

N° d'ordre

THESE

présentée à

L'UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNOLOGIES DE LILLE

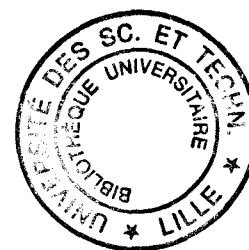
pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN CHIMIE

Spécialité : Chimie Organique et Macromoléculaire

par

Laurent LECLERCQ



ETUDE DE LA CAPACITE D'INCLUSION DE LA β -CYCLODEXTRINE VIS-A-VIS DE DIVERS POLYELECTROLYTES

Soutenue le 11 Juillet 1997 devant la Commission d'Examen

Membres du jury :

| | | | |
|-----|----------------|------------------------------|------------|
| Mr | C. CAZE | Professeur | Président |
| Mme | E. DELLACHERIE | Professeur | Rapporteur |
| Mr | B. PERLY | Directeur de Recherches CNRS | Rapporteur |
| Mr | A. POLLET | Maître de Conférences | Examineur |
| Mr | M. MORCELLET | Professeur | Examineur |
| Mr | B. MARTEL | Maître de Conférences | Examineur |

A mes parents,

A mon frère,

A ma grand-mère,

A tous ceux qui me sont chers,

*Je leur dédie cette thèse en hommage affectueux et reconnaissant à leur soutien
durant les années d'étude nécessaires à cet aboutissement.*

"Et moi, d'ailleurs, le paroxyste enragé de précisions impérialistes, rien au monde ne me paraît aussi doux, agréable et reposant et même gracieux que l'ironie transcendante que suppose le principe d'incertitude d'Heisenberg."

Salvador Dali

"Là où la nature cesse de produire ses propres espèces, l'homme commence, en utilisant les choses naturelles et avec l'aide de cette nature même, à créer une infinité d'espèces."

Léonard de Vinci

*"Milder Jesus, wollst erwägen,
Daß Du kamest meinetwegen,
Schleudre mir nicht Fluch entgegen."*

Wolfgang Amadeus Mozart, Requiem

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Chimie Macromoléculaire de l'Université des Sciences et Technologies de Lille, dans lequel Monsieur Claude Louchet, ancien Directeur du Laboratoire, a bien voulu m'accueillir. Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde et respectueuse gratitude. Je tiens également à exprimer mes respects à Monsieur le Professeur Xavier Coqueret, actuel Directeur.

Monsieur le Professeur Michel Morcellet a dirigé mon travail de thèse en poursuivant ma formation de Chercheur. Je lui suis profondément reconnaissant de m'avoir fait confiance en m'acceptant au sein de son équipe. Ses conseils, ses encouragements, son expérience et son tempérament chaleureux ont été pour moi une source permanente d'enthousiasme. Qu'il trouve ici l'expression de mes plus vifs remerciements.

Je tiens à remercier Monsieur Bernard Mantel, Maître de Conférences à l'Université des Sciences et Technologiques de Lille, d'avoir bien voulu m'encadrer durant ces trois années de thèse. Son aide, sa disponibilité, sa bonne humeur, et sa grande valeur de jeune chercheur ont été pour moi une source de motivation constante. Qu'il trouve ici l'expression de ma plus profonde admiration.

Monsieur Claude Payé, Professeur à l'École Nationale Supérieure des Arts et Industries Textiles de Roubaix, m'a initié à la recherche au cours de mon D.E.T effectué au sein de son équipe dans le Laboratoire. Je le remercie d'avoir bien voulu me faire l'honneur de présider le jury de cette thèse et tiens à lui exprimer mes sentiments les plus respectueux et ma reconnaissance la plus vive.

Madame Edith Dellacherie, Professeur à l'École Nationale Supérieure des Industries Chimiques de Nancy et Directeur du Laboratoire de Physicochimie des Macromoléculaires de Nancy, et Monsieur Bruno Pesty, Directeur de Recherches CNRS au Commissariat à l'Énergie Atomique de Saclay, ont bien voulu me faire l'honneur de juger ce travail en étant rapporteurs. Je leur adresse mes remerciements les plus respectueux.

Je suis très honoré que Monsieur Alain Pollet, Maître de Conférences à l'Université des Sciences et Technologies de Lille ait accepté de participer à ce jury. Je tiens à lui exprimer mes

remerciements les plus sincères pour ses judicieux conseils et pour la disponibilité qu'il m'a réservée au cours de mon apprentissage de la technique de fluorescence.

Je remercie tout particulièrement Messieurs Bernard Mouchel et Marc Bria, Ingénieurs d'Etude et Responsables du Service RMN respectivement de l'Université des Sciences et Technologies de Lille et de l'Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Lille, ainsi que Madame Sophie Lamotte, Maître de Conférences à l'Université du Littoral pour leur aide précieuse dans les domaines respectifs de la RMN et du dichroïsme circulaire. Leurs conseils et leurs suggestions m'ont été d'un apport des plus profitables.

Je remercie également Madame Anne-Marie Cazé, Technicienne, à la fois pour sa participation active dans ce travail et pour nos discussions littéraires sur la quête perpétuelle et existentielle du Bonheur et du Sens de la Vie. Je voudrais qu'elle sache combien j'ai apprécié son soutien moral, sa gentillesse et son amitié tout au long de ces années.

Je remercie aussi Madame Nadine Egels, Agent technique, pour sa gentillesse, sa disponibilité et sa bonne humeur qu'elle aura toujours fait preuve à mon égard. Qu'elle trouve ici ma plus vive reconnaissance.

Je tiens à ne pas oublier Madame Joëlle Morcellet, Professeur à l'Ecole Universitaire des Ingénieurs de Lille, pour son extrême gentillesse, sa disponibilité et son aide administrative, Monsieur Sébastien Hacquard, Thésard, pour son soutien informatique, et Monsieur Mickaël Devassine, stagiaire de Maîtrise de Septembre à Novembre 1996, pour sa participation aux résultats que nous évoquerons dans la conclusion générale de ce travail. Qu'il me soit permis de leur témoigner toute ma gratitude.

Enfin, je remercie tous mes autres camarades du Laboratoire pour les excellents moments passés ensemble durant mon passage. Leur amitié et leur soutien ont joué pour moi un rôle essentiel dans l'élaboration et l'aboutissement de ce travail.

SOMMAIRE

| | |
|----------------------------------|---|
| <u>AVANT-PROPOS</u> | 1 |
|----------------------------------|---|

| | |
|---|---|
| <u>INTRODUCTION GENERALE</u> | 4 |
|---|---|

| | |
|------------------|---|
| Références | 6 |
|------------------|---|

PREMIERE PARTIE :

Synthèse et caractérisation de polymères à base d'acide méthacrylique

| | |
|--|----|
| Introduction | 7 |
| 1. Synthèse de l'acide polyméthacrylique syndiotactique (PMA) | 8 |
| 1.1. Mode opératoire | 8 |
| 1.2. Caractérisation | 8 |
| 2. Synthèse des copolymères d'acide méthacrylique et de méthacrylate de benzyle (PMA-PMB) | 10 |
| 2.1. Mode opératoire | 10 |
| 2.2. Caractérisation | 11 |
| Conclusion | 15 |
| Références | 16 |

DEUXIEME PARTIE :

Etude Conformationnelle de Polymères à base d'Acide Méthacrylique

| | |
|--|----|
| Introduction | 17 |
| 1. Etude conformationnelle en milieu aqueux. Influence de la force ionique | 20 |
| 1.1. Etude potentiométrique | 20 |
| 1.1.1. Mode opératoire et traitement graphique des données expérimentales | 20 |
| 1.1.2. Résultats | 27 |
| 1.2. Etude viscosimétrique | 32 |
| 1.2.1. En fonction du pH | 32 |
| 1.2.2. En fonction de la concentration en polymère | 36 |
| 1.3. Etude fluorimétrique | 37 |
| 1.3.1. Fluorescence intrinsèque | 37 |
| 1.3.1.1. <i>Rappels théoriques</i> | 37 |
| 1.3.1.2. <i>Résultats</i> | 40 |
| 1.3.2. Utilisation d'une sonde fluorescente | 45 |

| | |
|---|-----------|
| 1.3.2.1. Rappels bibliographiques | 45 |
| 1.3.2.2. Résultats | 46 |
| 1.4. Conclusion..... | 55 |
| 2. Influence de l'urée | 55 |
| 2.1. Etude potentiométrique..... | 55 |
| 2.2. Etude viscosimétrique | 56 |
| 2.3. Etude fluorimétrique | 58 |
| 2.4. Conclusion..... | 59 |
| 3. Influence du solvant | 60 |
| 3.1. Etude potentiométrique..... | 60 |
| 3.2. Etude viscosimétrique | 60 |
| 3.3. Etude fluorimétrique | 61 |
| 3.4. Conclusion..... | 61 |
| Conclusion | 62 |
| Références | 63 |

TROISIEME PARTIE :

Généralités sur les Cyclodextrines

| | |
|---|-----------|
| Introduction..... | 66 |
| 1. Historique | 68 |
| 2. Obtention..... | 70 |
| 3. Nomenclature | 74 |
| 4. Structure | 74 |
| 5. Propriétés..... | 77 |
| 6. Complexes d'inclusion | 79 |
| 6.1. Compatibilité géométrique..... | 80 |
| 6.2. Polarité et charge | 83 |
| 6.3. Préparation | 83 |
| 6.4. Etude détaillée du phénomène de complexation | 85 |
| 7. Dérivés de la cyclodextrine..... | 89 |
| 7.1. Cyclodextrines méthylées | 89 |
| 7.2. Cyclodextrines hydroxyalkylées..... | 90 |
| 7.3. Cyclodextrines branchées | 90 |
| 7.4. Polymères de cyclodextrine | 91 |

| | |
|---|------------|
| 7.5. Cyclodextrines greffées sur des polymères | 91 |
| 8. Mise en évidence des complexes d'inclusion | 93 |
| 8.1. Complexes à l'état solide..... | 93 |
| 8.1.1. Diffraction des rayons X..... | 93 |
| 8.1.2. Méthodes thermoanalytiques | 94 |
| 8.1.3. Chromatographie sur couche mince..... | 95 |
| 8.1.4. Spectroscopie infrarouge..... | 95 |
| 8.1.5. Mouillabilité | 97 |
| 8.2. Complexes en solution | 97 |
| 8.2.1. Méthodes spectroscopiques..... | 97 |
| 8.2.1.1. Spectroscopie UV-Visible | 97 |
| 8.2.1.2. Spectroscopie de fluorescence | 98 |
| 8.2.1.3. Dichroïsme circulaire | 99 |
| 8.2.1.4. Spectroscopie RMN..... | 101 |
| 8.2.1.5. Résonance électronique de spin | 104 |
| 8.2.2. Potentiométrie | 104 |
| 8.2.3. Electrochimie | 105 |
| 8.2.4. Microcalorimétrie | 105 |
| 8.2.5. Solubilité | 106 |
| 8.2.6. Tension de surface | 107 |
| 9. Détermination de la constante de formation K_f d'un complexe d'inclusion | |
| en solution aqueuse..... | 107 |
| 9.1. Détermination de K_f par spectroscopie UV-Visible..... | 108 |
| 9.2. Détermination de K_f par dichroïsme circulaire..... | 110 |
| 9.3. Détermination de K_f par spectroscopie RMN..... | 110 |
| 9.4. Détermination de K_f par d'autres méthodes..... | 111 |
| 9.4.1. Microcalorimétrie | 111 |
| 9.4.2. Méthodes par compétition..... | 112 |
| 9.5. Valeurs obtenues dans la littérature | 112 |
| 10. Cas particulier des complexes d'inclusion cyclodextrine-polymère | 113 |
| 10.1. Inclusion axiale d'un polymère | 114 |
| 10.2. Inclusion des chaînes latérales d'un polymère | 122 |
| 11. Applications des cyclodextrines | 122 |
| 11.1. Applications industrielles | 123 |

| | |
|---|-----|
| 11.1.1. Applications alimentaires..... | 123 |
| 11.1.2. Applications agro-chimiques | 124 |
| 11.1.3. Applications cosmétologiques..... | 125 |
| 11.2. Applications pharmaceutiques..... | 126 |
| 11.3. Applications en chimie fine..... | 129 |
| 11.3.1. Utilisation comme enzymes « artificielles » (Activité enzymatique)..... | 129 |
| 11.3.2. Utilisation en chromatographie..... | 130 |
| 11.3.3. Utilisation en synthèse organique (Activité catalytique)..... | 131 |
| 11.3.4. Utilisation en chimie supramoléculaire | 131 |
| 11.3.4.1. Synthèse de caténanes..... | 131 |
| 11.3.4.2. Synthèse de [2]-rotaxanes | 133 |
| 11.3.4.3. Synthèse de polyrotaxanes..... | 134 |
| 11.3.4.4. Synthèse de polymères tubulaires | 135 |
| 11.3.4.5. Applications de ces structures supramoléculaires..... | 136 |
| 11.3.4.5.1. Reconnaissance moléculaire..... | 136 |
| 11.3.4.5.2. Rétention sélective de substrats par des cyclodextrines immobilisées..... | 136 |
| 11.3.4.5.3. Transport de substrats au moyen de cyclodextrines mobiles | 137 |
| Conclusion | 138 |
| Références | 139 |

QUATRIEME PARTIE :

Interactions entre la β -cyclodextrine et un polymère qui ne présente pas de transition conformationnelle, le poly(4-styrène sulfonate) de sodium (NaPSS)

| | |
|--|-----|
| Introduction | 147 |
| 1. Le polymère seul | 149 |
| 2. Influence de la β-cyclodextrine | 152 |
| 2.1. Etude dichroïque..... | 153 |
| 2.1.1. Rappels théoriques..... | 153 |
| 2.1.2. Etude sur quelques petites molécules | 155 |
| 2.1.3. Application au NaPSS | 158 |
| 2.2. Etude ^1H RMN | 159 |
| 2.2.1. Rappels..... | 159 |
| 2.2.2. Etude sur quelques petites molécules bien connues..... | 161 |

| | |
|---|-----|
| 2.2.3. Application au NaPSS | 163 |
| 2.3. Etude fluorimétrique | 167 |
| 2.4. Analyse thermogravimétrique (ATG)..... | 169 |
| 2.5. Etude viscosimétrique | 170 |
| 2.6. Schéma des interactions β CD-NaPSS..... | 172 |
| 2.7. Détermination de la constante de stabilité K_f | 172 |
| 2.7.1. Détermination de K_f par spectroscopie UV | 173 |
| 2.7.2. Détermination de K_f par spectroscopie ^1H RMN..... | 174 |
| 2.7.3. Bilan | 175 |
| Conclusion | 177 |
| Références | 178 |

CINQUIEME PARTIE :

Interactions entre la β -Cyclodextrine et l'Acide Polyméthacrylique (PMA)

| | |
|--|-----|
| Introduction | 179 |
| 1. Etude potentiométrique | 180 |
| 1.1. Résultats..... | 180 |
| 1.2. Interprétation | 182 |
| 1.2.1. L'évolution de ΔG | 182 |
| 1.2.1.1. <i>Quelques rappels thermodynamiques</i> | 182 |
| 1.2.1.2. <i>Application au cas du PMA</i> | 183 |
| 1.2.2. L'évolution des différents taux d'ionisation..... | 184 |
| 1.2.3. L'évolution des pK..... | 185 |
| 1.2.3.1. <i>Cas des petites molécules</i> | 185 |
| 1.2.3.2. <i>Cas du PMA</i> | 187 |
| 2. Etude ^1H RMN | 189 |
| 3. Etude viscosimétrique | 192 |
| 3.1. Etude à pH naturel ($\cong 5$) | 192 |
| 3.2. Etude à pH basique (8,1)..... | 198 |
| 4. Etude fluorimétrique | 201 |
| Conclusion | 203 |
| Références | 205 |

SIXIEME PARTIE :

Interactions entre la β -cyclodextrine et les copolymères PMA-PMB

| | |
|--|-----|
| Introduction | 206 |
| 1. Etude potentiométrique | 207 |
| 1.1. Résultats..... | 207 |
| 1.2. Interprétation | 208 |
| 1.2.1. L'évolution de ΔG | 208 |
| 1.2.2. L'évolution des différents taux d'ionisation..... | 209 |
| 1.2.3. L'évolution des pK..... | 209 |
| 2. Etude 1H RMN | 209 |
| 2.1. Etude à pH naturel ($\cong 5$) | 209 |
| 2.2. Etude à pH basique ($\cong 7$) | 214 |
| 3. Etude dichroïque | 216 |
| 3.1. Etude à pH naturel ($\cong 5$) | 217 |
| 3.2. Etude à pH basique (7)..... | 217 |
| 4. Etude viscosimétrique | 218 |
| 4.1. Etude à pH naturel ($\cong 5$) | 218 |
| 4.2. Etude à pH basique (8,1)..... | 225 |
| 5. Etude fluorimétrique | 228 |
| Conclusion | 232 |

| | |
|---|-----|
| <u>CONCLUSION GENERALE</u> | 234 |
|---|-----|

AVANT-PROPOS

Nous indiquerons ci-dessous les données relatives aux différents appareillages utilisés durant ce travail. Quelques renseignements pratiques seront également fournis. Nous donnerons par ailleurs la signification des diverses abréviations employées dans le texte.

❶ Appareillages :

- **Potentiométrie :** pH mètre Radiometer pHM 64, équipé d'une électrode combinée verre/calomel Schott N 65. La standardisation est effectuée avec un pH tampon phtalate de 4,01 et borate de 9,00 à 25°C.

- **Viscosimétrie :** Viscosimètre capillaire automatique Schott Geräte AVS 400 et tube capillaire Ubbelohde de diamètre 0,84 mm.

On mesure la viscosité réduite η de solutions à 25°C ($\pm 0,1$), c'est-à-dire $(t-t_0)/t_0C$, où t représente le temps de passage moyen de la solution contenant le polymère étudié, t_0 représente le temps de passage moyen de la même solution sans le polymère, et C est la concentration en polymère exprimée en g/100 ml. La viscosité est donc exprimée en cm^3/g .

Les solutions sont filtrées avant chaque nouvelle série de mesures de viscosité, le filtre est un filtre Millipore et la taille moyenne des pores est de 1 μm .

- **Fluorimétrie :** Spectrophotomètre Perkin-Elmer LS 50. La vitesse de balayage est de 200 nm/min. La bande passante d'excitation est ajustée à 5 nm, tandis qu'elle est réglée à 2,5 nm en émission. La cellule utilisée est une cellule de quartz à quatre faces translucides de 1 cm. Les échantillons seront préalablement mis à buller sous azote pour éviter au maximum une inhibition de fluorescence éventuelle par l'oxygène.

Dans les cas où les spectres obtenus sont peu intenses ou fortement bruités, il est nécessaire d'accumuler plusieurs enregistrements successifs (en général 5 accumulations). L'appareil est doté d'un logiciel lui permettant d'accumuler et de faire la moyenne des spectres, ce qui améliore sensiblement le rapport signal/bruit.

● **Dichroïsme Circulaire** : Spectropolarimètre Jobin-Yvon Mark IV. Les mesures sont effectuées à 25°C ($\pm 0,1$) sous atmosphère d'azote. Une cellule de quartz de 1 cm de même type que celle utilisée en spectroscopie UV-Visible est employée.

● **Spectrométrie UV-Visible** : Spectrophotomètre Uvikon 930. Une cellule de quartz de 1 cm est utilisée. La vitesse de balayage est de 200 nm/min.

● **Spectrométrie Infrarouge (IR)** : Spectrophotomètre Perkin-Elmer 882. Les spectres sont effectués en solide avec des pastilles de KBr.

● **Spectrométrie ^1H RMN** : Spectromètre Brücker AMX 300 (300 MHz) pour les spectres RMN 2D NOESY de NaPSS, Brücker AC 300 (300 MHz) pour les spectres RMN 1D et Brücker ASX 400 (400 MHz) pour la RMN 2D NOESY des autres polymères. Les spectres RMN 1D sont effectués à 25°C ($\pm 0,1$) avec 32 scans et en irradiant le pic du solvant. Les spectres RMN 2D sont effectués à 25°C ($\pm 0,1$) avec 512 incréments de 64 scans chacun et avec un temps de mélange de 0,2 s.

● **Analyse thermogravimétrique (ATG)** : Analyseur Shimadzu TGA 51. Le creuset utilisé est un creuset de quartz. On effectue les mesures sous atmosphère d'air avec un débit de 50 ml/min. La vitesse de balayage choisie est de 10°C/min.

② Abréviations :

| | |
|--------------------|--|
| βCD : | β -Cyclodextrine (Kleptose, ROQUETTE) |
| PAA : | Acide polyacrylique ($\overline{M}_w = 200000$, ALDRICH) |
| PA1B : | Copolymère d'acide acrylique et d'acrylate de benzyle avec 1 % de groupes benzyles |
| PMA : | Acide polyméthacrylique syndiotactique |
| PMA-PMB : | Copolymères syndiotactiques d'acide méthacrylique et de méthacrylate de benzyle |
| PM1B : | Copolymère PMA-PMB avec 0,75 % de groupes benzyles |
| PM2B : | Copolymère PMA-PMB avec 2 % de groupes benzyles |
| PM5B : | Copolymère PMA-PMB avec 5 % de groupes benzyles |

PM8B : Copolymère PMA-PMB avec 7,8 % de groupes benzyles
PM15B : Copolymère PMA-PMB avec 14,6 % de groupes benzyles
NaPSS : Poly(4-styrène sulfonate) de sodium ($\overline{M}_w = 70000$, ACROS)
Tris : Tampon tris-hydroxyméthylaminoéthane

INTRODUCTION GENERALE

Les cyclodextrines suscitent depuis quelques décennies un grand intérêt tant sur le plan fondamental qu'industriel. Cet intérêt repose, en grande partie, sur les propriétés de reconnaissance moléculaire et de modélisation de l'activité catalytique des enzymes, propriétés dues à leur capacité de complexer des molécules ou parties de molécules à caractère hydrophobe [1,2].

En particulier, on trouve dans la littérature de nombreux exemples de formation de complexes d'inclusion cyclodextrine-polymère qui apportent une forte augmentation de l'activité catalytique, notamment dans les réactions d'estérolyse [3-7]. Cette activité catalytique a pour origine l'accumulation de sites actifs dans l'environnement hydrophobe apporté par la chaîne polymère. Ces édifices moléculaires sont des modèles synthétiques utilisés pour copier le comportement des enzymes naturelles [8-12]. Dans notre Laboratoire, signalons une étude sur la poly(vinylamine) qui, associée à la β -cyclodextrine, permet de catalyser l'estérolyse de l'acétate de p-nitrophényle [7,13].

La difficulté de comprendre les mécanismes qui régissent l'activité enzymatique réside dans la nature même des interactions qui entrent en jeu lors du processus d'inclusion. D'ailleurs, dans les revues et livres généraux sur les cyclodextrines, les chapitres consacrés aux interactions polymère-cyclodextrine sont très brefs. Cependant, une nouvelle chimie, dite chimie supramoléculaire, vient assez récemment de faire son apparition [14,15]. Cette science est basée exclusivement sur l'étude des associations ou liaisons non covalentes qui existent au sein d'un complexe d'inclusion. Des chercheurs ont, par exemple, étudié les effets de la cyclodextrine libre sur des polymères et ont mis en évidence de nouveaux composés appelés polyrotaxanes [2,16].

Notre but est ici d'étudier la formation et les propriétés de polyrotaxanes latéraux, c'est-à-dire de polymères dont les chaînes latérales sont encapsulées ou incluses dans la cavité de la β -cyclodextrine. Les chaînes latérales devant posséder un caractère hydrophobe, nous avons choisi de travailler sur des chaînes latérales aromatiques. Comme l'eau est le solvant dans lequel des interactions hydrophobes peuvent avoir lieu, le polymère se doit d'être amphiphile, c'est-à-dire posséder des fonctions hydrophiles. Nous avons donc choisi d'étudier les dérivés benzyliques de l'acide polyméthacrylique. Leur caractère hautement hydrophobe se traduit par

la formation d'une structure compacte (ou « hypercoil ») en milieu acide. Ils ont également la propriété d'adopter une conformation étendue lorsque le pH est basique. Cette conformation est induite par les répulsions électrostatiques entre les groupes ionisés des chaînes. Nous essaierons également de voir si la β -cyclodextrine est capable, en milieu acide, de détruire la structure compacte et d'induire par complexation une transition conformationnelle. Plus généralement, nous étudierons l'influence de la β -cyclodextrine à la fois à pH acide et à pH basique où l'accessibilité des groupes hydrophobes n'est pas la même. Parallèlement, nous traiterons le cas d'un polymère dont les chaînes sont étendues à tout pH, le poly(4-styrènesulfonate) de sodium. Dans ce dernier cas, il sera intéressant de voir si la formation d'un polyrotaxane latéral est possible malgré la présence d'un groupe sulfonate très hydrophile et donc théoriquement incompatible avec l'intérieur hydrophobe de la cavité de la β -cyclodextrine.

La première partie sera consacrée à la synthèse et à la caractérisation des copolymères benzyliques d'acide méthacrylique.

La deuxième partie présente la conformation de ces polymères en fonction du pH, de la force ionique, de la présence d'urée, et de la présence de solvant organique.

Une revue bibliographique consacrée aux cyclodextrines et notamment à leurs propriétés de former des complexes d'inclusion avec des composés hydrophobes est présente dans la troisième partie. Nous y recenserons notamment les différents moyens pour mettre en évidence un complexe d'inclusion ainsi que la détermination de sa constante de stabilité. Signalons enfin la présence dans cette partie d'un chapitre traitant du cas particulier des interactions cyclodextrine-polymère. La littérature ne mentionne que peu d'auteurs dont l'activité de recherche est focalisée sur ce thème.

Dans la quatrième partie, nous étudierons la nature des interactions entre la β -cyclodextrine et le poly(4-styrènesulfonate) de sodium dont l'accessibilité des chaînes latérales ne pose pas de problème.

Dans la cinquième et la sixième partie, nous examinerons l'influence de la β -cyclodextrine sur la conformation de l'acide polyméthacrylique et des copolymères PMA-PMB respectivement. En particulier, nous verrons si la β -cyclodextrine est capable ou non d'induire une transition conformationnelle en milieu acide.

REFERENCES

- [1] W. Saenger : *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1980**, Vol. 19, p. 344.
- [2] G. Wenz : *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1994**, Vol. 33, p. 803.
- [3] T. Seo, T. Kajihara et T. Iijima : *Makromol. Chem.*, **1990**, Vol. 191, p. 1665.
- [4] T. Seo, T. Kajihara, K. Miwa et T. Iijima : *Makromol. Chem.*, **1991**, Vol. 192, p. 2357.
- [5] M. Furue, A. Harada et S. Nozakura : *J. Polym. Sci., Polym. Lett.*, **1975**, Vol. 13, p. 357.
- [6] A. Harada, M. Furue et S. Nozakura : *Macromolecules*, **1976**, Vol. 9, p. 701.
- [7] B. Martel et M. Morcellet : *Eur. Polym. J.*, **1995**, Vol. 31, p. 1089.
- [8] J. A. Pavlisko et G. C. Overberger : *J. Polym. Sci., Polym. Chem. Ed.*, **1981**, Vol. 19, p. 1621.
- [9] W. M. Brouwer, P. Piet et A. L. German : *Makromol. Chem.*, **1984**, Vol. 185, p. 363.
- [10] V. S. Pshezhetskii, G. A. Murtazaeva et V. A. Kabanov : *Eur. Polym. J.*, **1974**, Vol. 10, p. 581.
- [11] V. S. Pshezhetskii, A. P. Lukyanova et V. A. Kabanov : *J. Mol. Catal.*, **1977**, Vol. 2, p. 49.
- [12] V. S. Pshezhetskii, G. M. Nikolaev et A. P. Lukyanova : *Eur. Polym. J.*, **1977**, Vol. 13, p. 423.
- [13] B. Martel : « Estérolyse Catalysée par la Cyclodextrine Associée à la Poly(vinylamine) et ses Dérivés Benzylés », Thèse de doctorat, Université des Sciences et Technologies de Lille 1, **1993**.
- [14] J.-M. Lehn : *La Recherche*, **1981**, Vol. 12, p. 1213
- [15] J.-M. Lehn : « La Chimie Supramoléculaire : Concepts et Perspectives », Traduction Française, Ed. DeBoeck Université, **1997**.
- [16] W. Saenger et A. Müller-Fahrnow : *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1988**, Vol. 27, p. 393.

PREMIERE PARTIE :

**Synthèse et caractérisation de polymères
à base d'acide méthacrylique.**

INTRODUCTION

Dans le but d'étudier les interactions β -cyclodextrine-polymère en solution aqueuse, et particulièrement l'encapsulation des chaînes latérales de polymères existant sous deux types de conformations, l'une compacte, l'autre étendue, nous avons choisi de nous intéresser aux copolymères acide méthacrylique - méthacrylate de benzyle. Ces derniers ont l'avantage de contenir à la fois des groupes aromatiques susceptibles d'être encapsulés par la cyclodextrine, et des groupes carboxyliques assurant la solubilité dans l'eau.

La synthèse de tels polymères est effectuée en deux étapes :

❶ Synthèse de l'acide polyméthacrylique syndiotactique à partir de l'acide méthacrylique selon la méthode de **Bovey [1]** (figure 1).

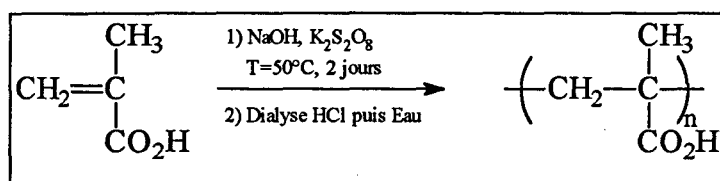


Figure 1 : Schéma de synthèse de l'acide polyméthacrylique syndiotactique.

❷ Estérification partielle du polymère obtenu par le chlorure de benzyle pour obtenir les copolymères souhaités selon la méthode de **Bottiglione [2]** (figure 2).

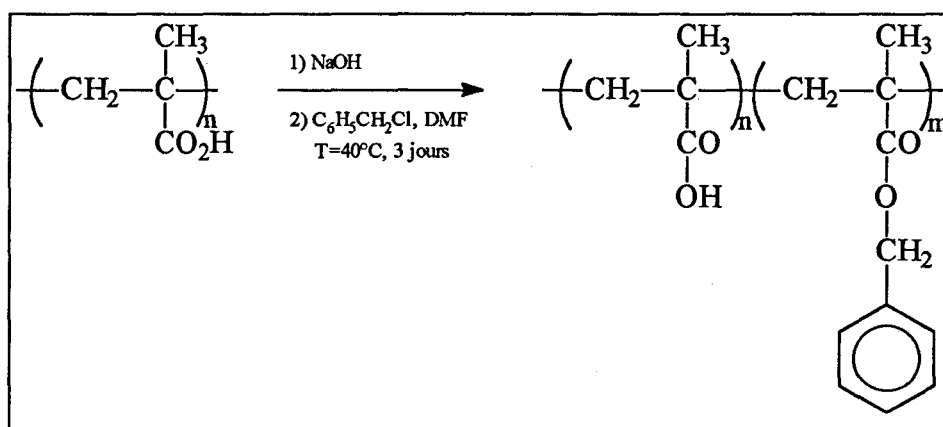


Figure 2 : Schéma de synthèse des copolymères benzylés de l'acide polyméthacrylique syndiotactique.

1. Synthèse de l'acide polyméthacrylique syndiotactique (PMA)

La polymérisation de l'acide méthacrylique se fait dans l'eau en présence de persulfate de sodium ($K_2S_2O_8$) comme initiateur. La propagation syndiotactique est favorisée en milieu basique.

1.1. Mode opératoire

Dans un ballon équipé d'un agitateur à pales, on introduit 250 ml d'acide méthacrylique préalablement distillé sous pression réduite, 1 litre d'eau distillée et 7,85 g de persulfate de sodium ($K_2S_2O_8$). Afin de favoriser une propagation syndiotactique, on ajuste le pH de la solution à 10 par l'ajout de soude concentrée. La solution obtenue est ensuite dégazée deux fois sous ultrasons et sous vide puis mise au bain-marie sous agitation pendant 48 heures à une température de 50°C.

La solution obtenue présente une viscosité importante. Elle est dialysée pendant 24 heures contre de l'acide chlorhydrique à 0,1 M pour neutraliser toutes les fonctions carboxylates du polymère, puis pendant 48 heures contre de l'eau distillée pour éliminer l'acide chlorhydrique en excès et le chlorure de sodium formé.

La solution est ensuite concentrée à l'évaporateur rotatif, congelée, puis lyophilisée.

Le PMA est obtenu sous forme de poudre blanche et conservé à l'abri de l'humidité.

1.2. Caractérisation du PMA syndiotactique

La caractérisation du PMA syndiotactique par infrarouge (pastille de KBr) montre la disparition de la bande correspondant à la vibration de valence $\nu(C=C)$ du monomère à 1644 cm^{-1} . Les autres bandes observées (figure 3) sont similaires à celles de l'acide méthacrylique, à savoir :

- 1 bande très large ν (OH) à 3100-3600 cm^{-1}
- 1 bande ν (C-H) à 2890 cm^{-1}
- 1 bande ν (C=O) à 1700 cm^{-1}
- 2 bandes δ (CH₃) à 1380 et 1450 cm^{-1}
- 1 bande ν (C-O) à 1230 cm^{-1}

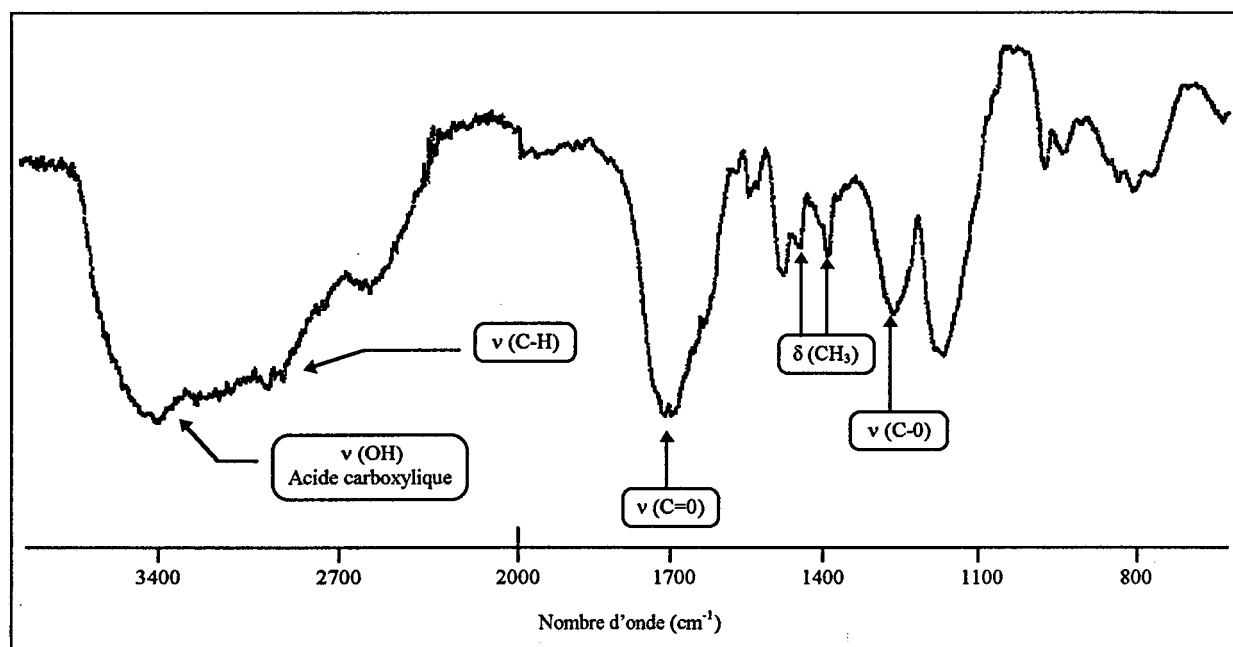


Figure 3 : Spectre IR de l'acide polyméthacrylique.

La caractérisation du PMA syndiotactique par RMN du proton (300 MHz, D₂O) montre un blindage des protons du CH₂ et du CH₃ qui confirme la saturation de la double liaison. Les déplacements chimiques sont les suivants :

- 1 massif à 0,9-1,3 ppm correspondant aux protons du CH₃
- 1 massif à 1,6-2,1 ppm correspondant aux protons du CH₂

La syndiotacticité a été démontrée avec l'ester méthylique de l'acide méthacrylique selon la méthode de Bovey et Tiers [4]. Le PMA est méthylé par le diazométhane avec le procédé de Katchalsky [3] qui n'affecte pas la tacticité [5]. L'analyse du spectre montre la totale syndiotacticité [6].

La masse moléculaire moyenne en poids \overline{M}_w est obtenue par viscosimétrie capillaire à 30°C. Le PMA étant un polyélectrolyte (sa viscosité réduite augmente avec sa dilution), il est nécessaire d'écranter les répulsions électrostatiques entre les groupes carboxyliques. Pour ce faire, la viscosité réduite du PMA est mesurée dans l'acide chlorhydrique à 0,002 M et à différentes concentrations de polymère [3]. Il suffit ensuite d'extrapoler la valeur de la viscosité réduite à concentration nulle, cette valeur est la viscosité intrinsèque $[\eta]$. Elle vaut ici 63,8 cm³/g.

Une relation empirique tenant compte de la variation de $[\eta]$ en fonction de la masse moléculaire a été proposée par Mark [7] et vérifiée expérimentalement par Houwink [8]. Cette relation, dite de Mark-Houwink, est la suivante :

$$[\eta]=k \overline{M}_w^\alpha$$

où les paramètres k et α sont des constantes pour un système polymère-solvant donné. Le paramètre α prend des valeurs comprises généralement entre 0,5 et 1.

Ici, pour notre système, $k=6,6 \cdot 10^{-2}$ et $\alpha=0,5$ [3], on en déduit donc la masse moléculaire moyenne en poids de PMA : $\overline{M}_w=934500$.

2. Synthèse des copolymères acide méthacrylique - méthacrylate de benzyle (PMA-PMB)

La synthèse des copolymères acide méthacrylique - méthacrylate de benzyle s'effectue par une estérification partielle du PMA qui se déroule en deux étapes [2] : d'abord, le PMA est converti en son sel de sodium, puis la quantité requise de chlorure de benzyle est ajoutée.

2.1. Mode opératoire

Dans un ballon équipé d'un agitateur à pales, on introduit 2 g de PMA, 100 ml de N,N-diméthylformamide (DMF) et 50 ml d'eau distillée. On chauffe légèrement si nécessaire afin d'obtenir une dissolution complète du polymère. On ajoute lentement et sous agitation une

quantité stoechiométrique de soude dissoute dans 50 ml d'eau distillée. La viscosité du mélange augmente fortement (à cause des répulsions électrostatiques). On ajoute ensuite de la même façon le chlorure de benzyle dissout dans 20 ml de DMF. La solution est maintenue sous agitation pendant 3 jours à une température de 40°C. A ce stade, les copolymères les plus substitués précipitent. On ajoute alors du DMF jusqu'à totale redissolution.

Pour obtenir un taux de greffage en groupes benzyles de 100 %, il faut théoriquement ajouter 2,94 g de chlorure de benzyle.

La solution obtenue est d'abord dialysée pendant 3 jours contre de l'éthanol pour éliminer le DMF et le chlorure de benzyle qui n'aurait pas réagi, puis pendant 24 heures contre de l'acide chlorhydrique à 0,1 M pour neutraliser toutes les fonctions carboxylates du copolymère, et enfin pendant 48 heures contre de l'eau distillée pour éliminer l'acide chlorhydrique en excès et le chlorure de sodium formé.

La solution est ensuite concentrée à l'évaporateur rotatif, congelée puis lyophilisée.

Les polymères PMA-PMB sont obtenus sous forme de poudre blanche et conservés à l'abri de l'humidité.

2.2. Caractérisation des copolymères PMA-PMB

La caractérisation des copolymères PMA-PMB par infrarouge (pastille de KBr) montre l'apparition de 2 bandes à 700 et 750 cm^{-1} correspondant aux vibrations de valence (C-H) d'un cycle aromatique monosubstitué plusieurs bandes (figure 4) :

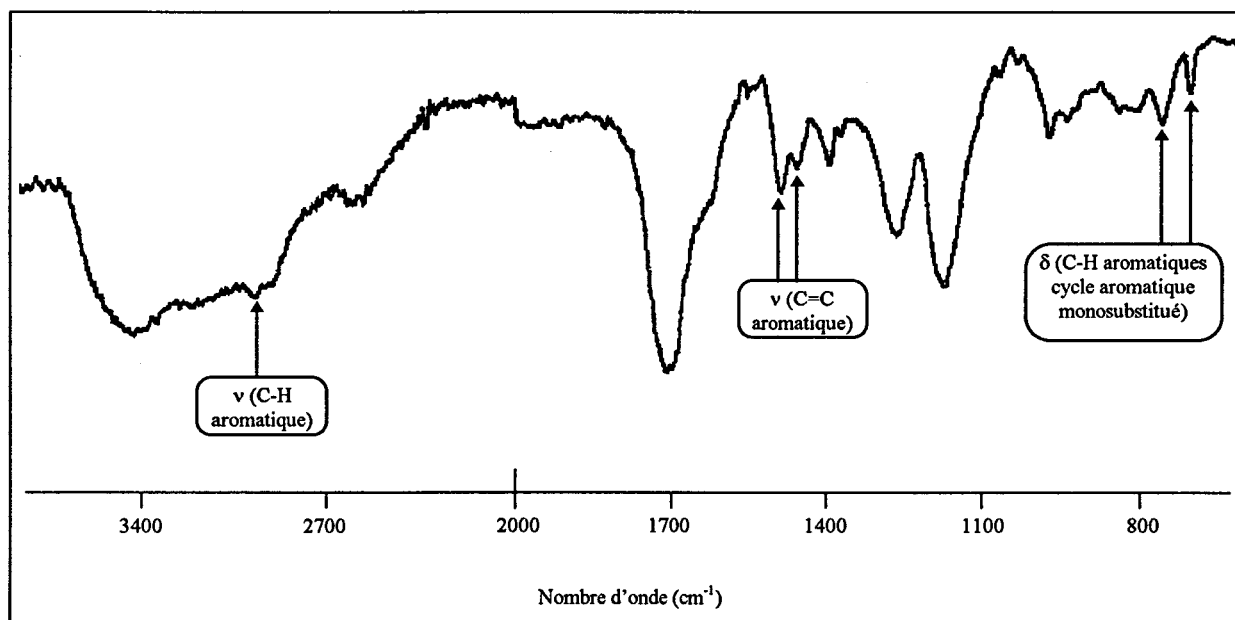


Figure 4 : Spectre IR d'un copolymère PMA-PMB.

La caractérisation des copolymères PMA-PMB par RMN du proton (300 MHz, Méthanol d_3) montre l'apparition de deux pics (figure 5) :

- 1 singulet à 5,1 ppm correspondant aux protons du CH_2 benzylique
- 1 singulet large à 7,3 ppm correspondant aux protons aromatiques

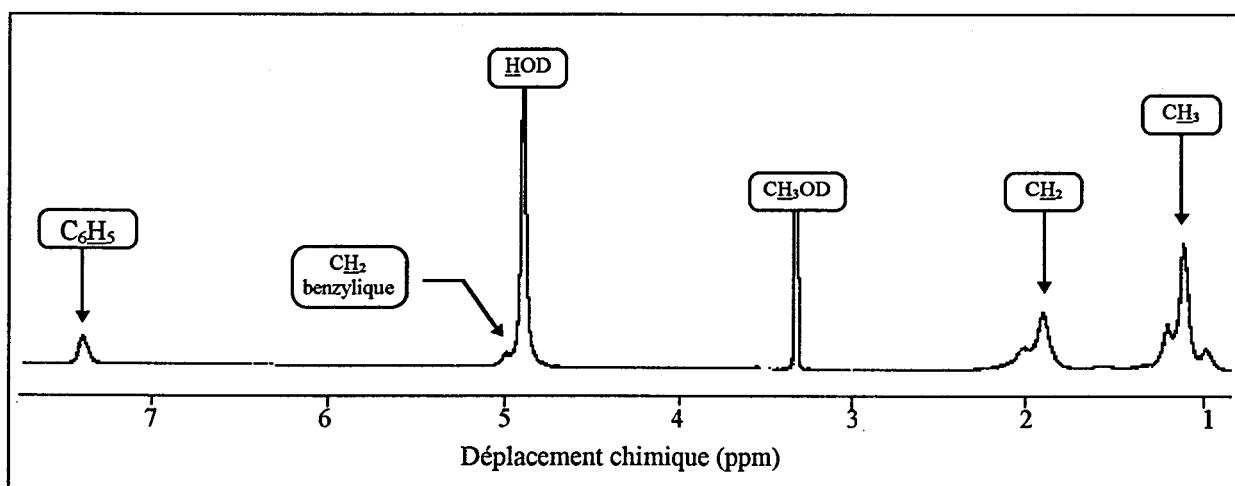


Figure 5 : Spectre 1H RMN d'un copolymère PMA-PMB.

Le taux de benzylation des divers copolymères PMA-PMB a été déterminé par 1H RMN en prenant les intégrales des pics des protons méthyliques et aromatiques. Il varie de 0 à 14,6 %.

Le tableau 1 regroupe les conditions opératoires employées et les résultats en terme de taux de benzoylation.

| Copolymère | Masse de PMA (g) | Masse de $\Phi\text{CH}_2\text{Cl}$ (g) | Rendement obtenu (%) | Taux de greffage ^a (%) |
|------------|------------------|---|----------------------|-----------------------------------|
| PM1B | 10 | 0.5 | 65 | 0.7 |
| PM2B | 10 | 1 | 70 | 2 |
| PM5B | 12 | 2 | 70 | 5 |
| PM8B | 2 | 3 | 60 | 7.8 |
| PM15B | 10 | 27 | 70 | 14.6 |

Tableau 1 : Conditions opératoires d'obtention des copolymères PMA-PMB.

^a : déterminé par ¹H RMN.

La caractérisation des copolymères PMA-PMB par ultraviolet (en solution dans le méthanol) montre, en plus de la bande à 220 nm des groupes carboxyliques, l'apparition d'une bande assez large correspondant aux groupes aromatiques et dont le maximum en absorbance a lieu pour $\lambda=260$ nm.

Comme le mode de préparation des copolymères PMA-PMB est similaire à celui du PMA, nous pouvons supposer que la masse moléculaire moyenne en poids \overline{M}_w des copolymères PMA-PMB est voisine de celle du PMA. Nous avons calculé la valeur de la viscosité intrinsèque $[\eta]$ pour différents copolymères PMA-PMB (tableau 2).

| Copolymère | $[\eta]$ (cm ³ /g) |
|------------|-------------------------------|
| PM2B | 51,4 |
| PM8B | 52,2 |
| PM15B | 54,2 |

Tableau 2 : Viscosité intrinsèque de quelques copolymères PMA-PMB.

Nous montrerons dans la seconde partie que la diminution de $[\eta]$ est attribuable aux interactions hydrophobes entre les groupes aromatiques des chaînes de polymère.

La distribution des groupes aromatiques dans les copolymères est aléatoire pour trois raisons :

❶ L'estérification partielle de PMA s'effectue en milieu basique. Les chaînes de PMA sont donc totalement étendues.

❷ L'estérification partielle de PMA s'effectue en milieu organique, milieu dans lequel les interactions hydrophobes ne jouent aucun rôle.

❸ La réaction d'estérification est une substitution nucléophile de type SN_1 selon le schéma de la figure 6. En effet, le cation benzylique est stabilisé par résonance et a tendance à réagir dans une zone riche en groupes anioniques.

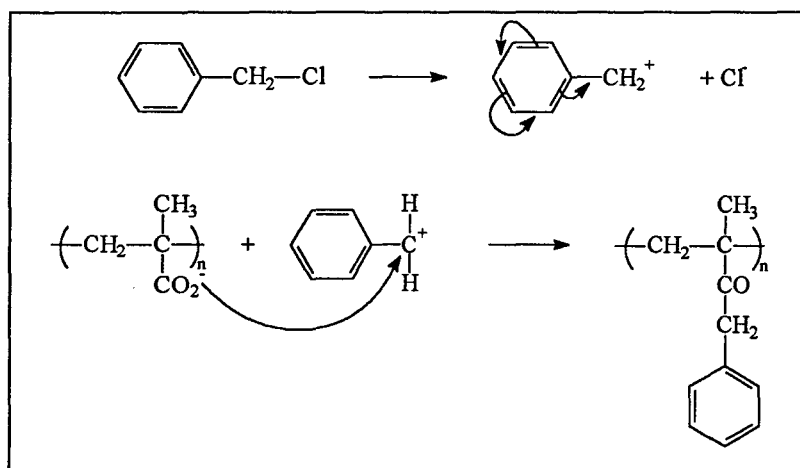


Figure 6 : Schéma de l'estérification de PMA.

L'étude conformationnelle de ces polymères s'effectuera dans l'eau. Excepté PM15B, tous les polymères sont solubles dans l'eau. PM15B n'étant pas directement soluble dans l'eau, on le dissout dans une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium à 0,05 M puis une acidification ponctuelle est réalisée avec une résine échangeuse d'ions de type Amberlite IR 120 par contact batch. PM8B donnant une solution trouble après dissolution dans l'eau, on procèdera de la même manière que pour PM15B pour l'étude conformationnelle.

CONCLUSION

Dans ce chapitre nous nous sommes intéressés à la préparation du PMA. Son estérification partielle nous a permis d'obtenir une variété de copolymères PMA-PMB purs et parfaitement caractérisés.

Une étude conformationnelle de ces divers polymères obtenus sera ensuite effectuée en fonction du pH, de la force ionique, de l'urée et de la nature du solvant (deuxième partie) puis en fonction de la β -cyclodextrine (cinquième et sixième partie). L'influence de la cyclodextrine nous permettra de mettre en évidence l'importance de la conformation des chaînes sur la nature des interactions cyclodextrine-polymère.

REFERENCES

- [1] F. A. Bovey : J. Polym. Sci., 1963, Vol. 1, p. 843.
- [2] V. Bottiglione, M. Morcellet et Claude Loucheux : Makromol. Chem., 1980, Vol. 181, p. 485.
- [3] A. Katchalsky et H. Eisenberg : J. Polym. Sci., 1951, Vol. 6, p. 145.
- [4] F. A. Bovey et G. V. D. Tiers : J. Polym. Sci., 1960, Vol. 44, p. 173.
- [5] J. J. O'Neill, E. M. Loebel, A. Y. Kandanian et H. Morawetz : J. Polym. Sci., 1965, Vol. 3, p. 4201.
- [6] V. Bottiglione, M. Morcellet et Claude Loucheux : Makromol. Chem., 1980, Vol. 181, p. 469.
- [7] H. Mark : « Der Feste Körper », Hirzel, Leipzig, 1938.
- [8] R. Houwink : J. Prakt. Chem., 1940, Vol. 157, p. 15.

DEUXIEME PARTIE :

**Etude conformationnelle de polymères
à base d'acide méthacrylique.**

INTRODUCTION

Nous allons à présent étudier la conformation en milieu aqueux de nos polymères préparés dans la partie précédente. Ces polymères ont la particularité de posséder une structure compacte ou globule en milieu acide due aux interactions entre les groupes hydrophobes portés par les chaînes des polymères, et une structure étendue en milieu basique due aux répulsions électrostatiques entre les groupes carboxylates ionisés [1].

La figure 1 montre les forces régissant les deux structures compacte et étendue.

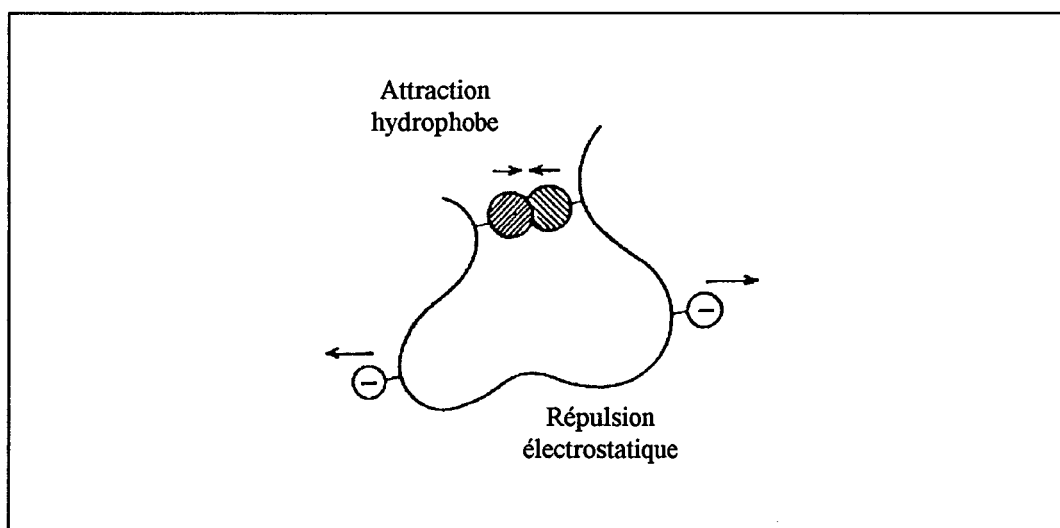


Figure 1 : Représentation schématique des forces régissant les structures compacte et étendue.

- La structure compacte est définie par des interactions hydrophobes attractives entre les groupes hydrophobes portés par les chaînes latérales qui tendent à faire se replier les chaînes de polymère. On nomme également cette conformation sous le nom de conformation « globule », terme généralement employé dans les protéines.
- La structure étendue est définie par des interactions électrostatiques répulsives entre les groupes ionisés qui tendent, comme le nom l'indique, à étendre les chaînes de polymère.

La figure 2 montre la mise en évidence par potentiométrie d'une structure compacte. On constate que dans le cas de l'acide polyméthacrylique (PMA), le pK et donc le pH augmentent au départ de façon beaucoup plus importante que dans le cas de l'acide polyacrylique (PAA), impliquant l'existence d'une structure compacte pour le PMA en milieu acide.

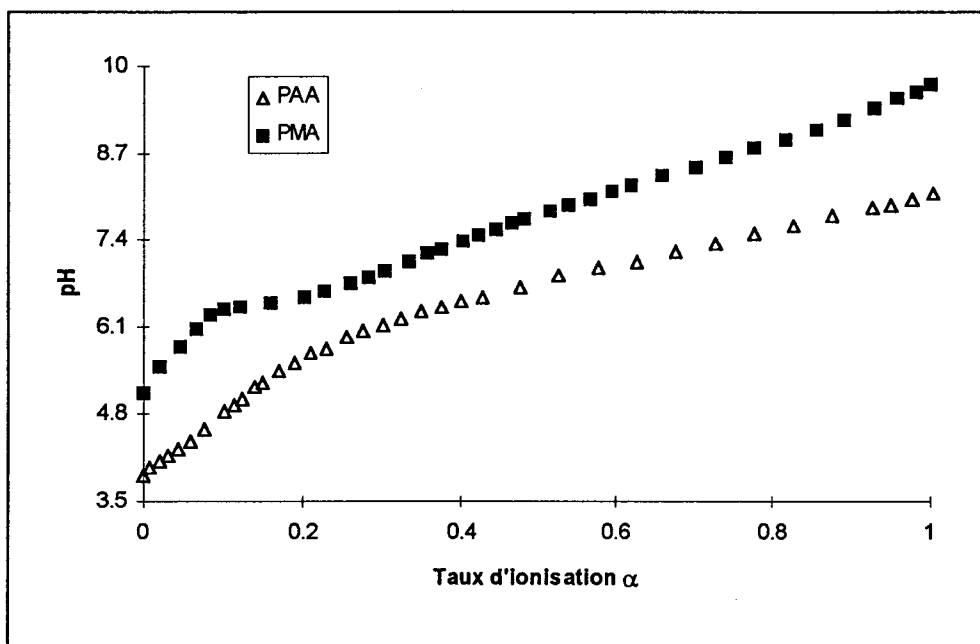


Figure 2 : Mise en évidence par la potentiométrie d'une structure compacte. Comparaison entre l'acide polyméthacrylique (PMA) et l'acide polyacrylique (PAA).

La preuve de la conformation compacte de PMA en milieu acide est encore plus nette sur la figure 3 qui représente la variation du pK apparent (pK_{app}) en fonction du taux d'ionisation α . L'allure de ces courbes est similaire à celle donnée par Crescenzi [1].

Le pK apparent est donné par la relation :

$$pK_{app} = pH - \log\left(\frac{\alpha}{1-\alpha}\right) = pK_0 + 0.434 \left(\frac{F(\alpha)}{kT}\right)$$

où $F(\alpha)$ est une fonction de α .

Ces deux structures compacte et étendue dépendent d'un très grand nombre de paramètres qui tendent à favoriser l'une ou l'autre, notamment le pH, la force ionique, la concentration du polymère, la nature du solvant, ou encore l'existence de liaisons hydrogène.

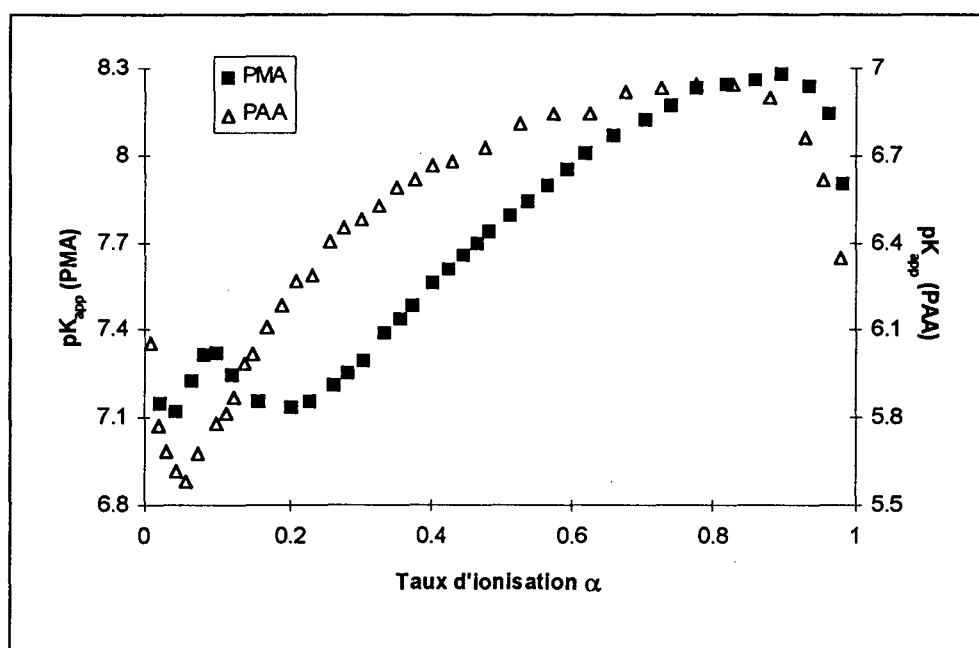


Figure 3 : Variation du pK_{app} en fonction du taux d'ionisation α .

Comparaison entre l'acide polyméthacrylique (PMA) et l'acide polyacrylique (PAA).

Nous allons donc, dans cette partie, faire varier plusieurs paramètres, tels que le pH, la force ionique, la présence d'urée et le taux de solvant organique et tenter ainsi de comprendre leur influence sur la conformation de nos polymères.

Pour ce faire, trois techniques d'investigation vont être utilisées :

❶ La potentiométrie, qui permet d'accéder à la variation d'énergie libre lors d'une transition entre conformères *supposés non chargés*, aux valeurs des pK apparents, et à la zone de transition conformationnelle déterminée par les taux d'ionisation caractéristiques α_i et α_f (respectivement taux d'ionisation de début et de fin d'extension des chaînes).

❷ La viscosimétrie, qui permet d'accéder au volume hydrodynamique des chaînes de polymère, autrement dit à la conformation compacte ou étendue du polymère.

❸ La fluorimétrie, qui permet de connaître à la fois la proximité éventuelle des groupes benzyles des polymères les uns par rapport aux autres (fluorescence intrinsèque), la polarité et la mobilité locales grâce à l'utilisation d'une sonde fluorescente (fluorescence induite).

Ces renseignements devraient nous permettre de mieux comprendre ce qui se peut se passer au sein de nos polymères en solution aqueuse lorsque l'on y ajoutera de la β -cyclodextrine.

1. Etude conformationnelle en milieu aqueux

Influence de la force ionique

Comme nous allons le voir dans ce chapitre, il est plus facile d'étudier parallèlement l'influence de la force ionique sur la conformation de nos polymères en solution ; en effet, l'utilisation de sel est indispensable pour traiter les données expérimentales de la potentiométrie puisqu'elle permet de déterminer avec précision la valeur du volume à l'équivalence lors de la titration, valeur masquée par l'effet de polyélectrolyte.

1.1. Etude potentiométrique

Le comportement des polyélectrolytes en solution aqueuse est étudié depuis longtemps par potentiométrie et calorimétrie, les travaux concernent principalement dans la littérature les polyacides carboxyliques [1-6]. La potentiométrie permet d'accéder à la variation d'énergie libre ΔG lors de la transition conformationnelle compacte \rightarrow étendue induite par le pH et la calorimétrie à la variation d'enthalpie ΔH et d'entropie ΔS associées à cette transition [1,5,6].

1.1.1. Mode opératoire et traitement graphique des données expérimentales

Dans un réacteur à double paroi thermostaté à 25°C, on introduit le polymère dissout dans l'eau distillée à une concentration de 20 mg/100 ml. A cette concentration, le pH vaut 5,0 dans le cas du PMA, et varie entre 4,1 et 4,3 dans le cas des copolymères benzylés. On titre ensuite le polymère sous courant d'azote par de la soude de concentration 0,05 M.

On effectue les mêmes dosages en présence de sel (NaClO_4) à 0,1 M pour déterminer avec précision la valeur du volume à l'équivalence. Le pH des solutions obtenues varie entre 4,0 et 4,25.

Les données expérimentales sont ensuite traduites en différentes courbes qui vont nous permettre de déduire les paramètres thermodynamiques caractéristiques :

① Les courbes pH en fonction du taux d'ionisation α des chaînes en l'absence de sel sont représentées sur la figure 4.

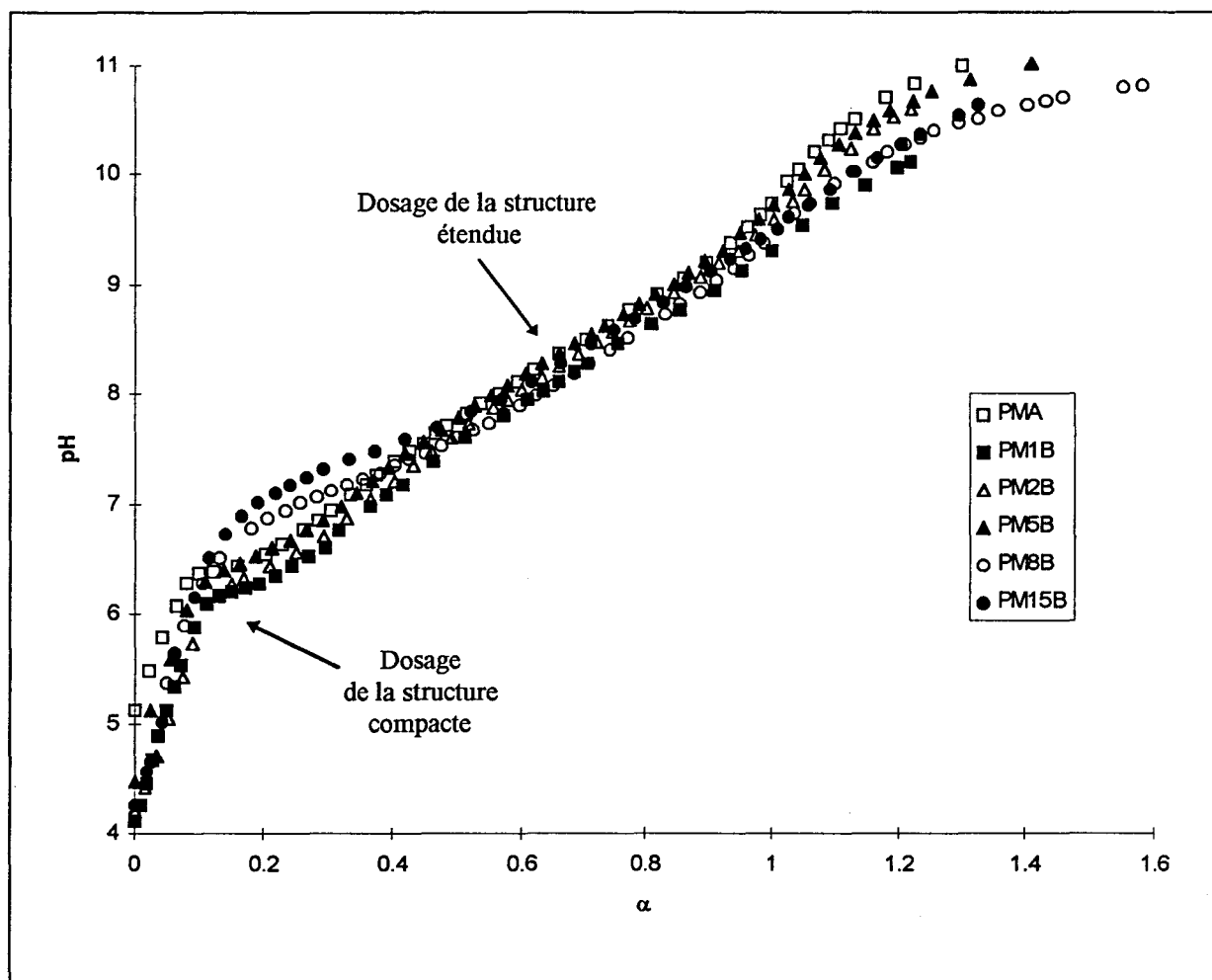


Figure 4 : Courbes $\text{pH}=f(\alpha)$ de PMA et des différents copolymères PMA-PMB en l'absence de sel.

Un agrandissement de la zone comprise entre $\alpha=0$ et $\alpha=0,5$, représentant le dosage de la structure compacte, est représenté sur la figure 5.

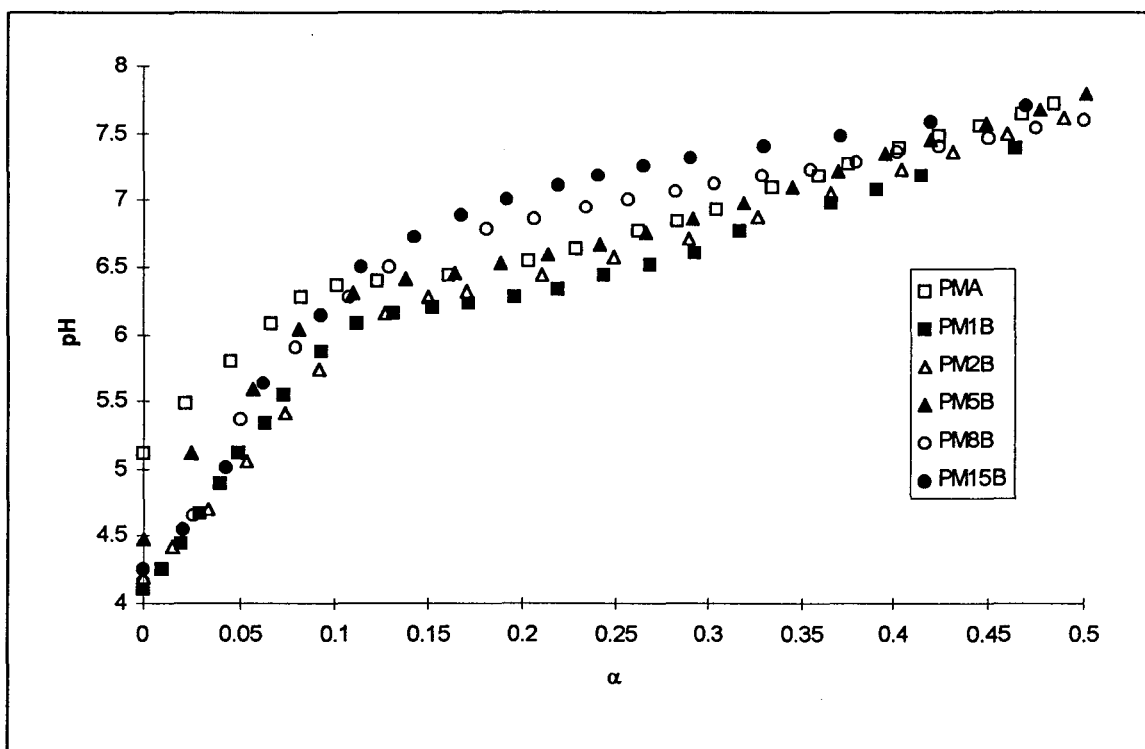


Figure 5 : Agrandissement de la zone $[\alpha=0-\alpha=0,5]$ de la figure 4.

On constate que plus le taux de benzylation des polymères est élevé, plus la forme des courbes de titration change.

A pH acide, on vérifie que la structure des polymères est compacte, car les interactions hydrophobes y prédominent. Au fur et à mesure que le pH augmente, les répulsions électrostatiques entre les carboxyles ionisés augmentent, et rentrent alors en compétition avec les interactions hydrophobes. Quand les répulsions ioniques ne sont plus négligeables, les chaînes commencent à s'étendre, et sont totalement étendues à haut pH.

En présence de sel, l'effet de polyélectrolyte disparaît, et la courbe de titration ressemble à celle d'une petite molécule. La figure 6 montre l'influence du sel sur la courbe de dosage du polymère PM8B.

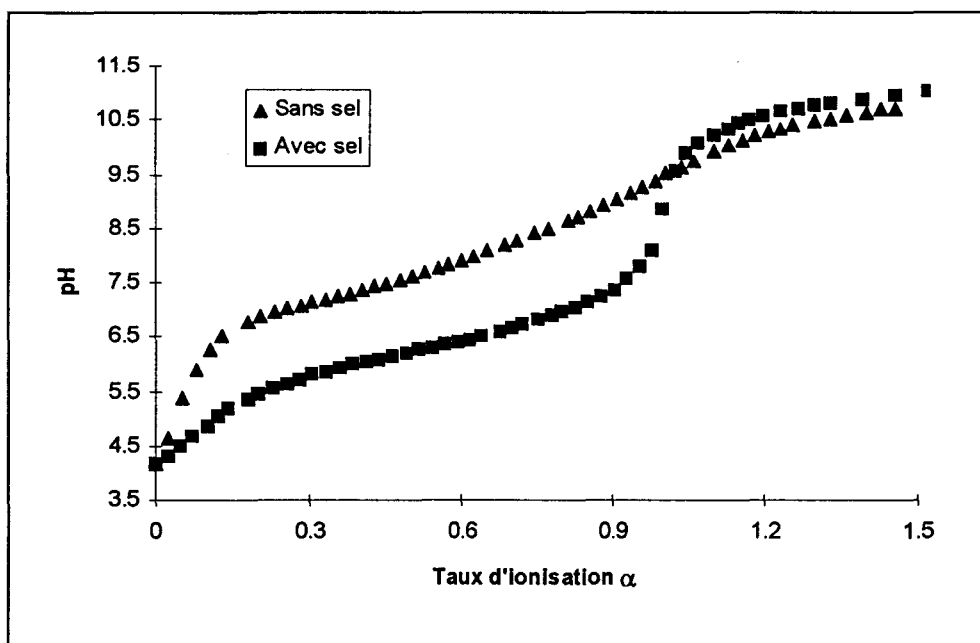


Figure 6 : Courbes $\text{pH}=f(\alpha)$ de PM8B en l'absence et en présence de sel.

L'effet de polyélectrolyte disparaissant par l'écrantage des groupes ionisés par l'addition de sel, on voit qu'il est alors possible de déterminer avec une plus grande précision la valeur du volume à l'équivalence et donc les valeurs de α .

② On peut déduire des données expérimentales les courbes pK_{app} (pK apparent) en fonction de α de chacun des polymères synthétisés. Ces courbes sont présentées sur la figure 7.

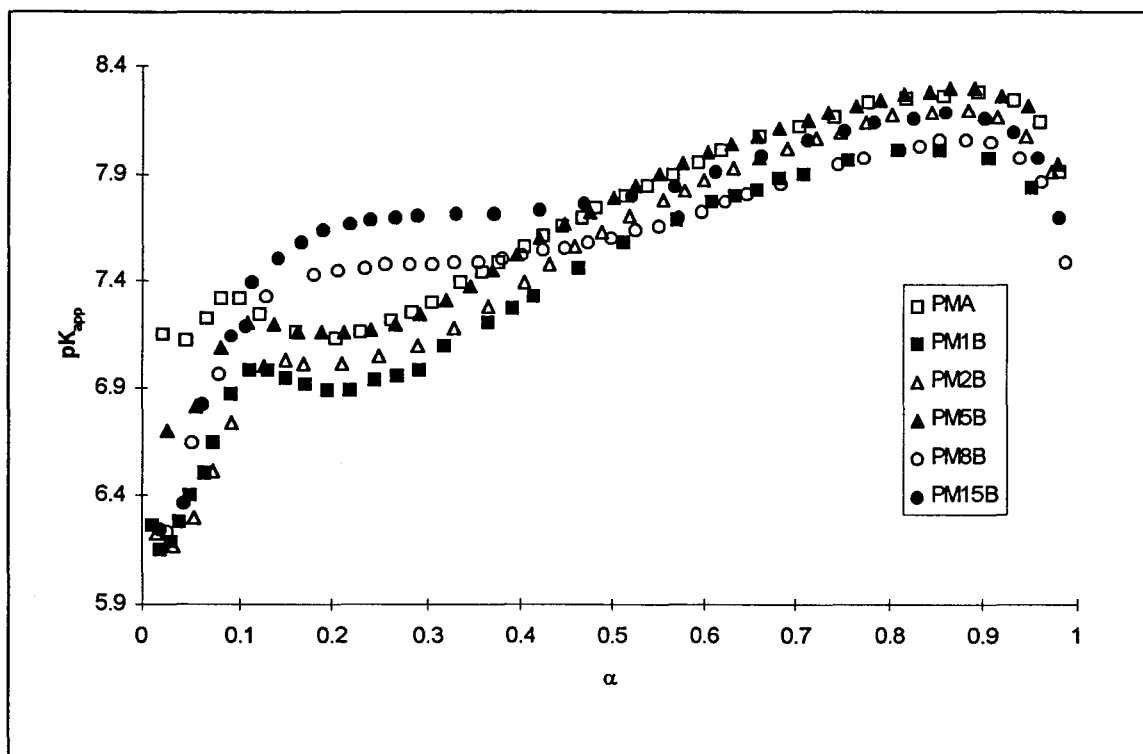


Figure 7 : Courbes $\text{pK}_{\text{app}}=f(\alpha)$ de PMA et des différents copolymères PMA-PMB en l'absence de sel.

Là aussi, on constate que plus le taux de benzyltion des polymères est élevé, plus la forme des courbes $pK_{app}=f(\alpha)$ change. Les valeurs de pK_{app} qui diminuent aux faibles valeurs de α quand α augmente sont dues à l'autoionisation des chaînes.

La figure 8 montre l'influence du sel sur la courbe $pK_{app}=f(\alpha)$ du polymère PM8B.

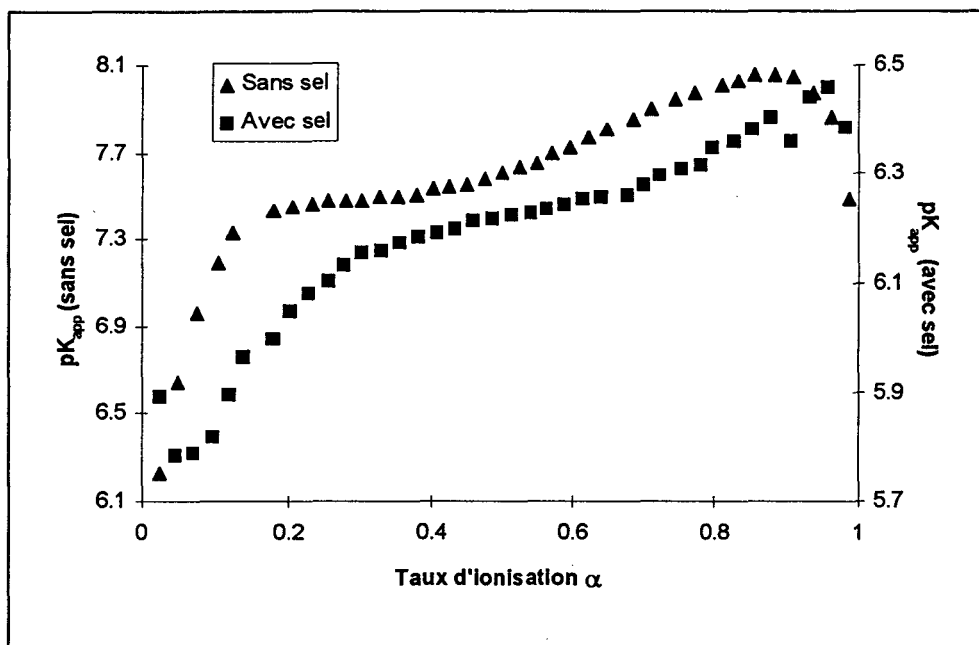


Figure 8 : Courbes $pK_{app}=f(\alpha)$ de PM8B en l'absence et en présence de sel.

③ On peut également tracer les courbes de Henderson-Hasselbach, dont l'expression adaptée au cas des polyélectrolytes par Katchalsky [7], suit la loi suivante :

$$pH = pK_{0,5} - m \log\left(\frac{1-\alpha}{\alpha}\right)$$

où α est le degré de neutralisation, $K_{0,5}$ est la constante de dissociation à $\alpha=0,5$ et m le paramètre polyélectrolyte. Ce dernier reflète la force des interactions électrostatiques intramoléculaires liées à la présence des fonctions ionisées voisines et au potentiel créé par des charges plus éloignées. Lorsque ces interactions disparaissent, m tend vers 1 (cas des fonctions acide isolées).

Les diagrammes de Henderson-Hasselbach sont représentés sur la figure 9.

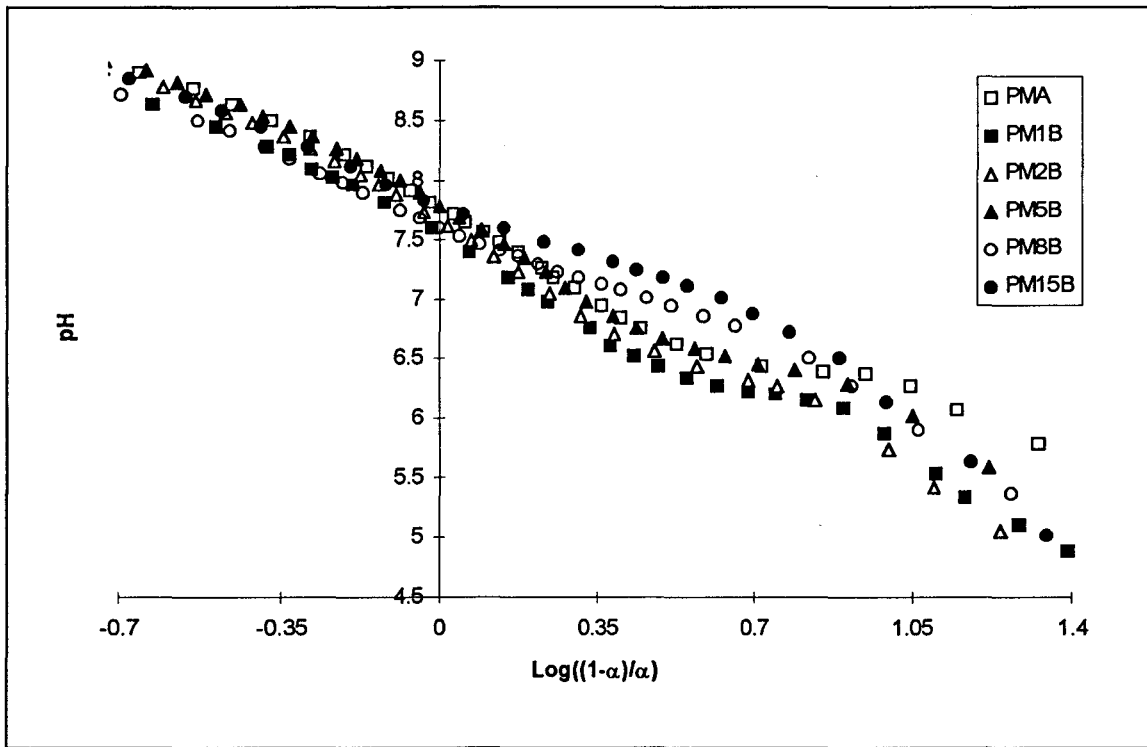


Figure 9 : Diagrammes de Hendersson-Hasselbach de PMA et des différents copolymères PMA-PMB en l'absence de sel.

La figure 10 montre l'influence du sel sur la courbe de Hendersson-Hasselbach du polymère PM8B.

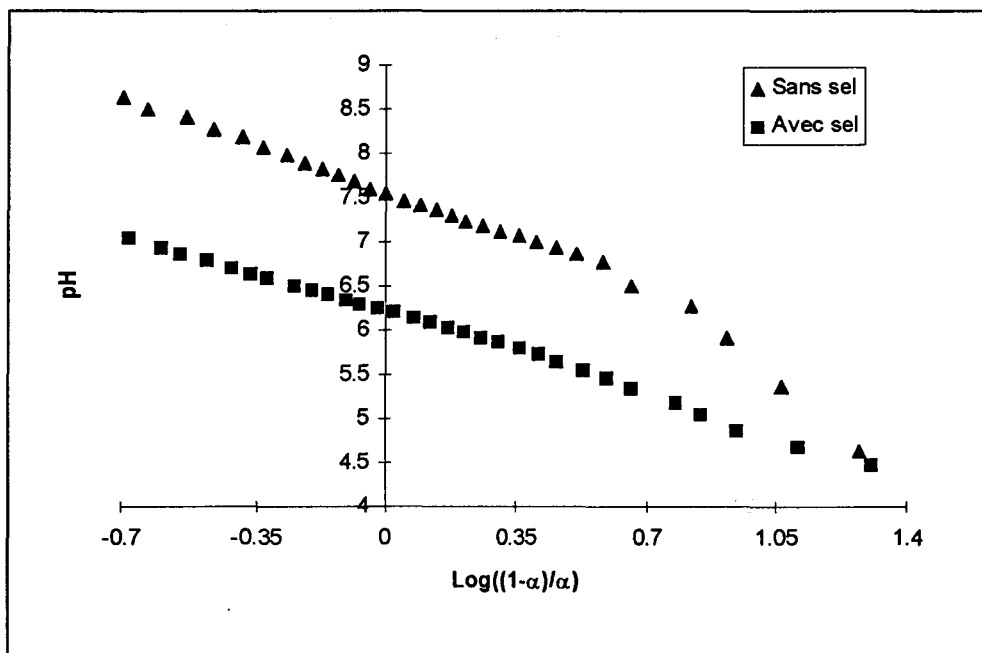


Figure 10 : Diagrammes de Hendersson-Hasselbach de PM8B en l'absence et en présence de sel.

Les cassures de ces courbes nous donnent les valeurs de α_i (taux d'ionisation du polymère lorsque celui-ci commence à s'étendre) et de α_f (taux d'ionisation du polymère lorsque celui-ci est totalement étendu) (figure 11).

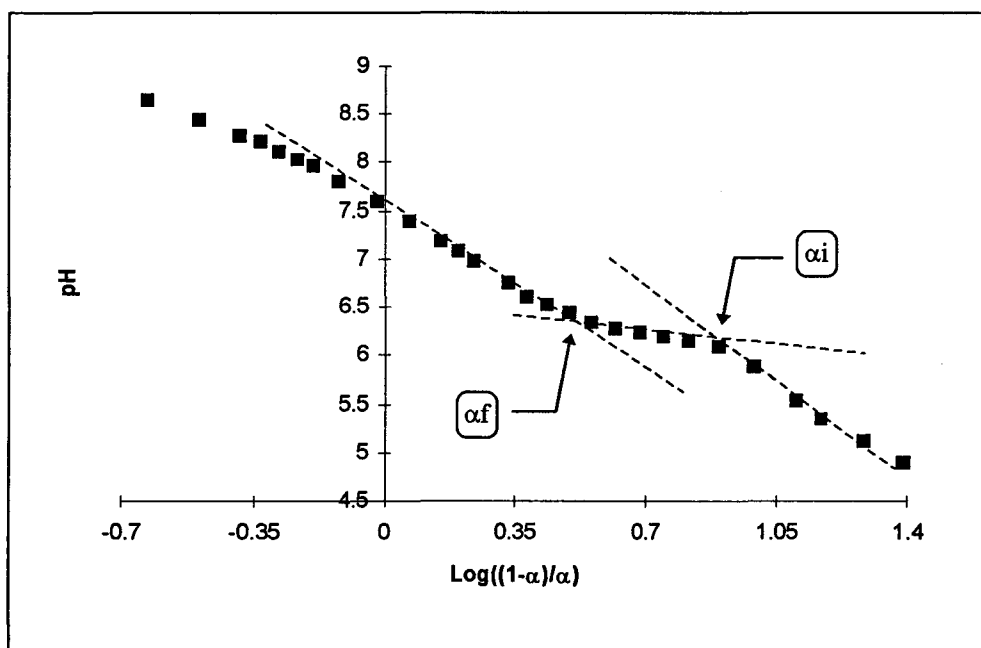


Figure 11 : Détermination des taux d'ionisations caractéristiques à partir du diagramme de Hendersson-Hasselbach. Exemple de PM1B.

Ces différentes courbes (figure 4 à figure 10) permettent de déterminer pour chacun des polymères plusieurs termes fondamentaux (figure 12) :

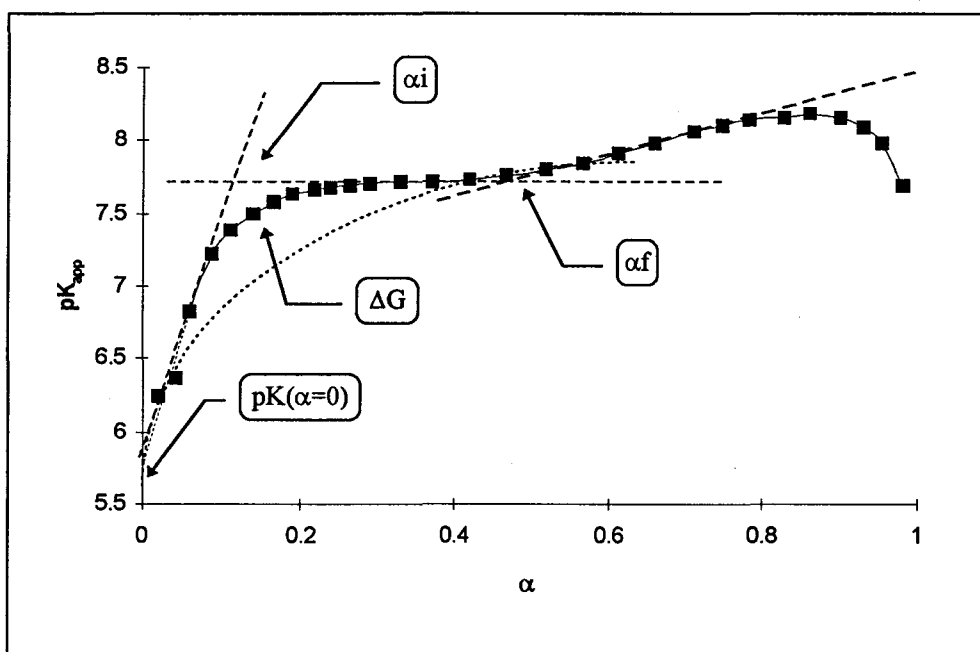


Figure 12 : Détermination des différents paramètres caractéristiques potentiométriques. Exemple de PM15B.

❶ ΔG est l'énergie libre associée à la transition conformationnelle. Plus cette valeur est grande, plus la structure globulaire est stable. Elle est obtenue en mesurant l'aire comprise entre la courbe expérimentale (en trait plein) et la courbe extrapolée à partir de la conformation étendue (en pointillés) [1,8].

❷ α_i est le taux d'ionisation à partir duquel les chaînes de polymère commencent à s'étendre, α_f est le taux d'ionisation à partir duquel les chaînes de polymère sont totalement étendues.

❸ pK ($\alpha=0$) est le pK apparent à ionisation nulle, c'est-à-dire le pK du polyacide supposé non chargé. Il est obtenu par extrapolation à partir des valeurs de $\alpha < \alpha_i$ sans se préoccuper des valeurs de pK dues à l'autoionisation des chaînes.

❹ pK ($\alpha=0,5$) est le pK du polyacide déterminé comme dans le cas des petites molécules.

1.1.2. Résultats

Déterminons les valeurs de ces divers paramètres en l'absence et en présence de sel pour chacun de nos polymères :

❶ Les valeurs de ΔG (figure 13).

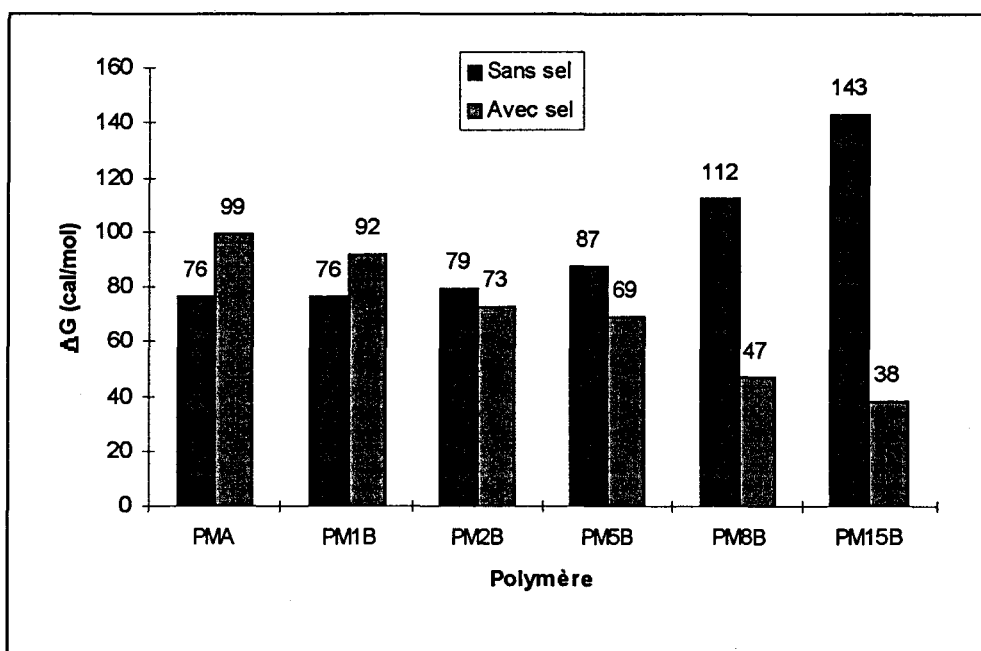


Figure 13 : Valeurs de ΔG (cal/mol) de PMA et des différents copolymères PMA-PMB en l'absence et en présence de sel.

■ En l'absence de sel, on constate que ΔG augmente avec le taux de benzyles. La structure des polymères dans l'eau est donc d'autant plus compacte que le taux de benzyles (donc le caractère hydrophobe) est élevé.

Au laboratoire une étude précédente avait calculé, sur un copolymère à 15 % benzylé similaire à notre PM15B, les changements enthalpiques et entropiques lors de la transition conformationnelle en mesurant l'influence de la température sur ΔG . Ces deux valeurs sont $\Delta H = +110 \pm 20 \text{ cal.mol}^{-1}$ et $\Delta S = -0,1 \pm 0,1 \text{ cal.}^{\circ}\text{C}^{-1}.\text{mol}^{-1}$ [9]. Dans la littérature, une étude a montré que la variation d'entropie de PMA est $\Delta S = +0,2 \text{ cal.}^{\circ}\text{C}^{-1}.\text{mol}^{-1}$ [1,10]. Donc, la stabilisation de la structure compacte des copolymères PMA-PMB avec l'augmentation du taux de groupes benzyles a une origine entropique puisque la variation de ΔH est défavorable quand on passe de PMA à PM15B (tableau 1).

| Paramètre thermodynamique | PMA | PM15B |
|---|-------------------|----------|
| $\Delta H \text{ (cal.mol}^{-1}\text{)}$ | +138 ^a | +110 [9] |
| $\Delta S \text{ (cal.}^{\circ}\text{C}^{-1}.\text{mol}^{-1}\text{)}$ | +0.2 [1,10] | -0.1 [9] |
| $\Delta G \text{ (cal.mol}^{-1}\text{)}$ | +78 | +143 |

Tableau 1 : Paramètres thermodynamiques de la transition conformationnelle de PMA et de PM15B dans l'eau. ^a : calculé à partir des valeurs de ΔS et ΔG .

La diminution de ΔS quand on passe de PMA à PM15B est principalement due à l'effet important de la structuration de l'eau autour des groupes benzyliques lorsque ceux-ci sont exposés à l'eau. Des variations similaires de ΔS ont déjà été reportés dans la littérature pour des copolymères dont le caractère hydrophobe augmente [11].

■ En présence de sel, les valeurs de ΔG sont globalement plus faibles et décroissent lorsque le taux de benzyles augmente. Ce qui est surprenant si on considère que le fait d'avoir ajouté du sel dans les solutions de polymère doit diminuer les répulsions électrostatiques entre les carboxylates par effet d'écran, et par conséquent le volume hydrodynamique des chaînes. Toutefois, il ne faut pas oublier que ΔG est une variation d'enthalpie libre entre des conformères *supposés non chargés*, donc est indépendant des interactions électrostatiques.

Ce résultat s'explique probablement encore ici en terme de variation d'entropie (tableau 2).

| Paramètre thermodynamique | PMA | PM15B |
|---|------------------------|----------|
| ΔH (cal.mol ⁻¹) | +60 ^a | +190 [9] |
| ΔS (cal.°C ⁻¹ .mol ⁻¹) | -0.13 ^b [1] | +0.5 [9] |
| ΔG (cal.mol ⁻¹) | +99 | +40 |

Tableau 2 : Paramètres thermodynamiques de la transition conformationnelle de PMA et PM15B en présence de NaClO₄ à 0,1 M. ^a : calculé à partir des valeurs de ΔS et ΔG et en supposant une valeur de ΔS similaire pour NaClO₄ à 0,1M. ^b : dans NaCl à 0,5 M.

La variation d'entropie de PM15B lors de la transition conformationnelle est beaucoup plus élevée (tableau 2 : $\Delta S=+0,5$ cal.°C⁻¹.mol⁻¹) que celle dans l'eau pure (tableau 1 : $\Delta S=-0,1$ cal.°C⁻¹.mol⁻¹), car l'eau reste bien structurée autour des ions et l'effet des groupes benzyles est nettement moins sensible. Dans le cas de PMA, la diminution de ΔS est due à une meilleure structuration de l'eau autour des ions.

D'autre part, ΔS augmente quand on passe de PMA à PM15B, tandis que ΔH augmente fortement. La diminution de ΔG résulte à la fois de l'augmentation de ΔH et de l'augmentation de ΔS , et est donc principalement due à la variation d'entropie ($\Delta G=\Delta H-T\Delta S$).

② Les valeurs de α_i et α_f (tableau 3 et figure 14).

| Polymère | Sans sel | | | Avec sel | | |
|----------|------------|------------|---------------------|------------|------------|---------------------|
| | α_i | α_f | $\alpha_f-\alpha_i$ | α_i | α_f | $\alpha_f-\alpha_i$ |
| PMA | 0.07 | 0.20 | 0.13 | 0.13 | 0.37 | 0.24 |
| PM1B | 0.09 | 0.22 | 0.13 | 0.14 | 0.42 | 0.28 |
| PM2B | 0.11 | 0.28 | 0.17 | 0.14 | 0.42 | 0.28 |
| PM5B | 0.10 | 0.27 | 0.17 | 0.15 | 0.41 | 0.26 |
| PM8B | 0.13 | 0.43 | 0.30 | 0.21 | 0.50 | 0.29 |
| PM15B | 0.15 | 0.51 | 0.36 | 0.25 | 0.62 | 0.37 |

Tableau 3 : Valeurs des différents taux d'ionisation de PMA et des copolymères PMA-PMB en l'absence et en présence de sel.

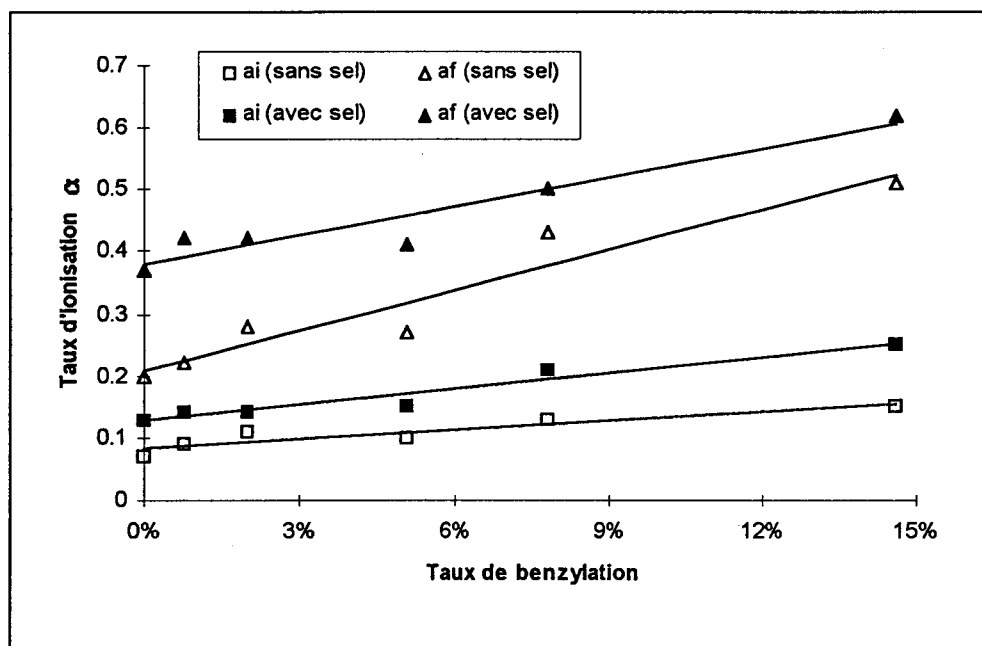


Figure 14 : Evolution des différents taux d'ionisation en fonction du taux de benzylation en l'absence et en présence de sel.

■ En l'absence de sel, on constate que les deux taux d'ionisation ainsi que leur différence augmentent avec le taux de benzyles, traduisant à la fois l'action stabilisatrice des interactions hydrophobes et la diminution concomitante des interactions électrostatiques par réduction de la distance moyenne entre les charges. Il faut donc ioniser de plus en plus pour :

- Commencer à détruire la structure compacte (α_i augmente)
- Etendre totalement les chaînes de polymère (α_f augmente)
- Détruire complètement les interactions hydrophobes ($\alpha_f - \alpha_i$ augmente)

Alors que les chaînes de PMA sont totalement étendues dès qu'un cinquième des groupes carboxyles est ionisé, c'est la moitié des groupes carboxyles qu'il faut ioniser pour étendre complètement les chaînes de PM15B, qui est le copolymère le plus benzylé. Les interactions hydrophobes sont donc bien d'autant plus importantes que le polymère est fortement benzylé.

■ En présence de sel, les mêmes remarques peuvent être formulées. Toutefois, les valeurs de α_i et de α_f sont supérieures. L'effet d'écran généré par l'addition d'ions Na^+ fait qu'il faut davantage ioniser les groupes carboxyliques pour étendre les chaînes de polymère. De même, la différence $\alpha_f - \alpha_i$ est plus grande, ce qui signifie que la transition est moins coopérative.

③ Les valeurs de pK ($\alpha=0$) et pK ($\alpha=0,5$) (tableau 4 et figure 15).

| Polymère | Sans sel | | Avec sel | |
|----------|------------------|---------------------|-------------------|---------------------|
| | pK($\alpha=0$) | pK ($\alpha=0,5$) | pK ($\alpha=0$) | pK ($\alpha=0,5$) |
| PMA | 6.06 | 7.78 | 5.32 | 5.86 |
| PM1B | 5.77 | 7.55 | 5.30 | 5.82 |
| PM2B | 5.75 | 7.72 | 5.26 | 5.76 |
| PM5B | 5.87 | 7.80 | 5.28 | 5.88 |
| PM8B | 5.82 | 7.50 | 5.38 | 5.96 |
| PM15B | 5.76 | 7.67 | 5.60 | 6.07 |

Tableau 4 : Valeurs des différents pK de PMA et des copolymères PMA-PMB en l'absence et en présence de sel.

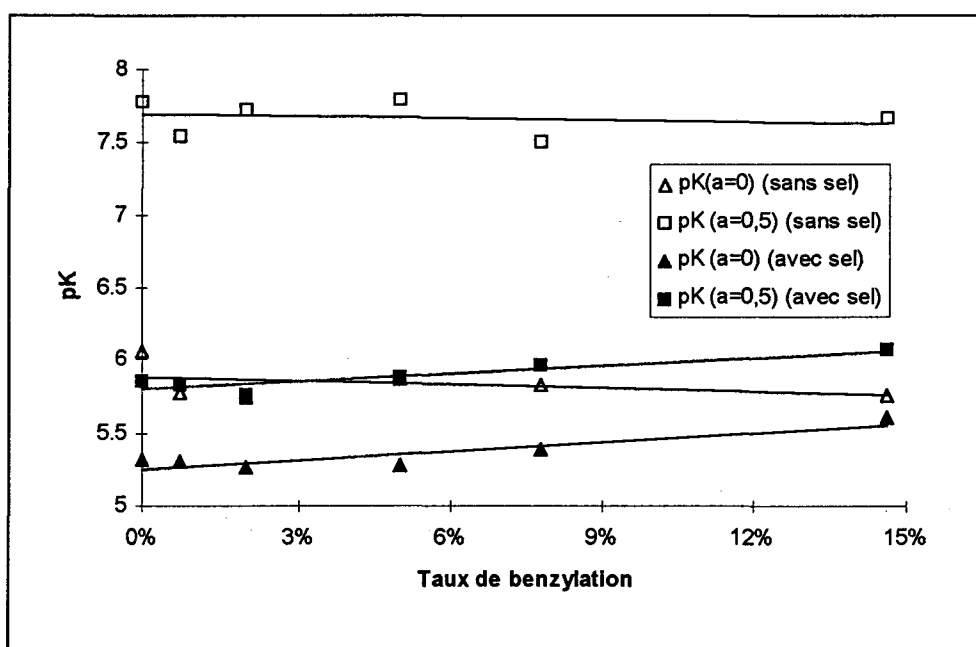


Figure 15 : Evolution des différents pK en l'absence et en présence de sel en fonction du taux de benzylation.

■ En l'absence de sel, le pK à ionisation nulle est de l'ordre de 6,1 pour le PMA et de l'ordre de 5,8 pour les copolymères benzylés. Ce résultat pourrait indiquer que la présence des groupes benzyliques engendre une diminution de la constante diélectrique locale et une réduction de la distance moyenne entre les groupes chargés.

Lorsque $\alpha=0,5$, le pK varie entre 7,5 et 7,8 selon le polymère.

■ Les valeurs des pK sont nettement plus basses en présence de sel. Deux explications sont possibles :

- L'addition de sel écrante les interactions entre les charges du polycarboxylate, donc le stabilise et renforce ainsi l'acidité du polymère.
- Le même effet d'écrantage facilite la déprotonation des fonctions acide et augmente ainsi la force du polyacide.

1.2. Etude viscosimétrique

L'étude viscosimétrique de nos polymères permettra de mettre en évidence la transition conformationnelle induite par le pH [6,12,13] ainsi que l'effet bien connu de polyélectrolyte qui se produit à faible concentration en polymère [12,13].

1.2.1. En fonction du pH

On mesure d'abord la viscosité réduite des différents polymères dans l'eau à une concentration de 40 mg pour 100 ml d'eau. Une étude similaire est faite à pH basique (solution tampon TRIS à pH=9,5) à la même concentration en polymère. Les résultats sont regroupés sur la figure 16.

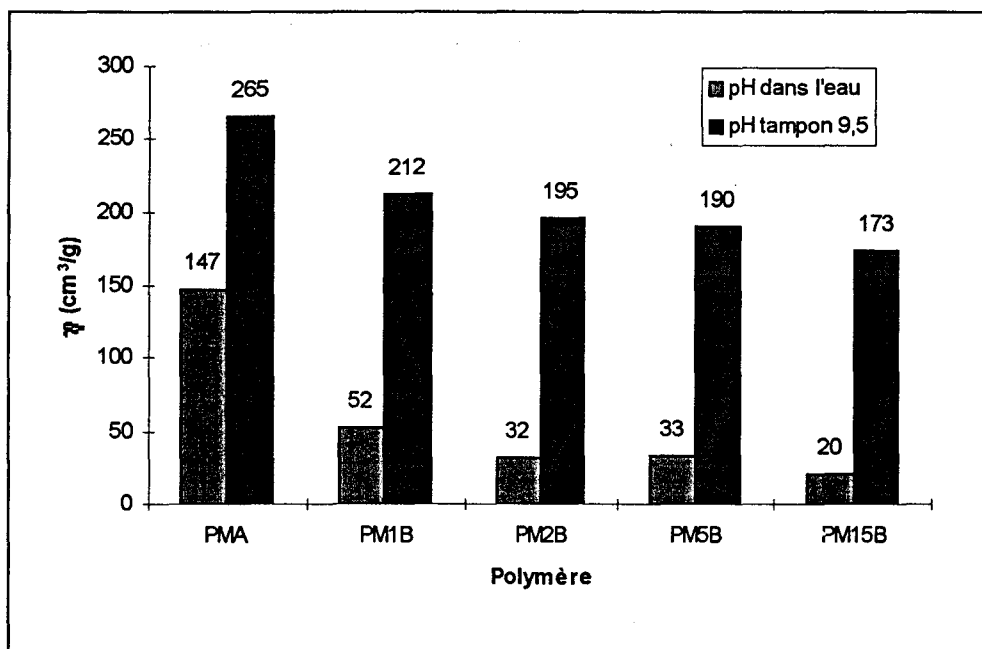


Figure 16 : Valeurs de la viscosité réduite des différents polymères à pH acide (dans l'eau) et à pH basique (tampon TRIS 9,5).

■ La viscosité chute brutalement de PMA à PM1B pour ensuite diminuer beaucoup plus faiblement, même à pH basique. Les interactions hydrophobes jouent donc encore un rôle à pH élevé.

Plus le taux de benzylation est élevé, plus la viscosité réduite du polymère est faible, et ceci indépendamment du pH. Ce résultat confirme encore le fait que la structure compacte est d'autant plus accentuée que les interactions hydrophobes sont importantes.

A pH basique, les valeurs de viscosité sont plus grandes car les répulsions ioniques entre les carboxylates font étendre les chaînes de polymère. Toutefois ces valeurs sont plus faibles que celles auxquelles on pouvait s'attendre, car la présence de sel (solution tampon) fait écran aux répulsions électrostatiques, et donc limite l'extension des chaînes.

■ A pH acide et en présence de sel (NaClO_4) à 0,3 M et à même concentration en polymère, on constate que la viscosité chute, passant de 147 à 9 cm^3/g pour PMA, de 20 à 5 cm^3/g pour PM15B, et de 2117 à 69 cm^3/g pour PAA. La même étude a été faite à pH basique (solution tampon TRIS à pH=9,5) avec une concentration en sel de 0,5 M. Là aussi, la viscosité chute, passant en effet de 265 à 64,9 cm^3/g pour PMA, de 195 à 53 cm^3/g pour PM2B, et de 173 à 56 cm^3/g pour PM15B.

L'effet d'écran du sel implique un repliement des chaînes, donc une diminution de la viscosité, ce qui est conforme à ce qui est observé dans la littérature [14]. La chute est cependant plus faible pour les polymères les plus compacts.

A fin de mettre en évidence la transition conformationnelle induite par le pH, on va mesurer la viscosité réduite en fonction du pH des deux polymères aux propriétés les plus différentes : PMA et PM15B (tableau 5 et figure 17). La concentration en polymère est de 100 mg pour 100 ml d'eau.

| PMA | | PM15B | |
|------|-----------------------------------|-------|-----------------------------------|
| pH | η (cm^3/g) | pH | η (cm^3/g) |
| 4.7 | 98 | 4.1 | 11 |
| 5.45 | 191 | 6.1 | 109 |
| 6.6 | 941 | 7.2 | 772 |
| 7.6 | 1040 | 7.95 | 835 |
| 8.5 | 921 | 8.75 | 753 |
| 9.6 | 786 | 10 | 550 |

Tableau 5 : Valeurs de viscosité réduite à différents pH de PMA et de PM15B.

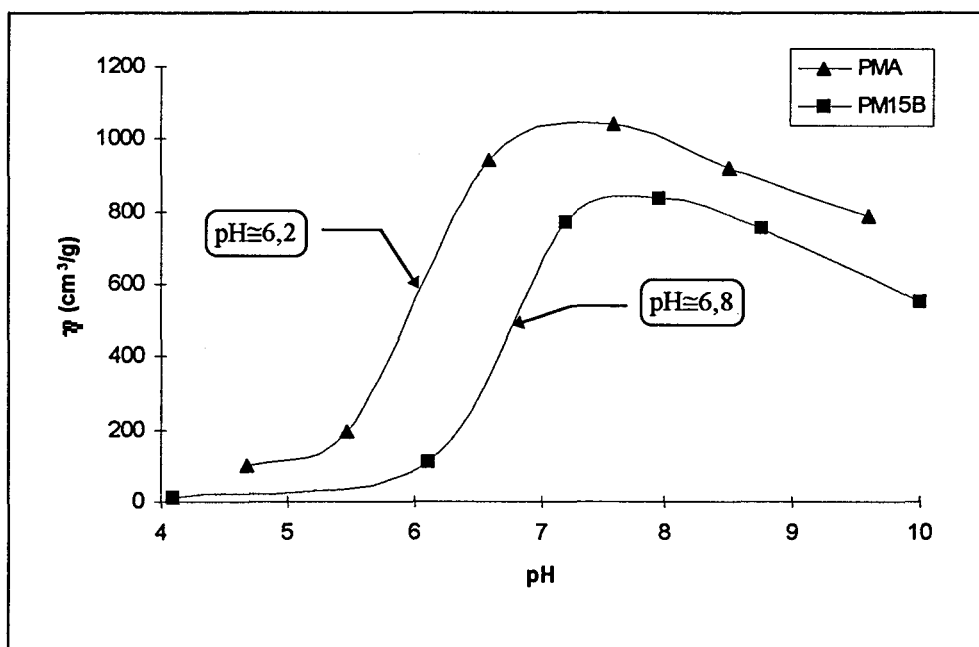


Figure 17 : Courbes de viscosité réduite en fonction du pH de PMA et de PM15B.

On obtient des courbes, dont l'allure est tout-à-fait comparable à celles relevées dans la littérature [5,6,12].

On voit à l'évidence que ces deux polymères présentent une transition conformationnelle induite par le pH. A pH acide, la viscosité est faible et le polymère se trouve dans une conformation compacte. Au fur et à mesure que le pH augmente, la viscosité augmente, traduisant l'extension des chaînes de polymère. Au-delà de pH=8 et quand on augmente le pH, la viscosité rediminue légèrement : la concentration en contre-ion Na⁺ est suffisante pour faire écran aux interactions électrostatiques ; les chaînes se replient donc un peu.

La transition s'effectue à pH plus élevé pour PM15B (pH=6,8) que pour PMA (pH=6,2), ce qui est conforme aux résultats potentiométriques, à savoir qu'il faut ioniser davantage pour détruire la structure compacte et étendre les chaînes d'un polymère d'autant plus riche en groupes benzyles.

Les résultats montrent également que le polymère PM15B est environ 8 fois plus compact que PMA à pH=4.

A titre de comparaison, on a étudié l'influence du pH sur la viscosité du PAA qui est bien connu pour ne pas avoir de structure compacte (tableau 6 et figure 18). La concentration utilisée est de 75 mg pour 100 ml d'eau.

| pH | η (cm ³ /g) |
|-----|-----------------------------|
| 3.2 | 1400 |
| 4.4 | 2270 |
| 5.7 | 3060 |
| 7.4 | 3740 |
| 9.0 | 4030 |

Tableau 6 : Valeurs de viscosité en fonction du pH de PAA.

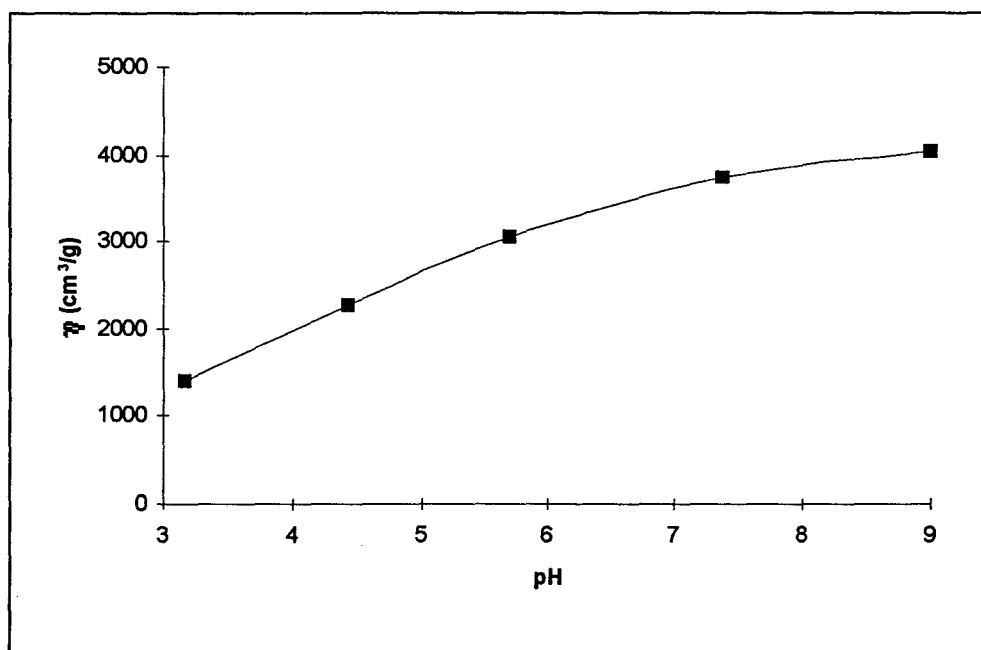


Figure 18 : Courbe de viscosité en fonction du pH de PAA.

Le rapport $\frac{\eta_{\max}}{\eta_{\min}}$ qui est le rapport η (pH basique) sur η (pH acide) est de l'ordre de 10 pour PMA, de 80 pour PM15B, et seulement de 3 pour le PAA.

Le faible rapport de 3 pour le PAA est lié aux seules répulsions électrostatiques engendrées par l'ionisation des groupes carboxyles. Il est bien connu qu'il n'y a pas de transition conformationnelle induite par le pH pour le PAA. Pour les polymères PMA et PMA-PMB, le rapport est nettement plus élevé, car les interactions hydrophobes les rendent à pH acide d'autant plus compacts.

1.2.2. En fonction de la concentration en polymère

L'effet de polyélectrolyte peut être déterminé à partir de l'influence de la concentration en polymère sur la viscosité [12,13].

On effectue les mesures en solution aqueuse (afin d'éviter l'influence importante du sel apporté par l'utilisation d'un pH tampon) à un pH situé entre 4 et 5. Les résultats sont regroupés dans le tableau 7 et la figure 19.

| PMA | | PM15B | |
|-----------|-----------------------------|-----------|-----------------------------|
| C (mg/dl) | η (cm ³ /g) | C (mg/dl) | η (cm ³ /g) |
| 100 | 98 | 100 | 11 |
| 40 | 147 | 40 | 20 |
| 26.7 | 160 | 28.6 | 24 |
| 20 | 173 | 22.2 | 30 |
| 13.3 | 199 | 15.4 | 37 |
| 6.7 | 253 | 8.7 | 58 |
| 4 | 300 | 3.8 | 87 |
| 2 | 370 | 1.9 | 126 |

Tableau 7 : Valeurs de viscosité en fonction de la concentration de PMA et de PM15B.

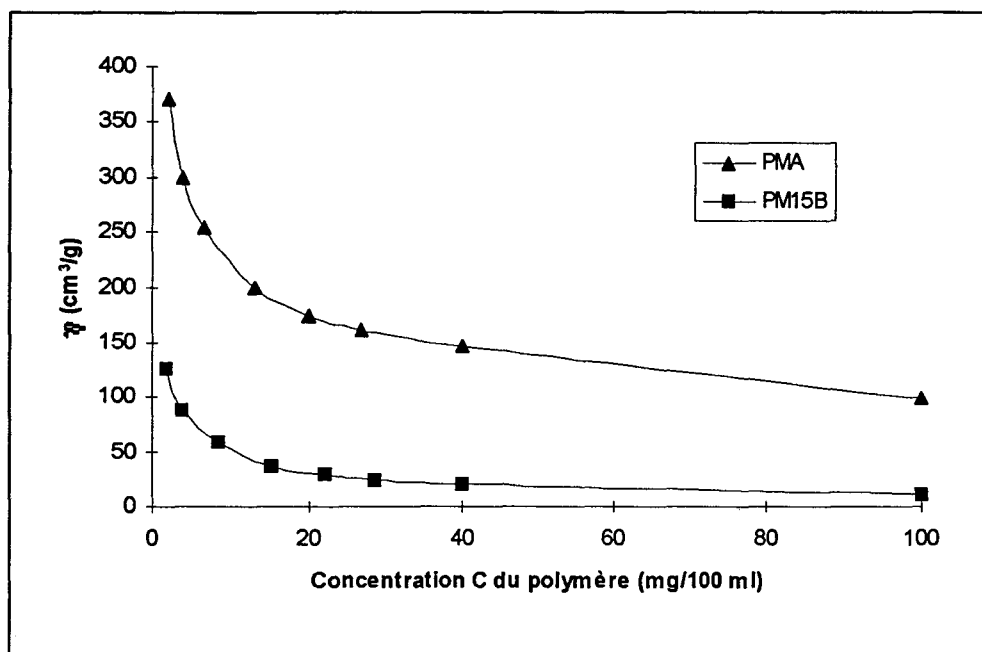


Figure 19 : Courbes de viscosité en fonction de la concentration de PMA et de PM15B.

La viscosité réduite augmente exponentiellement avec la dilution, ce qui est tout-à-fait conforme à ce qu'on sait des polyélectrolytes en général.

Pour tous les polymères étudiés précédemment (PAA, PMA et PMA-PMB), l'effet de polyélectrolyte a également été démontré à pH basique (solution tampon TRIS à pH=9,5).

En présence de sel, l'effet de polyélectrolyte doit disparaître, et la viscosité du polymère en fonction de sa concentration doit donc demeurer invariable. C'est bien le cas : la viscosité du PMA à pH basique et en présence de sel à 0,5 M reste à 65 cm³/g, quelle que soit la concentration en polymère. Le même phénomène est observé avec tous les autres polymères et peut permettre la détermination de la masse moléculaire moyenne si les paramètres k et α de la relation de **Mark-Houwink** sont connus (première partie).

1.3. Etude fluorimétrique

1.3.1. Fluorescence intrinsèque

1.3.1.1. Rappels théoriques

■ Généralités :

Les substances dites « photoluminescentes » ont la propriété de réémettre sous forme lumineuse une partie de l'énergie acquise par l'absorption d'un rayonnement lumineux.

Le spectre de la lumière émise se situe le plus souvent dans le domaine ultraviolet-visible et il se trouve toujours déplacé, par rapport au spectre d'absorption, vers les plus grandes longueurs d'onde.

Suivant la nature chimique et physique du composé et selon la température, on peut observer divers phénomènes de luminescence, dont les principaux sont la fluorescence et la phosphorescence qui se distinguent soit par le domaine de longueur d'onde de l'émission, soit par l'intervalle de temps qui sépare l'émission de l'absorption (durée de vie) (figure 20).

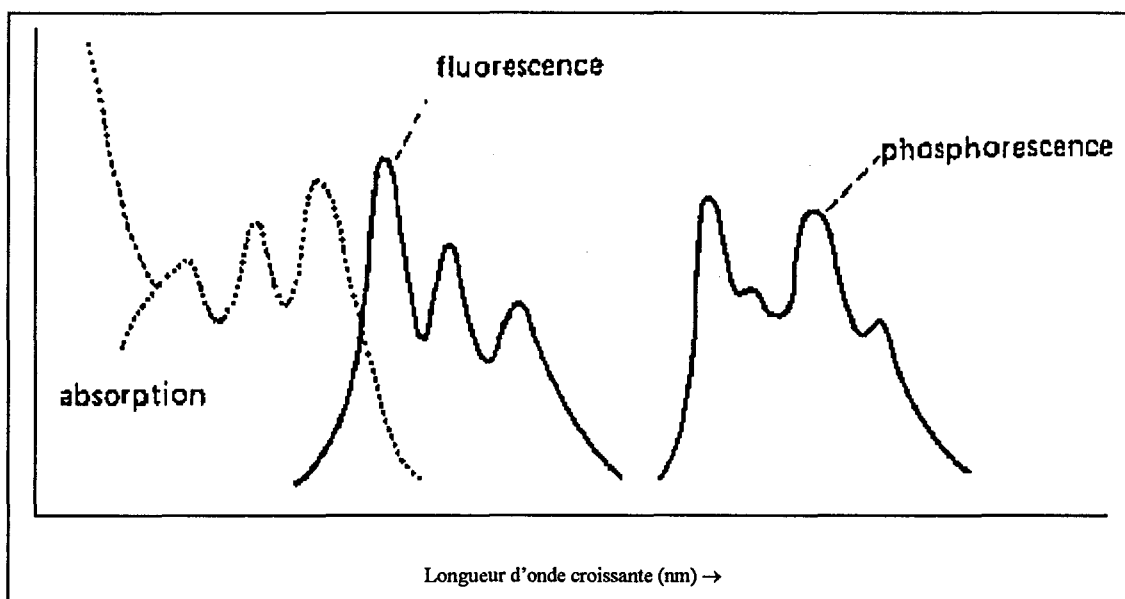


Figure 20 : Position relative des spectres d'absorption, de fluorescence et de phosphorescence.

La fluorescence se caractérise par un spectre d'émission dont les plus courtes longueurs d'onde sont égales ou même inférieures aux plus grandes longueurs d'onde du spectre d'absorption. La durée de vie de la fluorescence est toujours très courte : de 10^{-10} à 10^{-8} seconde.

Lorsqu'une substance présente de la phosphorescence, celle-ci se manifeste essentiellement à l'état solide, à basse température. La phosphorescence se différencie de la fluorescence, tout d'abord par la position de son spectre qui est déplacé vers les plus grandes longueurs d'onde. En outre, la durée de vie de phosphorescence est considérablement plus longue : de 10^{-4} à quelques secondes.

L'intensité des phénomènes peut être diminuée par certains composés appelés inhibiteurs. En particulier, pour certains systèmes, l'oxygène possède un effet inhibiteur important, ce qui oblige à dégazer soigneusement les solutions à étudier.

Les spectres de fluorescence et de phosphorescence décrits ci-dessus sont, comme d'ailleurs les spectres d'absorption, caractéristiques pour un composé pour des conditions expérimentales déterminées. Ces spectres peuvent donc être utilisés pour identifier des substances et effectuer une analyse qualitative. D'autre part l'intensité de l'émission est, pour des conditions expérimentales données, proportionnelle à la concentration du produit, ce qui rend possible une analyse qualitative.

Pour de telles analyses, qualitatives ou quantitatives, les méthodes de luminescence présentent, par rapport aux techniques d'absorption, l'intérêt d'une sensibilité environ 1000 fois

supérieure. Ce gain considérable en sensibilité résulte de ce que la longueur d'onde d'observation diffère de plusieurs dizaines de nanomètres de la longueur d'onde d'excitation. Le domaine d'application de la luminescence ne se limite pas, en réalité, à l'aspect analytique. Ainsi les phénomènes de fluorescence et de phosphorescence dépendent étroitement de l'environnement de la molécule considérée et des conditions expérimentales (nature chimique du solvant, pH, viscosité, concentration, température, ...). Le déplacement des spectres de luminescence et leurs intensités permettent d'analyser au niveau électronique, l'état de la molécule et ses interactions avec le milieu.

■ Etude du phénomène de fluorescence (figure 21) :

Si l'on considère les énergies associées aux différents états électroniques d'une molécule, on peut construire un diagramme des niveaux énergétiques. Chaque niveau est séparé en un certain nombre de sous-niveaux correspondant aux divers états de vibration de la molécule. Le niveau d'énergie le plus faible correspond à l'état fondamental de la molécule (noté S_0), les autres sont relatifs aux états excités. Parmi ceux-ci, on distingue généralement deux catégories : les états singulet (S_i) et les états triplet (T_i). Les états singulet se caractérisent par le fait qu'ils peuvent être atteints directement à partir de l'état fondamental par absorption d'une longueur d'onde convenable. Au contraire, les états triplet ne peuvent pas être obtenus par absorption directe à partir du niveau fondamental ; ils résultent d'une transformation, interne à la molécule, à partir d'un état excité singulet.

La molécule étant supposée initialement dans le plus bas niveau vibrationnel de l'état fondamental, l'absorption d'un photon d'énergie convenable la fait passer dans l'un des niveaux vibrationnels d'un état excité donné. En réalité, des processus de reconversion d'énergie intramoléculaire ramènent la molécule au plus bas niveau vibrationnel du premier état excité singulet S_1 . Dans ce niveau, la molécule atteint une stabilité suffisante pour y demeurer, suivant les conditions, de 10^{-10} à 10^{-8} seconde. Le retour au plus bas niveau de l'état fondamental peut se faire de trois façons :

❶ Emission d'une radiation lumineuse ramenant la molécule à l'un des niveaux vibrationnels de l'état fondamental, suivie d'une reconversion d'énergie conduisant au plus bas niveau vibrationnel. Ce phénomène correspond à la fluorescence.

② Reconversion d'énergie soit au sein de la molécule, soit avec les autres molécules du milieu, sous forme d'énergie de rotation ou de vibration.

③ Transfert de l'énergie à une autre molécule qui passe alors, à son tour, dans un état électronique excité.

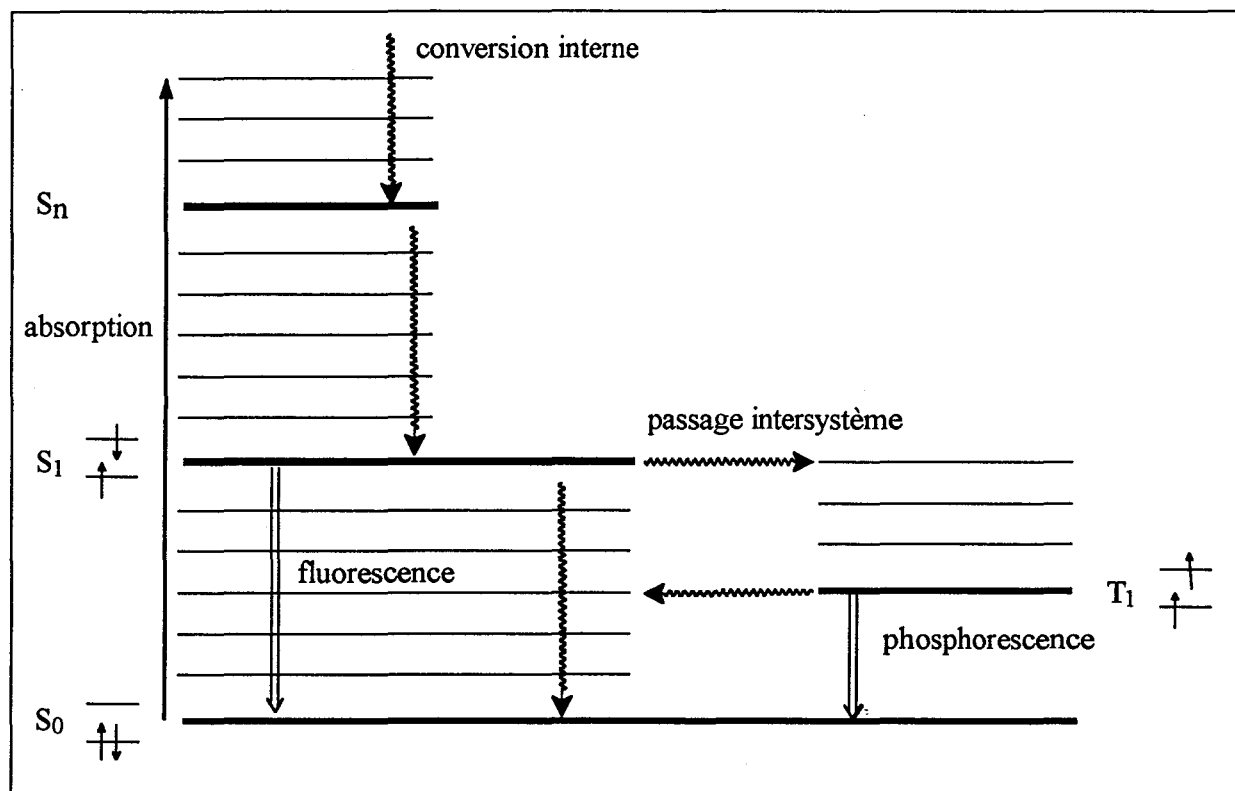


Figure 21 : Schéma de l'émission de fluorescence.

1.3.1.2. Résultats

Nos polymères possédant des groupes aromatiques, il peut être judicieux d'étudier leur fluorescence intrinsèque en fonction du pH. En effet, on peut s'attendre à des modifications des spectres de fluorescence liées à la structure compacte [12,13,15-24].

Les spectres de fluorescence seront réalisés en prenant 260 nm comme longueur d'onde d'excitation. C'est la longueur d'onde d'absorption des groupes aromatiques de nos polymères benzylés. La concentration en polymère est de 10,35 mg pour 100 ml d'eau.

Seul les spectres de fluorescence de PM15B (le plus riche en groupes fluorescents) est interprétable. Dans le cas des autres polymères, les intensités du monomère et de l'excimère restent peu perceptibles du bruit de fond. On ne peut donc malheureusement rien tirer de ces spectres sinon confirmer leur faible taux de substitution.

Trois pics apparaissent sur les spectres de fluorescence de PM15B (figure 22) :

- Un pic à 260 nm correspondant à la diffusion Rayleigh. Sa largeur et son intensité dépendent de beaucoup de facteurs dont le solvant, le pH, la concentration en polymère, et la taille des chaînes.

- Un pic à 286 nm correspondant à la raie d'émission du monomère, impliquant les motifs benzylés pris isolément.

- Un pic à 367 nm caractéristique de l'émission d'un excimère, impliquant deux motifs benzylés. Un excimère (excited dimer) est une entité qui se forme lorsqu'il se produit une interaction liante entre deux motifs dont l'un est électroniquement excité. Ces derniers doivent être, dans des plans parallèles, situés à une distance de 3 à 4 Å pour qu'un excimère se forme. Le rayonnement apparaît à une longueur d'onde supérieure à celle de la lumière émise par le monomère excité (figures 23 et 24).

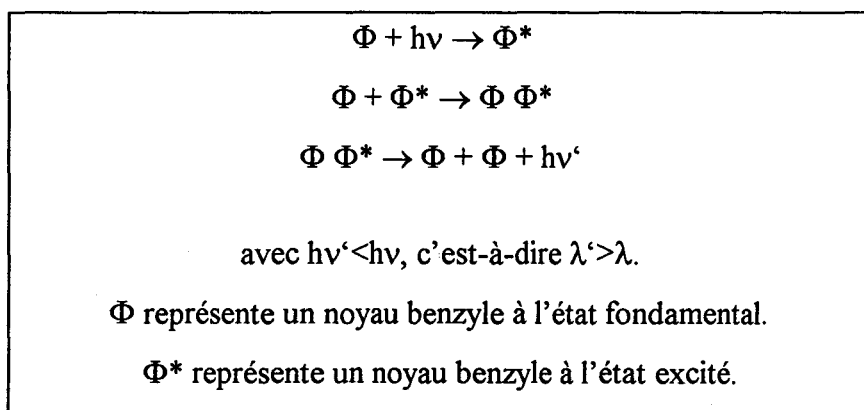


Figure 23 : Formation d'un excimère.

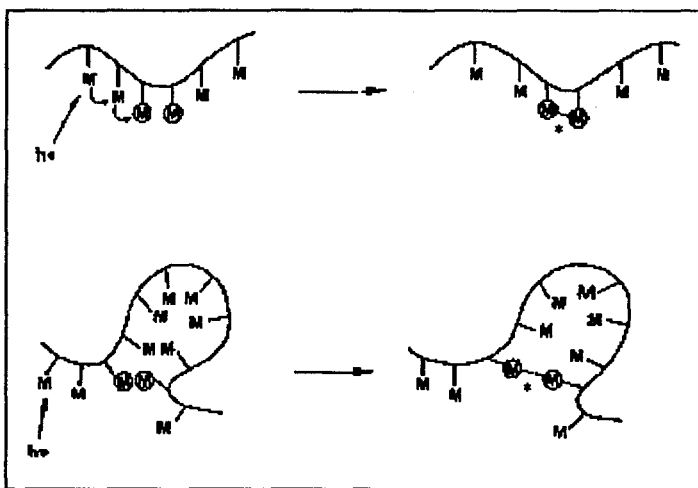


Figure 24 : Représentation schématique de la formation d'un excimère par migration d'énergie le long de la chaîne d'un polymère.

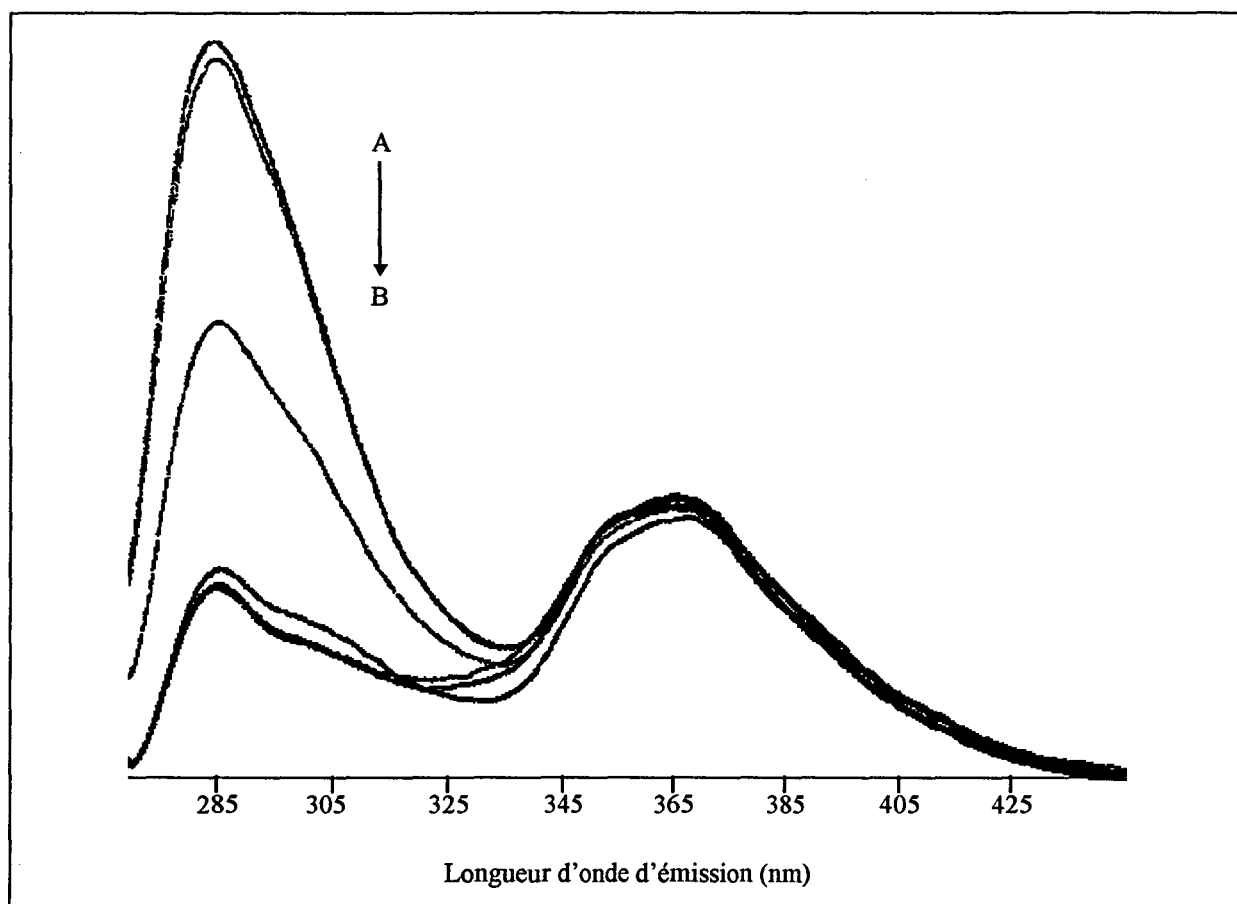


Figure 22 : Spectres de fluorescence intrinsèque de PM15B à différents pH.

Pour des raisons de clarté, six spectres seulement ont été représentés (pH croissant de A vers B).

Le tableau 8 et la figure 25 donnent les valeurs des intensités de l'émission du monomère à 286 nm (notée I_M) et de celle de l'excimère à 367 nm (notée I_E).

| pH | I_M | I_E | I_E/I_M |
|-------|-------|-------|-----------|
| 4.8 | 143 | 57 | 0.40 |
| 6.3 | 143 | 52 | 0.36 |
| 7.15 | 112 | 52 | 0.46 |
| 7.75 | 63 | 50 | 0.79 |
| 8.6 | 54 | 52 | 0.96 |
| 10.3 | 53 | 56 | 1.06 |
| 10.7 | 53 | 55 | 1.04 |
| 10.9 | 53 | 56 | 1.06 |
| 11.05 | 52 | 57 | 1.10 |
| 11.25 | 51 | 56 | 1.10 |
| 11.35 | 50 | 55 | 1.10 |

Tableau 8 : Valeurs des intensités de fluorescence en fonction du pH de PM15B.

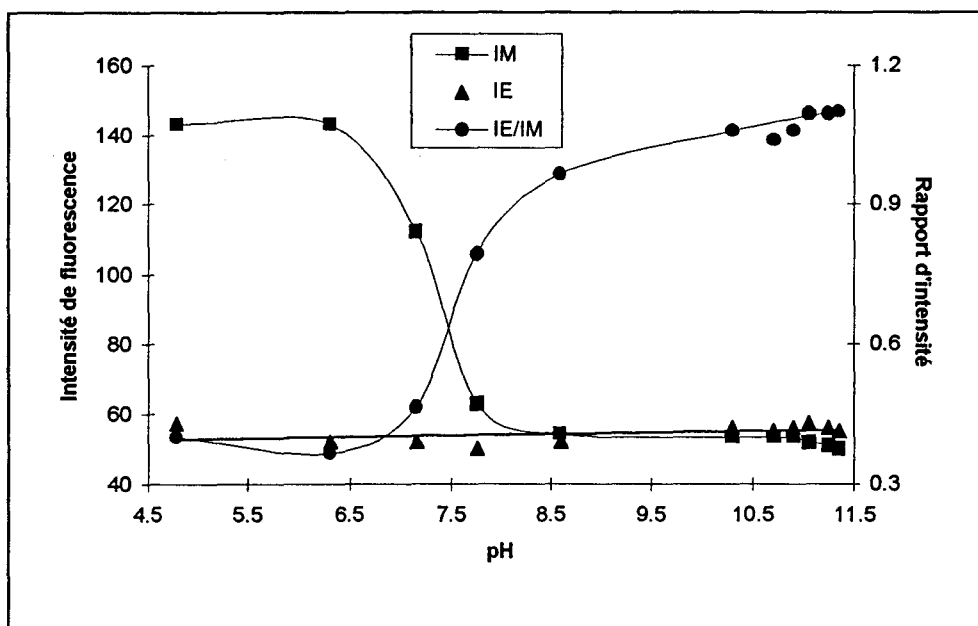


Figure 25 : Evolution des intensités de fluorescence en fonction du pH de PM15B.

L'intensité de l'excimère reste inchangée quel que soit le pH, tandis que l'intensité du monomère décroît brutalement autour de $\text{pH}=7,5$ quand le pH augmente. Cela voudrait dire que la mobilité rotationnelle des groupes benzyles augmente lorsque la conformation du polymère devient étendue, ce qui est probable.

Ce qui est surtout intéressant de remarquer, c'est comment varie le rapport I_E/I_M . On constate que plus le pH augmente, plus ce rapport est grand, une transition apparaissant autour de $\text{pH}=7,5$. Ceci peut sembler surprenant, car a priori, plus les benzyles sont proches, plus on a de chances de créer des excimères. C'est d'ailleurs le cas généralement observé dans la littérature, par exemple sur les copolymères d'acide maléique et de 2-isopropénylnaphtalène [23] ou d'acide maléique et de 2-vinylnaphtalène [24]. La transition à $\text{pH}\approx 7,5$ correspond aux phénomènes observés précédemment en potentiométrie ($\text{pH}\approx 7,5$ à $\alpha_f=0,5$) et en viscosimétrie (la viscosité réduite est maximale à $\text{pH}\approx 7,5$).

L'explication peut être la suivante :

■ A pH acide, le polymère PM15B a une structure tellement compacte que la plupart des noyaux benzyles ne parviennent pas à adopter la conformation spatiale requise pour permettre la formation d'excimère. En effet, pour que celui-ci puisse être créé, il faut que deux noyaux Φ et Φ^* soient parallèles entre eux et qu'une distance de 3,5 angströms les sépare.

■ Quand le pH augmente, le polymère commence à s'étendre à cause des répulsions ioniques entre les carboxylates formés. Les noyaux benzyles deviennent plus mobiles dans l'espace et le rapport I_E/I_M augmente.

Cette interprétation est corroborée par **Mc Cormick [12,20]**. Il montre en effet, par exemple sur un copolymère MA-NAEA (figure 26), une augmentation du rapport I_E/I_M et de la viscosité de la solution de polymère avec le pH [12], comme dans le cas de nos polymères. Il trouve une transition conformationnelle à $\text{pH}=7,5$ environ.

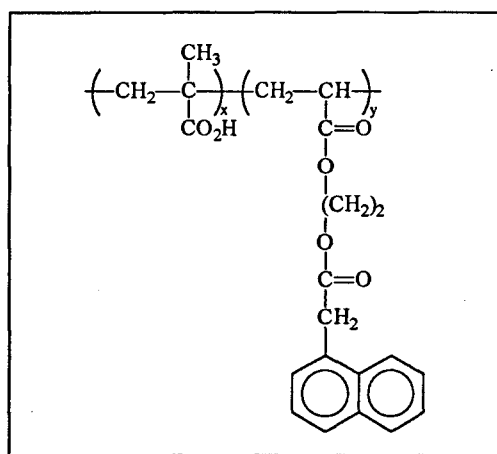


Figure 26 : Copolymère MA-NAEA (acide méthacrylique-acrylate de 2-(1-naphtylacétyl) éthyle).

Ce comportement est inhabituel pour des polyélectrolytes : en effet, une augmentation du volume hydrodynamique des chaînes de polymère est en général souvent associée à une diminution de la formation d'excimère. Au fur et à mesure que le pH augmente, les groupes carboxyliques s'ionisent et deviennent de plus en plus hydratés, formant une enveloppe chargée autour de la poche hydrophobe constituée par les unités aromatiques. Dans cet environnement hautement hydraté, il y a des associations entre groupes naphtyls, fournissant la séparation nécessaire minimale (3 à 4 Å) pour permettre la formation d'excimère. On peut penser que la distance relativement importante entre les groupes naphtyls et la chaîne principale aide à la formation d'excimère. On peut imaginer aussi qu'à bas pH, la plus forte densité de polymère, et par conséquent une plus faible mobilité, pourrait gêner la capacité de 2 chromophores à s'orienter de façon favorable pour la formation d'un excimère. Une mobilité accrue des chromophores permet une orientation de type coplanaire ou sandwich, tandis que des interactions hydrophobes maintiennent leur proximité les uns aux autres, expliquant l'augmentation de I_E/I_M observée.

1.3.2. Utilisation d'une sonde fluorescente

1.3.2.1. Rappels bibliographiques

L'analyse par sonde fluorescente est un outil important dans les études biophysiques de micelles [25] et de membranes [26,27]. L'utilisation du pyrène (figure 27) comme sonde fluorescente est particulièrement importante pour étudier les phénomènes de dispersion micellaire et phospholipidique, où l'inhibition de la fluorescence du pyrène monomère ainsi que les processus de formation d'excimère ont été examinés [28-31]. D'autres sondes neutres, comme le 9-méthyl anthracène [32] ou des sondes chargées, comme le Tris (2,2'-bipyridine) ruthénium (II) noté $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ [33,34], sont également utilisées.

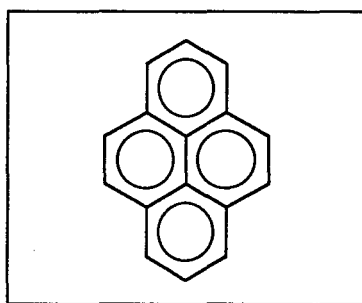


Figure 27 : Le pyrène.

Le pyrène utilisé comme sonde fluorescente a également la particularité de posséder des bandes de vibration dans le spectre de fluorescence de la partie monomère, qui sont fortement dépendantes de la polarité du solvant ou de l'environnement local dans lequel le pyrène se situe. En particulier, le rapport d'intensité de fluorescence des bandes de vibration appelées 3 et 1 (de longueur d'onde 385 nm et 374 nm respectivement) peut être utilisé comme une indication de la polarité de l'environnement du pyrène. Dans le cas des milieux structurés ou anisotropes, tels que dans les micelles, les membranes biologiques, les polymères ou les résines de polymère, le pyrène donne des renseignements sur la polarité à l'intérieur de ces microdomaines. Lorsque l'environnement est polaire, le rapport I_3/I_1 est généralement inférieur à 1, tandis qu'il est supérieur à 1 dans un environnement apolaire [35-37]. Cette méthode est utilisée par exemple pour déterminer la concentration micellaire critique de différentes solutions micellaires [37,38].

L'utilisation d'une sonde fluorescente capable de se dissoudre dans les poches hydrophobes d'un polymère compact peut donc s'avérer d'un grand secours pour les polymères ne possédant pas de groupes fluorescents ou des groupes qui fluorescent peu [39-44]. Pour un polymère n'adoptant pas de structure compacte, la sonde ne devrait pas observer de modification de la polarité locale en fonction du pH. En effet, dans le cas de l'acide polyacrylique (PAA), même sous forme acide, la polarité du microenvironnement du pyrène est similaire à celle dans l'eau, à savoir $I_3/I_1=0,63$, ce résultat confirme ceux donnés dans la littérature [35-37].

Le rapport (I_3/I_1) dépend fortement du pH [39-41]. En effet, quand le pH augmente, le pyrène dissout dans les poches hydrophobes se trouve expulsé dans l'eau du fait de l'extension des chaînes, et la polarité de l'environnement du pyrène augmente donc.

Pour un polymère possédant des groupes hydrophobes, comme par exemple des unités styrène, le caractère hydrophobe du microenvironnement du pyrène solubilisé dépend à la fois du taux de groupes hydrophobes et de la nature de ceux-ci. Par exemple, les domaines hydrophobes créés dans les copolymères acide acrylique-styrène (PAA-PSTY) sont nettement moins polaires que ceux existant dans les copolymères acide acrylique-méthacrylate de méthyle (PAA-PMMA), montrant la plus forte polarité des résidus MMA par rapport aux résidus STY.

1.3.2.2. Résultats

Puisque la fluorescence intrinsèque de nos polymères (surtout les moins riches en benzyles) est assez peu nette, on va utiliser une sonde fluorescente telle que le pyrène. L'intérêt d'utiliser une sonde neutre est d'éviter les interactions électrostatiques qui agissent sur la conformation des polymères.

Cette sonde va pouvoir être employée avec tous nos polymères, et elle sera en mesure de nous indiquer la polarité du milieu environnant grâce au rapport I_3/I_1 . En effet, on rappelle que plus ce rapport est grand, plus la polarité du milieu est faible. Si ce rapport est supérieur à 1, le milieu est considéré comme apolaire ; s'il est inférieur à 1, le milieu est considéré comme polaire.

Pour chaque polymère, on utilise une concentration en polymère de 25 mg pour 100 ml d'eau. On prépare plusieurs flacons d'un même polymère, puis on ajuste le pH de chacun d'eux à la

valeur désirée avec de la soude, et enfin on sature la solution en pyrène solide finement broyé. L'ensemble est mis sous forte agitation durant une semaine. Les spectres de fluorescence sont effectués sous azote après filtration des solutions.

Un spectre ultraviolet des solutions indique une longueur d'onde d'absorption maximale de 339 nm à pH acide et de 335 nm à pH basique. Ce sont donc ces longueurs d'onde qui seront utilisées comme longueurs d'onde d'excitation pour les spectres de fluorescence.

Le spectre de fluorescence présente, outre les raies dues à l'émission du monomère (entre autres les raies 1 et 3), une bande large à 460 nm correspondant à l'émission d'excimères. On appellera I_E l'intensité de cette dernière bande.

❶ Pour le PMA, les spectres de fluorescence sont représentés dans la figure 28. Les valeurs des intensités de fluorescence sont rassemblés dans le tableau 9 et la figure 29.

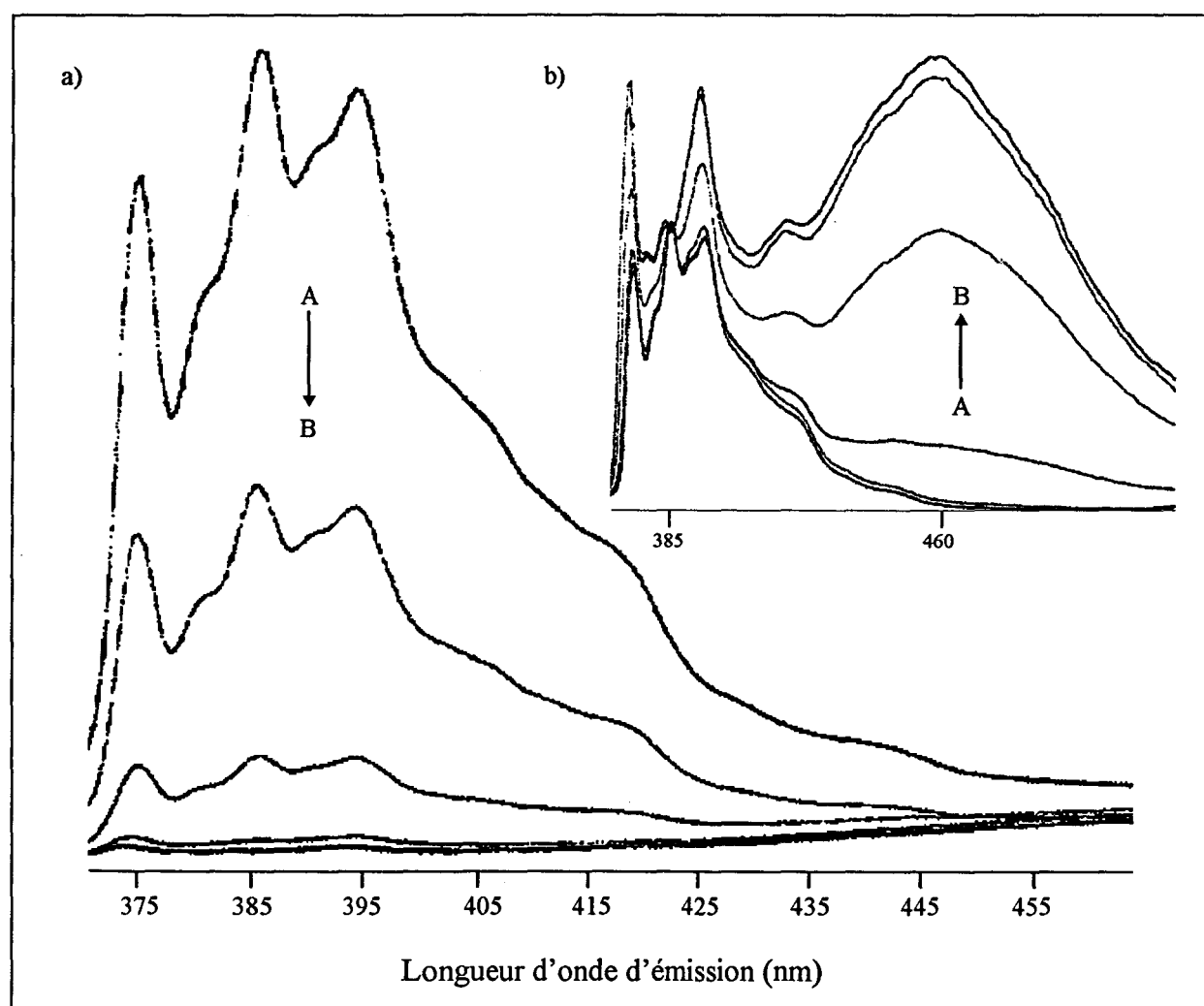


Figure 28 : Spectres de fluorescence du pyrène solubilisé dans une solution de PMA à différents pH.
a) : Spectres bruts et b) : Spectres normalisés par rapport à I_3 . (pH croissant de A vers B).

| pH | I_1 | I_3 | I_E | I_3/I_1 | I_E/I_1 |
|------|-------|-------|-------|-----------|-----------|
| 5.4 | 573 | 680 | 53 | 1.19 | 0.09 |
| 6 | 277 | 319 | 20.5 | 1.15 | 0.07 |
| 6.2 | 81 | 90 | 23.5 | 1.11 | 0.29 |
| 6.4 | 20 | 18 | 17.5 | 0.90 | 0.875 |
| 6.77 | 12 | 8.5 | 12.5 | 0.71 | 1.04 |
| 6.9 | 12 | 9 | 14 | 0.75 | 1.17 |

Tableau 9 : Valeurs des intensités de fluorescence du pyrène solubilisé dans la solution de PMA en fonction du pH.

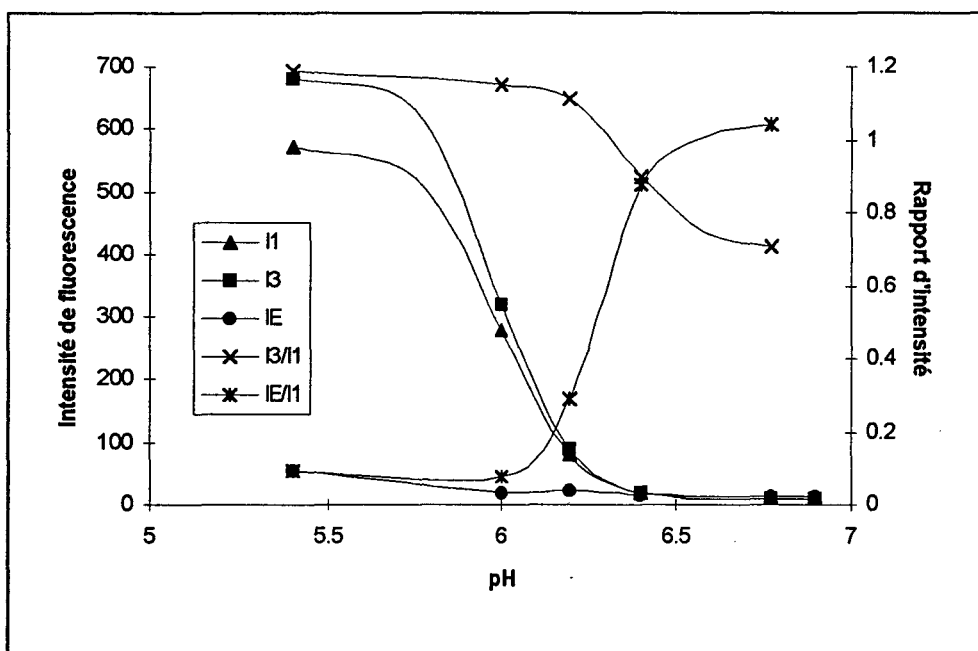


Figure 29 : Evolution des intensités de fluorescence en fonction du pH du pyrène solubilisé dans la solution de PMA.

D'autre part, à pH fortement acide (par ajout d'HCl concentré à une solution de pH initial égal à 5,4), on trouve $I_3/I_1=1.19$, et $I_E/I_1=0.04$.

Pour des pH plus élevés que 6,9, les diverses intensités de fluorescence sont trop faibles et le manque de précision nous empêche de tenir compte de ces valeurs.

② Pour le PM15B, les spectres de fluorescence sont représentés dans la figure 30. Les valeurs des intensités de fluorescence sont rassemblés dans le tableau 10 et la figure 31.

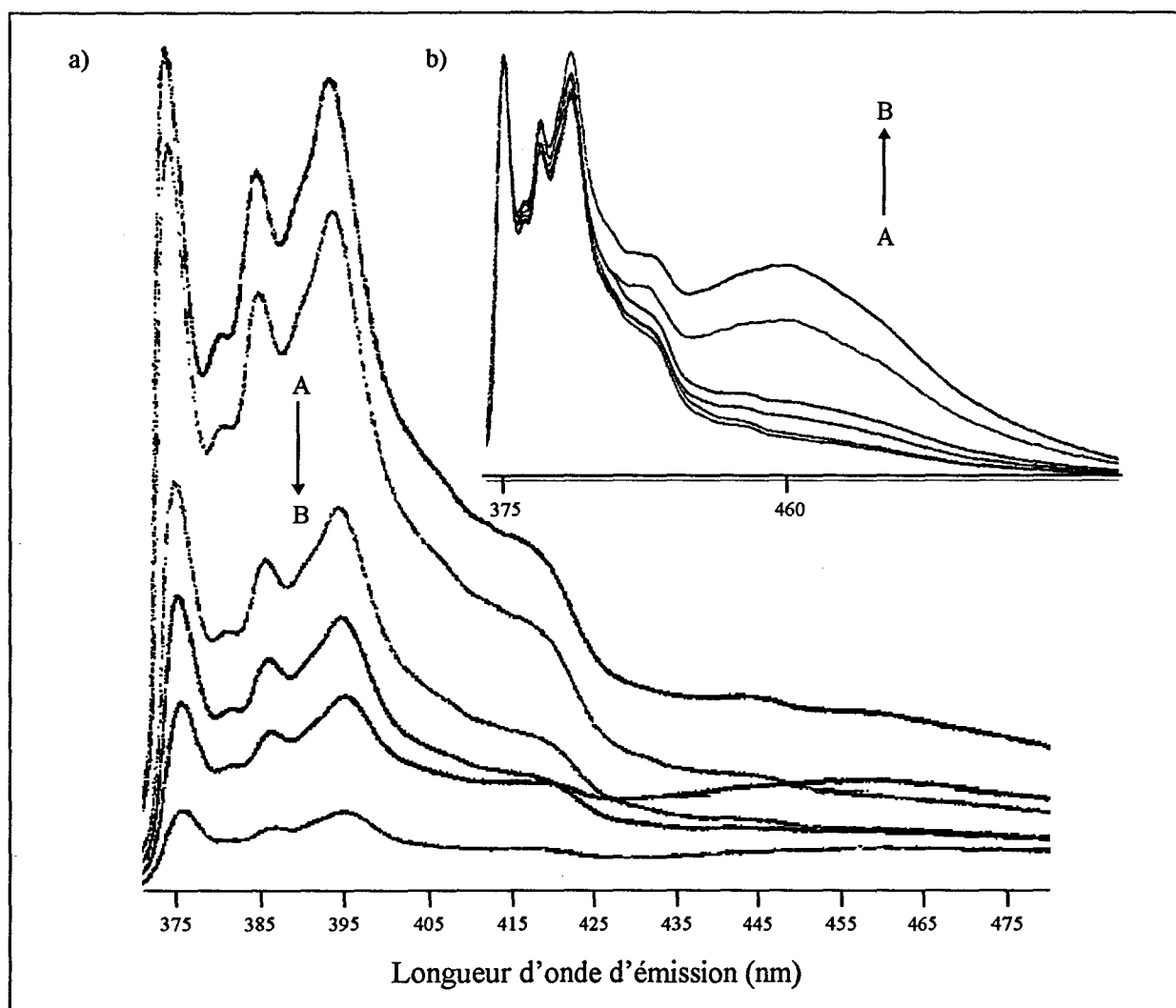


Figure 30 : Spectres de fluorescence du pyrène solubilisé dans une solution de PM15B à différents pH.

a) : Spectres bruts et b) : Spectres normalisés par rapport à I_1 .

(pH croissant de A vers B).

| pH | I_1 | I_3 | I_E | I_3/I_1 | I_E/I_1 |
|------|-------|-------|-------|-----------|-----------|
| 5.5 | 373 | 318 | 73 | 0.85 | 0.20 |
| 6.85 | 331 | 264 | 37 | 0.80 | 0.11 |
| 7.17 | 182 | 146 | 22 | 0.80 | 0.12 |
| 7.33 | 131 | 103 | 21.5 | 0.79 | 0.16 |
| 7.6 | 37 | 29 | 14.5 | 0.78 | 0.39 |
| 8.9 | 18 | 13 | 12.5 | 0.72 | 0.69 |

Tableau 10 : Valeurs des intensités de fluorescence du pyrène solubilisé dans la solution de PM15B en fonction du pH.

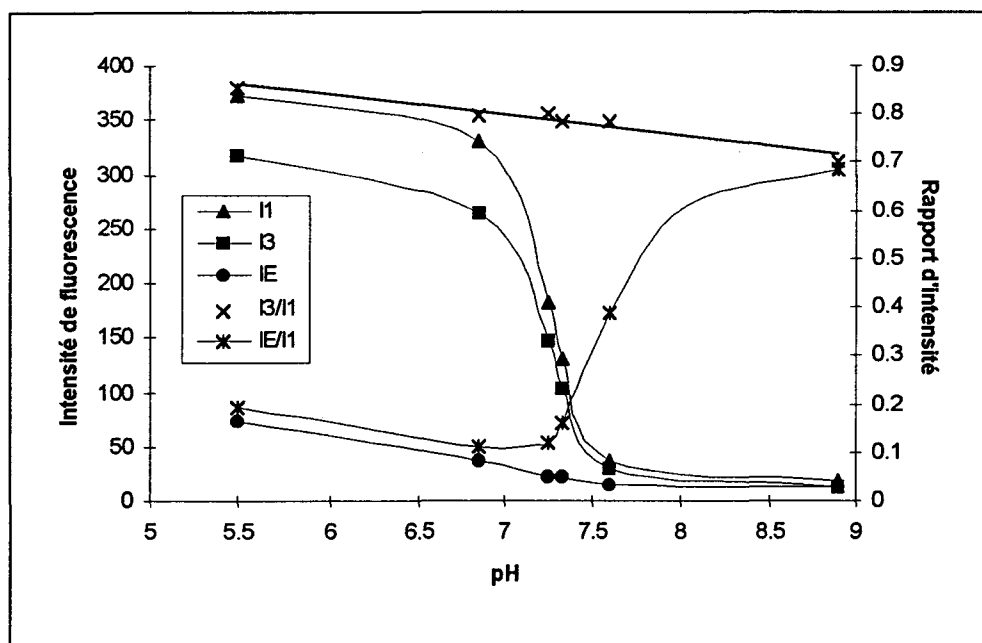


Figure 31 : Courbes des intensités de fluorescence du pyrène solubilisé dans la solution de PM15B en fonction du pH.

D'autre part, à pH fortement acide (par ajout d'HCl concentré à une solution de pH initial égal à 5,5), on trouve $I_3/I_1=0.86$, et $I_E/I_1=0.16$.

Pour des pH plus élevés que 8,9, les intensités sont trop faibles et le manque de précision nous empêche de tenir compte de ces valeurs.

③ Pour les polymères intermédiaires, les valeurs des intensités de fluorescence à deux pH (5,5 et 7,0) sont rassemblés dans le tableau 11 et la figure 32.

| Copolymère | pH | I_1 | I_3 | I_E | I_3/I_1 | I_E/I_1 |
|------------|-----|-------|-------|-------|-----------|-----------|
| PM1B | 5.5 | 624 | 750 | 51 | 1.20 | 0.08 |
| | 7.0 | 14 | 10 | 16 | 0.71 | 1.14 |
| PM2B | 5.5 | 481 | 590 | 54 | 1.23 | 0.11 |
| | 7.0 | 17 | 12 | 18 | 0.71 | 1.06 |
| PM5B | 5.5 | 572 | 688 | 58.5 | 1.20 | 0.10 |
| | 7.0 | 17 | 12 | 18 | 0.71 | 1.06 |
| PM8B | 5.5 | 290 | 291 | 41 | 1.00 | 0.14 |
| | 7.0 | 22.5 | 17.5 | 22 | 0.78 | 0.98 |

Tableau 11 : Valeurs des intensités de fluorescence du pyrène solubilisé dans la solution de polymère en fonction du pH.

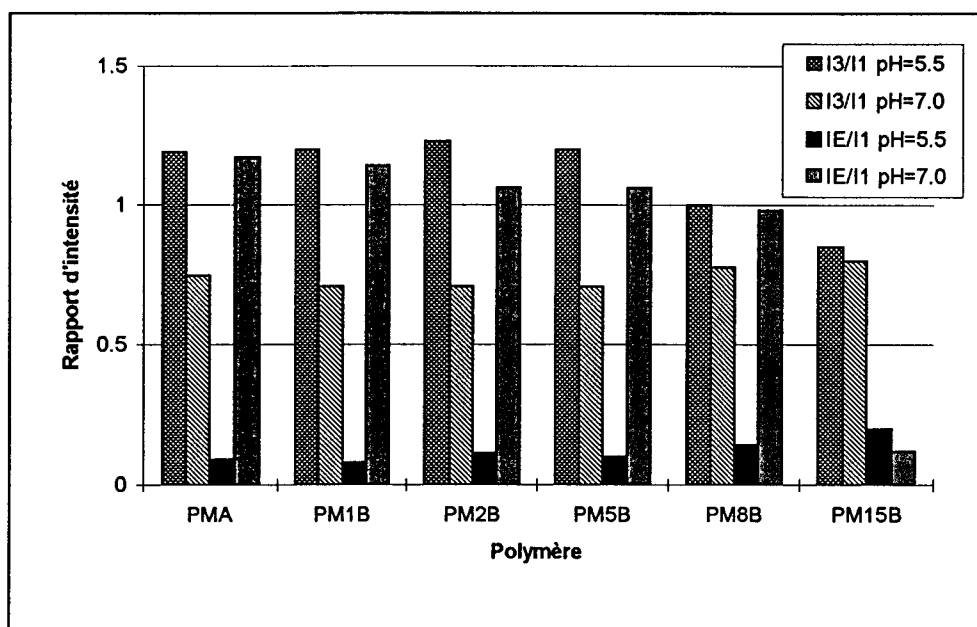


Figure 32 : Comparaison des deux rapports d'intensité I_3/I_1 et I_E/I_1 entre les différents polymères à pH=5,5 et à pH=7,0.

Plus le pH est basique, plus les diverses intensités de fluorescence sont faibles, limitant la précision des calculs.

I_1 diminue beaucoup plus vite que I_E , traduisant l'éjection du pyrène dans la phase aqueuse. L'évolution du rapport I_3/I_1 en fonction du pH montre une transition conformationnelle qui a lieu à un pH similaire à celui relevé en viscosimétrie pour PMA et PM15B (respectivement $pH \approx 6,3$ et $pH \approx 7,5$).

■ A part PM15B qui a un rapport I_3/I_1 inférieur à 1, tous les autres polymères ont un rapport I_3/I_1 supérieur ou égal à 1 à pH=5,5. Lorsque le pH augmente, ce rapport diminue et est inférieur à 1 à pH=7,0 pour tous les polymères.

L'interprétation en est la suivante :

- Dans le cas des polymères les moins riches en benzyles, le pyrène se trouve dans un milieu apolaire à pH acide (PM8B se situant dans un stade intermédiaire) et, au fur et à mesure que le pH augmente, la polarité augmente. A pH basique, le pyrène se situe dans un milieu polaire. Donc la transition conformationnelle s'accompagne d'une augmentation de la polarité.

Ces résultats sont conformes à ceux qu'on pouvait s'attendre d'après la littérature pour le PMA [39-41] et pour d'autres systèmes [43,44]. En effet, on sait que la structure des

polymères est compacte en milieu acide. Le pyrène se dissout dans les poches hydrophobes et donc se trouve dans un milieu apolaire. En milieu basique, il n'y a plus de structure compacte, les chaînes sont étendues, les groupes hydrophobes des polymères sont en contact avec le solvant, le pyrène se place à l'interface polymère-eau (il forme des agrégats avec les groupes benzyles) et se trouve donc dans un milieu plus polaire.

- Dans le cas de PM15B, le pyrène se trouve toujours dans un milieu polaire, quel que soit le pH.

Ce résultat est par contre assez surprenant, d'autant plus que PM15B est le polymère qui possède la structure compacte en milieu acide la plus forte (8 fois supérieure à celle de PMA). Cependant, une compacité trop importante empêche le pyrène de pénétrer les poches hydrophobes du polymère (celles-ci sont saturées). Le pyrène reste donc à l'interface polymère-eau. A pH basique, on se retrouve dans le cas des autres polymères.

- Pour tous les polymères, le rapport I_E/I_1 augmente avec le pH.

- Dans le cas de tous les polymères excepté PM15B, le pyrène se trouve dans les poches hydrophobes du polymère à pH acide. La mobilité à l'intérieur de ces zones est assez réduite, et les molécules de pyrène ne peuvent donc pas adopter la conformation requise pour créer des excimères. Lorsque le pH augmente, la polarité augmente, et le pyrène se place alors aux endroits les moins défavorables pour lui, c'est-à-dire à l'interface polymère-eau. La mobilité est beaucoup plus grande, ce qui permet la formation d'excimères.

- Dans le cas de PM15B, le pyrène se trouve déjà à l'interface polymère-eau à pH acide, ce qui explique la valeur du rapport I_E/I_1 supérieure à celle des autres polymères. L'augmentation de ce rapport avec le pH est donc également logiquement plus faible.

Il peut être intéressant d'estimer les quantités de pyrène dissoutes dans nos diverses solutions de polymère. Pour cela, on va utiliser la spectroscopie ultraviolette. Connaissant le coefficient d'extinction molaire ϵ du pyrène dans l'eau ($50000 \text{ l.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) [45,46], on peut en déduire la concentration en pyrène dissout dans les solutions de polymère préparées précédemment et dont on mesure la densité optique. Signalons que la concentration de pyrène dissout dans l'eau pure a été trouvée égale à $0.4 \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$ ($D_{\text{max}} = 0.0200$), cette valeur restant similaire quel que soit le pH.

❶ Pour PMA, les résultats sont rassemblés dans le tableau 12.

| pH | λ_{\max} (nm) | D_{\max} | [Py] (mol.l ⁻¹) |
|------|-----------------------|------------|-----------------------------|
| 5.4 | 338 | 0.6015 | 12.0 10 ⁻⁶ |
| 6.0 | 338 | 0.2073 | 4.2 10 ⁻⁶ |
| 6.2 | 338 | 0.0720 | 1.4 10 ⁻⁶ |
| 6.4 | 335 | 0.0388 | 0.8 10 ⁻⁶ |
| 6.75 | 335 | 0.038 | 0.75 10 ⁻⁶ |
| 6.9 | 335 | 0.0337 | 0.7 10 ⁻⁶ |

Tableau 12 : Solubilité du pyrène dans une solution aqueuse de PMA en fonction du pH.

❷ Pour PM15B, les résultats sont rassemblés dans le tableau 13.

| pH | λ_{\max} (nm) | D_{\max} | [Py] (mol.l ⁻¹) |
|------|-----------------------|------------|-----------------------------|
| 5.5 | 339 | 0.2458 | 4.9 10 ⁻⁶ |
| 6.85 | 339 | 0.1544 | 3.1 10 ⁻⁶ |
| 7.15 | 339 | 0.0908 | 1.8 10 ⁻⁶ |
| 7.35 | 338 | 0.0683 | 1.4 10 ⁻⁶ |
| 7.6 | 335 | 0.0413 | 0.8 10 ⁻⁶ |

Tableau 13 : Solubilité du pyrène dans une solution aqueuse de PM15B en fonction du pH.

La figure 33 montre la variation de la solubilité du pyrène dans une solution aqueuse de PMA et de PM15B en fonction du pH.

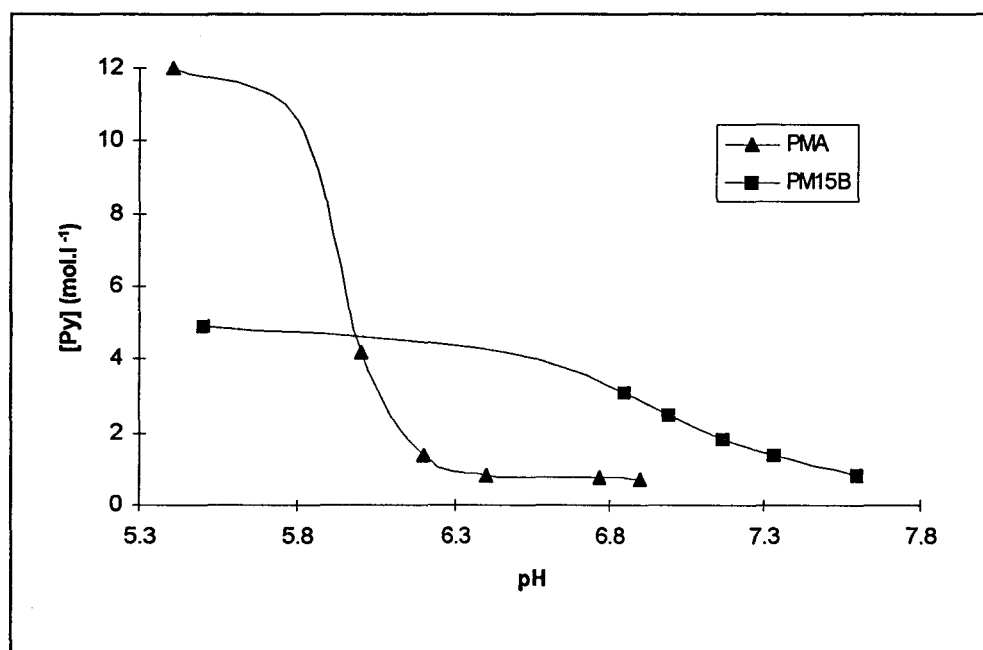


Figure 33 : Variation de la solubilité du pyrène respectivement dans une solution aqueuse de PMA et de PM15B.

■ A pH acide, on voit clairement que la solubilité du pyrène est plus importante (environ 2,5 fois) dans la solution de PMA que dans celle de PM15B. Un résultat similaire a été obtenu au laboratoire lors d'une précédente étude avec une autre sonde insoluble dans l'eau, l'azobenzène [47]. Ce résultat confirme également ce qu'on a dit précédemment, à savoir que PM15B a un tel degré de compacité que le pyrène se dissout plus difficilement (les poches hydrophobes du polymère se saturant beaucoup plus vite).

■ A pH basique, la solubilité du pyrène dans la solution de PMA est voisine de celle dans la solution de PM15B ; elle est nettement plus faible qu'en milieu acide (plus de 6 fois) et traduit l'augmentation de la polarité provoquée par l'extension des chaînes de polymère. On observe également une transition autour de pH=6,0 pour le PMA et autour de pH=7,1 pour le PM15B, ce qui est conforme à tous les résultats précédents.

En milieu « basique » (pH=7,0), on a étudié l'influence du sel sur une solution de PMA-pyrène. On constate que les raies 1 et 3 conservent la même intensité, tandis que la bande E chute en intensité. Conséquences :

- La polarité ne change pas : le rapport I_3/I_1 reste stable à 0,72.
- Le rapport I_E/I_1 chute de 1,17 à 0,51 quand on passe d'une concentration en sel de 0 à 0,5 M. Il reste à 0,51 pour une concentration en sel de 1 M et 2 M.

Une étude similaire a été réalisée sur une solution de PM15B-pyrène à pH=9,0. On constate que les raies 1 et 3 conservent la même intensité, tandis que la raie E baisse légèrement en intensité. Conséquences :

- La polarité ne change pas : le rapport I_3/I_1 reste stable à 0,75.
- Le rapport I_E/I_1 passe de 0,70 (pas de sel) à 0,69 ($[\text{NaClO}_4]=0,5 \text{ M}$), à 0,65 ($[\text{NaClO}_4]=1 \text{ M}$), et à 0,58 ($[\text{NaClO}_4]=2 \text{ M}$).

Lors de l'étude potentiométrique, on a montré que plus les chaînes étaient étendues, plus le rapport I_E/I_1 était élevé, et inversement que plus les chaînes étaient repliées, plus ce rapport était faible. On retrouve ici le même phénomène : comme l'addition de sel réduit la taille des chaînes, le rapport I_E/I_1 diminue. Le phénomène est toutefois moins sensible pour PM15B, les chaînes étant déjà initialement fortement repliées.

1.4. Conclusion

L'étude comparative montre par les trois techniques (potentiométrie, viscosimétrie, et fluorimétrie) que PM15B possède une structure compacte bien plus prononcée que celle des autres copolymères et du PMA. On peut penser que les groupes hydrophobes s'arrangent dans l'espace les uns par rapport aux autres pour former un volume très dense. Les interactions intrachâînes polymère-polymère semblent donc supérieures aux interactions polymère-pyrène. Ce dernier ne peut donc pas s'insérer dans l'environnement macromoléculaire. Par conséquent, la sonde fluorimétrique reste confinée à l'interface polymère-solvant, situation qui est alors énergétiquement la plus favorable.

Les études viscosimétriques et potentiométriques montrent qu'une transition conformationnelle apparaît autour de $\text{pH}=6$ pour le PMA et autour de $\text{pH}=7$ pour le PM15B.

2. Influence de l'urée

L'urée est bien connue pour ses effets sur les liaisons hydrogène et par voie de conséquence sur les interactions hydrophobes (en perturbant la structuration de l'eau autour des groupes hydrophobes) [12,20]. Comme il semble, d'après ce qui précède, que le terme entropique dû à la structure de l'eau est le terme principal dont dépend ΔG , on peut s'attendre à une perturbation provoquée par l'urée en potentiométrie, mais aussi en viscosimétrie, et en fluorimétrie.

2.1. Etude potentiométrique

On ajoute de l'urée à diverses concentrations dans la solution de polymère à doser. L'étude a été réalisée sur les copolymères PM2B et PM15B. La concentration en polymère est de 20 mg pour 100 ml. Les valeurs de ΔG de PM2B sont rassemblées dans le tableau 14 et la figure 34.

| [urée] (mol.l ⁻¹) | ΔG (cal.mol ⁻¹) |
|----------------------------------|--|
| 0 | 79 |
| 1 | 75 |
| 3 | 66 |
| 5 | 58 |

Tableau 14 : Valeurs du ΔG (cal.mol⁻¹) de PM2B en présence d'urée.

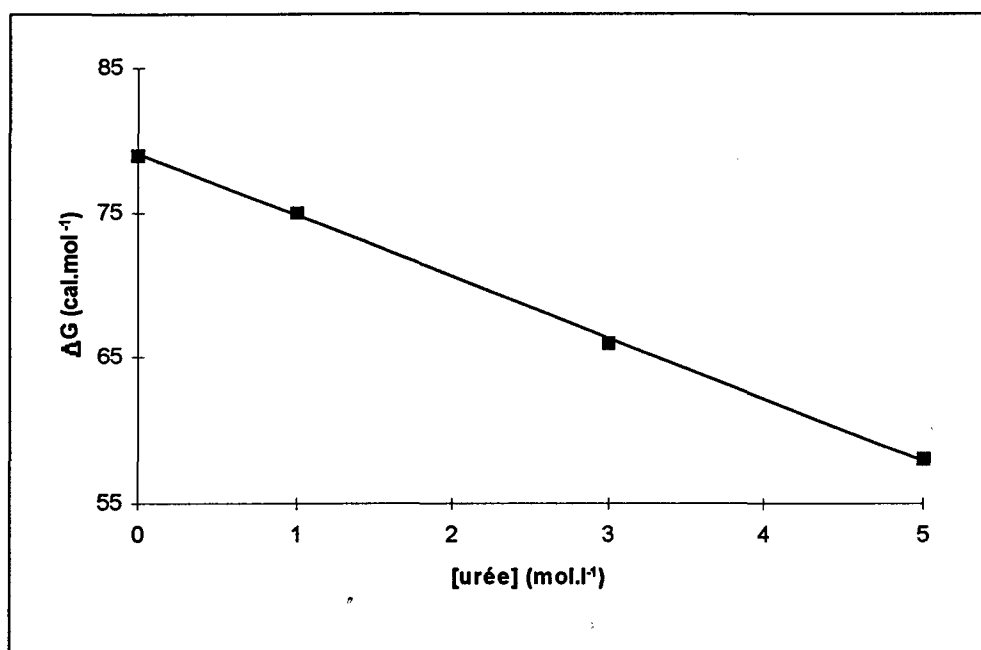


Figure 34 : Courbe de ΔG (cal.mol⁻¹) de PM2B en fonction de la concentration d'urée.

Dans le cas de PM15B, ΔG passe de 143 à 100 cal/mol quand on passe d'une concentration en urée de 0 à 1,5 M.

Les résultats confirment nos dires précédents. En présence d'urée, les groupes hydrophobes (et spécialement les groupes benzyles) sont incapables d'améliorer la structuration de l'eau lors de la transition conformationnelle. Donc la variation d'entropie conformationnelle ΔS augmente probablement.

2.2. Etude viscosimétrique

On mesure la viscosité des polymères PMA et PM15B en présence d'urée à différentes concentrations. La concentration en polymère est de 40 mg pour 100 ml d'eau. Les résultats sont regroupés dans le tableau 15 et la figure 35.

| [urée] (mol.l ⁻¹) | η (cm ³ .g ⁻¹) | |
|----------------------------------|--|-------|
| | PMA | PM15B |
| 0 | 147 | 20 |
| 0.5 | 140 | - |
| 1 | 135 | 22 |
| 3 | 125 | 35 |

Tableau 15 : Valeurs de viscosité de PMA et PM15B en présence d'urée.

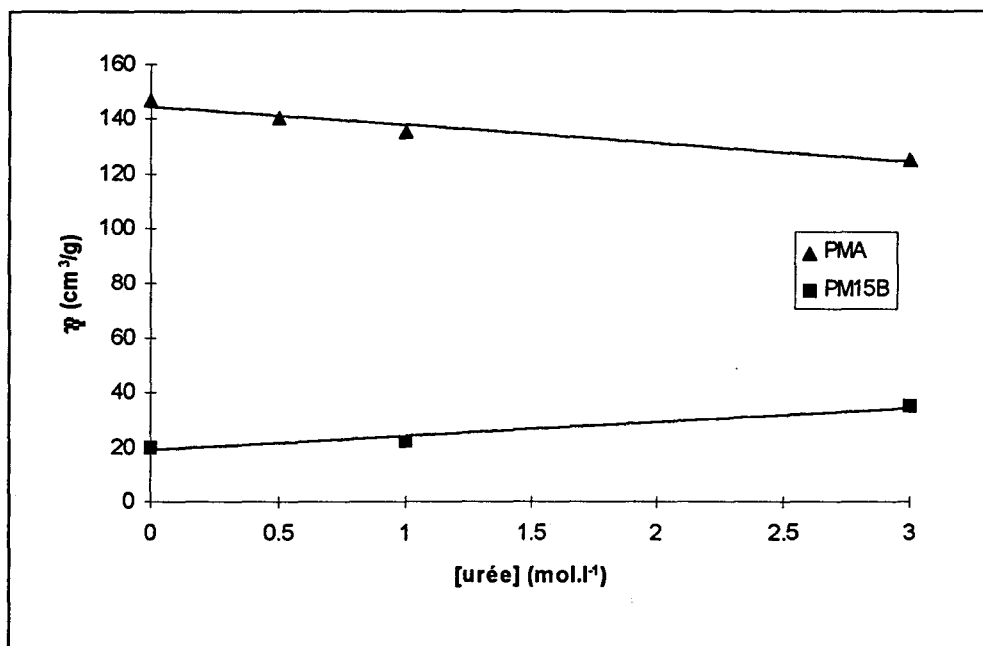


Figure 35 : Courbes de viscosité de PMA et de PM15B en fonction de la concentration en urée.

La viscosité diminue en présence d'urée dans le cas de PMA, et augmente dans le cas de PM15B.

A titre de comparaison, une étude similaire a été menée sur le PAA (tableau 16 et figure 36).

| [urée] (mol.l ⁻¹) | η (cm ³ /g) |
|----------------------------------|-----------------------------|
| 0 | 2117 |
| 1 | 2697 |
| 3 | 3419 |

Tableau 16 : Valeurs de viscosité de PAA en présence d'urée.

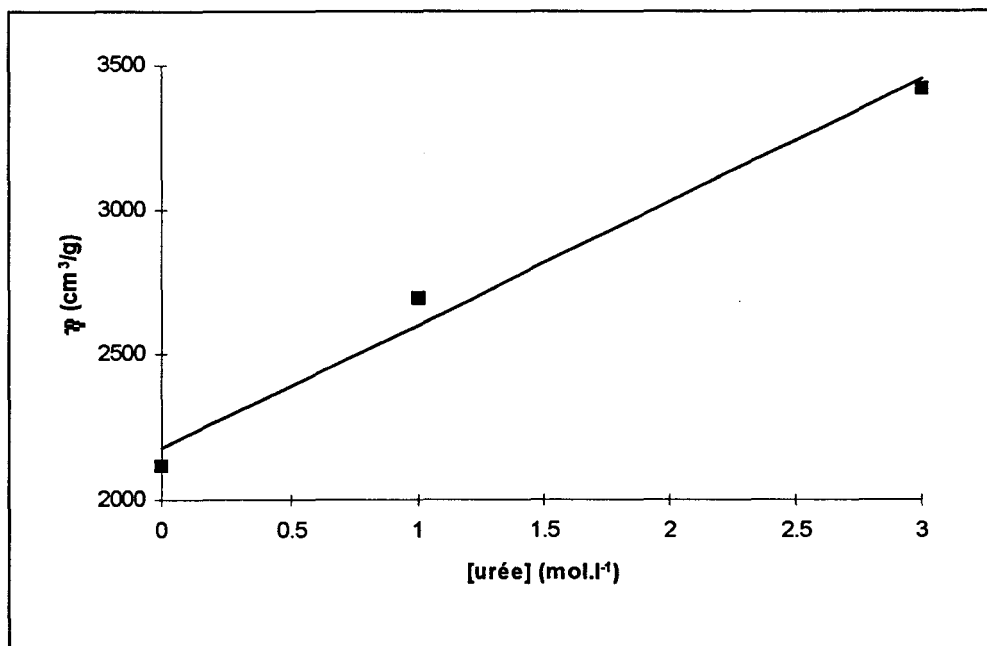


Figure 36 : Evolution de la viscosité de PAA en fonction de la concentration d'urée.

On constate que la viscosité augmente dans le cas de PAA ou de PM15B, alors qu'elle diminue légèrement dans le cas de PMA.

L'augmentation de la viscosité des polymères PAA et PM15B en présence d'urée, prouverait l'existence de liaisons hydrogène $\text{CO}_2\text{H}-\text{CO}_2\text{H}$ intramoléculaires. La destruction de ces liaisons par l'urée entraîne par conséquent une extension des chaînes. C'est également l'interprétation donnée par **Mc Cormick [12]** à propos de l'influence de l'urée sur les copolymères MA-NAEA (figure 26).

La légère diminution de la viscosité dans le cas de PMA est probablement due à la formation (seule ou supplémentaire) de liaisons hydrogène $\text{CO}_2\text{H}-\text{urée}-\text{CO}_2\text{H}$ intramoléculaires. Des expériences supplémentaires pourraient peut-être nous permettre de conclure de manière plus certaine.

2.3. Etude fluorimétrique

Une étude de variation de la polarité a été menée en utilisant le pyrène comme sonde fluorescente. Trois polymères ont été testés : PMA, PM5B et PM15B. Les différentes valeurs sont regroupées dans le tableau 17 et la figure 37.

| [urée] (mol.l ⁻¹) | I ₃ /I ₁ | | |
|----------------------------------|--------------------------------|------|-------|
| | PMA | PM5B | PM15B |
| 0 | 1.18 | 1.27 | 0.88 |
| 1 | 1.03 | 1.21 | 0.88 |
| 5 | 0.66 | 0.75 | 0.80 |

Tableau 17 : Valeurs de I₃/I₁ de PMA, PM5B et PM15B en présence d'urée.

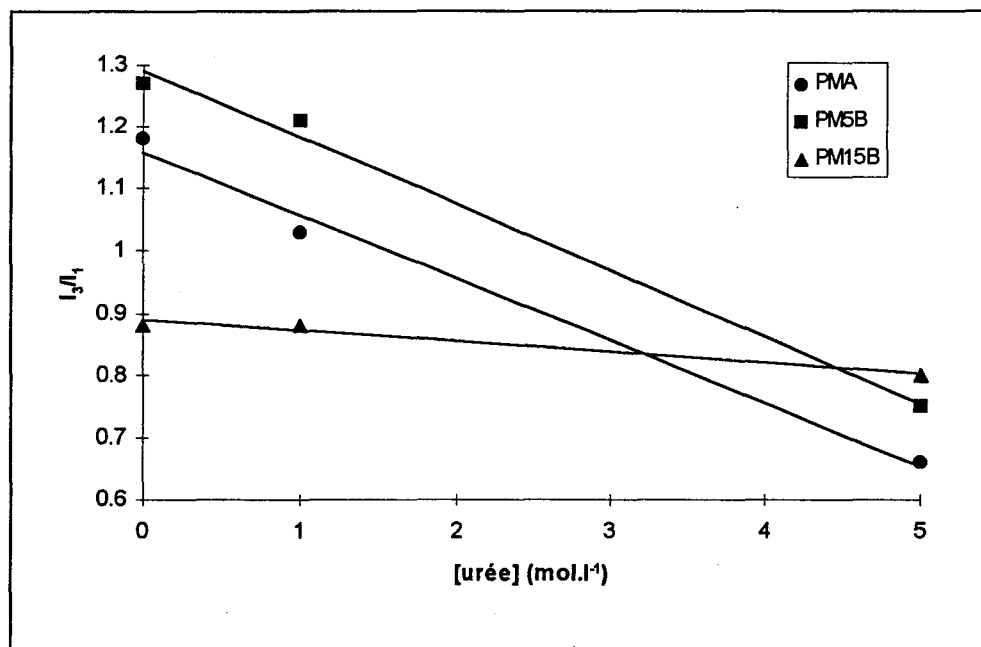


Figure 37 : Evolution de I₃/I₁ de PMA, PM5B et PM15B en fonction de la concentration d'urée.

L'addition d'urée provoque une augmentation de la polarité du milieu. A forte concentration en urée, le milieu, initialement apolaire ($I_3/I_1 > 1$), devient polaire ($I_3/I_1 < 1$). Cet accroissement de la polarité est expliqué par le fait que l'urée détruit les liaisons hydrophobes et conduit à une extension des chaînes de polymère.

2.4. Conclusion

L'influence de l'urée est délicate à interpréter, d'autant plus que les concentrations importantes d'urée utilisées font que nous ne sommes plus réellement en milieu aqueux. Des expériences supplémentaires et une meilleure connaissance sur les rôles précis de l'urée permettraient peut-être de conclure plus sûrement.

3. Influence du solvant

Un solvant organique est capable d'empêcher la formation de zones hydrophobes des chaînes de polymère, et donc de détruire leur structure compacte. Deux solvants organiques totalement miscibles à l'eau ont été employés : le dioxane ($\epsilon=2,2$) et le méthanol ($\epsilon=32,6$). L'eau a pour sa part un ϵ de 78,5.

3.1. Etude potentiométrique

On solubilise le polymère dans des mélanges eau-méthanol et eau-dioxane. L'étude a été réalisée sur PM15B, PMA étant trop peu voire pas soluble dans le dioxane et dans le méthanol. La concentration en polymère est de 20 mg pour 100 ml.

La valeur de ΔG (en cal.mol^{-1}) passe de 143 à 35 (20 % de méthanol), 13 (30 % de méthanol), et 0 (40 % de méthanol). Par contre, elle est nulle dès 20 % de dioxane. Comme prévu, le solvant organique, même en relative faible quantité, détruit la structure compacte du polymère.

3.2. Etude viscosimétrique

L'influence du solvant a également été analysée par viscosimétrie. L'étude a été menée sur PM15B. La concentration en polymère est de 100 mg pour 100 ml.

On constate que la viscosité passe de 11 cm^3/g dans l'eau, à 13 cm^3/g dans le dioxane, et à 108 cm^3/g dans le méthanol. La structure du polymère n'est évidemment plus compacte au sens « hypercoil » : il n'y a plus de micelles car le solvant n'est plus l'eau. En fait, en présence de solvant organique, l'extension des chaînes de polymère devient normale quand on augmente le pH, comme dans le cas par exemple du PAA.

En présence de solvant organique, ce sont les groupes carboxyliques qui sont moins bien solvatés. Le méthanol est assez polaire pour solvater les groupes carboxyliques et assez apolaire pour casser les interactions hydrophobes. Le dioxane est apolaire, donc peu compatible (mauvais solvant) avec les groupes carboxyliques qui auraient alors tendance à former une micelle inverse, les groupes méthyles et benzyles se plaçant à l'extérieur.

3.3. Etude fluorimétrique

La fluorescence intrinsèque de PM15B dans le méthanol montre la complète disparition de la raie correspondant à l'excimère. La raie d'émission du monomère est décalée d'une dizaine de nanomètres à 294 nm (qui est la longueur d'onde d'émission dans le méthanol du glutarate de benzyle, molécule modèle utilisée).

L'explication est que le méthanol étend les chaînes en solubilisant les zones hydrophobes du polymère, et donc rend impossible le rapprochement des noyaux benzyles nécessaire à la formation d'excimères.

3.4. Conclusion

La présence de solvant organique a montré la rupture totale des interactions hydrophobes, ce qui a pour conséquence la chute considérable de ΔG en potentiométrie et la disparition des excimères en fluorimétrie. Le dioxane étant un solvant moins polaire que le méthanol, il solvate donc d'autant mieux les groupes hydrophobes du polymère PM15B.

CONCLUSION

L'étude conformationnelle du PMA ainsi que des copolymères PMA-PMB a été réalisée en faisant varier divers paramètres, tels que la force ionique, le pH, l'ajout d'urée, la présence de solvant organique. Les trois techniques d'investigation utilisées, à savoir la potentiométrie, la viscosimétrie et la fluorimétrie (notamment l'emploi d'une sonde fluorescente), ont toutes mis en évidence l'existence d'une conformation compacte dans l'eau à pH acide et d'une conformation étendue dans l'eau à pH basique, la transition conformationnelle ayant lieu à pH compris entre 6 et 7 selon le polymère. La structure compacte est liée aux interactions hydrophobes des groupes hydrophobes portés par les chaînes de polymères, et la structure étendue est liée aux répulsions électrostatiques entre les groupes ionisés des chaînes.

Nous avons ensuite étudié le comportement conformationnel de ces polymères :

- L'ajout de sel conduit à un repliement des chaînes, dû à l'effet d'écrantage des répulsions électrostatiques.
- L'ajout d'urée conduit à une destruction des interactions hydrophobes ; toutefois l'extension des chaînes n'est pas ou peu importante, du fait probablement de la formation de liaisons hydrogène intramoléculaires entre les groupes carboxyliques des chaînes et les groupes amides de l'urée.
- La présence de solvant organique rompt complètement les interactions hydrophobes par solubilisation des chaînes.

Tous ces éléments vont nous permettre de mieux appréhender l'influence de la β -cyclodextrine sur la conformation de nos polymères. Après une étude bibliographique la plus complète possible sur le sujet (troisième partie), nous nous consacrerons à l'étude des interactions β -cyclodextrine-polymère en commençant, pour se fixer les idées, par un polymère commercial n'ayant pas de structure compacte, le poly(4-styrènesulfonate) de sodium (quatrième partie). L'étude sur nos polymères PMA et PMA-PMB feront respectivement l'objet de la cinquième et de la sixième partie.

REFERENCES

- [1] V. Crescenzi, F. Quadrioglio et F. Delben : *J. Polym. Sci.*, **1972**, Vol. 10, p. 357.
- [2] H. Morawetz : *Isr. J. Chem.*, **1973**, Vol. 11, p. 173.
- [3] F. Delben, V. Crescenzi et F. Quadrioglio : *Eur. Polym. J.*, **1972**, Vol. 8, p. 933.
- [4] M. Mandel : *Eur. Polym. J.*, **1970**, Vol. 6, p. 807.
- [5] N. Ohno, K. Nitta, S. Makino et S. Sugai : *J. Polym. Sci.*, **1973**, Vol. 11, p. 413.
- [6] C. Methenitis, G. Pneumatikakis, M. Pitsikalis, J. Morcellet et M. Morcellet : *J. Polym. Sci.*, **1995**, Vol. 33, p. 2233.
- [7] A. Katchalsky et P. Spitnik : *J. Polym. Sci.*, **1947**, Vol. 2, p. 432.
- [8] M. Nagasawa et A. Holtzer : *J. Am. Chem. Soc.*, **1968**, Vol. 86, p. 538.
- [9] J. Morcellet-Sauvage, M. Morcellet et C. Loucheux : Résultats non publiés.
- [10] T. N. Nekrasova, A. B. Gabrielyan et O. B. Ptitsyn : *Polym. Sci. USSR, Engl. Transl.*, **1968**, Vol. 10, p. 348.
- [11] M. Morcellet, C. Loucheux et H. Daoust : *Macromolecules*, **1982**, Vol. 15, p. 890.
- [12] C. L. Mc Cormick, C. E. Hoyle et M. D. Clark : *Macromolecules*, **1990**, Vol. 23, p. 3124.
- [13] Y. Morishima, T. Kobayashi, S.-I. Nozakura et S. E. Webber : *Macromolecules*, **1987**, Vol. 20, p. 807.
- [14] M. Irie et W. Schnabel : *Makromol. Chem., Rapid Commun.*, **1984**, Vol. 5, p. 413.
- [15] H. Morawetz : *Makromol. Chem., Suppl.*, **1985**, Vol. 13, p. 67.
- [16] I. Soutar : *Polym. Int.*, **1991**, Vol. 26, p. 35.
- [17] Y.-C. Wang et H. Morawetz : *Makromol. Chem., Suppl.*, **1975**, Vol. 1, p. 283.
- [18] J. E. Guillet, J. Wang et L. Gu : *Macromolecules*, **1986**, Vol. 19, p. 2793.
- [19] I. Soutar et L. Swanson : *Polym. Comm.*, **1991**, Vol. 32, p. 264.
- [20] C. L. Mc Cormick, C. E. Hoyle et M. D. Clark : *Macromolecules*, **1991**, Vol. 24, p. 2397.

- [21] T. Seo, S. Take, K. Miwa, K. Hamada et T. Iijima : *Macromolecules*, 1991, Vol. 24, p. 4255.
- [22] J. E. Guillet et W. A. Rendall : *Macromolecules*, 1986, Vol. 19, p. 224.
- [23] J. L. Sturtevant et S. E. Webber : *Macromolecules*, 1989, Vol. 22, p. 3564.
- [24] Y. Morishima, H. S. Lim, S.-I. Nozakura et J. L. Sturtevant : *Macromolecules*, 1989, Vol. 22, p. 1148.
- [25] M. Gratzel et J. K. Thomas : « *Modern Fluorescence Spectroscopy* », Ed. Wehry, Plenum Press, New York, 1976, Vol. 2, p. 169.
- [26] G. K. Radda et J. Vanderkooi : *Biochem. Biophys. Acta*, 1972, Vol. 265, p. 509.
- [27] A. Azzi : *Q. Rev. Biophys.*, 1975, Vol. 8, p. 237.
- [28] R. C. Dorrance et T. C. Hunter : *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1*, 1972, Vol. 68, p. 1312.
- [29] M. Gratzel et J. K. Thomas : *J. Am. Chem. Soc.*, 1973, Vol. 95, p. 6885.
- [30] S. Cheng, C. F. Kulpa et J. K. Thomas : *Biochem.*, 1974, Vol. 13, p. 1135.
- [31] J. M. Vanderkooi et J. B. Callis : *Biochem.*, 1974, Vol. 13, p. 4000.
- [32] M. J. Snare, K. L. Tan et F. E. Treloar : *J. Macromol. Sci.*, 1982, Vol. 17, p. 189.
- [33] D. Y. Chu et J. K. Thomas : *J. Phys. Chem.*, 1985, Vol. 89, p. 4065.
- [34] M. Suzuki, T. Koyama, K. Hanabusa, H. Shirai et Y. Kurimura : *Polym.*, 1995, Vol. 36, p. 4479.
- [35] D. C. Dong et M. A. Winnik : *Can. J. Chem.*, 1984, Vol. 62, p. 2560.
- [36] D. C. Dong et M. A. Winnik : *Photochem. Photobiol.*, 1982, Vol. 35, p. 17.
- [37] K. Kalyanasundaram et J. K. Thomas : *J. Am. Chem. Soc.*, 1977, Vol. 99, p. 2039.
- [38] P. Chandar, P. Somasundaran et N. J. Turro : *Macromolecules*, 1988, Vol. 21, p. 950.
- [39] A. F. Olea et J. K. Thomas : *Macromolecules*, 1989, Vol. 22, p. 1165.
- [40] D.-Y. Chu et J. K. Thomas : *Macromolecules*, 1984, Vol. 17, p. 2142.
- [41] T. S. Chen et J. K. Thomas : *J. Polym. Sci.*, 1979, Vol. 17, p. 1103.
- [42] R. A. Pranis et I. M. Klotz : *Biopolymers*, 1977, Vol. 16, p. 299.

- [43] O. Anthony et R. Zana : *Macromolecules*, **1994**, Vol. 27, p. 3885.
- [44] M. Wilhelm, C.-L. Zhao, Y. Wang, R. Xu, M. A. Winnik, J.-L. Mura, G. Riess et M. D. Croucher : *Macromolecules*, **1991**, Vol. 24, p. 1033.
- [45] P. C. Lee et D. Meisel : *Photochem. Photobiol.*, **1985**, Vol. 41, p. 21.
- [46] H. J. Pownall et L. C. Smith : *J. Am. Chem. Soc.*, **1973**, Vol. 95, p. 3136.
- [47] J. Morcellet-Sauvage, M. Morcellet et C. Loucheux : *Makromol. Chem.*, **1982**, Vol. 183, 839.

TROISIEME PARTIE :

Généralités sur les cyclodextrines.

INTRODUCTION

Un nouveau type de chimie - la chimie supramoléculaire - s'est fortement développé ces vingt-cinq dernières années. Au-delà du bouleversement qu'elle apporte dans les méthodes et les objectifs des chimistes spécialisés dans la synthèse, son impact est considérable dans de nombreux secteurs, de la pharmacie à la catalyse [1-6].

La grande différence entre cette chimie et la chimie moléculaire classique est la nature des liaisons qui entrent en jeu. Une liaison entre deux molécules en chimie moléculaire est une liaison covalente, forte, établie par la mise en commun de deux électrons. En chimie supramoléculaire, les liaisons qui s'établissent entre les molécules sont des liaisons faibles et non covalentes, comme par exemple des interactions électrostatiques, des associations hydrophobes, ou encore des liaisons hydrogène [1,4].

Bref, la chimie supramoléculaire est, selon les termes de **J.-M. Lehn**, « une sorte de sociologie moléculaire, où les interactions non covalentes définissent le comportement des individus et des populations moléculaires : leur structure sociale en tant qu'ensemble d'individus ayant son organisation propre, leur stabilité et leur fragilité, leur tendance à s'associer ou à s'isoler, leur capacité à se reconnaître, leur dynamique (la fluidité ou la rigidité des édifices, les tensions, les mouvements et les réorientations), leur action mutuelle et les transformations des uns par les autres. » [6].

Les interactions moléculaires sont le fondement des processus hautement spécifiques de reconnaissance, de réaction, de transport, de régulation, etc. qui se produisent en biologie, comme la fixation d'un substrat sur une protéine réceptrice, les réactions enzymatiques, l'assemblage de complexes multi-protéiques, l'association immunologique antigène-anticorps, la lecture, la traduction et la transcription intermoléculaires du code génétique, la pénétration d'un virus dans une cellule, la reconnaissance cellulaire, et ainsi de suite. La conception de systèmes artificiels capables d'accomplir de tels processus hautement efficaces et sélectifs exige de savoir manipuler correctement les propriétés énergétiques et stéréochimiques des forces intermoléculaires non covalentes dans une architecture moléculaire déterminée. Pour agir ainsi, le chimiste trouve son inspiration dans la nature même des événements biologiques. Toutefois,

la chimie ne se limite pas aux systèmes analogues à ceux que fournit la biologie : elle est libre de créer des espèces inconnues et d'inventer des processus nouveaux [6].

Ces nouveaux édifices moléculaires, appelées « supermolécules », capables de copier ou d'imiter les mécanismes biologiques, sont des molécules dites molécules « cages » (car contenant une cavité) permettant des associations moléculaires entre une ou plusieurs molécules dont l'une est l'hôte (le récepteur, molécule concave) et l'autre l'invité (le substrat, molécule convexe) [1,3]. Ainsi, comme l'exprime si bien notre illustre « poète » **J.-M. Lehn**, « la supermolécule représente le prochain degré de complexité de la matière, après la particule élémentaire, le noyau, l'atome et la molécule ; si l'on établit un parallèle avec le langage, on peut dire que l'atome, la molécule et la supermolécule sont la lettre, le mot et la phrase du langage de la chimie ! » [6].

Il existe plusieurs types de molécules permettant de telles associations moléculaires : on peut citer par exemple, les éthers couronnes, les clathrates, les zéolithes, les porphyrines, les cryptates, les cyclophanes, ou les cyclodextrines [1,4,7]. Ces dernières feront exclusivement l'objet de notre étude.

Il existe de nombreux articles et revues généraux ainsi que différents livres sur l'histoire, la description, la caractérisation, et les propriétés des cyclodextrines [8-30]. Nous nous en inspirerons donc très largement dans la rédaction de cette étude bibliographique.

1. HISTORIQUE

Les premières informations relatives à la cyclodextrine remontent à 1891, lorsque **Villiers** rapporte qu'il a isolé une substance cristalline d'une culture de *Bacillus amylobacter* se développant sur un milieu contenant de l'amidon. Il nomme ce produit cristallisé « celluloline » en raison de similitudes avec la cellulose (relative stabilité envers l'hydrolyse par exemple), et observe même l'existence de deux sortes différentes de « cellulosines » [31].

Entre 1903 et 1911, **Schardinger**, au cours de ses études sur des micro-organismes résistant à la chaleur et responsables d'empoisonnements alimentaires, observe que la « celluloline » de **Villiers** se forme fréquemment sur des milieux à base d'amidon contenant des micro-organismes putréfiants. Il parvient à isoler en 1904 le bacille responsable de la dégradation de l'amidon, qu'il nomme *Bacillus macerans*, et qui reste toujours à l'heure actuelle, le moyen de production de la cyclodextrine le plus employé. Il caractérise les deux « cellulosines » de **Villiers** comme étant deux oligosaccharides cycliques, qu'il nomme dextrine cristalline α et dextrine cristalline β (appelés dans la vieille littérature par certains auteurs dextrines de Schardinger puis plus tard α -cyclodextrine et β -cyclodextrine). Il publie également la première description détaillée de la préparation et de la séparation des deux oligosaccharides cycliques.

Les 24 années suivantes constituent une période dite de doute, durant laquelle **Pringsheim** joue le premier rôle dans les recherches sur la cyclodextrine. Malgré la découverte de la structure chimique, de la masse moléculaire et des propriétés complexantes de la cyclodextrine, rien n'est apporté au développement de la chimie de la cyclodextrine. Au contraire, certains résultats contradictoires provoquent des polémiques entre plusieurs équipes.

De 1935 à 1950, les recherches sur la cyclodextrine entrent dans une période dite de maturation. **Freudenberg** entre 1947 et 1950, parvient à préparer des cyclodextrines pratiquement pures, et à en établir la constitution chimique. Il démontre avec **French** que les cyclodextrines sont des macromolécules composées de plusieurs unités D-(+)-glucopyrannose reliées les unes aux autres par des liaisons osidiques $\alpha(1,4)$. Tous deux sont parmi les premiers chercheurs en 1949 à essayer d'améliorer la production de cyclodextrine jusqu'alors

problématique. Leurs travaux deviennent alors reconnus. On doit notamment la découverte de la γ -cyclodextrine (8 unités glucose) à **Freudenberg** en 1948, des δ et ϵ -cyclodextrines (9 et 10 unités glucose) à **French** en 1957, et des ζ et η -cyclodextrines (11 et 12 unités glucose) à **Thoma** et **Stewart** en 1965. La structure chimique exacte, les dimensions, et la masse des différentes cyclodextrines, ainsi que la nature de la liaison, sont incontestablement établies [32].

En 1954, **Cramer** découvre que la forme toroïdale des molécules de cyclodextrine leur permet d'accueillir diverses molécules à l'intérieur de leur cavité. Les propriétés complexantes furent élucidées, de nombreux dérivés préparés, et les propriétés de modélisation des enzymes découvertes [33].

Mais ce n'est que bien plus tard, en 1979, que **Saenger** démontre véritablement à partir d'analyses de leur structure cristalline que les cyclodextrines possèdent une structure macrocyclique délimitant une cavité de forme conique tronquée.

Depuis lors, les recherches se sont principalement orientées vers les études de formation de complexes d'inclusion avec les cyclodextrines.

La période actuelle est caractérisée par la seconde génération des cyclodextrines : la production et l'utilisation industrielle de cyclodextrines modifiées. Les nombreux dérivés, notamment alkylés, hydroxyalkylés, et polymérisés, ouvrent de nombreux horizons et possibilités.

Le premier brevet fut déposé en 1953 par **Freudenberg**, **Cramer**, et **Plieninger**. Jusqu'à la fin des années 60, le rythme des brevets et publications fut assez lent, passa à une dizaine par an au début des années 70, et augmente régulièrement depuis (près de 1500 publications enregistrées par *Chemical Abstracts* en 1995).

Signalons que le premier symposium international sur les cyclodextrines s'est tenu en Hongrie, en 1981, à l'initiative de **Szejtli**. Le dernier symposium a également eu lieu en Hongrie en 1996, et le prochain (le neuvième) aura lieu en Espagne en 1998.

2. OBTENTION

Les amidons sont des polysaccharides constitués par la répétition d'unités monomère glucose (glucopyranose). Ils représentent la principale forme de réserve nutritive des végétaux qui stockent les hydrates de carbone à l'état de granules dans les tiges, les fruits, les tubercules ou les racines, selon l'espèce. Les amidons provenant de diverses plantes diffèrent par leur composition chimique, et une espèce végétale donnée peut même renfermer plusieurs amidons de compositions différentes [25].

Par exemple, l'une des variétés d'amidon, l'amylose (figure 1a), est composée d'environ 250 à 300 unités glucose liées par des ponts disaccharides α -1,4. Sa structure et ses conformations ont été étudiées par Casu en 1966. Il montre que la macromolécule d'amylose a une structure flexible, sous forme d'hélice, qui peut prendre par rotation des unités monomériques autour des liaisons glucosidiques, diverses conformations. Les spectres IR et RMN confirment la conformation chaise des unités glucopyranosiques. De plus, l'existence de ponts hydrogène intermoléculaires contribue à stabiliser les hélices. Il obtient des résultats similaires en étudiant les cyclodextrines, en particulier l' α -cyclodextrine [26-29].

L'amylopectine (figure 1b) est un amidon plus complexe. Elle renferme environ 1000 unités glucose et sa structure est ramifiée. Les chaînes latérales constituées d'environ 25 unités glucose, sont attachées à la chaîne principale à l'aide de jonctions disaccharides α -1,6.

A noter que la cellulose (figure 1c), qui est un autre polymère du glucose et qui se rencontre dans la plupart des végétaux, a une masse moléculaire très élevée (3000 unités glucose), et que sa structure n'est pas ramifiée. Sa caractéristique chimique fondamentale réside dans l'existence de liaison β -1,4 entre les unités glucose.

Les cyclodextrines sont des oligomères cycliques du glucose issus de la dégradation enzymatique de l'amidon, plus précisément de l'amylose [32]. Différents amidons sont utilisés pour la préparation des cyclodextrines, mais les meilleurs rendements sont obtenus avec l'amidon de pomme de terre [16].

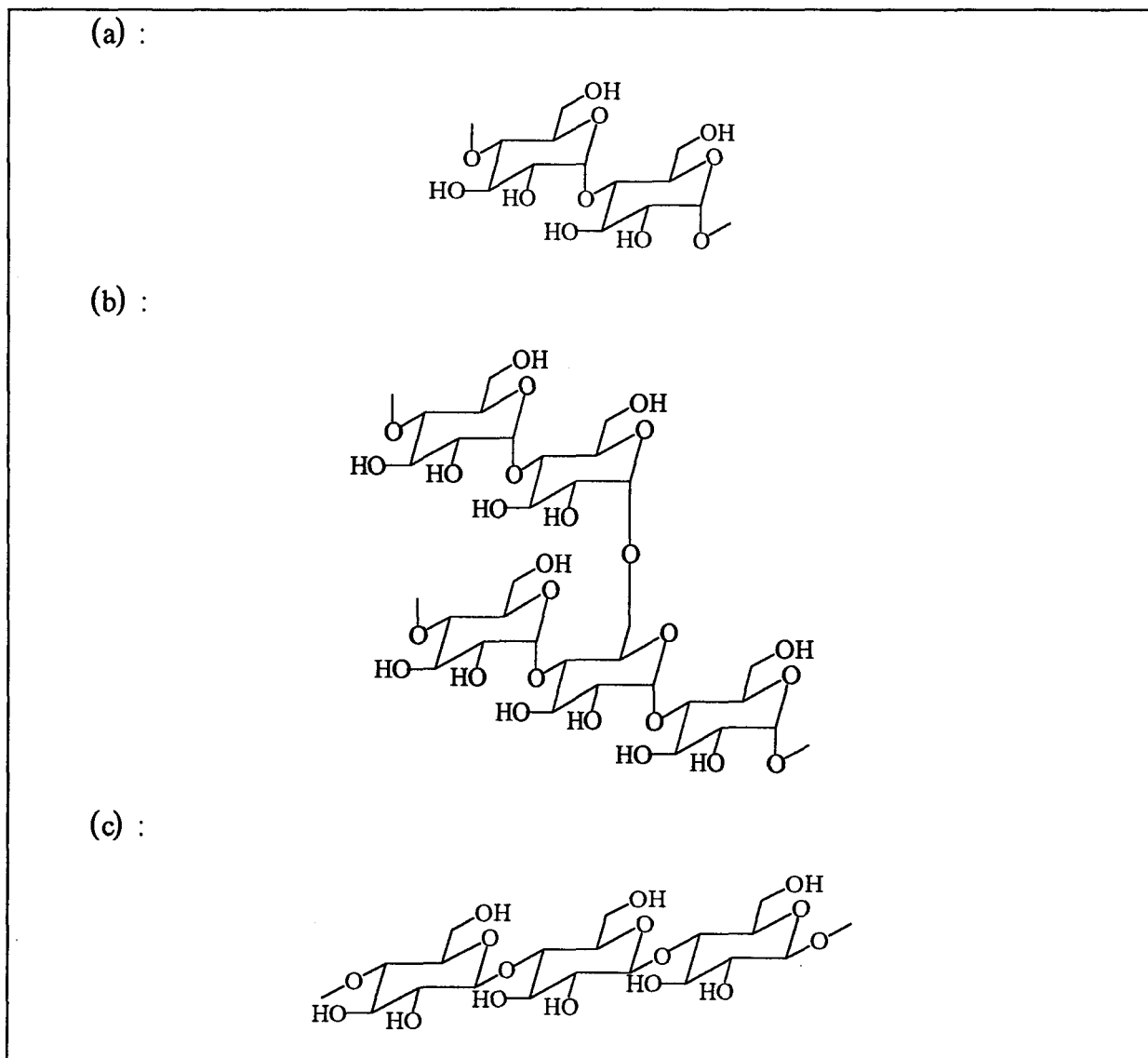


Figure 1 : Structure de l'amylose (a), de l'amylopectine (b) et de la cellulose (c).

L'enzyme, la cyclodextrine glycosyl transférase (CGTase), est produite par différents bacilles, notamment *Bacillus macerans*. La structure hélicoïdale de la macromolécule est détruite au profit d'une structure cyclique formée par des liaisons α -1,4. Un transfert de liaisons permet de relier entre elles les spires que forme naturellement l'amidon en solution aqueuse pour donner des oligoglucoses couronnes [8,9,19,21,24,26-30]. De par l'origine biologique des cyclodextrines, seuls les énantiomères dextrogyres des cyclodextrines sont formés, les énantiomères lévogyres n'étant obtenus jusqu'à présent que par des procédés synthétiques très coûteux [22].

D'autres souches bactériennes productrices d'enzymes peuvent être utilisées (tableau 1) [12,21-23].

| |
|---|
| <i>Bacillus macerans</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Bacillus stearothermophilus</i> <i>Bacillus megaterium</i> <i>Bacillus circulans</i> |
|---|

Tableau 1 : Bacilles producteurs d'enzymes CGTases.

Selon leur origine, ces enzymes agissent de façon spécifique sur l'amidon en donnant des proportions définies d' α , de β , et de γ -cyclodextrine, l'une d'entre elles étant toujours largement majoritaire. Les enzymes produites par *Bacillus macerans* et *Klebsiella pneumoniae* forment principalement l' α -cyclodextrine, alors que celles produites par *Alkalophilic bacterium No 38-2* forment préférentiellement la β -cyclodextrine [12]. Egalement, les facteurs enzymologique et thermodynamique, ainsi que l'addition d'agents précipitants sélectifs, jouent sur la proportion des différentes cyclodextrines obtenues [12,19,20,25,34].

La préparation des cyclodextrines peut être subdivisée en quatre phases principales [12] :

- ❶ Culture d'un micro-organisme produisant l'enzyme CGTase.
- ❷ Séparation de l'enzyme du milieu, puis concentration et purification de l'enzyme.
- ❸ Conversion enzymatique de l'amidon en solution aqueuse en un mélange de dextrines cycliques et non cycliques.
- ❹ Séparation des cyclodextrines du mélange de conversion, purification et cristallisation.

Les difficultés d'obtention sont multiples [8,12,16,19,20] :

- ❶ Chez la plupart des amidons, le taux d'amylose oscille entre 15 % et 25 %. Le rendement en cyclodextrines à partir de la matière première est donc relativement faible [25,35]. D'autant plus que la dégradation de l'amidon par la CGTase mène à un mélange des trois principales cyclodextrines α , β , et γ , avec du maltose et divers oligosaccharides, qu'il est nécessaire de séparer [8,12,19].

② L'amylose donne des solutions instables. Elle est trop sujette à des précipitations inopportunes, et elle s'agrège au cours du temps (phénomène dit de rétrogradation) [25,35].

③ La CGTase de *Bacillus macerans* ne convient pas à une production industrielle, car elle est elle-même difficile à produire et surtout instable à la chaleur [19,35]. L'industrie utilise plutôt la CGTase de *Alkalophilic bacterium No 38-2* pour la production de β -cyclodextrine. En effet, cette enzyme est encore active à 80°C et à pH compris entre 6 et 10, c'est-à-dire sous des conditions qui évitent les dommages par d'autres micro-organismes [34]. Ainsi, 80 % d'amidon peut être converti en β -cyclodextrine avec une très faible quantité d'autres cyclodextrines [21]. Cette méthode a l'avantage de ne pas utiliser d'agent précipitant sélectif, lequel est souvent toxique.

④ Les solvants utilisés pour précipiter les cyclodextrines présentent une certaine toxicité, comme le trichloroéthylène ou le bromobenzène. De nos jours, on essaye d'utiliser des mélanges de solvants aqueux à base d'alcools [19,20]. Ces solvants permettent d'isoler une cyclodextrine particulière [12]. En effet, le produit final est celui qui est continuellement relargué du mélange réactionnel par une précipitation sélective. Aussi, les différentes cyclodextrines peuvent être obtenues avec de très bons rendements et avec une remarquable pureté (99 %) (tableau 2) [20,22].

| Cyclodextrine | Agent précipitant | Rendement (%) |
|---------------|-------------------------|---------------|
| α | 1-décanol | 40 |
| β | toluène | 50-60 |
| γ | cyclohexadec-8-èn-1-one | 40-50 |

Tableau 2 : Synthèse de cyclodextrines par dégradation enzymatique de l'amidon.

⑤ Enfin, parmi les différentes cyclodextrines, toutes ne présentent pas le même intérêt. Les cyclodextrines à 5 (et moins) unités glucose n'existent pas pour des raisons de contrainte stérique [36,37]. Les cyclodextrines à 9 (et plus) unités glucose sont difficiles à purifier et leurs propriétés complexantes sont faibles [24].

Les cyclodextrines sont produites à l'échelle industrielle depuis 1979. La production s'est fortement accrue depuis 1984, avec la venue sur le marché de la β -cyclodextrine de grande pureté, soit sous forme cristalline, soit sous forme liquide appelée Celdex, et des premiers

composés d'inclusion [19,20,25]. La production industrielle a permis d'abaisser considérablement les prix, ce qui a énormément contribué à son développement. En effet, l'évolution des prix est marquée par l'évolution spectaculaire de la technologie de production des cyclodextrines. L' α -cyclodextrine, par exemple, coûtait, en 1980, plus de 20000 francs le kilo. Son prix aujourd'hui varie entre 500-1000 francs (prix industriels) et 4000 francs (prix détaillants mais avec une pureté bien meilleure !) le kilo.

Le Japon est le premier pays producteur (actuellement plus de 1000 tonnes de β -cyclodextrine par an) et utilisateur de cyclodextrines.

3. NOMENCLATURE

Les cyclodextrines sont également appelées cycloglucanes, cyclomaltoosides, cycloamyloses, ou dextrines de Schardinger. Le terme de cyclodextrine est de loin le plus employé.

Une lettre grecque indique le nombre d'unités glucose entrant dans la composition des cyclodextrines : α pour 6, β pour 7, γ pour 8, δ pour 9, ...

L' α -cyclodextrine, la β -cyclodextrine, et la γ -cyclodextrine sont les trois plus connues et utilisées d'entre elles. La β -cyclodextrine est la plus produite, la moins chère et la plus utilisée.

4. STRUCTURE

Les cyclodextrines sont des oligoglucoses cycliques, constitués par l'assemblage de 6 voire 12 motifs glucose (unités glucopyranoses) reliés par des liaisons α -1,4. Ces composés se présentent sous forme d'anneau, de godet ou d'abat-jour, conséquence de la conformation chaise des résidus glucopyranoses et de leurs liaisons glycosidiques du type α -1,4 [8,9,12].

La figure 2 met en évidence la forme conique tronquée et la rigidité de la molécule de cyclodextrine. Les cyclodextrines possèdent approximativement un axe de symétrie de type C_n . Elles se caractérisent plus précisément par une structure toroïde tronconique présentant à l'extérieur des groupes hydroxyles primaires portés par les carbones C_6 bordant le petit diamètre (A) et secondaires portés par les carbones C_2 et C_3 bordant le grand diamètre (B), et dans la partie interne des atomes d'hydrogène, de carbone, et des liaisons étheroxydes.

De cette structure en couronne découlent toute la particularité de cette molécule et ses propriétés : la densité électronique élevée due aux oxygènes glucosidiques transforme l'intérieur de la cyclodextrine en une cavité hydrophobe (C) ayant un caractère apolaire (base de Lewis) [23] et un caractère hautement hydrophile pour la partie externe (figure 2) [23,24].

Signalons que les groupes hydroxyles primaires se trouvant du côté le plus étroit peuvent tourner légèrement de façon à bloquer partiellement la cavité, alors que les groupes hydroxyles secondaires situés sur les chaînes relativement rigides (côté le plus ouvert) ne le peuvent pas [9,12,36,37].

Une rotation complète d'une unité glucose autour d'un axe C_1-C_4 est impossible pour des raisons stériques. Donc les protons H_3 et H_5 sont toujours situés à l'intérieur du tore, tandis que les protons H_1 , H_2 , et H_4 sont toujours dirigés vers l'extérieur.

La structure macrocyclique, l'hydrophilie externe, l'espace interne apolaire, confèrent aux cyclodextrines leurs propriétés très particulières.

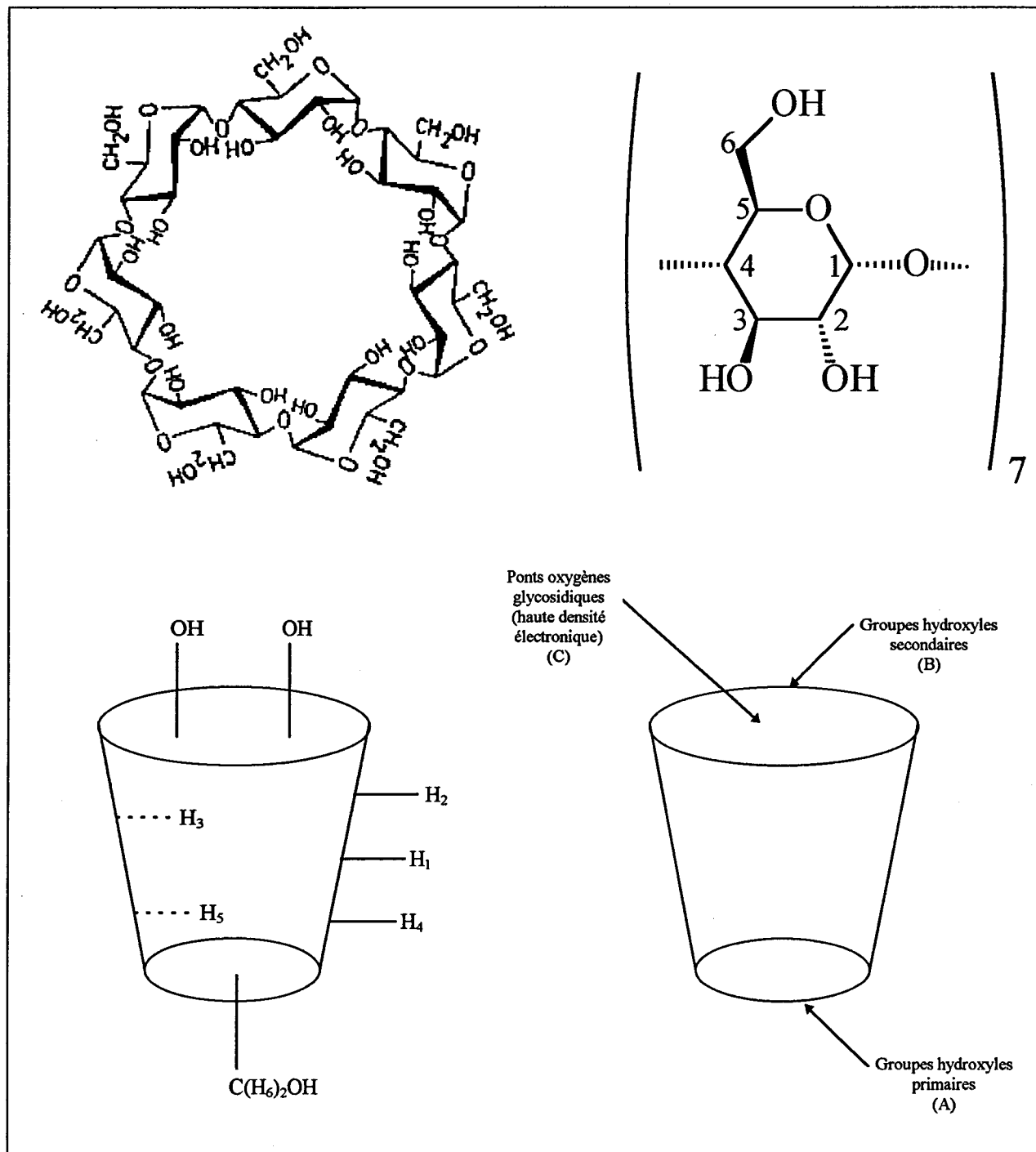


Figure 2 : Structure de la cyclodextrine (exemple de la β -cyclodextrine).

5. PROPRIETES

Le tableau 3 donne les dimensions et quelques caractéristiques physicochimiques importantes des trois principales cyclodextrines α , β et γ , et de deux dérivés couramment utilisés de la β -cyclodextrine dont nous parlerons plus loin dans le chapitre 7 : la 2,6-di-O-méthyl- β -cyclodextrine (DM- β CD) et la 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrine (HP- β CD) [10,21-23]. A cause de la forme conique des cyclodextrines et des déviations par rapport à la symétrie idéale C_n , les dimensions ne peuvent être obtenues qu'avec une précision de $\pm 0,4 \text{ \AA}$.

| Caractéristiques/Cyclodextrine | α -CD | β -CD | γ -CD | DM- β -CD | HP- β -CD |
|--|--------------|-------------|--------------|-----------------|-----------------|
| Nombre d'unités glucose | 6 | 7 | 8 | 7 | 7 |
| Diamètre de la cavité (\AA) | 4,7-5,2 | 6,0-6,4 | 7,5-8,3 | 6 | 6 |
| Hauteur du tore (\AA) | 7,9-8,0 | 7,9-8,0 | 7,9-8,0 | 10,0 | |
| Diamètre de la périphérie (\AA) | 14,2-15,0 | 15,0-15,8 | 17,1-17,9 | | |
| Volume approximatif de la cavité (\AA^3) | 174 | 262 | 427 | | |
| Masse molaire (g/mol) | 972 | 1135 | 1297 | 1331 | 1300 |
| Solubilité dans l'eau à 25°C (g/100 ml) | 14,5 | 1,85 | 23,2 | 57 | >50 |
| Température de fusion (°C) | 275 | 280 | 275 | 295-300 | |
| pK _a à 25°C | 12,3 | 12,2 | 12,1 | | |
| Demi-vie de l'ouverture du cycle (h) dans HCl 1 mol.l ⁻¹ à 60°C | 6,2 | 5,4 | 3,0 | 8,5 | |
| Pouvoir rotatoire [α] à 25°C (raie D du sodium) | 149,5-150,5 | 162-163 | 176,9-177,9 | | |
| Nombre de molécules d'eau retenues dans la cavité * [10,22] | 6-7,57 | 11-12 | 13,3-17 | | |
| Hydrolyse enzymatique par <i>Aspergillus oryzae</i> α -amylase | négligeable | lente | rapide | | |

Tableau 3 : Principales caractéristiques de quelques cyclodextrines.

* : déterminé par diffraction des rayons X et diffraction neutronique

Notons que la β -cyclodextrine est la moins soluble des cyclodextrines. Elle est donc la plus facile à purifier par recristallisation [8,9,12]. Cette différence de solubilité s'explique par l'établissement de liaisons hydrogène qui unit les groupes hydroxyles secondaires deux à deux. Ces liaisons hydrogène intramoléculaires stabilisent la molécule de cyclodextrine, rendant rigide sa structure [36], et empêchent ainsi l'hydratation de la molécule [12]. Cette ceinture de liaisons hydrogène n'est pas observable dans les α et γ -cyclodextrines, car la taille des cycles

est, soit trop petite (α), soit trop grande (γ), pour observer ce phénomène. La γ -cyclodextrine possède une structure non coplanaire, plus flexible, et donc est la plus soluble des trois cyclodextrines courantes [12].

La solubilité des cyclodextrines dans l'eau augmente rapidement avec la température, et elle varie en fonction de la nature et de la concentration du solvant [16,32,38]. Le tableau 4 donne quelques valeurs pour la β -cyclodextrine.

| Solvant/Température | 25°C | 45°C |
|-----------------------|------------|------------|
| Eau | 1,85 | 3,1 |
| Ethanol | 0,1 | 0,1 |
| Propan-1-ol | 0,1 | 0,1 |
| Glycérol | 4,3 | 0,8 |
| Diméthylformamide | excellente | excellente |
| Diméthylsulfoxyde | excellente | excellente |
| Pyridine | excellente | excellente |
| N,N-Diméthylacétamide | excellente | excellente |

Tableau 4 : Solubilité en g/100 ml de la β -cyclodextrine dans différents solvants et à différentes températures.

Le pK_a des groupes hydroxyles secondaires de la β -cyclodextrine est de 12,2, ce qui est faible comparé aux dextrans non cycliques. Ceci est dû à la stabilisation de l'ion alkoxide par des liaisons hydrogène intramoléculaires avec les groupes hydroxyles voisins, ainsi qu'aux effets inductifs des atomes d'oxygène électronégatifs [23].

Les cyclodextrines sont inodores et ont un goût très faiblement sucré. Elles ne sont pas réductrices, et sont complètement résistantes à l'hydrolyse enzymatique habituelle des amidons, notamment à la β -amylase, puisqu'elles ne possèdent pas de groupes terminaux susceptibles d'être attaqués par cette enzyme. Toutefois, l' α -amylase est capable d'hydrolyser les cyclodextrines mais en général à un faible taux [12,16,19].

Si les cyclodextrines ne présentent aucun intérêt nutritionnel direct, elles ne présentent aucune toxicité non plus, comme en témoigne les nombreux tests effectués sur elles, notamment par voie orale. Les cyclodextrines à 6, 7, ou 8 unités glucose sont en effet inoffensives pour tous les organismes vivants, où elles s'hydrolysent lentement pour libérer leurs 6, 7, ou 8 unités

glucose. Elles ne sont ni embryotoxiques, ni tératogènes, et ni mutagènes. Leur métabolisme est à peu près identique à celui de l'amidon de pomme de terre [16,25,35]. L'administration orale de cyclodextrine à des rats ou des chiens n'est pas toxique si la dose journalière ne dépasse pas 3 % de la ration alimentaire. Chez l'homme, la prise journalière ne doit pas excéder 1 à 2 g par jour [16,20,21,23,35].

Mais la propriété la plus remarquable est celle de pouvoir donner des complexes d'inclusion, association hôte-invité (« host-guest ») qui modifie profondément les propriétés originelles de ce dernier. Les molécules complexées sont très variables, allant des réactifs polaires comme les acides ou les amines, jusqu'aux hydrocarbures aliphatiques et aromatiques, en passant par les ions, halogénures notamment.

6. COMPLEXES D'INCLUSION

Les complexes hôte-invité sont des exemples importants de structure supramoléculaire résultant d'interactions non covalentes entre plusieurs molécules individuelles [22]. La molécule hôte offre généralement une cavité à la molécule invitée.

Les interactions mises en jeu dans la complexation peuvent être coulombiennes, dipolaires, de Van der Waals, solvato-phobes, ou encore des liaisons hydrogène entre l'hôte et l'invité [21,22]. Lorsque l'invité est situé à l'intérieur de la cavité, on parle de complexe d'inclusion selon la nomenclature proposée par Cramer [33]. Mais, si l'invité interagit avec l'hôte à l'extérieur de la cavité, on parle alors plutôt de complexe d'association.

La partie externe de l'hôte doit être compatible avec le solvant utilisé afin d'éviter des problèmes d'insolubilité ou d'agrégation.

La complexation peut, en outre, se produire aussi bien en solution qu'à l'état solide [9,11,21,30].

Les cyclodextrines représentent un exemple important de molécules hôtes. Ces molécules « cages » se comportent comme des molécules « refuges », des « hôtes », capables d'inviter dans leur espace interne, de façon réversible, un très grand nombre de substrats. Du fait de l'hydrophilie de leur partie externe, les cyclodextrines forment des complexes d'inclusion principalement en solution aqueuse [21].

6.1. Compatibilité géométrique

Le mécanisme de formation du complexe d'inclusion n'est régi essentiellement que par un facteur déterminant, le facteur géométrique : le substrat doit avoir une taille compatible avec la cavité de la cyclodextrine. Il faut donc, pour former un complexe d'inclusion, que la molécule invitée entre au moins partiellement dans la cavité de la cyclodextrine [9,12,19,30]. A titre d'exemple, le naphthalène est trop volumineux pour l' α -cyclodextrine, mais forme un complexe stable avec la β -cyclodextrine, alors que l'anthracène n'entre que dans la γ -cyclodextrine (tableau 5).

En général, la stabilité des complexes d'inclusion augmente avec la capacité de l'invité à s'emboîter dans la cavité de l'hôte. Des complexes stables ne seront pas formés avec des substrats trop petits car ceux-ci glisseront hors de la cavité. De même, la formation d'un complexe d'inclusion sera également impossible avec des molécules trop grosses pour pénétrer même partiellement dans la cavité de la cyclodextrine.

| | α -CD | β -CD | γ -CD |
|-------------------|--------------|-------------|--------------|
| Acide propanoïque | + | - | - |
| Biphényle | + | + | + |
| Cyclohexane | + | + | + |
| Naphtalène | - | + | + |
| Anthracène | - | - | + |
| Chlore | + | - | - |
| Brome | + | + | - |
| Iode | + | + | + |

Tableau 5 : Capacité des cyclodextrines à former des complexes d'inclusion avec quelques substrats.

(+ → inclusion, - → pas d'inclusion)

Les complexes d'inclusion les plus courants sont de type 1:1 : à une molécule de cyclodextrine correspond une molécule invitée. Mais quand une molécule invitée est trop grande pour être

totalemment incluse dans une seule cavité, son autre extrémité peut alors également être encapsulée par une autre molécule de cyclodextrine. Des complexes de type 2:1 [39], 2:2 [40], 3:1 [41], 3:2 [42], ou 4:5 [43] peuvent alors se former. Toutefois, il est aussi possible de faire des complexes de type 1:2 [44] ou des complexes à trois composants [45] (figure 3 et tableau 6 pour quelques exemples).

Le cas d'une molécule amphiphile peut également se présenter, c'est alors la partie la plus apolaire (hydrophobe) qui entre dans la cavité, de façon à établir le plus grand recouvrement des zones hydrophobes, alors que la partie la plus polaire (hydrophile) reste à l'extérieur de la cavité, pour assurer un meilleur contact entre le solvant et les groupes hydroxyles externes.

Selon la forme de l'hôte et de l'invité, différentes interactions peuvent s'établir. L'inclusion peut être totale, c'est-à-dire impliquant une molécule de chacun des partenaires, ou partielle, c'est-à-dire ne concernant alors que la partie la plus lipophile de la molécule. De même, un substrat long et fin formera un complexe d'inclusion axial, tandis qu'un substrat petit et volumineux formera plutôt un complexe d'inclusion de type sandwich (figure 3 et tableau 6). La figure 4 montre, par exemple, les inclusions obtenues entre la prostaglandine $F_{2\alpha}$ et les trois principales cyclodextrines (inclusions partielles).

| Molécule hôte | Molécule invitée | Stoechiométrie H:I | Type d'inclusion |
|---------------|---------------------------------------|--------------------|------------------|
| α -CD | 4-Iodaniline | 1:1 | totale |
| α -CD | 4-Nitrophénol | 1:1 | totale |
| α -CD | 3-Nitrophénol | 1:1 | partielle |
| α -CD | Ferrocène | 2:1 | sandwich |
| α -CD | Prostaglandine $F_{2\alpha}$ | 1:1 | partielle |
| β -CD | 1,4-Butanediol | 1:1 | axiale |
| β -CD | 1,4-Diazabicyclo[2,2,2] octane | 1:1 | totale |
| β -CD | Hexaméthylènetétramine | 1:1 | totale |
| β -CD | Acide 2-(3-phénoxyphényl) propionique | 1:1 | axiale |
| β -CD | Benzaldéhyde | 1:1 | totale |
| β -CD | Prostaglandine $F_{2\alpha}$ | 1:1 | partielle |
| γ -CD | 1-Propanol | - | pas d'inclusion |
| γ -CD | Prostaglandine $F_{2\alpha}$ | 1:1 | partielle |

Tableau 6 : Quelques exemples de différents types de complexes hôte (H)-invité (I) [22].

Le type d'inclusion a été déterminé par diffraction des rayonsX.

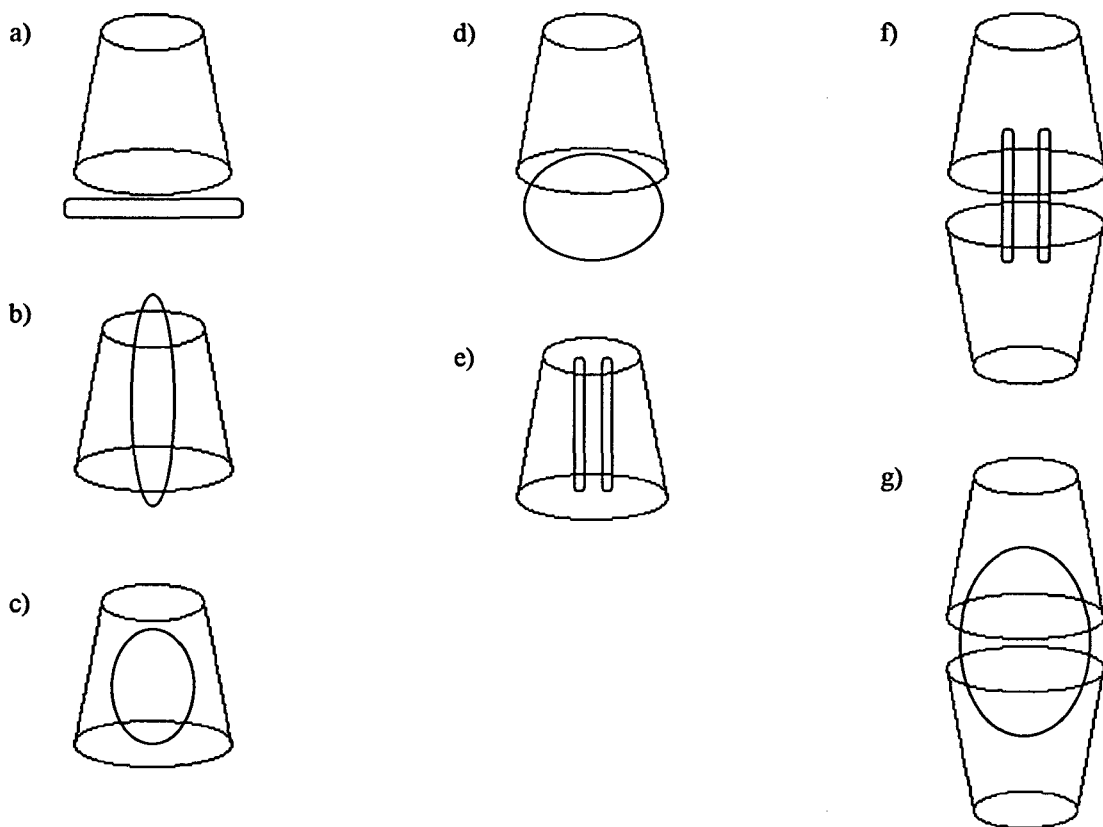


Figure 3 : Topologie des complexes de cyclodextrine.

a) : Association, b) : Inclusion axiale, c) : Inclusion totale, d) : Inclusion partielle, e) : Complexe d'inclusion 1:2, f) : Complexe d'inclusion 2:2, g) : Inclusion de type sandwich.

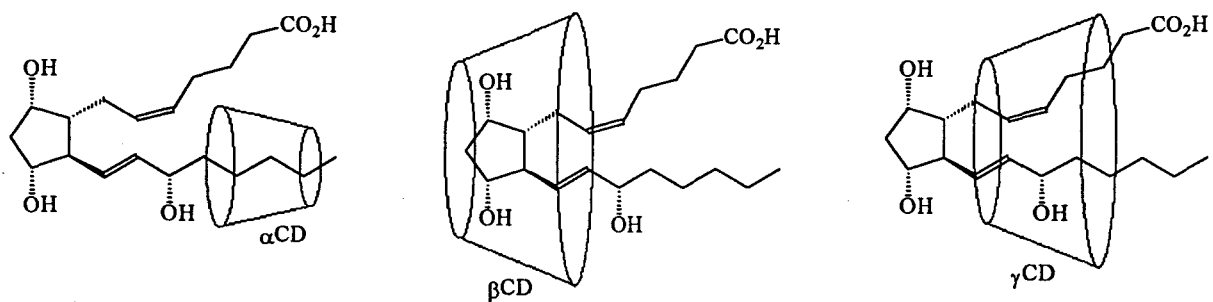


Figure 4 : Exemples d'inclusion partielle (cas de la prostaglandine $F_{2\alpha}$).

6.2. Polarité et charge

D'autres facteurs peuvent intervenir, notamment la polarité du substrat : les molécules moins polaires que l'eau sont complexées par les cyclodextrines, celles qui sont très hydrophiles, hydratées ou ionisées ne sont pas ou sont faiblement complexables [36].

Citons un exemple parmi tant d'autres : le benzène sulfonate de sodium présente deux groupes capables de pénétrer dans la cavité de l' α -cyclodextrine, le cycle benzénique et le groupe sulfonate. Il a été montré que l'orientation du cycle benzénique dans la cavité est plus stable que l'orientation du groupe sulfonate polaire. L'explication est la suivante : la cavité de la cyclodextrine étant moins polaire que le milieu aqueux environnant, plus le substrat est polaire et moins sa tendance à aller vers la cavité est grande, donc moins grande est la stabilité du complexe obtenu [16,46].

Cette règle générale a toutefois au moins une exception. En effet, **Bergeron** [47] signale que le p-nitrophénolate de sodium forme un complexe 13 fois plus stable avec la cavité de la cyclodextrine que le p-nitrophénol, alors que c'est le contraire pour l'acide benzoïque et son anion correspondant. La spectroscopie RMN du proton montre que la direction de pénétration de la molécule invitée est responsable de la stabilité du complexe p-nitrophénol-cyclodextrine.

6.3. Préparation

Il existe différentes méthodes pour préparer des complexes d'inclusion. Elles varient selon les propriétés du substrat [33,34]. C'est l'eau qui est généralement prise comme solvant, car la formation des complexes en solution aqueuse est très rapide. Cependant, les substances fortement hydrosolubles sont faiblement complexées. La complexation peut aussi avoir lieu dans des solvants organiques polaires (DMF, DMSO) [22] ; toutefois, la gamme des solvants organiques est restreinte, puisque de nombreux solvants tels que la pyridine ou le toluène, forment des complexes stables avec la cyclodextrine, et rentrent donc en compétition avec le substrat. D'autre part, la stabilité du complexe en solution aqueuse diminue fortement quand un solvant organique est ajouté, même à de très faibles quantités [22].

Généralement, l'une des trois méthodes suivantes est appliquée [21] :

❶ Une quantité équimolaire ou un excès de 10 en substrat hydrosoluble est dissout directement dans une solution aqueuse concentrée chaude ou froide de cyclodextrine. Le complexe d'inclusion précipite, soit immédiatement, soit en refroidissant la solution, soit encore en l'évaporant.

❷ Un substrat non soluble dans l'eau est dissout dans de l'éther, du chloroforme, du benzène, etc, puis mélangé avec une solution aqueuse concentrée de cyclodextrine. Le complexe d'inclusion est ensuite lavé avec un solvant organique pour éliminer toute substance adhérente.

❸ Les deux procédures précédentes sont valables pour une préparation en laboratoire. Dans l'industrie, le substrat est mis en solution dans l'eau et ajouté à une solution saturée de cyclodextrine. La viscosité du mélange augmente alors généralement, donnant une pâte qui peut être séchée, broyée, et lavée. Si le complexe d'inclusion est soluble dans l'eau, ou s'il se décompose au séchage, il est lyophilisé. Ainsi, il conserve sa forme bien dispersée, ce qui est avantageux surtout dans l'industrie pharmaceutique où les complexes d'inclusion doivent être fortement hydrosolubles.

Les substrats possédant des groupes hydrophiles ou des dérivés hydrophiles de cyclodextrine, donneront lieu à des complexes très hydrosolubles. Par exemple, les complexes paraffine- α -cyclodextrine sont insolubles dans l'eau [32], alors que les complexes d' α -cyclodextrine avec des alcools, des acides carboxyliques, ou des α,ω -diols sont très solubles dans l'eau [22]. De même, la sulfopropyl- α -cyclodextrine ou l'hydroxypropyl cyclodextrine sont capables de solubiliser totalement des molécules hydrophobes telles que la paraffine ou le toluène [22].

En solution homogène, la plupart des complexes se forme très rapidement (10^{-6} à 10^{-3} seconde) [48], tandis qu'en milieu hétérogène, le taux de formation des complexes est déterminé par le taux de dissolution.

6.4. Etude détaillée du phénomène de complexation

Nous allons à présent essayer de mieux comprendre ce phénomène de complexation, en utilisant les résultats publiés par Cramer en 1967 [48], Bender et Komiyama en 1978 [8], Saenger en 1976 [49], et par Szejtli en 1982 [9].

La figure 5 illustre explicitement le mécanisme de formation du complexe substrat/cyclodextrine, et permet de comprendre pourquoi un composé organique en solution aqueuse vient spontanément pénétrer à l'intérieur de la cavité de la cyclodextrine [13].

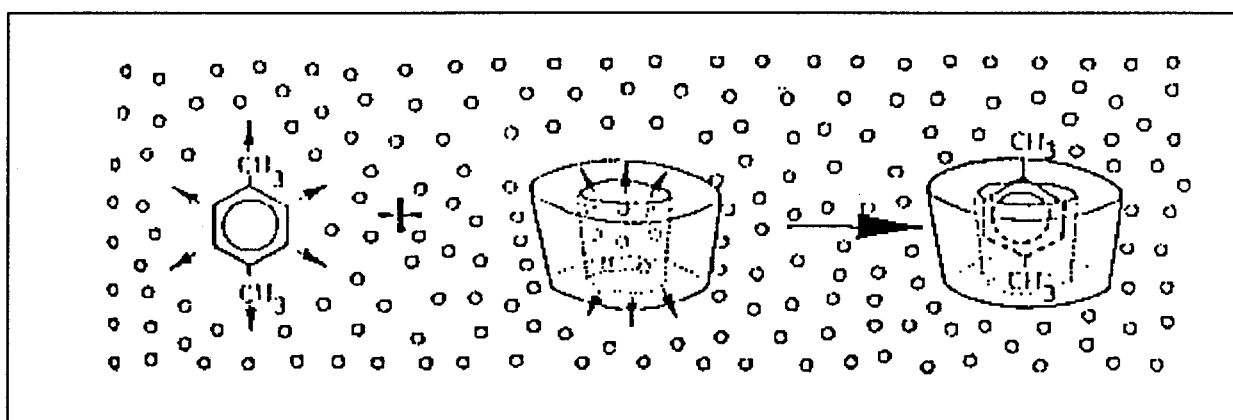


Figure 5 : Mécanisme de l'inclusion d'un composé aromatique en solution par la cyclodextrine (exemple du p-xylène). Les flèches matérialisent les interactions entre le solvant (eau) et les régions hydrophobes des molécules.

En solution aqueuse, la cavité de la cyclodextrine est occupée par des molécules d'eau qui se trouvent dans un état énergétique défavorable, du fait des interactions polaire-apolaire, et sont donc facilement remplacées par des molécules appropriées, moins polaires que l'eau. De plus, les composés organiques dissous dans l'eau présentent une préférence pour les environnements hydrophobes.

Ce phénomène de complexation est la résultante d'une multitude d'interactions (substrat/solvant, solvant/solvant et cyclodextrine/solvant) qui conduisent à l'état thermodynamique le plus stable. Nous allons détailler chacune de ces composantes et faire le lien entre la nature et la force de chaque type d'interactions, et sa manifestation au point de vue thermodynamique.

Cramer, en 1967, montre que la formation de complexes d'inclusion cyclodextrine-substrat comprend six étapes élémentaires [48] :

❶ Le substrat s'approche de la molécule de cyclodextrine.

❷ Les molécules d'eau s'échappent de la cavité de la cyclodextrine et acquièrent un niveau d'énergie correspondant à celui de l'état gazeux. Les interactions de Van der Waals et le nombre de liaisons hydrogène diminuent, tandis que les degrés de liberté de translation et de rotation des molécules d'eau libérées augmentent.

❸ La molécule invitée se libère de la couche d'eau qui l'enrobe, et acquiert aussi un état différent. La couche d'eau se disperse et se réarrange.

❹ La molécule invitée, considérée comme étant dans l'état d'un gaz parfait, entre à l'intérieur de la cavité vide et le complexe est stabilisé par des interactions de Van der Waals et/ou par des liaisons hydrogène.

❺ Les molécules d'eau expulsées se réarrangent et créent entre elles des liaisons hydrogène.

❻ La structure de l'eau est restaurée autour de la partie du substrat qui reste en contact avec le solvant, et intégrée à la couche d'eau hydratant la cyclodextrine.

Bien que la description de la formation d'un complexe d'inclusion ait été faite en terme d'interaction hydrophobe, la nature des forces liantes reste controversée. **Bender et Komiyama [8]**, en 1978, montrent que les forces d'interaction aboutissant à la formation d'un complexe d'inclusion ne sont pas des forces liantes apolaires classiques. En effet, une force liante apolaire est normalement caractérisée par une variation d'entropie très favorable, alors qu'il s'avère que la formation d'un complexe d'inclusion s'accompagne d'une variation d'enthalpie favorable ($\Delta H < 0$) et d'une variation d'entropie défavorable ($\Delta S > 0$) [24]. La variation d'entropie a plusieurs origines. La première contribution à ce changement d'entropie est que l'eau, entourant initialement le substrat apolaire d'une manière ordonnée, se désorganise. La seconde est qu'il y a en même temps une réduction des degrés de liberté de translation et de rotation à cause de la complexation hôte-invité. Ces deux effets opposés sont presque égaux, aussi la variation globale d'entropie peut être très petite ou même nulle [12].

En résumé, la formation d'un complexe d'inclusion est associée à une interaction énergétiquement favorable entre un substrat relativement apolaire et une cavité hydrophobe imparfaitement solvatée.

Plus la molécule invitée pénètre dans la cavité de la cyclodextrine, plus grande est la variation d'enthalpie, et plus la stabilité du complexe est grande, et ceci d'autant plus que la molécule est apolaire.

Les complexes de cyclodextrine ainsi formés sont stabilisés par diverses forces intermoléculaires [8,9,12], telles que :

❶ Des liaisons faibles de type Van der Waals entre l'hôte et l'invité [21]. Ce sont des forces d'interaction de nature dipôle-dipôle.

❷ Des liaisons hydrogène entre la molécule invitée et les groupes hydroxyles de la cyclodextrine [23]. Ce sont des forces d'interaction plus fortes que les liaisons de Van der Waals.

❸ La libération de molécules d'eau avec une énergie élevée lors de la substitution par la molécule invitée. En effet, les molécules d'eau retenues dans la cavité de la cyclodextrine ne peuvent pas former autant de liaisons hydrogène entre elles que celles qui sont à l'extérieur de la cavité, donc elles peuvent être considérées comme des molécules d'énergie ou d'enthalpie supérieure. La formation d'un complexe d'inclusion implique le remplacement de ces molécules d'eau d'enthalpie élevée, par le substrat invité, et il en résulte une variation d'enthalpie favorable [50].

❹ La libération de l'énergie de tension au sein de la molécule de cyclodextrine lors de la formation du complexe (passage de la conformation de plus haute énergie du complexe eau-cyclodextrine, vers la conformation de plus basse énergie du complexe cyclodextrine-molécule invitée) [9,24,49].

Saenger [49], en 1976, donne trois explications possibles pour la formation d'un complexe d'inclusion avec l' α -cyclodextrine en solution aqueuse. La première est que la molécule invitée remplace directement les molécules d'eau incluses. La seconde est que les molécules de

cyclodextrine en solution aqueuse absorbent l'énergie des molécules d'eau retenues dans la cavité et prennent alors une conformation relâchée. Dans cet état, les molécules d'eau peuvent être facilement substituées par un substrat potentiel. Enfin la troisième est que le substrat s'associe avec la surface extérieure de la cyclodextrine et ne pénètre dans la cavité qu'après avoir absorbé l'énergie d'activation.

Szejtli [9], en 1982, explique le gain d'enthalpie par l'arrivée spontanée de l'invité, chassant les molécules d'eau « actives » retenues dans la cavité apolaire de la cyclodextrine en solution aqueuse. Il admet que les liaisons de Van der Waals ainsi que les liaisons hydrogène jouent un rôle majeur. Mais il suppose que ces liaisons sont trop faibles pour conférer à elles seules une stabilité suffisante du complexe, et met en évidence les interactions stériques.

La possibilité d'une délocalisation de la charge de résonance de la molécule invitée peut être aussi très importante dans la stabilisation du complexe cyclodextrine-substrat. La délocalisation de la charge de résonance accentue la densité électronique et la polarisabilité du substrat, ce qui augmente les forces de dispersion London et la stabilité du complexe. Ceci a été démontré par **Buvari et Barcza [46]** avec le p-nitrophénolate de sodium qui forme un complexe plus stable avec la β -cyclodextrine que le p-nitrophénol.

Bergeron et Rowan [50] ont montré avec des mesures RMN du proton que les forces de dispersion London et la libération des molécules d'eau de haute énergie de la cavité, contribuent substantiellement à l'inclusion du p-nitrophénolate avec l' α et la β -cyclodextrine, alors qu'ils n'ont pas mis en évidence dans ce cas le concept de l'énergie de tension [47,50].

Il existe encore de nos jours une controverse, malgré tous les résultats publiés, sur l'importance à donner à la contribution de chacune des quatre forces, d'autant que leur présence dépend de la nature de la molécule invitée [9,12].

En résumé, retenons que la formation des complexes d'inclusion est le résultat de diverses interactions intermoléculaires telles que le caractère hydrophobe, les forces de Van der Waals et les liaisons hydrogène. Chaque type d'interaction joue un rôle dans la complexation. La stabilité du complexe dépendra surtout de la capacité de la molécule invitée de s'emboîter dans

la cavité, donc des interactions stériques. Les molécules les plus hydrophobes présenteront la plus grande affinité pour la cavité de la cyclodextrine, et les molécules emprisonnées seront orientées dans la cyclodextrine de façon à favoriser le maximum de contact entre leurs parties hydrophobes et la cavité apolaire de la cyclodextrine.

7. DERIVES DE LA CYCLODEXTRINE

Les cyclodextrines naturelles peuvent être modifiées chimiquement, par exemple pour améliorer la faible solubilité dans l'eau de la β -cyclodextrine, ou encore pour en diminuer la toxicité à forte dose. Les groupes hydroxyles de la cyclodextrine sont le point de départ pour des modifications chimiques ; divers groupes fonctionnels peuvent en effet être incorporés sur les molécules de cyclodextrine via ses groupes hydroxyles. Des cyclodextrines alkylées [22,23,37,51] et hydroxyalkylées [22,23,52] sont ainsi préparées pour obtenir de meilleures propriétés de transport de médicaments que les cyclodextrines naturelles. D'autres exemples de dérivés de cyclodextrine sont les cyclodextrines branchées [22,23] et les polymères de cyclodextrines [21-23].

Il existe un grand nombre de dérivés [9,21-23], mais nous ne donnerons ici que quelques exemples parmi les plus couramment employés.

7.1. Cyclodextrines méthylées

En introduisant des groupes méthyles sur les hydroxyles 2, 3, ou 6 de la cyclodextrine [22,23], les liaisons hydrogène intramoléculaires sont supprimées, et la conformation macrocyclique devient plus flexible.

La solubilité de ces dérivés méthylés est beaucoup plus élevée que celle des cyclodextrines naturelles (tableau 3) mais elle diminue quand la température augmente [37].

Les constantes de stabilité des complexes d'inclusion de cyclodextrines diméthylées sont également plus importantes que celles pour les cyclodextrines non modifiées, mais diminuent quand la température augmente [53].

La plus connue et utilisée à la fois en pharmacie et en médecine grâce à sa plus faible toxicité que la β -cyclodextrine est la 2,6-di-O-méthyl- β -cyclodextrine (notée généralement DIMEB) [22,23].

7.2. Cyclodextrines hydroxyalkylées

Les deux plus connues sont la 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrine (HP- β -CD) et l'hydroxyéthyl- β -cyclodextrine (HE- β -CD) [20,22,23].

Ces dérivés sont beaucoup plus solubles dans l'eau que la β -cyclodextrine (tableau 3) [52]. Ce sont d'excellents solubilisants de substrats divers et aucun complexe cristallin ne précipite même pour de hautes concentrations en dérivés de cyclodextrine, phénomène qui est souvent observé avec la β -cyclodextrine [52].

Ils sont également utilisés en pharmacie et en médecine grâce à leur plus faible toxicité que la β -cyclodextrine [23].

7.3. Cyclodextrines branchées

Les cyclodextrines branchées, telles que la glucosyl- β -cyclodextrine ou la maltosyl- β -cyclodextrine, ont également la propriété d'être beaucoup plus solubles dans l'eau que la β -cyclodextrine [20,22,23].

Les capacités de complexation de ces deux dérivés sont à peu près similaires à celles de la β -cyclodextrine. Toutefois, l'accroissement de la solubilité de substrats faiblement hydrosolubles par les cyclodextrines branchées est nettement plus important que celle par la β -cyclodextrine [23].

7.4. Polymères de cyclodextrine

Ce sont des molécules contenant au moins deux unités de cyclodextrine liées de manière covalente [21,22]. Ces dérivés peuvent être, soit hydrosolubles, soit se présenter sous forme de gels [12,23,54-56]. La manière la plus courante pour préparer ces polymères est la réaction en milieu alcalin des fonctions hydroxyles des cyclodextrines avec l'épichlorhydrine. L'obtention de polymères solubles nécessite l'arrêt de la polycondensation avant la gélification du système. En effet, la polyfonctionnalité des cyclodextrines entraîne une réticulation au-delà d'un certain degré de polymérisation, ce qui conduit à des gels insolubles.

Ces polymères sont capables de former des complexes d'inclusion avec différents substrats mais leur comportement complexant (constantes de stabilité par exemple) diffère généralement de celui de la cyclodextrine libre [37,57-59].

Les polymères de cyclodextrines insolubles peuvent être utilisés dans la chromatographie d'inclusion de gel ou d'affinité [21,60]. Les dérivés hydrosolubles sont largement employés dans l'industrie pharmaceutique, notamment dans la formulation de médicaments [61].

7.5. Cyclodextrines greffées sur des polymères

Une modification chimique peut être effectuée sur un polymère en introduisant une molécule de cyclodextrine sur les chaînes latérales de ce polymère [21,22,62-69]. Dans notre laboratoire, le greffage de la cyclodextrine a été réalisée sur des polyamines : la polyvinylamine [64-67], la polyallylamine [68] et la polyéthylèneimine [69]. La figure 6 montre l'exemple de la polyallylamine substituée par une cyclodextrine.

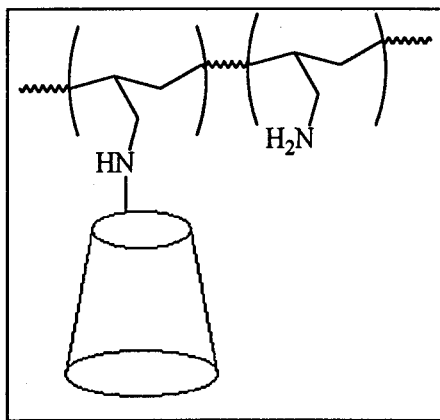


Figure 6 : Polyallylamine substituée par une cyclodextrine.

Il est également possible de polymériser de manière radicalaire un monomère substitué par la cyclodextrine [54,55]. La figure 7 montre l'exemple d'un polyacrylate de cyclodextrine obtenu par ce procédé.

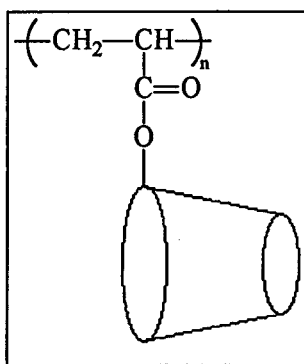


Figure 7 : Polyacrylate de cyclodextrine.

L'accessibilité des sites de complexation est meilleure dans le cas des polymères linéaires portant les molécules de cyclodextrine sur les chaînes latérales (chapitre 7.5) que dans les autres cas de polymères (chapitre 7.4). Les propriétés complexantes obtenues dépendent du taux de greffage de cyclodextrine sur les polymères [21,70,71].

Ces polymères peuvent être utilisés comme supports pour la chromatographie liquide haute performance (HPLC) [64,65,68,69].

8. MISE EN EVIDENCE DES COMPLEXES D'INCLUSION

Une des propriétés les plus intéressantes des cyclodextrines est leur capacité à former des complexes d'inclusion avec une large variété de substrats. L'encapsulation peut se produire en solution ou à l'état solide. En solution, il y a un équilibre entre les molécules complexées et non complexées ; à l'état solide, les molécules invitées peuvent être encapsulées à l'intérieur de la cavité ou s'agréger à l'extérieur de la molécule de cyclodextrine [48]. Une molécule incluse à l'intérieur de la cavité de la cyclodextrine voit ses propriétés physicochimiques modifiées. Ces changements fournissent les méthodes pour détecter si les substrats sont effectivement inclus dans la cavité de la cyclodextrine.

Il existe dans la littérature de nombreuses études sur la caractérisation de la structure, la mise en évidence et la stoechiométrie des complexes d'inclusion. Ces résultats ont été établis en utilisant des techniques variées dont les plus importantes sont l'absorption UV-Visible, la spectroscopie de fluorescence, la microcalorimétrie, le dichroïsme circulaire, l'analyse par diffraction des Rayons X, l'analyse thermogravimétrique, et la spectroscopie RMN [8,9,11,12,16,18,19,21,24,36,72].

Il serait fastidieux d'énumérer ici tous les résultats décrits. Citons, cependant, quelques résultats intéressants pour chacune des principales méthodes.

8.1. Complexes à l'état solide

8.1.1. Diffraction des rayons X

La diffraction des rayons X peut être utilisée pour détecter la formation d'un complexe d'inclusion à l'état solide [21,23,39,42,43,73-81]. La méthode est particulièrement employée dans le cas de substrats liquides puisque les liquides n'ont pas de taches de diffraction propres. Lorsque la tache de diffraction d'une substance nouvellement formée diffère totalement de celle de la cyclodextrine non complexée, la formation d'un complexe d'inclusion est démontrée. Lorsque le substrat est un solide, il faut alors comparer le diffractogramme du complexe présumé et celui du simple mélange des molécules de

cyclodextrine avec celles du substrat. Une tache de diffraction d'un mélange physique est généralement la somme de celle de chaque composé, tandis que les taches de diffraction des complexes de cyclodextrine sont différentes de chaque constituant et conduisent à une « nouvelle » phase solide avec un diffractogramme différent [39,75,77,78].

■ **Exemple** : Szejtli (cité dans [21]), en étudiant les interactions entre la β -cyclodextrine et la vitamine D₃, constate que les pics du mélange physique β CD + D₃ correspondent à ceux de la β -CD ou de D₃, tandis que les pics du complexe d'inclusion β CD-D₃ sont différents (figure 8).

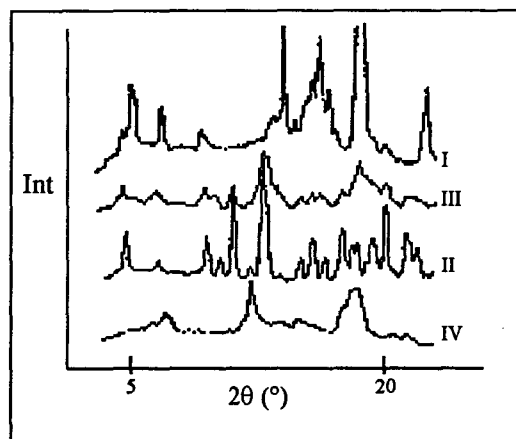


Figure 8 : Diagramme de diffraction des rayons X de : I. Vitamine D₃ (cholécalférol), II. β -cyclodextrine, III. Mélange physique des deux composés, et IV. Complexe d'inclusion.

8.1.2. Méthodes thermoanalytiques

Elles déterminent si le substrat subit des changements avant la dégradation thermique de la cyclodextrine [23,41,43,73-76,80,82-86]. Ces changements peuvent être la température de fusion, d'ébullition, de décomposition, d'oxydation, ou une transition polymorphique [12]. La décomposition thermique de la β -cyclodextrine apparaît vers 300°C.

■ **Exemple** : Harada [85], en étudiant les interactions entre la β -cyclodextrine et le complexe de palladium $[(\eta\text{-allyl})\text{PdCl}]_2$, constate que le substrat $[(\eta\text{-allyl})\text{PdCl}]_2$ et le mélange physique β CD+ $[(\eta\text{-allyl})\text{PdCl}]_2$, se décomposent à partir de 145°C, alors que dans le cas du composé d'inclusion, il n'y a pas de changement significatif jusqu'à 190°C si l'on excepte la

perte d'eau (figure 9). Le complexe de métal est donc stabilisé par la formation du composé d'inclusion.

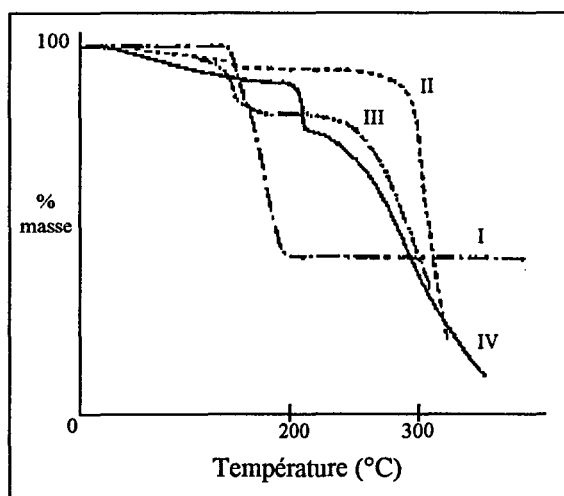


Figure 9 : Analyses thermogravimétriques (5°C/min, N₂) de : I. [(η-allyl)PdCl]₂, II. β-cyclodextrine, III. Mélange physique des deux composés, et IV. Complexe d'inclusion.

8.1.3. Chromatographie sur couche mince

La chromatographie sur couche mince (CCM) peut être utilisée pour identifier un complexe d'inclusion, puisque la formation d'un tel complexe diminue normalement considérablement les valeurs de R_f du substrat [72,87]. Cette méthode n'est pas toujours utile pour révéler la formation d'un complexe d'inclusion, car la complexation est un processus réversible. En conséquence, le complexe peut se dissocier complètement en les deux molécules hôte et invitée durant le processus de chromatographie où les éluants utilisés sont en général à base de solvant organique. Seules les taches des molécules hôte et invitée sont alors caractérisées sur la plaque [23].

8.1.4. Spectroscopie infrarouge

La spectroscopie infrarouge est utilisée pour évaluer les interactions entre la cyclodextrine et le substrat à l'état solide [23,42,43,73,76-80,82,83,85,88,89]. Cette technique est cependant moins infaillible. En effet, les bandes de la cyclodextrine ne changent souvent que très peu après la complexation, et si le pourcentage de molécules encapsulées dans le complexe est inférieur à 25 %, les bandes qui peuvent être attribuées à la partie incluse du substrat sont

facilement masquées par celles de la cyclodextrine [21]. L'utilisation de la spectroscopie infrarouge est donc généralement limitée aux substrats possédant des bandes caractéristiques, tels que les composés carbonylés ou sulfonylés [36].

■ **Exemple** : Chow [42], en étudiant les interactions entre la β -cyclodextrine et l'acide (\pm)-2-(p-isobutylphényl)propionique, constate des changements significatifs dans la région de l'absorption des carbonyles. La bande d'élongation caractéristique du carbonyle à 1709 cm^{-1} apparaît à la fois sur le spectre du substrat et sur celui du mélange physique, tandis que la bande est déplacée à 1736 cm^{-1} avec une diminution importante de l'intensité dans le cas du complexe d'inclusion (figure 10). Cette diminution est probablement due à une restriction des degrés de liberté du substrat à l'intérieur de la cavité de la β -cyclodextrine.

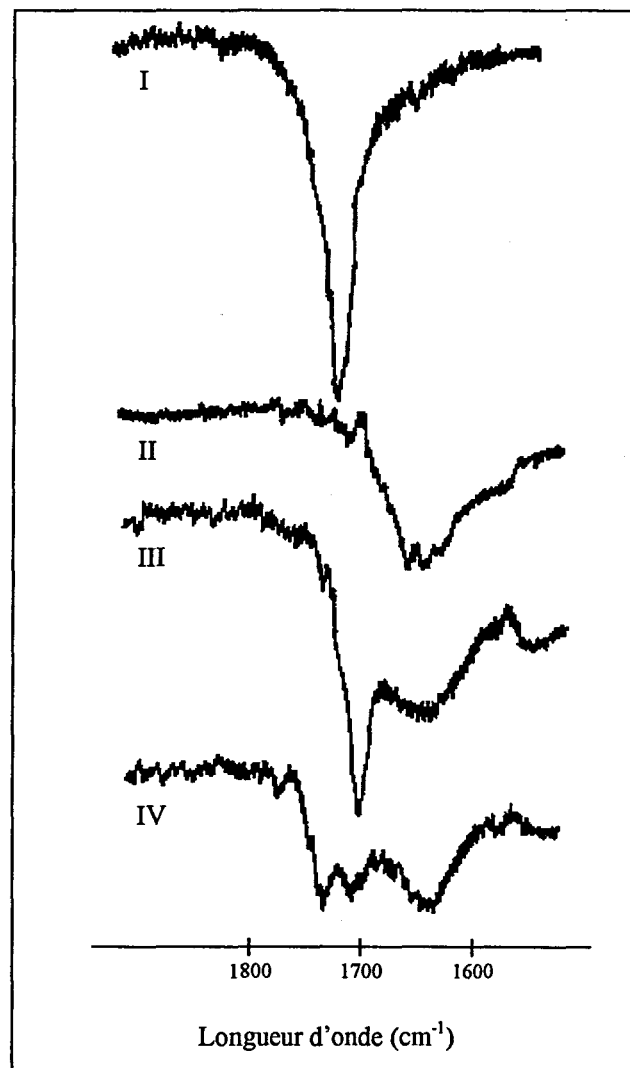


Figure 10 : Spectres infrarouge de : I. Acide (\pm)-2-(p-isobutylphényl)propionique, II. β -cyclodextrine, III. Mélange physique des deux composés, et IV. Complexe d'inclusion.

8.1.5. Mouillabilité

La mouillabilité de la phase solide par un solvant est toujours la première étape de tout processus de dissolution [23]. La complexation d'un substrat lipophile améliore souvent considérablement la mouillabilité dans l'eau. Plusieurs méthodes ont été décrites par Szejtli [12], notamment la mesure des angles de contact et les études de sédimentation.

8.2. Complexes en solution

8.2.1. Méthodes spectroscopiques

8.2.1.1. Spectroscopie UV-Visible

Si la complexation provoque des changements dans le spectre d'absorption du substrat, la spectroscopie UV-Visible est une méthode utile pour évaluer la complexation d'inclusion. Généralement, les modifications spectrales observées sont similaires à celles causées par les changements de polarité d'un solvant, suggérant que le chromophore de l'invité migre d'un milieu aqueux vers la cavité apolaire de la cyclodextrine [19]. Ces changements sont dus à une perturbation des niveaux d'énergie électronique de l'invité, liée soit à des interactions directes entre le substrat et la cyclodextrine, soit à l'exclusion autour du substrat des molécules d'eau solvatantes, soit encore par une combinaison de ces deux effets [24]. Bien que souvent de faibles déplacements soient seulement observés sur les spectres UV des molécules incluses [12], cette méthode est souvent employée pour détecter la complexation d'inclusion [23,42,48,51,78, 83-85,88-103].

■ Exemple : Cramer [48], en étudiant les interactions entre la β -cyclodextrine et le p-nitrophénolate de sodium, constate, par spectroscopie UV, que la formation du complexe d'inclusion s'accompagne d'un déplacement progressif en fonction de la concentration en α -cyclodextrine du pic vers les grandes longueurs d'onde (figure 11).

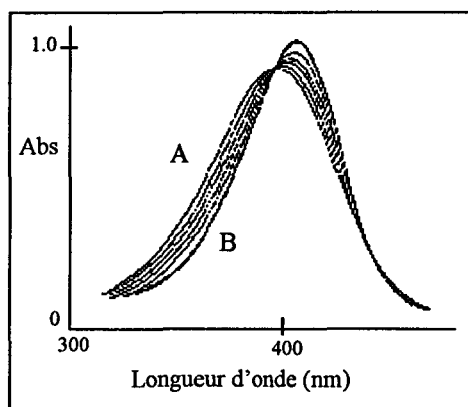


Figure 11 : Spectres UV du p-nitrophénolate de sodium (5.10^{-5} mol/l, pH=11, 20°C) en présence d' α -cyclodextrine de concentration croissante de A vers B : 0, 10^{-4} , $2,5.10^{-4}$, 5.10^{-4} , 10^{-3} , 5.10^{-3} , 10^{-2} mol/l.

8.2.1.2. Spectroscopie de fluorescence

Lorsque des molécules fluorescentes en solution aqueuse sont incluses dans les cyclodextrines, les spectres de fluorescence peuvent être modifiés [23,45,48,98-100,103-105]. Ceux-ci montrent clairement un accroissement de l'intensité de fluorescence du naphthalène, de la phenprocoumone et de l'ellipticine, en présence de cyclodextrine en solution aqueuse [23,91].

La proximité de deux chromophores inclus dans une seule molécule de cyclodextrine peut favoriser la formation d'excimères ou d'exciplexes, lesquels sont détectables par la spectroscopie de fluorescence [22,91].

■ Exemple : Nishijo [100], en étudiant les interactions entre la β -cyclodextrine et le 6-p-toluidinylnaphtalène-2-sulfonate de sodium (TNS), constate, par fluorimétrie intrinsèque, que la formation du complexe d'inclusion s'accompagne d'une augmentation de l'intensité de fluorescence du substrat (figure 12).

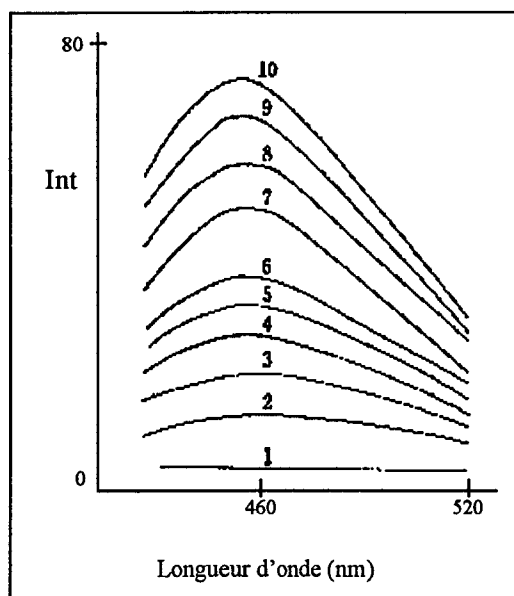


Figure 12 : Spectres de fluorescence du 6-p-toluidinylnaphtalène-2-sulfonate de sodium (TNS) (10^{-5} mol/l ; tampon de concentration 0,1 mol/l et de pH=7,4 ; 25°C) en présence d' α -cyclodextrine de concentration croissante de 1 vers 10 : 0, $2 \cdot 10^{-3}$, $4 \cdot 10^{-3}$, $6 \cdot 10^{-3}$, $8 \cdot 10^{-3}$, 10^{-2} , $1,4 \cdot 10^{-2}$, $2 \cdot 10^{-2}$, $2,4 \cdot 10^{-2}$, et $3 \cdot 10^{-2}$ mol/l.

La longueur d'onde d'excitation est de 365 nm.

8.2.1.3. Dichroïsme circulaire

Le dichroïsme circulaire est une méthode intéressante pour détecter les complexes d'inclusion de cyclodextrine en solution aqueuse [23,51,75,78,82,84,85,88-90,94,96,99, 101,102,106-111]. En effet, lorsqu'une molécule achirale est incluse dans la cavité asymétrique de la cyclodextrine (laquelle est composée d'unités glucose chirales), de nouvelles bandes de dichroïsme circulaire peuvent être induites dans les bandes d'absorption de l'invité optiquement inactif. Non seulement des molécules invitées achirales, mais aussi des molécules invitées chirales peuvent induire des changements dans les spectres de dichroïsme circulaire lors de la formation de complexes d'inclusion avec les cyclodextrines [23].

Ces modifications du dichroïsme circulaire (induit) sont dépendantes de la géométrie de la molécule hôte et de la molécule invitée [23,101,106]. Harata et Uedaira [101] observent une très grande différence entre le spectre de dichroïsme circulaire du complexe de β -cyclodextrine avec un naphthalène substitué en position 1 et celui du complexe de β -cyclodextrine avec un naphthalène substitué en position 2, indiquant que l'effet stérique des substituants sur la

formation du complexe est si important que le mode de complexation peut être différent pour ces deux molécules. Ils suggèrent qu'une bande de dichroïsme circulaire positive implique une inclusion axiale (parallèle à l'axe z de la cavité de la cyclodextrine, c'est-à-dire le long de l'axe de symétrie C_n), alors qu'une bande de dichroïsme circulaire négative implique une inclusion équatoriale (perpendiculaire à l'axe C_n). En appliquant ce principe, démontré ultérieurement par Kodaka [112,113], le naphthalène substitué en position 2 est inclus de manière axiale dans la cavité de la β -cyclodextrine. Une thèse similaire a été formulée par Kajtar (cité dans [9]), qui établit une règle simple pour prédire le dichroïsme circulaire induit par les substrats aromatiques complexés par la cyclodextrine.

■ Exemple où le substrat n'est pas optiquement actif: Monti [107], en étudiant les interactions entre la β -cyclodextrine et le phénol, constate que la formation du complexe d'inclusion s'accompagne de l'apparition d'un signal en dichroïsme circulaire (figure 13). La valeur de $\Delta\epsilon$ est relative à la concentration de phénol et montre l'ellipticité induite par la β -cyclodextrine. Le spectre montre les transitions caractéristiques π,π^* polarisées de manière axiale et équatoriale dans la cavité de la β -cyclodextrine avec un signe positif et négatif respectivement.

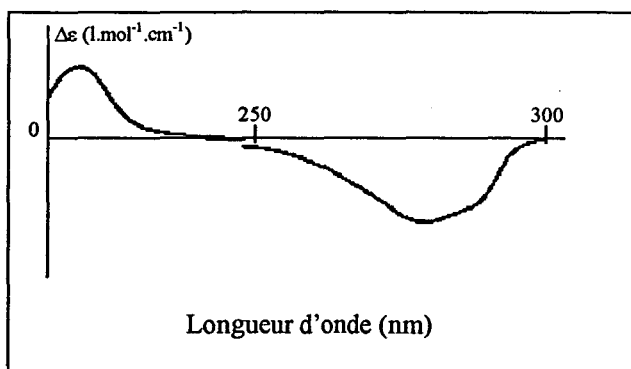


Figure 13 : Spectre de dichroïsme circulaire induit du complexe β -cyclodextrine-phénol dans l'eau.

■ Exemple où le substrat est optiquement actif: Szejtli [9], en étudiant les interactions entre la β -cyclodextrine et l'indométhacine, constate, par spectroscopie de dichroïsme circulaire, que la formation du complexe d'inclusion s'accompagne d'une augmentation de l'activité optique (figure 14). La valeur de $\Delta\epsilon$ est relative à la concentration d'indométhacine et

montre l'ellipticité induite par la β -cyclodextrine. L'activité optique dépend de la concentration du complexe qui est elle-même dépendante de la concentration des deux composés de départ.

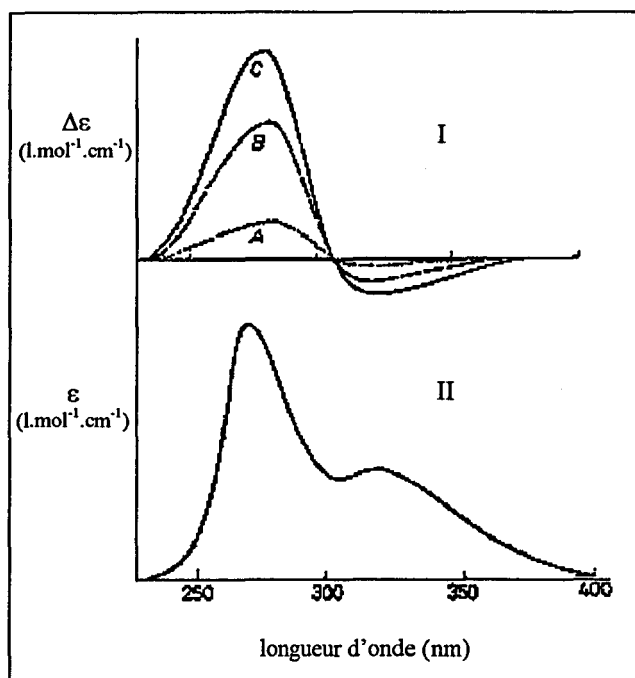


Figure 14 : I. Spectres de dichroïsme circulaire de l'indométhacine (10^{-4} mol/l, tampon de pH=8) en présence de β -cyclodextrine de concentration croissante de A vers C : 0, $2 \cdot 10^{-3}$, 10^{-2} mol/l.

II. Spectre UV de l'indométhacine dans l'eau.

8.2.1.4. Spectroscopie RMN

La preuve la plus directe de l'inclusion d'une molécule à l'intérieur de la cavité de la cyclodextrine en solution aqueuse est donnée par la spectroscopie RMN du Proton [23,30,74,79,82,85,88,89,99,100,102,106,111,114-121]. Celle-ci peut aussi être utilisée pour déterminer la direction de pénétration des molécules invitées dans la cavité de la cyclodextrine [23,47,50,78,90]. Les pics des protons H_3 et H_5 de la molécule de cyclodextrine qui sont situés à l'intérieur de la cavité, se déplacent significativement vers les champs élevés si l'inclusion s'effectue, alors que les pics des protons H_1 , H_2 , et H_4 , situés à l'extérieur de la cavité ne sont pas affectés. Par contre, si l'association se fait à l'extérieur du tore, ce sont les pics des protons H_1 , H_2 , et H_4 qui sont fortement déplacés [114].

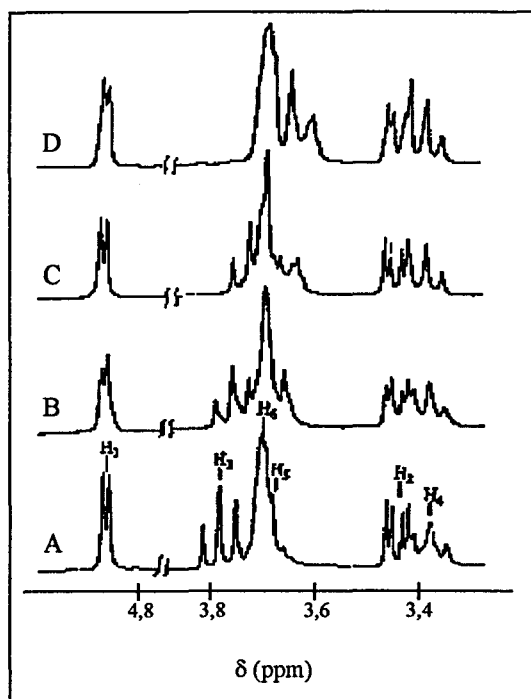
Le spectre de la molécule invitée peut également montrer des changements lors de la formation du complexe d'inclusion [23].

L'effet Overhauser nucléaire (NOE) peut fournir des informations plus précises, puisque les magnitudes sont une mesure de la distance entre les protons de l'hôte et de l'invité. Comme les positions de tous les protons de la cyclodextrine sont bien définies, la localisation du substrat peut être ainsi déterminé [22,100,111,115,118,120].

La spectroscopie RMN du Carbone est souvent utilisée pour mieux appréhender les modes d'inclusion en solution aqueuse [86,119,122,123]. Les changements induits par la cyclodextrine dans le spectre RMN du Carbone du substrat résultent principalement des effets de l'environnement électrique de la cavité de la cyclodextrine [19] et en général découlent à la fois des interactions hydrophobes et de Van der Waals [106].

Une étude RMN du Proton peut être techniquement empêchée si le complexe est peu soluble dans le D₂O. Par contre, les spectres RMN du Carbone peuvent être obtenus avec de l'eau non deutérée, ce qui est un énorme avantage ; toutefois, des concentrations plus importantes sont nécessaires pour une étude en Carbone [72].

■ Exemple N°1 : Purdy [102], en étudiant les interactions entre la β-cyclodextrine et la N-(2,4-dinitrophényl)-L-valine, constate, par spectroscopie RMN du proton, que la formation du complexe d'inclusion s'accompagne d'un blindage progressif du triplet du proton H₃ de la β-cyclodextrine et du pic du proton H₅ originellement confondu avec celui du proton H₆ (figure 15). Aucun changement significatif n'est décelé pour les déplacements des pics des protons extérieurs à la cavité (H₂, H₄, et H₆).



**Figure 15 : Spectres RMN du proton de la N-(2,4-dinitrophényl)-L-valine en présence de β -cyclodextrine avec un rapport molaire Substrat/ β CD croissant de A vers D : 0, 0,5, 1, 2.
La concentration en β -cyclodextrine est constante à 0,005 mol/l.**

■ **Exemple N°2 : Demarco [114]** montre la variation des déplacements chimiques des pics des protons de la β -cyclodextrine en présence de divers substrats (tableau 7). On constate que ceux-ci, à l'exception de l'*o*-dihydroxybenzène, du *m*-dihydroxybenzène, du 2,6-di-*t*-butylphénol et de la tétracycline, forment des complexes d'inclusion avec la β -cyclodextrine dans le D_2O . Ce sont en effet les pics des protons H_3 et H_5 de la β -cyclodextrine qui sont les plus fortement déplacés. Le 2,6-di-*t*-butylphénol et la tétracycline ne forment pas de tels complexes pour des raisons de contraintes stériques. Par contre, l'*o*-dihydroxybenzène et le *m*-dihydroxybenzène ne forment pas de complexes d'inclusion probablement en raison de la solubilité très importante de ces substrats dans le D_2O (respectivement 45 et 229 g/100 ml) par rapport à celle du *p*-hydroxybenzène (5,9 g/100 ml). Il semble en effet raisonnable de penser que le caractère hydrophobe de l'intérieur de la cavité de la β -cyclodextrine est moins attrayant pour les molécules fortement hydrosolubles.

| Substrat/Proton | H ₁ | H ₂ | H ₃ | H ₄ | H ₅ | H ₆ |
|----------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| Acide benzoïque | 0,04 | 0,04 | 0,16 | 0,03 | 0,19 | 0,05 |
| Acide m-hydroxybenzoïque | 0,04 | 0,04 | 0,11 | 0,04 | 0,19 | 0,09 |
| Acide p-hydroxybenzoïque | 0,04 | 0,04 | 0,14 | 0,04 | 0,21 | 0,06 |
| Acide p-aminobenzoïque | 0,04 | 0,04 | 0,14 | 0,03 | 0,19 | 0,06 |
| Acide 4-amino 2-hydroxybenzoïque | 0,02 | 0,02 | 0,08 | 0,01 | 0,11 | 0,06 |
| p-Hydroxybenzoate de méthyle | 0,04 | 0,03 | 0,14 | 0,03 | 0,21 | 0,05 |
| Acide acétylsalicylique | 0,03 | 0,03 | 0,12 | 0,03 | 0,20 | 0,06 |
| p-Aminobenzoate d'éthyle | 0,03 | 0,03 | 0,14 | 0,03 | 0,20 | 0,06 |
| Phénol | 0,06 | 0,08 | 0,09 | 0,00 | 0,26 | 0,17 |
| o-Dihydroxybenzène | 0,02 | 0,01 | 0,03 | 0,01 | 0,06 | 0,02 |
| m-Dihydroxybenzène | 0,01 | 0,01 | 0,03 | 0,01 | 0,06 | 0,03 |
| p-Dihydroxybenzène | 0,10 | 0,10 | 0,12 | 0,10 | 0,28 | 0,10 |
| D-Phénylalanine | 0,02 | 0,02 | 0,09 | 0,03 | 0,16 | 0,06 |
| m-tButylphénol | 0,05 | 0,04 | 0,20 | 0,03 | 0,20 | 0,13 |
| p-tButylphénol | 0,04 | 0,04 | 0,21 | 0,02 | 0,03 | 0,11 |
| 2,6-di-tButylphénol | 0,01 | 0,02 | 0,01 | 0,01 | 0,00 | 0,02 |
| Tétracycline | 0,00 | 0,00 | 0,01 | 0,00 | 0,00 | |

Tableau 7 : Variation des déplacements chimiques (ppm) des pics des protons de la β -cyclodextrine en présence de divers substrats, mesurée à 30°C sur un spectromètre RMN à 100 MHz avec $(\text{CH}_3)_4\text{Si}$ utilisé comme référence externe. Le substrat est ajouté jusqu'à saturation dans une solution de 2 % en masse de β -cyclodextrine dans D_2O .

8.2.1.5. Résonance électronique de spin

La résonance électronique de spin est une méthode intéressante pour étudier la complexation d'inclusion avec des radicaux en solution aqueuse [23]. La constante de couplage hyperfine des radicaux est sensible à la polarité du milieu. Donc, si elle est modifiée, le radical se trouve dans un environnement moins polaire que l'eau [23].

8.2.2. Potentiométrie

Si le substrat possède une fonction prototropique, la méthode de titration potentiométrique peut être utilisée pour détecter la formation d'un complexe d'inclusion [23,124]. Puisque les cyclodextrines favorisent habituellement l'inclusion de molécules non ionisées

(hydrophobes) plutôt que ionisées, le pK_a d'une molécule invitée ayant une fonction acide augmente en général, tandis que celle d'une molécule invitée ayant une fonction basique diminue en général, quand elle est incluse dans la cavité de la cyclodextrine.

8.2.3. Electrochimie

La polarographie est une technique intéressante pour étudier la complexation d'inclusion si la distribution électronique d'une molécule invitée électroactive complexée en solution aqueuse est différente de celle de la molécule non complexée, et si ce changement est détectable par cette méthode [23].

Des mesures de conductivité peuvent également être réalisées pour détecter la complexation d'inclusion [23,125,126]. Papelu et Richardson [125] montrent que les conductivités de solutions de surfactants anioniques sont fortement affectées par la formation de complexes d'inclusion avec la cyclodextrine. Lorsque ces surfactants ioniques forment des complexes d'inclusion avec la cyclodextrine, leur amphiphilie conduit souvent à des espèces fortement associées qui affectent considérablement les conductivités des solutions.

8.2.4. Microcalorimétrie

Les changements de propriétés thermodynamiques, dus à la complexation d'inclusion, peuvent être mesurés par microcalorimétrie. Ces variations d'enthalpie et d'entropie sont associées au changement du comportement de l'eau durant la formation du complexe, c'est-à-dire la désorganisation de la structure de l'eau à l'intérieur de la cavité, l'expulsion de l'eau hors de la cavité, la restructuration de l'eau autour de la molécule invitée, et la libération de l'eau dans le milieu. Il existe d'autres contributions à l'énergie globale de réaction, qui sont dues à la rotation restreinte autour des liaisons glycosidiques de la cyclodextrine lorsque le substrat entre dans la cavité. Des entropies positives suggèrent des contributions significatives résultant de la redistribution de l'eau, et de grandes valeurs de l'enthalpie sont cohérentes avec des interactions dipolaires et la formation de liaisons hydrogène [22,23,51,110,127].

■ Exemple : Inoue [127] donne les valeurs des paramètres thermodynamiques de quelques complexes d'inclusion (tableau 8).

| Cyclodextrine | Substrat | -ΔG | -ΔH | TΔS |
|---------------|-------------------------------|---------------|---------------|---------------|
| α | Ethanol | +1,10 - +1,36 | +0,57 - +0,60 | +0,53 - +0,80 |
| α | 1-Propanol | +1,96 - +2,72 | +1,45 - +1,62 | +0,50 - +1,10 |
| α | 1-Butanol | +2,60 - +3,51 | +2,37 - +3,37 | -0,22 - +0,36 |
| α | 1-Pentanol | +3,42 - +3,43 | +3,53 - +3,82 | -0,40 - -0,10 |
| α | 1-Hexanol | +3,96 - +4,01 | +4,11 - +4,54 | -0,43 - -0,15 |
| α | Cyclohexanol | +2,07 - +2,46 | +1,93 - +3,34 | -0,88 - +0,14 |
| α | Benzène | +2,05 - +4,50 | -0,60 - +3,99 | -1,09 - +3,30 |
| α | Pyridine | +3,0 | +2,5 | +0,6 |
| α | Phénol | +5,7 | +1,8 | +3,9 |
| α | 2-Nitrophénol | +5,0 | +0,5 | +4,5 |
| α | 4-Nitrophénol (pH=3,0) | +3,0 | +4,6 | -1,6 |
| α | 4-Nitrophénolate (pH=9,5) | +4,35 | +9,3 | -4,95 |
| α | L-Phénylalanine | +5,6 | +1,1 | +4,5 |
| α | Perchlorate de sodium | +1,8 | +9,7 | -6,9 |
| α | Acide acétique | +5,2 | +1,2 | +3,9 |
| α | Acide benzoïque | +4,1 | +9,6 | -5,4 |
| α | Acide 2-aminobenzoïque | +6,8 | +0,3 | +6,3 |
| α | Acide 4-aminobenzoïque | +3,8 | +11,6 | -7,8 |
| α | Acide 4-nitrobenzoïque (pH=2) | +3,1 | +9,2 | -6,1 |
| α | Orange de méthyle | +6,2 | +6,53 | -0,33 |
| β | 1-Butanol | +1,67 | -0,69 - +0,69 | +0,98 - +2,36 |
| β | 1-Pentanol | +2,39 - +2,46 | -1,10 - +1,10 | +1,29 - +3,56 |
| β | 1-Hexanol | +3,18 | -0,10 - +0,10 | +3,09 - +3,28 |
| β | Cyclohexanol | +3,65 | +2,39 | +1,26 |
| β | Benzène | +3,04 - +4,58 | +0,45 - +4,0 | +0,6 - +2,59 |
| β | Phénol | +4,6 | +2,6 | +2,1 |
| β | 4-Nitrophénol | +4,1 | +10,5 | -6,3 |
| β | Acide benzoïque | +2,9 | +7,6 | -4,8 |
| γ | Benzène | +1,3 | +3,4 | -2,1 |

Tableau 8 : Valeurs des paramètres thermodynamiques en kcal/mol de la formation des complexes d'inclusion entre divers substrats et les cyclodextrines α, β, et γ dans l'eau à 25°C.

8.2.5. Solubilité

Si la solubilité d'un invité potentiel augmente avec la concentration de cyclodextrine, la formation d'un complexe d'inclusion en solution a lieu [22,23].

8.2.6. Tension de surface

La mesure de la tension de surface permet d'évaluer la formation de complexes d'inclusion entre des surfactants et la cyclodextrine [92,128]. Kaifer [92] montre que l'addition d' α -cyclodextrine provoque une augmentation rapide de la tension de surface, et, lorsque la concentration en α -cyclodextrine arrive à 5.10^{-3} M, la tension de surface atteint les valeurs de solutions exemptes de surfactants.

9. DETERMINATION DE LA CONSTANTE DE FORMATION K_f D'UN COMPLEXE D'INCLUSION EN SOLUTION AQUEUSE

Les effets qui peuvent être obtenus par la formation de complexes d'inclusion de cyclodextrine, tels que l'augmentation de la solubilité du substrat, la biodisponibilité pharmaceutique d'un médicament, l'influence sur l'absorption d'un médicament et la stabilisation d'un médicament en solution et à l'état solide, tous dépendent de la stabilité et de la solubilité du complexe. Bien que les propriétés de ces deux facteurs soient parallèles, il n'y a pas de relation apparente entre elles [12].

La constante de formation du complexe est dépendante de la température et du pH. Lorsque la température augmente, la valeur de K_f décroît rapidement à cause de la dissociation du complexe [23,38,48,53]. La valeur de K_f dépend aussi fortement du pH quand l'invité est ionisable. Si le pH change, un groupe ionisable de la molécule invitée s'ionise davantage, lui procurant une charge. Ceci peut conduire à une diminution du taux de molécules invitées dans la cavité de la cyclodextrine, et donc à une dissociation plus ou moins importante du complexe [38,51].

Un complexe d'inclusion de cyclodextrine est toujours en équilibre avec ses composants libres. L'état d'équilibre d'un système 1:1 (hôte:invité) est donné par le schéma suivant :



La constante de formation ou d'association K_f de cet équilibre est donnée par l'équation :

$$K_f = \frac{1}{K_d} = \frac{[CS]}{[C][S]}$$

K_d est la constante de dissociation de cet équilibre.

Soit $[C_0] = [C] + [CS]$ la concentration totale en cyclodextrine, et $[S_0] = [S] + [CS]$ la concentration totale en substrat.

$$\text{D'où } K_d = \frac{[C_0 - CS][S_0 - CS]}{[CS]} \quad (1)$$

La plupart des méthodes de détection des complexes d'inclusion en solution décrites dans le chapitre 8 peuvent, à condition que les informations obtenues puissent être traitées quantitativement, être utilisées pour déterminer les constantes de formation des complexes en solution [23]. Si l'hypothèse de la stoechiométrie du complexe est correcte, les valeurs obtenues par les différentes méthodes sont plus ou moins comparables. Toutefois, ces valeurs peuvent varier fortement selon les auteurs et les méthodes utilisées [12].

Trois méthodes de détermination de la constante de formation d'un complexe d'inclusion sont les plus couramment utilisées : la spectroscopie UV-Visible, le dichroïsme circulaire, et la spectroscopie RMN. Nous allons détailler chacune de ces méthodes. Elles sont toutes basées sur la méthode de **Benesi-Hildebrand** [129,130].

9.1. Détermination de K_f par spectroscopie UV-Visible

On mesure l'absorbance du substrat à une longueur d'onde caractéristique en fonction de la concentration de cyclodextrine, la concentration de substrat étant fixée.

Soit Abs_{obs} l'absorbance observée, Abs_s l'absorbance du substrat et Abs_{CS} l'absorbance du complexe d'inclusion. La relation unissant ces trois termes est la suivante :

$$\text{Abs}_{\text{obs}} = \frac{[\text{S}_0] - [\text{CS}]}{[\text{S}_0]} \text{Abs}_{\text{S}} + \frac{[\text{CS}]}{[\text{S}_0]} \text{Abs}_{\text{CS}}$$

Soit $\Delta \text{Abs} = \text{Abs}_{\text{obs}} - \text{Abs}_{\text{S}}$

$$\text{D'où } \Delta \text{Abs} = \frac{[\text{CS}]}{[\text{S}_0]} (\text{Abs}_{\text{CS}} - \text{Abs}_{\text{S}})$$

Introduisons $\Delta \varepsilon = \frac{\text{Abs}_{\text{CS}} - \text{Abs}_{\text{S}}}{[\text{S}_0]}$, terme qui représente la différence de coefficient d'extinction

molaire entre celui du substrat libre et celui du substrat complexé.

$$\text{Il vient alors } \frac{\Delta \text{Abs}}{\Delta \varepsilon} = [\text{CS}]$$

L'équation (1) peut s'écrire : $K_d[\text{CS}] = [\text{CS}]^2 - [\text{C}_0][\text{CS}] - [\text{S}_0][\text{CS}] + [\text{C}_0][\text{S}_0]$

Afin de pouvoir traiter cette équation graphiquement, il faut utiliser des concentrations qui vérifient la condition $[\text{CS}]^2 \ll [\text{C}_0][\text{S}_0]$. Expérimentalement, on maintiendra la concentration de substrat au moins dix fois plus basse que celle de la plus faible concentration de cyclodextrine.

Dans ce cas, on en déduit :

$$K_d \left(\frac{\Delta \text{Abs}}{\Delta \varepsilon} \right) = [\text{C}_0][\text{S}_0] - \frac{([\text{C}_0] + [\text{S}_0]) \Delta \text{Abs}}{\Delta \varepsilon}$$

On divise les deux membres de l'équation par ΔAbs et l'on obtient finalement :

$$\frac{K_d}{\Delta \varepsilon} + \frac{[\text{C}_0] + [\text{S}_0]}{\Delta \varepsilon} = \frac{[\text{C}_0][\text{S}_0]}{\Delta \text{Abs}}$$

Il suffit maintenant de tracer $\frac{[\text{C}_0][\text{S}_0]}{\Delta \text{Abs}}$ en fonction de $([\text{C}_0] + [\text{S}_0])$. On obtient une droite de

pente égale à $\frac{1}{\Delta \varepsilon}$ et d'ordonnée à l'origine égale à $\frac{K_d}{\Delta \varepsilon}$. En divisant la valeur de la pente par

celle de l'ordonnée à l'origine, on obtient la valeur de la constante de formation du complexe d'inclusion K_f .

9.2 Détermination de K_f par dichroïsme circulaire

On mesure l'ellipticité du substrat à une longueur d'onde caractéristique en fonction de la concentration de cyclodextrine, la concentration de substrat étant fixée.

Soit θ_{obs} l'ellipticité observée, θ_s l'ellipticité du substrat, θ_{CS} l'ellipticité du complexe d'inclusion, $\Delta\theta = \theta_{\text{obs}} - \theta_s$, et $\Delta[\theta] = \frac{\theta_{\text{CS}} - \theta_s}{[S_0]}$, la différence d'ellipticité molaire entre celle du substrat libre et celle du substrat complexé.

On aboutit à une relation similaire à celle déterminée pour la spectroscopie UV-Visible :

$$\frac{K_d}{\Delta[\theta]} + \frac{[C_0] + [S_0]}{\Delta[\theta]} = \frac{[C_0][S_0]}{\Delta\theta}$$

Il suffit maintenant de tracer $\frac{[C_0][S_0]}{\Delta\theta}$ en fonction de $([C_0] + [S_0])$. On obtient une droite de pente égale à $\frac{1}{\Delta[\theta]}$ et d'ordonnée à l'origine égale à $\frac{K_d}{\Delta[\theta]}$. En divisant la valeur de la pente par celle de l'ordonnée à l'origine, on obtient la valeur de la constante de formation du complexe d'inclusion K_f .

9.3. Détermination de K_f par spectroscopie RMN

On mesure le déplacement chimique des protons de la cyclodextrine en fonction de la concentration de substrat, la concentration de cyclodextrine étant fixée.

Soit δ_{obs} le déplacement chimique observé, δ_c le déplacement chimique des protons H_3 ou H_5 de la cyclodextrine, δ_{CS} le déplacement chimique des protons H_3 ou H_5 de la cyclodextrine dans le complexe d'inclusion, $\Delta\delta = \delta_c - \delta_{\text{obs}}$, et $Q = \frac{\delta_c - \delta_{\text{CS}}}{[C_0]}$.

Afin de vérifier la condition $[CS]^2 \ll [C_0][S_0]$, on maintiendra cette fois expérimentalement la concentration de cyclodextrine au moins dix fois plus basse que celle de la plus faible concentration de substrat.

On aboutit alors à une relation similaire à celle déterminée pour la spectroscopie UV-Visible :

$$\frac{K_d}{Q} + \frac{[C_0] + [S_0]}{Q} = \frac{[C_0][S_0]}{\Delta\delta}$$

Il suffit maintenant de tracer $\frac{[C_0][S_0]}{\Delta\delta}$ en fonction de $([C_0] + [S_0])$. On obtient une droite de pente égale à $\frac{1}{Q}$ et d'ordonnée à l'origine égale à $\frac{K_d}{Q}$. En divisant la valeur de la pente par celle de l'ordonnée à l'origine, on obtient la valeur de la constante de formation du complexe d'inclusion K_f .

9.4. Détermination de K_f par d'autres méthodes

9.4.1. Microcalorimétrie

Une méthode plus générale et également plus juste est la détermination de la chaleur de formation par microcalorimétrie. En mesurant la chaleur de formation en fonction des concentrations, on aboutit non seulement à la constante de formation mais aussi aux variations d'enthalpie et d'entropie causées par la formation du complexe.

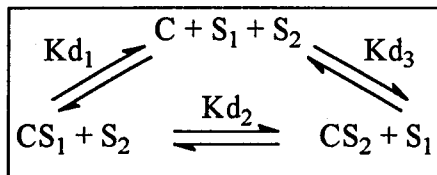
Les paramètres thermodynamiques ΔH et ΔS peuvent également être obtenus en mesurant la valeur de la constante de formation en fonction de la température. Cette technique est cependant beaucoup moins précise.

ΔH est toujours négatif puisque le complexe se dissocie lorsque la température augmente. ΔS est positif ou négatif selon la molécule invitée, suggérant l'implication de plusieurs forces dans la formation du complexe.

9.4.2. Méthode par compétition

Le déplacement d'une sonde incluse dans la cavité de la cyclodextrine par le substrat peut également être utilisé pour la détermination de K_f . Les sondes utilisées dans le cas de l' α -cyclodextrine sont par exemple le méthyl orange (détection par UV-Visible) et l'acétate de 3-nitrophényle (détection par la cinétique de la réaction d'estérolyse), et dans le cas de la β -cyclodextrine, la phénolphtaléine (détection par UV-Visible), le méthyl orange (détection par UV-Visible), les dérivés du naphthalène (détection par fluorescence), et l'acétate de 3-nitrophényle (détection par la cinétique de la réaction d'estérolyse). Cette méthode est particulièrement intéressante pour obtenir la valeur de K_f qui ne pourrait pas être obtenue directement [21,22,48].

Les cyclodextrines se comportent comme des enzymes qui peuvent complexer compétitivement des substrats et des inhibiteurs dans leurs centres actifs. La complexation préférentielle d'un des composés est gouvernée dans les deux cas par les constantes de formation des complexes.



9.5. Valeurs obtenues dans la littérature

Le tableau 9 donne les valeurs de K_f obtenues dans la littérature pour divers substrats, différentes cyclodextrines, et selon diverses méthodes [21].

| Substrat | Cyclo-dextrine | K_f ($l.mol^{-1}$) | ΔH ($kJ.mol^{-1}$) | ΔS ($J.mol^{-1}K^{-1}$) | Méthode utilisée et réf |
|-------------------------------------|----------------|---------------------------|---------------------------------|--------------------------------------|----------------------------|
| p-Nitrophénol | α | 385 ^a | -17,6 | -12,5 | RMN |
| p-Nitrophénolate | α | 3700 ^a | -30,1 | -37,5 | RMN |
| | α | - | -37,6 | -63 | Cal |
| | α | 125 | -30,5 | -63 | Cal |
| Acide perchlorique | α | 40 | -31,4 | -71 | Cal |
| Perchlorate de sodium | α | 20 | -40,6 | -96 | Cal |
| Perchlorate d'anilinium | α | 35 | -51,4 | -146 | Cal |
| Acide benzoïque | α | 1000 | -40,1 | -75 | Cal |
| Acide 4-aminobenzoïque | α | 5 | -48,5 | -108 | Cal |
| Acide 2-aminobenzoïque | α | 100000 | -1,3 | +88 | Cal |
| p-Dibromobenzène | α | 915 | - | - | - |
| 4,4'-Bis(aminométhyl)biphényle | α | 10 | - | - | - |
| Phosphorofluoridate de diisopropyle | α | 5 | -30,5 | -88 | Cin |
| 4-tButylphénol | β | 36300 | - | - | - |
| Acide 4-tbutylbenzoïque | β | 16600 | - | - | - |
| Acide sulfonique du (+)-camphre | β | 620 | - | - | - |
| Acétate de m-chlorophényle | β | 285 | -4,2 | +33,5 | Cin |
| Acétate de m-éthylphényle | β | 455 | -19,2 | -12,5 | Cin |
| Acide benzoylacétique | β | 100 ^b | -23,8 | -37,5 | Cin |

Tableau 9 : Valeurs de K_f de différents complexes d'inclusion en solution aqueuse à 25°C.

^a : T=14°C, ^b : T=50°C.

10. CAS PARTICULIER DES COMPLEXES D'INCLUSION CYCLODEXTRINE-POLYMERE

Un polymère peut être complexé par un grand nombre de molécules hôte s'il fonctionne comme une molécule invitée possédant ce même grand nombre de sites liants. Ceux-ci peuvent se situer, soit sur la chaîne principale, soit sur les chaînes latérales. Comme de tels polymères peuvent former à la fois des composés d'inclusion et d'association avec les cyclodextrines, plusieurs arrangements sont possibles (figure 16).

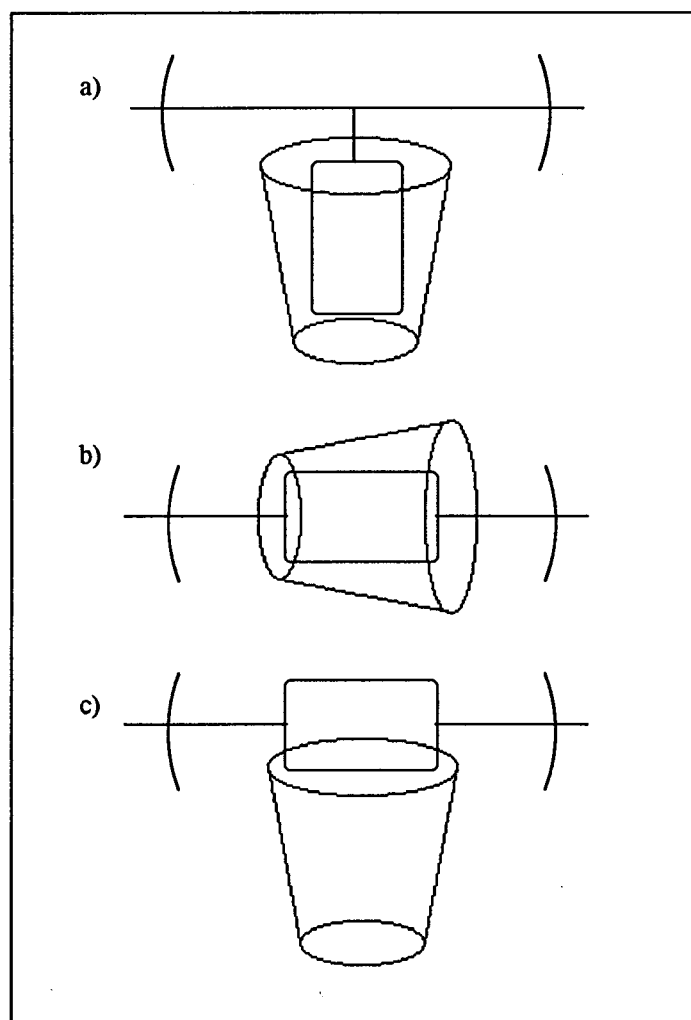


Figure 16 : Topologie des complexes de cyclodextrine avec des polymères.

- a) : Inclusion des chaînes latérales, b) : Inclusion axiale de la chaîne principale (type « channel »),
c) : Agrégation à la chaîne principale.

10.1. Inclusion axiale d'un polymère

L'inclusion axiale de la chaîne principale du polymère conduit à une topologie spécifique : les molécules de cyclodextrine sont « enfilées » par la chaîne principale ; elles ne peuvent alors que migrer le long de la chaîne ou tourner autour d'elle. Elles sont donc confinées à un espace monodimensionnel autour des chaînes de polymère.

■ Exemple N°1 : **Harada** trouve, par exemple, que des polyéthers tels le polyéthylène glycol (PEG), le polypropylène glycol (PPG), le polyméthylvinyl éther (PMVE), ou encore sur le polyisobutylène (PIB) (ce dernier étant insoluble dans l'eau) forment des complexes d'inclusion cristallins avec certaines cyclodextrines avec des rendements élevés. Par contre, il

montre que d'autres polymères, comme le poly(vinylalcool) (PVA), le polyacrylamide (PAAm), ou la poly(N-vinylpyrrolidone) (PVPO) ne forment pas de complexes avec les cyclodextrines (tableau 10) [131-139].

| Polymère | Structure | Rendement (%) | | | Stoechiométrie (unité monomère/CD) |
|--------------------|--|-----------------|-----------------|--------------------|---------------------------------------|
| | | α -CD | β -CD | γ -CD | |
| PVA (DP=2000) | $\left(\text{CH}_2 - \underset{\text{OH}}{\text{CH}} \right)_n$ | 0 ^d | 0 ^d | - | - |
| PAAm (Mw=10000) | $\left(\text{CH}_2 - \underset{\text{C}=\text{O}}{\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}} \right)_n$ | 0 ^d | 0 ^d | - | - |
| PVPO (Mw=10000) | $\left(\text{CH}_2 - \underset{\text{N}}{\underset{\text{O}}{\text{CH}}} \right)_n$ | 0 ^d | 0 ^d | - | - |
| PIB (Mw=100) | $\left(\text{CH}_2 - \underset{\text{CH}_3}{\overset{\text{CH}_3}{\text{C}}} \right)_n$ | 0 | 65 ^e | 0 ^f | |
| PIB (Mw=1350) | $\left(\text{CH}_2 - \underset{\text{CH}_3}{\overset{\text{CH}_3}{\text{C}}} \right)_n$ | 0 | 4 ^e | 95 ^f | 3-1 |
| PEG (Mw=1000) | $\left(\text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{O} \right)_n$ | 92 ^a | 0 ^b | trace ^c | 2-1 |
| PPG (Mw=1000) | $\left(\text{CH}_2 - \underset{\text{CH}_3}{\text{CH}} - \text{O} \right)_n$ | 0 ^a | 96 ^b | 80 ^c | 2-1 |
| PMVE (Mw=20000) | $\left(\text{CH}_2 - \underset{\text{O}}{\underset{\text{CH}_3}{\text{CH}}} \right)_n$ | 0 ^a | 0 ^b | 67 ^c | 3-1 |

Tableau 10. Comparaison entre divers polymères hydrosolubles dans la formation de complexes cristallins avec les cyclodextrines α , β , et γ . ^a : 1,5 ml de solution aqueuse saturée de α -CD et 15 mg de polymère ; ^b : 7 ml de solution aqueuse saturée de β -CD et 15 mg de polymère ; ^c : 2 ml de solution aqueuse saturée de γ -CD et 15 mg de polymère ; ^d : 1 ml de solution aqueuse saturée de CD et 20 mg de polymère ; ^e : 1 ml de solution aqueuse saturée de β -CD et 18 mg de polymère ; ^f : 1 ml de solution aqueuse saturée de γ -CD et 80 mg de polymère.

Prenons l'exemple du polyéthylène glycol (PEG).

❶ Lorsque une solution aqueuse de PEG est additionnée à une solution aqueuse saturée d' α -cyclodextrine à température ambiante, le mélange se trouble et le complexe précipite. C'est la première preuve de la formation d'un complexe cristallin α CD-PEG.

❷ La figure 17 montre la courbe de la quantité de complexe obtenu en fonction de la quantité de PEG ajouté, une quantité fixe d' α -cyclodextrine étant utilisée. La quantité de complexe formé augmente avec l'ajout de PEG à la solution aqueuse de cyclodextrine, puis une saturation est observée. Ce résultat prouve que la formation du complexe se fait de manière stoechiométrique. La saturation apparaît lorsque plus de 90 % de cyclodextrine est consommée dans la formation du complexe avec le PEG.

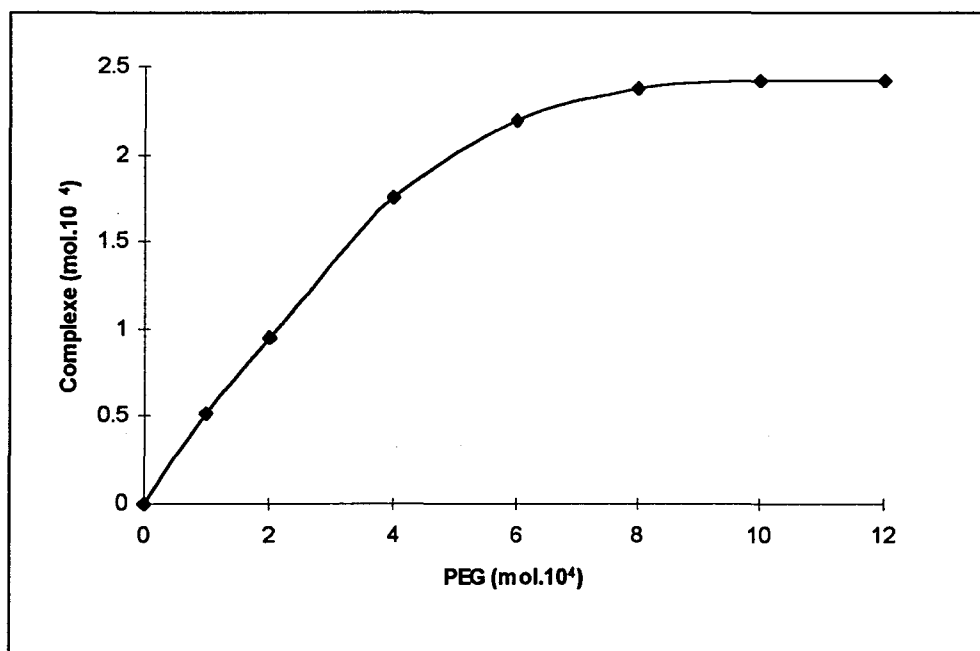


Figure 17. Quantité en mole de complexe α -CD-PEG en fonction de la quantité en mole de PEG ajoutée ($M_w=600$). Un volume total de 2 ml de solution aqueuse saturée de α -CD (290 mg) a été utilisée.

❸ La figure 18 montre la courbe de la quantité de complexe obtenu en fonction de la fraction molaire de cyclodextrine, la concentration totale α CD+PEG étant fixée. La courbe montre un maximum pour une fraction molaire de cyclodextrine de 0,33, suggérant une stoechiométrie du complexe de 2:1 (unité éthylène glycol: α CD).

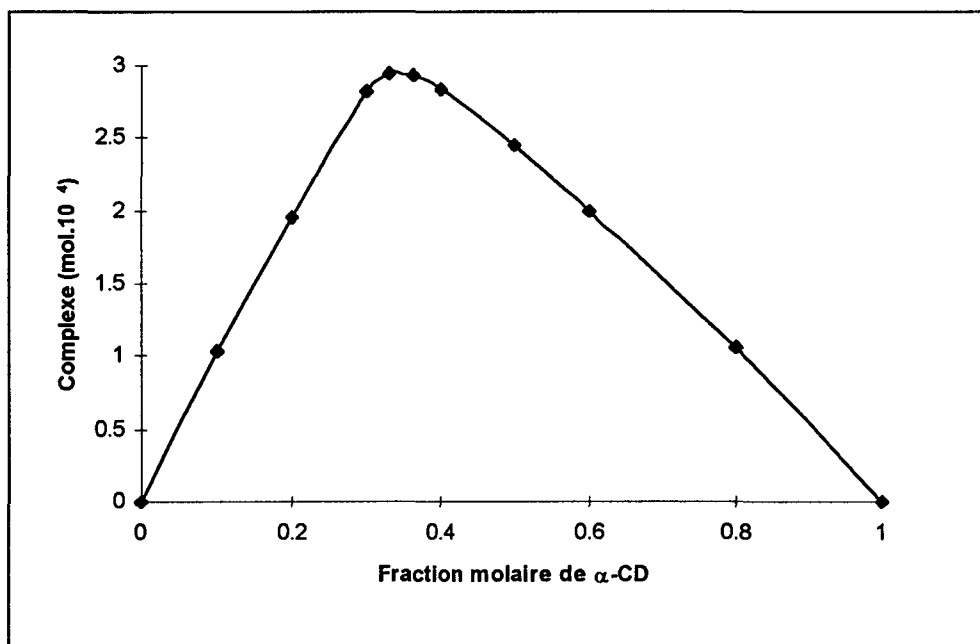


Figure 18. Quantité en mole de complexe α -CD-PEG ($M_w=1000$) obtenu en fonction de la fraction molaire de α -CD. La concentration totale initiale de α -CD et PEG est fixée à $1,13 \cdot 10^{-3}$ M.

④ La stoechiométrie est confirmée par la spectroscopie RMN du proton (figure 19). D'autre part, la longueur de deux unités éthylène glycol correspond à la profondeur de la cavité de l' α -cyclodextrine.

⑤ Les complexes α CD-PEG de faible poids moléculaire (1000) sont solubles dans une large quantité d'eau. Les complexes de PEG de plus haut poids moléculaire peuvent être dissouts dans l'eau chaude. L'addition d'un excès d'acide benzoïque, qui est un concurrent à l'encapsulation de petite masse moléculaire, à la suspension du complexe résulte en une solubilisation du complexe dans le cas de PEG à faible poids moléculaire (1000). La formation du complexe est évidemment réversible. L'addition de sel ne provoque aucun changement de solubilité des complexes, ce qui montre l'absence d'interactions ioniques entre la cyclodextrine et le polymère. L'addition d'urée, dont l'effet sur les liaisons hydrogène est bien connu, résulte en une solubilisation du complexe. Ce résultat prouve que les liaisons hydrogène jouent un rôle important dans la formation de complexes entre le polymère et la cyclodextrine. Une analyse thermogravimétrique (figure 20) montre que le complexe α CD-PEG se décompose au-dessus de 300°C , alors que l' α -cyclodextrine fond et se décompose au dessous de 300°C . On peut donc en conclure que le PEG stabilise l' α -cyclodextrine.

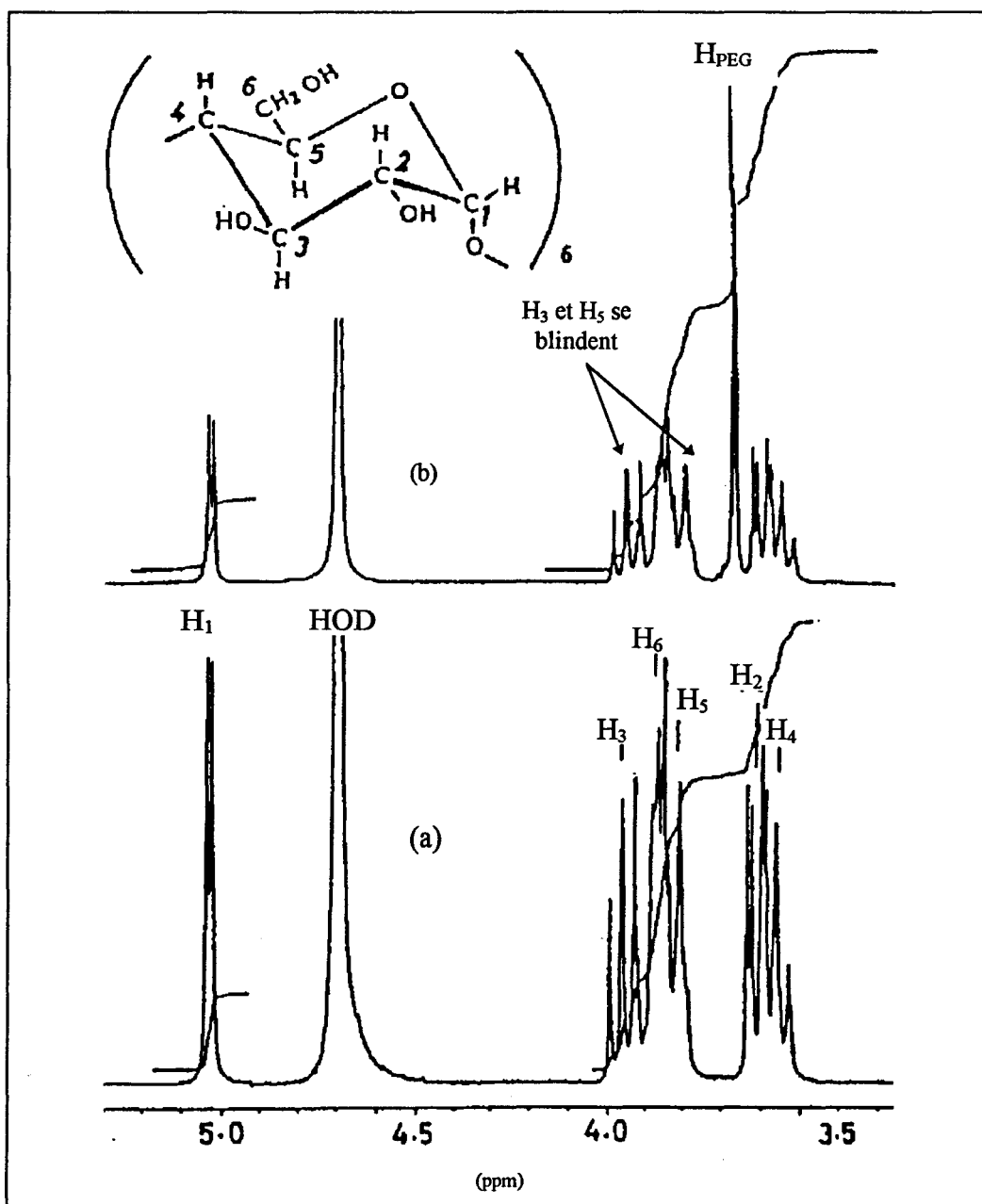


Figure 19. Spectre ^1H RMN 270 MHz de (a) : α CD et (b) : Complexe α CD-PEG (Mw=600).

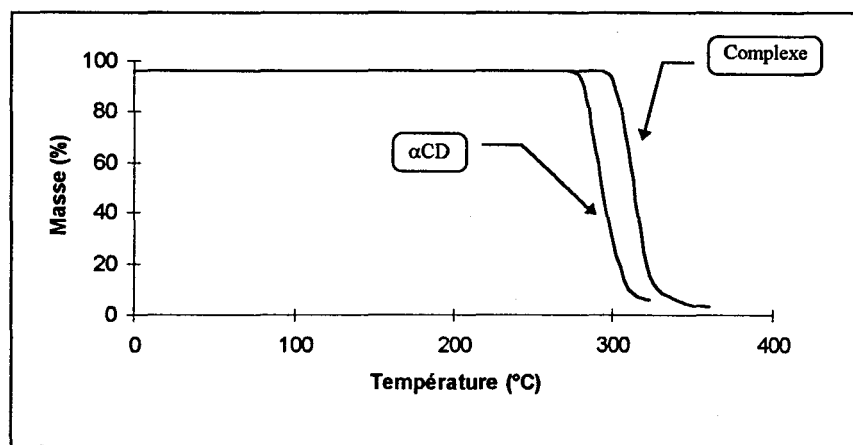


Figure 20. Analyse thermogravimétrique de l' α -CD et du complexe α -CD-PEG (Mw=1000).

⑥ Les rayons X et la spectroscopie ^{13}C CP/MAS solide montrent que la structure du complexe PEG- α CD est cristalline et qu'elle se présente sous forme d'un collier de cyclodextrines dont les cavités sont occupées par la chaîne principale du polymère (Figure 21).

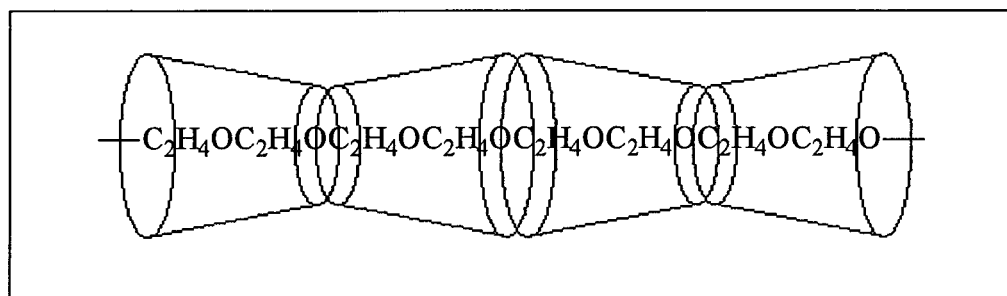


Figure 21. Structure proposée pour le complexe α CD-PEG.

⑦ Des études de modélisation moléculaire montrent que les chaînes de PEG sont capables de pénétrer la cavité de l' α -cyclodextrine et indiquent que la profondeur de la cavité de l' α -cyclodextrine (6,7 Å) permet l'inclusion de deux unités éthylène glycol adoptant une conformation en zigzag. La β -cyclodextrine ne forme pas de complexes avec le PEG, car une chaîne de PEG est trop mince pour s'adapter dans la cavité de la β -cyclodextrine.

⑧ Avec les petites molécules correspondantes (éthylène glycol, diéthylène glycol, ou triéthylène glycol), on n'observe pas d'inclusion. Il est possible de piéger les cyclodextrines enfilées sur les chaînes de polymère, en faisant réagir les extrémités de chaînes avec des substituants encombrants. On obtient ainsi des polyrotaxanes (figure 22). Un peu plus de détails sur ces superstructures sera donné dans le chapitre 11.

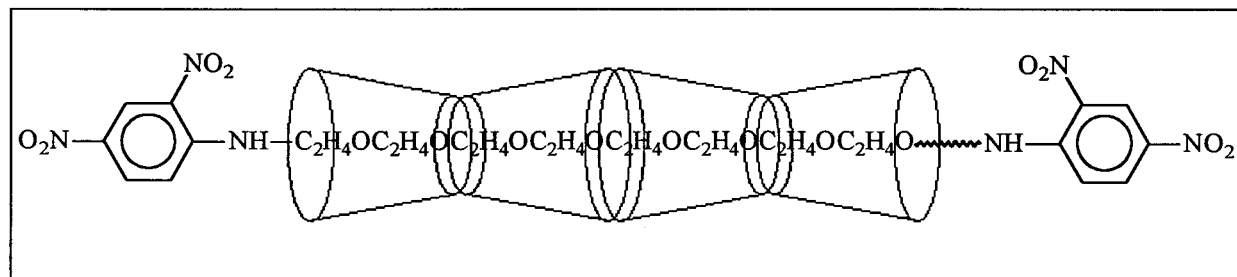


Figure 22. Polyrotaxane préparé à partir du complexe formé entre l' α -CD et la bisamine du PEG et bloqué des deux extrémités par le 2,4-dinitrofluorobenzène.

La formation d'un tel complexe d'inclusion est a priori entropiquement défavorable. Toutefois on peut penser qu'elle est favorisée par l'établissement de liaisons hydrogène entre les cyclodextrines. Des arrangements tête-tête et queue-queue fournissent la structure la plus probable.

■ **Exemple N°2** : Wenz [140] montre, par viscosimétrie à pH=4,6, que la formation de complexes d'inclusion entre l' α -cyclodextrine et les polyamines linéaires suivantes : le poly(iminoundécaméthylène) (PI11) et le poly(iminotriméthylène-iminodécaméthylène) (PI3-I10), s'effectue de manière lente (figures 23 et 24).

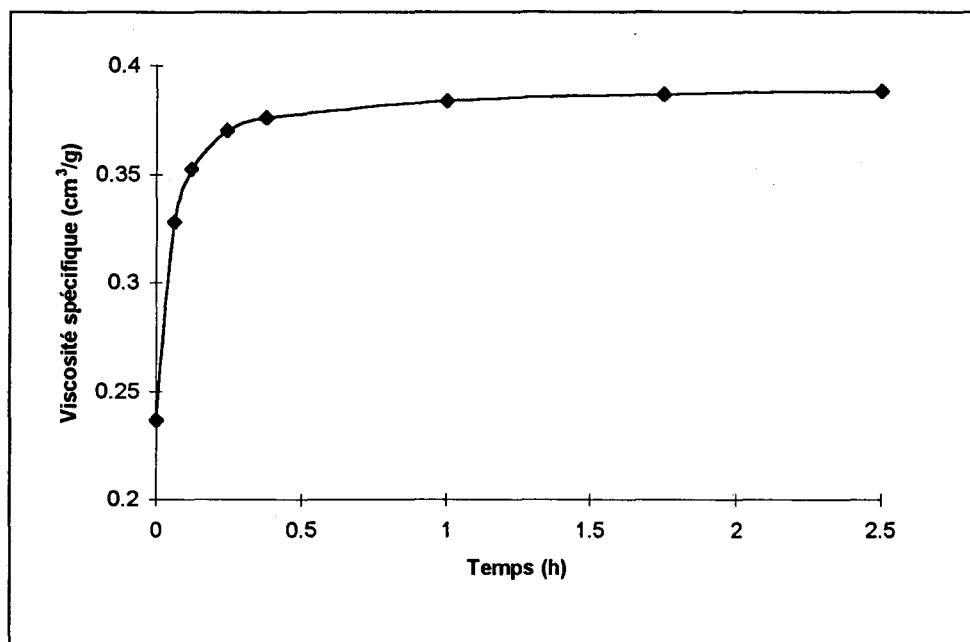
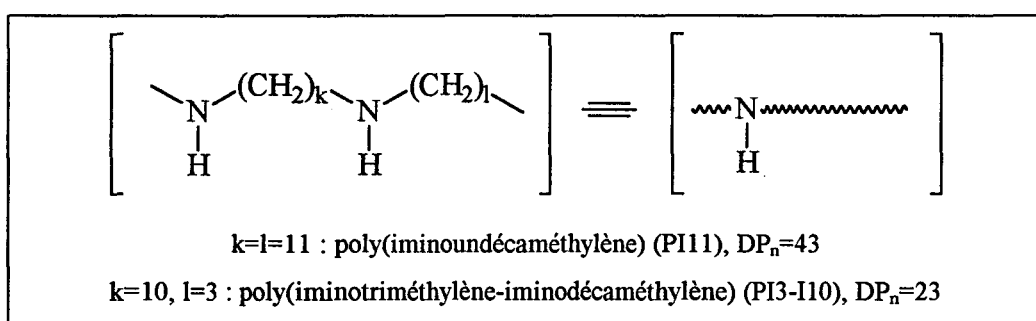


Figure 23. Evolution de la viscosité spécifique à 25°C du mélange α CD ($1,18 \cdot 10^{-2}$ M) et PI11 ($1,18 \cdot 10^{-2}$ M) en fonction du temps.

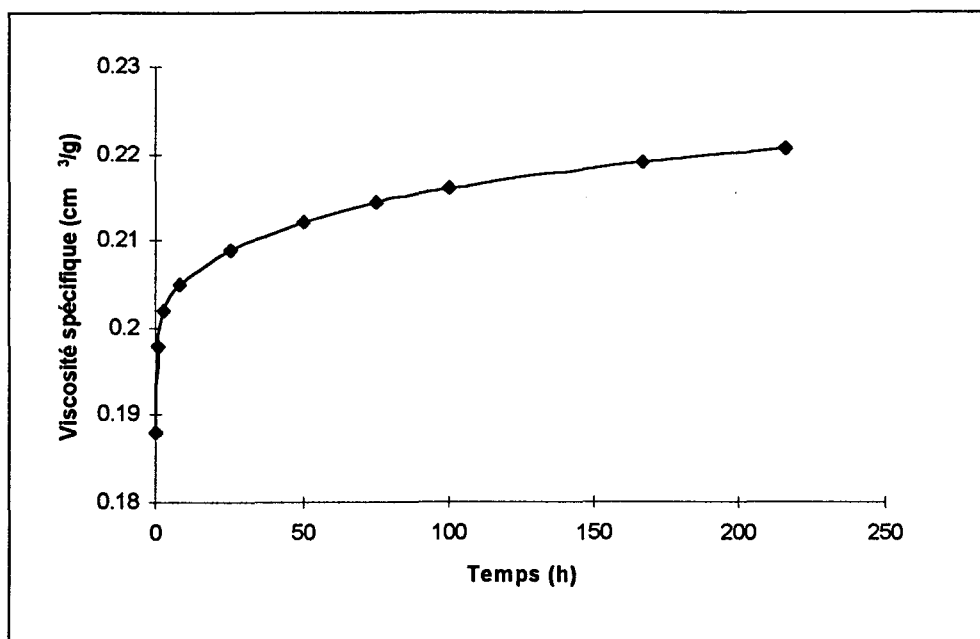


Figure 24. Evolution de la viscosité spécifique à 25°C du mélange α CD ($9,5 \cdot 10^{-3}$ M) et PI3-I10 ($9,5 \cdot 10^{-3}$ M) en fonction du temps.

La lenteur de l'encapsulation est expliquée par le fait qu'une molécule de cyclodextrine doit attendre « l'enfilement » de la précédente par une des extrémités de la chaîne principale et sa migration le long de la chaîne, avant de pouvoir elle-même s'engager. Par comparaison, l'encapsulation de ces mêmes polymères par la diméthyl- β -cyclodextrine qui présente une cavité plus large, s'effectue dès le mélange des composés.

Lorsque $k=l=6$ (PI6), aucune inclusion n'est observée. PI11 est complexé à 68 % après addition d'une quantité équimolaire d' α -cyclodextrine, et presque totalement avec un excès. La non inclusion de PI6 peut être expliquée par le fait que les ions ammonium forment une barrière stérique qui sépare les cyclodextrines « enfilées » les unes des autres. L'établissement de liaisons hydrogène entre les cyclodextrines ne s'effectue donc pas, contrairement aux systèmes neutres d'Harada évoqués ci-dessus.

L'enthalpie de formation du complexe d'inclusion α CD-PI11 est de -20 kJ/mol et est tout-à-fait comparable à celle des complexes de monomères analogues.

Le blocage des cyclodextrines par des groupes volumineux empêchent la dissociation du complexe. La structure de ce dernier se présente sous forme d'un collier de cyclodextrines dont les cavités sont occupées par les chaînes de polymère (Figure 25).

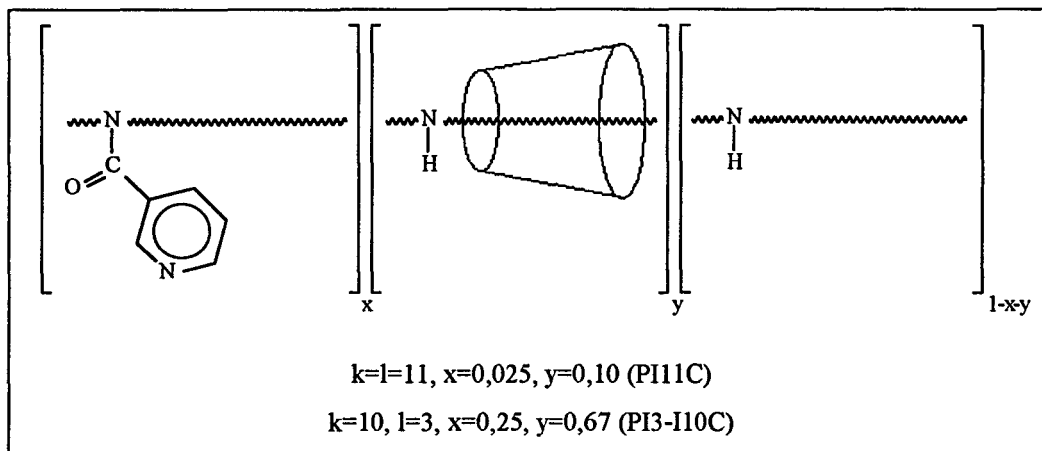


Figure 25. Structure des complexes α CD-PI11 et α CD-PI3-I10.

10.2. Inclusion des chaînes latérales d'un polymère

Très peu d'études sur l'inclusion des chaînes latérales de polymères hydrosolubles par la cyclodextrine ont été menées jusqu'à ce jour. Elles ne concernent que la polyvinylamine benzylée [141], l'acide poly(styrènesulfonique) (inclusion suggérée par le biais de l'activité catalytique) [142], et les bromures de poly(N-alkyl-4-vinylpyridinium) [143].

Nous en discuterons un peu plus en détails dans le chapitre 11.

11. APPLICATIONS DES CYCLODEXTRINES

Onéreuses, ces molécules furent longtemps considérées comme des curiosités de laboratoire. Trois facteurs ont longtemps empêché leur développement industriel : d'abord, le coût élevé de leur production ; ensuite, des études toxicologiques incomplètes, et enfin, le manque de connaissances suffisantes sur le plan pharmaceutique.

Mais depuis une vingtaine d'années, les progrès réalisés sur leur toxicité et la meilleure connaissance de l'encapsulation moléculaire ont permis de mettre sur le marché de nombreux composés d'inclusion. Le Japon est le pionnier dans l'utilisation et la commercialisation des cyclodextrines et de dérivés d'inclusion. L'usage des cyclodextrines est autorisé depuis 1983 dans les industries pharmaceutique et agroalimentaire. De nombreux pays européens, dont la France, ont autorisé, depuis 1987, l'utilisation des cyclodextrines dans l'industrie alimentaire en tant que « support d'arômes » [25].

Dans la plupart des applications, les complexes d'inclusion de cyclodextrine sont formés pour la modification des propriétés physiques et chimiques des molécules invitées. Les cyclodextrines peuvent être utilisées à la fois pour augmenter ou diminuer la disponibilité d'une substance active, et pour la protéger de la dégradation.

11.1. Applications industrielles

Le potentiel des applications est très vaste [8-24], et nous allons ici passer en revue succinctement les différentes applications des cyclodextrines. Le tableau 11 donne quelques exemples de produits utilisés dans l'industrie tirant profit des qualités des cyclodextrines.

| Industrie | Produits |
|----------------|--|
| Alimentaire | Huiles, graisses, arômes, colorants, vitamines |
| Cosmétologie | Huiles, parfums, lotions, shampooings |
| Pharmaceutique | Séroïdes, barbituriques, anti-inflammatoires |
| Chimique | Détergents, catalyseurs, chromatographie |
| Agro-chimique | Pesticides, fongicides, herbicides, tabac |

Tableau 11 : Quelques applications potentielles des cyclodextrines.

11.1.1. Applications alimentaires

Le tableau 12 présente quelques exemples de propriétés améliorées par l'utilisation de cyclodextrine dans des applications alimentaires.

| Propriétés | Substances concernées |
|---------------------------------------|--------------------------------|
| Stabilité de produits volatils | Menthol, moutarde, confiseries |
| Stabilité contre l'oxydation | Framboise, café, miel |
| Résistance à la chaleur | Produits diététiques |
| Résistance à l'hydrolyse | Aspartame |
| Masquage d'odeurs indésirables | Café, thé, limonène |
| Extraction de composants indésirables | Cholestérol |
| Prolongation des arômes | Bonbons, chewing-gum |

Tableau 12 : Exemples de propriétés améliorées par l'utilisation de cyclodextrine dans des applications alimentaires.

Les cyclodextrines sont utilisées dans l'industrie des produits alimentaires, principalement dans le but de préserver les arômes lors du stockage ou de leur manipulation. Ces produits sont également protégés contre l'oxydation et la décomposition à la chaleur.

Les cyclodextrines peuvent aussi permettre d'envisager l'élimination ou la réduction des odeurs, des goûts indésirables et de la contamination bactériologique.

L'emploi de cyclodextrine peut aider à la stabilisation et à l'amélioration du goût des plats déshydratés. Elle permet de prolonger la durée gustative des chewing-gum. Des acides gras inclus dans la cyclodextrine sont totalement protégés vis-à-vis de l'oxydation, même dans l'oxygène pur [7].

11.1.2. Applications agro-chimiques

Le tableau 13 présente quelques exemples de propriétés améliorées par l'utilisation de cyclodextrine dans des applications agro-chimiques.

| Propriétés | Substances concernées |
|-------------------------------|------------------------|
| Amélioration de la stabilité | Insecticides |
| Augmentation de la solubilité | 1,3 dichloropropène |
| Diminution de la toxicité | Herbicides, fongicides |

Tableau 13 : Exemples de propriétés améliorées par l'utilisation de cyclodextrine dans des applications agro-chimiques.

Dans l'industrie des tabacs, des additifs sont souvent utilisés afin de parfaire les goûts. Ces arômes artificiels, souvent volatils, sont piégés par la cyclodextrine, et ne sont libérés que lors de la combustion du tabac. La cyclodextrine peut aussi complexer la nicotine et les goudrons, et donc augmenter notablement l'efficacité des filtres.

L'industrie des produits destinés à l'agriculture utilise la cyclodextrine dans les herbicides, fongicides et hormones afin d'améliorer leur temps d'action. Application inattendue, les cyclodextrines augmentent le rendement des céréales et le relargage retardé de substances biologiquement actives [25]. L'inclusion facilite la manipulation de substances volatiles. Par exemple, le complexe éthylène-cyclodextrine est une poudre facile à manier et à doser, qui est utilisée pour le contrôle de la croissance des plantes [7].

Un exemple récent démontre de façon tout-à-fait explicite l'intérêt des propriétés complexantes de la cyclodextrine. A l'automne 1982, en Grèce, une variété de mouches avait pris l'habitude d'envahir et de détruire la récolte d'olives juste avant leur maturité. On savait qu'une phéromone sexuelle attirait irrésistiblement les représentants de l'autre sexe à un degré tel qu'une seule molécule suffisait à déclencher la chasse au partenaire. Cependant, la volatilité extrême de cette molécule faisait que cet appât ne pouvait être utilisé en milieu naturel. Ce problème a alors été résolu par l'encapsulation de la phéromone dans la cyclodextrine, qui la libère très lentement en empêchant sa libération et sa dilution immédiate [144].

11.1.3. Applications cosmétologiques

Le tableau 14 présente quelques exemples de propriétés améliorées par l'utilisation de cyclodextrine dans des applications cosmétologiques.

| Propriétés | Substances concernées |
|---|-----------------------|
| Diminution de l'effet irritant | Acide rétinoïque |
| Masquage d'odeurs désagréables | Mercaptans |
| Amélioration du pouvoir moussant | Savons |
| Déodorisation dans les produits d'hygiène | Menthol, chlorophylle |
| Augmentation de la solubilité | Vitamines |
| Stabilité des parfums | Essence de citron |

Tableau 14 : Exemples de propriétés améliorées par l'utilisation de cyclodextrine dans des applications cosmétologiques.

Dans l'industrie des cosmétiques, la cyclodextrine améliore la solubilité dans l'eau de certaines substances qui peuvent alors être plus facilement émulsionnées. Elle permet la stabilisation du goût et de la couleur des dentifrices, la réduction de l'irritation des yeux due aux shampooings. Le Japon commercialise des lotions et des shampooings contenant des vitamines stabilisées par des cyclodextrines.

11.2. Applications pharmaceutiques

Les cyclodextrines sont susceptibles d'héberger ou d'encapsuler dans leur cavité une autre molécule. Celle-ci peut être facilement « relâchée ». Autrement dit, voilà un véhicule capable de transporter dans un organisme vivant une molécule donnée.

L'introduction des cyclodextrines dans la chimie pharmaceutique a permis de spectaculaires progrès. Cet essor considérable est dû, d'une part à leur non toxicité, et d'autre part, aux progrès réalisés dans la production et la fabrication industrielle de cyclodextrines et de leurs dérivés, qui ont permis d'abaisser considérablement les prix.

L'intérêt des cyclodextrines dans le domaine de la pharmacie est d'améliorer la dissolution des principes actifs, d'en augmenter la biodisponibilité, également d'en diminuer les effets secondaires, et éventuellement d'en améliorer la stabilité.

Le tableau 15 présente quelques exemples de propriétés améliorées par l'utilisation de cyclodextrine dans des applications pharmaceutiques [9,12,16-20].

| Propriétés | Substances concernées |
|--------------------------------------|--------------------------------------|
| Amélioration de la biodisponibilité | Indométhacine |
| Diminution des effets secondaires | Phénylbutazone |
| Augmentation de la solubilité | Prostaglandines, vitamines, insuline |
| Stabilité de molécules volatiles | Menthol, camphre |
| Stabilité de molécules oxydables | Vitamines |
| Stabilité de molécules hydrolysables | Acide acétyl salicylique |

Tableau 15 : Exemples de propriétés améliorées par l'utilisation de cyclodextrine dans des applications pharmaceutiques.

Certains composés liquides peuvent être transformés, grâce à la complexation par la cyclodextrine, en produits cristallisés plus pratiques pour l'élaboration de comprimés. Le mélange de composés incompatibles est rendu possible grâce à la complexation de leurs sites réactifs. La stabilité des inclusions obtenues permet de diminuer la sensibilité de certains médicaments à la lumière, à la chaleur, à l'acidité gastrique et à l'oxydation. L'inclusion de la vitamine A dans l' α -cyclodextrine augmente sa stabilité vis-à-vis de la chaleur [18].

Comment acheminer une molécule de spiranolactone (diurétique et antihypertenseur) au plus près de sa cible ? Tout simplement par encapsulation moléculaire grâce à la β -cyclodextrine [144].

La complexation augmente la solubilité des médicaments dans l'eau [17], ce qui aboutit à un meilleur taux de passage dans le sang. La carbamazépine est un antiépileptique efficace, qui présente l'inconvénient d'avoir une solubilité insuffisante interdisant l'utilisation sous forme injectable, en cas d'urgence. La solution : l'encapsuler dans une cyclodextrine modifiée [144]. Les complexes d'inclusion obtenus avec des polymères de cyclodextrines permettent d'augmenter la solubilité de certains médicaments, ce qui induit une amélioration de la biodisponibilité et entraîne une augmentation de l'efficacité du médicament [145].

La formation de complexe peut permettre d'envisager la libération retardée des médicaments au sein de l'organisme ainsi que la réduction de certains effets secondaires. Notons que les complexes d'inclusion formés se dissocient rapidement dans les conditions physiologiques, seul le médicament traverse la membrane lipophile de la cellule, la cyclodextrine, hydrophile, restant dans la phase aqueuse [146].

Certains médicaments, souvent sous forme de mélanges racémiques, sont inutilisables à des fins thérapeutiques en raison d'effets secondaires indésirables de l'un des énantiomères [25]. Or, par chromatographie d'affinité, la β -cyclodextrine a permis de résoudre un certain nombre de produits racémiques d'intérêt thérapeutique (β -bloquants, sédatifs, diurétiques, ...).

De même que l'inclusion élève les températures d'ébullition, évaporation ou sublimation, elle peut aussi élever la température de fusion : par exemple, la température de fusion de la

prostaglandine $F_{2\alpha}$ est augmentée par inclusion avec la β -cyclodextrine. Dans le cas des suppositoires, leur point de fusion ainsi que leur dureté sont diminués par addition de substances volatiles, l'inclusion évite cet inconvénient [18]. L'inclusion peut entraîner la diminution de la volatilité de substances telles que le menthol ou l'eucalyptus par augmentation du point d'ébullition et de vaporisation.

Des études montrent que la même quantité de médicament donne un effet plus important quand elle est administrée par un complexe de cyclodextrine. Aussi, pour obtenir un même effet thérapeutique, on peut diminuer la quantité de médicament, avantage non négligeable [25].

D'autres améliorations résultent de la microencapsulation : réduction de l'amertume, atténuation de la mauvaise odeur et du goût désagréable des médicaments, protection des muqueuses de l'estomac, amélioration des propriétés et accroissement de l'effet thérapeutique [16,17]. Citons des composés tels que les antibiotiques, les anti-inflammatoires, les vitamines, les barbituriques.

Par exemple, l'encapsulation atténue et/ou supprime les effets secondaires indésirables de médicaments comme l'indométhacine et la phénylbutazone qui ont pour effet d'irriter la muqueuse stomacale. La sensation irritante du piroprofène sur la muqueuse de la gorge est diminuée par inclusion avec la β -cyclodextrine [18].

Les cyclodextrines sont autorisées au Japon et en Hongrie pour des applications en pharmacie depuis 1983. En 1984, au Japon, est apparu sur le marché le premier composé d'inclusion : il s'agissait d'un complexe prostaglandine- β -cyclodextrine commercialisé sous le nom de Prostarmon [25].

Depuis 1984, l'usage des cyclodextrines dans l'industrie pharmaceutique est devenu courant, comme en témoigne les nombreux composés d'inclusion commercialisés. En 1984, plus d'un tiers des brevets consacrés aux cyclodextrines se rapportaient à la pharmacie, aujourd'hui plus de la moitié. On estime d'ailleurs, que d'ici à l'an 2000, l'industrie pharmaceutique sera la première industrie utilisatrice des cyclodextrines. Les applications pharmaceutiques restent donc les plus prometteuses [20]. En effet, avec la production de cyclodextrines alkylées,

notamment méthylées, il semble qu'un nouveau marché soit apparu, celui de la biotechnologie, ceci pour deux raisons [10,15,20]. La première est une plus grande solubilité à température ambiante des dérivés alkylés, s'expliquant par l'absence de liaisons hydrogène intramoléculaires du fait de la substitution des groupes hydroxyles. La seconde raison est une augmentation de la stabilité du complexe d'inclusion, due à une plus grande flexibilité de la molécule substituée, par l'absence de liaisons hydrogène, seule demeure une forte contribution des interactions de Van der Waals. De plus, en 1987, Szejtli a montré que la β -cyclodextrine méthylée est moins toxique que la β -cyclodextrine à très forte dose [14,15].

11.3. Applications en chimie fine

Malgré les nombreuses applications très concrètes qui viennent d'être exposées, les cyclodextrines restent un sujet d'étude très sollicité dans le domaine de la recherche [15,147-151]. Elles ont notamment un comportement sélectif comparable à celui des enzymes. Cette qualité permet l'utilisation des cyclodextrines en catalyse chimique, synthèse stéréospécifique et en chromatographie.

11.3.1. Utilisation comme enzymes « artificielles » (Activité enzymatique)

Les enzymes naturelles sont des macromolécules (protéines) de haut poids moléculaire constituées de l'enchaînement de plusieurs centaines d'acides aminés. Or, une seule petite partie de l'enzyme, une cavité dans laquelle se loge un substrat, intervient dans une réaction chimique. Les enzymes se montrent à la fois efficaces, sélectives et spécifiques à l'égard des réactions chimiques qu'elles catalysent. Ces propriétés sont le fruit de la structure tridimensionnelle de grande complexité des enzymes [2,4,5].

Les chimistes de synthèse sont depuis longtemps fascinés par ces enzymes. Ils s'efforcent depuis plusieurs décennies, de pénétrer les secrets qui permettent aux enzymes de jouer leur rôle de catalyseurs naturels. Ils se sont demandés, s'il était possible d'imiter l'action des sites actifs des enzymes, sans pour autant copier toute leur structure chimique. La notion « d'enzyme artificielle » a été introduite [1-5].

Une enzyme artificielle est une molécule mimant l'action d'une enzyme naturelle, mais dépourvue de la structure complexe de celle-ci. La stratégie de synthèse des enzymes artificielles consiste à utiliser comme point de départ un composé non enzymatique, contenant une cavité, et de lui faire subir, par voie de synthèse, les modifications structurales qui lui donneront l'activité catalytique souhaitée.

La réalisation de telles molécules dites « supermolécules » a contribué à l'émergence d'une chimie biomimétique, chimie identifiant, simplifiant, imitant et reproduisant la chimie du vivant [1,3,5].

Matériaux de choix pour mettre au point des modèles de processus biologiques, les cyclodextrines ont conduit à un grand nombre de travaux portant sur la complexation et la catalyse moléculaire, où se sont notamment illustrées les équipes de **Cramer** (Allemagne), de **Breslow** (USA), et de **Tabushi** (Japon) :

■ Exemple N°1 : Des cyclodextrines porteuses de groupes imidazoles ont été synthétisées afin d'imiter la ribonucléase A du pancréas de boeuf. Cette enzyme hydrolyse l'ARN en libérant les nucléotides qui le composent : la portion de l'ARN qui doit être coupée vient se placer dans le site actif de l'enzyme, entre deux groupements histidines situés l'un en face de l'autre. Il est possible de synthétiser une cyclodextrine modifiée ayant un comportement voisin de la ribonucléase, permettant d'effectuer des hydrolyses spécifiques [3].

■ Exemple N°2 : L'équipe de **Breslow**, en 1980, est parvenu à concrétiser le rêve des chimistes supramoléculaires : catalyser à l'aide d'une cyclodextrine modifiée une réaction chimique (réaction de Diels-Alder) que ne peuvent catalyser aucune enzyme naturelle, ni aucun catalyseur courant [4].

11.3.2. Utilisation en chromatographie

La capacité des cyclodextrines à former des complexes d'inclusion avec toute une série de composés dans l'eau, et la sélectivité de ces processus d'inclusion sont les principaux facteurs qui rendent ces substances si attractives comme matériel chromatographique en général, et comme support de chromatographie CLHP en particulier.

11.3.3. Utilisation en synthèse organique (Activité catalytique)

Les cyclodextrines trouvent également des applications en chimie organique de synthèse, car elles sont capables d'influencer le cours de certaines réactions chimiques [147,148].

Elles sont utilisées par exemple, pour fixer sur une position donnée, un atome de chlore ou d'iode, d'un cycle aromatique. Alors qu'en solution les réactions sont lentes, et que la fixation peut se faire en plusieurs positions sur le cycle [147-150], la chloration en para de l'anisole par l'acide hypochloreux est 5,3 fois plus rapide, et se fait pratiquement sélectivement en présence de l' α -cyclodextrine [2]. La photooxydation du benzaldéhyde est retardée et son oxydation est complètement inhibée par inclusion dans les cyclodextrines [16].

Les cyclodextrines peuvent accélérer de nombreuses réactions comme l'hydrolyse des esters, amides, sulfates, organophosphates, comme par exemple la décarboxylation des cyanoacétates ou l'oxydation des hydroxycétones. En présence de l' α -cyclodextrine, l'hydrolyse de l'acétate de méta-tertiobutylphényle est accélérée 260 fois [7,152].

11.3.4. Utilisation en chimie supramoléculaire

L'idée est de construire des structures moléculaires complexes à partir de molécules simples sans formation de liaisons covalentes [6]. Dans ce but, les complexes d'inclusion de cyclodextrine peuvent être un point de départ intéressant. C'est ainsi qu'ils permettent de synthétiser des caténanes, des rotaxanes, des polyrotaxanes et des polymères tubulaires [22, 153]. Quelques mots sur ces super-structures sont écrits ci-dessous.

11.3.4.1. Synthèse de caténanes

En 1992, Stoddart synthétise pour la première fois des caténanes à partir du complexe d'inclusion entre un dérivé bitolyle et la (2,6-di-O-méthyl)- β -cyclodextrine (figure 26) [154]. La cyclisation du substrat a été réalisée par acylation des deux groupes amines terminaux du substrat avec le dichlorure de téréphtaloyle en solution aqueuse. Les caténanes formés sont facilement séparés du mélange réactionnel grâce à leur nature amphiphile. Les rendements obtenus sont relativement faibles (1 à 3 %) malgré un K_f du complexe de départ (avant cyclisation) de 10000 l.mol^{-1} , suggérant une probable diminution de la réactivité des groupes amines du substrat après encapsulation.

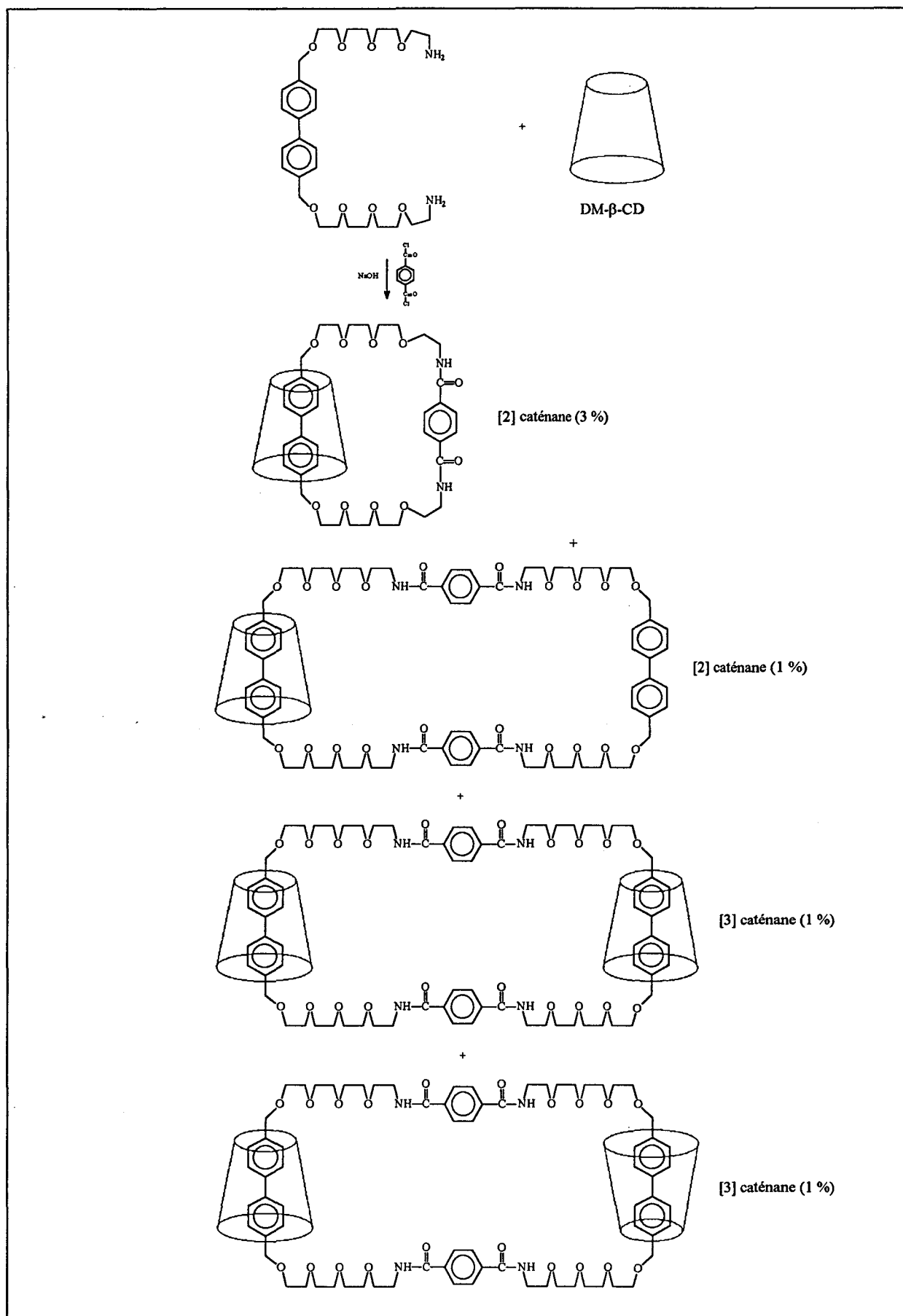


Figure 26 : Synthèse de [2] et de [3]caténanes à partir de la (2,6-di-O-méthyl)- β -cyclodextrine (DM- β -CD).

11.3.4.2. Synthèse de [2]rotaxanes

En 1981, Ogino et Ohata rapportent que des α,ω -alcanediylidiamines incluses dans la cavité de l' α ou de la β -cyclodextrine, réagissent dans le DMSO avec des complexes stériquement encombrés de Cobalt III à leurs deux extrémités pour donner des [2]rotaxanes (figure 27) [155,156]. Le rendement obtenu dépend de la longueur de la chaîne alkyle, atteignant un maximum de 19 % pour $k=12$ [156].

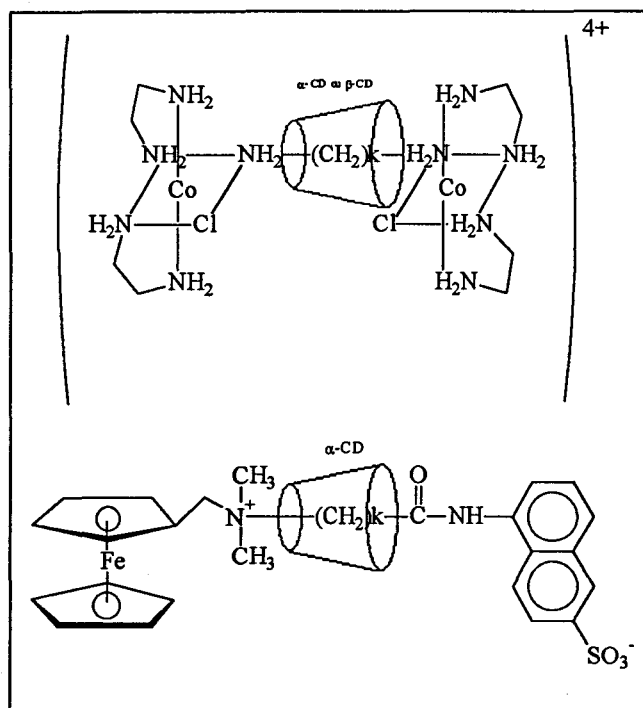


Figure 27 : [2]rotaxanes préparés à partir d' α ou de β -cyclodextrine.

Des rotaxanes stables ne sont formés que si les groupes « bloquants » sont liés de manière covalente au substrat inclus, et suffisamment volumineux pour empêcher toute dissociation éventuelle du complexe [22,153,157].

Pour obtenir des [2]rotaxanes, il faut que les conditions dans lesquelles la réaction de blocage est effectuée soient compatibles avec les interactions hôte-invité. En d'autres termes, bien que l'eau soit le meilleur solvant pour la formation de complexes d'inclusion, ce n'est souvent pas celui à utiliser pour le greffage des groupes bloquants (les réactifs pour cette réaction étant en général peu solubles dans l'eau et hydrolysables) [22].

11.3.4.3. Synthèse de polyrotaxanes

Les polyrotaxanes peuvent être préparés par réaction entre des complexes d'inclusion axiale de polymères et des groupes bloquants à chaque extrémité des chaînes, ou par modification chimique de polymères avec des complexes d'inclusion de substrats simples. Dans le premier cas, l'axe du rotaxane est situé le long de la chaîne principale du polymère (polyrotaxane axial), tandis que dans le deuxième cas, il est situé sur les chaînes latérales du polymère (polyrotaxane latéral) [22].

Wenz obtient, par exemple, à partir de complexes d'inclusion de polyamines avec l' α -cyclodextrine, des polyrotaxanes axiaux hydrosolubles avec de bons rendements en faisant réagir les groupes amines sur le chlorure de nicotinoyle (figure 28) [140]. Le produit obtenu est purifié par dialyse.

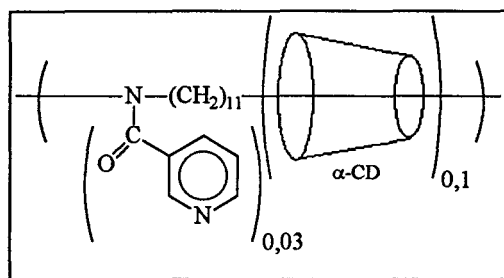


Figure 28 : Polyrotaxane axial préparé à partir de l' α -cyclodextrine.

Ritter synthétise des polyrotaxanes latéraux en faisant réagir un substrat encapsulé par la (2,6-di-O-méthyl)- β -cyclodextrine sur les groupes terminaux portés par les chaînes latérales du polymère (figure 29). Le produit obtenu est purifié par des précipitations successives [158].

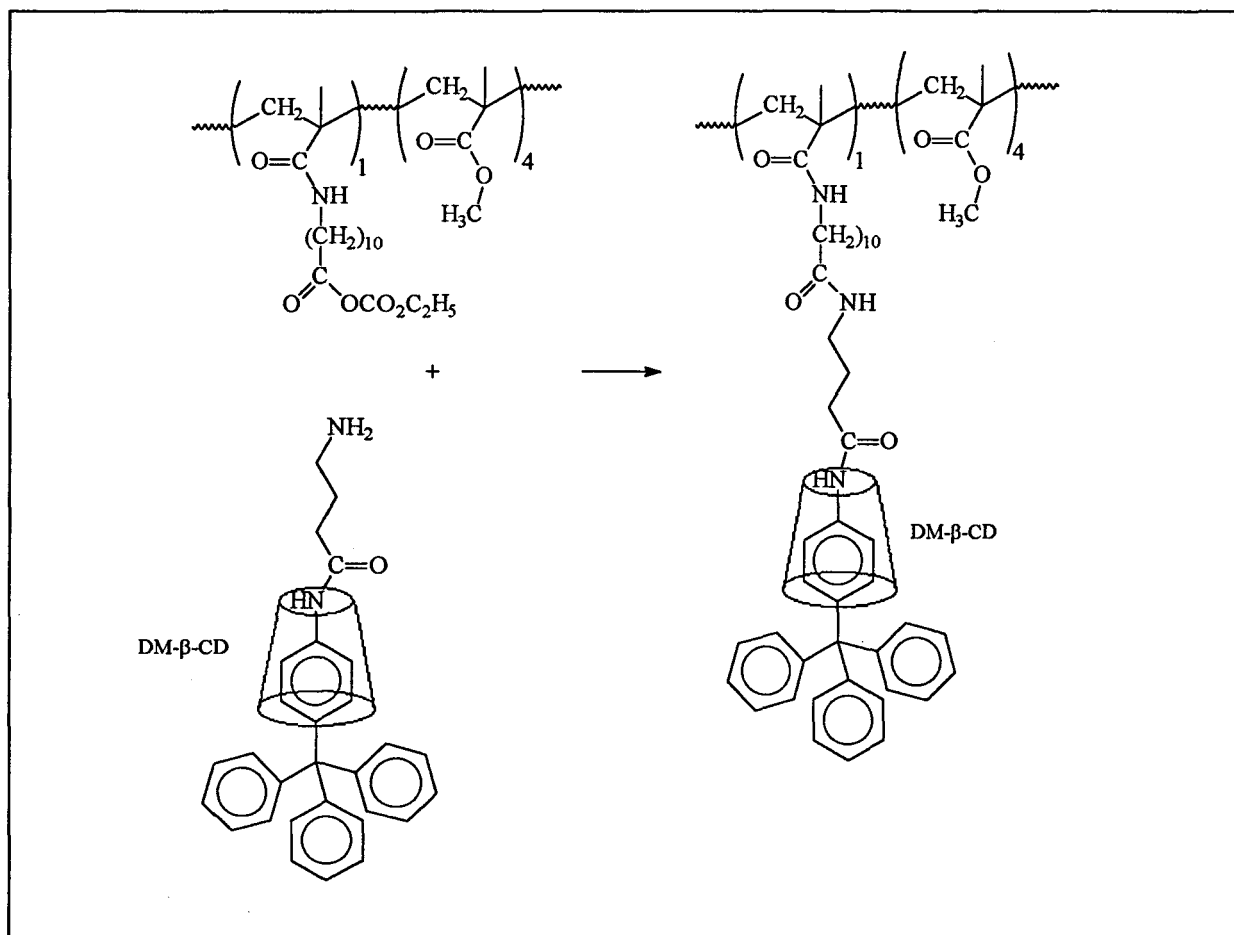


Figure 29 : Polyrotaxane latéral préparé à partir de la (2,6-di-O-méthyl)-β-cyclodextrine (DM-β-CD).

11.3.4.4. Synthèse de polymères tubulaires

Jusqu'à présent, seules des synthèses dans lesquelles des réactions chimiques sont menées sur des molécules incluses ont été évoquées. Il est également possible et intéressant de lier de façon covalente des cyclodextrines entre elles pour obtenir des polymères tubulaires. Harada, par exemple, traite une solution basique de polyrotaxane par de l'épichlorhydrine [159,160]. Par chromatographie par perméation de gel (GPC), il montre la formation d'un réseau de liaisons le long de la chaîne de polymère avec la création de ponts hydroxypropylènes. Les groupes bloquants sont ensuite clivés par l'ajout de soude concentrée et le polymère inclus est libéré. Le polymère final obtenu possède environ 15 unités cyclodextrines pontées (figure 30) [159,160].

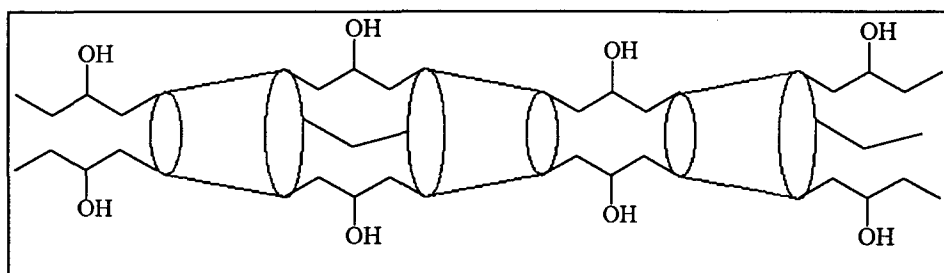


Figure 30 : Polymère tubulaire.

11.3.4.5. Applications de ces structures supramoléculaires

Le principal attrait de telles structures réside dans la reconnaissance moléculaire [6,161] et le transfert (rétention ou transport) de substrats [6,162]. La combinaison de ces fonctions est d'un intérêt pratique considérable, puisque elle peut être employée pour la séparation de composés.

11.3.4.5.1. Reconnaissance moléculaire

Un hôte qui forme des complexes de différentes stabilités avec deux substrats similaires montre une reconnaissance moléculaire. Les cyclodextrines détectent non seulement la longueur et l'épaisseur d'un invité mais aussi distinguent des substrats énantiomères. Il existe des complexes diastéréoisomères hôte-invité à la fois pour les cyclodextrines hydrophiles et pour les cyclodextrines lipophiles. Les interactions qui déterminent la reconnaissance chirale ont été étudiées par des simulations informatiques [6,22].

11.3.4.5.2. Rétention sélective de substrats par des cyclodextrines immobilisées

Armstrong est le premier à fixer des cyclodextrines hydrophiles sur gel de silice et à les utiliser pour la séparation de divers substrats (en particulier des racémates) par chromatographie liquide [22,163]. Des enrobages de cyclodextrines lipophiles à l'intérieur de longs capillaires forment d'excellentes phases stationnaires pour la séparation d'énantiomères par chromatographie gaz [22]. La séparation chromatographique sur des phases stationnaires contenant de la cyclodextrine est devenue une méthode analytique largement appliquée pour des substances d'importance générale telles que les arômes, les phéromones, les anesthésiques, les médicaments, les produits agro-chimiques, ou encore les polluants [22].

11.3.4.5.3. Transport de substrats au moyen de cyclodextrines mobiles.

Le transport d'un substrat dans ou à travers une phase liquide est d'abord fondé sur une augmentation de sa solubilité par la formation d'un complexe d'inclusion. Ce transport peut être utilisé pour la catalyse à transfert de phase de réactions chimiques et pour la séparation de différents substrats. Des cyclodextrines hydrophiles sont utilisées pour transporter des substrats hydrophobes à travers une phase aqueuse, les cyclodextrines lipophiles servent à transporter des substrats ioniques à travers une phase lipophile, et un dérivé amphiphile sert à transporter des cations à travers une membrane liposome. Des cyclodextrines chargées, quant à elles, peuvent effectuer le transport de substrats inclus neutres dans un champ électrique [22].

CONCLUSION

S'étendant de la physique de matière condensée jusqu'à la biologie des grands assemblages moléculaires, la chimie supramoléculaire devient une « science supradisciplinaire ». D'aussi vastes horizons sont un défi et un stimulant pour l'imagination créatrice du chimiste.

Après cette riche étude bibliographique qui nous a fourni des outils aussi utiles qu'indispensables, nous voici prêt à réfléchir et à travailler sur un des multiples aspects de cette chimie supramoléculaire, à savoir comment interagit la cyclodextrine avec des polyélectrolytes.

Notre étude ci-après concernera particulièrement les interactions en milieu aqueux entre la β -cyclodextrine et les polymères synthétisés dans la première partie. Ce travail devra nous permettre de mieux comprendre l'influence de la cyclodextrine sur la conformation de nos polymères.

Références

- [1] J.-M. Lehn : La Recherche, **1981**, Vol. 12, p. 1213
- [2] J. F. Stoddart : L'actualité chimique, **1982**, p. 17
- [3] R. M. Kellogg : La Recherche, **1984**, Vol. 15, p. 819.
- [4] M. W. Hosseini : La Recherche, **1989**, Vol. 20, p. 25.
- [5] J. Marchand-Brynaert : Chimie Nouvelle, **1993**, N°41, p. 1196.
- [6] J.-M. Lehn : « La Chimie Supramoléculaire : Concepts et Perspectives », Traduction Française, Ed. DeBoeck Université, **1997**.
- [7] J. Fastrez : Chimie Nouvelle, **1983**, N°2, p. 5.
- [8] M. L. Bender et M. Komiyama : « Cyclodextrin Chemistry », Springer, Berlin, **1978**.
- [9] J. Szejtli : « Cyclodextrins and their Inclusion Complexes », Akademiai Kiado, Budapest, **1982**.
- [10] J. Szejtli : Die Stärke, **1986**, Vol. 38, n°11, p. 388.
- [11] J. Szejtli : Chimicaoggi, **1987**, p. 17.
- [12] J. Szejtli : « Cyclodextrin Technology », Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, **1988**.
- [13] J. Szejtli : Kontakte, **1988**, Vol. 1, p. 31.
- [14] J. Szejtli, T. Cserhati, B. Bordas et J. Bojarski : Kontakte, **1988**, Vol. 2, p. 30.
- [15] J. Szejtli : Carbohydr. Polym., **1990**, Vol. 12, p. 375.
- [16] D. Duchêne, B. Debruères et A. Brétilon : Labo. Pharma. Probl. Tech., **1984**, Vol. 32, n°348, p. 842.
- [17] D. Duchêne, C. Vaution et F. Glomot : S. T. P. Pharma., **1985**, Vol. 1, n°4, p. 323.
- [18] D. Duchêne et C. Vaution : Les Entretiens du Carla, **1986**, Vol. 7, p. 109.
- [19] D. Duchêne : « Cyclodextrins and their Industrial Uses », Editions de Santé, Paris, **1987**.
- [20] D. Duchêne : « New Trends in Cyclodextrins and Derivatives », Editions de Santé, Paris, **1991**.

- [21] W. Saenger : *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1980**, Vol. 19, p. 344.
- [22] G. Wenz : *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1994**, Vol. 33, p. 803.
- [23] O. Bekers, E. V. Uijtendaal, J. H. Beijnen, A. Bult et W. J. M. Underberg : *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **1991**, Vol. 17, n°11, p. 1503.
- [24] R. J. Clarke, J. H. Coates et S. F. Lincoln : *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **1988**, Vol. 46, p. 205.
- [25] M. Maury et J. Roque : *Biofutur*, **1986**, n°49, p. 17.
- [26] B. Casu : *La Chimica e l'Industria*, **1966**, Vol. 48, n°9, p. 921.
- [27] B. Casu et M. Reggiani : *Die Stärke*, **1966**, n°7, p. 218.
- [28] B. Casu : *Chimica delle Macromolecole*, **1966**, p. 3.
- [29] B. Casu, G. G. Gallo, M. Reggiani et A. Vigevani : *Die Stärke*, **1966**, n°12, p. 387.
- [30] B. Casu : *Chimicaoggi*, **1987**, p. 23.
- [31] A. Villiers : *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci.*, **1891**, Vol. 112, p. 536.
- [32] D. French, M. L. Levine, J. H. Pazur et E. Norberg : *J. Am. Chem. Soc.*, **1949**, Vol. 71, p. 353.
- [33] F. Cramer et F. M. Henglein : *Chem. Ber.*, **1957**, Vol. 90, p. 2561.
- [34] A. Mifune et A. Shima : *J. Synth. Org. Chem. Jap.*, **1977**, Vol. 35, p. 116.
- [35] L. J. Bovetto : « La Cyclodextrine Glucosyltransférase », Thèse de Doctorat, Université des Sciences et Technologies de Lille 1, **1988**.
- [36] K. Uekama et M. Otagiri : *CRC Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.*, **1987**, Vol. 3, p. 1.
- [37] K. Uekama et T. Irie : *Pharm. Int.*, **1985**, Vol. 6, p. 1.
- [38] G. C. Catena et F. V. Bright : *Anal. Chem.*, **1989**, Vol. 61, p. 905.
- [39] M. Kikuchi, Y. Uemura, F. Hirayama, M. Otagiri et K. Uekama : *J. Incl. Phenom.*, **1984**, Vol. 2, p. 623.
- [40] R. L. Schiller, S. F. Lincoln et J. H. Coates : *J. Chem. Soc. Faraday Trans*, **1987**, Vol. 83, p. 3237.
- [41] F. M. Andersen et H. Bundgaard : *Arch. Pharm. Chem.*, **1983**, Vol. 11, p. 7.

- [42] D. D. Chow et A. H. Karara : *Int. J. Pharm.*, **1986**, Vol. 28, p. 95.
- [43] Y. Nakai, K. Yamamoto, K. Terada et D. Watanabe : *Chem. Pharm. Bull.*, **1987**, Vol. 35, p. 4609.
- [44] L. E. Briggner, X. R. Ni, F. Tempest et I. Wadsö : *Thermochim. Acta*, **1986**, Vol. 109, p. 139.
- [45] K. Kano, S. Hashimoto, A. Imai et T. Ogawa : *J. Incl. Phenom.*, **1984**, Vol. 2, p. 737.
- [46] A. Buvári et L. Barcza : *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II*, **1988**, p. 543.
- [47] R. J. Bergeron, M. A. Channing et K. A. McGovern : *J. Am. Chem. Soc.*, **1978**, Vol. 100, p. 2878.
- [48] F. Cramer, W. Saenger et H.-C. Spatz : *J. Am. Chem. Soc.*, **1967**, Vol. 89, p. 14.
- [49] W. Saenger, M. Noltemeyer, P. C. Manor, B. Hingerty et B. Klar : *Bioorg. Chem.*, **1976**, Vol. 5, p. 187.
- [50] R. Bergeron et R. Rowan : *Bioorg. Chem.*, **1976**, Vol. 5, p. 425.
- [51] M. Otagiri, K. Uekama, T. Imai, T. Maeda, A. Takadate, G. Shujiro et L. H. M. Janssen : *Acta Pharm. Suec.*, **1984**, Vol. 21, p. 357.
- [52] A. Yoshida, H. Arima, K. Uekama et J. Pitha : *Int. J. Pharm.*, **1988**, Vol. 46, p. 217.
- [53] K. Uekama, T. Imai, T. Maeda, T. Irie, F. Hirayama et M. Otagiri : *J. Pharm. Sci.*, **1985**, Vol. 74, p. 841.
- [54] M. Furue, A. Harada et S.-I. Nozakura : *J. Polym. Sci. Polym. Lett. Ed.*, **1975**, Vol. 13, p. 357.
- [55] A. Harada, M. Furue et S.-I. Nozakura : *Macromolecules*, **1976**, Vol. 9, p. 701.
- [56] B. Pöpping : « Immobilisation de Cavités β -Cyclodextrine sur un Polyélectrolyte (Polyvinylimidazole) - Relation Conformation-Propriétés de Complexation - Adsorption sur des Particules Colloïdales », Thèse de Doctorat, Université Pierre et Marie Curie (Paris VI), **1993**.
- [57] J. Szeman, E. Fenyvesi, J. Szejtli, H. Ueda, Y. Machida et T. Nagai : *J. Incl. Phenom.*, **1987**, Vol. 5, p. 427.
- [58] T. Cserhati, G. Oros, E. Fenyvesi et J. Szejtli : *J. Incl. Phenom.*, **1984**, Vol. 1, p. 395.
- [59] A. Harada, M. Furue et S.-I. Nozakura : *Polym. J.*, **1981**, Vol. 13, p. 777.
- [60] N. Wiedenhopf : *Die Stärke*, **1969**, Vol. 21, p. 163.

- [61] K. Uekama, M. Otagiri, T. Irie, H. Seo et N. Tsuruoka : *Int. J. Pharm.*, **1985**, Vol. 23, p. 35.
- [62] T. Seo, T. Kajihara et T. Iijima : *Makromol. Chem.*, **1987**, Vol. 188, p. 2071.
- [63] B. Sébille, N. Thuaud, J. Piquion et N. Béhar : *J. Chromatogr.*, **1987**, Vol. 409, p. 61.
- [64] G. Crini et M. Morcellet : *J. Chromatogr. Sci.*, **1996**, Vol. 34, p. 485.
- [65] G. Crini, M. Morcellet et G. Torri : *J. Chromatogr. Sci.*, **1996**, Vol. 34, p. 477.
- [66] B. Martel, Y. Lekchiri, A. Pollet et M. Morcellet : *Eur. Polym. J.*, **1995**, Vol. 31, p. 1083.
- [67] B. Martel et M. Morcellet : *Eur. Polym. J.*, **1995**, Vol. 31, p. 1089.
- [68] G. Crini, G. Torri, Y. Lekchiri, B. Martel, L. Janus et M. Morcellet : *Chromatogr.*, **1995**, Vol. 41, p. 424.
- [69] G. Crini, Y. Lekchiri et M. Morcellet : *Chromatogr.*, **1995**, Vol. 40, p ; 296.
- [70] A. Harada, M. Furue et S. Nozakura : *Macromolecules*, **1977**, Vol. 10, p. 676.
- [71] A. Harada, M. Furue et S. Nozakura : *Macromolecules*, **1976**, Vol. 9, p. 705.
- [72] S. P. Jones, D. J. W. Grant, J. Hadgraft et G. Parr : *Acta Pharm. Technol.*, **1984**, Vol. 30, p. 213.
- [73] M. Kurozumi, N. Nambu et T. Nagai : *Chem. Pharm. Bull.*, **1975**, Vol. 23, p. 3062.
- [74] T. Tokumura, H. Ueda, Y. Tsushima, M. Kasai, M. Kayano, Y. Amada, Y. Machida et T. Nagai : *J. Incl. Phenom.*, **1984**, Vol. 2, p. 511.
- [75] T. Amdidouche, H. Darrouzet, D. Duchêne et M. C. Poelman : *Int. J. Pharm.*, **1989**, Vol. 54, p. 175.
- [76] N. Erden et N. Celebi : *Int. J. Pharm.*, **1988**, Vol. 48, p. 83.
- [77] M. A. Hassan, M. S. Suleiman et N. M. Najib : *Int. J. Pharm.*, **1989**, Vol. 58, p. 19.
- [78] K. Uekama, F. Hirayama, M. Otagiri et M. Yamasaki : *Int. J. Pharm.*, **1982**, Vol. 10, p. 1.
- [79] K. Uekama, T. Fujinaga, F. Hirayama, M. Otagiri, M. Yamasali, H. Seo, T. Hasimoto et T. Tsuruoka : *J. Pharm. Sci.*, **1983**, Vol. 72, p. 1338.
- [80] R. B. Gandhi et A. H. Karara : *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **1988**, Vol. 14, p. 657.
- [81] K. Takeo et T. Kuge : *Agr. Biol. Chem.*, **1970**, Vol. 34, p. 1787.

- [82] A. Harada, K. Saeki et S. Takahashi : *Organometallics*, 1989, Vol. 8, p. 730.
- [83] G. Mazzi, F. F. Vincieri, F. Forni, N. Mulinacci et S. Celli : *Acta Pharm. Technol.*, 1988, Vol. 34, p. 17.
- [84] K. Uekama, S. Narisawa, F. Hirayama et M. Otagiri : *Int. J. Pharm.*, 1983, Vol. 16, p. 327.
- [85] A. Harada, M. Takeuchi et S. Takahashi : *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1988, Vol. 61, p. 4367.
- [86] O. L. Alves et S. F. Fonseca : *J. Incl. Phenom.*, 1989, Vol. 7, p. 589.
- [87] K. Takeo et T. Kuge : *Agr. Biol. Chem.*, 1970, Vol. 34, p. 954.
- [88] A. Harada, Y. Hu, S. Yamamoto et S. Takahashi : *J. Chem. Dalton Trans.*, 1988, p. 729.
- [89] A. Harada, S. Yamamoto et S. Takahashi : *Organometallics*, 1989, Vol. 8, p. 2560.
- [90] T. X. Xiang et B. D. Anderson : *Int. J. Pharm.*, 1990, Vol. 59, p. 45.
- [91] S. Hamai : *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1982, Vol. 55, p. 2721.
- [92] A. E. Kaifer, P. A. Quintela et J. M. Schuette : *J. Incl. Phenom.*, 1989, Vol. 7, p. 107.
- [93] K. M. Tawarah et H. M. Abu-Shamleh : *J. Incl. Phenom.*, 1991, Vol. 11, p. 29.
- [94] G. Wulff et S. Kubik : *Carbohydr. Res.*, 1992, Vol. 237, p. 1.
- [95] K. Pitchumani et M. Vellayappan : *J. Incl. Phenom.*, 1992, Vol. 14, p. 157.
- [96] M. Kodaka et T. Fukaya : *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1986, Vol. 59, p. 2032.
- [97] Y. Shao, B. Martel, M. Morcellet et M. Weltrowski : *Can. Text. J.*, 1997, Vol. 113, p. 53.
- [98] S. Kundu et N. Chattopadhyay : *J. Photochem. Photobiol., Part. A*, 1995, Vol. 88, p. 105.
- [99] J. Nishijo et M. Nagai : *J. Pharm. Sci.*, 1991, Vol. 80, p. 58.
- [100] J. Nishijo, M. Yasuda, M. Nagai et E. Ohno : *Chem. Pharm. Bull.*, 1992, Vol. 40, p. 2591.
- [101] K. Harata et H. Uedaira : *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1975, Vol. 48, p. 375.
- [102] S. Li et W. C. Purdy : *Anal. Chem.*, 1992, Vol. 64, p. 1405.

- [103] A. Harada et S.-I. Nozakura : Polym. Bull., 1982, Vol. 8, p. 141.
- [104] Y.-B. Jiang : J. Photochem. Photobiol., Part. A, 1995, Vol. 88, p. 109.
- [105] J. M. Schuette, T. T. Ndou et I. M. Warner : J. Phys. Chem., 1992, Vol. 96, p. 5309.
- [106] M. Suzuki et Y. Sasaki : Chem. Pharm. Bull., 1984, Vol. 32, p. 832.
- [107] S. Monti, G. Köhler et G. Grabner : J. Phys. Chem., 1993, Vol. 97, p. 13011.
- [108] K. Harata : Bioorg. Chem., 1981, Vol. 10, p. 255.
- [109] G. Patonay et I. M. Warner : J. Incl. Phenom., 1991, Vol. 11, p. 313.
- [110] G. Wulff et S. Kubik : Makromol. Chem., 1992, Vol. 193, p. 1071.
- [111] T. T. Ndou, S. Mukundan et I. M. Warner : J. Incl. Phenom., 1993, Vol. 15, p. 9.
- [112] M. Kodaka : J. Am. Chem. Soc., 1993, Vol. 115, p. 3702.
- [113] M. Kodaka : J. Phys. Chem., 1991, Vol. 95, p. 2110.
- [114] P. V. Demarco et A. L. Thakkar : J. Chem. Soc., 1970, Vol. 2, p. 2.
- [115] J. Nishijo, M. Yasuda, M. Nagai et M. Sugiura : Bull. Chem. Soc. Jpn., 1992, Vol. 65, p. 2869.
- [116] H.-J. Schneider, T. Blatter et S. Simova : J. Am. Chem. Soc., 1991, Vol. 113, p. 1996.
- [117] F. Djedaini et B. Perly : Magn. Reson. Chem., 1990, Vol. 28, p. 372.
- [118] M. E. Amato, G. C. Pappalardo et B. Perly : Magn. Reson. Chem., 1993, Vol. 31, p. 455.
- [119] A. Botsi, K. Yannakopoulou, E. Hadjoudis et B. Perly : Magn. Reson. Chem., 1996, Vol. 34, p. 419.
- [120] J. Redondo, J. Frigola, A. Torrens et P. Lupón : Magn. Reson. Chem., 1995, Vol. 33, p. 104.
- [121] S.-I. Takahashi, E.-I. Suzuki et N. Nagashima : Bull. Chem. Soc. Jpn., 1986, Vol. 59, p. 1129.
- [122] M. Komiyama et H. Hirai : Bull. Chem. Soc. Jpn., 1981, Vol. 54, p. 828.
- [123] R. Bergeron et M. A. Channing : Bioorg. Chem., 1976, Vol. 5, p. 437.

- [124] A. Aversa, W. Etter, R. I. Gelb et L. M. Schwartz : *J. Incl. Phenom.*, **1990**, Vol. 9, p. 277.
- [125] R. Palepu, J.E. Richardson et V. C. Reinsborough : *Langmuir*, **1989**, Vol. 5, p. 218.
- [126] T. Okubo, H. Kitano et N. Ise : *J. Phys. Chem.*, **1976**, Vol. 80, p. 2661.
- [127] Y. Inoue, T. Hakushi, Y. Liu, L.-H. Tong, B.-J. Shen et D.-S. Jin : *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, Vol. 115, p. 475.
- [128] W. Saenger et A. Müller-Fahrnow : *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1988**, Vol. 27, p. 393.
- [129] H. A. Benesi et J. H. Hildebrand : *J. Chem. Soc.*, **1949**, Vol. 71, p. 2703.
- [130] R. L. Scott : *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas*, **1956**, Vol. 75, p.787.
- [131] A. Harada, J. Li et M. Kamachi : *Macromolecules*, **1993**, Vol. 26, p. 5698.
- [132] A. Harada, M. Okada, J. Li et M. Kamachi : *Macromolecules*, **1995**, Vol. 28, p. 8406.
- [133] A. Harada, J. Li, S. Suzuki et M. Kamachi : *Macromolecules*, **1993**, Vol. 26, p. 5267.
- [134] A. Harada, J. Li et M. Kamachi : *Nature*, **1992**, Vol. 356, p. 325.
- [135] A. Harada, J. Li et M. Kamachi : *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, Vol. 116, p. 3192.
- [136] A. Harada, J. Li et M. Kamachi : *Chem. Lett.*, **1993**, p. 237.
- [137] A. Harada, J. Li et M. Kamachi : *Nature*, **1994**, Vol. 370, p. 126.
- [138] A. Harada et M. Kamachi : *Macromolecules*, **1990**, Vol. 23, p. 2823.
- [139] A. Harada, J. Li et M. Kamachi : *Macromolecules*, **1994**, Vol. 27, p. 4538.
- [140] G. Wenz et B. Keller : *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1992**, Vol. 31, p. 197.
- [141] B. Martel : « Estérolyse Catalysée par la Cyclodextrine Associée à la Poly(vinylamine) et ses Dérivés Benzylés », Thèse de doctorat, Université des Sciences et Technologies de Lille 1, **1993**.
- [142] T. Seo, T. Kajihara et T. Iijima : *Makromol. Chem.*, **1990**, Vol. 191, p. 1665.
- [143] T. Okubo et M. Kuroda : *Macromolecules*, **1989**, Vol. 22, p. 3936.
- [144] S. Huet : *Science et Avenir*, **1993**, N°552, p. 76.
- [145] E. Fenyvesi : *J. Incl. Phenom.*, **1988**, Vol. 6, p. 537.

- [146] N. Béhar : « Etude Physicochimique de la Libération de Médicaments Inclus dans des Cyclodextrines Associées à des Polymères », Thèse de Doctorat, Université de Paris XII, 1989.
- [147] C. Sirlin : Bull. Soc. Chim. Fr., 1984, N°1/2, p. 5.
- [148] M. Komiyama : J. Chem. Soc. Perkin Trans. I, 1989, p. 2031.
- [149] M. Komiyama et H. Hirai : Polym. J., 1986, Vol. 18, p. 375.
- [150] A. V. Veglia et R. H. de Rossi : J. Org. Chem., 1988, Vol. 53, p. 5281.
- [151] J. Boger, R. J. Corcoran et J.-M. Lehn : Helv. Chim. Acta, 1978, Vol. 61, p. 2190.
- [152] A. Essalim et D. Serve : Electrochim. Acta, 1992, Vol. 37, p. 149.
- [153] J. F. Stoddart : Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 1992, Vol. 31, p. 846.
- [154] D. Armspach, P. R. Ashton, C. P. Moore, N. Spencer, J. F. Stoddart, T. J. Wear et D. J. Williams : Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 1993, Vol. 32, p. 854.
- [155] H. Ogino : J. Am. Chem. Soc., 1981, Vol. 103, p. 1303.
- [156] H. Ogino et K. Ohata : Inorg. Chem., 1984, Vol. 23, p. 3312.
- [157] M. Kunitake, K. Kotoo, O. Manabe, T. Muramatsu et N. Nakashima : Chem. Lett., 1993, p. 1033.
- [158] M. Born et H. Ritter : Makromol. Chem. Rapid. Commun., 1991, Vol. 12, p. 471.
- [159] A. Harada, J. Li et M. Kamachi : Nature, 1993, Vol. 364, p. 516.
- [160] A. Harada, J. Li et M. Kamachi : Macromol. Reports, 1995, Vol. A32 (Suppl. 5 et 6), p. 813.
- [161] J.-M. Lehn : Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 1988, Vol. 27, p. 89.
- [162] B. Dietrich, T. M. Fyles, M. W. Hosseini, J.-M. Lehn et K. C. Kaye : J. Chem. Soc. Chem. Commun., 1988, p. 691.
- [163] D. W. Armstrong : J. Liq. Chromatogr., 1984, Vol. 7, p. 353.

QUATRIEME PARTIE :

**Interactions entre la β -cyclodextrine
et un polymère qui ne présente pas
de transition conformationnelle,
le poly(4-styrènesulfonate) de sodium
(NaPSS).**

INTRODUCTION

L'étude bibliographique sur la cyclodextrine montre le champ extrêmement vaste des applications qu'offre cette molécule et principalement dans le domaine récent de la chimie supramoléculaire. Les interactions polymères - β -cyclodextrine libre en milieu aqueux, peu analysées dans la littérature, feront l'objet de notre étude dans les parties quatre à six. Nous verrons qu'elles peuvent conduire à la formation de polyrotaxanes latéraux ou/et de liaisons hydrogène intramoléculaires entre les groupes hydroxyles de la β -cyclodextrine et les groupes hydrophiles des polymères.

Afin de mener à bien cette délicate étude, il est nécessaire de bien différencier mentalement un polymère d'une petite molécule en termes d'interactions possibles :

❶ Le polymère à étudier doit être amphiphile, c'est-à-dire posséder à la fois des groupes hydrophobes susceptibles d'être encapsulés par la β -cyclodextrine et des groupes hydrophiles qui lui permettent d'être soluble dans l'eau, milieu dans lequel s'effectue notre étude.

❷ Un polymère ne présente aux cavités de la cyclodextrine qu'un seul côté de ses parties latérales, l'autre étant encombré par la chaîne principale.

❸ Un polymère peut poser des problèmes de viscosité : une solution visqueuse de polymère est un milieu à l'intérieur duquel la mobilité est réduite. L'accessibilité par la cyclodextrine risque donc d'être gênée.

La viscosité d'un polymère dépend de sa masse moléculaire moyenne (plus celle-ci est élevée, plus la viscosité sera élevée), et de sa conformation spatiale, elle-même conditionnée par le pH, la force ionique du milieu, la concentration en polymère, et les groupes voisins portés par les chaînes. En effet, nous avons vu auparavant qu'il existe deux interactions majeures au sein d'un polymère amphiphile en solution aqueuse : des interactions hydrophobes attractives qui tendent à replier les chaînes de polymère (donc à diminuer la viscosité) et des interactions électrostatiques généralement répulsives entre les groupes carboxyliques ionisés qui tendent à étendre les chaînes de polymère (donc à augmenter la viscosité).

On comprend à présent pourquoi ces différents facteurs vont influencer la conformation spatiale :

- A pH acide, les interactions hydrophobes prédominent et la structure du polymère est compacte. Au fur et à mesure que le pH augmente, les répulsions électrostatiques entre les groupes ionisés augmentent, et rentrent alors en compétition avec les interactions hydrophobes. Les chaînes vont s'étendre et la viscosité va augmenter.

- Plus la concentration en polymère est faible, plus la viscosité va être importante. C'est l'effet de polyélectrolyte bien connu.

- La force ionique du milieu va aussi influencer la viscosité. En effet, l'addition d'un sel va provoquer une diminution des répulsions électrostatiques entre les groupes ionisés par effet d'écran et par conséquent va diminuer la taille des chaînes donc la viscosité.

- Les liaisons hydrogène peuvent également modifier la viscosité en l'augmentant (liaisons H intermoléculaires) ou en la diminuant (liaisons H intramoléculaires).

Notre but concerne l'étude des interactions entre les polyesters benzyliques de l'acide polyméthacrylique synthétisés précédemment et la β -cyclodextrine. Comme nous avons pu le constater, ces polymères présentent une transition conformationnelle induite par le pH. Nous allons donc effectuer l'étude à pH acide et à pH basique et observer si la cyclodextrine induit d'éventuelles différences de comportement.

Afin de mieux comprendre et cerner les différentes interactions mises en jeu entre les diverses entités, l'influence de la β -cyclodextrine sera préalablement examinée sur le poly(4-styrènesulfonate) de sodium, produit commercial de masse $\overline{M}_w = 70000$, car ce polymère ne possède pas de conformation dépendante du pH.

1. Le polymère seul

Le poly(4-styrènesulfonate) de sodium (NaPSS) est un homopolymère (figure 1), qui a la propriété de présenter une conformation étendue quel que soit le pH, l'acide sulfonique correspondant étant un acide très fort. La structure étendue est due aux répulsions électrostatiques entre les groupes sulfonates du polymère. Turro montre, par fluorescence, que les groupes phényles sont régulièrement alignés le long des chaînes [1].

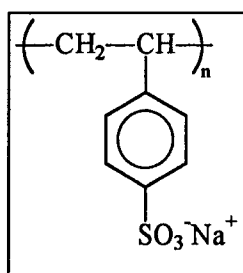


Figure 1 : Le poly(4-styrènesulfonate) de sodium (NaPSS).

L'absence de structure compacte de NaPSS a théoriquement l'avantage de ne pas poser de problème d'accessibilité des groupes benzènesulfonate à la β -cyclodextrine.

Cette absence de structure compacte et donc de transition conformationnelle a été mise en évidence à la fois par potentiométrie (figure 2) et par viscosimétrie (figure 3).

■ La figure 2 montre la courbe de titration, pH en fonction du taux d'ionisation α , pour deux polymères, NaPSS et PM15B. Dans le cas du NaPSS dissout dans la soude, le pK et donc le pH augmentent de façon régulière. C'est le comportement normal d'un polyélectrolyte qui ne présente pas de structure compacte. Par contre dans le cas du PM15B, le pK et donc le pH augmentent de façon très importante au départ, traduisant la proximité des groupes carboxyliques les uns par rapport aux autres, et donc l'existence d'une structure compacte. Une fois que celle-ci est détruite, le pK augmente régulièrement comme dans le cas du NaPSS.

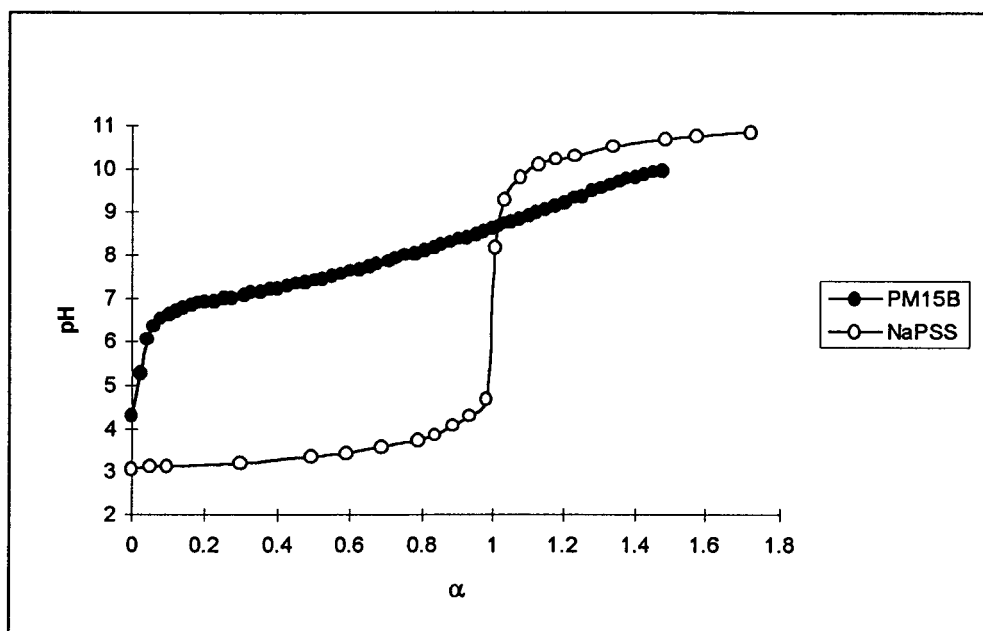


Figure 2 : Courbes de titration, pH en fonction de α de deux polymères, l'un présentant une transition conformationnelle (PMB), l'autre n'en présentant pas (NaPSS).

(La titration s'effectue dans le sens acide \rightarrow basique dans le cas de PMB et dans le sens basique \rightarrow acide dans le cas de NaPSS).

■ La figure 3 montre l'évolution de la viscosité réduite de NaPSS en fonction du pH. La concentration en polymère est de 50 mg/100 ml d'eau, soit $2,4 \cdot 10^{-3}$ M. On additionne de l'acide chlorhydrique concentré dans la solution et on prend les mesures de viscosité correspondantes. Le tableau 1 rassemble les valeurs de viscosité réduite de NaPSS à différents pH.

| pH | η (cm ³ /g) |
|-------------------|-----------------------------|
| 0.9 | 58 |
| 1.35 | 64 |
| 1.9 | 78 |
| 2.6 | 108 |
| 2.9 | 127 |
| 3.2 | 147 |
| 4 | 183 |
| 4.85 | 211 |
| 6.45 ^a | 259 |

Tableau 1 : Valeurs de viscosité réduite de NaPSS en fonction du pH.

^a : valeur du pH dans l'eau pure.

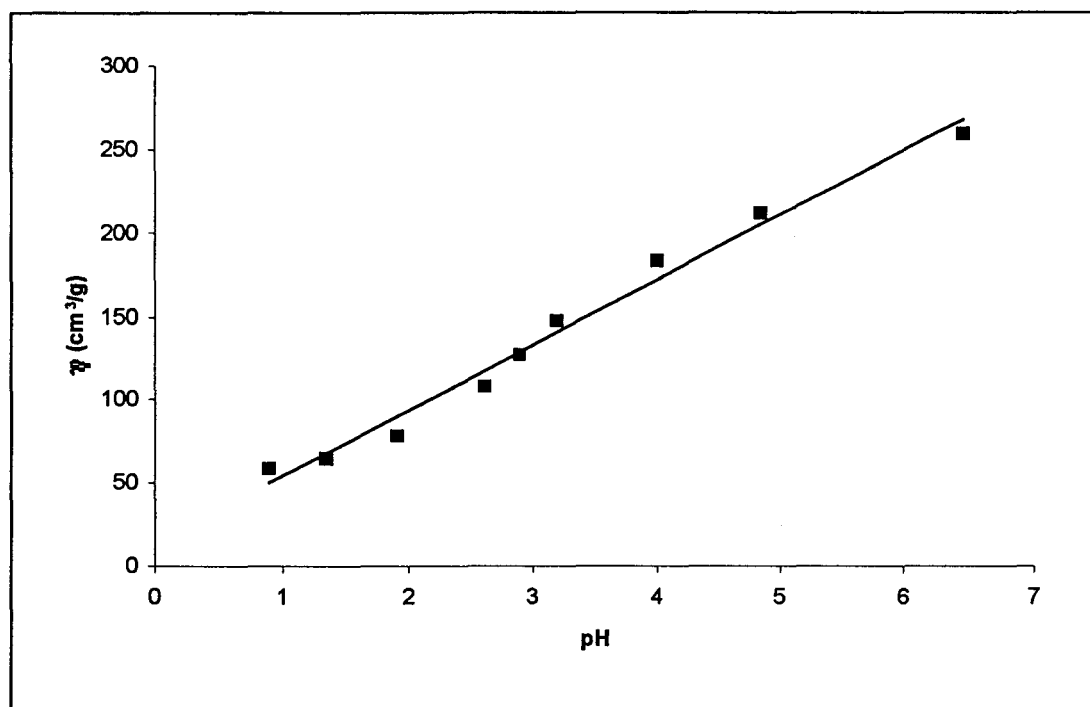


Figure 3 : Evolution de la viscosité réduite de NaPSS en fonction du pH.

Aucune transition conformationnelle n'est observée, confirmant l'absence d'une double structure compacte-étendue selon le pH. Cette courbe est proche d'une droite et la viscosité ne dépend donc a priori que de la concentration de sel NaCl formé au cours de la neutralisation. Les groupes sulfonates SO_3Na^+ restent en effet sous cette forme dans le domaine de pH étudié.

La conformation du polymère étant étendue à cause des répulsions électrostatiques entre les groupes sulfonates des chaînes, regardons l'influence de la force ionique sur la conformation. La concentration en polymère est de 50 mg pour 100 ml, soit $2,4 \cdot 10^{-3}$ M. Le tableau 2 regroupe les valeurs de viscosité réduite du polymère en présence de sel (NaClO_4) à différentes concentrations.

| $[\text{NaClO}_4]$ (mol.l ⁻¹) | η (cm ³ /g) |
|--|------------------------|
| 0 | 259 |
| 0.05 | 47 |
| 0.1 | 37.5 |
| 0.5 | 19 |
| 1 | 14 |

Tableau 2 : Valeurs de viscosité réduite du NaPSS en présence de sel à différentes concentrations.

L'effet d'écran diminue considérablement les répulsions électrostatiques entre les groupes sulfonates (chargés), donc réduit le volume hydrodynamique des chaînes et par conséquent la viscosité de la solution de polymère. Ces résultats confirment ceux de **Carroll [2]** et de **Major [3]**, qui montrent une réorientation locale des groupes phényles sur les chaînes en présence de sel. A une concentration en sel de 1 M, NaPSS finit par présenter une structure compacte, ce que confirment certains auteurs [3,4]. Par exemple, **Takahashi** détermine les paramètres K et α de la relation de **Mark-Houwink** $[\eta]=k\bar{M}^\alpha$ pour NaPSS, et montre qu'ils sont similaires à ceux du polystyrène connu pour adopter une conformation compacte [4].

2. Influence de la β -cyclodextrine

L'objectif de l'étude est de savoir si le NaPSS peut être encapsulé malgré la présence d'un groupe sulfonate très hydrophile et donc incompatible avec le caractère hydrophobe de la cavité interne de la β -cyclodextrine. Certes, l'inclusion de petites molécules porteuses de groupes sulfonates a été démontrée (figure 4a-4c) [5-7] mais elle ne s'effectue apparemment pas par le côté du sulfonate ; par contre, avec des molécules telles que celle représentée sur la figure 4d, l'inclusion des groupes sulfonates est démontrée (figure 4e) [8]. Ces derniers sortent toutefois de la cavité et interagissent avec les groupes CH_2OH de la β -cyclodextrine [8].

Dans l'introduction, nous avons évoqué les différences et les difficultés qui apparaissent dans l'étude des interactions entre la cyclodextrine et un polymère. Ce cas de figure appliqué au NaPSS se distingue donc des précédents. Plusieurs méthodes d'investigation ont été choisies pour répondre le plus complètement possible à ce problème, d'abord le dichroïsme circulaire, puis la spectroscopie ^1H RMN, la fluorimétrie, et enfin la viscosimétrie. Nous terminerons par un schéma explicitant les différentes interactions en présence que nous avons pu établir.

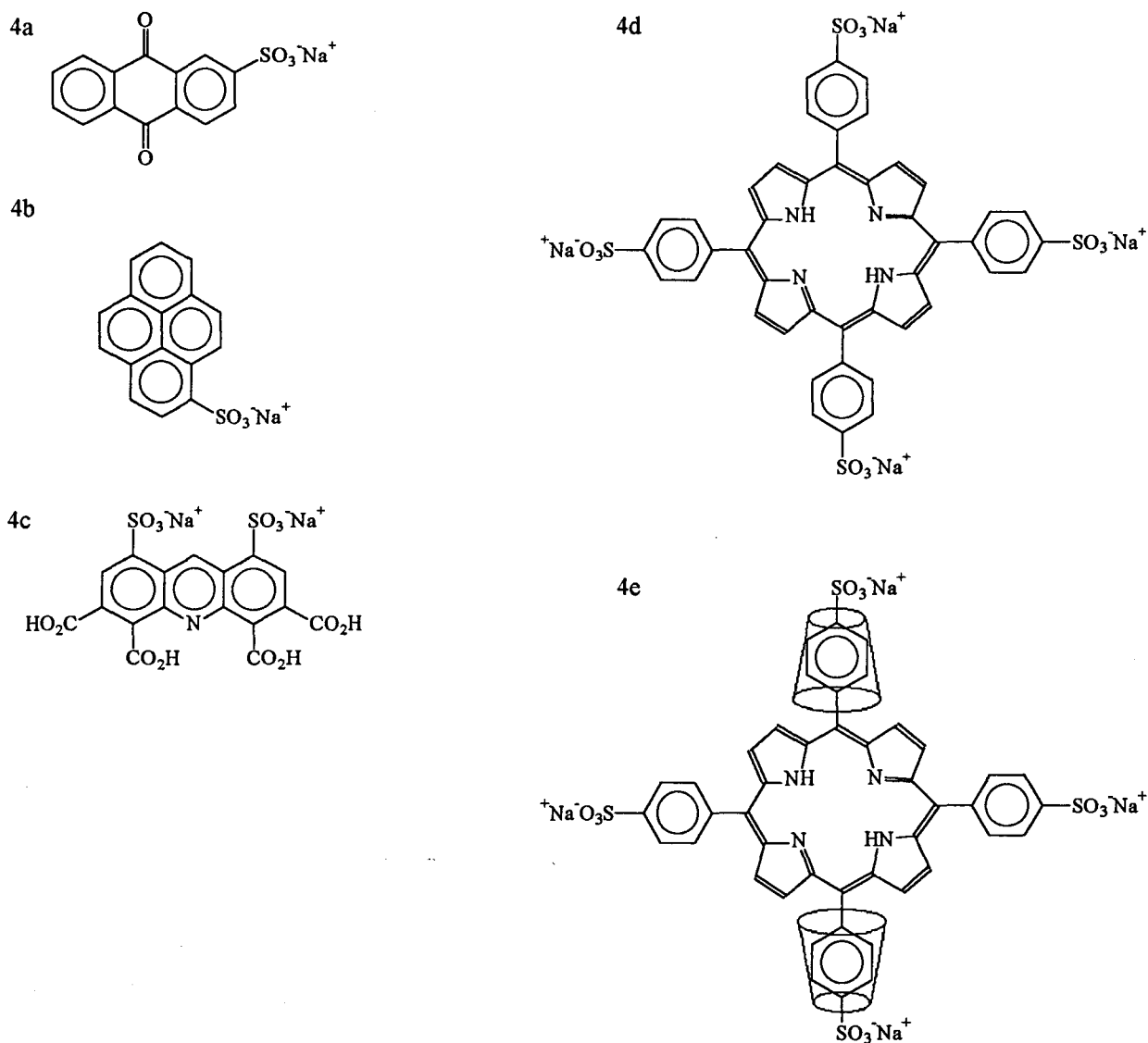


Figure 4 : Exemples de molécules porteuses de groupes sulfonates encapsulées par la β -cyclodextrine.

2.1. Etude dichroïque

2.1.1. Rappels théoriques

Un certain nombre de grandeurs macroscopiques ont été définies pour exprimer l'activité optique et l'absorption différentielle dichroïque d'une substance optiquement active. Ces grandeurs sont par exemple le pouvoir rotatoire moléculaire (en dispersion optique rotatoire) et l'ellipticité molaire (en dichroïsme circulaire).

Lorsqu'une molécule optiquement active possède un chromophore, les deux composantes gauche et droite circulairement polarisées d'une onde électromagnétique linéairement polarisée sont différemment absorbées, c'est-à-dire $\epsilon_D \neq \epsilon_G$. On observe alors l'apparition de dichroïsme circulaire. La lumière devient elliptiquement polarisée.

L'appareil utilisé mesure un angle de rotation ψ appelé ellipticité qui est directement associé aux indices d'absorption des lumières circulairement polarisées gauche et droite K_G et K_D . Ceux-ci sont eux-mêmes reliés aux coefficients d'extinction molaire ϵ_G et ϵ_D .

On pose deux grandeurs ψ et $[\theta]$, appelées respectivement ellipticité et ellipticité molaire, et qui sont définies par les relations suivantes :

$$\psi = \frac{\pi}{\lambda} (K_G - K_D) l$$

où ψ est exprimée en radians, l est l'épaisseur de la cuve, λ est la longueur d'onde à laquelle on mesure ψ , l et λ sont à exprimer dans les mêmes unités, et K_G et K_D sont respectivement les indices d'absorption des lumières circulairement polarisées gauche et droite.

$$[\theta] = \frac{\Psi M}{100lc} = 3300 (\epsilon_G - \epsilon_D)$$

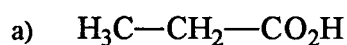
où $[\theta]$ est exprimée en $\text{deg.cm}^2.\text{décimol}^{-1}$ (unité consacrée par l'usage), l est l'épaisseur de la cuve exprimée en décimètre, c est la concentration du soluté exprimée en g/ml , ψ est l'ellipticité exprimée en degré, M est la masse moléculaire du soluté ou la masse moyenne d'un motif exprimée en g , et $\Delta\epsilon = \epsilon_G - \epsilon_D$ est l'absorption différentielle dichroïque exprimée en $\text{l.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$.

Les courbes dichroïques représentent les variations de $\Delta\epsilon$, ψ , ou $[\theta]$ en fonction de la longueur d'onde d'absorption λ caractéristique du chromophore. On obtient des courbes de même allure que les courbes d'absorption.

Avant de faire l'étude sur le NaPSS, nous allons regarder ce qui se passe avec des petites molécules.

2.1.2. Etude sur quelques petites molécules

A part l'indométhacine, les autres petites molécules étudiées (phénol, acide benzoïque, acide propionique) ne sont pas optiquement actives (figure 5). Mais il faut savoir qu'on peut induire de l'activité optique en ajoutant de la β -cyclodextrine (optiquement active) en excès, et si celle-ci crée des interactions suffisamment importantes avec ces molécules (troisième partie).



d)

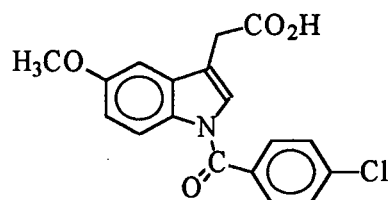
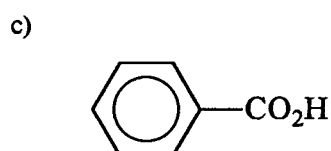


Figure 5 : Formules chimiques de a) : acide propanoïque, b) : phénol, c) : acide benzoïque, et d) : indométhacine.

On enregistre le spectre de dichroïsme d'un mélange (β CD + petite molécule). On calcule ensuite la différence entre le spectre du mélange et les spectres des composés seuls. Cette différence correspond à de l'induction d'activité optique. On note R le rapport molaire β CD/S, où S est le substrat.

Les figures 6 à 9 représentent ces spectres de différence pour chacune des petites molécules considérées.

❶ Dans le cas de l'acide propionique ($[S]=8,8 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, $[\beta\text{CD}]=8,3 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, et $R=9,4$), le spectre de différence est représenté sur la figure 6.

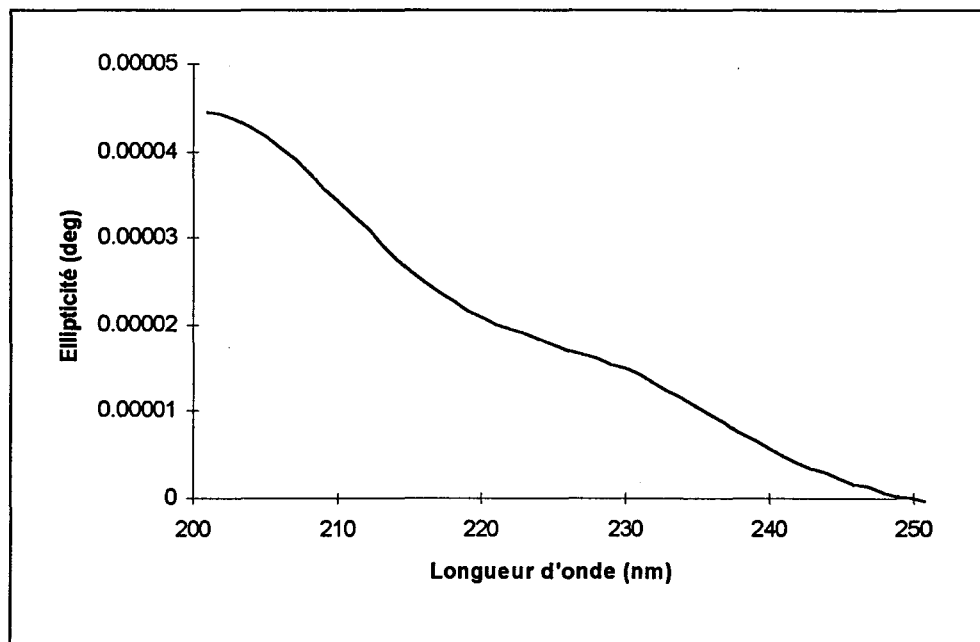


Figure 6 : Spectre de dichroïsme circulaire du mélange (βCD + acide propionique) avec $R=9,4$.

❷ Dans le cas de l'indométhacine ($[S]=1,1 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, $[\beta\text{CD}]=1,7 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, et $R=15,4$), le spectre de différence est représenté sur la figure 7.

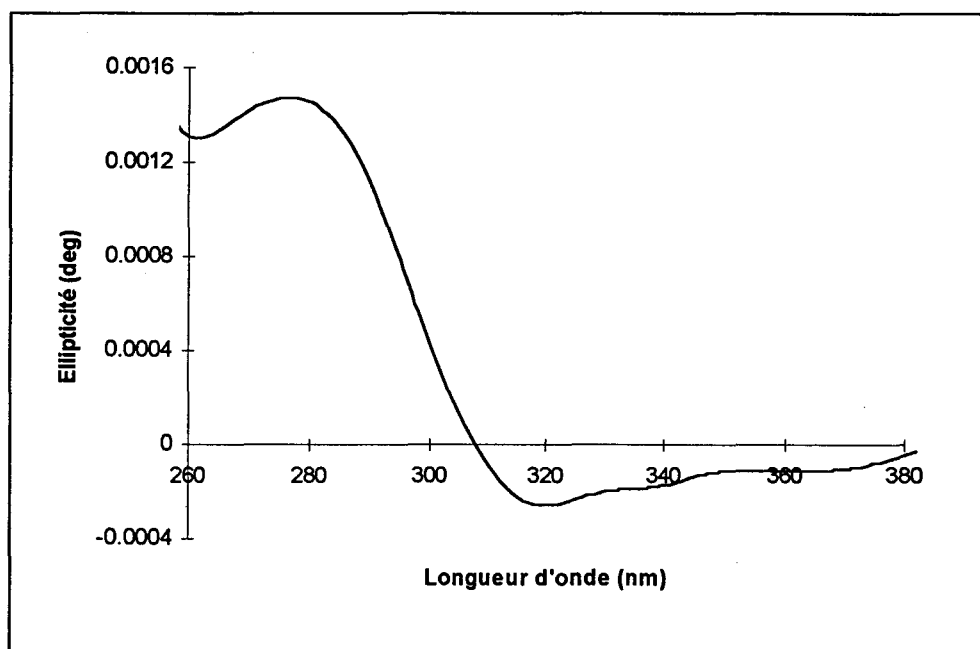


Figure 7 : Spectre de dichroïsme circulaire du mélange (βCD + indométhacine) avec $R=15,4$.

③ Dans le cas de l'acide benzoïque ($[S]=9,6 \cdot 10^{-4}$ M, $[\beta CD]=1,8 \cdot 10^{-3}$ M, et $R=1,9$), le spectre de différence est représenté sur la figure 8.

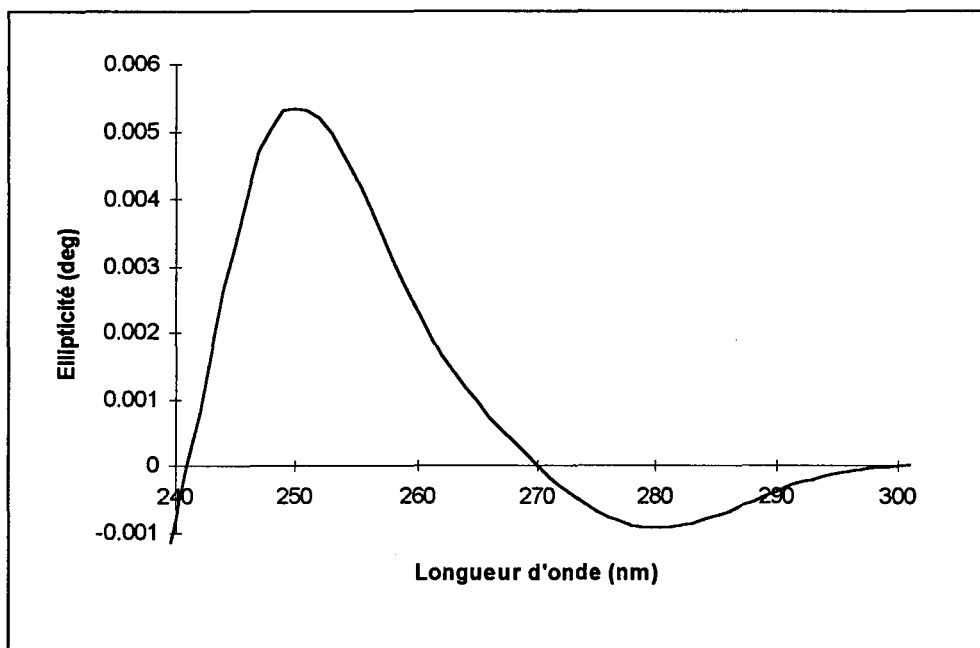


Figure 8 : Spectre de dichroïsme circulaire du mélange (βCD + acide benzoïque) avec $R=1,9$.

④ Dans le cas du phénol ($[S]=4,6 \cdot 10^{-4}$ M, $[\beta CD]=1,8 \cdot 10^{-3}$ M, et $R=3,9$), le spectre de différence est représenté sur la figure 9.

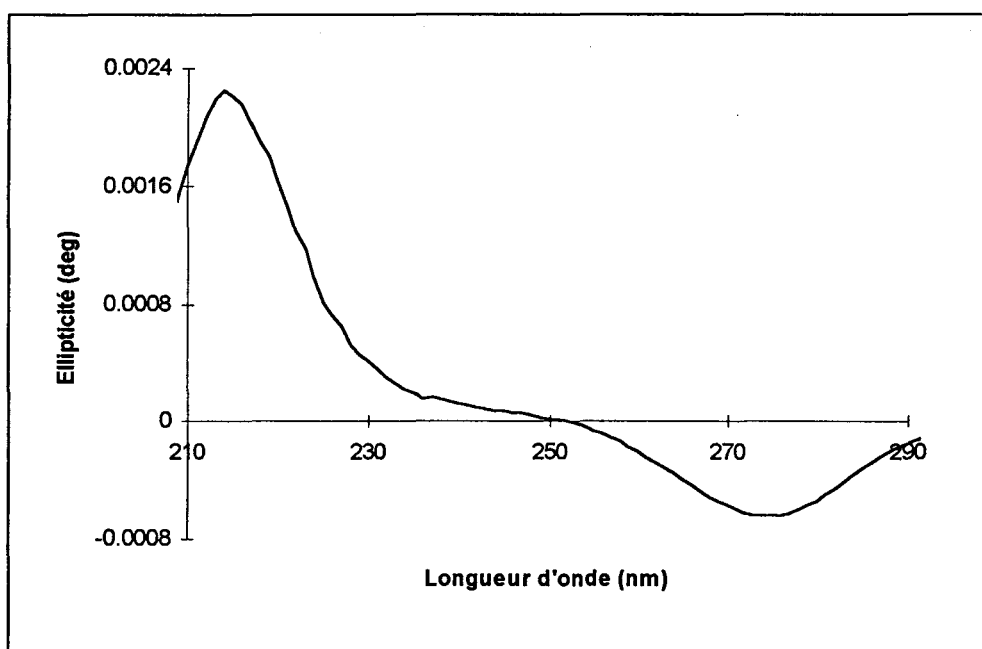


Figure 9 : Spectre de dichroïsme circulaire du mélange (βCD + phénol) avec $R=3,9$.

Interprétation :

❶ Dans le cas du mélange (β CD + acide propionique), l'ellipticité est très faible, comparée aux autres cas, et correspond probablement à du bruit de fond ou à des erreurs générées lors des opérations de différence. Les deux pics qui apparaissent sur ce spectre (un pic vers 200 nm et un pic vers 225 nm) correspondent néanmoins en UV à l'absorption de la partie acide de la molécule.

❷ Dans le cas du mélange (β CD + indométhacine), deux pics apparaissent sur ce spectre : un pic vers 280 nm et un pic vers 320 nm. On peut donc en conclure que l'indométhacine est encapsulée par la β -cyclodextrine.

❸ Dans le cas du mélange (β CD + acide benzoïque), deux pics apparaissent sur ce spectre : un pic vers 250 nm et un pic vers 280 nm. Ces deux pics correspondent en UV à l'absorption de la partie acide et aromatique de la molécule. On peut donc en conclure que l'acide benzoïque est encapsulé par la β -cyclodextrine, le groupe acide étant inclus dans la cavité et formant des liaisons hydrogène avec les groupes hydroxyles de la β -cyclodextrine.

❹ Dans le cas du mélange (β CD + phénol), deux pics apparaissent sur ce spectre : un pic vers 215 nm et un pic vers 275 nm. Ces deux pics correspondent en UV à l'absorption de la partie alcool et aromatique de la molécule. On peut donc en conclure que le phénol est encapsulé par la β -cyclodextrine, le groupe alcool étant inclus dans la cavité et formant des liaisons hydrogène avec les groupes hydroxyles de la β -cyclodextrine.

2.1.3. Application au NaPSS

Le NaPSS n'étant pas optiquement actif, on n'observe pas de dichroïsme circulaire intrinsèque. Mais en ajoutant de la β -cyclodextrine qui est optiquement active, et si celle-ci crée des interactions suffisamment importantes avec le polymère, on peut induire de l'activité optique au sein du polymère. L'exemple des petites molécules étudiées ci-dessus nous l'a bien montré.

On note R le rapport molaire β CD/NaPSS.

Avec les conditions $[S]=4,5 \cdot 10^{-4}$ M, $[\beta\text{CD}]=1,8 \cdot 10^{-3}$ M, et $R=4$, le spectre de différence est représenté sur la figure 10.

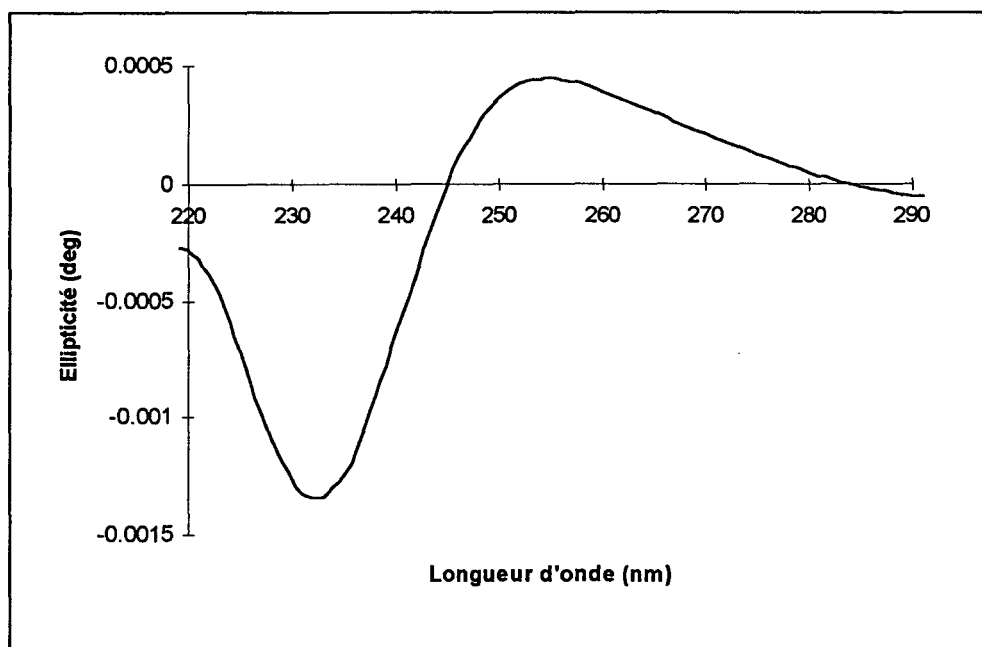


Figure 10 : Courbe de dichroïsme circulaire du mélange NaPSS + β CD de rapport molaire $R=4$.

On constate l'apparition de deux pics, l'un vers 235 nm correspondant en UV au groupe sulfonate, et l'autre vers 255 nm correspondant au groupe aromatique. On en déduit donc l'inclusion (ou au moins une forte interaction) des chaînes latérales de NaPSS par les cavités de la β -cyclodextrine.

Pour confirmer ce résultat, la spectroscopie ^1H RMN est une excellente méthode pour démontrer l'inclusion ou la non inclusion.

2.2. Etude ^1H RMN

2.2.1. Rappels

On rappelle que la β -cyclodextrine est une molécule comprenant six protons caractéristiques. La spectroscopie RMN du Proton est capable de bien les différencier sauf les protons H_5 et H_6 dont les pics sont enchevêtrés. Les déplacements chimiques dans D_2O de ces six protons sont les suivants :

● Les protons H_1 ($\delta=5,047$ ppm), H_2 ($\delta=3,626$ ppm), et H_4 ($\delta=3,561$ ppm) sont situés à l'extérieur de la cavité.

● Les protons H_3 ($\delta=3,944$ ppm), H_5 ($\delta=3,829$ ppm), et H_6 ($\delta=3,858$ ppm) sont situés à l'intérieur de la cavité.

La figure 11 montre un spectre 1H RMN effectué sur un spectromètre à 300 MHz de la β -cyclodextrine dans le D_2O . La concentration en β CD est de 10^{-2} M.

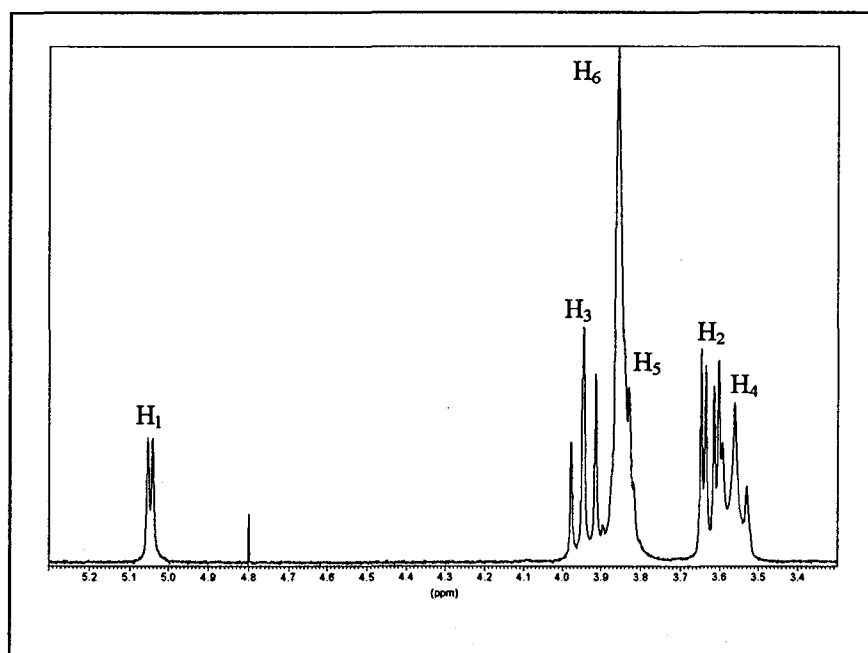


Figure 11 : Spectre 1H RMN de la β -cyclodextrine dans D_2O .

Quand il y a inclusion d'une molécule, les protons H_3 et H_5 de la cavité ont leur déplacement chimique très affecté, alors que ce n'est pas le cas pour les autres protons. Par contre, si une association a lieu à l'extérieur de la cavité, ce sont les protons H_1 , H_2 , et H_4 qui seront touchés.

Expérimentalement, un *tube RMN* contiendra la β -cyclodextrine et le substrat si possible en excès dans 0,6 ml de D_2O . On note $\Delta\delta = \delta(\beta CD \text{ seule}) - \delta(\beta CD \text{ complexée})$, et $R = [\beta CD]/[S]$, où S est le substrat. La concentration en β CD est fixée à 10^{-2} M, ce qui nous permet de bien visualiser les différents pics. Pour les molécules facilement complexables, un rapport R trop faible peut rendre difficile la détermination des $\Delta\delta$, car les différentes raies sont enchevêtrées.

De même, dans le cas d'un substrat polymère, une concentration trop importante en polymère rend très visqueuse la solution et le spectre voit ses raies élargies.

L'étude sera réalisée à la fois sur nos polymères et sur des petites molécules dont l'inclusion ou la non inclusion est bien connue dans la littérature, à titre de comparaison.

2.2.2. Etude sur quelques petites molécules bien connues

La littérature indique que l'acide propionique n'est pas encapsulé par la β -cyclodextrine, tandis que le phénol et l'acide benzoïque le sont (troisième partie). On rappelle que R est le rapport molaire β CD/S, où S est le substrat.

- ❶ Pour l'acide propionique, les résultats de $\Delta\delta$ sont rassemblés dans le tableau 3.

| Proton | $\Delta\delta$ (ppm) | |
|----------------|----------------------|--------|
| | R=0,20 | R=0,40 |
| H ₁ | 0.01 | 0.00 |
| H ₂ | 0.01 | 0.00 |
| H ₃ | 0.025 | 0.01 |
| H ₄ | 0.01 | 0.00 |
| H ₅ | 0.03 | 0.01 |
| H ₆ | 0.02 | 0.01 |

Tableau 3 : Variation des déplacements chimiques des pics des protons de la β -cyclodextrine en présence d'acide propionique.

- ❷ Pour le phénol, les résultats de $\Delta\delta$ sont rassemblés dans le tableau 4.

| Proton | $\Delta\delta$ (ppm) | |
|----------------|----------------------|--------|
| | R=0,20 | R=0,40 |
| H ₁ | 0.03 | 0.01 |
| H ₂ | 0.04 | 0.01 |
| H ₃ | 0.08 | 0.04 |
| H ₄ | 0.01 | 0.00 |
| H ₅ | 0.23 | 0.12 |
| H ₆ | 0.13 | 0.05 |

Tableau 4 : Variation des déplacements chimiques des pics des protons de la β -cyclodextrine en présence de phénol.

③ Pour l'acide benzoïque, les résultats de $\Delta\delta$ sont rassemblés dans le tableau 5.

| Proton | $\Delta\delta$ (ppm) | |
|----------------|----------------------|--------|
| | R=0,20 | R=0,40 |
| H ₁ | 0.04 | 0.025 |
| H ₂ | 0.03 | 0,02 |
| H ₃ | 0.18 | 0,10 |
| H ₄ | 0.025 | 0,015 |
| H ₅ | 0.21 | 0,115 |
| H ₆ | 0.035 | 0,015 |

Tableau 5 : Variation des déplacements chimiques des pics des protons de la β -cyclodextrine en présence d'acide benzoïque.

La figure 12 montre, par exemple, la variation des déplacements chimiques des pics des protons de la β -cyclodextrine en présence d'acide benzoïque avec un rapport molaire R de 0,2.

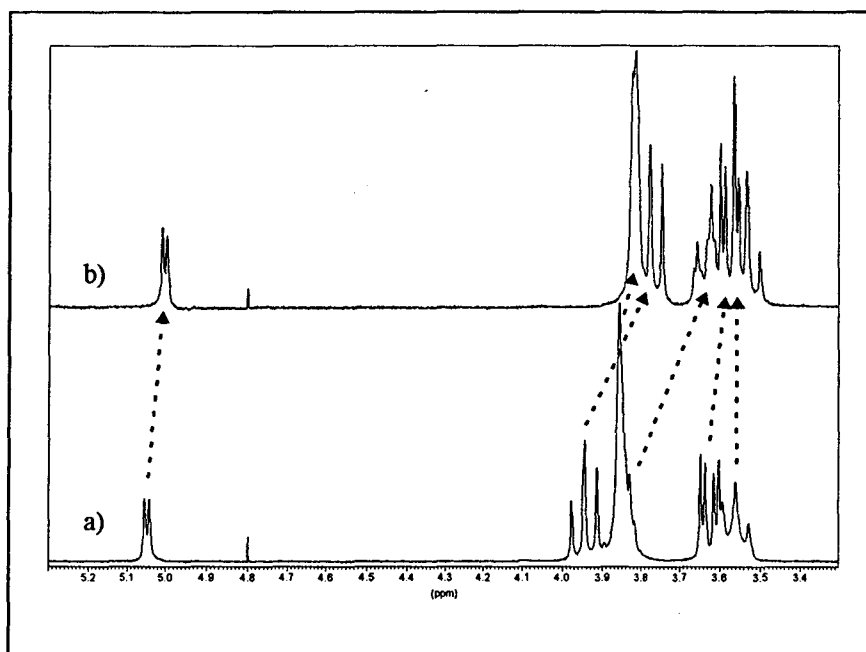


Figure 12 : Spectres ^1H RMN de a) : β CD seule et b) : β CD + acide benzoïque avec R=0,2.

Interprétation :

❶ Dans le cas de l'acide propionique, on ne constate aucune variation appréciable du déplacement chimique. Il n'y a donc pas d'inclusion par la β -cyclodextrine.

② Dans le cas du phénol, on constate une forte variation du déplacement chimique du proton H₅, suggérant une inclusion par le petit côté de la β-cyclodextrine.

③ Dans le cas de l'acide benzoïque, on observe une forte variation du déplacement chimique des protons H₃ et H₅, démontrant ainsi l'inclusion de l'acide benzoïque par la β-cyclodextrine.

2.2.3. Application au NaPSS

Les spectres RMN du Proton de plusieurs mélanges βCD + NaPSS ont été représentés sur la figure 13. On note R le rapport molaire βCD/NaPSS.

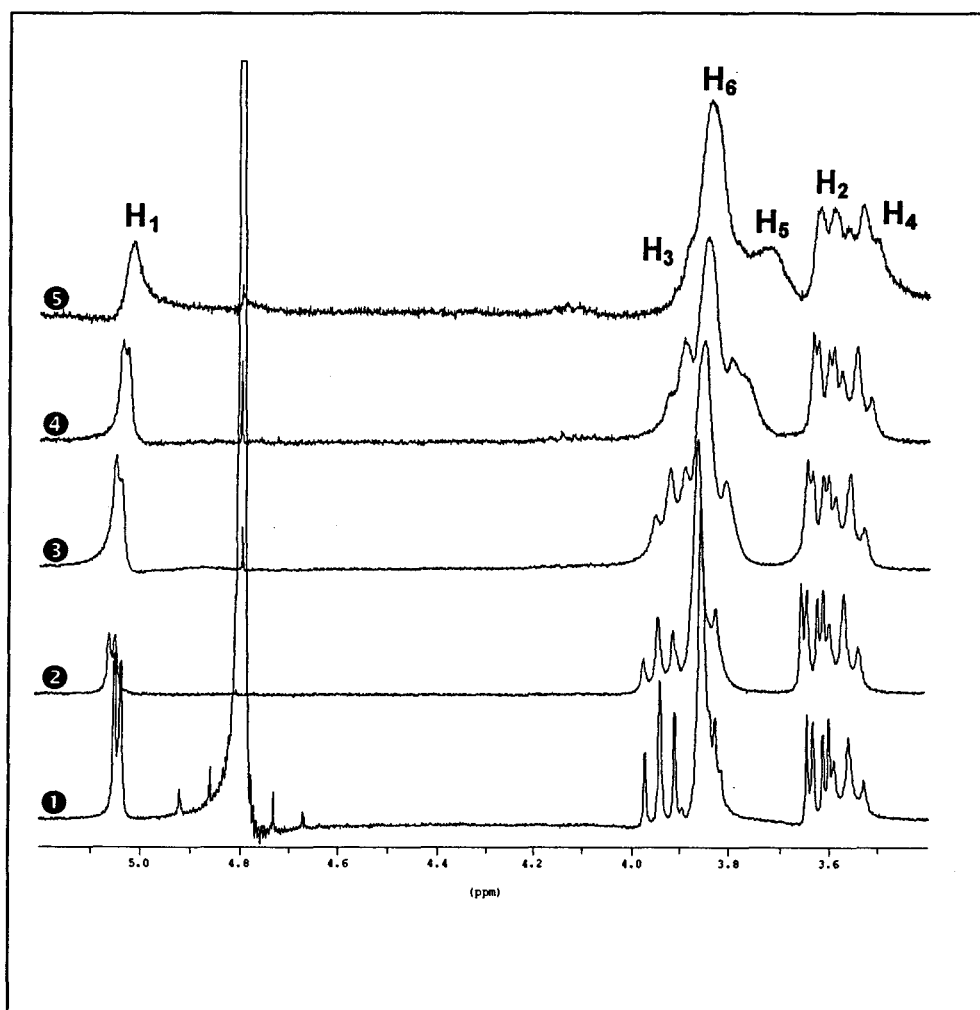


Figure 13 : Région (3.4-5.2 ppm) des spectres RMN du Proton de la β-cyclodextrine (1.0×10^{-2} M) et de NaPSS de concentration croissante dans D₂O. ① 0 (β-cyclodextrin seule), ② 6.5×10^{-3} M, ③ 2.9×10^{-2} M, ④ 5.2×10^{-2} M, ⑤ 1.0×10^{-1} M de NaPSS.

Un agrandissement de la zone [3,7-4,0 ppm] est représenté sur la figure 14.

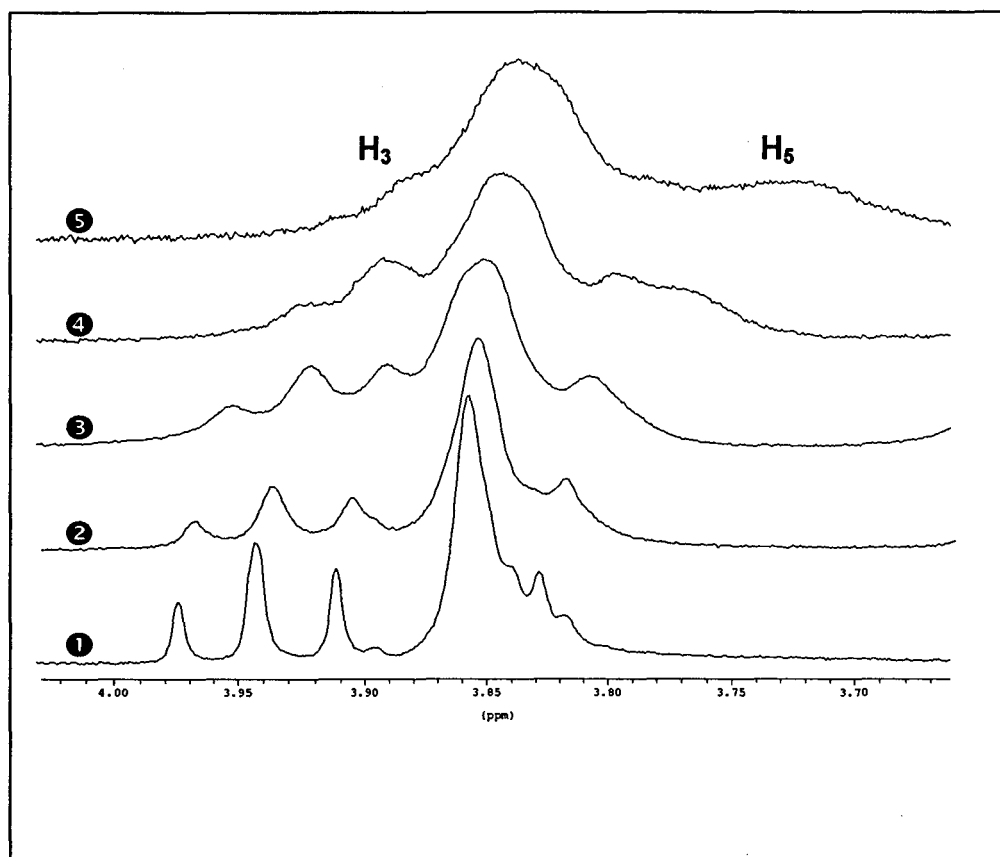


Figure 14 : Agrandissement de la zone où sortent les protons internes H_3 et H_5 [3,7-4,0 ppm].

Pour des concentrations en polymère supérieures à 10^{-1} M, les bandes deviennent trop larges et empêchent la détermination exacte des déplacements chimiques.

Le tableau 6 regroupe les différentes variations des déplacements chimiques des protons de la β -cyclodextrine pour diverses concentrations de polymère.

| Proton | $\Delta\delta$ (ppm) | | | | | |
|--------|----------------------|--------|--------|--------|---------|--------|
| | R=0,10 | R=0,19 | R=0,25 | R=0,34 | R=0,455 | R=1,54 |
| H_1 | 0.03 | 0.03 | 0.02 | 0.01 | 0.01 | 0.00 |
| H_2 | 0.03 | 0.02 | 0.02 | 0.01 | 0.01 | 0.00 |
| H_3 | 0.12 | 0.08 | 0.08 | 0.05 | 0.04 | 0.02 |
| H_4 | 0.03 | 0.03 | 0.02 | 0.02 | 0.01 | 0.00 |
| H_5 | 0.11 | 0.09 | 0.08 | 0.05 | 0.04 | 0.02 |
| H_6 | 0.03 | 0.02 | 0.02 | 0.01 | 0.01 | 0.01 |

Tableau 6 : Variations des déplacements chimiques des protons de la β -cyclodextrine en présence de NaPSS.

On constate que plus la concentration de NaPSS est importante, plus les pics des protons H₃ et H₅ sont déplacés vers les champs élevés, alors que les pics des autres protons sont peu affectés. On voit bien, notamment sur la figure 14, H₃ qui vient progressivement se confondre avec H₆ et H₅ qui se démarque de H₆. On peut donc confirmer l'encapsulation de NaPSS par la β -cyclodextrine.

Bien que les groupes sulfonates chargés soient très hydrophiles, l'encapsulation des groupes benzènesulfonate par les cavités hydrophobes des molécules de β -cyclodextrine a donc lieu. Ces résultats vont dans le sens de ceux donnés dans la littérature sur des systèmes non polymères analogues [8].

Un spectre RMN 2D NOESY (Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy) a été réalisé afin de confirmer encore l'encapsulation (figure 15). L'objectif des expériences de corrélation dipolaire à deux dimensions est de mettre en valeur la proximité de certains noyaux dans l'espace (2 à 5 Å). Le résultat de ce type d'expériences est une carte 2D dont les taches de corrélation (pics hors diagonaux) proviennent de l'effet Overhauser entre deux noyaux proches dans l'espace. Cette expérience permet de déterminer la structure de grosses molécules telles que les protéines [9].

Les taches de corrélation entre les pics des protons internes de la β -cyclodextrine (H₃ et H₅) et les pics des protons aromatiques de NaPSS traduisent une interaction dipolaire, donc une proximité spatiale entre les spins considérés. L'inclusion des chaînes latérales de NaPSS par la β -cyclodextrine est donc parfaitement établie.

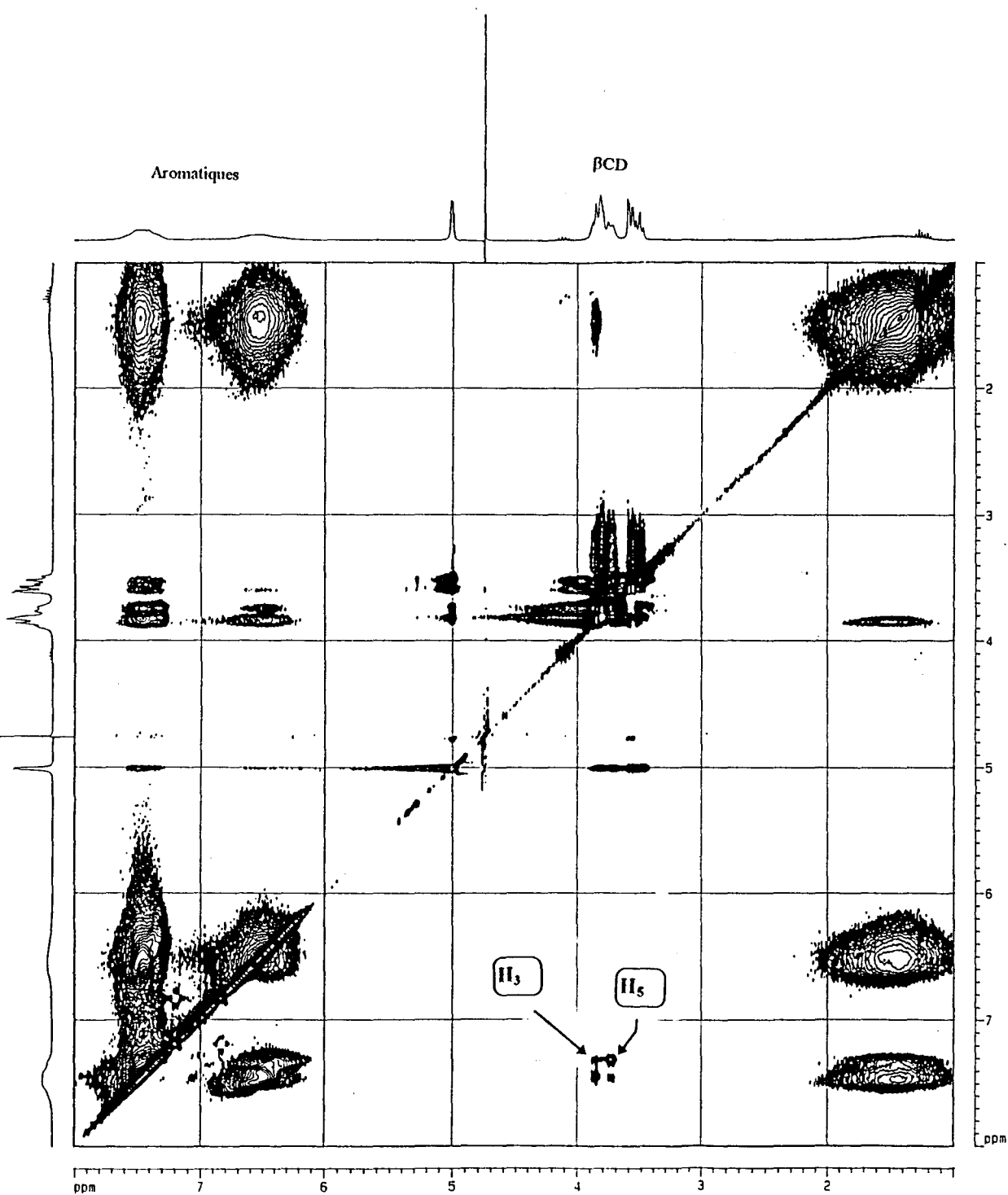


Figure 15 : Spectre RMN 2D NOESY du complexe βCD-NaPSS avec R=0,10.

Le temps de mélange est de de 0,2s.

2.3. Etude fluorimétrique

Une étude de variation de la polarité a été menée en utilisant le pyrène comme sonde fluorescente. Comme nous l'avons vu dans la deuxième partie, ce dernier possède des bandes de vibration dans le spectre de fluorescence de la partie monomère, qui dépendent de la polarité du solvant ou de l'environnement local dans lequel le pyrène se situe. En particulier, le rapport d'intensité de fluorescence I_3/I_1 est utilisé comme une indication de la polarité de l'environnement du pyrène. Lorsque l'environnement est polaire, le rapport I_3/I_1 est en général inférieur à 1, tandis qu'il est supérieur à 1 dans un environnement apolaire. Le rapport I_E/I_1 est relatif au taux d'excimères présents dans le milieu.

Le pyrène se dissout dans les zones hydrophobes. Ici, puisque les chaînes de polymère sont relativement étendues, le pyrène se placera a priori à l'interface polymère-eau, dans l'environnement des groupes aromatiques de NaPSS. Il est donc a priori suffisamment accessible par la β -cyclodextrine, c'est ce qu'on va vérifier par cette étude.

Afin de mieux comprendre les interactions entre NaPSS et la β -cyclodextrine, on va effectuer une étude fluorimétrique en présence de glucose, motif de base de la β -cyclodextrine. Le glucose n'est pas une molécule cage, et n'est donc pas capable d'encapsuler des molécules ou parties de molécule. En milieu aqueux, le glucose se trouve sous deux formes : une forme cyclique α (70 %), et une forme ouverte (30 %).

La concentration en polymère est de $2,0 \cdot 10^{-4}$ M. La longueur d'onde d'excitation est de 335 nm. On rappelle que $I_1=374$ nm et $I_3=385$ nm. Les tableaux 7 et 8 donnent respectivement les valeurs des différentes intensités de fluorescence caractéristiques du pyrène solubilisé dans une solution de NaPSS à différentes concentrations en glucose et en β -cyclodextrine.

| [Glu] (mol.l ⁻¹) | R/7 | I ₁ | I ₃ | I _E | I ₃ /I ₁ | I _E /I ₁ |
|---------------------------------|-------|----------------|----------------|----------------|--------------------------------|--------------------------------|
| 0 | 0 | 170 | 129 | 166.5 | 0.76 | 0.98 |
| $7,9 \cdot 10^{-3}$ | 5.64 | 177 | 133 | 168 | 0.75 | 0.95 |
| $4,0 \cdot 10^{-2}$ | 28.57 | 179 | 134 | 173.5 | 0.75 | 0.97 |

Tableau 7 : Valeurs des intensités de fluorescence du pyrène solubilisé dans une solution de NaPSS à différentes concentrations de glucose. On note $R=[\text{glucose}]/[\text{NaPSS}]$.

| [β CD] (mol.l ⁻¹) | R | I ₁ | I ₃ | I _E | I ₃ /I ₁ | I _E /I ₁ |
|---|------|----------------|----------------|----------------|--------------------------------|--------------------------------|
| 0 | 0 | 155 | 118 | 152 | 0.76 | 0.98 |
| 2,5 10 ⁻⁴ | 1.25 | 166 | 127 | 154 | 0.765 | 0.93 |
| 5,0 10 ⁻⁴ | 2.50 | 168 | 129 | 152 | 0.77 | 0.905 |
| 1,0 10 ⁻³ | 5.00 | 181 | 140 | 149 | 0.77 | 0.82 |
| 1,8 10 ⁻³ | 9.00 | 196 | 155 | 146 | 0.79 | 0.745 |
| 4,3 10 ⁻³ | 21.5 | 289 | 262 | 143 | 0.91 | 0.495 |

Tableau 8 : Valeurs des intensités de fluorescence du pyrène solubilisé dans une solution de NaPSS à différentes concentrations de β -cyclodextrine. On note $R=[\beta\text{CD}]/[\text{NaPSS}]$.

La figure 16 montre l'évolution des rapports d'intensité I_3/I_1 et I_E/I_1 en fonction du rapport molaire R (cas de la β -cyclodextrine) ou R/7 (cas du glucose).

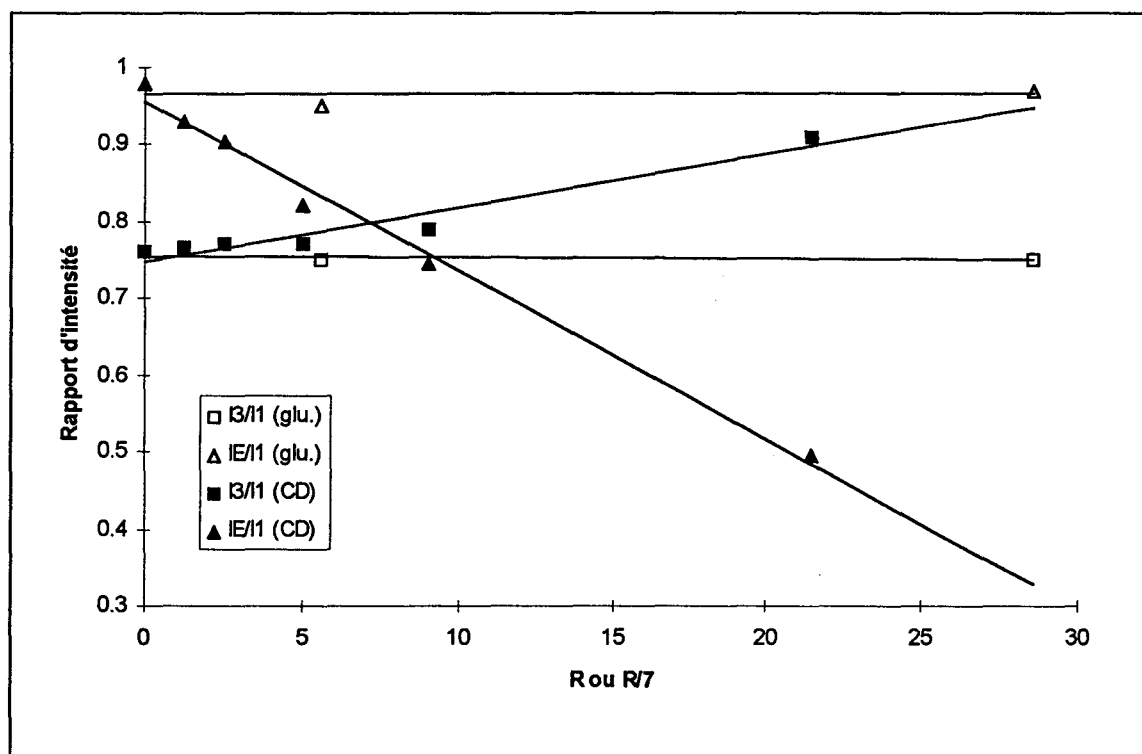


Figure 16 : Evolution des rapports intensités de fluorescence I_3/I_1 et I_E/I_1 du pyrène solubilisé dans une solution de NaPSS en fonction du rapport molaire R ou R/7.

CD= β CD, glu.=glucose.

■ Le milieu est initialement polaire ($I_3/I_1 < 1$), ce qui montre bien que le pyrène se trouve en contact avec l'eau dans l'environnement des groupes aromatiques des chaînes étendues de NaPSS.

■ En présence de glucose, la polarité et le taux d'excimères restent stables : I_3/I_1 et I_E/I_1 ne varient pas. Ce qui montre l'absence d'influence du glucose.

■ En présence de β -cyclodextrine, la polarité et le taux d'excimères diminuent : I_3/I_1 augmente et I_E/I_1 diminue. Ce qui prouve l'encapsulation du pyrène ; en effet, le pyrène se trouve inclus dans la cavité de la β -cyclodextrine donc dans un environnement figé et hydrophobe (peu polaire) et ne peut plus former d'excimère (il n'existe pas de complexe β CD:Pyrène 1:2). En ce sens, les résultats rejoignent ceux de Xu [10]. L'encapsulation du pyrène se situant à proximité des groupes aromatiques de NaPSS montre l'accessibilité de ceux-ci par la β -cyclodextrine.

2.4. Analyse thermogravimétrique (ATG)

L'analyse par ATG peut également, si la dégradation de l'un ne masque pas celle de l'autre sur le diagramme thermogravimétrique, démontrer la formation d'un complexe d'inclusion entre NaPSS et la β CD. Pour ce faire, on réalise les courbes d'analyse thermogravimétrique de : I. NaPSS, II. β CD, III. Mélange physique β CD + NaPSS, et IV. Complexe d'inclusion préparé par lyophilisation (représentées sur la figure 17).

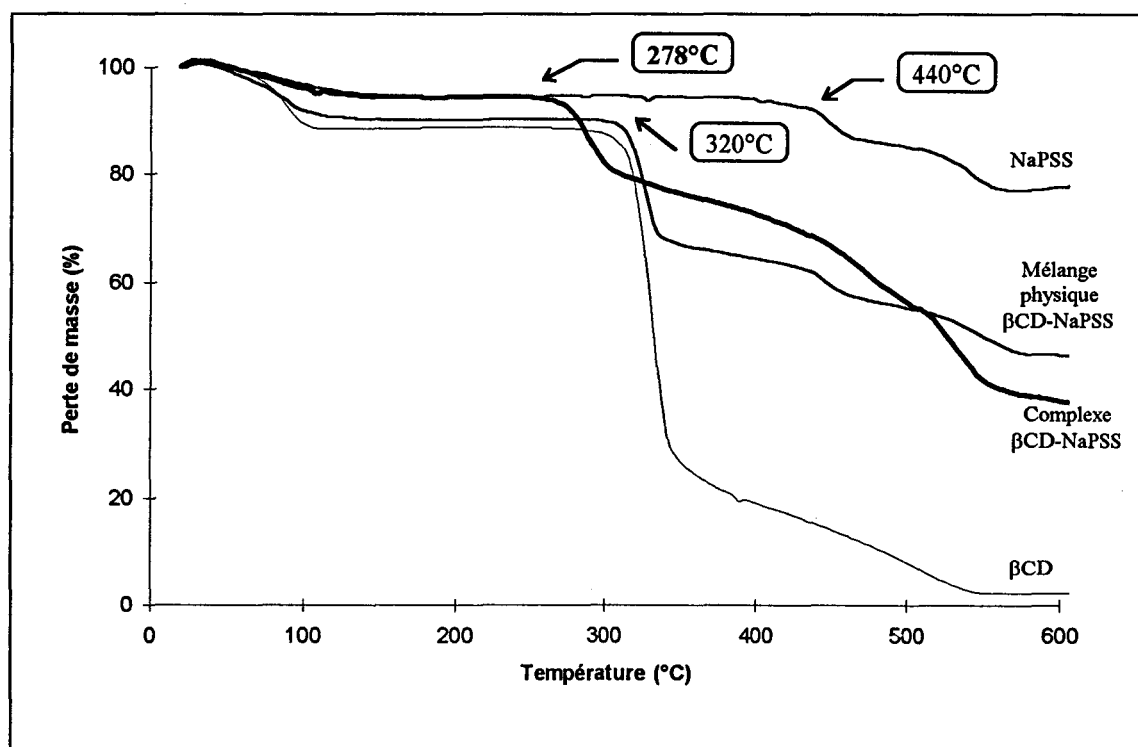


Figure 17 : Courbes d'analyse thermogravimétrique de : I. NaPSS, II. β CD, III. Mélange physique, et IV. Complexe d'inclusion.

On constate que la température de début de décomposition de la β CD et celle du mélange physique (simple mélange) sont similaires (320°C), alors que celle du complexe d'inclusion est nettement plus basse (278°C). On peut donc voir qu'il existe des interactions β CD-NaPSS dans le lyophilisat qui n'existent pas dans le simple mélange. Ceci peut être considéré comme la preuve de la forte interaction entre le NaPSS et la β -cyclodextrine dont on a prouvé qu'elle se fait sous la forme d'un complexe d'inclusion.

2.5. Etude viscosimétrique

On effectue une étude viscosimétrique, en présence de β -cyclodextrine et de glucose, afin d'estimer la variation du volume hydrodynamique des chaînes. Le tableau 9 regroupe les valeurs de viscosité réduite du NaPSS à différentes concentrations en glucose et en β -cyclodextrine. La concentration utilisée en NaPSS est de 20,5 mg/ 100 ml, soit 10^{-3} mol/l.

| Glucose | | | β -Cyclodextrine | | |
|---------------------|------|------------------------------|------------------------|------|------------------------------|
| [Glu](mol/l) | R/7 | $\eta(\text{cm}^3/\text{g})$ | [β CD](mol/l) | R | $\eta(\text{cm}^3/\text{g})$ |
| 0 | 0 | 357 | 0 | 0 | 350 |
| $3.1 \cdot 10^{-3}$ | 0.44 | 333 | $4.1 \cdot 10^{-4}$ | 0.41 | 338 |
| $8.4 \cdot 10^{-3}$ | 1.20 | 301.5 | $1.0 \cdot 10^{-3}$ | 1.00 | 325 |
| $1.7 \cdot 10^{-2}$ | 2.43 | 289 | $1.9 \cdot 10^{-3}$ | 1.90 | 313 |
| $3.8 \cdot 10^{-2}$ | 5.43 | 280 | $3.3 \cdot 10^{-3}$ | 3.30 | 303 |
| | | | $4.9 \cdot 10^{-3}$ | 4.90 | 297 |

Tableau 9 : Valeurs de la viscosité réduite de NaPSS en fonction de la quantité de glucose ou de β -cyclodextrine ajoutée. $R=[\text{glucose}]/[\text{NaPSS}]$ ou $[\beta\text{CD}]/[\text{NaPSS}]$.

Les courbes $\eta = f(R/7)$ pour le glucose et $\eta = f(R)$ pour la β -cyclodextrine sont représentées sur la figure 18.

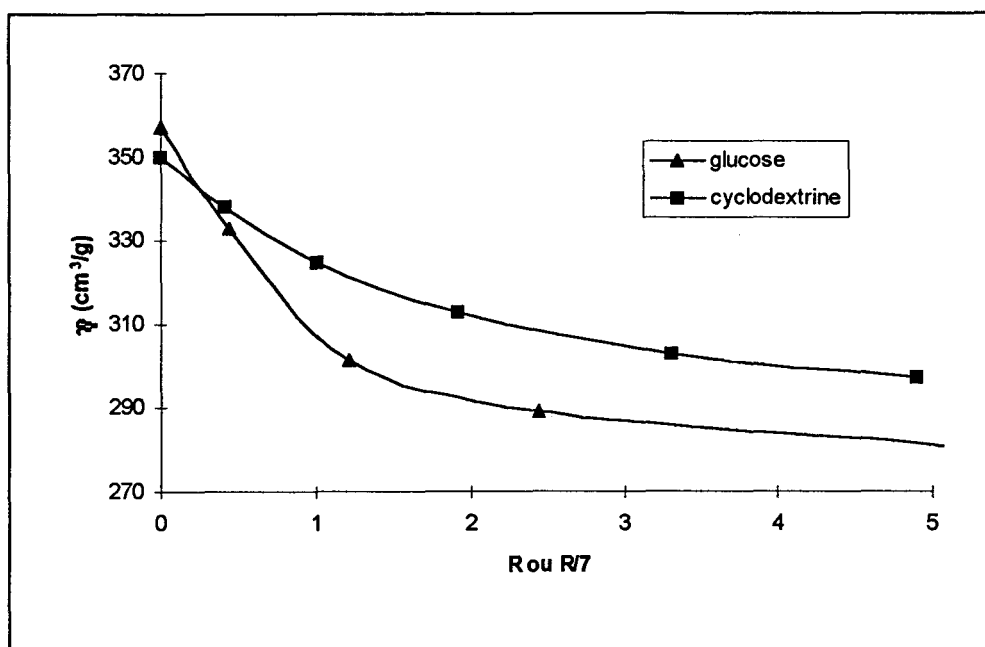


Figure 18 : Evolution de la viscosité réduite de NaPSS (20,5 mg/100 ml) en fonction de la concentration en glucose ou en β -cyclodextrine.

On constate que la viscosité diminue dans les deux cas. Ceci est a priori surprenant si l'on pose l'hypothèse qu'une encapsulation des groupes aromatiques devrait supprimer les interactions hydrophobes attractives et donc provoquer l'extension des chaînes et une augmentation de la viscosité. On observe le même comportement en présence de glucose qui n'a bien évidemment pas la propriété d'encapsulation. Il faut cependant rappeler que NaPSS présente une conformation étendue du fait des interactions répulsives entre les groupes sulfonates portés par les chaînes latérales. Une extension supplémentaire des chaînes de NaPSS est donc inenvisageable.

On peut supposer que les interactions glucose-NaPSS seraient plutôt dues à des liaisons hydrogène intramoléculaires qui induiraient un repliement des chaînes du polymère et la chute de viscosité. Si l'on accepte le fait que ces interactions ont également lieu avec les unités glucose de la β CD, on peut expliquer la baisse de viscosité observée de la même manière. Cependant, dans ce dernier cas, la baisse de viscosité est atténuée par l'inclusion des groupes benzéniques qui engendre une augmentation de la masse apparente et donc de la viscosité.

2.6. Schéma des interactions β CD-NaPSS

La figure 19 montre la nature des différentes interactions entre la β -cyclodextrine et le polymère NaPSS. Les liaisons en pointillés correspondent aux liaisons hydrogène.

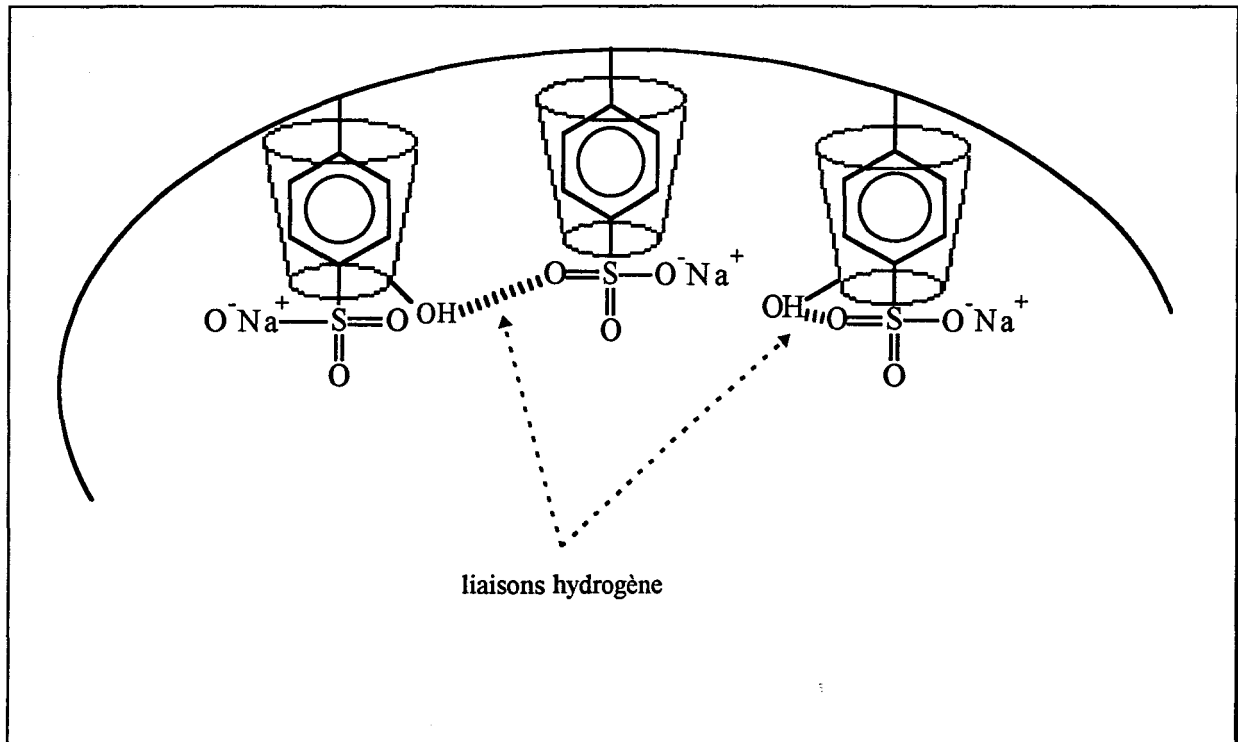


Figure 19 : Nature des différentes interactions du complexe NaPSS- β CD

(inclusion et liaisons hydrogène).

2.7. Détermination de la constante de stabilité K_f

Après avoir mis en évidence l'inclusion des chaînes latérales de NaPSS et la formation de liaisons hydrogène intramoléculaires, nous allons essayer d'estimer la valeur de la constante de formation du complexe d'inclusion. Pour ce faire, deux techniques ont été utilisées : la spectroscopie UV et la spectroscopie RMN du Proton. Le principe de ces méthodes a été largement développé au cours de la troisième partie et repose sur l'équation de Benesi-Hildebrand [11].

2.7.1. Détermination de K_f par spectroscopie UV

La constante de formation (ou de stabilité) du complexe a d'abord été calculée par spectroscopie UV. On rappelle que l'équation permettant la détermination de la constante K_f est la suivante :

$$\frac{K_d}{\Delta\epsilon} + \frac{[C_0] + [S_0]}{\Delta\epsilon} = \frac{[C_0][S_0]}{\Delta Abs}$$

où $K_d=1/K_f$ est la constante de dissociation du complexe d'inclusion, $[C_0]$ est la concentration totale en cyclodextrine, $[S_0]$ est la concentration totale en NaPSS, $\Delta\epsilon$ et ΔAbs sont respectivement la variation de coefficient d'extinction molaire et la variation d'absorbance du groupe benzyle de NaPSS lors de la complexation d'inclusion.

Dans notre étude, la concentration en NaPSS est fixée à $3,3 \times 10^{-4}$ M et l'absorbance initiale de la solution est de 0,2552 à $\lambda_{max}=261$ nm. Le tableau 10 rassemble les différentes valeurs de la variation d'absorbance à 261 nm quand on ajoute des quantités croissantes de β -cyclodextrine dans la solution aqueuse de NaPSS.

| R | Δabs |
|-------|--------------|
| 9.91 | 0.0027 |
| 14.45 | 0.0037 |
| 23.85 | 0.0060 |
| 30.21 | 0.0073 |

Tableau 10 : Variations de l'absorbance de NaPSS à $\lambda_{max}=261$ nm en fonction de $R=[\beta CD]/[NaPSS]$.

La valeur de K_f est obtenue en faisant le rapport pente sur ordonnée à l'origine de la droite obtenue en traçant $[NaPSS][\beta CD]/\Delta Abs$ en fonction de $([NaPSS] + [\beta CD])$ (figure 20).

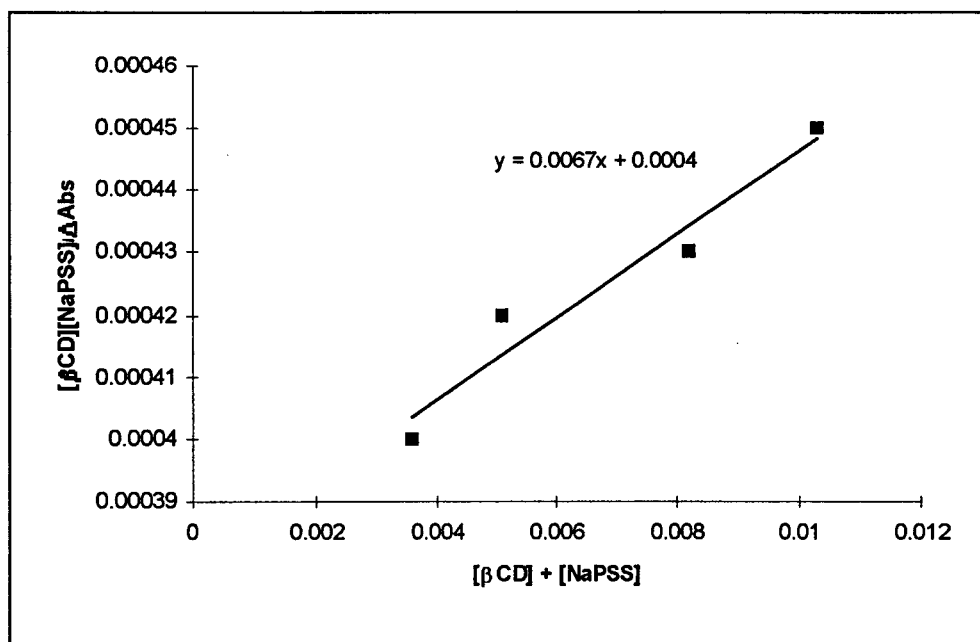


Figure 20 : Traitement graphique des données UV pour le calcul de la constante de formation du complexe d'inclusion par spectroscopie UV.

On trouve par cette méthode $K_f=16,75$.

2.7.2. Détermination de K_f par spectroscopie ^1H RMN

La constante de formation (ou de stabilité) du complexe a également été déterminée par spectroscopie RMN du proton. On rappelle que l'équation permettant la détermination de la constante K_f est la suivante :

$$\frac{K_d}{Q} + \frac{[C_0] + [S_0]}{Q} = \frac{[C_0][S_0]}{\Delta\delta}$$

où $K_d=1/K_f$ est la constante de dissociation du complexe d'inclusion, $[C_0]$ est la concentration totale en cyclodextrine, $[S_0]$ est la concentration totale en NaPSS, $\Delta\delta$ est la variation du déplacement chimique observé des pics des protons H_3 ou H_5 de la β CD lors de la complexation d'inclusion, et Q est un paramètre explicité dans la troisième partie.

La valeur de K_f est obtenue en faisant le rapport pente sur ordonnée à l'origine de la droite obtenue en traçant $[\text{NaPSS}][\beta\text{CD}]/\Delta\delta$ en fonction de $([\text{NaPSS}] + [\beta\text{CD}])$ (figure 21). Les valeurs prises en compte sont regroupées dans le tableau 6.

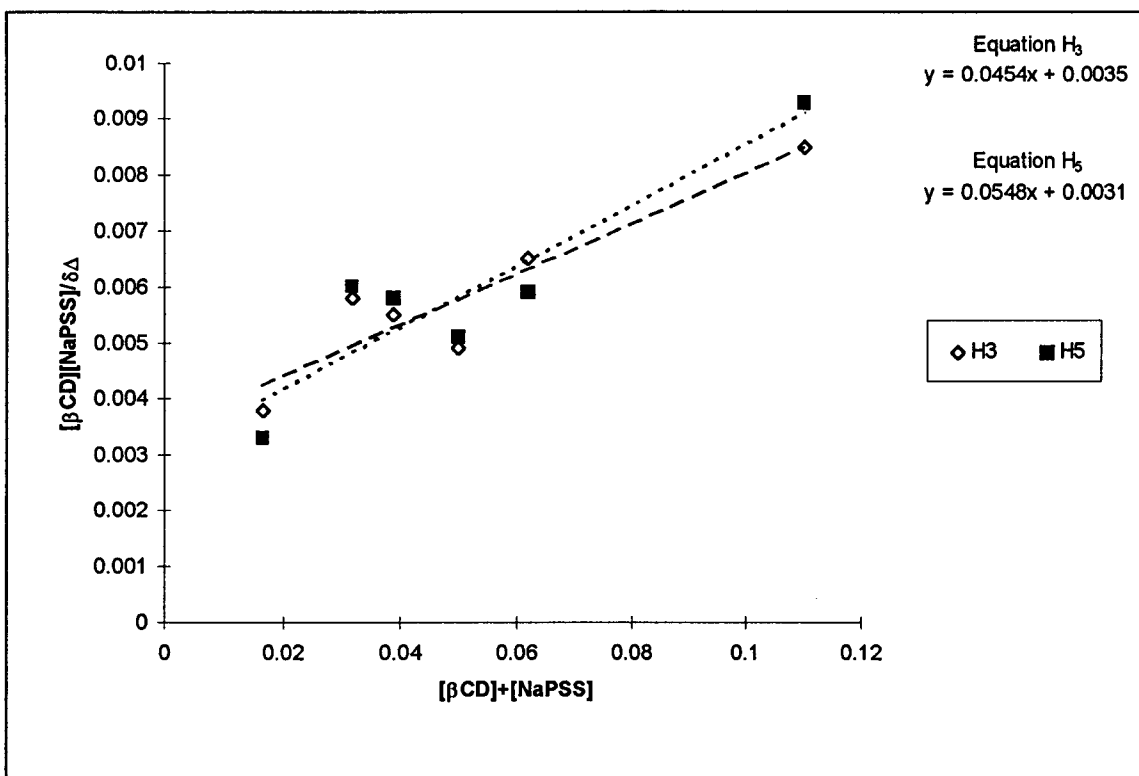


Figure 21 : Traitement graphique des données RMN pour le calcul de la constante de formation du complexe d'inclusion par spectroscopie RMN.

On trouve par cette méthode une valeur de K_f comprise entre 12,95 (avec H₃) et 17,65 (avec H₅). C'est une valeur similaire à celle obtenue par spectroscopie UV.

2.7.3. Bilan

Le bilan par les deux méthodes spectroscopie UV et spectroscopie RMN est donc $K_f=15\pm 2.5$. C'est une valeur faible mais qui montre tout de même que 95 % environ des groupes benzènesulfonate sont encapsulés par les molécules de β -cyclodextrine.

Par ailleurs, Seo trouve que la constante de dissociation du complexe p-nitrophénolate-cyclodextrine n'est pratiquement pas affectée par la présence du polymère NaPSS [12]. Ce résultat montre que la constante de stabilité du complexe NaPSS-cyclodextrine est relativement faible. Le travail qu'on vient d'effectuer confirme donc ces études.

Cette valeur de $K_f=15$ est également à comparer avec celle de quelques substrats anioniques (tableau 11) [5,6,13].

| Substrat | K_f (l/mol) |
|------------------|---------------|
| Cl^- | 2.5 |
| Br^- | 6.5 |
| I^- | 18 |
| SCN^- | 10 |
| NO_3^- | 5.5 |
| ClO_4^- | 27 |
| PS^a | 30 |
| ASANA^b | 600 |

Tableau 11 : Valeurs de K_f pour quelques complexes βCD -anions.

^a : 1-pyrènesulfonate de sodium (figure 4b).

^b : anthraquinone 2-sulfonate de sodium (figure 4a).

CONCLUSION

Nous venons de montrer la formation d'un polyrotaxane latéral dans lequel les groupes benzènesulfonate de NaPSS sont encapsulés par les molécules de β -cyclodextrine. La présence des groupes sulfonates, si elle ne favorise pas la stabilité du complexe, n'empêche pas celui-ci de se former. En effet, l'inclusion s'est effectuée à 95 %, ce qui est une valeur raisonnable comparée à celle obtenue avec des substrats monomères analogues.

Nous allons maintenant nous focaliser sur nos polymères PMA (cinquième partie) et PMA-PMB (sixième partie) et voir comment la β -cyclodextrine interagit avec ces polymères. Nous analyserons particulièrement l'effet de la β -cyclodextrine sur la conformation compacte présentée par nos polymères en milieu acide.

REFERENCES

- [1] N. J. Turro et T. Okubo : *J. Phys. Chem.*, **1982**, Vol. 86, p. 1485.
- [2] W. R. Carroll et H. Eisenberg : *J. Polym. Sci. Part. A*, **1966**, Vol. 4, p. 599.
- [3] M. D. Major et J. M. Torkelson : *Macromolecules*, **1986**, Vol. 19, p. 2801.
- [4] A. Takahashi, T. Kato et M. Nagasawa : *J. Phys. Chem.*, **1967**, Vol. 71, p. 2001.
- [5] F. Djedaini et B. Perly : *Magn. Reson. Chem.*, **1990**, Vol. 28, p. 372.
- [6] A. Harada et S.-I. Nozakura : *Polym. Bull.*, **1982**, Vol. 8, p. 141.
- [7] B.-L. Poh et K. K. Thee : *Tetrahedron Lett.*, **1996**, Vol. 37, p. 7433.
- [8] J. M. Ribó, J.-A. Farrera, M. L. Valero et A. Virgili : *Tetrahedron*, **1995**, Vol. 51, p. 3705.
- [9] D. Canet : « *La RMN concepts et méthodes* », Inter Editions, **1991**.
- [10] W. Xu, J. N. Demas, B. A. DeGraff et M. Whaley : *J. Phys. Chem.*, **1993**, Vol. 97, p. 6546.
- [11] H. A. Benesi et J. H. Hildebrand : *J. Chem. Soc.*, **1949**, Vol. 71, p. 2703.
- [12] T. Seo, T. Kajihara et T. Iijima : *Makromol. Chem.*, **1990**, Vol. 191, p. 1665.
- [13] W. Saenger : *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1980**, Vol. 19, p. 344.

CINQUIEME PARTIE :

**Interactions entre la β -cyclodextrine
et l'acide polyméthacrylique
(PMA)**

INTRODUCTION

La formation d'un polyrotaxane latéral entre le poly(4-styrènesulfonate) de sodium et la β -cyclodextrine a été mise en évidence dans la quatrième partie. Nous allons maintenant étudier la nature des interactions entre la β -cyclodextrine et l'acide polyméthacrylique à la fois à pH acide et à pH basique où ce polymère présente respectivement une conformation compacte et étendue. En particulier, nous essaierons de voir si la β -cyclodextrine est capable d'induire par encapsulation une transition conformationnelle. A pH basique où la structure du PMA est étendue, nous vérifierons que l'on trouve des résultats similaires à ceux pour le NaPSS.

Tout au long de cette partie et chaque fois qu'il sera intéressant ou utile de le faire, nous comparerons le PMA avec le PAA.

1. Etude potentiométrique

Dans la troisième partie, nous avons montré que la formation d'un complexe d'inclusion modifie les paramètres potentiométriques, notamment la constante d'acidité. En comparant les résultats du PMA avec ceux du PAA et de petites molécules, nous devrions pouvoir établir l'encapsulation ou la non encapsulation du PMA par la β -cyclodextrine.

L'étude potentiométrique s'effectuera selon le mode opératoire décrit dans la deuxième partie.

1.1. Résultats

Le dosage s'effectue sur une solution de PMA de concentration 30 mg/100 ml d'eau ($3,49 \cdot 10^{-3}$ M), à laquelle on ajoute une quantité requise de β -cyclodextrine. Le pH des solutions obtenues régresse légèrement (0,1 unité). La figure 1 montre les courbes pK_{app} (pK apparent) en fonction du taux d'ionisation α à différents rapports molaires $R = \beta CD/PMA$.

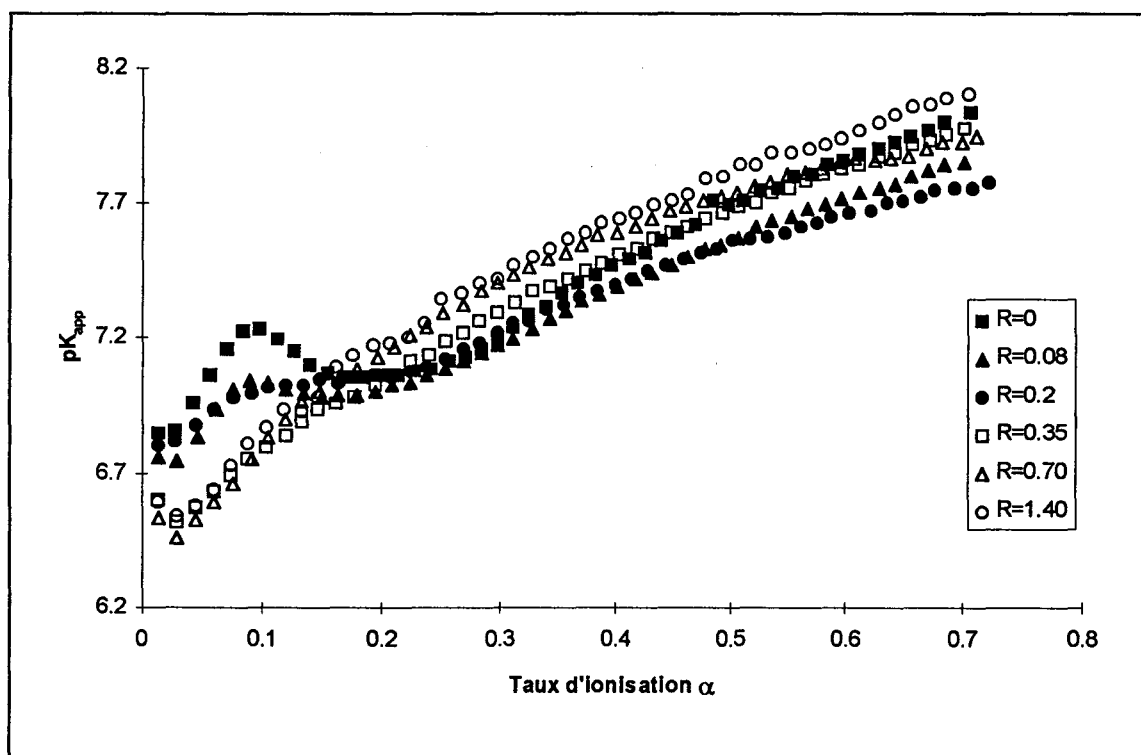


Figure 1 : Courbes $pK_{app}=f(\alpha)$ de mélanges $\beta CD + PMA$ de différents rapports molaires $R = \beta CD/PMA$.

Un agrandissement de la zone comprise entre $\alpha=0$ et $\alpha=0,25$, représentant le domaine de la structure compacte, est représenté sur la figure 2.

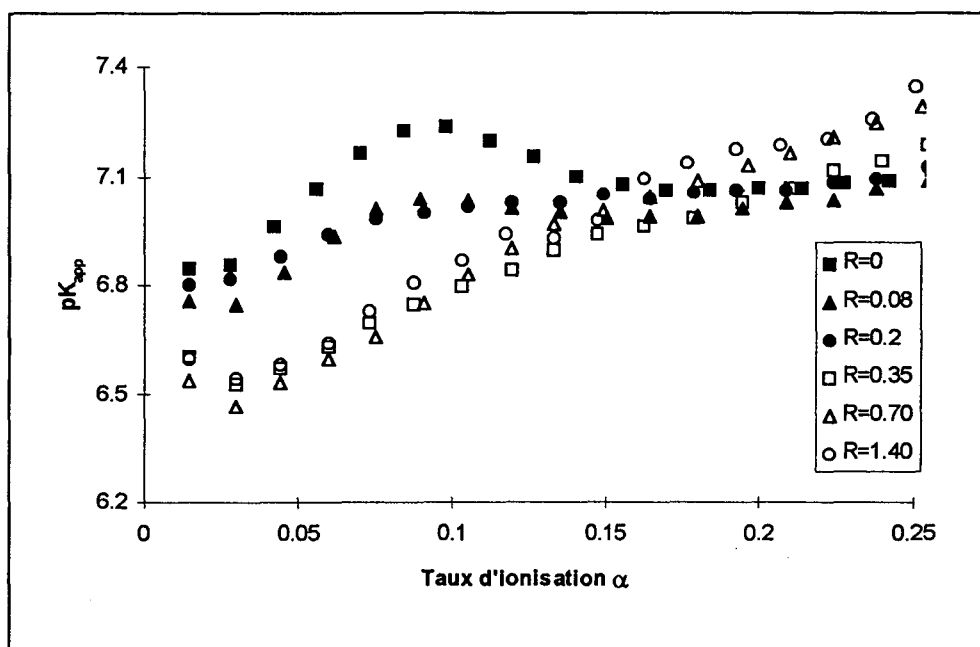


Figure 2 : Agrandissement de la zone [$\alpha=0$ - $\alpha=0,25$] de la figure 1.

Le tableau 1 rassemble les différents paramètres caractéristiques déduits de ces courbes.

| [β CD] (mol.l ⁻¹) | R | ΔG (cal.mol ⁻¹) | α_i | α_f | pK ($\alpha=0$) | pK ($\alpha=0,5$) |
|---|------|--|------------|------------|----------------------|------------------------|
| 0 | 0 | 78 | 0.08 | 0.22 | 6.06 | 7.66 |
| $2.8 \cdot 10^{-4}$ | 0.08 | 53 | 0.07 | 0.23 | 5.99 | 7.58 |
| $6.2 \cdot 10^{-4}$ | 0.20 | 23 | 0.06 | 0.22 | 6.02 | 7.61 |
| $1.2 \cdot 10^{-3}$ | 0.35 | 0 | - | - | 6.13 | 7.75 |
| $2.5 \cdot 10^{-3}$ | 0.70 | 0 | - | - | 6.21 | 7.85 |
| $4.9 \cdot 10^{-3}$ | 1.40 | 0 | - | - | 6.25 | 7.90 |

Tableau 1 : Valeurs des différents paramètres potentiométriques de PMA en fonction de la quantité de β -cyclodextrine ajoutée. R est le rapport molaire β CD/PMA.

1.2. Interprétation

1.2.1. L'évolution de ΔG

1.2.1.1. Quelques rappels thermodynamiques

En général, l'enthalpie de formation d'un complexe β CD-substrat est de signe négatif (une augmentation de température conduit à le déstabiliser), tandis que la variation d'entropie peut être tantôt positive, tantôt négative. Le signe de ΔS varie selon le substrat indiquant que plusieurs forces sont impliquées dans la formation des complexes.

De manière générale également, il y a une compensation entre l'enthalpie et l'entropie. Lorsque ΔH est faible, peu de chaleur est libérée au cours de la complexation, la valeur de ΔS mesurée est alors grande suggérant que le système a un plus grand degré de désordre après la formation du complexe. Si ΔH est grand, l'entropie mesurée est alors négative et la formation du complexe conduit à un degré d'ordre supérieur.

Si l'on considère par exemple les données thermodynamiques concernant la complexation du phénol et du p-nitrophénol, l'enthalpie de formation du complexe du phénol est faible et son entropie est positive, alors que dans le cas du p-nitrophénol, ΔH est élevé et ΔS est négatif. On constate cependant que l'énergie libre de complexation a une grandeur comparable. Le signe négatif de ΔG prouve la spontanéité de la formation de la supermolécule. Cet exemple illustre aussi le fait que la connaissance isolée de ΔH ou ΔS ne peut donner une idée de la stabilité du complexe.

Quels événements au niveau moléculaire peuvent faire varier l'entropie lors de la réunion de la molécule hôte et de la molécule invitée ? Les molécules d'eau qui forment une couche ordonnée autour du substrat sont libérées dans le milieu et contribuent à augmenter le désordre ($\Delta S > 0$). Dans le même temps, substrat et cyclodextrine perdent une partie de leurs degrés de liberté de rotation et de translation ; de plus, les interactions substrat-solvant et cavité-solvant sont annulées pour créer des interactions complexe solvant d'intensité inférieure et provoquent une diminution de l'entropie du système ($\Delta S < 0$). De la combinaison de tous ces effets contraires résulte une valeur absolue de ΔS qui est faible et dont le signe est positif ou négatif

selon la prédominance du type d'interaction qui est mis en jeu au cours de la complexation du substrat considéré.

La variation d'enthalpie dépend également de plusieurs facteurs : la dispersion de la couche d'eau structurée entourant la molécule hydrophobe provoque une diminution des liaisons hydrogène dans le système, ceci est énergétiquement défavorable. Il y a compensation par l'expulsion des molécules d'eau d'énergie élevée incluses dans la cavité hydrophobe et qui peuvent alors augmenter la quantité de liaisons hydrogène (solvant-solvant) dans le système. ΔH est de signe négatif dans la majorité des cas. On peut évoquer l'expérience classique où l'on dissout un composé hydrophobe dans l'eau qui est un exemple de réaction endothermique ; l'encapsulation de ce composé par la cyclodextrine revient à l'isoler du milieu aqueux pour le fixer dans un environnement plus compatible : cette étape est donc exothermique.

1.2.1.2. Application au cas du PMA

La figure 3 représente l'évolution de l'énergie libre ΔG du processus de transition conformationnelle en fonction du rapport molaire $R = \beta\text{CD}/\text{PMA}$.

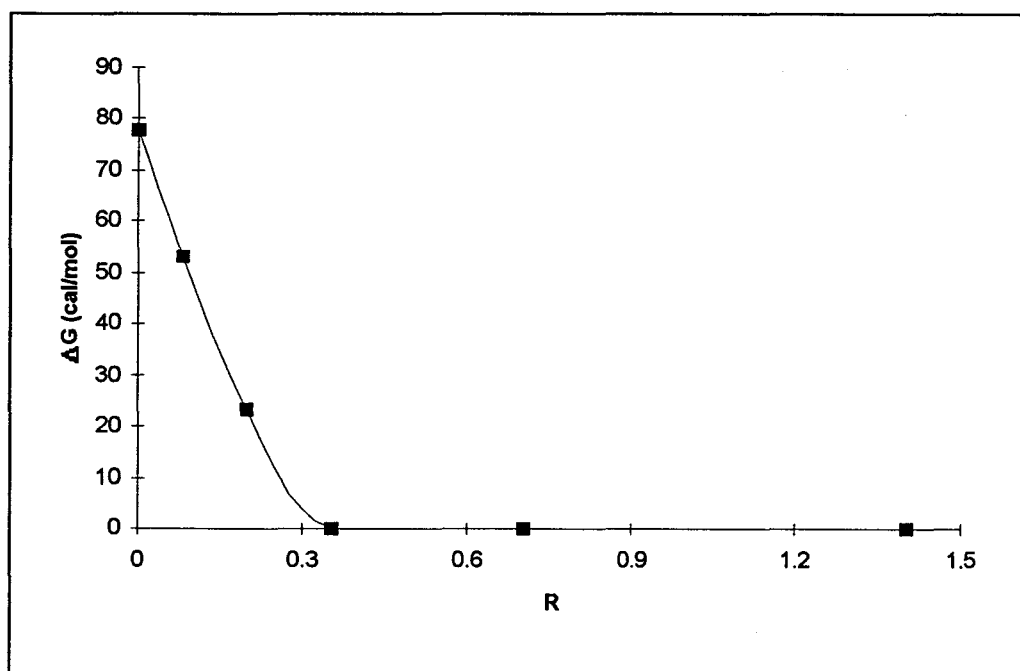


Figure 3 : Evolution de ΔG en fonction du rapport molaire $R = \beta\text{CD}/\text{PMA}$ de PMA.

On constate que ΔG diminue fortement lorsque R augmente et s'annule à partir de $R=0,35$.

Cette considérable chute de ΔG en présence de β -cyclodextrine peut être interprétée de deux manières. Celles-ci seront notées par la suite hypothèse 1 et hypothèse 2.

■ Hypothèse 1 :

L'encapsulation des groupes méthyles de PMA détruit les associations hydrophobes et donc la structure compacte du polymère. Ceci doit provoquer une extension des chaînes. La chute de ΔG observée en est la conséquence.

La diminution de ΔG serait principalement d'origine entropique. En effet, l'extension des chaînes de polymère contribue à augmenter le degré de désordre donc l'entropie.

■ Hypothèse 2 :

On peut aussi imaginer, comme dans le cas de NaPSS étudié dans la quatrième partie, que l'encapsulation des groupes méthyles de PMA s'accompagne de la formation d'un réseau de liaisons hydrogène intramoléculaires entre les groupes hydroxyles de la β -cyclodextrine et les groupes carboxyliques des chaînes de polymère. La structure de l'adduit serait donc toujours compacte, mais pas au sens de « hypercoil » qui ne prend en compte que les associations hydrophobes.

Nous essaierons de trancher par la suite entre ces deux hypothèses.

1.2.2. L'évolution des différents taux d'ionisation

Les différents taux d'ionisation varient assez peu en présence de β -cyclodextrine (tableau 1). Dans le cadre de l'hypothèse 1, une encapsulation seule devrait diminuer fortement les différents taux d'ionisation puisqu'elle provoque une extension des chaînes. Par contre, dans le cadre de l'hypothèse 2, les liaisons hydrogène formées entre les groupes carboxyliques des chaînes du PMA et les groupes hydroxyles de la β -cyclodextrine, peuvent rendre plus difficile l'ionisation des chaînes, compensant l'effet de l'encapsulation.

1.2.3. L'évolution des pK

Afin de mieux comprendre l'influence de la β -cyclodextrine sur le pK du PMA lors de la complexation d'inclusion, nous allons nous pencher sur le cas de petites molécules connues pour être encapsulées ou pas par la β -cyclodextrine. Nous tenterons ensuite d'appliquer nos déductions au PMA. Signalons une étude intéressante sur la complexation d'acide dicarboxyliques par l' α -cyclodextrine et l'influence de l'inclusion sur les pK [1].

1.2.3.1. Cas des petites molécules

On a choisi les trois petites molécules suivantes, dont le comportement complexant est clairement établi (troisième partie) :

- l'acide benzoïque est encapsulé par la β -cyclodextrine. Il existe par ailleurs des liaisons hydrogène $\text{CO}_2\text{H}-\beta\text{CD}$.

- L'acide acétique et l'acide propionique ne sont pas encapsulés par la β -cyclodextrine.

Les tableaux 2, 3 et 4 donnent les valeurs des pK de chacune des petites molécules à différents rapports molaires $R=\beta\text{CD}/S$, où S est le substrat considéré.

| [βCD] (mol/l) | R | pK |
|---------------------------------|------|------|
| 0 | 0 | 4.30 |
| $2.6 \cdot 10^{-4}$ | 0.1 | 4.34 |
| $6.2 \cdot 10^{-4}$ | 0.25 | 4.40 |
| $1.3 \cdot 10^{-3}$ | 0.5 | 4.45 |
| $2.5 \cdot 10^{-3}$ | 1 | 4.56 |
| $4.8 \cdot 10^{-3}$ | 1.9 | 4.74 |

Tableau 2 : Valeurs du pK en fonction de R de l'acide benzoïque ($30 \text{ mg}/100 \text{ ml} = 2,5 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$).

| [βCD] (mol/l) | R | pK |
|---------------------------------|------|------|
| 0 | 0 | 4.82 |
| $2.6 \cdot 10^{-4}$ | 0.1 | 4.83 |
| $6.2 \cdot 10^{-4}$ | 0.25 | 4.79 |
| $1.3 \cdot 10^{-3}$ | 0.5 | 4.77 |
| $2.2 \cdot 10^{-3}$ | 0.85 | 4.77 |
| $4.8 \cdot 10^{-3}$ | 1.85 | 4.76 |

Tableau 3 : Valeurs du pK en fonction de R de l'acide acétique ($15,5 \text{ mg}/100 \text{ ml} = 2,6 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$).

| [β CD] (mol/l) | R | pK |
|--------------------------|------|-------|
| 0 | 0 | 4.845 |
| $5.6 \cdot 10^{-4}$ | 0.25 | 4.835 |
| $1.3 \cdot 10^{-3}$ | 0.6 | 4.83 |
| $3.1 \cdot 10^{-3}$ | 1.5 | 4.82 |
| $4.8 \cdot 10^{-3}$ | 2.3 | 4.815 |

Tableau 4 : Valeurs du pK en fonction de R de l'acide propionique ($15,5 \text{ mg}/100 \text{ ml} = 2,1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$).

La figure 4 montre l'évolution des pK des trois molécules en fonction de R.

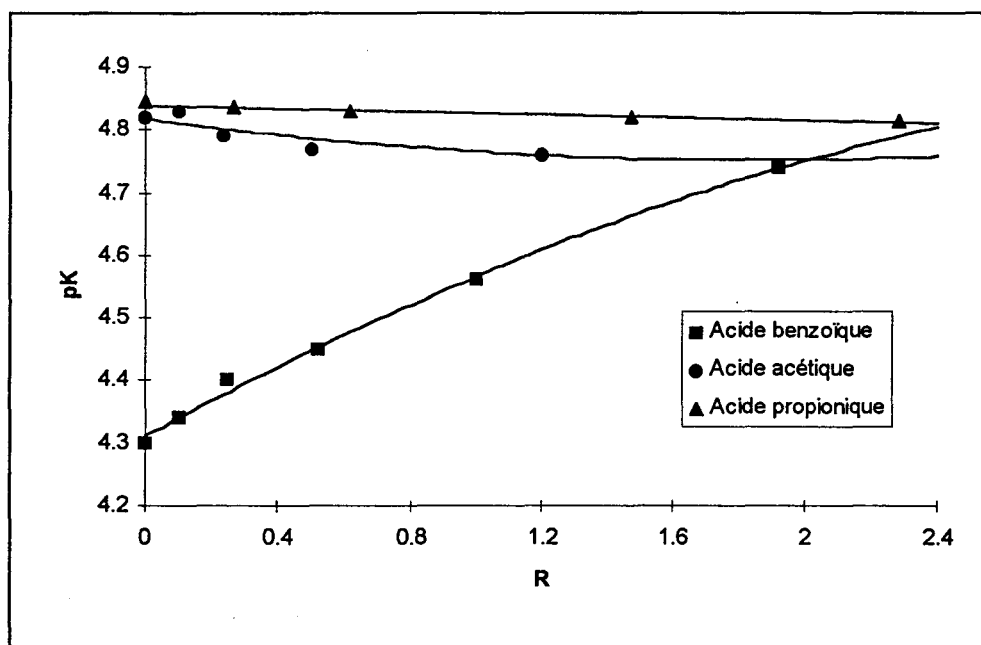


Figure 4 : Evolution du pK en fonction de R des trois molécules acide benzoïque, acide acétique, acide propionique.

En présence de β -cyclodextrine, on observe dans le cas de l'acide benzoïque une forte augmentation du pK, alors que dans le cas des acides propionique et acétique, on observe plutôt une légère diminution du pK.

Pour interpréter les variations du pK des trois acides en présence de β -cyclodextrine, il faut regarder la stabilité de la forme basique conjuguée ; plus celle-ci sera stabilisée, plus l'acide sera fort, et donc plus le pK sera faible :

- La cavité de la β -cyclodextrine a un rôle de base de Lewis donc de donneur d'électrons. L'encapsulation d'une molécule ayant une fonction carboxylate accroît donc la charge négative sur celle-ci. La molécule est déstabilisée d'où une augmentation du pK. C'est le cas de l'acide benzoïque.

- Les anions acétate et propanoate ne peuvent former que des liaisons hydrogène avec les groupes hydroxyles de la β -cyclodextrine (figure 5). Ces liaisons H stabilisent l'anion, d'où une diminution (légère) du pK.

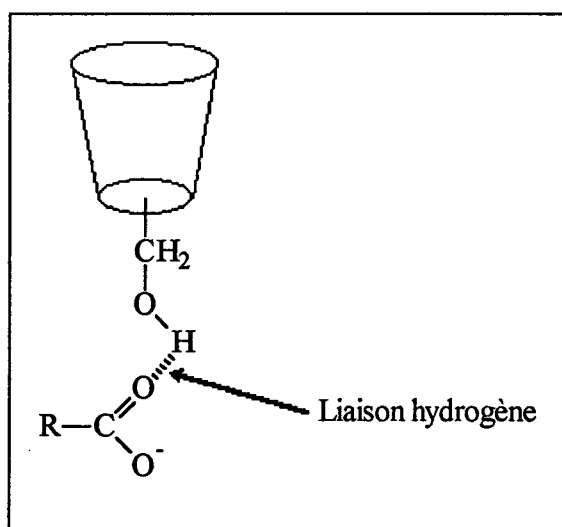


Figure 5 : Effet de la β -cyclodextrine sur le pK des acides acétique et propionique ($R=CH_3$ ou C_2H_5).

1.2.3.2. Cas du PMA

On constate d'abord que le pK à ionisation nulle et à la demi-équivalence ont une évolution parallèle lors de l'addition de β -cyclodextrine (tableau 1). A titre de comparaison, une étude similaire sur le PAA (qui ne présente pas de structure compacte) donne les résultats suivants (tableau 5) :

| $[\beta CD]$ (mol.l ⁻¹) | R | pK ($\alpha=0,5$) |
|--|-----|------------------------|
| 0 | 0 | 7.27 |
| $2.6 \cdot 10^{-4}$ | 0.1 | 7.31 |
| $6.2 \cdot 10^{-4}$ | 0.3 | 7.36 |
| $1.3 \cdot 10^{-3}$ | 0.6 | 7.33 |
| $2.5 \cdot 10^{-3}$ | 1.2 | 7.30 |

Tableau 5 : Valeurs du pK ($\alpha=0,5$) en fonction de R du PAA (15 mg/100 ml = $2,1 \cdot 10^{-3}$ mol/l). R est le rapport molaire $\beta CD/PAA$.

La figure 6 montre l'évolution du pK ($\alpha=0,5$) de PAA et PMA en fonction de R.

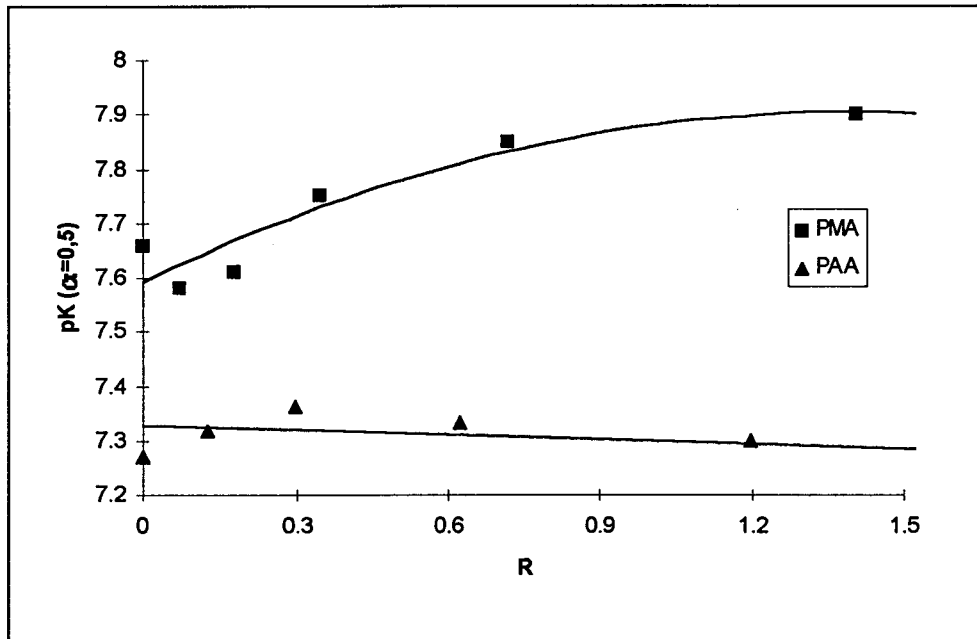


Figure 6 : Evolution du pK ($\alpha=0,5$) de PAA et PMA en fonction du rapport molaire $R=\beta\text{CD}/\text{Polymère}$.

Adaptons les explications précédentes aux cas des polymères PAA et PMA :

- Dans le cas de PAA, on observe globalement une diminution du pK en présence de β -cyclodextrine. Ce cas est comparable à celui de l'acide acétique et de l'acide propionique. D'autre part, le PAA ne possède pas de groupes hydrophobes susceptibles d'être encapsulés par la β -cyclodextrine.

- Dans le cas de PMA, on observe globalement une augmentation du pK en présence de β -cyclodextrine. Ce cas peut se comparer à celui de l'acide benzoïque. On peut donc en conclure à l'inclusion des groupes méthyles de PMA.

Aucune des deux hypothèses pour expliquer la chute de ΔG ne peut cependant encore être retenue.

2. Etude ^1H RMN

La spectroscopie ^1H RMN est une excellente méthode pour démontrer l'inclusion ou la non inclusion. On note R le rapport molaire $\beta\text{CD}/\text{polymère}$ et $\Delta\delta$ la différence δ (βCD seule) - δ (βCD complexée). Les résultats de $\Delta\delta$ de plusieurs mélanges βCD + PMA et βCD + PAA sont rassemblés dans les tableaux ci-dessous. La concentration en βCD est fixée à 10^{-2} M dans D_2O .

■ Pour PAA, les résultats sont rassemblés dans le tableau 6.

| Proton | $\Delta\delta$ (ppm) | |
|----------------|----------------------|--------|
| | R=0,30 | R=0,70 |
| H ₁ | 0.005 | 0.00 |
| H ₂ | 0.005 | 0.005 |
| H ₃ | 0.005 | 0.00 |
| H ₄ | 0.005 | 0.00 |
| H ₅ | 0.01 | 0.005 |
| H ₆ | 0.01 | 0.005 |

Tableau 6 : Variation des déplacements chimiques des pics des protons de la β -cyclodextrine en présence de PAA.

■ Pour PMA, les résultats sont rassemblés dans le tableau 7.

| Proton | $\Delta\delta$ (ppm) | |
|----------------|----------------------|--------|
| | R=0,125 | R=1,00 |
| H ₁ | -0.005 | -0.00 |
| H ₂ | 0.00 | 0.00 |
| H ₃ | -0.01 | -0.005 |
| H ₄ | -0.01 | -0.00 |
| H ₅ | -0.005 | -0.00 |
| H ₆ | -0.00 | 0.00 |

Tableau 7 : Variation des déplacements chimiques des pics des protons de la β -cyclodextrine en présence de PMA.

Dans aucun cas, on n'observe de variation appréciable du déplacement chimique, quel que soit le proton de la β -cyclodextrine considéré.

On pourrait donc, d'après ce résultat, penser qu'il n'y a pas d'inclusion des groupes méthyles du PMA par la β -cyclodextrine. Cependant, ceux-ci sont probablement trop petits pour induire un déplacement important des pics des protons H_3 et H_5 .

Un spectre 2D NOESY pourrait nous permettre de vérifier cela : si des taches de corrélation apparaissent entre H_3 ou H_5 et les protons des groupes méthyles, alors l'inclusion sera démontrée.

Les figures 7 à 8 représentent les spectres RMN 2D NOESY de PAA et PMA en présence de β -cyclodextrine.

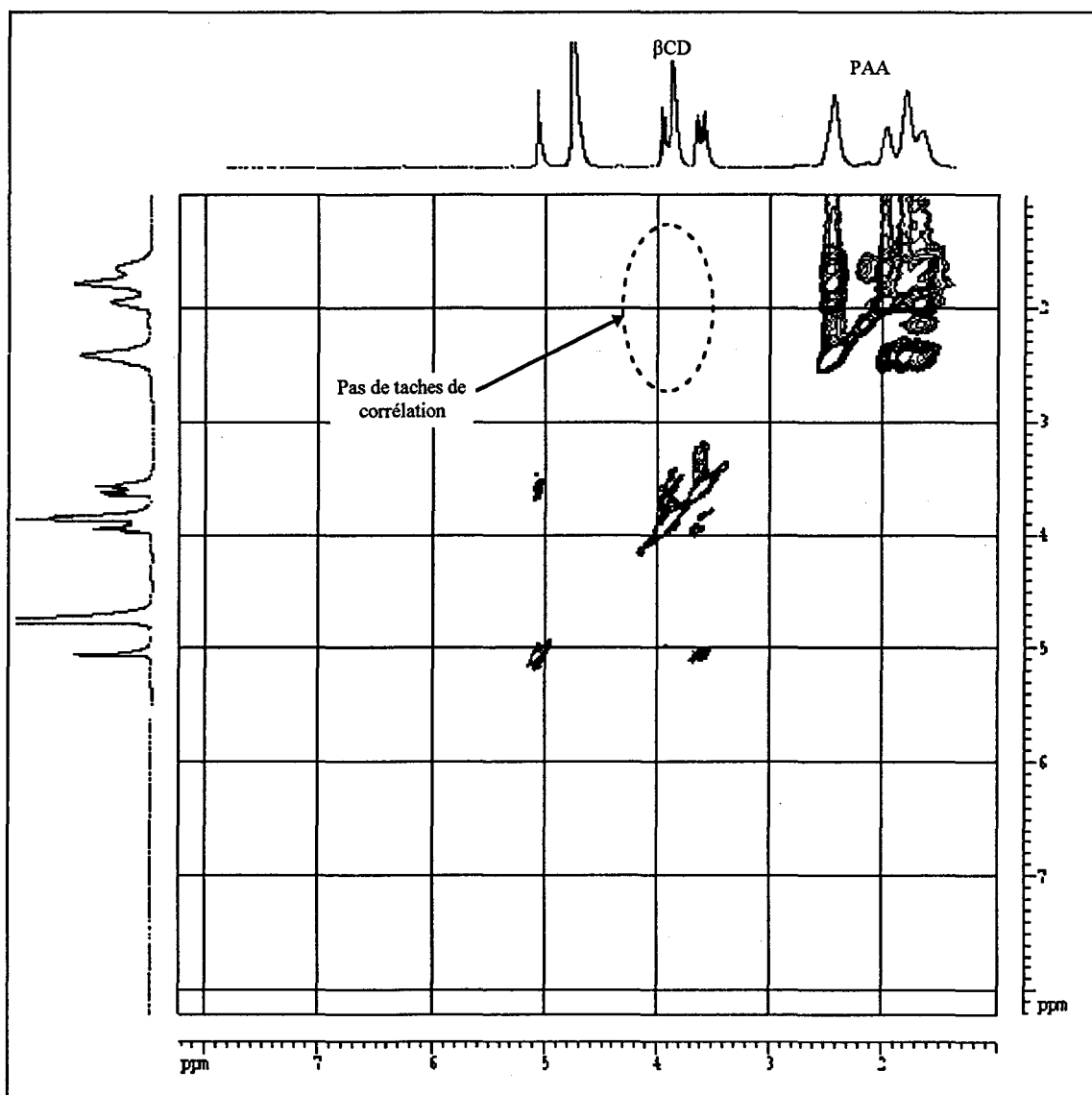


Figure 7 : Spectre RMN 2D du mélange β -cyclodextrine + PAA avec $R=0,10$.

On voit à l'évidence qu'il n'y a pas de taches de corrélation entre les protons du PAA et les protons internes de la cavité de la cyclodextrine H₃ et H₅ (zone en pointillés sur la figure). Ce qui est normal : il n'y a pas d'inclusion du PAA, même partiellement, par la β-cyclodextrine.

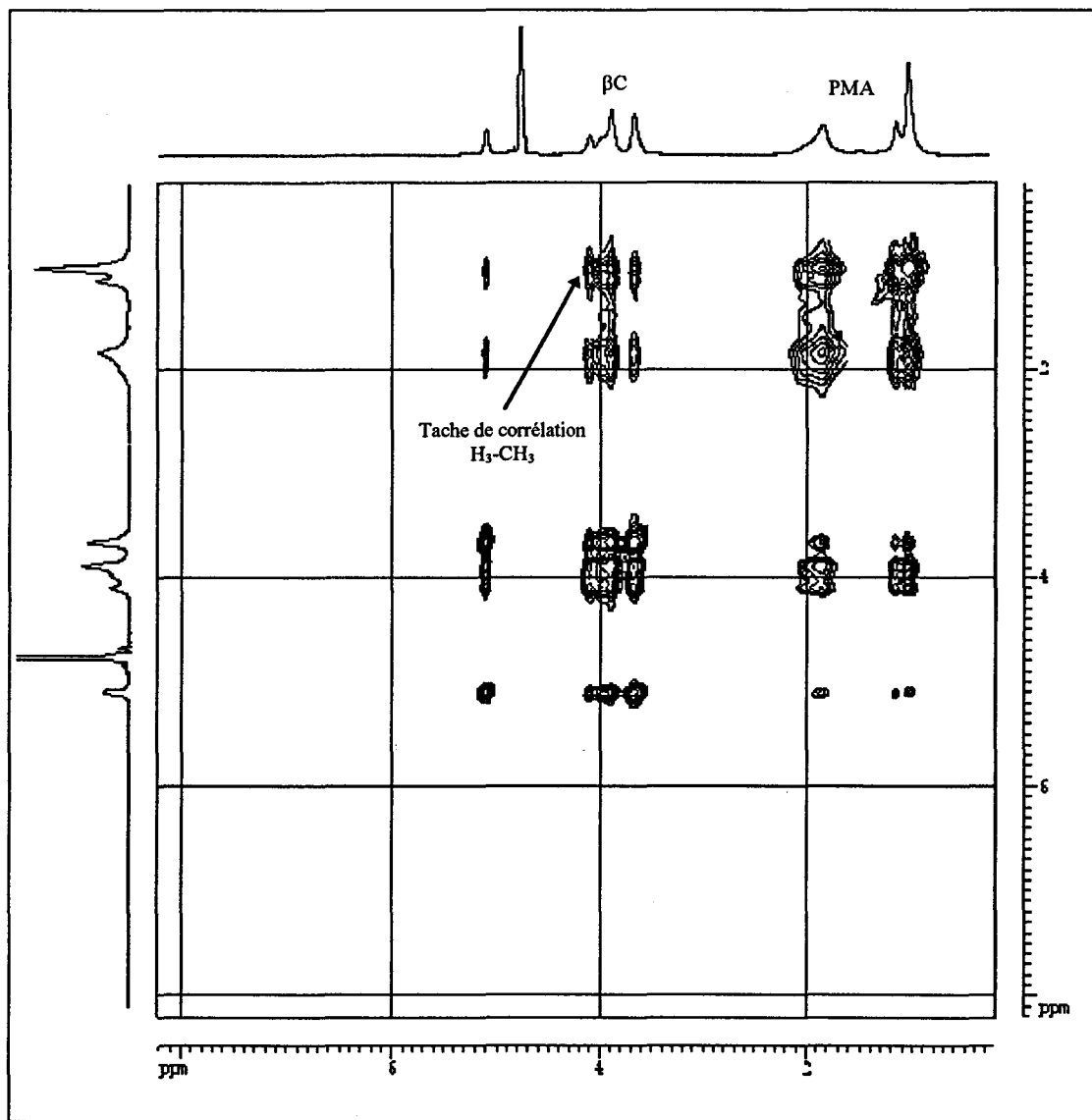


Figure 8 : Spectre RMN 2D du mélange β-cyclodextrine + PMA avec R=0,10.

On peut distinguer des taches de corrélation entre les protons des groupes méthyles du PMA et les protons de la β-cyclodextrine, en particulier H₃, démontrant ainsi l'encapsulation de ces groupes. Les taches de corrélation entre les protons des groupes CH₂ des chaînes et les protons de la β-cyclodextrine peuvent être expliquées par la proximité spatiale entre le polymère et la β-cyclodextrine.

3. Etude viscosimétrique

A fin de mieux comprendre les interactions entre le polymère et la β -cyclodextrine, on va effectuer une étude viscosimétrique de nos polymères en présence de β -cyclodextrine, et la comparer avec une étude en présence de glucose, unité de base formant la β -cyclodextrine.

3.1. Etude viscosimétrique à pH naturel (≈ 5)

L'utilisation d'un pH tampon est évitée pour éviter le repliement des chaînes de polymère provoquée par la présence de sel.

Le tableau 8 rassemble les valeurs de la viscosité réduite du PMA de concentration 30,5 mg/100 ml ($3,5 \cdot 10^{-3}$ M) à différents rapports molaires $R = \beta\text{CD}/\text{PMA}$ ou $R = \text{glucose}/\text{PMA}$.

| Glucose | | | β -Cyclodextrine | | |
|-----------------------------|------|-----------------------------|-----------------------------|------|-----------------------------|
| [Glu](mol.l ⁻¹) | R/7 | η (cm ³ /g) | [BCD](mol.l ⁻¹) | R | η (cm ³ /g) |
| 0 | 0 | 156 | 0 | 0 | 155 |
| $4.7 \cdot 10^{-3}$ | 0.19 | 147 | $6.1 \cdot 10^{-4}$ | 0.17 | 128 |
| $9.2 \cdot 10^{-3}$ | 0.37 | 140 | $1.4 \cdot 10^{-3}$ | 0.40 | 114 |
| $1.8 \cdot 10^{-2}$ | 0.73 | 131 | $2.6 \cdot 10^{-3}$ | 0.74 | 134 |
| $3.0 \cdot 10^{-2}$ | 1.22 | 124 | $4.0 \cdot 10^{-3}$ | 1.14 | 145 |
| $5.4 \cdot 10^{-2}$ | 2.20 | 121 | $5.5 \cdot 10^{-3}$ | 1.57 | 150 |
| $8.7 \cdot 10^{-2}$ | 3.55 | 117 | $7.3 \cdot 10^{-3}$ | 2.09 | 153 |

Tableau 8 : Valeurs de la viscosité réduite du PMA en fonction de R (cas de la β CD) ou R/7 (cas du glucose).

Les courbes $\eta = f(R/7)$ et $\eta = f(R)$ sont représentées sur la figure 9.

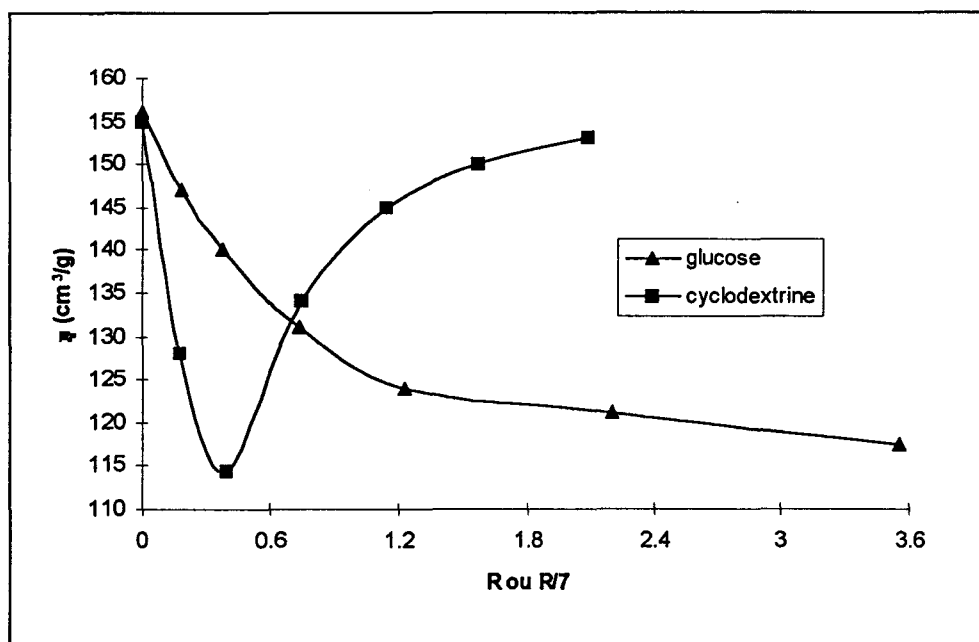


Figure 9 : Evolution de la viscosité réduite du PMA en fonction de R (cas de la β CD) ou R/7 (cas du glucose).

On constate que la viscosité du polymère diminue quand on ajoute du glucose, alors qu'en présence de β -cyclodextrine, elle commence par baisser jusqu'à une valeur de R de l'ordre de 0,4, puis augmente ensuite. Le minimum de viscosité correspond à l'annulation du terme ΔG (figure 3).

Apparemment, l'encapsulation des groupes méthyles de PMA s'accompagne d'une diminution de la viscosité du polymère. Ce qui semble contradictoire avec l'hypothèse selon laquelle l'encapsulation détruit les associations hydrophobes en augmentant le volume hydrodynamique des chaînes et, par conséquent, la viscosité. Il est donc légitime de penser qu'à l'encapsulation s'ajoute aussi la formation de liaisons hydrogène intramoléculaires entre les groupes carboxyliques de PMA et les groupes hydroxyles de la β -cyclodextrine. L'hypothèse 2 est donc celle à retenir.

Au-delà d'un rapport R de 0,4, les liaisons hydrogène intramoléculaires n'imposent plus le repliement des chaînes. En revanche, les molécules de β -cyclodextrine s'agglomèrent le long des chaînes du polymère et font par conséquent augmenter sa masse apparente. D'où l'augmentation de viscosité.

Une étude viscosimétrique similaire réalisée sur la polyvinylamine par Martel a montré également une diminution de la viscosité d'environ 10 % en présence d'une faible quantité de β -cyclodextrine, et une augmentation de la viscosité lors d'ajouts supplémentaires de β -cyclodextrine [2]. L'explication donnée est similaire : Lorsque R est petit, les interactions ont tendance à se produire de façon intrachaine et provoquer le repliement du polymère ; en revanche, lorsque R est grand, la β -cyclodextrine viendrait encombrer le polymère sur toute la longueur de chaîne et faire augmenter sa viscosité. [2].

En présence de glucose, la viscosité de PMA diminue ; ici, seules des liaisons H intramoléculaires peuvent bien entendu se former, impliquant ainsi le repli des chaînes de polymère.

A titre de comparaison, le PAA donne les résultats qui sont rassemblés dans le tableau 9.

| Glucose | | | β -Cyclodextrine | | |
|---------------------|------|------------------------------|------------------------|------|------------------------------|
| [Glu](mol/l) | R/7 | $\eta(\text{cm}^3/\text{g})$ | [β CD](mol/l) | R | $\eta(\text{cm}^3/\text{g})$ |
| 0 | 0 | 2180 | 0 | 0 | 2182 |
| $4.4 \cdot 10^{-3}$ | 0.15 | 2060 | $7.8 \cdot 10^{-4}$ | 0.18 | 2080 |
| $1.3 \cdot 10^{-2}$ | 0.43 | 1980 | $1.7 \cdot 10^{-3}$ | 0.35 | 2000 |
| $2.3 \cdot 10^{-2}$ | 0.76 | 1939 | $3.0 \cdot 10^{-3}$ | 0.70 | 1930 |
| $4.3 \cdot 10^{-2}$ | 1.43 | 1933 | $4.4 \cdot 10^{-3}$ | 1.02 | 1906 |
| $6.1 \cdot 10^{-2}$ | 2.03 | 1930 | $6.2 \cdot 10^{-3}$ | 1.44 | 1890 |
| $9.0 \cdot 10^{-2}$ | 2.99 | 1925 | $7.6 \cdot 10^{-3}$ | 1.77 | 1883 |

Tableau 9 : Valeurs de la viscosité réduite du PAA ($31,2 \text{ mg}/100 \text{ ml} = 4,3 \cdot 10^{-3} \text{ M}$) en fonction de R (cas de la β CD) ou R/7 (cas du glucose).

Les courbes $\eta = f(R/7)$ et $\eta = f(R)$ sont représentées sur la figure 10.

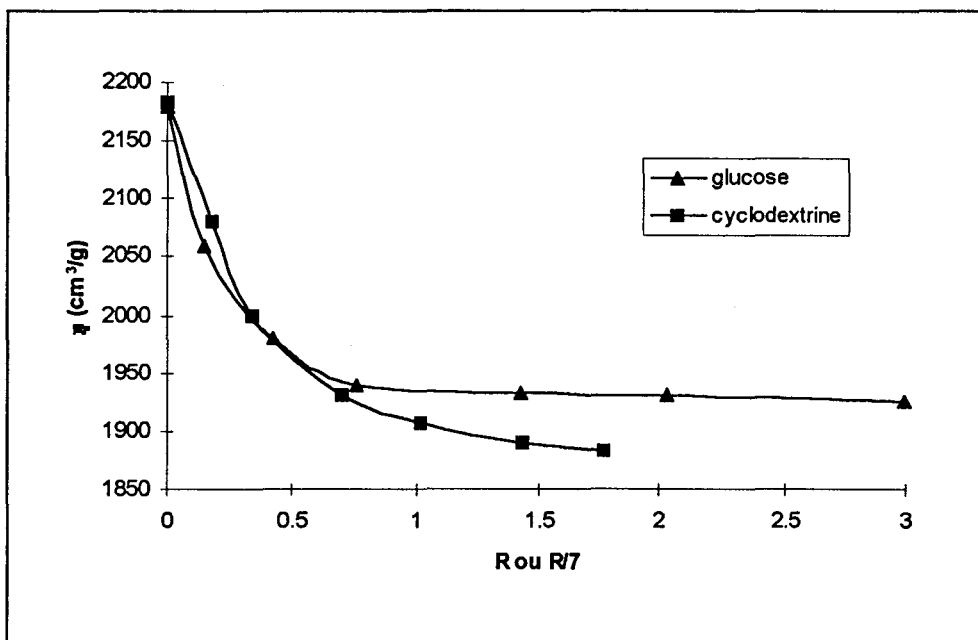


Figure 10 : Evolution de la viscosité réduite du PAA en fonction de R (cas de la β CD) ou R/7 (cas du glucose).

On constate que la viscosité du polymère diminue en présence de β -cyclodextrine et en présence de glucose.

Seules des liaisons hydrogène intramoléculaires peuvent dans ce cas se former entre les groupes carboxyliques du polymère et les groupes hydroxyles de la β -cyclodextrine ou du glucose. Elles tendent à replier les chaînes de polymère et par conséquent la viscosité. Comme il n'y a pas d'inclusion, on n'observe pas la remontée de la viscosité observée dans le cas du PMA.

Afin de confirmer la véracité de l'hypothèse 2, nous allons mesurer la viscosité d'un mélange (PMA + β CD) de rapport molaire $R = \beta\text{CD}/\text{PMA}$ tel que $\Delta G = 0$ en fonction du pH. Ainsi nous verrons s'il existe ou pas une transition conformationnelle. Le tableau 10 rassemble les valeurs de la viscosité réduite d'un mélange (PMA + β CD) où $R=1$ à différents pH.

| pH | $\eta(\text{cm}^3/\text{g})$ |
|------|------------------------------|
| 4.8 | 142 |
| 5.4 | 230 |
| 6.0 | 421 |
| 6.5 | 690 |
| 7.5 | 1310 |
| 8.5 | 1310 |
| 9.1 | 1204 |
| 9.6 | 1024 |
| 10.4 | 666 |

Tableau 10 : Valeurs de la viscosité réduite du mélange PMA + β CD (R=1) en fonction du pH.

La figure 11 montre l'évolution de la viscosité réduite de ce mélange en fonction du pH.

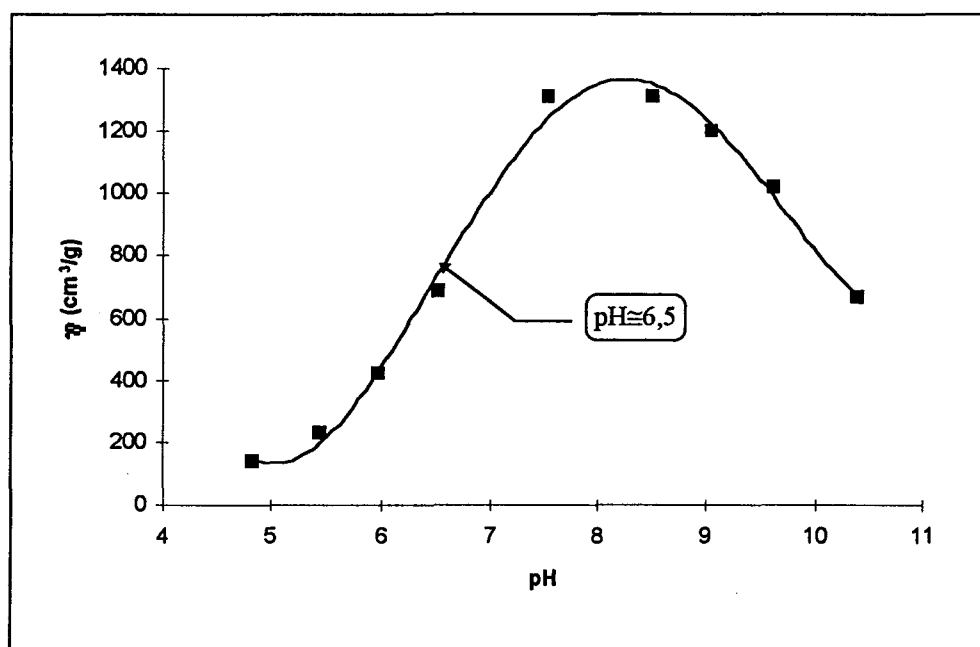


Figure 11 : Courbe de viscosité réduite en fonction du pH du mélange PMA + β CD (R=1).

On constate que, malgré une valeur nulle de ΔG , une transition conformationnelle autour de $\text{pH}=6,5$ a lieu ; cette valeur est voisine de celle obtenue en l'absence de β -cyclodextrine ($\text{pH}=6,2$; deuxième partie). L'encapsulation des groupes méthyles par la β -cyclodextrine ne détruit donc pas la structure compacte du PMA. L'hypothèse 2 est donc la bonne.

Pour les polymères PAA et PMA, on a étudié l'influence du temps sur la viscosité. Les figures 12 et 13 montrent respectivement l'évolution de la viscosité réduite des solutions de polymère en présence d'un large excès de glucose et de cyclodextrine en fonction du temps.

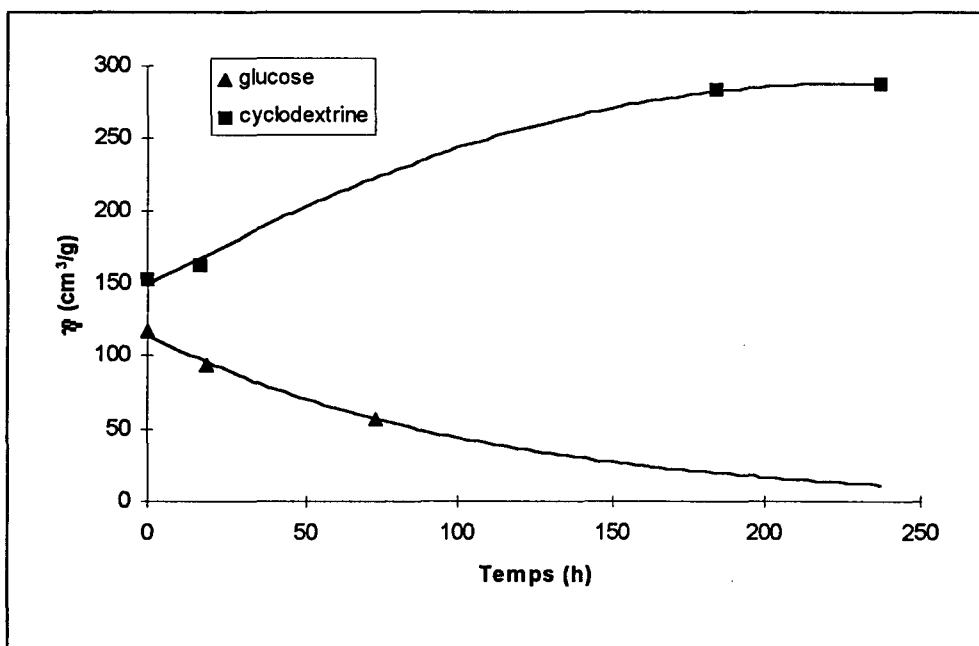


Figure 12 : Evolution de la viscosité réduite du PMA ($3,5 \cdot 10^{-3}$ M) en présence de glucose ($8,7 \cdot 10^{-2}$ M) et de cyclodextrine ($7,3 \cdot 10^{-3}$ M) en fonction du temps.

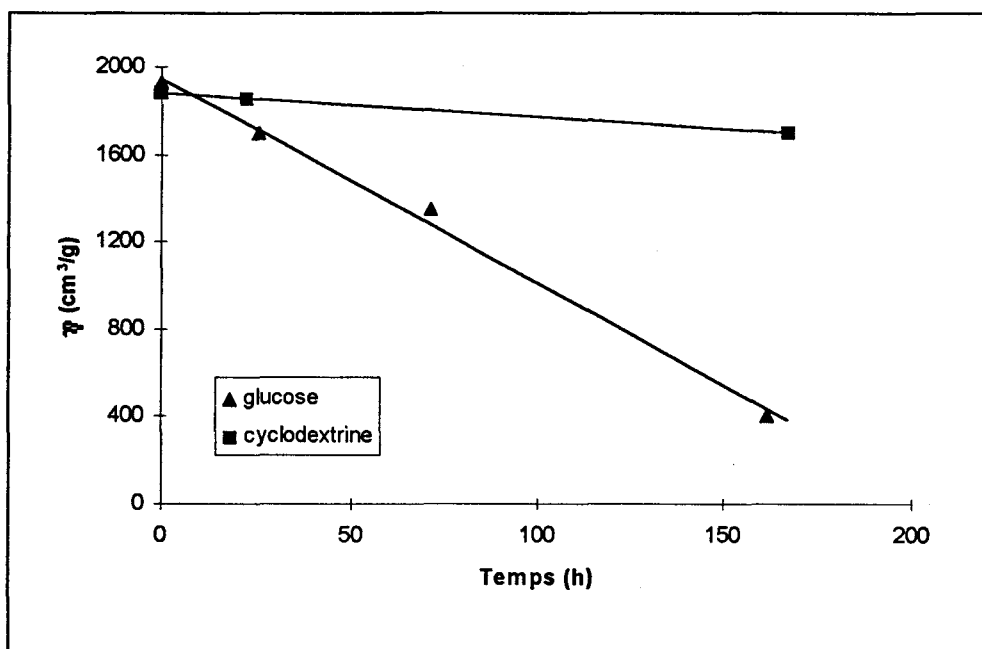


Figure 13 : Evolution de la viscosité réduite du PAA ($4,3 \cdot 10^{-3}$ M) en présence de glucose ($9,0 \cdot 10^{-2}$ M) et de cyclodextrine ($7,6 \cdot 10^{-3}$ M) en fonction du temps.

En présence d'un excès de glucose, on constate que la viscosité diminue dans les deux cas ; en revanche, en présence d'un excès de β -cyclodextrine, elle diminue pour le PAA, alors qu'elle augmente pour le PMA.

On peut supposer des réarrangements au sein des solutions de polymère :

- En présence de glucose, les viscosités diminuent en fonction du temps, suggérant la formation lente de nouvelles liaisons hydrogène intramoléculaires.

- En présence de β -cyclodextrine, la viscosité du PMA augmente en fonction du temps jusqu'à un certain palier, suggérant un effet de masse progressif généré par une encapsulation lente des groupes méthyles. Wenz donne la même interprétation à propos d'une étude viscosimétrique similaire réalisée sur une polyamine linéaire (troisième partie) [3].

La viscosité du PAA diminue, et ceci ne peut être dû qu'à la formation lente de nouvelles liaisons hydrogène intramoléculaires.

3.2. Etude viscosimétrique à pH basique (8,1)

En milieu basique, la structure du PMA est étendue et doit théoriquement avoir le même comportement vis-à-vis de la β -cyclodextrine que NaPSS étudié précédemment dans la quatrième partie. C'est ce que l'on vérifiera ci-après.

L'utilisation d'un pH tampon est évitée pour éviter le repliement des chaînes de polymère provoquée par la présence de sel. Aussi, on ajoutera simplement de la soude à 0,05 M à notre solution de PMA jusqu'à l'obtention de la valeur du pH où les chaînes du polymère sont totalement étendues. On arrêtera l'addition de soude à pH=8,1. La solution obtenue est stabilisée une heure sous agitation.

Le tableau 11 rassemble les valeurs de la viscosité réduite du PMA de concentration 30 mg/100 ml ($3,5 \cdot 10^{-3}$ M) à pH=8,1 et à différents rapports molaires $R=\beta\text{CD}/\text{PMA}$ ou $R=\text{glucose}/\text{PMA}$.

| Glucose | | | β-Cyclodextrine | | |
|-----------------------------|------|-----------------------|-----------------------------|------|-----------------------|
| [Glu](mol.l ⁻¹) | R/7 | η(cm ³ /g) | [βCD](mol.l ⁻¹) | R | η(cm ³ /g) |
| 0 | 0 | 920 | 0 | 0 | 915 |
| 5.2 10 ⁻³ | 0.21 | 900 | 3.9 10 ⁻⁴ | 0.11 | 877 |
| 1.2 10 ⁻² | 0.49 | 879 | 1.2 10 ⁻³ | 0.34 | 833 |
| 2.2 10 ⁻² | 0.90 | 854 | 2.4 10 ⁻³ | 0.69 | 791 |
| 3.6 10 ⁻² | 1.47 | 827 | 3.6 10 ⁻³ | 1.03 | 757 |
| 5.4 10 ⁻² | 2.20 | 808 | 5.1 10 ⁻³ | 1.46 | 721 |
| 8.5 10 ⁻² | 3.47 | 798 | 6.9 10 ⁻³ | 1.97 | 696 |

Tableau 11 : Valeurs de la viscosité réduite du PMA à pH=8,1 en fonction de R (cas de la βCD) ou R/7 (cas du glucose).

Les courbes $\eta = f(R/7)$ et $\eta = f(R)$ sont représentées sur la figure 14.

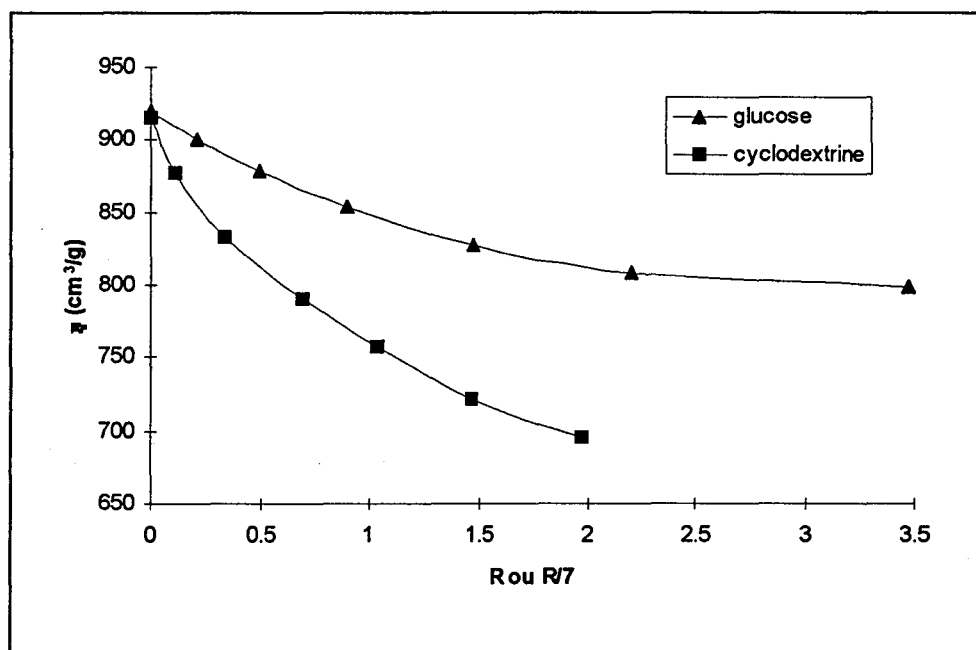


Figure 14 : Evolution de la viscosité réduite du PMA à pH=8,1 en fonction de R (cas de la βCD) ou R/7 (cas du glucose).

On constate qu'en milieu basique, la viscosité du polymère diminue à la fois en présence de β-cyclodextrine et en présence de glucose, ce qui n'était pas le cas en milieu acide (figure 9).

En milieu basique, les chaînes de polymère sont étendues et l'accessibilité des groupes méthyles par la β-cyclodextrine est plus grande. Celle-ci peut donc encapsuler sans aucune

difficulté les groupes méthyles et former des liaisons hydrogène intramoléculaires conduisant à la diminution de la viscosité observée.

En présence de glucose, la baisse de la viscosité n'est due qu'à la formation de liaisons H intramoléculaires.

L'influence du temps sur la viscosité a également été étudiée à ce pH. La figure 15 montre l'évolution de la viscosité réduite du PMA en présence d'un large excès de glucose et de β -cyclodextrine en fonction du temps.

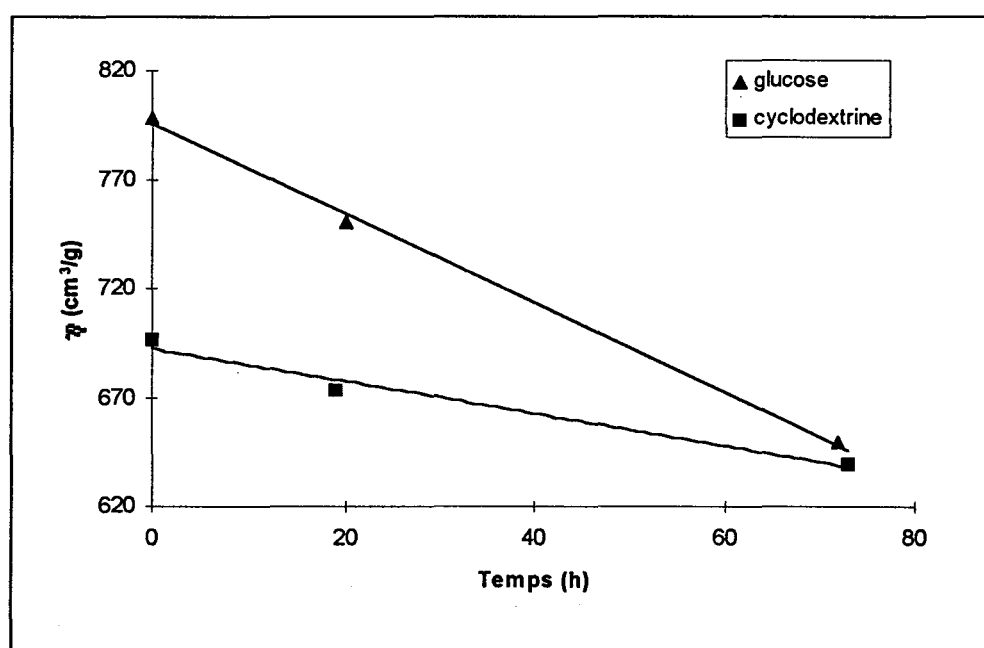


Figure 15 : Evolution de la viscosité réduite du PMA ($3,5 \cdot 10^{-3}$ M) à pH=8,1 en présence de glucose ($8,5 \cdot 10^{-2}$ M) et de β -cyclodextrine ($6,9 \cdot 10^{-3}$ M) en fonction du temps.

La viscosité diminue à la fois pour les polymères en présence d'excès de glucose et en présence d'excès de β -cyclodextrine avec le temps.

Là aussi, on peut supposer des réarrangements au sein des solutions de polymères : En présence de glucose comme en présence de cyclodextrine, les viscosités diminuent en fonction du temps, suggérant la formation lente de nouvelles liaisons hydrogène intramoléculaires.

4. Etude fluorimétrique

Une étude de variation de la polarité a été menée en utilisant le pyrène comme sonde fluorescente. Ce dernier a la particularité de posséder dans son spectre de fluorescence deux raies dont le rapport est une indication de la polarité de son environnement. Les deux raies sont notées $I_1=374$ nm et $I_3=385$ nm avec comme longueur d'onde d'excitation 335 nm.. Lorsque l'environnement est polaire, le rapport I_3/I_1 est inférieur à 1, tandis qu'il est supérieur à 1 dans un environnement apolaire.

Les tableaux 12 et 13 rassemblent respectivement les valeurs des différentes intensités de fluorescence caractéristiques du pyrène solubilisé dans une solution de PMA de concentration 25 mg/100 ml d'eau ($2,91 \cdot 10^{-3}$ M) et avec différents rapports molaires $R=\beta\text{CD}/\text{PMA}$ et $R=\text{glucose}/\text{PMA}$.

| [Glu] (mol.l ⁻¹) | R/7 | I ₁ | I ₃ | I ₃ /I ₁ |
|---------------------------------|------|----------------|----------------|--------------------------------|
| 0 | 0 | 93 | 111 | 1.19 |
| $6,3 \cdot 10^{-3}$ | 0.31 | 86 | 103 | 1.2 |
| $2,1 \cdot 10^{-2}$ | 1.01 | 80 | 95 | 1.19 |
| $4,4 \cdot 10^{-2}$ | 2.18 | 70 | 82 | 1.17 |
| $7,6 \cdot 10^{-2}$ | 3.73 | 61 | 71 | 1.16 |

Tableau 12 : Valeurs des intensités de fluorescence du pyrène solubilisé dans une solution de PMA en fonction de R/7 (influence du glucose).

| [βCD] (mol.l ⁻¹) | R | I ₁ | I ₃ | I ₃ /I ₁ |
|---------------------------------|-------|----------------|----------------|--------------------------------|
| 0 | 0 | 87 | 104 | 1.19 |
| $6,4 \cdot 10^{-4}$ | 0.22 | 63 | 70 | 1.11 |
| $1,5 \cdot 10^{-3}$ | 0.515 | 55 | 56 | 1.02 |
| $2,3 \cdot 10^{-3}$ | 0.78 | 55 | 55 | 1.00 |
| $3,2 \cdot 10^{-3}$ | 1.12 | 62 | 62 | 1.00 |
| $4,4 \cdot 10^{-3}$ | 1.52 | 76 | 76 | 1.00 |
| $6,3 \cdot 10^{-3}$ | 2.165 | 101 | 101 | 1.00 |
| $1,0 \cdot 10^{-2}$ | 3.445 | 148 | 149 | 1.01 |
| $1,5 \cdot 10^{-2}$ | 5.155 | 200 | 206 | 1.03 |

Tableau 13 : Valeurs des intensités de fluorescence du pyrène solubilisé dans une solution de PMA en fonction de R (influence de la β-cyclodextrine).

La figure 16 montre l'évolution des différentes intensités de fluorescence en fonction de R (cas de la β -cyclodextrine) ou R/7 (cas du glucose).

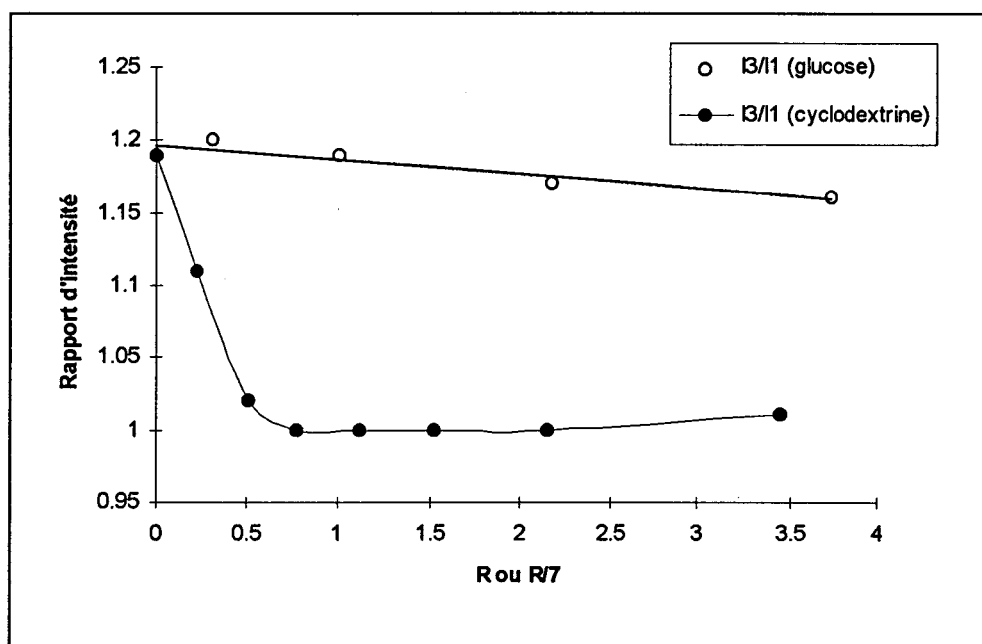


Figure 16 : Evolution des différentes intensités de fluorescence en fonction de R ou R/7 pour le PMA.

En présence de glucose, le rapport I_3/I_1 montre que la polarité reste à peu près stable. En présence de β -cyclodextrine, la polarité augmente jusqu'à $R=0,6$ (15 % environ de $R=0$ à $R=0,6$) pour atteindre un rapport I_3/I_1 égal à 1, puis a légèrement tendance à diminuer ensuite. On constate également que l'évolution de la polarité en fonction de R est parallèle à celle de la viscosité (figure 9).

Comme nous l'avons montré par ailleurs, la β -cyclodextrine (et aussi le glucose, mais de manière moins sensible) forme des liaisons hydrogène intramoléculaires avec les groupes carboxyles du PMA, provoquant une « ouverture » de la structure compacte. Les molécules de pyrène situées à l'intérieur des poches hydrophobes rentrent alors en contact avec l'eau, d'où l'augmentation de la polarité. Les molécules de β -cyclodextrine encapsulent ensuite le pyrène, réduisant à nouveau sa mobilité, d'où une diminution de la polarité.

CONCLUSION

Nous avons montré l'encapsulation des groupes méthyles de PMA par la β -cyclodextrine à pH acide comme à pH basique. Cependant, bien que la cyclodextrine annule ΔG , on observe une transition conformationnelle induite par le pH. La structure compacte n'a donc pas été détruite : on montre que les associations hydrophobes sont simplement remplacées par un réseau de liaisons hydrogène intramoléculaires entre les groupes carboxyliques du PMA et les groupes hydroxyles de la β -cyclodextrine. De ce fait, la différence observée en l'absence de cyclodextrine, dans l'évolution du pK en fonction du taux d'ionisation α , pour les formes compacte et étendue du PMA est très atténuée en présence de cyclodextrine. La différence d'acidité apparente des groupes carboxyliques dans les formes compacte et étendue disparaît également en présence de cyclodextrine. Comme le traitement mathématique des données qui conduit à la détermination de ΔG repose sur cette différence, il n'est pas étonnant que ΔG puisse apparemment s'annuler, même si une transition conformationnelle induite par l'ionisation reste possible. Il n'est pas inutile, à ce propos, de rappeler que dans la théorie de base, ΔG correspond à une transition entre conformères non chargés. Les taux d'ionisation α_i et α_f sont peu sensibles à la présence de β -cyclodextrine lorsque le rapport molaire $\beta CD/PMA$ est suffisamment faible pour que l'on puisse encore les déterminer.

A pH acide (environ 5), l'ajout de cyclodextrine est capable de provoquer une contraction suivie d'une dilatation du volume hydrodynamique. On assiste à un phénomène de « respiration ». A pH basique (environ 8), la cyclodextrine induit uniquement une diminution de viscosité bien que l'encapsulation devrait l'accroître ; on pourrait imaginer que l'encapsulation provoque aussi l'écrantage des charges en plus de la formation d'un réseau de liaisons hydrogène.

D'autre part, nous avons observé que le paramètre temps joue un rôle. Il semblerait en effet que les liaisons hydrogène et l'encapsulation se poursuivent lentement. Ce phénomène n'est pas sans rappeler la gélatinisation suivie de la rétrogradation de l'amidon.

Contrairement au cas de l'étude précédente réalisée sur le poly(4-styrènesulfonate) de sodium (quatrième partie), le spectre d'analyse thermogravimétrique (ATG) du PMA présente une température de début de décomposition proche de celle de la β -cyclodextrine (330-335°C). Quant aux spectres des mélanges polymère + β CD (mélange physique et complexe préparé par lyophilisation), ils présentent dans les deux cas une température de décomposition similaire et légèrement inférieure à celle de la β -cyclodextrine (295-300°C). Il est, par conséquent, difficile de conclure à partir de cette méthode.

Nous allons maintenant terminer ce travail par l'étude des interactions entre la β -cyclodextrine et les polymères PMA-PMB. La deuxième partie a montré que l'incorporation de groupes aromatiques sur le PMA modifiait de façon importante la conformation des polymères obtenus ; on peut donc s'attendre à des différences de comportement de la β -cyclodextrine vis-à-vis de ceux-ci par rapport au PMA.

REFERENCES

- [1] A. Aversa, W. Etter, R. I. Gelb et L. M. Schwartz : *J. Incl. Phenom.*, **1990**, Vol. 9, p. 277.
- [2] B. Martel : « Estérolyse Catalysée par la Cyclodextrine Associée à la Poly(vinylamine) et ses Dérivés Benzylés », Thèse de doctorat, Université des Sciences et Technologies de Lille 1, **1993**.
- [3] G. Wenz et B. Keller : *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1992**, Vol. 31, p. 197.

SIXIEME PARTIE :

**Interactions entre la β -cyclodextrine
et les copolymères PMA-PMB**

INTRODUCTION

Dans la cinquième partie, nous avons démontré l'encapsulation des groupes méthyles du PMA par la β -cyclodextrine. L'inclusion s'accompagnant de la formation d'un réseau de liaisons hydrogène intramoléculaires entre les groupes carboxyliques du polymère et les groupes hydroxyles de la β -cyclodextrine, la conformation du PMA reste compacte en milieu acide. La transition conformationnelle induite par le pH a toujours lieu. La différence provient de l'origine de la compacité, à savoir que les associations hydrophobes sont remplacées lors de l'encapsulation par le réseau de liaisons hydrogène intramoléculaires.

Nous avons montré dans la deuxième partie a montré que l'incorporation de groupes aromatiques dans le PMA modifiait de façon importante la conformation des polymères obtenus ; on peut donc s'attendre à des différences de comportement de la β -cyclodextrine vis-à-vis de ceux-ci par rapport au PMA.

Comme pour le PMA, nous ferons l'étude à pH acide et à pH basique où les polymères PMA-PMB présentent respectivement une structure compacte et étendue.

Tout au long de cette partie et chaque fois qu'il sera intéressant ou utile de le faire, nous comparerons les copolymères PMA-PMB avec le PMA étudié dans la partie précédente.

1. Etude potentiométrique

Dans la cinquième partie, nous avons montré que la formation d'un complexe d'inclusion entre le PMA et la β CD modifiait les paramètres potentiométriques, notamment la constante d'acidité qui augmentait. En comparant les résultats du PMA avec ceux des copolymères PMA-PMB et de petites molécules (cinquième partie), nous devrions pouvoir établir l'encapsulation ou la non encapsulation des copolymères PMA-PMB par la β -cyclodextrine.

L'étude potentiométrique s'effectuera selon le mode opératoire décrit dans la deuxième partie.

1.1. Résultats

Le dosage s'effectue sur une solution de PM15B de concentration 20 mg/100 ml d'eau ($2,02 \cdot 10^{-3}$ M), à laquelle on ajoute une quantité requise de β -cyclodextrine. Le pH des solutions obtenues régresse légèrement (0,1 unité). La figure 1 montre les courbes pK_{app} (pK apparent) en fonction du taux d'ionisation α à différents rapports molaires $R = \beta CD / PM15B$.

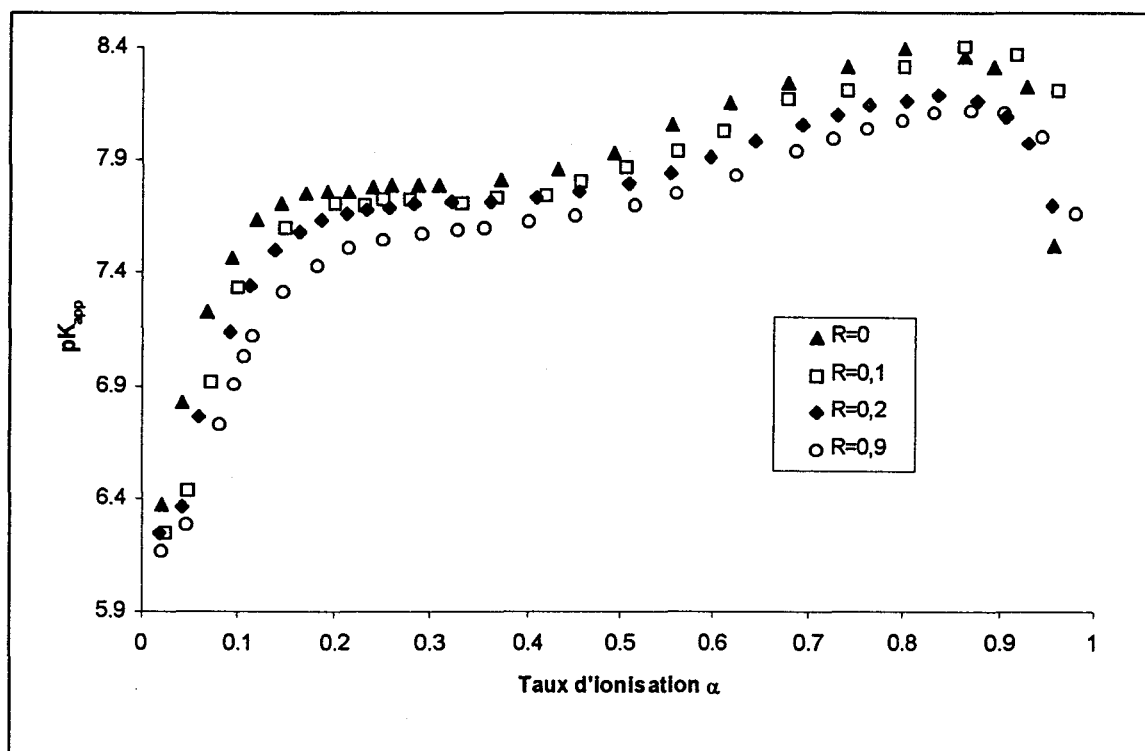


Figure 1 : Courbes $pK_{app} = f(\alpha)$ de mélanges $\beta CD + PM15B$ de différents rapports molaires $R = \beta CD / PM15B$.

Le tableau 1 rassemble les différents paramètres caractéristiques déduits de ces courbes.

| $[\beta\text{CD}]$ (mol.l ⁻¹) | R | ΔG (cal.mol ⁻¹) | α_i | α_f | pK ($\alpha=0$) | pK ($\alpha=0,5$) |
|--|------|--|------------|------------|----------------------|------------------------|
| 0 | 0 | 143 | 0.15 | 0.51 | 5.76 | 7.70 |
| 1.8 10 ⁻⁴ | 0.09 | 136 | 0.15 | 0.51 | 5.71 | 7.69 |
| 4.2 10 ⁻⁴ | 0.21 | 131 | 0.15 | 0.50 | 5.69 | 7.68 |
| 1.8 10 ⁻³ | 0.89 | 121 | 0.16 | 0.47 | 5.65 | 7.67 |

Tableau 1 : Valeurs des différents paramètres potentiométriques de PM15B en fonction de la quantité de β -cyclodextrine ajoutée. R est le rapport molaire $\beta\text{CD}/\text{PM15B}$.

1.2. Interprétation

1.2.1. L'évolution de ΔG

La figure 2 représente l'évolution de l'énergie libre ΔG du processus de transition conformationnelle en fonction du rapport molaire $R=\beta\text{CD}/\text{PM15B}$.

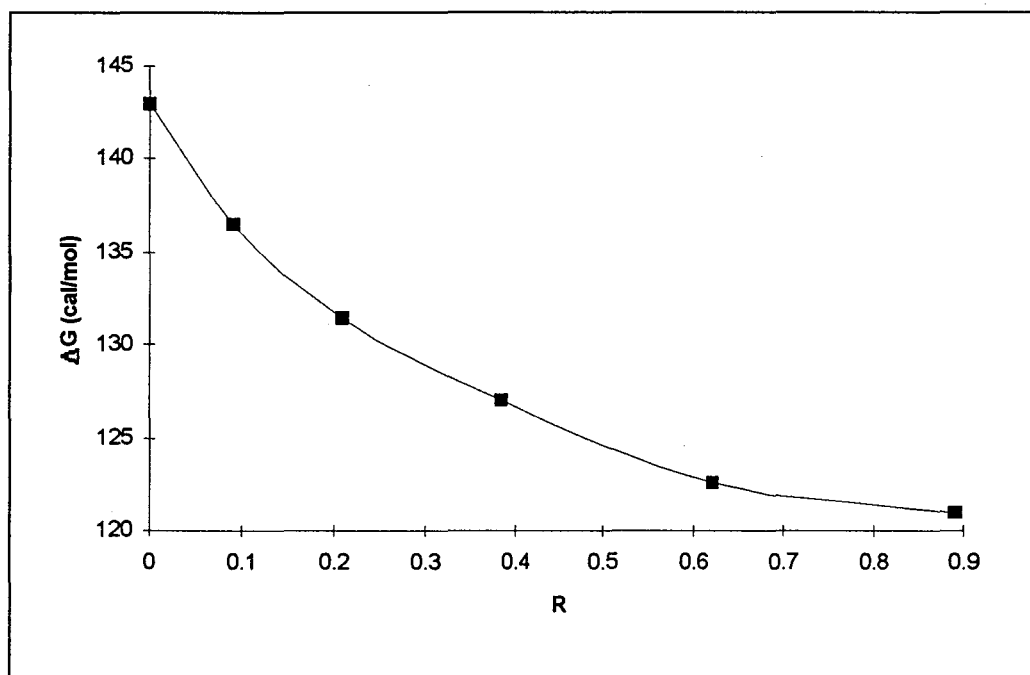


Figure 2 : Evolution de ΔG en fonction du rapport molaire $R=\beta\text{CD}/\text{PM15B}$ de PM15B.

La diminution de ΔG est nettement plus faible (15 % environ) que dans le cas du PMA (figure 3 de la cinquième partie). Ce résultat n'est pas surprenant, car la structure de ce polymère est tellement compacte qu'aucune molécule de taille importante (le pyrène comme on l'a vu dans

la deuxième partie et ici la β -cyclodextrine) ne peut y pénétrer. Les molécules de β -cyclodextrine s'agglomèrent probablement le long des chaînes du PM15B.

D'autre part, comme on a pu le constater dans la cinquième partie, l'évolution de ΔG ne reflète pas forcément l'évolution de la structure compacte.

1.2.2. L'évolution des différents taux d'ionisation

Les différents taux d'ionisation varient assez peu en présence de β -cyclodextrine (tableau 1). Ce résultat est compatible avec la non encapsulation des groupes aromatiques du PM15B par la β -cyclodextrine.

1.2.3. L'évolution des pK

On constate d'abord que le pK à ionisation nulle et à la demi-équivalence ont une évolution parallèle lors de l'addition de β -cyclodextrine (tableau 1). Ce cas s'apparente à celui de l'acide propionique ou de l'acide acétique (figure 5 de la cinquième partie). On peut donc en conclure là aussi à la formation de liaisons hydrogène entre la β -cyclodextrine et le polymère PM15B.

2. Etude ^1H RMN

La spectroscopie ^1H RMN est une excellente méthode pour démontrer l'inclusion ou la non inclusion. On note R le rapport molaire $\beta\text{CD}/\text{polymère}$ et $\Delta\delta$ la différence δ (βCD seule) - δ (βCD complexée). Nous ferons une étude à la fois à pH acide où les groupes benzyles sont peu accessibles du fait de la structure compacte, puis à pH basique où la structure des polymères est étendue et les groupes aromatiques facilement accessibles.

2.1. Etude à pH naturel (≈ 5)

Les résultats de $\Delta\delta$ de plusieurs mélanges $\beta\text{CD} + \text{PM5B}$ et $\beta\text{CD} + \text{PM15B}$ sont rassemblés dans les tableaux ci-dessous. La concentration en βCD est fixée à 10^{-2} M dans D_2O .

■ Pour PM5B, les résultats sont rassemblés dans le tableau 2.

| Proton | $\Delta\delta$ (ppm) | |
|----------------|----------------------|--------|
| | R=0,15 | R=1,00 |
| H ₁ | -0.005 | -0.00 |
| H ₂ | 0.005 | 0.005 |
| H ₃ | -0.01 | 0.00 |
| H ₄ | 0.00 | 0.00 |
| H ₅ | -0.005 | -0.005 |
| H ₆ | 0.005 | 0.005 |

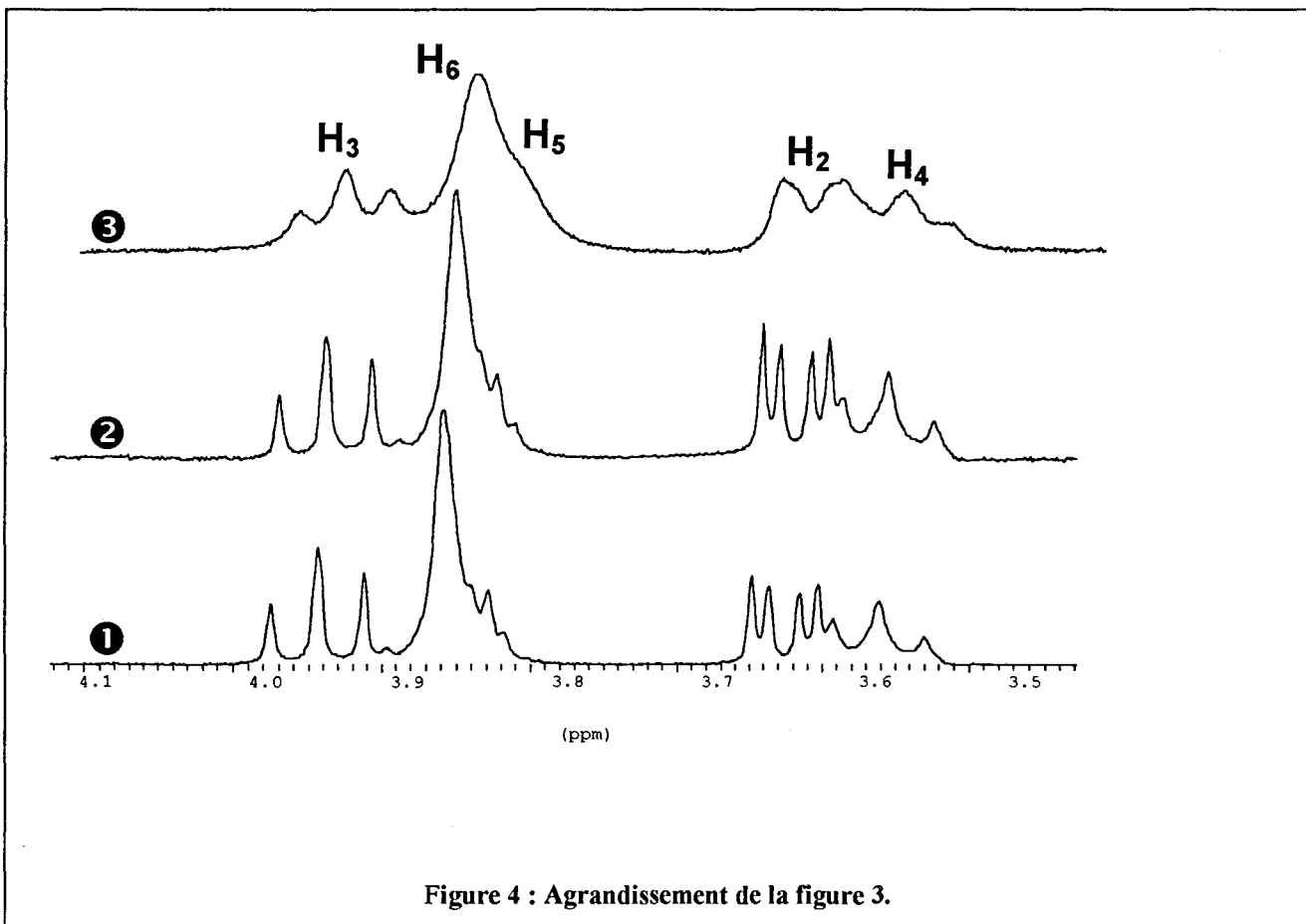
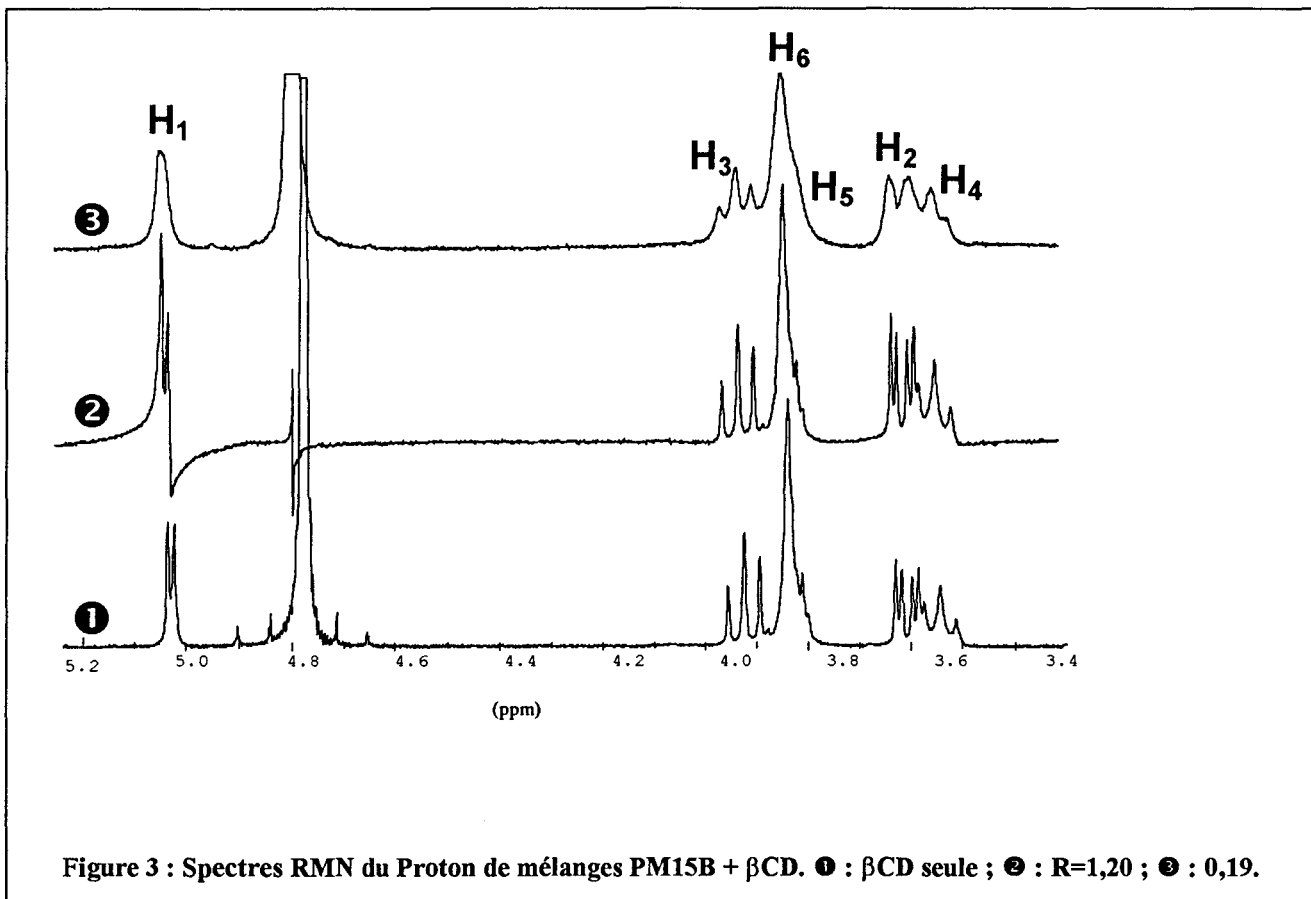
Tableau 2 : Variation des déplacements chimiques des pics des protons de la β -cyclodextrine en présence de PM5B.

■ Pour PM15B, les résultats sont rassemblés dans le tableau 3.

| Proton | $\Delta\delta$ (ppm) | |
|----------------|----------------------|--------|
| | R=0,19 | R=1,20 |
| H ₁ | -0.005 | -0.00 |
| H ₂ | -0.00 | -0.00 |
| H ₃ | -0.01 | -0.005 |
| H ₄ | 0.00 | 0.00 |
| H ₅ | -0.005 | 0.00 |
| H ₆ | -0.005 | -0.00 |

Tableau 3 : Variation des déplacements chimiques des pics des protons de la β -cyclodextrine en présence de PM15B.

Par exemple, les figures 3 et 4 représentent les spectres RMN ¹H de mélanges β CD-PM15B à pH \approx 5 avec R=1,2 et R=0,19.



Dans aucun cas, on n'observe de variation appréciable du déplacement chimique, quel que soit le proton de la β -cyclodextrine considéré.

On pourrait donc, d'après ce résultat, penser qu'il n'y a pas d'inclusion des groupes méthyles ou benzyles des copolymères par la β -cyclodextrine. Mais si, comme on l'a montré dans le cas du PMA, seuls les groupes méthyles sont encapsulés par la cyclodextrine, ils sont sans doute trop petits pour induire un déplacement important des pics des protons H_3 et H_5 . Un spectre 2D NOESY pourrait nous permettre de vérifier cela : si des taches de corrélation apparaissent entre H_3 ou H_5 et les protons des groupes méthyles ou benzyles, alors l'inclusion sera démontrée.

Les figures 5 et 6 représentent les spectres RMN 2D NOESY de PM5B et PM15B en présence de β -cyclodextrine et à pH acide.

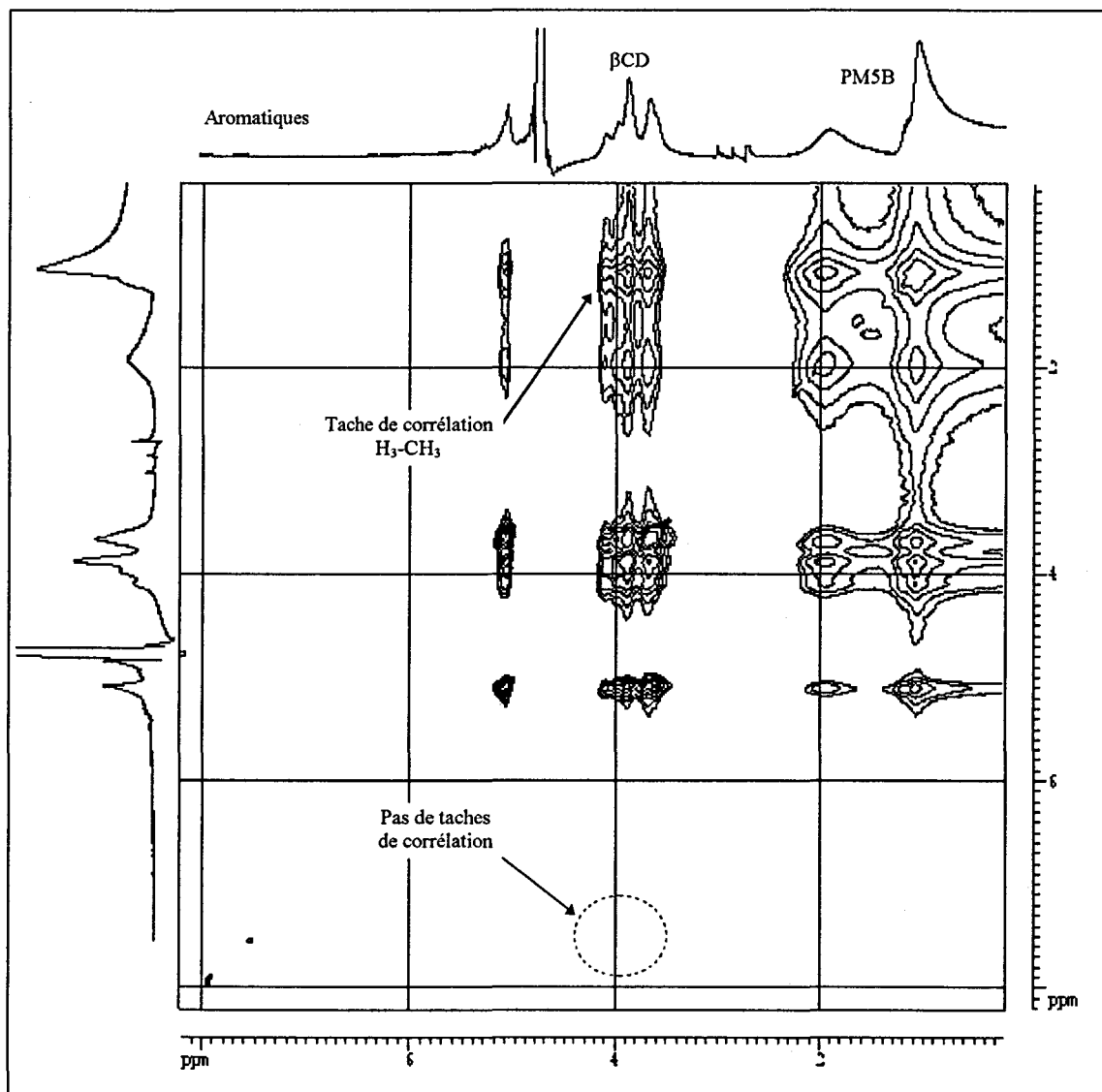


Figure 5 : Spectre RMN 2D NOESY du mélange β -cyclodextrine + PM5B acide avec $R=0,10$.

Le spectre ne montre aucune tache de corrélation entre les protons aromatiques de PM5B et les protons de la β -cyclodextrine (zone en pointillés sur la figure), montrant bien qu'ils ne rentrent pas en contact. C'est une preuve supplémentaire de la forte compacité de la structure à pH acide. Par contre, on peut distinguer des taches de corrélation entre les protons des groupes méthyles et les protons de la β -cyclodextrine, en particulier H₃, démontrant ainsi l'encapsulation de ces groupes. Les taches de corrélation entre les protons des groupes CH₂ des chaînes et les protons de la β -cyclodextrine sont expliquées par la proximité spatiale entre le polymère et la β -cyclodextrine.

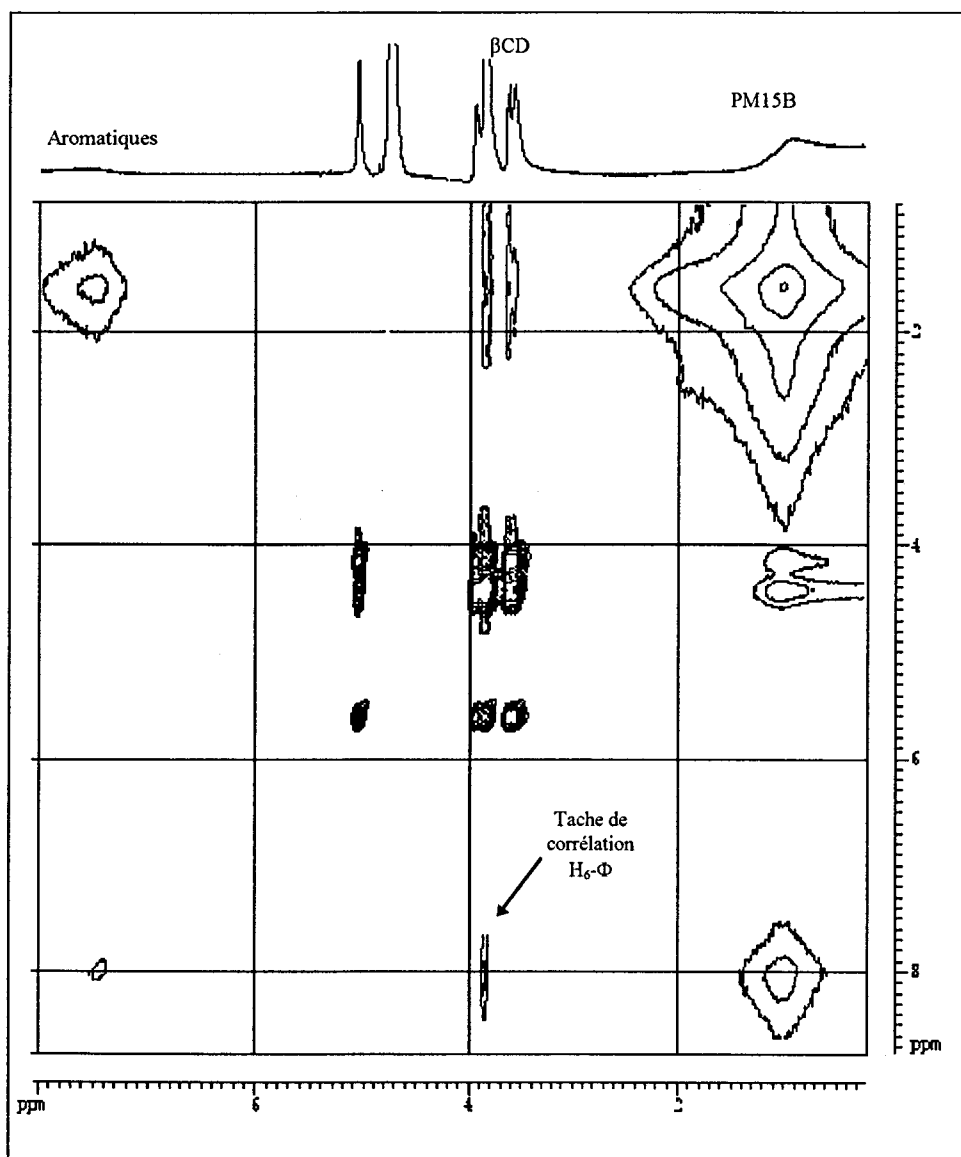


Figure 6 : Spectre RMN 2D NOESY du mélange β -cyclodextrine + PM15B acide avec R=0,10. Φ désigne les protons aromatiques de PM15B.

Il n'existe qu'une tache de corrélation nette entre les protons aromatiques du PM15B et les protons H₆ de la β -cyclodextrine, indiquant une proximité spatiale entre le polymère et la

cyclodextrine. Ce résultat confirme qu'il n'y a pas d'inclusion et que les molécules de β -cyclodextrine sont agglomérées à l'interface polymère-eau.

2.2. Etude à pH « basique » ($\cong 7$)

Les polymères sont en fait préalablement solubilisés dans une solution de soude NaOH à 0,05 M, puis les solutions obtenues sont ensuite congelées et lyophilisées. Les polymères sont donc obtenus sous forme de sel. Seuls les spectres RMN 2D NOESY ont été effectués. La concentration en β CD est toujours fixée à 10^{-2} M dans D_2O .

Les spectres RMN 2D NOESY de PM5B et PM15B à pH basique sont représentés sur les figures 7 et 8.

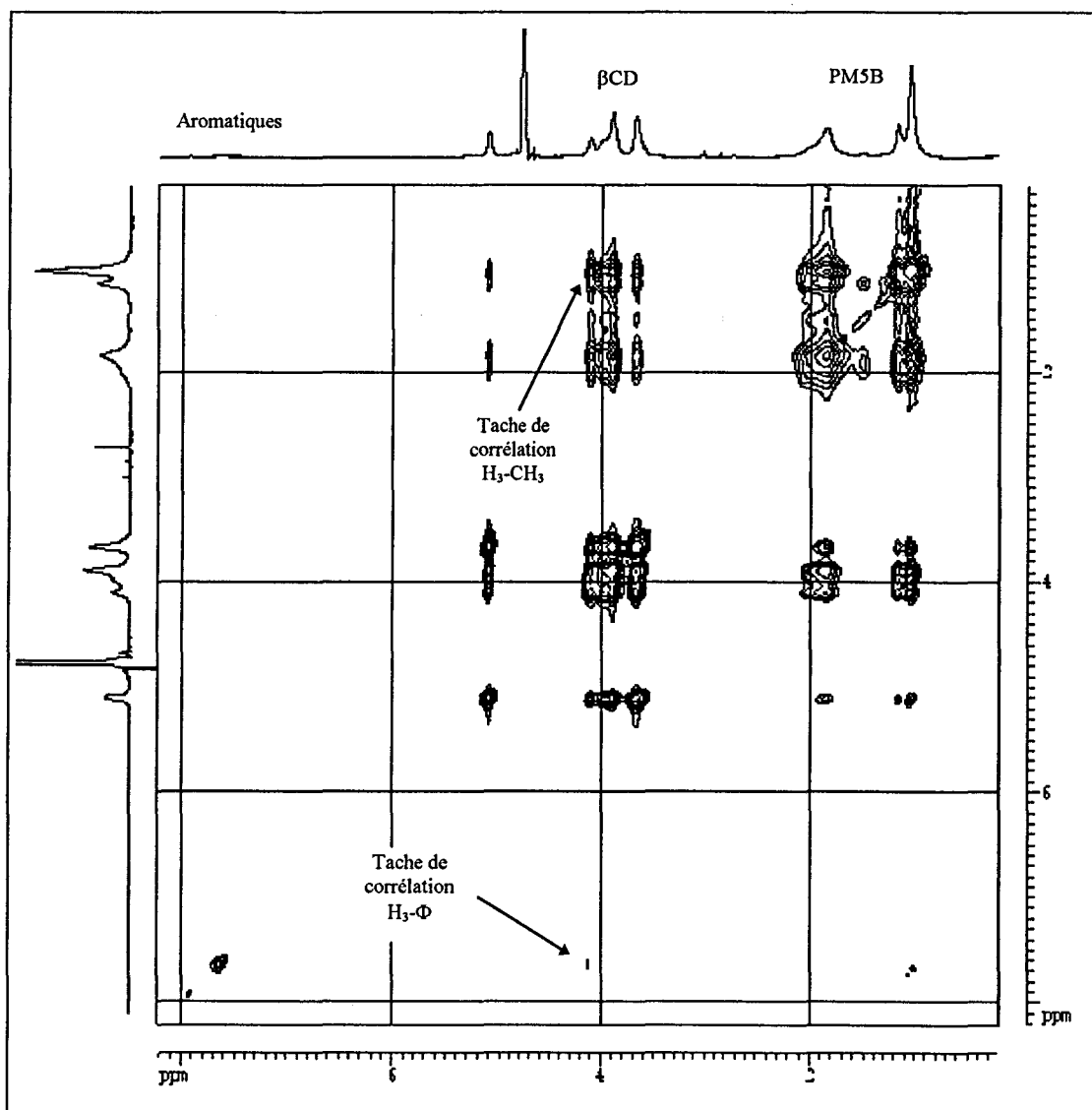


Figure 7 : Spectre RMN 2D NOESY du mélange β -cyclodextrine + PM5B basique avec $R=0,10$.

Le spectre montre des taches de corrélation entre les protons des groupes méthyles du PM5B et les protons de la β -cyclodextrine, en particulier H₃, démontrant ainsi l'encapsulation de ces groupes. Une petite tache de corrélation (faible du fait du bas taux de groupes benzyles) est visible entre les protons aromatiques et les protons H₃ de la β -cyclodextrine. Les taches de corrélation entre les protons des groupes CH₂ des chaînes et les protons de la β -cyclodextrine sont expliquées par la proximité spatiale entre le polymère et la β -cyclodextrine.

Par rapport au spectre réalisé à pH acide, les taches de corrélation sont plus nettes et l'encapsulation plus visible.

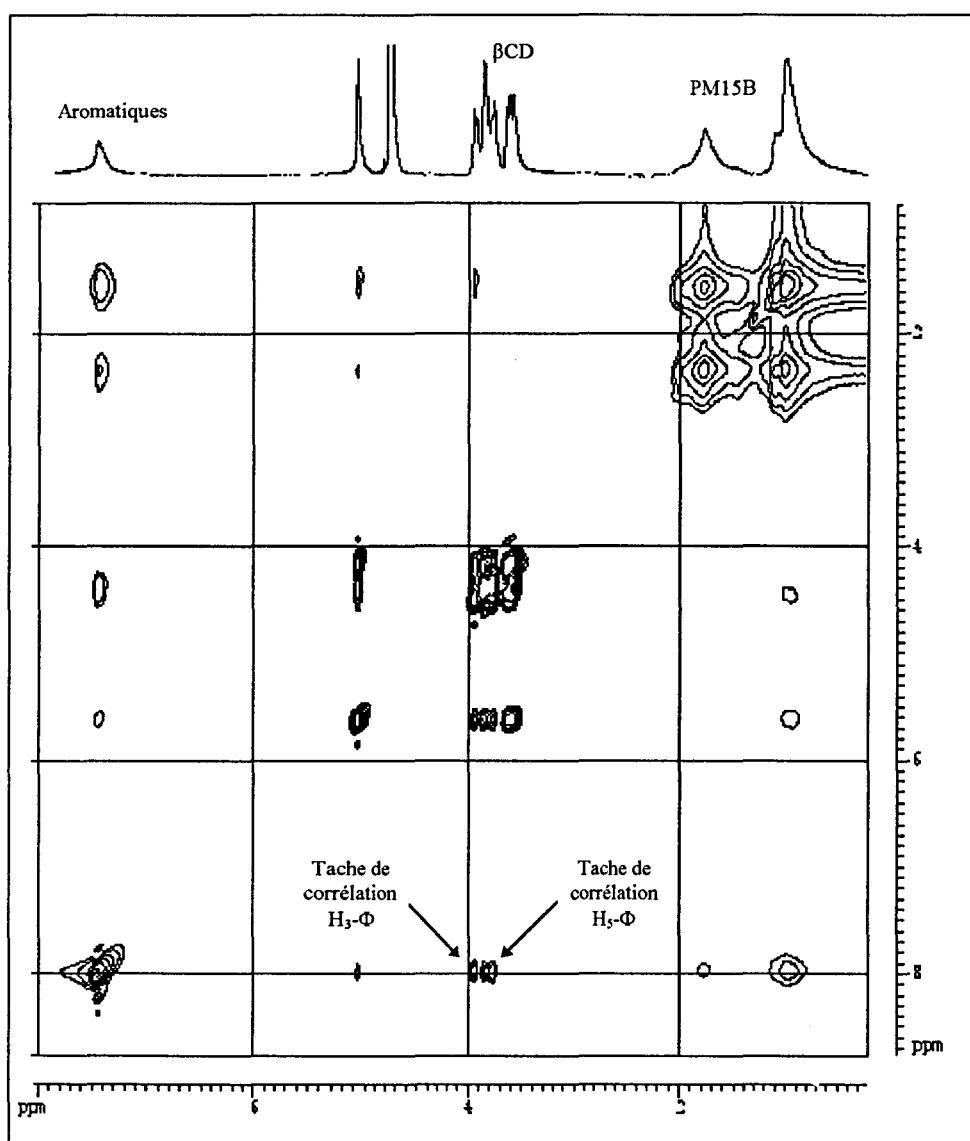


Figure 8 : Spectre RMN 2D NOESY du mélange β -cyclodextrine + PM15B basique avec R=0,10.

Φ désigne les protons aromatiques de PM15B.

Le spectre montre des taches de corrélation entre les protons aromatiques du PM15B et les protons H₃ et H₅ de la β-cyclodextrine, démontrant ainsi indiscutablement l'encapsulation de ces groupes.

Par rapport au spectre réalisé à pH acide qui montrait l'absence d'inclusion des groupes aromatiques, l'encapsulation est parfaitement visible en milieu basique où les chaînes de polymère sont totalement étendues.

3. Etude dichroïque

Rappelons que lorsqu'une molécule optiquement active possède un chromophore, les deux composantes gauche et droite circulairement polarisées d'une onde électromagnétique linéairement polarisée sont différemment absorbées, c'est-à-dire $\epsilon_D \neq \epsilon_G$. On observe alors l'apparition de dichroïsme circulaire.

Dans les cas où la molécule n'est pas optiquement active, il n'y a pas de dichroïsme circulaire. Mais dans le cas d'un complexe d'inclusion entre une molécule achirale et la β-cyclodextrine qui est optiquement active, on peut induire de l'activité optique au sein de la molécule. L'exemple des petites molécules et du NaPSS étudiés dans la quatrième partie l'a bien montré.

Les courbes dichroïques représentent les variations de ψ qui est l'angle de rotation ou ellipticité en fonction de la longueur d'onde λ d'absorption caractéristique du chromophore. On obtient en général des courbes de même allure que les courbes d'absorption.

Plus précisément, on enregistre le spectre de dichroïsme d'un mélange (βCD + polymère). On calcule ensuite la différence entre le spectre du mélange et les spectres des composés seuls. Cette différence correspond à de l'induction d'activité optique. On note R le rapport molaire βCD/polymère. Les figures ci-après représenteront à chaque fois ces spectres de différence.

Nous avons seulement effectué l'étude sur le PM15B à la fois à pH=5 et à pH=7.

3.1. Etude à pH naturel (≈ 5)

Le spectre dichroïque (de différence) du mélange PM15B + β CD ($[\text{PM15B}] = 1,7 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, $[\beta\text{CD}] = 8,3 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, et $R = 4,9$) est représenté sur la figure 9.

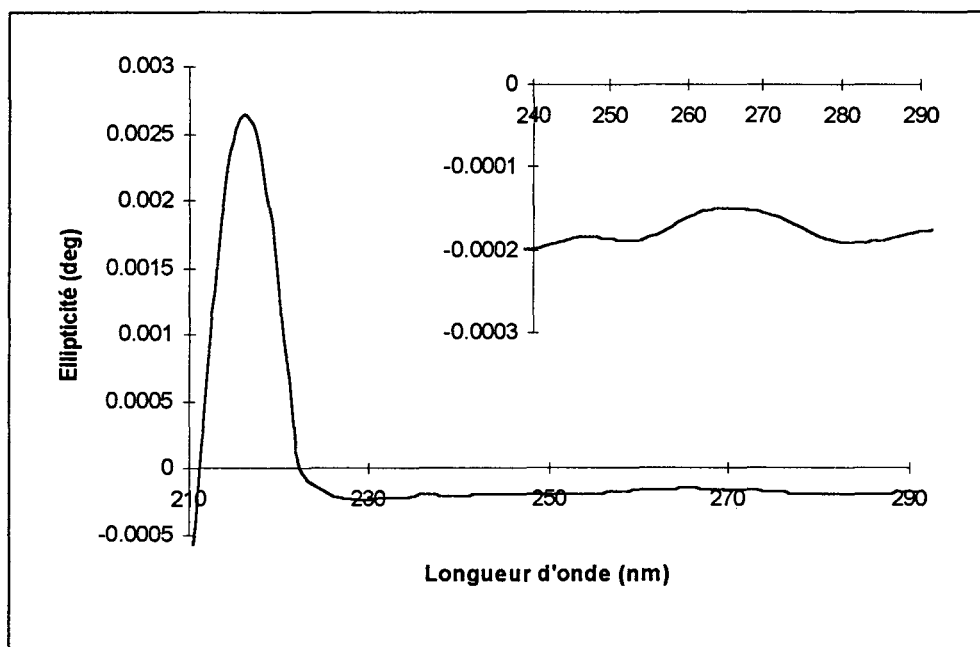


Figure 9 : Spectre de dichroïsme circulaire du mélange β CD + PM15B avec $R = 4,9$.

Un pic apparaît sur ce spectre vers 215 nm. Ce pic correspond en UV à l'absorption de la partie acide du polymère. Un agrandissement de la zone [240-290 nm] montre l'absence de pic véritable, l'ellipticité étant relativement faible par rapport au reste du spectre. On peut donc en conclure que la β -cyclodextrine n'encapsule pas les groupes benzyles du PM15B en milieu acide.

3.2. Etude à pH « basique » (7,0)

Le spectre dichroïque (de différence) du mélange PM15B + β CD ($[\text{PM15B}] = 1,7 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, $[\beta\text{CD}] = 8,3 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, et $R = 4,9$) à $\text{pH} = 7,0$ est représenté sur la figure 10. Le pH a été obtenu en ajoutant de la soude à 0,05 M. La solution est laissée une heure sous agitation et le spectre est effectué après contrôle du pH.

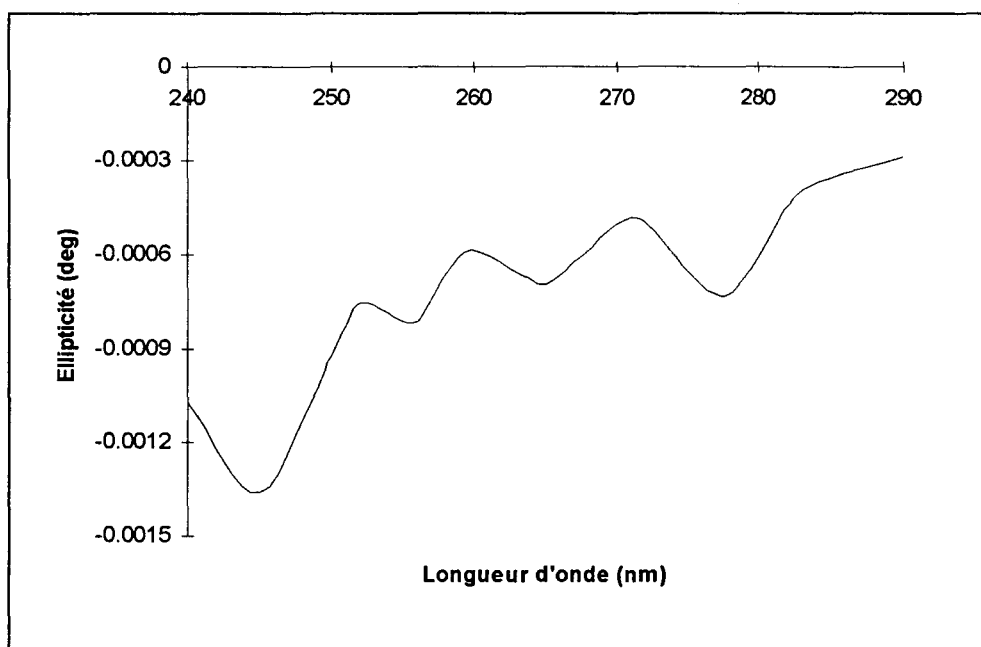


Figure 10 : Spectre de dichroïsme circulaire de l'adduit β CD-PM15B avec $R=4,9$ et à $\text{pH}=7,0$.

Le spectre est ici très différent de celui effectué en milieu acide. On voit l'apparition très nette de quatre pics : un pic vers 245 nm, un pic vers 255 nm, un pic vers 265 nm et un pic vers 278 nm. Ces pics correspondent en UV à l'absorption des groupes aromatiques du polymère. On en conclut donc que les groupes aromatiques de PM15B sont encapsulés par la β -cyclodextrine, ce qui confirme notamment les résultats de RMN 2D.

4. Etude viscosimétrique

Afin de mieux comprendre les interactions entre le polymère et la β -cyclodextrine, on va effectuer une étude viscosimétrique de nos polymères en présence de β -cyclodextrine, et la comparer avec une étude en présence de glucose, molécule modèle de la β -cyclodextrine.

4.1. Etude viscosimétrique à pH naturel ($\cong 5$)

L'utilisation d'un pH tampon est évitée pour éviter le repliement des chaînes de polymère provoquée par la présence de sel. Trois polymères seront étudiés : PM1B, PM5B et PM15B.

Le tableau 4 rassemble les valeurs de la viscosité réduite de PM1B de concentration 50,5 mg/100 ml ($5,8 \cdot 10^{-3}$ M) à différents rapports molaires $R=\beta\text{CD}/\text{PM1B}$ ou $R=\text{glucose}/\text{PM1B}$.

| Glucose | | | β -Cyclodextrine | | |
|---------------------|------|------------------------------|----------------------------------|------|------------------------------|
| [Glu](mol/l) | R/7 | $\eta(\text{cm}^3/\text{g})$ | $[\beta\text{CD}](\text{mol/l})$ | R | $\eta(\text{cm}^3/\text{g})$ |
| 0 | 0 | 39 | 0 | 0 | 40 |
| $5.4 \cdot 10^{-3}$ | 0.13 | 40 | $3.9 \cdot 10^{-4}$ | 0.07 | 38 |
| $1.2 \cdot 10^{-2}$ | 0.30 | 39 | $9.6 \cdot 10^{-4}$ | 0.17 | 37 |
| $2.1 \cdot 10^{-2}$ | 0.52 | 38 | $1.8 \cdot 10^{-3}$ | 0.31 | 38 |
| $3.9 \cdot 10^{-2}$ | 0.96 | 39 | $2.8 \cdot 10^{-3}$ | 0.48 | 43 |
| $7.2 \cdot 10^{-2}$ | 1.77 | 41 | $4.1 \cdot 10^{-3}$ | 0.71 | 47 |
| | | | $5.9 \cdot 10^{-3}$ | 1.02 | 51 |

Tableau 4 : Valeurs de la viscosité réduite du PM1B en fonction de R (cas de la βCD) ou R/7 (cas du glucose).

Le tableau 5 rassemble les valeurs de la viscosité réduite de PM5B de concentration 40,5 mg/100 ml ($4,5 \cdot 10^{-3}$ M) à différents rapports molaires $R=\beta\text{CD}/\text{PM5B}$ ou $R=\text{glucose}/\text{PM5B}$.

| Glucose | | | β -Cyclodextrine | | |
|---------------------|------|------------------------------|----------------------------------|------|------------------------------|
| [Glu](mol/l) | R/7 | $\eta(\text{cm}^3/\text{g})$ | $[\beta\text{CD}](\text{mol/l})$ | R | $\eta(\text{cm}^3/\text{g})$ |
| 0 | 0 | 38 | 0 | 0 | 36 |
| $4.9 \cdot 10^{-3}$ | 0.16 | 39 | $7.3 \cdot 10^{-4}$ | 0.16 | 32 |
| $1.1 \cdot 10^{-2}$ | 0.35 | 39 | $1.6 \cdot 10^{-3}$ | 0.36 | 35 |
| $2.1 \cdot 10^{-2}$ | 0.67 | 38 | $2.7 \cdot 10^{-3}$ | 0.60 | 52 |
| $3.3 \cdot 10^{-2}$ | 1.05 | 39 | $3.9 \cdot 10^{-3}$ | 0.87 | 64 |
| $5.7 \cdot 10^{-2}$ | 1.81 | 42 | $5.4 \cdot 10^{-3}$ | 1.20 | 73 |
| $8.6 \cdot 10^{-2}$ | 2.73 | 47 | | | |

Tableau 5 : Valeurs de la viscosité réduite du PM5B en fonction de R (cas de la βCD) ou R/7 (cas du glucose).

Le tableau 6 rassemble les valeurs de la viscosité réduite de PM15B de concentration 48 mg/100 ml ($4,8 \cdot 10^{-3}$ M) à différents rapports molaires $R=\beta\text{CD}/\text{PM15B}$ ou $R=\text{glucose}/\text{PM15B}$.

| Glucose | | | β-Cyclodextrine | | |
|---------------------|-------|------------------------------|---------------------|-------|------------------------------|
| [Glu](mol/l) | R/7 | $\eta(\text{cm}^3/\text{g})$ | [βCD](mol/l) | R | $\eta(\text{cm}^3/\text{g})$ |
| 0 | 0 | 21 | 0 | 0 | 22 |
| $6.2 \cdot 10^{-3}$ | 0.185 | 23 | $8.1 \cdot 10^{-4}$ | 0.17 | 23 |
| $1.2 \cdot 10^{-2}$ | 0.36 | 25 | $1.8 \cdot 10^{-3}$ | 0.375 | 24 |
| $2.1 \cdot 10^{-2}$ | 0.625 | 27 | $3.2 \cdot 10^{-3}$ | 0.67 | 26 |
| $4.0 \cdot 10^{-2}$ | 1.19 | 33 | $5.7 \cdot 10^{-3}$ | 1.19 | 29 |
| $5.8 \cdot 10^{-2}$ | 1.73 | 39 | $7.4 \cdot 10^{-3}$ | 1.54 | 31 |
| $8.8 \cdot 10^{-2}$ | 2.62 | 50 | $9.3 \cdot 10^{-3}$ | 1.94 | 35 |
| $1.2 \cdot 10^{-1}$ | 3.57 | 62 | | | |

Tableau 6 : Valeurs de la viscosité réduite du PM15B en fonction de R (cas de la βCD) ou R/7 (cas du glucose).

Les courbes $\eta = f(R/7)$ des trois polymères sont représentées sur la figure 11.

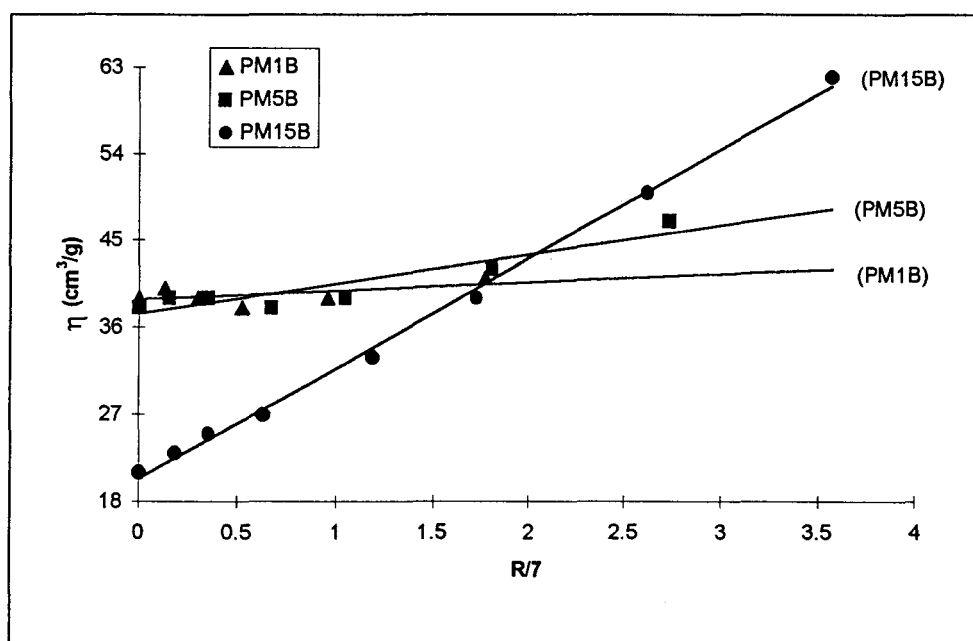


Figure 11 : Evolution de la viscosité réduite du PM1B, PM5B et PM15B en fonction de R/7 (influence du glucose).

Les courbes $\eta = f(R)$ des trois polymères sont représentées sur la figure 12.

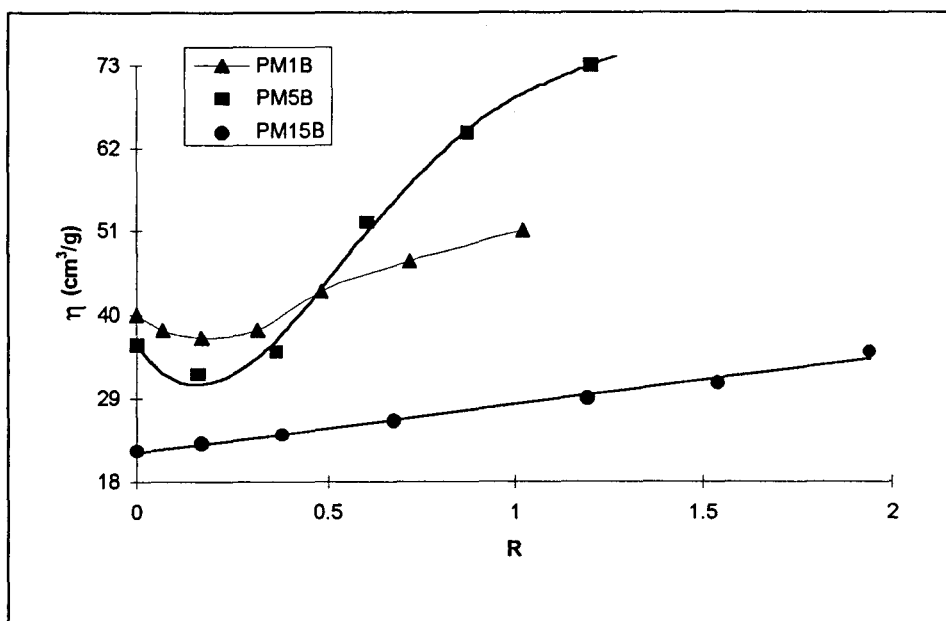


Figure 12 : Evolution de la viscosité réduite du PM1B, PM5B et PM15B en fonction de R (influence de la β -cyclodextrine).

Interprétation :

■ Dans le cas du PM1B et du PM5B, on constate que la viscosité du polymère augmente légèrement quand on ajoute du glucose. En présence de β -cyclodextrine, elle baisse légèrement jusqu'à une valeur de R de l'ordre de 0,15-0,20, puis augmente ensuite. L'évolution globale de la viscosité en fonction de la quantité de β -cyclodextrine ajoutée rappelle celle du PMA.

L'explication proposée dans le cas de PMA en présence de β -cyclodextrine peut également s'appliquer ici. Les groupes méthyles mais aussi les groupes benzyles peuvent a priori être encapsulés par la cyclodextrine. L'inclusion est accompagnée de la formation d'un réseau de liaisons hydrogène intramoléculaires entre les groupes carboxyliques des polymères et les groupes hydroxyles de la β -cyclodextrine. Au-delà de R=0,15-0,20, les liaisons hydrogène intramoléculaires n'imposent plus le repliement des chaînes. En revanche, les molécules de β -cyclodextrine s'agglomèrent le long des chaînes du polymère et font par conséquent augmenter sa masse apparente et par conséquent la viscosité.

La viscosité des copolymères PM1B et PM5B étant beaucoup plus faible au départ que celle du PMA, le degré de repliement des chaînes est donc plus important. Ce qui peut expliquer les faibles variations de la viscosité en présence de glucose. D'autre part, les interactions

hydrophobes $\Phi - \Phi$ sont plus importantes que les interactions $\text{CH}_3 - \text{CH}_3$, et le glucose est incapable de les rompre par des liaisons hydrogène intramoléculaires avec deux groupes carboxyliques. Les molécules de glucose s'agglomèrent donc à proximité de ces derniers, conduisant à une augmentation de la viscosité par effet de masse.

■ Dans le cas du PM15B, on constate que la viscosité du polymère augmente linéairement en présence de β -cyclodextrine et en présence de glucose.

La viscosité au départ est beaucoup plus faible que tous nos autres polymères. Les interactions hydrophobes $\Phi - \Phi$ stabilisent fortement la conformation compacte du polymère. Il devient impossible pour la β -cyclodextrine comme pour le glucose de pénétrer les zones hydrophobes (exactement comme pour le pyrène) pour encapsuler les groupes méthyles ou benzyles. De même, la formation de liaisons hydrogène intramoléculaires avec deux groupes carboxyliques d'une même chaîne n'est pas possible. Les molécules de β -cyclodextrine et de glucose ne peuvent que s'agglomérer à proximité des chaînes du polymère, et la viscosité augmente de façon constante par simple effet de masse.

Il n'y a donc pas d'encapsulation des chaînes latérales du PM15B en milieu acide ; ce résultat confirme nos conclusions précédentes.

Nous avons doublé la concentration en PM15B ($100 \text{ mg}/100 \text{ ml} = 1.0 \cdot 10^{-2} \text{ M}$) et nous avons effectué la même étude viscosimétrique en présence de β -cyclodextrine que précédemment. Le tableau 7 rassemble les valeurs de la viscosité réduite obtenues à différents rapports molaires $R = \beta\text{CD}/\text{PM15B}$.

| $[\beta\text{CD}](\text{mol/l})$ | R | $\eta(\text{cm}^3/\text{g})$ |
|----------------------------------|------|------------------------------|
| 0 | 0 | 15 |
| $5.9 \cdot 10^{-4}$ | 0.06 | 13 |
| $1.2 \cdot 10^{-3}$ | 0.12 | 14 |
| $2.0 \cdot 10^{-3}$ | 0.20 | 14 |
| $3.2 \cdot 10^{-3}$ | 0.32 | 14 |
| $4.9 \cdot 10^{-3}$ | 0.49 | 14 |
| $7.1 \cdot 10^{-3}$ | 0.71 | 15 |

Tableau 7 : Valeurs de la viscosité réduite du PM15B en fonction de R (influence de la β -cyclodextrine).

Les courbes $\eta = f(R)$ du PM15B aux deux concentrations sont représentées sur la figure 13.

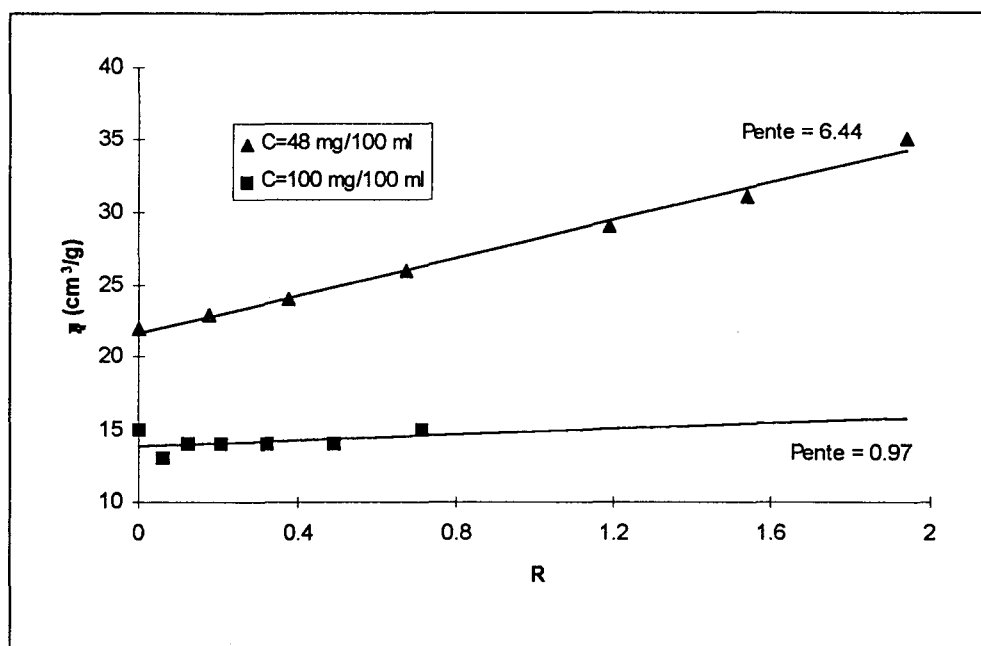


Figure 13 : Evolution de la viscosité réduite du PM15B en fonction de R (influence de la β -cyclodextrine).

La concentration en polymère double et la pente de la droite résultante est divisée par 6. La structure compacte du PM15B le plus concentré est plus stable (l'effet de polyélectrolyte et par conséquent la viscosité de départ sont plus faibles). L'effet de la β -cyclodextrine est donc moins observable.

A titre de comparaison, nous avons effectué une étude viscosimétrique en présence de glucose et de β -cyclodextrine avec le PAA benzylé à 1 % (PA1B) préparé de la même manière que les copolymères PMA-PMB. Le tableau 8 rassemble les valeurs de la viscosité réduite de PA1B de concentration 100 mg/100 ml ($1,4 \cdot 10^{-2}$ M) à différents rapports molaires $R = \beta\text{CD}/\text{PA1B}$ ou $R = \text{glucose}/\text{PA1B}$.

| Glucose | | | β -Cyclodextrine | | |
|---------------------|------|------------------------------|-----------------------------|------|------------------------------|
| [Glu](mol/l) | R/7 | $\eta(\text{cm}^3/\text{g})$ | [βCD](mol/l) | R | $\eta(\text{cm}^3/\text{g})$ |
| 0 | 0 | 1812 | 0 | 0 | 1800 |
| $1.1 \cdot 10^{-2}$ | 0.11 | 1782 | $1.4 \cdot 10^{-3}$ | 0.10 | 1730 |
| $2.2 \cdot 10^{-2}$ | 0.22 | 1755 | $2.8 \cdot 10^{-3}$ | 0.20 | 1684 |
| $3.3 \cdot 10^{-2}$ | 0.34 | 1727 | $4.6 \cdot 10^{-3}$ | 0.33 | 1640 |
| $4.4 \cdot 10^{-2}$ | 0.45 | 1702 | $6.3 \cdot 10^{-3}$ | 0.45 | 1603 |
| $5.6 \cdot 10^{-2}$ | 0.57 | 1680 | $8.1 \cdot 10^{-3}$ | 0.58 | 1568 |
| $7.8 \cdot 10^{-2}$ | 0.80 | 1643 | | | |
| $1.0 \cdot 10^{-1}$ | 1.02 | 1615 | | | |

Tableau 8 : Valeurs de la viscosité réduite du PA1B en fonction de R (cas de la βCD) ou R/7 (cas du glucose).

Les courbes $\eta = f(R/7)$ et $\eta = f(R)$ sont représentées sur la figure 14.

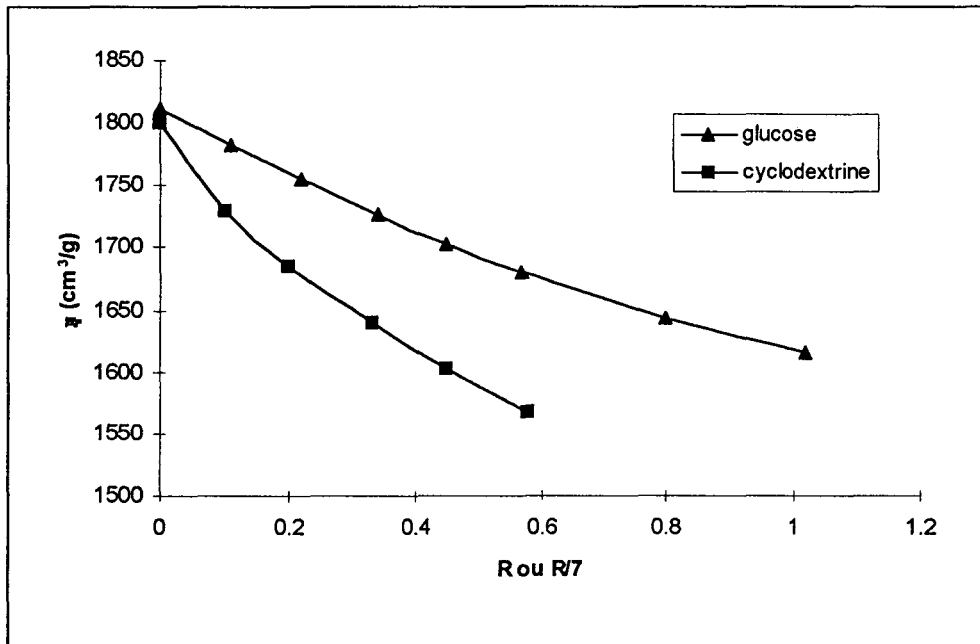


Figure 14 : Evolution de la viscosité réduite du PA1B en fonction de R (cas de la β CD) ou R/7 (cas du glucose).

On constate que la viscosité du polymère diminue en présence de β -cyclodextrine et en présence de glucose. Ce cas se rapproche davantage de celui du NaPSS ou du PMA basique.

En présence de β -cyclodextrine, les groupes aromatiques sont encapsulés et des liaisons hydrogène intramoléculaires se forment, conduisant à une diminution de la viscosité. En présence de glucose, seules des liaisons hydrogène intramoléculaires peuvent se créer, d'où une diminution de la viscosité observée.

On a étudié l'influence du temps sur la viscosité. La figure 15 montre l'évolution de la viscosité réduite d'une solution de PM15B en présence d'un large excès de glucose et de cyclodextrine en fonction du temps.

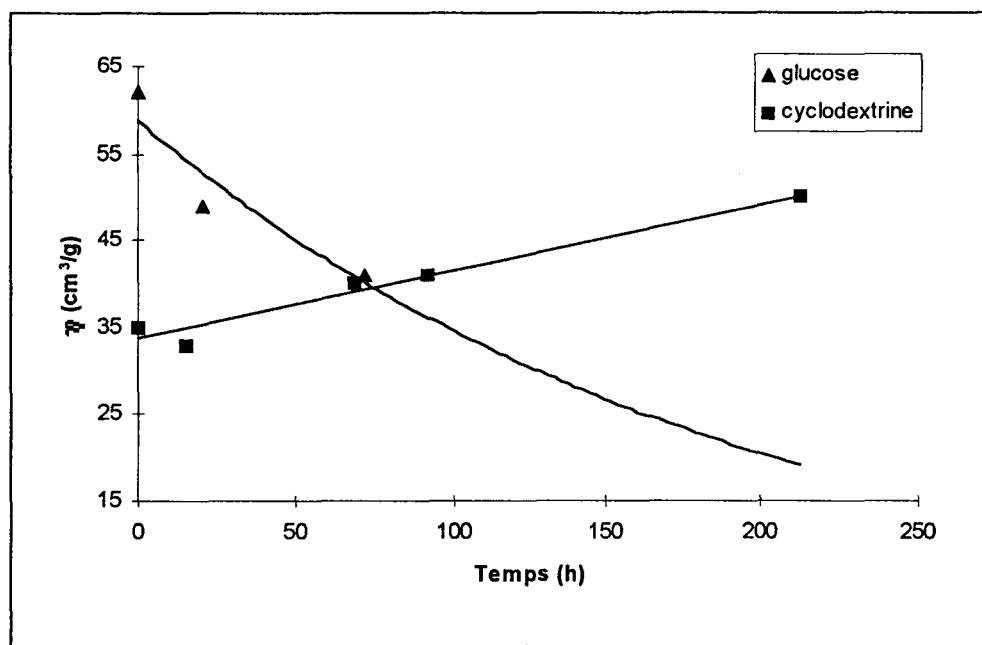


Figure 15 : Evolution de la viscosité réduite du PM15B ($4,8 \cdot 10^{-3}$ M) en présence de glucose ($1,2 \cdot 10^{-1}$ M) et de cyclodextrine ($9,3 \cdot 10^{-3}$ M) en fonction du temps.

En présence d'un excès de glucose, on constate que la viscosité diminue ; en revanche, en présence d'un excès de β -cyclodextrine, on constate qu'elle augmente.

On peut supposer des réarrangements au sein des solutions de polymère :

- En présence de glucose, les viscosités diminuent en fonction du temps, suggérant la formation lente de nouvelles liaisons hydrogène intramoléculaires.
- En présence de β -cyclodextrine, la viscosité de PM15B augmente très légèrement, indiquant une possible mais faible encapsulation de groupes méthyles.

4.2. Etude viscosimétrique à pH basique (8,1)

En milieu basique, la structure du PM15B est étendue et doit théoriquement avoir le même comportement vis-à-vis de la β -cyclodextrine que le PMA à pH basique étudié précédemment dans la cinquième partie. C'est ce que l'on vérifiera ci-après.

L'utilisation d'un pH tampon est évitée pour éviter le repliement des chaînes de polymère provoquée par la présence de sel. Aussi, on ajoutera simplement de la soude à 0,05 M à notre solution de PM15B jusqu'à l'obtention de la valeur du pH où les chaînes du polymère sont

totallement étendues. On arrêtera l'addition de soude à pH=8,1. La solution obtenue est stabilisée une heure sous agitation.

Le tableau 9 rassemble les valeurs de la viscosité réduite du PM15B de concentration 87 mg/100 ml ($8,8 \cdot 10^{-3}$ M) à pH=8,1 et à différents rapports molaires $R=\beta\text{CD}/\text{PM15B}$ ou $R=\text{glucose}/\text{PM15B}$.

| Glucose | | | β -Cyclodextrine | | |
|-----------------------------|------|------------------------------|---------------------------------|-------|------------------------------|
| [Glu](mol.l ⁻¹) | R/7 | $\eta(\text{cm}^3/\text{g})$ | [\betaCD](mol.l ⁻¹) | R | $\eta(\text{cm}^3/\text{g})$ |
| 0 | 0 | 795 | 0 | 0 | 792 |
| $3.6 \cdot 10^{-3}$ | 0.06 | 778 | $4.8 \cdot 10^{-4}$ | 0.05 | 775 |
| $8.7 \cdot 10^{-3}$ | 0.14 | 768 | $1.1 \cdot 10^{-3}$ | 0.125 | 761 |
| $1.7 \cdot 10^{-2}$ | 0.28 | 756.5 | $2.0 \cdot 10^{-3}$ | 0.23 | 745 |
| $2.9 \cdot 10^{-2}$ | 0.47 | 746 | $3.2 \cdot 10^{-3}$ | 0.36 | 729 |
| $4.8 \cdot 10^{-2}$ | 0.78 | 733 | $4.6 \cdot 10^{-3}$ | 0.52 | 711.5 |
| $7.6 \cdot 10^{-2}$ | 1.23 | 718 | $6.3 \cdot 10^{-3}$ | 0.72 | 691 |
| | | | $8.8 \cdot 10^{-3}$ | 1.00 | 669.5 |

Tableau 9 : Valeurs de la viscosité réduite du PM15B à pH=8,1 en fonction de R (cas de la βCD) ou R/7 (cas du glucose).

Les courbes $\eta = f(R/7)$ et $\eta = f(R)$ sont représentées sur la figure 16.

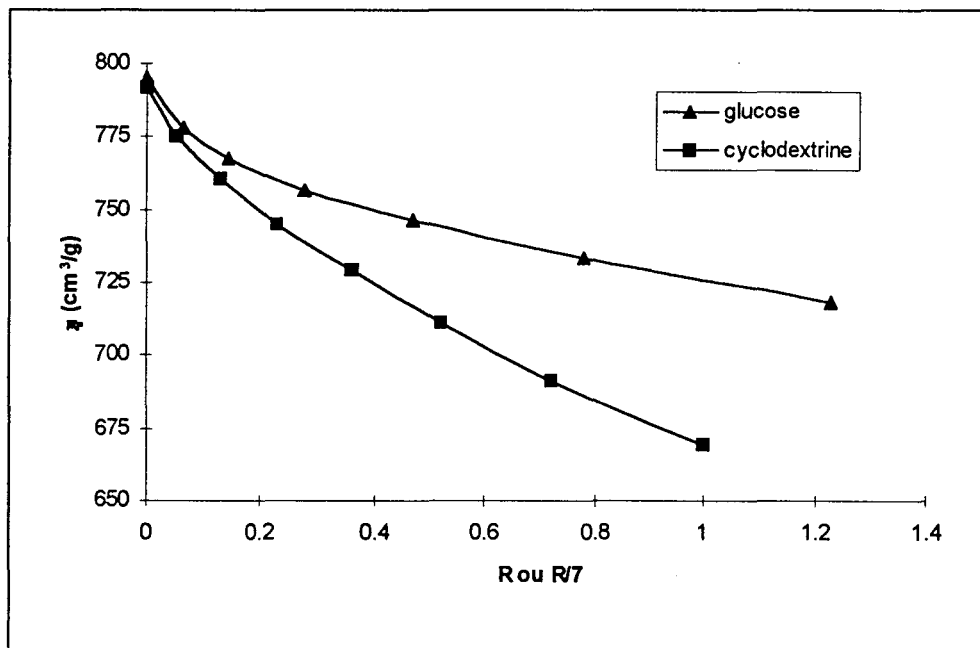


Figure 16 : Evolution de la viscosité réduite du PM15B à pH=8,1 en fonction de R (cas de la βCD) ou R/7 (cas du glucose).

On constate qu'en milieu basique, la viscosité du polymère diminue en présence de β -cyclodextrine et en présence de glucose.

En milieu basique, les chaînes de polymère sont étendues et les groupes benzyles sont totalement accessibles par la β -cyclodextrine. Celle-ci peut donc encapsuler sans aucune difficulté les groupes méthyles et former des liaisons hydrogène intramoléculaires conduisant à la diminution de la viscosité observée.

En présence de glucose, la baisse de la viscosité n'est due qu'à la formation de liaisons H intramoléculaires.

L'influence du temps sur la viscosité a également été étudiée à ce pH. La figure 17 montre l'évolution de la viscosité réduite du PM15B en présence d'un large excès de glucose et de β -cyclodextrine en fonction du temps.

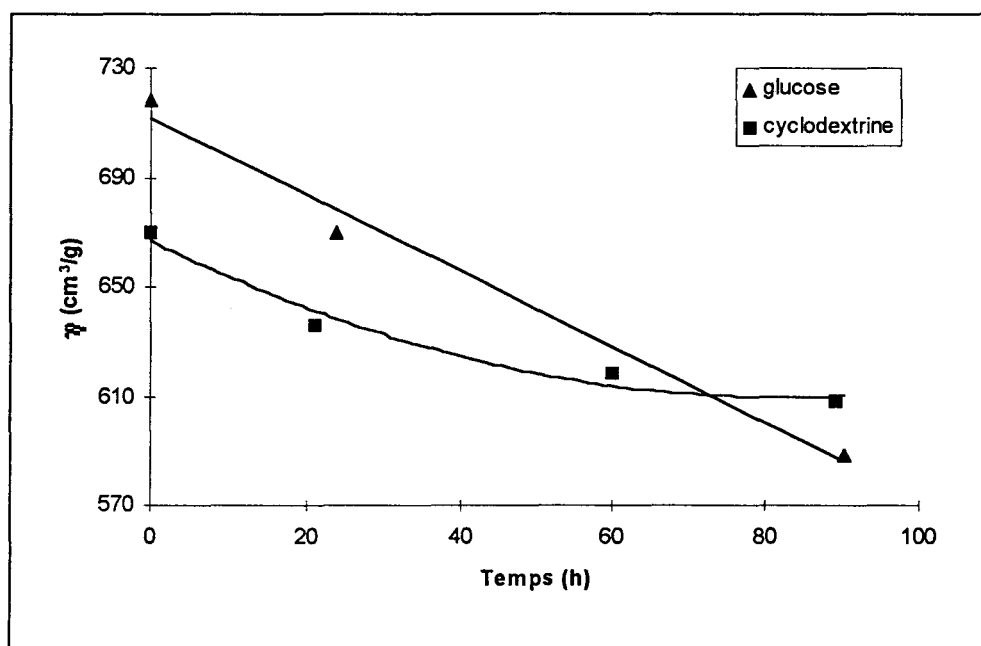


Figure 17 : Evolution de la viscosité réduite du PM15B ($8,8 \cdot 10^{-3}$ M) à pH=8,1 en présence de glucose ($7,6 \cdot 10^{-2}$ M) et de β -cyclodextrine ($8,8 \cdot 10^{-3}$ M) en fonction du temps.

La viscosité diminue à la fois pour les polymères en présence d'excès de glucose et en présence d'excès de β -cyclodextrine avec le temps.

Là aussi, on peut supposer des réarrangements au sein des solutions de polymères : En présence de glucose comme en présence de cyclodextrine, les viscosités diminuent en fonction du temps, suggérant la formation lente de nouvelles liaisons hydrogène intramoléculaires.

5. Etude fluorimétrique

Une étude de variation de la polarité a été menée en utilisant le pyrène comme sonde fluorescente. Ce dernier a la particularité de posséder dans son spectre de fluorescence deux raies dont le rapport est une indication de la polarité de son environnement. Les deux raies sont notées $I_1=374$ nm et $I_3=385$ nm avec comme longueur d'onde d'excitation 335 nm.. Lorsque l'environnement est polaire, le rapport I_3/I_1 est inférieur à 1, tandis qu'il est supérieur à 1 dans un environnement apolaire.

Deux polymères seront étudiés à $pH \approx 5$: PM5B et PM15B.

Les tableaux 10 et 11 rassemblent respectivement les valeurs des différentes intensités de fluorescence caractéristiques du pyrène solubilisé dans une solution de PM5B de concentration 25 mg/100 ml d'eau ($2,80 \cdot 10^{-3}$ M) et avec différents rapports molaires $R=\beta CD/PM5B$ et $R=glucose/PM5B$.

| [Glu] (mol.l ⁻¹) | R/7 | I ₁ | I ₃ | I ₃ /I ₁ |
|---------------------------------|------|----------------|----------------|--------------------------------|
| 0 | 0 | 154 | 185 | 1.20 |
| $7,9 \cdot 10^{-3}$ | 0.40 | 149 | 180 | 1.21 |
| $2,4 \cdot 10^{-2}$ | 1.22 | 145 | 175.5 | 1.21 |
| $4,8 \cdot 10^{-2}$ | 2.45 | 146 | 175 | 1.20 |
| $7,9 \cdot 10^{-2}$ | 4.03 | 143 | 174.5 | 1.21 |
| $1,3 \cdot 10^{-1}$ | 6.43 | 142 | 170.5 | 1.20 |

Tableau 10 : Valeurs des intensités de fluorescence du pyrène solubilisé dans une solution de PM5B en fonction de R/7 (influence du glucose).

| [β CD] (mol.l ⁻¹) | R | I ₁ | I ₃ | I ₃ /I ₁ |
|---|------|----------------|----------------|--------------------------------|
| 0 | 0 | 160 | 191.5 | 1.20 |
| 5,6 10 ⁻⁴ | 0.20 | 126 | 151.5 | 1.205 |
| 1,5 10 ⁻³ | 0.54 | 76.5 | 92.5 | 1.205 |
| 2,2 10 ⁻³ | 0.79 | 48.5 | 59 | 1.215 |
| 3,2 10 ⁻³ | 1.14 | 37.5 | 45.5 | 1.205 |
| 4,4 10 ⁻³ | 1.57 | 42.5 | 52.5 | 1.205 |
| 6,3 10 ⁻³ | 2.25 | 50 | 60.5 | 1.215 |
| 1,0 10 ⁻² | 3.57 | 60 | 73 | 1.22 |
| 1,5 10 ⁻² | 5.36 | 66 | 82.5 | 1.25 |

Tableau 11 : Valeurs des intensités de fluorescence du pyrène solubilisé dans une solution de PM5B en fonction de R (influence de la β -cyclodextrine).

Les tableaux 12 et 13 rassemblent respectivement les valeurs des différentes intensités de fluorescence caractéristiques du pyrène solubilisé dans une solution de PM15B de concentration 25 mg/100 ml d'eau (2,52 10⁻³ M) et avec différents rapports molaires R= β CD/PM15B et R=glucose/PM15B.

| [Glu] (mol.l ⁻¹) | R/7 | I ₁ | I ₃ | I ₃ /I ₁ |
|---------------------------------|------|----------------|----------------|--------------------------------|
| 0 | 0 | 80 | 68 | 0.85 |
| 8,8 10 ⁻³ | 0.50 | 76 | 65 | 0.85 |
| 1,5 10 ⁻² | 0.88 | 73 | 63 | 0.86 |
| 2,8 10 ⁻² | 1.61 | 72 | 61 | 0.85 |
| 5,2 10 ⁻² | 2.96 | 73 | 62 | 0.85 |
| 8,4 10 ⁻² | 4.76 | 73 | 62 | 0.85 |
| 1,3 10 ⁻¹ | 7.43 | 71 | 62 | 0.84 |

Tableau 12 : Valeurs des intensités de fluorescence du pyrène solubilisé dans une solution de PM15B en fonction de R/7 (influence du glucose).

| [β CD] (mol.l ⁻¹) | R | I ₁ | I ₃ | I ₃ /I ₁ |
|---|------|----------------|----------------|--------------------------------|
| 0 | 0 | 81 | 69 | 0.85 |
| 9,0 10 ⁻⁴ | 0.36 | 75 | 64.5 | 0.86 |
| 1,5 10 ⁻³ | 0.60 | 71 | 62.5 | 0.87 |
| 2,3 10 ⁻³ | 0.91 | 66.5 | 59.5 | 0.89 |
| 3,0 10 ⁻³ | 1.20 | 63 | 57.5 | 0.90 |
| 4,2 10 ⁻³ | 1.68 | 59 | 55 | 0.92 |
| 6,3 10 ⁻³ | 2.50 | 61 | 58.5 | 0.95 |
| 1,0 10 ⁻² | 3.97 | 69 | 68 | 0.99 |
| 1,5 10 ⁻² | 5.95 | 81 | 85 | 1.05 |

Tableau 13 : Valeurs des intensités de fluorescence du pyrène solubilisé dans une solution de PM15B en fonction de R (influence de la β -cyclodextrine).

La figure 18 montre l'évolution des différentes intensités de fluorescence en fonction de R (cas de la β -cyclodextrine) ou R/7 (cas du glucose) de PM5B.

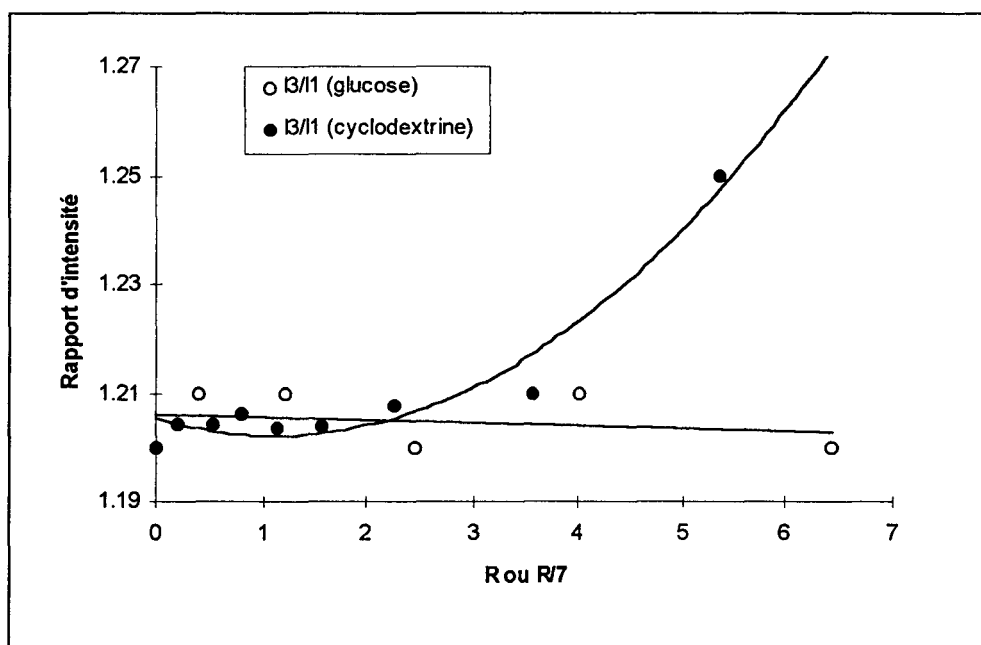


Figure 18 : Evolution des différentes intensités de fluorescence en fonction de R ou R/7 pour le PM5B.

La figure 19 montre l'évolution des différentes intensités de fluorescence en fonction de R (cas de la β -cyclodextrine) ou R/7 (cas du glucose) de PM15B.

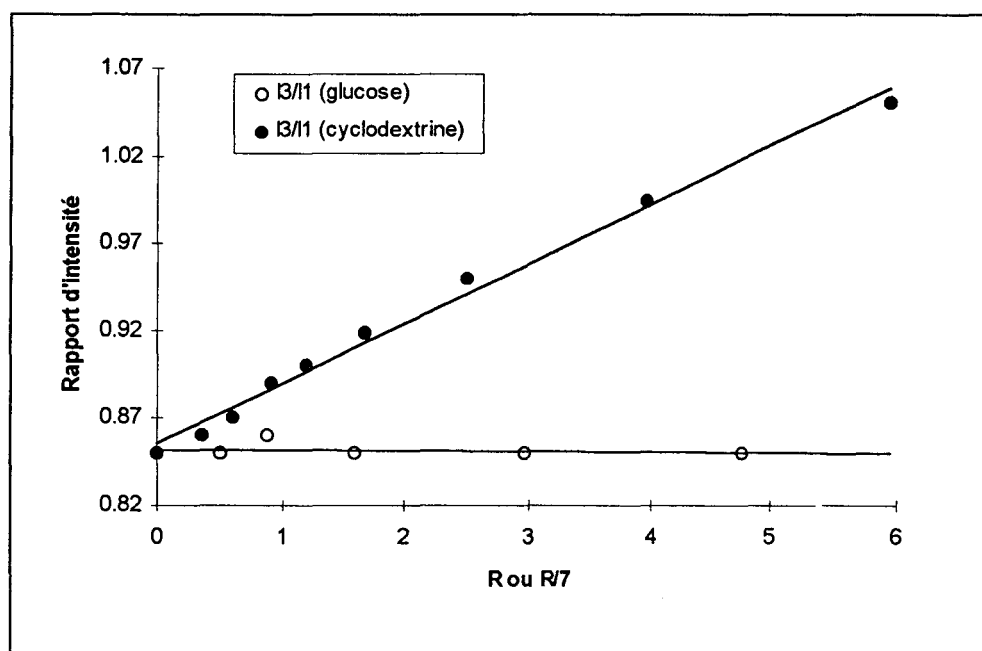


Figure 19 : Evolution des différentes intensités de fluorescence en fonction de R ou R/7 pour le PM15B.

Interprétation :

■ Cas du PM5B : En présence de glucose, le rapport I_3/I_1 montre que la polarité reste stable. En présence de β -cyclodextrine, la polarité varie peu jusqu'à $R=1,1$ puis diminue légèrement ensuite.

Comme nous l'avons montré par ailleurs, les interactions hydrophobes $\Phi - \Phi$ renforcent considérablement la structure compacte ; Les molécules de pyrène sont situées ici à la fois dans les poches hydrophobes et à l'interface polymère-eau. Conséquence : le glucose forme moins de liaisons hydrogène intramoléculaires. La β -cyclodextrine forme des liaisons hydrogène intramoléculaires avec les groupes carboxyles des chaînes, provoquant une ouverture de la structure compacte et encapsule les molécules de pyrène à l'interface polymère-eau. Les molécules de pyrène situées à l'intérieur des poches hydrophobes deviennent alors plus mobiles ; la polarité reste stable puisqu'elle diminue pour le pyrène encapsulé et augmente pour le pyrène dans les poches. Les molécules de cyclodextrine encapsulent ensuite le pyrène libéré des poches, en réduisant à nouveau sa mobilité. D'où une diminution de la polarité.

■ Cas du PM15B : En présence de glucose, le rapport I_3/I_1 montre que la polarité reste stable. En présence de β -cyclodextrine, la polarité diminue linéairement.

Comme nous l'avons montré par ailleurs, la structure du PM15B est de loin la plus compacte de tous nos copolymères PMA-PMB. Les interactions hydrophobes $\Phi - \Phi$ sont en effet très importantes. Les molécules de pyrène sont toutes situées à l'extérieur des poches hydrophobes à l'interface polymère-eau. Conséquence : le glucose et la β -cyclodextrine ne forment presque pas de liaisons hydrogène intramoléculaires avec les groupes carboxyles du polymère. La β -cyclodextrine encapsule les molécules de pyrène, d'où la diminution de polarité observée.

CONCLUSION

Nous venons de montrer et de confirmer les différences importantes de comportement dans l'eau entre le PMA et les copolymères benzylés PMA-PMB vis-à-vis de la β -cyclodextrine. Plus le taux de benzyles est important, moins les molécules de β -cyclodextrine peuvent pénétrer dans les zones hydrophobes des polymères PMA-PMB ; ces molécules viennent s'agglutiner à l'interface polymère-eau. L'encapsulation à pH naturel n'a en fait lieu que pour les faibles taux de benzyles (<8 %).

Dans le cas du PM15B, la diminution relativement faible de ΔG , la stabilité des pK apparents et des différents taux d'ionisation caractéristiques α_i et α_f en présence de cyclodextrine montre la forte stabilité de la structure compacte.

Nous avons également mis en évidence l'importance de la conformation du polymère sur son encapsulation par la β -cyclodextrine. Alors qu'à pH acide PM15B n'est pas encapsulé, plus rien ne gêne l'inclusion des groupes méthyles et benzyles par la β -cyclodextrine à pH basique où les chaînes sont totalement étendues.

Comme pour le PMA, l'encapsulation des groupes hydrophobes du PM5B par la β -cyclodextrine n'induit en aucun cas une transition conformationnelle. La formation d'un réseau de liaisons hydrogène maintient la compacité de la structure des polymères en milieu aqueux.

Le comportement viscosimétrique à pH acide (environ 5) des copolymères les moins riches en benzyles en présence de cyclodextrine ressemble à celui du PMA, tandis qu'on observe seulement, dans le cas du PM15B, une augmentation de la viscosité réduite. Celle-ci est attribuée à une dilatation du volume hydrodynamique provoquée par l'agglomération des molécules de cyclodextrine le long des chaînes polymères. A pH basique (environ 8), la cyclodextrine induit uniquement une diminution de viscosité bien que l'encapsulation devrait l'accroître ; on pourrait imaginer que l'encapsulation provoque aussi l'écrantage des charges en plus de la formation d'un réseau de liaisons hydrogène.

D'autre part, nous avons observé que le paramètre temps joue aussi un rôle. Il semblerait en effet que les liaisons hydrogène et l'encapsulation se poursuivent lentement, comme dans le cas du PMA.

CONCLUSION GENERALE

L'acide polyméthacrylique et les copolymères d'acide méthacrylique et de méthacrylate de benzyle, tous deux syndiotactiques, ont été synthétisés dans la première partie. Les différentes méthodes de caractérisation ont montré que ces polymères ont une masse moléculaire moyenne en poids relativement élevée (environ 10^6), que le taux maximal de benzylation obtenu est de 14,6 % (PM15B) et qu'ils sont tous spontanément hydrosolubles excepté le PM15B qu'il faut passer préalablement sur résine.

Dans la seconde partie, nous avons effectué une étude conformationnelle de nos polymères en fonction de divers paramètres. Tout d'abord, ces polymères présentent une conformation compacte en milieu acide grâce aux associations hydrophobes entre les groupes méthyles et benzyles et une conformation étendue en milieu basique en raison des répulsions électrostatiques entre les groupes ionisés. La transition conformationnelle apparaît à un pH compris entre 6 et 7 quand on passe du PMA aux copolymères PMA-PMB. Cet équilibre structure compacte-étendue dépend également de la force ionique du milieu. L'addition de solvant organique déstabilise la structure compacte en solubilisant les groupes hydrophobes, tandis que l'ajout d'urée a une influence qui reste à préciser sur la conformation des polymères.

La troisième partie a fait le bilan des connaissances actuelles sur les cyclodextrines, principalement sur le plan des interactions non covalentes entre un polymère et la cyclodextrine, c'est-à-dire dans le domaine de la chimie supramoléculaire.

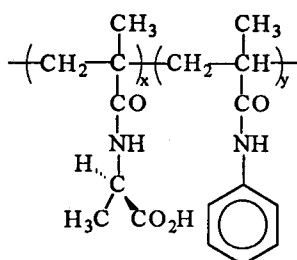
Dans la quatrième partie, nous nous sommes d'abord intéressés à l'étude des interactions entre la β -cyclodextrine et un polymère qui ne présente pas de transition conformationnelle, le poly(4-styrènesulfonate) de sodium (NaPSS). Cette étude préalable nous a permis d'utiliser et de maîtriser une très large variété de techniques pour mettre en évidence la formation d'un complexe d'inclusion. Ce cas préliminaire limite les problèmes de variation de viscosité et du taux de charges que l'on peut rencontrer dans les polymères présentant une transition conformationnelle. Les résultats nous ont montré la formation d'un polyrotaxane latéral dans lequel les groupes benzyliques du polymères sont inclus dans la cavité des molécules de cyclodextrine, et d'un réseau de liaisons hydrogène entre les groupes sulfonates du polymère et les groupes hydroxyles de la cyclodextrine. L'encapsulation est réalisée à environ 95 % malgré la présence des groupes sulfonates sur les motifs benzyliques. Les résultats sont de l'ordre de ceux relevés dans la littérature sur l'inclusion de molécules aromatiques portant des groupes anioniques.

Nous nous sommes ensuite penchés dans les parties 5 et 6 sur les interactions cyclodextrine-PMA (cinquième partie) et cyclodextrine-PMAPMB (sixième partie). En milieu acide, les résultats montrent à la fois que la β -cyclodextrine est capable d'encapsuler les groupes hydrophobes (méthyles et benzyles) de tous les polymères (excepté PM15B), mais qu'elle ne détruit pas la structure compacte. Les associations hydrophobes sont certes annihilées, mais elles sont remplacées par un réseau de liaisons hydrogène, plus ou moins bien défini, entre les groupes carboxyliques des polymères et les groupes hydroxyles de la cyclodextrine. Dans le cas du PM15B, la structure compacte est considérablement renforcée par la force importante des interactions entre les groupes benzyliques plus nombreux, et la β -cyclodextrine ne peut pas pénétrer les chaînes trop fortement repliées. En milieu basique, où les chaînes de polymère sont totalement étendues et où par conséquent tous les groupes hydrophobes sont facilement accessibles, nous avons relevé l'encapsulation des groupes méthyliques et benzyliques des polymères par la β -cyclodextrine, comme dans le cas du NaPSS évoqué préalablement.

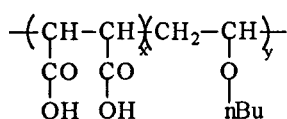
Des investigations supplémentaires sont à envisager pour compléter ce travail : des études similaires sur les polymères intermédiaires PM1B, PM2B, et PM8B principalement. Nous pourrions ainsi mieux visualiser la différence de comportement vis-à-vis de la cyclodextrine des divers polymères en fonction de leur taux de benzyles. Des études de dichroïsme circulaire à différentes concentrations en cyclodextrine pourraient être menées afin, non seulement de vérifier la valeur de la constante de stabilité dans le cas du complexe β CD-NaPSS, mais aussi de déterminer avec plus ou moins de précision celle des complexes β CD-PMA et β CD-PMAPMB, la spectroscopie RMN s'avérant ici inefficace.

Il serait intéressant, enfin, que des études similaires soient également menées sur d'autres polymères. Nous avons d'ailleurs commencé, en parallèle avec les travaux présentés dans ce recueil, à travailler sur les 5 types de polymères suivants :

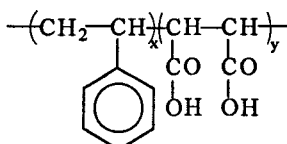
❶ Les copolymères de N-phényl méthacrylamide et de N-alanine méthacrylamide avec un taux de groupes aromatiques y compris entre 24 et 50 % :



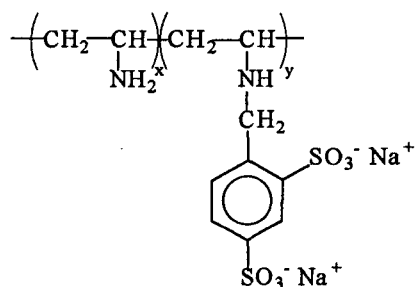
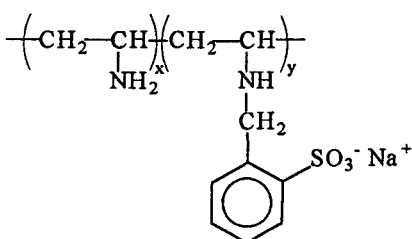
② Le copolymère alterné acide maléique-butyl vinyl éther ($x=y=0,5$) :



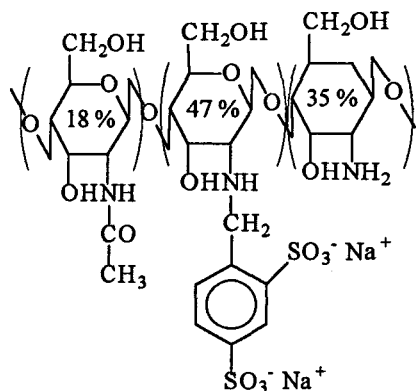
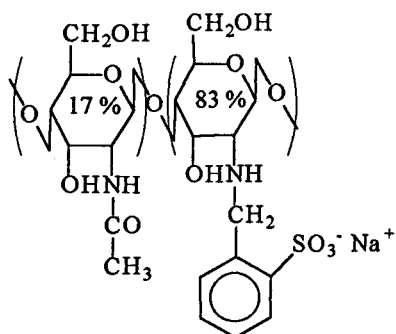
③ Le copolymère alterné styrène-acide maléique ($x=y=0,5$) :



④ Les polyvinylamine monosulfonique et disulfonique ($x=0,6$ et $y=0,4$) :



⑤ Les chitosane monosulfonique et disulfonique :



Ces polymères présentent tous sauf les cas ④ et ⑤ une transition conformationnelle induite par le pH. Nos premiers résultats semblent confirmer le fait que l'encapsulation des groupes hydrophobes de ces polymères par la β -cyclodextrine s'effectue sans difficulté en milieu basique ; en revanche, en milieu acide, des problèmes de faible solubilité des polymères dans les conditions utilisées et notamment des cas ③, ④, et ⑤ rendent les investigations délicates.

