

N° d'ordre : 2742

THÈSE

Présentée à

L'UNIVERSITÉ BORDEAUX 1

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES CHIMIQUES

Par **Frédéric CHECOT**

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR

SPÉCIALITÉ : **POLYMÈRES**

**Ingénierie Macromoléculaire par Auto-assemblage :
formation, manipulation et pérennisation de nano-matériaux et
nano-objets à base de polypeptides**

Soutenue le : 19/11/2003

Après avis de :

M. F. BOUÉ
M. L. LEIBLER

Directeur de Recherche, CEA-CNRS, LLB Saclay
Directeur de Recherche, ESPCI, Université Paris VI

Rapporteur
Rapporteur

Devant la commission d'examen formée de :

F. NALLET
M. F. BOUÉ
M. L. LEIBLER
Y. GNANOU
S. LECOMMANDOUX

Professeur, CRPP, Université Bordeaux 1
Directeur de Recherche, CEA-CNRS, LLB Saclay
Directeur de Recherche, ESPCI, Université Paris VI
Directeur de Recherches, LCPO, Université Bordeaux 1
Maître de Conférence, LCPO, ENSCPB

Président
Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Examineur

Cette thèse, effectuée au Laboratoire de Chimie des Polymères Organiques (LCPO) est l'aboutissement de trois années de travail de recherche au sein du groupe physico-chimie.

Je tiens à remercier :

Monsieur Yves Gnanou, Directeur de Recherche, pour m'avoir accueilli dans ce laboratoire dont la renommée n'est plus à faire

Monsieur Frédéric Nallet, Professeur, qui m'a fait l'honneur de bien vouloir présider le jury, ainsi que Messieurs François Boué, Directeur de Recherche, et Ludwig Leibler, Directeur de Recherche, pour avoir accepté la charge de rapporteur et pour l'intérêt qu'ils ont manifesté pour mon travail.

Messieurs Yves Gnanou et Sébastien Lecommandoux qui m'ont offert un sujet extrêmement porteur, alliant la richesse de la chimie à celle de la physico-chimie des polymères, qui ont dirigé mes recherches tout en m'accordant une grande autonomie ce qui a été très formateur.

Madame Annie Brulet et Monsieur Julian Oberdisse pour leur aide dans la réalisation et le traitement des expériences de diffusion neutronique, ainsi que Monsieur Olivier Sandre pour avoir enrichi ce travail avec ses ferrofluides.

Collectivement, l'ensemble des personnes, membres du laboratoire ou extérieurs qui ont apporté leur contribution à ce travail qu'elle soit scientifique, technique ou administrative.

Enfin je tiens particulièrement à adresser un grand merci à Delphine, à mes compagnons de paillasse, et tous ceux qui ont contribué par leur humour et leur sympathie à rendre ce passage au LCPO mémorable et qui sont à présent plus que de simples collègues de travail : Juju (fashion victime) et Élodie les Australiens, Cédric dit "papy" et Gaëlle "la tueuse", Cyrille et Claire ("Pikatchou et madame je sais tout de prénom..."), Tom et Pat (les inséparables?), Pierrot et sa raquette, Damien (dear colleague), Arnaud le grand et sa petite Séverine, sans oublier Jérôme et Cécile, Juan et "Juanitta", Isa et Gilou, Seb Dardel, Damien, Céline et François...

SOMMAIRE

Introduction	5
1^{ère} Partie : étude Bibliographique	11
I. L'auto-assemblage en masse.	14
I.1. Les copolymères de type "flexible-flexible"	15
I.2. Les copolymères de type "rigide-flexible"	22
II. L'auto-assemblage en solution.	28
II.1. Considérations générales et théoriques	29
II.2. Etudes expérimentales	34
III. La stabilisation.	42
III.1. Stabilisation après auto-assemblage en masse	43
III.2. Stabilisation après auto-assemblage en solution	44
III.2.1. Pérennisation des micelles	44
III.2.1.1. Réticulation interne	45
III.2.1.2. Réticulation externe.....	46
III.2.2. Pérennisation des vésicules	48
IV. Nano-assemblages intelligents.	49
IV.1. Matériaux stimulables	49
IV.2. Objets intelligents.....	52
IV.2.1. Systèmes vecteurs	53
IV.2.2. Objets stimulables	55
2^{ème} Partie : Synthèse	59
I. Techniques de synthèse.	62
I.1. Polymérisation des monomères éthyléniques par voie anionique.....	62
I.2. Synthèse des peptides par polymérisation par ouverture de cycle de NCA.....	64
II. Synthèse des copolymères.	67
II.1. Synthèse du premier bloc : Polybutadiène	68
II.2. Fonctionnalisation	73
II.3. Synthèse du deuxième bloc : poly(L-glutamate de γ -benzyle)	76
II.4. Déprotection	79

3^{ème} Partie : Auto-Assemblage..... 85

I. Diffusion de rayonnements : concepts.....	87
II. Auto-assemblage en masse du PB-<i>b</i>-PBLG.....	90
II.1. Étude thermodynamique et structurale préliminaire	90
II.2. Étude de l'organisation supramoléculaire par SAXS	94
II.2.1. Films obtenus par évaporation de solutions dans le THF	95
II.2.2. Films obtenus par évaporation de solutions dans le dioxane	105
II.2.3. Films obtenus par évaporation d'un mélange dioxane/TFA.....	112
III. Auto-assemblage en solution de PB-<i>b</i>-PGA.....	119
III.1. Mise en solution et phénomène d'agrégation	120
III.2. Étude par diffusion de la lumière	125
III.2.1. Quelques rappels	125
III.2.1.1. Diffusion statique de la lumière	125
III.2.1.2. Diffusion dynamique de la lumière.....	127
III.2.2. Étude par diffusion dynamique de la lumière	128
III.2.3. Étude par diffusion statique de la lumière.....	134
III.3. Étude par diffusion des neutrons aux petits angles (SANS)	137
III.3.1. Quelques rappels	138
III.3.1.1. Diffusion par des agrégats de géométrie simple : micelle, vésicule	139
III.3.1.2. Effet de la dispersion en taille: polymétrie.....	142
III.3.1.3. Résolution expérimentale.....	143
III.3.2. Résultats expérimentaux	144
III.4. Étude par microscopie électronique en transmission	151

4^{ème} Partie : Nano-objets intelligents 159

I. Manipulation des structures auto-assemblées.....	161
I.1. Étude par diffusion dynamique de la lumière	162
I.1.1. Influence de la force ionique.....	162
I.1.2. Influence du pH.....	163
I.2. Étude par dichroïsme circulaire.....	167
I.3. Étude par diffusion de neutrons	168
II. Réticulation des structures auto-assemblées.....	174

Conclusion et perspectives..... 177

Techniques expérimentales 183

I. Synthèse.....	185
I.1. Synthèse des blocs polybutadiène	185
I.2. Fonctionnalisation	186
I.2.1. Synthèse de l'agent de terminaison.....	186
I.2.2. Transformation du centre actif terminal.....	187
I.2.3. Fonctionnalisation et purification.....	187

I.3.	Synthèse du copolymère PB- <i>b</i> -PBLG.....	188
I.3.1.	Synthèse du monomère NCA de glutamate de benzyle.....	188
I.3.2.	Copolymérisation.....	189
I.4.	Synthèse des copolymères PB- <i>b</i> -PGA.....	189
I.5.	Préparation des auto-assemblages et Stabilité.....	189
II.	Techniques d'analyse et de caractérisation.....	190
II.1.	Détermination des Masses Molaires.....	190
II.1.1.	Chromatographie d'exclusion stérique CES.....	190
II.1.2.	Tonométrie.....	191
II.2.	Analyses spectroscopiques.....	191
II.2.1.	Spectroscopie RMN.....	191
II.2.2.	Spectroscopie IRTF.....	191
II.2.3.	Spectroscopie de fluorescence.....	192
II.3.	Diffusion de rayonnements.....	192
II.3.1.	Diffusion de lumière.....	192
II.3.1.1.	Diffusion statique de la lumière (SLS).....	193
II.3.1.2.	Diffusion dynamique de la lumière (DLS).....	193
II.3.2.	Diffusion des rayons-X aux petits angles (SAXS).....	193
II.3.3.	Diffusion des neutrons aux petits angles (SANS).....	194
II.4.	Analyse conformationnelle.....	196
II.5.	Microscopie électronique.....	196
II.6.	Analyses enthalpique différentielle (AED) et mécanique dynamique (AMD) ..	196
	Références.....	197

INTRODUCTION

Les avancées dans la connaissance et la compréhension de l'organisation moléculaire au sein des systèmes vivants ont révélé qu'un très grand nombre d'entre eux étaient construits à partir de petites unités de base spontanément assemblées suivant une hiérarchie complexe en superstructures fonctionnelles, c'est-à-dire, suivant le processus d'*auto-assemblage*. L'agrégation spontanée pour former des objets parfaitement définis est alors uniquement fondée sur la structure chimique et la géométrie des briques de base, et ne nécessite aucune intervention externe afin de mener à l'objet final.

Ainsi, malgré le nombre limité d'unités de construction à sa disposition, la nature est capable de former de nombreux édifices extrêmement complexes et parfaitement contrôlés.

Au contraire, même si les chimistes sont capables de synthétiser une quantité impressionnante de molécules et macromolécules, ces dernières, de structures plus ou moins bien contrôlées, demeurent peu complexes en comparaison avec les édifices naturels. C'est pourquoi, depuis les 20 dernières années, le développement des nouveaux polymères à structure et architecture contrôlées est devenu un domaine de recherche intensif. Cette activité vient du potentiel énorme que possèdent ces matériaux dans des domaines très variés (des matériaux aux propriétés mécaniques spécifiques à la vectorisation de principes actifs). Un effort significatif a donc été dirigé vers le contrôle et l'étude de la conformation et de l'architecture des polymères individuels.

Par ailleurs, alors que des phénomènes d'auto-assemblage sont observés et utilisés depuis de nombreuses années par les chimistes et physico-chimistes (contrôle de la cristallinité des polymères, développement des élastomères thermoplastiques à base de copolymères à blocs, développement des cristaux liquides), J.M. Lehn a été l'un des tout premiers à avoir la volonté d'utiliser ce phénomène d'auto-assemblage dans le but de générer des super-structures

complexes de manière parfaitement définie, créant ainsi une nouvelle classe de matériaux à fort potentiel^[1,2].

Ainsi, toute une panoplie de structures a pu être obtenue en utilisant l'auto-assemblage ou l'auto-organisation des macromolécules, phénomènes dirigés par les compétitions entre les forces attractives et les forces répulsives agissant entre ces dernières.

Ces processus constituent des méthodes simples, regroupées sous la dénomination très à la mode de *chimie supramoléculaire*, et ont donc pour but de créer des édifices structuraux singuliers. Il est donc important de souligner le fait que les molécules ou macromolécules à la base de ces matériaux supramoléculaires doivent impérativement contenir l'ensemble des instructions nécessaires à leur association. Par analogie à la manière dont un enfant empile ses “LEGOS” pour former des édifices complexes, la structure chimique d'une molécule de base va à la fois définir quels sont les segments disponibles pour une interaction et, induire des interactions spécifiques en fonction de la nature de ces segments, menant ainsi à la formation d'une super-structure parfaitement contrôlée.

C'est pourquoi, aujourd'hui, l'un des défis majeurs à relever, tant dans le domaine de la physique que de la chimie ou de la science des matériaux, est de trouver le moyen de synthétiser des molécules ou macromolécules capables de s'auto-organiser pour construire des *super-structures fonctionnelles* possédant des propriétés des plus sophistiquées ; démarche apparaissant sous le terme anglo-saxon “the bottom-up route”. De plus, l'amélioration des capacités de synthèse, spécialement en ce qui concerne les macromolécules organiques, explique la multitude de travaux réalisés et l'engouement de ces dernières années pour ce sujet.

Dans cette optique, des candidats particulièrement intéressants sont les copolymères à blocs, bien connus pour leur capacité à s'auto-organiser en une myriade de morphologies^[3]. De plus, si l'on applique cette dernière propriété à des entités amphiphiles, cela nous procure un mécanisme fondamental et puissant pour la construction de structures complexes en solution, structures potentiellement utilisables dans des domaines d'applications aussi variés que les peintures, l'encapsulation, et la vectorisation de médicaments ou les nano-particules et les nano-réacteurs.

En outre, pour que ces systèmes soient utiles dans des applications plus spécifiques, il est nécessaire qu'ils aient la capacité de répondre à des stimuli externes comme par exemple des variations de température ou de pH^[4-6]. Or, une grande partie des morphologies obtenues par

auto-assemblage ou auto-organisation ne sont stables que dans une certaine gamme de concentrations, de températures ou de pH. Il apparaît donc très important d'améliorer et de contrôler la stabilité de ces assemblages en pérennisant les morphologies formées par réticulation par exemple.

C'est donc dans une telle perspective que l'objectif de cette thèse a été fixé, dans le sens de la **construction et de la caractérisation de nanostructures originales et intelligentes, à la fois stimulables et à persistance de forme via l'auto-assemblage de copolymères adéquats**.

Après une première partie, consacrée au bilan des travaux réalisés jusqu'à ce jour sur l'auto-assemblage des copolymères à la fois du point de vue théorique et du point de vue expérimental, et que ce soit en masse ou en solution, la seconde partie portera sur la synthèse des copolymères choisis et détaillera la procédure nous ayant permis d'aboutir aux briques de base contenant l'ensemble des informations désirées (dibloc, amphiphile, stimuable, réticulable).

La troisième partie de ce mémoire sera dédiée au corps de notre étude, c'est-à-dire, l'étude et la caractérisation complète des (*super*)**structures supramacromoléculaires** formées à partir de nos briques de base. Nous présenterons successivement les résultats obtenus en masse et en solution, en insistant sur la complémentarité des techniques utilisées pour mener à bien ce projet : diffusion de rayonnements (lumière statique et dynamique, neutrons, rayons-X), spectroscopie de fluorescence et infra rouge à transformée de Fourier, microscopie électronique en transmission, analyses mécaniques et dichroïsme circulaire ultra violet.

Une quatrième partie traitera ensuite du caractère "intelligent" des morphologies auto-assemblées obtenues en solution : leur manipulation et leur stabilisation.

Enfin, après avoir tiré les conclusions quant aux principales avancées apportées par ce travail, une partie annexe regroupera la description des techniques expérimentales utilisées ainsi que celle des modes opératoires mis en place.

**1^{ÈRE} PARTIE : ÉTUDE
BIBLIOGRAPHIQUE**

Actuellement, la plupart des matériaux polymères nécessitent des étapes de synthèse plus ou moins sophistiquées et des procédés plus ou moins complexes, de façon à adapter leurs propriétés à l'application particulière désirée. Dans l'espoir de contourner ces étapes qui souvent requièrent des réactions hautement spécifiques, l'élaboration d'architectures par auto-assemblage d'unités de construction à base de polymères ou d'oligomères de faible masse molaire ont attiré l'attention d'un nombre croissant d'équipes de recherche^[1,7-10]. En synthétisant les unités de base de manière à ce qu'elles contiennent toute l'information utile pour diriger leur auto-assemblage en un matériau fonctionnel, toute étape de modification nécessaire à la fonction envisagée devient superflue. Pour fabriquer de telles structures ordonnées, il est indispensable que coexistent, au sein de la brique de base, des forces attractives à courte distance ainsi que des forces répulsives à grande distance, principe de base du concept d'auto-assemblage. A titre d'exemple, de telles paires de forces peuvent être respectivement des liaisons covalentes dans le cas des interactions attractives et l'incompatibilité ou l'hydrophobicité des polymères dans le cas des interactions répulsives. De plus, alors qu'il est difficile d'obtenir des assemblages d'échelle macroscopique à partir de molécules organiques simples (de très faible masse molaire), les macromolécules quant à elles peuvent s'assembler pour former une large variété de morphologies ordonnées couvrant plusieurs domaines d'échelles caractéristiques allant du nanoscopique au macroscopique.

Ainsi, il existe un réel potentiel dans l'élaboration et les possibles applications de nouveaux systèmes polymères possédant des propriétés physiques, chimiques ou morphologiques originales et très avancées.

Les copolymères et en particulier les copolymères diblocs ont donc été étudiés de façon intensive à la fois en masse et en solution. Dans la majorité des études réalisées, dans un premier temps, soit les copolymères sont solubilisés dans un solvant non sélectif, i.e. un bon solvant des deux blocs constituant le copolymère, soit ils sont solubilisés dans un solvant sélectif pour l'un des blocs (i.e. un solvant à la fois bon solvant pour un des blocs et "mauvais" solvant pour l'autre)^[1,9,10]. Dans le premier cas, les structures auto-assemblées se forment au cours du processus d'évaporation du solvant, due à l'incompatibilité entre les blocs (paramètre d'interaction de Flory-Huggins : χ). Dans le second cas, les assemblages supramoléculaires formés en solution peuvent être étudiés directement ou "figés" à l'état solide en évaporant le solvant. Toute une variété de morphologies a alors pu être observée (sphères, cylindres, lamelles...) en fonction de la fraction volumique de chaque bloc, ce qui

dépend directement du taux de solvation de ces mêmes blocs et donc de la qualité du solvant employé^[11,12].

I. L'AUTO-ASSEMBLAGE EN MASSE.

Ces dernières années, la formation de mésophases à partir de copolymères à blocs a été utilisée en tant que modèle pour l'étude de l'auto-assemblage des systèmes macromoléculaires^[13-15]. Jusqu'à récemment, la majorité des systèmes analysés étaient composés de copolymères à blocs avec des énergies de cohésion similaires, où chaque bloc pouvait adopter une conformation dite flexible ou semi-flexible : cas des copolymères de type "coil-coil" (Figure 1)^[15].



Figure 1 : Représentation schématique des architectures "flexible-flexible" et "rigide-flexible" dans le cas de copolymères diblocs

Les différentes phases ordonnées obtenues par microséparation de phases peuvent alors s'expliquer simplement par un auto-assemblage dirigé par l'incompatibilité entre les blocs constituant le copolymère comme nous allons le détailler ci-après dans un premier paragraphe. Par ailleurs, de façon à générer de nouvelles morphologies, il est nécessaire d'ajouter des conditions supplémentaires dans cet équilibre énergétique et entropique précaire. L'emploi de monomères très incompatibles, comme dans les copolymères partiellement fluorés, est une possibilité^[16]. Une approche différente consiste à introduire des contraintes de type entropique en formant des copolymères en étoile, ramifiés ou cycliques. Enfin, une dernière approche est de former ce que l'on peut appeler des copolymères à contrainte conformationnelle en introduisant un bloc rigide au sein de l'unité de base, créant ainsi des copolymères du type rigide-flexible ("rod-coil" selon la terminologie anglo-saxonne). Cette fois l'auto-assemblage n'est plus seulement dirigé par la microséparation de phases entre les blocs, mais aussi par la tendance des segments rigides à s'agréger^[8,17]. La compétition entre ces deux processus peut alors mener à des morphologies différentes de celles communément observées dans le cas des copolymères de type flexible-flexible, ou conduire à des structures

auto-assemblées d'échelles caractéristiques inaccessibles avec les copolymères flexibles comme nous le verrons dans le deuxième paragraphe.

I.1. LES COPOLYMÈRES DE TYPE "FLEXIBLE-FLEXIBLE"

Un copolymère à blocs est constitué de chaînes de polymères chimiquement différentes liées ensemble pour former une seule macromolécule. L'architecture des copolymères peut être contrôlée par la méthode de synthèse, et il est ainsi possible de préparer des copolymères diblocs, triblocs, multiblocs, avec une structure linéaire, en étoile, des copolymères greffés et plusieurs autres structures plus exotiques telles que les étoiles "miktoarms" à trois ou quatre branches par exemple, récemment synthétisées par Hadjichristidis et ses collaborateurs (Figure 2)^[10,18,19].

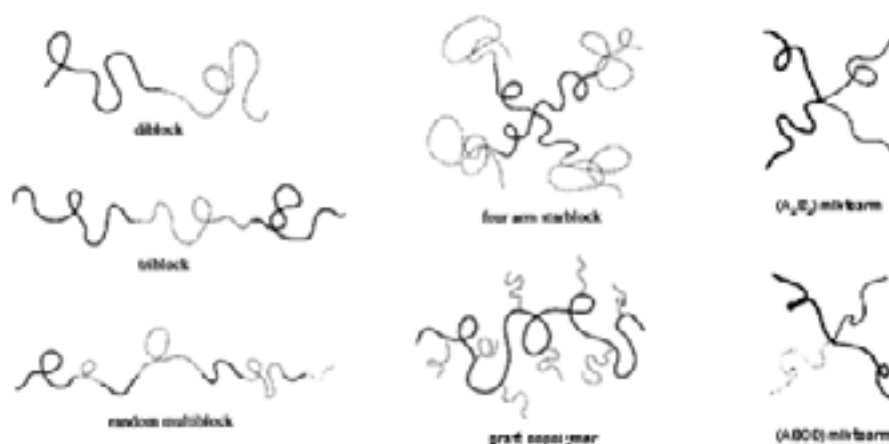


Figure 2 : Panel d'architectures copolymères pouvant être synthétisées : structures linéaires, en étoiles, ou "miktoarms"^[10,18]

Pourtant, même dans le cas le plus simple d'un copolymère diblocs A-b-B, il est possible d'observer un très riche assortiment de phases ordonnées. En effet, un copolymère diblocs de type "coil-coil", c'est-à-dire composé de deux blocs flexibles chimiquement incompatibles (comme par exemple le copolymère : polystyrène-*b*-polyisoprène) peut donner lieu à toute une variété de morphologies suite au processus de microséparation de phases et d'auto-assemblage. Le comportement de tels copolymères diblocs a fait l'objet de nombreuses études depuis plusieurs dizaines d'années tant sur le plan théorique qu'expérimental et est donc à présent relativement bien compris^[20-22].

C'est Meier en 1969^[23] qui pour la première fois a présenté une théorie sur la formation des microdomaines. Dans un premier temps restreinte aux copolymères diblocs et aux domaines sphériques, cette théorie a été par la suite élargie (toujours par Meier) à différentes formes de domaines ainsi qu'à l'effet et à la présence de solvant ou d'homopolymères^[23]. Parallèlement, Krausse a étudié les conditions générales de la micro-ségrégation de phases et a établi (en parfait accord avec les résultats de Meier) que cette séparation de phases était plus difficile dans le cas des copolymères à blocs que dans le cas des homopolymères et que cette difficulté augmentait avec le nombre de blocs^[24,25]. Ont suivi en 1973 les travaux de Leary et Williams^[26,27] ainsi que ceux de Krigbaum^[28] qui ont respectivement proposé un modèle pour le cas de copolymères triblocs *A-b-B-b-A*, et formulé une théorie prédisant les dimensions des microdomaines dans le cas particulier d'une structure lamellaire. Puis, c'est en 1975 qu'Helfand^[29,30] a appliqué aux copolymères la théorie générale des champs moyens, plus communément dénommée sous les termes anglo-saxons : "self-consistent field theory" (SCFT) ou "mean field theory". De même, dans le domaine des théories de champ moyen, Benoit et al.^[31] ont développé dès 1987 le formalisme RPA (Random Phase Approximation), introduit 8 ans plus tôt par de Gennes^[32], visant à calculer le point critique de microséparation de phases, ou point de transition ordre-désordre, en fonction de la structure des copolymères étudiés. Les études théoriques se sont ensuite poursuivies de façon continue et ont gagné en précision jusqu'à encore très récemment avec les travaux de Matsen et Bates ou Rasmussen, publiés en 2000^[15,33,34], visant à améliorer la théorie SCFT appliquée aux copolymères à blocs. Par ailleurs, il est important de signaler différentes autres approches prédictives pour l'étude de l'auto-assemblage de copolymères. Cependant, ces approches sont beaucoup moins développées car plus récentes. Nous pouvons tout de même citer à titre d'exemple les travaux de Binder en modélisation par les méthodes de dynamique moléculaire ou Monte Carlo^[35-37], travaux qui tendent d'ailleurs à confirmer les prévisions faites par la théorie SCFT.

L'ensemble de ces études a permis de construire un diagramme de phases théorique pour un copolymère diblocs de type "flexible-flexible" ayant une structure symétrique. Ce diagramme de phases classique est représenté sur la Figure 3.

On remarque la présence de deux grands domaines, le domaine désordonné (caractérisé par un système parfaitement homogène) et celui ordonné, séparés par une frontière appelée : transition ordre-désordre. Au sein du domaine ordonné, on observe les morphologies bien connues à base de sphères, de cylindres ou de lamelles, mais aussi des phases plus complexes comme la phase cubique bicontinue, aussi appelée phase gyroïde.

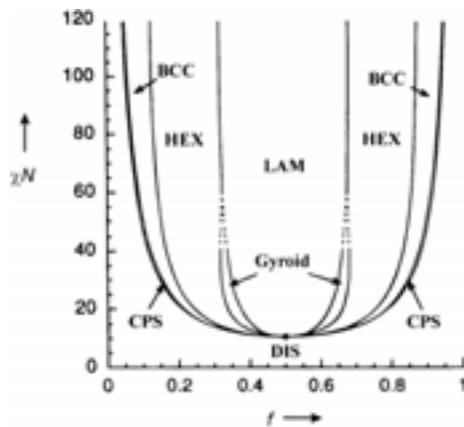


Figure 3 : Diagramme de phases théorique d'un copolymère "coil-coil" symétrique en composition^[9] ; BCC cubique centrée, HEX hexagonale, LAM lamellaire, CPS cubique faces centrées, DIS désordonnée

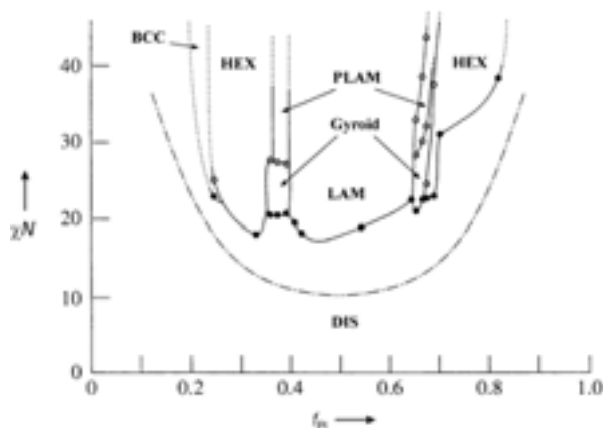
On peut aussi remarquer que les morphologies et les tailles des structures obtenues par le jeu de la microségration de phases dépendent de paramètres thermodynamiques. En effet, le processus d'auto-assemblage résulte d'une enthalpie de mélange défavorable et d'une faible entropie de mélange, le lien covalent entre les blocs (A et B incompatibles) empêchant une séparation de phases macroscopique. Cette microségration de phases, dans le cas des copolymères "coil-coil", dépend donc du degré de polymérisation total N ($N=N_A+N_B$, avec N_A et N_B les degrés de polymérisation respectifs des blocs A et B), du paramètre d'interaction de Flory-Huggins χ_{AB} et des fractions volumiques des blocs constitutifs (Φ_A et Φ_B , $\Phi_A+\Phi_B=1$). Le paramètre d'interaction de Flory-Huggins représente la force des interactions répulsives entre les blocs formant le copolymère, ou en d'autres termes, χ_{AB} mesure l'incompatibilité entre les deux blocs. De plus, χ_{AB} est inversement proportionnel à la température (T) et est habituellement exprimé comme suit : $\chi_{AB}=a+\frac{b}{T}$, avec a et b des paramètres propres au système étudié. Le produit $N\chi_{AB}$, aussi communément appelé paramètre réduit, illustre alors le degré de microségration de phase et permet de distinguer trois régimes : (i) le domaine de faible ségrégation (très proche de la transition ordre-désordre : $N\chi_{AB} \leq 10$), (ii) le domaine de forte ségrégation pour $N\chi_{AB} > 100$, (iii) ainsi qu'un domaine intermédiaire pour $10 < N\chi_{AB} < 100$.

Expérimentalement, la majorité des travaux consacrés à l'étude du comportement en masse des copolymères diblocs de type "flexible-flexible" a été réalisée dans le domaine de forte ségrégation. Dans ce régime, les frontières entre les différentes phases sont des lignes verticales et les différentes morphologies, résultant du phénomène de microségration de phases, peuvent être modifiées de sphère à sphère inversée en passant par les cylindres et les

lamelles, uniquement en changeant la fraction volumique relative des blocs (comme prédit par la théorie SCFT, voir Figure 3 et Figure 4). Au contraire, dans le domaine du diagramme de phases proche de la transition ordre-désordre, régime de faible ségrégation, les frontières entre les phases ne sont plus verticales mais elles adoptent une courbure de plus en plus prononcée au fur et à mesure que l'on s'approche de cette transition. De telles limites de phases incurvées ont donc pour conséquence de rendre possible des transitions ordre-ordre (thermiquement induites) aux abords de la transition ordre-désordre.

Les études expérimentales ont donc permis de mettre en évidence l'ensemble des différentes morphologies prédites par la théorie ainsi que des microstructures plus exotiques telles que les lamelles ondulées, ou perforées, ou encore des morphologies bicontinues sensiblement différentes de la structure gyroïde, comme le montre le diagramme de phases déterminé expérimentalement par Bates et al.^[38] pour un copolymère polystyrène-*b*-polyisoprène (PS-*b*-PI) représenté Figure 4. L'ensemble des morphologies individuelles ayant été observées expérimentalement est détaillé Figure 5.

Figure 4 : Diagramme de phases expérimental obtenu pour un copolymère PS-*b*-PI^[38]



Force est de constater que cette thématique a fait l'objet de nombreuses publications de revues ou d'ouvrages de référence^[8-10,39]. C'est pourquoi, pour illustrer cette partie sur l'auto-assemblage en masse des copolymères de type "coil-coil" et afin de fournir un aperçu de l'état d'esprit des recherches dans cette thématique, nous avons décidé de ne présenter que quelques travaux récents et innovants sur des copolymères diblocs, triblocs, sur des architectures plus complexes, mais aussi sur des mélanges de copolymères tout en gardant à l'esprit que nous ne couvririons qu'une infime partie de toute la variété de structures étudiées dans ce domaine.

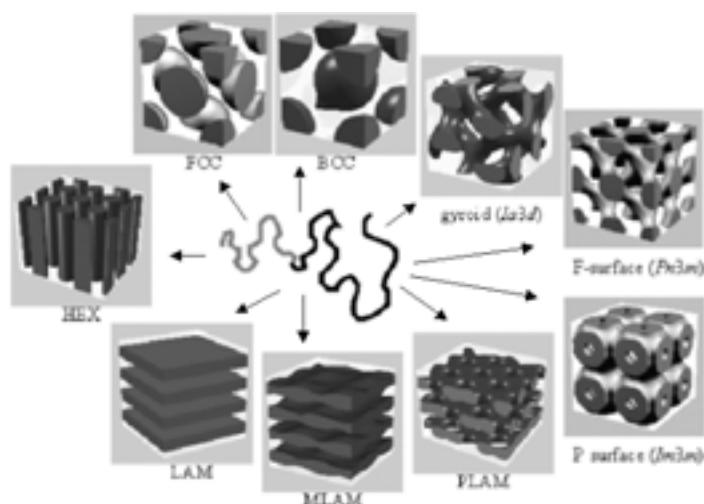


Figure 5 : Différentes morphologies observées à partir de copolymères diblocs de type A-b-B^[39]

Débutons tout d'abord par un exemple fondé sur le système le plus simple : un copolymère diblocs, polystyrène-*b*-poly(acide acrylique) (PS-*b*-PAA) obtenu par Bendejacq et al.^[40]. La particularité de ce copolymère provient de son mode de synthèse. En effet, la plupart des études expérimentales sur l'auto-assemblage des copolymères ont fait appel à la synthèse par voie anionique vivante pour la préparation des polymères. Cette voie permet, dans la mesure où les mécanismes de croissance sont “vivants”, d'obtenir des indices de polymolécularité (ou indices de polymétrie) $I = \frac{\overline{M}_w}{M_n}$ inférieurs à 1,1 avec une hétérogénéité de composition entre les chaînes négligeable, ce qui est favorable à la formation de morphologies bien structurées par microséparation de phases. Au contraire, dans le cas des polymères ayant des indices de polymolécularité proches ou supérieurs à 2, l'organisation en microdomaines bien ordonnés n'était pas vérifiée suggérant que la dispersion en masse pouvait compromettre cette organisation^[41,42]. Les copolymères utilisés par Bendejacq et al. ont été synthétisés non par voie anionique mais par polymérisation radicalaire contrôlée suivant un procédé développé par Rhodia (MADIX), et ont des indices de polymolécularité compris entre 2,1 et 2,6. Pourtant, l'étude de films obtenus par évaporation de solutions en solvant non sélectif (THF) a permis de mettre en évidence la formation de structures très bien ordonnées, et ce malgré la forte dispersion en tailles des copolymères PS-*b*-PAA. Les auteurs ont donc observé par TEM et vérifié par SAXS la formation de phases lamellaires ou hexagonales cylindriques en fonction des fractions volumiques respectives de chaque bloc (Figure 6).

Le deuxième exemple porte sur des copolymères à architecture plus complexe : des étoiles “miktoarms”. Les copolymères à blocs en étoile font partie de la catégorie des copolymères non linéaires. Tout comme dans le cas des copolymères linéaires, les copolymères en étoile donnent lieu à des microséparations de phases en raison de l'incompatibilité entre leurs blocs.

L'étude de l'effet du nombre de branches sur les morphologies obtenues en masse par auto-assemblage (comparativement aux copolymères linéaires équivalents) a été significativement développée grâce aux travaux du groupe de Hadjichristidis sur des étoiles à 3 branches, 4 branches et plus^[18,19].

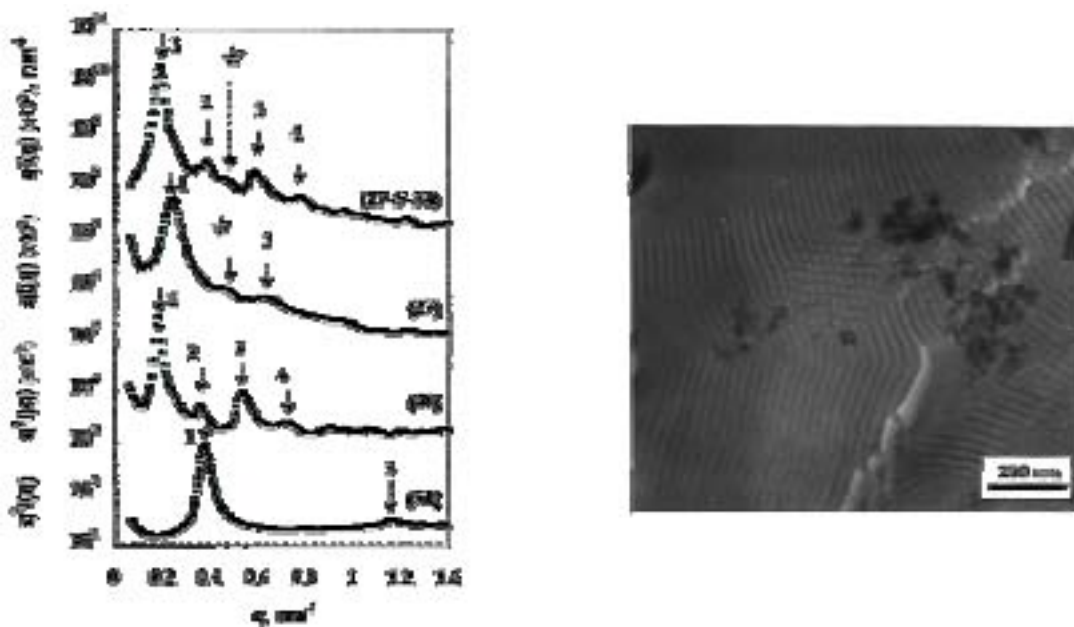


Figure 6 : Regroupements angulaires (SAXS) et clichés (TEM) des phases lamellaires et hexagonales observées dans le cas de copolymères PS-*b*-PAA à fort indices de polymétrie^[40]

Dans le prolongement de cette étude Hadjichristidis et al. ont synthétisé des étoiles à 16 branches - 8 de polystyrène et 8 de polyisoprène - liées en un seul point, et étudié leur comportement^[43]. L'étude par TEM et SAXS montre que des étoiles de masses molaires comprises entre 330000 g/mol et 894000 g/mol avec des compositions en polystyrène comprises entre 47 et 37%, forment par microségrégation de phases une unique morphologie de type lamellaire (Figure 7).

Du point de vue strict des morphologies, ces systèmes se comportent donc, en parfait accord avec la théorie, comme les copolymères diblocs linéaires équivalents.

Les deux exemples qui vont suivre ont pour objectif un domaine très attractif à ce jour : la préparation de matériaux (nano)poreux. Dans cette optique, les copolymères à blocs qui s'auto-assemblent en mésophases cylindriques (continues) ou bicontinues (gyroïdes), sont effectivement très intéressants car ces morphologies consistent en une phase continue, formée par un des blocs, enrobée dans une matrice formée d'un autre bloc. Puisque les copolymères diblocs de type "coil-coil" forment typiquement des séparations de phases de tailles

caractéristiques comprises entre 10 nm et 1 μ m, la dégradation du bloc qui constitue la phase continue (par exemple des cylindres) peut permettre d'accéder à un matériau nanoporeux.

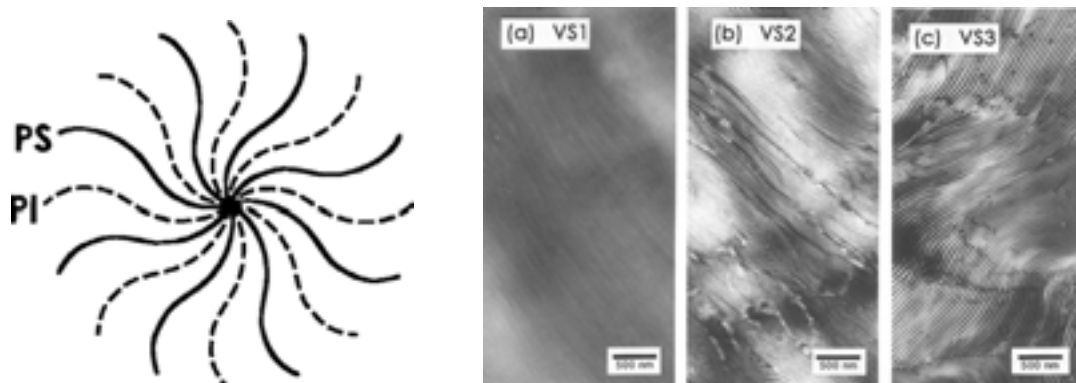


Figure 7 : Représentation schématique de l'étoile à 16 branches et clichés (TEM) de 3 échantillons de masses molaires différentes^[43]

Liu et ses collaborateurs ont montré la faisabilité d'une telle approche en utilisant une série de copolymères diblocs poly(acrylate de *tert*-butyle)-*b*-poly(méthacrylate de 2-cinnanoylcetyle) *PtBA-b-PCEMA*^[44-46]. Pour des rapports de longueur de blocs bien appropriés, le système s'auto-organise en une phase cylindrique de *PtBA* plongée dans une matrice de *PCEMA*. Après réticulation de la phase *PCEMA* et hydrolyse des blocs *PtBA*, des films nanoporeux perméables à l'eau ont été obtenus. En ajustant la longueur des blocs *PtBA*, la taille des pores au sein des films a pu être variée entre 10 et 50 nm. Des films possédant des pores de tailles plus importantes (jusqu'à 100 nm) ont aussi pu être préparés en mélangeant un copolymère triblocs *PI-b-PCEMA-b-PtBA* avec 10% en masse d'homopolymère poly(acrylate de *tert*-butyle). L'homopolymère *PtBA* étant miscible avec les blocs *PtBA* appartenant au triblocs, il gonfle ainsi les domaines cylindriques^[47]. Pourtant, l'utilisation d'une morphologie cylindrique pour la préparation de films nanoporeux peut être un inconvénient. En effet, si aucune précaution n'est prise lors de la formation du film (orientation sous champ électrique ou sous cisaillement par exemple), les cylindres ne seront organisés que dans des monodomains, chacun pouvant avoir des orientations différentes. En conséquence, l'ensemble des cylindres ne traversera pas le film et certains d'entre eux formeront des "culs de sac" défavorables à sa perméabilité. Une façon de résoudre ce problème est d'utiliser des copolymères formant une morphologie bicontinue du type gyroïde. Hashimoto et ses collaborateurs ont pu obtenir, par exemple, une microséparation de phases bicontinue de morphologie gyroïde en mélangeant un copolymère dibloc symétrique polystyrène-*b*-polyisoprène (*PS-b-PI*) avec 38% en masse d'homopolymère *PS*^[48]. La dégradation par

ozonolyse de la phase polyisoprène (PI) conduit alors à un matériau nanoporeux composé de canaux d'un diamètre de 20-30 nm régulièrement espacés. Malheureusement, les auteurs n'ont pas étudié la porosité de ces films, mais ont par contre recouvert la surface des pores avec du nickel de façon à étudier les applications potentielles de leur système en tant que nanoréacteur de polymérisation.

Enfin, comme nous l'avons déjà signalé, il existe bien d'autres systèmes et lignes de recherches dans ce domaine, des plus simples aux plus complexes, du copolymère diblocs linéaire en passant par les systèmes cycliques aux mélanges de copolymères diblocs et triblocs (travaux du groupe de Stadler par exemple^[49]). De plus un des défis importants à venir est – nous venons de le souligner – de pouvoir orienter les différentes morphologies organisées en monodomains pour atteindre des organisations à plus longue portée (à l'échelle du centimètre)^[3].

I.2. LES COPOLYMÈRES DE TYPE “RIGIDE-FLEXIBLE”

La grande majorité des copolymères étudiés jusqu'à présent sont de type flexible-flexible (“coil-coil”). Comme nous venons de le décrire, le diagramme de phases en masse de copolymères constitués de tels segments est particulièrement riche. En remplaçant l'un des blocs d'un copolymère “coil-coil” diblocs par un segment compacte et rigide, nous obtenons un copolymère diblocs du type rigide-flexible : “rod-coil” selon la dénomination anglo-saxonne. La différence de rigidité des blocs entre la partie compacte (bâtonnet rigide) et la partie flexible (conformation classique en pelote statistique) affecte de façon importante l'arrangement moléculaire (en particulier dû à des interactions de type cristal-liquide^[50-52]) et modifie donc la nature des structures supramoléculaires thermodynamiquement stables obtenues. En effet, dans le cas des copolymères de type “rod-coil”, l'auto-assemblage n'est plus seulement conduit par la ségrégation en mésophases, mais il est aussi affecté par plusieurs autres processus. Au cours du processus d'auto-assemblage des copolymères rigide-flexible, l'un des phénomènes entrant en compétition avec la microséparation de phases est l'agrégation des segments rigides pour former des domaines cristallins (ou cristaux-liquides). De plus, par comparaison avec les copolymères de type “coil-coil”, l'introduction d'un bloc rigide entraîne une asymétrie conformationnelle qui se traduit par une augmentation du paramètre d'interaction de Flory-Huggins χ_{AB} ^[53-55]. La séparation de phases dans les systèmes rigide-flexible peut alors, par accroissement du paramètre χ_{AB} , apparaître pour de

plus faibles masses molaires (faibles degrés de polymérisation N) que dans le cas des systèmes flexible-flexible. Le produit $\chi_{AB} N$ étant maintenu constant pour la comparaison, le paramètre réduit critique, $(N\chi_{AB})_c$, caractéristique du point de microséparation de phases, est ainsi plus faible dans le cas d'un copolymère de type "rod-coil" (8,5) que dans le cas de copolymères de type "coil-coil" (10,5)⁵⁶. Les structures supramoléculaires dans les systèmes de type "rod-coil" ont donc pour origine la combinaison de trois grandes forces dirigeant l'organisation : la première étant la répulsion mutuelle entre les blocs incompatibles, la seconde étant la contrainte imposée par la connectivité (liaison covalente) entre les blocs, et la dernière étant la tendance des parties rigides à former des domaines orientés, ordonnés, voire cristallins. Les oligomères de type "rod-coil" sont ainsi d'un très grand intérêt dans la mesure où ils permettent d'accéder à des séparations de phases ayant des tailles caractéristiques inaccessibles avec les copolymères diblocs flexible-flexible classiques. Ces derniers forment des morphologies de tailles typiquement comprises entre 10 nm et 1 μ m, contrairement aux copolymères "rod-coil" pouvant former des structures caractéristiques de quelques nanomètres⁵³⁻⁵⁶. Enfin, outre le large domaine de structures pouvant être obtenu à l'échelle nanométrique, une caractéristique importante supplémentaire apportée par les blocs rigides tient au fait qu'ils peuvent conférer des propriétés singulières au matériau supramoléculaire comme celles électrochimiques, photophysiques, optiques ou électroniques.

Une théorie générale comparable à celle établie pour les copolymères de type "coil-coil" et capable de rendre compte du comportement en masse des copolymères "rod-coil" n'est pas encore disponible. Néanmoins, un nombre croissant d'études théoriques a été mené, décrivant la formation de différentes mésophases, majoritairement des phases de type smectique (lamellaire) ou nématique comme nous allons le décrire dans un premier temps, alors que ces mêmes théories ne permettent pas, dans l'état actuel de leur avancement, de prédire des morphologies non-lamellaires exotiques, ce que nous illustrerons dans un second temps dans une partie dédiée plus particulièrement à des travaux expérimentaux récents.

Le plus faible nombre d'études théoriques visant à expliquer et prédire l'organisation des copolymères de type "rod-coil" comparativement aux systèmes "coil-coil" reflète aussi directement le fait que la quantité d'études expérimentales a été, jusqu'à très récemment, limitée.

Les tout premiers travaux théoriques sur le comportement en masse des copolymères rigide-flexible ont été initiés par Semenov et Vasilenko en 1986⁵⁷. Les auteurs, en tenant

compte à la fois des caractères *rigide* et *copolymère à bloc*, ont introduit un modèle englobant les interactions stériques au sein des blocs rigides, l'étirement des parties flexibles, ainsi que les interactions non favorables entre les deux types de blocs. Dans un premier temps, en supposant que les parties rigides devaient strictement s'aligner dans la direction normale à un assemblage de type lamellaire, Semenov et Vasilenko ont considéré deux phases (une phase nématique et une phase smectique-A) ainsi que la transition entre les structures de type monocouche et bicouches. Au cours de développements ultérieurs, ils ont introduit la phase smectique-C, dans laquelle les blocs rigides ont la particularité de s'incliner pour former un angle θ avec la direction normale à la phase lamellaire. Ces auteurs ont alors construit une théorie et un diagramme de phases pour les copolymères de type "rod-coil" décrivant des transitions du second ordre permettant de passer de la phase nématique à la phase smectique-A et de la phase smectique-A à la phase smectique-C grâce à l'augmentation de la valeur du paramètre d'interaction χ ^[51].

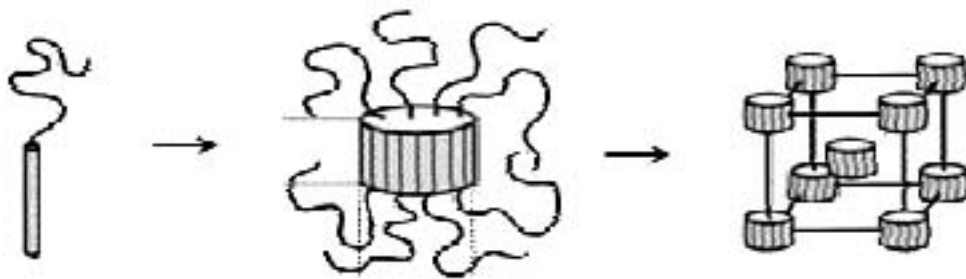


Figure 8 : Représentation schématique de l'auto-assemblage d'un copolymère "rod-coil" en une structure en "palet de hockey" et l'organisation de ces derniers en une structure non lamellaire^[17]

Les travaux dans ce domaine se sont poursuivis et élargis aux copolymères linéaires multiblocs notamment, avec l'observation pour la première fois d'une phase non lamellaire par Williams et Fredrickson en 1992^[52]. Au sein de cette phase, les segments rigides (bâtonnets) s'assemblent en disques de taille finie (des *palets de hockey*) enveloppés par une couronne formée par les parties flexibles, conduisant ainsi à une morphologie nouvelle de micelles cylindriques finies (Figure 8). Dans le même temps, la morphologie micellaire sphérique classique a été décrite comme étant instable en raison des contraintes trop importantes qu'exigerait un arrangement compact au centre de la micelle. Par ailleurs, l'effet de différents paramètres sur la phase lamellaire ont été étudiés, comme le cas particulier de l'impact de la rigidité des bâtonnets formant le copolymère présenté par Matsen^[55]. Enfin les travaux les plus récents ont été conduits en appliquant la théorie de champ moyen (SCFT) aux systèmes

semiflexibles de copolymères à blocs^[58]. Ils ont montré entre autres, que seules les morphologies dans lesquelles les segments flexibles se situent du côté convexe de l'interface sont thermodynamiquement stables (que ce soit dans le régime de forte ségrégation ou dans le régime de faible ségrégation). Ces travaux ont aussi permis de confirmer les prédictions portant sur les transitions entre les phases isotropes et nématiques ou plus généralement sur les transitions de phases isotrope-lamellaire^[58].

Pourtant, l'ensemble de ces travaux ne permet pas à l'heure actuelle de prévoir la totalité des structures originales rencontrées au cours des études expérimentales sur l'auto-assemblage de copolymères du type rigide-flexible. A ce propos, des ouvrages et des revues ont déjà été publiés par différents experts dans le domaine^[8,17,59-62]. Un grand nombre de synthèses de copolymères diblocs et triblocs de type rigide-flexible ainsi que leurs structures supramoléculaires intéressantes et leurs propriétés novatrices y ont été décrites en détail, c'est pourquoi nous n'allons pas présenter ici une bibliographie totalement exhaustive sur les systèmes "rod-coil" déjà publiés. Nous allons donc plus simplement donner un rapide aperçu des grandes lignes de recherches actuelles dans cette thématique, et pour illustrer cela, nous avons choisi de mettre en avant quelques travaux récents portant sur le "design" de copolymères "rod-coil" et leur auto-assemblage en structures supramoléculaires originales.

D'une manière globale, les copolymères rigide-flexible peuvent être classés en deux grandes catégories, ceux constitués de blocs rigides dont les longueurs sont parfaitement contrôlées et égales (pas de dispersion en taille des segments bâtonnets), et ceux présentant une dispersion au niveau de la taille des parties rigides (due à la méthode de synthèse). Une telle classification permet de séparer les différents efforts de recherche menés dans ce vaste domaine en deux thématiques et est justifiée par le fait bien établi que la dispersion en taille a une forte influence sur les propriétés cristallines des macromolécules rigides (travaux du groupe de Tirrell^[63,64]). Plaçons nous tout d'abord dans la première approche : les copolymères formés de blocs rigides isomoléculaires. Des travaux particulièrement intéressants ont été effectués par le groupe de Stupp sur des copolymères triblocs styrène-*b*-isoprène-*b*-biphénylester^[65,66]. Des expériences de microscopie électronique en transmission et de diffusion des rayons-X aux petits angles révèlent que ces copolymères triblocs de type rigide-flexible s'auto-assemblent en des structures de type lamellaire d'une épaisseur de 8 nm constituée d'agrégats d'environ 2nm de diamètre. Les auteurs ont alors suggéré, sur la base de ces résultats, un arrangement original pour ces triblocs conduisant à la formation de nanostructures en forme de champignons ("mushroom shaped nanostructures" selon la terminologie désignée par les auteurs) comme représentées Figure 9.

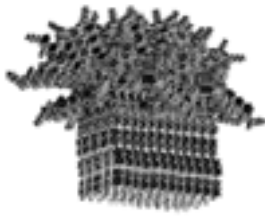


Figure 9 : Nano-structure de type “mushroom”

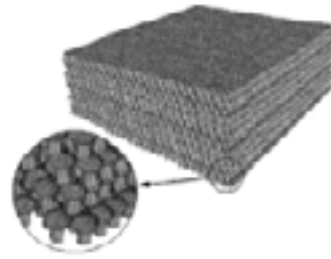


Figure 10 : Morphologie lamellaire obtenue lors de l'organisation des nano-structures

Suite à un processus supplémentaire d'auto-assemblage pas encore totalement élucidé, ces “nano-champignons” s'auto-organisent pour former une mésostructure de morphologie lamellaire (Figure 10). En variant les longueurs respectives des parties rigides et flexibles la taille des nanostructures obtenues a pu être modifiée. De plus, les auteurs ont montré que l'arrangement des différentes couches obtenues est de type polaire et peut donc induire des propriétés en optique non-linéaire^[65]. Enfin il est possible, grâce à ce processus spécifique d'auto-assemblage, de construire des “nano-objets” à persistance de forme parfaitement définis d'une manière simple et directe, comme nous le verrons plus en détail dans le chapitre III.1. : Stabilisation après auto-assemblage en masse.

Plaçons nous à présent dans la catégorie des copolymères “rod-coil” présentant des irrégularités au niveau de la longueur de leurs blocs rigides.

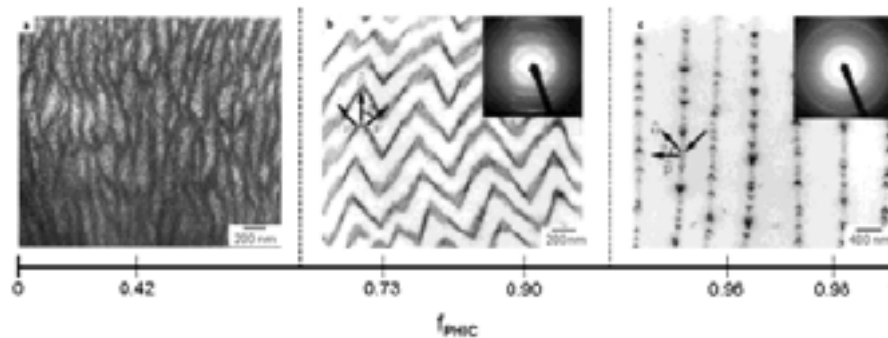


Figure 11 : Phases lamellaires de type ondulée, zig-zag, en point de flèche observées pour un copolymère PS-*b*-PHIC^[67]

Dans ce domaine, les travaux récents de Thomas et Ober sur des copolymères diblocs poly(hexylisocyanate)-*b*-polystyrène (PHIC-*b*-PS) sont bien connus^[67,68]. Ils ont permis de mettre en évidence plusieurs morphologies non prévues par les théories portant sur les “rod-coil” et sans précédent dans les systèmes de copolymères de type flexible-flexible. En

analysant des films obtenus par évaporation de solutions dans le toluène, les auteurs ont rapporté la formation de phases lamellaires de type zigzag (avec une structure en bicouche ou interdigitée) ainsi que la formation de structures de PS en forme de *pointe de flèche* intégrées dans une matrice de PHIC (Figure 11) en plus d'une phase lamellaire ondulée.

A ces morphologies non conventionnelles, il faut ajouter les travaux très récents de Lecommandoux^[69,70] et al. et Schlaad^[71] et al. décrivant respectivement un arrangement non lamellaire de type *double-hexagonal* et des morphologies du type *lamelles ondulées* ou *superondulées*. Les deux groupes ont étudié le comportement en masse de copolymères “rod-coil” à base de polypeptides. Lecommandoux et al. ont observé les différentes phases formées par une série de polystyrène-*b*-poly(L-glutamate de γ -benzyle) (PS-*b*-PBLG - 2000) et polystyrène-*b*-poly(Z-L-lyzine) (PS-*b*-PLys - 2001), tandis que Schlaad et al. ont étudié le comportement en masse de copolymères PS-*b*-PLys à structure en peigne. Dans les deux cas le bloc peptidique a la particularité de former des structures secondaires particulièrement stables, comme des hélices ou des feuilletts, responsables de la formation de phases cristallines thermotropes et/ou lyotropes. Les blocs peptidiques dans leur conformation en hélice (bâtonnet rigide) ont une très forte tendance à s'organiser parallèlement les uns aux autres en une structure de type hexagonale. En jouant sur la température et la fraction volumique du bloc PBLG (segment rigide), en plus des structures classiques d'auto-assemblage attendues (lamellaire et colonnaire hexagonale), Lecommandoux et al. ont pu mettre en évidence la formation d'une structure *double-hexagonale* (Figure 12).

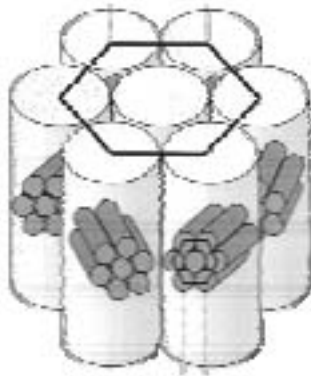


Figure 12 : Morphologie double-hexagonale

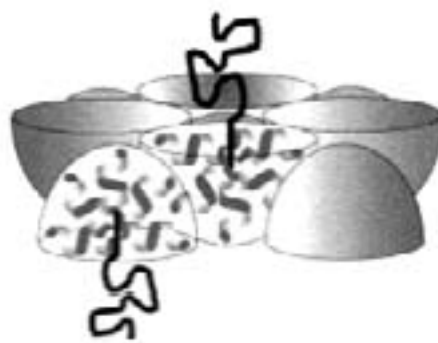


Figure 13 : Structure en goupillon

Schlaad et al. ont, quant à eux, étudié les morphologies à l'état solide en jouant, à l'échelle moléculaire, sur la structure des copolymères diblocs PS-*b*-PLys (Figure 13). Ils ont comparé des copolymères ayant une structure linéaire et des copolymères ayant une structure en forme

de goupillon (étoiles à 4, 8, ou 12 branches de PLys et une branche de PS), et ont montré que ces dernières s'assemblent en phases lamellaires ondulées ou super-ondulées.

Il apparaît donc, après cette rapide présentation de l'avancement des travaux sur les copolymères de type “coil-coil” et “rod-coil”, que ces systèmes suscitent toujours un vif intérêt de la part de la communauté scientifique nationale et internationale. Pourtant, il existe une troisième catégorie de copolymères n'ayant fait l'objet que de très peu d'études, que se soit sur le plan théorique ou pratique. Le cas des copolymères uniquement constitués de segments rigides liés par de très courtes sections flexibles et dans lesquels les blocs rigides peuvent, en plus, être chimiquement différents et incompatibles, a en effet été très peu exploré. Du point de vue théorique, seule une étude récente présentée par Borsali et al.^[56] compare les propriétés de diffusion statique et dynamique (intensité, temps de relaxation, facteur de forme) de copolymères diblocs de type rigide-rigide avec celles obtenues pour des copolymères de type “rod-coil” ou “coil-coil” linéaires et cycliques. Du point de vue expérimental, seul un système : un copolymère triblocs A-b-B-b-A constitué de blocs rigides (A) de poly(L-glutamate de γ -benzyle) et d'un bloc central flexible (B) polyisoprène relativement court a été étudié^[72].

II. L'AUTO-ASSEMBLAGE EN SOLUTION.

Après un premier chapitre relatif aux nombreuses recherches réalisées sur les copolymères et visant à explorer, comprendre et prévoir leur comportement en masse (aussi bien dans le cas des copolymères de type flexible-flexible que dans le cas des copolymères rigide-flexible), nous allons maintenant, dans ce second chapitre, présenter l'état d'avancement des travaux sur l'étude du comportement des copolymères en solution. Nous ferons, dans un premier temps, un bref rappel des aspects théoriques utilisés pour prévoir les morphologies auto-assemblées, puis dans un second temps nous détaillerons la liste des différentes morphologies observées expérimentalement en illustrant celles-ci par des exemples caractéristiques. Nous allons nous attacher en particulier à montrer toute la variété de formes et de tailles pouvant être obtenues par le processus d'auto-assemblage des macromolécules amphiphiles en solution. Pour cela nous mettrons en évidence l'importance de certains paramètres décisifs comme le solvant, la structure chimique des blocs constitutifs, la structure globale (l'architecture) des copolymères ainsi que les conditions de mise en solution.

II.1. CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES ET THÉORIQUES

Les molécules amphiphiles (du Grec *amphi* : les deux, et *philie* : qui aime) sont constituées de segments bien distincts qui interagissent de façons différentes avec leur environnement, c'est-à-dire avec le solvant dans lequel elles sont plongées. Leur comportement est très souvent décrit en termes d'interactions avec l'eau, et dans ce cas particulier, les différents segments sont dits soit hydrophiles soit hydrophobes. De façon à être moins restrictif, il convient d'utiliser une terminologie générale fondée sur le comportement de ces espèces quelque soit le solvant. Il est alors possible de différencier les éléments constitutifs d'une molécule amphiphile en parties "solvophiles" et parties "solvophobes" en fonction de leur plus ou moins grande affinité pour le-dit solvant. Ainsi, en solution (en milieu sélectif), les molécules amphiphiles s'auto-assemblent spontanément pour former une variété de structures regroupées sous le terme générique de *micelle*. Sous cette dénomination générale de micelle sont rassemblés des agrégats allant de la sphère au cylindre en passant par les sphères creuses et des morphologies plus complexes, au sein desquelles, les segments solvophobes forment le cœur de la micelle alors que les segments solvophiles s'étendent dans le solvant. La micellisation a lieu, pour une température donnée, lorsque la concentration en amphiphiles dépasse une concentration appelée c.m.c : concentration micellaire critique. En augmentant plus encore la concentration en amphiphiles, les micelles auront tendance à s'organiser en réseaux (au dessus de la concentration critique de gel : frontière entre les régimes dilués et semi-dilués). Par ailleurs, pour une concentration fixée, la micellisation apparaît en modifiant la température au dessus ou en dessous de la température micellaire critique (t.m.c). En fait, les comportements des tensioactifs classiques (molécules amphiphiles simples) et des copolymères possédant à la fois un bloc solvophile et un bloc solvophobe peuvent être mis en parallèle. C'est en raison de leur structure moléculaire unique qui consiste en une somme d'au moins deux segments (blocs) de nature différente et de leur caractère spécifique, que les copolymères à blocs amphiphiles trouvent de multiples applications dans de nombreux domaines, en tant que compatibilisant, émulsifiant, stabilisant, épaississant ou en formulation pour la cosmétologie ou la médecine (en tant que vecteurs de principes actifs) pour ne citer qu'eux. De plus, dans le cas des copolymères, la notion d'"*amphiphilie*" a une signification très large. Elle englobe non seulement la stabilisation des interfaces eau/huile mais aussi celle de toute interface entre des matières avec des énergies de cohésion

différentes : solvants aqueux/organiques, hydrophile/hydrophobe, polaire/apolaire etc. Cette généralisation de la notion d'amphiphilie est motivée par la grande diversité de structure des polymères, elle-même due au large choix d'unités de répétitions (monomères), aux possibilités de copolymérisations, et/ou aux différentes longueurs et structures envisageables pour chaque bloc, en ajoutant enfin la myriade d'architectures possibles : copolymères à blocs, greffés, statistiques, en étoiles, etc. En conséquence ces copolymères peuvent être utilisés en tant que matériaux de substitution des tensioactifs de faible masse molaire et étendre leurs applications dans différents domaines comme par exemple la résolution des problèmes de stabilisation des phases hétérogènes.

C'est pourquoi, l'intérêt porté à la synthèse et à la caractérisation des copolymères à blocs amphiphiles s'est énormément développé ces dernières années.

Dans le cas des copolymères à blocs, un milieu peut être considéré comme étant sélectif s'il est thermodynamiquement bon pour un bloc, mais mauvais pour les autres. La taille et la forme des agrégats formés dans un tel milieu sont alors contrôlées par le biais de plusieurs paramètres affectant la balance entre les trois forces majeures agissant sur le système. Ces trois forces résultent de l'«étirement» des blocs formant le cœur des *micelles* (blocs plus ou moins recroquevillés en fonction du solvant), des interactions entre les chaînes formant la couronne et de l'énergie interfaciale entre le solvant et le cœur de la *micelle*. D'un point de vue purement théorique, la compréhension de ces aspects structuraux passe non seulement par la prise en compte des paramètres thermodynamiques d'auto-assemblage mais aussi par celle des forces mises en jeu entre les macromolécules à l'intérieur des agrégats. Ces deux facteurs (thermodynamique et forces intra-agrégats) combinés aux interactions entre agrégats (forces inter-agrégats) déterminent la structure d'équilibre formée par auto-assemblage. Il est donc essentiel de comprendre les fondements de l'interdépendance entre les morphologies et les tailles d'agrégats obtenus par auto-assemblage d'une part, et les différents facteurs tels la concentration, la température, la composition et la longueur des blocs, l'architecture des copolymères, ou les solvants utilisés d'autre part.

Ainsi, différentes théories plus ou moins complexes ont été élaborées pour décrire le comportement des copolymères en solution. Elles peuvent être classées en deux grandes catégories : celles faisant appel à des lois d'échelles et celles utilisant les théories de champ moyen. Dans la première catégorie (théories des lois d'échelles), de Gennes dans un travail pionnier datant de 1978 (développant les principes énoncés dans la théorie Alexander-de Gennes^[73]) a proposé un modèle décrivant la formation et prédisant la taille et le nombre

d'agrégation des micelles de copolymères en fonction de la longueur des blocs constitutifs et de leur nature^[74-76]. Plusieurs développements ultérieurs fondés sur ces mêmes lois d'échelles ont suivi ; Daoud et Cotton ont étudié les copolymères en bon solvant (modèle des "blobs")^[77], Zhulina et Birshtein ont examiné le cas particulier des copolymères diblocs en solvant sélectif^[78], et les travaux se sont poursuivis jusqu'à aujourd'hui avec ceux très récents de Wu et Gao sur les nanostructures cœur-couronne^[79] et ceux de Shusharina et al. sur les copolymères à blocs constitués d'un bloc polyelectrolyte ainsi que d'un bloc neutre en solvant sélectif^[80,81].

Dans le cas des modèles faisant appel aux théories de champ moyen, les premiers travaux sont apparus en 1983^[82]. Noolandi et Hong ont débuté par l'étude du système le plus simple qu'il soit : la formation de micelles par un copolymère diblocs A-*b*-B en solvant sélectif. Ces auteurs ont déterminé la taille à l'équilibre des micelles en fonction du degré de polymérisation du copolymère ainsi que la variation du nombre d'agrégation en fonction de ce même degré. Leurs résultats ont été comparés avec des études expérimentales de diffusion de rayons-X et de neutrons avec lesquelles ils ont été en parfait accord (tout comme avec les lois d'échelles théoriques précédemment obtenues par de Gennes). De nombreuses évolutions pour ces modèles ont ensuite été publiées, notamment pour les théories SCFT. L'évolution de la concentration critique micellaire, la formation de bicouches lamellaires^[83], l'effet de la température sur le rayon hydrodynamique et sur le nombre d'agrégation dans le cas de systèmes de copolymères diblocs et triblocs^[84], la transition de micelle sphérique à micelle cylindrique^[85], l'influence de la dispersion en masses molaires^[85], sont autant de paramètres ayant été étudiés. En parallèle différents autres modèles ont été développés par Leibler et al.^[86] ou Nagarajan et Ganesh^[87], avec pour même objectif, la compréhension et la prévision du phénomène d'auto-assemblage dans les systèmes de copolymères en solvant sélectif.

Par ailleurs, en marge de ces nombreux travaux à présent très avancés et somme toute assez complexes, il existe une théorie très accessible fondée sur de simples considérations géométriques. Cette théorie, développée par Israelachvili pour des systèmes amphiphiles simples tels que les tensioactifs ou les lipides^[88], est parfaitement applicable et extrêmement efficace dans l'analyse et la prédiction des morphologies obtenues lors de l'auto-assemblage de copolymères. Ce formalisme met en évidence l'importance de la géométrie (macro)moléculaire lors de la détermination des superstructures formées, et permet de décrire de manière quantitative nombre des propriétés physiques ou physico-chimiques de ces systèmes, sans pour autant nécessiter une connaissance absolument détaillée des forces très

complexes agissant entre les chaînes (molécules et par extensions macromolécules et polymères) servant de briques de base à l'auto-assemblage.

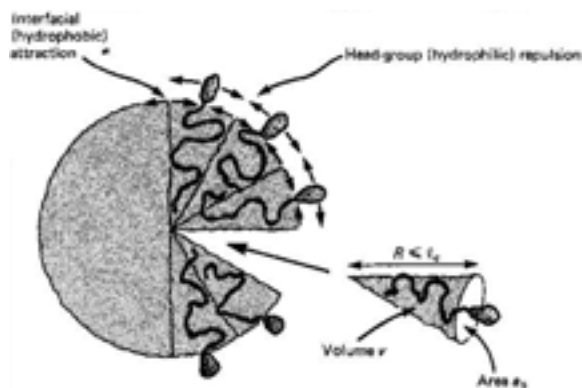


Figure 14 : Représentation schématique des 2 forces opposées agissant pour former un agrégat

Plaçons nous à titre d'exemple dans le cas d'un auto-assemblage dans l'eau. Les forces majeures qui gouvernent l'organisation des amphiphiles en superstructures bien définies telles des micelles ou des doubles couches sont issues pour une part, de l'attraction hydrophobe, à l'interface entre l'eau et le domaine hydrocarboné, ce qui entraîne l'association des (macro)molécules (pour les parties non solubles), et pour une autre part, des répulsions hydrophiles, ioniques ou stériques entre les parties solubles obligeant les molécules amphiphiles à rester en contact avec l'eau. La compétition entre ces deux types d'interactions représentées sur la Figure 14 illustre ainsi la nécessité d'avoir deux forces opposées agissant simultanément à l'interface eau/domaine hydrophobe : l'une tentant de diminuer et l'autre d'augmenter la surface par molécule exposée à la phase aqueuse (surface notée : a_0).

La Figure 14 nous amène alors à considérer les propriétés géométriques d'empilement des (macro)molécules afin de prévoir la forme et la structure d'auto-assemblage. Ces propriétés dépendent de trois paramètres : la surface optimale à l'interface a_0 , le volume occupé par les chaînes hydrocarbonées v , et la longueur effective maximale pouvant être adoptée par ces chaînes l_c (appelée aussi longueur de chaîne critique). A partir de ces considérations, Israelachvili et son groupe ont montré que pour un lipide (dans un solvant donné) caractérisé par les trois paramètres a_0 , v , l_c , la forme de l'auto-assemblage constitué est déterminée par la valeur (sans dimension) du paramètre d'empilement ou paramètre de forme $p = \frac{v}{a_0 l_c}$ [89].

La Figure 15 présente différentes valeurs du paramètre d'empilement p ainsi que les structures des agrégats en découlant, en fonction des différentes géométries typiques pouvant être envisagées pour les briques de base. On peut ainsi prévoir la formation de micelles

sphériques pour les valeurs du paramètre de forme inférieures à $1/3$, de micelles allongées (vermiculaires ou “wormlike” en dénomination anglo-saxonne) pour $1/3 < p < 1/2$, de vésicules ou doubles couches ($1/2 < p < 1$) et de micelles inversées pour les paramètres de forme supérieurs à 1.

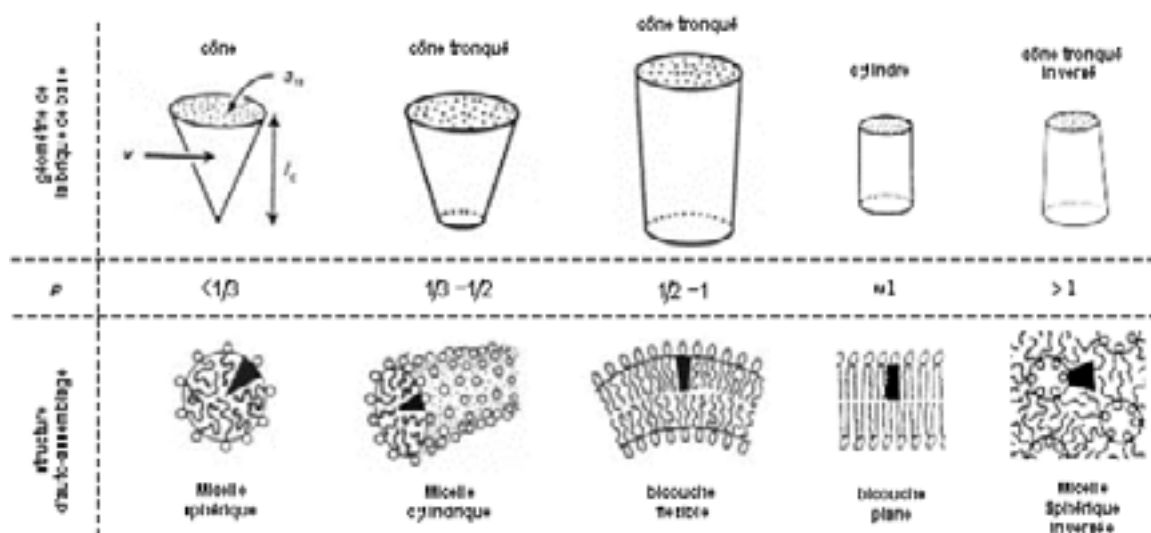


Figure 15 : Tableau récapitulatif de la théorie d'Israelachvili représentant les paramètres de forme (p) et les morphologies associées aux différentes géométries typiques des briques de base à l'origine des auto-assemblages

Chacune de ces structures correspond à l'agrégat le plus stable thermodynamiquement, dans lequel toutes les molécules amphiphiles possèdent une énergie minimale. De plus, grâce à ce modèle simple, il est possible d'anticiper les changements de structure ou les variations des tailles ou des propriétés des agrégats induites par des modifications de l'environnement (force ionique, pH, température, ...) ou des modifications au sein de la molécule de base (introduction d'insaturations ou de branchements). Il est alors nécessaire d'évaluer les conséquences de tels changements sur la forme géométrique à l'origine de l'empilement et d'en déduire les implications quant à la structure auto-assemblée.

Cette théorie très intuitive, vérifiée expérimentalement dans le cas des amphiphiles simples, peut alors être appliquée aux systèmes macromoléculaires et en particulier aux copolymères à blocs amphiphiles. Le paramètre d'empilement est dans ce cas évalué en termes de fractions volumiques pour chacun des blocs formant les copolymères, et le même raisonnement que pour les amphiphiles simples peut être utilisé pour prévoir la morphologie formée par auto-assemblage.

Cette approche est donc constamment utilisée dans l'étude de l'organisation des copolymères en solution tant du point de vue théorique qu'expérimental comme nous allons le voir dans la partie suivante.

II.2. ETUDES EXPÉRIMENTALES

Tout d'abord, il est important de noter que la littérature dédiée à l'étude expérimentale de l'auto-assemblage des copolymères en solution est extrêmement abondante. Les ouvrages généralistes, les articles de revues, et les articles spécialisés traitant des avancées dans le domaine de façon très détaillée sont très nombreux, cela en raison de la très large gamme de polymères disponibles ajouté aux nombreux paramètres permettant d'agir sur la forme, la taille ou les propriétés des assemblages formés. Comme nous venons de le voir dans les concepts théoriques, la formation des micelles de copolymère (utilisé ici en tant que terme générique) nécessite la présence de deux forces opposées, c'est-à-dire une force attractive entre les blocs insolubles menant au phénomène d'agrégation, et une force répulsive entre les blocs solubles évitant une croissance illimitée de la micelle. De plus la stabilisation de telles micelles en solution est rendue possible grâce aux interactions entre les blocs solubles et le solvant.

D'un point de vue pratique et en première approche, les micelles formées à partir de copolymères à blocs peuvent être classées dans deux catégories : les *micelles directes* et les *micelles inverses*. Dans un solvant polaire, comme par exemple dans l'eau, des micelles possédant un cœur hydrophobe et une couronne hydrophile sont formées et sont appelées *micelles directes*. Au contraire, dans un solvant non polaire, ou peu polaire, la localisation des blocs est inversée. Les segments hydrophiles forment le cœur de l'agrégat qui est alors enveloppé par une couronne hydrophobe ; dans ce cas, on parle de *micelle inverse*. De plus, en fonction de la composition des blocs (la fraction volumique respective de chaque bloc), chacune des deux catégories de micelles précédentes peut être subdivisée en deux sous-catégories : les micelles dites "star" ou "crew-cut". Les micelles de type "star" sont composées de copolymères à blocs au sein desquels les segments formant la couronne sont plus longs que ceux formant le cœur, alors que les micelles de type "crew-cut" sont caractérisées par un cœur de taille importante et une couronne relativement fine. Différents systèmes de micelles de type "star" ont été étudiés durant ces trois dernières décennies. Ces travaux ont en général eu pour objectif l'étude des phénomènes de micellisation et le

développement de nouvelles techniques expérimentales plus adaptées, mais ils se sont aussi concentrés sur l'évaluation du large potentiel industriel et technologique des agrégats auto-assemblés de copolymères. Une quantité considérable d'informations a ainsi pu être accumulée s'agissant du nombre d'agrégation, de la concentration critique micellaire, de la dimension du cœur ou de la couronne en fonction de la composition des copolymères, etc. En comparaison, les micelles de type "crew-cut" sont considérées comme un nouveau type d'agrégat et n'ont suscité l'intérêt des recherches expérimentales et théoriques que récemment (au milieu des années 90). Par ailleurs, il existe deux différences majeures entre les micelles de type "crew-cut" et les micelles de type "star" : leur processus de formation et leur morphogénèse. En général, les micelles de type "star" peuvent être préparées directement en dissolvant un copolymère fortement asymétrique dans un solvant sélectif (bon solvant) pour le bloc long. Au fur et à mesure de la dissolution du copolymère, les blocs insolubles (segments courts) constituent le cœur de la micelle, alors que les blocs longs (solubles) forment la couronne. Habituellement, cette méthode appelée processus de *dissolution directe* ne convient pas à la préparation des agrégats de type "crew-cut" en raison de la très forte fraction et de la taille relativement importante des blocs insolubles. De manière à contourner cette difficulté et à préparer des solutions stables de micelles de type "crew-cut" avec des copolymères constitués de courts blocs solubles dans le solvant désiré, il est nécessaire dans un premier temps de solubiliser le copolymère dans un bon solvant commun aux deux blocs. Dans un deuxième temps, vient la phase de micellisation à proprement parler. Un solvant à la fois précipitant pour les blocs longs mais aussi bon solvant pour les blocs courts est additionné de façon à induire le phénomène d'agrégation. Ainsi, en raison de la variation en terme de qualité de solvant, il apparaît que les systèmes de micelles de type "crew-cut" sont plus complexes que ceux constitués par des micelles de type "star" dans lesquels un solvant unique ou un mélange de solvants de composition fixée est utilisé. En conséquence de cette moindre complexité et contrairement aux systèmes "crew-cut", les micelles de copolymères de type "star" ont une forte tendance à former des agrégats de géométrie sphérique. En effet, si des assemblages de morphologie non sphérique n'ont été décrits que peu fréquemment dans les systèmes "star", de multiples morphologies ont été observées pour les systèmes "crew-cut". Nous pouvons citer en plus des structures communes (type sphère, bâtonnet, vésicule ou lamelle) les micelles complexes (agrégats de plusieurs micelles ou vésicules), les tubes et bien d'autres structures plus complexes encore comme les tubes interconnectés, les tores à un ou plusieurs trous ("hollow doughnuts" selon le terme anglo-saxon), les bâtonnets branchés, les bâtonnets interconnectés, les "pincushion" (sphères avec des protubérances), ou autres

vésicules dont les parois sont perforées par des tubes, etc. En général, ces agrégats sont formés par l'adhésion, puis la fusion entre les structures primaires (sphère, bâtonnet...), ou peuvent résulter de réarrangements structuraux et/ou de transformations en passant d'une morphologie à une autre.

Toutes ces morphologies, aussi bien dans le cas des micelles de type “star” que “crew-cut” ont fait l'objet d'articles de revues extrêmement détaillés. Le domaine de la micellisation en solvant non aqueux a récemment été revu par Tuzar et Kratochvil^[90] puis par Gast^[91]. Le domaine aqueux a lui été décrit par Chu et Alexandridis^[92,93]. Enfin deux revues sur l'auto-assemblage des copolymères à blocs ioniques ont été publiées par Selb et Gallo^[94] puis par Eisenberg et ses collaborateurs^[95].

Il apparaît, à la vue de ces différentes contributions, qu'une classification simple et universelle décrivant les phénomènes d'auto-assemblage des copolymères à blocs en solution n'a pas encore été établie. En effet, il est possible de séparer les nombreuses études en fonction de la morphologie d'auto-assemblage observée (micelle sphérique, micelle allongée, vésicule, “star” ou “crew-cut”), en fonction de la structure du copolymère servant de brique de base à l'organisation (linéaire, en étoile, diblocs, triblocs...), ou encore en fonction de la nature chimique de ce même copolymère (coil-coil, rod-coil, hydrosoluble, ionique, hybride...). Chaque auteur ayant son propre point de vue sur la question, nous avons décidé pour notre part, de classer les quelques exemples qui vont suivre en fonction des morphologies observées. Ces travaux ont été choisis afin d'illustrer les dernières avancées dans le domaine au travers d'exemples représentatifs pour les trois morphologies les plus fréquemment rencontrées : les micelles sphériques, les micelles allongées, et les vésicules.

Commençons tout d'abord par des exemples traitant de la formation de micelles sphériques. Les travaux à ce sujet sont nombreux et souvent comparables : formation et caractérisation de structures classiques à deux domaines, les structures de type cœur-couronne. Néanmoins, quelques équipes travaillent en marge de ces lignes classiques de recherche en étudiant des systèmes plus complexes. Gohy et Jérôme, par exemple, ont étudié les assemblages supramoléculaires formés par l'auto-organisation dans l'eau de copolymères triblocs polystyrène-*b*-poly(2-vinylpyridine)-*b*-poly(oxyde d'éthylène) (PS-*b*-P2VP-*b*-POE)^[96,97].

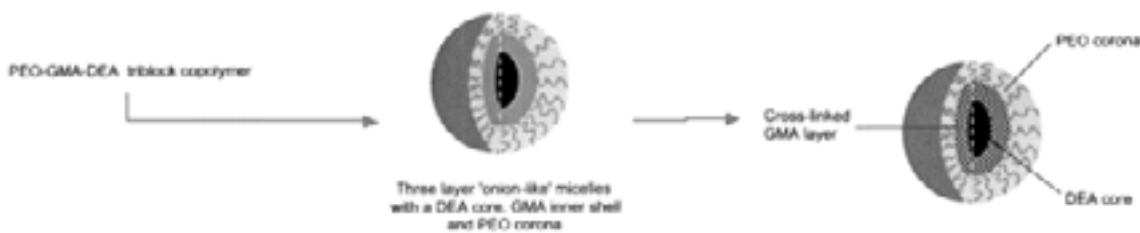


Figure 16 : Illustration de la formation d'une micelle sphérique de type "oignon" à partir d'un copolymère triblocs, et stabilisation par réticulation interne^[98]

Ces auteurs ont décrit la formation de micelles sphériques à trois domaines concentriques, un cœur de PS, une couche intermédiaire de P2VP, et une couronne de POE. De plus, en raison de la solubilité variable du bloc centrale de P2VP dépendante de son degré de ionisation, ces micelles "cœur-coquille-couronne" sont sensibles à des variations de pH, et peuvent par conséquent être potentiellement intéressante pour l'encapsulation et/ou le relargage d'espèces actives comme nous le verrons dans le chapitre IV.2.2. consacré aux Objets stimulables. En parallèle, Armes et ses collaborateurs ont observé le même comportement d'auto-assemblage et les mêmes propriétés en réponse au pH avec des copolymères triblocs poly(oxyde d'éthylène)-*b*-poly(méthacrylate de 2-(diméthyle amino)éthyle)-*b*-poly(méthacrylate de 2-(diéthyle amino)) (POE-*b*-PDMA-*b*-PDEA), ou (POE-*b*-PHEMA-*b*-PDEA) et (POE-*b*-PGMA-*b*-PDEA) respectivement à base de poly(2-hydroxyéthyle méthacrylate) et de poly(glycérol monométhacrylate) pour les blocs centraux^[98,99]. Dans l'eau, ces copolymères triblocs s'auto-organisent en formant des micelles sphériques à multiples couches de type "oignon" (Figure 16) constituées d'un cœur de PDEA, d'une couronne hydrosoluble de POE et des couches intermédiaires correspondantes. Une réticulation ultérieure des blocs centraux (après la formation de la morphologie par auto-assemblage) a permis de figer les structures obtenues de façon quasi définitive, solutionnant ainsi les gros problèmes de stabilité de ce type d'agrégats (ce que nous discuterons plus en détail dans le chapitre III.2.1. : Pérennisation des micelles). Enfin, le même principe (auto-assemblage puis réticulation du bloc central ou du cœur) a été appliqué par Liu et ses collaborateurs sur des copolymères triblocs polyisoprène-*b*-poly(méthacrylate de 2-cinnamoylcéthyle)-*b*-poly(acrylate de *tert*-butyle) PI-*b*-PCEMA-*b*-PtBA ou PBMA-*b*-PCEMA-*b*-PtBA avec le poly(méthacrylate de butyle) comme premier bloc^[100,101]. Cette fois la formation des micelles a été observée en solvant organique, dans des mélanges de THF et d'alcools, mais aussi dans l'eau après l'hydrolyse des blocs PtBA en poly(acide acrylique) PAA.

Par ailleurs, en plus des morphologies classiques de micelles sphériques cœur-couronne et des micelles multicouches, il existe une autre morphologie micellaire originale : les micelles creuses. Un très bel exemple est fourni par les travaux de Jenekhe et al. sur l'auto-assemblage de copolymères diblocs de type “rod-coil” poly(phénylquinoline)-*b*-polystyrène (PPQ-*b*-PS)^[102,103]. Les auteurs ont observé la formation d'agrégats sphériques de très grande taille en solvant organique (de l'ordre de la dizaine de microns), et pour tenir compte des contraintes imposées par la longueur des blocs constituant les copolymères, ils ont, après en avoir proposé l'idée, démontré l'organisation de ces objets en structures micellaires creuses (Figure 17). A partir de ces morphologies, différentes applications ont été envisagées parmi lesquelles l'encapsulation de fullerènes C60 et C70, ainsi que leurs conséquences sur la structure d'auto-assemblage.

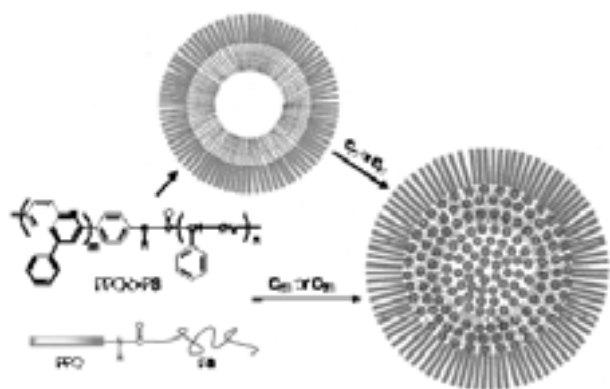


Figure 17 : Micelles creuses utilisables pour l'encapsulation de fullerènes, obtenues avec des copolymères “rod-coil”

Passons à présent aux morphologies micellaires allongées. Nous retrouvons dans cette catégorie les travaux effectués par le groupe de Liu avec les copolymères triblocs PI-*b*-PCEMA-*b*-PtBA. En solvant organique, dans le méthanol en particulier, ces copolymères s'auto-assemblent en micelles allongées constituées d'un cœur de PI, d'une couronne de PtBA et d'une couche intermédiaire de PCEMA, avec des diamètres de l'ordre de la vingtaine de nanomètres et des longueurs pouvant aller jusqu'à plusieurs centaines de nanomètres^[104]. Tout comme dans le cas des micelles sphériques, ces structures ont ensuite été figées par réticulation des parties PCEMA, puis, suite à la dégradation sélective du cœur (ozonolyse des blocs PI) ces micelles allongées ont été modifiées en nanotubes parfaitement réguliers.

Toujours dans la même catégorie, de nombreuses morphologies de type micelle allongée ont été observées à partir de copolymères asymétriques formant des agrégats de type “crew-cut”. En effet, comme nous l'avons déjà mentionné, la théorie prévoit des changements de morphologie d'auto-assemblage en fonction de divers paramètres comme la nature et la

composition du solvant, la présence d'additifs (ions, homopolymères...) ou la concentration en copolymère. Ces prévisions ont été confirmées expérimentalement, et dans un article de revue très récent Choucair et Eisenberg décrivent une série d'études réalisées par leur groupe consistant à observer comment les propriétés des solutions (concentration, nature...) peuvent contrôler l'architecture des agrégats formés par auto-assemblage à partir d'un copolymère donné^[105]. Ces auteurs présentent ainsi la formation de micelles plus ou moins allongées de type "core-shell" (entre une et plusieurs centaines de nanomètres) à partir de copolymères polystyrène-*b*-poly(acide acrylique) PS-*b*-PAA, en faisant varier la composition du solvant, mélange de dioxane et d'eau, entre 9% et 40% en eau (voir Figure 18).

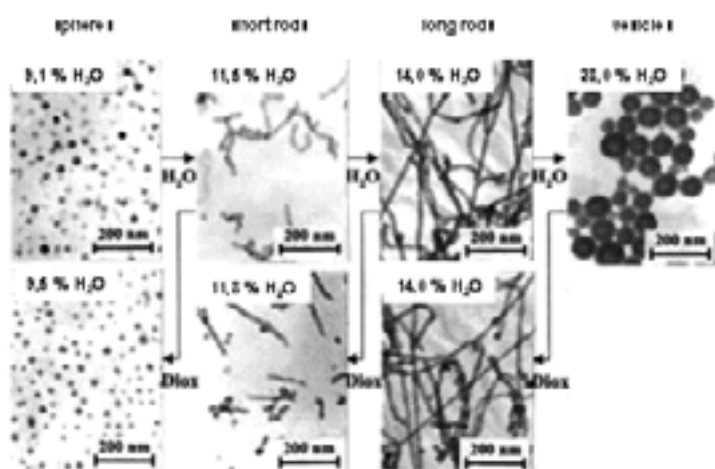


Figure 18 : Clichés (TEM) représentatifs des différentes morphologies observées par Choucaire et Eisenberg^[105] avec un copolymère PS-*b*-PAA asymétrique en faisant varier la composition du solvant

Enfin, en plus des conventionnelles micelles, qu'elles soient sphériques ou allongées, obtenues en général en solubilisant un copolymère à blocs dans un solvant sélectif, il est possible de former des morphologies plus complexes de type vésiculaire^[106,107]. Les vésicules existent depuis l'apparition de la première cellule et jouent un rôle critique dans différents domaines comme le transport de principes actifs ou la protection biologique. Les lipides sont des amphiphiles naturels bien connus pour leur capacité à s'auto-assembler en vésicules (liposomes, membranes cellulaires) possédant de faibles épaisseurs de membrane (i.e. doubles couches auto-assemblées). Pourtant les polymères, qu'ils soient naturels ou synthétiques, peuvent aussi générer des structures vésiculaires dans des milieux variés pouvant aller des solvants organiques au milieu purement aqueux en passant par leur mélange^[108-111]. De telles structures à base de polymères ou de copolymères sont appelées *polymérosomes*. Le groupe d'Eisenberg, par exemple, a observé des vésicules de copolymères diblocs PS-*b*-PAA en

solution dans des mélanges dioxane/THF/H₂O ou DMF/THF/H₂O^[111]. La taille de ces vésicules a pu être manipulée de façon réversible en changeant la composition du solvant et en particulier le pourcentage d'eau. De plus, Eisenberg et ses collaborateurs ont été capables de corrélérer les morphologies d'auto-assemblage et les paramètres moléculaires des copolymères (fractions volumiques respectives de chaque bloc), et cela en accord avec les principes théoriques fondés sur le paramètre d'empilement énoncés par Israelachvili. Un exemple plus récent est fourni par le travail du groupe de Bates, qui a étudié la formation, dans l'eau, de vésicules de copolymères à base de poly(oxyde d'éthylène) (POE)^[109]. Bates et al. ont décrit la formation de polymérosomes à partir de POE-*b*-polybutadiène et de POE-*b*-poly(éthyl éthylène) (POE-*b*-PB et POE-*b*-PEE). Les auteurs ont aussi poussé leurs investigations plus en avant de manière à connaître la structure des vésicules formées et ont développé des expériences de micromanipulation sur ces agrégats. Les résultats montrent que les doubles couches formant les membranes des polymérosomes sont bien plus solides et au moins dix fois moins perméables à l'eau comparativement aux bicouches phospholipidiques classiques. Par ailleurs, Bates et al. ont suggéré qu'un contrôle plus poussé des propriétés de ces membranes pouvait être obtenu en réticulant, de façon sélective, les parties internes des bicouches, à savoir les blocs hydrocarbonés (point sur lequel nous reviendrons plus en détail dans le paragraphe III.2.2. : Pérennisation des vésicules).

Des polymérosomes ont aussi été observés à partir de copolymères triblocs, ainsi que le décrivent Jenekhe et al.^[112] ou Meier et Stoenescu^[113]. Les premiers ont formé des vésicules à partir de copolymères de type "rod-coil-rod" (ABA) poly(phénylquinoline)-*b*-polystyrène-*b*-poly(phénylquinoline) (PPQ-*b*-PS-*b*-PPQ) possédant des propriétés optoélectroniques ou photoniques (dus aux segments π -conjugués). Quant aux seconds, ils ont pour la première fois observé la formation de polymérosomes possédant une membrane asymétrique. Ces auteurs ont démontré que des copolymères triblocs ABC poly(oxyde d'éthylène)-*b*-poly(diméthyle siloxane)-*b*-poly(méthyle oxazoline) (POE-*b*-PDMS-*b*-PMOXA) forment des agrégats de type vésiculaire à membrane asymétrique ; par exemple, dans l'eau, le copolymère A₄₅B₆₅C₃₄₆ s'auto-assemble en orientant les blocs PMOXA vers l'extérieur et les blocs POE vers l'intérieur, en parfait accord avec les considérations géométriques théoriques (les blocs hydrophiles de plus faible fraction volumique se placent à l'intérieur pour favoriser la courbure du système). Pour finir avec les études expérimentales sur les vésicules de copolymères classiques, nous signalons un article très récent (2003) de Schlaad et al.^[114] décrivant la formation d'agrégats à partir d'un mélange de ionomères (copolymères possédant un segment chargé représentant moins de 15% molaire) de charges opposées. En effet, en

mélangeant (en quantités stœchiométriques) les deux copolymères poly(1,2-butadiène)-*b*-poly(méthacrylate de césium) et polystyrène-*b*-poly(1-méthyle-4-vinylpyridium iodide) dans le THF, ces auteurs ont formé des vésicules avec le polybutadiène à l'intérieur et le PS à l'extérieur (Figure 19), le cœur de la bicouche étant formé par l'agrégation des polymères de charge opposée.

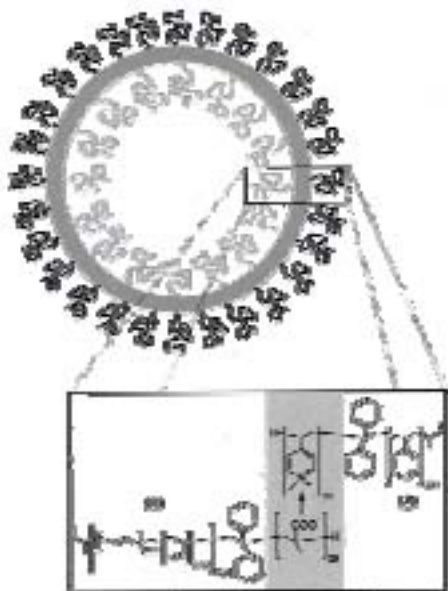


Figure 19 : Vésicule asymétrique en composition, formée par l'auto-assemblage en solvant organique (THF) de ionomères de charge opposée

Par ailleurs et enfin, légèrement différents des polymérosomes “classiques”, les *peptosomes* (polymérosomes à base de polypeptides) représentent une autre voie de recherche sur les vésicules de polymère, dans laquelle, la notion de biocompatibilité prend une place particulière. En fait, les copolymères à base de peptides sont connus pour former des agrégats (généralement des micelles) et sont d'un très grand intérêt puisqu'ils sont sujets à la biodégradation. Ainsi des vésicules biodégradables utilisables en médecine par exemple pour un relargage contrôlé semblent accessibles en employant ce type de copolymères (copolypeptides). L'un des tout premiers exemples suivant cette approche a été décrit par Cornelissen et al.^[115], avec des copolymères diblocs amphiphiles polystyrène-*b*-poly(isocyno-L-alanine-L-alanine) dans l'eau. Puis c'est au cours du déroulement de cette thèse, en 2002, que Schlaad et al. ont observé la formation de peptosomes parfaitement définis à base de polybutadiène-*b*-poly(acide glutamique) (PB-*b*-PGA) directement auto-assemblés dans l'eau^[116].

Ainsi, voilà résumés dans ces quelques pages, les travaux effectués à ce jour sur l'auto-assemblage des copolymères en solution. Ce domaine est donc extrêmement attractif, d'une part en raison des progrès considérables accomplis par la synthèse des briques de base (les copolymères), et d'autre part en raison des multiples morphologies obtenues (de formes et de structures diverses et variées), et enfin en raison des énormes potentiels, tant scientifiques (du point de vue de la compréhension des phénomènes d'auto-assemblage) qu'applicatifs, que nous offrent de tels matériaux.

III. LA STABILISATION.

Une étape supplémentaire doit être ajoutée au procédé de construction de ces nouveaux matériaux polymères à forts potentiels, à savoir leur stabilisation. En fait, après l'étape première de création (synthèse) du copolymère de base, puis après la seconde étape cruciale d'auto-assemblage, une troisième étape de stabilisation, ou réticulation, ou encore pérennisation de l'assemblage peut, dans bien des cas, présenter de sérieux avantages. En effet, dans la quasi-totalité des systèmes obtenus par auto-assemblage, les morphologies d'agrégation formées ne sont stables que dans un certain domaine de concentration, de température ou de pH, et cela que se soit en solution ou bien en masse. La stabilisation, souvent matérialisée par une réticulation sélective, permet alors la pérennisation des morphologies obtenues par auto-organisation et la création de nano-objets à persistance de forme en lieu et place des nano-agrégats temporaires d'origine. Ces objets "figés" peuvent ainsi être manipulés et même extraits de leur environnement de formation, puis réintroduits dans des milieux similaires ou totalement différents sans qu'ils ne subissent de modifications morphologiques ou structurales profondes.

C'est en visant cet objectif (créer des nano-objets à persistance de forme) qu'un certain nombre de travaux ont été entrepris récemment. Nous allons présenter dans un premier temps les études réalisées en vue de la stabilisation d'auto-assemblages obtenus en masse, puis nous verrons dans un deuxième temps, celles qui ont porté sur la pérennisation des morphologies formées par auto-assemblage en solution (micelles, vésicules). Nous pouvons d'ores et déjà remarquer que la quantité d'études menées en solution est largement plus importante que celle dédiée à la stabilisation en masse, ce qui se traduit par un net déséquilibre entre les deux chapitres qui vont suivre.

III.1. STABILISATION APRÈS AUTO-ASSEMBLAGE EN MASSE

La quasi-totalité des structures obtenues par les différents processus d'auto-assemblage en masse, qu'elles le soient à partir de diblocs, de triblocs, ou d'autres types de copolymères, sont centrosymétriques. L'un des défis majeurs à relever dans ce domaine a donc été l'élaboration de structures non-centrosymétriques ainsi que leur pérennisation pour former, par un processus simple, de réels objets non-centrosymétriques comparables aux structures complexes obtenues par de lourdes voies de synthèse multi-étapes (travaux de Heroguez et al.^[117] par exemple). Cet objectif a effectivement été atteint en plusieurs occasions. Un très bel exemple a été publié par Stupp et ses collaborateurs à ce sujet en 1999^[66]. En poursuivant leurs travaux effectués sur l'étude de l'auto-assemblage en masse de copolymères triblocs de type rigide-flexible (voir 1^{ère} Partie : étude Bibliographique, chapitre I.2), ces auteurs ont cette fois utilisé un copolymère PS-*b*-PB-*b*-poly(phényléster). Après l'auto-assemblage de ces triblocs en masse pour former des morphologies de type "champignon", et leur organisation à grande échelle en une structure de type lamellaire, les parties polybutadiène ont été réticulées au sein des agrégats (la polymérisation étant amorcée thermiquement). Ce groupe a ainsi construit des nano-objets non-centrosymétriques parfaitement définis en figeant les agrégats obtenus en masse tout en maintenant leur taille et leur forme (2 nm de large pour 8 nm de long, 70000 g/mol et un indice de polymétrie faible). Une stratégie identique consistant à réticuler le domaine confiné d'un assemblage en masse a été employée par Müller et al. pour créer des micelles non-centrosymétriques, plus connues sous la dénomination à présent couramment utilisée de "micelles de Janus". Différents travaux ont été publiés à ce sujet, avec à chaque fois le même procédé de base^[118-120]. Dans un premier temps, un film de copolymère triblocs (A-*b*-B-*b*-C) polystyrène-*b*-polybutadiène-*b*-poly(méthacrylate de méthyle) (PS-*b*-PB-*b*-PMAM) est préparé. Dû au phénomène d'auto-assemblage en masse (génération spontanée d'une microséparation de phases entre les blocs incompatibles), le bloc minoritaire PB forme des microdomaines sphériques localisés aux interfaces d'une microstructure de morphologie lamellaire de PS et de PMAM (représentation en Figure 20).

Dans un deuxième temps, les microdomaines sphériques de PB sont réticulés dans la phase organisée par un processus radicalaire mettant en jeu les doubles liaisons des segments PB et un amorceur (l'AIBN) activé thermiquement. Dans un dernier temps, le film est dissout dans un solvant commun aux trois blocs (THF). Les morphologies non-centrosymétriques créées sont alors formées d'un cœur de PB entouré d'une couronne compartimentée en deux

hémisphères : l'une constituée des chaînes de PS et l'autre de PMMA comme le montre la Figure 21. Enfin très récemment, les blocs acrylates ont été hydrolysés après la formation des micelles de Janus rendant celles-ci hydrosolubles^[120].

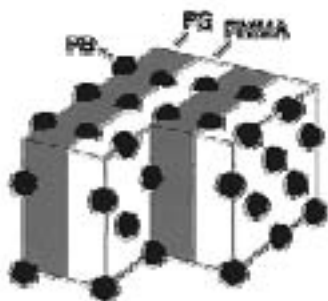


Figure 20 : Morphologie lamellaire PS-PMMA possédant des inclusions sphériques de PB^[120]

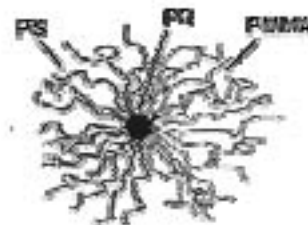


Figure 21 : Représentation schématique d'une micelle de Janus (non-centrosymétrique)^[120]

III.2. STABILISATION APRÈS AUTO-ASSEMBLAGE EN SOLUTION

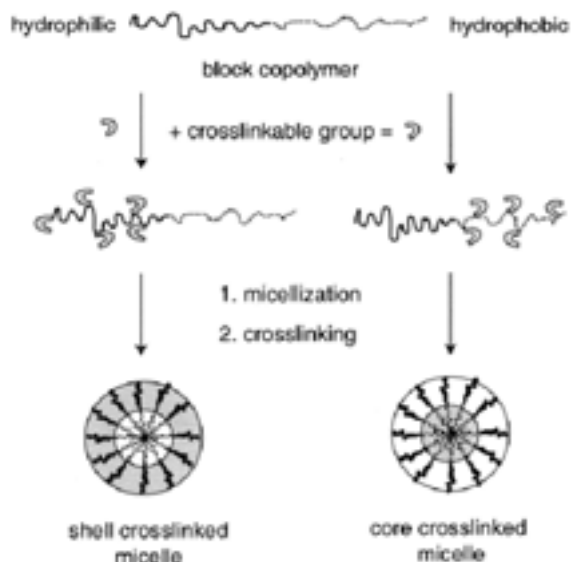
Comme nous l'avons déjà mentionné, les lipides ou phospholipides de faible masse molaire sont bien connus (depuis plus de 30 ans) pour leur capacité à s'auto-assembler et à former des agrégats sphériques comme les micelles ou les vésicules. Pourtant, la stabilité globale de ces structures est d'une certaine manière limitée et insuffisante, même une fois figées après agrégation, via la polymérisation de fonctions réactives appropriés situées sur les lipides de base, ou encore recouvertes et modifiées à leur surface à l'aide de polymères. Une des conséquences de ce manque de stabilité est, par exemple, la rapide élimination de ces vésicules après une administration intravasculaire. Au contraire les auto-assemblages de copolymères, micelles, polymérosomes ou peptosomes, semblent être des alternatives potentiellement très efficaces en raison de la stabilité intrinsèque accrue de ces structures, comparée à celle des assemblages de petites molécules.

III.2.1. PÉRENNISATION DES MICELLES

Les systèmes de copolymères formant des morphologies micellaires par auto-assemblage et permettant une réticulation ultérieure peuvent être classés en deux catégories. Plaçons nous à titre indicatif dans le cas d'un auto-assemblage dans l'eau. Dans la première catégorie, les copolymères à blocs contiennent un ou plusieurs groupements fonctionnels sur le bloc hydrophobe, ce qui permet une réticulation du cœur de la micelle. Dans la seconde catégorie,

les copolymères possèdent des substituants réactifs localisés sur leurs parties hydrophiles, autorisant cette fois la réticulation de la couronne de la micelle. Ces deux approches, réticulation interne et réticulation externe, sont représentées sur la Figure 22.

Figure 22 : Stabilisation des micelles par réticulation interne (du cœur) ou externe (de la couronne)^[4]



III.2.1.1. Réticulation interne

Les possibilités de fonctionnalisation des copolymères de manière à pouvoir réticuler le cœur de la micelle, une fois formée, sont variées. La méthode probablement la plus simple consiste à modifier les bouts de chaînes hydrophobes des copolymères amphiphiles avec une fonction ou un groupe polymérisable. Dans ce cas, la stabilité de l'agrégat micellaire peut être augmenté en réticulant le groupe fonctionnel sans pour autant affecter la partie hydrophobe utile pour une possible encapsulation. Différentes autres stratégies destinées à polymériser le cœur d'une micelle ont été envisagées. Par exemple, l'introduction de multiples groupements polymérisables le long des segments hydrophobes du copolymère à blocs ou l'encapsulation suivie de la polymérisation de monomères de faible masse molaire (piégés dans le cœur hydrophobe de la micelle) ont été étudiées. Ces deux dernières méthodes possèdent néanmoins un inconvénient : la réaction de réticulation, ou de pérennisation de l'assemblage, réduit le volume libre disponible au cœur de la micelle, ce qui est vraisemblablement un inconvénient en terme de capacité d'encapsulation.

Kataoka et ses collaborateurs ont intensivement étudié les systèmes de copolymères à blocs possédant un groupement polymérisable en bout de chaîne hydrophobe^[121-124]. Ces auteurs ont décrit une série de copolymères poly(D,L-lactide)-*b*-poly(oxyde d'éthylène)

contenant un groupe méthacryloyle à l'extrémité des chaînes de PLA (PLA-*b*-POE). Après l'auto-organisation dans l'eau et la formation de micelles, les groupements méthacryloyles ont pu être polymérisés soit thermiquement (en additionnant un amorceur radicalaire) soit photochimiquement (en irradiant un amorceur UV). Les micelles ainsi réticulées (au niveau du cœur de la structure) ont pu être solubilisées en solvant organique non sélectif sans montrer de détérioration, ou mélangées avec de simples tensioactifs sans se désagréger, mettant alors en évidence l'accroissement de stabilité apportée par la pérennisation. Différents autres groupes de recherche ont exploré le domaine des copolymères à blocs amphiphiles porteurs de groupements réticulables distribués le long des segments hydrophobes. Bates et ses collaborateurs ont, par exemple, décrit la pérennisation de micelles allongées de poly(oxyde d'éthylène)-*b*-polybutadiène (POE-*b*-PB), via la polymérisation des groupements vinyliques présents dans les blocs PB formant le cœur de la micelle^[125]. En utilisant un système d'amorçage redox, peroxydisulfate de potassium (K₂S₂O₈)/disulfite de sodium (Na₂S₂O₅) - ferrosulfate (FeSO₄.7H₂O), ils ont réticulé les micelles de manière quantitative sans en modifier la morphologie. En appliquant la même stratégie (polymérisation des substituants présents sur les chaînes hydrophobes), Liu et al. ont, à de multiples reprises, publié la préparation de nanosphères hydrosolubles (micelles réticulées). Les micelles figées ont été obtenues par photo-réticulation UV de différents assemblages de copolymères à base poly(méthacrylate de 2-cinnanoylcéthyle) (PCEMA)^[126-129]. Enfin, quelques autres groupes ont étudié la formation de micelles figées après polymérisation d'un monomère introduit dans les zones hydrophobes des micelles obtenues par auto-assemblage, comme par exemple Maskos et al. ou le groupe de Tuzar^[130,131].

III.2.1.2. Réticulation externe

L'un des premiers exemples traitant du concept de pérennisation externe, c'est à dire de la réticulation chimique de la couronne des micelles de copolymères amphiphiles, a été publié par Wooley et ses collaborateurs en 1996^[132].

Depuis, cette méthode a été développée et étudiée en profondeur^[133-136] et a même été adaptée à des systèmes similaires par d'autres groupes^[137,138]. Le procédé de synthèse conduisant à ces micelles de copolymères à couronne réticulée ou ces "shell crosslinked knedels (SCK)" comme les a nommés Wooley est présenté Figure 23. Nous pouvons dès lors remarquer que la préparation de micelles SCK repose uniquement sur la synthèse du copolymère diblocs amphiphile approprié.

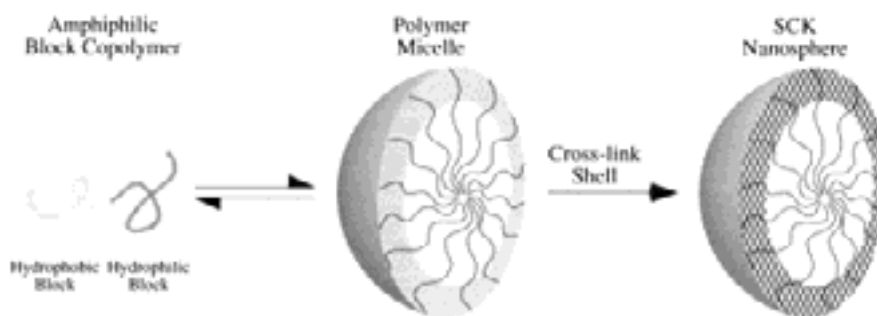


Figure 23 : Procédé de préparation de “shell crosslinked knedels (SCK)” selon la méthode de Wooley et al.^[133]

Il est alors possible de tirer avantage de toute une variété de copolymères de synthèse pour modifier la structure et/ou la composition chimique des micelles réticulées. Ainsi une large gamme de polymères a été utilisée pour la synthèse des blocs hydrophobes constituant le cœur, comme le polystyrène, le polyisoprène, le polybutadiène et le poly(méthacrylate de méthyle). Du côté des blocs hydrophiles, différents monomères ont été employés, parmi lesquels, la 4-vinylpyridine, l'acide méthacrylique ou le méthacrylate de 2-diméthylaminoéthyle. Après l'auto-assemblage des copolymères dans l'eau, la couronne des micelles est chimiquement réticulée par des liaisons covalentes, ioniques ou une combinaison des deux. Les systèmes à base de poly(acide acrylique) sont typiquement réticulés par l'addition d'une diamine^[136], les systèmes contenant du poly(méthacrylate de 2-diméthylaminoéthyle) via une réaction de quaternisation avec le 1,2-bis(2-iodoethoxy)éthane^[137], quant aux couronnes composées de poly(méthacrylate de 2-cinnanoylcéthyle), elles ont été figées par irradiation UV^[101,138]. Enfin, les couronnes en poly(4-vinylpyridine) ont été réticulées en deux temps : quaternisation avec le *p*-chlorométhyle styrène puis photopolymérisation des doubles liaisons du styrène^[132]. Par ailleurs, cette stratégie très efficace ne se limite pas à la préparation de micelles stabilisées de copolymères du type SCK, mais elle permet aussi, grâce à la dégradation sélective des blocs formant le cœur (ozonolyse du polyisoprène par exemple), l'accès à des nano-particules creuses possédant une enveloppe réticulée^[101]. Cette démarche attractive ouvre la voie à la création d'objets dont la morphologie est comparable à celle des vésicules de copolymères stabilisées par réticulation (décrit ci-après).

III.2.2. PÉRENNISATION DES VÉSICULES

Dans le domaine de la pérennisation des agrégats vésiculaires de type polymérosome ou peptosome, seules quelques rares études ont été publiées. Une approche fondée sur l'utilisation des copolymères triblocs poly(2-méthyle oxazoline)-*b*-poly(diméthyle siloxane)-*b*-poly(2-méthyle oxazoline) (PMOXA-*b*-PDMS-*b*-PMOXA), portant des groupements polymérisables à chaque extrémité de chaîne, a été développée par Meier et al. en 2000^[139]. Après une première étape de formation des morphologies de type vésiculaire en solution aqueuse diluée, les groupes méthacrylates portés par les triblocs ont été polymérisés (réticulés) au sein de l'agrégat par un processus radicalaire amorcé par irradiation UV. Ces auteurs ont alors pu isoler leurs vésicules de la solution et préserver leur intégrité, prouvant par la même occasion l'effet stabilisant de la réticulation et la formation de nano-capsules à persistance de forme. Plus récemment en 2002, Discher et al. ont réalisé la réticulation de membranes de polymérosomes hydrosolubles à base de copolymères diblocs POE-*b*-PB^[140]. Comparativement aux vésicules lipidiques classiques ou au système présenté par Meier, les segments polybutadiène (utilisés ici en tant que blocs réticulables) offrent beaucoup plus de groupes réactifs. En conséquence, ce système paraît bien plus approprié à la génération d'objets supramoléculaires extrêmement stables. Ces auteurs ont d'ailleurs prouvé que des vésicules géantes de POE-*b*-PB réticulées étaient stables aussi bien en solvant organique que dans l'eau, et pouvait même être déshydratées et réhydratées sans être détruites.

Ainsi, après avoir dressé un bilan de l'état des travaux dans le domaine de la pérennisation des morphologies auto-assemblées, nous pouvons conclure que la fixation chimique par réticulation (que ce soit en masse ou en solution, au niveau du cœur ou de la couronne) est d'un grand intérêt pour de multiples raisons. Tout d'abord en masse, elle permet de créer et de maintenir indéfiniment des morphologies extrêmement exotiques (micelles du type Janus par exemple). En solution, elle permet d'augmenter la stabilité des agrégats formés et de les rendre quasi pérennes. Par ailleurs, la stabilisation en solution permet d'isoler des objets sachant maintenir leur intégrité en dessous de la c.a.c. (concentration d'agrégation critique), de séparer ces mêmes objets de leur solvant, et de les re-dissoudre dans un autre en préservant leur nature de nano-particules stables. De plus, dans le cas des micelles réticulées au niveau de leur couronne, l'effet est double, avec, en premier lieu, une stabilité accrue évidente, mais aussi un effet très intéressant sur la perméabilité de la couronne fournissant probablement un

moyen de contrôle précis de la vitesse à laquelle des principes actifs pourraient être relargués du cœur de l'agrégat.

IV. NANO-ASSEMBLAGES INTELLIGENTS.

Au sein de ce dernier chapitre bibliographique, nous allons présenter brièvement trois applications potentielles choisies parmi les nombreuses utilisations envisageables pour les systèmes (supra)macromoléculaires issus de l'auto-assemblage de copolymères, chacune suscitant actuellement un important effort de recherche. Parmi ces différentes applications, qu'elles soient directement utilisables ou non, nous pouvons citer, à titre d'exemple, l'emploi des assemblages de copolymères comme matériau de revêtement, matériaux stimulables, point de départ à la formation de biomatériaux, véhicule de principe actif (systèmes d'encapsulation et/ou de relargage), nano-réacteur, ou encore en tant que support pour la construction de nano-matériaux hybrides organique/inorganique^[39]. Il apparaît donc clairement, à la vue de la multitude d'applications envisagées, que les systèmes auto-assemblés possèdent un potentiel hors du commun, souvent à l'origine de l'engouement aussi bien national qu'international qui leur est voué. Ainsi, dans ce chapitre, nous allons successivement présenter l'utilisation des auto-assemblages en masse en tant que *matériaux stimulables*, puis leur utilisation en solution en tant que *vecteurs de principes actifs* et enfin en tant que *nano-objets stimulables*.

IV.1. MATÉRIAUX STIMULABLES

En masse, dans le domaine de forte ségrégation (voir 1^{ère} Partie : étude Bibliographique, chapitre I.1), les changements morphologiques au sein des matériaux à base de copolymères flexible-flexible (coil-coil) ne peuvent être observés que par des variations de fractions volumiques des blocs de ces copolymères. En revanche, dans le domaine intermédiaire (entre les domaines de forte et de faible ségrégation) les frontières entre les différentes morphologies ne sont plus verticales mais sont significativement incurvées. La dépendance en température du paramètre d'interaction χ implique alors que des transitions de morphologies induites thermiquement peuvent avoir lieu. De nombreux travaux ont ainsi été réalisés dans ce sens^[38,141,142]. Une très belle illustration, faisant en partie appel à ce concept, a été publiée par Ikkala et al. et est représentée sur la Figure 24^[5].

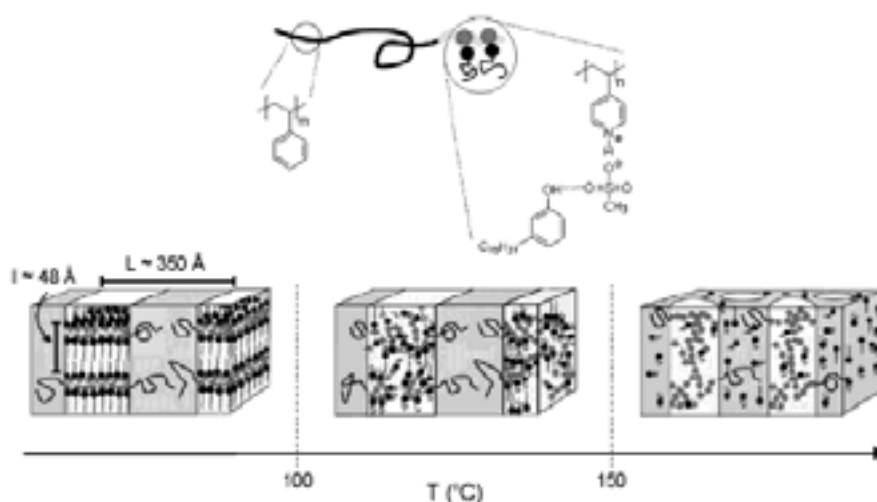


Figure 24 : Exemple de “nano-assemblage intelligent” stimuable grâce à des variations de température présenté par Ikkala et al.^[5]

Ces auteurs ont étudié les transitions induites par des modifications de température sur l'auto-assemblage d'un copolymère diblocs polystyrène-b-poly(4-vinylpyridine) protoné avec de l'acide méthane sulfonique et complexé avec du pentadécylphénol. Ils ont montré que le système passe d'une morphologie de type double-lamellaire pour des températures inférieures à 100°C (voir Figure 24) à une morphologie cylindrique au dessus de 150°C. Cette modification de morphologie est en partie, et dans un premier temps (entre 100°C et 150°C), due à la rupture des liaisons hydrogènes au sein du complexe poly(4-vinylpyridine)/acide méthane sulfonique/pentadécylphénol, induisant la perte de la structure lamellaire associée, sans que la microséparation de phases polystyrène-b-poly(4-vinylpyridine) en lamelles soit, elle, concernée. Puis, dans un second temps (au dessus de 150°C), une transition ordre-ordre a lieu au sein du matériau, entraînant une évolution d'une microséparation de type lamellaire vers une structure cylindrique constituée d'une matrice de PS enrobant des cylindres de P4VP (phénomène d'importance majeure). Ils ont aussi corrélé cette transition à une augmentation de la conductivité des protons dans le matériau. Le terme de “*nano-assemblage intelligent*” est alors parfaitement légitime : un stimulus extérieur (la température) induit des changements dans l'organisation supramoléculaire du matériau, changements directement répercutés au niveau des propriétés macroscopiques (conductivité des protons).

Les copolymères de type “coil-coil” ne sont néanmoins utilisables en tant que briques de base pour des matériaux stimulables que dans le domaine de ségrégation intermédiaire proche de la transition ordre-désordre, là où les frontières entre les différentes phases peuvent être franchies par des variations de χ induites par la température. Cela implique que des transitions

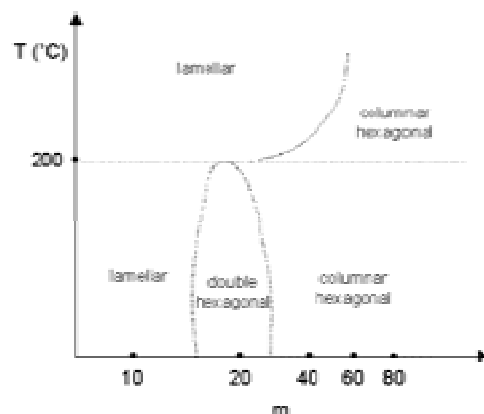
ordre-ordre loin de la transition ordre-désordre (i.e. dans le régime de forte ségrégation) vont nécessiter l'utilisation de stratégies ne reposant pas sur la dépendance thermique du paramètre d'interaction χ . Une possibilité intéressante serait alors d'exploiter des changements de conformations d'un des blocs du copolymère. Malheureusement, les copolymères diblocs de type "coil-coil" adoptent, par définition, une conformation désordonnée, et dans leur majorité les copolymères de type "rod-coil" sont constitués d'un segment rigide (bloc mésogène) possédant une liberté conformationnelle extrêmement réduite les obligeant à garder leur caractère rigide en toutes circonstances. En revanche, les segments polypeptides représentent une autre catégorie de blocs rigides. Ces blocs ont la capacité de changer de structure secondaire de façon réversible en fonction de la température, du solvant ou encore en fonction du pH et de la force ionique^[115,143-150].



Figure 25 : Représentation schématique de la transition réversible induite par le pH au sein de la structure secondaire d'un bloc peptidique

Par exemple, ils peuvent subir une transition d'une conformation en hélice- α à celle d'une pelote statistique (c'est-à-dire d'un bâtonnet rigide à une pelote flexible : Figure 25) et sont donc potentiellement intéressants en tant que briques de base pour le développement de matériaux auto-assemblés stimulables.

Figure 26 : Diagramme de phases d'un copolymère rod-coil présentant des transitions ordre-ordre^[69]



Klok et Lecommandoux ont appliqué ce concept dans leur étude sur les copolymères PS-*b*-PBLG et PS-*b*-PLys. Ils ont prouvé que des transitions entre les phases hexagonale

colonnaire ou double hexagonale et des phases lamellaires peuvent avoir lieu en fonction de la température^[8,69,70](représenté sur la Figure 26). Ces auteurs ont ainsi mis en évidence le potentiel de cette stratégie quant à la construction de matériaux stimulables fondée sur un processus d'auto-assemblage dans un premier temps et de transitions de conformations des blocs peptidiques induites thermiquement dans un second temps.

IV.2. OBJETS INTELLIGENTS

Passons à présent à l'utilisation des auto-assemblages en solution. L'organisation et la fonctionnalité des molécules sur plusieurs échelles de tailles (plusieurs ordres de grandeurs) est l'une des propriétés-clés des systèmes biologiques. Une grande partie de ces fonctions peuvent néanmoins être remplies par des structures auto-assemblées de copolymères. En effet, il existe une large variété de polymères fonctionnels ayant des capacités d'encapsulation, de furtivité, d'adhésion sur les cellules ou de reconnaissance des cellules, ou encore de réponse à des stimuli. Ces différentes fonctionnalités sont représentées schématiquement sur la Figure 27.

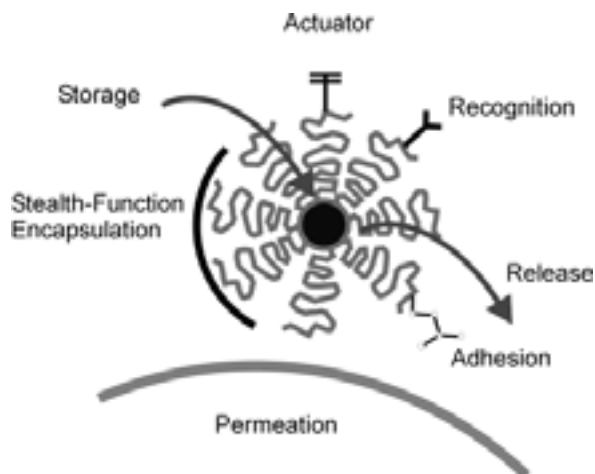


Figure 27 : Représentation des différentes propriétés envisageables pour les auto-assemblages de copolymères^[39]

Par ailleurs, il est souvent avantageux d'introduire des groupements réactifs au sein des chaînes polymères de façon à leur lier des molécules bioactives comme des peptides, des oligosaccharides ou des anticorps. Par la suite, la majorité de ces groupements peut être intégrée dans des structures de copolymères à blocs. Le processus d'auto-assemblage spontané peut alors conduire à la formation d'architectures compartimentées prometteuses comme les micelles ou les vésicules.

IV.2.1. SYSTÈMES VECTEURS

Actuellement, les recherches dans les domaines de la vectorisation et de la distribution des principes actifs sont en plein essor. Une des raisons invoquées est l'impulsion résultant des progrès effectués dans les biotechnologies et l'immunologie générant de nouvelles méthodes thérapeutiques extrêmement efficaces fondées sur l'utilisation des polypeptides, des oligonucléotides ou des gènes. En revanche, il est nécessaire de développer de nouveaux systèmes vecteurs adaptés à de tels agents actifs de haute masse molaire. En effet, un problème important apparaît lors de l'utilisation de principes actifs de haute masse : leur dégradation par les enzymes (en administration orale par exemple). Pour cette raison, de telles substances sont généralement administrées par voie parentérale, c'est-à-dire, par voie intravasculaire, sous cutanée ou intramusculaire. Il reste encore à les préserver du système réticulo-endothélial qui vise à les éliminer. Pour cela, et afin d'éviter aussi les mécanismes de dégradation, les agents actifs peuvent être modifiés ou encapsulés. Ainsi, le temps de vie et la biodisponibilité sont améliorés. L'objectif principal des scientifiques reste néanmoins la libération contrôlée : le transport d'un agent actif spécifique jusqu'à sa cible et sa distribution au bon moment et sur une période prédéterminée. Cette libération peut être constante, cyclique ou déclenchée par l'environnement. En d'autres termes, le principe actif peut soit diffuser vers l'extérieur du transporteur ou être évacué lors de sa destruction, ou encore être relargué suite à la réponse de ce même transporteur à un stimulus interne ou externe, comme nous le verrons plus en détail dans le chapitre suivant. Dans tous les cas, le but de la libération contrôlée est double : il doit permettre d'augmenter la durée d'action du principe actif en maintenant sa concentration dans l'organisme supérieure à la concentration minimale efficace le plus longtemps possible, et diminuer la toxicité du produit en réduisant sa concentration globale dans l'organisme. Le système idéal de libération contrôlée doit être biocompatible et simple à utiliser, il doit en outre permettre d'incorporer une grande quantité de principe actif qu'il doit protéger des enzymes de l'organisme.

Suivant cette définition, les agrégats fournis par l'auto-assemblage de copolymères à blocs amphiphiles, incluant aussi bien les micelles sphériques que les vésicules, semblent être de parfaits candidats et ont donc fait l'objet d'une quantité d'études importantes ces vingt dernières années, comme le prouvent les nombreuses revues sur le sujet^[4,11,151,152]. Plaçons nous dans le cas particulier des morphologies micellaires directes. Ces micelles de copolymères sont effectivement d'un grand intérêt pour des applications en vectorisation pour différentes raisons. La première raison tient au fait que les principes actifs hydrophobes

peuvent être physiquement et/ou chimiquement emprisonnés dans le cœur de l'agrégat d'auto-assemblage et transportés à des concentrations bien supérieures à leur limite de solubilité dans l'eau. La seconde raison est que les blocs hydrophiles ont tendance à interagir avec le milieu aqueux environnant (liaisons hydrogènes) pour former une solide écorce enveloppant le cœur de la micelle. En conséquence, le contenu hydrophobe est efficacement protégé contre l'hydrolyse et les dégradations enzymatiques. Par exemple, dans le cas de couronnes de poly(oxyde d'éthylène) (POE), l'élimination précoce des agrégats du système sanguin est évitée et les micelles ont alors des propriétés de furtivité permettant aux agents actifs d'être administrés sur de longues périodes. Enfin, le dernier aspect rendant les *micelles* de copolymères à blocs attractives pour la vectorisation est le fait que la composition chimique, la masse molaire et les longueurs relatives des blocs peuvent être largement modifiées, ce qui permet de contrôler la taille et la morphologie de l'agrégat^[11,153]. En effet, le même raisonnement que celui appliqué aux micelles peut être utilisé pour les vésicules, mais cette fois des principes actifs hydrophobes et/ou hydrophile peuvent être encapsulés soit dans la partie "huileuse" de la membrane soit dans la cavité de la vésicule. De plus, le contrôle des tailles permet le contrôle de la capacité de stockage donc le contrôle de la quantité d'agent actif transporté.

Par ailleurs, de tels assemblages capables de transporter et de protéger des principes actifs peuvent aussi sélectionner leur cible. Les couronnes (parties externes des assemblages) interagissent avec les cellules et les organismes environnants, et ces interactions régissent la biodistribution de l'espèce active encapsulée. On parle alors de transporteur "intelligent".

L'idée d'utiliser ces micelles "intelligentes" a été développée par Ringsdorf et ses collaborateurs en 1984^[154]. Ce groupe a étudié des micelles de poly(L-lysine)-*b*-poly(oxyde d'éthylène) (PLys-*b*-POE) dans lesquelles les composés actifs étaient greffés par l'intermédiaire de liaisons peptidiques susceptibles d'être rompues par une enzyme spécifique (présente en grande quantité au sein de nombreuses tumeurs)^[155]. Plus tard, c'est le groupe de Kataoka qui a prouvé que des agents anticancéreux pouvaient être solubilisés dans le cœur de micelles de poly(acide asparaginique)-*b*-POE (PAsp-*b*-POE)^[156]. Dans ce dernier exemple, le choix du copolymère avait différentes motivations. Le bloc polypeptide PAsp peut solubiliser de grandes quantités de principes actifs hydrophobes et, est biodégradable, en raison de sa nature (un peptide). Quant au bloc POE, hydrosoluble et chimiquement stable en conditions physiologiques, il permet aussi, grâce à ses groupements hydroxyle en bouts de chaînes, une fonctionnalisation en vue d'une reconnaissance biologique spécifique^[157]. Différentes autres études ont fourni la preuve de l'applicabilité des nano-particules de copolymères en tant que

vecteurs spécifiques et ont fait l'objet d'articles et d'ouvrages de références comme nous l'avons mentionné en début de chapitre^[4,11,151,152].

IV.2.2. OBJETS STIMULABLES

Tout en gardant à l'esprit les mêmes objectifs de simplification, premièrement, de la méthode d'administration et deuxièmement, du processus de libération de agents actifs, des efforts significatifs sont actuellement fournis pour le développement des méthodes d'administration non-invasives, comme par exemples les voies orales ou pulmonaires, et pour le contrôle des processus d'encapsulation et de relargage. Dans l'hypothèse où ces deux objectifs seraient atteints, la formulation d'un système vecteur “idéal”, capable à la fois de transporter la quantité nécessaire de principe actif dans l'organisme, et de le délivrer au moment et à l'endroit approprié, serait par la même occasion achevée. Les “nano-objets intelligents” ou “habiles” (“smart materials” en suivant la dénomination anglo-saxonne communément employée) apparaissent alors comme une option extrêmement prometteuse. Dans ce cas, leur “habileté” fait référence à leur capacité à recevoir, reconnaître, transmettre un stimulus et à y répondre par un effet utile et exploitable. D'un point de vue plus pratique, peuvent être considérés comme “habiles” ou “intelligents”, les nano-objets ou agrégats auto-assemblés capables de percevoir un stimulus et d'y répondre en présentant des modifications de leurs propriétés physique et/ou chimiques. Ces modifications peuvent alors être utilisées pour libérer, d'une manière contrôlée, un principe actif emprisonné au sein de l'agrégat. Par ailleurs, en raison de leurs applications thérapeutiques potentielles d'une part, ainsi que pour des questions de coût et de procédure de mise en place d'autre part, les systèmes répondant à des stimuli internes (réponse au pH, à la force ionique, à la présence de glucose...) sont plus intéressants que ceux gouvernés par des stimuli externes (champs magnétiques ou électriques, ultra-sons, irradiations...). Parmi les systèmes répondant à des stimuli internes, ceux réagissant au pH ont fait l'objet d'une attention toute particulière. En effet, des variations de pH ont lieu dans différentes parties de l'organisme comme dans la région gastro-intestinale ou dans les vaisseaux sanguins, pouvant ainsi être à l'origine du déclenchement d'un relargage contrôlé par le pH. Plus précisément, il est possible d'imaginer que des nano-particules auto-assemblées répondant aux variations de pH seraient des “*vecteurs de principes actifs idéaux*” à la vue des changements importants de pH entre l'œsophage et l'estomac (pH~6 à pH~1-2) et entre l'estomac et l'intestin (pH~1-2 à pH~6).

Dans la quasi-totalité des systèmes étudiés et décrits, les capacités de réponses au pH sont uniquement fondées sur les variations d'interactions électrostatiques entre les segments chargés de copolymères à blocs de type polyélectrolytes^[96,158-160]. Par exemple, Jérôme et son équipe en 2001 ont observé la formation en solvant aqueux de micelles à trois domaines à partir de copolymères triblocs poly(styrène)-*b*-poly(2-vinylpyridine)-*b*-poly(oxyde d'éthylène) (PS-*b*-P2VP-*b*-POE). Ces auteurs ont mis en évidence la sensibilité au pH de la couche intermédiaire de P2VP et ont montré qu'elle pouvait être utilisée pour contrôler la taille globale de la micelle (d'un diamètre hydrodynamique D_H de 75,4 nm à pH>5 à un D_H de 135,2 nm à pH<5)^[96]. Or la nature de cet effet, fondé sur les répulsions électrostatiques entre les blocs chargés de P2VP, fait qu'il n'est pas totalement réversible. A chaque cycle de pH, du sel est formé induisant un phénomène d'écrantage des charges portées par les blocs P2VP réduisant d'autant les modifications de tailles des micelles en réponses aux stimuli^[96] (voir le Tableau 1).

Tableau 1 : Effet des cycles de pH successifs sur la taille de micelles stimulables dans le cas d'un phénomène contrôlé par les interactions électrostatiques

	Cycle 1	Cycle 2	Cycle 3	Cycle 4	Cycle 5
D_H (acide)	132,6	124,6	120,4	116,3	110,1
D_H (basique)	74,2	72,6	73,5	75,5	74,8

Ces travaux mettent donc en avant une limite à l'utilisation de ces systèmes “intelligents”, à savoir le fait qu'ils ne sont pas stimulables de façon totalement réversible, bien que la faisabilité et les potentiels d'une telle démarche aient été démontrés.

Avant de conclure cette première partie consacrée à l'étude bibliographique des phénomènes d'auto-assemblage au sein des systèmes de copolymères, nous pouvons dresser un bilan des points forts et des points faibles ressortant des différentes et nombreuses voies de recherches dans ce domaine.

Commençons tout d'abord par l'auto-assemblage en masse :

- les systèmes de copolymères dits “flexible-flexible” sont à présent assez bien connus à la fois du point de vue théorique ainsi qu'expérimental

- les systèmes de copolymères dits “rigide-flexible” sont eux moins bien maîtrisés et il subsiste encore d'importants aspects inexplicés notamment du point de vue théorique. Ils permettent néanmoins d'obtenir des morphologies inaccessibles avec les copolymères du type “flexible-flexible”.

Pour ce qui est de l'auto-assemblage en solution :

- les recherches portant sur cette thématique sont extrêmement variées et tiennent compte d'un nombre très important de paramètres allant, de la composition des copolymères à leur concentration en solution, en passant par leur structure chimique et géométrique ou la nature du milieu où ils sont placés
- grâce à cette vaste base de données, il est donc possible, dans une certaine mesure, de construire (synthétiser) “le” copolymère spécifique susceptible de former l'auto-assemblage pré-désiré.

Du point de vue de la stabilisation des structures auto-assemblées :

- cette étape supplémentaire peut être d'un très grand intérêt tant en masse qu'en solution
- elle peut conduire à la formation de morphologies non-centrosymétriques
- elle procure à ces systèmes différentes qualités non négligeables (intégrité de structure, contrôle de perméabilité).

Enfin dans les domaines visant à tirer pleinement profit de ces systèmes de copolymères :

- la création de matériaux “intelligents” (stimulables) fait à présent partie du domaine du possible (tant en masse qu'en solution)
- ces auto-assemblages sont susceptibles de convenir à de multiples applications dans le domaine des nanosciences, parmi lesquelles la vectorisation de principes actifs semble particulièrement prometteuse.

Il apparaît donc que l'auto-assemblage de copolymères à blocs est un outil extrêmement puissant qui peut être utilisé pour construire des nano-matériaux fonctionnels possédant une extraordinaire complexité/variété structurelle ainsi qu'un potentiel hors du commun. De plus, les propriétés de ces nano-assemblages sont entièrement dictées par la structure moléculaire des briques de base (longueur relative des blocs constituant le copolymère, composition chimique, contraintes entropiques imposées au système, interactions spécifiques...). Ainsi, en combinant différentes caractéristiques idoines (copolymère amphiphile, bloc peptidique stimuable, bloc réticulable), il semble possible de créer des nano-matériaux ou des nano-objets bien définis, à persistance de forme, et “intelligents” (stimulables de façon totalement

réversible), ce qui jusqu'en octobre 2000 (date du début de nos travaux) n'avait pas encore été concrétisé.

C'est dans un tel projet d'ingénierie macromoléculaire par auto-assemblage que cette thèse s'est inscrite et a été conduite. Dans le cadre de ce travail, nous avons choisi d'utiliser un copolymère diblocs spécifique polybutadiène-*b*-poly(L-glutamate de γ -benzyle) pour différentes raisons. Tout d'abord pour ces propriétés d'auto-assemblage particulières (copolymère de type rod-coil, voir chapitre I.2. : Les copolymères de type “rigide-flexible”), ensuite pour ces capacités potentielles à répondre à des stimuli (“stimulabilité” du bloc peptidique), puis en raison des possibilités de “post-réticulation” fournies par le bloc polybutadiène après le processus d'auto-assemblage ; enfin ce copolymère diblocs est hydrolysable (bloc peptidique), ce qui peut le rendre hydrosoluble.

Notre objectif était donc de construire des “*nano-objets (ou nano-matériaux) stimulables et à persistance de forme*” avec, dans un premier temps, la synthèse du copolymère de base, un copolymère polybutadiène-*b*-poly(γ -L-glutamate de benzyle) (PB-*b*-PBLG) hydrolysable en PB-*b*-poly(acide glutamique) (PGA), puis dans un second temps, l'étude et la caractérisation complète des auto-assemblages obtenus en masse ainsi qu'en solution, et pour finir leur pérennisation et leur manipulation (en jouant avec le pH par exemple).

2^{ÈME} PARTIE : SYNTHÈSE

D'un point de vue pratique, il existe trois méthodes pouvant mener à la formation d'un copolymère à blocs. La première méthode est la polymérisation “vivante” et/ou contrôlée séquencée de deux monomères ou plus (A et B dans le cas particulier d'un copolymère diblocs). La deuxième méthode consiste à ajouter un monomère B à un macroamorceur préformé à base de A capable d'amorcer la polymérisation de ce second monomère (B) ; on obtient alors un copolymère A-*b*-B. Cette voie diffère de la précédente par l'absence de continuité des processus de polymérisation lors du passage du monomère A au monomère B. Dans ce dernier cas, l'homopolymère A doit être isolé et doté d'une fonction susceptible d'amorcer la polymérisation de B. Cette méthode est mise en œuvre lorsque la polymérisation des deux monomères fait appel à des processus de polymérisations différents ; il convient dans la plupart des cas de transformer la nature des centres actifs en fin de polymérisation du monomère A pour les rendre capables d'amorcer la polymérisation de B. Ainsi, dans l'absolu, cette méthode n'est pas très différente de la précédente. La troisième méthode consiste, quant à elle, à créer un lien covalent entre deux précurseurs homopolymères A et B (préparés indépendamment) par l'une de leurs extrémités de chaînes, formant le copolymère à blocs A-*b*-B. Pour donner de bons résultats, cette méthode implique que la réaction de couplage soit sélective, rapide et totale. En effet, en raison de la répulsion entre chaînes polymères de nature différente et de leur encombrement, les rencontres entre les sites réactifs antagonistes sont difficiles à provoquer.

Le butadiène (qui nous concerne dans ce travail) est polymérisable par voie anionique dans des conditions “vivantes”, ce qui devrait conduire à un premier bloc possédant à la fois une faible dispersion en terme de masse molaire (distribution étroite) et une extrémité active pouvant réamorcer la polymérisation d'un second monomère plus électrophile. Or le polypeptide poly(L-glutamate de γ -benzyle) ou PBLG ne se prête pas à un amorçage efficace par les carbanions polybutadiényles : la réaction d'ouverture de cycle des N-carboxyanhydrides d' α -aminoacides se déroule en effet dans des conditions satisfaisantes à partir de fonctions amines dont il faudra doter le premier bloc polybutadiène (PB) pour obtenir le dibloc PB-*b*-PBLG espéré. La première méthode de synthèse de copolymères à blocs consistant à polymériser les deux monomères de manière séquencée dans un procédé “one pot” n'est donc pas appropriée ici, par contre la seconde l'est parfaitement.

Notre objectif à présent est de préparer un premier bloc polybutadiène par voie anionique, puis de modifier chimiquement son extrémité active (fonctionnalisation) pour y introduire une

fonction terminale spécifique (une amine primaire), de façon à engager ensuite la polymérisation du second bloc.

Avant de décrire en détail les différentes étapes de la synthèse menant au copolymère polybutadiène-*b*-poly(L-glutamate de γ -benzyle) (PB-*b*-PBLG) puis au polybutadiène-*b*-poly(acide glutamique) (PB-*b*-PGA) hydrosoluble, nous allons présenter quelques rapides rappels sur la polymérisation anionique des monomères éthyléniques dont fait partie le butadiène, ainsi que sur la synthèse des polypeptides par ouverture de cycle des N-CarboxyAnhydrides NCA.

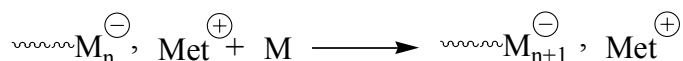
I. TECHNIQUES DE SYNTHÈSE.

I.1. POLYMÉRISATION DES MONOMÈRES ÉTHYLÉNIQUES PAR VOIE ANIONIQUE

La polymérisation anionique fait partie de la catégorie des polymérisations en chaîne, et à ce titre, comporte deux phases, l'une d'amorçage et l'autre de propagation et éventuellement une dernière de terminaison. Si le processus globale aux deux seules étapes d'amorçage et de propagation n'est aucunement perturbé par des réactions qui causent l'interruption dans la croissance des chaînes, telles les réactions de terminaison et de transfert, alors la polymérisation peut être qualifiée de "vivante", selon la terminologie de Szwarc^[161]. Mais une polymérisation en chaîne, fut-elle "vivante" ne saurait donner l'assurance de chaînes "isométriques", c'est-à-dire homogènes quant à leur distribution en taille. En effet, il faut que la condition d'un temps d'amorçage court par rapport à celui de propagation soit remplie concomitamment : on parle dans ce cas de polymérisation "vivante" idéale et des chaînes polymères à faible indice de polymolécularité (proche de 1) peuvent être obtenues. Pour des systèmes qui comportent des réactions d'interruption de croissance des chaînes et ne sont pas, au sens strict du terme, "vivants", il est parfois possible de conserver l'essentiel des avantages des polymérisations "vivantes" idéales. En effet, lorsque l'expérimentateur a su trouver les moyens de minimiser les réactions de terminaison et/ou de transfert et les conditions d'une durée d'amorçage courte par rapport à celle de propagation, on peut obtenir un bon contrôle de la taille des chaînes. De telles polymérisations sont qualifiées de "contrôlées".

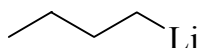
Les systèmes de polymérisation qui, à la fois, démontrent un caractère “vivant” et se prêtent à un amorçage rapide sont, évidemment, les plus recherchés ; l’“isomolécularité” étant la caractéristique la plus fréquemment sollicitée.

Pour ce qui est de la polymérisation anionique, elle peut être schématisée par :

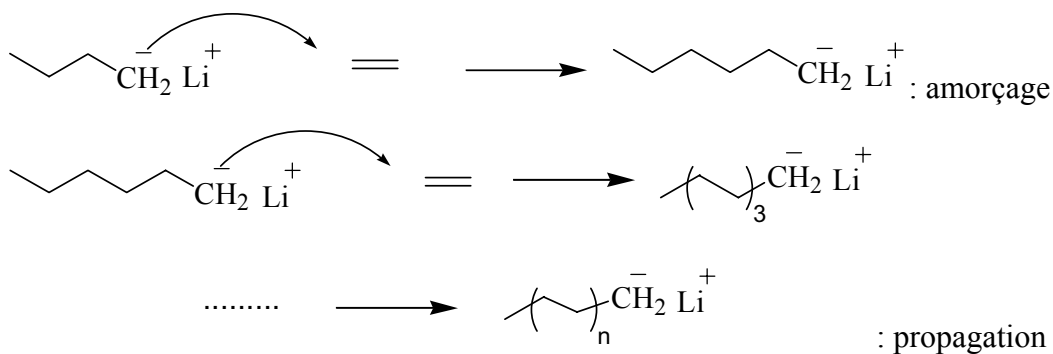


dans laquelle $\sim\sim\sim M_n^{\ominus}$ représente une espèce chargée ou polarisée négativement portée par la chaîne en croissance, et Met^{\oplus} le contre-ion (ou une espèce polarisée) positif(ve), généralement métallique. Le mécanisme réactionnel d'amorçage/propagation fait donc appel à des réactions nucléophiles.

Les monomères qui se polymérisent par voie anionique sont ceux qui se prêtent à une stabilisation par résonance (diène, styrène) ou possèdent un substituant électro-attracteur (-CO-OR, -CN). Pour les monomères styréniques ou diéniques, l'amorceur le plus couramment utilisé est le butyllithium (BuLi) :



Il réagit par attaque nucléophile sur la double liaison vinylique (amorçage), créant un nouveau carbanion. Le processus est continu et un nouvel anion est généré à chaque fois qu'un monomère est additionné à la chaîne en croissance (propagation).



Quant à l'étape de terminaison, elle correspond, dans les systèmes de polymérisation “vivante”, à la désactivation intentionnelle des chaînes par l'expérimentateur, par l'addition d'un agent de terminaison - en l'occurrence électrophile dans le cas d'une polymérisation anionique - qui réagira avec les carbanions.

L'intérêt des systèmes “vivants” est donc de permettre, après conversion totale du premier monomère (dans des conditions de contrôle extrêmement précises), l'addition d'un second

monomère ou la fonctionnalisation de l'extrémité en croissance, pour former des copolymères à blocs.

I.2. SYNTHÈSE DES PEPTIDES PAR POLYMERISATION PAR OUVERTURE DE CYCLE DE NCA

Les polypeptides sont constitués de résidus R d' α -acides aminés liés par des liaisons peptidiques (liaisons amides). Ils sont obtenus par polymérisation des acides aminés correspondant (schématisé dans la Schéma 1). Les polypeptides, font partie de la famille des polyamides et, sont à ce titre d'un grand intérêt : certains d'entre eux peuvent être étirés sous forme de fibres ou de films ou encore solubilisés dans des solvants polaires et/ou apolaires.

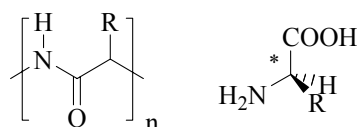


Schéma 1 : Représentation du motif de répétition d'un polypeptide (à gauche) obtenu par polymérisation de l'acide aminé correspondant (à droite)

Néanmoins, leur principal intérêt réside dans leur utilisation comme modèle des protéines naturelles, en particulier par l'étude de leurs propriétés physico-chimiques en raison de leur organisation en structures complexes (structures secondaires en hélice, en feuillet...) ou leur capacité à répondre à différents stimuli (pH, température...). Les méthodes de synthèse des polypeptides fondées sur la polycondensation d'acides aminés ne sont pas très efficaces et ne permettent pas de synthétiser des polypeptides de masses molaires élevées en raison de réactions secondaires importantes aux températures requises pour effectuer ce genre de réactions (150-200°C)^[162]. En revanche, une méthode de choix pour obtenir de tels polymères consiste à polymériser des N-CarboxyAnhydrides d' α -aminoacides (NCA ou anhydrides de Leuchs^[163]). Ce sont des dérivés cycliques des acides aminés, polymérisables par ouverture de cycle, qui donnent les poly(acides aminés) correspondants^[164] (Schéma 2).

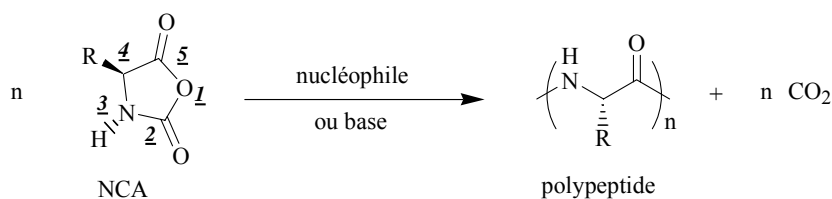


Schéma 2 : Principe de synthèse d'un polypeptide à partir d'un NCA

Cette méthode met en jeu des réactifs simples et permet de préparer des polymères de haute masse molaire avec un bon rendement, sans induire de racémisation des centres actifs chiraux des acides aminés (point que nous vérifierons en fin de partie). De plus, la variété considérable de monomères NCAs disponibles autorise la polymérisation d'une grande diversité de polypeptides.

Les NCAs ont quatre sites réactifs (voir Schéma 2) : deux électrophiles et deux nucléophiles. Cette multiplicité de sites réactionnels est la source d'une chimie très complexe. Les deux centres électrophiles sont les carbones C2 et C5 et les deux centres nucléophiles sont le carbone C4 et l'azote N3. Par ailleurs, les difficultés d'étude de cette polymérisation sont non seulement dues à la multiplicité réactionnelle des NCAs, mais aussi à la faible solubilité des polypeptides dans les solvants organiques (la précipitation de la chaîne peptidique en croissance affecte la réactivité des bouts de chaînes et modifie la cinétique de la polymérisation). Les NCAs peuvent certes être polymérisés en masse, mais la synthèse doit être réalisée à haute température et ne donne que des polypeptides de faible degré de polymérisation. *A contrario*, la polymérisation en solution peut être réalisée à plus basse température, et peut alors être contrôlée : des polypeptides de masses molaires élevées peuvent être obtenus dans de telles conditions. Il est en revanche essentiel d'utiliser des solvants inertes et purs pour les polymérisations en solution – pour la pérennité des centres actifs – comme le dioxane, le DMF ou le THF. D'autre part, il a été montré que ni les radicaux, ni les cations, ni les acides ne peuvent amorcer la polymérisation des NCAs. Les trois principales familles de réactifs susceptibles d'amorcer ce type de polymérisation sont les espèces nucléophiles, les bases et les composés organométalliques : les amines (qu'elles soient primaires, secondaires ou tertiaires) sont les groupements fonctionnels les plus largement utilisés. On compare et classifie ces amorceurs selon deux critères : le site d'attaque sur le NCA et leur réactivité par rapport à celle de la chaîne en croissance. S'agissant du premier critère, les attaques peuvent avoir lieu sur deux sites de l'hétérocycle, en C5 ou en N3, la sélectivité de cette attaque dépendant de la balance entre la nucléophilie et la basicité de l'amorceur. S'agissant du deuxième critère, c'est la nucléophilie de l'amorceur par rapport à celle de la chaîne en croissance qui détermine la vitesse de l'amorçage et qui influe donc directement sur le contrôle de la polymérisation : lorsque l'amorceur est plus nucléophile que la chaîne en croissance, la durée de l'amorçage est courte par rapport à celle de la propagation, ce qui entraîne un bon contrôle de la taille des chaînes et de leur distribution en masse.

Ainsi, mis à part les processus mettant en jeu les composés organométalliques décrits récemment par Deming^[165], et sur lesquels nous ne nous étendrons pas, pour des raisons de complexité de synthèse dues à l'utilisation de complexes métalliques ainsi qu'à leur élimination problématique en fin de polymérisation, il existe deux mécanismes de croissance des NCAs : le mécanisme dit "amine" et le mécanisme dit "monomère activé".

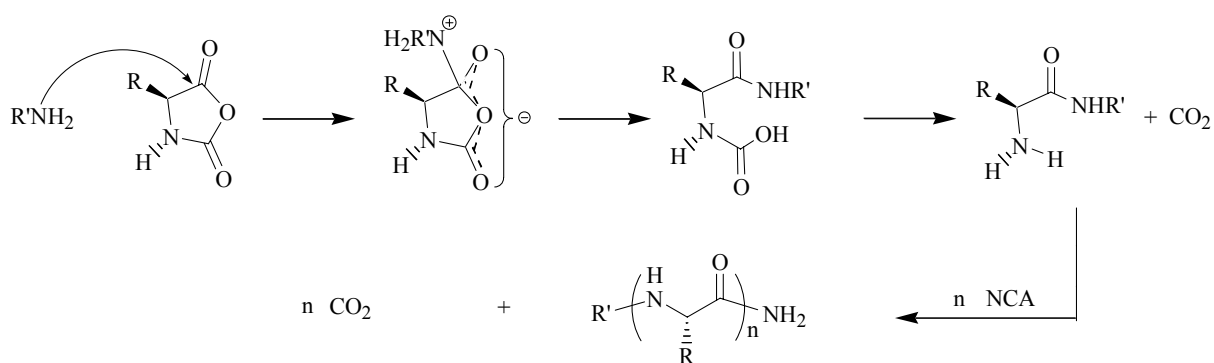


Schéma 3 : Processus de polymérisation des NCA selon le mécanisme "amine", dans le cas d'un amorçage par une amine primaire

Le mécanisme dit "amine" est un processus nucléophile de croissance de chaîne par ouverture de cycle au cours duquel le polymère peut croître linéairement avec la conversion en monomère dans la mesure où les réactions secondaires sont absentes (basse température de polymérisation). Ce mécanisme est détaillé dans le Schéma 3 dans le cas d'un amorçage par une amine primaire.

La réaction d'une amine primaire sur un NCA forme un adduit possédant à son tour une fonction amine primaire susceptible de propager la polymérisation selon le même mécanisme d'attaque nucléophile. Quant au mécanisme du "monomère activé", il résulte de la déprotonation d'un NCA par une espèce plus basique que le NH du monomère (représenté dans le Schéma 4, toujours dans le cas d'un amorceur de type amine primaire).

Ainsi les amines à fort caractère "basique" peuvent déprotoner l'azote N3, forcément plus acide, du cycle NCA et générer un monomère activé qui pourra réagir sur un autre NCA pour former un adduit dimère (étape d'amorçage) ; ainsi, l'étape de propagation peut revêtir trois formes différentes. Dans un premier cas, la fonction amine primaire du dimère peut venir attaquer un NCA en C5 selon le mécanisme dit "amine". Dans un second cas, c'est un autre monomère activé qui peut venir attaquer l'adduit (toujours en C5). Enfin, le dimère formé peut réagir avec un autre dimère pour former directement un tétramère, et ainsi de suite. Néanmoins le processus faisant appel au mécanisme dit "amine" est celui qui permet le

meilleur contrôle de la polymérisation. Il est donc nécessaire d'amorcer la polymérisation du NCA avec une espèce suffisamment nucléophile pour attaquer le carbonyle C5 du NCA, sans pour autant déprotoner l'azote N3. Les meilleurs candidats pour ce type d'amorceur sont les amines primaires du type R-NH₂.

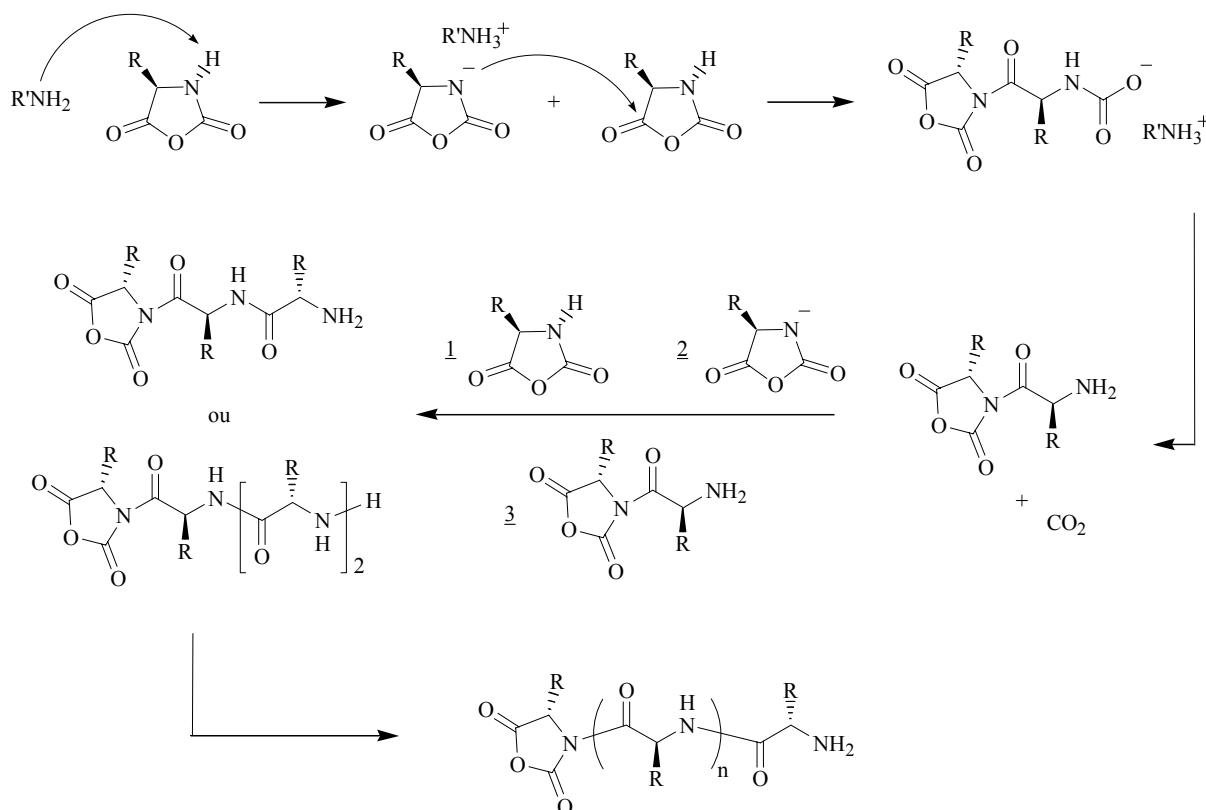


Schéma 4 : Mécanisme du "monomère activé" ; amorçage et étapes de propagations

Ainsi, il apparaît clairement qu'en fonctionnalisant un premier bloc polymère avec une fonction amine primaire, il est possible d'amorcer la synthèse d'un bloc polypeptide par polymérisation par ouverture de cycle du NCA désiré, et donc d'obtenir un copolymère à blocs "hybride" (synthétique-peptidique) avec un bon contrôle de la distribution des masses molaires.

II. SYNTHÈSE DES COPOLYMÈRES.

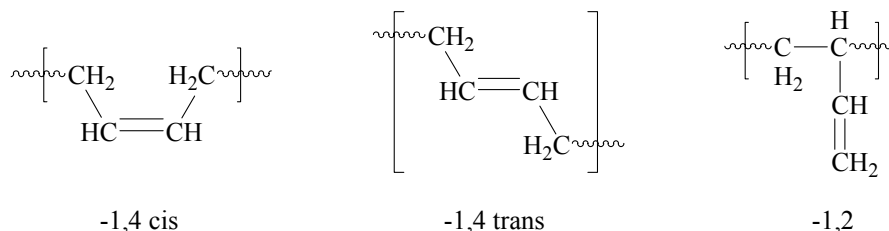
Notre objectif final est la synthèse d'objets nanoscopiques à structure et dimension contrôlées, constitués de copolymères à blocs auto-assemblés à base de polybutadiène et d'un polypeptide, le poly(L-glutamate de γ -benzyle). Nous allons dans ce chapitre, décrire et

analyser la procédure de synthèse de ces copolymères spécifiques, étape par étape. Le principe général est le suivant : nous allons utiliser des procédés nous permettant de contrôler la longueur des blocs, la masse molaire, la distribution des masses molaires ainsi que la nature des groupes fonctionnels terminaux, de façon à construire des briques de base (des copolymères à blocs) les mieux définies. Nous allons donc présenter, dans un premier temps, la synthèse du premier bloc – polybutadiène –, puis dans un second temps sa fonctionnalisation en vue de la synthèse du deuxième bloc ; dans un troisième temps, nous poursuivrons avec la polymérisation du NCA de glutamate de benzyle à partir du macroamorceur à base de PB, destiné à former le bloc polypeptide, et enfin nous décrirons l'hydrolyse du copolymère diblocs PB-*b*-PBLG en PB-*b*-PGA hydrosoluble.

II.1. SYNTHÈSE DU PREMIER BLOC : POLYBUTADIÈNE

La première étape de notre démarche a consisté à préparer du polybutadiène. Pour parvenir à un bon contrôle de la fonctionnalité, de la microstructure et des dimensions (degré moyen de polymérisation \overline{DP}_n , indice de polymétrie $I_p = \overline{M}_w / \overline{M}_n$) de ce polymère, nous avons eu recours à la voie anionique qui permet un processus de croissance des chaînes “vivant” idéal, c'est-à-dire un processus pour lequel nous avons une maîtrise des réactions d'amorçage (vitesse d'amorçage très supérieure à la vitesse de propagation), une pérennité des centres actifs propageant et une fonctionnalisation possible des centres actifs en fin de polymérisation.

La polymérisation du 1,3-butadiène peut conduire à trois isomères dont les motifs sont représentés ci-dessous :

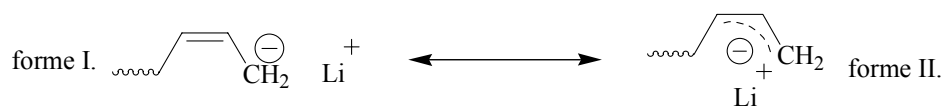


Lors d'une polymérisation anionique, les proportions entre ces différentes microstructures varient selon la nature du solvant, la température de polymérisation et/ou la nature du contre-ion, ce qui est illustré par le Tableau 2.

Tableau 2 : Influence du solvant sur la microstructure du polybutadiène, en présence du lithium comme contre-ion^[166,167]

Solvant	T (°C)	Microstructure	
		-1,4	-1,2
Masse	20	91	9
Cyclohexane	20	93	7
Benzène	20	88	12
Dioxane	15	13	87
THF	0	12	88
THF	-78	6	94

Avec le lithium comme contre-ion, les études ont montré que les espèces actives sont présentes sous la forme tautomérique suivante :



- dans les milieux apolaires, l'espèce propageante polybutadiényllithium existe sous la forme d'une paire d'ions en contact, qui se présente comme un complexe σ (forme I.) favorisant le mode d'addition -1,4
- dans les milieux solvatants (polaires), l'espèce en croissance existe sous la forme II. Les ions sont séparés par le solvant ou solvatés de façon externe. L'espèce polybutadiényllithium se présente comme un complexe π conduisant, de façon sensiblement accentuée, à des additions de type -1,2.

Notre objectif est de préparer des chaînes “vivantes” de polybutadiényllithium avec une forte proportion d'enchaînements -1,2, qui vont nous être indispensables par la suite pour la post-réticulation ou pérennisation des morphologies créées par auto-assemblage. Afin d'obtenir un tel polymère, l'amorçage de la polymérisation du 1,3-butadiène a été réalisée à -78°C , par addition du monomère sur une solution de *sec*-butyllithium dans le THF. Après 10 heures de réaction sous forte agitation, selon le mécanisme présenté dans le Schéma 5, et apparition d'une coloration jaune intense dans le milieu, un prélèvement est effectué pour des fins de caractérisation.

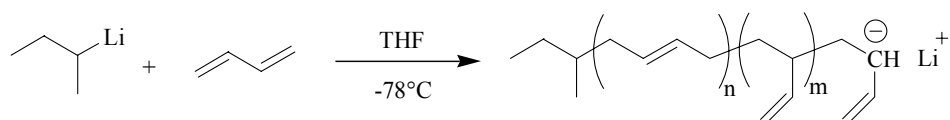


Schéma 5 : Schéma réactionnel de la polymérisation du 1,3-butadiène dans le THF

Ce prélèvement est alors désactivé par l'ajout de méthanol dégazé : cet échantillon a ensuite été caractérisé par chromatographie d'exclusion stérique (CES) et tonométrie afin de déterminer le degré de polymérisation moyen des chaînes de polybutadiène synthétisées ainsi que leur distribution en masses molaires. La structure de ces mêmes chaînes a été, quant à elle, analysée par spectroscopie RMN (¹H et ¹³C) et Infra Rouge (IRTF) puis par analyse enthalpique différentielle (AED) afin de déterminer la température de transition vitreuse du polymère formé PB.

Du point de vue du contrôle de la polymérisation, les chromatogrammes, obtenus par CES dans le THF calibrée avec des étalons de polystyrène, présentent des distributions très étroites avec des indices de polymolécularité faibles, $\overline{M}_w/\overline{M}_n \leq 1,1$ comme le montre la Figure 28, ce qui confirme le très bon contrôle du processus de synthèse. Il est important de noter ici que les masses molaires obtenues par cette technique ne sont pas des masses molaires “vraies” en raison de l'étalonnage des colonnes chromatographiques avec du polystyrène.

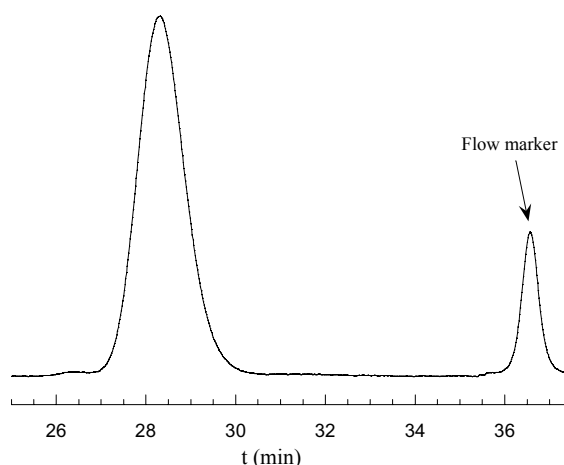


Figure 28 : Chromatogramme d'exclusion stérique d'un échantillon de PB₄₀ d'indice de polymolécularité $I=1,04$ (détecteur : réfractomètre différentiel)

Néanmoins, il est possible de calculer les masses réelles en appliquant un coefficient de correction – déterminé empiriquement – à la masse molaire moyenne en nombre obtenue par CES tel que : $\overline{M}_{n\text{ vraie}} = 0,52 \times \overline{M}_{n\text{ ir}}$ où $\overline{M}_{n\text{ ir}}$ est la masse molaire moyenne en nombre déterminée grâce au détecteur à réfractomètre différentiel avec l'étalonnage au polystyrène et 0,52 un coefficient déterminé au laboratoire lors de précédentes études sur le polybutadiène. De plus, dans un souci de précision, nous avons effectué des mesures de tonométrie sur les mêmes échantillons (dans le toluène), ce qui nous a permis de confirmer les valeurs du coefficient correcteur ainsi que celles des masses molaires vraies obtenues par la relation empirique précédente. Les valeurs correspondant aux deux produits à la base des différents échantillons

de copolymères synthétisés sont regroupées au sein d'un tableau récapitulatif (Tableau 3) en fin de chapitre. Signalons aussi que de nombreuses autres synthèses de polybutadiène ont été réalisées en parallèle afin de pouvoir effectuer les tests nécessaires aux étapes suivantes, telles que la fonctionnalisation par une amine primaire ou l'amorçage de la polymérisation du NCA de glutamate de benzyle, même si elles n'apparaissent pas directement au sein de ce tableau récapitulatif.

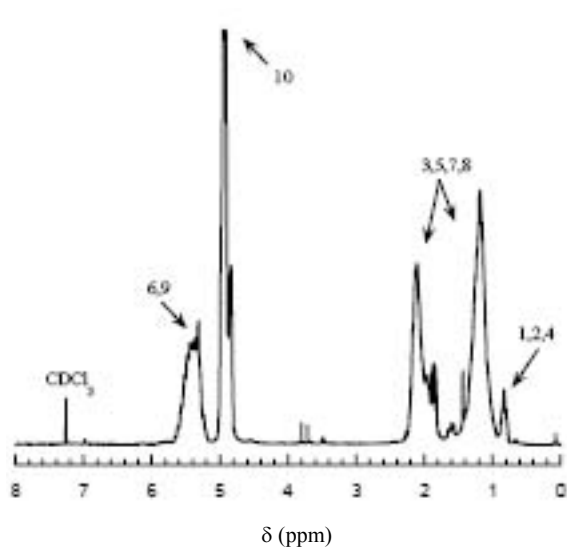


Figure 29 : Spectre RMN ¹H (200MHz, CDCl₃) d'un PB (ci-contre)

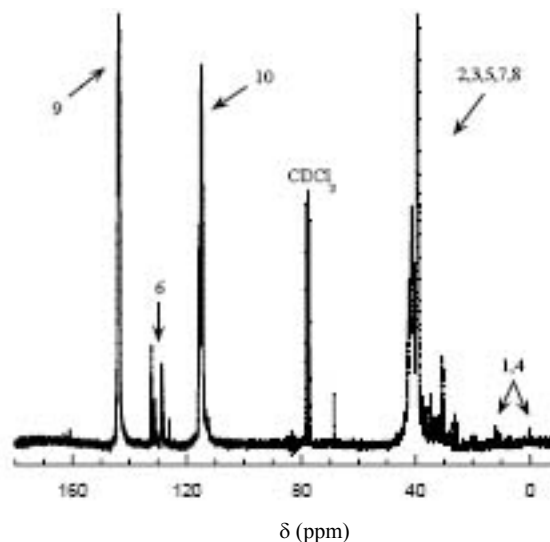


Figure 30 : Spectre RMN ¹³C (CDCl₃) d'un PB (ci-dessous) (ppm)

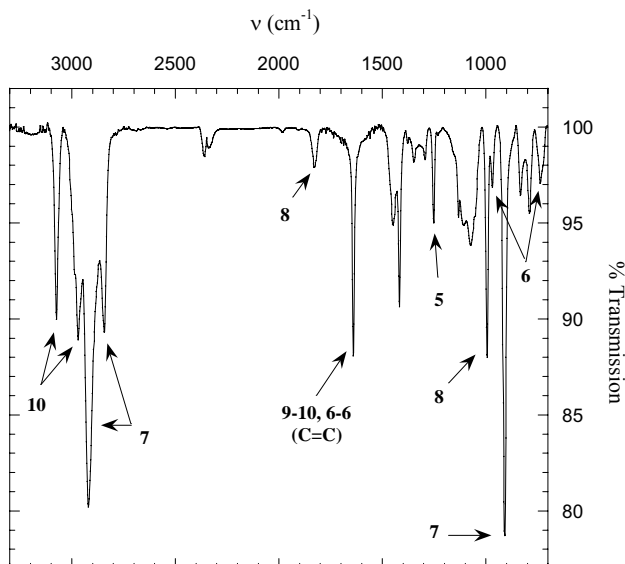
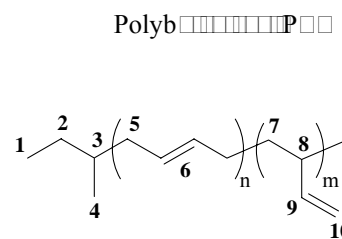


Figure 31 : Spectre IR-TF (sur wafer de silicium) d'un PB (ci contre)



Du point de vue de l'analyse structurale : les spectroscopies RMN ¹H, ¹³C et IRTF nous ont dans un premier temps permis de vérifier la structure chimique globale des polymères synthétisés comme le montrent les spectres des Figure 29, Figure 30 et Figure 31 où l'on retrouve l'ensemble des massifs caractéristiques d'un polybutadiène, puis dans un second temps, la RMN du proton nous a donné accès à un paramètre particulier : le taux de microstructures PB-1,2.

En effet, dans la littérature, deux méthodes sont utilisées pour déterminer les taux de microstructures -1,2 et -1,4^[168] :

- la première est fondée sur le rapport d'intensité de deux pics bien distincts : le premier à 5,6 ppm correspondant aux protons (6) et (9) (Figure 29) et le second à 5,1 ppm correspondant aux protons (10).
- la seconde est fondée sur l'intensité du pic à 1,2 ppm correspondant aux protons (7) et sur celle du pic à 2,1 ppm relatif aux protons (5,8).

Or, la présence des groupes *sec*-butyle provenant de l'amorceur ne nous permet pas d'utiliser la deuxième méthode, les déplacements chimiques (δ) des protons des groupes butyle étant trop proches de ceux des protons (7). En revanche, la première méthode est parfaitement adaptée, et grâce à la formule ci-dessous, où x est le pourcentage des enchaînements -1,2, y celui des enchaînements -1,4, et $I(5,1)$ et $I(5,6)$ les intégrations respectives des pics à 5,1 ppm et 5,6 ppm, nous pouvons calculer la proportion des microstructures PB-1,2 et PB-1,4 dans nos échantillons.

$$\frac{2x}{2y+x} = \frac{I(5,1)}{I(5,6)} \quad \text{avec : } x+y=100$$

Les résultats concernant les échantillons précurseurs des copolymères sont regroupés dans le Tableau 3. Il apparaît alors que dans nos conditions de synthèse (THF à -78°C), nous obtenons bien des polybutadiènes à très fort taux de microstructures -1,2 (environ 95%). Pour finir, la dernière analyse a porté sur la détermination de la température de transition vitreuse (T_g) des échantillons obtenus par analyse enthalpique différentielle. Globalement, les T_g observées pour les blocs polybutadiène synthétisés dans nos conditions, avec des degrés de polymérisation voisins de 50, sont de l'ordre de -30°C (voir Tableau 3) ; ce qui implique que ces blocs seront flexibles et dans un état visqueux, élastomère, lors de leur utilisation à température ambiante, favorisant leur mobilité au sein du matériau.

Tableau 3 : Caractéristiques chimiques et structurales des blocs élémentaires de polybutadiène synthétisés dans le THF

Code	Caractéristiques					Tg (°C)
	$\overline{M}_{n\text{calc.}}$ ^(a) (g/mol)	$\overline{M}_{n\text{iono.}}$ (g/mol)	$\overline{M}_w/\overline{M}_n$ ^(b)	Microstructure ^(c)		
				-1,4	-1,2	
PB ₄₀	2200	2350	1,04	5%	95%	-24
PB ₄₈	2600	2650	1,07	8%	92%	-34

(a) calculée à partir de l'équation $\overline{M}_{n\text{vraie}} = 0,52 \times \overline{M}_{n\text{ir}}$ où $\overline{M}_{n\text{ir}}$ est déterminée par CES en utilisant des polystyrènes standards pour l'étalonnage. (b) valeur déterminée par analyse directe par CES. (c) calculée à partir des spectres RMN ¹H.

Nous avons ainsi synthétisé des blocs élémentaires de polybutadiène bien définis (faible dispersion des masses molaires), en contrôlant la proportion des microstructures -1,2 (~95%) par polymérisation anionique vivante.

II.2. FONCTIONNALISATION

La polymérisation anionique “vivante” permet non seulement de contrôler la masse molaire des polymères comme nous venons de le voir dans le chapitre précédent, mais aussi d'introduire quantitativement certaines fonctions à leurs extrémités de chaînes, via les étapes d'amorçage et/ou de terminaison. En effet, il est possible de fonctionnaliser les chaînes polymères à l'amorçage si l'amorceur, outre sa capacité à créer des chaînes, comporte une fonction réactive pouvant servir ultérieurement. Il est souvent nécessaire que cette fonction soit protégée lors de la formation du premier bloc, en particulier lorsqu'il y a des risques de désactivation/neutralisation des centres actifs par cette même fonction. Après la synthèse du premier bloc, et la déprotection de la fonction terminale, cette dernière peut polymériser un second bloc. Il est, par ailleurs, possible de fonctionnaliser les chaînes “vivantes” en fin de polymérisation. Cette méthode est plus utilisée que la précédente car elle permet de fonctionnaliser les chaînes “vivantes” de manière variée. L'une des voies consiste à faire réagir une chaîne “vivante” avec une molécule bifonctionnelle antagoniste en très grand excès, de façon à minimiser les réactions de couplage, l'une des fonctions réagissant avec le centre actif pendant que l'autre reste disponible pour poursuivre une autre synthèse. Mais la voie la plus communément retenue utilise la réaction des centres actifs avec une molécule antagoniste précurseur de la fonction à générer (une molécule portant la fonction désirée mais

sous une forme protégée par exemple). C'est cette dernière méthode que nous avons décidé d'employer en nous fixant pour objectif d'introduire à l'extrémité des chaînes de polybutadiène une fonction pouvant intervenir comme amorceur de polymérisation du N-Carboxyanhydride de Glutamate de Benzyle (Glu Bz NCA), à savoir, une amine primaire.

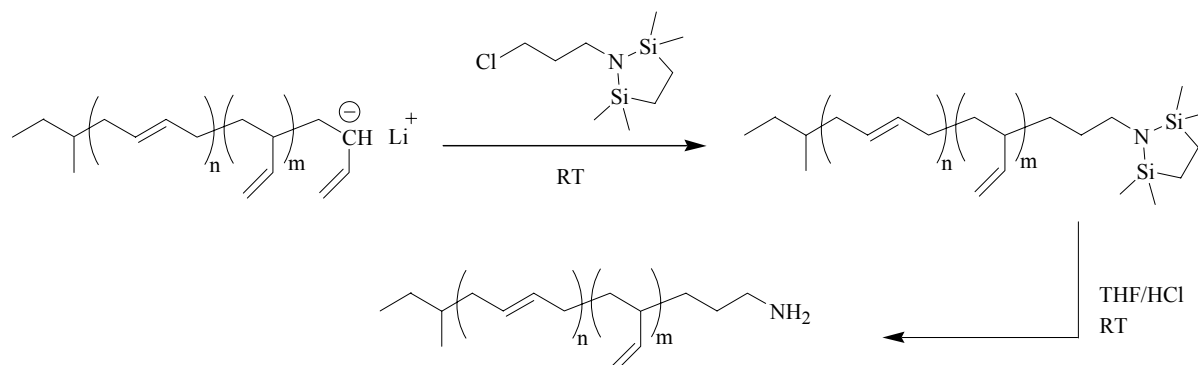


Schéma 6 : Fonctionnalisation des bouts de chaînes "vivantes" de polybutadiène par un agent de terminaison chloré suivie de sa déprotection en milieu acide, donnant : PB-NH₂

La procédure de fonctionnalisation comporte donc deux étapes successives, la première est la terminaison des chaînes de polybutadiène "vivantes" par réaction entre les centres actifs et le 1-(3-chloropropyle)-2,2,5,5-tetraméthyle-1-aza-2,5-disilacyclopentane (agent de terminaison portant une fonction amine protégée et dont la synthèse est décrite dans le chapitre I.2.1 de la partie Techniques expérimentales) en solution dans du THF, alors que la deuxième étape est la déprotection de la fonction amine primaire désirée en milieu acide, comme il est représenté sur le Schéma 6.

Une analyse par chromatographie sur couche mince de silice a mis en évidence qu'en plus du PB-NH₂ désiré, le produit brut issu de ces deux étapes contenait aussi des chaînes de polybutadiène non-fonctionnalisées. Ces dernières sont vraisemblablement dues d'une part, à la protonation des chaînes en croissance par une faible quantité d'impuretés introduites en même temps que l'agent de terminaison lors de la première étape, et d'autre part, à la faible sélectivité des carbanions butadiényllithium, qui, outre la réaction avec la fonction chlorure d'alkyle de l'agent de terminaison (point sur lequel nous allons revenir plus loin dans ce même chapitre) peuvent aussi se désactiver par arrachement d'hydrogène sur cette même molécule. Les chaînes α -fonctionnalisées ont donc été séparées des chaînes non-fonctionnalisées par chromatographie sur colonne de silice, et les chaînes de polybutadiène terminées avec une amine primaire (PB-NH₂) ont été obtenues avec un rendement assez faible, proche de 40%. Pour augmenter la sélectivité des centres carbanioniques terminaux en fin de polymérisation

du butadiène et ainsi accroître le rendement de cette étape de fonctionnalisation, nous avons transformé les centres actifs (PB^-Li^+) polybutadiényllithium en polybutadiényldiphényléthylényllithium par addition de diphenyléthylène au milieu “vivant”, formant ainsi des espèces actives (carbanions) plus stables et donc plus sélectives en réaction avec l'agent chloré. Cette réaction est suivie par le changement de coloration du milieu réactionnel du jaune intense au rouge vif caractéristique de la formation des anions diphényléthylényllithium.

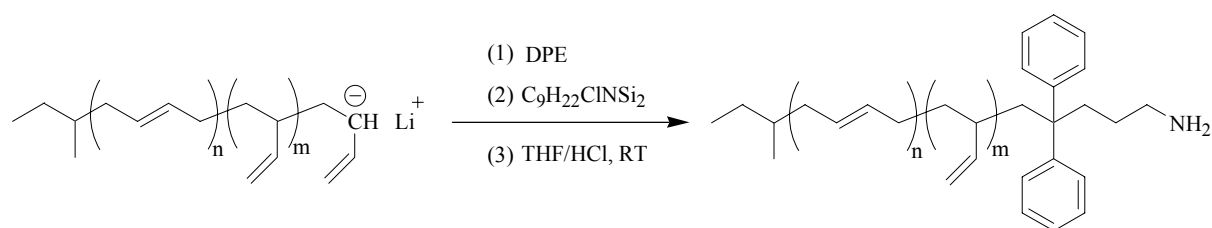
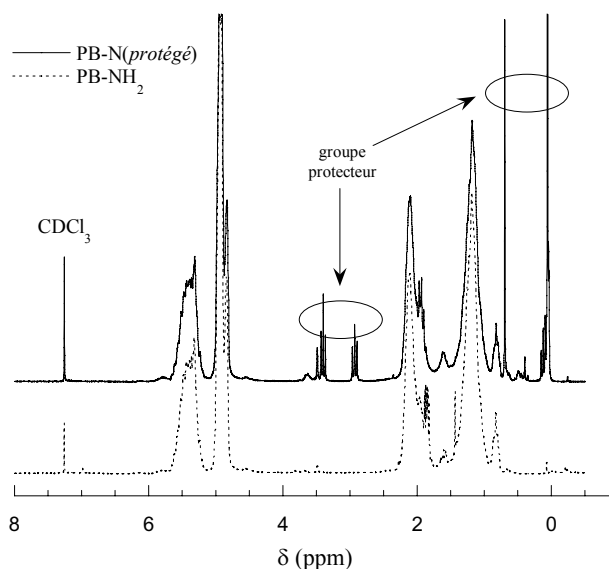


Schéma 7 : Fonctionnalisation des chaînes de polybutadiène par une amine primaire en passant par l'ajout de DPE afin d'augmenter le rendement

Les deux étapes précédentes de désactivation et déprotection sont ensuite reproduites à l'identique tout comme la purification sur colonne de silice et cette fois le rendement est de l'ordre de 80%, ce qui est nettement plus acceptable (Schéma 7).

Figure 32 : Suivi des deux étapes de terminaison et de déprotection par RMN ^1H dans le CDCl_3



L'ensemble de ces réactions a été suivi étape par étape par RMN du proton, uniquement de façon qualitative, en contrôlant la présence des massifs caractéristiques des fonctions concernées (Figure 32). En effet, en raison des limites techniques, imposées par l'appareillage,

particulièrement gênantes lors du dosage des fonctions en bouts de chaînes, il est difficile de mesurer de façon précise le pourcentage de chaînes effectivement fonctionnalisées.

Cette deuxième étape dans le processus global de synthèse des copolymères nous a ainsi permis d'obtenir des chaînes de polybutadiène α -fonctionnalisées avec une amine primaire, nécessaire à l'amorçage de la polymérisation du bloc peptidique poly(L-glutamate de γ -benzyle).

II.3. SYNTHÈSE DU DEUXIÈME BLOC : POLY(L-GLUTAMATE DE γ -BENZYLE)

Ce chapitre est consacré à la réalisation des copolymères à blocs composés de polybutadiène et de poly(L-glutamate de γ -benzyle). Ces travaux ont bien entendu été conduits en tenant compte des études présentées dans les deux premiers chapitres de cette partie, relatifs à la synthèse des deux homopolymères constitutifs des copolymères envisagés.

La voie de synthèse des copolymères à blocs pour laquelle nous avons opté consiste, comme le montre le Schéma 8, à doter le premier bloc (le bloc polybutadiène flexible) d'un groupe terminal fonctionnel sous une forme protégée. Le premier bloc fonctionnalisé est ensuite déprotégé, et la fonction amine primaire téléchélique est utilisée comme amorceur du NCA de L-glutamate de γ -benzyle. La longueur du second bloc est alors contrôlée par le rapport molaire monomère NCA/macroamorceur (α -aminopolybutadiène).

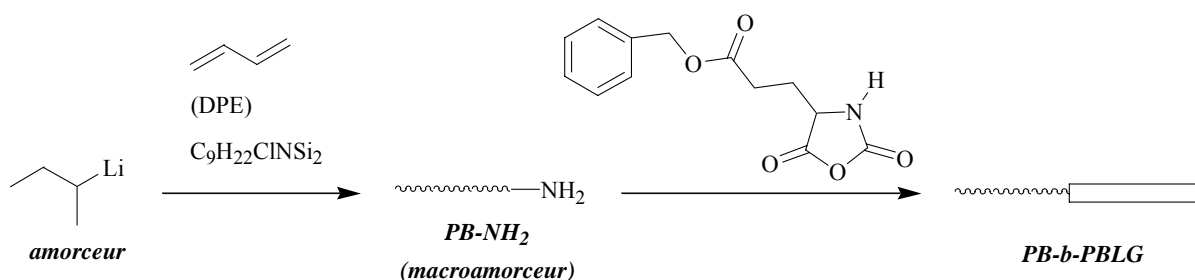


Schéma 8 : Voie de synthèse des copolymères à blocs à base de peptides

En suivant ce schéma réactionnel, différents copolymères à blocs polybutadiène-*b*-poly(L-glutamate de γ -benzyle) ont été synthétisés. Les polymérisations ont été réalisées dans un mélange THF/DMF (1:1, en volume) à température ambiante sur une période de 5 jours. Ce temps de polymérisation relativement long résulte du choix d'effectuer la polymérisation à basse température pour éviter les réactions secondaires. Les copolymères à blocs ainsi obtenus

ont, dans un premier temps, été analysés par spectroscopies RMN ¹H et Infra Rouge : Figure 33 et Figure 34.

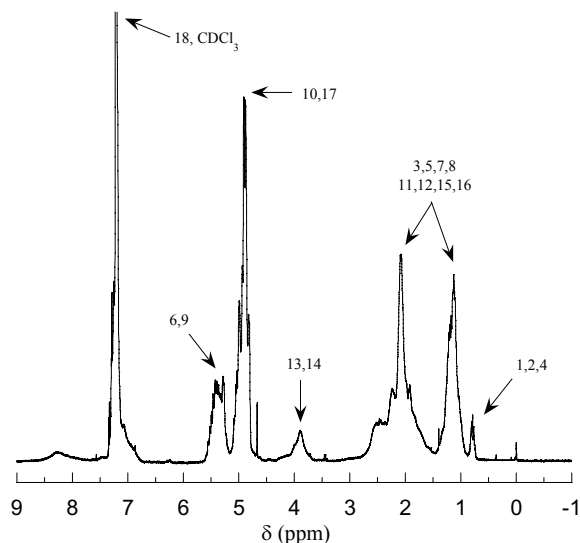


Figure 33 : Spectre RMN ¹H (CDCl₃) d'un PB-b-PBLG (ci-contre)

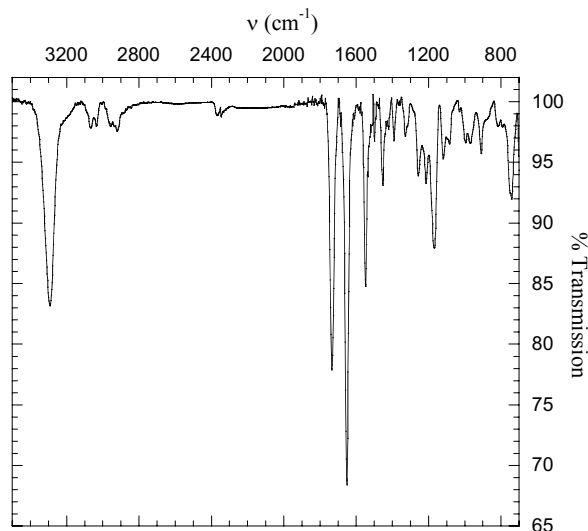


Figure 34 : Spectre IR-TR (sur wafer de Silicium) d'un PB-b-PBLG (ci dessous)

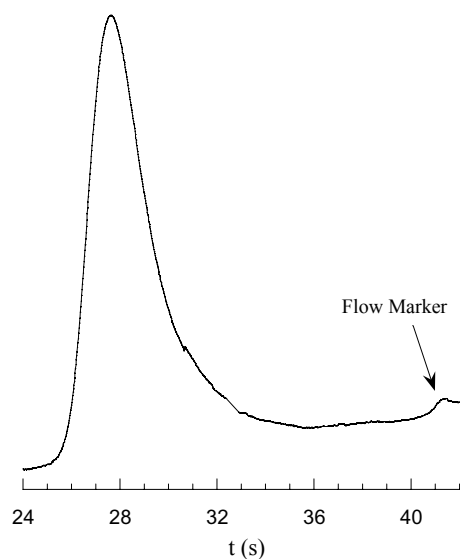
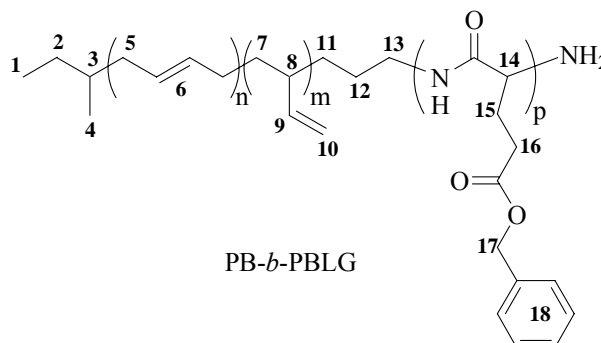


Figure 35 : CES d'un PB-PBLG (DMF, détecteur : réfractomètre)

Poly(butadiène-*b*-glutamate de benzyle)



PB-*b*-PBLG

Malheureusement, l'attribution des différents signaux, que ce soit dans le cas de la RMN ou dans le cas de l'IRTF, ne permet pas d'identifier, de façon indiscutable, les atomes de la liaison entre les deux blocs. En revanche, les analyses confirment la présence des deux types de motifs unitaires : polybutadiène et poly(L-glutamate de γ -benzyle). Afin d'être certain de la présence des copolymères et non des mélanges des deux homopolymères, nous avons utilisé la chromatographie d'exclusion stérique (dans le DMF) : les chromatogrammes des

copolymères à blocs démontrent bien la présence d'une seule population (Figure 35) et l'absence d'homopolybutadiène et d'homopoly(L-glutamate de γ -benzyle) résiduels.

Par contre, compte tenu de la “mauvaise” solubilité des copolymères PB-*b*-PBLG dans le DMF et en raison de l'étalonnage au polystyrène, les valeurs des masses molaires issues de la CES ne sont pas utilisables. C'est pourquoi, les valeurs expérimentales des masses molaires des copolymères à blocs PB-*b*-PBLG ont été évaluées en analysant les spectres RMN ¹H. En effet, il est possible de calculer le degré de polymérisation du second bloc (PBLG) à partir du rapport des intégrations des protons appartenant à chacun des deux blocs, et de la masse molaire du bloc initial de polybutadiène (PB-NH₂) (et donc de son degré de polymérisation). En fait, nous avons comparé l'intensité du signal du bloc polybutadiène compris entre 4,7 et 5,7 ppm (6+9+10, 5H, =CH- et =CH₂ ; voir Figure 33) – après avoir pris en compte le pourcentage effectif des microstructures de type PB-1,2 et PB-1,4 au sein du bloc considéré – avec celui du poly(L-glutamate de γ -benzyle) compris entre 4,7 et 5,17 (17, 2H, -CH₂-O-). Il aurait aussi été possible de prendre en compte les signaux caractéristiques des protons aromatiques (7,2 ppm, 5H, -CH=) à condition de faire l'analyse RMN dans un solvant autre que le chloroforme deutérié (dont le signal des protons résiduels est à 7,26 ppm), ou bien de tenir compte des signaux caractéristiques de l'amorceur du bloc polybutadiène (*sec*-butyllithium), uniquement dans le cas de copolymères de faibles masses molaires de façon à obtenir une résolution raisonnable pour le dosage des bouts de chaînes. L'ensemble des caractéristiques des copolymères ainsi analysés sont regroupées dans le Tableau 4.

Tableau 4 : Récapitulatif des caractéristiques des copolymères diblocs PB-*b*-PBLG

Code	Caractéristiques						
	Bloc PB		Bloc PBLG			Copo. \bar{M}_n	$\phi_{PBLG}^{(d)}$ (%mol)
	\bar{M}_n	\overline{DP}_n	$\bar{M}_n^{(a)}$	\overline{DP}_n théo. ^(b)	$\overline{DP}_n^{(c)}$		
40- <i>b</i> -100	2200	40	21900	-	100	24100	91
48- <i>b</i> -20	2600	48	4150	20	19	6750	62
48- <i>b</i> -56	"	"	12250	54	56	14850	82
48- <i>b</i> -114	"	"	24950	115	114	27550	90
48- <i>b</i> -145	"	"	31750	140	145	34350	93

(a) Obtenues par analyse des RMN ¹H. (b) Degrés de polymérisation visés lors de la synthèse du second bloc. (c) degrés de polymérisation calculés à partir des RMN ¹H. (d) Fractions molaires des blocs PBLG au sein des copolymères.

Étant donné la très bonne concordance des degrés de polymérisation obtenus entre ceux visés et ceux expérimentaux, nous pouvons confirmer - aux erreurs systématiques dues à la RMN ¹H près - que l'efficacité de l'amorçage de la polymérisation du NCA de glutamate de benzyle par les macromonomères PB-NH₂ est proche de 100%, ce qui confirme par la même occasion que l'évaluation des masses molaires par la méthode décrite ci-dessus est satisfaisante et que ces valeurs sont sans nul doute plus proches de la réalité que celles pouvant être extraites de la chromatographie d'exclusion stérique dans le DMF. Nous avons donc, dans un deuxième temps, préparé et caractérisé des copolymères à blocs PB-*b*-PBLG constitués de blocs de polybutadiène similaires (de masses molaires équivalentes) et de blocs de poly(L-glutamate de γ -benzyle) de fractions variables (de 62% molaire à 93% molaire de PBLG).

II.4. DÉPROTECTION

Les copolymères ainsi préparés ont ensuite été déprotégés selon le processus réactionnel présenté ci-dessous (Figure 36), et mis au point, au préalable, sur les homopolymères polybutadiène et poly(L-glutamate de γ -benzyle).

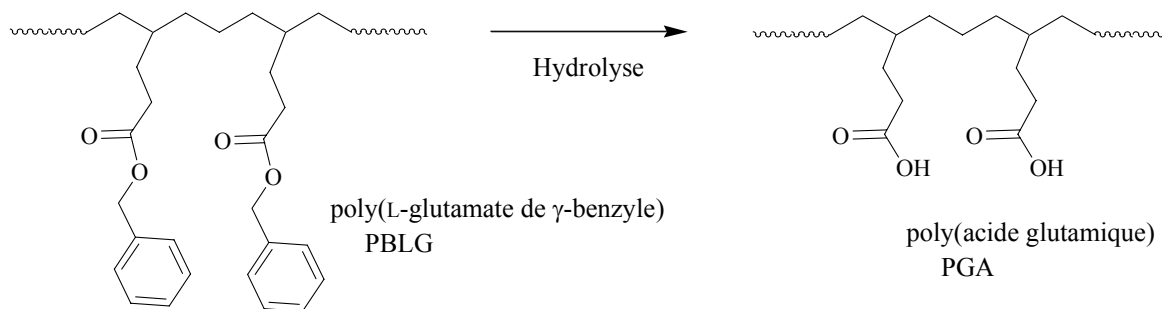


Figure 36 : Modification chimique du bloc poly(L-glutamate de γ -benzyle) (PBLG) pour mener au poly(acide glutamique) (PGA)

En effet, dans ce quatrième chapitre, nous présentons les résultats obtenus lors de la déprotection des fonctions acides du poly(acide glutamique) ainsi que ceux relatifs à la transformation de ces fonctions en groupements carboxylates de sodium, qui assurent une bonne solubilité des polypeptides en milieu aqueux.

Ce type de réaction a déjà été étudiée dans la littérature mais principalement dans le cas des homopolymères poly(L-glutamate de γ -benzyle). Dans le cadre de notre travail, compte tenu du fait que les modifications chimiques réalisées sur l'homopoly(L-glutamate de γ -

benzyle) devront ensuite être appliquées aux copolymères poly(butadiène-*b*-glutamate de benzyle), nous devons mettre au point un procédé de déprotection dans des conditions suffisamment douces pour ne pas affecter le bloc polybutadiène et en particulier ses doubles liaisons qui vont nous être indispensables pour la fixation/pérennisation des morphologies auto-assemblées ultérieures. La plupart des réactions décrites dans la littérature font intervenir des acides très forts tels que HBr et utilisent des molécules organiques simples pour la déprotection des fonctions acides selon des procédés qui ne sont pas toujours extrapolables à des macromolécules. Nous avons donc testé et optimisé dans nos conditions (présence de PB), plusieurs types de réactions de déprotection, et en particulier, l'hydrogénation et l'hydrolyse basique de l'ester benzylique.

Dans le cas de l'hydrogénation des groupes ester par H₂ (catalysée par du Palladium Black) et malgré le fait que cette procédure se soit montrée très efficace pour le poly(L-glutamate de γ -benzyle), elle n'a pas été retenue car quelles que soient les conditions de pression, 3 bars ou 1 bar, cette méthode s'est avérée dramatique pour le bloc polybutadiène. En effet, en réalisant une réaction témoin au cours de laquelle, seul un homopolybutadiène est mis en présence des réactifs de déprotection, et cela dans les mêmes conditions que la réaction de déprotection nominale, nous avons pu, par RMN ¹H, observer la disparition quasi-totale des doubles liaisons du polybutadiène (Figure 37) ainsi que la formation de parties insolubles.

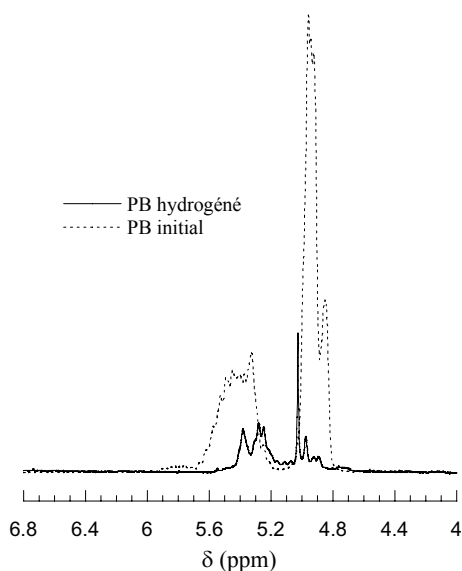


Figure 37 : Effet des conditions de déprotection par hydrogénation sur les doubles liaisons du bloc polybutadiène, spectres RMN ¹H des massifs concernés

Par contre, l'homopolybutadiène ne semble pas être affecté par l'action d'une hydrolyse basique à base de KOH. Nous avons de nouveau effectué une réaction témoin, et cette fois

aucune modification n'a été observée ni sur les spectres RMN ¹H concernant les proportions en doubles liaisons, ni sur les chromatogrammes d'exclusion stérique, comme le montrent les Figure 38 et Figure 39 (pas de modification de la masse molaire moyenne ni de l'indice de polymétrie).

De plus, l'application des mêmes conditions opératoires sur un homopolymère poly(L-glutamate de γ -benzyle) s'est avérée très efficace. La réaction (totale dans les conditions utilisées) est suivie par RMN, et le poly(acide glutamique) ainsi déprotégé est purifié par précipitation dans l'éther diéthylique (solvant des produits secondaires de la réaction). Le PGA déprotégé a été caractérisé par RMN ¹H uniquement car en ce qui concerne la CES, la mauvaise solubilité du poly(acide glutamique) dans les solvants classiques (le DMF étant le moins mauvais) a rendu les résultats inexploitable.

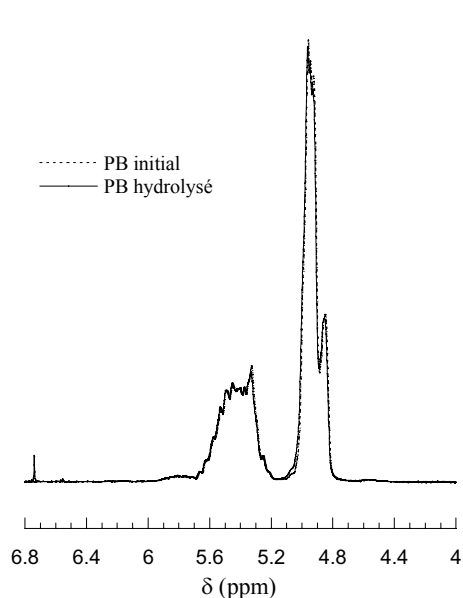


Figure 38 : Effet des conditions de déprotection par hydrolyse basique sur les doubles liaisons du bloc polybutadiène

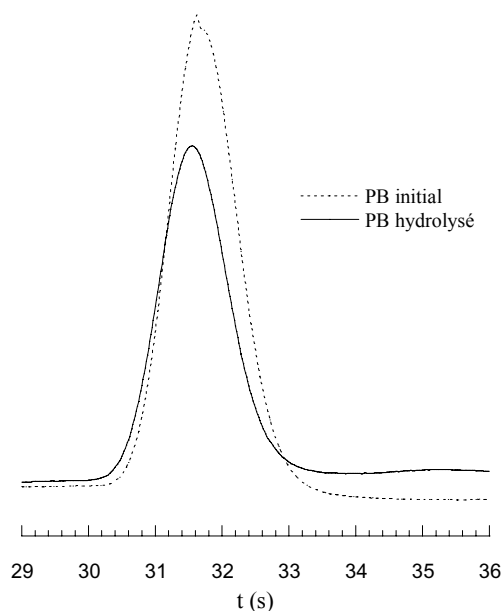


Figure 39 : CES avant et après hydrolyse basique d'un PB

Ainsi, en suivant le protocole présenté ci-dessus, mis au point sur les homopolymères de base, nous avons été en mesure de déprotéger l'ensemble de la série des copolymères polybutadiène-*b*-poly(L-glutamate de γ -benzyle) (PB-*b*-PBLG), préparés précédemment, par hydrolyse basique des fonctions ester (1 équivalent KOH par fonction ester à hydrolyser). Leurs caractéristiques sont rassemblées dans le Tableau 5.

Tableau 5 : Récapitulatif des caractéristiques des copolymères diblocs PB-b-PGA

Code	Caractéristiques					
	Bloc PB		Bloc PGA		Copo. \overline{M}_n	$\phi_{PGA}^{(a)}$ (%mol)
	\overline{M}_n	\overline{DP}_n	\overline{M}_n	\overline{DP}_n		
40-b-100	2200	40	12900	100	15100	85
48-b-20	2600	48	2600	20	5200	50
48-b-56	"	"	7200	56	9800	73
48-b-114	"	"	14700	114	17300	85
48-b-145	"	"	18700	145	21300	89

(a) Fractions molaires des blocs PGA au sein des copolymères.

Enfin, les échantillons de PB-b-PGA ont été solubilisés dans l'eau - pour ceux qui s'y sont prêtés, c'est-à-dire ceux possédant une fraction de poly(acide glutamique) suffisamment importante - par le biais d'une neutralisation à la soude (1 équivalent par fonction acide). Cette réaction entraîne la dissolution progressive des copolymères qui sont alors stables en solution aqueuse. Le dernier point restant alors à contrôler est l'effet de la déprotection sur la structure chimique des chaînes peptidiques, en particulier sur la conformation des carbones asymétriques. Nous avons donc vérifié que nous n'avions pas induit une racémisation des chaînes peptidiques au cours de l'hydrolyse basique en effectuant la mesure du pouvoir rotatoire spécifique d'un homopolymère PGA obtenu à partir d'un PBLG commercial placé dans les mêmes conditions de déprotection. La mesure du pouvoir rotatoire spécifique (Formule ci-dessous) a été réalisée à 20°C et pour une longueur d'onde incidente de 598 nm (raie du sodium), de façon à pouvoir comparer notre mesure à la valeur prise en référence dans la littérature : $[\alpha]_{598}^{20} = -75$, pour un PGA formé à partir d'un PBLG synthétisé via la polymérisation du NCA correspondant. Dans notre cas la mesure nous a donné $[\alpha]_{598}^{20} = -72$, ce qui est parfaitement comparable à la valeur théorique et permet d'écartier l'hypothèse d'une racémisation du PGA dans nos conditions de déprotection.

$$[\alpha]_t = \frac{10000 \times \alpha}{c \times l} \quad \text{avec} \quad \alpha : \text{la rotation optique à } \lambda \text{ et } t \text{ (mesurée)}$$

c : la concentration (en g/100ml)

l : le trajet optique (en mm)

t : la température, et λ : la longueur d'onde

Cette partie s'achève ainsi avec la réalisation de deux séries de copolymères diblocs à base de polypeptides : une première série de copolymères polybutadiène-*b*-poly(L-glutamate de γ -benzyle) solubles en solvants organiques ainsi qu'une seconde série de copolymères diblocs polybutadiène-*b*-poly(acide glutamique) possédant alors un bloc hydrosoluble. Nous pouvons à présent résumer brièvement la méthode de synthèse à laquelle nous avons fait appel. Dans un premier temps, la synthèse débute par la polymérisation du butadiène par voie anionique vivante, puis ce premier bloc bien défini est fonctionnalisé par une amine primaire. Dans un deuxième temps, cette amine primaire est utilisée pour l'amorçage du second bloc peptidique poly(L-glutamate de γ -benzyle) par polymérisation contrôlée par ouverture de cycle (NCA). Enfin, les copolymères ont été déprotégés en hydrolysant les fonctions ester de benzyle protectrices des fonctions acides pour former des copolymères diblocs PB-*b*-PGA.

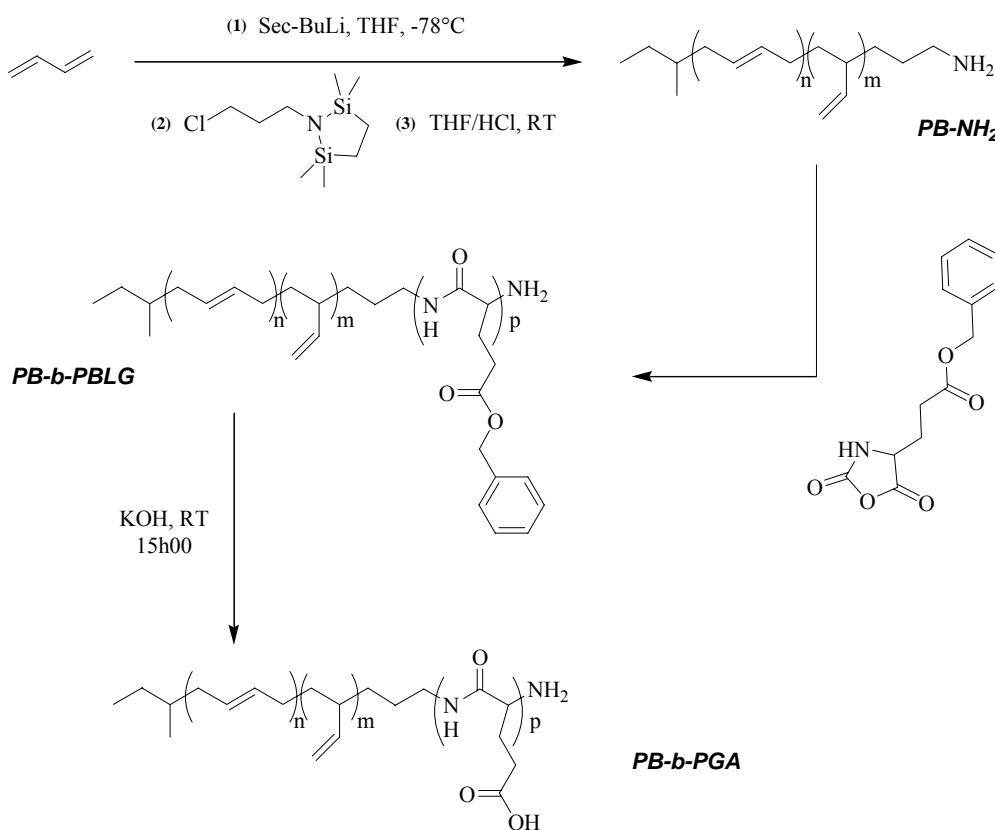


Schéma 9 : Procédé de synthèse globale des copolymères diblocs PB-*b*-PBLG et PB-*b*-PGA (sans unité DPE intermédiaire)

Cette démarche est illustrée par le Schéma 9 et nous a donc permis de construire des briques de base extrêmement bien définies, avec un bloc polybutadiène flexible à fort taux d'enchaînements -1,2 et un bloc poly(L-glutamate de γ -benzyle) ou poly(acide glutamique) susceptible de répondre à des variations de température et/ou de pH par des modifications de

2^{ème} Partie : Synthèse

sa structure secondaire. De plus, nous avons synthétisé des copolymères possédant différentes fractions en blocs peptidiques, ce qui doit *a priori*, nous permettre d'observer différentes morphologies d'auto-assemblage (si l'on se fie à l'étude bibliographique), tant en masse qu'en solution (aqueuse ou organique avec des structures respectivement “directe” ou “inverse”).

**3^{ÈME} PARTIE : AUTO-
ASSEMBLAGE**

Après avoir synthétisé une série de copolymères “hybrides” à base de polybutadiène et de polypeptide, nous allons maintenant nous concentrer sur l'étude et la caractérisation la plus complète des structures auto-assemblées se formant en masse (cas des copolymères polybutadiène-*b*-poly(L-glutamate de γ -benzyle) PB-*b*-PBLG) ainsi qu'en solution (cas des copolymères polybutadiène-*b*-poly(acide glutamique) PB-*b*-PGA). Avant de détailler les études expérimentales que nous avons menées, nous souhaitons dans un premier temps introduire le phénomène de diffusion. En effet, il nous semble important d'expliquer ce phénomène de façon qualitative, sans toutes les équations associées (que l'on trouve aisément dans de nombreux ouvrages), afin de donner une vue générale des informations pouvant être déduites des différentes techniques de diffusion (lumière, neutron, rayons X), techniques qui sont à la base d'une grande partie de notre étude. Nous reviendrons par la suite, dans chaque paragraphe concerné, sur les points (modèles, équations...) nécessaires à la compréhension et à l'explication des phénomènes auxquels nous serons confrontés.

I. DIFFUSION DE RAYONNEMENTS : CONCEPTS.

Les techniques de diffusion sont bien connues en science des polymères (et plus généralement dans le cadre de la “matière molle”) puisqu'elles constituent l'une des principales méthodes pour l'étude et la caractérisation de ces macromolécules. Brièvement, la diffusion est l'un des phénomènes qui affecte une onde lors de son passage à travers un milieu matériel. Trois grandes techniques peuvent être distinguées : la diffusion de lumière, la diffusion des neutrons et la diffusion des rayons X aux petits angles. Chacune de ces trois techniques, plus ou moins adaptée au système étudié, repose sur le même principe général. Lorsqu'une onde incidente plane monochromatique, d'intensité I_0 et de longueur d'onde λ_0 traverse un milieu matériel, sa propagation est modifiée. L'un des effets les plus immédiats est qu'une partie du rayonnement se distribue dans toutes les directions de l'espace. C'est ce phénomène qui est appelé diffusion.

Comme le montre la Figure 40, un échantillon soumis à un faisceau incident diffuse dans toutes les directions de l'espace et le rayonnement diffusé est alors étudié selon l'angle d'observation θ . Remarquons que la longueur d'onde λ_0 du faisceau incident est différente selon la technique utilisée :

- $4000 \text{ \AA} < \lambda_0 < 7000 \text{ \AA}$ pour la diffusion de lumière
- $0.2 \text{ \AA} < \lambda_0 < 2 \text{ \AA}$ pour la diffusion des rayons X
- $1 \text{ \AA} < \lambda_0 < 20 \text{ \AA}$ pour la diffusion des neutrons

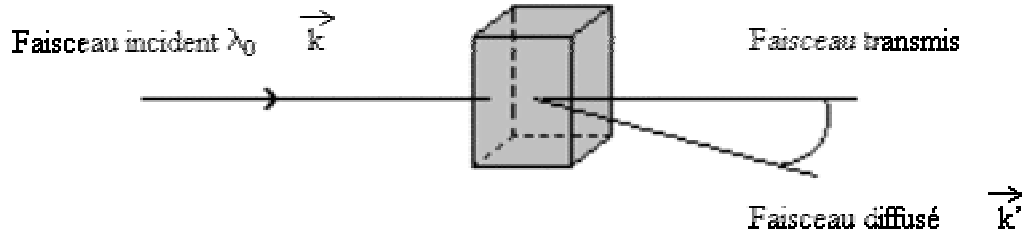


Figure 40 : Schéma simplifié du principe de diffusion par un échantillon soumis à un rayonnement incident de longueur d'onde λ_0 . (\vec{k}, \vec{k}' sont respectivement les vecteurs d'onde du rayon incident et du rayon diffusé)

La méthode consiste à étudier l'intensité diffusée en fonction de l'angle d'observation θ . L'intensité, qui dépend de θ , est plutôt exprimée en fonction du vecteur d'onde \vec{q} égal à $\vec{k} - \vec{k}'$. \vec{q} a pour direction la bissectrice extérieure de l'angle entre le faisceau incident et le faisceau diffusé et sa norme s'écrit :

$$q = \frac{4\pi}{\lambda} \sin \frac{\theta}{2} \quad \text{Eq. 1} \quad \text{avec} \quad \lambda = \frac{\text{longueur d'onde dans le vide } \lambda_0}{\text{indice de réfraction du milieu } n}$$

Cette relation montre que le vecteur d'onde est inversement proportionnel à λ . Or, nous avons vu que les longueurs d'onde incidentes étaient différentes selon la technique, par conséquent le domaine de q dépend du rayonnement (lumière, rayons X ou neutrons). typiquement, les domaines suivants de q sont accessibles :

- $5.10^{-5} < q (\text{\AA}^{-1}) < 3.10^{-3}$ en lumière
- $2.10^{-4} < q (\text{\AA}^{-1}) < 5.10^{-1}$ pour les neutrons et rayons X aux petits angles

Le vecteur d'onde q peut être perçu comme l'inverse de l'échelle d'observation. Nous allons décrire, de manière qualitative, ce qui est observable lorsqu'une solution diluée de polymère est étudiée à différentes échelles de q .

Aux faibles valeurs de q , le pouvoir séparateur est faible et les molécules sont pratiquement des points (Figure 41). La grandeur qui peut être mesurée, si ces points sont indépendants, est leur masse molaire.

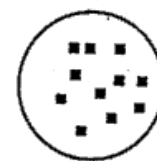


Figure 41

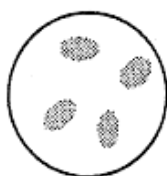


Figure 42

Aux valeurs de q plus importantes, les molécules ne sont plus ponctuelles (Figure 42). Leurs dimensions globales deviennent mesurables et les quantités alors déterminées sont leurs rayons de giration. (Cela n'est plus vrai lorsque les distances entre les molécules sont de l'ordre de grandeur de leurs dimensions)

Aux grandes valeurs de q , seules les petites distances sont observables. La chaîne, considérée comme le modèle idéal de la mécanique statistique (chaîne d'arpenteur), peut être étudiée (Figure 43). Les résultats ne dépendront alors ni de la masse molaire ni de la concentration.



Figure 43

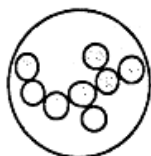


Figure 44

Enfin, aux très grandes valeurs de q , la structure moléculaire est observable à l'échelle de quelques monomères (Figure 44).

Ainsi nous pouvons constater que les trois techniques de diffusion, présentant chacune une échelle de vecteur d'onde différente, sont complémentaires. En effet, leur combinaison permet l'étude d'un système dans un domaine de vecteur d'onde q assez large.

Tableau 6 : Tableau récapitulatif du mode de contraste selon les différentes techniques de diffusion

Technique de diffusion	Contraste
Lumière	Différence d'indice de réfraction
Rayons X	Différence de densité électronique
Neutrons	Différence de longueur de diffusion cohérente entre les atomes

Notons à présent, que l'étude de l'intensité diffusée, en fonction du vecteur d'onde (c'est à dire en fonction de l'angle d'observation) nécessite la prise en compte d'un paramètre important : le contraste (Tableau 6).

En effet, tout comme en photographie où cette notion est essentielle pour obtenir une image de qualité, le contraste, généré de manière différente selon les techniques (Tableau 6) va permettre de différencier l'intensité diffusée par l'échantillon de celle diffusée par le milieu contenant les particules.

II. AUTO-ASSEMBLAGE EN MASSE DU PB-*b*-PBLG.

L'objectif de ce chapitre est de caractériser et d'étudier les propriétés structurales ainsi que les morphologies supramoléculaires auto-assemblées formées par les copolymères diblocs hybrides polybutadiène-*b*-poly(L-glutamate de γ -benzyle) en masse ; en fonction de la fraction volumique du bloc peptidique (PBLG) au sein des copolymères, en fonction de la température, ainsi qu'en fonction de différents solvants (non sélectifs et/ou faiblement sélectifs) utilisés pour la préparation des films de copolymères. Pour cela, nous avons fait appel à différentes techniques d'analyse complémentaires. Nous avons, dans un premier temps, utilisé la spectroscopie infra rouge (IRTF) et les techniques de mesures physiques qui sont l'analyse enthalpique différentielle (AED) et l'analyse mécanique dynamique (AMD ou DMA, dynamic mechanical analysis selon la terminologie anglo-saxonne mieux connue) afin d'effectuer l'analyse structurale de nos différents copolymères. Dans un second temps, nous avons utilisé la technique de diffusion des rayons-X aux petits angles (SAXS) par des films de copolymère, afin de caractériser les (super)structures obtenues par le processus d'auto-assemblage en masse.

II.1. ÉTUDE THERMODYNAMIQUE ET STRUCTURALE PRÉLIMINAIRE

Les propriétés thermodynamiques et structurales des quatre échantillons de copolymères diblocs ont tout d'abord été étudiées par AMD et par AED. De multiples informations ont pu en être extraites et sont regroupées dans le tableau récapitulatif présenté à la fin de ce paragraphe. Afin de décrire en détail les résultats obtenus, nous allons nous aider des thermogrammes caractéristiques observés dans le cas du copolymère diblocs polybutadiène₄₈₋

b-poly(L-glutamate de γ -benzyle)₁₁₄ (PB₄₈-*b*-PBLG₁₁₄) présentés Figure 45 et Figure 46 (respectivement relatives à l'AMD et à l'AED).

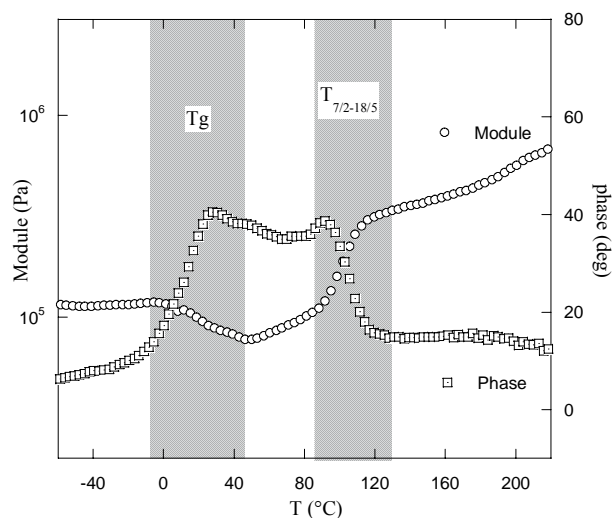


Figure 45 : Mesures du module et de la phase en fonction de la température par AMD ; échantillon PB₄₈-*b*-PBLG₁₁₄

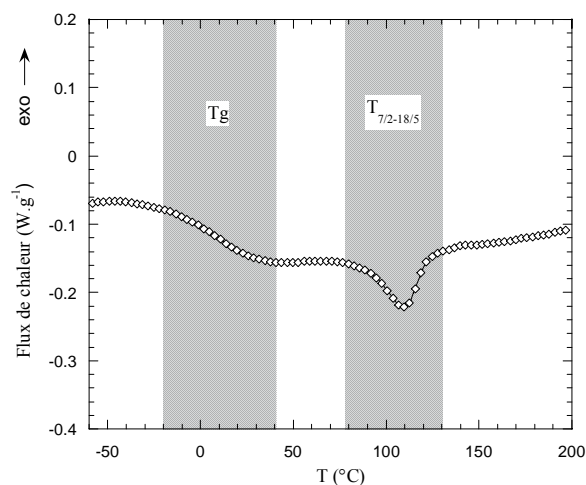


Figure 46 : Analyse enthalpique différentielle (AED) du copolymère PB₄₈-*b*-PBLG₁₁₄

La première caractéristique ressortant à la fois du thermogramme d'AED et des mesures du module et de la phase par analyse mécanique dynamique est le fait que la transition vitreuse du bloc polybutadiène n'a pu être distinguée au sein de ces copolymères (quelle que soit la fraction de PBLG). Les températures de transition vitreuse des blocs polybutadiène utilisés pour les copolymérisations ont néanmoins été préalablement déterminées avant la synthèse du second bloc ($T_g \sim -25^\circ\text{C}$ en moyenne, voir 2^{ème} Partie : Synthèse, chapitre II.1 Synthèse du premier bloc : Polybutadiène). Cela résulte probablement des modifications au sein du bloc peptidique, lesquelles induisent des changements thermodynamiques relativement importants (comme nous allons le voir juste après) et “masquent” la transition vitreuse due au segment polybutadiène.

Comme nous venons de le signaler, il apparaît deux changements thermodynamiques importants au sein des copolymères en fonction de la température, l'un en dessous de 20°C et l'autre vers 110°C (Figure 45 et Figure 46). Ces deux modifications sont caractéristiques du bloc poly(L-glutamate de γ -benzyle) et sont respectivement associées à la température de transition vitreuse du PBLG (transition du second ordre) et à la transition du premier ordre entre deux conformations hélicoïdales : hélice de type 7/2 à hélice- α de type 18/5^[69,169,170]. En fait, il a été montré^[69] par microscopie optique polarisée que la température de cette transition

du premier ordre ne correspond pas à la température de transition anisotrope-isotrope du matériau, mais représente le passage à une phase de type cristal-liquide. Les textures typiques des phases cristal-liquides apparaissent à cette température et persistent, sans modification majeure, jusqu'à plus de 200°C (au dessus de 250°C le matériau commence à se dégrader). Le comportement thermique de ces copolymères diblocs PB₄₈-*b*-PBLG_n ressemble donc à celui des homopoly(L-glutamate de γ -benzyle) possédant une structure cristalline de type C : structure bien connue pour sa capacité à former des phases cristal-liquides thermotropes et lyotropes^[171]. Cette structure (C) correspond à une phase nématique qui peut exister sous deux formes qui ne sont différentes que par la conformation (structure secondaire) de la chaîne polypeptide. En effet, l'hélice- α (l'une des structures secondaires envisageables dans le cas des polypeptides) stabilisée par des liaisons hydrogène intramoléculaires, possède des résidus d'acides aminés approximativement tous les 0,54 nm en suivant un pas hélicoïdal de type dextrogyre dans le cas des L- α -acides aminés. Elle est donc constituée de 3,6 résidus par 360° ce qui correspond à 18 résidus en cinq tours. Cette conformation en hélice- α 18/5 constitue la norme pour les polypeptides. Pourtant, une seconde conformation en hélice a été observée dans le cas des peptides, avec 7 résidus en deux tours (7/2). La transition du premier ordre est alors attribuée à la transformation de conformation des segments peptidiques d'une structure non-usuelle en hélice de type 7/2 à la structure classique en hélice- α 18/5, et est irréversible dans le cas d'homopolypeptides^[170]. Ce changement de conformation associée à une augmentation de la compacité de l'hélice, en passant de 3,5 résidus par tour (7/2) à 3,6 résidus par tour (18/5), se traduit par une augmentation importante et brutale du module, comme nous pouvons l'observer dans le cas parfaitement représentatif du copolymère PB₄₈-*b*-PBLG₁₁₄ sur la Figure 45. Notons aussi la diminution de cette température de transition avec le degré de polymérisation du bloc PBLG, en particulier dans le cas du PB₄₈-*b*-PBLG₂₀ (voir Tableau 7, point sur lequel nous reviendrons en combinant ces résultats avec ceux obtenus par spectroscopie IR). Pour ce qui est de la température de transition vitreuse du segment PBLG, il semble qu'elle soit légèrement dépendante de son degré de polymérisation en diminuant faiblement lorsque la longueur du segment augmente (Tableau 7).

De façon à pousser plus avant l'étude sur la conformation des segments peptidiques au sein des copolymères diblocs, nous avons utilisé la spectroscopie Infra Rouge à Transformée de Fourier (IRTF). Deux spectres caractéristiques sont présentés Figure 47 et Figure 48, et correspondent respectivement aux deux copolymères de plus faible masse molaire, i.e., le PB₄₈-*b*-PBLG₂₀ et le PB₄₈-*b*-PBLG₅₆.

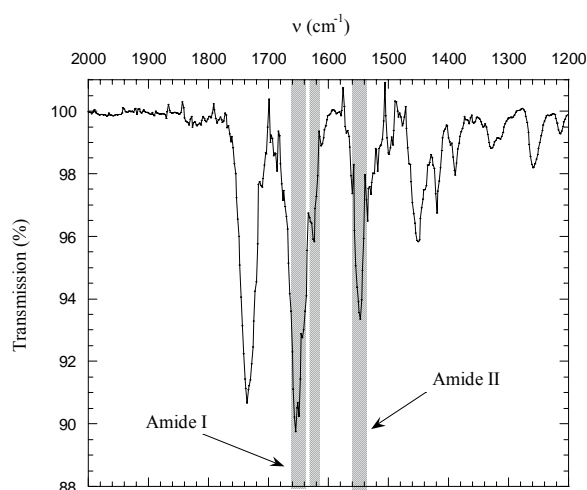


Figure 47 : Spectre IRTF du PB_{48} -b- $PBLG_{20}$; zone entre 1200 et 2000 cm^{-1}

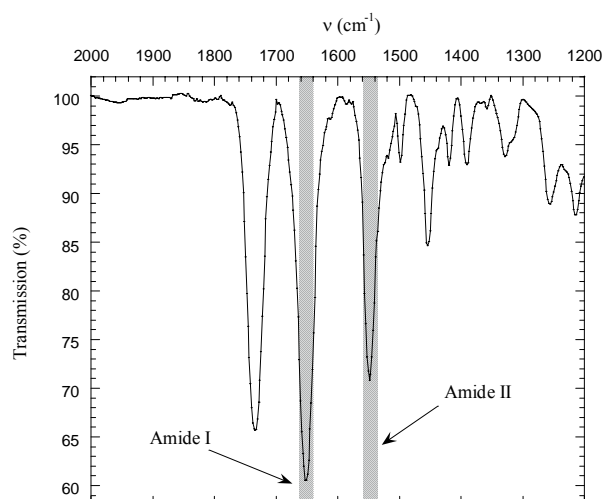


Figure 48 : Spectre IRTF du PB_{48} -b- $PBLG_{56}$; zone entre 1200 et 2000 cm^{-1}

Dans les deux cas, la présence des bandes à 1655 cm^{-1} (Amide I) et 1550 cm^{-1} (Amide II) confirme la conformation en hélice- α des blocs peptidiques (bandes que l'on retrouve aussi pour les copolymères à plus forte fraction en PBLG). En revanche, dans le cas du copolymère possédant le bloc PBLG le plus court ($PBLG_{20}$), et uniquement dans ce cas, une bande supplémentaire apparaît proche de 1630 cm^{-1} . Cette bande Amide I (C=O élongation), déplacée vers les plus faibles fréquences, est caractéristique de la structure secondaire en feuillet- β des peptides^[72] et a pour origine un renforcement des liaisons hydrogène au sein du peptide ainsi que l'agrégation sous forme de brins de ces mêmes peptides dans cette conformation particulière. L'IRTF nous fournit ainsi la preuve irréfutable de l'existence de deux structures secondaires au sein du copolymère PB_{48} -b- $PBLG_{20}$, résultat en parfait accord avec les études précédentes^[69], montrant l'instabilité de la conformation en hélice- α dans le cas de segments PBLG très courts. Au contraire, le fait d'augmenter la longueur du bloc peptidique stabilise la structure secondaire en hélice- α , comme le prouve la disparition de la bande à 1630 cm^{-1} dès le degré de polymérisation égal à 56. En outre, ce dernier phénomène (stabilisation de l'hélice- α) est amplifié par la présence du premier bloc flexible (PB_{48} dans notre cas) comme cela a déjà été observé au sein du laboratoire^[69,70]. Revenons à présent sur le cas particulier du copolymère PB_{48} -b- $PBLG_{20}$. Nous avons observé une température de transition 7/2-18/5 relativement faible par AMD et AED. Par ailleurs, nous venons de signaler que la faible longueur du bloc peptidique induit une déstabilisation de la structure secondaire en hélice- α et favorise la conformation en feuillet- β (Figure 47). Trois interprétations peuvent

donc être avancées pour expliquer cette observation. La première tient au fait que la chute de la transition du premier ordre est uniquement due à la déstabilisation de la structure en hélice- α en raison du faible degré de polymérisation du segment peptidique. La seconde est que cette transition n'est pas, dans ce cas, relative à un changement de conformation de l'hélice- α des blocs peptidiques, mais due à une modification des segments peptidiques à structure en feuillet- β . Enfin, la dernière interprétation (la plus probable) est fondée sur la combinaison des deux précédentes avec l'effet simultané des deux processus : déstabilisation de l'hélice- α et modification des feuillets- β .

L'ensemble des caractéristiques des copolymères étudiés est regroupé dans le Tableau 7.

Tableau 7 : Caractéristiques thermiques et structurales des quatre copolymères étudiés, déterminées par AMD, AED et IRTF

code	T _g		T _{7/2-18/5} (hélices) (°C)	microstructure secondaire	
	PB (°C)	PBLG (°C)		hélice- α	feuillet- β
PB _{48-b} -PBLG ₂₀	-34	20	76	+	+
PB _{48-b} -PBLG ₅₆	-34	19	90	+	-
PB _{48-b} -PBLG ₁₁₄	-34	16	109	+	-
PB _{48-b} -PBLG ₁₄₅	-34	15	110	+	-

Ces études préliminaires nous ont donc fourni les preuves de différences structurales entre les copolymères synthétisés. Ces différences doivent alors avoir des conséquences directes sur les structures supra(macro)moléculaires d'auto-assemblage. Afin de confirmer et d'étudier plus en détail ces différences au sein des organisations supramoléculaires, nous avons fait appel à une technique permettant de sonder directement la structure organisée : la diffusion des rayons-X aux petits angles (en fonction de la température).

II.2. ÉTUDE DE L'ORGANISATION SUPRAMOLÉCULAIRE PAR SAXS

La caractérisation des morphologies formées par auto-assemblage des copolymères diblocs PB_{48-b}-PBLG_n, résultant de la micro-séparation de phases induite par l'incompatibilité entre les blocs de nature chimique et entropique (contrainte conformationnelle liée à la structure "rod-coil") différentes, a été réalisée par diffusion de rayons-X aux petits angles (SAXS). Les mesures ont été effectuées sur des films obtenus par évaporation de solvants

non- ou peu-sélectifs : tétrahydrofurane (THF), dioxane, et un mélange dioxane/acide trifluoroacétique (TFA). L'intensité diffusée a été mesurée en fonction de la température entre 30°C et 230°C, dans deux configurations différentes. La première correspond à une distance échantillon-détecteur de ~23 cm et nous informe sur la structure locale des assemblages ($0,15 \text{ \AA}^{-1} \leq q \leq 0,96 \text{ \AA}^{-1}$), alors que la seconde correspond à une distance échantillon-détecteur de ~106 cm et nous renseigne sur l'organisation à grande échelle ($0,01 \text{ \AA}^{-1} \leq q \leq 0,20 \text{ \AA}^{-1}$).

II.2.1. FILMS OBTENUS PAR ÉVAPORATION DE SOLUTIONS DANS LE THF

Notre première étude a porté sur la caractérisation de films obtenus par évaporation (sous atmosphère saturée) de solutions dans le THF. Le THF est un solvant non sélectif pour les deux blocs constitutifs des copolymères PB-*b*-PBLG et ne doit par conséquent pas induire la formation de structures organisées en solution (de type micelle au sens générique du terme). Ainsi, au fur et à mesure du processus d'évaporation, de concentration du copolymère, le phénomène de séparation de phases se met en place, en raison de l'incompatibilité entre les blocs, et produit un matériau (nano)organisé. Notons que le THF est un solvant assez volatil, ce qui fait que, malgré la présence de l'atmosphère saturée, l'évaporation est tout de même plutôt rapide et ne nécessite que 24 à 36 heures. Enfin, il est important de remarquer que le THF est un solvant "hélicogénique", c'est-à-dire qu'il favorise la formation de la conformation en hélice- α au sein des blocs peptidiques de poly(L-glutamate de γ -benzyle) (PBLG) au dépens de la structure en feuillet- β par exemple.

Regardons tout d'abord, l'effet de la fraction de PBLG sur l'organisation à courte et à longue distance dans les films de copolymères. Plaçons nous, pour cela, à 200°C, c'est-à-dire au sein de la phase de type cristal-liquide de tous nos matériaux.

La Figure 49 présente l'intensité diffusée par les quatre systèmes de copolymères en fonction du vecteur d'onde q , dans la configuration nous renseignant sur l'organisation locale du matériau : ~23 cm ; grands vecteurs d'onde ; faibles distances caractéristiques associées.

Dans un premier temps, nous pouvons remarquer, pour les segments en PBLG les plus longs, la présence d'une série de pics de Bragg typiques d'un arrangement de type hexagonal cylindrique : les réflexions apparaissent à des vecteurs d'onde de $0,45 \text{ \AA}^{-1}$, $0,79 \text{ \AA}^{-1}$, $0,90 \text{ \AA}^{-1}$, pour les rapports caractéristiques $1, \sqrt{3}, \sqrt{4}$.

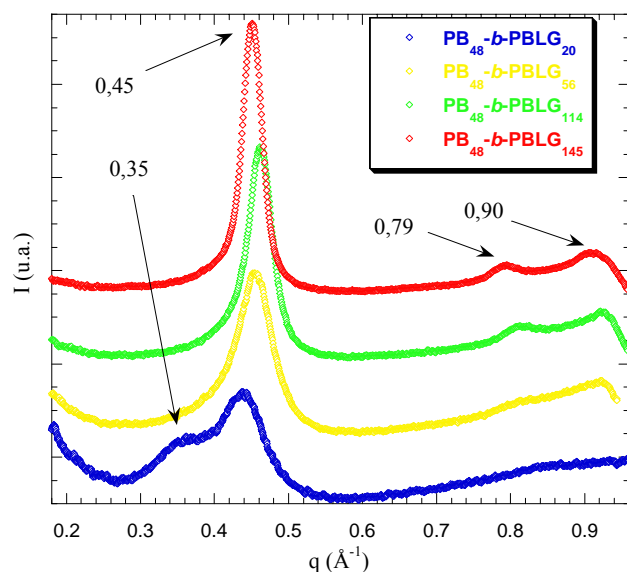


Figure 49 : Profils d'intensité diffusée aux grands vecteurs d'onde q pour les quatre copolymères

Ainsi, en combinant ce résultat avec ceux obtenus précédemment par IRTF, AMD et AED, il apparaît que nous sommes, pour les trois copolymères de plus forte fraction peptidique, en présence d'une phase locale de type hexagonale formée par l'arrangement de cylindres constitués des blocs peptidiques en conformation en hélice- α . Cette observation est de nouveau en accord avec les études précédemment réalisées sur la structure de type C ^[170]. Dans la phase cristal-liquide, au dessus de 120°C, le poly(L-glutamate de γ -benzyle) forme une phase de type nématique dans laquelle les chaînes peptidiques en conformation en hélice- α sont organisées en une structure (quasi)hexagonale. Le paramètre de maille, que nous noterons d_α , peut être calculé à partir du pic à $\sim 0,45 \text{ \AA}^{-1}$ (premier ordre), il est de $\sim 16 \text{ \AA}$, ce qui correspond à la distance intermoléculaire entre deux chaînes de poly(L-glutamate de γ -benzyle) voisines. De plus, un large pic de diffusion devrait être présent pour un vecteur d'onde proche de $q \sim 1,30 \text{ \AA}^{-1}$, pouvant être attribué à la distance entre groupements aromatiques ($\sim 5 \text{ \AA}$), mais pour des raisons techniques expérimentales (taille du détecteur et distance échantillon-détecteur), cette réflexion n'a pu être observée. Par ailleurs, le fait de diminuer la longueur de la chaîne de polypeptide mène à la déstabilisation de la structure secondaire en hélice- α . Cet effet est particulièrement visible dans le cas du copolymère $\text{PB}_{48}\text{-}b\text{-PBLG}_{20}$ qui, comme l'a montré la spectroscopie Infra Rouge (IRTF), a tendance à adopter une conformation en feuillet- β en plus de la structure secondaire en hélice- α . Les pics de diffusion observés pour le $\text{PB}_{48}\text{-}b\text{-PBLG}_{20}$ peuvent donc être attribués sans difficulté en accord avec les deux structures secondaires principales des peptides : l'hélice- α et le feuillet- β . Ainsi le premier pic à environ $0,35 \text{ \AA}^{-1}$ dans le profil de diffusion SAXS doit refléter

l'organisation lamellaire des chaînes de PBLG avec une structure en feuillet- β , organisation de type antiparallèle stabilisée par des liaisons hydrogène intermoléculaires. La distance d_β correspondant à ce pic, $\sim 18\text{\AA}$, représente l'épaisseur d'une lamelle. Le second pic à $\sim 0,44\text{\AA}^{-1}$ est alors relié à la structure secondaire en hélice- α , comme dans le cas des autres copolymères, et à la structure hexagonale colonnaire associée. L'étude de la structure locale nous indique donc que pour le copolymère possédant la plus faible fraction en PBLG (et un degré de polymérisation égale à 20), l'arrangement colonnaire hexagonal des chaînes peptidiques en hélice- α coexiste avec l'arrangement lamellaire de chaînes de PBLG avec une structure secondaire en feuillet- β .

Passons à présent, à l'étude de l'organisation à longue distance. La Figure 50 présente l'intensité diffusée par les quatre films de copolymères en fonction du vecteur d'onde q , pour une distance échantillon-détecteur proche de 106 cm.

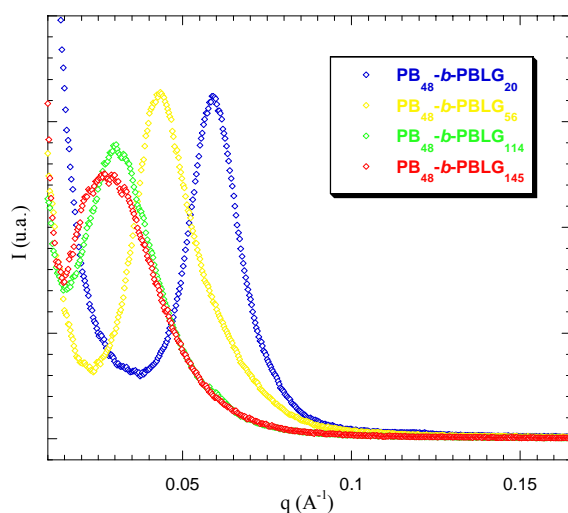


Figure 50 : Profils d'intensité diffusée aux petits vecteurs d'onde q pour les quatre copolymères

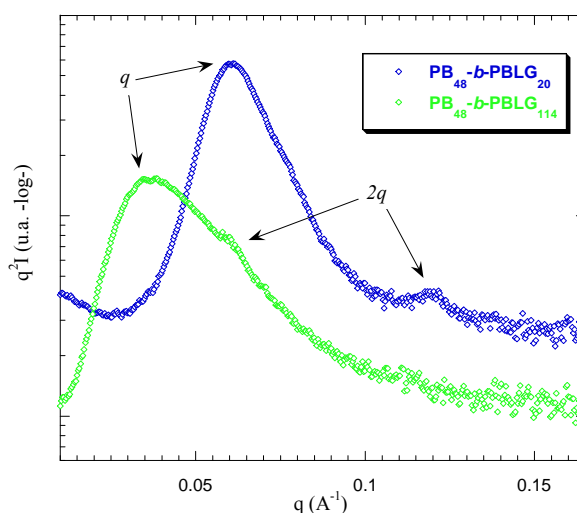


Figure 51 : Représentation $Iq^2=f(q)$ en échelle semi-log faisant ressortir les pics/épaulements aux plus grandes valeurs de q

Les quatre profils de diffusion ne font apparaître clairement qu'un large pic dont la position est dépendante de la fraction en bloc peptidique au sein du copolymère. Ce large pic n'est malheureusement pas suffisant pour associer ces profils d'intensité à des morphologies spécifiques. Néanmoins, l'étude en détail de ces derniers permet de faire apparaître, dans certains cas, un second pic/épaulement dont la position est caractéristique d'une phase de type lamellaire (Figure 51) : les réflexions peuvent être attribuées selon l'ordre 1, 2. Ainsi, nous pouvons raisonnablement considérer un même arrangement de type lamellaire pour nos quatre

systèmes auto-assemblés de copolymères. Il nous est alors possible d'évaluer les différents paramètres caractéristiques des morphologies obtenues par auto-assemblage, en fonction de la longueur du segment poly(L-glutamate de γ -benzyle), soit à partir des structures locales, soit à partir de la structure de plus grande échelle (structure principale), soit en combinant les deux. L'ensemble de ces paramètres est regroupé dans le Tableau 8, et a été déterminé à partir de considérations géométriques simples en se fondant sur les travaux de Gallot^[60,143] et en les appliquant à des systèmes en masse, i.e., sans solvant.

Tableau 8 : Caractéristiques structurales (à 200°C) des auto-assemblages formés au sein des films obtenus par évaporation de solutions dans le THF

PB _x -b-PBLG _y :		48-b-20	48-b-56	48-b-114	48-b-145	
Structure locale	Φ_{PBLG}	(%)	62	82	90	93
	Φ_{PB}		38	18	10	7
	$d_{\alpha}^{(a)}$	(Å)	16,1	16,1	16,1	16,1
	d_{β}		17,9	--	--	--
L_{α}	30		84	171	218	
Structure principale	d_{Lam}		105	157	209	233
	d_{PBLG}		60,4	124	184	213
	θ	(deg)	--	--	--	12,5
	γ	--	0,96	1,42	1,98	2,2
	Morphologie ^(b)	--	empilée	inter-digitée	inter-digitée	inclinée

^(a) la distance entre les résidus d'acides aminés correspondante est $h \approx 1,5 \text{ \AA}$; ^(b) en référence ici à la morphologie de type lamellaire

Pour la structure locale du PBLG de type hexagonale : (réflexions : $1; \sqrt{3}; 2; \sqrt{7}; \sqrt{9} \dots$)

$$d_{\alpha} = \frac{4\pi}{q_{Hex}\sqrt{3}} \quad : \text{ distance entre les chaînes de PBLG en hélice-}\alpha \text{ (\AA)}$$

$$h = \left(\frac{2}{\sqrt{3}} \right) \frac{M_{mono} V_{PBLG}}{N_A d_{\alpha}^2} \quad : \text{ distance entre les résidus de l'hélice-}\alpha \text{ (\AA)}$$

$$L_{\alpha} = h \overline{DP}_n \quad : \text{ longueur de l'hélice-}\alpha \text{ (\AA)}$$

3^{ème} Partie : Auto-Assemblage

- avec :
- q_{Hex} : position de la réflexion de 1^{er} ordre (\AA^{-1})
 - M_{mono} : masse molaire du monomère L-glutamate de γ -benzyle (g.mol^{-1})
 - v_{PBLG} : volume spécifique du PBLG ($\text{cm}^3.\text{g}^{-1}$)
 - N_A : constante d'Avogadro (mol^{-1})
 - \overline{DP}_n : degré de polymérisation du bloc PBLG

Pour la structure locale du PBLG de type lamellaire : (réflexions : 1;2;3;4...)

$$d_{\beta} = \frac{2\pi}{q_{\beta}} \quad : \text{épaisseur d'une lamelle de feuillet-}\beta \text{ (\AA)}$$

- avec : q_{β} : position de la réflexion de 1^{er} ordre (1^{er} pic de Bragg) (\AA^{-1})

Pour la structure principale de type lamellaire :

$$d_{Lam} = \frac{2\pi}{q_{Lam}} \quad : \text{épaisseur de la lamelle (\AA)}$$

$$d_{PBLG} = d_{Lam} \left[1 + \frac{\chi_{PB} v_{PB}}{\chi_{PBLG} v_{PBLG}} \right]^{-1} \quad : \text{épaisseur de la couche de PBLG (\AA)}$$

- avec :
- q_{Lam} : position de la réflexion de 1^{er} ordre (\AA^{-1})
 - χ_i : fractions massiques de PB et de PBLG dans les copolymères (%)
 - v_i : volumes spécifiques du PB et du PBLG ($\text{cm}^3.\text{g}^{-1}$)
 - $\chi_{PB} + \chi_{PBLG} = 1$ et $d_{Lam} = d_{PB} + d_{PBLG}$

Enfin, puisque tous les systèmes présentent une morphologie principale de type lamellaire associée à un arrangement de type hexagonal cylindrique des blocs peptidiques de façon majoritaire, il est possible d'obtenir des informations sur la configuration d'un seul copolymère à blocs au sein de la super-architecture. En effet, en divisant le volume moléculaire occupé par une chaîne ($\overline{M}_n / \rho N_A$) par l'extension latérale de cette chaîne ($d_{Lam}/2$) et par la surface occupée par une hélice- α ($\pi d_{\alpha}^2/4$), nous avons accès à un paramètre géométrique γ qui nous informe sur l'empilement ("stacking" selon la terminologie anglo-saxonne), l'inter-digitation, ou l'inclinaison et/ou le repliement des hélices dans les lamelles.

Les paramètres caractéristiques de la morphologie globale d'auto-assemblage sont donc :

$$\gamma = \left(\frac{8 \cdot 10^{24}}{\pi N_A} \right) \left(\frac{\overline{M}_n}{\rho d_{Lam} d_\alpha^2} \right) \quad : \text{facteur géométrique}$$

$\gamma=1$: empilé

$\gamma=2$: inter-digité (ou une fois replié)

$\gamma>2$: incliné ou plusieurs fois replié

θ : angle d'inclinaison des hélices- α de PBLG dans une lamelle

$$\cos(\theta) = \frac{d_{PBLG}}{L_\alpha} \quad (\text{deg})$$

avec : \overline{M}_n : masse molaire moyenne du copolymère ($\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$)

ρ : densité du copolymère ($\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$)

Nous pouvons alors, à partir de ces résultats, tracer l'évolution des principaux paramètres en fonction de la fraction peptidique dans les systèmes de copolymères organisés (Figure 52).

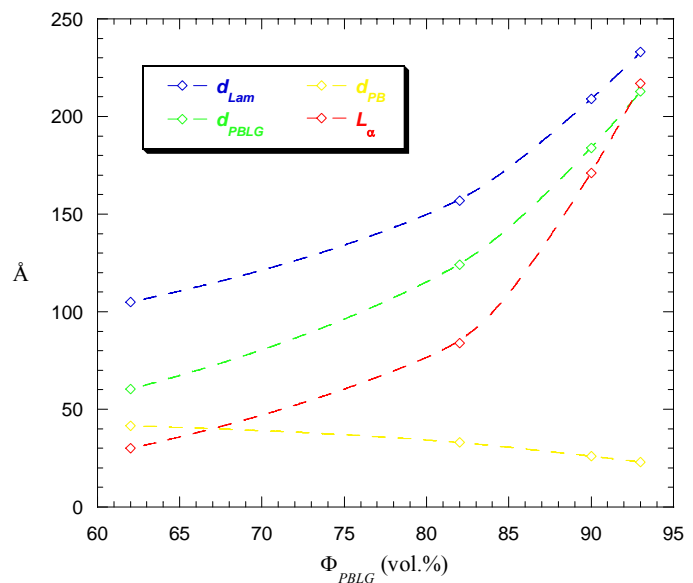


Figure 52 : Effet de la fraction de PBLG sur les paramètres structuraux de la morphologie lamellaire principale (THF)

Nous constatons que l'épaisseur de la couche de polybutadiène reste quasiment constante (environ 35 Å) quelle que soit la taille du copolymère, ce qui est parfaitement cohérent puisque le bloc polybutadiène est identique pour les quatre systèmes, alors que l'épaisseur globale de la structure lamellaire principale augmente avec la fraction en polypeptide (de 100 à 230 Å environ). D'autre part, la longueur des segments peptidiques (en hélice- α) augmente

globalement plus rapidement avec la fraction de PBLG que l'épaisseur de la couche de PBLG dans la structure lamellaire principale, ce qui se traduit inévitablement par des modifications au niveau de la structure interne de la morphologie globale adoptée par l'auto-assemblage, comme le confirme l'évolution des valeurs du paramètre géométrique γ (Tableau 8).

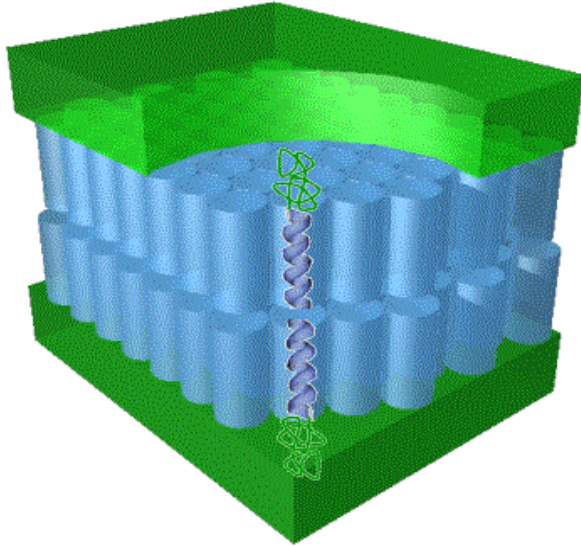
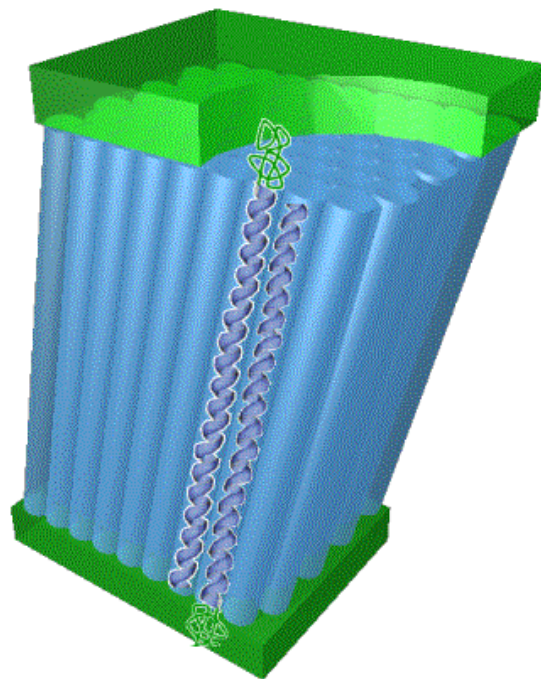
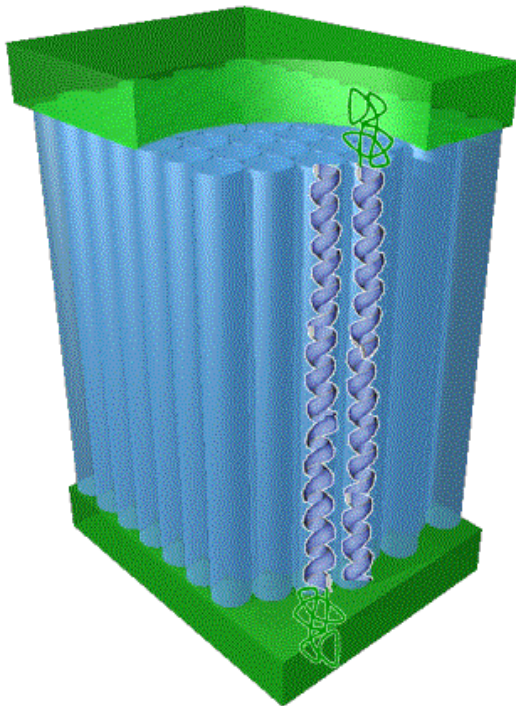


Figure 53 : Représentations schématiques des trois morphologies hexagonale dans lamellaire (HL) observées (hélices- α de PBLG : bleu, blocs de PB : vert); ci-contre : morphologie HL avec les hélices de PBLG empilées ; en dessous à gauche : morphologies HL avec les hélices de PBLG interdigitées ; en dessous à droite : morphologie HL avec les hélices de PBLG interdigitées et inclinées



Cette évolution est particulièrement intéressante, puisqu'elle indique que les copolymères $PB_{48}-b-PBLG_{20}$ sont empilés au sein de la structure lamellaire principale, que les copolymères $PB_{48}-b-PBLG_{56}$ et $PB_{48}-b-PBLG_{114}$ sont respectivement partiellement et totalement inter-

digités, et enfin que les copolymères PB₄₈-*b*-PBLG₁₄₅ sont, soit inter-digités avec les hélices- α inclinées de 12,5°, soit repliés (pour les segments PBLG) dans la phase lamellaire.

Pour illustrer ces propos et par souci de clarté, les trois morphologies d'auto-assemblage les plus caractéristiques observées à 200°C dans les films évaporés de solutions de THF sont schématisées sur la Figure 53. Dans tous les cas, l'auto-assemblage conduit à la formation d'une première structure locale organisée de type hexagonale, formée par l'assemblage des blocs PBLG ayant une conformation en hélice- α (en bleu), première structure elle-même à la base d'une organisation à plus grande échelle de type lamellaire, alternant des couches de polybutadiène (vert) et de poly(L-glutamate de γ -benzyle) (bleu, Figure 53). Ce type de morphologie a déjà été observé par Douy et Gallot et a été appelé hexagonale dans lamellaire (HL)^[173].

Étudions à présent, l'effet de la température sur ces morphologies auto-assemblées. Deux comportements ont pu être observés. Le premier concerne les copolymères possédant des fractions en chaînes polypeptidiques importantes, c'est-à-dire, les copolymères PB₄₈-*b*-PBLG_n avec n = 56, 114 et 145. Dans ces trois cas, la température n'a pas d'effet significatif, que ce soit sur la structure locale (arrangement hexagonal cylindrique) ou sur la morphologie globale d'auto-assemblage, mise à part une très faible expansion thermique, comme le montrent les Figure 54 et Figure 55 relatives au copolymère PB₄₈-*b*-PBLG₁₁₄ et respectivement caractéristiques de la structure locale et de l'organisation principale.

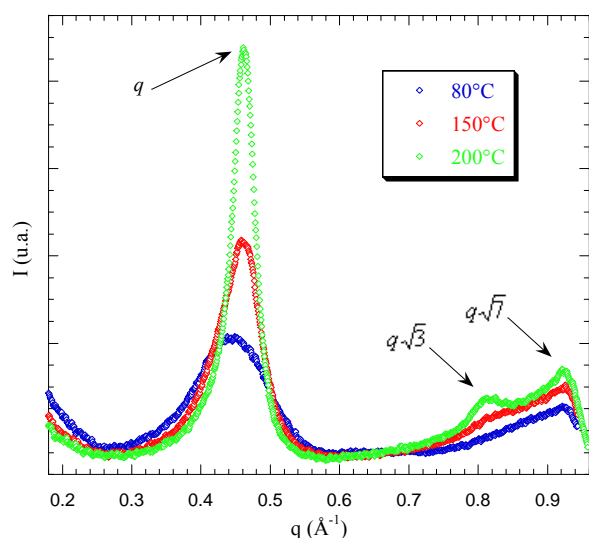


Figure 54 : Profils d'intensité diffusée aux grands vecteurs d'onde q en fonction de la température, pour le copolymère diblocs PB₄₈-*b*-PBLG₁₁₄ (structure locale)

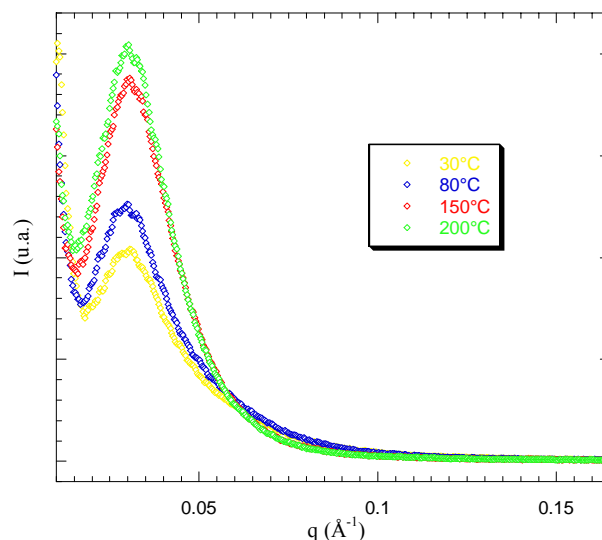


Figure 55 : Profils d'intensité diffusée aux petits vecteurs d'onde q en fonction de la température, pour le copolymère diblocs PB₄₈-*b*-PBLG₁₁₄ (organisation principale)

Le second comportement a uniquement été observé pour le copolymère PB₄₈-b-PBLG₂₀. Les Figure 56 et Figure 57 présentent l'influence de la température sur la conformation locale des copolymère diblocs (grands vecteurs d'onde q) ainsi que sur leur organisation principale à grande échelle (domaine des faibles vecteurs d'onde q).

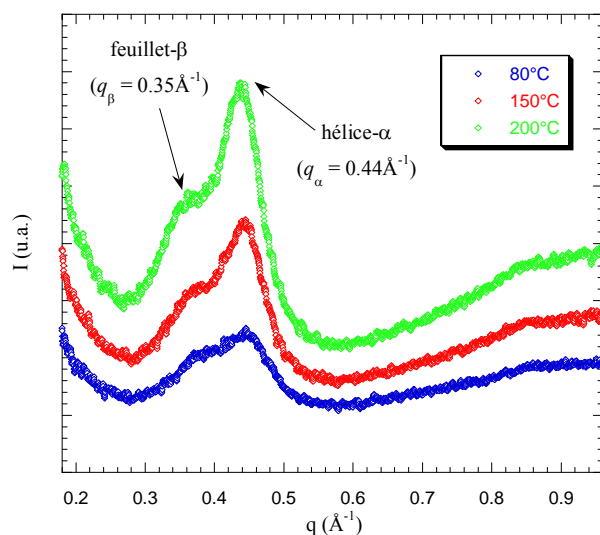


Figure 56 : Profils d'intensité diffusée aux grands vecteurs d'onde q en fonction de la température, pour le copolymère diblocs PB₄₈-b-PBLG₂₀ (structure locale)

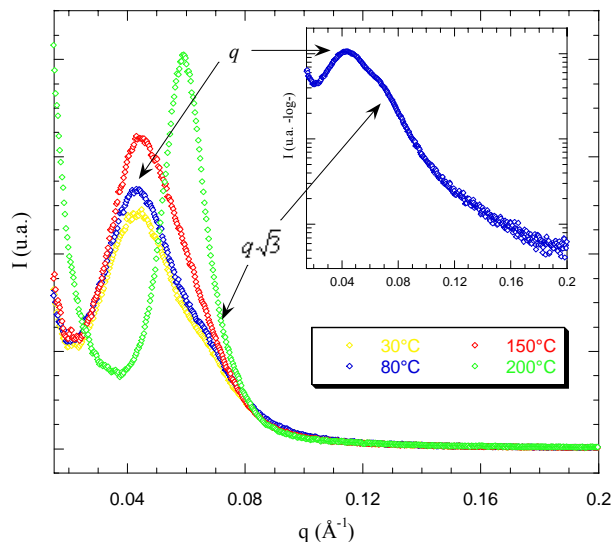


Figure 57 : Profils d'intensité diffusée aux petits vecteurs d'onde q en fonction de la température, pour le copolymère diblocs PB₄₈-b-PBLG₂₀; insert : représentation semi-log à 80°C

La Figure 56 montre que quelle que soit la température (entre 80°C et 200°C) coexistent au sein du copolymère les deux types de structures secondaires : hélices- α et feuillets- β . En comparant l'évolution de l'intensité relative des pics caractérisant les deux conformations, il semble que la structure secondaire en feuille- β soit favorisée à basse température, ce qui doit avoir pour conséquence de "débobiner/dérouler" une partie de la structure peptidique en hélice- α , et donc, d'augmenter de façon significative la longueur du bloc PBLG. Cette tendance est bien confirmée par la Figure 57, qui présente les profils SAXS associés aux grandes distances caractéristiques (petits q), i.e., à la structure principale. En effet, il apparaît clairement que la température induit une modification radicale de l'intensité diffusée, avec de 30°C à 80°C un profil pouvant être attribué, soit à une phase de type hexagonale soit à une phase de type cubique (rapports caractéristiques : $q, q\sqrt{3}$), et à 200°C un profil attribuable à une phase lamellaire. Or, les systèmes de copolymères similaires ayant été étudiés ont très largement formé des morphologies de type hexagonale ou lamellaire et non des morphologies de type cubique^[8,69,173]. Nous pouvons donc raisonnablement supposer que nous avons aussi à

faire à ces deux premiers types de morphologies, et ainsi qu'en dessous de 80°C la morphologie principale est de type hexagonale. Comme pour les structures précédentes, les paramètres de cette phase ont été calculés et sont regroupés dans le Tableau 9 avec, pour structure principale une morphologie de type hexagonale : (1, $\sqrt{3}$, 2, $\sqrt{7}$...)

$$d_{Hex} = \frac{4\pi}{q_{Hex}\sqrt{3}} \quad : \text{ distance entre les cylindres en phase hexagonale (\AA)}$$

$$R_{Hex}^2 = \frac{d_{Hex}^2 \sqrt{3}}{2\pi} \left[1 + \frac{\chi_{mat} \nu_{mat}}{\chi_{cyl} \nu_{cyl}} \right]^{-1} \quad : \text{ rayon des cylindres (\AA)}$$

avec : q_{Hex} : position de la réflexion de 1^{er} ordre (\AA^{-1})

ν_j : volume spécifique de la matrice PB ou des cylindres PBLG ($\text{cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$)

χ_j : fraction massique des parties formant la matrice ou les cylindres (\AA)

		PB _x -b-PBLG _y :	48-b-20	
Structure locale	Φ_{PBLG}	(%)	62	
	Φ_{PB}		38	
	$\Phi_{\text{hélice-}\alpha}$ ^(a)		40	
Structure principale	d_α	(\AA)	16,1	
	d_β		17,9	
	d_{Hex}		170	
	R_{Hex}		67,7	
	θ		(deg)	--
	γ		--	--
	morphologie		--	hexagonale

Tableau 9 : Caractéristiques structurales (à 80°C) de l'auto-assemblage formé au sein du film de PB₄₈-b-PBLG₂₀ obtenu par évaporation d'une solution dans le THF

^(a) calculé à partir de R_{Hex} , tout en restant cohérent avec les caractéristiques locales

Ces paramètres nous permettent alors d'évaluer le pourcentage de polypeptide adoptant une conformation en hélice- α (voir Tableau 9) en utilisant la relation triviale ci-dessous, et en supposant que les blocs de PBLG forment les cylindres de la structure hexagonale, en s'orientant perpendiculairement à l'axe de ces derniers :

$$xh_\alpha + yh_\beta = R_{Hex} \quad \text{et} \quad x+y=1$$

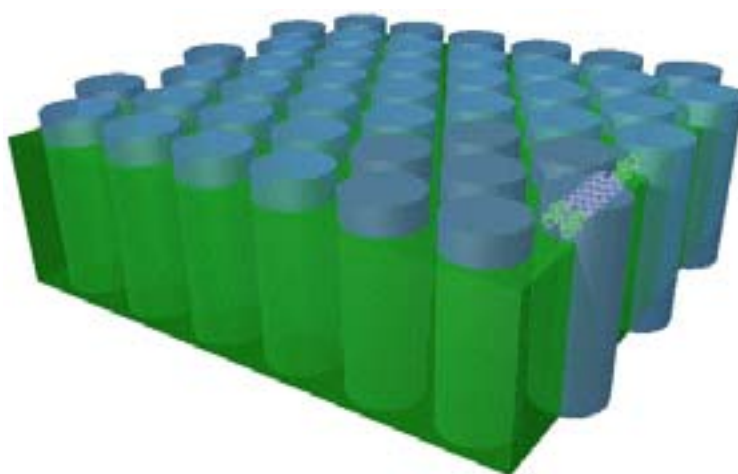
où : x et y : pourcentages en structure secondaire de type hélice- α ou feuillet- β (%)

h_α : distance entre les résidus d'une hélice- α (Å) ($\sim 1,5$)

h_β : distance entre les résidus d'un feuillet- β (Å) ($\sim 4,5$)

La morphologie générale de l'auto-assemblage observée à 30 et 80°C est donc une phase hexagonale constituée de cylindres de PBLG plongés dans une matrice de polybutadiène, comme représenté schématiquement sur la Figure 58. Nous appellerons cette nouvelle morphologie "hexagonale dans hexagonale" (HH).

Figure 58 : Représentation schématique de la morphologie "hexagonale dans hexagonale" observée dans le cas du copolymère $PB_{48}\text{-}b\text{-}PBLG_{20}$ à basse température



La montée en température, dans le cas particulier du copolymère $PB_{48}\text{-}b\text{-}PBLG_{20}$, impose alors une modification structurale remarquable au sein du matériau nano-organisé : une transition de phase de type ordre-ordre entre une morphologie de type hexagonale ($T^\circ \leq 80^\circ\text{C}$) et une morphologie de type lamellaire ($T^\circ = 200^\circ\text{C}$).

II.2.2. FILMS OBTENUS PAR ÉVAPORATION DE SOLUTIONS DANS LE DIOXANE

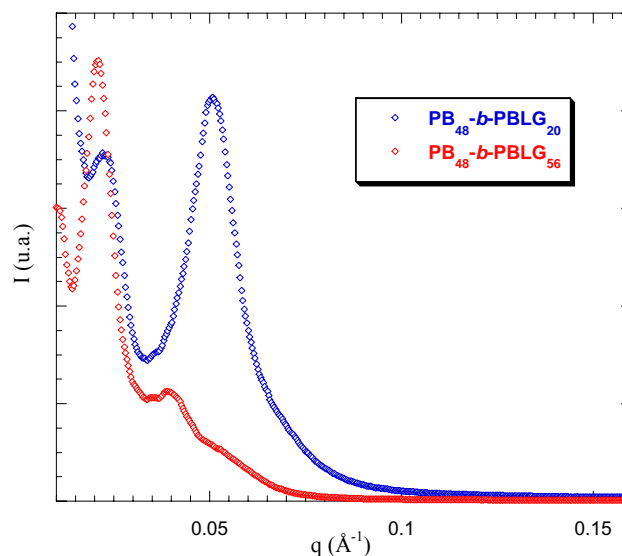
Une seconde série de mesures a été effectuée sur des films obtenus après évaporation, toujours sous atmosphère inerte, de solutions dans le dioxane. Le dioxane est de nouveau un solvant non-sélectif des copolymères, mais il est néanmoins légèrement moins "bon solvant" du bloc polybutadiène que le THF ne l'est (utilisé pour l'étude précédente). Remarquons par ailleurs que le dioxane est un solvant bien moins volatil que le THF (seulement 24 à 36 heures d'évaporation pour le THF contre une semaine dans le cas du dioxane) ce qui pourrait mener à

un nanomatériau mieux et/ou plus organisé, par le simple fait d'un processus d'auto-assemblage plus lent. Enfin, tout comme le THF, le dioxane est un solvant "héliogénique".

Reprenons la même démarche que celle utilisée pour les films issus de solutions de THF, et étudions l'effet de la fraction peptidique sur l'organisation locale et générale au sein des films de copolymères obtenus par évaporation plus lente. Nous nous plaçons à 230°C pour comparer les profils de diffusion des quatre systèmes. Dans la configuration nous informant sur la structure locale des matériaux assemblés ($\sim 23\text{cm}$) les profils SAXS sont identiques à ceux observés pour les films obtenus par évaporation de solutions dans le THF. Nous avons donc, dans les films obtenus par évaporation du dioxane, un arrangement local de type hexagonal, formé par l'association des segments PBLG avec une conformation en hélice- α . La distance entre les cylindres formés par les hélices- α de poly(L-glutamate de γ -benzyle) est de $\sim 16\text{\AA}$ (d_α). De même que dans le paragraphe précédent, la structure du copolymère $\text{PB}_{48}\text{-}b\text{-PBLG}_{20}$ (en raison de sa faible longueur de bloc peptidique) est légèrement plus complexe. De nouveau, l'arrangement colonnaire hexagonal des chaînes peptidiques en hélice- α coexiste avec l'arrangement lamellaire de chaînes de PBLG possédant une structure secondaire en feuillet- β . L'épaisseur des lamelles locales est toujours de $d_\beta = 18\text{\AA}$ ($q = 0,35\text{\AA}^{-1}$). Le dioxane n'a donc pas d'effet significatif sur l'organisation locale des copolymères $\text{PB-}b\text{-PBLG}$ par comparaison au THF.

Regardons à présent l'organisation générale au sein des films. La Figure 59 présente les profils de diffusion des copolymères $\text{PB}_{48}\text{-}b\text{-PBLG}_{20}$ et $\text{PB}_{48}\text{-}b\text{-PBLG}_{56}$ (les profils SAXS des deux autres copolymères $\text{PB}_{48}\text{-}b\text{-PBLG}_{114}$ et $\text{PB}_{48}\text{-}b\text{-PBLG}_{145}$ ne sont pas présentés ici, car ils sont comparables et suivent les mêmes évolutions que celles du copolymère $\text{PB}_{48}\text{-}b\text{-PBLG}_{56}$).

Figure 59 : Profils SAXS aux petits vecteurs d'onde (distance échantillon-détecteur $\sim 106\text{ cm}$) des films de copolymères $\text{PB}_{48}\text{-}b\text{-PBLG}_n$ obtenus par évaporation de dioxane, avec n égale à 20 et 56 (faibles fraction peptidiques)



Dans les deux cas, nous pouvons observer plusieurs pics et épaulements signalant déjà une nette différence avec l'organisation générale obtenue à partir des solutions de THF. En traçant ces mêmes intensités diffusées dans une représentation semi-logarithmique, Figure 60, nous pouvons plus facilement indexer tous les pics observés en nous appuyant sur les résultats obtenus précédemment (THF et structure locale).

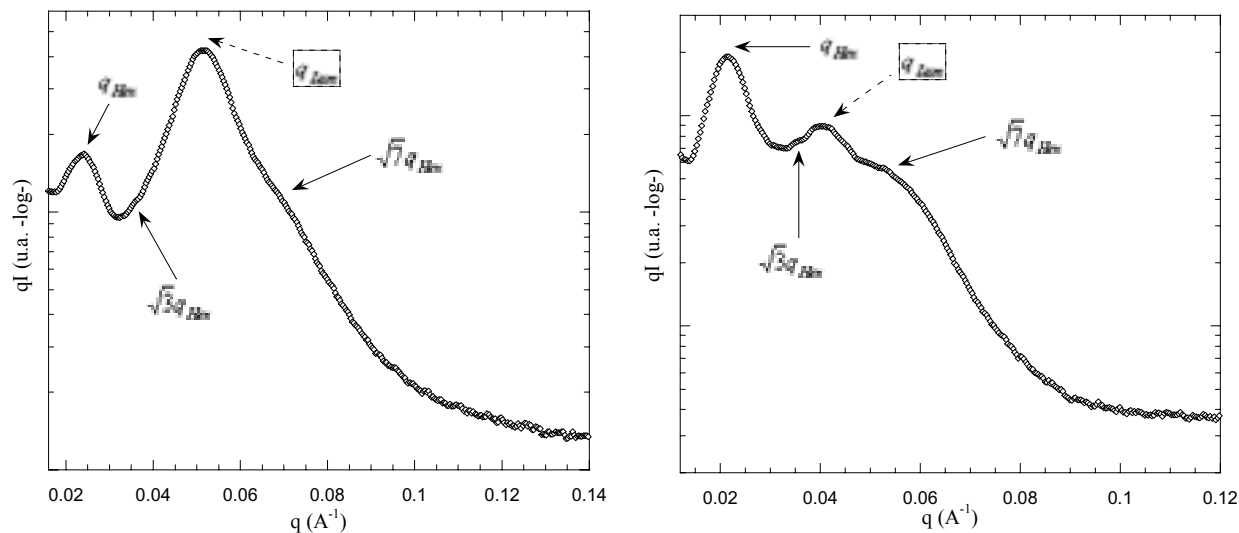


Figure 60 : Représentation $qI=f(q)$ semi-logarithmique des profils SAXS obtenus pour les copolymères PB_{48} - b - $PBLG_{20}$ (gauche) et PB_{48} - b - $PBLG_{56}$ (droite) à 230°C (dioxane seul)

Il apparaît alors que la structure lamellaire constituée de l'enchaînement de couches de polybutadiène et de couches de poly(L-glutamate de γ -benzyle) est toujours présente, très légèrement modifiée (q_{Lam}), ce qui était prévisible. Par contre, il apparaît aussi, en plus du pic de Bragg de cette dernière structure (q_{Lam}), une série de trois pics caractéristiques d'une organisation à une échelle beaucoup plus grande. Ces réflexions ($1; \sqrt{3}; \sqrt{7}$) sont en parfait accord avec une (super)structure de type hexagonale. L'ensemble des paramètres correspondant à chaque échelle d'organisation a ainsi été évalué et est présenté dans le Tableau 10.

Nous avons alors procédé en deux étapes afin d'analyser l'ensemble des informations extraites de ces mesures de diffusion de rayons-X aux petits angles et regroupées dans ce tableau. Dans un premier temps, nous avons tracé l'évolution des paramètres relatifs à la structure lamellaire en fonction de la fraction en polypeptide dans les copolymères (Figure 61) et, comme pour les films obtenus par évaporation de THF, les évolutions des épaisseurs de PB, de PBLG et de la lamelle sont cohérentes entre elles et très bien corrélées aux dimensions moléculaires des copolymères. Ainsi, l'épaisseur de la couche de PB restant quasi-constante,

l'épaisseur globale de la lamelle augmente avec la fraction en polypeptide. De plus, la couche de polypeptide subit toujours des changements de structure interne : de la morphologie empilée à celle interdigitée, comme le montre l'évolution du paramètre γ .

Tableau 10 : Caractéristiques structurales (à 230°C) des auto-assemblages formés au sein des films obtenus par évaporation de solutions dans le dioxane

PB _x -b-PBLG _y :		48-b-20	48-b-56	48-b-114	48-b-145	
Structure locale	Φ_{PBLG}	(%)	62	82	90	93
	Φ_{PB}		38	18	10	7
	d_α	(Å)	16,4	16,4	16,1	16,4
	d_β		17,9	--	--	--
L_α	35 ^(a)		84	171	218	
d_{Lam}	123		165	--	286	
Structure principale	d_{PBLG}		70,7	130,5	--	262
	θ	(deg)	--	--	--	--
	γ	--	0,95	1,35	--	1,8
	Morphologie ^(b)	--	empilée	inter-digitée	--	inter-digitée
Super-structure : D _{Hex} (Å)			329	345	--	--

^(a) L_α ajustée avec 10% de structure secondaire en feuillet- β pour satisfaire à l'épaisseur de PBLG (d_{PBLG}); ^(b) en référence à la morphologie de type lamellaire

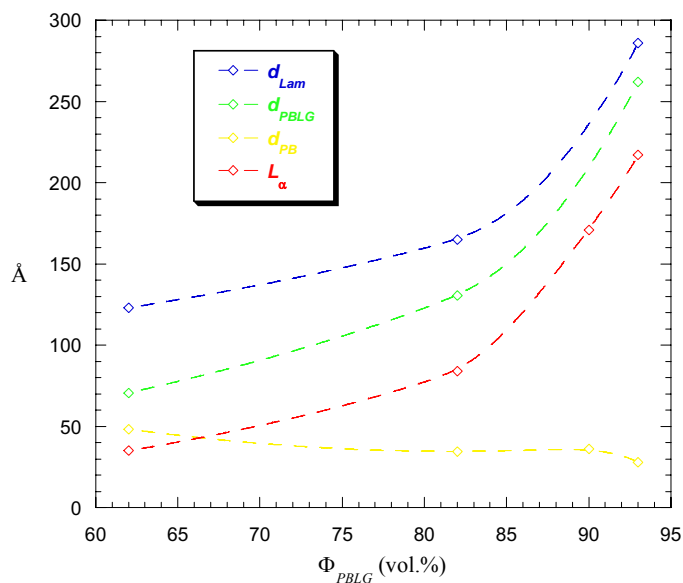


Figure 61 : Effet de la fraction de PBLG sur les paramètres structuraux de la morphologie lamellaire (films issus de dioxane seul)

Il est donc apparu raisonnable de reproduire les mêmes morphologies d'auto-assemblage, à ces deux échelles de tailles (nanomètre et dizaine de nanomètres), que celles observées dans les films après évaporation des solutions de THF. La deuxième étape a alors consisté, tout en tenant compte des dimensions des “sous structures” (lamellaire et hexagonale locale), à imaginer une organisation compatible avec la taille et la morphologie de la “super-structure”. Ainsi, en gardant ces impératifs à l'esprit, nous proposons une organisation, schématisée par la Figure 62, dans laquelle l'auto-assemblage conduit à la formation d'une première structure locale organisée de type hexagonale, formée par l'assemblage des blocs PBLG ayant une conformation en hélice- α (bleu).

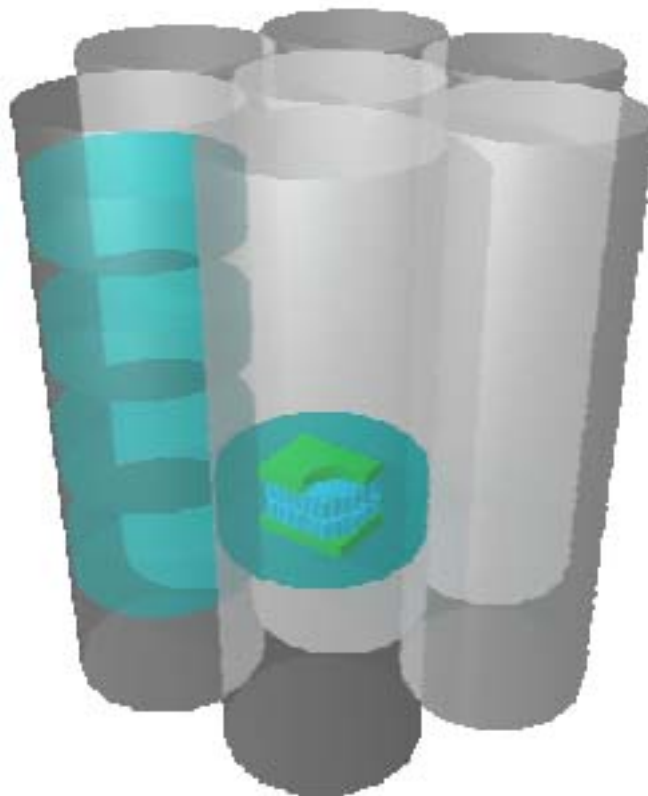


Figure 62 : Représentation schématique de la super-structure proposée pour rendre compte des profils SAXS observés dans le cas des films de copolymères (à faible fraction peptidique) préparés dans le dioxane : triple structuration HLH, hexagonale (PBLG-bleu) dans lamellaire (PB-vert) dans hexagonale (gris)

Cette structure locale constitue la base d'une organisation à plus grande échelle de type lamellaire (par séparation de phases), alternant des couches de polybutadiène (vert) et de poly(L-glutamate de γ -benzyle) (bleu). Puis, de façon à être en accord avec la super-architecture de type hexagonale, cette dernière organisation (lamellaire) doit être de dimension finie. Une possibilité alors envisageable est la formation de “palets” (turquoise) qui pourraient s'empiler pour créer une morphologie hexagonale que nous ne sommes pas encore capables à l'heure actuelle d'expliquer entièrement. Une étude complémentaire par microscopie électronique est sans nul doute nécessaire pour rendre compte de ce type d'auto-assemblage. Nous avons appelé cette structure originale hiérarchisée sur trois échelles de

taille “hexagonale dans lamellaire dans hexagonale” (HLH). Remarquons par ailleurs que la formation de “palets” par auto-assemblage de copolymères “rod-coil” à déjà été observé par Lee et al.^[174,175] et prédit théoriquement par Fredrickson et al.^[52], ce qui, d'une part appuie notre point de vue et d'autre part corrobore notre raisonnement sur cette hiérarchisation singulière. Remarquons que pour les deux échantillons possédant les blocs peptidiques les plus longs, aucune super-organisation n'a pu être déterminée. Cela peut s'expliquer par le fait que le domaine de vecteurs d'onde qui serait associé aux distances caractéristiques représentatives de ces (super)structures n'est pas accessible avec nos conditions expérimentales, ou par le fait que cette structuration n'a tout simplement pas eu lieu. Il serait ainsi extrêmement intéressant de sonder à nouveau ce type d'auto-assemblage dans des conditions techniques favorables à cette mesure (sur synchrotron par exemple).

Étudions à présent l'effet de la température sur ces films obtenus après évaporation de solutions dans le dioxane.

Tableau 11 : Effet de température sur les caractéristiques structurales des auto-assemblages formés au sein des films obtenus par évaporation de solutions dans le dioxane : PB₄₈-b-PBLG₂₀ (30°C et 150°C), PB₄₈-b-PBLG₅₆ (150°C)

PB _x -b-PBLG _y :		48-b-20	48-b-20	48-b-56	
Structure locale	Φ_{PBLG}	(%)	62	62	82
	Φ_{PB}		38	38	18
	d_{α}	(Å)	18,1	16,1	16,1
	d_{β}		18	17,9	--
L_{α}	31,5 ^(a)		31,5 ^(a)	84	
Structure principale	d_{Lam}		110	110	157
	d_{PBLG}		63,3	63,3	124
	θ	(deg)	--	--	--
	γ	--	0,94	0,94	1,42
	Morphologie ^(b)	--	empilée	empilée	inter-digitée
Super-architecture : D _{Hex} (Å)			non	259	non
			30°C	150°C	150°C

^(a) L_{α} ajustée avec quelques % de structure secondaire en feuillet- β pour satisfaire à l'épaisseur de PBLG (d_{PBLG}) ; ^(b) en référence à la morphologie de type lamellaire

Pour les copolymères PB₄₈-*b*-PBLG₁₁₄ et PB₄₈-*b*-PBLG₁₄₅, comme dans l'étude précédente (THF), la température n'a pas d'effet sur les auto-assemblages, du moins dans le domaine des vecteurs d'onde (et donc des distance caractéristiques associées) qui nous est accessible. Par contre, pour les copolymères PB₄₈-*b*-PBLG₂₀ et PB₄₈-*b*-PBLG₅₆, nous avons pu observer une influence de la température sur les profils SAXS, aussi bien aux grands qu'aux petits vecteurs d'onde. Les mesures effectuées en fonction de la température pour ces deux échantillons sont rassemblées dans le Tableau 11 et peuvent ainsi être comparées à celles du Tableau 10. Il en ressort une tendance générale pour les deux systèmes de copolymères : à basse température les auto-assemblages formés sont de type HL et ont des caractéristiques en accord avec les dimensions macromoléculaires, puis en augmentant la température, il semble que l'organisation soit plus précise avec l'apparition de la hiérarchisation de type HLH observée précédemment, comme nous allons le détailler plus précisément dans le cas du système PB₄₈-*b*-PBLG₂₀ en nous appuyant sur les profils SAXS associés.

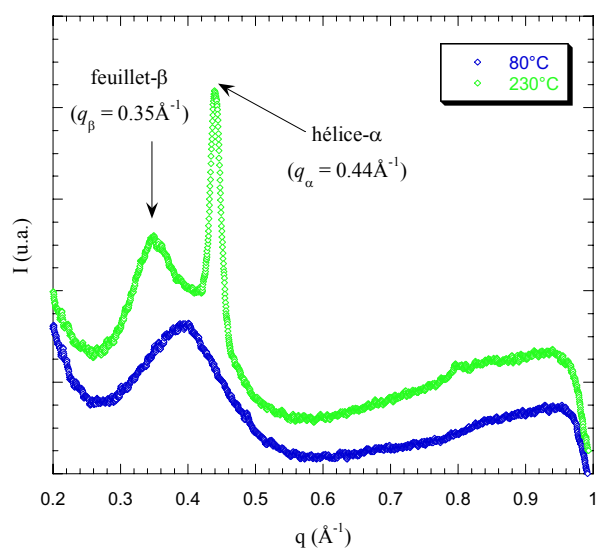


Figure 63 : Profils d'intensité diffusée aux grands vecteurs d'onde q en fonction de la température, pour le copolymère diblocs PB₄₈-*b*-PBLG₂₀ (structure locale - dioxane)

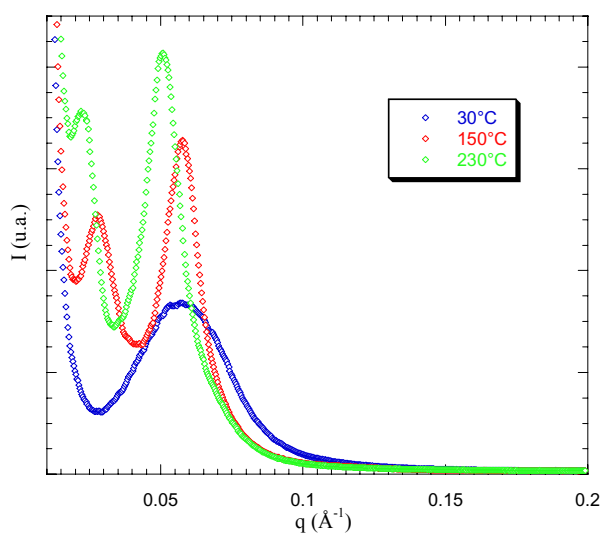


Figure 64 : Profils d'intensité diffusée aux petits vecteurs d'onde q en fonction de la température, pour le copolymère diblocs PB₄₈-*b*-PBLG₂₀ (organisation principale - dioxane)

En effet la Figure 63 et la Figure 64 présentent les profils d'intensité diffusées par le copolymère PB₄₈-*b*-PBLG₂₀ entre 30°C et 230°C. Comme dans le cas des films préparés dans le THF, l'élévation de température semble favoriser la conformation en hélice- α pour les chaînes peptidiques de PBLG (Figure 63), mais cette fois aucun changement de phase ne semble avoir lieu (Figure 64). En fait, à basse température, un unique et très large pic de

diffusion est présent, caractéristique d'un matériau faiblement structuré à cette échelle. Sa position est associée à une distance qui peut être attribuée à l'épaisseur de la phase lamellaire que l'on retrouve à haute température (en tenant compte de l'expansion thermique qui joue évidemment sur cette épaisseur et qui se traduit par un déplacement du pic vers les petites valeurs de q à haute température). La température semble alors induire une organisation à plus grande échelle avec la formation de la "super-architecture hexagonale" (Figure 64, et Figure 62). Ainsi, contrairement aux observations effectuées sur les films préparés dans le THF, l'augmentation de la température ne provoque pas une transition de phases (hexagonale-lamellaire), mais elle améliore l'organisation au sein du nanomatériau en structurant celui-ci selon trois morphologies interdépendantes et imbriquées les unes dans les autres (hexagonale dans lamellaire dans hexagonale : HLH).

II.2.3. FILMS OBTENUS PAR ÉVAPORATION D'UN MÉLANGE DIOXANE/TFA

La dernière série de mesures a été réalisée sur des films auto-assemblés, préparés à partir d'une solution à base de dioxane et d'acide trifluoroacétique (TFA). En fait, le bloc poly(L-glutamate de γ -benzyle) est connu pour être capable de transiter d'une structure secondaire rigide de type hélice- α , vers une structure secondaire flexible en pelote statistique, pour certaines conditions de solvant spécifiques^[144,148-150,176]. L'utilisation d'un solvant interagissant fortement avec la chaîne peptidique comme le TFA ou l'acide dichloroacétique (DCA) a ainsi pour effet de rompre les liaisons hydrogène intramoléculaires et donc de déstructurer l'hélice- α . Nous avons utilisé pour notre étude, un mélange dioxane/TFA comportant 20% en volume d'acide (composition s'avérant efficace dans des travaux précédemment développés au laboratoire^[176]). Du fait de la présence du TFA, le processus d'évaporation est encore ralenti par rapport au dioxane seul, et le film n'est obtenu qu'après deux semaines.

De nouveau, les films ont été étudiés pour des distances échantillons-détecteurs de ~ 23 cm et ~ 106 cm, et pour une gamme de températures comprises entre 30°C et 230°C . Les résultats obtenus à 230°C après analyse sont regroupés dans le Tableau 12 et illustrés par la Figure 65 et la Figure 66, respectivement relatives à la structure locale au sein du film et à son organisation générale obtenues par auto-assemblage dans ces conditions de solvation particulières.

Différents informations ressortent de ce tableau, et viennent compléter les résultats obtenus précédemment avec les films préparés avec du THF ou du dioxane seul. Tout d'abord, comme dans le cas des matériaux préparés dans le dioxane et pour les mêmes raisons, le domaine des vecteurs d'onde accessible ne permet d'obtenir qu'une information partielle sur la morphologie des films à base de PB_{48-b}-PBLG₁₁₄ et PB_{48-b}-PBLG₁₄₅, c'est pourquoi nous n'allons détailler que les cas des films de copolymères diblocs PB_{48-b}-PBLG_n avec n = 20 et 56.

Tableau 12 : Caractéristiques structurales (à 230°C) des auto-assemblages formés au sein des films obtenus par évaporation de solutions dans le mélange dioxane/TFA

PB _x -b-PBLG _y :		48-b-20	48-b-56	48-b-114	48-b-145	
Structure locale	Φ_{PBLG}	(%)	62	82	90	93
	Φ_{PB}		38	18	10	7
	$d_{\alpha}^{(a)}$	(Å)	13,2	13,2	13,2	13,4
	d_{β}		13	--	--	--
L_{α}	38		103	211	268	
d_{Lam}	123		169	--	251	
Structure principale	d_{PBLG}		70,7	133,6	--	230
	θ	(deg)	--	--	--	30,8
	γ	--	1,1	2	1,9	2,9
	Morphologie ^(b)	--	empilée	inter-digitée	inter-digitée	inclinée
Super-architecture : D _{Hex} (Å)			non	299	--	--

^(a) la distance entre les résidus d'acides aminés correspondante est $h \approx 1,9 \text{ \AA}$; ^(b) en référence à la morphologie de type lamellaire

Du point de vue de l'organisation locale des segments peptidiques de PBLG, nous pouvons remarquer que les mêmes types d'architectures sont présentes, mais avec des dimensions caractéristiques modifiées (Tableau 12 et Figure 65). En effet, du pic de Bragg à $\sim 0,55 \text{ \AA}^{-1}$, attribué à l'arrangement hexagonal cylindrique des segments PBLG, nous pouvons extraire une distance associée de $\sim 13,2 \text{ \AA}$. Les cylindres de PBLG sont donc plus proches les uns des autres que dans les études précédentes (THF, dioxane : $16,1 \text{ \AA}$), ce qui est dû à l'acide trifluoroacétique qui “désorganise/débobine” en partie et aléatoirement les hélices- α . Le

diamètre du cylindre équivalent contenant cette “ hélice- α étirée” est donc plus faible. De même, la déstabilisation générée par l'emploi du mélange dioxane/TFA, en perturbant la configuration des chaînes peptidiques, induit une diminution de la distance entre les lamelles formées par les feuillets- β . Le pic à $\sim 0,48\text{\AA}^{-1}$ caractéristique de ce dernier type de structure secondaire, correspond dans ce cas à une distance $d_\beta \approx 13\text{\AA}$. Ces modifications se répercutent alors sur les paramètres h et L_α ; la distance entre les résidus h augmente pour atteindre une valeur proche de 2\AA (contre $1,5\text{\AA}$ dans le cas d'une hélice- α).

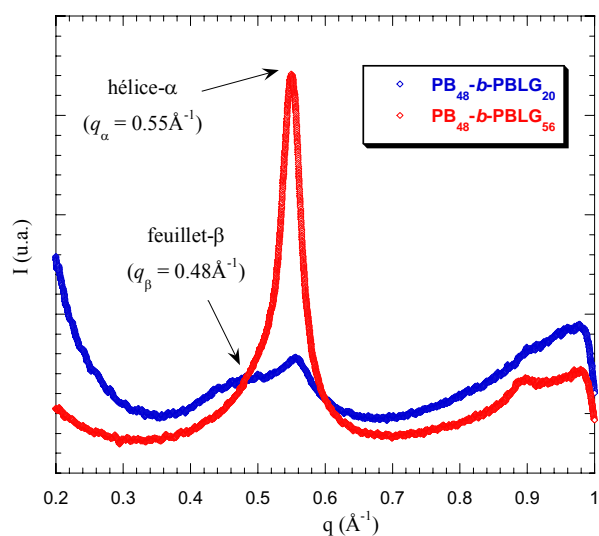


Figure 65 : Profils SAXS aux grands vecteurs d'onde (distance échantillon-détecteur $\sim 23\text{ cm}$) des films de copolymères $PB_{48}\text{-}b\text{-}PBLG_n$ avec n égale à 20 et 56 (faibles fraction peptidiques) issus du mélange dioxane/TFA

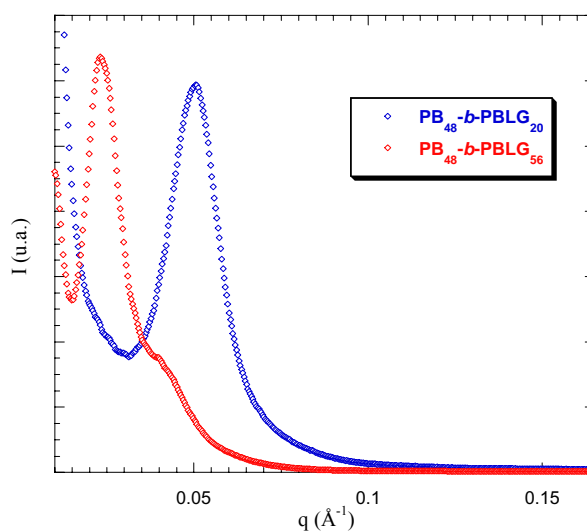


Figure 66 : Profils SAXS aux petits vecteurs d'onde (distance échantillon-détecteur $\sim 106\text{ cm}$) des films de copolymères $PB_{48}\text{-}b\text{-}PBLG_n$ avec n égale à 20 et 56 (faibles fraction peptidiques) issus du mélange dioxane/TFA

Du point de vue des structures d'échelle caractéristiques plus grandes (distance échantillon-détecteur $\sim 106\text{ cm}$), les deux copolymères ont un comportement très différent (Figure 66 et Tableau 12). Le copolymère de plus faible fraction peptidique ($PB_{48}\text{-}b\text{-}PBLG_{20}$) forme une morphologie de type lamellaire, comme dans le dioxane, mais celle-ci ne s'organise pas en une super-structure plus complexe de type HLH. Par contre, le copolymère $PB_{48}\text{-}b\text{-}PBLG_{56}$ semble s'organiser selon la même hiérarchisation que dans le dioxane seul avec une triple structuration hexagonale dans lamellaire dans hexagonale (voir Figure 62 pour une représentation schématique), même si les pics caractéristiques sont moins bien résolus dans ce cas.

De plus, nous pouvons comme précédemment comparer les paramètres caractéristiques de ces structures et sous-structures en traçant leur évolution en fonction de la fraction de PBLG (Figure 67).

Il est alors clair que la préparation des films dans ce solvant spécifique (dioxane/TFA) a eu une influence importante sur la structure des phases lamellaires. Si les épaisseurs de la lamelle entière, de PBLG, et de polybutadiène évoluent de la même façon que précédemment, nous pouvons remarquer la variation importante de la longueur équivalente des segments PBLG, calculée à partir des données obtenues au regard des grands vecteurs d'onde ($h \approx 2 \text{ \AA}$; hélices- α "débobinées/déroulées"), due à l'effet du TFA. En comparant cette longueur à l'épaisseur de la couche de PBLG, il apparaît que les chaînes de polypeptides doivent nécessairement se replier ou s'incliner au sein des lamelles, du moins pour les blocs les plus longs. Ce phénomène est d'ailleurs facilité par la déstructuration des hélices- α , introduisant des segments flexibles au sein des chaînes de poly(L-glutamate de γ -benzyle). Le calcul du facteur géométrique γ confirme aussi parfaitement ce processus (voir Tableau 12).

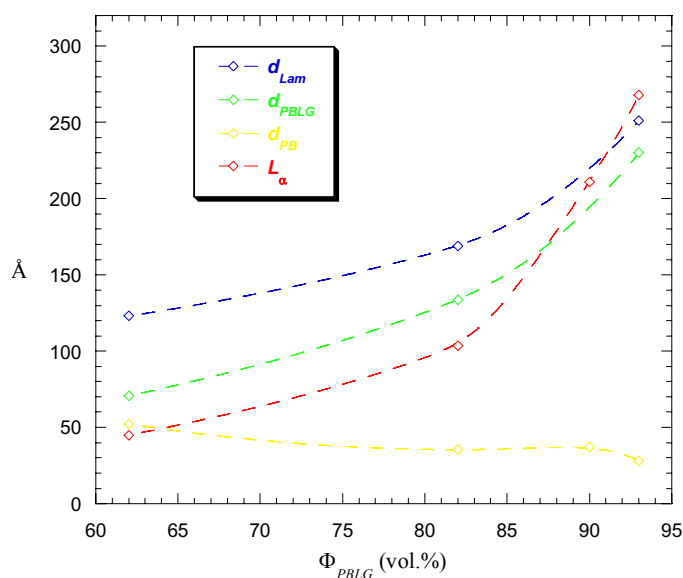
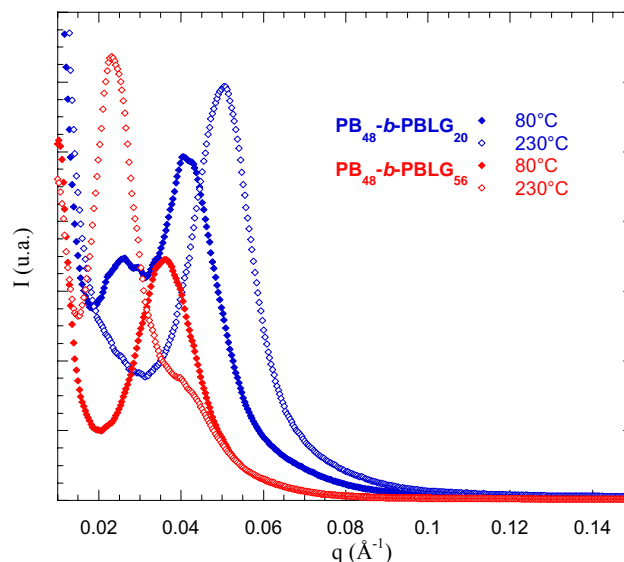


Figure 67 : Effet de la fraction de PBLG sur les paramètres structuraux de la "sous-structure" lamellaire (films issus du mélange dioxane/TFA)

Regardons à présent l'effet de la température sur ces nano-matériaux auto-assemblés. La Figure 68 présente l'influence de la température entre 80°C et 230°C pour les deux copolymères à faible fraction de PBLG.

Figure 68 : Influence de la température sur les structures auto-assemblées ; films de $PB_{48}\text{-}b\text{-}PBLG_{20}$ et $PB_{48}\text{-}b\text{-}PBLG_{56}$ obtenus par évaporation de mélanges dioxane/TFA



De nouveau, les comportements sont largement différents et les paramètres structuraux observés à 80°C pour ces deux systèmes sont regroupés dans le Tableau 13.

Tableau 13 : Caractéristiques structurales (à 80°C) des auto-assemblages formés au sein des films de $PB_{48}\text{-}b\text{-}PBLG_{20}$ et $PB_{48}\text{-}b\text{-}PBLG_{56}$ obtenus par évaporation de solutions dans le mélange dioxane/TFA

		PB _x -b-PBLG _y :		48-b-20	48-b-56
Structure locale	Φ_{PBLG}	(%)		62	82
	Φ_{PB}			38	18
	d_{α}			13,4	13,2
	d_{β}			13,3	--
Structure principale	L_{α}	(Å)		40	103,6
	d_{Lam}			153	174,5
	d_{PBLG}			88	138
	θ	(deg)		--	--
	γ	--		0,93	1,8
	Morphologie ^(a)	--		empilée	inter-digitée
Super-architecture : D _{Hex} (Å)				290	non

^(a) en référence à la morphologie de type lamellaire

Commençons par le cas le plus simple, le copolymère PB_{48-b}-PBLG₅₆. Le comportement thermique de ce film préparé dans le mélange dioxane/TFA semble identique à celui du film préparé dans le dioxane seul. À basse température, une double hiérarchisation de type hexagonale dans lamellaire (HL) est observée, et à haute température, la formation et l'organisation d'une super-structure de type HLH semble à nouveau avoir lieu. Dans le cas du copolymère diblocs PB_{48-b}-PBLG₂₀, l'évolution est plus complexe. Il semblerait que le processus thermique observé jusqu'alors, soit inversé dans ce cas particulier. À basse température (80°C) la structure auto-assemblée du film de PB_{48-b}-PBLG₂₀ préparé dans le mélange dioxane/TFA est complexe et possède apparemment trois échelles d'organisation (HLH), alors qu'à haute température cette structure évolue vers une morphologie à deux niveaux d'organisation du type : hexagonal dans lamellaire. Des mesures complémentaires semblent montrer que la transition entre ces deux phases se situe entre 150°C et 200°C. Ces derniers résultats surprenants nécessitent donc des mesures supplémentaires et si possible, des études de microscopie électronique pour les confirmer. Néanmoins, la très faible longueur du bloc peptidique de ce copolymère le rend très sensible à l'effet "déstructurant" du TFA ainsi qu'à la température, ce qui joue probablement un rôle primordial lors de ces processus.

Nous allons à présent dresser un rapide bilan sur cette étude consacrée à l'auto-assemblage en masse des quatre systèmes de copolymères PB_{48-b}-PBLG_n.

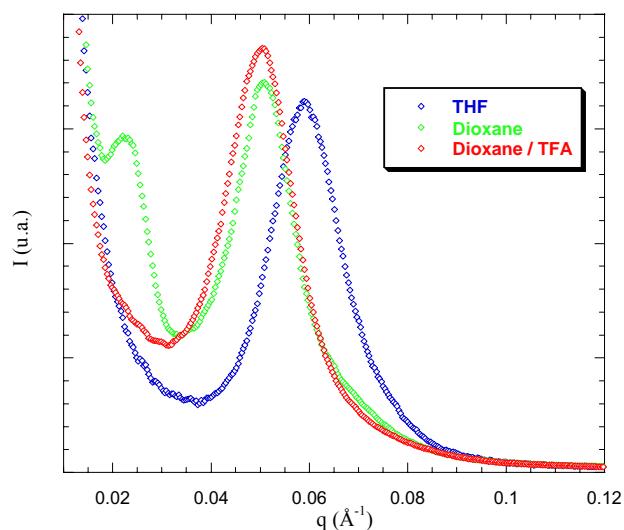


Figure 69 : Influence du solvant (lors de la préparation des films) sur les morphologies d'auto-assemblage du copolymère PB_{48-b}-PBLG₂₀ (structures générales – petits vecteurs d'onde)

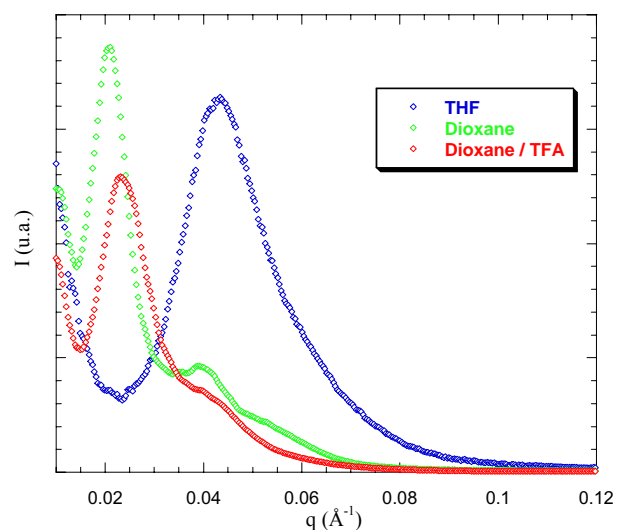


Figure 70 : Influence du solvant (lors de la préparation des films) sur les morphologies d'auto-assemblage du copolymère PB_{48-b}-PBLG₅₆ (structures générales – petits vecteurs d'onde)

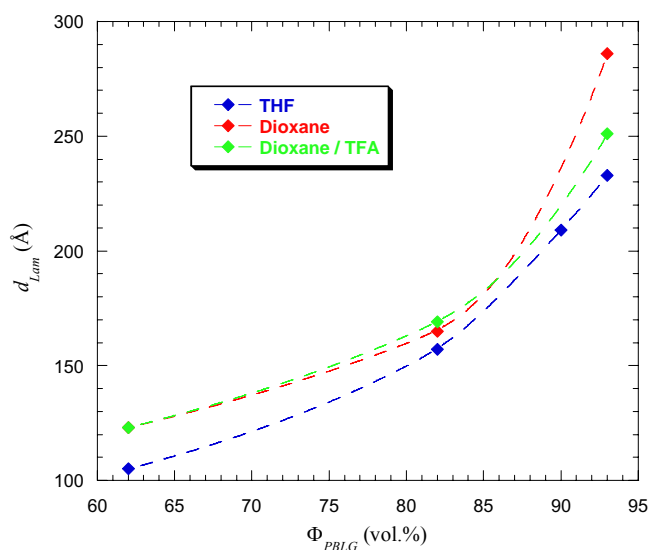


Figure 71 : Influence du solvant (lors de la préparation des films) sur l'épaisseur globale de la structure lamellaire pour les différentes fractions de PBLG

La Figure 69, la Figure 70, et la Figure 71 illustrent ce bilan en présentant d'une part (Figure 69 et Figure 70) l'effet des solvants utilisés pour la préparation des films sur les morphologies obtenues par auto-assemblage pour les copolymères $PB_{48-b}-PBLG_{20}$ et $PB_{48-b}-PBLG_{56}$ (les plus caractéristiques des quatre échantillons), et d'autre part, l'effet de ces mêmes solvants sur l'arrangement lamellaire (en tant que structure principale ou en tant que sous-structure) en fonction de la fraction en bloc peptidique au sein des copolymères (Figure 71).

Nous pouvons alors, dans un premier temps, remarquer que le passage du THF au dioxane pour la préparation des films, provoque une légère augmentation de l'épaisseur de la morphologie lamellaire. Cet épaissement visible sur l'ensemble des échantillons est probablement dû à un effet "bon solvant" du dioxane sur les blocs de poly(L-glutamate de γ -benzyle). Dans un deuxième temps, remarquons que le passage du dioxane seul au mélange dioxane/TFA, n'a pas d'influence significative sur l'épaisseur de la structure lamellaire comme nous aurions pu nous y attendre. Pourtant, le mélange de solvants fait en partie transiter le bloc PBLG d'une structure secondaire en hélice- α (rigide et compacte) vers une structure secondaire de type pelote statistique (flexible), ce qui est prouvé par les modifications d'organisation aux grands vecteurs d'onde. Ce changement de solvant n'a donc pas de répercussion directe sur la taille globale d'une lamelle, mais il en a en revanche sur l'arrangement des segments PBLG à l'intérieur de celle-ci, à travers leur inclinaison ou de leur repliement.

Nous pouvons aussi remarquer, qu'en plus de l'effet apparemment structurant de certains solvants (générant parfois des architectures fort complexes!), la composition des copolymères

diblocs auto-associatifs est aussi très importante. Ainsi, la combinaison de ces deux paramètres, associés à la température, mène à des morphologies d'auto-assemblage totalement différentes et originales, et il est extrêmement difficile, sans une confirmation visuelle (cliché de microscopie électronique par exemple), de conclure de façon définitive sur la structure exacte des morphologies obtenues.

Enfin, il est intéressant de noter que l'ensemble de ces résultats complètent, et sont en parfait accord avec ceux initiés par Gallot sur des systèmes extrêmement similaires à base de PB-*b*-PBLG^[60,143,173]. En effet, nous retrouvons les structures organisées de type hexagonale (H) ou hexagonale dans lamellaire (HL), mais dans notre cas, et contrairement aux travaux de Gallot, avec des copolymères diblocs de faible masse molaire (des “cooligomères”). Nous apportons aussi la preuve de l'existence de nouvelles structures hiérarchisées plus complexes (HLH). Par ailleurs, la totalité des structures observées dans cette étude respecte entièrement les principes de la théorie SCFT de Netz et al., énonçant que seules les morphologies dans lesquelles les segments flexibles (PB dans notre cas) se situent du côté convexe d'une interface sont thermodynamiquement stables.

Après ce chapitre dédié à l'étude de l'auto-assemblage en masse des copolymères diblocs hybrides polybutadiène-*b*-poly(L-glutamate de γ -benzyle), nous allons, dans le chapitre qui suit, explorer le comportement auto-associatif de ces copolymères en solution (sous leur forme déprotégée : PB-*b*-PGA).

III. AUTO-ASSEMBLAGE EN SOLUTION DE PB-*b*-PGA.

Après avoir étudié le comportement en masse des copolymères polybutadiène-*b*-poly(L-glutamate de γ -benzyle) et plus précisément les morphologies qu'ils adoptent par auto-assemblages au sein de films organisés à partir de différentes solutions, nous allons à présent examiner le comportement en solution de ces mêmes systèmes, mais sous leur forme déprotégée, c'est-à-dire, sous la forme de copolymères diblocs amphiphiles polybutadiène-*b*-poly(acide glutamique) (PB-*b*-PGA) possédant un bloc hydrosoluble peptidique. Ainsi, après avoir vérifié la formation d'agrégats en solvant sélectif, l'étude et la caractérisation des organisations supramacromoléculaires auto-assemblées ont été menées en utilisant trois puissantes techniques complémentaires : la diffusion de la lumière (qu'elle soit statique -static

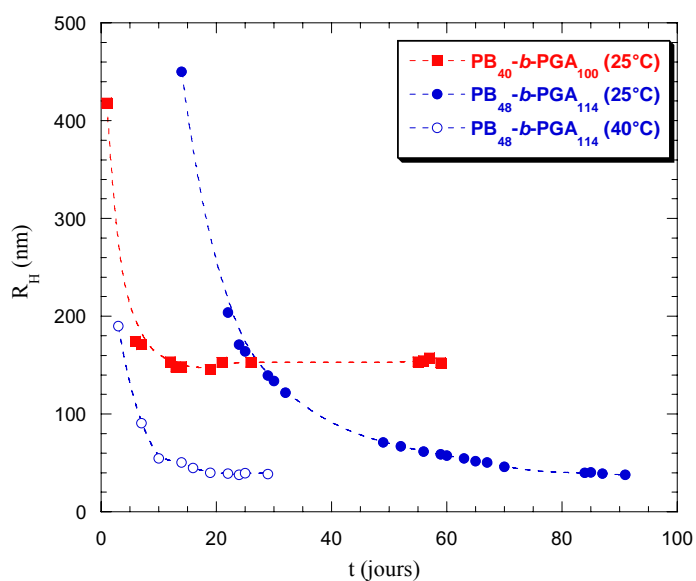
light scattering SLS en anglais- ou dynamique -dynamic light scattering DLS-), la diffusion des neutrons aux petits angles (Small Angle Neutron Scattering, SANS, selon la terminologie anglo-saxonne), et la microscopie électronique en transmission (MET). Nous allons donc présenter dans ce chapitre les différentes morphologies d'auto-assemblage observées en fonction de la fraction peptidique au sein des copolymères. Nous pouvons d'ores et déjà rappeler et remarquer que parmi les cinq systèmes synthétisés $PB_n-b-PGA_m$ avec $n=40$ ou 48 et $m=20, 56, 100, 114$ et 145 , le copolymère $PB_{40}-b-PGA_{100}$ est le seul à ne pas posséder une unité diphényléthylène (DPE) charnière entre le bloc synthétique et le bloc peptidique, ce qui peut avoir une influence sur les processus d'auto-assemblage. Remarquons aussi que les solvants sélectifs envisagés pour cette étude sont, dans un premier temps et principalement l'eau (bon solvant pour le bloc poly(acide glutamique) peptidique et mauvais solvant pour le bloc PB), puis dans un second temps des solvants organiques tels le THF ou le dichlorométhane (CH_2Cl_2) (bons solvants du polybutadiène et mauvais solvants du PGA) susceptibles de conduire à la formation de structures "inverses" : cœur hydrophile et couronne hydrophobe.

III.1. MISE EN SOLUTION ET PHÉNOMÈNE D'AGRÉGATION

La première étape de l'étude de l'auto-organisation en solution de nos copolymères polybutadiène-*b*-poly(acide glutamique) consiste en leur mise en solution et en la formation de morphologie bien définies. Comme nous l'avons précédemment signalé (voir 1^{ère} Partie : étude Bibliographique chapitre II : L'auto-assemblage en solution.), les copolymères à blocs amphiphiles sont bien connus pour s'auto-assembler ou pour se solubiliser, à l'échelle moléculaire, dans de nombreux et différents solvants. Les solvants sélectifs mènent à la formation d'agrégats (la micelle étant la morphologie la plus fréquemment rencontrée) dans lesquels, les parties les moins solubles des copolymères forment le cœur, lequel est entouré par une couronne formée des parties (blocs) solubles gonflées par le solvant. Il existe alors au moins deux grandes méthodes pour la préparation d'agrégats de copolymères à blocs : la dissolution directe et la méthode dite par dialyse. Le choix de la méthode à utiliser dépend de la solubilité du copolymère dans le solvant sélectif. Nous avons, dans un premier temps, choisi d'utiliser l'eau comme solvant sélectif pour notre étude. Dans ce cas, la dissolution directe consiste uniquement à additionner le copolymère à une solution aqueuse, mais cette méthode ne peut être utilisée que lorsque le copolymère est majoritairement soluble dans

l'eau. Dans le cas contraire, lorsque des agrégats doivent être formés à partir de copolymères difficilement solubilisables dans l'eau, ou lorsque le bloc hydrophobe est un polymère à T_g élevée, soit des agrégats dits "inverses" sont formés dans un solvant sélectif organique, soit la méthode par dialyse est utilisée. Dans ce dernier cas, le copolymère dibloc amphiphile est tout d'abord dissout dans un solvant organique, miscible à l'eau, commun aux deux blocs, i.e., le DMF ou le THF, puis le mélange copolymère/solvant organique est dialysé avec de l'eau distillée, et c'est au cours de ce processus de dialyse que l'auto-organisation est induite avec l'élimination progressive du solvant organique commun. Dans notre cas, l'auto-assemblage est obtenu en solubilisant directement le copolymère $PB_n-b-PGA_m$ dans de l'eau désionisée avec un équivalent d'hydroxyde de sodium (NaOH) par fonction acide portée par le bloc poly(acide glutamique). Cela a pour but de rompre les interactions intra et intermoléculaires présentes au sein des blocs peptidiques et donc de favoriser le passage en solution des copolymères. Cette démarche s'est avérée parfaitement reproductible et efficace pour la totalité des copolymères synthétisés, mis à part pour le copolymère $PB_{48}-b-PGA_{20}$. En effet, ce copolymère possède une très faible fraction hydrophile qui ne lui permet pas de stabiliser la formation d'agrégats dans l'eau. Par contre, l'utilisation de solvants organiques sélectifs, mauvais solvant pour le bloc poly(acide glutamique), a conduit à la formation d'agrégats "inverses" stables (THF et dichlorométhane). Il est par ailleurs important, de remarquer que l'état d'équilibre concernant les tailles et les dispersions en tailles des agrégats obtenus n'est atteint qu'après une période de solubilisation sous forte agitation pouvant aller de 10 jours à plus de 60 jours comme le montre la Figure 72 (les mesures de ces dimensions ont été effectuées par diffusion dynamique de la lumière à 90°).

Figure 72 : Stabilisation de la taille des auto-assemblages



Nous pouvons aussi remarquer que le fait d'élever la température de mise en solution accélère le processus de stabilisation, comme nous pouvions nous y attendre, tout en produisant les mêmes tailles et dispersions qu'à température ambiante (Figure 72). Cela traduit clairement le fait que les agrégats formés sont à l'équilibre thermodynamique.

À la suite de ces premiers résultats montrant la formation d'agrégats en solution, nous avons décidé de déterminer leur concentration d'agrégation critique (c.a.c). En effet, la c.a.c est une mesure décrivant les propriétés physiques et la stabilité d'un agrégat [123]. Le terme c.a.c est en réalité dérivé de celui de concentration micellaire critique (c.m.c), utilisé pour les micelles de tensioactifs de basses masses molaires, mais il est aussi une mesure parfaitement appropriée à la caractérisation des agrégats de chaînes polymères. Dans le cas des molécules amphiphiles de faible masse, cette concentration critique est généralement déterminée par diffusion dynamique de lumière. Cependant, dans le cas de copolymères amphiphiles, la diffusion de lumière devient inadaptée en raison de la très faible concentration à laquelle la micellisation a lieu. C'est pourquoi, afin de mesurer cette grandeur, nous avons fait appel à la technique de spectroscopie de fluorescence en utilisant le pyrène comme sonde. En fait, la spectroscopie de fluorescence est un outil polyvalent permettant d'accéder à la c.a.c [124,177,178], car il permet d'étudier l'agrégation de molécules à des concentrations très faibles non accessibles avec les méthodes analytiques classiques. Le pyrène est une molécule hydrophobe possédant une limite de solubilité dans l'eau relativement faible : $7 \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$. En revanche, dans les solutions de copolymères à caractère associatif, la solubilité du pyrène augmente considérablement en raison du transfert de cette sonde de fluorescence dans le cœur hydrophobe de l'auto-assemblage de copolymères. Les changements au niveau de l'environnement du pyrène sont alors directement traduits par la modification de ces spectres d'absorption et de fluorescence. Pourtant cette méthode subit quelques controverses car il est difficile de savoir si le pyrène se trouve bien au cœur des micelles ou s'il interagit seulement localement avec les segments hydrophobes des macromolécules. Malgré cela, la spectroscopie de fluorescence a été utilisée dans de nombreux cas pour déterminer la c.a.c de systèmes copolymères [124,178], et nous avons donc décidé de l'adopter pour nos échantillons. En examinant une série de solutions avec différentes concentrations en copolymère et une concentration en pyrène constante, il est possible de déterminer la valeur de la concentration d'agrégation critique. Dans notre étude, nous avons mené cette expérience sur des solutions ayant des concentrations en copolymère PB-*b*-PGA comprises entre 10^{-7} et 10^{-5} moles par litre. La concentration de la sonde (pyrène) a, quant à elle, été maintenue constante dans toutes les solutions et est égale à $6 \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$, i.e., juste en dessous de sa limite de solubilité dans l'eau.

Les spectres d'excitation ainsi que les spectres d'émission ont été mesurés en fonction de la concentration en copolymère et sont présentés Figure 73 et Figure 74 dans le cas du copolymère PB₄₀-*b*-PGA₁₀₀.

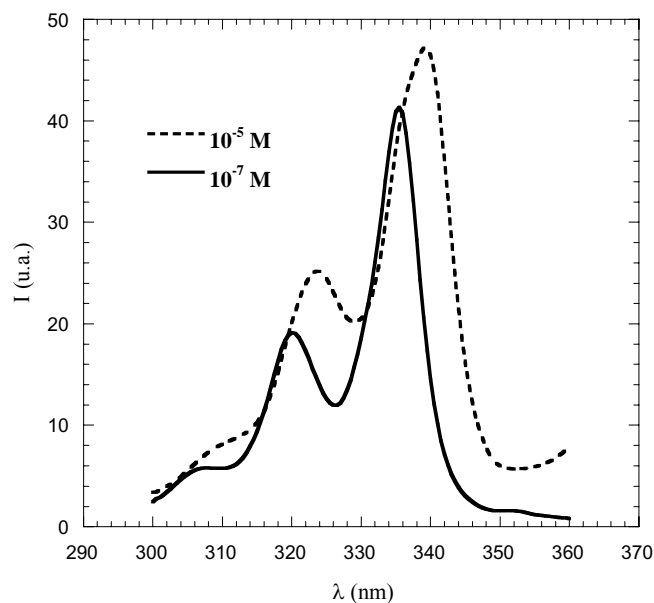


Figure 73 : Spectres d'excitation du pyrène dans des solutions de PB-*b*-PGA en dessous ($10^{-7}M$) et au dessus ($10^{-5}M$) de la c.a.c

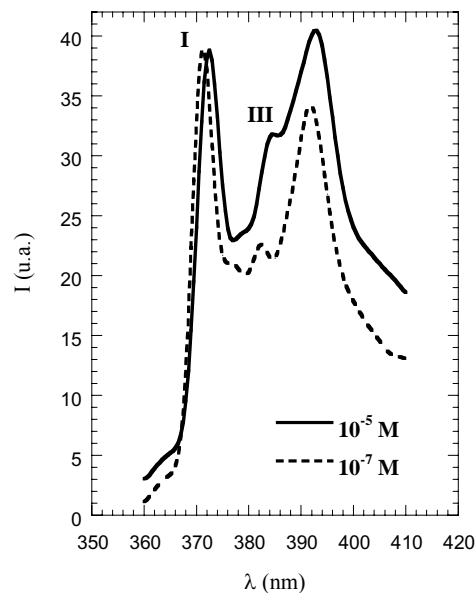


Figure 74 : Spectres de fluorescence du pyrène en présence de copolymère PB-*b*-PGA, en dessous et au dessus de la c.a.c

Dans un premier temps, nous pouvons observer, sur la Figure 73, (spectre d'excitation collectés à 371nm en dessous et au dessus de la c.a.c) un déplacement du spectre vers les fortes longueurs d'onde (déplacement de type bathochrome) en augmentant la concentration en polymère. Cette modification est induite par le transfert du pyrène depuis l'eau vers les microdomaines hydrophobes formés par les agrégats de copolymères (parties polybutadiène) au dessus de la concentration d'agrégation critique. En traçant le rapport des intensités des signaux à 339nm et 335,5nm, en fonction de la concentration en copolymère, nous pouvons évaluer la valeur de la c.a.c : $10^{-6} \text{mol.l}^{-1}$, comme le montre la Figure 75. Par ailleurs, et en plus du déplacement observé sur les spectres d'excitation, la structure vibrationnelle du spectre d'émission du pyrène (sous forme monomérique) est aussi modifiée lors de la formation d'agrégats polymères, en raison du changement de polarité locale [179].

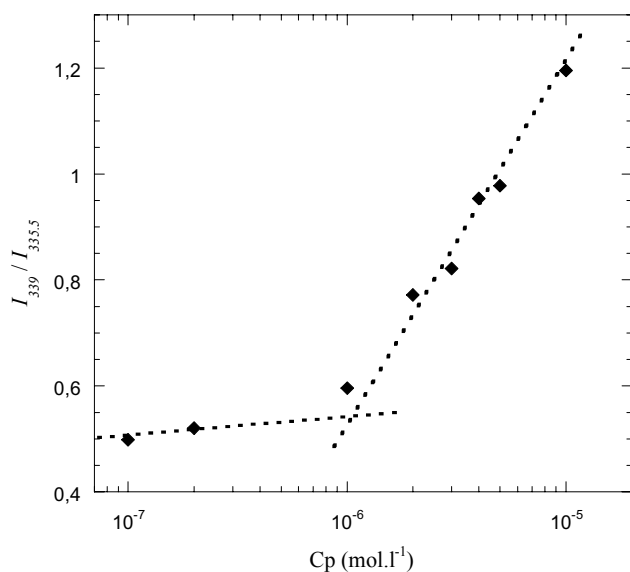


Figure 75 : Rapport des intensité des spectres d'excitation à 339nm et 335,5nm en fonction de la concentration en copolymère

Les solutions précédentes ont donc aussi été excitées à 334nm, et les spectres d'émission correspondants ont été collectés entre 360nm et 410nm et suivis à 373nm (I_I : premier pic vibrationnel) et 384nm (I_{III} : 3^{ème} pic) en fonction de la concentration en copolymère (Figure 74). En traçant le rapport des intensités des bandes d'émission du pyrène I_I/I_{III} , en fonction de la concentration en copolymère, nous déterminons une c.a.c de $3 \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$ (Figure 76).

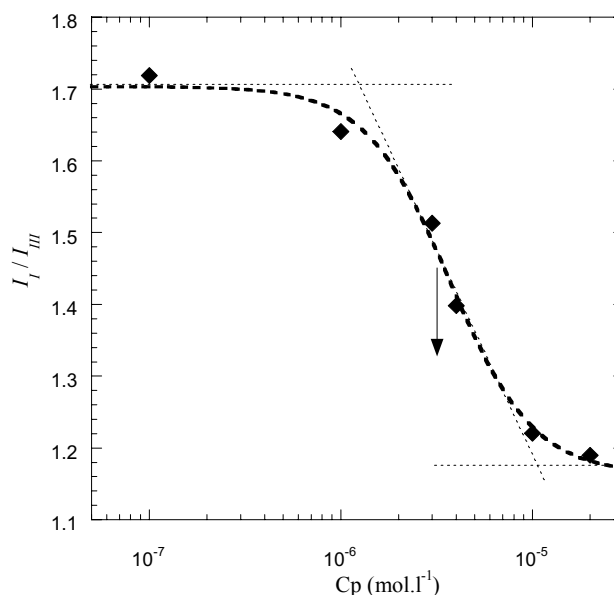


Figure 76 : Rapports des intensités des bandes d'émission I_I/I_{III} du pyrène en fonction de la concentration en copolymère

Cette valeur est en bon accord avec la c.a.c déterminée précédemment grâce au déplacement du spectre d'excitation et est parfaitement représentative de nos systèmes de copolymères diblocs amphiphiles. Notons que cette valeur correspond à une concentration massique critique d'agrégation proche de 46 mg.l^{-1} (très faible) indiquant la formation

d'agrégats très stables dans l'eau. Dans le cas du copolymère PB₄₈-*b*-PGA₂₀ cette technique n'a pu être mise en œuvre (non soluble dans l'eau), de plus, l'obtention tardive de ce copolymère ne nous a pas permis de mettre en place une autre méthode afin de déterminer sa concentration d'agrégation critique. Par ailleurs, bien que la détermination de la c.a.c pour les trois autres systèmes (PB₄₈-*b*-PGA₅₆, PB₄₈-*b*-PGA₁₁₄, PB₄₈-*b*-PGA₁₄₅) n'ait pas été effectuée, il est raisonnable de penser que compte tenu des caractéristiques assez proches de ces copolymères et de leur grande similitude de comportement en solution (temps de stabilisation, tailles des objets formés), nous devrions mesurer des valeurs de concentrations critiques très faibles et parfaitement comparables à celle obtenue pour le PB₄₀-*b*-PGA₁₀₀

III.2. ÉTUDE PAR DIFFUSION DE LA LUMIÈRE

Il est important de distinguer les deux types de diffusion de lumière : la diffusion statique dite aussi diffusion élastique et la diffusion dynamique qualifiée aussi de quasi-élastique. La première est basée sur la mesure de l'intensité moyenne : elle néglige les fluctuations temporelles et repose sur l'analyse des fluctuations spatiales. La seconde traite de l'évolution de l'intensité dans le temps : elle permet d'accéder à la fonction de corrélation temporelle des fluctuations de concentration dues au mouvement des particules de la solution étudiée. Ces deux types de diffusion permettent d'obtenir des informations complémentaires sur les systèmes étudiés.

III.2.1. QUELQUES RAPPELS

III.2.1.1. Diffusion statique de la lumière

La diffusion de lumière est un phénomène qui a intéressé très tôt physiciens et chimistes. Cependant, ce n'est qu'en 1944 que Debye a étendu cette théorie aux solutions diluées et en particulier aux solutions de polymères. Dans le cas de macromolécules, la lumière diffusée par les différents dipôles d'une même particule donne lieu à des interférences non négligeables. De ce fait, l'intensité diffusée est fortement dépendante de la forme des particules et de l'angle de diffusion θ .

Pour une solution non idéale où les macromolécules sont en interaction, Debye a montré que $\frac{Kc}{\Delta R_\theta} = \frac{1}{M_w P(q)} + 2A_2 c$ avec

$$K = \frac{4\pi^2 n^2}{\lambda_0^4 N_A} \left(\frac{dn}{dc} \right)^2 \quad (\text{où } n \text{ est l'indice de réfraction du milieu})$$

ΔR_θ la différence entre le rapport de Rayleigh de la solution et celui du solvant (donné expérimentalement par $\frac{\text{Isolution} - \text{Isolvant}}{\text{Istandard}} \times R_{\text{standard}}$)

- $\overline{M_w}$ la masse molaire moyenne en masse, A_2 : le second coefficient du viriel et $P(q)$: le facteur de forme de la macromolécule.

Il est important de noter que $P(q)$ peut s'écrire simplement pour des petites valeurs du vecteur d'onde q , c'est-à-dire pour $q \ll 1/\text{Rayon de la particule}$ (domaine de Guinier).

$$P(q) = 1 - \frac{q^2 \langle Rg^2 \rangle}{3} \quad \text{où } Rg \text{ est le rayon de giration de la particule}$$

Dans le domaine de Guinier, en remplaçant $P(q)$ dans l'expression de $\frac{Kc}{\Delta R_\theta}$, on peut accéder aux valeurs de la masse molaire moyenne en masse $\overline{M_w}$, au rayon de giration Rg et au second coefficient au viriel A_2 exprimant les propriétés thermodynamiques de la solution ($A_2 < 0$ mauvais solvant, $A_2 = 0$ solvant θ , $A_2 > 0$ bon solvant). L'exploitation des résultats est effectuée par la méthode de Zimm^[180] qui consiste à porter les valeurs de $\frac{Kc}{\Delta R_\theta}$ en fonction des deux variables c (concentration en polymère) et q . Une double extrapolation à concentration et à angle nuls permet d'obtenir les valeurs de $\overline{M_w}$, Rg et A_2 . A concentration nulle, la pente est égale à $\frac{\langle Rg^2 \rangle}{3\overline{M_w}}$ alors qu'à angle nul, elle correspond à $2A_2$. Dans les deux cas l'ordonnée à l'origine permet d'obtenir $\overline{M_w}^{-1}$.

Par ailleurs, la connaissance de l'incrément d'indice de réfraction dn/dc des différents systèmes en solution est indispensable pour deux raisons. La première est que le dn/dc conditionne, en diffusion de la lumière statique et dynamique, l'obtention d'un bon rapport de Rayleigh, autrement dit d'un bon contraste entre le solvant et les diffuseurs. De plus, ce rapport intervient directement dans les expressions qui permettent le calcul des paramètres caractéristiques des systèmes.

Le réfractomètre différentiel, muni d'une source laser opérant à 633nm, utilisé pour déterminer les incréments d'indice de réfraction est étalonné avec du polystyrène ($M=11\,600\text{g/mol}$) et du poly(méthacrylate de méthyle) ($M=19\,300\text{g/mol}$), dont les dn/dc dans le THF sont respectivement égaux à 0,186 et 0,086ml/g, afin de déterminer le facteur correctif

K dû à l'appareillage : $K=0,63$. Nous avons ensuite mesuré les dn/dc du copolymère PB-*b*-PGA dans l'eau, dans le THF et dans le CH_2Cl_2 à 25°. Les résultats obtenus sont regroupés dans le Tableau 14. Notons que la précision sur la mesure du dn/dc ne nous a pas permis de différencier les cinq systèmes. La variation du dn/dc avec la composition du copolymère n'est pas prise en compte dans notre étude et la valeur utilisée est une moyenne sur les valeurs observées lors des différentes mesures. Notons aussi que l'ajout de sel (NaCl) aux solutions aqueuses ne modifie pas la valeur du dn/dc mesurée.

Tableau 14 : Récapitulatif des incréments d'indice de réfraction dans les différents solvants pour le système PB-*b*-PGA

Solvant	dn/dc (ml/g)
H ₂ O	0,19
THF	0,16
CH ₂ Cl ₂	0,17

III.2.1.2. Diffusion dynamique de la lumière

La diffusion dynamique de la lumière permet de mesurer les temps de relaxation des particules en présence et de remonter ainsi à leur coefficient de diffusion. Expérimentalement, le paramètre accessible est la fonction d'autocorrélation $g^2(t)$ de l'intensité diffusée, mesurée à un angle donné, c'est-à-dire pour une valeur du vecteur d'onde q ($q = \frac{4\pi}{\lambda} \sin \frac{\theta}{2}$). Cette fonction $g^2(t)$ est directement liée, par la relation de Siegert, à $g^1(t)$ qui est l'inverse de la transformée de Laplace du spectre des temps de relaxation. En conséquence, connaissant $g^2(t)$, le ou les temps de relaxation peuvent être déterminés pour une valeur du vecteur d'onde q .

Pour des solutions de macromolécules monodisperses, la fonction d'autocorrélation $g^2(t)$ peut être décrit par une simple exponentielle :

$g^2(t) = a + b [Ae^{-\Gamma t}]^2$ avec Γ la fréquence de relaxation de la fonction d'autocorrélation de l'intensité diffusée à un angle donné, c'est-à-dire pour un q , ($\Gamma = 1/\tau$ où τ est le temps de relaxation de l'espèce diffusante).

Notons que $g^2(t)$ est couramment notée $g^2(q,t)$ ou $C(q,t)$ pour traduire la dépendance angulaire de la fonction d'autocorrélation.

A chaque temps de relaxation $\Gamma(q)$, un coefficient de diffusion apparent D peut alors être associé tel que : $D = \frac{1}{\tau q^2} = \frac{\Gamma}{q^2}$. Par ailleurs, $\Gamma(q)$ est aussi dépendant de la concentration de la solution c .

La valeur du coefficient d'autodiffusion D_0 est alors obtenue en prenant en compte la dépendance de Γ vis-à-vis de la concentration c et de l'angle de diffusion (c'est-à-dire q) selon l'expression : $\frac{\Gamma}{q^2} = D_0 (1 + Ac + \dots)(1 + Bq^2 + \dots)$ où A et B sont des paramètres caractéristiques propres au système.

Les mesures de diffusion sont réalisées à différents angles à plusieurs concentrations. Le coefficient d'autodiffusion D_0 est alors obtenu par extrapolation à angle nul puis à concentration nulle. Dans le cadre d'un modèle où les macromolécules sont assimilées à des "sphères dures" diffusant dans un milieu de viscosité η_0 , ce coefficient d'autodiffusion D_0 est lié au rayon hydrodynamique R_H par la relation de Stokes-Einstein : $R_H = \frac{k_B T}{6\pi \eta_0 D_0}$ où $k_B T$ est le facteur d'énergie de Boltzman.

Au cours de notre étude, les fonctions d'autocorrélation obtenues ont été analysées par la méthode des cumulants [181] ou par la méthode CONTIN [182]. La première méthode consiste à imposer une fonction mono(bi)-exponentielle, puis à extraire le(les) premier(s) cumulant(s) : $\Gamma(\Gamma_1 \text{ et } \Gamma_2)$. La méthode CONTIN, quant à elle, présente l'avantage de ne pas imposer initialement de contrainte sur la forme analytique de la solution éventuelle et permet d'évaluer la distribution des tailles hydrodynamiques. Ces deux méthodes ont permis d'obtenir des résultats très comparables voire identiques.

III.2.2. ÉTUDE PAR DIFFUSION DYNAMIQUE DE LA LUMIÈRE

L'ensemble des cinq systèmes de copolymères à blocs hybrides $PB_n-b-PGA_m$ a été étudié par diffusion dynamique de la lumière, afin de déterminer les organisations supramoléculaires formées. Des mesures ont été effectuées sur chaque copolymère en fonction de la concentration, en fonction de l'angle de diffusion (entre 40° et 140°), ainsi qu'en fonction de l'ajout ou non de sel (NaCl) dans le cas des solutions aqueuses. Nous allons présenter dans ce chapitre la démarche caractéristique adoptée pour évaluer la taille hydrodynamique des agrégats générés en solution par auto-assemblage en fonction de différents paramètres, en prenant le cas du copolymère $PB_{40}-b-PGA_{100}$ comme exemple. La totalité des résultats sera

ensuite présentée et regroupée au sein d'un tableau récapitulatif en fin de chapitre. En utilisant le formalisme présenté dans le chapitre III.2.1.2, déterminons donc tout d'abord le rayon hydrodynamique des agrégats formés par le copolymère dibloc PB₄₀-b-PGA₁₀₀ dans l'eau, avec 1 équivalent NaOH par fonction acide (pH=11) et sans ajout de sel. Un exemple représentatif des fonctions d'autocorrélation $C(q,t)$ et des distributions en taille des particules obtenues par l'analyse CONTIN des données de diffusion dynamique de la lumière pour une concentration en copolymère $c=1,8\text{g.l}^{-1}$ est présentée sur la Figure 77.

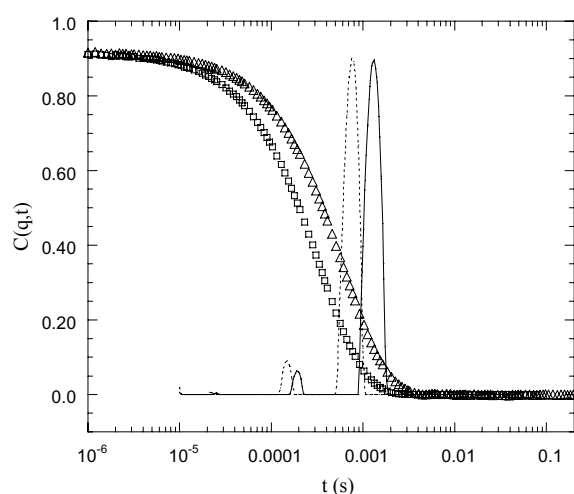


Figure 77 : Fonctions d'autocorrélation et distributions en temps de relaxation (CONTIN) obtenues à pH basique, sans sel ajouté pour une concentration en PB₄₀-b-PGA₁₀₀ de 1,8g.l⁻¹, à 90° (triangles et trait continu) et 130°(carrés et pointillés)

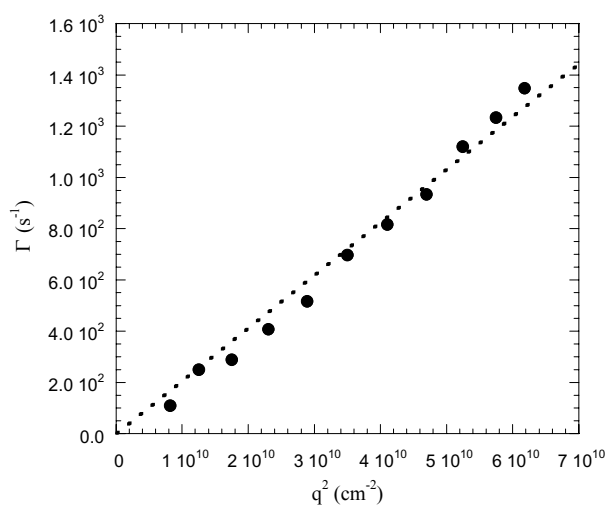
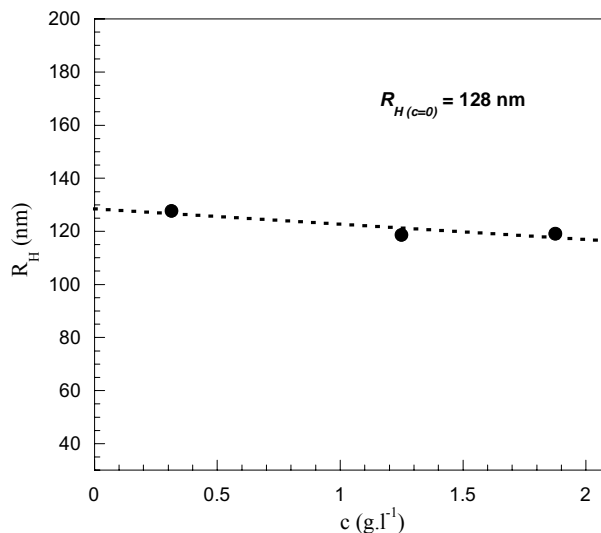


Figure 78 : Dépendance des fréquences de relaxation en fonction de l'amplitude du vecteur d'onde au carré, dans les mêmes conditions que celles de la Figure 77

Nous pouvons alors observer une distribution de particules étroite et monomodale, indépendante de l'angle de diffusion (40° ou 130°). Pour chaque concentration étudiée, les temps de relaxation, et par conséquent, les fréquences de relaxation, des agrégats ont été déterminés à plus de dix angles de diffusion différents et analysés suivant la méthode des cumulants [181]. La Figure 78 représente ainsi l'évolution de Γ en fonction de l'amplitude du vecteur d'onde au carré (q^2) pour la même solution de copolymère PB₄₀-b-PGA₁₀₀ à 1,8g.l⁻¹. Le coefficient de corrélation linéaire obtenu par l'ajustement de ces données est de $r^2=0,98$ et nous indique que seule la diffusion par translation a lieu dans le système, et que les agrégats concernés sont homogènes en taille. La pente de cette droite, ou l'ordonnée à l'origine de la représentation de Γ/q^2 en fonction de q^2 , fournit alors un coefficient de diffusion apparent (D) à angle nul à cette concentration. Ce dernier est associé, par l'intermédiaire de la relaxation Stokes-Einstein, à un rayon hydrodynamique apparent à la concentration étudiée, qui (grâce

aux différentes concentrations), par une extrapolation à concentration nulle, nous permet de déterminer la valeur du rayon hydrodynamique du copolymère PB₄₀-b-PGA₁₀₀ en solution à pH=11 et sans sel ajouté, comme le montre la Figure 79. Dans ce cas précis, nous obtenons $R_H=128\text{nm}$.

Figure 79 : Extrapolation à concentration nulle du rayon hydrodynamique des agrégats de PB₄₀-b-PGA₁₀₀, à pH basique et sans sel ajouté (faible force ionique)



La seconde étape de notre démarche a alors été d'étudier l'effet de l'ajout d'un électrolyte simple (NaCl) à nos systèmes, afin d'évaluer les répercussions sur la taille hydrodynamique des agrégats en solution. Les mesures de diffusion dynamique de la lumière ont été effectuées sur des solutions à pH=11 contenant entre 0,1 et 1M d'électrolyte, cette dernière concentration (1M) étant largement supérieure à la concentration en sel nécessaire à l'écrantage total des interactions électrostatiques (0,5M) intervenant au sein des parties polyélectrolytes (PGA) des agrégats.

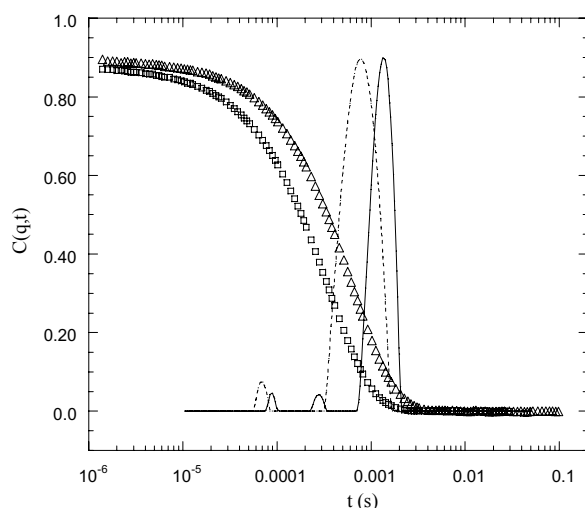


Figure 80 : Fonctions d'autocorrélation et distributions en temps de relaxation (CONTIN) à pH basique, avec 1M NaCl à 90° (triangles et trait continu) et 130°(carrés et pointillés)

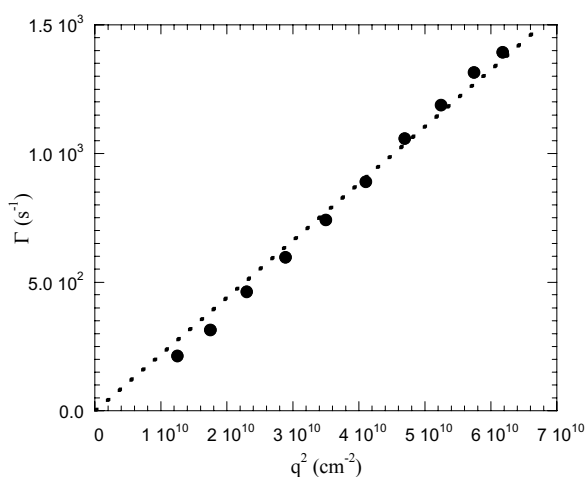


Figure 81 : Dépendance des fréquences de relaxation en fonction de l'amplitude du vecteur d'onde au carré, dans les mêmes conditions que celles de la Figure 80

La Figure 80 présente les fonctions d'autocorrélation $C(q,t)$ et les distributions en taille de particules obtenus par l'analyse CONTIN des données de DLS collectées pour un échantillon $PB_{40}\text{-}b\text{-}PGA_{100}$ de concentration $1,8\text{g.l}^{-1}$ et en présence de 1M NaCl à deux angles de diffusion différents : 90° et 130° . De nouveau, une seule population d'objets est présente, avec une distribution en tailles étroite. Comme dans le cas des mesures effectuées sans ajout de sel, les fréquences de relaxation des agrégats “écranés” ont été mesurées pour différents angles (Figure 81) et permettent donc de confirmer la présence d'agrégats homogènes en solution. En extrapolant à angle nul puis à concentration nulle, nous avons accès, par l'intermédiaire du coefficient d'autodiffusion D_0 , à la valeur du rayon hydrodynamique réel des particules en solution, c'est-à-dire à leur rayon hydrodynamique mesuré lorsque l'ensemble des interactions électrostatiques peut être négligé. La Figure 82 illustre, dans le cas particulier du copolymère $PB_{40}\text{-}b\text{-}PGA_{100}$, l'évolution du rayon hydrodynamique des agrégats formés par auto-assemblage dans l'eau en fonction de la concentration en copolymère et avec ou sans sel ajouté (1M NaCl). Le rayon hydrodynamique “écrané” est alors de 114nm pour 128nm sans NaCl . Remarquons que cet effet d’“écranage” est bien connu pour les systèmes polyélectrolytes; il a pour effet de modifier le rayon hydrodynamique comme nous l'avons vérifié, et peut aussi parfois modifier les propriétés d'agrégation des copolymères en solution [183]. Ce dernier point n'a pas été observé dans le cas de nos systèmes.

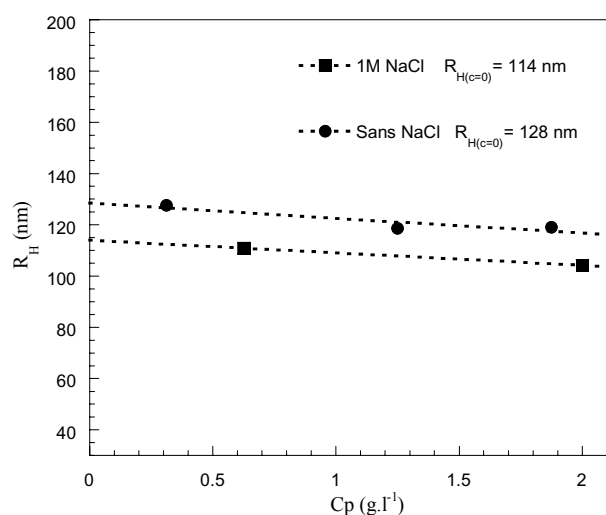


Figure 82 : Extrapolations à concentration nulle des rayons hydrodynamiques des agrégats de $PB_{40}\text{-}b\text{-}PGA_{100}$, à pH basique avec et sans sel ajouté (faible force ionique et 1M NaCl)

Nous avons alors reproduit cette procédure pour l'étude des quatre autres systèmes. Les systèmes de copolymères $PB_{48}\text{-}b\text{-}PGA_{56}$, $PB_{48}\text{-}b\text{-}PGA_{114}$, $PB_{48}\text{-}b\text{-}PGA_{145}$ ont été étudiés en fonction de la concentration et de la force ionique (“effet de sel”), tandis que le copolymère

PB₄₈-*b*-PGA₂₀, non hydrosoluble, a quant à lui été étudié en solution organique dans le THF et le dichlorométhane, et évidemment, pas en fonction de la force ionique. La Figure 83 illustre les résultats obtenus pour ces quatre systèmes, résultats dont le bilan est dressé dans le Tableau 15.

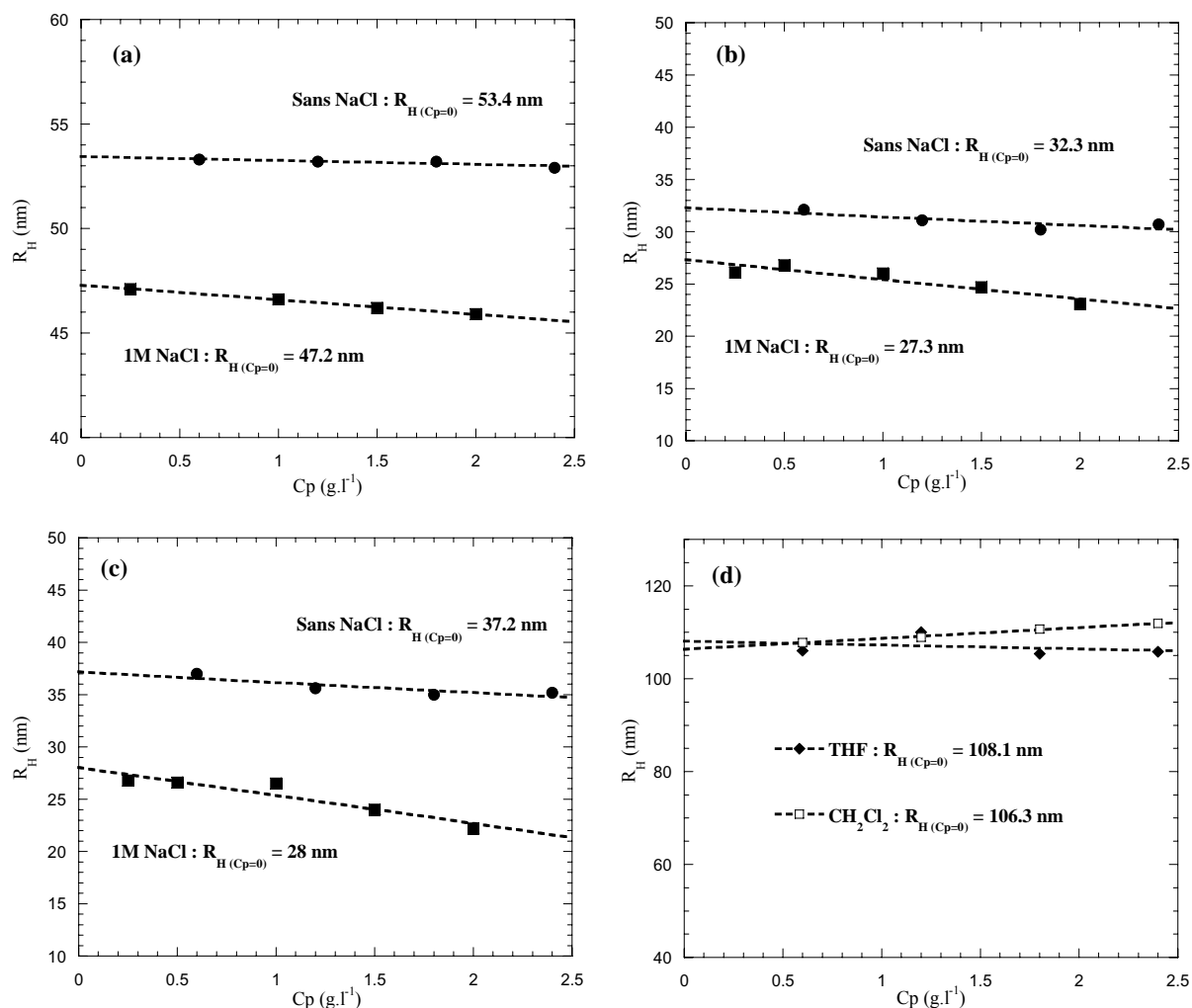


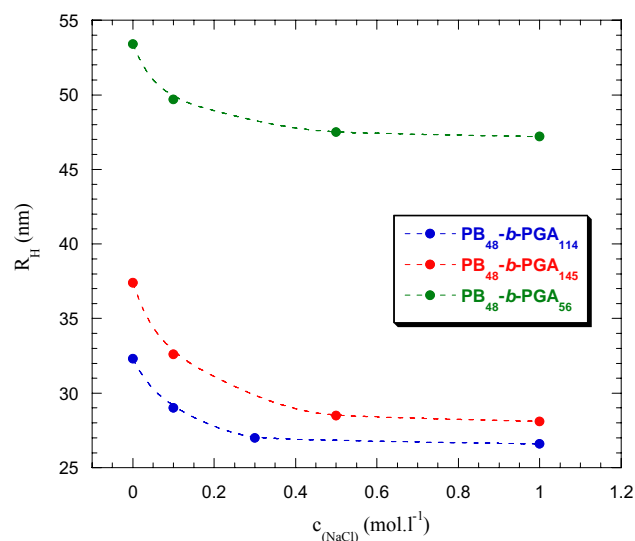
Figure 83 : Détermination des rayons hydrodynamiques à concentration nulle dans l'eau (avec ou sans sel) dans le cas des agrégats du (a) PB₄₈-*b*-PGA₅₆, du (b) PB₄₈-*b*-PGA₁₁₄, et du (c) PB₄₈-*b*-PGA₁₄₅, et dans le THF et le CH₂Cl₂ pour les agrégats du (d) PB₄₈-*b*-PGA₂₀

Enfin, la Figure 84 présente l'effet de l'ajout de sel sur les rayons hydrodynamiques des trois copolymères PB₄₈-*b*-PGA_m avec m=56, 114, 145 et met clairement en évidence le phénomène d'écrantage des interactions électrostatiques au sein des segments polyélectrolytes, ce qui rend ces systèmes comparables à des systèmes non chargés (neutres) à haute force ionique (1M NaCl).

Tableau 15 : Récapitulatif des rayons hydrodynamiques des agrégats formés en solution en fonction de la fraction peptidique et du solvant

PB _x -b-PGA _y :		40-b-100	48-b-56	48-b-114	48-b-145	48-b-20	48-b-20	
Φ_{PGA} (%)		85	73	85	89	50	50	
Solvant		H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	THF	CH ₂ Cl ₂	
DLS	$R_{H(0\text{ NaCl})}$	(nm)	128	53,4	32,3	37,2	108,1	106,3
	$R_{H(1M\text{ NaCl})}$		114	47,2	27,3	28	--	--

Figure 84 : Effet de la force ionique (NaCl ajouté) sur la taille des agrégats formés dans l'eau ; "écranage" des interactions électrostatiques des blocs PGA polyélectrolytes



En analysant plus précisément les données du Tableau 15, il apparaît tout d'abord que les tailles des agrégats observés dans l'eau sont très différentes en fonction de la fraction du bloc peptidique PGA comme prévu par la théorie et dans la littérature (voir 1^{ère} Partie : étude Bibliographique chapitre II). Nous pouvons aussi noter que pour une même fraction peptidique et des grandeurs moléculaires comparables, les copolymères PB₄₀-b-PGA₁₀₀ et PB₄₈-b-PGA₁₁₄ forment des assemblages de dimensions totalement différentes avec des rayons hydrodynamiques en excès de sel respectivement égaux à 114nm et 27,3nm. Nous nous attendions, à la vue de la fraction peptidique, à la formation d'auto-assemblages de morphologie de type micellaire sphérique. Or, en considérant les dimensions moléculaires des copolymères concernés, une micelle de PB₄₈-b-PGA₁₁₄ avec un rayon hydrodynamique de 27,3nm est tout à fait envisageable, mais une micelle de PB₄₀-b-PGA₁₀₀ avec un rayon hydrodynamique de 114nm paraît inconcevable. Une autre morphologie dans ce dernier cas doit alors être envisagée et pour cela, il nous faut compléter ces premières données avec des

expériences de diffusion statique de la lumière et/ou de diffusion des neutrons ou encore de microscopie électronique. Pour le copolymère PB₄₈-*b*-PGA₁₄₅, une morphologie micellaire semble envisageable compte tenu à la fois des dimensions moléculaires (Φ_{PGA}) et de la taille mesurée, ainsi qu'il a été dit auparavant. En revanche, les agrégats formés par le copolymère PB₄₈-*b*-PGA₅₆ pourraient bien correspondre à des objets creux constitués par exemple d'une bicouche flexible repliée en vésicule, ou à des micelles creuses, mais des mesures complémentaires sont bien entendu nécessaires. Enfin, dans les solvants organiques, THF ou CH₂Cl₂, les copolymères PB₄₈-*b*-PGA₂₀ (Φ_{PGA} = 50%) forment par auto-assemblage des objets de taille importante, qui devraient être de morphologie vésiculaire (compte tenu des dimensions moléculaires des copolymères).

III.2.3. ÉTUDE PAR DIFFUSION STATIQUE DE LA LUMIÈRE

Comme nous venons juste de le signaler, il nous faut compléter les données obtenues par diffusion dynamique de la lumière, afin de déterminer la structure exacte des morphologies formées par le processus d'auto-assemblage. Nous avons donc effectué des mesures de diffusion statique de la lumière (SLS) sur les mêmes échantillons et dans les mêmes conditions, de façon à déterminer des caractéristiques essentielles telles le rayon de giration R_g , la masse molaire moyenne en masse de l'agrégat $\overline{M_w}$ ou le second coefficient au viriel A_2 . Toutes ces caractéristiques sont accessibles par la méthode du diagramme de Zimm. Or, ce formalisme n'est applicable que dans le cas de systèmes neutres ou équivalents. Pour nos systèmes dans l'eau, du fait des interactions électrostatiques présentes au sein des blocs peptidiques polyélectrolytes, de telles mesures ne peuvent être effectuées directement (sans sel ajouté). C'est pourquoi, il est nécessaire d'écranter ces interactions par l'addition d'un simple électrolyte (1M NaCl comme en DLS). L'addition de sel peut malheureusement, dans certains cas, engendrer de nouveaux problèmes tels que l'agrégation des espèces présentes ou, cas extrême, la précipitation des systèmes. Lors de notre étude, aucune précipitation n'a été mise en évidence, et nous n'avons pas non plus dû faire face à des problèmes d'agrégation, comme nous avons pu le constater précédemment en diffusion dynamique de la lumière. Ainsi, nous avons pu réaliser les mesures complémentaires aussi bien sur les systèmes aqueux qu'organiques. Les résultats collectés sont rassemblés dans le Tableau 16 et illustrés par deux diagrammes de Zimm expérimentaux représentatifs, observés pour les copolymères PB₄₈-*b*-PGA₅₆ et PB₄₈-*b*-PGA₁₄₅ (Figure 85).

Tableau 16 : Résultats obtenus par diffusion de lumière statique (SLS) et dynamique (DLS) pour les cinq systèmes de copolymères PB_x-b-PGA_y

PB _x -b-PGA _y :		40-b-100	48-b-56	48-b-114	48-b-145	48-b-20	48-b-20	
Φ _{PGA} (%)		85	73	85	89	50	50	
Solvant		H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	THF	CH ₂ Cl ₂	
DLS	R _{H(0 NaCl)}	(nm)	128	53,4	32,3	37,2	108,1	106,3
	R _{H(1M NaCl)}		114	47,2	27,3	28	--	--
R _g	110		49,9	19,6	23	111,3	103	
ρ		0,98	1,05	0,72	0,82	1,03	0,97	
"Structure" ^(a)		Vésicule	Vésicule	Micelle	Micelle	Vésicule	Vésicule	

(a) morphologies supposées à partir des valeurs du paramètre $\rho=R_g/R_H$

Pourtant, en raison des problèmes bien connus concernant l'analyse des expériences de SLS menées sur des systèmes à base de copolymères à blocs (taille des objets et leur dispersion en tailles, mesure du dn/dc et sa signification...), ainsi qu'en raison des nombreuses controverses qui en résultent, les valeurs mesurées par cette technique dans notre cas, doivent être considérées comme des valeurs apparentes.

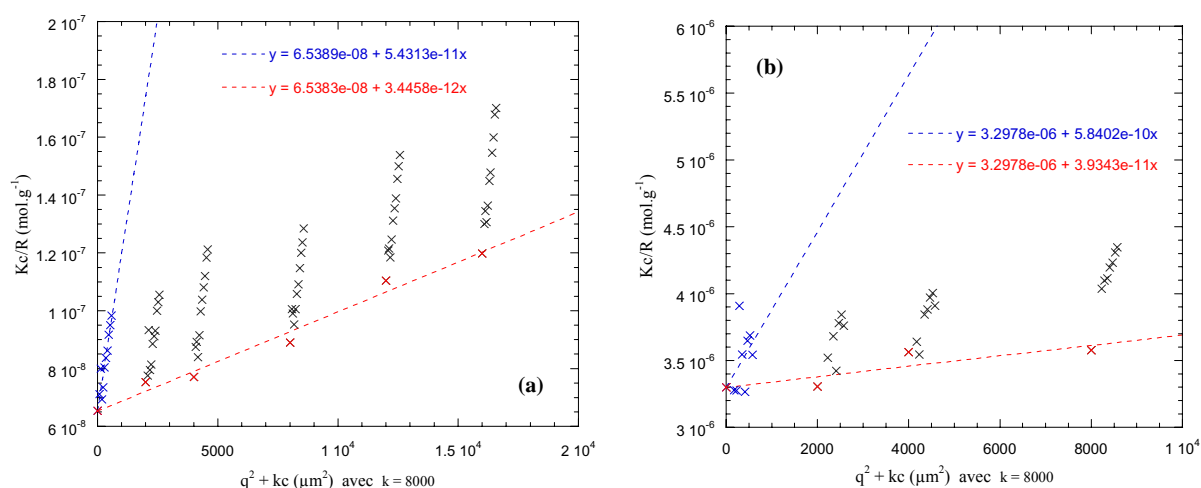


Figure 85 : Diagrammes de Zimm des copolymères (a) PB₄₈-b-PGA₅₆ et (b) PB₄₈-b-PGA₁₄₅

Leur interprétation est en effet d'autant plus compliquée que les caractères "amphiphile", "polyélectrolyte écranté" et "auto-assemblé" de nos systèmes de copolymères interviennent.

Néanmoins, nous pouvons supposer qu'à forte force ionique (1M NaCl), lorsque les charges sont écrantées, nous mesurons réellement la valeur moyenne- z du rayon de giration des agrégats ; valeur qui devrait être proche du rayon de giration vrai. Ainsi, suivant cette hypothèse, nous pouvons extraire le rayon de giration par ces expériences de diffusion statique de la lumière et cette valeur peut être comparée à la valeur du rayon hydrodynamique obtenu dans les mêmes conditions. Le rapport de ces deux rayons (R_g/R_H) noté ρ est alors caractéristique de la structure diffusante. Il a été prédit que pour une sphère uniforme ρ est égal à 0,774, pour une structure creuse de type vésiculaire à 1, pour un polymère en conformation de type pelote statistique à 1,5 et que pour une structure de type bâtonnet $\rho \geq 1,8$ [184,185]. Les données du Tableau 16 nous renseignent alors sur les morphologies formées par auto-assemblage. Dans les cas de copolymères PB₄₈-*b*-PGA₁₁₄ et PB₄₈-*b*-PGA₁₄₅, le paramètre ρ calculé est très proche de 0,77 (respectivement 0,72 et 0,82) typique d'une structure dense et uniforme, ce qui signifie apparemment que nous sommes en présence de structures de type micellaire, comme nous l'avions pressenti à la suite des mesures de DLS, caractérisées par des rayons de giration de 19,6 et 23nm et formées par un cœur de polybutadiène -vert-hydrophobe et une couronne de poly(acide glutamique) -bleu- (Figure 86). Par contre, pour le copolymère PB₄₀-*b*-PGA₁₀₀ possédant une fraction peptidique équivalente à celle du PB₄₈-*b*-PGA₁₁₄, la valeur du paramètre ρ est totalement différente et très proche de 1, tout comme pour le copolymère PB₄₈-*b*-PGA₅₆. Cette valeur correspond à une morphologie de type vésiculaire. Ces vésicules seraient formées par une double couche de copolymère repliée selon une symétrie sphérique et constituée d'une partie interne de polybutadiène -vert-enveloppée par les blocs -bleu- de poly(acide glutamique).

Afin d'illustrer ces deux types de morphologies, micelles et vésicules, des représentations schématiques sont proposées à la Figure 86. La différence entre les deux copolymères de même fraction peptidique, observée en diffusion dynamique, est alors confirmée par la diffusion statique de la lumière : dans le cas du copolymère PB₄₀-*b*-PGA₁₀₀, il semble que la morphologie d'auto-assemblage soit une vésicule alors que dans le cas du copolymère PB₄₈-*b*-PGA₁₁₄ la morphologie semble être de type micellaire. Nous ne pouvons pas encore, dans l'état actuel des travaux, fournir une explication complète et certaine à cette différence. Cependant, une petite différence dans la synthèse qui se reflète au niveau de la structure moléculaire du PB₄₀-*b*-PGA₁₀₀ par l'absence d'unité entre les blocs PB et PGA, peut avoir joué un rôle important lors du processus d'auto-assemblage, et avoir influencé la structure finale de l'édifice supramacromoléculaire. Pour ce qui est du copolymère PB₄₈-*b*-PGA₂₀ en solvant

organique, que ce soit dans le THF ou dans le dichlorométhane, le paramètre ρ (complémentarité des deux techniques de diffusion de la lumière) indique une structure de type vésiculaire avec respectivement $\rho_{\text{THF}}=1,03$ et $\rho_{\text{CH}_2\text{CL}_2}=0,97$. Les vésicules ainsi formées seraient dites “inverses” avec une partie centrale hydrophile de PGA et une enveloppe interne et externe de polybutadiène hydrophobe.



Figure 86 : Représentations schématiques des morphologies micellaires et vésiculaires observées pour les copolymères PB_x - b - PGA_y en solution

Par ailleurs et pour conclure cette étude par diffusion de lumière, nous ne tirerons aucune conclusion des données du coefficient A_2 et des masses molaires moyennes dont les valeurs ne sont visiblement pas significatives. Nous ne souhaitons pas extraire des données pouvant prêter à débat, mais préférons compléter cette étude par des expériences plus adaptées.

III.3. ÉTUDE PAR DIFFUSION DES NEUTRONS AUX PETITS ANGLES (SANS)

Différents éléments de réponse, quant à la structure générale des morphologies auto-assemblées, nous ont donc été apportés par les deux techniques complémentaires de diffusion de lumière. Nous avons ainsi obtenu des structures en solution de type micellaires ou vésiculaires en fonction de la longueur du bloc hydrophile peptidique. Nous allons à présent, dans ce troisième chapitre, approfondir cette étude en confirmant les résultats obtenus précédemment et en nous intéressant à la structure intime des morphologies auto-assemblées. Pour cela, nous avons fait appel à la diffusion des neutrons aux petits angles, technique très bien adaptée à l'analyse et à la caractérisation de ce genre d'agrégats polymères (micelles, vésicules).

III.3.1. QUELQUES RAPPELS

L'objectif d'une expérience de diffusion des neutrons aux petits angles est d'extraire la forme, la distribution en tailles et la structure interne des "objets", "particules" ou plus généralement des diffusants présents dans un échantillon. Ce terme "diffusants" couvre donc un large panel d'objets, comme les polymères, les protéines, les colloïdes, les micelles, les bicouches ou les agrégats encore plus complexes...avec des tailles typiques comprises entre 10 et 4000Å.

En théorie, l'intensité diffusée par un ensemble de N particules identiques de volume V_p placées dans un volume total V, peut être écrite en fonction du vecteur d'onde q (Eq. 1):

$$I_{Théo}(q) = \frac{N}{V} (\Delta\rho)^2 V_p^2 P(q) S(q) \quad Eq. 2$$

où $P(q)$ est le facteur de forme de la particule (et ne dépend que de sa forme), $\Delta\rho$ est le contraste (différence entre les densités de longueurs de diffusion de la particule et de son environnement : différence entre le solvant et la particule par exemple), et où $S(q)$ correspond aux interférences causées par les corrélations entre les positions des particules et est dénommé facteur de structure. Dans le cas de particules sans interaction (systèmes dilués), leurs positions ne sont pas corrélées et le facteur de structure est donc égale à 1 pour tous les vecteurs d'onde q. Ainsi l'intensité diffusée devient :

$$I_{Théo}(q) = \frac{N}{V} (\Delta\rho)^2 V_p^2 P(q) \quad Eq. 3$$

et la morphologie des objets diffusants peut être extraite dans le cas de solutions très diluées, au sein desquelles les interactions entre les objets peuvent être négligées. Remarquons qu'il est courant de travailler avec la fraction volumique de particules diffusantes Φ :

$$\Phi = \frac{N}{V} V_p \quad Eq. 4$$

L'intensité théorique diffusée par des objets sans interaction devient alors :

$$I_{Théo}(q) = \Phi (\Delta\rho)^2 V_p P(q) \quad Eq. 5$$

A partir de là, nous pouvons décrire brièvement les relations auxquelles nous allons faire appel pour l'analyse des données de diffusion SANS.

III.3.1.1. Diffusion par des agrégats de géométrie simple : micelle, vésicule

Le facteur de forme $P(q)$ joue donc un rôle extrêmement important puisqu'il contient l'essentiel de l'information sur la géométrie des agrégats supramoléculaires. Il est possible de calculer les facteurs de forme pour des géométries simples et d'ailleurs des modèles de facteur de forme théoriques sont connus depuis plus de 50 ans. A ce sujet, une description très complète des facteurs de formes possibles est donnée par Pedersen [186]. Malheureusement, dans la plupart des cas, ces facteurs de forme ne modélisent pas les données expérimentales aussi bien que nous le voudrions. Des fonctions de résolution expérimentales ainsi que les fluctuations de taille ou de forme des objets diffusants doivent être prises en compte et introduites dans les modèles (points sur lesquels nous allons revenir dans ce même chapitre).

Néanmoins, nous pouvons en première approximation décrire la particule comme un objet homogène et sans fluctuation. Dans ce cas et en absence d'interaction entre les objets ou encore à haute dilution, $S(q)$ vaut 1 et l'intensité diffusée donne –à une constante multiplicative près– le facteur de forme :

- Sphères homogènes de rayon R_s : (~micelle)

L'intensité diffusée par un ensemble de sphère de rayon R_s s'écrit :

$$I(q) = 9\Phi(\Delta\rho)^2 V_s \left[\frac{\sin(qR_s) - qR_s \cos(qR_s)}{(qR_s)^3} \right]^2 \quad \text{Eq. 6}$$

avec Φ la fraction volumique, $\Delta\rho$ le contraste et V_s le volume d'une sphère. Dans la limite de Guinier, c'est-à-dire pour les petits vecteurs d'onde, lorsque $q \ll R_s^{-1}$, on peut développer l'expression entre crochets dans l'Eq. 6 et :

$$I(q) = \Phi(\Delta\rho)^2 V_s \exp\left(-\frac{R_g^2 q^2}{3}\right) \quad \text{Eq. 7}$$

où R_g est le rayon de giration des sphères, relié au rayon de la sphère par

$$R_g^2 = \frac{3}{5} R_s^2 \quad \text{Eq. 8}$$

La pente de $\ln\{I(q)\}$ en fonction de q^2 pour les petits q permet donc d'accéder au rayon des sphères si l'ajustement complet de l'intensité mesurée sur tout le domaine de q n'est pas réalisable de façon correcte.

- Coque sphérique homogène de rayon moyen R et d'épaisseur δ : (~vésicule)

La densité de longueur de diffusion dans la coque vaut ρ_1 entre $R_i = R - \delta/2$ et $R_e = R + \delta/2$, et ρ_2 partout ailleurs (R_i et R_e sont les rayons internes et externes de la coquille). Nous posons $\Delta\rho = \rho_1 - \rho_2$ et obtenons pour le facteur de forme et l'intensité diffusée (avec un profil dit "créneau"):

$$P_{\text{créneau}}^{\text{ves}}(q) = \frac{16\pi^2}{q^6} \left[\frac{\sin(qR_e) - qR_e \cos(qR_e) - \sin(qR_i) + qR_i \cos(qR_i)}{V(R_e) - V(R_i)} \right]^2 \quad \text{Eq. 9}$$

avec $V(R_x) = \frac{4}{3}\pi R_x^3$, $[V(R_e) - V(R_i)]^2 = V_{\text{ves}}^2$

où V_{ves} est le volume diffusant de la vésicule et $I(q) = \Phi(\Delta\rho)^2 V_{\text{ves}} P_{\text{créneau}}^{\text{ves}}(q) = \frac{N}{V} (\Delta\rho)^2 V_{\text{ves}}^2 P_{\text{créneau}}^{\text{ves}}(q)$.

Or ce modèle ne tient pas compte de la pénétration du solvant dans la structure, traduisant une interface moins nette entre la membrane et le solvant. Il est alors possible d'utiliser un modèle plus réaliste du contraste à travers la bicouche, notamment lorsque les parties externes de la bicouche qui forment la vésicule sont solvatées par la solution. Le contraste est ainsi maximal à l'intérieur et au centre de la bicouche et diminue progressivement à travers les couches des parties solvatées. Ce profil de diffusion peut être modélisé par une distribution gaussienne des longueurs de diffusion $\rho(R)$ [187] :

$$\rho(R) = \Delta\rho \exp\left[\frac{-(R - R_0)^2}{2t^2} \right] \quad \text{Eq. 10}$$

où R_0 est le centre de la gaussienne (ce qui équivaut au rayon moyen de la coque) et t est le paramètre caractérisant la fonction gaussienne en utilisant $t = \frac{\delta}{\sqrt{2\pi}}$, ce qui correspond à la conservation du contraste à travers la bicouche par rapport au modèle précédent (voir Figure 87).

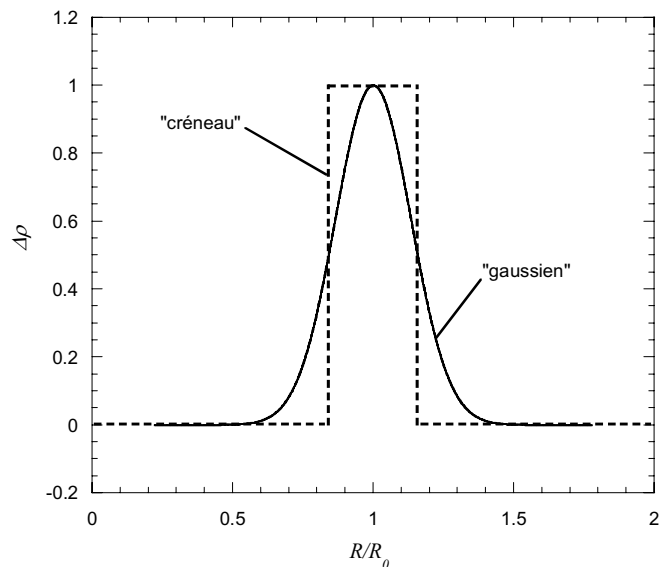
Nous obtenons alors :

$$P_{\text{gaus}}^{\text{ves}} = 32\pi^3 \frac{t^2}{q^2} \exp(-q^2 t^2) \left[R_0 \sin(qR_0) + q t^2 \cos(qR_0) \right]^2 \quad \text{Eq. 11}$$

et
$$I(q) = \frac{N}{V} (\Delta\rho)^2 P_{\text{gaus}}^{\text{ves}}(q) \quad \text{Eq. 12}$$

Cette relation est alors valable pour des vésicules possédant un rayon suffisamment grand par rapport à l'épaisseur de la bicouche. Nous reviendrons sur l'importance et l'utilité de ce second modèle appliqué aux vésicules dans le paragraphe expérimental suivant.

Figure 87 : Tracés des deux différents profils de densité envisagés pour modéliser le contraste au travers de la bicouche (coquille) formant une vésicule ; le profil dit "créneau" et celui dit "gaussien"



Nous pouvons noter ici, que les facteurs de forme des objets jusqu'à présent identiques en taille et en forme (Eq. 9 et Eq. 11) sont nuls pour des valeurs de q (plus précisément pour les valeurs du couple qR_s pour la sphère et qR ou $q\delta$ pour la vésicule) régulièrement espacées (lorsque $\sin x - x \cos x = 0$ avec $x = qR_s + n\pi$ dans le cas d'une sphère par exemple). Par conséquent, l'intensité diffusée doit elle aussi s'annuler pour ces mêmes valeurs. Or, expérimentalement, l'intensité diffusée passe par des minima mais ne s'annule pas. Ce phénomène ne dépend donc pas du choix du modèle utilisé pour construire les particules, mais est un effet entièrement dû à la dispersion en taille ou en forme de ces particules et, bien sûr, à la résolution de l'expérience de diffusion. En particulier, lors des expériences de diffusion de neutrons aux petits angles, nous devons faire face à une dispersion relativement large des longueurs d'onde incidentes, à des effets de collimation, ainsi qu'à la résolution spatiale des éléments du détecteur. Il nous faut tenir compte de ces contraintes pour analyser proprement les données obtenues expérimentalement.

III.3.1.2. Effet de la dispersion en taille: polymétrie

Les agrégats supramoléculaires, et en particulier ceux obtenus par l'auto-assemblage de macromolécules de type copolymères, ne sont jamais exactement de taille et de forme identiques. Nous utilisons donc le formalisme précédent avec un facteur de forme moyenné $\bar{P}(q)$ par une convolution avec une distribution en terme de rayon $f(r)$. L'intensité diffusée s'écrit alors :

$$I_{poly}(q) = \Phi(\Delta\rho)^2 \langle Vp \rangle S(q) \int_0^\infty P(q,r) f(r) dr \quad Eq. 13$$

avec $\langle Vp \rangle$ le volume moyen de la particule et $P(q,r)$ la dépendance en taille du facteur forme de la particule. Différentes fonctions de distribution $f(r)$ peuvent être envisagées comme des fonctions gaussiennes ou Log-Normale.

- la fonction gaussienne est du type

$$f(r) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\Delta_R} \exp\left(-\frac{(r-R)^2}{2\Delta_R^2}\right) \quad Eq. 14$$

avec Δ_R la demi-largeur caractérisant la distribution. La fonction gaussienne est symétrique, centrée sur R son maximum.

- la fonction Log-Normale :

$$f(r) = \frac{1}{r\sigma\sqrt{2\pi}} \exp\left(-\frac{1}{2\sigma^2} \left(\ln\frac{R}{r}\right)^2\right) \quad Eq. 15$$

où σ est la déviation standard liée à la demi-largeur par $\sigma R = \Delta_R$. La distribution Log-Normale est asymétrique (elle "traîne" plus dans le domaine des grandes tailles) et son maximum se trouve pour $r = R \exp(-\sigma^2)$.

Sachant que ces deux distributions mènent à des résultats numériques très similaires, il est très difficile de les distinguer lors de l'ajustement d'une expérience de diffusion de neutrons.

Pour l'interprétation des spectres SANS, nous remplaçons le facteur de forme moyenné, et la polymétrie devient un paramètre ajustable par l'intermédiaire de Δ_R ou σ : plus ces valeurs sont grandes, plus la courbe $I_{poly}(q)$ est lisse. Notons que dans le cas des vésicules à profil de densité gaussien, l'intégrale de l'Eq. 13 peut être évaluée analytiquement [187]. Remarquons par ailleurs, que cette polymétrie est une dispersion en taille uniquement, et que cette approche

néglige toutes les fluctuations de formes possibles pour une taille constante, certainement à l'origine d'une partie de la disparition des minima sur les courbes d'intensité diffusée expérimentalement. Par conséquent, Δ_R et σ donnent plutôt une indication sur la valeur de la polymétrie, que la valeur exacte.

III.3.1.3. Résolution expérimentale

L'intensité diffusée présentée dans les sections précédentes est calculée en postulant un rayonnement à une seule longueur d'onde λ . En pratique, un sélecteur mécanique (PACE-LLB) détermine λ avec une précision donnée. La distribution de longueur d'onde peut alors être décrite par une gaussienne de valeur moyenne λ_m et de longueur $2\Delta\lambda$.

Par conséquent, il y a une superposition des contributions des différentes longueurs d'onde, ce qui, de nouveau, lisse le spectre. Nous tenons compte de cet effet en convoluant l'intensité théorique pour une certaine longueur d'onde avec la distribution $f(\lambda)$. Nous obtenons ainsi l'intensité diffusée :

$$I_{res}(q) = \Phi(\Delta\rho)^2 V p S(q) \int_0^\infty P(q, \lambda) f(\lambda) d\lambda \quad \text{Eq. 16}$$

avec la dépendance du vecteur d'onde q avec la longueur d'onde λ exprimée dans l'Eq. 1. En pratique, nous utiliserons une largeur relative totale de $\frac{2\Delta\lambda}{\lambda_m} = 10\%$.

La résolution expérimentale est aussi limitée par d'autres caractéristiques de l'appareil : les éléments du détecteur qui ont une taille finie et la géométrie de la collimation. Ces effets sont néanmoins négligeables devant l'influence de la distribution des longueurs d'onde.

Ainsi, il est possible de tenir compte de ces corrections au système idéal (résolution et polymétrie) et le facteur de forme devient :

$$\overline{P}_{res}(q, R, \lambda_m) = \int_0^\infty \int_0^\infty P(q, r, \lambda) h(r) f(\lambda) dr d\lambda \quad \text{Eq. 17}$$

avec $h(r)$ et $f(\lambda)$ les fonctions de distributions appropriées.

Nous pouvons donc exprimer l'intensité diffusée expérimentalement par des agrégats de géométrie simple comme des micelles ou des vésicules :

$$I_{exp}(q) = \Phi(\Delta\rho)^2 V p S(q) \overline{P}_{res}(q) + I_{inc} \quad \text{Eq. 18}$$

où I_{inc} représente la contribution provenant de la diffusion incohérente de la solution, qui en théorie est corrigée lors du traitement des données brutes de SANS.

L'ensemble de ce formalisme, traduit en langage informatique (Fortran par exemple), permet d'ajuster les courbes expérimentales avec les équations théoriques et permet donc d'extraire les caractéristiques intimes des agrégats en solution.

III.3.2. RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

Pour notre étude, nous analysons les résultats des expériences de diffusion de neutrons grâce au formalisme présenté précédemment et en utilisant une routine en Fortran fournie par Julian Oberdisse (LLB) que nous avons adaptée à nos systèmes en modifiant les facteurs de forme. Nous allons ainsi pouvoir caractériser en profondeur la morphologie des agrégats supramacromoléculaires auto-assemblés. Nous avons effectué les expériences de diffusion des neutrons aux petits angles au Laboratoire Léon Brillouin (Annie Brûlet, PACE-LLB, Saclay). Tous les échantillons ont été préparés avec des solvants deutériés à la place des solvants hydrogénés pour améliorer le contraste et diminuer le signal incohérent, et toutes les intensités sont en unités absolues (en cm^{-1} , normalisées à l'intensité diffusée par l'eau). Nous avons utilisé plusieurs configurations (couples longueur d'onde/distance échantillon-détecteur) pour obtenir une gamme de vecteur d'onde la plus large possible.

L'ensemble des données obtenues par ajustement des courbes expérimentales avec les expressions théoriques est présenté dans le Tableau 17 en fin de chapitre. Sont regroupés aussi dans ce tableau, les principaux résultats déterminés par diffusion de lumière statique et dynamique pour comparaison.

Commençons tout d'abord par les systèmes les plus simples : les copolymères formant des morphologies de type micellaires, le copolymère $\text{PB}_{48}\text{-}b\text{-PGA}_{114}$ et le copolymère $\text{PB}_{48}\text{-}b\text{-PGA}_{145}$. Pour le copolymère $\text{PB}_{48}\text{-}b\text{-PGA}_{114}$ dans le D_2O à $\text{pH}=12$, la Figure 88 présente l'intensité diffusée en fonction du vecteur d'onde, intensité que nous avons ajustée avec le facteur de forme d'une sphère dure (Eq. 6) présentant une dispersion en taille soit de type gaussienne, soit de type Log-Normale. Quelle que soit la fonction de distribution utilisée, il apparaît clairement que le facteur de forme expérimental est en parfait accord avec les

facteurs de forme d'une sphère dure avec une enveloppe $I \sim q^{-4}$ aux grands vecteurs d'onde.

L'analyse des données fournit un rayon de 7nm et une polymétrie relative ($\frac{2\sigma R}{R}$ ou $\frac{2\Delta_R}{R}$)

proche de 30% dans les deux cas.

Figure 88 : Intensité diffusée par les micelles de PB₄₈-b-PGA₁₁₄ à pH=12 ; ajustement avec le facteur de forme d'une sphère dure (de rayon 7nm) et une dispersion en terme de taille de type (rouge) Log-Normale ou (bleu) Gaussienne

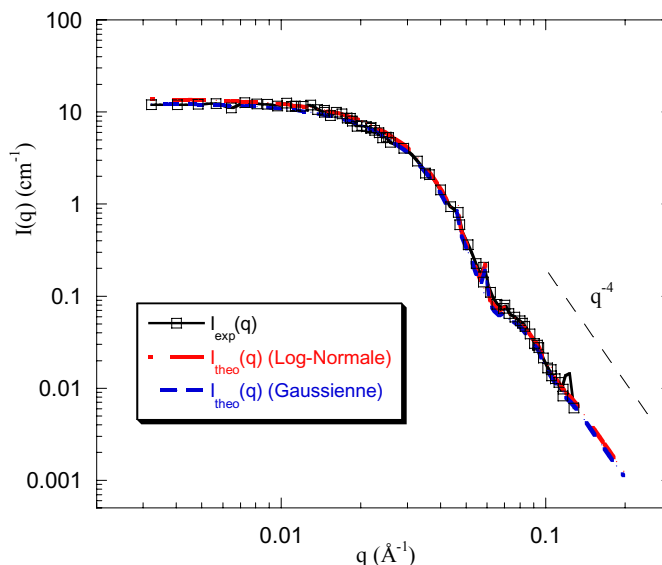
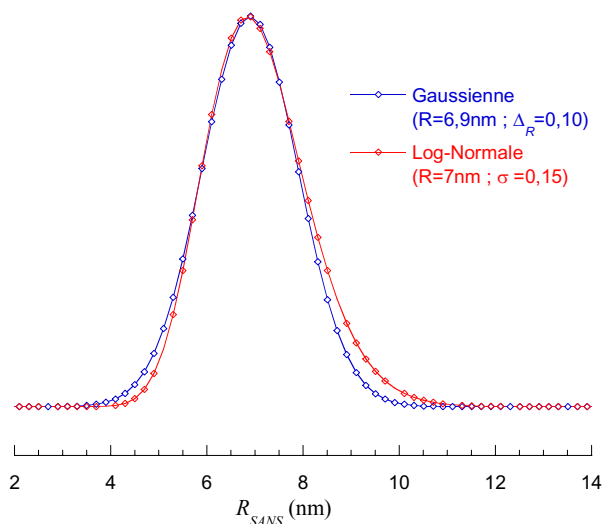


Figure 89 : Représentation des deux fonctions de distributions en tailles associées à la Figure 88 ; Log-Normale ($\sigma=0,15$), Gaussienne ($\Delta_R = 0,10$)



Les fonctions de distribution en tailles correspondant à cet échantillon sont par ailleurs représentées sur la Figure 89. Dans les mêmes configurations, des mesures ont été effectuées sur des échantillons de concentrations en polymère différentes et les mêmes paramètres d'ajustement ont été utilisés (Figure 90). Cette figure montre de nouveau que les ajustements sont parfaitement adaptés au système quelle que soit la concentration en polymère et ce, sur

tout le domaine de q accessible, modélisant même la série d'oscillations amorties. Le seul paramètre d'ajustement modifié ici est la fraction volumique d'objets diffusants Φ qui est directement proportionnelle à la concentration. Notons aussi que chaque courbe a fait l'objet d'une correction supplémentaire de bruit de fond inférieur à $5 \cdot 10^{-3} \text{ cm}^{-1}$.

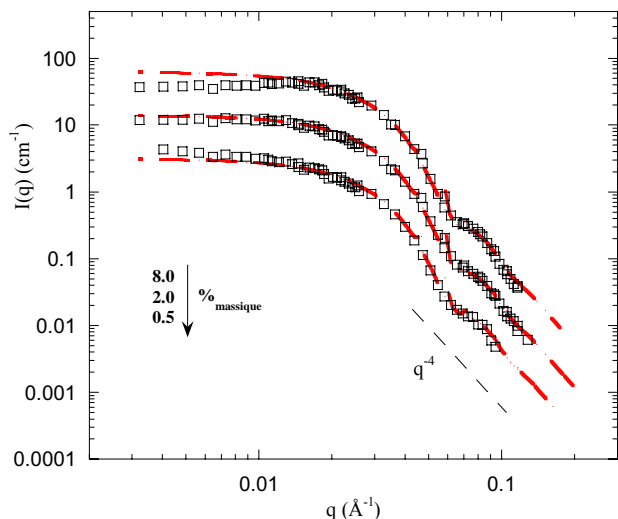


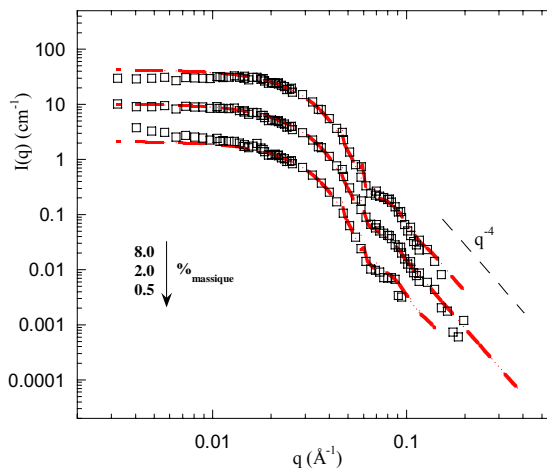
Figure 90 : Courbes SANS du système micellaire à base de $PB_{48}\text{-}b\text{-}PGA_{114}$ obtenues à différentes concentrations ; ajustements réalisés avec le facteur de forme d'une sphère dure

Comparons à présent les données obtenues par SANS à celles obtenues par la diffusion de lumière (Tableau 17). Le rayon hydrodynamique mesuré par DLS est significativement plus grand que celui des sphères déterminé ici, tout comme le rayon de giration. Or, dans le modèle de sphère dure que nous avons utilisé, le contraste est fixé constant dans tout l'agrégat, ce qui n'est vraisemblablement pas raisonnable. En effet, les blocs de poly(acide glutamique), polyélectrolyte, sont sans aucun doute étirés dans la solution aqueuse à $\text{pH}=12$. Ils doivent néanmoins protéger le cœur hydrophobe de polybutadiène et stabiliser la micelle en solution en formant une couche dense à proximité du cœur. Une modélisation plus adaptée serait alors constituée d'un cœur dense à fort contraste de polybutadiène, placé au centre d'une coquille dense de PGA, elle-même située dans une enveloppe progressivement hydratée de PGA, par conséquent, à faible contraste (formalisme plus complexe que celui que nous avons employé et développé par Daoud et Cotton ¹⁷⁷). Ainsi, l'intensité diffusée est majoritairement due au cœur et à la couronne dense présente à proximité. Nous ne mesurons donc pas la taille globale de la micelle "hydratée" mais seulement le rayon de la partie la plus dense à fort contraste. Ceci explique naturellement la différence entre les rayons mesurés par SANS et ceux obtenus en diffusion de lumière.

La Figure 91 présente les résultats observés dans le cas du copolymère $PB_{48}\text{-}b\text{-}PGA_{145}$. Les ajustements avec le modèle simple des sphères dures aboutissent à un rayon de 6,9nm et une

polymétrie également proche de 30%. Les mêmes remarques que pour le système précédent peuvent être faites, en particulier, en ce qui concerne la différence entre le rayon hydrodynamique (DLS) et le rayon modélisé (SANS).

Figure 91 : Courbes SANS du système micellaire à base de $PB_{48}\text{-}b\text{-}PGA_{145}$ obtenues à différentes concentrations ($pH=12$) ; ajustements réalisés avec le facteur de forme d'une sphère dure : $R_S=6,9\text{nm}$, polymétrie~30%



Par contre, un commentaire supplémentaire peut être effectué sur la valeur de ce dernier rayon, en comparaison avec celui mesuré pour le copolymère $PB_{48}\text{-}b\text{-}PGA_{114}$. Si l'on suit le même raisonnement que précédemment, nous mesurons à nouveau, la taille du cœur de polybutadiène et de la première enveloppe dense de PGA. Le bloc de polybutadiène étant identique dans les deux cas ($\overline{DP}48$), il est parfaitement logique de mesurer un rayon pour la sphère diffusante quasi-identique ($\sim 7\text{nm}$) malgré le fait que le bloc poly(acide glutamique) soit plus long. Ceci confirme par la même occasion ce raisonnement.

Passons à présent aux systèmes $PB_{48}\text{-}b\text{-}PGA_{56}$ et $PB_{40}\text{-}b\text{-}PGA_{100}$. La Figure 92 présente l'intensité diffusée par un échantillon de $PB_{48}\text{-}b\text{-}PGA_{56}$ de concentration massique 2% ainsi que les profils d'intensité modélisés pour une vésicule dans les deux formalismes présentés dans le paragraphe précédent (profil de densité de type "créneau" Eq. 15 ou "gaussien" Eq. 14). Différentes particularités peuvent immédiatement être observées.

Premièrement, cette courbe de diffusion est caractérisée par deux domaines de décroissance en intensité: la première avec une enveloppe en $I \sim q^{-2}$ et la seconde en $I \sim q^{-4}$. Ce comportement est caractéristique des structures sphériques creuses comme les vésicules, et plus généralement de la présence d'une membrane plane. Remarquons à ce stade, qu'il est alors courant de se placer dans la représentation de Guinier des objets à deux dimensions -les membranes planes- pour en évaluer la grandeur caractéristique^[188,189]. Dans notre cas

particulier, nous pouvons déterminer l'épaisseur δ de la bicouche de polymère formant les vésicules, en traçant $\ln(q^2 I(q))$ en fonction de q^2 pour les faibles vecteurs d'onde. En effet, un développement aux petits vecteurs d'onde q prévoit dans le cas d'un profil de densité de membrane de type "gaussien" : $q^2 I(q) \propto \exp\left(\frac{-q^2 \delta^2}{12}\right)$

Nous avons ainsi appliqué ce formalisme et obtenu dans le cas du copolymère PB₄₈-b-PGA₅₆ une épaisseur $\delta=13,8\text{nm}$ cohérente avec les dimensions moléculaires.

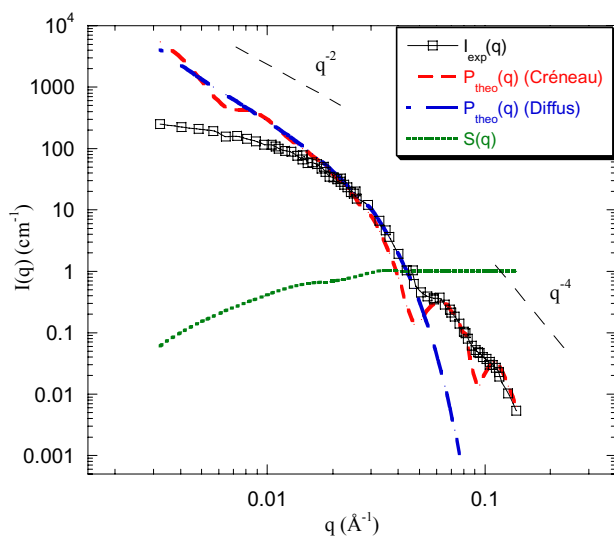


Figure 92 : Intensité diffusée par les vésicules de PB₄₈-b-PGA₅₆ à pH=12 ; ajustements réalisés avec le facteur de forme d'une sphère creuse à profil diffus ou en créneau

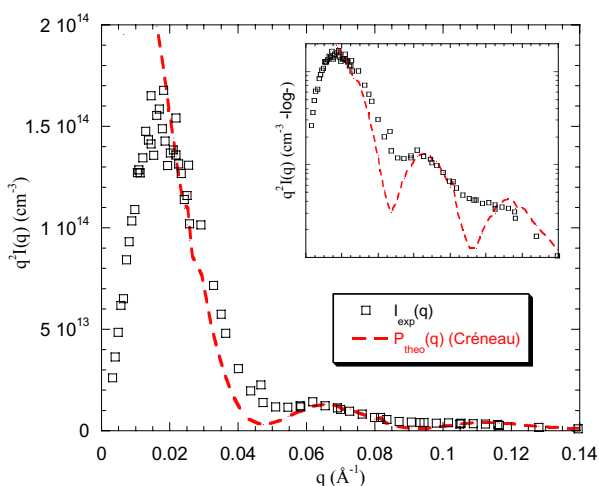


Figure 93 : Intensité diffusée par les vésicules de PB₄₈-b-PGA₅₆, représentation appropriée pour les bicouches $q^2 I(q) = f(q)$ et en haut à droite la représentation semi-log associée

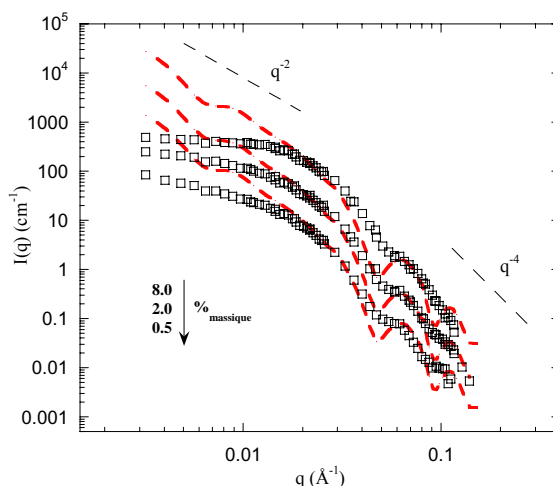


Figure 94 : Courbes SANS du système vésiculaire à base de PB₄₈-b-PGA₅₆ obtenues à différentes concentrations ; ajustements réalisés avec le facteur de forme d'une coquille ($R=47\text{nm}$, $\delta=13,8\text{nm}$)

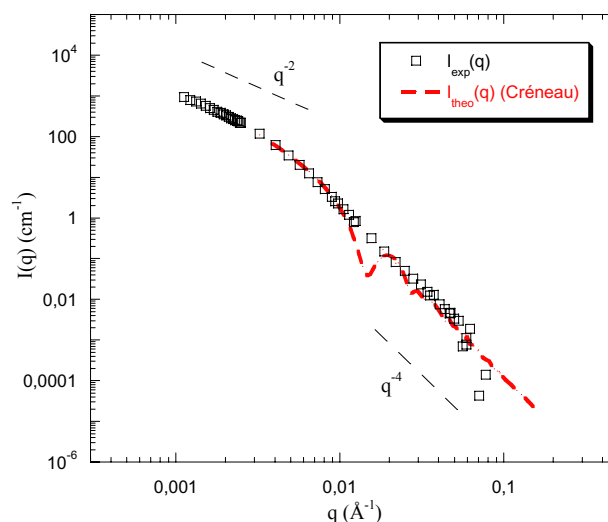
Deuxièmement, en prenant en compte la valeur de δ déterminée dans le régime de Guinier de la membrane et en l'introduisant dans les deux modèles, il apparaît que l'ajustement avec le profil de densité pour une bicouche en créneau semble plus approprié que celui avec un profil de type gaussien (les oscillations amorties dues à l'épaisseur de la bicouche sont relativement bien reproduites avec le modèle "créneau", comme le montre la Figure 93 où l'intensité est tracée dans la représentation appropriée pour des bicouches : $q^2 I(q)$ en fonction de q).

Troisièmement, l'intensité diffusée expérimentalement dévie de façon systématique aux faibles vecteurs d'onde, quelque soit le modèle (Figure 92) et quelle que soit la concentration de l'échantillon (Figure 94), de celle prédite par le facteur de forme de particules, du type vésicules, sans interaction (cas idéal où le facteur de structure $S(q)=1$).

Revenons sur le deuxième point. Les résultats obtenus avec l'ajustement par une vésicule possédant une bicouche à profil de densité en créneau (Eq. 9 et Tableau 17) donne un rayon de 47nm et une épaisseur de bicouche de 13,8nm. Or, comme nous l'avions signalé dans la partie consacrée aux rappels sur les modèles de facteur de forme, une façon plus réaliste de modéliser une bicouche solvatée était d'utiliser un profil de densité de type gaussien. Seulement, ce formalisme n'est applicable que lorsque l'épaisseur de la bicouche est très faible devant le rayon de la vésicule, ce qui n'est pas le cas dans notre système particulier. Cela explique que l'intensité calculée dans le cas du profil de densité gaussien diminue très rapidement avec le vecteur d'onde et ne s'ajuste pas aussi bien que celle calculée pour un profil classique. Nous n'utiliserons donc pas ce formalisme dans le reste de notre étude. Par ailleurs, nous pouvons remarquer que le modèle que nous avons utilisé ne tient pas compte des fluctuations d'épaisseur de la bicouche (fluctuations thermiques, par exemple) ni d'une possible dispersion en épaisseur due à la polymolécularité des copolymères à la base de l'assemblage. C'est pourquoi, l'ajustement de l'amortissement des oscillations dues à l'épaisseur de la bicouche n'est pas optimal. Néanmoins, les dimensions calculées par ce modèle sont en bon accord avec les tailles mesurées en diffusion de lumière statique et dynamique (Tableau 17), tout en prenant en considération les remarques effectuées dans le cas des morphologies de type micelle au sujet des valeurs évaluées par la technique de diffusion des neutrons (cf. page 146). Pour ce qui est du troisième point, aux faibles vecteurs d'onde, l'intensité mesurée expérimentalement est inférieure à celle attendue en théorie (calculée dans le cas idéal). Des interactions répulsives entre les vésicules auto-assemblées peuvent être à l'origine d'une telle diminution de l'intensité^[187]. Ces interactions répulsives, qui pourraient être dues au caractère polyélectrolyte (chargé) des agrégats, se traduiraient

alors par un facteur de structure $S(q)$ similaire au facteur de structure hypothétique et apparent représenté sur la Figure 92 (obtenu en inversant l'Eq. 2 : $S(q) \propto I(q)/P(q)$). Des expériences complémentaires (effet de la force ionique, étude complète de l'effet de la concentration) sont néanmoins indispensables à la compréhension de ce phénomène et à sa modélisation. La Figure 95 illustre les résultats obtenus dans le cas du copolymère PB₄₀-b-PGA₁₀₀. Les données expérimentales ont tout d'abord été ajustées, comme dans le cas précédent, dans le régime de Guinier des bicouches pour mesurer la valeur de δ , puis avec un modèle de profil de diffusion en créneau en réintroduisant δ . Les valeurs obtenues sont cohérentes avec celles de diffusion de lumière. Cette fois, nous avons formé par auto-assemblage des vésicules de rayon moyen 135nm et dont la bicouche mesure 44nm, ce qui est aussi en accord avec les dimensions moléculaires. Notons que comme dans le cas des systèmes formant des micelles, les intensités diffusées ont, de nouveau, toutes fait l'objet d'une correction du bruit de fond inférieur à $3 \cdot 10^{-3} \text{cm}^{-1}$. Notons aussi que, dans ce cas particulier, il est très difficile d'ajuster la taille des vésicules puisque nous ne nous trouvons pas dans le domaine de q associé à leur taille globale. Néanmoins, les valeurs obtenues dans l'approximation du régime de Guinier pour la membrane puis par l'ajustement complet, ainsi que son allure, sont satisfaisantes.

Figure 95 : Intensité diffusée par les vésicules de PB₄₈-b-PGA₁₀₀ à pH=12 ; ajustement réalisé avec le facteur de forme d'une sphère creuse à profil en créneau



Pour en finir avec l'étude par diffusion des neutrons aux petits angles, aucun résultat totalement satisfaisant n'a pu être extrait des expériences effectuées sur les systèmes à base de PB₄₈-b-PGA₂₀ en solvant organique. L'origine de ce phénomène pourrait être due à la préparation même des échantillons. En effet, comme nous l'avons signalé précédemment, le

temps de mise à l'équilibre des auto-assemblages est assez long en solvant hydrogéné. Or, il s'avère être encore plus long en solvant deutérié (ceci pouvant être dû à la substitution isotopique des solvants ; à titre d'exemple le D₂O forme des liaisons hydrogènes plus fortes que H₂O^[187,190]). En conséquence, il se peut que ces systèmes en solvant organique n'aient pas été à l'équilibre lors des expériences de SANS. Cette hypothèse à par la suite été confirmée par des mesures de DLS montrant des tailles et des dispersions en tailles bien plus élevées pour ces systèmes en solvant organique deutérié que pour les mêmes systèmes en solvant hydrogéné.

Tableau 17 : Comparatif des résultats déterminés à pH basique par diffusion de lumière (LS) et diffusion des neutrons aux petits angles (SANS) après modélisation à l'aide des modèles simples de sphère dure et sphère creuse (coquille)

PB _x -b-PGA _y :		40-b-100	48-b-56	48-b-114	48-b-145	
Φ_{PGA} (%)		85	73	85	89	
Solvant		H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	
LS	$R_{H(0\text{ NaCl})}$	(nm)	128	53,4	32,3	37,2
	$R_{H(1M\text{ NaCl})}$		114	47,2	27,3	28
	R_g		110	49,9	19,6	23
SANS	Ajustement	Coquille	Coquille	Sphère	Sphère	
	R_{SANS}	(nm)	135	47	7	6,9
	δ		44	13,8	--	--
	σ (Log-Normale)		0,2	0,2	0,15	0,17

III.4. ÉTUDE PAR MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE EN TRANSMISSION

Afin de conclure cette étude sur l'auto-assemblage en solution des copolymères “rod-coil” hybrides PB_n-b-PGA_m, nous avons décidé de tenter de visualiser les morphologies obtenus par microscopie électronique en transmission (MET). Cette technique, par l'intermédiaire des différents clichés que nous allons présenter, fournit les preuves indiscutables des structures formées par auto-assemblage tout en confirmant les mesures effectuées au cours des différentes expériences de diffusion (lumière, neutrons).

Pour la préparation des échantillons, deux méthodologies sensiblement différentes ont été utilisées. La première, dite "technique du spray", consiste simplement à vaporiser un faible volume d'une solution diluée de l'échantillon à visualiser sur une grille de microscopie électronique, puis à laisser le solvant s'évaporer. L'échantillon est alors observé sous la forme d'un dépôt sec sans lui apporter de contraste supplémentaire par quelque méthode de marquage que ce soit. La seconde technique a, elle, pour but d'observer la structure des agrégats telle qu'elle est en solution. Pour cela, nous avons utilisé la technique de cryofracture. Dans un premier temps, l'échantillon est congelé très rapidement pour éviter la cristallisation du solvant. Dans un deuxième temps, il est fracturé à basse température. Une réplique de la surface fracturée est alors effectuée en déposant une fine pellicule de carbone, puis elle est renforcée par une couche de platine. Enfin, la réplique est récupérée et déposée sur une grille de microscopie directement observable. Lors de ce processus (cryofracture), la fracture se propage en suivant le contour des objets (à la frontière fragile entre les objets et le solvant). L'empreinte en relief des objets en solution qui en résulte, est alors mise en valeur par le procédé d'ombrage, procédé qui consiste à projeter du carbone sur la surface selon un angle donné de façon à ce qu'il s'accumule en fonction du relief.

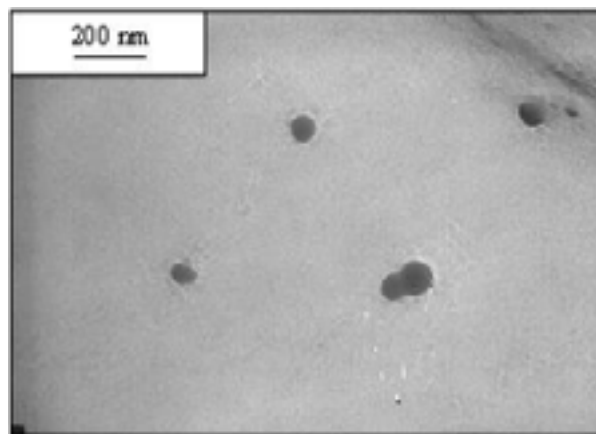
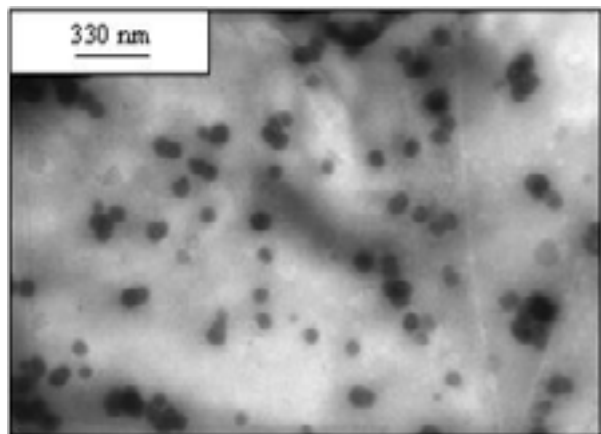
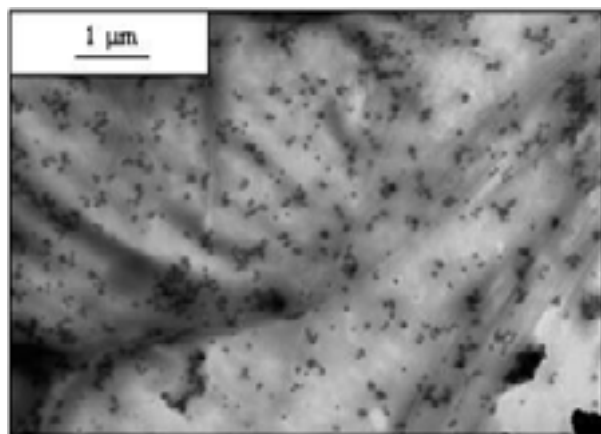


Figure 96 : Clichés MET des micelles de $PB_{48}\text{-}b\text{-}PGA_{114}$ à différents grossissements ;
 $R_{MET} \approx 35\text{nm}$

Regardons tout d'abord le système $PB_{48}\text{-}b\text{-}PGA_{114}$, pour lequel les techniques de diffusion ont mis en évidence une morphologie micellaire. La Figure 96 présente trois clichés MET obtenus pour cet échantillon à différents grossissements (préparation par la “technique du spray”). A faible grossissement, nous pouvons clairement observer des particules sphériques faiblement dispersées en terme de tailles, puis en augmentant progressivement la résolution, nous observons nettement la signature caractéristique d'un objet de type micellaire : une “tache” sphérique de densité électronique homogène. Le rayon apparent des agrégats (R_{MET}) est de $\sim 35\text{nm}$, ce qui correspond aux précédentes mesures effectuées par DLS et SLS (la comparaison est donnée par le Tableau 18 récapitulatif présenté en fin de chapitre).

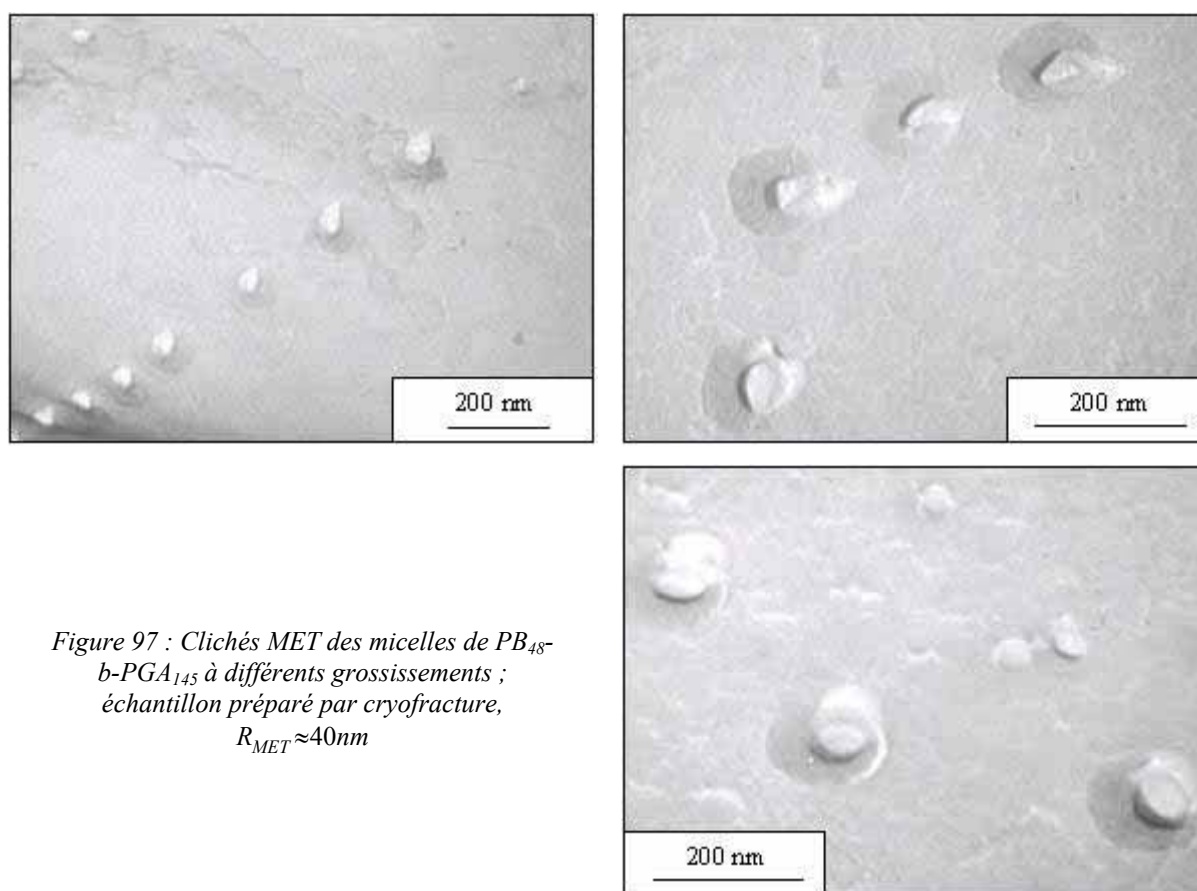


Figure 97 : Clichés MET des micelles de $PB_{48}\text{-}b\text{-}PGA_{145}$ à différents grossissements ; échantillon préparé par cryofracture, $R_{MET} \approx 40\text{nm}$

La Figure 97 présente quant à elle, les clichés MET d'un échantillon de $PB_{48}\text{-}b\text{-}PGA_{145}$ préparé par cryofracture. De nouveau, nous pouvons observer des particules de taille homogène et dont la morphologie est micellaire (objets bien contrasté et à dominante sphérique mis en relief par la fracture ; pour plus de détails, voir la partie Techniques expérimentales, chapitre Microscopie électronique). Les rayons mesurés sont d'environ 40nm et donc aussi parfaitement cohérents avec les résultats de diffusion dynamique ou statique

(voir Tableau 18). Notons à cette occasion que les deux méthodologies de préparation des grilles de microscopie (“spray” ou cryofracture) fournissent de très bons résultats pour ces systèmes auto-assemblés à structure micellaire. Remarquons aussi qu’il est impossible dans nos conditions expérimentales, i.e. sans contraste additionnel, d’extraire des informations supplémentaires quant à la structure interne de ces agrégats, telles l’épaisseur de la couronne ou celle du cœur de polybutadiène, par cette technique (que ce soit avec la méthode “spray” ou cryofracture).

Étudions à présent, les systèmes qui forment par auto-assemblage des vésicules. En raison de sa structure interne plus complexe (équivalente à une sphère creuse), une vésicule est nettement plus difficile à visualiser qu’une micelle (équivalente à une sphère pleine). En fait, il est envisageable, lors du processus d’évaporation du solvant intervenant dans la préparation par vaporisation (“spray”) que les vésicules éclatent, se déforment ou s’effondrent sur elles-mêmes, générant ainsi des objets denses similaires à des micelles. Pourtant, quelle que soit la technique de préparation employée, nous avons pu observer clairement nos morphologies vésiculaires.

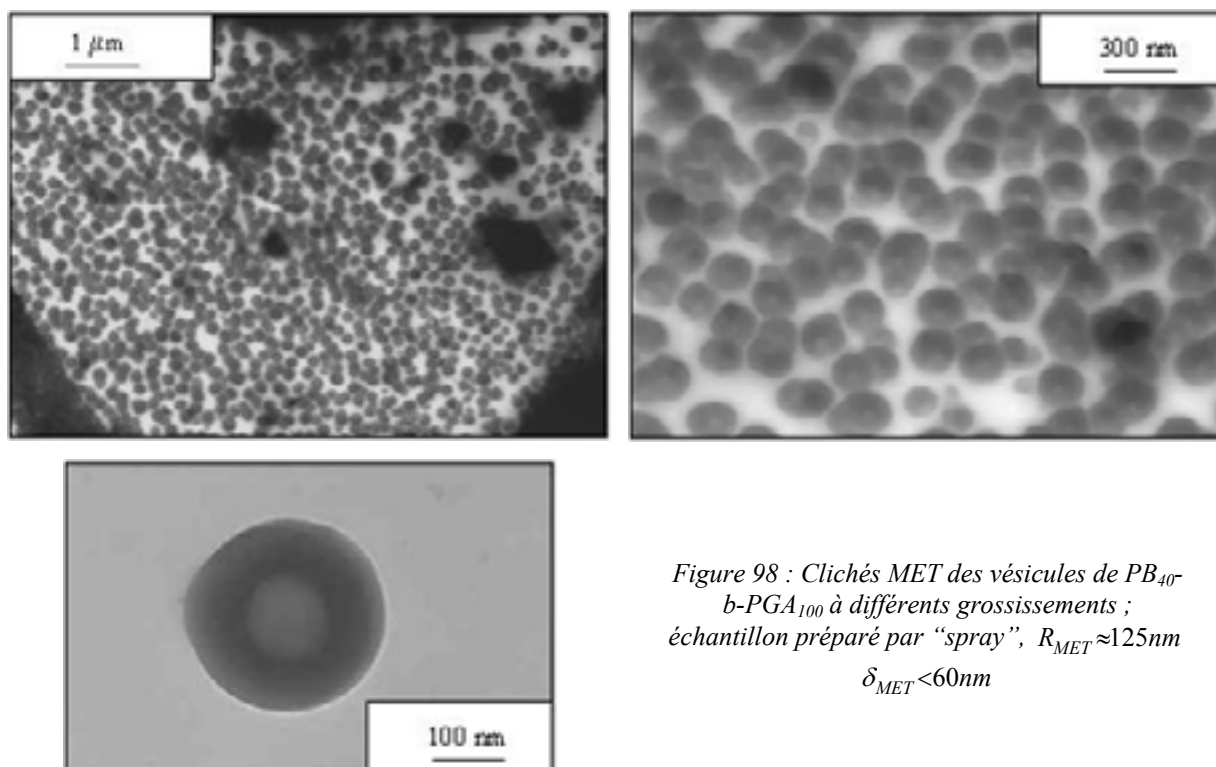


Figure 98 : Clichés MET des vésicules de PB₄₀-b-PGA₁₀₀ à différents grossissements ; échantillon préparé par “spray”, $R_{MET} \approx 125\text{nm}$
 $\delta_{MET} < 60\text{nm}$

En effet, dans le cas du copolymère PB₄₀-b-PGA₁₀₀, formant des vésicules dont le rayon hydrodynamique (sans NaCl ajouté) est de 128nm, nous avons effectué les clichés présentés

par la Figure 98. Nous pouvons y visualiser des particules de taille très régulière (faibles grossissements) dont la signature est en tout point caractéristique d'une vésicule (fort grossissement). La réponse observée est une particule sphérique constituée d'une couronne sombre (= électroniquement dense) entourant un cœur clair (= électroniquement pauvre), spécifique de la projection en terme de densité électronique d'une vésicule dans un plan. Le rayon apparent mesuré pour ces vésicules est de $\sim 125\text{nm}$, ce qui confirme les mesures de diffusion. Quant à la bicouche, il est difficile d'en mesurer l'épaisseur sachant qu'elle peut être soumise à de nombreuses déformations lors du processus d'évaporation, et que l'image restituée correspond à la projection dans un plan des parties électroniquement denses. Néanmoins, nous pouvons évaluer cette épaisseur comme étant inférieure à 60nm .

Dans le cas du copolymère $\text{PB}_{48}\text{-}b\text{-PGA}_{56}$, les expériences de MET ont été réalisées sur des échantillons préparés par cryofracture afin, par la même occasion, de comparer les deux techniques de préparation pour la visualisation de vésicules. Les clichés illustrant ces résultats sont présentés à la Figure 99. Cette fois, l'analyse des clichés est moins aisée mais cependant toujours réalisable.

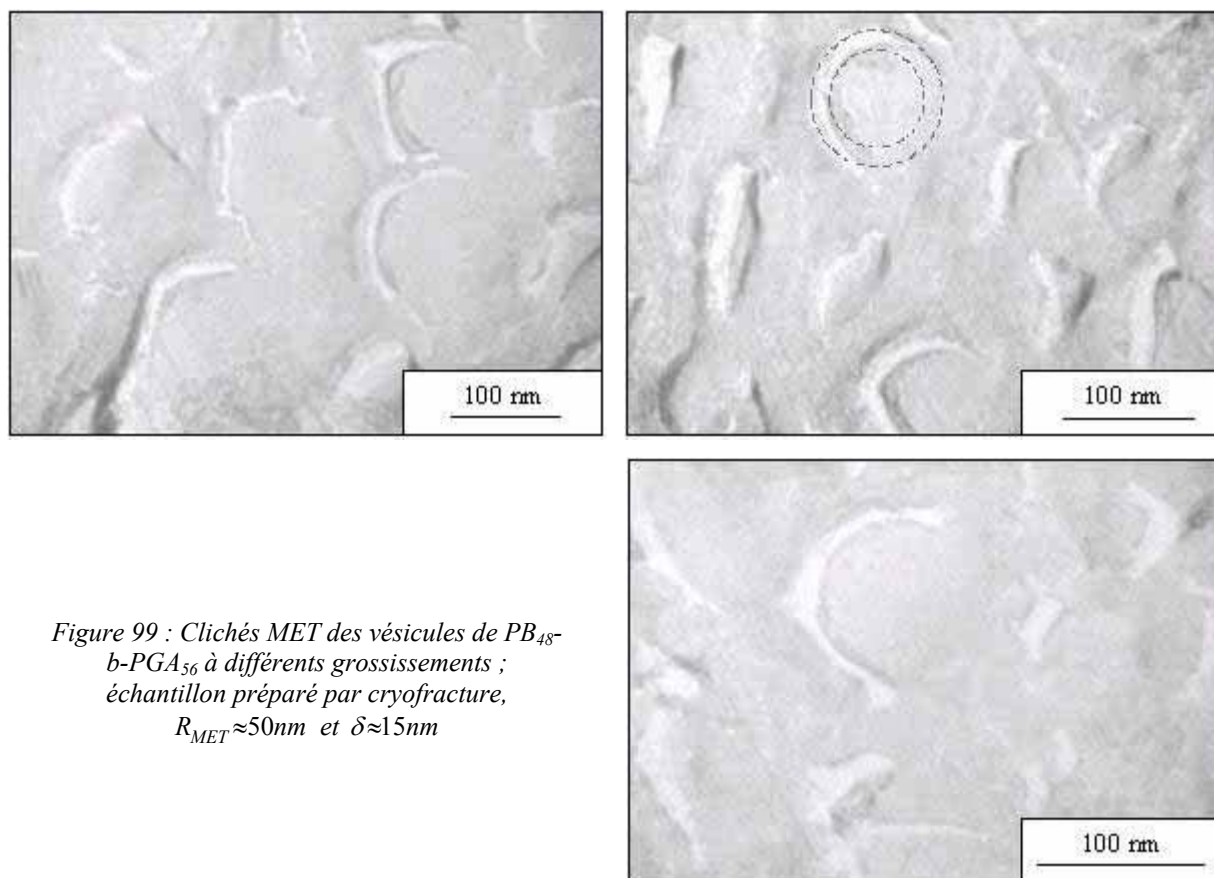


Figure 99 : Clichés MET des vésicules de $\text{PB}_{48}\text{-}b\text{-PGA}_{56}$ à différents grossissements ; échantillon préparé par cryofracture, $R_{\text{MET}} \approx 50\text{nm}$ et $\delta \approx 15\text{nm}$

Lors du processus de cryofracture sur des vésicules, la fracture se propage selon le relief de la paroi en brisant la structure globale de l'objet. Ceci implique que nous devons observer des répliques d'anneaux et non de sphères. C'est effectivement ce que nous pouvons observer sur les clichés de la Figure 99 mis à part le fait que nous ne visualisons que des demi-anneaux. Afin de faciliter la lecture de ces images, une vésicule (représenté par une couronne sphérique) est schématisée et superposée à l'une des empreintes. Jusqu'à présent, nous ne pouvons fournir aucune explication au fait que nous visualisons que des "demi-répliques" de vésicules. Néanmoins, la taille de ces répliques est $\sim 100\text{nm}$ ce qui correspond à un rayon apparent de 50nm parfaitement en accord avec les données collectées précédemment (voir Tableau 18). L'épaisseur des bicouches est cette fois évaluable à 15nm .

Tableau 18 : Récapitulatif des données obtenues par microscopie électronique en transmission (MET) ; comparaison avec les résultats précédemment déterminés par diffusion de lumière

PB _x -b-PGA _y :		40-b-100	48-b-56	48-b-114	48-b-145	
Φ_{PGA} (%)		85	73	85	89	
Solvant		H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	
LS	$R_{H(0\text{ NaCl})}$	(nm)	128	53,4	32,3	37,2
	$R_{H(1\text{M NaCl})}$		114	47,2	27,3	28
	R_g		110	49,9	19,6	23
MET	R_{MET}		125	50	35	40
Méthode ^(a)		<i>Spray</i>	<i>Cryo.</i>	<i>Spray</i>	<i>Cryo.</i>	

^(a) techniques de préparation des échantillons : Cryofracture ou simple Spray

Ainsi, de nouveau, la microscopie électronique en transmission, quelle que soit la méthode de préparation, s'avère être un complément indispensable aux résultats obtenus par les autres techniques sans pour autant permettre la mesure des dimensions internes des structures d'une façon précise et acceptable.

Afin d'achever cette étude de microscopie, des expériences similaires devront très prochainement être effectuées sur les systèmes en solvant organique à base de PB₄₈-b-PGA₂₀.

De ce chapitre, dédié à l'étude des morphologies formées par auto-assemblage en solution des copolymères diblocs amphiphiles polybutadiène-*b*-poly(acide glutamique), nous pouvons

tirer comme enseignement majeur que la complémentarité des techniques physico-chimiques est un élément décisif. En effet, la description complète des structures obtenues par auto-assemblage en solution n'a pu être réalisée que par l'addition des informations fournies par chaque technique : la diffusion de lumière (R_g, R_H), la diffusion des neutrons (structure, épaisseur des bicouches), la microscopie électronique (mise en évidence indiscutable de la morphologie d'auto-assemblage). En variant la composition de notre système dibloc PB-*b*-PGA, nous avons pu mettre en évidence la formation de micelles et de vésicules dans l'eau, ainsi que de vésicules en solvant organique. Ces agrégats supramoléculaires obtenus sont de forme, mais aussi de taille bien définies, avec des distributions en tailles très étroites.

Au terme de cette troisième partie consacrée à la caractérisation des architectures auto-assemblées (en masse ainsi qu'en solution), nous allons passer à l'étape suivante de notre objectif : la manipulation des structures auto-assemblées (en particulier leur réponse à un stimulus externe: le pH) et leur pérennisation pour créer des “nano-objets stimulables à persistance de forme”.

**4^{ÈME} PARTIE : NANO-OBJETS
INTELLIGENTS**

De manière à poursuivre notre objectif, c'est-à-dire, construire des “nano-objets stimulables à persistance de forme” en utilisant le puissant procédé d'auto-assemblage, et après avoir accompli les deux premières étapes de ce projet, i.e., la synthèse de la brique de base spécifique et originale (un copolymère diblocs hybride polybutadiène-*b*-polypeptide), et la caractérisation des super-structures résultant de l'auto-organisation de ce copolymère tant en masse qu'en solution, nous allons à présent, dans cette quatrième et dernière partie, étudier le comportement des morphologies auto-assemblées en réponse à des stimuli externes, puis figer ces mêmes morphologies de façon à créer des objets stimulables totalement stables du point de vue de leur structure, qu'elle soit micellaire ou vésiculaire.

I. MANIPULATION DES STRUCTURES AUTO-ASSEMBLÉES

Comme nous l'avons signalé dans la partie bibliographique, (voir chapitre IV.2.2 : Objets stimulables), la formulation d'un système vecteur “idéal” est un des défis de la recherche actuelle. Les nano-objets ou agrégats auto-assemblés capables de percevoir un stimulus et d'y répondre en présentant des modifications de leurs propriétés physiques et/ou chimiques sont, dans cet optique, considérés comme des options prometteuses. En effet, leurs modifications, en plus de l'attrait fondamental qu'elles procurent du point de vue de la compréhension des phénomènes à l'échelle moléculaire (nanoscopique), peuvent ainsi être utilisées dans un but de libération contrôlée. Étudions donc le caractère stimuable des structures obtenues par auto-assemblage des différents copolymères PB_n-*b*-PGA_m synthétisés. Pour cela, nous allons faire appel à trois techniques complémentaires et parfaitement adaptées à cette étude : la diffusion dynamique de la lumière, le dichroïsme circulaire (UV) et la diffusion des neutrons aux petits angles. Ces trois techniques vont nous permettre, comme dans la partie précédente, de caractériser en détail les structures auto-assemblées sous l'influence de deux stimuli : la force ionique, et le pH (stimuli pouvant être étroitement liés comme nous le verrons plus tard dans ce chapitre). Notons dès à présent que nous n'avons exploré que les systèmes en solution dans l'eau, et ce, pour des raisons évidentes d'applicabilité en tant que systèmes potentiellement utilisables en encapsulation.

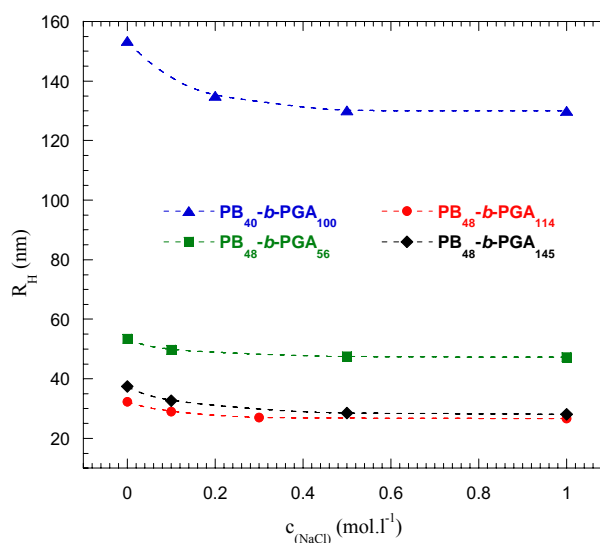
I.1. ÉTUDE PAR DIFFUSION DYNAMIQUE DE LA LUMIÈRE

Remarquons tout d'abord que dans cette partie, les rayons hydrodynamiques que nous avons mesurés ont été évalués à un seul angle (90°) sans extrapolation à concentration nulle comme cela avait été fait précédemment (3^{ème} Partie : Auto-Assemblage, chapitre III.2.2), ce qui signifie que ces valeurs ne représentent que des rayons hydrodynamiques apparents. Nous ne nous concentrerons donc que sur les variations relatives de ces mesures, tout en sachant que ces valeurs sont peu différentes des valeurs réelles.

I.1.1. INFLUENCE DE LA FORCE IONIQUE

Comme nous l'avons déjà remarqué, l'augmentation de la force ionique (caractérisée par l'augmentation de la concentration en électrolyte simple NaCl dans notre cas) au sein des systèmes polyélectrolytes, a pour effet d'écranter les interactions électrostatiques présentes au niveau des parties chargées et donc de rendre ces parties comparables à des polymères neutres (en terme de conformation). Il en résulte une diminution du rayon hydrodynamique, dû au changement de conformation des chaînes polyélectrolytes, d'une conformation généralement fortement étirée (en raison des interactions répulsives entre les charges) à une conformation proche d'une pelote statistique. Nos systèmes auto-assemblés étant constitués de briques de base (copolymères) contenant un bloc polyélectrolyte (le bloc peptidique poly(acide glutamique) PGA), ce phénomène d'écrantage a clairement été observé et mesuré comme le montre la Figure 100.

Figure 100 : Effet de la force ionique sur les rayons hydrodynamiques apparents des agrégats micellaires et vésiculaires ($pH=12$)



En effet, à pH basique (point de départ de la mise en solution de nos systèmes), nos copolymères se présentent sous la forme polybutadiène-*b*-poly(glutamate de sodium) (PGANa) et les contre-ions sodium sont totalement dissociés. Les chaînes de PGANa situées à la périphérie des auto-assemblages formés dans l'eau sont donc étirées en solution. L'ajout de NaCl (augmentation de la force ionique) écranter alors les charges des blocs peptidiques et se traduit par une diminution du rayon hydrodynamique R_H (Figure 100) allant de ~5nm à 25nm en fonction du système étudié, et pour une force ionique relativement élevée de 1M NaCl. Ces variations sont logiquement proportionnelles aux tailles de départ des blocs polyélectrolytes et sont, par ailleurs, plus importantes dans le cas des morphologies vésiculaires que dans le cas des micelles pour une longueur de bloc peptidique équivalente (PB₄₀-*b*-PGA₁₀₀ et PB₄₈-*b*-PGA₁₁₄). Remarquons aussi que l'écrantage est déjà total à 0,5M NaCl. La réponse au stimulus "force ionique" est donc appréciable en terme de taille globale des agrégats et de plus, contrôlable par la quantité d'électrolyte ajoutée au système.

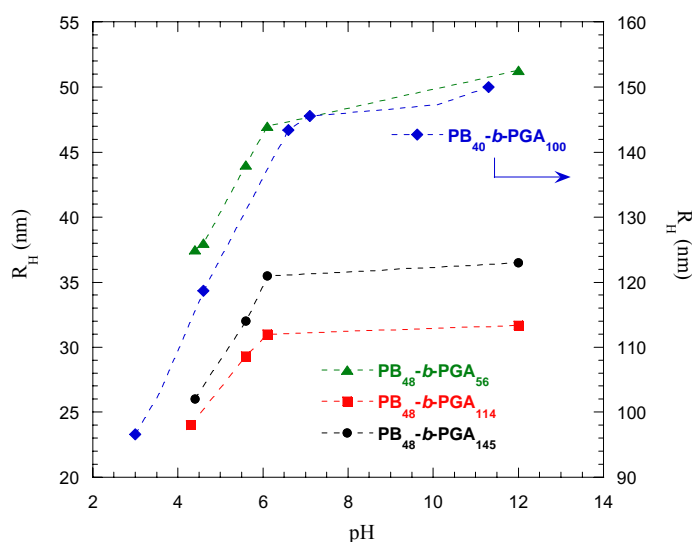
I.1.2. INFLUENCE DU PH

Comme précédemment, nous avons étudié l'évolution du rayon hydrodynamique apparent des structures auto-assemblées dans l'eau, mais cette fois en fonction du pH de la solution. Notons tout d'abord que le pH est connu pour induire des changements de structure secondaire au sein des polypeptides^[115,145-147]. En fait, en fonction du pH et du polypeptide considéré (polypeptide cationique ou anionique), des transitions réversibles de structures secondaires de type hélice-pelote ont lieu. Ces transitions réversibles sont associées à des modifications de conformation des polypeptides, qui peuvent ainsi passer d'un comportement rigide à un comportement flexible. Dans le cas de copolymères diblocs hybrides dont l'un des blocs est peptidique, il est alors possible, en fonction du pH, d'observer une transition entre un copolymère de type rigide-flexible et un copolymère flexible-flexible ("rod-coil" ↔ "coil-coil") et inversement. Dans notre cas, les copolymères servant de briques de bases aux auto-assemblages sont composés d'un bloc de poly(acide glutamique), un bloc peptidique susceptible de changer de structure secondaire en fonction du pH.

Une première série d'expériences a été réalisée sur des solutions ne contenant pas de sel ajouté (force ionique quasi-nulle). La Figure 101 présente la dépendance des rayons hydrodynamiques apparents mesurés (90°) par diffusion dynamique de la lumière vis-à-vis du pH, pour les quatre systèmes hydrosolubles : PB₄₀-*b*-PGA₁₀₀ (vésicules), PB₄₈-*b*-PGA₅₆ (vésicules), PB₄₈-*b*-PGA₁₁₄ (micelles) et PB₄₈-*b*-PGA₁₄₅ (micelles). Il apparaît que les

réponses des quatre systèmes en fonction du stimulus “pH” suivent les mêmes variations. Le comportement général, en se déplaçant des valeurs de pH basiques vers les valeurs de pH acides, est le suivant : tout d'abord, nous pouvons observer un plateau pour les valeurs du R_H jusqu'à environ pH=7, puis, ce plateau est suivi d'une rapide diminution du R_H entre pH=7 et pH=4 (ou pH=3 pour le copolymère PB₄₀-b-PGA₁₀₀).

Figure 101 : Effet du pH sur la taille des agrégats auto-assemblés ; R_H mesurés par diffusion dynamique de la lumière à 90°, et pour une force ionique quasi nulle

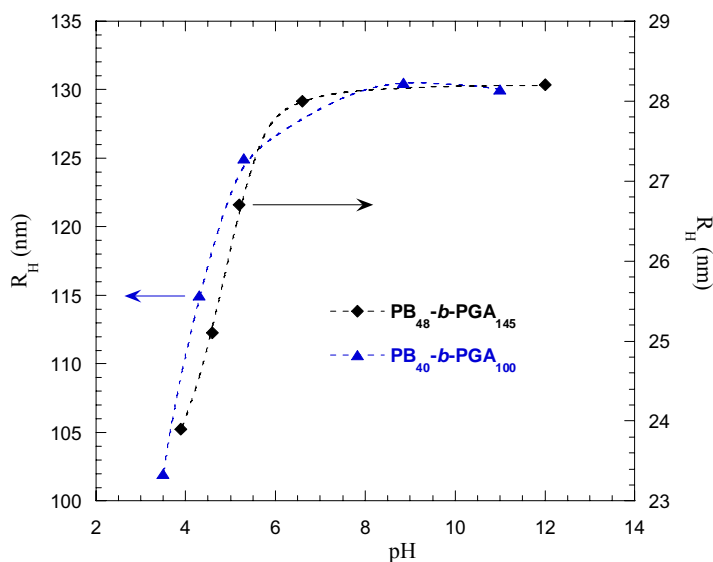


La variation relative de rayon hydrodynamique entre le pH basique et le pH acide dépend de la morphologie d'auto-assemblage ainsi que de la longueur de bloc peptidique PGA, et est comprise entre 9nm et 50nm (respectivement pour les micelles de PB₄₈-b-PGA₁₁₄ et les vésicules de PB₄₀-b-PGA₁₀₀). Ainsi la valeur critique du pH située entre pH=6 et pH=7 (présente pour tous les systèmes) où les agrégats auto-assemblés changent de taille, devrait correspondre à la valeur du pH à laquelle le polypeptide poly(acide glutamique) subit la transition de conformation entre la structure secondaire de type hélice- α et la structure secondaire de type pelote statistique. En d'autres termes, la réponse en taille d'agrégat au stimulus pH pourrait être associée à des changements de conformation au sein des segments peptidiques PGA (nous reviendrons sur ce point important dans le chapitre suivant : Étude par dichroïsme circulaire).

Par ailleurs, différents autres systèmes basés sur des polyélectrolytes ont déjà montré cette capacité à répondre à des variations de pH [96,159,191]. Pourtant lorsque la force ionique augmente (en ajoutant du sel), ces systèmes ne répondent en général plus à ce stimulus externe et cela pour une simple raison : ils perdent leur caractère électrostatique suite à l'écrantage des charges qu'ils possèdent. Ce phénomène est notamment observé lorsque

plusieurs cycles successifs de pH sont effectués, créant alors des quantités de sel non négligeables. Nous avons donc effectué une seconde série de mesures de rayons hydrodynamiques en fonction du pH, mais en présence de NaCl, à forte force ionique (1M NaCl). Les résultats concernant deux exemples représentatifs de nos systèmes (micelles et vésicules) sont regroupés au sein de la Figure 102.

Figure 102 : Influence du pH sur le R_H (90°) des agrégats micellaires et vésiculaires à forte force ionique : 1M NaCl



À 1M en NaCl les interactions électrostatiques sont totalement écrantées (voir Figure 100), néanmoins nous pouvons toujours observer, dans cette situation, une diminution des rayons hydrodynamiques apparents. Pour les vésicules de PB₄₀-b-PGA₁₀₀, par exemple, le rayon R_H mesuré passe de 130nm à pH basique (pH=11,5) (ce qui est parfaitement cohérent avec la valeur déterminée par effet de la force ionique, Figure 100), à 102nm à pH acide (pH~3,5). De la même façon, le rayon des micelles de PB₄₈-b-PGA₁₄₅ passe de R_H ~28nm (pH=11,5) à R_H ~24nm (pH~4). En conséquence, il apparaît très clairement que, même lorsque les charges présentes sur les blocs PGA sont entièrement écrantées par la force ionique, les structures auto-assemblées (micelles et vésicules) sont toujours capables de répondre au stimulus "pH" en changeant de taille. Ce dernier résultat tend donc à confirmer l'hypothèse émise précédemment, selon laquelle, ces réponses aux variations de pH sont dans le cas particulier de nos systèmes (à base de copolymère PB-b-PGA) associés à un changement de conformation et en particulier, de structure secondaire du bloc peptidique : une transition hélice-pelote. En outre, à partir de l'ensemble des données collectées, nous avons pu tracer la cartographie de la taille des agrégats (R_H apparent à 90°) en fonction du pH et de la force ionique, comme il est représenté sur la Figure 103 dans le cas des vésicules de PB₄₀-b-

PGA₁₀₀. Les différents effets sont ici nettement mis en évidence, et il est ainsi flagrant que la variation de taille en réponse au pH n'est pas dirigé par un phénomène ayant uniquement pour origine des interactions électrostatiques.

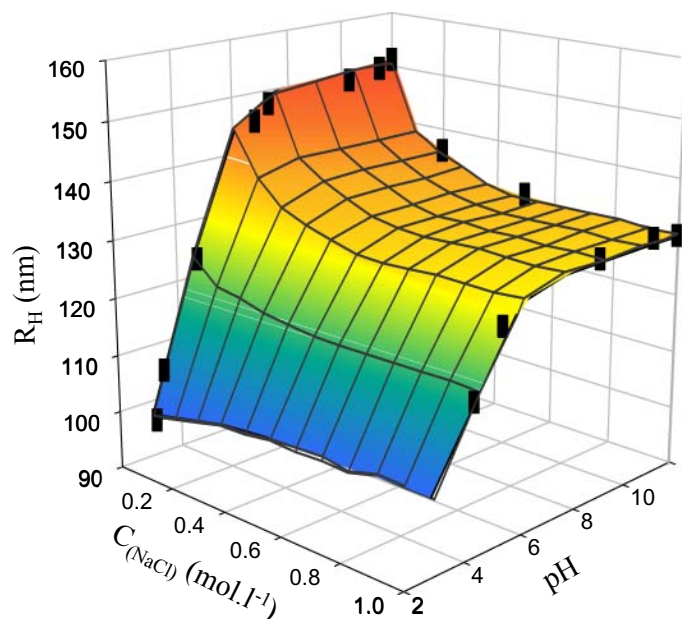


Figure 103 : Cartographie en 3D des effets séparés et simultanés du pH et de la force ionique sur le rayon hydrodynamique des vésicules de PB₄₀-b-PGA₁₀₀

Remarquons à ce sujet, que la réponse en terme de taille (mesure de R_H) est quasi-immédiate (dès la stabilisation du pH qui a lieu en moins de 1h) contrairement au phénomène de formation et de stabilisation de la structure auto-assemblée rencontré lors de chaque mise en solution. Ces modifications de tailles ne semblent donc pas non plus être liées à des transitions de morphologies (point sur lequel nous reviendrons dans le chapitre consacré à l'étude par diffusion des neutrons). Notons aussi qu'en se basant sur notre hypothèse, les blocs peptidiques constitutifs des agrégats peuvent adopter trois conformations différentes associées à trois longueurs caractéristiques différentes.

Ainsi, à pH basique et sans sel ajouté, les blocs PGA sont dans une conformation de chaîne polyélectrolyte à faible force ionique, c'est-à-dire, relativement étirée. Toujours à pH basique, mais lorsque la force ionique est élevée, les blocs PGA se trouvent dans une conformation équivalente à celle d'un polymère neutre (dû à l'écrantage des charges), i.e., en pelote statistique, et sont donc moins étirés qu'à faible force ionique. Enfin à pH acide, et quelle que soit la force ionique, les segments peptidiques adoptent une conformation en hélice compacte très courte. Cependant, cette hypothèse se devait d'être vérifiée, ce que nous avons fait par dichroïsme circulaire ultraviolet (CD).

I.2. ÉTUDE PAR DICHROÏSME CIRCULAIRE

L'objectif de ce paragraphe est de valider l'hypothèse émise précédemment quant à la relation entre la réponse aux variations de pH des agrégats et la structure secondaire des blocs polypeptides de poly(acide glutamique). Pour cela, nous avons vérifié la relation entre les variations de pH et les modifications de conformation des blocs PGA au sein de nos systèmes en mesurant les spectres de dichroïsme circulaire ultraviolet à différents pH. Le dichroïsme circulaire est, en effet, une technique puissante et bien connue permettant de caractériser la structure secondaire des polypeptides [145-147,149,150]. En pratique, les mesures des spectres CD ont été réalisées sur les mêmes échantillons que ceux ayant servi pour les mesures de diffusion dynamique de la lumière (R_H) de façon à pouvoir comparer réellement les R_H aux structures secondaires adoptées aux différents pH. De plus, les spectres ont été collectés avec des solutions de concentration en polymère bien supérieures à la concentration d'agrégation critique (c.a.c.), ce qui implique que les modifications au sein des spectres CD indiquent des changements de structure secondaire des peptides au sein même des agrégats auto-assemblés. Un exemple caractéristique des spectres CD obtenus en fonction du pH est présenté par la Figure 104 pour les vésicules $PB_{40-b-PGA_{100}}$.

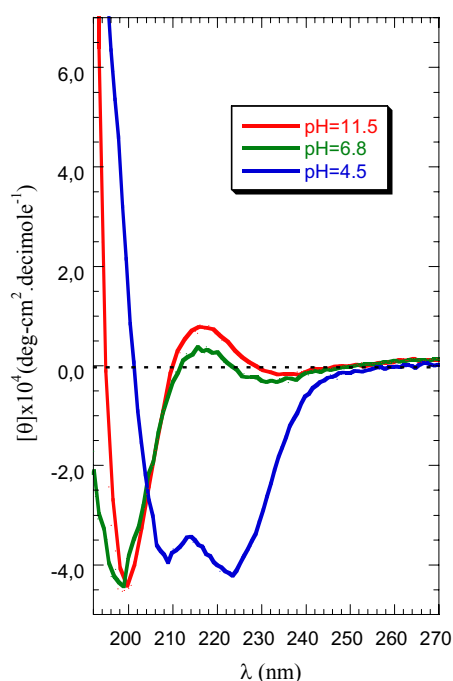


Figure 104 : Spectres de dichroïsme circulaire UV des vésicules de $PB_{40-b-PGA_{100}}$ mesurés à différents pH

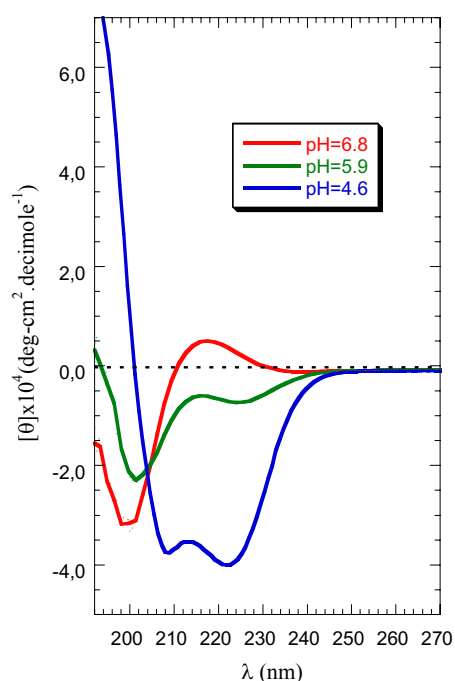


Figure 105 : Spectres de dichroïsme circulaire UV mesurés à différents pH pour un homopoly(acide glutamique)

À pH acide (~4,5) le spectre est caractérisé par deux minima (négatifs) à 221nm et 208nm ainsi que par un maximum (positif) à 190nm. A pH basique en revanche, nous observons une courbe de dichroïsme circulaire doublement “infléchie” caractérisée par un faible maximum (positif) à 218nm et un fort minimum (négatif) à 197nm. Ces deux spectres CD indiquent et sont respectivement caractéristiques, pour les segments peptidiques de poly(acide glutamique), d'une conformation en hélice- α très compacte et d'une structure secondaire en pelote statistique [146]. De plus, ces spectres sont parfaitement identiques à ceux obtenus dans le cas d'un homopolymère de poly(acide glutamique) dans les mêmes conditions de pH présentés Figure 105, ce qui tend à montrer que la totalité des segments PGA appartenant aux copolymères auto-assemblés en vésicule ont la même structure secondaire à un pH donné, qu'ils soient à l'intérieur ou à l'extérieur de la bicouche. Pour ce qui est du spectre CD à pH=6,8 (Figure 104), il est presque identique à celui mesuré à pH=11,5, il est donc associé à une conformation en pelote statistique pour les blocs PGA et confirme la présence des plateaux observés en diffusion dynamique de la lumière (R_H constant entre pH=7 et pH=12). Remarquons tout de même qu'il convient d'être prudent quant à l'utilisation de la dénomination pelote statistique dans le cas de PGA à pH basique, particulièrement à faible force ionique. En effet, le PGA étant chargé à pH basique, le terme “pelote étirée” serait plus appropriée.

La réponse en terme de rayons hydrodynamiques des morphologies auto-assemblées peut donc être directement corrélée à un changement de conformation (de structure secondaire) des segments polypeptidiques au sein des agrégats et la transition hélice-pelote à l'origine de ce phénomène a lieu à pH~7 (Figure 103 et Figure 104). De plus, la transition hélice-pelote est entièrement réversible pour les peptides, par conséquent, la variation en taille, c'est-à-dire la réponse au stimulus “pH” est elle aussi totalement réversible, et ce, quelle que soit la force ionique du milieu. Ainsi, nous pouvons qualifier nos agrégats d’“auto-assemblages infiniment stimulables” par le pH.

I.3. ÉTUDE PAR DIFFUSION DE NEUTRONS

Comme nous l'avons précédemment fait remarquer, les variations de pH ne semblent pas induire des transition de morphologie mais semblent uniquement modifier la taille des agrégats formés par auto-assemblage. Or, l'étude par diffusion de lumière, à elle seule, ne

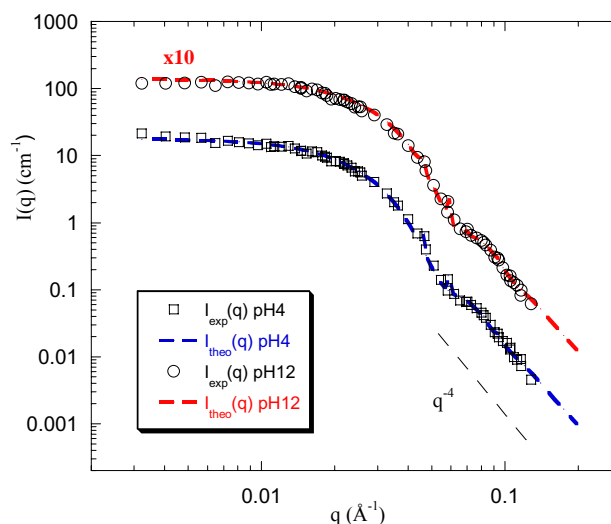
constitue pas une preuve indiscutable. C'est pourquoi nous avons utilisé la diffusion des neutrons aux petits angles afin de compléter notre étude. En fait, cette technique permet non seulement d'obtenir des informations sur la taille mais aussi, et principalement, sur la structure ($S(q)$) et la forme ($P(q)$) de la morphologie d'auto-assemblage comme nous l'avons montré dans la partie précédente. Nous avons donc effectué des mesures de diffusion des neutrons sur des échantillons équivalents à ceux étudiés dans la 3^{ème} partie, mais cette fois les intensités ont été collectées pour des solutions à pH acide (~4). Les processus de mesure et d'ajustement des intensités diffusées avec les facteurs de forme théoriques ont été identiques à ceux de la 3^{ème} partie. Les résultats obtenus après analyse sont regroupés et comparés aux valeurs déterminées à pH basique au sein du Tableau 19. De nouveau, nous allons commenter ces valeurs en nous appuyant sur les graphiques représentatifs nécessaires.

Tableau 19 : Comparatif des résultats déterminés à pH basique et à pH acide par diffusion des neutrons aux petits angles (SANS)

PB _x -b-PGA _y :		40-b-100	48-b-56	48-b-114	48-b-145	
Φ_{PGA} (%)		85	73	85	89	
Solvant		H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	
SANS pH12	Ajustement	<i>Coquille</i>	<i>Coquille</i>	<i>Sphère</i>	<i>Sphère</i>	
	R_{SANS}	(nm)	135	47	7	6,9
	δ		44	13,8	--	--
	σ (Log-Normale)	0,2	0,2	0,15	0,17	
SANS pH4	Ajustement	<i>Coquille</i>	<i>Coquille</i>	<i>Sphère</i>	<i>Sphère</i>	
	R_{SANS}	(nm)	120	45	7,8	7,5
	δ		40	10,8	--	--
	σ (Log-Normale)	0,2	0,2	0,16	0,14	

Commençons par le système à base de PB₄₈-b-PGA₁₁₄. La Figure 106 présente les intensités diffusées (les facteurs de forme) par ce système à pH acide (4) ainsi qu'à pH basique (12).

Figure 106 : Intensités diffusées (SANS) à pH=4 et pH=12 par le système PB₄₈-b-PGA₁₁₄ ; ajustements par des sphères dures; l'intensité à pH=12 est translaté d'un facteur 10 pour plus de clarté



L'intensité diffusée à pH=4 a visiblement le même profil que celle diffusée à pH=12 et l'ajustement par un facteur de forme de sphères dures (3^{ème} Partie : Auto-Assemblage, III.3.1) est de nouveau parfaitement adapté. Nous obtenons après traitement, des agrégats dont le rayon est $R \sim 7,8$ nm peu dispersés en taille ($\sigma \sim 0,16$ ce qui équivaut à une polymétrie relative de 32%). Dans ce cas, la réponse au stimulus pH (en passant de pH basique à pH acide) ne se traduit pas par une transition de morphologie mais simplement par une modification de la taille des particules en solution. Nous passons donc de micelles dont le rayon apparent mesuré par la diffusion des neutrons aux petits angles à pH=12 est $R_{SANS}^{pH=12} = 7$ nm à des micelles dont le rayon apparent à pH=4 est $R_{SANS}^{pH=4} = 7,8$ nm. Cette augmentation du rayon apparent en réponse à la diminution de pH peut, à première vue, sembler contradictoire avec les résultats décrits dans les deux chapitres précédents, montrant une diminution importante du rayon hydrodynamique des agrégats dans les mêmes conditions. Cependant, comme nous l'avons signalé lors de l'étude à pH basique, le rayon apparent mesuré par SANS puis "paramétré" par notre modèle (sphère dure) ne représente que la partie à forte densité et donc à fort contraste d'une micelle. Par ailleurs, lors de la chute du pH, les segments peptidiques de PGA subissent une transition de conformation (cf chapitre I.2 : pelote étirée \leftrightarrow hélice- α compacte) qui se traduit d'une part par une diminution de leur longueur et d'autre part par une augmentation de leur compacité (liée à la formation de liaisons hydrogènes intramoléculaires). Ainsi, en se basant sur le même formalisme que celui présenté à pH basique, nous pouvons imaginer qu'à pH=4, lorsque les blocs de poly(acide glutamique) adoptent une structure secondaire en hélice- α compacte, la zone dense de PGA à proximité du cœur de polybutadiène est plus épaisse. Ceci implique que le domaine dense et à fort contraste est plus étendu au delà du

cœur de polybutadiène indépendamment du fait que le rayon hydrodynamique globale de l'agrégat, lui, diminue. L'intensité mesurée par SANS étant due aux parties à fort contraste, nous observons et ajustons alors l'intensité expérimentale avec une structure possédant un rayon apparent plus grand. Les évolutions opposées des rayons déterminés par diffusion de lumière et diffusion de neutrons ne sont donc pas contradictoires, elles rendent compte du même phénomène : la transition de conformation des blocs peptidiques au sein des agrégats due au stimulus pH. Ces résultats confirment donc parfaitement ceux obtenus par diffusion de lumière et dichroïsme circulaire.

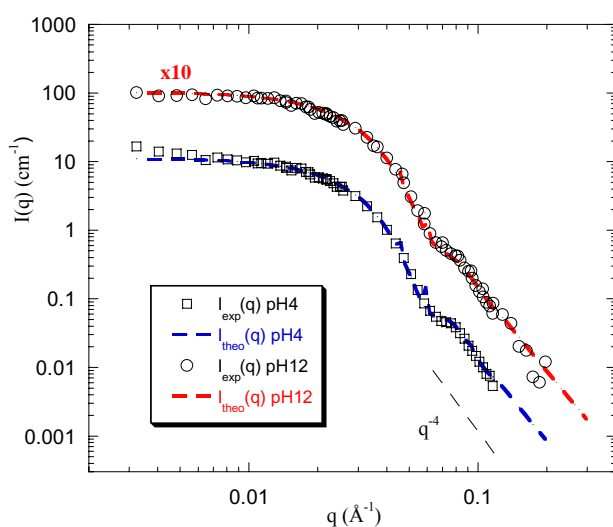


Figure 107 : Intensités diffusées (SANS) à pH=4 et pH=12 par le système PB_{48} - b - PGA_{145} ; ajustements par des sphères dures; l'intensité à pH=12 est translaté d'un facteur 10 pour plus de clarté

Dans le cas du système à base de PB_{48} - b - PGA_{145} et de la même manière que pour le système micellaire de PB_{48} - b - PGA_{114} , l'intensité diffusée à pH=4 est quasi-identique à celle diffusée à pH=12, comme le montre la Figure 107.

Le facteur de forme obtenu expérimentalement à pH acide est ajusté avec le facteur de forme théorique d'une sphère dure de rayon $R_{SANS}^{pH=4} = 7,5$ nm et de polymétrie relative 28%. En comparant ces valeurs aux données précédemment déterminées à pH basique et en fonction de la force ionique et du pH en diffusion dynamique de la lumière, les mêmes observations que dans le cas du système PB_{48} - b - PGA_{114} peuvent être effectuées. Les mêmes remarques, quant à la signification physique de l'évolution du rayon mesuré en diffusion des neutrons, sont encore pleinement valables. La réponse au pH de ce système est donc de nouveau simplement retranscrite en terme de taille globale d'agrégat, et de "zone" dense au cœur des micelles. Notons tout de même que, tout comme à pH basique, les rayons SANS évalués à pH=4 pour les deux systèmes micellaires sont extrêmement proche (Tableau 19), ce qui confirme encore la structure envisagée pour ces micelles: un cœur dense de polybutadiène au centre d'une

coquille dense de PGA (ce premier ensemble constituant la partie à fort contraste dominant la diffusion des neutrons) entouré par une enveloppe beaucoup moins dense de PGA stabilisant la structure en solution.

Poursuivons à présent l'analyse des données avec les systèmes vésiculaires à pH basique, à base de PB₄₈-b-PGA₅₆ et PB₄₀-b-PGA₁₀₀.

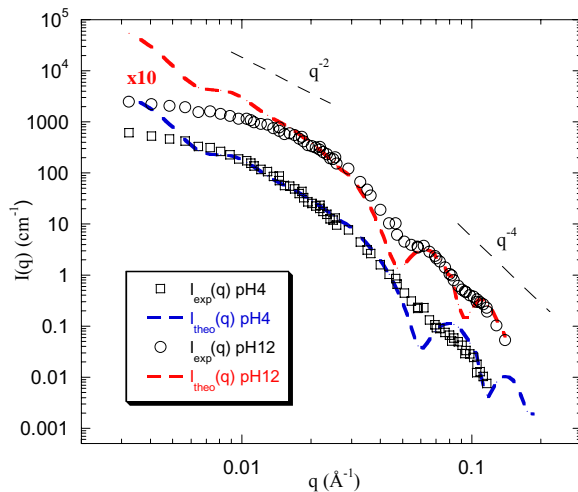


Figure 108 : Intensités diffusées (SANS) à pH=4 et pH=12 par le système PB₄₈-b-PGA₅₆ ; ajustements par des sphères creuses

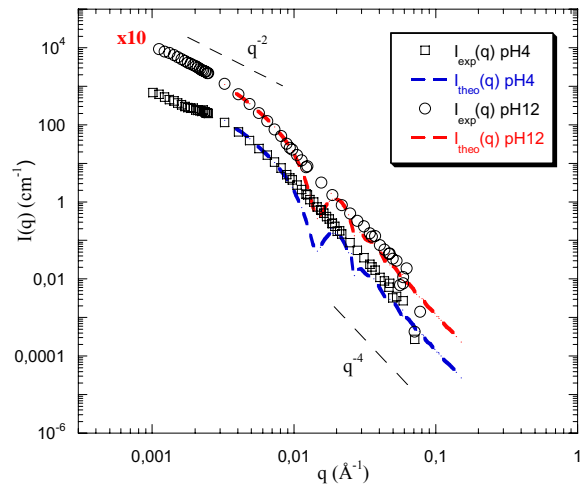


Figure 109 : Intensités diffusées (SANS) à pH=4 et pH=12 par le système PB₄₀-b-PGA₁₀₀ ; ajustements par des sphères creuses

La Figure 108 présente les facteurs de forme expérimentaux obtenus dans les deux conditions extrêmes de pH pour le système PB₄₈-b-PGA₅₆ ainsi que les ajustements effectués avec des facteurs de forme théoriques de vésicules à profil de bicouche en créneau, le tout en fonction du vecteur d'onde q . La Figure 109, quant à elle, illustre les résultats observés pour le copolymère PB₄₀-b-PGA₁₀₀. Comme pour les systèmes micellaires, la modification du pH n'a d'influence que sur les dimensions externes et/ou internes des vésicules, et ne perturbe pas la forme de la structure auto-assemblée. Nous pouvons noter la diminution relativement faible du rayon global des vésicules dans les deux systèmes à pH acide ainsi que de très faibles variations de l'épaisseur des bicouches les constituant (Tableau 19). Remarquons à ce sujet que l'évaluation des différents paramètres structuraux des vésicules a , dans les deux cas, été compliquée par des difficultés d'ajustement des intensités diffusées. En effet, en raison de la quasi-disparition des éléments caractéristiques (Figure 108 et Figure 109) (ondulations amorties) indispensables à la réalisation d'un ajustement de qualité, les valeurs déterminées sont associées à des incertitudes importantes. Ainsi, il convient de rester prudent quant à l'analyse détaillée des valeurs calculées par la modélisation. Néanmoins, nous pouvons

constater le maintien des structures vésiculaires avec la baisse du pH que ce soit pour le système PB₄₈-*b*-PGA₅₆ ou pour le système PB₄₀-*b*-PGA₁₀₀.

Avant de conclure ce chapitre, nous pouvons remarquer que pour chacun des 3 systèmes - micelles de PB₄₈-*b*-PGA₁₁₄ (pH=4/pH=12 ; 2%), micelles de PB₄₈-*b*-PGA₁₄₅ (pH=4/pH=12 ; 2%), vésicules de PB₄₀-*b*-PGA₁₀₀ (pH=4/pH=12 ; 2%) - l'intensité diffusée aux petits q semble tendre vers une valeur plateau, indépendamment du pH de la solution (comme le montre la Figure 109 dans le cas des vésicules de PB₄₈-*b*-PGA₁₀₀ et la Figure 107 dans le cas des micelles de PB₄₈-*b*-PGA₁₄₅). Par ailleurs, nous savons que l'extrapolation à $q=0$ (angle nul) d'un tel plateau peut être reliée à la masse molaire des agrégats en solution ($(1/I)_{q=0} \propto (1/M)$). En conséquence, malgré les modifications observées sur les dimensions des objets concernés (rayons, épaisseurs de bicouches), et aux incertitudes expérimentales près, il semblerait que les masses molaires respectives des micelles et des vésicules soient indépendantes du pH des solutions. Cela tendrait à prouver qu'il n'y a pas de changement de morphologie avec la diminution du pH ni de variation du nombre d'agrégation, et confirmerait les constatations précédentes.

Ainsi, la diffusion des neutrons aux petits angles nous fournit la preuve supplémentaire de la stabilité structurale et morphologique des agrégats formés par auto-assemblage en solution, en réponse au stimulus pH (profils de diffusion et nombres d'agrégation identiques quel que soit le pH). De plus, en combinant les résultats obtenus par ces trois études (DLS, CD, SANS) nous pouvons annoncer avoir formé et caractérisé des “nano-assemblages infiniment stimulables” par le pH, le caractère “infiniment stimuable” reposant uniquement sur le changement de structure secondaire des blocs polypeptides. Nous sommes donc en mesure de construire des assemblages dont la forme, i.e., la morphologie, est préalablement choisie et fixée, et dont la taille peut être contrôlée de façon réversible par une variation de l'environnement (stimulus externe).

Cependant la question de la stabilité de nos agrégats auto-assemblés n'est pas jusqu'ici totalement résolue, notamment face à un changement complet de milieu (solvant aqueux-solvant organique par exemple) ou face à une évaporation ou une lyophilisation. Nous passons donc à la dernière étape du projet, à savoir, la pérennisation des morphologies auto-assemblées.

II. RÉTICULATION DES STRUCTURES AUTO-ASSEMBLÉES

Nous avons utilisé les segments polybutadiène en tant que blocs réticulables, de façon à pouvoir “figer” les morphologies adoptées par nos systèmes et à créer, à partir des agrégats supramacromoléculaires auto-assemblés, des “nano-objets stimulables à persistance de forme”. Cette étape étant envisagée dès la procédure de synthèse des copolymères à blocs, un fort taux d'insaturations de type -1,2 - doubles liaisons vinyliques pendantes susceptibles de favoriser et de faciliter la réticulation par irradiation UV- avait été inscrit au “cahier des charges” de ces diblocs. Le taux de microstructures de type PB-1,2 est donc dans nos systèmes proche de 95%.

L'étude que nous avons menée a été réalisée sur le système formant des vésicules à base de PB₄₀-*b*-PGA₁₀₀.

Des solutions de vésicules contenant 9% (en volume) d'amorceur UV (DAROCUR 4265, CIBA) ont été irradiées pendant une heure dans une cellule en quartz thermostatée à 10°C pour éviter toutes contributions pouvant être liées à la température (réticulation thermique par exemple). Une première série d'expériences a été suivie par des mesures de diffusion dynamique de la lumière (à 90°) et a révélé une légère contraction de la taille des vésicules après le traitement UV. Ce phénomène accompagne en général les processus de réticulation et est dû à la formation de liaisons intermoléculaires entre les blocs adjacents polymérisables. Ces vésicules “réticulées” ont ensuite été gonflées en ajoutant à la solution aqueuse différents solvants organiques, bons solvants du polybutadiène (THF, Toluène, DMF), comme le montre la Figure 110 dans le cas du THF.

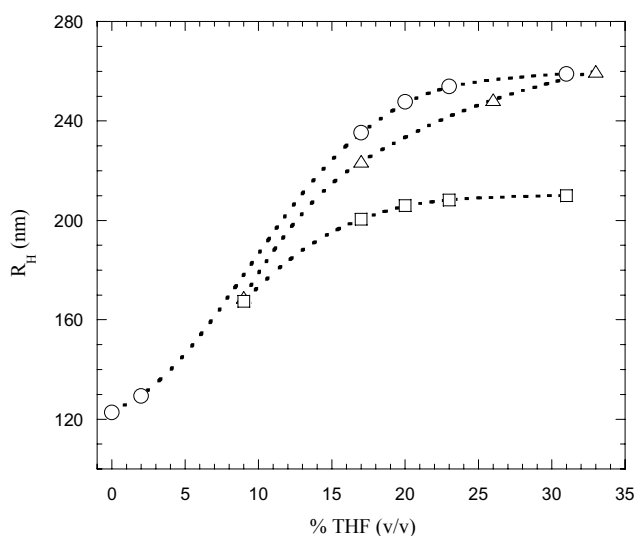


Figure 110 : Gonflement des vésicules de PB₄₀-*b*-PGA₁₀₀ avec (triangles) ou sans (cercles) agent de réticulation, avant et après réticulation (carrés)

Ces additions de solvants organiques ont pour but de gonfler la bicouche de polybutadiène et donc d'augmenter la taille globale des agrégats présents en solution jusqu'à leur précipitation ou déstructuration. La Figure 110 présente sur le même graphique l'effet du volume de THF ajouté sur des vésicules réticulées ainsi que sur des vésicules non réticulées contenant et ne contenant pas d'amorceur UV (points sur lesquels nous allons revenir immédiatement). Différentes informations peuvent ainsi être extraites de l'analyse de cette figure. Premièrement, comme nous l'attendions, l'addition progressive de THF sur les vésicules originelles (i.e. sans agent de réticulation cercles) entraîne le gonflement de l'agrégat entier. Le rayon hydrodynamique apparent de ces agrégats (vésicules) R_H (90°) varie de 125nm dans la solution aqueuse de départ à 160nm dans la solution contenant 30% de THF. Cette variation de taille correspond à un paramètre de gonflement approximativement égale à $\sim 2,1$, ce qui équivaut à un taux de gonflement de 108%. Notons que le paramètre de gonflement est calculé en effectuant le rapport du rayon hydrodynamique (DLS) des vésicules dans leur état gonflé (pour une fraction de THF particulière) divisé par le rayon des vésicules dans l'eau pure. Cette première observation confirme et met en évidence le fait que nous sommes réellement en mesure d'encapsuler de simples molécules organiques, comme des solvants ou des sondes fluorescentes (le pyrène par exemple, voir 3^{ème} Partie : Auto-Assemblage, III.1), au sein de la région hydrophobe de la vésicule. Remarquons par ailleurs que l'encapsulation d'espèces hydrosolubles peut être effectuée lors de la formation même des vésicules, et de cette façon il est possible d'obtenir une double encapsulation : les molécules hydrophiles au sein de la cavité aqueuse des vésicules et les espèces hydrophobes dans la partie interne de la bicouche. La seconde information importante, pouvant être tirée de la Figure 110, est liée à la réticulation des vésicules, réticulation obtenue par réaction entre les doubles liaisons vinyliques pendantes portées par les blocs polybutadiène. Tout d'abord, l'addition de 9% en volume d'amorceur UV, insoluble dans l'eau, induit un gonflement des vésicules comme nous l'attendions. Ces vésicules ont alors un rayon R_H proche de 165nm comparable à celui des vésicules originelles avec 9% de THF (~ 175 nm). Ensuite, la moitié de l'échantillon précédent est irradié alors que le reste est stocké et protégé de toute source lumineuse, jusqu'à ce que les mesures de diffusion de lumière soient menées. Puis, la fraction de THF (de composé organique) dans chaque échantillon, partie irradiée ou non, est augmentée jusqu'à 30% de façon à comparer leur comportement à celui des vésicules "natives". Il apparaît alors clairement (Figure 110) que les vésicules non exposées à l'irradiation UV (triangles) ont un comportement de gonflement très similaire à celui des vésicules originelles (cercles) avec un paramètre de gonflement très proche de 2,1 à 30% de

THF. Au contraire, les vésicules irradiées pendant 1h (carrés) présentent un paramètre de gonflement plus faible : à 30% de THF, ce paramètre est seulement de 1,7. Ce phénomène peut être expliqué par le fait que la réticulation des doubles liaisons de type -1,2 crée un réseau covalent de polybutadiène à l'intérieur du compartiment hydrophobe des vésicules. Cela se traduit alors par une diminution de la capacité de gonflement des vésicules, et un paramètre de gonflement plus faible. Ainsi, cette différence de comportement entre les vésicules irradiées et non irradiées, confirme que la réticulation, la pérennisation, a bien eu lieu, et que, par conséquent, nous avons formé des “vésicules stimulables et à persistance de forme” (jusqu'à présent jamais réalisé!). Des expériences complémentaires vont très prochainement être réalisées sur l'ensemble des différents autres systèmes, de manière à confirmer ce processus de pérennisation dans le cas des vésicules et montrer qu'il est aussi applicable dans le cas des micelles. D'autres méthodologies pour la réticulation et la pérennisation de nos morphologies pourront ensuite être envisagées comme par exemple une réticulation de la couronne de PGA. Remarquons pour finir, que la méthode de caractérisation utilisée ici pour prouver la réticulation (DLS) est en quelque sorte une méthode indirecte. Il serait donc intéressant de mettre au point un procédé de caractérisation directe (en dosant les doubles liaisons -1,2 par RMN ou IRTF par exemple) pouvant permettre de contrôler parfaitement le taux de réticulation des parties polybutadiène. Ainsi, la “porosité” de la “membrane” pourrait être contrôlée et la vitesse de relargage d'un composé encapsulé contrôlée par la même occasion.

Cette 4^{ème} partie consacrée aux deux derniers objectifs fixés en début de projet nous a donc permis, grâce encore une fois à la complémentarité des techniques de caractérisations utilisées, de mettre en évidence les caractères “intelligents” (stimulables et pérennisables) de nos agrégats formés par le principe d'auto-assemblage. Nous avons montré que les assemblages créés étaient capables de répondre au stimulus pH en changeant de taille (contractions ou expansions des volumes des micelles et des vésicules) et que ces morphologies pouvaient être figées (réticulées) pour former des réels nano-objets stimulables.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'ensemble de ces travaux a eu pour objectif de construire des “nano-objets (ou nano-matériaux) stimulables et à persistance de forme” en utilisant le processus d'auto-assemblage de copolymères diblocs amphiphiles “hybrides”. Cet objectif a en grande partie été atteint au cours de ces trois années de recherche.

Dans un premier temps, nous avons mis en place un procédé de synthèse permettant d'élaborer, en peu d'étapes, des copolymères diblocs de type rigide-flexible, amphiphile, synthétique-peptidique. Ces copolymères ont été conçus de façon à ce qu'ils puissent s'auto-assembler en masse (polybutadiène-*b*-poly(L-glutamate de γ -benzyle)) et en solution (polybutadiène-*b*-poly(acide glutamique) après hydrolyse du bloc peptidique) qu'ils puissent aussi répondre à différents stimuli (température, pH...) et être liées entre eux de manière covalente au sein des agrégats formés. L'étape intermédiaire de cette synthèse, consistant à modifier la nature du centre actif après la polymérisation du premier bloc, pour pouvoir amorcer le second bloc, a alors dû être optimisée.

Nous nous sommes ensuite concentrés sur le comportement en masse et en solution de ces copolymères et, en particulier, sur l'étude des structures formées par auto-assemblage en fonction de la fraction peptidique présente dans les copolymères. En masse, la diffusion des rayons X aux petits angles nous a permis d'observer l'influence de différents paramètres comme la température et le mode de préparation. En plus des nano-séparations de phases déjà observées dans le cas de l'auto-assemblage en masse de copolymères de type “rod-coil” comme des phases hexagonales dans hexagonales (HH) ou hexagonales dans lamellaires (HL), nous avons, par exemple, mis en évidence la formation d'une superarchitecture semblant adopter une triple structuration parfaitement originale : hexagonale dans lamellaire

Conclusion et perspectives

dans hexagonale (HLH). Cette dernière organisation, bien qu'absente des films préparés à partir des solutions dans le THF, a néanmoins été observée aussi bien au sein des films issus de solutions dans le dioxane que de solutions dans le mélange dioxane/TFA, à haute température, et pour les copolymères constitués d'une faible fraction peptidique. Ainsi, l'effet structurant de certains solvants s'associe à la température et à la composition des copolymères pour diriger le processus d'auto-organisation menant à la séparation de phases. D'autre part, nous avons mis en évidence l'effet "déstructurant" de l'acide trifluoroacétique sur les blocs peptidiques, effet n'ayant d'ailleurs d'influence significative que sur l'organisation locale des copolymères (i.e., l'arrangement des blocs peptidiques entre eux). Cependant, et malgré la quantité considérable d'informations fournies par la diffusion des rayons X aux petits angles, il reste extrêmement difficile de conclure d'une façon certaine quant aux morphologies auto-assemblées en masse, sans une confirmation visuelle directe (par microscopie électronique par exemple).

En solution, les morphologies obtenues par auto-assemblage ont pu être parfaitement caractérisées grâce à l'apport complémentaire des différentes techniques de diffusion de lumière, de la diffusion des neutrons aux petits angles, ainsi que par la microscopie électronique en transmission. Ainsi, nous avons pu observer des structures de type micellaire et vésiculaire en fonction de la fraction peptidique constituant les copolymères diblocs ou en fonction du solvant sélectif utilisé pour l'auto-assemblage. En effet, pour des fractions peptidiques inférieures ou égales à 73%, les copolymères forment des assemblages de morphologie vésiculaire (dans l'eau pour le PB₄₈-*b*-PGA₅₆ ou en solvant organique pour le PB₄₈-*b*-PGA₂₀), alors que pour des fractions supérieures ou égales à 85%, les diblocs s'auto-organisent selon des morphologies micellaires, ce qui est par ailleurs cohérent avec la littérature théorique et expérimentale. Seul le système à base de copolymère PB₄₀-*b*-PGA₁₀₀ déroge à cette règle et forme des vésicules dans l'eau malgré une fraction peptidique de 85% (phénomène restant à ce jour inexpliqué). Cependant, les rayons de giration R_g , rayons hydrodynamique R_H , épaisseur de bicouche δ , sont autant de caractéristiques ayant pu être mesurées pour chaque système. Les effets de la concentration en copolymère et de la force ionique du milieu ont aussi été étudiés. Afin de poursuivre l'objectif que nous nous étions fixés, nous avons ensuite étudié le comportement des auto-assemblages formés en solution en réponse à deux stimuli : la force ionique et le pH. Il s'est avéré (DLS, SANS) que quelle que soit la force ionique du milieu, les auto-assemblages répondent aux variations de pH uniquement en changeant de taille (par contraction à pH acide ou expansion à pH basique) et donc sans subir la moindre modification de morphologie. Ces variations en taille ont été

Conclusion et perspectives

attribuées à la transition de structure secondaire des blocs peptidiques (hélice-pelote étirée) intervenant de façon totalement réversible avec le pH (CD UV).

Les assemblages supramacromoléculaires étant alors manipulables, stimulables avec le pH, il nous fallait stabiliser ces structures de façon à obtenir de réels objets à persistance de forme. C'est ce que nous avons réalisé en réticulant l'un de nos systèmes par irradiation UV (polymérisation des insaturations vinyliques portées par les segments de polybutadiène).

Cette dernière étape nous a donc permis de remplir en grande partie notre contrat, en mettant en place un procédé pour la construction et la caractérisation de nano-objets stimulables et à persistance de forme^[192,193]. Par ailleurs, ce travail constitue, à notre connaissance, l'une des premières preuves de la faisabilité d'une telle démarche et, ne connaît pas de précédent s'agissant des vésicules polymères stimulables et à persistance de forme. Seule la complémentarité des techniques utilisées a pu nous permettre d'atteindre cet objectif.

Il reste néanmoins certains points à approfondir, comme l'effet de la structure chimique intime des copolymères sur les morphologies d'auto-assemblage (présence de DPE ou non), la visualisation des structures organisées en masse par microscopie électronique, ou la caractérisation des morphologies assemblées par une méthode directe et la mesure précise du taux de réticulation. Les perspectives sont donc nombreuses, et parmi celles envisageables, une étude systématique de l'effet de la fraction peptidique sur les auto-assemblages (avec ou sans DPE) et la construction des diagrammes de phases complets en masse et en solution permettraient d'approfondir notre connaissance de l'influence d'un bloc rigide sur ces phénomènes. L'influence de la température pourrait être étudiée, en tant que stimulus, sur les morphologies auto-assemblées. L'effet de l'architecture et de la nature chimique des copolymères devraient aussi être extrêmement intéressants (copolymère cationique, triblocs, étoiles "miktoarms"...). Enfin, des perspectives d'utilisations peuvent être envisagées comme l'étude des propriétés optiques et/ou électroniques pour les systèmes assemblés en masse, et, l'encapsulation, le relargage, la vectorisation d'espèces hydrophiles et/ou hydrophobes pour les systèmes en solution. De plus, l'utilisation de ces nano-particules en solution comme empreinte pour la minéralisation peut aussi conduire à l'obtention de matériaux nano-poreux et chiraux potentiellement intéressants pour le transport, la séparation et la reconnaissance moléculaire. Notons pour conclure, qu'une étude sur l'encapsulation de particules ferrofluides hydrophiles et/ou hydrophobe est d'ores et déjà initiée, et que les premiers résultats (obtenus par DLS, SANS, MET) sont extrêmement encourageants.

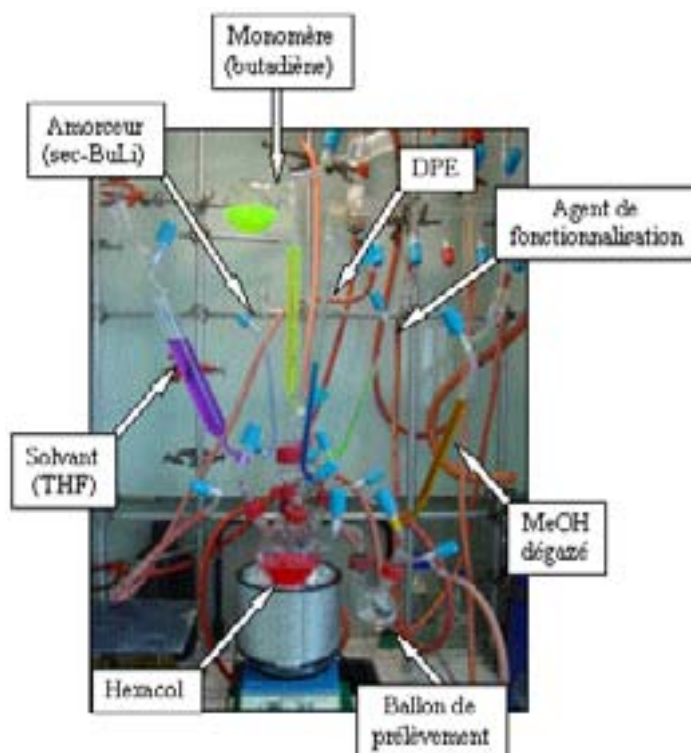
TECHNIQUES EXPÉRIMENTALES

I. SYNTHÈSE

I.1. SYNTHÈSE DES BLOCS POLYBUTADIÈNE

Les blocs élémentaires de polybutadiène ont été synthétisés par polymérisation anionique “vivante”. Ce type de polymérisation étant très sensible à la présence d'impuretés protoniques, elle exige des conditions de pureté maximales. Tous les montages utilisés dans le cadre de nos polymérisation sont donc équipés de robinets étanches en PTFE et sont flammés sous vide. Le solvant, le monomère (et l'agent de terminaison s'il est nécessaire) préalablement séchés sont cryo-distillés juste avant leur utilisation. Les procédures de synthèse et de purification des solvants, additifs et du monomère sont décrites ci après. Du point de vue de la purification des réactifs et solvants : le 1,3-butadiène (Aldrich 99%) est condensé à -30°C dans un montage préalablement dégazé et flammé. Il est séché sur *sec*-BuLi pendant 2 heures (avec l'obtention d'une coloration jaune caractéristique de l'anion butadiényle), avant d'être cryo-distillé dans une burette graduée de 15ml munie d'un ballon de garde de 250ml préalablement dégazée et flammée. Le THF est, quant à lui, séché sur hydrure de calcium (CaH_2) puis distillé et stocké sur sodium/benzophénone (avec l'obtention d'une coloration violette très intense). Il est ensuite successivement séché sur deux miroirs de sodium et cryo-distillé dans une burette graduée juste avant son utilisation. L'amorceur *sec*-butyllithium (*sec*-BuLi, Aldrich 1,3M dans le cyclohexane) est, lui, introduit sous atmosphère inerte dans une burette appropriée (2ml) et utilisé sans purification particulière. Pour ce qui est de la procédure de synthèse typique d'un bloc de polybutadiène PB de degré de polymérisation égal à 50 ($\overline{M}_n = 2700\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$) : une burette de THF “sec” (120ml) est positionnée sur un ballon de polymérisation de 500ml de type hexacol. De la même façon, les burettes contenant le monomère butadiène purifié (15ml avec ballon réservoir de 250ml), l'amorceur *sec*-BuLi (2ml), l'agent de fonctionnalisation (6ml) et la burette de diphényléthylène (2ml) sont positionnés sur l'hexacol. Il est aussi ajouté au montage un système de prélèvement avec désactivation (ballon bicol 100ml et burette de méthanol dégazé 15ml). Le montage global est visible sur l'Image 1.

Image 1 : Photographie du montage utilisé pour la synthèse et la fonctionnalisation des blocs élémentaires de polybutadiène portant une fonction amine primaire ; les couleurs sur le montage ne sont présentes que pour faciliter la visualisation



Après avoir introduit ~100ml de THF, le ballon de réaction est refroidi à -78°C grâce à un mélange acétone/carboglace, température à laquelle est introduit 1,42ml de butyllithium secondaire (1,85mmol) puis 8,0ml de 1,3-butadiène purifié (92,6mmol). Le réacteur est maintenu à -78°C sous forte agitation pendant 10 heures. Une faible fraction de la solution de polybutadiène obtenu est alors prélevée, désactivée avec le méthanol dégazé pour former des chaînes de polybutadiène- α -hydroxy, précipité dans du méthanol à -20°C puis séché sous vide afin d'effectuer les analyses nécessaires au contrôle du bon déroulement de la polymérisation du premier bloc (masse molaire moyenne et degré de polymérisation par CES, IRFT, RMN ^1H ...). le reste du milieu de polymérisation est conservé dans les mêmes conditions pour la suite du processus global de synthèse : fonctionnalisation, copolymérisation, déprotection.

I.2. FONCTIONNALISATION

I.2.1. SYNTHÈSE DE L'AGENT DE TERMINAISON

Typiquement l'agent de terminaison 1-(3-chloropropyle)-2,2,5,5-tetraméthyle-1-aza-2,5-disilacyclopentane est obtenu en ajoutant goutte à goutte un solution d'hydrochlorure de 3-chloropropylamine (5,2g, $40 \cdot 10^{-3}$ mol) et de triéthylamine (17ml, $120 \cdot 10^{-3}$ mol, séché sur KOH) dans 20ml de CH_2Cl_2 (séché sur CaH_2), à une solution de 1,1,4,4-tétraméthyl-1,4-

dichloro-1,4-disilabutane (8,6g, $40 \cdot 10^{-3}$ mol) dans 20 ml de CH_2Cl_2 sec à température ambiante. Après 3 heures de réaction et l'évaporation des solvants, le produit de réaction est lavé à l'heptane, filtré, de nouveau lavé avec une solution de soude à 5% et enfin séché et stocké à -30°C . Le rendement est proche de 50% et le produit est un liquide légèrement jaune et visqueux (sa structure est contrôlée par RMN ^1H).

1.2.2. TRANSFORMATION DU CENTRE ACTIF TERMINAL

Pour des raisons de rendement lors de l'étape de fonctionnalisation présentées dans le chapitre II.2 de la 2^{ème} Partie : Synthèse, une partie des blocs élémentaires de PB ont été modifiés afin d'augmenter la sélectivité de cette étape. Au bout des 10 heures de polymérisation du butadiène, les centres actifs "vivants" PB^-Li^+ sont donc transformés en polybutadiényl-diphényléthyllithium par addition de diphényléthylène (DPE, 2éq. par centre actif minimum). La réaction est effectuée à température ambiante pendant 12 heures au sein du réacteur de polymérisation (hexacol). L'apparition de la couleur rouge intense indique la formation d'une espèce carbanionique diphényléthyllithium terminale. Cette solution est conservée pour la fonctionnalisation ultérieure avec le 1-(3-chloropropyle)-2,2,5,5-tetraméthyle-1-aza-2,5-disilacyclopentane. Du point de vue de la purification du 1,1-diphényléthylène (DPE, Aldrich 99%), il est distillé sur hydrure de calcium et conservé sur sodium avant d'être distillé et stocké dans une burette graduée juste avant la réalisation du montage.

1.2.3. FONCTIONNALISATION ET PURIFICATION

Après la polymérisation anionique du 1,3-butadiène et la modification ou non des centres actifs terminaux avec le DPE, l'agent de terminaison, en solution dans le THF, est additionné au milieu réactionnel "vivant" (5 fois en excès par rapport aux fonctions réactives). Le réacteur est maintenu sous forte agitation à température ambiante pendant 12 heures. Les fonctions amines primaires sont ensuite obtenues par hydrolyse acide (déprotection par une solution 0,1M HCl) à température ambiante. Après évaporation et redissolution dans le dichlorométhane (CH_2Cl_2), le premier bloc est lavé (solution saturée de carbonate de sodium NaHCO_3) et la phase organique est séparée, séchée, filtrée sur papier et évaporée pour éliminer toute trace de solvant résiduel. L'analyse par chromatographie sur couche mince de silice (SiO_2 , éluant $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 95/5 (v/v)) a alors mis en évidence la présence de polybutadiène non fonctionnalisé. Ces impuretés sont donc éliminés par chromatographie "flash" sur colonne de silice. Dans un premier temps, l'oligobutadiène non fonctionnalisé est

séparé en utilisant le dichlorométhane comme éluant. Ensuite, l'éluant est modifié en un mélange $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 95/5 (v/v) et les blocs oligobutadiènes terminés avec une amine primaire sont collectés, le solvant est évaporé, et le produit désiré est séché sous vide puis stocké à -30°C .

Le rendement de l'étape de fonctionnalisation dans le cas de centres actifs modifiés (DPE) est de l'ordre de 80%, sinon il est inférieur à 50%.

I.3. SYNTHÈSE DU COPOLYMÈRE PB-*b*-PBLG

I.3.1. SYNTHÈSE DU MONOMÈRE NCA DE GLUTAMATE DE BENZYLE

Généralement, les dérivés N-CarboxyAnhydrides sont obtenus par réaction du phosgène sur l'acide aminé approprié. La procédure que nous avons utilisée et qui est décrite en suivant emploie le triphosgène et est applicable à la préparation des dérivés NCA (d'acides aminés) cristallin comme le NCA de L-glutamate de γ -benzyle. Typiquement, 10 grammes (0,042mol) de L-glutamate de γ -benzyle sont dissous dans 300ml d'acétate d'éthyle anhydre (séché sur tamis moléculaire 4Å) et introduits dans un ballon de réaction muni d'un réfrigérant, le tout sous balayage d'argon. Le réacteur est alors chauffé pour atteindre le reflux. 4,2g (0,014mol) de triphosgène sont ensuite ajoutés au milieu réactionnel et la réaction est réalisée à reflux sous balayage d'argon pendant 4 heures. Les vapeurs de reflux balayées par l'argon sont désactivées dans trois bains aqueux successifs (élimination de HCl et du phosgène résiduel). En général, le milieu réactionnel est limpide en fin de réaction. Le réacteur est ensuite amené à température ambiante puis conservé sous argon à -18°C . Vient ensuite une procédure d'isolation et de purification du dérivé NCA. La solution de NCA dans l'acétate d'éthyle ramenée à 0°C est successivement lavée à l'eau dé-ionisée à 0°C puis avec une solution de carbonate de sodium à 0,5% (m/v) aussi refroidie à 0°C . La phase organique est séchée sur MgSO_4 puis filtrée sur papier et concentrée jusqu'à un volume équivalent à 1/3 de son volume de départ. Un large volume d'hexane est ensuite ajouté pour induire la cristallisation du NCA. Le tout est conservé à -18°C pendant une nuit et filtré sur fritté (sous argon) puis séché sous vide juste avant l'utilisation pour la copolymérisation. Une étape supplémentaire de recristallisation peut être réalisée pour plus de pureté du NCA de L-glutamate de γ -benzyle. Le rendement est de l'ordre de 70% à 80% en fonction du nombre de recristallisation.

1.3.2. COPOLYMÉRISATION

Les copolymérisations sont réalisées au sein de ballons de 50ml ou 100ml munis d'une colonne de garde remplie d'un gel de silice absorbant (empêche l'humidité de pénétrer et permet l'évacuation du CO₂ formé lors de la réaction), dans un mélange THF/DMF (1/1 (v/v) permet de solubiliser à la fois le monomère NCA et le macro-amorceur α -amino-oligobutadiène), sous argon et à température ambiante. Le macro-amorceur PB-NH₂ est rapidement additionné au monomère (NCA), et la réaction de polymérisation par ouverture de cycle est menée pendant 5 jours. La longueur des segments de poly(L-glutamate de γ -benzyle) est contrôlée par le rapport molaire de la quantité de monomère NCA à celle de macro-amorceur α -amino-oligobutadiène. Les copolymères PB_x-*b*-PBLG_y sont récupérés par précipitation dans l'éther éthylique ce qui permet aussi d'éliminer d'éventuels blocs homo-oligobutadiène résiduels, puis séchés sous vide et conservés à -20°C. Ils sont ensuite caractérisés par IRTF, CES et RMN ¹H pour contrôler leur structure et leurs degrés de polymérisation.

1.4. SYNTHÈSE DES COPOLYMÈRES PB-*b*-PGA

Les copolymères diblocs amphiphiles polybutadiène-*b*-poly(acide glutamique) sont obtenus par hydrolyse basique des précurseurs de PB-*b*-PBLG. Les conditions de déprotection sont les suivantes : 2g de copolymère, 50ml de THF, 1 équivalent KOH par fonction ester de benzyle présente dans le copolymère. Le milieu réactionnel est fortement agité à 0°C pendant 1 heure puis à température ambiante pendant 15 heures. Après neutralisation (HCl à 3,5% jusqu'à pH~6) le THF est évaporé et un grand volume d'éther éthylique est ajouté pour précipiter le copolymère PB-*b*-PGA (et solubiliser les résidus de déprotection). Une fois le copolymère trituré à l'éther, le tout est centrifugé à 10 000tr/min (0°C) pendant 5 minutes. L'éther éthylique est extrait et la procédure de trituration et centrifugation reproduite deux fois. Le copolymère est enfin séché sous vide.

1.5. PRÉPARATION DES AUTO-ASSEMBLAGES ET STABILITÉ

Les différents systèmes auto-assemblés étudiés en solution ont été préparés par une méthode de dissolution directe. Les différents copolymères sont solubilisés dans les solvants (H₂O, CH₂Cl₂, THF, CD₂Cl₂...) sous une agitation constante. Dans le cas particulier des systèmes dans l'eau, les copolymères sont dissous dans de l'eau désionisée en ajoutant un équivalent d'hydroxyde de sodium (NaOH) par fonction acide portée par le bloc poly(acide

glutamique), de façon à rompre les interactions intra et intermoléculaires présentes au sein des copolymères et à favoriser le passage en solution. En fonction de la température de solubilisation (température ambiante ou 40°C) les temps de formation et de stabilisation des auto-assemblages peuvent varier entre 15 jours et 60 jours (voir chapitre **III. 1**, 3^{ème} partie). Le pH de chaque solution est ensuite ajusté (pH-mètre) par l'ajout de solutions concentrées de base ou d'acide (NaOH, HCl).

Les systèmes ainsi préparés et maintenus sous agitation constante sont parfaitement stables sur plusieurs années (durée de l'étude complète, ~2 ans). Si l'agitation n'est pas maintenue, une précipitation des systèmes est observée, fortement dépendante du pH de la solution. A pH basique, les solutions sont typiquement stables un mois puis la précipitation débute, caractérisée par l'apparition d'un dépôt. Une partie du système reste néanmoins en solution jusqu'à plusieurs semaines supplémentaires. A pH acide, les solutions ne sont stables que sur une période de quelques jours (entre 3 et 5 jours) sans agitation.

II. TECHNIQUES D'ANALYSE ET DE CARACTÉRISATION

II.1. DÉTERMINATION DES MASSES MOLAIRES

II.1.1. CHROMATOGRAPHIE D'EXCLUSION STÉRIQUE CES

La chromatographie d'exclusion stérique a permis de caractériser les échantillons d'homopolymère polybutadiène et de copolymère polybutadiène-*b*-poly(L-glutamate de γ -benzyle). L'appareil utilisé, de marque Waters, est équipé de quatre colonnes TSK de porosités différentes (G2000HXL, G3000HXL, G4000HXL, G5000HXL), il est muni d'une double détection : un détecteur réfractométrique (Varian star 9040) et un détecteur spectrométrique UV à 254 nm (Varian Prostar 340). Le THF est utilisé comme éluant et le débit est de 1 ml/min. Calibré à l'aide de standard de polystyrène PS linéaire, la CES classique ne peut permettre la détermination exacte des masses molaires pour des polymères présentant une nature chimique très différente. Les masses alors obtenues avec d'autres types de polymères linéaires sont des masses dites en équivalent PS. Elles ne constituent de bonnes approximations que dans le cas où l'on considère des macromolécules linéaires de volume hydrodynamique comparable à celui du PS, ce qui n'est pas notre cas. Elle peut cependant être

utilisée pour déterminer l'indice de polymolécularité I_p , appelé aussi indice de polymétrie, égal au rapport de la masse molaire moyenne en poids sur celle moyenne en nombre : $\frac{\overline{M}_w}{\overline{M}_n}$.

Pour déterminer la masse réelle de nos oligobutadiènes, il faut utiliser un coefficient de correction (coefficient déterminé par des études précédentes mises en place au laboratoire et confirmé par des mesures de tonométrie). Dans notre cas, ce coefficient correcteur est égale à 0,52.

Dans le cas des échantillons de PB-*b*-PBLG, nous avons utilisé le même appareillage mais avec le DMF comme solvant.

II.1.2. TONOMÉTRIE

Les mesures des masses molaires “vraies” des blocs polybutadiène ont été effectuées à 45°C dans le toluène en utilisant un appareil GONOTEC-OSMOMAT 070 à pression de vapeur. Ces mesures ont par ailleurs permis de déterminer le coefficient correcteur utilisé pour évaluer les masses molaires par CES.

II.2. ANALYSES SPECTROSCOPIQUES

II.2.1. SPECTROSCOPIE RMN

L'analyse des échantillons par spectroscopie de résonance magnétique nucléaire a été réalisée avec un appareil Bruker AC200, à une fréquence de 200 MHz en ce qui concerne la RMN du proton (90 MHz pour le carbone) et à température ambiante. Les échantillons sont dissous dans le chloroforme deutérié (CDCl_3 , pic caractéristique à 7,26ppm) puis introduits dans un tube de 5mm de diamètre. La concentration des échantillons est de l'ordre de 50mg.ml^{-1}

II.2.2. SPECTROSCOPIE IRTF

Les spectres infrarouge (à transformée de Fourier) ont été réalisés avec un spectromètre Nicolet Avatar 360 présentant un faisceau de 0,6mm de diamètre, une résolution de 4cm^{-1} et un domaine spectral compris entre 7400cm^{-1} et 375cm^{-1} . Les différents échantillons ont été analysés qualitativement après évaporation d'une goutte de solution à 1mg.ml^{-1} sur un wafer de silicium. Les spectres obtenus ont, dans tous les cas, été corrigés par un “blanc” (spectre du wafer de silicium)

II.2.3. SPECTROSCOPIE DE FLUORESCENCE

Les analyses de spectroscopie de fluorescence ont été réalisées avec un spectromètre SAFAS Spectrofluorometer FLX en utilisant le pyrène comme sonde fluorescente. Les spectres d'excitation ainsi que les spectres d'émission ont été mesurés pour des échantillons (placés dans des cuves de fluorescence en quartz rectangulaires de 1cm^2) contenant une concentration fixée de la sonde (6.10^{-7}M) et des concentrations en copolymère variables ($10^{-7}\text{M} \leq C_p \leq 10^{-5}\text{M}$). pour les spectres d'excitation, les échantillons sont exposés aux longueurs d'ondes allant de 300nm à 360nm (par pas de 0,5nm) et l'intensité est collectée (sur 0,1 seconde) à 371nm. Dans le cas des spectres d'émission, les échantillons sont excités à 334nm et l'intensité est collectée entre 360nm et 410nm par pas de 0,5nm (acquisition pendant 0,5 seconde).

II.3. DIFFUSION DE RAYONNEMENTS

II.3.1. DIFFUSION DE LUMIÈRE

Les mesures de diffusion de lumière statiques et dynamiques ont été effectuées avec le goniomètre ALV5000 Laser (ALV, Allemagne) visible sur l'Image 2.

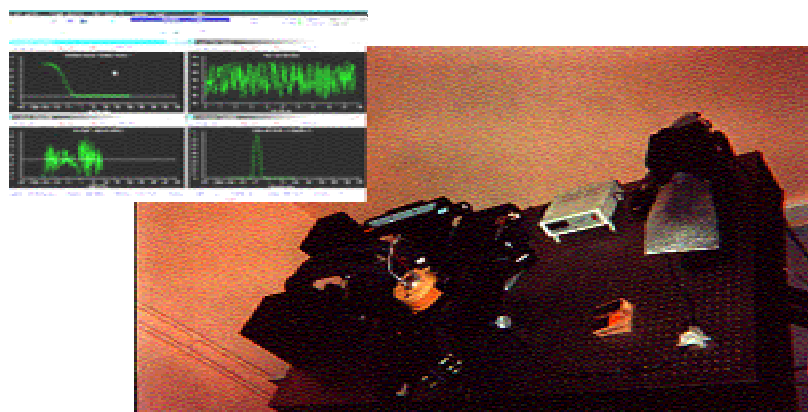


Image 2 : Appareil de diffusion de lumière ; DLS/SLS

La source du rayonnement est un laser hélium-néon (35mW) dont la longueur d'onde λ est égale à 632,8nm. Les mesures ont été réalisées à 25°C, grâce à un bain thermostaté. Les solutions utilisées ont été préparées selon le protocole suivant. Tous les solvants utilisés pour nos systèmes (H_2O , CH_2Cl_2 , THF) ont été préalablement filtrés avec des filtres Millipore présentant des tailles de pores de 0,1 μm pour les filtres en acétate de cellulose (H_2O), et de 0,2 μm pour les filtres en téflon (THF, CH_2Cl_2). Les copolymères sont alors directement dissout avec les solvants filtrés. Juste avant les mesures, les solutions obtenues sont

introduites dans les cellules de diffusion (1cm de diamètre) en les filtrant avec des filtres Millipore de 0,45 μ m afin d'éliminer toutes les impuretés.

L'intensité diffusée est alors reportée en fonction du vecteur d'onde q ($q=4\pi/\lambda \times n \sin(\theta/2)$) où λ est la longueur d'onde du faisceau incident, n l'indice de réfraction du milieu et θ l'angle de diffusion.

II.3.1.1. Diffusion statique de la lumière (SLS)

L'intensité diffusée a été mesurée entre 40° et 140° par pas de 10°. Chaque mesure, correspondant à 3 accumulations de 5 secondes chacune est répétée automatiquement jusqu'à ce que l'erreur statistique soit inférieure à 5%. Toutes les intensités diffusées ont été normalisées par le toluène, utilisé comme standard, et corrigées par l'intensité du solvant qui est soustraite du signal obtenu.

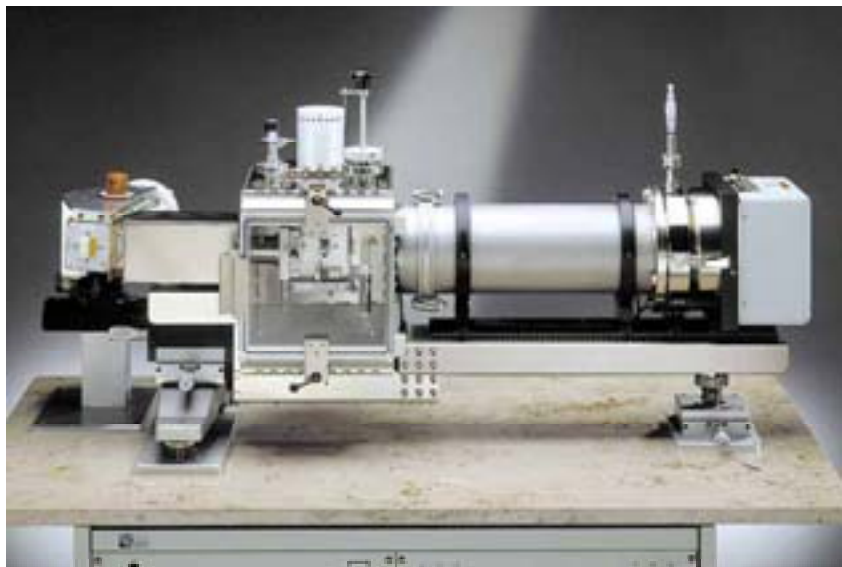
II.3.1.2. Diffusion dynamique de la lumière (DLS)

Les mesures ont été effectuées à différents angles ($50^\circ \leq \theta \leq 130^\circ$) et sur une période de 5 minutes (par angle). Les fonctions de corrélation ainsi obtenues sont ensuite traitées selon la méthode CONTIN permettant de déterminer le nombre de populations présentes ainsi que leurs caractéristiques (temps de relaxations), ou selon la méthode des cumulants.

II.3.2. DIFFUSION DES RAYONS-X AUX PETITS ANGLES (SAXS)

La diffusion des rayons-X aux petits angles est une technique que nous avons largement employée pour caractériser nos systèmes en masse. Les mesures ont été réalisées au laboratoire sur l'appareil Nanostar SAXS System de Brucker AXS (voir image ci-dessous) équipé d'une source de rayons-X (Cu-K α =1,54Å) à 1,5kW travaillant à 45kV et 30mA.

Image 3 : Appareil de diffusion des rayons-X aux petits angles Nanostar SAXS



La distance entre l'échantillon et le détecteur peut être réglée à 23, 65 et 105cm. Les échantillons (films) préparés par dissolution des copolymères (~50mg) dans les différents solvants (THF, Dioxane, Dioxane/TFA) sont ensuite évaporés lentement puis placés sous vide à température ambiante pendant 4 jours et à 40°C de nouveau pendant 4 jours. Ces derniers, une fois placés au sein de capillaires en quartz de 2mm de diamètre, sont installés dans une enceinte thermostatée mise sous vide pour effectuer les mesures. L'intensité diffusée par les capillaires contenant les films est reportée pour chaque température en fonction du vecteur d'onde q défini par la distance échantillon-détecteur et par la taille du détecteur (Tableau 20). Notons que le temps de comptage dans ces conditions est de 12 heures par échantillon et par température.

Tableau 20 : différents domaines du vecteur d'onde associés aux 3 configurations SAXS

Distance échantillon-détecteur (cm)	Domaine du vecteur d'onde q (\AA^{-1})
23	$0,1 < q < 1$
65	$0,02 < q < 0,35$
105	$0,01 < q < 0,2$

II.3.3. DIFFUSION DES NEUTRONS AUX PETITS ANGLES (SANS)

Les expériences de SANS ont été réalisées au LLB à Saclay sur le spectromètre PACE avec la collaboration d'Annie Brûlet :

- sélecteur mécanique de longueur d'onde ($2\text{\AA} < \lambda < 40\text{\AA}$; $\Delta\lambda/\lambda = 10\%$)
- taille du faisceau de neutrons sur l'échantillon : $0,7 \times 0,7 \text{cm}^2$
- détecteur bidimensionnel au BF_3 (30 anneaux concentriques ; $3\text{cm} < r < 30\text{cm}$)

Les expériences ont été effectuées dans 3 configurations différentes (λ , distance détecteur-échantillon) :

- petits q : $17\text{\AA} / 4,57\text{m}$; $3,2 \cdot 10^{-3} \text{\AA}^{-1} < q < 2,6 \cdot 10^{-2} \text{\AA}^{-1}$
- q intermédiaires : $6\text{\AA} / 2,87\text{m}$; $1,4 \cdot 10^{-2} \text{\AA}^{-1} < q < 1,2 \cdot 10^{-1} \text{\AA}^{-1}$
- grands q : $5\text{\AA} / 1,07\text{m}$; $4,6 \cdot 10^{-2} \text{\AA}^{-1} < q < 3,7 \cdot 10^{-1} \text{\AA}^{-1}$

Les échantillons, placés dans des cellules de quartz (Hellma), de géométrie rectangulaire et de 1mm ou 2mm d'épaisseur, ont été réglées en température (30°C). Le temps d'acquisition des spectres a été de 1 ou plusieurs heures en fonction de la concentration de l'échantillon et de la configuration utilisée. Après acquisition, les spectres ont été traités grâce au programme PAsidur (LLB) de façon à être normalisés et exprimés en unités absolues (cm^{-1}). En effet, l'intensité enregistrée par le détecteur ne correspond pas uniquement à l'intensité

diffusée par les objets, comme nous l'avons décrit dans la 3^{ème} Partie : Auto-Assemblage chapitre Étude par diffusion des neutrons aux petits angles (SANS), mais à la contribution d'un certain nombre de termes de diffusion qu'il est nécessaire d'éliminer afin d'obtenir la diffusion due uniquement à l'échantillon.

L'intensité diffusée détectée peut s'écrire de la façon suivante : $I_D(q) = \varepsilon I_0 I(q) \Omega tr + I_B$ où ε est l'efficacité du détecteur, I_0 le flux incident, $I(q)$ le terme qui contient l'information recherchée, Ω l'angle solide de détection, tr la transmission de l'échantillon et I_B le bruit incohérent. De plus, le terme de diffusion $I(q)$ contient, outre la diffusion de l'échantillon, l'information correspondant à la diffusion de la cellule et à celle du solvant.

Afin d'éliminer successivement les termes autres que celui de l'échantillon, dont nous connaissons l'écriture, il est nécessaire d'effectuer plusieurs expériences de référence :

- mesure de diffusion avec une cellule vide
- mesure avec une cellule remplie d'eau
- mesure avec une cellule remplie de solvant
- mesure de la transmission de chaque échantillon (y compris la cellule vide, l'eau et le solvant)

L'utilisation du programme développé au LLB (PASidur) permet, après avoir extrait la contribution due uniquement à l'échantillon, de normaliser les spectres par la transmission, la section efficace par unité de volume, l'eau et ainsi d'obtenir l'information recherchée.

Notons aussi que le contraste en diffusion neutronique est fourni par une différence de longueur de diffusion cohérente entre les constituants du système (noyaux). En particulier, la substitution du proton (H) par le deutérium (D) conduit à de très forts contrastes car, d'une part, les longueurs de diffusions cohérentes de l'hydrogène (b_H) et du deutérium (b_D) sont très différentes et de signe opposé ($b_H = -0,374 \cdot 10^{-12} \text{cm}$ et $b_D = 0,667 \cdot 10^{-12} \text{cm}$) et, d'autre part, la contribution du deutérium au bruit de fond incohérent (I_B) est très faible vis-à-vis de celle de l'hydrogène ($b_{H\text{incoh}} = 2,52 \cdot 10^{-12} \text{cm}$ et $b_{D\text{incoh}} = 0,404 \cdot 10^{-12} \text{cm}$).

Ainsi, afin d'obtenir un bon contraste entre nos objets auto-assemblés et nos solvants (H_2O , THF, CH_2Cl_2), nous avons modifié la composition isotopique des systèmes en remplaçant les solvants hydrogénés par leurs équivalents deutériés.

II.4. ANALYSE CONFORMATIONNELLE

L'analyse de la structure secondaire des blocs peptidiques a été réalisée par dichroïsme circulaire ultraviolet (CD UV). Les spectres sont mesurés avec un dichrographe JOBIN-YVON CD6-Spec. Les solutions échantillons diluées (2mM en équivalent peptidique) sont placées dans des cellules en quartz ayant un trajet optique de 0,1mm. Les mesures sont effectuées à température ambiante, en fonction du pH de la solution. Le pH est mesuré en parallèle par un pH-mètre Mettler Toledo MP120 équipé d'une électrode InLab 413 de même marque. Le domaine spectral est compris entre 190nm et 360nm, le temps d'intégration pour chaque point est de 1 seconde et l'incrément en longueur d'onde est de 0,5nm.

II.5. MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE

Les clichés de microscopie électronique en transmission (TEM) ont été obtenus sur un microscope JEOL JEM100S opérant à 100kV. Les échantillons ont été préparés selon deux techniques : par la technique dite “spray” et par cryofracture. Dans le premier cas, une faible quantité de solution échantillon diluée (100µl à 1g.l⁻¹) est vaporisée sur une grille de microscopie électronique adaptée (400 mesh, grille en cuivre recouverte successivement de carbone et d'un film hydrophile “Formvar”; Electron Microscopy Sciences) à l'aide d'un système de verrerie mis au point au laboratoire. Dans le second cas (CRPP, Johana Kahn), une goutte d'échantillon diluée est congelée dans le propane liquide, puis fracturée en deux. Chaque surface est ensuite recouverte d'un film de platine puis d'un film de carbone, ce qui crée les répliques. Les répliques sont alors lavées (acide sulfochromique, H₂O) et déposées sur des grilles en cuivre pour être directement observées. Cette seconde méthode permet d'observer le relief ombré de la fracture au sein de l'échantillon et non l'échantillon directement ; l'interprétation en est donc compliquée.

II.6. ANALYSES ENTHALPIQUE DIFFÉRENTIELLE (AED) ET MÉCANIQUE DYNAMIQUE (AMD)

Les analyse enthalpiques différentielles ont été réalisées sur un appareil de type Perkin-Elmer DSC 7, en imposant des variations de températures continues de -80°C à 200°C (10°C/min). les analyses AMD ont quant à elles été réalisées sur un appareil Perkin-Elmer AMD 7 en mode compression, et en fonction de la température (-60°C < T° < 220°C)

RÉFÉRENCES

Références

- (1) Lehn, J.-M., *Supramolecular Chemistry - Concepts and Perspectives*, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim **1995**.
- (2) Stupp, S.I.; Pralle, M.U.; Tew, G.N.; Li, L.; Sayar, M.; Zubarev, E.R. *MRS Bull.* **2000**, 25, 42.
- (3) Lodge, T.P. *Macromol. Chem. Phys.* **2003**, 204, 265.
- (4) Rosler, A.; Vandermeulen, G.W.M.; Klok, H.-A. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2001**, 53, 95.
- (5) Ruokolainen, J.; Mäkinen, R.; Torkkeli, M.; Mäkelä, T.; Serimaa, R.; ten Brinke, G.; Ikkala, O. *Science* **1998**, 280, 557.
- (6) Hester, J.F.; Olugebefola, S.C.; Mayes, A.M. *J. Membr. Sci.* **2002**, 208, 375.
- (7) Special issue on, "Supramolecular Materials" *MRS bulletin*, **2000**.
- (8) Klok, H.-A.; Lecommandoux, S. *Adv. Mater.* **2001**, 13, 1217.
- (9) Ciferri, A., *Supramolecular Polymers*, Marcel Dekker, New York **2000**.
- (10) Hamley, I.W., *The Physics of Block Copolymers*, Oxford University Press, Oxford **1998**.
- (11) Allen, C.; Maysinger, D.; Eisenberg, A. *Colloids Surf. B* **1999**, 16, 3.
- (12) Burke, S.E.; Shen, H.; Eisenberg, A. *Macromol. Symp.* **2001**, 175, 273.
- (13) Forster, S.; Antonietti, M. *Adv. Mater.* **1998**, 10, 195.
- (14) Bates, F.S.; Fredrickson, G.H. *Phys. Today* **1999**, 52, 32.
- (15) Matsen, M.W.; Bates, F.S. *Macromolecules* **1996**, 29, 7641.
- (16) Burger, C.; Micha, M.A.; Oestreich, S.; Forster, S.; Antonietti, M. *Europhys. Lett.* **1998**, 42, 425.
- (17) Lee, M.; Cho, B.-K.; Zin, W.-C. *Chem. Rev.* **2001**, 101, 3869.
- (18) Hadjichristidis, N.; Iatrou, H.; Tselikas, Y.; Efstradiadis, V. *Chimika Chronika* **1996**, 24, 189.
- (19) Hadjichristidis, N.; Tselikas, Y.; Iatrou, H.; Efstradiadis, V.; Avgeropoulos, A. *J. Macromol. Sci., Pure Appl. Chem.* **1996**, 33, 1447.
- (20) Leibler, L. *Macromolecules* **1980**, 13, 1602.
- (21) Bates, F.S. *Science* **1991**, 251, 898.
- (22) Fredrickson, G.H.; Bates, F.S. *Annu. Rev. Mater. Sci.* **1996**, 26, 501.
- (23) Meier, D.J. *J. Polym. Sci. C* **1969**, 26, 81.
- (24) Krause, S. *J. Polym. Sci. A* **1969**, 2, 249.
- (25) Krause, S. *Macromolecules* **1970**, 3, 84.
- (26) Leary, D.; Williams, M. *J. Polym. Sci. B* **1973**, 11, 345.
- (27) Leary, D.; Williams, M. *J. Polym. Sci. B* **1970**, 8, 335.
- (28) Krigbaum, W.; Yazgan, S.; Tolbert, W. *J. Polym. Sci. B* **1973**, 11, 551.
- (29) Helfand, E. *J. Chem. Phys.* **1975**, 62, 999.
- (30) Helfand, E. *Macromolecules* **1975**, 8, 552.
- (31) Benmouna, M.; Benoit, H.; Duval, M.; Akcasu, A.Z. *Macromolecules* **1987**, 20, 1107.
- (32) de Gennes, P.G., *Scaling concepts in polymer physics*, Cornell University Press, Ithaca, NY **1979**.
- (33) Matsen, M.W. *J. Phys. : Condens. Matter* **2002**, 14, R21.
- (34) Rasmussen, K.O.; Kalosakas, G. *J. Polym. Sci. B* **2002**, 40, 1777.
- (35) Binder, K.; Muller, M. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2000**, 5, 315.

Références

- (36) Binder, K. in *Monte Carlo and Molecular Dynamics Simulations in Polymer Science*, Oxford University Press, New York **1995**.
- (37) Micka, U.; Binder, K. *Macromol. Theory Simul.* **1995**, *4*, 419.
- (38) Khandpur, A.K.; Forster, S.; Bates, F.S.; Hamley, I.W.; Ryan, A.J.; Bras, W.; Almdal, K.; Mortensen, K. *Macromolecules* **1995**, *28*, 8796.
- (39) Forster, S.; Plantenberg, T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 688.
- (40) Bendejacq, D.; Ponsinet, V.; Joanicot, M.; Loo, Y.-L.; Register, R.A. *Macromolecules* **2002**, *35*, 6645.
- (41) Li, C.; Goodman, S.L.; Albrecht, R.M.; Cooper, S.L. *Macromolecules* **1988**, *21*, 2367.
- (42) Li, I.Q.; Howell, B.A.; Dineen, M.T.; Kastl, P.E.; Lyons, J.W.; Meunier, D.M.; Smith, P.B.; Priddy, D.B. *Macromolecules* **1997**, *30*, 5195.
- (43) Beyer, F.L.; Gido, S.P.; Poulos, Y.; Avgeropoulos, A.; Hadjichristidis, N. *Macromolecules* **1997**, *30*, 2373.
- (44) Liu, G.; Ding, J.; Guo, A.; Herfort, M.; Bazett-Jones, D. *Macromolecules* **1997**, *30*, 1851.
- (45) Liu, G.; Ding, J. *Adv. Mater.* **1998**, *10*, 69.
- (46) Liu, G.; Ding, J.; Hashimoto, T.; Kimishima, K.; Winnik, F.M.; Sigam, S. *Chem. Mater.* **1999**, *11*, 2233.
- (47) Liu, G.; Ding, J.; Stewart, S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 835.
- (48) Hashimoto, T.; Tsutsumi, K.; Kunami, Y. *Langmuir* **1997**, *13*, 6869.
- (49) Goldacker, T.; Abetz, V.; Stadler, R.; Erukhimovich, I.; Leibler, L. *Nature* **1999**, *398*, 137.
- (50) Semenov, A.N. *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **1991**, *209*, 191.
- (51) Semenov, A.N.; Subbotin, A.V. *Sov. Phys. JETP A. V.* **1992**, *74*, 690.
- (52) Williams, D.R.M.; Fredrickson, G.H. *Macromolecules* **1992**, *25*, 3561.
- (53) Bates, F.S.; Schulz, M.F.; Rosedale, J.H.; Almdal, K. *Macromolecules* **1992**, *25*, 5547.
- (54) Singh, C.; Goulian, M.; Liu, A.J.; Fredrickson, G.H. *Macromolecules* **1994**, *27*, 2974.
- (55) Matsen, M.W. *J. Chem. Phys.* **1996**, *104*, 7758.
- (56) Borsali, R.; Lecommandoux, S.; Pecora, R.; Benoit, H. *Macromolecules* **2001**, *34*, 4229.
- (57) Semenov, A.N.; Vasilenko, S.V. *Sov. Phys. JETP A. V.* **1986**, *63*, 70.
- (58) Netz, R.R.; Schick, M. *Phys. Rev. Lett.* **1996**, *77*, 302.
- (59) Stupp, S.I. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **1998**, *3*, 20.
- (60) Gallot, B. *Prog. Polym. Sci.* **1996**, *21*, 1035.
- (61) Loos, K.; Munoz-Guerra, S. in *Supramolecular Polymer*, Marcel Dekker, New York **2000**.
- (62) Schlaad, H.; Antonietti, M. *Eur. Phys. J. E.* **2003**, *10*, 17.
- (63) Yu, S.M.; Conticello, V.P.; Zhang, G.; Kayser, C.; Fournier, M.J.; Mason, T.L.; Tirrell, D.A. *Nature* **1997**, *389*, 167.
- (64) Yu, S.M.; Soto, C.H.; Tirrell, D.A. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 6552.
- (65) Stupp, S.I.; LeBonheur, V.; Walker, K.; Li, L.S.; Huggins, K.E.; Keser, M.; Amstutz, A. *Science* **1997**, *276*, 384.
- (66) Zubarev, E.R.; Pralle, M.U.; Li, L.; Stupp, S.I. *Science* **1999**, *283*, 523.
- (67) Chen, J.T.; Thomas, E.L.; Ober, C.K.; Mao, G.-P. *Science* **1996**, *273*, 343.
- (68) Chen, J.T.; Thomas, E.L.; Ober, C.K.; Hwang, S.S. *Macromolecules* **1995**, *28*, 1688.
- (69) Klok, H.-A.; Langenwalter, J.F.; Lecommandoux, S. *Macromolecules* **2000**, *33*, 7819.
- (70) Lecommandoux, S.; Achard, M.-F.; Langenwalter, J.F.; Klok, H.-A. *Macromolecules* **2001**, *34*, 9100.

Références

- (71) Schlaad, H.; Kukula, H.; Smarsly, B.; Antonietti, M.; Pakula, T. *Polymer* **2002**, *43*, 5321.
- (72) Ryuichiro, Y.; Yoshitsugu, H.; Toshio, H. *Eur. Polym. J.* **1994**, *30*, 1397.
- (73) de Gennes, P.G. in *Solid State Physics*, Academic, New York **1978**.
- (74) de Gennes, P.G. *Journal de Physique* **1976**, *37*, 1443.
- (75) de Gennes, P.G. *Macromolecules* **1980**, *13*, 1069.
- (76) Alexander, S. *Journal de Physique* **1977**, *38*, 977.
- (77) Daoud, M.; Cotton, J.P. *Journal de Physique* **1982**, *43*, 531.
- (78) Zhulina, E.B.; Birshtein, T.M. *Polymer Science* **1986**, *27*, 570.
- (79) Wu, C.; Gao, J. *Macromolecules* **2000**, *33*, 645.
- (80) Shusharina, N.P.; Nyrkova, I.A.; Khokhlov, A.R. *Macromolecules* **1996**, *29*, 3167.
- (81) Shusharina, N.P.; Alexandridis, P.; Linse, P.; Balijepalli, S.; Gruenbauer, H.J.M. *Eur. Phys. J. E.* **2003**, *10*, 45.
- (82) Noolandi, J.; Hong, K.M. *Macromolecules* **1983**, *16*, 1443.
- (83) van Lent, B.; Scheutjens, J.H.M. *Macromolecules* **1989**, *22*, 1931.
- (84) Linse, P.; Malmsten, M. *Macromolecules* **1992**, *25*, 5434.
- (85) Linse, P. *Macromolecules* **1994**, *27*, 6404.
- (86) Leibler, L.; Orland, H.; Wheeler, J.C. *J. Chem. Phys.* **1983**, *79*, 3550.
- (87) Nagarajan, R.; Ganesh, K. *J. Chem. Phys.* **1989**, *90*, 5843.
- (88) Israelachvili, J.N., *Intermolecular and surface forces*, Harcourt Brace & Company, London **1992**.
- (89) Israelachvili, J.N.; Mitchell, D.J.; Niham, B.W. *J. Chem. Soc. Faraday Trans. I* **1976**, *72*, 1525.
- (90) Tuzar, Z.; Kratochvil, P. in *Surface and Colloid Science*, Plenum, New York **1993**.
- (91) Gast, A. (in Nato ASI. Ser.), *Vol. 303*, **1998**.
- (92) Chu, B. *Langmuir* **1995**, *11*, 414.
- (93) Alexandridis, P. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **1996**, *1*, 490.
- (94) Selb, J.; Gallot, Y. in *Developments in Block Copolymers*, Elsevier, Amsterdam **1985**.
- (95) Moffitt, M.; Khougaz, K.; Eisenberg, A. *Acc. Chem. Res.* **1996**, *29*, 95.
- (96) Gohy, J.-F.; Willet, N.; Varshney, S.; Zhang, J.-X.; Jérôme, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 3214.
- (97) Gohy, J.-F.; Lohmeijer, B.G.G.; Varshney, S.K.; Decamps, B.; Leroy, E.; Boileau, S.; Schubert, U.S. *Macromolecules* **2002**, *35*, 9748.
- (98) Liu, S.; Weaver, J.V.M.; Save, M.; Armes, S.P. *Langmuir* **2002**, *18*, 8350.
- (99) Liu, S.; Weaver, J.V.M.; Tang, Y.; Billingham, N.C.; Armes, S.P.; Tribe, K. *Macromolecules* **2002**, *35*, 6121.
- (100) Hoppenbrouwers, E.; Li, Z.; Liu, G. *Macromolecules* **2003**, *36*, 876.
- (101) Stewart, S.; Liu, G. *Chem. Mater.* **1999**, *11*, 1048.
- (102) Jenekhe, S.A.; Chen, X.L. *Science* **1998**, *279*, 1903.
- (103) Chen, X.L.; Jenekhe, S.A. *Langmuir* **1999**, *15*, 8007.
- (104) Stewart, S.; Liu, G. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 340.
- (105) Choucair, A.; Eisenberg, A. *Eur. Phys. J. E.* **2003**, *10*, 37.
- (106) Discher, B.M.; Hammer, D.A.; Bates, F.S.; Discher, D.E. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2000**, *5*, 125.
- (107) Discher, D.E.; Eisenberg, A. *Science* **2002**, *297*, 967.

Références

- (108) Gravano, S.M.; Borden, M.; von Werne, T.; Doerffler, E.M.; Salazar, G.; Chen, A.; Kisak, E.; Zasadzinski, J.A.; Patten, T.E.; Longo, M.L. *Langmuir* **2002**, *18*, 1938.
- (109) Discher, B.M.; Won, Y.-Y.; Ege, D.S.; Lee, J.C.-M.; Bates, F.S.; Discher, D.E.; Hammer, D.A. *Science* **1999**, *284*, 1143.
- (110) Won, Y.-Y.; Brannan, A.K.; Davis, H.T.; Bates, F.S. *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106*, 3354.
- (111) Luo, L.; Eisenberg, A. *Langmuir* **2001**, *17*, 6804.
- (112) Chen, X.L.; Jenekhe, S.A. *Macromolecules* **2000**, *33*, 4610.
- (113) Stoenescu, R.; Meier, W. *Chem. Commun.* **2002**, *24*, 3016.
- (114) Schrage, S.; Sigel, R.; Schlaad, H. *Macromolecules* **2003**, *36*, 1417.
- (115) Cornelissen, J.J.L.M.; Fischer, M.; Sommerdijk, N.A.J.M.; Nolte, R.J.M. *Science* **1998**, *280*, 1427.
- (116) Kukula, H.; Schlaad, H.; Antonietti, M.; Forster, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 1658.
- (117) Heroguez, V.; Gnanou, Y.; Fontanille, M. *Macromolecules* **1997**, *307*, 4791.
- (118) Erhardt, R.; Böker, A.; Zettl, H.; Kaya, H.; Pyckhout-Hintzen, W.; Krausch, G.; Abetz, V.; Müller, A.H.E. *Macromolecules* **2001**, *34*, 1069.
- (119) Xu, H.; Erhardt, R.; Abetz, V.; Müller, A.H.E.; Goedel, W.A. *Langmuir* **2001**, *17*, 6787.
- (120) Erhardt, R.; Zhang, M.; Böker, A.; Zettl, H.; Abetz, C.; Frederik, P.M.; Krausch, G.; Abetz, V.; Müller, A.H.E. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 3260.
- (121) Iijima, M.; Nagazaki, Y.; Okada, T.; Kato, M.; Kataoka, K. *Macromolecules* **1999**, *32*, 1140.
- (122) Kim, J.H.; Emoto, K.; Iijima, M.; Nagazaki, Y.; Aoyagi, T.; Okano, T.; Sakurai, Y.; Kataoka, K. *Polym. Adv. Technol.* **1999**, *10*, 647.
- (123) Kwon, G.S.; Naito, M.; Yokoyama, M.; Okano, T.; Sakurai, Y.; Kataoka, K. *Langmuir* **1993**, *9*, 945.
- (124) Nagazaki, Y.; Okada, T.; Scholz, C.; Iijima, M.; Kato, M.; Kataoka, K. *Macromolecules* **1998**, *31*, 1473.
- (125) Won, Y.-Y.; Davis, H.T.; Bates, F.S. *Science* **1999**, *283*, 960.
- (126) Henselwood, F.; Liu, G. *Macromolecules* **1997**, *30*, 488.
- (127) Ding, J.; Liu, G. *Chem. Mater.* **1998**, *10*, 537.
- (128) Tao, J.; Liu, G.; Ding, J.; Yang, M. *Macromolecules* **1997**, *30*, 4084.
- (129) Liu, G.; Ding, J.; Qiao, L.; Guo, A.; Dymov, B.P.; Gleeson, J.T.; Hashimoto, T.; Saijo, K. *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 2740.
- (130) Rheingans, O.; Hugenberg, N.; Harris, J.R.; Fischer, K.; Maskos, M. *Macromolecules* **2000**, *33*, 4780.
- (131) Kriz, J.; Kurkova, D.; Kadlec, P.; Tuzar, Z.; Plestil, J. *Macromolecules* **2000**, *33*, 1978.
- (132) Thurmond II, K.B.; Kowalewski, T.; Wooley, K.L. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7239.
- (133) Thurmond II, K.B.; Kowalewski, T.; Wooley, K.L. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 6656.
- (134) Huang, H.; Kowalewski, T.; Remsen, E.E.; Gertzmann, R.; Wooley, K.L. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 11653.
- (135) Thurmond II, K.B.; Huang, H.; Clark Jr., C.G.; Kowalewski, T.; Wooley, K.L. *Colloids Surf. B* **1999**, *16*, 45.
- (136) Zhang, Q.; Remsen, E.E.; Wooley, K.L. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 3642.
- (137) Bütün, V.; Lowe, A.B.; Billingham, N.C.; Armes, S.P. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 4288.
- (138) Ding, J.; Liu, G. *Macromolecules* **1998**, *31*, 6554.
- (139) Nardin, C.; Hirt, T.; Leukel, J.; Meier, W. *Langmuir* **2000**, *16*, 1035.

Références

- (140) Discher, B.M.; Bermudez, H.; Hammer, D.A.; Discher, D.E.; Won, Y.-Y.; Bates, F.S. *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106*, 2848.
- (141) Matsen, M.W.; Bates, F.S. *J. Chem. Phys.* **1997**, *106*, 2436.
- (142) Almdal, K.; Koppi, K.A.; Bates, F.S.; Mortensen, K. *Macromolecules* **1992**, *25*, 1743.
- (143) Douy, A.; Gallot, B. *Polymer* **1987**, *28*, 147.
- (144) Quadrifoglio, F.; Urry, D.W. *J. Phys. Chem.* **1967**, *71*, 2364.
- (145) Johnson, W.C.; Tonico, I. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 4389.
- (146) Myer, Y.P. *Macromolecules* **1969**, *2*, 624.
- (147) Adler, A.J.; Hoving, R.; Potter, J.; Wells, M.; Fasman, G.D. *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 4736.
- (148) Susuki, Y.; Inoue, Y.; Chûjô, R. *Biopolym.* **1975**, *14*, 1223.
- (149) Quadrifoglio, F.; Urry, D.W. *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 2755.
- (150) Parrish, J.R.; Blout, E.R. *Biopolym.* **1971**, *10*, 1491.
- (151) Kwon, G.S.; Kataoka, K. *Adv. Drug Delivery Rev.* **1995**, *16*, 295.
- (152) Kwon, G.S.; Okano, T. *Adv. Drug Delivery Rev.* **1996**, *21*, 107.
- (153) Yang, L.; Alexandridis, P. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2000**, *5*, 132.
- (154) Bader, J.H.; Ringsdorf, H.; Schmidt, B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1984**, *123*, 457.
- (155) Pratten, M.K.; Lloyd, J.B.; Hurpel, G.; Ringsdorf, H. *Makromol. Chem.* **1985**, *186*, 725.
- (156) Yokoyama, M.; Inoue, S.; Kataoka, K.; Yui, N.; Sakurai, Y. *Makromol. Chem. Rapid Commun.* **1987**, *8*, 431.
- (157) Cammas, S.; Kataoka, K. *Makromol. Chem. Phys.* **1995**, *196*, 1899.
- (158) Sauer, M.; Meier, W. *Chem. Commun.* **2001**, *1*, 55.
- (159) Sukhorukov, G.B.; Antipov, A.A.; Voigt, A.; Donath, E.; Möhwald, H. *Macromol. Rapid Commun.* **2001**, *22*, 44.
- (160) Robinson, D.N.; Peppas, N.A. *Macromolecules* **2002**, *35*, 3668.
- (161) Szwarc, M. *Nature* **1956**, *176*, 1168.
- (162) Carothers, W.H. *Chem. Rev.* **1931**, *8*, 353.
- (163) Leuchs, H. *Deutsch. Chem. Ges.* **1906**, *39*, 857.
- (164) Kricheldorf, H.R., *α -Aminoacid-N-carboxyanhydrides and related materials*, Springer, New York **1987**.
- (165) Deming, T.J. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2002**, *54*, 1145.
- (166) Morton, M.; Rupert, J.P., *Factor affecting the isomeric chain unit structure in organolithium polymerization of butadiene and isoprene* (in ACS Symp. Ser.), Vol. 212, Am. Chem. Soc., Washington DC **1983**.
- (167) Bywater, S.; Firat, Y.; Black, P.E. *J. Polym. Sci. A* **1984**, *22*, 669.
- (168) Abadie, M.J.M.; Satibi, L. *Eur. Polym. J.* **1987**, *23*, 423.
- (169) Floudas, G.; Papadopoulos, P.; Klok, H.-A.; Vandermeulen, G.W.M.; Rodriguez-Hernandez, J. *Macromolecules* **2003**, *36*, 3673.
- (170) Watanabe, J.; Uematsu, I. *Polymer* **1984**, *25*, 1711.
- (171) Block, H., *Poly(-benzyl L-glutamate) and other glutamic acid containing polymers*, Gordon and Breach Science Publishers, New York **1983**.
- (172) Kubelka, J.; Keiderling, T.A. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 6142.
- (173) Gallot, B. *Adv. Polym. Sci.* **1978**, *29*, 85.

Références

- (174) Lee, M.; Lee, D.-W.; Cho, B.-K.; Yoon, J.-Y.; Zin, W.-C. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 13258.
- (175) Lee, M.; Cho, B.-K.; Ihn, K.-J.; Oh, N.-K.; Zin, W.-C. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 4647.
- (176) Crespo, J.S.; Lecommandoux, S.; Borsali, R.; Klok, H.-A.; Soldi, V. *Macromolecules* **2003**, *36*, 1253.
- (177) Voroboyova, O.; Lau, W.; Innik, M.A. *Langmuir* **2001**, *17*, 1357.
- (178) Jung, M.; Hubert, D.H.W.; van Veldhoven, E.; Frederik, P.M.; van Herk, A.M.; German, A.L. *Langmuir* **2000**, *16*, 3165.
- (179) Zhao, C.; Winnik, M.A.; Riess, G.; Croucher, M.D. *Langmuir* **1990**, *6*, 514.
- (180) Zimm, B.H. *J. Chem. Phys.* **1948**, *16*, 1099.
- (181) Koppel, D.E. *J. Chem. Phys.* **1972**, *57*, 4814.
- (182) Provencher, S.W. *Comput. Phys. Commun.* **1982**, *27*, 229.
- (183) Lee, A.S.; Gast, A.P.; Bütün, V.; Armes, S.P. *Macromolecules* **1999**, *32*, 4302.
- (184) Kratochvil, P. in *Classical Light Scattering from Polymer Solutions*, Elsevier, Amsterdam **1987**.
- (185) Benoit, H.; Froehlich, D. in *Light Scattering from Polymer Solutions*, Academic Press, London **1972**.
- (186) Pedersen, J.S. in *Neutrons, X-Rays and Light*, **2002**.
- (187) Gradzielski, M.; Langevin, D.; Magid, L.; Strey, R. *J. Phys. Chem.* **1995**, *99*, 13232.
- (188) Oberdisse, J.; Couve, C.; Appell, J.; Berret, J.F.; Ligoure, C.; Porte, G. *Langmuir* **1996**, *12*, 1212.
- (189) Oberdisse, J.; Porte, G. *Phys. Rev. E* **1997**, *56*, 1965.
- (190) Chou, S.I.; Shah, D.O. *J. Colloid Interface Sci.* **1981**, *80*, 49.
- (191) Sauer, M.; Streich, D.; Meier, W. *Adv. Mater.* **2001**, *13*, 1649.
- (192) Chécot, F.; Lecommandoux, S.; Gnanou, Y.; Klok, H.-A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 1339.
- (193) Chécot, F.; Lecommandoux, S.; Gnanou, Y.; Klok, H.-A. *Eur. Phys. J. E.* **2003**, *10*, 25.

Aujourd'hui, l'un des défis majeurs à relever, tant dans le domaine de la physique que de la chimie ou de la science des matériaux, est de trouver le moyen de synthétiser des molécules ou macromolécules capables de s'auto-organiser pour construire des super-structures fonctionnelles possédant des propriétés des plus sophistiquées, l'objectif ultime étant de mimer les structures extrêmement complexes, élaborées par la nature, dans les systèmes biologiques notamment (protéines, membranes cellulaires).

C'est dans cet optique que l'objectif de cette thèse a été fixé, dans le sens de la construction et de la caractérisation de nano-structures originales et "habiles" ou "intelligents", à la fois stimulables et à persistance de forme via l'auto-assemblage de copolymères diblocs.

Cet objectif a en grande partie été atteint, en mettant en place un procédé pour la synthèse de copolymères "hybrides" (synthétiques-peptidiques; polybutadiène-*b*-poly(glutamate de benzyle) et polybutadiène-*b*-poly(acide glutamique)) en combinant polymérisation par voie anionique et par ouverture de cycle, puis pour l'étude et la caractérisation des structures formées par auto-assemblage de ces copolymères tant en masse qu'en solution, et enfin pour la construction de nano-objets stimulables et à persistance de forme.

Ce travail constitue, à notre connaissance, l'une des premières preuves de la faisabilité d'une telle démarche et, met en évidence la nécessité d'utiliser des techniques complémentaires pour atteindre cet objectif.

Mots clés : Copolymères synthétiques-peptidiques, polybutadiène, poly(L-glutamate de γ -benzyle), poly(acide glutamique), auto-assemblage, systèmes stimulables, pérennisation.

One of the fascinating subjects in areas such as material science, nanochemistry and biomimetic chemistry is concerned with the creation of supramolecular architectures with well defined shapes and functions.

The aim of this work was the design and characterisation of original and "smart nano-structures", that is to say "shape persistent stimuli-responsive nano-structures" using dibloc copolymer self assembly process.

This manuscript first reports on the synthesis of peptide based dibloc copolymers polybutadiène-*b*-poly(γ -benzyl L-glutamate) and polybutadiène-*b*-poly(glutamic acid) using anionic and ring opening polymerizations, then on the study and characterization of self assembled structures obtained in bulk and in solution, and finally on the preparation of shape persistent stimuli-responsive nano-objects.

To our knowledge, this work is one of the very first evidences this sophisticated systems can be achieved using self assembly and point out the necessity of using a wide range of complementary techniques in order to succeed in their complete characterisation.

Key words : Peptide-based copolymer, polybutadiene, poly(γ -benzyl L-glutamate), poly(glutamic acid), self assembly, stimuli responsive, shape persistent.