale observée à 2 heures a disparu. L'analyse RMN ^{1}H du précipité révèle qu'il s'agit principalement de blocs PPG_{2000}-DAT, avec quelques traces de PEG_{1000}-Thy. Ce résultat confirme les observations faites par les mesures de CMC dans l'eau qui montrent que la liaison Thy/DAT résiste à l'hydrolyse entre 14 et 30 jours (Chapitre 4). Dans le cas des émulsions, après 2 mois, une partie des liaisons supramoléculaires a été rompue de manière irréversible, réduisant les copolymères en leurs blocs élémentaires non amphiphiles et donc incapables de stabiliser les émulsions. Sous agitation manuelle, les émulsions se reforment mais démixent instantanément.

ii. Triblocs supramoléculaires et covalents

Deux émulsions directes IPM/eau du **tribloc 4** sont préparées, l'une avec l'ultra-Turrax (émulsion **t4-ut**) et l'autre par agitation magnétique (**t4-am**). Deux émulsions sont préparées de la même façon avec son homologue covalent **Synperonic PE/P84** (émulsions **P84-ut** et **P84-am**).

L'évolution de l'aspect des émulsions juste après leur préparation, et après 2 h et 1 mois à température ambiante est présentée Figure 13.

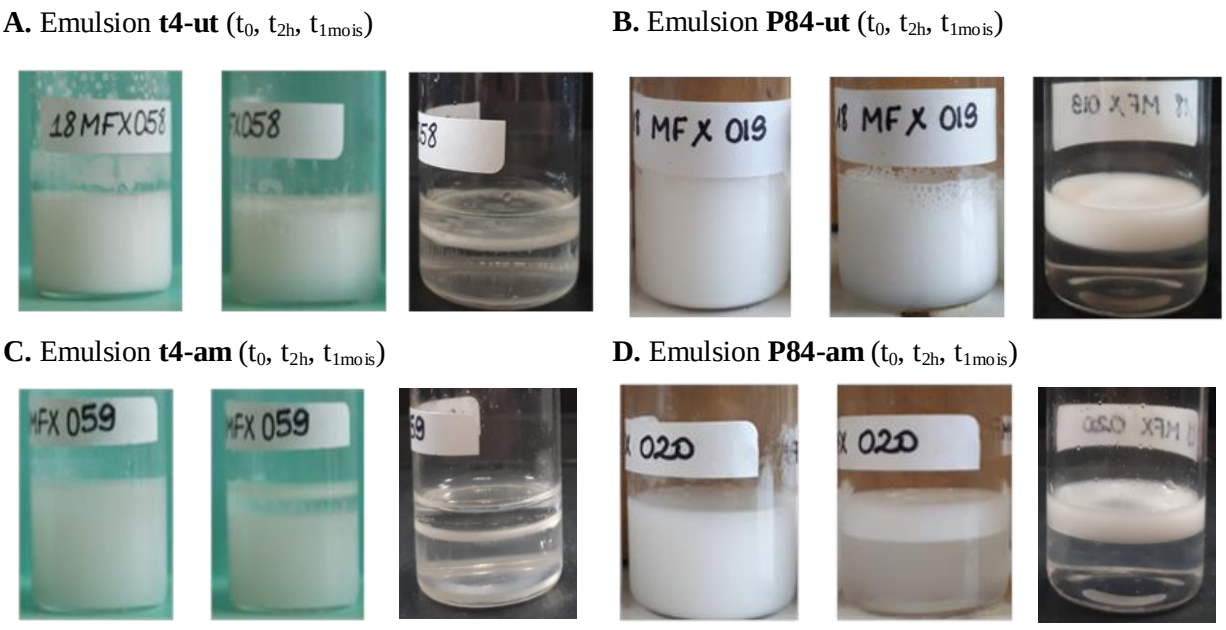


Figure 13 – Emulsions directes IPM/eau du tribloc 4 (t4) et du Synperonic PE/P84 (P84) préparées avec l'ultra-Turrax (ut) ou avec agitation magnétique (am) visualisées à leur préparation, et après 2 h et 1 mois.

Comme avec les diblocs, les émulsions préparées à l'ultra-Turrax (Figure 13.A et B, gauche) sont plus stables que celles préparées par agitation magnétique (Figure 13.C et D, gauche), les phénomènes de déstabilisation apparaissent plus tardivement.

On note cependant un comportement très différent selon que le copolymère est supramoléculaire (**tribloc 4**) ou non (**P84**). Les émulsions de **P84** présentent un crémage réversible, après 1 mois pour celle préparée à l'ultra-Turrax et 2 heures pour celle préparée par agitation magnétique (Figure 13.B et D, droite). En revanche, les émulsions de **tribloc 4** se déstabilisent irréversiblement dès 2 heures et un précipité de polymères apparait. Après une semaine (agitation magnétique) et un mois (ultra-Turrax), les phases aqueuses et huileuses sont limpides et le polymère a totalement précipité sur les parois du pilulier et à l'interface eau/huile (Figure 13.A et C).

Ainsi, contrairement au **dibloc 1** dont la liaison supramoléculaire Thy/DAT résiste à l'hydrolyse quelques jours, voire quelques semaines, le **tribloc 4** est rompu en quelques heures. Si l'on se reporte aux HLB estimées, le **dibloc 1** est à la limite de l'hydrophobie (HLB 6.6) tandis que le **tribloc 4** est hydrophile (HLB 10). Cette différence pourrait expliquée pourquoi l'effet compétiteur de l'eau est plus efficace dans le cas du **tribloc 4** et plus tardif pour le **dibloc 1**.

c. Emulsions directes – IPM/Eau : copolymères dissous en phase organique

Les copolymères **dibloc 1**, **dibloc covalent** PPG_{2000}-NH-PEG_{1000}, **tribloc 4** et **Synperonic PE/P84** sont trop hydrophiles pour se dissoudre dans des solvants lipophiles peu polaires tels que le myristate d'isopropyle, le Miglyol 810 ou l'isododécane. Les émulsions sont donc réalisées avec un copolymère plus lipophile, le **tribloc 1** (PPG_{2000}-DAT + Thy-PEG_{2000}-Thy) dans un solvant légèrement polaire le Miglyol 810, avec l'ultra-Turrax (**t1-ut**). L'évolution de l'aspect des émulsions juste après leur préparation et après 2 h à température ambiante est présentée Figure 14.

A. Emulsion **t1-ut** (t_0, t_{2h})

Figure 14 - Emulsion directe Miglyol 810/eau du tribloc 1 (t1) préparée avec l'ultra-Turrax (ut), visualisée à sa préparation et après 2 h.

On note que dès la fin du processus d'émulsification, un léger crémage (réversible) se forme (Figure 14.A, gauche). Après deux heures, le crémage est réversible et l'émulsion se reforme sous agitation. Après un mois, la phase huileuse est complètement limpide, la phase aqueuse trouble, et on n'observe aucun précipité. A cet instant, l'émulsion est déstabilisée irréversiblement, et il est vraisemblable que les gouttes d'huiles aient coalescé pour se séparer

de la phase aqueuse en remontant à la surface. L'aspect trouble de la phase aqueuse suggère que les copolymères, tout du moins en partie, restent en phase aqueuse, s'y organisent et s'agrègent, compte tenu de leur caractère hydrophobe.

La dissolution du **tribloc 1** plus lipophile dans la phase organique semble donc conduire à des émulsions plus stables, présentant un crémage réversible au bout de deux heures, au lieu d'une séparation de phase irréversible comme observé pour le **dibloc 1** (**d1-ut**, **d1-am)** et le **tribloc 4** (**t4-ut**, **t4-am**).

La préparation d'émulsions inverses, par dissolution du **tribloc 1** dans la phase organique, est alors réalisée.

d. Emulsions inverses : copolymère **tribloc 1** dissous en phase organique

Deux émulsions inverses Miglyol810/eau du **tribloc 1** sont préparées, l'une avec l'ultra-Turrax (émulsion **t1-ut-inv**) et l'autre par agitation magnétique (**t1-am-inv**).

L'évolution de l'aspect des émulsions juste après leur préparation et après 30 min à température ambiante est présentée Figure 15.

A. Emulsion **t1-ut-inv** (t_0, $t_{30\ min}$) **B.** Emulsion **t1-am-inv** (t_0, $t_{30\ min}$)

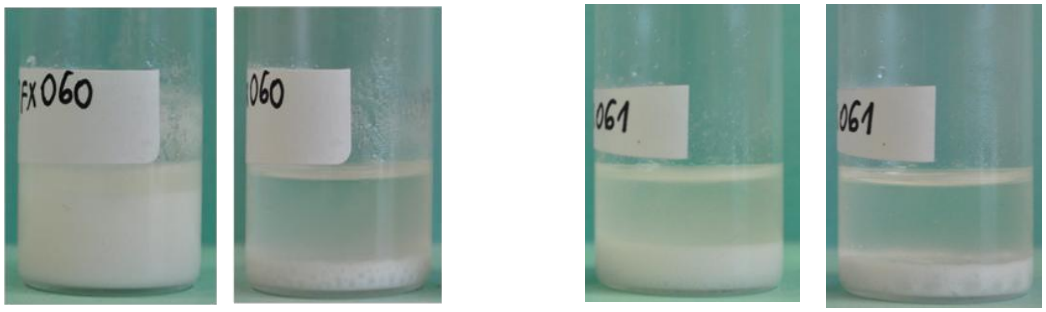


Figure 15 - Emulsions inverses (inv) Miglyol 810/eau du tribloc 1 (t1) préparées avec l'ultra-Turrax (ut) ou agitation mécanique (am), visualisées à leur préparation et après 30 min.

Dès la fin du processus d'émulsification, on observe deux phases qui s'apparente à de la sédimentation (processus réversible) : les gouttes d'eau retombent dans le fond du pilulier. Toutefois, après 30 minutes, les émulsions sont brisées irréversiblement. La phase huileuse est claire et limpide, et la phase aqueuse contient des gouttes d'eau visibles à l'œil et des zones blanchâtres, restes de l'émulsion. Ainsi, la lipophilie du **tribloc 1** (HLB estimée à 6.6) le conduit à rester majoritairement dans la phase organique. Alors que dans l'émulsion directe, sa concentration en phase organique est forte et lui permet de stabiliser les gouttes d'huile dans l'eau, dans l'émulsion inverse, sa concentration est trop faible pour stabiliser efficacement les interfaces des gouttes d'eau dans l'huile.

Conclusion

La stabilité des émulsions directes stabilisées par des copolymères supramoléculaires (**dibloc 1**, **triblocs 1** et **4**) préparées de façon conventionnelle (apport d'énergie mécanique externe) est supérieure à celles des dispersions homologues dans l'eau pure (quelques semaines). Deux phénomènes sont à prendre en compte : d'une part le caractère hydrophile/lipophile du copolymère (HLB) et d'autre part, la résistance de la liaison Thy/DAT à l'effet compétiteur de l'eau. Comme attendu, en mélanges biphasiques, la rupture des copolymères aux interfaces est plus tardive que pour les particules cœur-couronne formées dans l'eau au-delà de la CMT.

L'efficacité des copolymères à stabiliser les émulsions directes (H/E) peut être estimée par l'observation de crémage, déstabilisation réversible, pendant les premières heures. Ainsi, lorsque le copolymère est suffisamment lipophile (**dibloc 1** et **tribloc 1**, HLB 6.6), l'effet compétiteur de l'eau sur la liaison Thy/DAT est retardée : on observe un crémage aux temps courts (quelques heures) suivi d'une totale démixtion aux temps longs (quelques semaines). Le **tribloc 1** est par ailleurs trop lipophile pour stabiliser une émulsion inverse (E/H).

A l'inverse, lorsque le copolymère est plutôt hydrophile (**tribloc 4**, HLB 10), l'effet compétiteur de l'eau est prépondérant et les émulsions sont irréversiblement déstabilisées en quelques heures.

On s'intéresse maintenant à une méthode de préparation sans apport d'énergie utilisant l'effet Ouzo.

2. Emulsification spontanée par effet Ouzo

Ce procédé permet une réalisation aisée des émulsions : l'utilisation d'un co-solvant favorise leur formation, sans avoir à utiliser d'appareillage spécifique.

a. Matériel et méthodes

Pour observer leur éventuel impact sur la stabilité des émulsions, deux rapports phase aqueuse/co-solvant ont été testés : 60/40 et 40/60 en volume. Pour le 40/60, la phase continue reste l'eau et on ne peut pas parler à proprement d'émulsion inverse.

La phase continue est de l'eau miliQ de résistivité 18.2 MΩ.cm et la phase encapsulée le Miglyol 810 dont la teneur est 1 % ou 5 % en masse. Pour toutes les émulsions, le co-solvant utilisé est le tétrahydrofurane (THF). On rappelle que le co-solvant est à la fois miscible dans la phase aqueuse et la phase lipophile. Les copolymères supramoléculaires ont été ajoutés à 1 et 5 % en masse.

Le **dibloc 1**, PEG_{1000}-Thy + PPG_{2000}-DAT, et son homologue covalent, PPG-NH_{1000}-PEG, ont été étudiés. Un mélange équimolaire **dibloc 1 + dibloc 2 (**PEG_{1000}-DAT + PPG_{2000}-Thy) a également été étudié dans une formulation 60/40. On souhaite ainsi observer l'effet d'un gradient de forces des associations Thy/DAT sur la stabilité/déstabilisation de l'émulsion (relargage progressif).

Les copolymères et le composé à encapsuler sont dissous dans le THF (co-solvant) sous agitation magnétique (10 min) et donnent une solution limpide. Pour réaliser les émulsions, l'eau est ajoutée rapidement et en une fois à cette solution avec une micropipette.

b. Emulsions directes à teneur 60/40 en eau/THF

i. Références : émulsions non stabilisées par des copolymères

Des émulsions (eau/co-solvant/huile) sans ajout de copolymère supramoléculaire ont été réalisées comme références (Figure 16). L'évolution de leur aspect est comparée à celui d'émulsions équivalentes contenant les copolymères supramoléculaires. On souhaite ainsi mettre en évidence l'effet des copolymères sur la stabilité des émulsions, sachant qu'en présence de copolymères, on s'attend à une stabilité accrue et à un taux d'encapsulation plus important.[66,73]

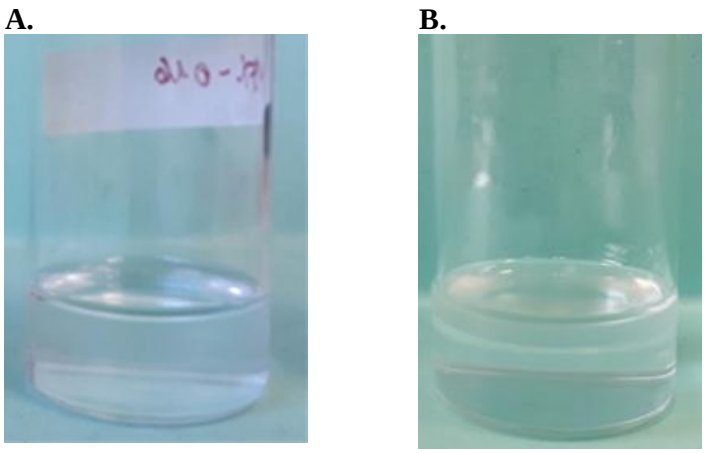


Figure 16 – Références contenant eau/THF/Miglyol 810, avec A) 1 % et B) 5 % d'huile.

A 1 % et 5 % d'huile (Miglyol 810), aucune émulsion ne se forme par effet Ouzo : la démixtion est instantanée, avec une phase supérieure huileuse et une phase inférieure de THF et d'eau.

ii. Emulsions stabilisées par des diblocs supramoléculaires et covalents

Deux émulsions eau/THF/Miglyol 810 sont préparées, à 1 % et à 5 % en **dibloc 1,** et 1% et 5% en huile (émulsions **d1-O, 1** et **5 %**). Deux émulsions sont préparées de la même façon avec son homologue **dibloc covalent** (émulsions **dc-O**, **1** et **5 %**).

L'évolution de l'aspect des émulsions, juste après leur préparation et après 3 semaines à température ambiante, est présentée Figure 17.

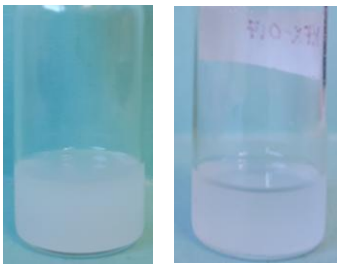
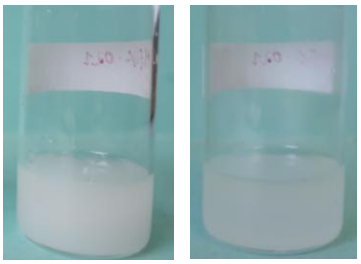
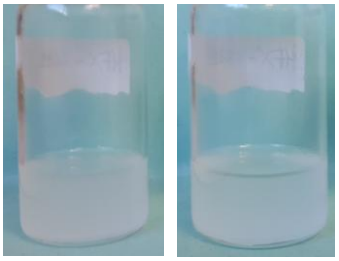
<table>
<tr><td colspan="2">Emulsions à 1 % en dibloc 1 et 1% en Miglyol810</td></tr>
<tr><td>A. Emulsion d1-O1% (t_0, $t_{3\ semaines}$)
  </td><td>B. Emulsion dc-O1% (t_0)
 </td></tr>
<tr><td colspan="2">Emulsions à 5 % en dibloc 1 et 5% en Miglyol810</td></tr>
<tr><td>C. Emulsion d1-O5% (t_0, $t_{3\ semaines}$)
  </td><td>D. Emulsions dc-O5% (t_0, $t_{1\ mois}$)
  </td></tr>
</table>

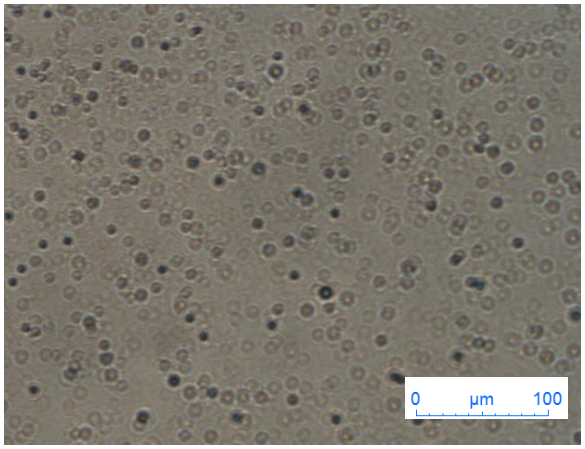
Figure 17 - Emulsions directes eau/THF/Miglyol 810 avec dibloc 1 (d1) et dibloc covalent (dc) préparées par effet Ouzo (O) visualisées à leur préparation et après 3 semaines.

En présence du **dibloc 1** et du **dibloc covalent**, des émulsions se forment spontanément par effet Ouzo, avec une seule phase homogène trouble. Les émulsions à 5 % sont plus denses et plus opaques que celles à 1% et se clarifient avec le temps.

Quelque soit la concentration en **dibloc 1**, les émulsions sont stables. Après 3 semaines, l'apparition d'un surnageant huileux témoigne du début de la déstabilisation (Figure 17.A, droite), mais la phase eau/THF reste trouble, ce qui indique encore la présence de gouttes d'huiles. On observe que les émulsions de **dibloc covalent** sont stables au-delà de 1 mois.

Les émulsions **d1-O1%** et **dc-O1%** sont observées en microscopie optique, juste après leur préparation (Figure 12). Les deux échantillons sont monodisperes, avec des gouttes inférieures à 10 µm de diamètre.

A. Emulsion **d1-O1%** (t_0)



B. Emulsion **dc-O1%** (t_0)

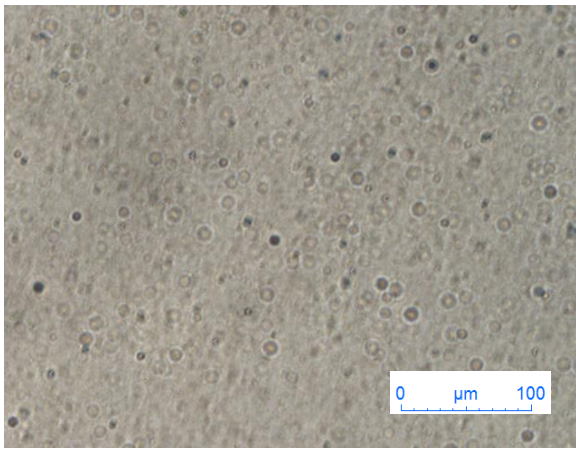


Figure 18 - Clichés de microscopie optique (x10) des émulsions préparées par effet Ouzo avec 1% de A) dibloc 1 et B) dibloc covalent.

Pour confirmer l'encapsulation de l'huile, l'émulsion **d1-O1%** observée en microscopie confocale, juste après sa préparation. Les caractéristiques de l'appareil sont données en annexe.

Cette technique permet d'obtenir des images résolues dans les trois dimensions de l'espace. Un objectif x10 et un objectif x40 sont utilisés pour observer les émulsions.

La résolution sur l'épaisseur z est de quelques centaines de micromètres. Quelques gouttes d'émulsion sont placées sur une lame porte-objet, comprenant une cavité sphérique d'environ 0.7 mm de profondeur et 17 mm de diamètre, qui permet de limiter la déformation ou contrainte sur les gouttes. Le contraste entre les deux phases est obtenu par l'ajout de quelques microlitres d'une solution de Rouge Nil (colorant hydrophobe) dans le toluène. La longueur d'onde d'excitation est 488 nm, le Rouge Nil apparait en bleu.

Les clichés obtenus sont présentés Figure 19. Seules les gouttes marquées par le colorant sont visibles. On visualise donc bien la dispersion des gouttes d'huiles (bleu) stabilisées par le **dibloc 1** dans la phase aqueuse. Toutefois, la conformation exacte du copolymère supramoléculaire à l'interface n'est pas connue, car comme expliqué au Chapitre 1, le copolymère amphiphile peut adopter plusieurs conformations selon sa taille, sa composition, son affinité avec les phases. Des études supplémentaires, notamment en SAXS, permettraient de répondre à cette question.

A. **B.**

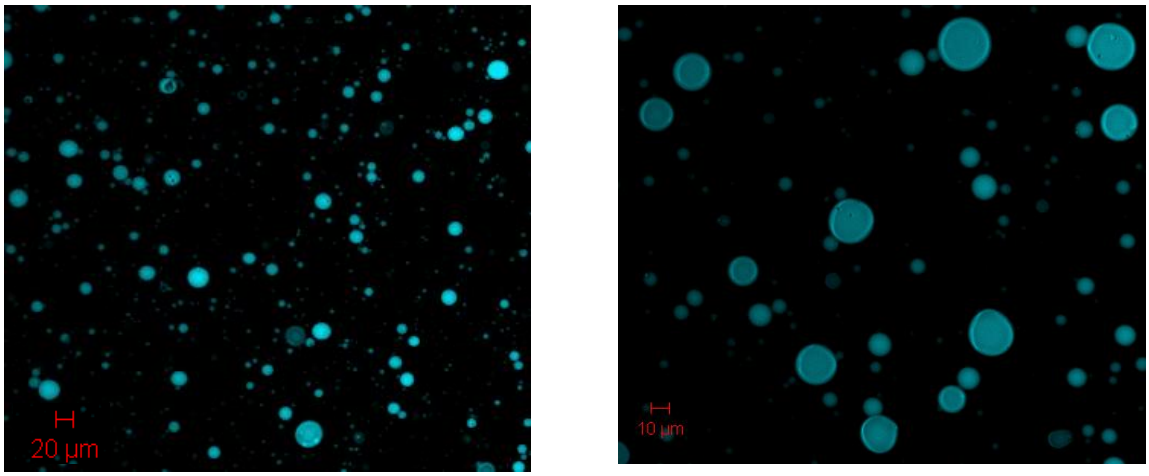


Figure 19 – Clichés de microscopie confocale d'émulsion d1-O1% préparée par effet Ouzo avec 1% de dibloc 1.

Ainsi, les émulsions formulées par effet Ouzo présentent une stabilité notablement accrue par rapport à celles préparées avec énergie mécanique élevée, qui crèment dès 2h et sont totalement démixées en quelques semaines (Figure 11.A). Par ailleurs, la distribution des gouttes est remarquablement monodisperse contrairement aux émulsions classiques (Figure 12).

Pour réaliser un système d'encapsulation à relargage modulable (concept présenté au Chapitre 2), une émulsion est préparée avec 1 % de Miglyol 810 et 1 % d'un mélange équimolaire en **dibloc 1** et **dibloc 2** (**d1d2-O1%**). Son aspect est comparable à celui de l'émulsion de **dibloc 1** à 1 %, **d1-O1%** (Figure 20).

A. Emulsion d1-O1% **B.** Emulsion d1d2-O1%

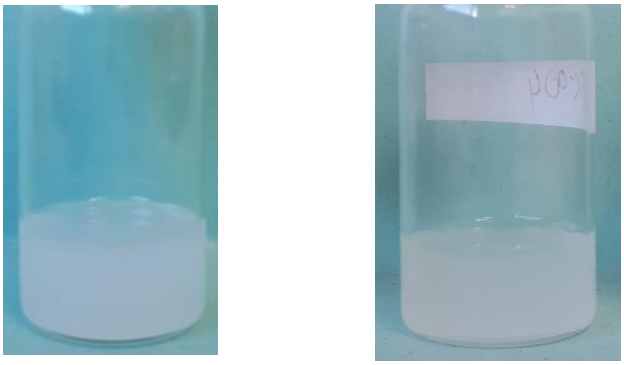


Figure 20 – Emulsions préparée par effet Ouzo avec 1 % d'huile et 1% de A) dibloc 1 (d1-O1%) et B) 1 % d'un mélange équimolaire de diblocs 1 et 2 (d1d2-O1%).

L'émulsion **d1d2-O** à 1 % est observée en microscopie optique, juste après sa préparation (Figure 21).

A. Emulsion **d1d2-O** (t_0) – 1 % **B.** Emulsion **d1d2-O** (t_0) – 1 %

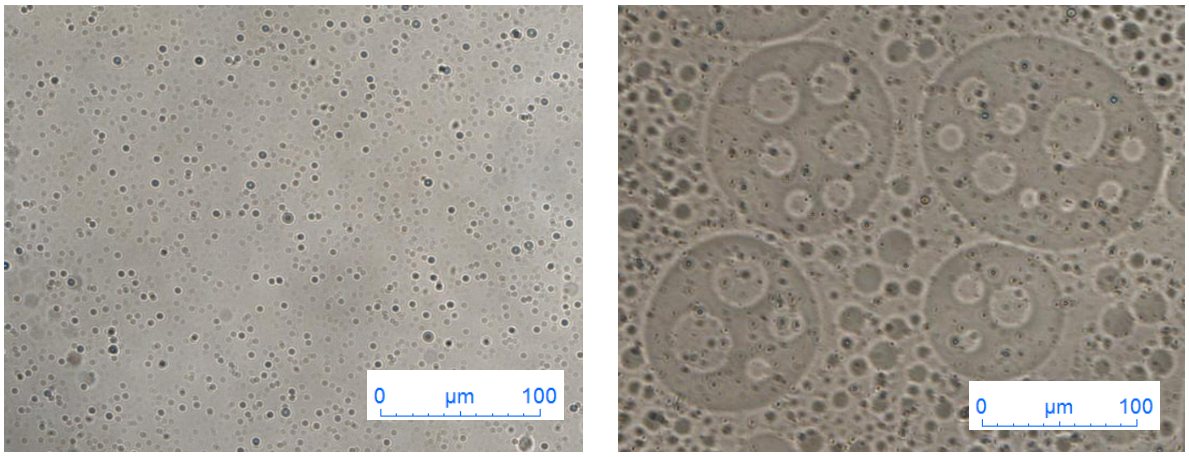


Figure 21 – Clichés de microscopie optique (x10) des émulsions préparées par effet Ouzo avec 1% de mélange équimolaire de dibloc 1 + dibloc 2. On observe des zones monodisperses et des zones de gouttes multiples.

L'échantillon présente des zones de gouttes monodisperes, inférieures à 10 µm, mais également des zones avec de gouttes multiples larges gouttes (jusqu'à 100 µm) contenant des gouttes d'environ 20 – 40 µm.

Pour expliquer cette observation, on doit considérer les différences entre les deux diblocs : leur balance HLB estimée est identique (6.6) mais la liaison Thy/DAT du **dibloc 2** est moins forte que celle du **dibloc 1**. Ceci signifie que l'équilibre entre unités associées et libres est plus déplacé pour le **dibloc 2**. Ainsi, l'effet compétiteur de l'eau serait plus efficace et résulterait, localement, en la séparation du **dibloc 2** en ses blocs élémentaires, PEG hydrophiles et PPG hydrophobes, qui se solubiliseraient dans les phases aqueuses et huileuses respectivement. La diminution de la concentration effective en copolymère conduirait alors à une coalescence des gouttes.

c. Emulsions directes à teneur 40/60 en eau/THF

i. Références : émulsions non stabilisées par des copolymères

De la même façon que pour les émulsions précédentes, une émulsion de référence (eau/co-solvant/huile, **Réf-40/60**) avec un rapport 40/60 à 1 % d'huile Miglyol 810 et sans copolymère supramoléculaire est réalisée (Figure 22).

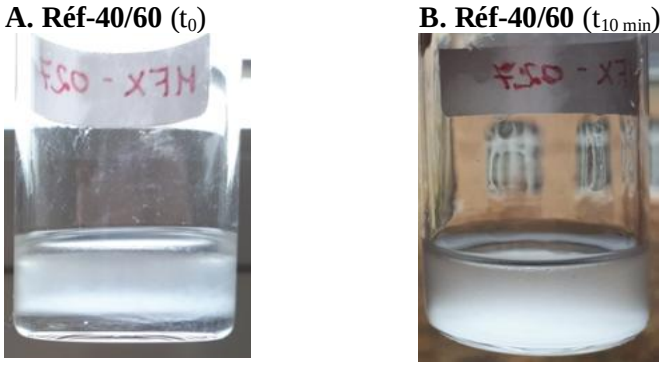


Figure 22 – Références contenant eau/THF/Miglyol 810 avec 1 % d'huile A) juste après la préparation et B) après 10 mn

Immédiatement après ajout de la phase aqueuse, une phase trouble et des phases supérieure (huile) et inférieure (eau/THF) limpides (Figure 22.A). Après 10 minutes, sans avoir agité, l'émulsion est complètement homogène (Figure 22.B). Ainsi, une plus grande proportion de co-solvant permet de former une émulsion stable, en l'absence de copolymère.

ii. Emulsions stabilisées par des diblocs supramoléculaires et covalents

Une émulsion eau/THF/Miglyol 810 est préparée avec 1 % de dibloc 1 et 1 % d'huile (émulsion **d1-O1%-40/60**).

L'évolution de l'aspect de l'émulsion, juste après sa préparation et après 3 semaines à température ambiante, est présentée Figure 23. Elle est comparée à la référence ne contenant pas de copolymère.

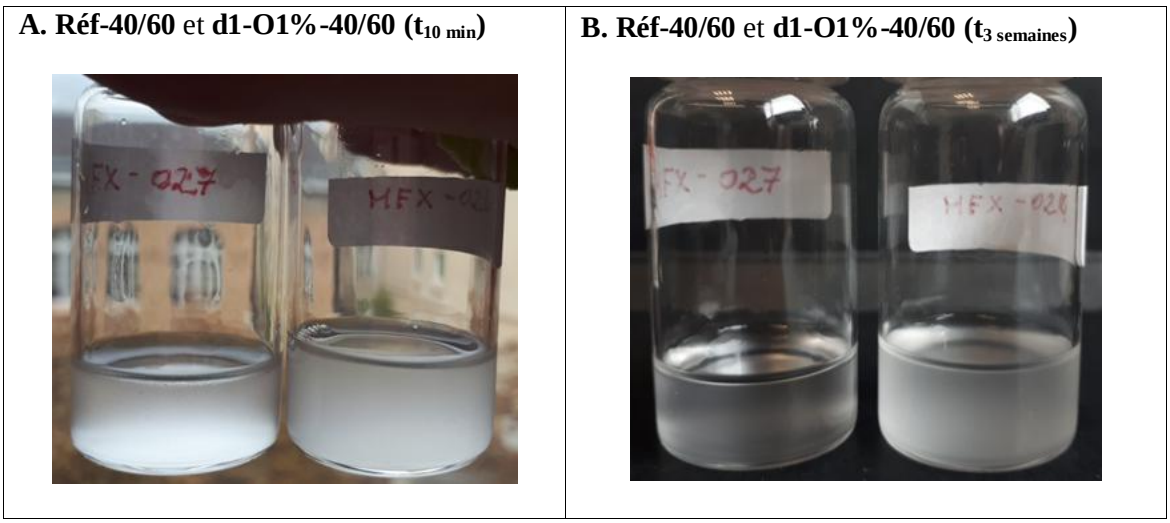


Figure 23 – Emulsions préparées par effet Ouzo : référence avec 1 % d'huile, sans copolymère (Réf-40/60) et émulsion avec 1 % d'huile et 1 % de dibloc 1 (d1-O1%-40/60), à A) t_0 et B) $t_{3\ semaines}$.

On observe un comportement similaire lors de la préparation : une émulsion à trois phases qui s'homogénéise en 10 minutes sans agitation. Les deux émulsions ayant le même aspect, il est difficile de juger de l'effet des copolymères supramoléculaires (Figure 23.A).

Après trois semaines, l'émulsion de référence est plus claire que celle contenant 1 % de **dibloc 1**, sans que l'on note toutefois de couche huileuse en surface comme dans le cas des émulsions 60/40 (Figure 23.B).

Comparé à l'émulsion 60/40 à 1 % de dibloc 1 (**d1-O1%**), l'émulsion 40/60 se forme en 10 minutes (et non pas instantanément), est moins dense et opaque et ne présente pas de couche huileuse en surface après 3 semaines. Elle est donc plus stable. Comme nous l'avons indiqué, la proportion 40/60 ne peut être considérée comme une émulsion inverse. Cependant, la proportion de solvant lipophile est plus importante, ce qui est favorable pour le **dibloc 1** au caractère hydrophobe (HLB estimée 6.6).

Conclusion et perspectives sur les expériences Ouzo

Cette courte étude montre que l'effet Ouzo permet de réaliser aisément des émulsions directes stables sur des temps longs, sans apport d'énergie et quasi-instantanément. Nous avons ainsi établi la preuve de concept l'efficacité des copolymères supramoléculaires à encapsuler une huile.

A 1 et 5 % d'huile (Miglyol 810) et de **dibloc 1**, les émulsions sont stables sur au moins 3 semaines. Le **dibloc 1** ayant un caractère « hydrophobe », les émulsions à 40/60 en eau/co-solvants sont plus fines et plus stables que celles à 60/40. Ainsi, le concept d'utilisation de copolymères supramoléculaires pour formuler des émulsions et encapsuler a été établi.

Deux expériences restent à accomplir pour compléter cette étude et valider totalement le concept : l'évaporation du co-solvant et le relargage de l'huile encapsulée. Elles n'ont pas encore été réalisées par manque de temps. L'évaporation du co-solvant pourrait se faire à l'évaporateur rotatif. Cette étape est critique car elle montrera si les copolymères restent en solution ou précipitent, et par conséquent si l'encapsulation de l'huile est toujours effective ou non. Si l'évaporation du co-solvant ne perturbe pas le système, l'huile pourra être libérée par divers stimuli. Un changement de pH entrainerait la protonation des unités Thy/DAT empêchant ainsi leur réassociation.[74] L'ajout d'une molécule compétitrice des liaisons hydrogène comme le DMSO aurait le même effet. Enfin, une élévation de la température vers 40 °C déplacerait l'équilibre entre unités associées et libres (cinétique) ce qui résulterait en la séparation des blocs du copolymère et à terme la destruction des gouttes.

Si le système se révélait trop fragile à l'évaporation du co-solvant, une chimie plus robuste mais également réversible et déclenchable pourrait être utilisée. Dans la dernière section de ce chapitre, on présente les tous premiers résultats obtenus avec des copolymères dont les blocs sont liés par une fonction chimique covalente réversible *imine*.

III. Evolution du système : vers la chimie covalente dynamique

1. Introduction à la chimie covalente dynamique

La réversibilité et la dynamique des liaisons supramoléculaires tiennent essentiellement dans leur faible énergie de liaison. Ainsi, les liaisons hydrogène ont des énergies de 5 à 30 kJ/mol alors que celles des liaisons covalentes est de l'ordre de 150 à 1000 kJ/mol.[75] Par ailleurs, les systèmes supramoléculaires sont très sensibles à leur milieu. Comme nous l'avons vu tout au long de ce travail de thèse, leur utilisation en milieu aqueux peut se révéler complexe : l'eau étant polaire et protique, et donc susceptible de former des liaisons hydrogène, les interactions supramoléculaires peuvent se retrouver plus ou moins rapidement rompues par effet de compétition.

Cette sensibilité peut se révéler limitante car elle conduit à une rupture non contrôlée des liaisons hydrogène. L'utilisation d'une chimie plus robuste et plus stable en milieu aqueux, la chimie covalente dynamique, parait donc souhaitable.

a. Définition

Inspirée notamment par la Chimie Combinatoire Dynamique,[76] ces liaisons fortes et réversibles sont connues depuis longtemps en Chimie Moléculaire, limitées à la protection de fonctions en synthèse totale. On recense ainsi les esters, esters boroniques, acétals, imines, disulfites, … Leurs réactions de formation et de dissociation étant en équilibre, un changement des paramètres expérimentaux permet de déplacer l'équilibre dans un sens ou dans l'autre.[77,78]

Grâce à ces liens, les structures covalentes réversibles ainsi obtenues, désignées par J.-M. Lehn sous le terme de *dynamères*,[79] ont donc la capacité de modifier leur constitution par échanges ou remaniement de leurs sous-unités liées entre elles. Introduites dans des systèmes polymères, ces liaisons offrent de nouvelles perspectives dans le domaine des matériaux. En effet, elles associent la réversibilité des liens supramoléculaires à la robustesse, chimique et/ou thermique, des liens covalents classiques. En conséquence, le domaine des « polymères covalents dynamiques » est actuellement en plein essor.[76] L'objectif est de concevoir des matériaux polymères stables dans les conditions d'usage mais stimulables sous certaines conditions. Les applications possibles sont nombreuses (auto-réparation,[80] nanoparticules,[81] délivrance contrôlée de médicaments,[82] …).

b. L'exemple des vitrimères

Le laboratoire Matière Molle et Chimie a développé une grande expertise dans le domaine de la chimie supramoléculaire, avec pour fait marquant la découverte du premier élastomère auto-réparant.[83] Il est également à l'origine de la découverte des *vitrimères*, une nouvelle classe de polymères, alliant la possibilité de (re)mise en forme des thermoplastiques et la tenue dimensionnelle des thermodurcissables. En effet, les vitrimères sont des réseaux dont les nœuds sont des liens covalents dynamiques qui peuvent s'échanger sous l'action de la

température. Ainsi, à haute température, le matériau peut s'écouler comme un liquide (échange rapide) mais, le mécanisme d'échange étant associatif, le nombre de points de réticulation reste constant. Les vitrimères de première génération sont basés sur la chimie des esters[84] dont les réactions d'échange sont catalysées par des sels de zinc. Les vitrimères de seconde génération s'appuient sur la chimie des esters boroniques[85] qui ne nécessitent pas de catalyseur.

c. La chimie des imines

Un large choix de liaisons covalentes réversibles existe, susceptibles de répondre à de nombreux cahiers des charges selon leur compatibilité, solubilité, facilité de synthèse et conditions de réversibilité. Le caractère réversible de la liaison implique un équilibre d'échange rapide sous des conditions contrôlables. Prenant en compte ces considérations, les liaisons esters,[81] esters boroniques,[80] disulfites,[86] acylhydrazone[87] et imines[82,88] ont été les plus étudiées récemment pour former des systèmes covalents réversibles.

Pour former des copolymères à blocs à liens covalents réversibles, il est nécessaire d'utiliser des fonctions complémentaires et sélectives, afin de pouvoir contrôler la structure formée (alternance des blocs, Figure 24). L'utilisation de fonctions homo-complémentaires tels que les disulphites, issus de l'oxydation de deux thiols, n'est donc pas envisageable.

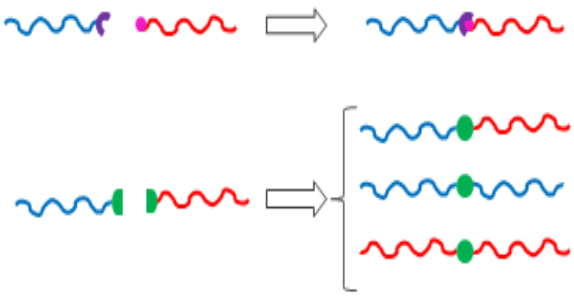


Figure 24 - Contrôle de l'organisation des copolymères à blocs : réaction sélective (haut) ou non sélective (bas).

De plus pour former des structures stables dans l'eau, il est nécessaire d'utiliser des liaisons non hydrolysables dans une gamme de pH relativement large, mais qui peuvent être rompues dans des conditions douces. Ainsi, il semble peu judicieux d'utiliser des esters boroniques très facilement hydrolysables[85] quel que soit le pH ou des esters qui ne peuvent être rompus que par saponification à chaud.

Formée à partir de fonctions complémentaires aldéhyde et amine, stable dans l'eau à pH basique (7-14), les liaisons imines semblent donc les plus adaptées pour former des copolymères à liens covalents réversibles. Au laboratoire, des réseaux vitrimères à liaisons imines ont été développés,[89,90] avec des taux élevés de conversion (déplacement d'équilibre vers la formation des imines). Ces résultats laissent espérer une synthèse simple et efficace de copolymères à blocs, les produits de départ étant relativement simples à synthétiser, voire disponibles commercialement.

La liaison imine, ou base de Schiff,[91,92] formée par la condensation d'un aldéhyde ou d'une cétone et d'une amine primaire, est fréquemment étudiée dans le domaine de la chimie covalente réversible.[77,82,88] Sa réaction de formation est un équilibre qui permet, outre l'imination réversible (a), d'observer deux réactions d'échanges : la *transimination* avec une autre amine primaire (b), et la *métathèse* avec une autre imine (c). (Figure 25)

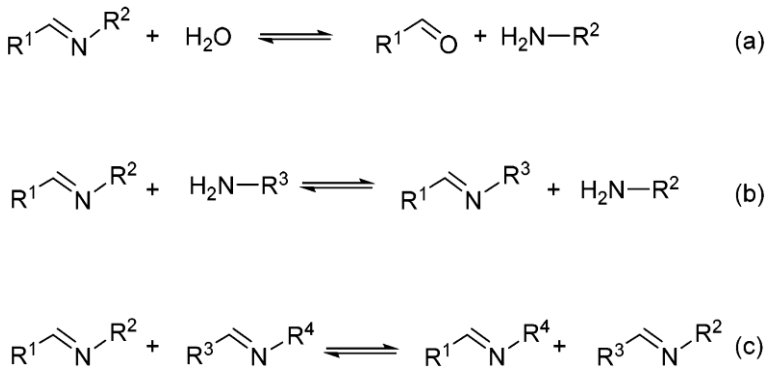


Figure 25 - Réactions équilibrées de formation et d'échange des imines

La réversibilité des liaisons imines, obtenue le plus souvent par variation du pH, permet de nombreuses applications dans l'eau, telles que la délivrance contrôlée de médicaments,[93,94] la bio-ingénierie,[95] la formation de réseaux recyclables,[96] ou l'encapsulation pour la formulation.[97]

2. Présentation du système imines

L'utilisation de liens imines pourrait permettre de garantir une bonne stabilité tout en conservant la réversibilité de l'assemblage selon le pH. Nous avons donc choisi de former des copolymères diblocs et triblocs PEG/PPG, de les fonctionnaliser et d'étudier la stabilité et la réversibilité des objets formés par ces composés en milieu aqueux. Ce travail a été réalisé en collaboration avec Louise Breloy pendant son stage de M2.

a. Fonctionnalisation des polymères

Pour réaliser des copolymères à blocs liés entre eux par des imines, il est nécessaire de travailler avec un polymère comprenant une fonction terminale amine aliphatique primaire et une chaine PEG avec un groupe terminal benzaldéhyde aromatique. En effet, la réaction de formation de l'imine est alors optimale[98,99] et la liaison stable sur une large gamme de pH.[93]

La Jeffamine M-2005 (PPG_{2000}-NH_2) est utilisée directement et des chaines PEG_{1200} terminées par une ou deux fonctions alcools sont fonctionnalisées en 2 étapes : tosylation (pour rendre nucléofuge le groupement hydroxyle) puis greffage d'un groupe 4-hydroxy-benzaldéhyde par éthérification. Les détails expérimentaux sont donnés en annexe 2.

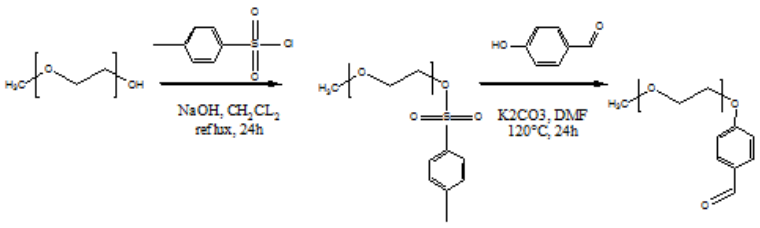


Figure 26 - Fonctionnalisation en deux étapes du PEG-OH par un groupe benzaldéhyde.

b. Formation de copolymères à liens imines

Afin de garantir la solubilité des polymères dans le milieu réactionnel, les liens imines ont été formés en milieu organique dans le chloroforme, en présence de sulfate de magnésium anhydre. L'imination s'accompagnant de libération d'eau dans le milieu, il peut être envisagé de l'éliminer afin de déplacer l'équilibre dans le sens de la formation de l'imine.[93,100,101]

Pour limiter la quantité de chaînes libres, les polymères ont été introduits en proportions stœchiométriques en fonctions amine et aldéhyde (solutions à 10 % en masse). Le mélange est laissé clos à température ambiante sous agitation magnétique à 500 t/min pour la nuit. Après filtration et élimination du solvant sous pression réduite, le résidu est séché 1h sous vide à 100 °C. La formation des copolymères a été suivie par RMN ^{1}H et FTIR et la conversion en imine varie entre 83 et 100% selon les lots et les systèmes copolymères réalisés (Figure 27).

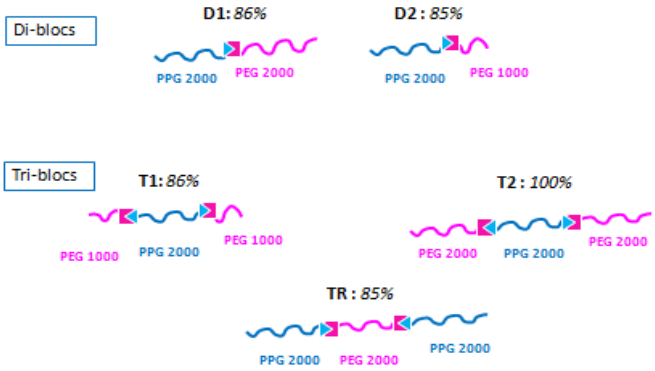


Figure 27 - Copolymères à liens imines

Cette conversion incomplète peut s'expliquer par la nature des systèmes étudiés. En premier lieu, les chaînes polymères ont une mobilité réduite comparée aux petites molécules organiques.[93,94] Ensuite, l'effet mésomère donneur (+M) de l'éther en *para* de l'aldéhyde enrichit la liaison C=O en électrons, ce qui diminue l'électrophilie du carbone et défavorise la substitution nucléophile par l'amine.[86] Pour optimiser cette conversion, il peut être envisagé d'utiliser un groupe hydroxy-benzaldéhyde fonctionnalisé de sorte à favoriser la formation de l'imine. Par exemple, il a été montré qu'une fonction phénol en *ortho* de la fonction imine stabilise cette dernière par liaison H intramoléculaire (*clip-imine*).[86]

c. Etude du comportement dans l'eau et en émulsion

Les analyses FTIR et RMN ^{1}H ayant confirmé la formation des copolymères à blocs PEG-PPG liés par des imines, leur comportement en solution aqueuse a été observé.

i. Dispersion à froid

Les solutions sont préparées comme précédemment avec les copolymères supramoléculaires (*cold method*).[72] Des solutions aqueuses à 5 %wt de copolymères et de mélange PEG_{2000}-OH/PPG_{2000}-NH_2 (référence de blocs non réactifs entre eux) ont été préparées et laissées à 5°C pendant 24h. A leur sortie du réfrigérateur, toutes les solutions sont transparentes et homogènes. En revenant à l'ambiante, un précipité se forme dans la solution de référence, identifié par RMN ^{1}H comme du PPG_{2000}-NH_2.

Les solutions de copolymère s'opacifient en 30 min, sans former de précipité, ce qui indique la formation d'objets diffusants et dispersés. Selon la proportion massique PEG/PPG des diblocs ou triblocs, on obtient deux types de comportements (Figure 28) :

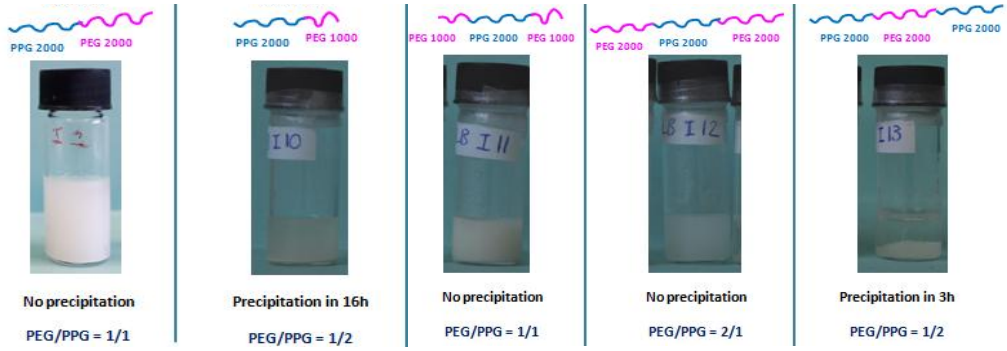


Figure 28 - Stabilité des solutions de copolymères imines diblocs (D) et triblocs (T) dans l'eau (de gauche à droite) : D1, D2, T1, T2, T3.

Comme pour les copolymères supramoléculaires, on peut expliquer ces différents comportements en comparant les HLB (Tableau 1). Ainsi, les copolymères hydrophiles (**D1**, **T1** et **T2**) sont stables sur plus d'un mois tandis que les copolymères à la limite de l'hydrophobie (**D2** et **TR**) précipitent.

Tableau 1 - HLB des copolymères imine

Copolymère	HLB
D1	10
D2	6,6
T1	10
T2	13,3
TR	6,6

Des mesures de DLS ont été réalisées sur des solutions à 0.1 %wt, à 20 °C. La première mesure est faite deux heures après sortie du réfrigérateur, pour laisser le temps aux objets de se former (Tableau 2). Quelque soit le copolymère, l'analyse DLS révèle la présence d'objets, avec une dispersité acceptable (< 0.4), et des tailles comparables à celles mesurées pour les copolymères supramoléculaires (**D1-dibloc 1**, **T1-tribloc1**), exception faite du tribloc **TR** (*vs* **tribloc 4**) (Chapitre 4).

Tableau 2 - Rayon hydrodynamique des copolymères imines déterminé par DLS

Copolymère	RH (nm)
D1	174
D2	293
T1	140
T2	165
TR	874

Les dispersions de copolymères stables dans l'eau (**D1**, **T1** et **T2**, PEG/PPG ≥ 1, HLB ≥ 10) présentent des rayons hydrodynamiques comparables, entre 140 et 174 nm. En revanche, pour les copolymères qui précipitent en quelques heures, les rayons sont plus élevés et ce d'autant plus que la précipitation est rapide. Les structures observées pour **D2** et **TR** sont vraisemblablement des agrégats.

Les copolymères étant formés par le lien imine, réversible et échangeable, nous avons cherché à étudier la déclenchabilité des dispersions en fonctions du pH (réversibilité) et de l'ajout d'amine (échange).

ii. Stabilité et déclenchabilité du lien imine - Etude de la réversibilité avec le pH

En fonction du pH, le comportement des dispersions a été suivi visuellement et par RMN ^{1}H en comparant les signaux de l'imine et de l'aldéhyde.

Deux gouttes d'acide chlorhydrique 1M ont été ajoutées à une dispersion aqueuse à 5 %wt de **D1**, PEG_{2000}-PPG_{2000}. Le pH en solution passe alors de 9 à 1. La précipitation n'est observée qu'après 5 jours et visuellement, la solution blanchâtre et opaque devient translucide (Figure 29).

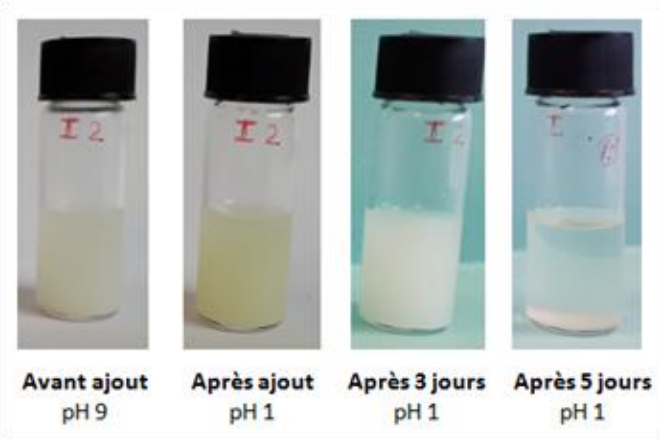


Figure 29 - Stabilité des imines en conditions acides

Pour évaluer la quantité d'imines présentes, un prélèvement a été effectué, séché à l'air puis sous vide à 100 °C. Le copolymère sec est repris dans $CDCl_3$ et analysé par RMN ^{1}H. On notera néanmoins que cette méthode peut donner une vision déformée de l'état du système dans l'eau, l'étape de chauffage sous vide pouvant impacter la conversion en imines

(échanges vitrimères). L'expérience est donc réalisée sur une dispersion à pH 9 pour comparaison.

Alors qu'après 5 jours à pH 9, on observe 82 % d'imines, le taux tombe à 58 % à pH 1. L'analyse RMN ^{1}H du précipité permet d'identifier le PPG-NH_2. Ainsi, les liaisons imines entre les blocs polymères sont rompues partiellement en milieu acide. Avec environ 25% d'imines hydrolysées, la dispersion se déstabilise, c'est-à-dire qu'il ne reste plus suffisamment de copolymères tensio-actifs pour stabiliser les objets formés par auto-association.

On notera, qu'à pH basique, entre 9 et 14, les dispersions sont stables et la quantité d'imines présentes constante.

iii. Stabilité et déclenchabilité du lien imine - Ajout d'un compétiteur amine

Par addition d'un petit compétiteur amine tel que la *n*-butylamine, on observe une précipitation de la dispersion en seulement 15 minutes (Figure 30).

Figure 30 - Déstabilisation de la dispersion aqueuse de D1 par ajout d'un compétiteur amine.

Cette observation est en accord avec la rapidité connue de la réaction de transimination.[i] La substitution de la chaine PPG par la petite chaine butyle sur la chaine PEG produit une chaine PPG_{2000}-NH_2 libre qui précipite et une chaine Bu-PEG_{2000} par nature hydrophile qui reste en solution. La RMN du surnageant indique qu'il ne reste plus que 24% de PPG_{2000}-PEG_{2000}, le reste de PPG_{2000}-NH_2 ayant précipité.

Ainsi, les copolymères imines peuvent être dissociés avec des cinétiques variables selon que l'on favorise une réaction réversible (plusieurs jours) ou d'échange (quelques minutes). Cela montre que ces systèmes sont très prometteurs, notamment pour la délivrance contrôlée de principes actifs ou la (dé)stabilisation d'émulsions.

iv. Etude d'émulsions

Comme avec les copolymères supramoléculaires, les tensioactifs de nature hydrophile (HLB>10, **D1**, **T1**, **T2**) sont utilisés pour former des émulsions directes (H/E) et les tensioactifs de nature hydrophobes (HLB < 10) pour former des émulsions inverses (E/H). La concentration en copolymère imine est de 4 %wt et l'émulsification est réalisée à l'ultra-Turrax (11.000 rpm). Le *temps de précipitation* est défini comme celui où la séparation de phase devient irréversible.

Plusieurs solvants organiques peu polaires ont été testés pour les émulsions directes de dibloc **D1** (HLB 10, PEG_{2000}). Pour les solvants très apolaires (IPM, isododécane, Miglyol 810), une

séparation de phase irréversible apparait rapidement (< 24h), tandis qu'avec le toluène, légèrement plus polaire, l'émulsion est stable sur plus d'un mois et redispersable par agitation manuelle (Figure 31, droite). Dans les mêmes conditions, l'émulsion de **T2** (HLB 13.3, PEG_{2000}) est stable sur plus d'un mois, tandis que celle de **T1** (HLB 10, PEG_{1000}) est déstabilisée en 2 heures. Comme attendu, les émulsions directes de **D2** et **TR** (HLB 6 .6) sont déstabilisées en 1 à 3 heures.

Figure 31 – Emulsions directes toluène/eau E0 (gauche) et E1 (droite) après 24h. L'émulsion E0 contient le mélange PEG-OH + PPG-NH2 et E1 contient le copolymère dibloc D1.

La formulation la plus prometteuse avec des copolymères imines est celle formée par le dibloc symétrique **D1** dans le toluène. Toutefois, le toluène ne pouvant être utilisé dans une application cosmétique, il conviendra de rechercher un solvant cosmétique de polarité voisine.

Conclusions et perspectives

Des copolymères diblocs et triblocs PEG/PPG à liens covalents réversibles imines ont été synthétisés. La balance hydrophile/lipophile peut être modulée avec le nombre, la taille et la position relative des blocs. Les copolymères à caractère hydrophile (HLB > 10) sont capables de former dans l'eau des objets stables et de tailles comparables à celles de leurs homologues supramoléculaires (R_H 150-170 nm).

Ces dispersions peuvent être déstabilisées avec une cinétique variable, soit par ajout d'acide (quelques jours) soit par ajout d'une petite amine (quelques minutes). La déstabilisation est induite par la rupture (lente en présence d'acide) ou l'échange (rapide en présence d'amine) des liaisons imines des copolymères auto-assemblés dans l'eau. Nous avons également montré qu'il n'est pas utile que tous les liens soient rompus ou échangés : en deçà d'une certaine quantité de copolymères sous forme PEG/PPG imine, l'auto-association n'est plus suffisante pour former des objets stables.

Ce type de systèmes pourrait donc avoir des applications pour la délivrance contrôlée et la stabilisation d'émulsions. Les premières formulations montrent qu'il est possible de former des émulsions directes stables dans le toluène. D'autres systèmes et solvants doivent être étudiés.

Conclusion

Des émulsions directes et indirectes ont été réalisées, soit avec apport d'énergie mécanique plus ou moins élevé, soit sans aucun apport d'énergie par effet Ouzo.

Les procédés avec énergie mécanique (ultra-Turrax ou agitation magnétique) ne se sont pas satisfaisants. Les émulsions obtenues, en présence d'eau et de solvant cosmétique (myristate d'isopropyl ou Miglyol 810) se déstabilisent entre 30 minutes à 2 heures (crémage réversible, ou déstabilisation irréversible) et sont complètement brisées au-delà.

Les émulsions formées par effet Ouzo donnent en revanche des résultats encourageants. Dès 1 % de dibloc supramoléculaire **dibloc 1**, elles sont stables au moins 3 semaines, et d'autant plus que la proportion de co-solvant est plus importante, le dibloc ayant un caractère plutôt hydrophobe. Ces expériences sont une preuve de concept pour l'utilisation des copolymères supramoléculaires à des fins d'encapsulation. Néanmoins, cette courte étude doit être complétée avec des expériences supplémentaires : évaporation du co-solvant et essais de relargage du composé huileux encapsulé par diminution du pH, ajout de solvant compétitif des liaisons hydrogène ou élévation de la température.

Le désavantage des émulsions préparées par effet Ouzo est leur faible teneur en composé à encapsuler. Nous avons montré qu'en utilisant des copolymères formés par des liens covalents réversibles imines, il est possible de former par agitation mécanique élevée, des émulsions stables sur plusieurs semaines. La déclenchabilité de dispersions aqueuses de ces copolymères a également été mises en évidence par acidification et par ajout d'une molécule amine compétitrice de la liaison imine. Par ailleurs, il apparaît que selon le stimulus choisi, la vitesse de déstabilistaion peut être modulée de quelques minutes (amine, réaction d'échange) à quelques jours (acide, hydrolyse). Cette dernière approche est particulièrement prometteuse tant pour l'encapsulation, que la stabilité des émulsions et le contrôle du relargage.

Références

(1) Becher, P. Emulsions: Theory and Practice. *Reinhold Publ. Corp.* **1977**. https://doi.org/10.1002/jps.2600540838.

(2) Gupta, A.; Burak Eral, H.; Alan Hatton, T.; S. Doyle, P. Nanoemulsions: Formation, Properties and Applications. *Soft Matter* **2016**, *12* (11), 2826–2841. https://doi.org/10.1039/C5SM02958A.

(3) Kogan, A.; Garti, N. Microemulsions as Transdermal Drug Delivery Vehicles. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2006**, *123–126*, 369–385. https://doi.org/10.1016/j.cis.2006.05.014.

(4) Mataumoto, S.; Kang, W. W. Formation and Applications of Multiple Emulsions. *J. Dispers. Sci. Technol.* **1989**, *10* (4–5), 455–482. https://doi.org/10.1080/01932698908943184.

(5) Hasinovic, H.; Friberg, S. E.; Rong, G. A One-Step Process to a Janus Emulsion. *J. Colloid Interface Sci.* **2011**, *354* (1), 424–426. https://doi.org/10.1016/j.jcis.2010.10.004.

(6) Aserin, A. *Multiple Emulsion: Technology and Applications*; John Wiley & Sons, 2008.

(7) Protat, M. Formation d'émulsions multiples stimulables en une seule étape d'émulsification : effet du sel et évolution vers des architectures biocompatibles. Thèse, Université Pierre et Marie Curie (Paris 6), 2016.

(8) Tadros, T. F. Emulsion Formation and Stability; *John Wiley & Sons*, 2013.

(9) Aveyard, R.; Clint, J. H. Liquid Droplets and Solid Particles at Surfactant Solution Interfaces. *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* **1995**, *91* (17), 2681–2697. https://doi.org/10.1039/FT9959102681.

(10) McClements, D. J. Protein-Stabilized Emulsions. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2004**, *9* (5), 305–313. https://doi.org/10.1016/j.cocis.2004.09.003.

(11) Muschiolik, G. Multiple Emulsions for Food Use. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2007**, *12* (4), 213–220. https://doi.org/10.1016/j.cocis.2007.07.006.

(12) Dickinson, E. Protein-Stabilized Emulsions. In *Water in Foods*; Fito, P., Mulet, A., McKENNA, B., Eds.; Pergamon: Amsterdam, 1994; pp 59–74. https://doi.org/10.1016/B978-1-85861-037-5.50010-2.

(13) Pickering, S. U. CXCVI.—Emulsions. *J. Chem. Soc. Trans.* **1907**, *91* (0), 2001–2021. https://doi.org/10.1039/CT9079102001.

(14) Tarimala, S.; Dai, L. L. Structure of Microparticles in Solid-Stabilized Emulsions. *Langmuir* **2004**, *20* (9), 3492–3494. https://doi.org/10.1021/la036129e.

(15) Binks, B. P. Particles as Surfactants—Similarities and Differences. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2002**, *7* (1), 21–41. https://doi.org/10.1016/S1359-0294(02)00008-0.

(16) Arditty, S.; Whitby, C. P.; Binks, B. P.; Schmitt, V.; Leal-Calderon, F. Some General Features of Limited Coalescence in Solid-Stabilized Emulsions. *Eur. Phys. J. E* **2003**, *11* (3), 273–281. https://doi.org/10.1140/epje/i2003-10018-6.

(17) Leal-Calderon, F.; Schmitt, V. Solid-Stabilized Emulsions. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2008**, *13* (4), 217–227. https://doi.org/10.1016/j.cocis.2007.09.005.

(18) Binks, B. P.; Lumsdon, S. O. Transitional Phase Inversion of Solid-Stabilized Emulsions Using Particle Mixtures. *Langmuir* **2000**, *16* (8), 3748–3756. https://doi.org/10.1021/la991427q.

(19) Giermanska-Kahn, J.; Schmitt, V.; Binks, B. P.; Leal-Calderon, F. A New Method To Prepare Monodisperse Pickering Emulsions. *Langmuir* **2002**, *18* (7), 2515–2518. https://doi.org/10.1021/la0111809.

(20) Yang, Y.; Liu, Z.; Wu, D.; Wu, M.; Tian, Y.; Niu, Z.; Huang, Y. Edge-Modified Amphiphilic Laponite Nano-Discs for Stabilizing Pickering Emulsions. *J. Colloid Interface Sci.* **2013**, *410*, 27–32. https://doi.org/10.1016/j.jcis.2013.07.060.
(21) Li, W.; Yu, L.; Liu, G.; Tan, J.; Liu, S.; Sun, D. Oil-in-Water Emulsions Stabilized by Laponite Particles Modified with Short-Chain Aliphatic Amines. *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.* **2012**, *400*, 44–51. https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2012.02.044.
(22) Binks, B. P.; Lumsdon, S. O. Pickering Emulsions Stabilized by Monodisperse Latex Particles: Effects of Particle Size. *Langmuir* **2001**, *17* (15), 4540–4547. https://doi.org/10.1021/la0103822.
(23) Monteux, C.; Marlière, C.; Paris, P.; Pantoustier, N.; Sanson, N.; Perrin, P. Poly(N-Isopropylacrylamide) Microgels at the Oil−Water Interface: Interfacial Properties as a Function of Temperature. *Langmuir* **2010**, *26* (17), 13839–13846. https://doi.org/10.1021/la1019982.
(24) Ngai, T.; Auweter, H.; Behrens, S. H. Environmental Responsiveness of Microgel Particles and Particle-Stabilized Emulsions. *Macromolecules* **2006**, *39* (23), 8171–8177. https://doi.org/10.1021/ma061366k.
(25) Kaiser, A.; Liu, T.; Richtering, W.; Schmidt, A. M. Magnetic Capsules and Pickering Emulsions Stabilized by Core−Shell Particles. *Langmuir* **2009**, *25* (13), 7335–7341. https://doi.org/10.1021/la900401f.
(26) Kumar, A.; Park, B. J.; Tu, F.; Lee, D. Amphiphilic Janus Particles at Fluid Interfaces. *Soft Matter* **2013**, *9* (29), 6604–6617. https://doi.org/10.1039/C3SM50239B.
(27) Perrin, P.; Lafuma, F. Low Hydrophobically Modified Poly(Acrylic Acid) Stabilizing Macroemulsions: Relationship between Copolymer Structure and Emulsions Properties. *J. Colloid Interface Sci.* **1998**, *197* (2), 317–326. https://doi.org/10.1006/jcis.1997.5224.
(28) Robins, M. M. Emulsions — Creaming Phenomena. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2000**, *5* (5), 265–272. https://doi.org/10.1016/S1359-0294(00)00065-0.
(29) Dickinson, E. Structure, Stability and Rheology of Flocculated Emulsions. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **1998**, *3* (6), 633–638. https://doi.org/10.1016/S1359-0294(98)80092-7.
(30) Tcholakova, S.; Denkov, N. D.; Ivanov, I. B.; Campbell, B. Coalescence Stability of Emulsions Containing Globular Milk Proteins. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2006**, *123–126*, 259–293. https://doi.org/10.1016/j.cis.2006.05.021.
(31) Kabalnov, A. S.; Shchukin, E. D. Ostwald Ripening Theory: Applications to Fluorocarbon Emulsion Stability. *Adv. Colloid Interface Sci.* **1992**, *38*, 69–97. https://doi.org/10.1016/0001-8686(92)80043-W.
(32) Taylor, P. Ostwald Ripening in Emulsions. *Adv. Colloid Interface Sci.* **1998**, *75* (2), 107–163. https://doi.org/10.1016/S0001-8686(98)00035-9.
(33) Bancroft, W. D. The Theory of Emulsification, I. *J. Phys. Chem.* **1911**, *16* (3), 177–233. https://doi.org/10.1021/j150129a001.
(34) Binks, B. P. Emulsion Type below and above the CMC in AOT Microemulsion Systems. *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.* **1993**, *71* (2), 167–172. https://doi.org/10.1016/0927-7757(93)80341-B.
(35) Griffin, W. C. Classification of Surface-Active Agents by HLB. *J Soc Cosmet Chem* **1949**, *1*, 311–326.
(36) Griffin, W. C. Calculation of HLB Values of Non-Ionic Surfactants. *J Soc Cosmet Chem* **1954**, *5*, 249_256.
(37) Davies, J. T. A Quantitative Kinetic Theory of Emulsion Type, I. Physical Chemistry of the Emulsifying Agent. In *Proc. 2nd Int. Congr. Surface Activity. 1: 426. -103- of references*; 1957.

(38) Winsor, P. A. Hydrotropy, Solubilisation and Related Emulsification Processes. *Trans. Faraday Soc.* **1948**, *44* (0), 376–398. https://doi.org/10.1039/TF9484400376.
(39) Holder, S. J.; Sommerdijk, N. A. J. M. New Micellar Morphologies from Amphiphilic Block Copolymers: Disks, Toroids and Bicontinuous Micelles. *Polym. Chem.* **2011**, *2* (5), 1018–1028. https://doi.org/10.1039/C0PY00379D.
(40) Antonietti, M.; Förster, S. Vesicles and Liposomes: A Self-Assembly Principle Beyond Lipids. *Adv. Mater.* *15* (16), 1323–1333. https://doi.org/10.1002/adma.200300010.
(41) Harkins, W. D.; Davies, E. C.; Clark, G. L. THE ORIENTATION OF MOLECULES IN THE SURFACES OF LIQUIDS, THE ENERGY RELATIONS AT SURFACES, SOLUBILITY, ADSORPTION, EMULSIFICATION, MOLECULAR ASSOCIATION, AND THE EFFECT OF ACIDS AND BASES ON INTERFACIAL TENSION. 1 (SURFACE ENERGY VI.). *J. Am. Chem. Soc.* **1917**, *39* (4), 541–596.
(42) Langmuir, I. THE CONSTITUTION AND FUNDAMENTAL PROPERTIES OF SOLIDS AND LIQUIDS. PART I. SOLIDS. *J. Am. Chem. Soc.* **1916**, *38* (11), 2221–2295. https://doi.org/10.1021/ja02268a002.
(43) Davis, H. T. Factors Determining Emulsion Type: Hydrophile—Lipophile Balance and Beyond. *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.* **1994**, *91*, 9–24. https://doi.org/10.1016/0927-7757(94)02929-6.
(44) Kabalnov, A.; Wennerström, H. Macroemulsion Stability: The Oriented Wedge Theory Revisited. *Langmuir* **1996**, *12* (2), 276–292. https://doi.org/10.1021/la950359e.
(45) Finkle, P.; Draper, H. D.; Hildebrand, J. H. The Theory of Emulsification. *J. Am. Chem. Soc.* **1923**, *45* (12), 2780–2788. https://doi.org/10.1021/ja01665a002.
(46) Aveyard, R.; Binks, B. P.; Clint, J. H. Emulsions Stabilised Solely by Colloidal Particles. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2003**, *100–102*, 503–546. https://doi.org/10.1016/S0001-8686(02)00069-6.
(47) Golemanov, K.; Tcholakova, S.; Kralchevsky, P. A.; Ananthapadmanabhan, K. P.; Lips, A. Latex-Particle-Stabilized Emulsions of Anti-Bancroft Type. *Langmuir* **2006**, *22* (11), 4968–4977. https://doi.org/10.1021/la0603875.
(48) Besnard, L.; Protat, M.; Malloggi, F.; Daillant, J.; Cousin, F.; Pantoustier, N.; Guenoun, P.; Perrin, P. Breaking of the Bancroft Rule for Multiple Emulsions Stabilized by a Single Stimulable Polymer. *Soft Matter* **2014**, *10* (36), 7073–7087. https://doi.org/10.1039/C4SM00596A.
(49) Romet-Lemonne, G.; Daillant, J.; Guenoun, P.; Yang, J.; Mays, J. W. Thickness and Density Profiles of Polyelectrolyte Brushes: Dependence on Grafting Density and Salt Concentration. *Phys. Rev. Lett.* **2004**, *93* (14), 148301. https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.93.148301.
(50) Walstra, P. 8 - Emulsions. In *Fundamentals of Interface and Colloid Science*; Lyklema, J., Ed.; Soft Colloids; Academic Press, 2005; Vol. 5, pp 8.1-8.94. https://doi.org/10.1016/S1874-5679(05)80012-1.
(51) Poux, M.; Canselier, J.-P. Procédés d'émulsification - Techniques et appareillage. *Tech. Ing.* **2004**, 17.
(52) Kolb, G.; Viardot, K.; Wagner, G.; Ulrich, J. Evaluation of a New High-Pressure Dispersion Unit (HPN) for Emulsification. *Chem. Eng. Technol.* **2001**, *24* (3), 293–296. https://doi.org/10.1002/1521-4125(200103)24:3<293::AID-CEAT293>3.0.CO;2-0.
(53) Hemrajani, R. Mixing and Blending. In *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*; Kroschwitz (J.I.): New York, 1995; Vol. 16, pp 844–877.
(54) Canselier, J. P.; Delmas, H.; Wilhelm, A. M.; Abismaïl, B. Ultrasound Emulsification—An Overview. *J. Dispers. Sci. Technol.* **2002**, *23* (1–3), 333–349. https://doi.org/10.1080/01932690208984209.

(55) Piacentini, E.; Drioli, E.; Giorno, L. Membrane Emulsification Technology: Twenty-Five Years of Inventions and Research through Patent Survey. *J. Membr. Sci.* **2014**, *468*, 410–422. https://doi.org/10.1016/j.memsci.2014.05.059.
(56) Joscelyne, S. M.; Trägårdh, G. Membrane Emulsification — a Literature Review. *J. Membr. Sci.* **2000**, *169* (1), 107–117. https://doi.org/10.1016/S0376-7388(99)00334-8.
(57) Wu, M.-B.; Yang, H.-C.; Wang, J.-J.; Wu, G.-P.; Xu, Z.-K. Janus Membranes with Opposing Surface Wettability Enabling Oil-to-Water and Water-to-Oil Emulsification. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2017**, *9* (6), 5062–5066. https://doi.org/10.1021/acsami.7b00017.
(58) Forgiarini, A.; Esquena, J.; González, C.; Solans, C. Formation of Nano-Emulsions by Low-Energy Emulsification Methods at Constant Temperature. *Langmuir* **2001**, *17* (7), 2076–2083. https://doi.org/10.1021/la001362n.
(59) Izquierdo, P.; Esquena, J.; Tadros, T. F.; Dederen, C.; Garcia, M. J.; Azemar, N.; Solans, C. Formation and Stability of Nano-Emulsions Prepared Using the Phase Inversion Temperature Method. *Langmuir* **2002**, *18* (1), 26–30. https://doi.org/10.1021/la010808c.
(60) Binks, B. P.; Lumsdon, S. O. Catastrophic Phase Inversion of Water-in-Oil Emulsions Stabilized by Hydrophobic Silica. *Langmuir* **2000**, *16* (6), 2539–2547. https://doi.org/10.1021/la991081j.
(61) Solans, C.; Morales, D.; Homs, M. Spontaneous Emulsification. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2016**, *22*, 88–93. https://doi.org/10.1016/j.cocis.2016.03.002.
(62) Sitnikova, N. L.; Sprik, R.; Wegdam, G.; Eiser, E. Spontaneously Formed Trans - Anethol/Water/Alcohol Emulsions: Mechanism of Formation and Stability. *Langmuir* **2005**, *21* (16), 7083–7089. https://doi.org/10.1021/la046816l.
(63) Scholten, E.; van der Linden, E.; This, H. The Life of an Anise-Flavored Alcoholic Beverage: Does Its Stability Cloud or Confirm Theory? *Langmuir* **2008**, *24* (5), 1701–1706. https://doi.org/10.1021/la702186g.
(64) Fessi, H.; Puisieux, F.; Devissaguet, J. P.; Ammoury, N.; Benita, S. Nanocapsule Formation by Interfacial Polymer Deposition Following Solvent Displacement. *Int. J. Pharm.* **1989**, *55* (1), R1–R4. https://doi.org/10.1016/0378-5173(89)90281-0.
(65) Vitale, S. A.; Katz, J. L. Liquid Droplet Dispersions Formed by Homogeneous Liquid−Liquid Nucleation: "The Ouzo Effect." *Langmuir* **2003**, *19* (10), 4105–4110. https://doi.org/10.1021/la026842o.
(66) Ganachaud, F.; Katz, J. L. Nanoparticles and Nanocapsules Created Using the Ouzo Effect: Spontaneous Emulsification as an Alternative to Ultrasonic and High-Shear Devices. *ChemPhysChem* **2005**, *6* (2), 209–216. https://doi.org/10.1002/cphc.200400527.
(67) Guterres, S. S.; Fessi, H.; Barratt, G.; Devissaguet, J.-P.; Puisieux, F. Poly (DL-Lactide) Nanocapsules Containing Diclofenac: I. Formulation and Stability Study. *Int. J. Pharm.* **1995**, *113* (1), 57–63. https://doi.org/10.1016/0378-5173(94)00177-7.
(68) Yan, X.; Delgado, M.; Fu, A.; Alcouffe, P.; Gouin, S. G.; Fleury, E.; Katz, J. L.; Ganachaud, F.; Bernard, J. Simple but Precise Engineering of Functional Nanocapsules through Nanoprecipitation. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53* (27), 6910–6913. https://doi.org/10.1002/anie.201402825.
(69) Aschenbrenner, E.; Bley, K.; Koynov, K.; Makowski, M.; Kappl, M.; Landfester, K.; Weiss, C. K. Using the Polymeric Ouzo Effect for the Preparation of Polysaccharide-Based Nanoparticles. *Langmuir* **2013**, *29* (28), 8845–8855. https://doi.org/10.1021/la4017867.
(70) Chiu, S.-J.; Lin, C.-Y.; Chou, H.-C.; Hu, T.-M. Silica Ouzo Effect: Amphiphilic Drugs Facilitate Nanoprecipitation of Polycondensed Mercaptosilanes. *Langmuir* **2016**, *32* (1), 211–220. https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.5b04048.

(71) Chiu, S.-J.; Wang, S.-Y.; Chou, H.-C.; Liu, Y.-L.; Hu, T.-M. Versatile Synthesis of Thiol- and Amine-Bifunctionalized Silica Nanoparticles Based on the Ouzo Effect. *Langmuir* **2014**, *30* (26), 7676–7686. https://doi.org/10.1021/la501571u.
(72) Schmolka, I. R. Artificial Skin I. Preparation and Properties of Pluronic F-127 Gels for Treatment of Burns. *J. Biomed. Mater. Res.* **1972**, *6* (6), 571–582. https://doi.org/10.1002/jbm.820060609.
(73) Gallardo, M.; Couarraze, G.; Denizot, B.; Treupel, L.; Couvreur, P.; Puisieux, F. Study of the Mechanisms of Formation of Nanoparticles and Nanocapsules of Polyisobutyl-2-Cyanoacrylate. *Int. J. Pharm.* **1993**, *100* (1), 55–64. https://doi.org/10.1016/0378-5173(93)90075-Q.
(74) Krishnamurthy, R. Role of PKa of Nucleobases in the Origins of Chemical Evolution. *Acc. Chem. Res.* **2012**, *45* (12), 2035–2044. https://doi.org/10.1021/ar200262x.
(75) Jeffrey, G. A. *An Introduction to Hydrogen Bonding*; Oxford University Press, 1997.
(76) Zhang, W.; Jin, Y. *Dynamic Covalent Chemistry: Principles, Reactions, and Applications*; John Wiley & Sons; 2017. https://doi.org/10.1002/9781119075738.
(77) García, F.; Smulders, M. M. J. Dynamic Covalent Polymers. *J. Polym. Sci. Part Polym. Chem.* **2016**, *54* (22), 3551–3577. https://doi.org/10.1002/pola.28260.
(78) Wang, H.; Heilshorn, S. C. Adaptable Hydrogel Networks with Reversible Linkages for Tissue Engineering. *Adv. Mater. Deerfield Beach Fla* **2015**, *27* (25), 3717–3736. https://doi.org/10.1002/adma.201501558.
(79) Lehn, J.-M. Dynamers: Dynamic Molecular and Supramolecular Polymers. *Prog. Polym. Sci.* **2005**, *30* (8), 814–831. https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2005.06.002.
(80) Cash, J. J.; Kubo, T.; Bapat, A. P.; Sumerlin, B. S. Room-Temperature Self-Healing Polymers Based on Dynamic-Covalent Boronic Esters. *Macromolecules* **2015**, *48* (7), 2098–2106. https://doi.org/10.1021/acs.macromol.5b00210.
(81) Sankaranarayanan, J.; Mahmoud, E. A.; Kim, G.; Morachis, J. M.; Almutairi, A. Multiresponse Strategies To Modulate Burst Degradation and Release from Nanoparticles. *ACS Nano* **2010**, *4* (10), 5930–5936. https://doi.org/10.1021/nn100968e.
(82) Zhang, Y.; Tao, L.; Li, S.; Wei, Y. Synthesis of Multiresponsive and Dynamic Chitosan-Based Hydrogels for Controlled Release of Bioactive Molecules. *Biomacromolecules* **2011**, *12* (8), 2894–2901. https://doi.org/10.1021/bm200423f.
(83) Cordier, P.; Tournilhac, F.; Soulié-Ziakovic, C.; Leibler, L. Self-Healing and Thermoreversible Rubber from Supramolecular Assembly. *Nature* **2008**, *451* (7181), 977–980. https://doi.org/10.1038/nature06669.
(84) Montarnal, D.; Capelot, M.; Tournilhac, F.; Leibler, L. Silica-like Malleable Materials from Permanent Organic Networks. *Science* **2011**, *334* (6058), 965–968. https://doi.org/10.1126/science.1212648.
(85) Röttger, M.; Domenech, T.; van der Weegen, R.; Breuillac, A.; Nicolaÿ, R.; Leibler, L. High-Performance Vitrimers from Commodity Thermoplastics through Dioxaborolane Metathesis. *Science* **2017**, *356* (6333), 62–65. https://doi.org/10.1126/science.aah5281.
(86) Otsuka, H.; Nagano, S.; Kobashi, Y.; Maeda, T.; Takahara, A. A Dynamic Covalent Polymer Driven by Disulfide Metathesis under Photoirradiation. *Chem. Commun.* **2010**, *46* (7), 1150–1152. https://doi.org/10.1039/B916128G.
(87) Li, J.; Yang, S.; Wang, L.; Wang, X.; Liu, L. Thermoresponsive Dynamic Covalent Polymers with Tunable Properties. *Macromolecules* **2013**, *46* (17), 6832–6842. https://doi.org/10.1021/ma400948j.
(88) Rao, J.; De, S.; Khan, A. Synthesis and Self-Assembly of Dynamic Covalent Block Copolymers: Towards a General Route to Pore-Functionalized Membranes. *Chem. Commun.* **2012**, *48* (28), 3427–3429. https://doi.org/10.1039/C2CC17397B.

(89) Angot, F. Élastomères siloxanes à liens dynamiques. phdthesis, Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2016.
(90) Legrand, A. Nanocharges fonctionnelles pour Vitrimères et Catalyse. phdthesis, Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2016.
(91) Qin, W.; Long, S.; Panunzio, M.; Biondi, S. Schiff Bases: A Short Survey on an Evergreen Chemistry Tool. *Molecules* **2013**, *18* (10), 12264–12289. https://doi.org/10.3390/molecules181012264.
(92) Schiff, H. Mittheilungen Aus Dem Universitätslaboratorium in Pisa: Eine Neue Reihe Organischer Basen. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1864**, *131* (1), 118–119. https://doi.org/10.1002/jlac.18641310113.
(93) Binauld, S.; Stenzel, M. H. Acid-Degradable Polymers for Drug Delivery: A Decade of Innovation. *Chem. Commun.* **2013**, *49* (21), 2082–2102. https://doi.org/10.1039/C2CC36589H.
(94) Xu, S.; Luo, Y.; Haag, R. Water-Soluble PH-Responsive Dendritic Core-Shell Nanocarriers for Polar Dyes Based on Poly(Ethylene Imine). *Macromol. Biosci.* **2007**, *7* (8), 968–974. https://doi.org/10.1002/mabi.200700066.
(95) Boehnke, N.; Cam, C.; Bat, E.; Segura, T.; Maynard, H. D. Imine Hydrogels with Tunable Degradability for Tissue Engineering. *Biomacromolecules* **2015**, *16* (7), 2101–2108. https://doi.org/10.1021/acs.biomac.5b00519.
(96) Taynton, P.; Yu, K.; Shoemaker, R. K.; Jin, Y.; Qi, H. J.; Zhang, W. Heat- or Water-Driven Malleability in a Highly Recyclable Covalent Network Polymer. *Adv. Mater. Deerfield Beach Fla* **2014**, *26* (23), 3938–3942. https://doi.org/10.1002/adma.201400317.
(97) Wang, H.-C.; Zhang, Y.; Possanza, C. M.; Zimmerman, S. C.; Cheng, J.; Moore, J. S.; Harris, K.; Katz, J. S. Trigger Chemistries for Better Industrial Formulations. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2015**, *7* (12), 6369–6382. https://doi.org/10.1021/acsami.5b00485.
(98) Layer, R. W. The Chemistry of Imines. *Chem. Rev.* **1963**, *63* (5), 489–510. https://doi.org/10.1021/cr60225a003.
(99) Kovaříček, P.; Lehn, J.-M. Merging Constitutional and Motional Covalent Dynamics in Reversible Imine Formation and Exchange Processes. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134* (22), 9446–9455. https://doi.org/10.1021/ja302793c.
(100) Freifelder, M. Selective Hydrogenolysis. Dehalogenation in the Presence of N-Benzyl Linkage. *J. Org. Chem.* **1966**, *31* (11), 3875–3877. https://doi.org/10.1021/jo01349a526.
(101) Oi, S.; Moro, M.; Fukuhara, H.; Kawanishi, T.; Inoue, Y. Rhodium-Catalyzed Arylation and Alkenylation of Imines with Organostannanes. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40* (52), 9259–9262. https://doi.org/10.1016/S0040-4039(99)01857-2.

Conclusion et Perspectives

L'encapsulation et le relargage contrôlé de principes actifs sont des technologies innovantes qui se retrouvent dans de nombreuses applications. Elles présentent plusieurs avantages, dont notamment celui de protéger les principes actifs, plus fragiles que les autres ingrédients de la formulation, et celui d'améliorer la stabilité de la formulation finale et de lui conférer ainsi une efficacité accrue.

Différentes voies permettent d'élaborer des édifices encapsulants, dont la chimie peut être adaptée aux contraintes de l'application (milieu, température, pH, force ionique, …). Dans ce travail de thèse, nous avons associé les propriétés physico-chimiques des copolymères à blocs amphiphiles (auto-assemblage) à la chimie supramoléculaire, sous la forme d'interactions hydrogène directionnelles et sélectives permettant la formation/dissociation des copolymères et des auto-assemblages. Des blocs PEG et PPG mono ou difonctionnels ont été greffés à leur(s) extrémité(s) par des unités associatives thymine (Thy) et diaminotriazine (DAT). Ces blocs peuvent alors s'associer par l'interaction supramoléculaire Thy/DAT, sélective et forte, pour former des copolymères amphiphiles capables de s'auto-assembler, en masse par forces de dispersion entre blocs, et en solution dans des solvants sélectifs. L'interaction supramoléculaire est donc à la fois responsable de l'auto-assemblage (copolymères formés) et du relargage (blocs élémentaires isolés, perte de l'amphiphilie). L'interaction Thy/DAT est sensible au pH, à l'ajout d'une molécule compétitrice des liaisons hydrogène et à la température, trois stimuli qui permettront de contrôler le relargage.

Les propriétés physico-chimiques des blocs élémentaires et des copolymères amphiphiles supramoléculaires de différentes architectures (diblocs, triblocs, multiblocs), obtenus par *solvent cast*, ont été étudiés en masse et en solution.

Comme pour d'autres polymères supramoléculaires, leur analyse thermique par DSC montre l'effet *anti-plastifiant* des unités supramoléculaires sur la T_g des chaines PEG et PPG. En effet, parce qu'elles sont polaires et rigides, elles ont tendance à s'agréger, voire cristalliser, réduisant ainsi la mobilité des chaines. L'analyse thermique révèle surtout que la cristallinité des chaines PEG est perturbée par l'introduction des unités thymine. En effet, cette chaine polaire peut solvater les motifs supramoléculaires, et ce d'autant plus efficacement que le motif est polaire (Thy >> DAT). Cette solvatation impose que le bloc PEG prenne des conformations spécifiques (comparables aux éthers-couronne) qui nuisent à sa cristallisation.

Dans les copolymères à blocs supramoléculaires, il existe donc deux interactions compétitives : l'association supramoléculaire forte Thy/DAT et la solvatation des unités Thy et DAT au travers d'interactions Thy/PEG ou DAT/PEG, faibles mais nombreuses (effet coopératif). Ainsi, introduire un bloc PPG greffé DAT dans un système PEG greffé Thy améliorera considérablement la cristallinité du bloc PEG et favorisera les interactions Thy/DAT : les unités Thy sont préférentiellement engagées dans les interactions Thy/DAT et donc moins solvatées. A l'inverse, introduire un bloc PPG greffé Thy dans un système PEG greffé DAT réduit la cristallinité du bloc PEG qui peut alors solvater partiellement les unités

Thy, au détriment des liaisons Thy/DAT. Ainsi, pour former des copolymères supramoléculaires avec les liaisons Thy/DAT les plus fortes, il conviendra de choisir le duo chaine/motif qui induit le moins d'interactions de solvatations, soit impacte le moins la cristallinité du PEG, c'est-à-dire tous les systèmes conçus à partir de blocs PEG greffés thymine et de PPG greffés DAT.

Ces résultats ont été confirmés par l'étude en RMN ^{1}H de solutions organiques des copolymères. Les constantes d'associations $K_{Thy/DAT}$ des copolymères **dibloc** 1 (PEG_{1000}-Thy + PPG_{2000}-DAT) et **dibloc 2** (PPG_{2000}-Thy + PEG_{1000}-DAT) ont été déterminées dans le DMSO-d_6 (polaire, protique et dissociant), le $CDCl_3$ (peu polaire, non sélectif) et le toluène-d_8 (apolaire, associant). Dans les solvants non dissociants, le **dibloc 1** présente une constante d'association supérieure à celle du **dibloc 2**, ces deux valeurs encadrant celle mesurée pour un système équivalent constitué uniquement de blocs PPG. Ces résultats mettent en évidence la solvatation des unités Thy par le bloc PEG (et dans une moindre mesure DAT). En effet, l'association Thy/DAT est en équilibre avec ses unités libres. Si la solvatation est efficace, cet équilibre est déplacé dans le sens de la dissociation, la constante est alors plus faible.

Ce gradient de forces d'association supramoléculaire nous permet d'imaginer des systèmes encapsulants avec des profils de relargage modulables. En effet, la rupture de la liaison Thy/DAT conduit à la dissociation du copolymère et par conséquent à la disparition de l'amphiphilie : l'auto-assemblage est détruit et le principe actif libéré. En mélangeant des copolymères dont les liaisons Thy/DAT sont de forces différentes, on pourrait envisager un relargage en deux temps. Un premier stimulus romprait les liaisons faibles, entrainant une diffusion lente du principe actif encapsulé, et un second (ou une intensité accrue du premier) couperait les liaisons plus fortes, conduisant à la déstabilisation complète de l'édifice et la libération totale du principe actif.

Destinés à des formulations cosmétiques dans lesquelles l'eau est l'ingrédient principal, le comportement des copolymères supramoléculaires en solutions aqueuses et biphasiques a été étudié. La persistance de la paire supramoléculaire Thy/DAT, de même que sa constante d'association, n'ont pas pu être démontrés clairement par RMN ^{1}H, ni dans l'eau lourde où les protons d'intérêt s'échangent avec le solvant, ni dans l'eau légère où leurs déplacements chimiques sont invariants. Néanmoins, une analyse des signaux spécifiques des unités supramoléculaires, notamment le blindage du méthyle de la thymine, a révélé qu'à basse température lorsque les blocs PEG et PPG sont hydrophiles, les copolymères se comportent néanmoins comme des amphiphiles, l'association Thy/DAT étant hydrophobe. Ils s'auto-assemblent en micelles cylindriques : les unités Thy/DAT s'empilent au cœur par interactions π et les blocs PEG et PPG forment autour une couronne gonflée. Ainsi, la constance du déplacement chimique des protons engagés dans la liaison Thy/DAT pourrait être fortuite, l'effet déblindant de la liaison hydrogène étant compensé par celui, blindant, de l'interaction π. Ce résultat tend donc à montrer de manière indirecte que les unités Thy/DAT restent bien associées dans l'eau.

Une étude en diffusion dynamique de la lumière a également confirmé l'existence de micelles cylindriques à basse température (chaines PPG solubles) et montré que leur taille dépendait de la concentration. Ce résultat est également renforcé par une expérience de RMN DOSY : les coefficients de diffusion des copolymères supramoléculaires sont plus faibles que ceux des blocs élémentaires supramoléculaires, eux même inférieurs à ceux des blocs initiaux non greffés. En effet, la compacité des cœurs est d'autant plus grande que les interactions supramoléculaires (liaisons hydrogène et interactions π) sont fortes. Ainsi, la paire Thy/DAT, plus fortement associée et moins volumineuse, conduit à un empilement plus compact que les paires Thy/Thy ou DAT/DAT. Ce faisant, la quantité d'unimères présents dans la micelle augmente et conduit à des objets plus gros qui diffusent plus lentement.

Une analyse en μ-DSC est venue compléter cette hypothèse. En comparant les enthalpies de micellisation des chaines PPG non greffées, des blocs élémentaires PPG_{2000}-DAT et des copolymères supramoléculaires, on a ainsi montré l'organisation en micelles cylindriques constitués de paires supramoléculaires empilées. En effet, ces enthalpies sont d'autant plus faibles que les chaines PPG sont contraintes. Ainsi, les enthalpies des blocs supramoléculaires sont plus faibles que celles des chaines PPG non greffées, et celles des copolymères encore bien plus faibles, dû à leur conformation en micelles denses (interactions plus fortes).

Au-delà de la température critique de micellisation (CMT propre à chaque concentration), les blocs PPG deviennent insolubles et on a observé par DLS une transition vers une morphologie micellaire sphérique dont la taille ne varie pas avec la concentration. Ce comportement au-delà de la CMT est classique pour les copolymères amphiphiles covalents dans l'eau : ils forment des micelles avec un cœur de chaines PPG effondrées (hydrophobes) et une couronne de chaines PEG gonflées. Les observations en cryo-TEM de solutions au-delà de leur CMT (température ambiante) ont confirmé la présence d'objets sphériques.

A la CMT, la transition revient alors à un changement de morphologie vu comme une « inversion de phase » : les blocs PPG initialement à l'extérieur de la micelle se retrouvent à l'intérieur, tandis que les paires Thy/DAT initialement à l'intérieur sont vraisemblablement repoussées à l'interface entre le cœur PPG et la couronne PEG. La stabilité de ces objets en solution aqueuse a été étudiée par la mesure de leur concentration micellaire critique sur un temps long. L'existence d'une CMC à température ambiante dans l'eau jusqu'à deux semaines au moins permet d'attester de la stabilité des copolymères supramoléculaires : les liaisons Thy/DAT ne sont pas immédiatement rompues. L'organisation en micelles sphérique avec les paires Thy/DAT PEG/PPG permet donc de ralentir considérablement l'effet compétiteur de l'eau sur les liaisons hydrogène. En effet, on a observé que lorsqu'elles sont accessibles, ces interactions sont rompues en 48 h. A un mois, on observe que la CMC a évolué. La concentration réelle en copolymère a très probablement diminuée. Les paires Thy/DAT sont en équilibre avec leurs unités libres, hydrophobes mais polaires et protiques, et donc capables de former des liaisons hydrogène avec quelques molécules d'eau. Il ne s'agit pas de solvatation mais d'un effet de compétition qui empêche la réassociation des unités. L'équilibre thermodynamique est alors déplacé, mais ici ralenti car les paires Thy/DAT sont associées et vraisemblablement à l'interface entre le cœur PPG (hydrophobe) et la couronne PEG.

La persistance de la liaison Thy/DAT dans l'eau, bien que nettement améliorée, reste insuffisante. Sa stabilité dans un milieu biphasique, eau/solvant lipophile, courant pour une formulation cosmétique, a donc été étudiée, le milieu lipophile pouvant retarder son hydrolyse. Des émulsions directes et inverses, constituées d'eau et de solvants cosmétiques lipophiles (myristate d'isopropyle ou Miglyol 810), ont été réalisées selon deux procédés : apport d'énergie mécanique plus ou moins élevée, ou émulsification spontanée par effet Ouzo. La première approche s'est révélée peu satisfaisante, les émulsions étant déstabilisées de manière irréversible en quelques heures. En revanche, l'émulsification spontanée par effet Ouzo a donné des résultats encourageants. Avec une teneur 1 % en copolymère supramoléculaire (**dibloc 1**), les émulsions sont stables au moins 3 semaines, et ce d'autant plus que la proportion de co-solvant est importante, le dibloc ayant un caractère plutôt hydrophobe. Ces résultats établissent donc que le concept d'utilisation des copolymères supramoléculaires à des fins d'encapsulation est valable. Pour compléter cette étude, des expériences supplémentaires doivent encore être réalisées : évaporation du co-solvant et essais de relargage du composé huileux encapsulé par un stimulus tel qu'une diminution du pH, un ajout de solvant compétitif des liaisons hydrogène ou une élévation de la température.

Le désavantage des émulsions préparées par effet Ouzo est leur faible teneur en composé à encapsuler. Seules les émulsions préparées avec un apport d'énergie mécanique autorisent un taux d'encapsulation important. Pour réaliser des émulsions plus stables dans l'eau, nous avons donc transposé la problématique de copolymères supramoléculaires déclenchables à la chimie covalente réversible. En effet, les liens covalents réversibles sont plus robustes que les liaisons supramoléculaires et peu sensibles à l'hydrolyse dans des conditions standards. En utilisant des copolymères formés par des liens imines, nous avons ainsi obtenu, par agitation mécanique élevée, des émulsions stables sur plusieurs semaines. Leur déclenchabilité a également été mise en évidence par acidification du milieu et par ajout d'une molécule amine compétitrice de la liaison imine. On a ainsi montré que selon le stimulus choisi, la vitesse de déstabilisation peut être modulée de quelques minutes (amine, réaction d'échange) à quelques jours (acide, hydrolyse). Ce dernier résultat est particulièrement prometteur tant pour la stabilité des émulsions que le contrôle du relargage, et sera développée prochainement au laboratoire.

Annexes

Annexes

Annexe 1 : Matériels et Méthodes 240

Annexe 2 : Synthèses et caractérisations 243

I. Greffage de la Thymine sur les chaines Jeffamines® poly(propylènes glycols) et poly(éthylènes glycols) 243

II. Greffage de la Diaminotriazine sur les chaines Jeffamines® poly(propylènes glycols) et poly(éthylènes glycols) 246

III. Synthèse du dibloc covalent PEG_{1000}-NH-PPG_{2000} 248

IV. Synthèse des imines 248

a. Etape de Tosylation 249

b. Greffage d'un groupe benzaldéhyde 249

c. Formation de copolymères à liens imines 250

V. Microscopie optique 250

1. Caractérisation des chaines PEG greffées Thy 250
2. Caractérisation du tribloc 1 – PPG_{2000}-DAT + Thy-PEG_{2000}-Thy 251

VI. Correspondance des concentrations utilisées en RMN en g/cm^3 et mol/L 251

1. Analyse des blocs élémentaires seuls dans DMSO-d_6, $CDCl_3$ et toluène-d_8 251
2. Titration DMSO et $CDCl_3$ 252
3. Spectres des blocs élémentaires et du dibloc 1 dans DMSO et $CDCl_3$ 252

VII. Spectres RMN complémentaires 252

1. Spectres RMN ^1H du dibloc 1 dans différents solvants 252
2. Spectres RMN corrélation ^1H-^{15}N – HSQC et HMBC 254

d. Chaine PPG_{2000}-NH_2 et unité supramoléculaire DAT-Cl 254

e. Chaine PEG_{1000}-Thy 255

f. Copolymère **dibloc 1** – PEG_{1000}-Thy + PPG_{2000}-DAT 256

3. Spectres RMN DOSY 257

a. Mesures préalables : DAT-Cl, PPG_{2000}-NH_2, PEG_{1000}-NH_2 257

Annexe 3 : Détermination des constantes d'association par titration et expériences en température.....259

I. Détermination par titration – Traitement EQNMR.....259

II. Détermination par expériences en température (toluène-d_8) 260

1. Détermination des paramètres thermodynamiques de l'auto-association Thy/Thy et DAT/DAT..... 260

2. Détermination des paramètres thermodynamiques de l'association complémentaire Thy/DAT 261

Annexe 1 : Matériels et Méthodes

Réactifs et solvants

Les réactifs et les solvants ont été achetés chez Sigma-Aldrich, Alfa Aesar ou TCI et utilisés sans aucune purification. Certaines Jeffamine® nous ont été envoyées gracieusement par Huntsman, et le Miglyol 810 par LVMH Recherche.

DSC

Les expériences ont été réalisées sous hélium (25 mL/min) sur un instrument TA Q1000. Tous les échantillons sont d'abord chauffés au-delà de leur fusion (jusqu'à 200°C) pendant 2 min pour éliminer leur histoire thermique puis un cycle de refroidissement (jusqu'à -100 ou -150°C) et de chauffage à 10°C/min ont été réalisés.

µ-DSC

Les expériences ont été réalisées sous azote sur un instrument Setaram DSC7 evo, dans des cellules hermétiques. Tous les échantillons sont d'abord laissés deux heures à 5 °C pour s'assurer que les mesures débutent sur des échantillons parfaitement solubles et homogènes, sous la LCST du système. Puis un cycle de chauffage (jusqu'à 50 °C) et de refroidissement (retour à 5 °C) à 0.1 °C/min ont été réalisés.

RMN ^{1}H

Les spectres ont été réalisés à 20 °C avec un spectromètre Bruker ADVANCE 400 à 400 MHz et les déplacements chimiques ont été référencés par rapport au pic de solvant résiduel.

RMN basse température et/ou 2D - ENSCP

Toute l'étude RMN à basse température a été réalisée sur spectromètre Bruker Avance NEO 500 MHz équipé d'une sonde multinoyaux 5 mm gradients Z, financé grâce à des subventions de la part de PSL et de la région Île de France à travers un projet SESAME.

POM

La microscopie optique polarisée a été faite à différentes températures en mode transmission en utilisant un microscope Leica Leitz DMR et une platine chauffante Linkam Scientific LTS350.

Cryo-MET

Les grilles de cryo-MET sont préparées à l'aide d'un appareil Vitrobot. Quelques gouttes de la solution sont déposées sur des grilles recouvertes d'un film de carbone (Quantifoil R2/2) ayant préalablement subi un traitement plasma. L'excès de liquide est essuyé avec du papier filtre. Les grilles sont alors immédiatement immergées dans de l'éthane liquide, afin de former un film de glace vitreux. L'observation des échantillons est faite sur un microscope

JEOL 2010 FEG utilisé à 200 kV à basse température (-180°C). La défocalisation est fixée à 7000 – 10000 nm afin d'obtenir un contraste suffisant entre les phases tout en observant l'échantillon dans des conditions les plus douces possibles. Les images sont prises à l'aide d'une caméra Gatan.

Microscopie à fluorescence

Nous avons utilisé un microscope Leica DMI 6000B. Le traceur utilisé est le Rouge Nil. Sa longueur d'onde d'excitation optimale est d'environ 488 nm.

DLS (Diffusion dynamique de la lumière)

Le dispositif utilisé est un appareil ALV/CGS-3 Compact Goniometer System à laser He-Ne (λ = 632,8 nm), qui permet de travailler en diffusion statique (SLS) ou dynamique (DLS) de la lumière. Les solutions à analyser sont introduites dans une cuve cylindrique en verre (3 mL). La cuve est ensuite placée dans une cellule immergée dans un bain thermostaté de toluène. Le bain et l'échantillon sont stabilisés 1 h à la température choisie avant la mesure. Le faisceau laser est envoyé sur l'échantillon et l'intensité diffusée est collectée par un détecteur (photomultiplicateur) placé à un angle θ par rapport au rayon incident (θ peut varier entre 30 ° et 150 °).

Les solutions de copolymères ont été préparées et laissés à 4°C pendant une nuit. Les mesures ont été réalisées à un angle de 90° pour différentes températures (5, 10, 20 et 40 °C). La fonction d'auto-corrélation de l'intensité a été enregistrée pendant des périodes de 60 s et la valeur de la viscosité du solvant corrigée en fonction de la température.

Détermination de la CMC

Les mesures de CMC ont été réalisées avec un spectromètre de fluorescence Jasco FP-8200. Les spectres d'émission des solutions de copolymères en présence de pyrène ont été enregistrés à température ambiante entre 310 à 350 nm avec une longueur d'onde d'excitation de 373 nm.

Des solutions aqueuses de (co)polymères supramoléculaires sont préparées avec des concentrations allant de 0.02 mg/L à 740 mg/L. 100 µL d'une solution de pyrène ($12 .10^{-5}$ mol/L dans l'acétone) sont ajoutés et l'acétone est évaporée sous hotte à température ambiante. Les solutions de (co)polymère sont ajoutées aux piluliers, et une concentration de 6.10^{-7} mol/L en pyrène est atteinte. En effet, la concentration en pyrène doit être la plus basse possible de sorte que la rupture de pente soit la plus marquée possible. Les solutions sont ensuite équilibrées 24 h à température ambiante et dans le noir, avant d'effectuer les mesures.

Chromatographie d'exclusion stérique (SEC)

Les analyses ont été effectuées sur une machine OmniSec comprenant une partie séparation (Résolve) et une partie déctection (Reveal). Elle comprend une colonne de garde (A Guard) et un jeu de 3 colonnes : A300, A6000M et A7000.

Le solvant utilisé est le NaNO3 (0.2 M) et le NaN3 (200 ppm), préalablement filtrés sur une membrane de polyéthersulfone de 0.2 micron. Le débit est de 0.8 mL/min, à 25 °C. La calibration se fait en triple détection, avec un PEG de 24 K mol/g. Les échantillons sont préalablement filtrés sur une membrane de polyéthersulfone de 0.2 micron.

Annexe 2 : Synthèses et caractérisations

I. Greffage de la Thymine sur les chaines Jeffamines® poly(propylènes glycols) et poly(éthylènes glycols)

Le greffage de la thymine se fait en une seule étape d'amidification : formation d'une liaison amide par réaction de l'acide carboxylique de la thymine-1-acetic acid et d'une fonction amine terminale du PPG ou PEG (Schéma 1). Lors de cette réaction, la N,N-diisopropyléthylamine (DIEA), base organique, déprotonne l'acide carboxylique de la thymine pour que cette dernière réagisse avec le TBTU, agent de couplage servant à forcer la réaction de formation de l'amide.[1]

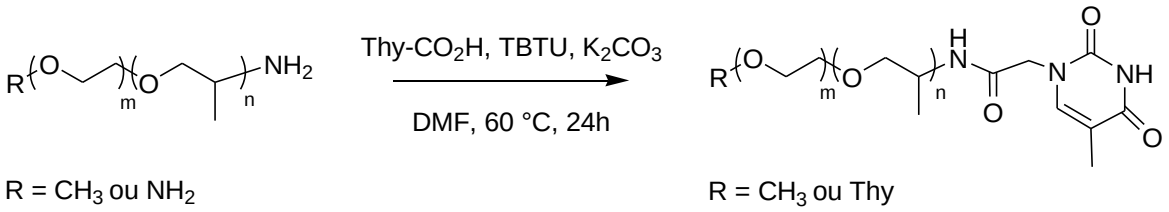


Schéma 1- Réaction de greffage de la thymine sur les Jeffamines® mono ou difonctionnelles.

Dans un ballon de 250 mL, la thymine-1-acetic acid (1.1 eq par rapport au nombre de fonctions amines du PPG ou du PEG) est dissous dans 50 mL de DMF. Le PPG ou PEG mono ou difonctionnalisé (1 mmol), le O-(Benzotriazol-1-yl)-N,N,N′,N′-tetramethyluronium tetrafluoroborate noté TBTU (1.25 eq/fonction amine) et le carbonate de potassium (4 eq/fonction amine) sont alors ajoutés. Le mélange réactionnel est chauffé à 60 °C, sous agitation, durant 24h. En fin de réaction, le ballon est refroidi puis 100 mL d'eau distillée sont ajoutés.

La phase organique est extraite avec du chloroforme ($CHCl_3$) dans le cas d'une réaction de greffage sur des chaînes PPG (3 x 100 mL), et avec du dichlorométhane (DCM) dans le cas de chaînes PEG (3 x 50 mL). Elle est ensuite lavée avec de l'eau distillée (PPG : 3 x 100 mL ; PEG : 3 x 50 mL), et séchée sur sulfate de magnésium anhydre $MgSO_4$. Après filtration, le solvant est évaporé à l'évaporateur rotatif. Le produit est enfin séché pendant 24h, sous cloche à vide, à 100 °C. La fonctionnalité est estimée à 100% en ^{1}H RMN dans le DMSO-d_6.

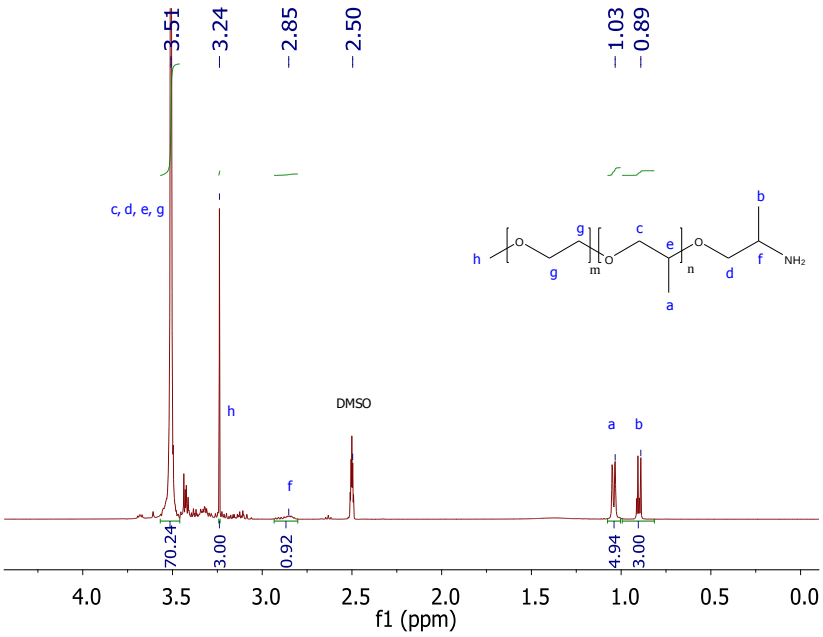


Figure 1 - RMN ^{1}H de PEG_{1000}-NH_2 (Jeffamine M-1000) (DMSO-d_6, 25 °C).

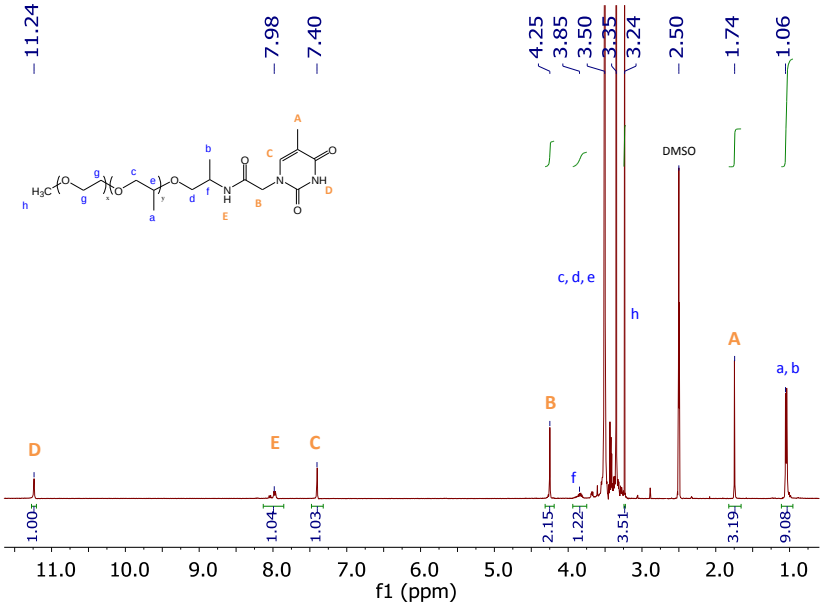


Figure 2 – RMN ^{1}H de PEG_{1000}-Thy (DMSO-d_6, 25 °C).

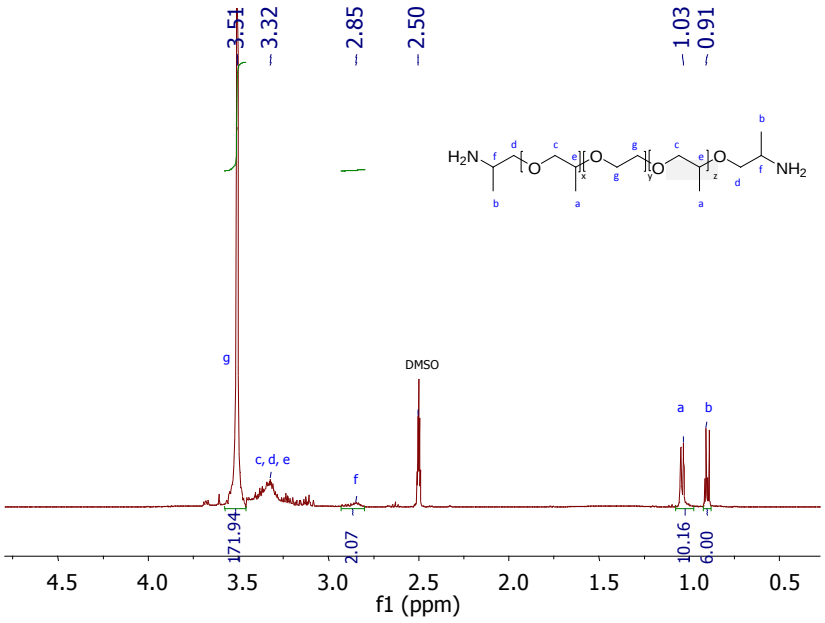


Figure 3 - RMN ^{1}H de H_2N-PEG_{2000}-NH_2 (PEG ED-2003) (DMSO-d_6, 25 °C).

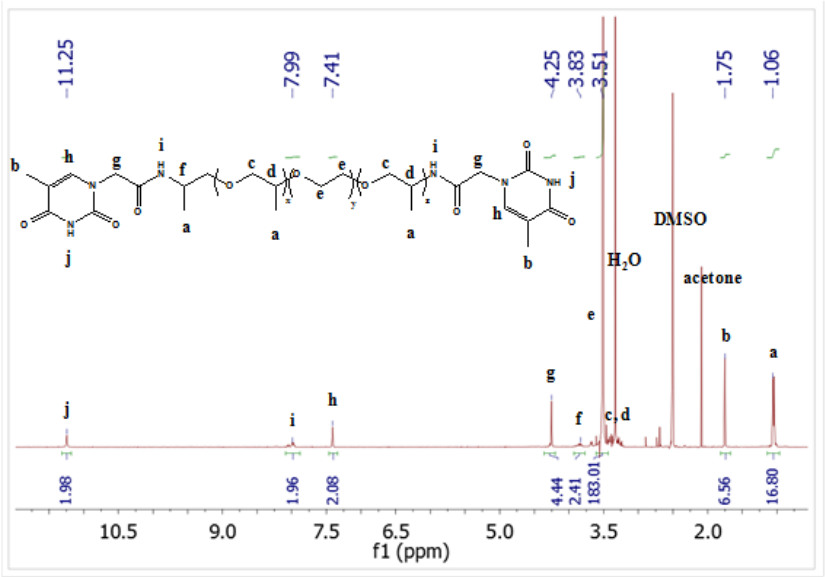


Figure 4 - RMN ^{1}H de Thy-PEG_{2000}-Thy (DMSO-d_6, 25 °C).

II. Greffage de la Diaminotriazine sur les chaines Jeffamines® poly(propylènes glycols) et poly(éthylènes glycols)

Le greffage du DAT se fait par substitution nucléophile aromatique du dérivé chloré du DAT avec la ou les amines terminales des chaines PEG et PPG (Schéma 2).

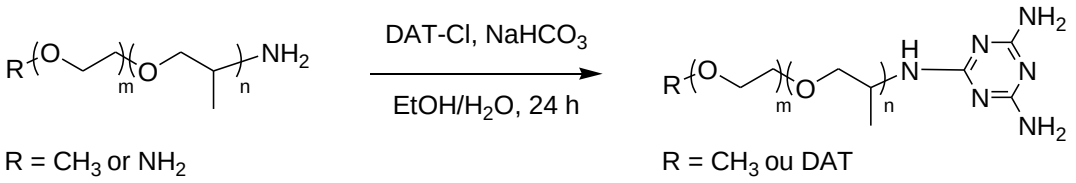


Schéma 2 - Réaction de greffage de la diaminotriazine sur les Jeffamines® mono ou difonctionnelles.

Dans un ballon de 250 mL, 1.1 équivalent de carbonate de potassium (par rapport au nombre de fonctions amines du PPG ou du PEG), 1.1 éq. de 2-chloro-4,6-diamino-1,3,5-triazine (préalablement broyée au mortier) et le PPG ou PEG mono ou difonctionnalisé (2.5 mmol) sont dissous dans 40 mL d'un mélange eau/éthanol (50/50 en volume). Le milieu réactionnel est agité pendant 24 h à 100 °C (en utilisant un condenseur). Le mélange réactionnel forme d'abord une suspension, donnant ensuite une solution transparente en fin de réaction.

L'éthanol est évaporé à l'évaporateur rotatif. Le polymère est extrait avec 3 x 50 mL de chloroforme et les phases organiques sont lavées avec 2 x 50 mL d'eau distillée. Les phases organiques sont ensuite séchées avec du sulfate de magnésium anhydre $MgSO_4$, filtrées et évaporées à l'évaporateur rotatif. Enfin, le produit est séché sous vide une nuit à 100 °C. Les conversions, estimées par RMN ^1H, sont typiquement autour de 90 % après 24 h de réaction.

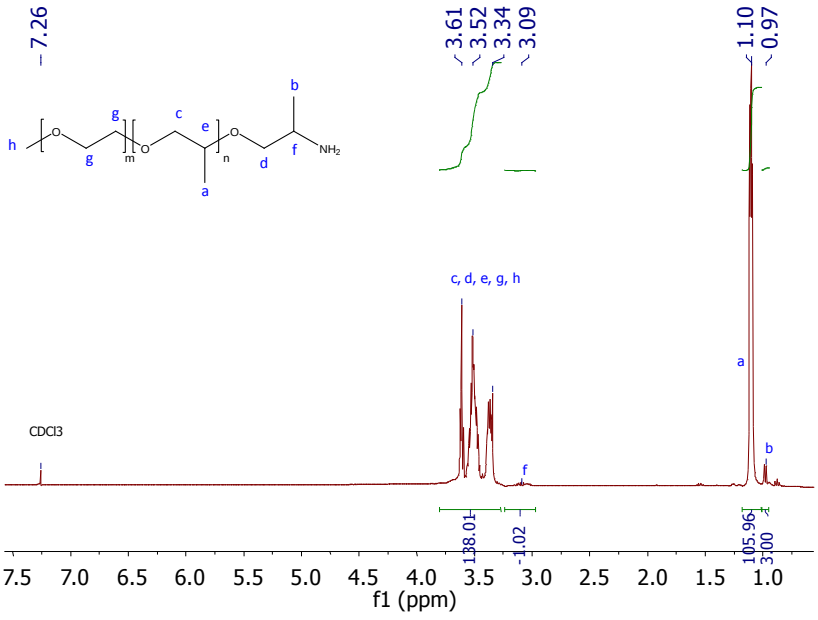


Figure 5 - RMN ^1H de PPG_{2000}-NH_2 (Jeffamine M-2005) ($CDCl_3$, 25 °C).

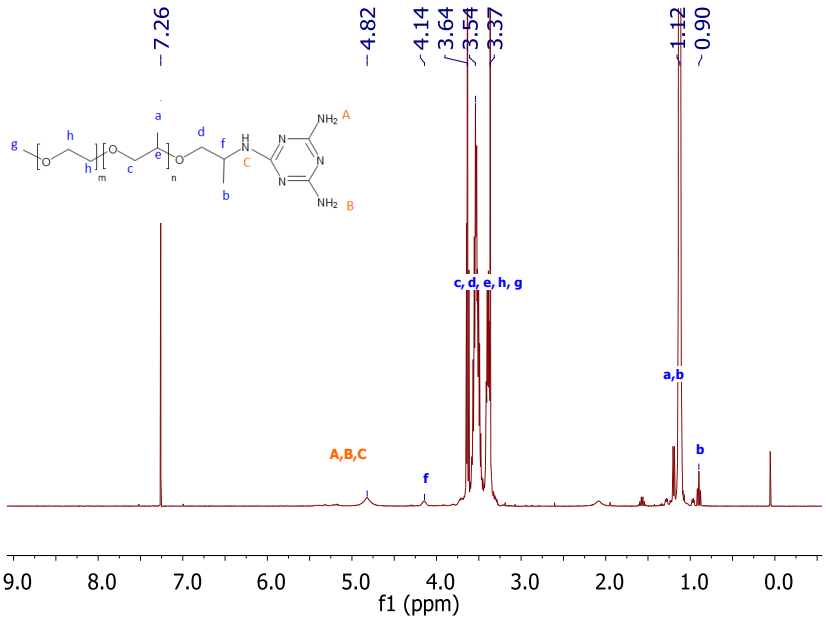


Figure 6 - RMN ^{1}H de PPG_{2000}-DAT ($CDCl_3$, 25 °C).

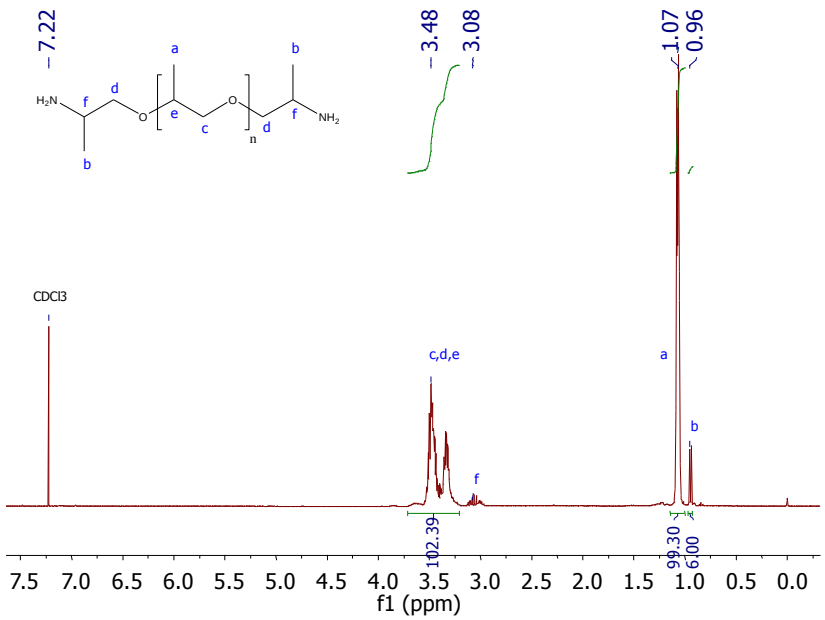


Figure 7 - RMN ^{1}H de H_2N-PPG_{2000}-NH_2 (Jeffamine D-2000) ($CDCl_3$, 25 °C).

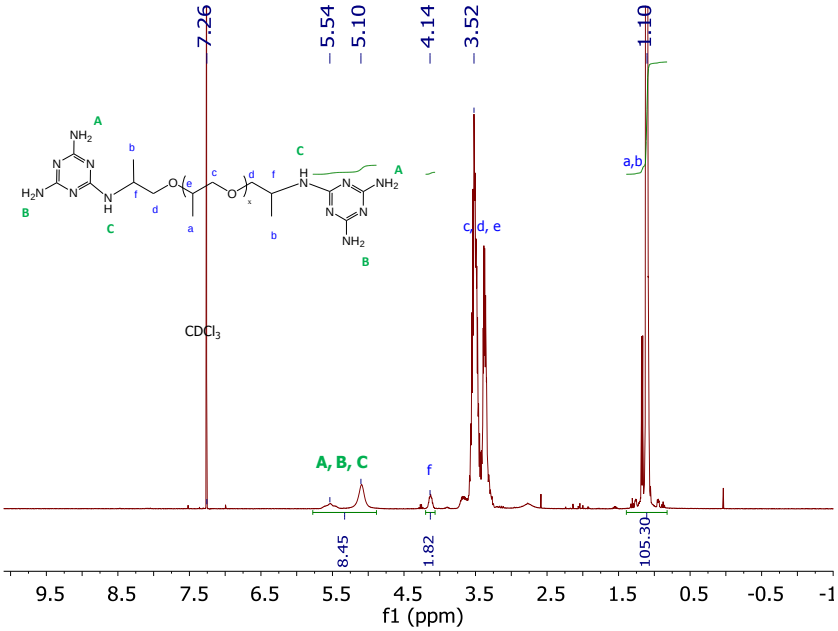
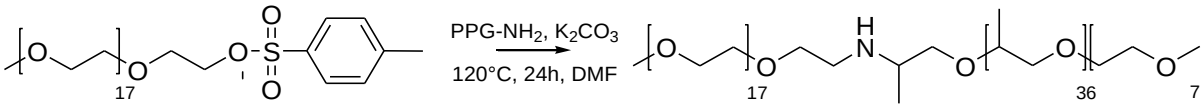


Figure 8 – RMN ^{1}H de DAT-PPG$_{2000}$-DAT ($CDCl_3$, 25 °C).

III. Synthèse du dibloc covalent PEG$_{1000}$-NH-PPG$_{2000}$

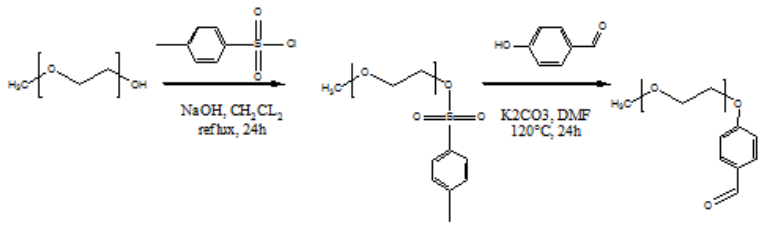


PEG-OTs (1.3 mmol), PPG-NH_2 (1.5 eq) et K_2CO_3 (1.5 eq, préalablement broyé) sont dissous dans 60 mL de DMF et réagis 24 h à 120 °C. Le mélange réactionnel de départ est turbide. Au bout de 24 h, il est jaunâtre.

50 mL d'eau distillée sont ajoutés, et la phase organique est extraite avec 2 x 50 mL de DCM. Elle ensuite séchée sur MgSO4, puis filtrée. Le DMF et le DCM sont évaporés à l'évaporateur rotatif. Le produit est séché sous cloche à 100 °C une nuit.

IV. Synthèse des imines

Le polyéthylene glycol (PEG) difonctionnalisé benzaldéhyde est obtenu à partir du PEG diol en 2 étapes. Le protocole présenté ici pour un PEG diol de 1500 g/mol a été adapté avec les mêmes équivalents en groupe hydroxyle pour le PEG monométhyl éther de masse 1900 g/mol.



a. Etape de Tosylation

Les pastilles de soude (2.026 g, 3.8 eq) sont réduites en poudre puis versées dans un ballon contenant 100 mL de CH_2Cl_2. Le PEG-2OH M_n=1500g/mol (10g, 1eq) est ensuite ajouté. Le tout est agité une heure à 0°C. Une solution de chlorure de tosyle (TsCl) dans CH_2Cl_2 (7.116 g, 2.8 eq dans 40 mL) est alors versée au goutte à goutte sous agitation à l'aide d'une ampoule de coulée. Le mélange est laissé sous agitation pendant 24h au reflux.

Après filtration, la phase organique est lavée avec 5x50 mL d'eau distillée, puis séchée sur sulfate de magnésium anhydre. Le solvant est éliminé sous pression réduite. Le résidu liquide visqueux transparent est dissout dans environ 5mL de chloroforme et ajouté goutte à goutte dans 300-400 mL de diéthyl éther à -18°C sous forte agitation. Après précipitation, le polymère est récupéré par filtration sur Büchner puis séché sous cloche à vide à 100°C pendant 2 heures.

PEG-2OTs : R=57.8%, M_n=1800 g/mol, TsCl résiduel < 3%

^{1}H-RMN (400MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 7.78 (d, 4H), 7.33 (d, 4H), 4.15 (t, 4H), 3.60 (m, 144H), 3.37 (s, 6H)

PEG-OTs : R = 65%, M_n = 2100g/mol, TsCl résiduel < 5 %

^{1}H-RMN (400MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 7.78 (d, 2H), 7.33 (d, 2H), 4.15 (t, 2H), 3.60 (m, 179H), 3.37 (s, 3H), 2.44 (s, 3H)

b. Greffage d'un groupe benzaldéhyde

2.846g de 4-hydroxybenzaldéhyde (23.33mmol, 2.1eq) sont dissouts dans 150mL de DMF anhydre. 7.677g (55.55mmol, 5eq) de carbonate de potassium sont broyés au mortier, puis ajoutés à la solution. Le mélange est dégazé sous azote durant 5 minutes, puis 10g de PEG-2OTs (11.11mmol, 1eq) sont ajoutés. Le milieu réactionnel est dégazé sous azote durant 30 minutes supplémentaires, puis fermé hermétiquement. Le mélange est porté à 120°C et laissé sous agitation durant 24h.

Le mélange est filtré, puis le DMF est évaporé par distillation sous vide à 60°C. Le solide beige obtenu est dissout dans 50mL de CH_2Cl_2. Cette solution est lavée avec 2x50mL d'eau

distillée, 30mL de HCl 0.5M, 50mL de Na_2CO_3 0.5M, et 50mL de saumure. La phase organique est ensuite séchée sur sulfate de magnésium anhydre, filtrée, et le solvant est évaporé sous pression réduite.

Le résidu obtenu est dissout dans environ 5mL de chloroforme, puis précipité dans l'éther à -18°C. Le solide blanc obtenu est récupéré par filtration sur Büchner, puis séché sous cloche à vide à 100°C pendant 2h.

PEG-2OBenz : R=40%

^{1}H-RMN (400MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 9.87 (s, 2H), 7.81 (d, 4H), 7.00 (d, 4H), 4.20 (t, 4H), 4.11 (t, 4H), 3.64 (m, 144H)

PEG-OBenz : R=35%

^{1}H-RMN (400MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 9.88 (s, H), 7.81 (d, 2H), 7.00 (d, 2H), 4.21 (t, 2H), 3.88 (t, 2H), 3.63 (m, 179H), 3.37 (s, 3H)

c. Formation de copolymères à liens imines

Les polymères sont mélangés en rapport stœchiométrique de fonctions aldéhyde et amine. Tous les copolymères sont préparés selon le même protocole.

Après dissolution du PEG dans du chloroforme anhydre, le PPG est ajouté en présence de sulfate de magnésium anhydre. La concentration finale en polymère en solution est de 10% massique. Le mélange est laissé clos à température ambiante sous agitation magnétique à 500 t/min pour la nuit. Après filtration et élimination du solvant sous pression réduite, le résidu est séché 1h sous vide à 100°C.

Les produits obtenus sont analysés par infrarouge, RMN du proton, DSC et microscopie optique polarisée.

V. Microscopie optique

1. Caractérisation des chaines PEG greffées Thy

En microscopie optique polarisée, aucune sphérolite caractéristique des thymines cristallines n'est observée au-delà de la fusion des chaines PEG. La température de fusion mesurée en DSC de PEG_{1000}-Thy est de 23 °C, et celle de Thy-PEG_{2000}-Thy est de 30 °C.

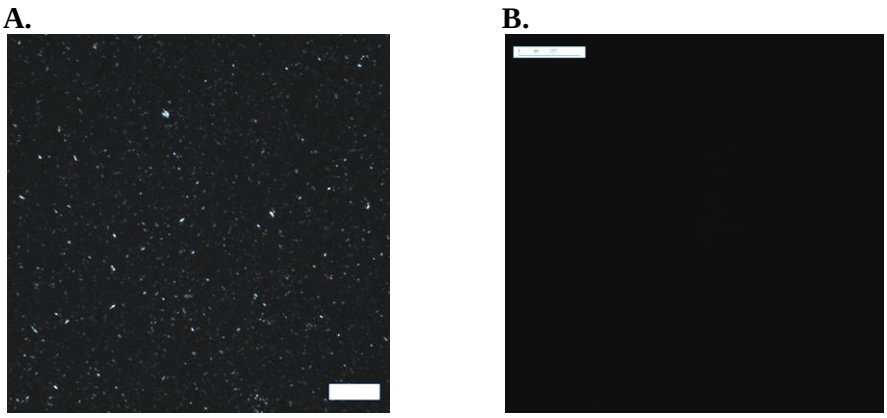


Figure 9 - Clichés de microscopie optique polarisée de Thy-PEG_{2000}-Thy à A) 20 °C et B) 60 °C.

2. Caractérisation du tribloc 1 – PPG_{2000}-DAT + Thy-PEG_{2000}-Thy

Par microscopie optique, on observe que les mélanges triblocs sont homogènes au-delà de la fusion des blocs PEG, indiquant que les liaisons Thy/DAT sont bien formées.

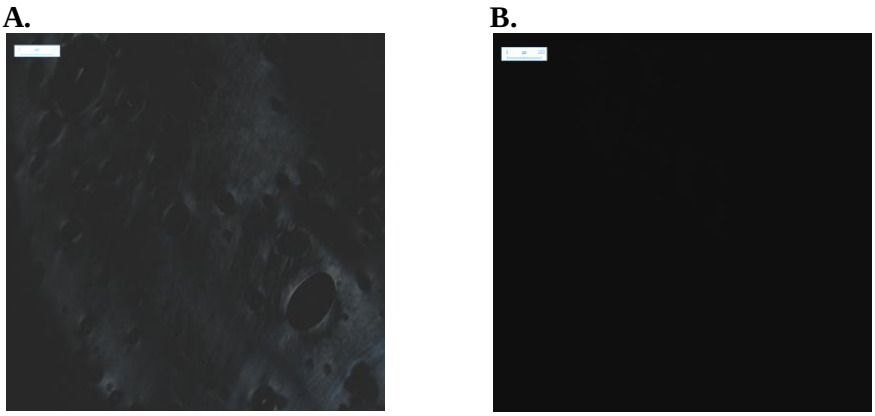


Figure 10 - Clichés de microscopie optique polarisée du tribloc 1 à A) 20 °C et B) 45 °C.

VI. Correspondance des concentrations utilisées en RMN en g/cm^3 et mol/L

Cette annexe se rapporte au Chapitre 2, lors de l'étude des copolymères supramoléculaires en solutions organiques pour la détermination de la constante d'association.

1. Analyse des blocs élémentaires seuls dans DMSO-d_6, $CDCl_3$ et toluène-d_8

Bloc supramoléculaire	Concentration en g/cm^3	Concentration en mol/L
PPG_{2000}-Thy	0.07	0.02
Thy-PPG_{2000}-Thy	0.07	0.03
PEG_{1000}-Thy	0.07	0.06
Thy-PEG_{2000}-Thy	0.07	0.03
PPG_{2000}-DAT	0.07	0.03

DAT-PPG_{2000}-DAT	0.07	0.03
PEG_{1000}-DAT	0.07	0.06
DAT-PEG_{2000}-DAT	0.07	0.03

2. Titration DMSO et $CDCl_3$

Bloc supramoléculaire	Concentration en g/cm^3	Concentration en mol/L
PEG_{1000}-Thy	0.30	0.12
PPG_{2000}-Thy	0.13	0.12

3. Spectres des blocs élémentaires et du dibloc 1 dans DMSO et $CDCl_3$

Bloc supramoléculaire	Concentration en g/cm^3	Concentration en mol/L
PEG_{1000}-Thy	0.13	0.12
PPG_{2000}-DAT	0.13	0.05
Dibloc 1	0.13	0.04

VII. Spectres RMN complémentaires

1. Spectres RMN ^{1}H du dibloc 1 dans différents solvants

Cette annexe se rapporte au Chapitre 3, lors de la discussion autour des valeurs de $\delta_{CH3/Thy}$ selon le solvant et organisation des copolymères sous la LCST des blocs PPG. Le déplacement chimique des protons méthyles (A) de la thymine est encadré.

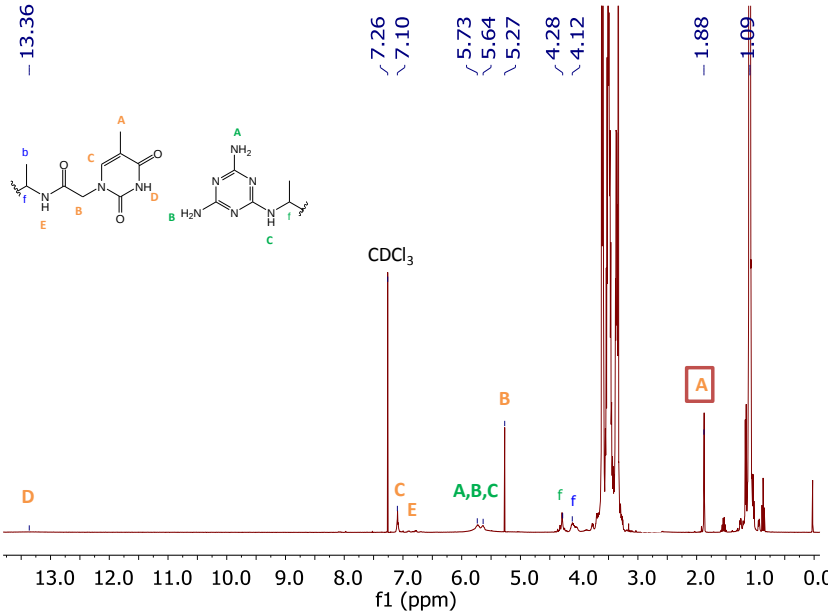


Figure 11 - RMN ^{1}H du dibloc 1 dans $CDCl_3$, à 5 °C, à 10 wt% (NS = 400, délai = 2.59 s).

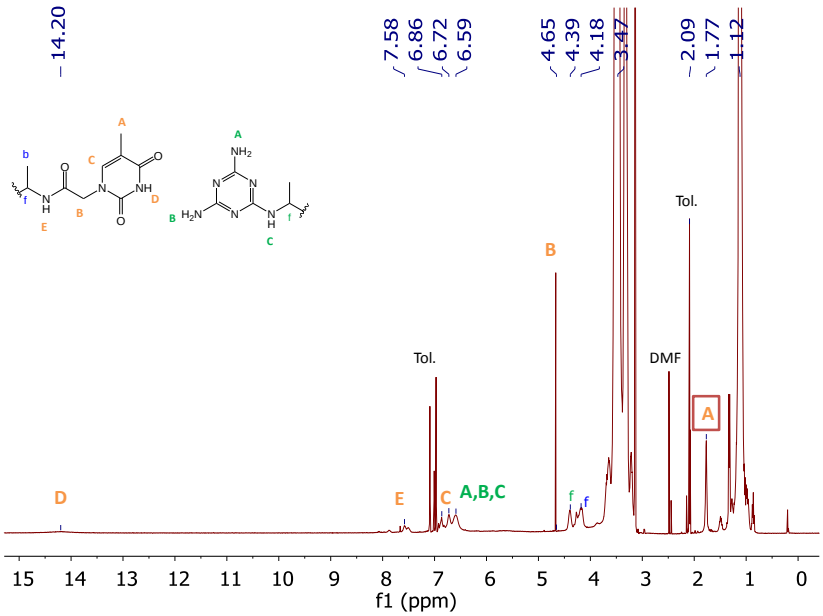


Figure 12 - RMN ^{1}H du dibloc 1 dans toluène-d_8, à 5 °C, à 10 wt% (NS = 400, délai = 2.59 s).

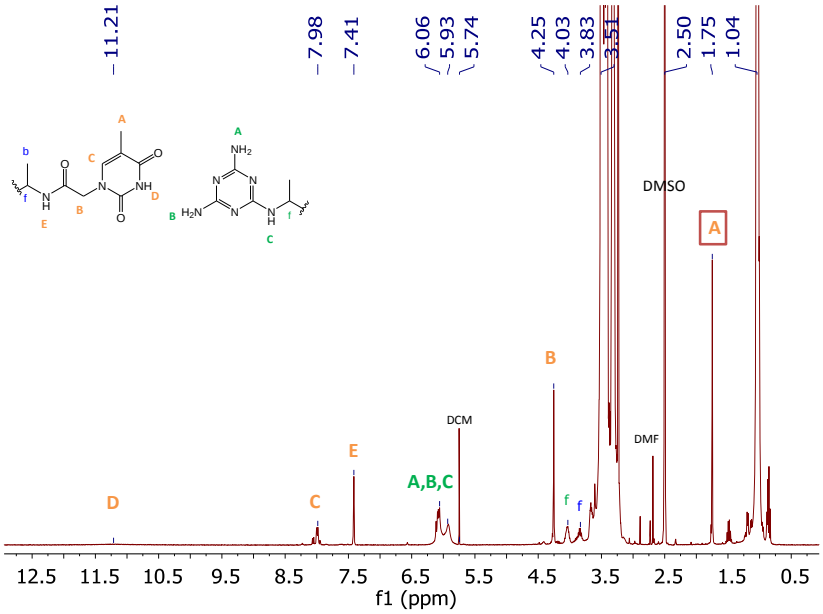


Figure 13 - RMN ^{1}H du dibloc 1 dans DMSO, à 5 °C, à 10 wt% (NS = 400, délai = 2.59 s).

2. Spectres RMN corrélation ^{1}H-^{15}N – HSQC et HMBC

d. Chaine PPG_{2000}-NH_2 et unité supramoléculaire DAT-Cl

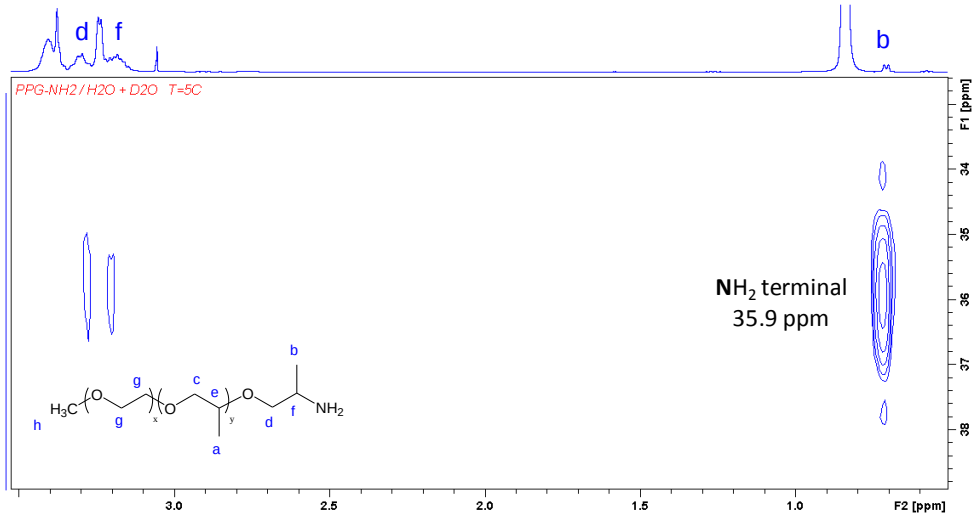


Figure 14 - 2D (HMBC, ^{1}H-^{15}N) de PPG_{2000}-NH_2 effectuée dans l'eau légère à 5 °C, avec insert D_2O.

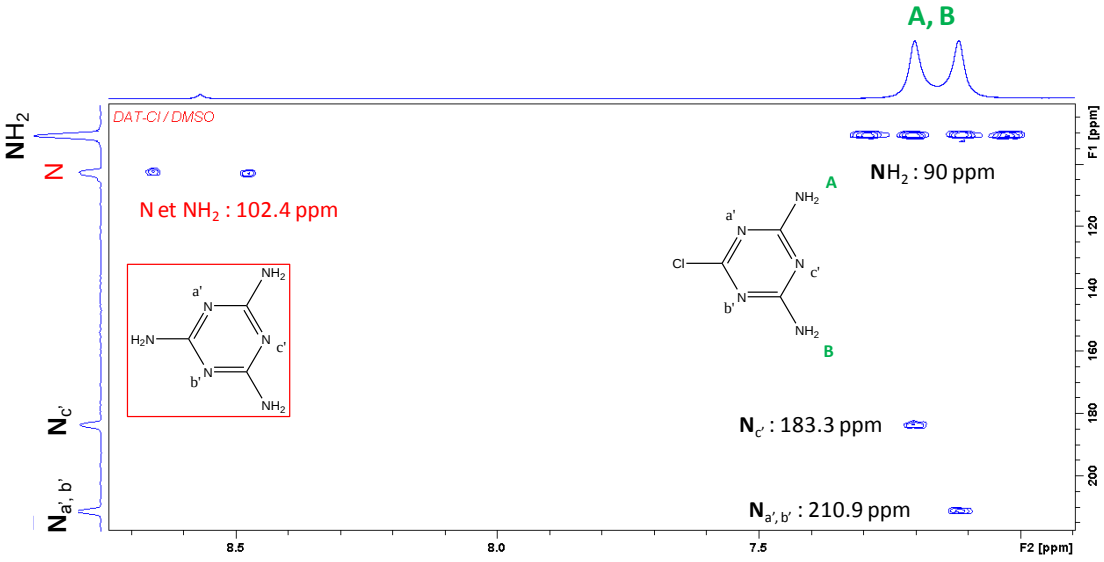


Figure 15 -2D (HMBC, ^{1}H-^{15}N) de DAT-Cl effectuée dans DMSO-d_6 à 25 °C.

e. Chaine PEG_{1000}-Thy

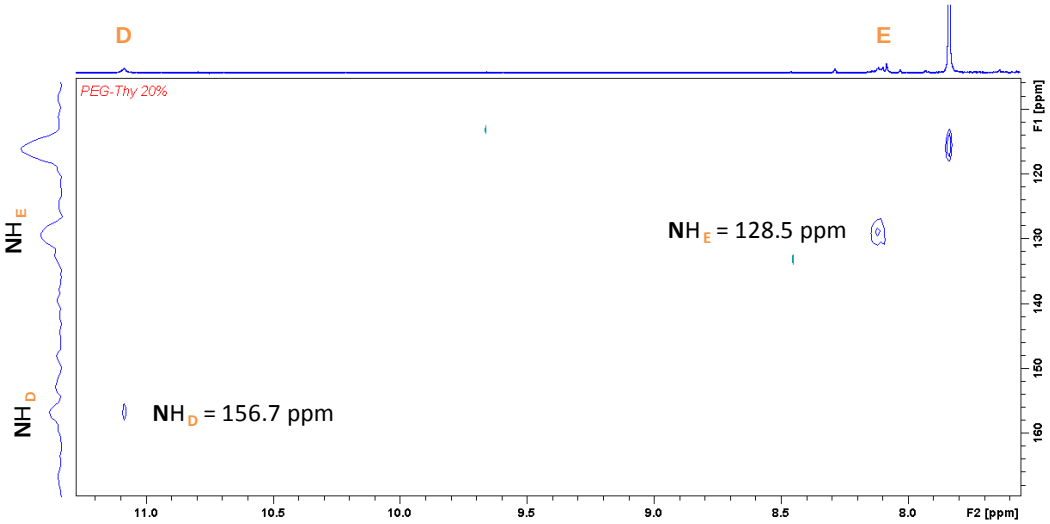


Figure 16 - RMN 2D de PEG_{1000}-Thy (HSQC, ^{1}H-^{15}N) effectuée dans D_2O à 5 °C.

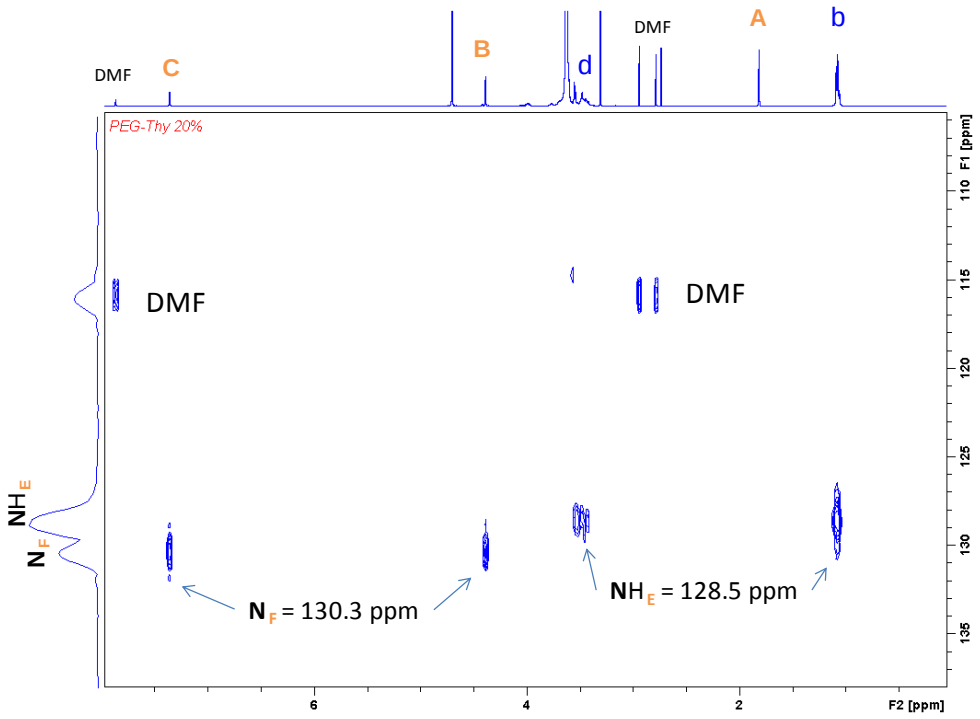


Figure 17 - RMN 2D de PEG_{1000}-Thy (HMBC, ^{1}H-^{15}N) effectuée dans D_2O à 5 °C.

f. Copolymère **dibloc 1** – PEG_{1000}-Thy + PPG_{2000}-DAT

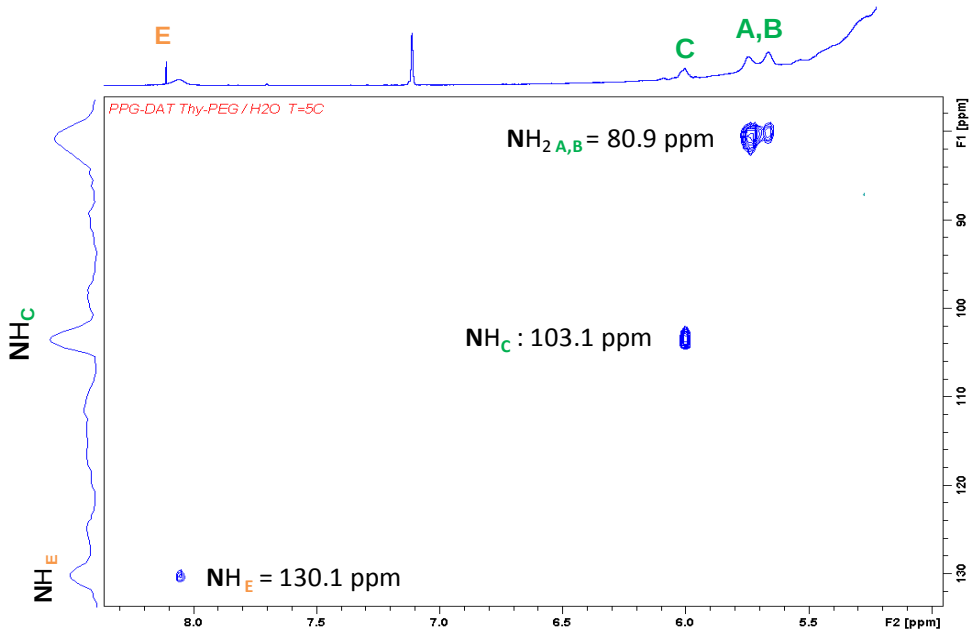


Figure 18 - 2D (HSQC, ^{1}H-^{15}N) du dibloc 1 effectuée dans l'eau légère à 5 °C, avec insert D_2O.

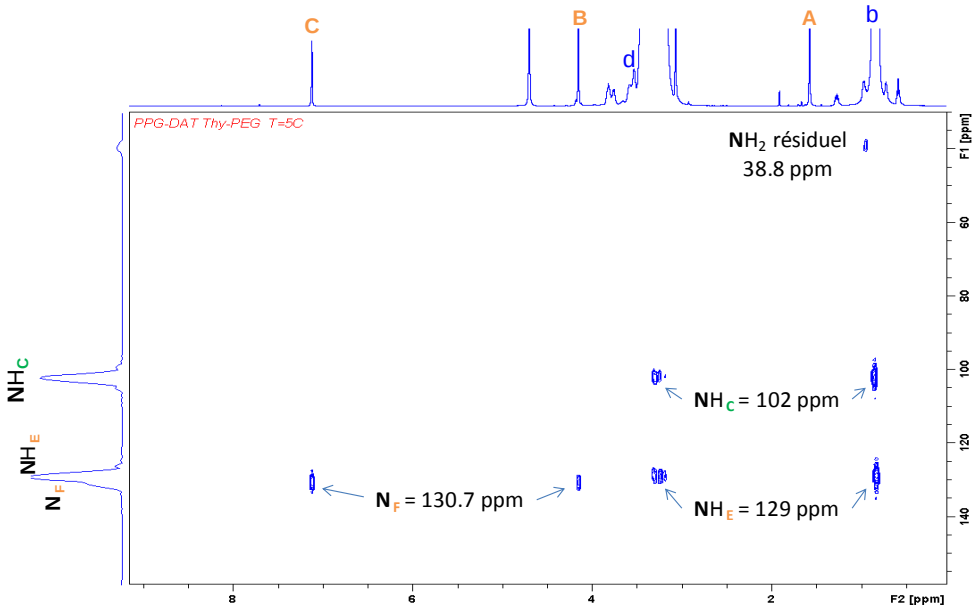


Figure 19 - 2D (HMBC, ^{1}H-^{15}N) du dibloc 1 effectuée dans l'eau légère à 5 °C, avec insert D_2O.

3. Spectres RMN DOSY

a. Mesures préalables : DAT-Cl, PPG_{2000}-NH_2, PEG_{1000}-NH_2

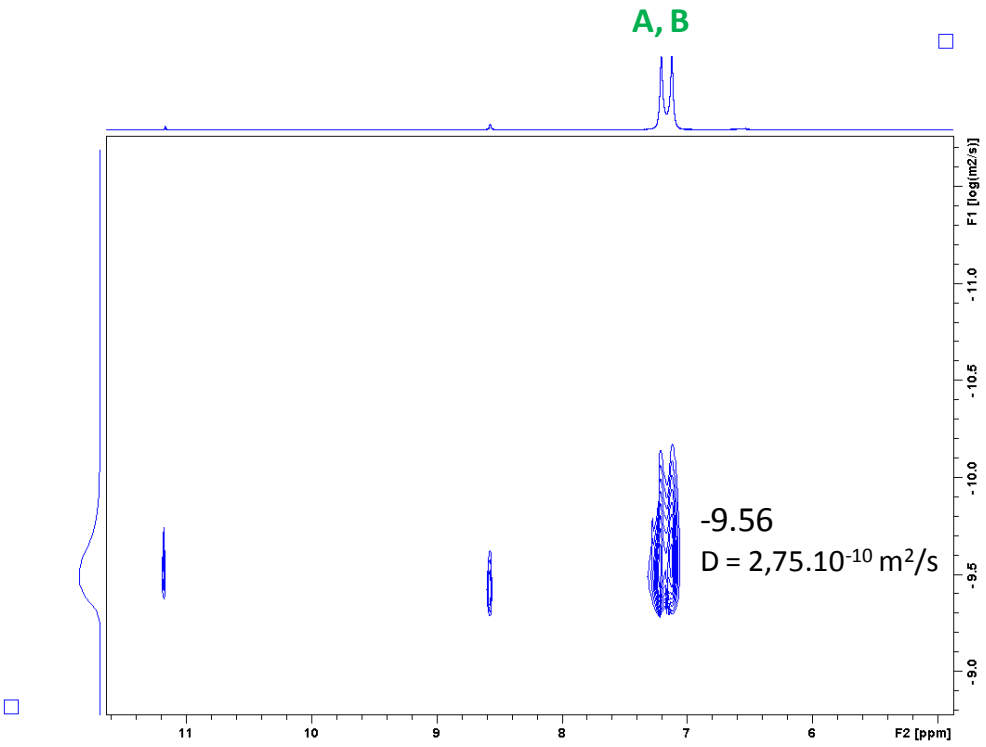


Figure 20 - Spectre DOSY de DAT-Cl, dans DMSO à 25 °C (10 wt%).

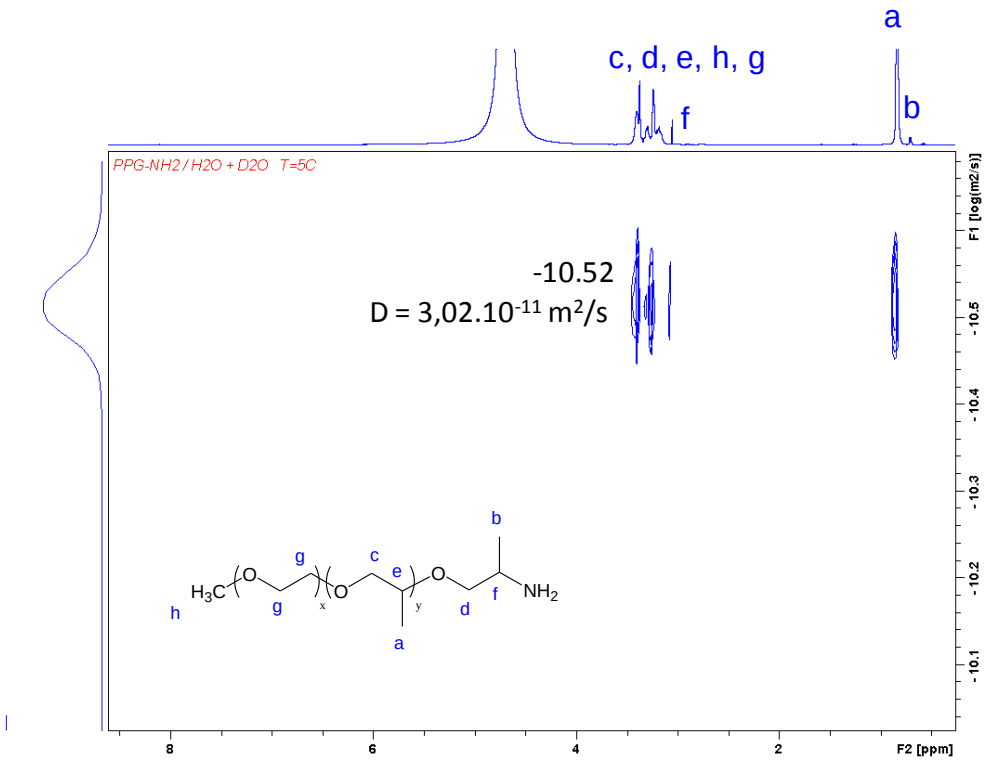


Figure 21 - Spectre DOSY de PPG_{2000}-NH_2, dans l'eau légère à 5 °C, avec insert D_2O (10 wt%).

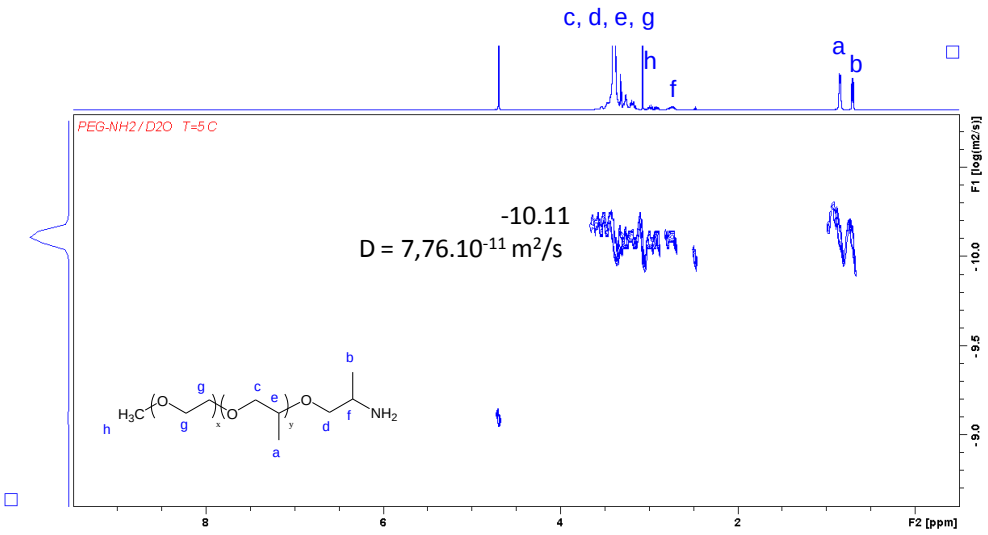


Figure 22 - Spectre DOSY de PEG_{1000}-NH_2, à 5 °C dans D_2O (10 wt%).

Annexe 3 : Détermination des constantes d'association par titration et expériences en température

I. Détermination par titration – Traitement EQNMR

La constante d'association K_{AA} d'un complexe (A + A ⇆ AA) et K_{AB} d'un complexe (A + B ⇆ AB) peut être déterminée par titration RMN ^{1}H, en faisant l'hypothèse d'un mécanisme d'association isodesmique.[2,3] En effet, le déplacement chimique des protons de la molécule A impliqué dans des liaisons hydrogène varie de façon importante entre son état libre, auto-associé et hétéro-associé AB. Si l'équilibre est plus rapide que le temps de l'expérience RMN, le déplacement chimique observé est une moyenne entre le déplacement δ_{AB} des états hétéro-associé, le déplacement δ_{AA} de l'état auto-associé, et le déplacement δ_A de l'état libre. De fait, à une température donnée, K_{AA} et K_{AB} peuvent être mesurés en suivant les protons de la molécule A impliqués dans des interactions hydrogène, en fonction de la concentration des espèces présentes en solution.

Les courbes de titration sont alors analysée par un fit de la méthode des moindres carrés, effectué par le programme EQNMR. Dans son article de référence, Hynes expose la théorie derrière le fonctionnement de ce programme.[4] L'utilisation de ce dernier est détaillée dans une documentation prévue à cet effet, téléchargeable en même temps que le programme. Nous donnons ici simplement les équations mathématiques utiles.

Pour des solutions contenant uniquement la molécule A :

$$\delta = \delta_A \frac{[A]}{C_A} + 2\delta_{AA} \frac{[AA]}{C_A} \quad (i)$$

$$C_A = [A] + 2[AA] \quad (ii)$$

$$K_{AA} = \frac{[AA]}{[A]^2} \quad (iii)$$

$$\delta^A = \delta_{AA} + (\delta_{AA} - \delta_A) \frac{1 - \sqrt{1 + 8K_{AA}C_A}}{4K_{AA}C_A} \quad (iv)$$

Pour des solutions contenant les molécules A et B, où la dimérisation peut être négligée :

$$\delta = \delta_A \frac{[A]}{C_A} + \delta_{AB} \frac{[AB]}{C_A} \quad (v)$$

$$C_A = [A] + [AB] \quad (vi)$$

$$K_{AB} = \frac{[AB]}{[A][B]} \quad (vii)$$

$$\delta^A = \delta_{AB} + (\delta_A - \delta_{AB}) \frac{C_A - 1/K_{AB} - C_B + \sqrt{(C_A + 1/K_{AB} + C_B)^2 - 4C_A C_B}}{2C_A} \quad (viii)$$

II. Détermination par expériences en température (toluène-d_8)

1. Détermination des paramètres thermodynamiques de l'auto-association Thy/Thy et DAT/DAT

Dans un premier temps, nous déterminons dans le toluène les constantes d'équilibre pour l'auto-association des thymines, $K_{\text{Thy-Thy}}$, et des DAT, $K_{\text{DAT-DAT}}$. Ces constantes dépendent de la concentration initiale en unités supramoléculaires C_0. Dans les équations 3 et 4, les inconnues à déterminer en premier deviennent les concentrations en espèces auto-associées.

$$C_0 = [Thy]_0 = [Thy] + 2\,[ThyThy] \quad (1)$$

$$C_0 = [DAT]_0 = [DAT] + 2\,[DATDAT] \quad (2)$$

$$K_{ThyThy} = \frac{[ThyThy]}{[Thy]^2} = \frac{[ThyThy]}{[C_0 - 2[ThyThy]]^2} \quad (3)$$

$$K_{DATDAT} = \frac{[DATDAT]}{[DAT]^2} = \frac{[DATDAT]}{[C_0 - 2[DATDAT]]^2} \quad (4)$$

Pour les déterminer, les équations 5 et 6 relient δ_{exp} avec la concentration d'unités libres et d'unités auto-associées, en équilibre. Les déplacements chimiques δ_{exp} des protons NH_{Thy} (**D**) et NH/NH_2 DAT (**A**, **B**, **C**) sont reportés en fonction de la température (RMN ^{1}H, 0 à 70 °C). Les déplacements extrêmes (espèce libre, $\delta_{min/libre}$, et espèce auto-associée, $\delta_{max/ThyThy\ ou\ DATDAT}$) sont déterminés par fit sigmoïde (7).

$$\delta_{NH\,Thy,exp} = \frac{[Thy]}{C_0}\,\delta_{Thy\,libre} + \frac{2\,[ThyThy]}{C_0}\,\delta_{ThyThy} \quad (5)$$

$$\delta_{NH\,DAT,exp} = \frac{[DAT]}{C_0}\,\delta_{DAT\,libre} + \frac{2\,[DATDAT]}{C_0}\,\delta_{DATDAT} \quad (6)$$

$$\delta\,(T) = \delta_{max} + \frac{\delta_{min} - \delta_{max}}{1 + \exp[(T_{half} - T/R)]} \quad (7)$$

En remaniant les équations 5 et 6, on peut calculer les concentrations en espèces auto-associées (équations 8 et 9).

$$[ThyThy] = \frac{\delta_{NH\,Thy,exp} - \delta_{Thy\,libre}}{\delta_{ThyThy} - \delta_{Thy\,libre}}\,\frac{C_0}{2} \quad (8)$$

$$[DATDAT] = \frac{\delta_{NH\,DAT,exp} - \delta_{DAT\,libre}}{\delta_{DATDAT} - \delta_{DAT\,libre}}\,\frac{C_0}{2} \quad (9)$$

On peut alors également calculer les concentrations en espèces libres en remaniant les équations 1 et 2 (équations 10 et 11).

$$[Thy] = C_0 - 2\,[ThyThy] \quad (10)$$

$$[DAT] = C_0 - 2\,[DATDAT] \quad (11)$$

2. Détermination des paramètres thermodynamiques de l'association complémentaire Thy/DAT

De la même façon, la constante $K_{\text{Thy/DAT}}$ peut être calculée par méthode itérative. Les valeurs initiales de [Thy] sont utilisées pour calculer les valeurs de [ThyThy] par l'équation 3. Les concentrations [ThyDAT] sont calculées par l'équation 12.

$$[ThyDAT] = C_0 - [Thy] - 2\,[ThyThy] \quad (12)$$

Les valeurs obtenues sont substituées dans l'équation 13 pour obtenir les valeurs calculées δ_{calc} de $\delta_{\text{exp.}}$

$$\delta_{exp} = \frac{[Thy]}{C_0}\,\delta_{Thy\,libre} + \frac{2\,[ThyThy]}{C_0}\,\delta_{ThyThy} + \frac{[ThyDAT]}{C_0}\,\delta_{ThyDAT} \quad (13)$$

Une fois que [Thy] et [ThyDAT] sont obtenus par cette procédure, les concentrations de [DAT] sont déterminées en résolvant l'équation du second degré 14.

$$\begin{aligned}[DAT]_0 = C_0 &= [DAT] + 2[DATDAT] + [ThyDAT] \\ &= [DAT] + 2\,K_{DATDAT}\,[DAT]^2 + [ThyDAT] \quad (14)\end{aligned}$$

Toutes les inconnues ayant été déterminées, il est alors possible de calculer $K_{\text{Thy/DAT}}$ par l'équation 15.

$$K_{ThyDAT} = \frac{[ThyDAT]}{[Thy][DAT]} \quad (15)$$

Références

(1) Balalaie, S.; Mahdidoust, M.; Eshaghi-Najafabadi, R. 2-(1H-Benzotriazole-1-Yl)-1,1,3,3-Tetramethyluronium Tetrafluoroborate as an Efficient Coupling Reagent for the Amidation and Phenylhydrazation of Carboxylic Acids at Room Temperature. *J. Iran. Chem. Soc.* **2007**, *4* (3), 364–369. https://doi.org/10.1007/BF03245987.

(2) Fielding, L. Determination of Association Constants (Ka) from Solution NMR Data. *Tetrahedron* **2000**, *56* (34), 6151–6170. https://doi.org/10.1016/S0040-4020(00)00492-0.

(3) Steed, J. W.; Atwood, J. L. *Supramolecular Chemistry*, 2. ed., reprinted with corrections.; Wiley: Chichester, 2009.

(4) Hynes, M. J. EQNMR: A Computer Program for the Calculation of Stability Constants from Nuclear Magnetic Resonance Chemical Shift Data. *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1993**, *0* (2), 311–312. https://doi.org/10.1039/DT9930000311.

Résumé

L'encapsulation et le relargage à la demande de principes actifs présentent de nombreux avantages et trouvent leur place dans de nombreuses applications, au sein de formulations complexes. Dans cette thèse, nous montrons que la chimie supramoléculaire permet de réaliser des copolymères amphiphiles capables d'encapsuler des composés lipophiles, dispersés en solution aqueuse.

L'objectif de ces travaux a été d'élaborer et de caractériser les édifices encapsulants formés par des copolymères amphiphiles supramoléculaires, inspirés des émulsifiants non ioniques commerciaux, les Pluronics®.
Dans un premier temps, nous avons synthétisé des copolymères supramoléculaires amphiphiles. Les unités associatives et complémentaires thymine (Thy) et diaminotriazine (DAT), très étudiées dans le domaine des matériaux supramoléculaires, ont été greffées en une étape au(x) extrémité(s) de chaines poly(éthylène) glycol, hydrophiles, et poly(propylène) glycol, hydrophobes, commerciales (Jeffamine®). Les deux unités supramoléculaires s'associent sélectivement par trois liaisons hydrogène parallèles, permettant de former des copolymères amphiphiles. Leur auto-assemblage en solvant sélectif, notamment dans l'eau ou dans des mélanges biphasiques aqueux, conduit à la formation d'objets encapsulants, destinés à des applications cosmétiques.

La force et la stabilité de la liaison supramoléculaire Thy/DAT ont été étudiées dans l'eau et dans différents solvants organiques. Les objets formés par l'auto-assemblage des copolymères supramoléculaires ont également été caractérisé par différentes techniques physico-chimiques. L'utilisation des copolymères amphiphiles supramoléculaires s'est révélée concluante pour la stabilisation d'émulsions directes préparées par émulsification spontanée (effet Ouzo). Ainsi, la preuve de concept de l'encapsulation a été établie, les émulsions obtenues s'apparentant à l'encapsulation d'un composé lipophile en phase aqueuse (dispersion liquide-liquide).

Mots Clés

Chimie supramoléculaire, liaisons hydrogène, copolymères à blocs, encapsulation de composés, relargage déclenchable

Abstract

The encapsulation and triggerable release of actives display numerous benefits and are used in complex formulations designed for various applications. In this thesis, we show that supramolecular chemistry enables the design of amphiphilic copolymers, capable to encapsulate lipophilic compounds, dispersed in aqueous solution.

The goal of this work was to develop and characterize encapsulating objects formed by amphiphilic supramolecular copolymers, inspired by non ionic, commercially available emulsifiers, Pluronics®.
In a first step, we synthesized amphiphilic supramolecular copolymers. Associative and complementary units thymine (Thy) and diaminotriazine (DAT), which are largely studied in supramolecular materials subjects, were grafted by a one-step reaction, at the end(s) of poly(ethylene) glycol chains, hydrophilic, and poly(propylene) glycol chains, hydrophobic. Both initial chains are commercially available (Jeffamine®). The two supramolecular units associate selectively by 3 parallel hydrogen bonds, enabling the formation of amphiphilic copolymers. Their self-assembly in a selective solvent, like water, or in a aqueous biphasic mixture, lead to the formation of encapsulating objects, which are designed for a cosmetic application.

Strength and stability of Thy/DAT supramolecular bond was investigated in water and in different organic solvents. Objects formed by the self-assembly of the supramolecular copolymers were also characterized by means of several techniques. Use of amphiphilic supramolecular copolymers was found conclusive for the stabilization of direct emulsions, formed by spontaneous emulsification (Ouzo effect). Thus, proof on concept was established, emulsions being seen as the encapsulation of a lipophilic compound in an aqueous phase (liquid-liquid dispersion).

Keywords

Supramolecular chemistry, hydrogen bonds, block copolymers, encapsulation, triggerable release