



HAL
open science

Caractérisation RMN de matériaux hybrides pour l'encapsulation de principes actifs

Fabien Deligey

► **To cite this version:**

Fabien Deligey. Caractérisation RMN de matériaux hybrides pour l'encapsulation de principes actifs. Chimie analytique. Université de Lorraine, 2019. Français. NNT : 2019LORR0093 . tel-02393687

HAL Id: tel-02393687

<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-02393687>

Submitted on 4 Dec 2019

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

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



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>



**UNIVERSITÉ
DE LORRAINE**

École Doctorale C2MP (Chimie – Mécanique – Matériaux – Physique)

Thèse

Présentée et soutenue publiquement pour l'obtention du titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LORRAINE

Mention : Chimie Physique

Par Fabien DELIGEY

Caractérisation RMN de matériaux hybrides pour l'encapsulation de principes actifs

Soutenue le 24 Juin 2019

Membres du jury

Rapporteurs :	M. Francis Taulelle	Directeur de Recherche Émérite CNRS Institut Lavoisier, Université de Versailles Professeur, KU Leuven, Belgique
	M. Thierry Azaïs	Maître de Conférence (HDR) Université Pierre et Marie Curie, Paris
Directrice de thèse :	Mme. Sabine Bouguet-Bonnet	Professeur Université de Lorraine, Vandoeuvre-lès-Nancy
Co-directeur :	M. Axel Gansmüller	Maître de Conférence Université de Lorraine, Vandoeuvre-lès-Nancy
Examineurs :	Mme. Andreea Pasc	Professeur Université de Lorraine, Vandoeuvre-lès-Nancy
	Mme. Giulia Mollica	Chargé de Recherche CNRS Aix-Marseille Université, Marseille

Sommaire

Remerciements.....	7
Introduction générale.....	9
Notations.....	13
1. Principes théoriques de RMN.....	15
1.1. Interactions avec les spins nucléaires.....	15
1.1.1. Interaction Zeeman.....	15
1.1.2. Déplacement chimique.....	18
1.1.3. Interaction dipolaire.....	21
1.1.4. Couplage scalaire J.....	24
1.1.5. Interaction quadripolaire.....	24
1.2. Manipulations sur les spins et leurs interactions.....	25
1.2.1. Découplage des interactions.....	25
1.2.2. Transferts de polarisation.....	30
1.2.3. Recouplage des interactions.....	39
1.2.4. BaBa.....	45
1.3. Retour à l'équilibre par relaxation des spins.....	48
1.3.1. Temps de relaxation longitudinale T_1	48
1.3.2. Temps de relaxation transverse T_2 et écho de spin.....	50
1.3.3. Sources de la relaxation.....	52
2. Vectorisation du nitroprussiate de sodium dans les nano- pores d'une matrice de silice.....	57
2.1. Introduction.....	57
2.2. Les enjeux du S[NP].....	57
2.2.1. Vectorisation du S[NP].....	58

2.2.2. Contexte de l'étude.....	60
2.3. Stratégie de caractérisation	63
Synthèse et conditionnement des échantillons.....	64
2.4. Étude de l'effet du taux d'hydratation	65
2.4.1. Caractérisation de la dynamique moléculaire.....	68
2.5. Cas particulier d'un échantillon sec.....	72
2.5.1. Restriction des propriétés dynamiques.....	72
2.5.2. Mise en évidence des interactions hôte / invités.....	76
2.5.3. Caractérisation des interactions hôte / invités	77
2.5.4. Conséquence des interactions.....	80
2.6. Conclusions.....	81
Annexe 1.....	83
Annexe 2.....	84
3. Vectorisation de la curcumine dans des nanoparticules de lipides solides contenues dans une matrice de silice poreuse.	87
3.1. Introduction	87
3.1.1. Les enjeux de la CU	89
3.1.2. Vectorisation de la curcumine.....	91
3.2. Développement de nouveaux matériaux dédiés au transport de la curcumine ..	98
3.2.1. Préparation des échantillons simples (mélanges binaires)	99
3.2.2. Synthèse et conditionnement des matériaux hybrides.....	99
3.2.3. Structure globale des matériaux hybrides.....	100
3.3. Attribution des spectres RMN.....	102
3.3.1. Attributions des spectres ¹ H des composés purs	103
3.3.2. Composés complexes sans curcumine.....	110
3.3.3. Composés complexes avec curcumine	114
3.3.4. Conclusions	119

3.4. Effets de l'encapsulation sur la structure et la dynamique des compartiments	120
3.4.1. Mesures DSC.....	120
3.4.2. Suivi RMN des transitions de phase.....	126
3.5. Étude de la partition de la curcumine	137
3.5.1. Effets de l'inclusion de curcumine dans les lipides et le tensioactif	139
3.5.2. Vectorisation de la CU dans du SBA-15 non calciné.....	147
3.5.1. Partition de la CU dans SA \in SBA-15	151
3.5.2. Partition de la curcumine dans SA \in SBA-15	151
3.6. Conclusions.....	157
Annexe 3.....	160
Annexe 4.....	161
Annexe 5.....	162
Annexe 6.....	163
Annexe 7.....	164
Annexe 8.....	165
Annexe 9.....	166
Annexe 10.....	167
Annexe 11.....	168
Annexe 12.....	169
Annexe 13.....	170
Conclusion générale.....	172
Références bibliographiques	174

Remerciements

Je souhaite remercier toutes les personnes qui m'ont aidé et apporté leur soutien au cours de mes années de doctorat. Cette dissertation n'aurait pas pu voir le jour sans vous.

Tout d'abord, j'exprime tout particulièrement mes remerciements à mes encadrants, Mme. Sabine Bouguet-Bonnet, Professeur et M. Axel Gansmüller, Maître de Conférences, à l'Université de Lorraine, pour m'avoir permis d'intégrer l'équipe de recherche RMN du laboratoire CRM2. Je les remercie pour le dévouement dont ils ont fait preuve à mon égard tout au long de mes travaux de thèse.

Puis, je remercie M. Francis Taulelle, Directeur de Recherche Émérite CNRS, M. Thierry Azais, Maître de Conférence, Mme. Andreea Pasc, Professeur, et Mme. Giulia Mollica, Chargé de Recherche CNRS, d'avoir accepté d'être membres du jury de thèse.

Ensuite, j'aimerais remercier Mme. Andreea Pasc et M. Maxime Girardon, du laboratoire L2CM, pour leur collaboration sur le projet ayant abouti au chapitre final de cette thèse. Il n'aurait pu être réalisé sans le temps qu'ils ont consacré aux travaux, et sans leurs expertises amenées aux cours de discussions scientifiques fructueuses. Je souligne également la qualité avec laquelle, M. Maxime Girardon et M. Sanghoon Kim ont préparé les nombreux échantillons analysés, et avec laquelle M. Pierrick Durand a réalisé les mesures de calorimétrie.

Je remercie également M. Peter Klüfers et M. Xaver Kästele pour les synthèses des composés avec marquage isotopique.

Je suis aussi gré de la contribution de l'ensemble des membres du CRM2 qui ont partagé leurs connaissances et m'ont apporté des conseils indispensables au bon déroulement des expériences RMN.

Je remercie vivement M. Thierry Delatour, Mme Béatrice George et l'ensemble de mes collègues avec qui j'ai pu participer à l'enseignement de la chimie à l'Université de Lorraine.

Enfin, je tiens à remercier M. Florian Bartoli pour son indéfectible amitié.

Introduction générale

La réalisation de progrès dans le domaine pharmaceutique ne passe plus exclusivement par la recherche de nouvelles molécules biologiquement actives¹. En effet, il est force de constater que si les tests menés en laboratoire peuvent être prometteurs, ils ne sont pas toujours synonymes d'une efficacité de ces molécules sur des organismes vivants. Plusieurs facteurs peuvent expliquer ce contraste. Le premier est une difficulté dans l'administration du traitement, notamment quand les molécules organiques sont insolubles dans l'eau, excluant ainsi la possibilité de les injecter en solution aqueuse par intraveineuse. La gestion des concentrations des produits actifs est également nécessaire. D'une part, nombre de composés sont faiblement absorbés, métabolisés rapidement, éliminés, et se dispersent dans des tissus non ciblés. Associés, ces phénomènes résultent en de trop faibles quantités en principe actif pour avoir des effets notables. D'autre part, l'action de ces molécules, notamment les anticancéreuses, peut se révéler toxique. Enfin, si les molécules actives sont ingérées, leur biodisponibilité est perturbée, particulièrement par l'alimentation. De plus, l'efficacité thérapeutique des médicaments doit tenir compte des enjeux économiques, tels une diminution de la fréquence et du coût des traitements, ou les contraintes liées au stockage de composés aisément dégradés. Ces problématiques de sensibilité du dosage et de stabilité des molécules ont amené la recherche à se développer dans les domaines de l'encapsulation et de la libération contrôlée des principes actifs dans l'espace et le temps². L'objectif est de créer des nouvelles formulations médicamenteuses polyvalentes et performantes, permettant de distribuer les molécules actives au niveau des organes désirés, en maintenant une concentration connue au cours du temps.

Pour répondre à ces défis, les nanotechnologies offrent une large gamme de possibilités novatrices^{3,4}. Elles permettent la conception de nanomatériaux dans lesquels peuvent être incorporées les principes actifs des médicaments. Les nanoparticules dédiées au transport de médicaments peuvent être définies comme étant "des systèmes ayant une taille allant préférentiellement de 1 à 100 nm, pouvant contenir des molécules actives ou des agents de contraste pour l'imagerie confinés, dispersés, adsorbés ou conjugués"⁵. Dans les domaines techniques, la production de nanoparticules suit une approche top-down. Cependant, dans le domaine pharmaceutique, où les structures doivent être précises aux échelles nanométriques, les préparations prennent une voie bottom-up, qui repose essentiellement sur l'auto-assemblage d'atomes, de molécules ou de petites particules⁶. Cette technique a permis l'essor des nanomatériaux à base de lipides⁷, ou de silice⁸.

Les matériaux étudiés dans cette thèse sont le produit de l'encapsulation d'un principe actif dans un nano-porteur de lipides ou une matrice de silice, pour profiter des multiples avantages des nanomatériaux. Tout d'abord, le changement d'échelle des tailles macroscopiques vers le nanomètre est d'autant appréciable qu'il est synonyme d'une absorption grandissante des nanoparticules⁹ (ou des nanocristaux¹⁰) par l'organisme. De plus, les structures hôtes-invités ainsi formées sont particulièrement intéressantes, car les cinétiques de relargage qu'elles proposent sont désormais régies par la matrice¹¹. Il en découle directement de nouvelles possibilités en termes de contrôle des vitesses de relargage, ainsi que des organes-cibles des traitements¹². Enfin, l'ajout d'une matrice autour des molécules d'intérêt est aussi une méthode adaptée en vue de leur protection, spécialement dans le cas de molécules facilement hydrolysées, oxydées, ou encore sensibles à des perturbateurs externes, tels la température ou la lumière.

Avant de pouvoir utiliser une nano-formulation comme traitement, il est nécessaire de maîtriser ses propriétés de stockage et de relargage, de s'assurer de sa biocompatibilité, ainsi que de sa facilité de production à grande échelle. Les travaux menés dans cette thèse portent sur les propriétés physico-chimiques de différents matériaux hybrides, tous se présentant sous la forme de solides. Elles sont réparties suivant trois grands axes : la structure des différents composés aux échelles nanométriques, leurs propriétés dynamiques, et les interactions entre les différents constituants hôtes et invités.

Parallèlement, l'objectif est de réaliser ces caractérisations par Résonance Magnétique Nucléaire, en exploitant la sensibilité de cette technique aux phénomènes prenant place aux échelles nanométriques. En associant les gains en résolution apportés par des vitesses de rotation MAS toujours plus rapides à la variété des séquences d'impulsions, la RMN permet de sonder les interactions entre les spins atomiques et par extension, la manière dont la matière est structurée à ces échelles. En outre, la dépendance temporelle des interactions RMN, instillée par les mouvements moléculaires, contribue grâce aux mesures de relaxation à l'accession aux propriétés dynamiques des molécules. Qui plus est, la nature intermoléculaire de certaines interactions permet d'établir les liens entre hôtes et invités formant les matériaux hybrides.

Dans le premier chapitre sont introduits les concepts de RMN et les outils méthodologiques exploités pour les études subséquentes de différents nanomatériaux solides. Trois thèmes principaux y sont abordés, commençant par l'état d'équilibre des systèmes de spins avant le début des expériences RMN, suivi par les principes de manipulation des spins

permettant l'excitation et la sélection des interactions RMN étudiées. Enfin, les notions de relaxation de spin menant au retour à l'équilibre du système de spins sont présentées.

Le deuxième chapitre est consacré à l'étude du confinement d'un sel complexe de métal de transition hydrophile, le nitroprussiate de sodium, dans les nano-pores d'une matrice de silice sol-gel. L'idée générale est de mettre en perspectives les propriétés structurales et dynamiques du complexe en fonction d'une variable : la quantité d'eau également contenue dans les pores de la matrice. Pour ce faire, la sélectivité de la RMN envers les noyaux étudiés, et les nets gains en sensibilité amenés par le marquage isotopique du complexe sont mis à profit pour sonder les différentes parties du système.

Le troisième chapitre est dédié à un système permettant l'encapsulation d'une molécule hydrophobe, la curcumine, dans des nanoparticules de lipides solides (SLN). Celles-ci sont à leur tour confinées dans une matrice de silice. Ce projet est initié par le besoin de déterminer la partition d'un principe actif vis-à-vis des différents compartiments du nanomatériau. Il est complété par l'intention d'élargir la gamme des techniques d'analyse des SLNs, en explorant les possibilités offertes par les nouvelles techniques de détection haute résolution proton de RMN du solide.

Notations

δ : Déplacement chimique

γ : Rapport gyromagnétique

$\mu_0 = 4\pi * 10^{-7} \text{ H.m}^{-1}$: Perméabilité du vide

ν_{MAS} : Fréquence de rotation à l'angle magique

$\theta_m = 54,74^\circ$: Angle magique

τ_c : Temps de corrélation

τ_{MAS} : Période de rotation du rotor

ω : Fréquence en Hertz

B : Facteur de Boltzmann

D_{I-S} : Couplage dipolaire entre une paire de spin I-S

d_1 : Délai entre deux scans

E_a : Énergie d'activation

$\hbar = 1,054\ 571\ 800 * 10^{-34} \text{ J s}$: Constante de Planck divisée par 2π

\hat{H} : Hamiltonien d'interaction

I : Spin abondant (en pratique, ^1H)

I_d : Matrice identité

\mathcal{J} : Densité spectrale

J : Partie réelle de la densité spectrale

l_{echo} : Nombre de période(s) de rotation du rotor pendant un écho

M : Aimantation

r_{I-S} : Distance entre les spins I et S

$R = 8,314 \text{ J.K}^{-1}.\text{mol}^{-1}$: Constante des gaz parfaits

R_1 : Vitesse de relaxation longitudinale

S : Spin rare (en pratique, ^{13}C , ^{15}N ,...)

S_0 : Signal REDOR de référence

S_r : Signal REDOR déphasé

T_1 : Temps de relaxation longitudinale

T_2 : Temps de relaxation transverse

TD_i : Nombre de points / FID acquis pour la dimension indirecte d'un spectre 2D

t_c : Temps de contact

t_{mix} : Temps de mélange

1. Principes théoriques de RMN

Dans ce premier chapitre, sont introduits les concepts théoriques de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) sur lesquels les études de nanomatériaux, généralement à l'état solide, s'appuient dans les deux chapitres suivants. De plus, une description des séquences d'impulsions employées est effectuée. Elle s'appuie sur le squelette d'une expérience RMN : une excitation des spins par une impulsion radiofréquence (RF), suivi d'une étape de détection du signal temporel produit par les spins (FID = Free Induction Decay). Le passage du domaine temporel au domaine fréquentiel est réalisé par transformée de Fourier du signal.

1.1. Interactions avec les spins nucléaires

Dans un matériau moléculaire les spins nucléaires interagissent entre eux et peuvent également être manipulés par des interactions externes. Cette section est dédiée à l'explication de ces interactions et à leur traduction dans les spectres RMN. Ceci permet de mettre en évidence les possibilités d'obtention de paramètres structuraux, tels des distances inter-atomiques, par la suite appliquées pour étudier l'interaction d'une molécule hôte avec la paroi d'une matrice de silice (Voir section 2.5). Les interactions sont classées selon leur source, externe ou interne à l'échantillon, et leur nature : magnétique ou électrique. Cette première distinction reflète le rapport d'intensité des interactions, très nettement en faveur de celles d'origine externe. Pour les spins $1/2$, les interactions internes sont purement magnétiques. Elles sont au nombre de trois : couplage dipolaire, couplage scalaire et déplacement chimique. Celles de nature électrique s'expriment pour des spins $S > 1/2$ via l'interaction quadripolaire. Hormis dans des cas plus exotiques, les interactions d'ordre supérieur* sont trop peu intenses pour affecter les spectres RMN, et sont donc négligées. Pour tout spin nucléaire I, une interaction s'explique par le biais d'un opérateur Hamiltonien, \hat{H} , lui-même exprimé par le produit de deux vecteurs et d'un tenseur.

1.1.1. Interaction Zeeman

L'expérience de RMN débute avec la soumission des spins à un champ magnétique externe, statique, intense et homogène noté \vec{B}_0 . Par convention, il définit l'axe vertical \vec{z} du laboratoire et permet la définition du référentiel associé $\{\vec{x}; \vec{y}; \vec{z}\}$, noté en lettres minuscules.

* Par rapport aux rangs des tenseurs sphériques irréductibles décrivant l'interaction¹³.

L'Hamiltonien de l'interaction Zeeman (équation 1) fait intervenir une constante propre aux différents noyaux étudiés, le rapport gyromagnétique, notée γ_I . Le terme $-\gamma_I B_0$ est appelé fréquence de Larmor et correspond à la fréquence de précession de l'aimantation autour de l'axe \vec{z} .

$$\widehat{H}_Z = -\gamma_I \vec{I}_I \cdot \vec{B}_0 \quad [1]$$

Sous l'action de \vec{B}_0 , la dégénérescence des états des spins est levée. Suite à une perturbation (impulsion radiofréquence), un retour à l'équilibre des spins est possible avec une énergie proportionnelle au champ et au rapport gyromagnétique, plus habituellement exprimée en terme de fréquence de résonance (ν), et ce pour tout noyau i .

$$\nu_i = \frac{\gamma_i B_0}{2\pi} \quad [2]$$

Dans la matière, les spins ne sont pas isolés, introduisant une série d'interactions^{*}, chacune générant un Hamiltonien, s'additionnant à celui de l'interaction Zeeman. L'intensité des interactions a pour variable les directions de l'espace. Ainsi, leurs composantes sont données par un tenseur de rang deux dans le référentiel du laboratoire. Les interactions internes au matériau sont peu intenses par rapport à l'interaction Zeeman et peuvent donc être considérées comme une perturbation. De ce fait, il devient possible de simplifier les expressions mathématiques grâce à l'approximation séculaire, valide tant que le champ \vec{B}_0 est grand. Elle stipule que seuls les termes selon l'axe \vec{z} engendrent un effet significatif sur les spectres, permettant de négliger les termes selon les axes \vec{x} et \vec{y} . Mathématiquement, ceci correspond à ne conserver dans les Hamiltoniens d'interaction que les termes, dits séculaires, qui commutent avec l'Hamiltonien Zeeman.

De plus, l'expression des matrices définissant les interactions est simplifiée à partir du choix d'un référentiel plus adapté que celui du laboratoire. En effet, les interactions peuvent être graphiquement représentées par un ellipsoïde, dont les directions des grands axes, qui sont perpendiculaires deux à deux, définissent un système d'axe, appelés axes principaux (Figure 1). Dans ce nouveau référentiel, noté en lettres majuscules, $\{\vec{X}; \vec{Y}; \vec{Z}\}$, les matrices des interactions sont diagonales. Il est à noter que le choix de ce référentiel est dépendant du site considéré dans

* Ici seulement considérées pour des matériaux diamagnétiques, c'est-à-dire où tous les électrons sont appariés par paires.

une molécule : il est amené à varier en fonction de la position de l'atome. À partir des composantes des tenseurs dans le système d'axe principal, trois paramètres sont définis : l'isotropie T_{iso} , l'anisotropie Δ et l'asymétrie η . Les définitions ci-dessous sont valides pour tout tenseur T de rang 2.

$$T_{isotrope} = \frac{1}{3}(T_{XX} + T_{YY} + T_{ZZ}) \quad [3]$$

$$\Delta = T_{ZZ} - T_{isotrope} \quad [4]$$

$$\eta = \frac{T_{YY} - T_{XX}}{\Delta} \quad [5]$$

Le signe de ces paramètres est fixé par convention. Ainsi, les définitions qui leurs sont donné ne sont valides que si l'inégalité suivante est vérifiée.

$$|T_{ZZ} - T_{isotrope}| > |T_{XX} - T_{isotrope}| > |T_{YY} - T_{isotrope}| \quad [6]$$

Ces paramètres ont une interprétation géométrique par rapport à l'ellipsoïde décrite en Figure 1. En effet, quand l'anisotropie égale 0, le tenseur est décrit par une sphère. L'intensité de l'interaction est la même dans toutes les directions de l'espace. En revanche, quand l'anisotropie diffère de 0, alors que l'asymétrie reste nulle, le tenseur présente au moins un axe de symétrie.

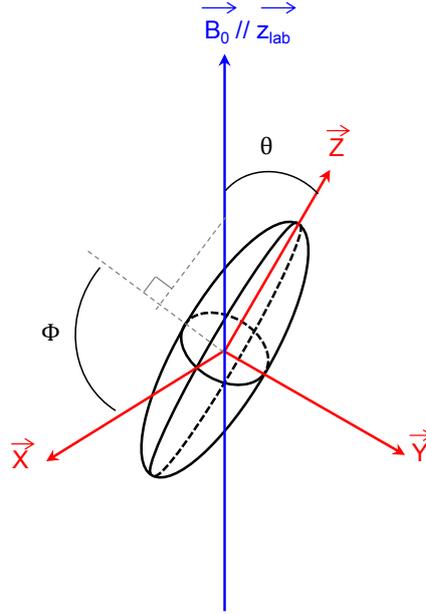


Figure 1 : En noir, ellipsoïde représentant un tenseur d'interaction. Il permet de définir le système d'axe principal en rouge selon les directions de ses grands axes \vec{X} ; \vec{Y} et \vec{Z} . Les rotations permettant de passer du référentiel du laboratoire en bleu au référentiel principal sont effectuées selon les angles polaires θ et Φ

θ est défini comme l'angle entre \vec{B}_0 et l'axe \vec{Z} .

Soit la droite passant par l'origine du référentiel $\{\vec{X} ; \vec{Y} ; \vec{Z}\}$ et le point d'intersection de la normale, issue de \vec{B}_0 , avec le plan $(\vec{X} ; \vec{Y})$. Φ est défini comme l'angle entre cette droite et \vec{X}

L'analyse des spectres est toujours effectuée dans le référentiel du laboratoire, tandis que les interactions ont leurs composantes définies dans le système d'axe principal. Dès lors, le développement de l'expression des Hamiltoniens d'interaction nécessite l'utilisation d'une matrice rotation \overline{R} explicitant les changements de référentiels, selon le schéma suivant, où seules les composantes selon l'axe \vec{Z} du laboratoire sont conservées, grâce à l'approximation séculaire :

$$\hat{H} = \overline{I}^{lab} \overline{R}(lab \rightarrow PAS) \overline{T}^{PAS} \overline{R}(PAS \rightarrow lab) \overline{I}_z \quad [7]$$

1.1.2. Déplacement chimique

Le déplacement chimique traduit l'effet des nuages électroniques sur les noyaux considérés. Ces derniers masquent partiellement le champ effectivement ressenti par les spins nucléaires (Équation 8). Ainsi, des mêmes noyaux, mais appartenant à des sites différents dans une molécule vont ressentir des champs magnétiques légèrement différents \overline{B}_{eff} , traduisant les variations de l'environnement électronique. Deux conventions peuvent être utilisées pour le tenseur de cette interaction, généralement symétrique, l'un étant l'opposé de

l'autre, pour expliciter le blindage, $\bar{\sigma}$, ou le dé-blindage, $\bar{\delta}$, induit par les électrons. Leurs différents éléments décrivent l'axe selon lequel le champ magnétique est induit, en fonction de la direction selon laquelle le champ extérieur est appliqué*.

$$\overrightarrow{B_{eff1}} = \overrightarrow{B_0}(1 - \bar{\sigma}_1) \quad [8]$$

Dans une molécule, selon leur environnement électronique, la fréquence RMN de noyaux de même type est modulée. Afin de disposer d'une grandeur indépendante de $\overrightarrow{B_0}$, le déplacement chimique (δ) est défini comme étant l'écart normé entre cette fréquence de résonance (ν_1) et la fréquence de Larmor d'un composé de référence ($\nu_{réf}$), et s'exprime en parties par millions (ppm). Dans cette expression, ν_0 est la fréquence de mesure.

$$\delta_1 = \frac{\nu_1 - \nu_{réf}}{\nu_0} * 10^6 \quad [9]$$

La distribution des électrons ayant pour variable les directions de l'espace, il est nécessaire de définir un Hamiltonien d'interaction déplacement chimique, noté $\widehat{H_{CS_1}}$, avec pour expression :

$$\widehat{H_{CS_1}} = \gamma_1 \hbar \vec{I}_1 \cdot \bar{\delta}_1 \cdot \overrightarrow{B_0} = -\gamma_1 \hbar \vec{I}_1 \cdot \bar{\sigma}_1 \cdot \overrightarrow{B_0} \quad [10]$$

Pour un site donné dans une molécule, le choix du système d'axe principal correspond à l'orientation pour laquelle le champ magnétique induit par les électrons est parallèle avec le champ magnétique extérieur. En se plaçant dans le référentiel avec le système d'axe principal, $\bar{\sigma}$ est une matrice diagonale, dont les éléments σ_{XX} , σ_{YY} et σ_{ZZ} sont appelés valeurs principales, et dont la moyenne, $\sigma_{isotrope}$, définit le déplacement chimique isotrope (équation 3). De plus, l'anisotropie de déplacement chimique (Chemical Shift Anisotropy, abrégé CSA), notée $\Delta\sigma_{anisotrope}$, et le facteur d'asymétrie η sont définis en suivant les équations 4 et 5. Pour introduire les valeurs principales du tenseur dans l'Hamiltonien, il faut effectuer les changements de repères nécessaires (Équation 7). Après application de l'approximation séculaire, l'expression de l'Hamiltonien déplacement chimique est la suivante¹⁴ :

* Par la suite, l'indice 1, faisant référence au fait que dans une molécule, chaque spin provenant d'un même type de noyau produit son propre Hamiltonien d'interaction déplacement chimique en fonction de sa localisation dans une molécule, est sous-entendu pour simplifier les écritures.

$$\widehat{H}_{CS} = -\gamma \hbar B_0 \sigma_{ZZ}^{lab} \vec{I}_z \quad [11]$$

$$\text{Où} \quad \sigma_{ZZ}^{lab} = \sigma_{isotrope} + \Delta\sigma_{anisotrope} \left[\frac{3 \cos^2 \theta - 1}{2} - \underbrace{\frac{\eta}{2} \sin^2 \theta \cos 2\Phi}_{=0 \text{ si symétrie axiale}} \right] \quad [12]$$

Le spectre RMN résultant de l'interaction ici étudiée est un pic compris entre les positions σ_{XX} et σ_{ZZ} . Or, dans une poudre, les cristallites ayant toutes des orientations différentes, chacune possède son propre système d'axe principal et donc son propre couple d'angles (θ ; Φ). Le spectre de l'échantillon est donc la somme de toutes ces composantes discrètes. Une forme continue, appelée spectre de poudre est finalement obtenu. Quelques cas particuliers sont illustrés en Figure 2. Les variations d'intensité dans le spectre de poudre correspondent à la plus grande probabilité d'avoir une orientation perpendiculaire de l'ellipsoïde avec le champ magnétique, que parallèle. Par exemple, dans le cas de l'acétylène, la probabilité que le tenseur déplacement chimique soit aligné avec le champ magnétique est deux fois plus faible que celle de se retrouver perpendiculaire. Plus généralement, ceci correspond au fait que plusieurs orientations moléculaires génèrent la même fréquence de résonance.

Dans le cas d'un liquide, milieu isotrope, les mouvements moléculaires rapides moyennent toutes les orientations dans l'espace. Ainsi, sur les spectres, chaque pic est à sa position $\delta_{isotrope}$.

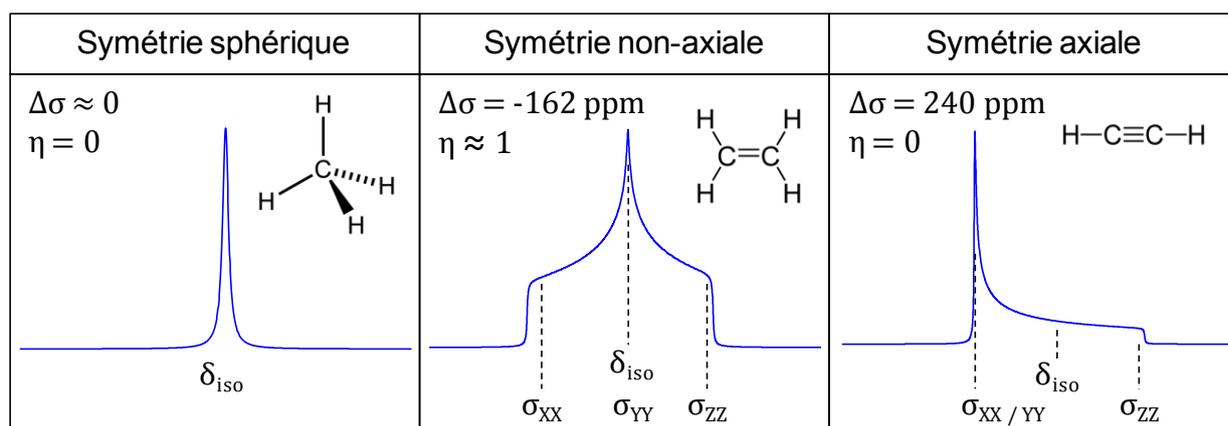


Figure 2 : Spectres de poudres théoriques ^{13}C pour différents composés carbonés, reflétant les effets de symétrie des tenseurs. La simulation est effectuée pour $\nu_0(^{13}\text{C})=150 \text{ MHz}$, avec des valeurs principales de $\bar{\sigma}$ issues de la littérature¹⁵. La valeur de l'asymétrie est arrondie à 1 dans le cas de l'éthène. Une fonction d'apodisation de 400 Hz est ajoutée pour réduire les artefacts dus au nombre restreint de cristallites dans le modèle de cristal.

1.1.3. Interaction dipolaire

L'interaction dipolaire est issue de l'interaction directe (et réciproque) entre un spin et le champ magnétique généré par un second. Elle peut être d'origine intramoléculaire, mais aussi intermoléculaire. L'expression générale de son Hamiltonien est la suivante :

$$\widehat{H}_{D_{I-S}} = \vec{I} \cdot \overline{\overline{D}}_{I-S} \cdot \vec{S} \quad [13]$$

Dans le système d'axe principal, le tenseur d'interaction dipolaire $\overline{\overline{D}}_{I-S}$ possède une symétrie axiale. Il est donc décrit par un axe unique, porté par le vecteur passant du spin I au spin S, dont son orientation par rapport à \vec{B}_0 est paramétrée par un seul angle θ , explicité en Figure 3. Les valeurs principales du tenseur dipolaire sont respectivement de $-d/2$; $+d/2$ et d , où d est appelée constante de couplage dipolaire. Cette grandeur porte des informations quant à la structure du système considéré, car faisant intervenir la distance séparant la paire de spin couplée, selon l'Équation 14. L'estimation des couplages dipolaires est une méthode de choix pour déterminer des distances interatomiques (r_{I-S}).

$$d = \hbar \gamma_I \gamma_S \frac{\mu_0}{4\pi} \frac{1}{r_{I-S}^3} \quad [14]$$

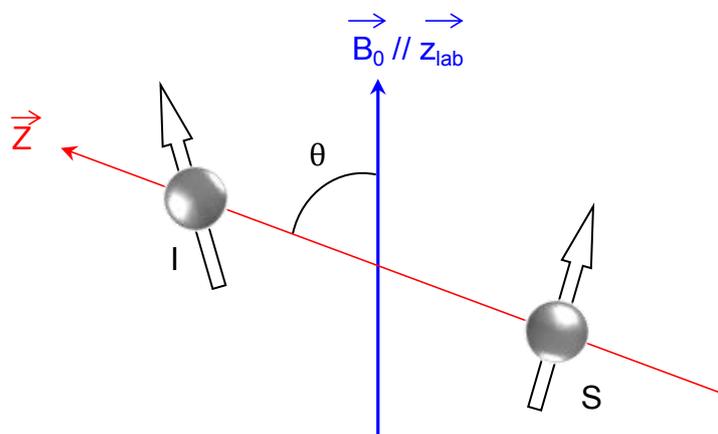


Figure 3 : Orientation du système d'axe principal pour l'étude du couplage dipolaire d'une paire de spins.

Pour tout couplage dipolaire, l'expression développée de l'Hamiltonien d'interaction est donné par l'Équation 15. Dans le cas particulier de couplages hétéronucléaires, la grande différence dans les rapports gyromagnétiques permet la troncature de la partie soulignée d'une étoile ; seuls les termes selon z ont un effet significatif sur les spectres.

$$\widehat{H}_D = -\frac{1}{2}d(3 \cos^2 \theta - 1) \left[3\widehat{I}_z\widehat{S}_z - \underbrace{\widehat{I} \cdot \widehat{S}}_* \right] \quad [15]$$

Tout comme le CSA, l'interaction dipolaire produit aussi un spectre à l'allure caractéristique, de par sa dépendance vis-à-vis de l'orientation dans l'espace, via l'angle θ . En Figure 4 est donné l'exemple d'une simulation du spectre ^1H de l'eau dans le gypse, où la forme du spectre est régie par le couplage dipolaire entre les deux protons d'une même molécule d'eau. Le spectre de la poudre est égal à la somme des composantes venant de chacune des cristallites. Ceci est confirmé en utilisant l'angle θ comme graduation du spectre, et en superposant les contributions de cristallites isolées particulières. Il est à noter qu'il existe une valeur singulière de l'angle θ ($54,7^\circ$), appelée par la suite angle magique (θ_m), telle que l'Hamiltonien dipolaire soit nul. Ceci signifie que pour une cristallite suivant cette orientation, sa fréquence de résonance n'est pas affectée par le couplage dipolaire.

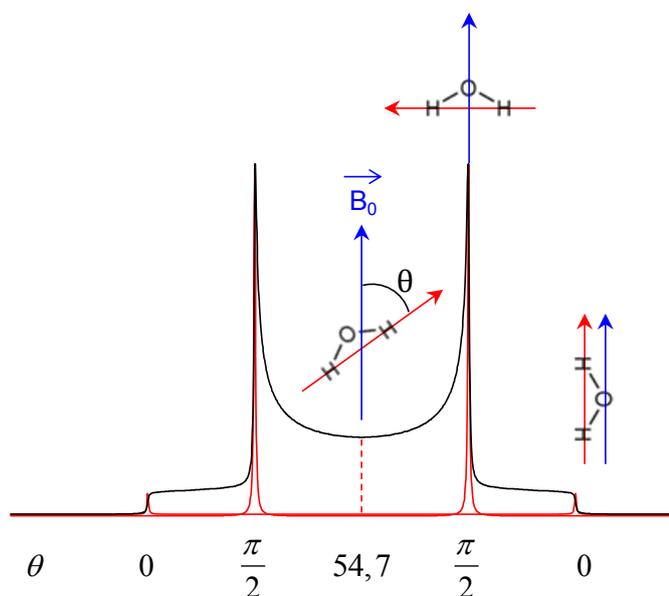


Figure 4 : Spectres ^1H théoriques de l'eau dans le gypse ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), où les protons de l'eau sont uniquement soumis au couplage dipolaire intramoléculaire, relevé dans la littérature à $14,8 \text{ kHz}^{16}$. Pour simplifier la figure, le couplage faible intermoléculaire est négligé. Une fonction d'apodisation de 200Hz est appliquée pour effacer les effets dus au nombre discret de cristallites dans la simulation numérique.

Historiquement, le travail sur le spectre du gypse est une méthode permettant de quantifier la distance interatomique entre les deux protons d'une molécule d'eau¹⁷. Le nom de l'auteur est repris pour nommer cette allure de spectre issu d'un couplage dipolaire, doublet de Pake.

Pour un système de deux spins fortement couplés, le diagramme des niveaux d'énergies (Figure 5) montre qu'il existe plusieurs natures de transitions, selon la variation totale de l'aimantation, ΔM . Avec ce système, les trois types de transitions apparaissant sont appelés :

- zéro quantum (ZQ), quand $\Delta M = 0$. Elles sont à l'origine de la diffusion de spin (Voir section 1.2.2 pour des exemples de son utilisation).
- simple quantum (SQ), quand $\Delta M = \pm 1$. Ce sont les seules directement détectables. Elles permettent d'accéder aux FID dans les expériences de RMN basiques.
- double quantum (DQ), quand $\Delta M = \pm 2$. Leur observation de manière indirecte permet d'établir des corrélations internucléaires et de sélectionner les interactions dipolaires directes (Exemple en section 3.5).

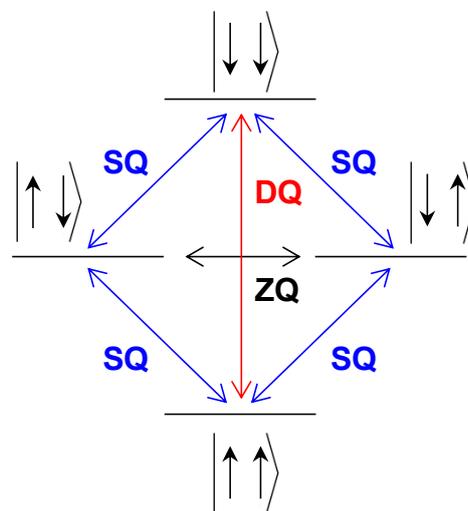


Figure 5 : Niveaux d'énergie et transitions possibles pour une paire de spins homonucléaires.

Seules les transitions SQ font intervenir des composantes purement transverses de l'aimantation décrites par les opérateurs de spins \hat{I}_x , \hat{I}_y , \hat{S}_x et \hat{S}_y . Or, la bobine permettant la réception des signaux RMN est placée selon une direction transverse (x ou y). Ainsi, uniquement les transitions SQ induisent un signal RMN directement observable.

Les transitions DQ (aussi appelées cohérences DQ) ne peuvent pas apparaître pour des spins 1/2 isolés, mais sont présentes pour des paires couplées. Cependant, comme elles sont portées par des combinaisons d'opérateurs $\hat{I}_x\hat{S}_x$, $\hat{I}_y\hat{S}_y$, $\hat{I}_x\hat{S}_y$ et $\hat{I}_y\hat{S}_x$, elles ne peuvent pas être directement observés. Le terme d'expérience filtrée DQ provient donc de la nécessité d'exciter les transitions DQ, puis de les reconvertir selon des cohérences SQ pouvant produire un signal

RMN. Les aspects théoriques et les applications de la RMN DQ ont fait l'objet de publications de synthèse^{18,19} et plusieurs séquences permettent d'obtenir des spectres filtrés DQ²⁰⁻²³.

1.1.4. Couplage scalaire J

Deux spins peuvent interagir indirectement via leurs électrons. Cette interaction magnétique interne est décrite par un tenseur d'ordre 0 : il s'agit d'un couplage scalaire, donc n'ayant pas de dépendance spatiale, appelé couplage J, dont l'expression générale de l'Hamiltonien est :

$$\widehat{H}_{J_{1-2}} = \vec{I}_1 \cdot \overline{J_{1-2}} \cdot \vec{I}_2 \quad [16]$$

Cette interaction est la moins intense parmi celles d'origine interne. Son effet est souvent masqué sur les spectres acquis en RMN du solide, où l'interaction dipolaire prédomine. Cependant, dès que des solutions sont étudiées, les interactions anisotropes sont moyennées à 0 par le mouvement des molécules, et seuls les couplages J subsistent. Si le déplacement chimique répercute les différences d'environnement électroniques, les couplages J sont une traduction des liaisons chimiques.

1.1.5. Interaction quadripolaire

L'interaction quadripolaire est interne aux matériaux, mais de nature électrique. En effet, il s'agit de l'interaction entre les spins nucléaires $I > 1/2$ et les gradients de champs électrique, notamment ceux produits par les nuages électroniques. L'expression de l'Hamiltonien quadripolaire fait intervenir le moment quadripolaire eQ du noyau (Équation 17). La force de cette interaction résulte en des spectres solides présentant des largeurs de raies pouvant être de l'ordre de grandeur du MHz²⁴, qui nécessitent des stratégies particulières pour améliorer la résolution de ces spectres et obtenir des informations structurelles²⁵.

$$\widehat{H}_Q = \frac{eQ}{6I(2I-1)\hbar} \vec{I}_1 \cdot \overline{V} \cdot \vec{I}_2 \quad [17]$$

1.2. Manipulations sur les spins et leurs interactions

1.2.1. Découplage des interactions

1.2.1.1. Rotation à l'angle magique (MAS)

Si les interactions anisotropes comme le CSA et l'interaction dipolaire contiennent nombres d'informations relatives à la structure des composés, elles sont cependant la cause de l'élargissement des raies, et au final de la perte de résolution sur les spectres d'échantillons solides. En effet, il y a superposition des spectres de poudre produits par chacun des sites chimiquement inéquivalents²⁶. Finalement, il devient parfois même impossible de récupérer les informations individuelles à chaque site. Ce manque de résolution est en fort contraste avec la RMN des solutions, où lors de l'étude, les molécules sont en perpétuelle agitation, et sont donc soumises à des réorientations isotropes dans l'espace sur des échelles de temps très courtes (exemple des spectres de curcumine en section 3.3, Figure 46). Cette dynamique moléculaire en solution a pour conséquence de moyennner les Hamiltoniens des interactions, dont seules les composantes isotropes survivent (déplacement chimique isotrope et couplages J). Les spectres résultant sont donc constituées de raies fines et résolues. C'est dans ce cadre qu'a été développée la technique de rotation à l'angle magique^{27,28}, qui vise à manipuler les Hamiltoniens d'interactions anisotropes, afin de les moyennner, et de réobtenir, au moins partiellement, une résolution comparable aux spectres liquides. Dans la suite du texte, cette technique sera référée sous son abréviation MAS pour 'Magic Angle Spinning', et sera systématiquement utilisée lors de l'acquisition de spectres de solides.

En RMN du liquide, c'est la moyenne sur toutes les orientations moléculaires de l'Hamiltonien qui régie le spectre. Or, toutes les interactions anisotropes contiennent un facteur $(3 \cos^2 \theta - 1)$, dont la valeur moyenne sur toutes les orientations est nulle, selon l'Équation 18.

$$\langle \widehat{H_{anisotrope}} \rangle = \langle 3 \cos^2 \theta - 1 \rangle = \int_0^\pi (3 \cos^2 \theta - 1) \sin \theta d\theta = 0 \quad [18]$$

Le dispositif expérimental décrivant la rotation d'un échantillon à l'angle magique est schématiquement représenté en Figure 6, où trois angles sont définis. θ correspond à l'angle entre l'axe principal du tenseur d'interaction et le champ magnétique extérieur. θ_m , l'angle magique, d'une valeur de $54,74^\circ$ est précisément fixé par l'expérimentateur²⁹. Il correspond à l'inclinaison de l'axe de rotation du rotor contenant l'échantillon étudié avec \vec{B}_0 . α est défini

comme étant l'angle entre l'axe principal du tenseur et l'axe de rotation du rotor. En considérant le cas d'un monocristal, tel que son axe principal soit parallèle à l'axe de rotation MAS, l'angle θ ayant une valeur égale à θ_m , le facteur $(3 \cos^2 \theta - 1)$ est annulé, et le spectre ne présentera aucune caractéristique provenant des interactions anisotropes. En pratique, il est nécessaire de prendre en compte toutes les orientations simultanées des cristallites d'une poudre. Pour ce faire, celle-ci est mise en rotation autour de l'axe incliné à l'angle magique. En utilisant ces conditions expérimentales, le facteur $(3 \cos^2 \theta - 1)$ des Hamiltoniens des interactions anisotropes, devient une fonction du temps, dont il faut désormais considérer la valeur moyenne sur une période de rotation. Avec les considérations géométriques appropriées³⁰, celle-ci s'écrit comme une fonction des angles θ_m et α , et il devient évident que la MAS permet théoriquement de complètement s'affranchir des interactions anisotropes (Équation 19).

$$\langle 3 \cos^2 \theta - 1 \rangle = \frac{1}{2} \underbrace{(3 \cos^2 \theta_m - 1)}_{=0 \text{ si } \theta_m = 54,74^\circ} (3 \cos^2 \alpha - 1) \quad [19]$$

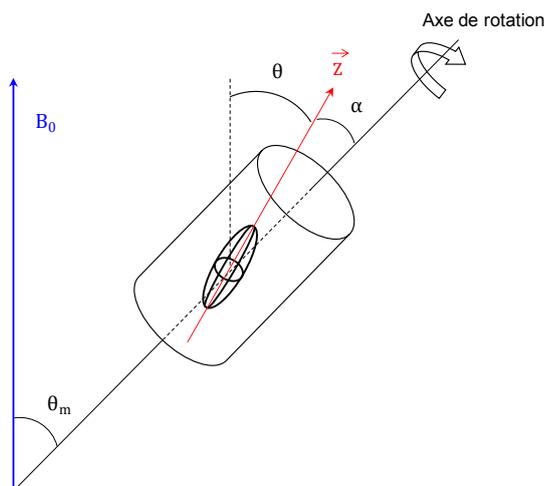


Figure 6 : Représentation schématique de la rotation à l'angle magique ($\theta_m = 54,74^\circ$).

Une des conséquences de la rotation à l'angle magique est la formation d'échos de rotation. Elle est décrite en suivant la trajectoire de l'aimantation qui produira le FID. L'aimantation est placée dans le plan transverse du référentiel tournant par une impulsion 90° (de préparation). Puis, lors d'une unique période de rotation du rotor, l'orientation des cristallites change par rapport à \vec{B}_0 , modifiant par conséquent l'orientation des tenseurs d'interaction et finalement les fréquences d'évolutions enregistrées dans le FID. Cependant, après cette première période de rotation, l'échantillon est retourné dans sa configuration de départ. Chaque cycle de

rotation suivant étant identique au premier, il produira la même unité de FID, dont la juxtaposition forme le FID global. Cette répétition du signal est appelée écho de rotation et illustrée en Figure 7. En pratique, il faut aussi considérer les effets de la relaxation qui amène l'intensité des échos à diminuer avec la progression dans le temps. Effectuer la transformée de Fourier du signal enregistré pendant une demi-période de rotation est équivalent à considérer la somme sur toutes les orientations possibles des cristallites. Le spectre résultant a donc pour allure un spectre de poudre. Si la transformée de Fourier est effectuée sur une unité complète de FID, une bonne résolution peut être obtenue (même à basse vitesse de rotation). En effet, il est observé que le spectre obtenu consiste en un pic centré à la fréquence correspondante à $\delta_{isotrope}$, accompagné de pics, appelés bandes de rotation, espacés les uns des autres (en fréquence) de multiples entiers de la MAS. Mathématiquement, ces bandes de rotation sont issues des termes d'anisotropie des interactions.

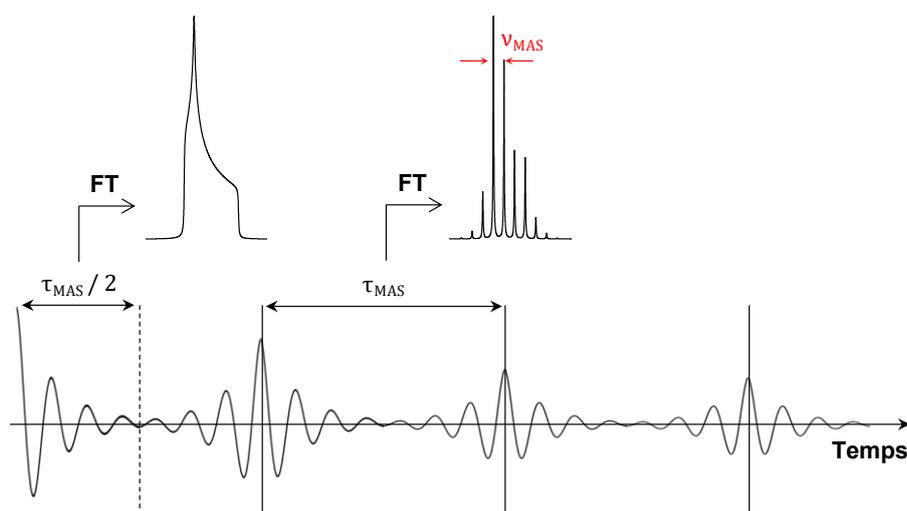


Figure 7 : FID et spectres d'un échantillon en fonction de la période de rotation à l'angle magique.

Pour que la MAS moyenne à 0 toutes les interactions anisotropes, il faut que sa vitesse soit suffisamment élevée, de l'ordre de 3 à 4 fois la valeur de l'anisotropie. Dans le cas contraire, un régime intermédiaire s'établit et le spectre présente un pic correspondant au déplacement chimique isotrope, accompagné de bandes de rotations. L'écart en Hz entre deux bandes de rotations est égal à la vitesse MAS³¹. Plus la vitesse MAS est faible, plus les bandes de rotation sont nombreuses et intenses. Obtenir des vitesses MAS toujours plus élevées, pour des résolutions accrues des spectres de solides, est un défi technologique³². Les récents progrès dans ce domaine permettent désormais d'accéder à des vitesses qualifiées d'ultra rapide, c'est-à-dire

supérieures à 60 kHz^{33,34}, permettant l'étude de nombreux solides, notamment ceux présentant des intérêts pharmaceutiques, et offrant de nouvelles perspectives dans l'interprétation des spectres protons³⁵⁻³⁸.

1.2.1.2. Séquences de découplage par impulsions radiofréquences

Dans un premier temps, l'utilisation de la MAS n'est souvent pas suffisante à l'obtention de spectres parfaitement résolus, y compris pour les spins autres que le ^1H . Ceci est généralement lié aux couplages dipolaires hétéronucléaires avec les protons abondants. Il est donc nécessaire de compléter la MAS par des techniques de manipulation des spins ^1H afin de moyenniser les couplages hétéronucléaires à zéro dans le temps. Ainsi, différentes séquences de découplage hétéronucléaire sont disponibles pour affiner la résolution spectrale. Par la suite, elles seront systématiquement employées lors de l'acquisition des spectres, notamment lors des mesures de relaxation ^{13}C et ^{23}Na du S[NP] (paragraphe 2.4.1), ou par exemple dans l'étude de nanoparticules de lipides en fonction de la température (paragraphe 3.4.2).

Les aspects théoriques et expérimentaux des différentes techniques de découplage hétéronucléaire les plus couramment utilisées ont été publiés dans plusieurs reviews^{39,40}. La séquence de découplage la plus simple consiste en une irradiation continue à haut champ RF des spins I (^1H), d'où son appellation anglaise CW (Continuous Wave)^{39,41}. L'efficacité de cette séquence provient de la proportionnalité de l'Hamiltonien d'interaction dipolaire hétéronucléaire à $\hat{I}_z \hat{S}_z$ (Équation 15). Un spin I parallèle à \vec{B}_0 (spin up) produit un décalage de la fréquence de résonance du spin S auquel il est couplé opposé à celui produit par un spin I antiparallèle (spin down). Sous l'effet du champ RF continu, les spins I associés se retrouvent en rotation permanente autour d'un axe, et alternent entre leurs états up et down, produisant au final une valeur moyenne nulle dans le temps du couplage dipolaire⁴². Cependant, cette méthode peut être grandement améliorée en considérant des séquences d'impulsions multiples appliquées pendant l'acquisition du FID⁴³. En effet, il a été observé que l'efficacité du découplage CW diminue avec l'augmentation de la MAS, et une comparaison des performances des séquences (affinement des pics obtenus et augmentation de leurs intensités) a aussi été étudiée et récemment synthétisée dans une publication de référence⁴⁴. L'accessibilité accrue à des sondes permettant des hautes vitesses MAS nécessite donc l'utilisation d'autres séquences de découplage. Tous les spectres expérimentaux ^{13}C et ^{23}Na présentés dans ce manuscrit utilisent ainsi la séquence SPINAL-64, où le découplage est produit par des séries de 64 impulsions ayant des phases précises^{45,46}.

Dans un second temps, la RMN du solide des ^1H est rendue difficile à cause de la très grande force des couplages dipolaires homonucléaires qu'ils génèrent, et qui souvent ne peuvent pas être moyennés aux vitesses MAS communément accessibles. L'expérimentateur peut donc être amené à appliquer des séquences d'impulsions pour compléter l'action de découplage homonucléaire de la MAS.

Historiquement la première forme de découplage homonucléaire implémentée⁴⁷, le découplage Lee-Goldburg (LG), subsiste comme la méthode de choix pour obtenir des spectres solides ^1H résolus. Elle, repose sur une irradiation hors-résonance, telle qu'en se plaçant dans le référentiel tournant, les moments magnétiques des spins soient inclinés à l'angle magique ($\theta_m=54,74^\circ$) par rapport à cette direction hors-résonance (Figure 8). Ainsi, avec l'irradiation LG, les spins se retrouvent en précession à l'angle magique⁴⁸. Plus le champ effectif est intense, meilleur sera le découplage homonucléaire. Il a été montré que l'efficacité du découplage LG est grandement améliorée en juxtaposant la création d'un champ effectif ($\vec{B}_{\text{effectif}}$), suivi d'un champ porté par le vecteur de sens opposé ($-\vec{B}_{\text{effectif}}$)^{49,50}. Ce changement de fréquence donne son nom à la séquence de découplage FSLG (Frequency Switched LG).

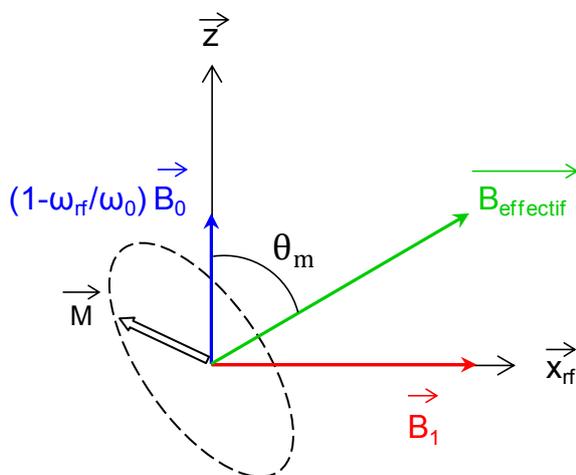


Figure 8 : Dans un référentiel tournant à la fréquence ω_{rf} , une impulsion hors-résonance (telle que $\omega_{rf} \neq \omega_0$) induit une réduction de la fréquence de Larmor d'une valeur ω_0 à $\omega_0 - \omega_{rf}$, pouvant être vue comme le fruit d'un champ magnétique effectif résiduel selon l'axe \vec{z} . Le champ magnétique ressenti par les spins est donc le vecteur résultant de la somme de ce champ résiduel et de \vec{B}_1 . Ici, il est incliné à l'angle magique θ_m , permettant le découplage LG. L'ellipse en pointillés marque la trajectoire de précession de l'aimantation autour du champ magnétique effectif.

Une variante du découplage FSLG repose sur la conversion de la génération directe d'une fréquence hors-résonance, par une suite d'impulsions, dont la phase est progressivement modifiée. Cette modulation de la phase donne le nom de cette séquence⁵¹ : PMLG (Phase Modulated LG). Cette base du découplage PMLG peut également être soumise à des modifications de différentes natures. Tout d'abord, une légère variation peut être apportée en insérant un délai, de part et d'autres des impulsions constituant le découplage PMLG⁵². Ces fenêtres permettent notamment l'application de découplage pendant l'acquisition du spectre ^1H , et donc une diminution notable du temps d'expérimentation, l'acquisition d'un spectre ^1H ne nécessitant plus le passage par un spectre 2D. La deuxième modification consiste à appliquer deux fois plus d'impulsions pendant un cycle de découplage, permettant d'épurer les spectres obtenus en éliminant le pic central et certains artefacts comme les pics miroirs⁵³.

Finalement, il est relevé dans la littérature d'autres techniques de découplage homonucléaire²³. Par exemple, les séquences de découplage DUMBO sont issues d'optimisation numériques des phases d'impulsions PMLG⁵⁴⁻⁵⁶.

1.2.2. Transferts de polarisation

Les différents processus d'échange de polarisation entre les spins apportent des possibilités expérimentales sur plusieurs plans. En effet, selon les mécanismes qui les régissent, des informations structurales (distances, angles, proches voisins, ...) sont accessibles. D'autre part, dans un système contenant des spins abondants (^1H), un transfert de leur polarisation vers des spins plus rares (^{13}C , ^{15}N , ...) permet d'augmenter leur polarisation et ainsi leur sensibilité. Associées, ces deux caractéristiques permettent l'acquisition de spectres de corrélation hétéronucléaire, la mise en évidence d'interactions hôtes / matrice (présentée en section 2.5), ou d'attribuer des spectres ^1H peu résolus (Annexe 4). Enfin, les transferts par CP et INEPT permettent de filtrer les spectres en ne sélectionnant que les composés solides et liquides respectivement^{57,58}. Ce filtrage sera par exemple employé en section 3.4 pour l'attribution de transitions de phase dans des nanomatériaux.

1.2.2.1. Diffusion de spin et polarisation croisée (CP)

La diffusion de spin décrit un processus de transfert de la polarisation entre des spins identiques séparés dans l'espace⁵⁹⁻⁶¹. Même en l'absence d'impulsion RF, sous l'action des couplages dipolaires homonucléaires, des transferts d'aimantation longitudinale M_z ont lieu. En effet, pour une paire de spin \vec{I}_1 et \vec{I}_2 , le couplage dipolaire étant généralement nettement plus fort

que leur différence de déplacement chimique, les niveaux d'énergie $|\uparrow\downarrow\rangle$ et $|\downarrow\uparrow\rangle$ sont proches (Figure 5). Sous l'action de l'Hamiltonien d'interaction dipolaire homonucléaire (et plus particulièrement du terme d'échange $\hat{I}_1 \cdot \hat{I}_2$), les inversions mutuelles des spins entre les états $|\uparrow\downarrow\rangle$ et $|\downarrow\uparrow\rangle$ sont donc très probables (transitions ZQ)⁶². Par conséquent, un transfert d'aimantation réversible entre les spins \vec{I}_1 et \vec{I}_2 prend place. De part la dépendance de l'Hamiltonien dipolaire à r_{1-2}^3 , l'interaction est limitée à des spins proches voisins. Cependant, comme dans le cas d'un solide, les spins \vec{I}_1 et \vec{I}_2 interagissent avec de nombreux autres spins \vec{I}_n de même nature, il est fort probable qu'avant que l'aimantation du spin \vec{I}_2 retourne à \vec{I}_1 , elle se propage à d'autres spins couplés à \vec{I}_2 (plus distants de \vec{I}_1), dans un mécanisme proche d'une marche aléatoire⁶³. C'est ainsi que le terme de diffusion de spin a été établi.

La diffusion de spin impliquant des noyaux de différentes natures (cas hétéronucléaire) requiert des conditions particulières. En effet, pour avoir une égalisation des niveaux d'énergies, il faut prendre en compte la différence de rapport gyromagnétique entre les noyaux. Ainsi, pour que de la diffusion de spin entre des spins de différentes natures prenne place dans une expérience de polarisation croisée, les conditions de Hartmann-Hahn doivent être au préalable vérifiées.

Si de nombreux noyaux ont un spin supérieur ou égal à 1/2, trois difficultés sont rencontrées pour accéder par RMN aux informations qu'ils portent : leurs faibles abondances naturelles couplées à des petits rapports gyromagnétiques se traduisent par des rapports signal sur bruit d'autant plus faibles. Par exemple, seulement 1,108% du carbone est du ^{13}C , de spin 1/2, et son rapport gyromagnétique est quatre fois plus petit que celui du proton. De plus, dans le cas des solides, leurs T_1 (Voir 1.3) sont généralement longs, rallongeant donc considérablement les temps d'expériences. En effet, les couplages homonucléaires favorisant la relaxation sont généralement absents, et seuls les couplages hétéronucléaires faibles subsistent. Pour pallier à ces manquements, une séquence plus adaptée que l'acquisition directe du FID est utilisée (Figure 9). Elle repose sur le principe de 'Cross Polarization', dénoté avec l'abréviation CP⁶⁴, où le transfert de la polarisation d'un bain de spins abondants I vers les spins rares S prend place, pour profiter de leur grand nombre, grand rapport gyromagnétique et plus faibles temps de relaxation T_1 .

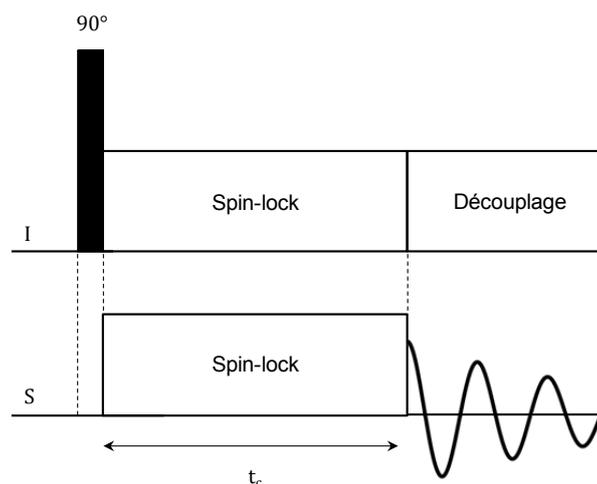


Figure 9 : Séquence d'impulsion CP, permettant l'acquisition d'un spectre d'un noyau dilué S. La variable t_c , appelée temps de contact est choisie par l'expérimentateur. Une séquence de découplage hétéronucléaire est appliquée sur le canal I pendant l'acquisition du FID.

Le transfert CP est le fruit des couplages dipolaires hétéronucléaires I-S. Expérimentalement, il est réalisé pendant le temps de contact, t_c , pendant lequel les niveaux d'énergies pour les spins abondants I et rares S sont égalisés. Ceci est réalisé par une irradiation* continue et simultanée aux deux fréquences de résonance (des spins I et S), telles que les champs B_1 résultant vérifient les conditions de Hartmann-Hahn⁷⁰ :

$$\gamma_I B_{1I} = \gamma_S B_{1S} \Leftrightarrow \omega_{1I} = \omega_{1S} \quad [20]$$

Pour expliciter l'échange d'aimantation ayant lieu lors d'une expérience CP (Figure 9 et Figure 10), il est nécessaire de se placer dans un double référentiel tournant, l'un associé aux spins abondants I, l'autre aux spins dilués S, chacun ayant à sa propre fréquence de rotation, de part la différence de rapport gyromagnétique entre les spins I et S. La première impulsion 90° appliquée sur le canal I permet de positionner l'aimantation dans le plan $(\vec{x} ; \vec{y})$. Pendant le temps de contact, l'impulsion continue appliquée sur le canal I génère un champ magnétique B_{1I} . Dans le référentiel tournant, les niveaux d'énergie des spins se retrouvent séparés sous l'action de ce nouveau champ magnétique, selon l'orientation parallèle ou antiparallèle des spins. L'action de l'impulsion de contact sur le canal S a le même effet de génération d'un champ B_{1S}

* Cette irradiation pendant le temps de contact a pour conséquence une croissance exponentielle de l'aimantation, suivie d'une diminution de celle-ci à cause de la relaxation $T_{1\rho}$, dans un référentiel tournant à la fréquence ω_1 ⁶⁵. Pour des temps de contacts courts, des déviations par rapport à ce modèle initial ont été observées, sous la forme d'une modulation superposée à la croissance de l'aimantation, pouvant amener à des déterminations de distances interatomiques⁶⁶⁻⁶⁹.

et des niveaux d'énergie associés pour les spins. Si les conditions de Hartmann-Hahn sont vérifiées, alors l'écart énergétique entre les niveaux d'énergie des spins I est égal à celui entre les niveaux des spins S. C'est dans ces conditions que prend place le mécanisme de transfert de l'aimantation sous l'action de l'Hamiltonien d'interaction dipolaire hétéronucléaire. Pour chacune des paires de spins (orientée via l'angle θ , Figure 3), pour un couplage entre des noyaux de natures différentes, celui-ci ne contient que des termes faisant intervenir les opérateurs I_z et S_z :

$$\widehat{H}_D = \sum_{j>k} d_{jk} \frac{1}{2} (3 \cos^2 \theta_{jk} - 1) \widehat{I}_{jz} \widehat{S}_{kz} \quad [21]$$

Cet opérateur n'agissant pas sur les composantes transverses des spins, et ceux-ci étant justement dans ce plan (\vec{x} ; \vec{y}), l'Hamiltonien dipolaire ne peut modifier ni l'énergie totale du système de spin, ni l'aimantation totale (provenant de l'ensemble des spins I et S). Donc, pour respecter la conservation de l'énergie et du moment angulaire, chaque transition affectant un spin I doit être conjuguée à une transition pour un spin S. Ces transitions doivent être énergétiquement compensées, ce qui signifie que si la transition affectant le spin I nécessite de l'énergie, alors celle du spin S en libère, et vice-versa. L'action de l'Hamiltonien dipolaire consiste alors en une redistribution de l'énergie entre les deux bains de spins. Celle-ci est motivée par la grande différence entre les populations parallèles et antiparallèles des spins I précédemment amenée par l'impulsion 90° . L'aimantation selon I est donc transférée aux spins S, augmentant progressivement la population antiparallèle des spins I. Pour vérifier les lois de conservation, pour chaque retournement de spin I, un spin S bascule dans le sens opposé.

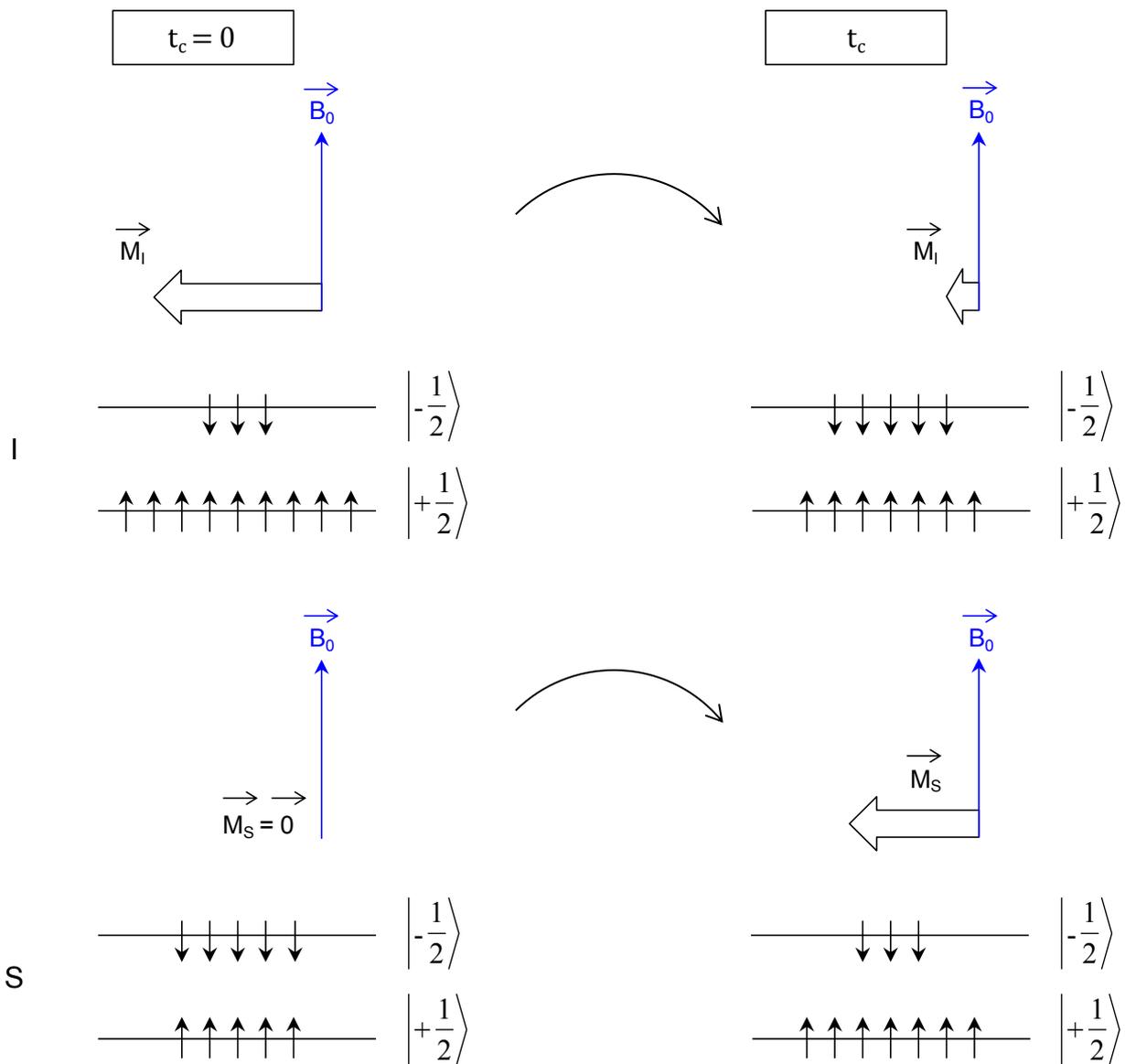


Figure 10 : Description de l'expérience CP pendant le temps de contact (t_c). À l'état initial, l'impulsion 90° a créé un excédant de spins I parallèles à B_{IX} . Aucune impulsion n'ayant été encore appliquée sur le canal S, les spins sont à l'équilibre et l'aimantation M_S est strictement nulle. Pendant le temps de contact, l'écart entre les niveaux d'énergies est égalisé pour les spins I et S. Sous l'action des couplages dipolaires hétéronucléaires, un transfert de la polarisation $I \rightarrow S$ prend place. Pour respecter la conservation de l'énergie et du moment magnétique total, une transition up vers down pour un spin I est nécessairement couplée à une transition down vers up pour un spin S. À l'état final, la polarisation des spins S a été considérablement accrue.

Figure adaptée à partir de *NMR Spectroscopy : Principles and Applications*¹⁴.

Pour améliorer la résolution des spectres, la CP peut être réalisée sous MAS⁷¹. Dans ce cas, plusieurs conditions de concordance des niveaux d'énergie existent à une vitesse de rotation donnée :

$$\omega_{1_I} = \omega_{1_S} + n\nu_{MAS} ; n \in \mathbb{Z} \quad [22]$$

Cependant, plus la MAS est rapide, plus les conditions d'égalité des niveaux d'énergie sont éloignées les unes-des autres, et plus la séquence de CP devient difficile à optimiser. De plus, les inhomogénéités de champs RF, ainsi que ses fluctuations sont à solutionner. Au lieu d'irradier à une fréquence continue durant le temps de contact, il est possible de remplacer ce bloc par une irradiation à des amplitudes de champs RF variées, afin de couvrir une gamme plus large de fréquences^{72,73}. Il en résulte une robustesse accrue de la séquence par rapport au mis-ajustement de fréquences. Enfin, un transfert de polarisation CP peut être inséré dans une séquence 2D. Ainsi faisant, l'expérience de RMN du solide de corrélation hétéronucléaire est dénommé HETCOR^{74,75} permet de corrélérer les déplacements chimiques des protons à ceux d'autres noyaux (¹³C, ¹⁵N,...).

1.2.2.2. Inensitive Nuclei Enhanced by Polarization Transfer (INEPT)

Le couplage J est une interaction permettant aussi de produire des transferts de polarisation entre les spins avec, par exemple, la séquence INEPT⁷⁶. Elle est initialement développée pour améliorer, dans des systèmes à l'état liquide, l'intensité des signaux des spins à faible rapport gyromagnétique, par une méthode indépendante des temps de relaxation (et de l'effet NOE)⁷⁷. Son schéma est représenté en Figure 11. L'intervalle de temps τ définissant l'écho de spin (Voir Figure 22) est ajusté selon la force des couplages J_{I-S} (en Hz) selon la relation suivante, bien qu'expérimentalement choisie pour une valeur moyenne des couplages observés entre les spins I et S.

$$\tau = \frac{1}{2J_{I-S}} \quad [23]$$

Avec ce schéma d'impulsion, les effets de la séquence INEPT sont ceux d'une séquence d'écho de spin hétéronucléaire avec impulsion 180° sur les deux canaux I et S. Comme l'écho produit une période d'évolution indépendante du déplacement chimique, seuls les couplages J importent. Le développement mathématique de l'évolution de la matrice densité (représentant l'ensemble des spins I et S d'un système) lors d'une séquence INEPT^{78,79} montre qu'à l'instant

où l'acquisition démarre, il existe la présence d'un terme $2\gamma_I\widehat{I}_z\widehat{S}_y$ correspondant à une configuration antiphase sur S, mais affectée de la polarisation issue des spins I.

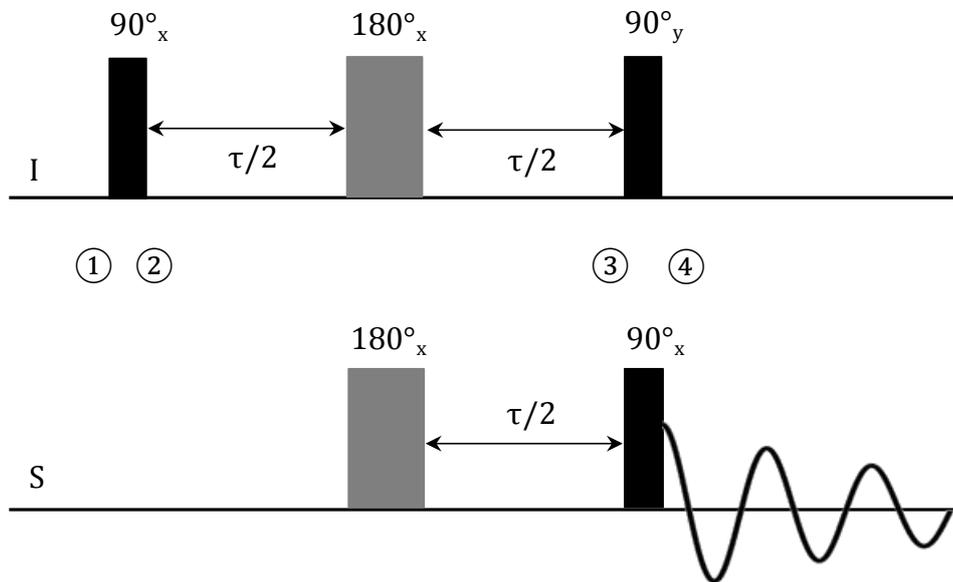


Figure 11 : Séquence d'impulsion INEPT basique. Son effet sur les états de spins est décrit en trois étapes.

- La 1^{ère} impulsion 90°_x sur le canal I* permet de basculer l'aimantation proton initialement longitudinale dans le plan transverse : $\widehat{I}_z \rightarrow -\widehat{I}_y$ (Équation26)

- Cette étape de préparation est suivie d'un écho de spin hétéronucléaire sur les canaux I et S. L'impulsion 180° simultanée permet de supprimer tous les effets de déplacement chimique⁷⁸.

Les opérateurs de spins se transforment selon $-\widehat{I}_y \rightarrow \widehat{I}_y$ et $\widehat{S}_z \rightarrow -\widehat{S}_z$.

De plus, si les délais τ sont idéalement calibrés, l'écho de spin a pour effet de convertir tous les états de spins non corrélés en des états corrélés (et vice-versa).

Ici, $\widehat{I}_y \rightarrow -2\widehat{I}_x\widehat{S}_z$, en supposant que les spins S permettent l'établissement de couplages $J_{I-S} > 0$ (ex : S = ^{13}C).
(Équation27)

- Dans un dernier temps, deux impulsions 90° sont appliquées simultanément sur les canaux I et S, pour permettre la détection des composantes transverses de l'aimantation. Ainsi, $2\widehat{I}_x\widehat{S}_z \rightarrow 2\widehat{I}_z\widehat{S}_y$. (Équation28)

Soit $\rho_{\textcircled{1}}$ la matrice densité décrivant l'état initial d'une paire de spins $\frac{1}{2}$ hétéronucléaire notés I et S. Il est rappelé que ses éléments diagonaux correspondent aux populations des quatre états $|\uparrow\uparrow\rangle$, $|\uparrow\downarrow\rangle$, $|\downarrow\uparrow\rangle$ et $|\downarrow\downarrow\rangle$. Ses éléments hors-diagonaux traduisent quant à eux les différentes cohérences. Pour un système de deux spins, l'ensemble de ces éléments sont exprimés à partir

* Il est supposé que les impulsions appliquées sur un canal, par exemple I, n'affecte pas les autres spins (S).

des matrices 4x4 établies par l'ensemble des produits directs définis par l'équation 24, où \widehat{Id} est la matrice identité, \widehat{I} et \widehat{S} les opérateurs de spins.

$$\{\widehat{Id}; \widehat{I}_x; \widehat{I}_y; \widehat{I}_z\} \otimes \{\widehat{Id}; \widehat{S}_x; \widehat{S}_y; \widehat{S}_z\} \quad [24]$$

Comme la population des 4 états est décrite par une distribution de Boltzmann de facteur B, il peut être montré que⁷⁸ :

$$\rho_{\textcircled{1}} = \frac{1}{4} (\widehat{Id} + B_I \widehat{I}_z + B_S \widehat{S}_z) \quad [25]$$

Où $\forall i, \quad B_i = \frac{\gamma_i B_0}{k_B T}$

Comme $B_S < B_I$, l'objectif de la séquence INEPT est d'obtenir un terme d'aimantation porté par les spins S, désormais pondéré par le facteur B_I . Les équations suivantes traduisent l'action des différentes impulsions RF de la séquence INEPT sur les opérateurs de spins, c'est-à-dire les différentes rotations qui leurs sont appliquées.

Tout d'abord, les spins I sont excités par une impulsion 90_x° :

$$\rho_{\textcircled{2}} = \frac{1}{4} (\widehat{Id} - B_I \widehat{I}_y + B_S \widehat{S}_z) \quad [26]$$

Puis, les spins I et S sont soumis à un écho de spin, c'est-à-dire deux délais $\tau/2$ de part et d'autre de deux impulsions 180_x° simultanées sur I et S, pendant lesquels les spins n'évoluent que sous l'action des couplages J_{I-S} . À la fin de l'écho, l'expression de la matrice densité est la suivante :

$$\rho_{\textcircled{3}} = \frac{1}{4} (\widehat{Id} + B_I 2\widehat{I}_x \widehat{S}_z - B_S \widehat{S}_z) \quad [27]$$

Enfin, dans une dernière étape, les impulsions 90_y° et 90_x° appliquées respectivement sur les canaux I et S permettent le transfert de polarisation et la détection de l'aimantation portée par les spins S. En effet, avant le démarrage de l'acquisition du FID,

$$\rho_{\textcircled{4}} = \frac{1}{4} (\widehat{Id} + B_I 2\widehat{I}_z \widehat{S}_y + B_S \widehat{S}_y) \quad [28]$$

Dans cette équation, le terme $B_I 2\widehat{I}_z \widehat{S}_y$ correspond à la configuration antiphase sur S affectée de la polarisation de I et $B_S \widehat{S}_y$ est le terme provenant de la composante initiale \widehat{S}_z qui est non amplifiée par la séquence INEPT.

Cette expérience peut être modifiée⁸⁰ en une version dite avec refocalisation, où un écho supplémentaire est ajouté avant l'acquisition. Ce second écho permet de refocaliser la composante antiphase. Ainsi, la polarisation transférée par INEPT est portée par l'opérateur \widehat{S}_y . Les spectres produits avec refocalisation ne consistent plus d'un doublet de pics d'intensités de signes opposés, mais d'un doublet en phase. Un découplage peut être appliqué pendant l'acquisition, résultant en un unique pic positif nettement plus intense. De ce fait, c'est cette séquence qui sera utilisée dans la section 3.4.

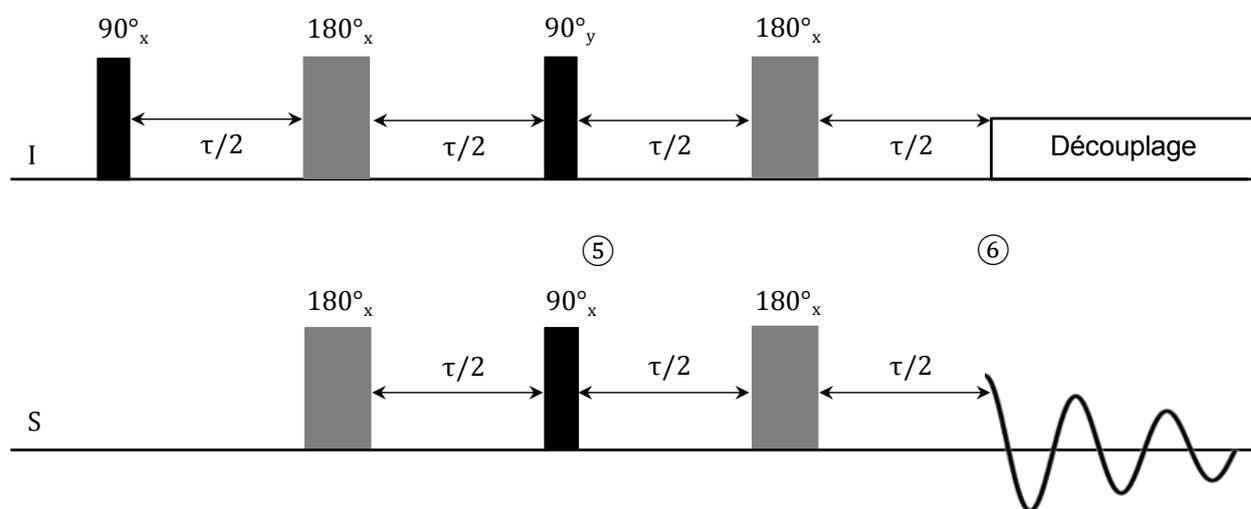


Figure 12 : Séquence d'impulsion INEPT refocalisée, permettant d'amplifier la polarisation des spins S. Contrairement à l'INEPT simple (Figure 11), l'INEPT refocalisée peut être utilisée avec un découplage hétéronucléaire pendant l'acquisition.

La séquence INEPT refocalisée débute identiquement. Ainsi, on retrouve avant le second écho la matrice densité précédemment décrite :

$$\rho_{\textcircled{5}} = \frac{1}{4} (\widehat{I}d + B_I 2\widehat{I}_z \widehat{S}_y + B_S \widehat{S}_y) \quad [29]$$

À ce stade de l'expérience, le second écho de spin de durée totale τ est appliqué. Ainsi, à la fin de l'écho,

$$\rho_{\text{⑥}} = \frac{1}{4} (\widehat{I_d} + B_I \widehat{S_y} - B_S 2 \widehat{I_z} \widehat{S_y}) \quad [30]$$

Sous l'action du découplage, le faible terme antiphase $\widehat{I_z} \widehat{S_y}$ est annulé, laissant seulement un terme $\widehat{S_y}$ en phase, d'intensité accrue grâce au transfert de polarisation provenant des spins I.

1.2.3. Recouplage des interactions

Si la MAS et les séquences de découplage ont pour objectif de moyenniser à zéro toutes les interactions anisotropes pour gagner en résolution, de nombreuses informations structurales sont perdues avec ces procédés. C'est dans ce cadre que sont développées des séquences d'impulsions ayant pour but de compenser les effets de la MAS, c'est-à-dire de réintroduire sélectivement (recoupler) une ou plusieurs interactions^{62,81}, pendant une période distincte des étapes de détections. Dans cette section sont présentées trois d'entre elles : REDOR, RFDR et BaBa. La première est une séquence de recouplage dipolaire hétéronucléaire et permet une quantification des distances interatomiques. Elle sera appliquée à la caractérisation d'une interaction hôte / invité en section 2.5. Les deux autres sont des séquences de recouplage dipolaire homonucléaire reposant sur l'excitation de cohérences ZQ et DQ, respectivement. Elles permettent d'établir des cartes 2D de corrélation afin d'identifier les sites connexes. En particulier, la séquence RFDR sera la séquence de prédilection lors de l'étude par RMN du ¹H de la partition de la curcumine dans différents matériaux, et cette séquence sera incluse dans la période de mélange des expériences de corrélation homonucléaire (sections 3.4 et 3.5).

1.2.3.1. REDOR

REDOR, acronyme pour Rotational Echo Double Resonance, est une séquence développée dans le but de mesurer des couplages dipolaires hétéronucléaires faibles (¹³C / ¹⁵N), ainsi que des distances interatomiques avec précision^{82,83}. Depuis, cette séquence a été étendue à de nombreux hétéro-atomes⁸⁴ et permis notamment la caractérisation structurale de systèmes biologiques⁸⁵.

Plusieurs variantes de la séquence REDOR ont été développées⁸³ et le schéma présenté en Figure 13 et celui utilisé par la suite (Voir section 2.5). En effet, les impulsions de déphasage peuvent être appliquées sur le canal I, et l'écho sur le canal S pour corriger les effets amenés par d'éventuelles imperfections des impulsions. Dans ce travail, pour s'assurer de l'absence de

déphasage induit par l'électronique, les spectres REDOR sont acquis sur l'échantillon d'intérêt, puis sur un échantillon de référence (où aucun déphasage dus aux couplages dipolaires n'est possible). Enfin, les impulsions 180° peuvent être réparties sur les deux canaux si les spins I ont un fort CSA (ou une constante quadripolaire modérée). Cependant, cette version de la séquence REDOR requiert une stabilité et un ajustement extrêmement précis de vitesse MAS (à quelques Hz près).

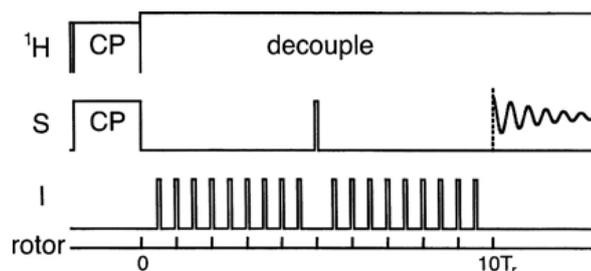


Figure 13 : Séquence d'impulsions REDOR, utilisée en section 2.5, pour une durée de déphasage choisie dans l'exemple à 10 périodes de rotation MAS. Pour accéder à l'aimantation portée par des spins dilués, une étape de CP précède le bloc REDOR. Expérimentalement, un spectre de référence est acquis sans les impulsions 180° de déphasage sur le canal I.

Figure adaptée de "Rotational-Echo, Double-Resonance NMR" par Terry Gullion⁸³

La séquence débute par une phase de transfert de polarisation CP des protons abondants vers les spins dilués S, qui produiront le FID, afin d'accroître leur polarisation (Voir section 1.2.2). Ensuite, une période d'évolution des couplages dipolaires hétéronucléaires est insérée, pendant laquelle l'effet de la MAS est partiellement annulé par une série d'impulsions 180° (sur le canal I) synchronisée avec ν_{MAS} . L'emploi d'un écho de spin sur le canal de détection S permet d'éviter une modulation supplémentaire du signal sous les effets de déplacement chimique⁷⁸ pendant la période de recouplage dipolaire. Enfin, la détection se fait sur le canal S, tout en appliquant une séquence découplage hétéronucléaire sur le canal 1H pendant l'acquisition du signal. L'action de la séquence REDOR peut être qualitativement décrite en considérant l'évolution de l'interaction dipolaire au cours du temps, et plus précisément en fonction de la période de rotation du rotor MAS (Figure 14). Cette évolution est produite par une évolution périodique⁸⁶ de l'Hamiltonien d'interaction dipolaire (Voir paragraphe 1.1.3). Ses deux propriétés importantes sont l'alternance du signe de son intensité, et la valeur nulle de son intégrale sur une période de rotation, cette dernière correspondant à la suppression de l'interaction dipolaire par la MAS (obtention du spectre de référence, d'intensité S_0). Avec l'application à intervalles réguliers et judicieusement placés d'un champ RF, il est possible

d'obtenir une évolution de l'Hamiltonien dipolaire dont l'intégrale est non nulle. Pour y arriver, deux impulsions 180° sont placées à chaque période de rotation sur le canal des spins S, pour inverser le signe du couplage dipolaire et maintenir une intensité majoritairement positive au cours du temps* (obtention du spectre déphasé, d'intensité S_R).

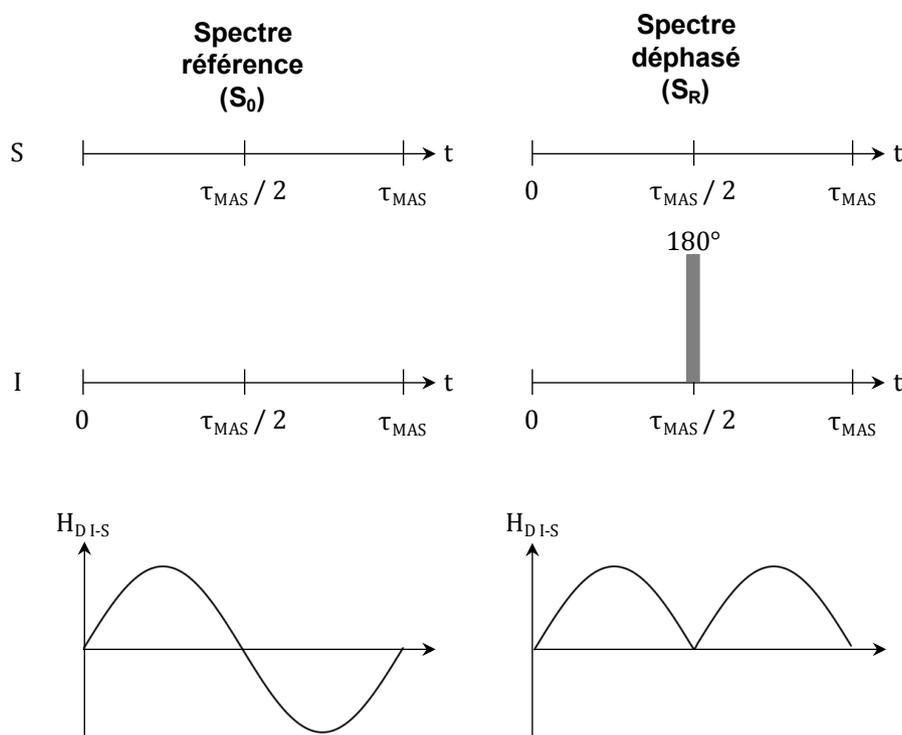


Figure 14 : Schéma de l'évolution des spins I et S et de leur Hamiltonien d'interaction dipolaire au cours d'une expérience REDOR.

Expérimentalement, l'expérience REDOR est réalisée en deux temps. Un spectre de référence, obtenu sans les impulsions 180° sur le canal S, est enregistré. Il a pour intensité S_0 . Celui-ci est ensuite comparé à celui acquis avec les impulsions 180° , appelé signal déphasé, d'intensité plus faible S_r . La différence d'intensité entre les deux spectres traduit la force du couplage dipolaire I-S. De plus, l'expérience REDOR est répétée pour différents multiples de périodes de rotations, augmentant progressivement le nombre d'échos (définissant le temps de déphasage) et donc l'écart d'intensité ΔS entre les signaux S_0 et S_r . C'est l'ajustement de l'évolution de cette différence qui permet de remonter aux valeurs numériques de couplages dipolaires, grâce à la relation liant le couplage dipolaire D_{I-S} en Hz avec la distance r_{I-S} entre la paire de spins I-S :

* En pratique, seulement 70% de l'interaction dipolaire hétéronucléaire est recouplée⁸⁶.

$$D_{I-S} = \frac{\mu_0 \hbar \gamma_I \gamma_S}{4\pi r_{I-S}^3} \quad [31]$$

En effet, il a été montré que le signal déphasé peut s'exprimer à l'aide de fonctions de Bessel J, ayant pour variable le produit $N\tau_{MAS}D_{I-S}$ (où N est le nombre de périodes de rotation MAS de durée τ_{MAS}) :

$$\frac{\Delta S}{S_0} = 1 - \frac{\sqrt{2}\pi}{4} J_{1/4}(\sqrt{2}N\tau_{MAS}D_{I-S}) J_{-1/4}(\sqrt{2}N\tau_{MAS}D_{I-S}) \quad [32]$$

Si seulement les informations pour des temps de déphasage courts sont accessibles, les approximations aux 1^{er} et 2^{ème} ordres suivantes sont à utiliser. Leurs validités respectives sont pour des ratios $\Delta S/S_0$ maxima de 0,3 et 0,6.

$$\frac{\Delta S}{S_0} = \underbrace{\frac{16}{15} (N\tau_{MAS}D_{I-S})^2}_{1er\ ordre} - \underbrace{\frac{128}{315} (N\tau_{MAS}D_{I-S})^4}_{2ème\ ordre} \quad [33]$$

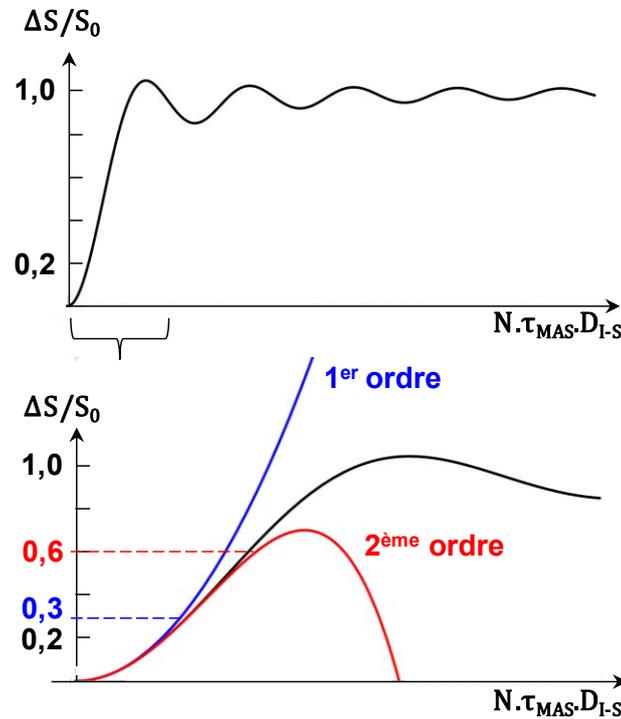


Figure 15 : En haut, représentation graphique de la fonction $\Delta S/S_0$ définie par l'équation 33. En bas, le graphique est un zoom sur l'intervalle marqué d'une accolade. Les courbes bleu et rouge sont les approximations au 1^{er} et 2^{ème} ordre de cette fonction (équation 34), ainsi que leur domaine de validité.

1.2.3.2. fp-RFDR

L'abréviation fp-RFDR signifie 'finite pulse Rotary Driven Dipolar Recoupling'. Cette séquence produit un spectre de corrélation homonucléaire 2D, où les gains en résolution apportés par la MAS sont présents dans les deux dimensions. Pour permettre l'observation de corrélations entre spins voisins, une séquence d'impulsions de recouplage, qui réduit temporairement les effets de la MAS sur les interactions dipolaires, est insérée entre les périodes d'évolution et de détection⁸⁷. Cette période est appelée temps de mélange (t_{mix})

Avec la séquence fp-RFDR (Figure 16), le recouplage des interactions dipolaires homonucléaires est produit par des impulsions 180° , chacune placée au milieu d'une période de rotation MAS. Leur nombre est fixé par l'expérimentateur et définit le temps de mélange t_{mix} . La série d'impulsions 180° a pour effet de manipuler l'Hamiltonien dipolaire effectif en générant des transferts d'aimantation longitudinale par diffusion de spin^{88,89}. L'établissement de l'expression au 1^{er} ordre de l'Hamiltonien moyen produit par la séquence fp-RFDR montre la présence d'un terme ZQ d'interaction dipolaire (et d'interaction J) homonucléaire. En revanche, le déplacement chimique, le CSA et les couplages hétéronucléaires (J et dipolaires) sont supprimés⁸⁷.

Pour cette séquence d'impulsions, il a été montré que l'intensité du recouplage dipolaire homonucléaire tend vers 0 quand la durée des impulsions 180° devient négligeable par rapport à la période de rotation MAS, d'où son nom de "finite pulse" RFDR. Pour l'acquisition de spectres ^1H , il a également été montré⁹⁰, à partir de simulations numériques, que l'efficacité de la séquence fp-RFDR dépend de plusieurs facteurs : l'homogénéité du champ RF, le déplacement chimique isotrope et son anisotropie, la force des couplages dipolaires,... Appliquer un cyclage de phase XY approprié sur les impulsions 180° permet de rendre la séquence plus robuste à ces facteurs. Ainsi, pour obtenir un recouplage maximal, le cycle XY4 (Figure 13) est choisi dans les sections expérimentales (Voir parties 3.4 et 3.5). En effet, ce cyclage de phase court est préférable aux vitesses MAS couramment accessibles pour sa haute capacité de recouplage, ainsi que pour sa tolérance aux inhomogénéités de champ quand appliqué sur un petit intervalle de déplacement chimique (cas des protons).

Suite au recouplage des termes dipolaires ZQ, les spectres 2D obtenus présentent une diagonale d'intensité non nulle contenant l'aimantation qui diffuse progressivement vers les sites de corrélation hors diagonaux (Figure 16). Plus l'expérimentateur choisit un temps de mélange t_{mix} grand, plus l'intensité des taches de corrélation hors diagonale (points de coordonnées

$(\omega_A; \omega_B)$ ou $(\omega_B; \omega_A)$ est grande. Ainsi des contacts à longue distance peuvent être observés et une estimation de distances internucléaire peut, dans certains cas, être proposée^{91,92}.

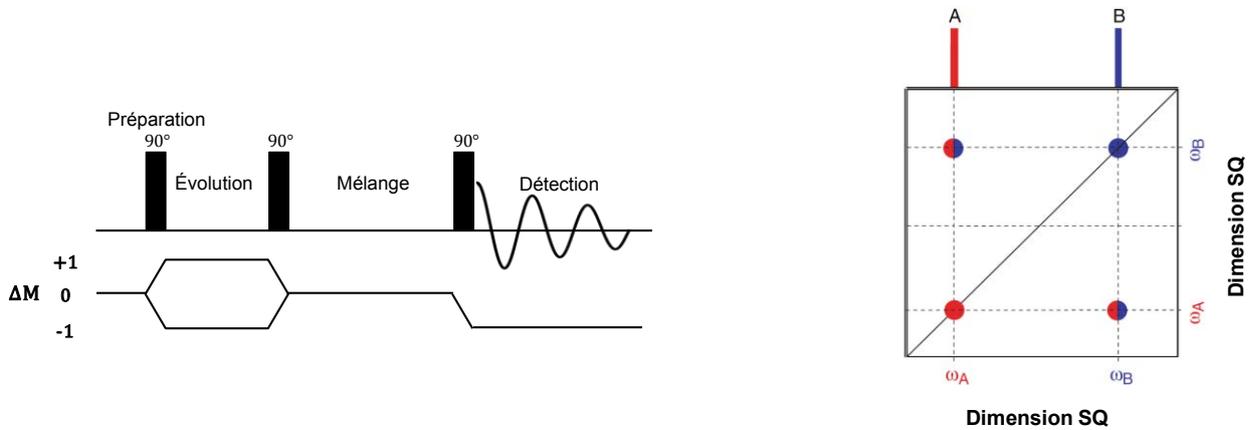


Figure 16 : Bases de la séquence de recouplage dipolaire fp-RFDR. Soient φ_1 , φ_2 et φ_3 les différentes phases des impulsions 90° , et φ_r , la phase du récepteur. Pour obtenir le chemin de cohérence ΔM ici représenté, le cyclage de phase suivant est suivi :

$$\begin{aligned}\varphi_1 &= X \bar{X} \\ \varphi_2 &= X X \bar{X} \bar{X} X X \bar{X} \bar{X} \\ \varphi_3 &= X X X X Y Y Y Y \bar{X} \bar{X} \bar{X} \bar{X} \bar{Y} \bar{Y} \bar{Y} \bar{Y} \\ \varphi_r &= X \bar{X} \bar{X} X Y \bar{Y} \bar{Y} Y \bar{X} X X \bar{X} \bar{Y} Y Y \bar{Y}\end{aligned}$$

Expérimentalement, trois paramètres sont à optimiser : la fréquence de la porteuse, l'amplitude du champ RF (impulsions 180°) et le temps de recouplage t_{mix} . En pratique, la porteuse est placée au milieu du spectre, et le champ RF est choisi maximal par rapport aux spécifications techniques de la sonde RMN : seul t_{mix} est optimisé.

Les spectres 2D obtenus permettent une corrélation directe des déplacements chimiques.

Figure adaptées de la publication de Brown¹⁹.

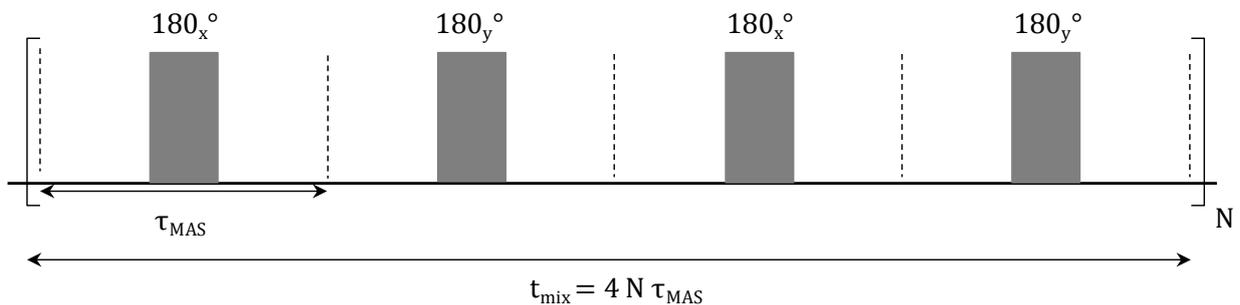


Figure 17 : Impulsions 180° , synchronisées avec la MAS, appliquées pendant l'étape de mélange de la séquence fp-RFDR. Elles suivent le cyclage de phase $XY4 = X Y X Y$.

1.2.4. BaBa

La Figure 19 décrit le schéma d'une séquence d'impulsion permettant d'obtenir des spectres de corrélation homonucléaires de type SQ/DQ. Elle débute par une période où les cohérences DQ sont excitées par des impulsions RF synchronisées avec la MAS. Puis, pendant la période d'évolution, le signal évolue selon des cohérences DQ, dont les fréquences sont égales à la somme des fréquences SQ des spins couplés (Figure 5). Après cette période, les cohérences DQ sont reconverties en polarisation ZQ par une séquence de reconversion⁹³ identique à la séquence d'excitation, mais déphasée de 90°. Finalement, le signal est détecté par une impulsion de lecture classique, ce dernier étant ainsi encodées par l'évolution DQ dans la dimension indirecte⁹⁴. Puisque l'existence même des cohérences DQ est intimement liée à l'existence de couplages dipolaires, l'excitation et la reconversion impliquent donc de recoupler ces interactions. Ces périodes peuvent donc être considérées comme des périodes de mélange telles que celle vu dans le paragraphe précédent.

L'excitation des cohérences DQ peut être simplement réalisée avec un bloc d'impulsions RF de type $[90_x^\circ - \tau - 90_{-x}^\circ]$, c'est-à-dire deux impulsions 90° de phases respectives x et -x, séparées d'un délai τ . Cependant, pour un échantillon en rotation MAS, il est montré⁹⁵ que le temps τ est contraint de respecter $\tau < \tau_{MAS}/2$, pour prévenir toute refocalisation de l'évolution DQ sous l'action de la MAS.

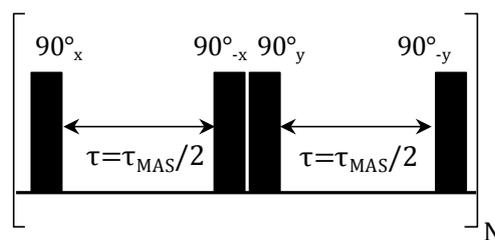


Figure 18 : Bloc d'impulsions RF appliquées pendant l'étape d'excitation d'une expérience filtrée DQ. Il est répété un nombre N de fois, choisi par l'expérimentateur, pour optimiser l'intensité des signaux.

Un bloc symétrique $(90_y^\circ - \tau - 90_y^\circ - 90_x^\circ - \tau - 90_{-x}^\circ)$ est appliqué N pendant l'étape de reconversion.

Or, l'intensité DQ dépend du produit $(D_{I-S}\tau)^2$. Ainsi, le choix de la fréquence MAS exerce une contrainte sur la valeur minimale des couplages dipolaires, dont les cohérences DQ peuvent être efficacement excitées. Pour s'affranchir de cette limitation, il a été proposé de juxtaposer un bloc d'impulsions $[90_y - \tau - 90_{-y}]$ supplémentaire, d'où l'appellation BaBa pour "Back-to-Back"^{96,97} de la séquence résultante (Figure 18). Cette modification offre ainsi la possibilité d'incrémenter les périodes d'excitation et de reconversion, jusqu'à l'obtention d'une excitation maximale des cohérences DQ. Comme vu précédemment pour le recouplage ZQ, il existe d'autres séquences⁹⁸ et variantes⁹⁹ permettant de rendre ce recouplage DQ plus robuste à un grand nombre de facteurs internes (interactions propres au système de spin étudié) et externes (facteurs expérimentaux) à l'échantillon. Cependant pour l'étude des ^1H (forte densité de spin, couplage dipolaires fort, faible CSA, T_2 court) la séquence BaBa est généralement la plus efficace et la moins contraignante¹⁰⁰.

L'évolution de cohérences DQ a plusieurs conséquences sur le spectre de corrélations 2D. La première est que les fréquences lues dans la dimension DQ sont égales à la somme des fréquences des spins couplés ; ceci induit une diagonale spectrale de pente égale à 2. De plus, contrairement aux spectres de corrélations SQ / SQ avec recouplage ZQ (présentant une diagonale d'intensité non nulle correspondante à l'aimantation n'ayant pas diffusée), ici les signaux diagonaux (aux coordonnées $(\omega_A; 2\omega_A)$) sont présents si, et seulement si, deux spins équivalents sont en couplage dipolaire (Figure 19). Finalement, le recouplage DQ n'autorise pas la diffusion de spin, ainsi la présence de signaux de corrélations implique un contact dipolaire direct sur de courtes distances (maximum 4-5 Å). Une conséquence supplémentaire de la dépendance de l'intensité DQ au produit $(D_{I-S}\tau)^2$ est sa proportionnalité aux distances interatomiques selon r_{I-S}^{-6} . Par conséquent un suivi, sous forme d'expérience "pseudo 3D", de l'évolution des corrélations en fonction des durées d'excitation/reconversion, permet d'obtenir des informations structurales quantitatives.

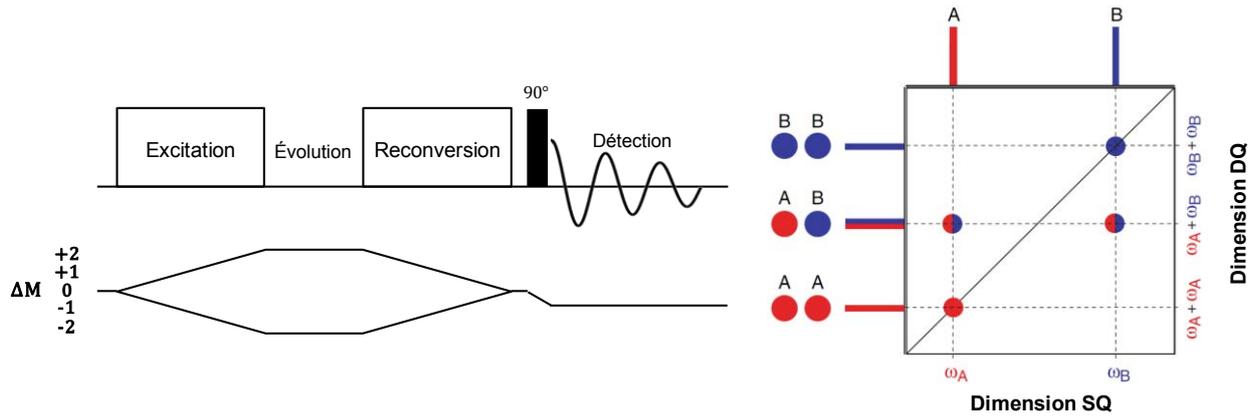


Figure 19 : Schéma de base d'une séquence 2D de corrélation SQ / DQ. Soient φ_1 à φ_4 les phases des impulsions 90° d'excitation DQ. Soient φ'_1 à φ'_4 les phases des impulsions 90° de reconversion.

Soient φ_5 les phases de l'impulsions 90° générant les cohérences SQ (qui ont été encodés par l'évolution DQ précédente) avant la détection, et φ_r , la phase du récepteur. Pour obtenir le chemin de cohérence ΔM ici représenté,

le cyclage de phase suivant est suivi :

$$\varphi_1 = X Y \bar{X} \bar{Y} \quad \varphi'_1 = X$$

$$\varphi_2 = \bar{X} \bar{Y} X Y \quad \varphi'_2 = \bar{X}$$

$$\varphi_3 = Y \bar{X} \bar{Y} X \quad \varphi'_3 = Y$$

$$\varphi_4 = \bar{Y} X Y \bar{X} \quad \varphi'_4 = \bar{Y}$$

$$\varphi_5 = X X X X Y Y Y Y \bar{X} \bar{X} \bar{X} \bar{X} \bar{Y} \bar{Y} \bar{Y} \bar{Y}$$

$$\varphi_r = X \bar{X} X \bar{X} Y \bar{Y} Y \bar{Y} \bar{X} X \bar{X} X \bar{Y} Y \bar{Y} Y$$

Figures adaptées de la publication de Brown¹⁹.

1.3. Retour à l'équilibre par relaxation des spins

Une expérience RMN peut être considérée comme une perturbation des spins nucléaires, initialement soumis à \vec{B}_0 par une impulsion RF. Le retour à l'équilibre thermodynamique des moments magnétiques des spins, et donc de l'aimantation du système est appelé relaxation. Sa dépendance vis-à-vis des phénomènes dynamiques survenant aux échelles moléculaires, et donc de la température, fait de la relaxation une composante clef à considérer dans l'étude des mouvements de molécules en milieu confiné (Voir 2.4).

Dans le référentiel du laboratoire, le vecteur décrivant l'aimantation totale (issue de la contribution de chacun des spins de même nature) peut être décomposé selon ses composantes longitudinales M_z et transverses $M_{x,y}$. Leurs retours à l'équilibre après une excitation par impulsions RF, se fait selon deux temps caractéristiques respectivement appelés temps de relaxation longitudinale T_1 et transverse T_2 . Sont aussi souvent utilisées les vitesses de relaxation R_1 et R_2 , définies comme l'inverse des temps de relaxation associés.

L'évolution des composantes de l'aimantation nucléaire sous l'effet de la relaxation peut être décrite par les équations de Bloch (Équations 34 et 35) : les évolutions de l'aimantation au cours du temps suivent des lois exponentielles, ayant pour constantes de temps T_1 et T_2 . Cette théorie classique de l'évolution de l'aimantation au cours du temps sera suffisante pour discuter des résultats présentés par la suite. Il est noté que des approches classiques considérant les échanges de population entre niveaux d'énergies¹⁰¹, ou des approches semi-classiques utilisant la théorie des perturbations¹⁰² permettent de raffiner les équations et une description plus rigoureuse des phénomènes de relaxation¹⁰³.

$$\frac{dM_z}{dt} = -\frac{M_z - M_0}{T_1} \quad [34]$$

$$\frac{dM_{x,y}}{dt} = -\frac{M_{x,y}}{T_2} \quad [35]$$

1.3.1. Temps de relaxation longitudinale T_1

La séquence la plus simple permettant la mesure de T_1 , nommée inversion-récupération est représentée en Figure 20.1. En supposant les impulsions parfaites, la première, d'angle 180° fait basculer l'aimantation le long de l'axe \vec{z} . Lors du délai t_i , le système est libre de retourner progressivement à l'équilibre. L'impulsion 90° qui le suit permet de lire à tout moment donné

quelle fraction de l'aimantation est alignée selon \vec{z} . En effet, seules cette composante de l'aimantation se retrouve dans le plan transverse après l'impulsion 90° et contribue donc à la génération du signal RMN. L'expérience d'inversion-récupération est répétée plusieurs fois en incrémentant le délai t_i . Il en résulte une suite de points donnant l'évolution de l'intensité du signal en fonction de t_i . La modélisation de cette courbe permet de remonter à la valeur du temps de relaxation longitudinal T_1 , grâce à la relation suivante :

$$M_z(t_i) = M_0 \left[1 - 2e^{-\frac{t_i}{T_1}} \right] \quad [36]$$

En pratique, dans cette équation, il convient de remplacer le facteur 2 par un facteur k , afin de corriger les imperfections de l'impulsion 180° .

$$M_z(t_i) = M_0 \left[1 - ke^{-t_i/T_1} \right] \quad [37]$$

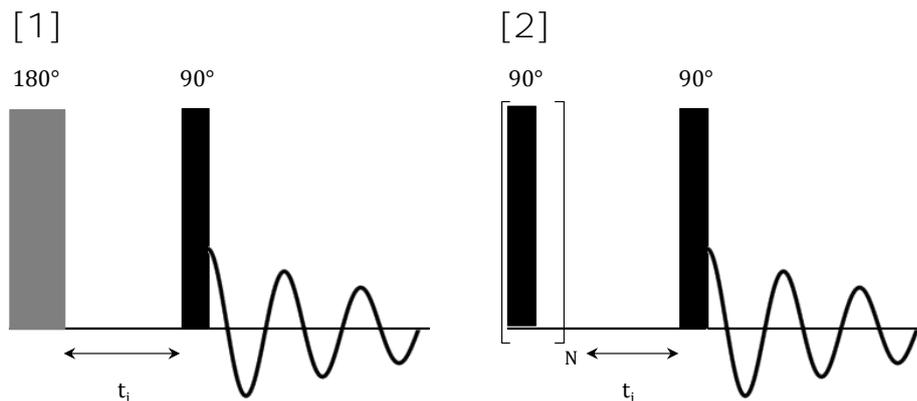


Figure 20 : Séquences d'impulsion d'inversion-récupération [1] et de saturation-récupération [2] permettant la mesure du temps de relaxation longitudinal T_1 .

Pour chacune de ces deux séquences, l'optimisation passe par le choix d'une série de délais t_i judicieux, pour permettre ensuite un fit des données avec l'équation 25.

La séquence [1] nécessite d'optimiser l'impulsion 180° pour obtenir une inversion à 100% des pics, ainsi que de choisir un délai inter-scan suffisamment long pour permettre le retour à l'équilibre de l'aimantation.

Il est plus aisé de travailler avec la séquence [2] ; choix effectué dans les sections expérimentales (Voir 2.4.1). Dans ce cas, il suffit de choisir un nombre d'impulsions 90° tel que l'intensité des signaux soit nulle pour $t_i=0$.

L'utilisation de la séquence d'inversion-récupération est perturbée par deux facteurs : le temps d'expérience ; entre chaque scan, un délai de récupération égal à $5xT_1$ doit être attendu (retour à 99% de l'équilibre), et la difficulté de s'assurer d'une inversion à 100% de chaque pic pour t_i proche de 0. La séquence de saturation-récupération permet de s'affranchir des limitations

décrites ci-dessus. En effet, elle ne comporte pas d'impulsion 180° . De plus, elle débute par une dispersion de l'aimantation dans le plan transverse, permettant aisément de vérifier que l'intensité du signal est nul pour $t_i=0$. La pré-saturation étant indépendante de la valeur initiale de l'aimantation, cette séquence de mesure de T_1 ne nécessite pas de longs délais d'attente entre chaque scan. De par ces avantages, la mesure de T_1 sera, dans la suite de ce travail, systématiquement réalisée par saturation-récupération.

1.3.2. Temps de relaxation transverse T_2 et écho de spin

Le passage du domaine temporel du FID à l'échelle fréquentielle du spectre se fait par transformée de Fourier. En supposant \vec{B}_0 parfaitement homogène dans l'espace, il en résulte que la largeur à mi-hauteur des pics (valant $1/(\pi T_2)$) est inversement proportionnelle au temps d'évolution des signaux associés⁷⁸. En RMN du solide, les fortes interactions anisotropes résultent en un élargissement des raies, et sont donc associés à des FID très courts. Ceci peut se révéler être un souci lors de l'acquisition d'un FID. En effet, c'est la même bobine qui génère l'impulsion de lecture et qui collecte le signal des spins. Il existe donc un temps mort pendant lequel le FID ne peut être enregistré. La perte des premiers points du FID se traduit par des distorsions des spectres. Une solution réside dans la génération d'un écho de spin¹⁰⁴ à l'aide d'une séquence appropriée, décrite en Figure 21.

L'action de cette séquence est décrite en considérant l'évolution de l'aimantation d'une multitude de spins au cours du temps dans le plan $(\vec{x} ; \vec{y})$, présentée en Figure 22. L'impulsion 90° place l'aimantation initialement selon \vec{z} dans le plan transverse. Pendant la première période d'évolution τ , sous l'effet du CSA et des couplages dipolaires hétéronucléaires, chacun des spins possède sa propre fréquence de précession, résultant en une dispersion de l'aimantation dans le plan transverse appelée déphasage. Elle se traduit par une perte du signal pendant la première durée τ . Ensuite, l'impulsion 180° de refocalisation ramène toutes les composantes transverses de l'aimantation dans la même direction après un même délai τ . L'enregistrement de l'évolution de l'aimantation peut donc commencer à ce moment précis, sans avoir une impulsion 90° la précédant immédiatement. En pratique, l'intensité du signal refocalisé n'est jamais aussi intense que celle pouvant être attendue avec une acquisition classique car la relaxation transverse prend effet¹⁰⁵. Une séquence d'écho permet de faire une mesure de T_2 (qui est à différencier de T_2^*). En effet, lorsque l'on s'intéresse à la largeur de raie observée sur le spectre, les effets de la relaxation T_2 (élargissement homogène des raies) sont combinés avec les élargissements inhomogènes dus aux distributions de déplacement chimique et aux inhomogénéités de champ

magnétique. Un T_2 effectif noté $T_2^* \leq T_2$ est alors considéré. La séquence d'écho peut donc être utilisée pour filtrer les spectres présentant des composantes de T_2 différentes, car celles avec les T_2 les plus courts relaxeront plus vite. En RMN du ^1H la relaxation T_2 est typiquement liée aux forts couplages homonucléaires, ainsi dans les échantillons hybrides avec des composants de dynamiques différentes, plus la durée d'écho est choisie longue, plus le spectre est épuré de ses composantes rigides subissant un élargissement homogène. Ce filtrage est mis en application en section 3.5 pour séparer des signaux peu intenses de curcumine superposés à une composante large provenant de silanols.

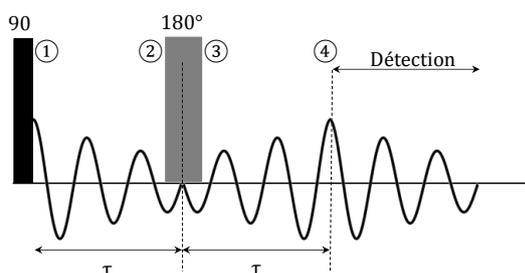


Figure 21 : Séquence d'écho de spin. Après un délai 2τ suivant l'impulsion 90° , le signal a atteint un nouveau maxima d'intensité, permettant de débiter une acquisition et ce, sans impulsion accolée.

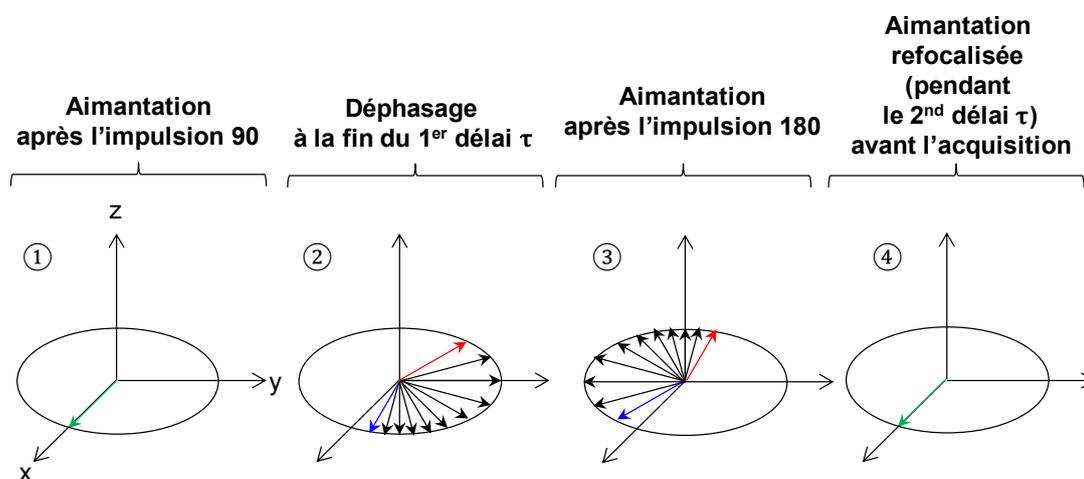


Figure 22 : Évolution de l'aimantation de plusieurs spins lors de la séquence d'écho de spin (présentée en Figure 21). À l'état initial, toutes les composantes sont en phase, c'est-à-dire selon une direction unique. Sous l'effet du CSA et de l'interaction dipolaire, chaque spin a sa propre fréquence de précession dans le plan $(\vec{x} ; \vec{y})$. En bleu est représenté la composante la plus lente, en rouge la plus rapide. Durant la période d'évolution, le signal est progressivement perdu (déphasage), en raison de cette différence de vitesse : l'aimantation est dispersée dans le plan transverse. Après l'impulsion 180° , les positions des composantes sont inversées, mais retiennent leur propre vitesse. Ainsi, après le même délai τ , tous les vecteurs sont refocalisés (à nouveau en phase) et l'évolution de chacune des composantes est prête à être enregistrée lors de l'acquisition du FID et ce, sans être précédée d'une impulsion 90° .

1.3.3. Sources de la relaxation

Pour les spins 1/2, l'origine des phénomènes de relaxation réside dans les fluctuations aléatoires, temporelles et spatiales des champs magnétiques produits par les interactions décrites en section 1.1. En effet, les champs locaux étant dépendants de la direction et de la norme des vecteurs internucléaires de spins couplés, les fluctuations les rendent aléatoires. Cette variabilité dans le temps permet à leur fréquence associée d'égaliser à certains instants l'écart entre deux niveaux d'énergies contenus dans le système, induisant des transitions entre les niveaux d'énergie et *in fine* amenant le retour à l'équilibre de l'aimantation. Ces fluctuations peuvent être produites par la MAS, mais aussi par les mouvements moléculaires aléatoires : diffusion, vibrations, changements de conformations, ... L'efficacité de la relaxation induite par les champs magnétiques locaux est décrite grâce à la fonction densité spectrale*, notée $J(\omega)$. D'un point de vue mathématique, J donne la corrélation statistique entre deux variables aléatoires.

Soit $b(t)$ l'évolution temporelle aléatoire du champ magnétique autour d'un spin I. De son caractère aléatoire résulte que sa moyenne temporelle $\overline{b(t)}$ est nulle. Le champ b alternant entre des valeurs positives et négatives, il faut considérer la valeur moyenne de son carré $\overline{b^2(t)} = \overline{b^2}$ pour définir l'intensité des fluctuations du champ magnétique. La fonction d'auto-corrélation $\overline{b(t)b(t')}$ permet de quantifier à quelle vitesse les fluctuations ont lieu, et ce pour tout t . Pour un intervalle de temps $|t - t'|$ fixe, plus les fluctuations sont rapides, plus la fonction d'auto-corrélation décroît rapidement. Pour décrire des mouvements aléatoires, le temps de corrélation, noté τ_c , est défini comme étant le temps nécessaire à une molécule d'effectuer une rotation d'angle 1 radian. En utilisant un modèle où les réorientations moléculaires sont ces mouvements de diffusion rotationnelle¹⁰⁶, la fonction d'auto-corrélation peut être définie par une fonction exponentielle décroissante.

$$\overline{b(t)b(t')} = \overline{b^2} \exp\left(-\frac{|t - t'|}{\tau_c}\right) \quad [38]$$

Par définition, la densité spectrale $J(\omega)$ est égale à la transformée de Fourier de la fonction d'auto-corrélation. Par la suite, seule la partie réelle de cette grandeur $J(\omega)$ sera considérée.

* Dans ce paragraphe, les conventions de la référence bibliographique¹⁰⁶ (page 167) sont utilisées. Ainsi, la fréquence est $\nu = \omega/2\pi$.

$$Re[J(\omega)] = J(\omega) = \overline{b^2} \frac{\tau_c}{1 + \omega^2 \tau_c^2} \quad [39]$$

Les temps de relaxation T_1 et T_2 peuvent être exprimés comme une combinaison linéaire des densités spectrales issues de chacune des interactions subies par les spins. Ce résultat est issu du développement de l'évolution de l'aimantation produite par un champ magnétique aléatoire. Finalement, les relations suivantes sont démontrées¹⁰⁶ :

$$\frac{1}{T_1} = R_1 = \gamma^2 J(\omega_0) \quad [40]$$

$$\frac{1}{T_2} = R_2 = \gamma^2 [J(\omega_0) + J(0)] \quad [41]$$

En Figure 23 est tracée l'allure de l'évolution de T_1 en fonction de la fréquence ω des mouvements moléculaires (inversement proportionnelle à la température). Il est à noter la présence d'un minimum de T_1 , pour des mouvements moléculaires à la fréquence de Larmor. Pour des mouvements moléculaires rapides, c'est-à-dire quand $\omega_0 \tau_c \ll 1$, la densité spectrale, et donc par extension T_1 devient indépendant de la fréquence : $J(\omega) = 2\tau_c$. Dans la limite opposée des mouvements lents, $J(\omega) = 2/(\omega^2 \tau_c)$.

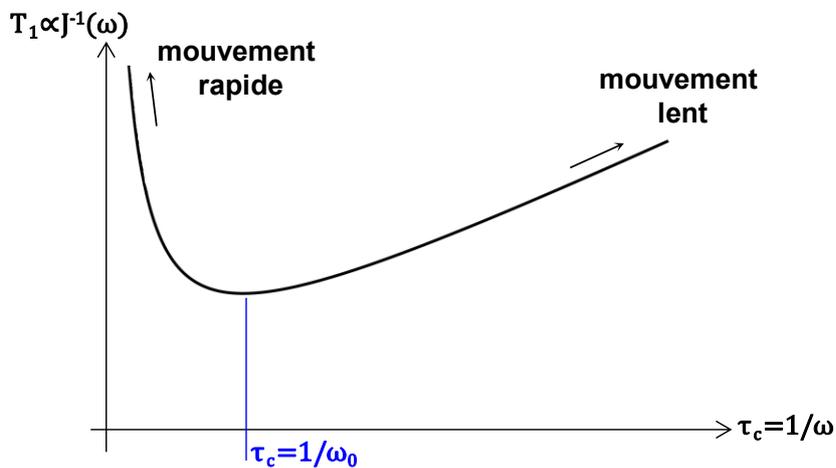


Figure 23 : T_1 en fonction du temps de corrélation (échelle de temps linéaire). La relaxation longitudinale est la plus efficace quand les mouvements moléculaires ont lieu à une vitesse proche de la fréquence de Larmor ω_0 . De part et d'autre du minimum de T_1 s'établissent deux régimes aux limites de mouvements lents et rapides.

À partir de l'évolution de T_1 avec la température (T), il est possible d'obtenir des informations sur les énergies d'activation (E_a) des mouvements moléculaires. En effet, si les données expérimentales suivent une évolution linéaire comme décrit en Figure 24, l'hypothèse

que le temps de corrélation τ_c suit une loi d'Arrhenius peut être émise selon l'équation suivante (où R est la constante des gaz parfaits) :

$$\tau_c \propto \text{Exp}\left(-\frac{E_a}{RT}\right) \quad [42]$$

Dans les limites de mouvements rapides et lents définis en Figure 23, comme le temps de relaxation T1 est proportionnel à τ_c (et respectivement à son inverse), l'hypothèse d'Arrhenius permet d'établir respectivement les relations suivantes :

$$\text{Pour un mouvement rapide : } \text{Ln}\left(\frac{1}{T_1}\right) \sim +\frac{E_a}{RT} \quad [43]$$

$$\text{Pour un mouvement lent : } \text{Ln}\left(\frac{1}{T_1}\right) \sim -\frac{E_a}{RT} \quad [44]$$

Ainsi, un graphique représentant $\text{Ln}(1/T_1)$ en fonction de l'inverse de la température est une courbe possédant deux asymptotes linéaires de pentes proportionnelle à l'énergie d'activation du mouvement moléculaire (Figure 24). Il est aussi noté la présence d'un maximum correspondant à la température où le mouvement moléculaire se fait à la fréquence de Larmor, et donc où la relaxation est la plus efficace.

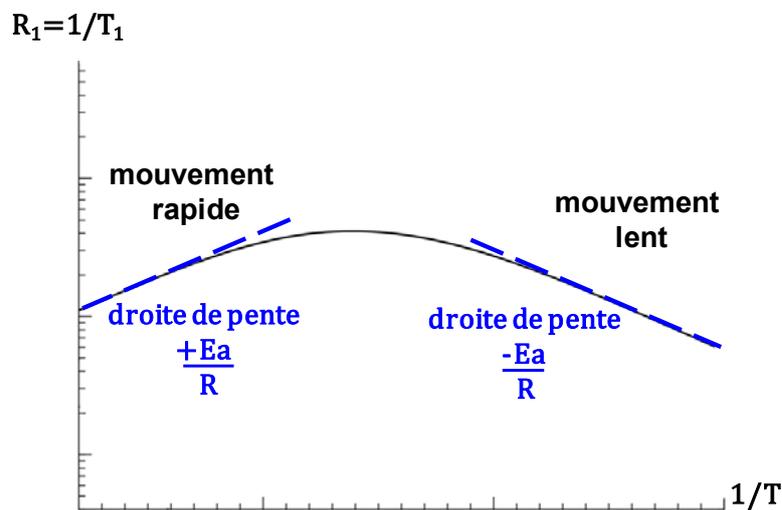


Figure 24 : $1/T_1$ en fonction de $1/T$. Pour simplifier le graphique, une échelle logarithmique est utilisée pour l'axe des ordonnées. Aux limites de mouvements rapides et lentes, une régression linéaire permet de déterminer les E_a .

2. Vectorisation du nitroprussiate de sodium dans les nano-pores d'une matrice de silice

2.1. Introduction

Dans ce chapitre, sont abordées les thématiques relatives à la vectorisation d'un complexe de nitroprussiate de sodium, à l'intérieur de nano-pores d'une matrice de silice. Sa formule chimique est $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN}_5)\text{NO}]$. Dans la suite du texte, il sera donc référé au nitroprussiate de sodium par l'abréviation S[NP], permettant ainsi des considérations séparées sur l'anion [NP] et ses contre-ions sodium (Figure 25).

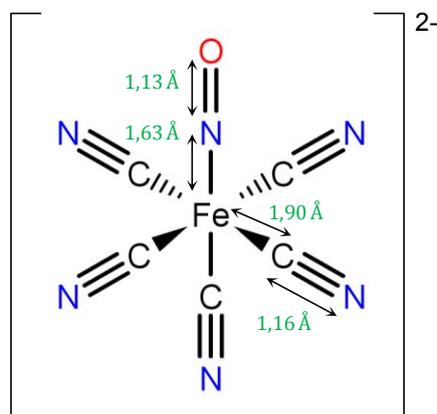


Figure 25 : Anion nitroprussiate¹⁰⁷.

L'objectif est d'exploiter différentes facettes de la RMN du solide pour obtenir une caractérisation du nanomatériau sur les trois plans majeurs que sont les propriétés structurales, les propriétés dynamiques et les interactions hôtes / invités et ce, en fonction d'une variable : la quantité d'eau contenue dans les pores de la silice.

2.2. Les enjeux du S[NP]

Le S[NP] est un sel soluble dans l'eau découvert au milieu du XIX^{ème} siècle¹⁰⁸. De nos jours, son usage médical est courant, car son action se traduit par une diminution rapide de la pression sanguine¹⁰⁹, principalement dans les veines, mais aussi dans les artères. Son emploi est donc associé au traitement de l'hypertension, des troubles et insuffisances cardiaques¹¹⁰. C'est aussi un composé utilisé pour réduire les saignements en chirurgie¹¹¹. Les effets thérapeutiques du complexe de S[NP] proviennent de sa capacité à libérer des groupes NO, mécanisme suggéré dès 1928¹¹², et voit son premier emploi sur un patient dès l'année suivante¹¹³. Depuis, le S[NP]

est devenu un produit incontournable et donc difficilement remplaçable. En effet, l'administration de NO par son intermédiaire permet d'éviter les inconvénients associés au NO gazeux, ou à la toxicité de composés alternatifs¹¹⁴. Lors d'essais cliniques, le S[NP] est considéré comme un standard de référence parmi les vasodilatateurs à base de NO¹¹⁵.

Cependant, l'utilisation du S[NP] est perturbée par les effets secondaires qu'il peut entraîner. En effet, lors de sa métabolisation, il devient source de cyanure de part les cinq groupements C≡N attachés à l'atome central de fer¹¹⁶. Son injection par intraveineuse doit donc faire l'attention d'un suivi tout particulier^{117,118}, notamment si le patient est sous anesthésie, pour éviter tout effet toxique sur l'organisme. Ainsi, les facteurs limitants de l'utilisation du S[NP] sont sa vitesse d'administration et sa concentration maximale¹¹⁹. De plus, les conditions de stockage sont compliquées par le caractère photosensible du S[NP]. Enfin, une utilisation sur le long terme peut se révéler problématique^{120,121}. L'emploi du S[NP] nécessite donc de mettre en balance les risques potentiels par rapport aux avantages qu'il propose¹²².

Le S[NP] a aussi la caractéristique d'être photo-commutable. En effet, sous l'action d'une irradiation lumineuse, il est possible d'inverser la liaison N=O, voire même de créer des états intermédiaires¹²³. Cette propriété du complexe offre des perspectives d'applications techniques, dans les domaines des capteurs, et du stockage d'énergie ou d'information¹²⁴.

2.2.1. Vectorisation du S[NP]

La problématique associée à la vectorisation du S[NP] est celle de la vectorisation d'une molécule hydrophile¹²⁵. Dans ce paragraphe, l'accent est porté sur les solutions apportées par l'encapsulation du principe actif dans une matrice de silice¹²⁶. Les silices mésoporeuses se classent selon le diamètre moyen (d) de leur domaine poreux¹²⁷ :

- Micropores : $d < 2 \text{ nm}$
- Mesopores : $2 \text{ nm} < d < 50 \text{ nm}$
- Macropores : $d > 50 \text{ nm}$

Elles regroupent un ensemble de matériaux qui possèdent de nombreuses caractéristiques recherchées dans la vectorisation de principes actifs. Elles se distinguent des autres classes de nanoparticules, grâce à leur structure interne et leur grande surface spécifique, qui sont contrôlées par l'expérimentateur en fonction des méthodes et des conditions de synthèse choisies¹²⁸. Il en résulte une flexibilité de leur préparation et une polyvalence dans les molécules

qu'elles peuvent encapsuler^{129,130}. Ainsi, depuis 2001, année du premier emploi de silices nanostructurés comme vecteur, avec de l'ibuprofène comme molécule active¹³¹, le champ des applications s'est élargi¹³². Grâce à la fonctionnalisation des surfaces des pores¹³³⁻¹³⁵, le point faible de ces matrices, c'est-à-dire la sélectivité dans le ciblage des tissus, peut être corrigé. D'autre part, le contrôle du design des silices mésoporeuses permet d'influencer directement les cinétiques de relargage, dont les mécanismes reposent sur une combinaison de phénomènes de diffusion et de dissolution. De plus, la délivrance de principes actifs peut être issue de matériaux sensibles à des stimuli extérieurs¹³⁶. Si les silices sont jugées biocompatibles, les nanoparticules de silice sont des systèmes plus complexes, dont la biocompatibilité¹³⁷, généralement admise, est plus précisément liée à divers facteurs influents, comme la taille, forme et structure des particules, ou encore les propriétés des surfaces¹³⁸.

Les silices étant intrinsèquement hydrophiles, elles sont adaptées à la vectorisation du S[NP]. Ainsi, il a été montré qu'un tel système permet un relargage lent du S[NP], pour un effet efficace et prolongé dans le temps¹³⁹.

Quand des principes actifs sont placés dans les pores d'une matrice, la réduction des volumes disponible n'est pas sans effet sur les propriétés des molécules invitées. Les effets de confinement sont multiples¹⁴⁰⁻¹⁴², tant sur les structures adoptées à l'intérieur des pores, que sur les caractéristiques de la dynamique moléculaire¹⁴³. *In fine* ce sont eux qui régissent les cinétiques de relargage. Au niveau des effets structuraux, le confinement des molécules affecte leur capacité à former des cristaux comme aux échelles macroscopiques. Il devient ainsi possible de favoriser la cristallisation de certaines phases polymorphes¹⁴⁴, ou au contraire de prévenir toute cristallisation, laissant place à des composés amorphes, ou dans des états dits pseudo-liquide¹⁴⁵. L'adsorption des molécules sur les surfaces est un facteur supplémentaire à prendre en compte¹⁴⁶. Il en est de même des propriétés dynamiques¹⁴⁷ et de la présence de différentes populations d'un même composé^{148,149}.

2.2.2. Contexte de l'étude

Les travaux menés ci-après s'inscrivent dans la continuité d'une étude conjointe de diffraction des rayons X et de RMN du solide ayant permis d'obtenir respectivement des informations structurales et dynamiques sur le système résultant du confinement du S[NP] dans les nano-pores d'une matrice de silice¹⁵⁰. Les conditions de synthèse de la matrice de silice permettent un contrôle du diamètre des pores, ici centrés autour de 1 à 2 nanomètre. Ainsi, après l'imprégnation du matériau par le S[NP], il en résulte que les pores de la silice contiennent tout au plus un unique complexe de S[NP]. Ce système est désormais référé par la notation S[NP]@SiO₂.

Dans un premier temps, la géométrie décrivant l'arrangement des ions sodium par rapport au [NP] est établie à l'aide d'une analyse utilisant la fonction de distribution de paires (PDF)¹⁵¹. Au signal expérimental produit par le S[NP]@SiO₂ est soustrait celui de la matrice vide, permettant de conserver uniquement les résultats liés au S[NP]. De plus, pour un ensemble de dispositions possibles des ions sodium autour du [NP], c'est-à-dire pour différents angles et distances définis par les deux atomes de sodium et celui de fer, la fonction de distribution de paire théorique associée est calculée. En cherchant le résultat donnant une déviation minimal (Rwp) par rapport à l'expérimental, il est établi que l'arrangement préférentiel du sodium se fait dans le plan équatorial du complexe, dans le prolongement de liaisons Fe-C≡N à une distance de 5.5 Å du fer (Figure 26). Cette analyse suggère donc que le complexe de S[NP] reste associé.

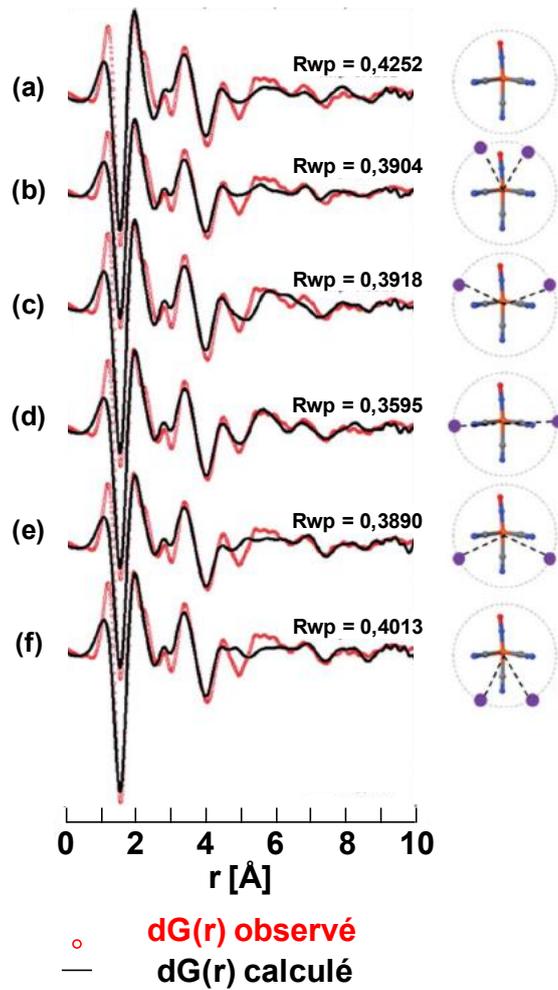


Figure 26 : Soient $G(r)$ la fonction PDF et $dG(r)$ la fonction PDF différentielle. Cette dernière porte les informations relatives au $S[NP]$ selon sa définition :

$$dG(r) = G_{S[NP] \in SiO_2}(r) - G_{SiO_2}(r)$$

La figure présente l'ajustement des données de PDF différentielle pour différentes configurations de complexes isolés de $S[NP]$ dans les pores de la matrice de silice.

(a) : 1 anion $[NP]$

(b)-(f) : Anion $[NP]$ avec différentes positions de 2 contre-ions Na^+ (en violet), à $5,5 \text{ \AA}$ de l'atome central de fer. La configuration (d) donne le meilleur fit : les ions Na^+ sont dans le plan équatorial du $[NP]$, dans le prolongement des liaisons $Fe-C \equiv N$.

Figure adaptée de la publication de Hsieh et al.¹⁵⁰

Dans un second temps, l'interprétation des spectres RMN du $S[NP]@SiO_2$ montre que le complexe possède des propriétés dynamiques assimilables à celles des liquides, c'est-à-dire que le complexe est animé d'un mouvement isotrope rapide dans l'espace des pores. En effet, malgré le fait que l'échantillon soit sous la forme d'une poudre, les spectres ^{13}C acquis ne présentent pas de bandes de rotations : Le [NP] est dans un état pseudo-liquide (Figure 27). La RMN suggère donc que le $S[NP]$ est dissout.

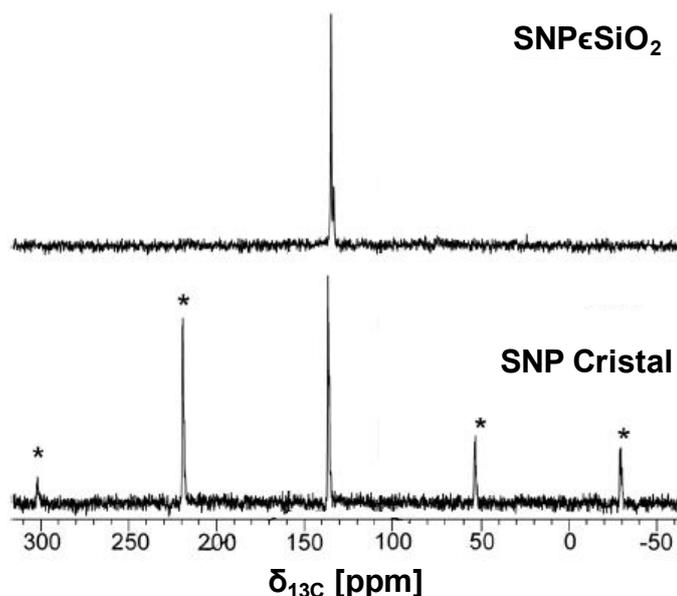


Figure 27 : Spectres ^{13}C CP-MAS (12,5 kHz) de $S[NP]@SiO_2$ (en haut) et du cristal de $S[NP]$ (en bas). Les bandes de rotations sont marquées par des *.

Figure adaptée de la publication de Hsieh et al.¹⁵⁰

C'est de la compatibilité des résultats des analyses PDF et RMN que traite ce chapitre. Ainsi, l'objectif de départ du travail mené ci-après est de comprendre comment les ions du complexe de $S[NP]$ peuvent être soumis à un mouvement rapide, tout en conservant une structure bien définie de complexe associé.

2.3. Stratégie de caractérisation

Lors de cette étude du $S[NP]@SiO_2$, l'ensemble des informations est recueilli par RMN du solide. La sensibilité de la RMN à la nature des éléments chimiques est exploitée. En effet, en s'intéressant à différents noyaux (^{13}C , ^{23}Na , ^{29}Si et 1H), il est ici possible d'obtenir des données sélectives par rapport aux différents constituants du système, c'est-à-dire l'anion [NP], ses contre-ions sodium, la matrice de silice et les molécules d'eau respectivement. Pour accroître cette sensibilité, les complexes de $S[NP]$ ont leurs atomes de carbones marqués isotopiquement ^{13}C .

L'écart observé sur la Figure 26 entre les modèles PDF et la fonction expérimentale a été précédemment expliqué par la présence additionnelle de molécules d'eau dans les pores de la matrice. Afin d'obtenir de plus amples connaissances sur l'effet de solvant de l'eau, le taux d'humidité relative (HR), auquel les échantillons sont stockés, est désormais un paramètre important à considérer. Par conséquent, l'étude présentée est divisée en deux grandes sections, s'appuyant sur la distinction entre échantillons hydratés (pour lesquels le complexe présente une dynamique isotrope) et échantillons secs (pour lesquels une dynamique plus restreinte est observée) établie à partir des spectres ^{13}C .

L'interprétation quantitative de spectres ^{13}C en terme d'anisotropie de déplacement chimique, permet de mettre en évidence les différentes populations de $S[NP]$ en fonction de leur dynamique lorsque la quantité d'eau dans les pores varie. Quand elle est suffisamment élevée, le CSA est moyenné par la dynamique. Ainsi, les mesures de relaxation T_1 en fonction de la température permettent, à l'aide de l'hypothèse d'Arrhenius définie en section 1.3.3, de déterminer les énergies d'activation du mouvement isotrope rapide des différentes espèces ([NP], contre-ions Na^+ et H_2O)¹⁵²⁻¹⁵⁵. À partir de l'égalité de certaines d'entre elles, la corrélation des mouvements ioniques sera établie.

Lorsque le matériau est séché la dynamique n'est plus isotrope et par conséquent, il n'est plus possible d'établir un modèle issu de mesures de relaxation T_1 , comme précédemment. Afin d'élucider la réduction, voire la perte des propriétés dynamiques dans les échantillons secs, des expériences de corrélation hétéronucléaire $^1H / ^{13}C$ et de recouplage des interactions dipolaires $^{13}C / ^{29}Si$ sont menées afin d'explicitier les interactions hôtes/ invités régissant les propriétés du $S[NP]@SiO_2$ en l'absence de molécules d'eau.

Synthèse et conditionnement des échantillons

La synthèse du $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{}^{13}\text{CN}_5)\text{}^{15}\text{NO}]$ avec marquage isotopique a été réalisée selon un protocole précédemment établi^{156,157}. La synthèse de la matrice de silice nano-poreuse est réalisée par voie sol-gel, à partir d'un mélange d'orthosilicate de tétraméthyle, de méthanol et d'eau, dont les proportions permettent le contrôle de la taille des pores¹⁵⁰. La solution est agitée jusqu'obtention d'un gel, puis placée à 50°C pendant trois semaines pour sécher et solidifier le gel. Pour éviter toute fissuration de la silice, son imprégnation par le ^{13}C -S[NP] est réalisée lentement pendant 48 heures. Cette étape est suivie d'un rinçage à l'eau rapide du matériau pour prévenir la cristallisation de S[NP] à l'extérieur des pores. Enfin, le matériau est stocké pendant une semaine dans un four à 323K.

Après broyage du matériau, trois échantillons de S[NP]@SiO₂ sont préparés. Pour un remplissage équitable en S[NP]@SiO₂ et pour pouvoir effectuer un contrôle in situ de la température, les rotors RMN MAS 4 mm contiennent 40% en masse du matériau d'intérêt, 40% de KBr et 20% de bande Téflon pour séparer les deux poudres.

Afin de contrôler les taux d'hydratation, le stockage des rotors ouverts se fait un minimum de 48 heures avant analyse, dans une enceinte fermée, dont l'atmosphère présente un taux d'humidité relative contrôlée par une solution saline saturée^{158,159} de LiBr, CaCl₂ et KCl. Les échantillons sont respectivement référencés par la lettre A (HR = 6%), B (HR = 29%) et C (HR = 85%). Qui plus est, l'échantillon A' fait référence à l'échantillon A, après séchage de ce dernier à l'aide d'une pompe à vide turbo-moléculaire à 10⁻⁴ mbar, à une température de 323 K, pendant 48 heures. Pour une conservation sur le long terme, les échantillons sont conservés dans l'enceinte à HR = 6% pour prévenir la dégradation de la matrice par l'eau.

Le contrôle in situ de la température est effectué grâce à la variation linéaire du déplacement chimique du ^{79}Br dans le sel de KBr avec la température¹⁶⁰. La température réelle des échantillons est calibrée à $\pm 0,1$ K. Entre chaque expérience RMN, un délai de 10 minutes est attendu pour atteindre l'équilibre thermique.

$$\delta_{Br} = -0,0249 * T + \text{constante} \quad [45]$$

2.4. Étude de l'effet du taux d'hydratation

La caractérisation du matériau formé lors de l'encapsulation de S[NP] dans une matrice nano-poreuse de silice (Figure 28) passe par la compréhension de la structure du complexe dans les pores, l'explicitation des phénomènes dynamiques qu'il subit, ainsi que la mise en évidence des interactions hôtes / invités. Dans le cas du matériau ici considéré, il est nécessaire de prendre aussi en compte la modulation de ces propriétés, induites par la présence additionnelle d'une quantité variable d'une troisième espèce dans le système : l'eau. L'eau fait office de solvant lors de l'imprégnation et s'évapore lors de l'étape de séchage du matériau, cependant la silice ayant des propriétés hygroscopiques ces molécules ont tendance à s'inviter plus ou moins fortement en fonction des conditions de stockage du matériau. Une première classification des échantillons est établie après l'observation des spectres ^{13}C présenté en Figure 29, acquis à température ambiante et à basse vitesse MAS (5 kHz). Ils sont discriminés suivant la présence ou non de bandes de rotation. Ces spectres permettent de rapidement identifier quels systèmes (B et C) présentent une dynamique isotrope du [NP], et donc par la suite sur lesquels l'énergie d'activation des mouvements pourront être déterminées.

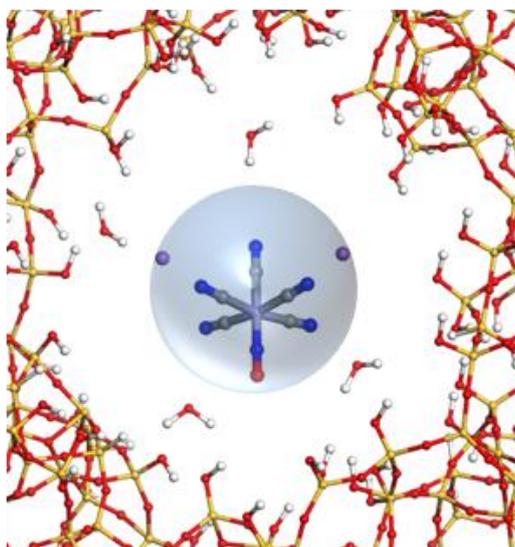


Figure 28 : Illustration d'un complexe de S[NP] confiné dans un pore de 1-2 nm de la matrice de silice. Ici, un nombre arbitraire de molécules d'eau a été ajouté pour donner une vue plus réaliste du système étudié.

Pour le cristal de S[NP], un profil complet et intense de bandes de rotations est présent. Leur origine réside dans l'anisotropie de la distribution des électrons au sein des liaisons Fe-

$C\equiv N$. Elle est donc quasi-exclusivement intramoléculaire*. Ainsi, si une réduction du nombre et de l'intensité des bandes de rotation est observée, alors elle est associée à un moyennement du CSA par une dynamique moléculaire. Le cristal de S[NP] peut donc être considéré comme une référence de CSA décrivant des molécules statiques. Ainsi, deux groupes d'échantillons se distinguent. Les premiers, sont les plus hydratés (B et C de HR respectifs 29% et 85%). En effet, sur leurs spectres associés, le profil de spectre de poudre est remplacé par un pic fin et intense. Celui-ci est la résultante d'un état pseudo-liquide de l'anion [NP] à l'intérieur des pores de la matrice. Cet état pseudo-liquide des échantillons les plus hydratés B et C est un pré-requis à l'étude de leur dynamique moléculaire menée dans le paragraphe suivant. En revanche, quand la teneur en eau diminue (échantillon A ; HR de 6%), la présence de bandes de rotations indique que les ions [NP] ne sont plus soumis à une dynamique isotrope rapide. Cette tendance est confirmée et amplifiée après séchage sous vide de l'échantillon (cas A').

* Cette origine du CSA a été vérifiée au laboratoire par un calcul DFT sur une molécule isolée.

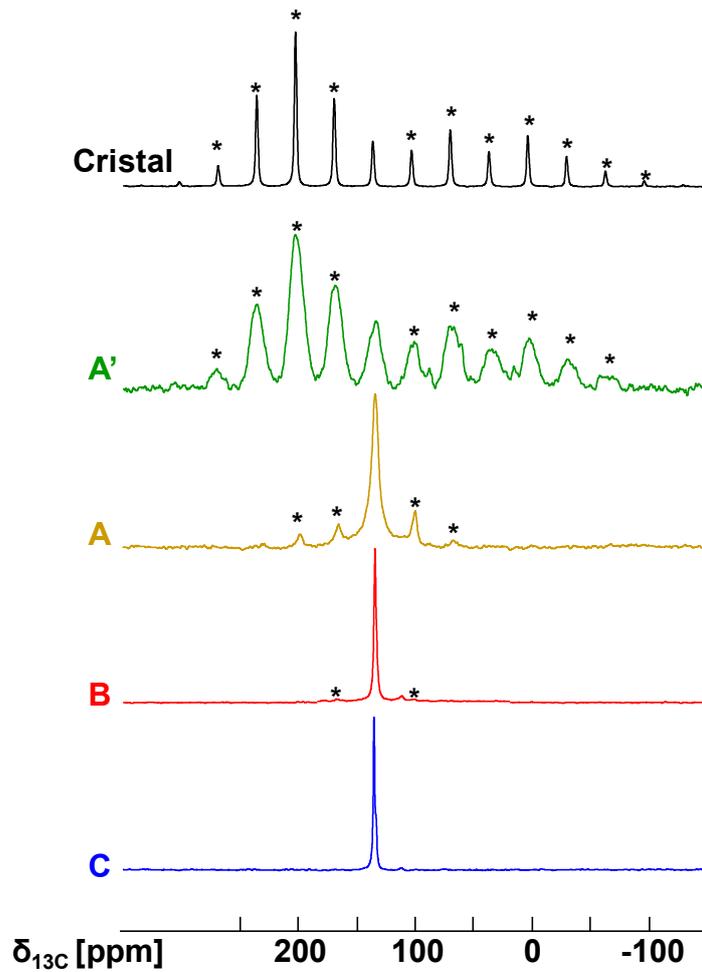


Figure 29 : En noir, spectre CP ^{13}C du cristal de S[NP]

$B_0=600\text{MHz}$; $\nu_{\text{MAS}}=5\text{ kHz}$; 256 scans ; $d_1=3\text{s}$; $T\approx 295\text{K}$; $t_{\text{contact}}=3,5\text{ms}$; $l_b = 200\text{Hz}$

En couleur, spectres ^{13}C (sans CP) des quatre échantillons hybrides de S[NP] \in SiO_2 pour différents taux d'humidité relative (HR) :

En bleu, échantillon C ; HR = 85%.

En rouge, échantillon B ; HR = 29%.

En jaune, échantillon A ; HR = 6%.

En vert, échantillon A' ; HR \rightarrow 0%.

$B_0=600\text{MHz}$; $\nu_{\text{MAS}}=5\text{ kHz}$; 128 scans ; $d_1=3\text{s}$; $T\approx 295\text{K}$; $l_b = 200\text{Hz}$

2.4.1. Caractérisation de la dynamique moléculaire

2.4.1.1. Mesures de relaxation

Le paramètre ici considéré, reflétant la dynamique, est la vitesse de relaxation longitudinale R_1 . Il est mesuré par saturation-récupération (Voir section 1.3.1), pour les trois noyaux suivants : ^{13}C , ^{23}Na et ^1H , reflétant respectivement les propriétés de l'anion [NP], celles de ses contre-ions sodium, et celles des molécules d'eau. De plus, ces mesures sont effectuées en fonction de la température. Pour chacun des noyaux étudiés, toutes les courbes d'édification de l'aimantation sont mono-exponentielles. Ceci est vrai, même pour le noyau de ^{23}Na qui possède un spin 3/2. En effet, les spectres 1D sont constitués d'un pic fin et intense. Ceci démontre que l'interaction quadripolaire est moyenné par une dynamique rapide, et permet ainsi un fit des données de relaxation par une fonction mono-exponentielle¹⁶¹.

Pour chaque échantillon et chaque noyau, un exemple de traitement de ces données* est fourni en Annexe 1.

2.4.1.2. Modèle d'Arrhenius

À partir des mesures de relaxation, les graphiques présentés en Figure 30 sont construits. Sont tracés le logarithme népérien de la vitesse de relaxation R_1 en fonction de l'inverse de la température. Pour les deux échantillons hydratés (B et C), il est observé que dans un domaine de température bien défini, les points expérimentaux suivent une évolution linéaire. Dans le cas du [NP], l'interaction prépondérante gouvernant la relaxation du ^{13}C (spin 1/2) est le CSA (Voir Annexe 2). De plus, sur la gamme de température étudiée, le signal ^1H dont le déplacement chimique appartient à l'intervalle [3 ; 6 ppm] est attribué à de l'eau libre, en échange avec de l'eau adsorbée établissant des liaisons hydrogène. Sa relaxation est donc principalement gouvernée par les interactions dipolaires. Comme pour chacun des noyaux étudiés la relaxation est induite par une unique interaction, il est possible d'établir dans le cas limite d'un mouvement moléculaire rapide, une relation de proportionnalité entre R_1 et le temps de corrélation τ_c du mouvement associé, comme explicité dans le paragraphe 1.3.3. Le temps de corrélation suivant une loi d'Arrhenius, il est finalement possible d'extraire les énergies d'activation¹⁵²⁻¹⁵⁴ (E_a) à partir de la pente des droites qui est de $+E_a/R$ dans le domaine des hautes températures (mouvements rapides) (Voir Figure 24, page 54).

* Le logiciel Mathematica 10.3 est utilisé pour le fit des courbes de saturation-récupération, le tracé et le fit linéaire de R_1 en fonction de $1/T$, et toutes les analyses statistiques.

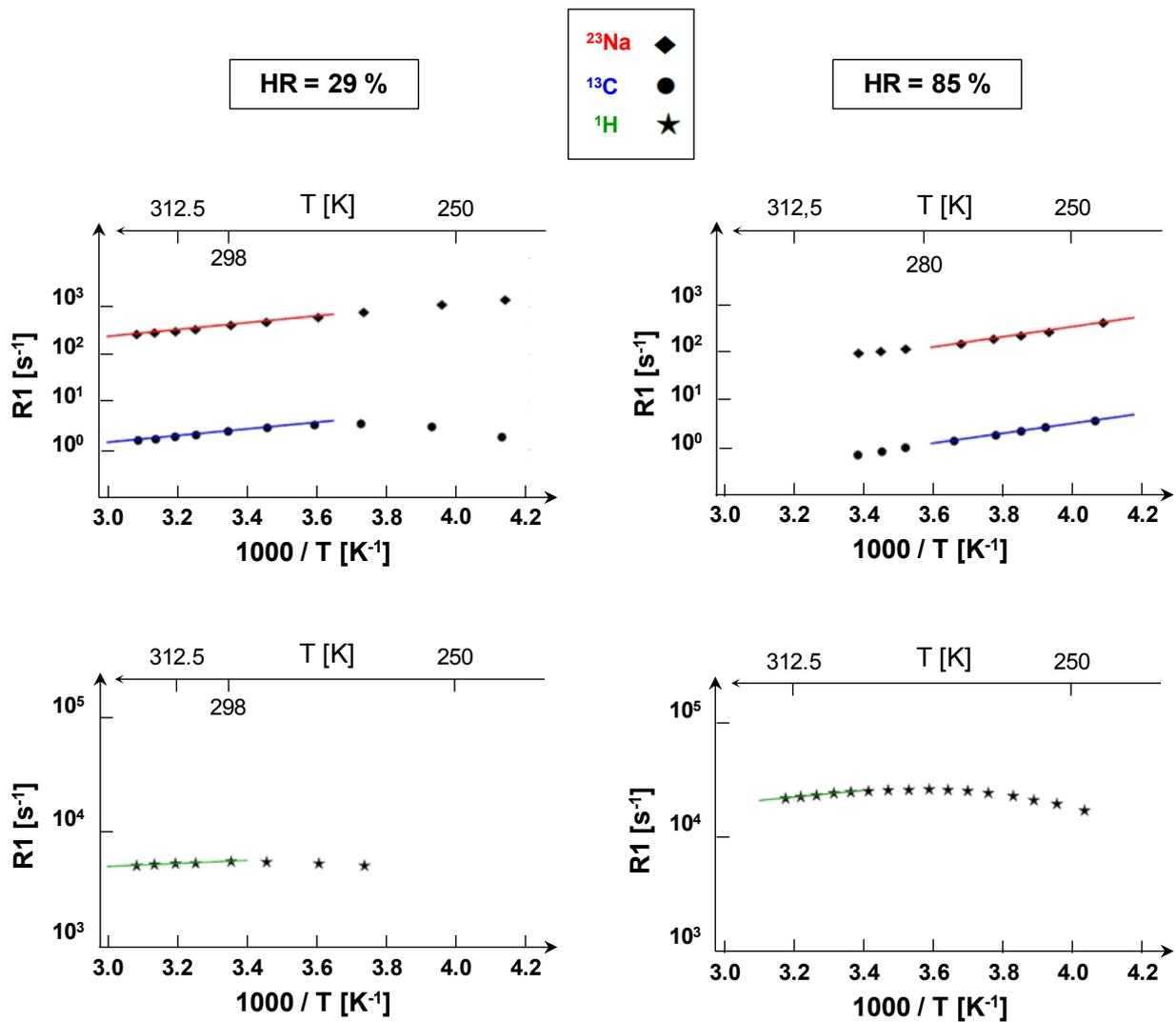


Figure 30 : Vitesse de relaxation R_1 en s^{-1} (échelle logarithmique) en fonction de l'inverse de la température pour les échantillons B (à gauche) et C (à droite). Les données relatives au ^{13}C sont représentées avec des cercles, celles au ^{23}Na avec des carrés et celles au ^1H avec des étoiles. Les droites en couleur correspondent aux régressions linéaires utilisées pour la détermination subséquente des énergies d'activation. Elles ont toutes un bon coefficient de corrélation $R^2 > 0,99$.

Pour les échantillons B et C, un intervalle commun de températures est trouvé, dans lequel les données de relaxation ^{13}C et ^{23}Na suivent une évolution linéaire, dont la modélisation permet de déterminer les énergies d'activation. Ils s'étendent respectivement de [278 à 324 K] (HR=29%) et de [246 à 271 K] (HR=85%). Pour les données ^1H de l'eau libre, les intervalles sont similaires, bien que légèrement plus restreint à cause d'une température du maximum de relaxation un peu plus élevée que pour les autres noyaux. Ils s'étendent respectivement de [298 à 324 K] et de [261 à 274 K]. Dans le Tableau 1 suivant, les valeurs numériques des énergies d'activation associées aux évolutions linéaires des données de relaxation sont détaillées. Les

ordres de grandeur des E_a trouvées ci-dessous sont en accord avec ceux obtenus pour des petites molécules¹⁵⁵.

	Ea [kJ.mol ⁻¹]			Intervalle de température [K] où le modèle d'Arrhenius est validé pour le S[NP]
	[NP]	Na	H ₂ O	
Échantillon B	13,3 0,9	13,7 1,4	2,5 0,1	[278 ; 324]
Échantillon C	19,8 0,2	20,4 1,6	5,55 0,05 [α]	[246 ; 271]

Tableau 1 : Énergies d'activation [kJ.mol⁻¹] des différentes espèces confinées. L'incertitude sur E_a est établie en considérant un intervalle de confiance à 95% sur les fits de T_1 .

Pour les deux échantillons hydratés B et C, il est montré qu'il existe des plages de températures dépendantes de l'humidité relative, pour lesquelles l'énergie d'activation du mouvement de l'anion [NP] est égale à celle des ions sodium. Ces résultats forment un argument convaincant en faveur de l'existence d'un mouvement corrélé des ions [NP] et Na⁺ dans les pores de la matrice. Celui-ci est renforcé par le fait que l'eau possède une énergie d'activation bien plus faible, c'est-à-dire très différente de celles des hétéroatomes (¹³C et ²³Na). Par conséquent, l'eau suit une dynamique indépendante de celle du S[NP].

Ces conclusions permettent donc de répondre à la question ayant initié le sujet. En effet, les mesures PDF et RMN ont été menées à 298 K, sur un échantillon où HR≈30%. Cette température de 298 K appartient à l'intervalle sur lequel l'égalité $E_a^{[NP]}=E_a^{Na}$ pour l'échantillon B a été établie. Ainsi, les modèles issus de la PDF et de la RMN convergent vers une unique description cohérente. Dans les nano-pores (1-2 nm) de la matrice de silice, dans l'intervalle de température [278 K ; 324 K], les ions du complexes de S[NP] sont associés, en maintenant une géométrie où le sodium est dans le plan équatorial du [NP] et suivent un mouvement isotrope rapide corrélé.

Pour tout HR ici considéré et pour toute température, les énergies d'activations des molécules d'eau sont largement distinctes de celles du S[NP]. Il s'agit donc bien de la dynamique de l'eau libre dans les pores. Il est également intéressant de noter que les E_a de toutes les espèces augmentent avec HR. Ceci peut s'expliquer par le remplissage accru des pores de la

matrice (1-2 nm) par l'eau et l'augmentation consécutive des contraintes ainsi exercées vis-à-vis de la mobilité du [NP] (0,8 nm), qui occupe la majeure partie de l'espace disponible.

2.4.1.3. Limites de la méthode utilisée

Il est noté que le modèle d'Arrhenius développé ci-dessus n'est valide que dans un intervalle de température donné. Pour l'échantillon C, l'égalité $E_a^{[NP]}=E_a^{Na}$ est valide dans l'intervalle [246 ; 271 K]. En effet, au-dessus de 271 K, l'évolution des données ^{13}C et ^{23}Na n'est plus similaire. Si l'évolution des données ^{13}C reste linéaire, celles du ^{23}Na ne le sont plus. En effet, inclure les points expérimentaux associés aux températures supérieures à 271 K dégrade le coefficient R^2 de la régression linéaire permettant la détermination de E_a^{Na} . Cette rupture semble marquer une température limite, dont le dépassement est associé à une dissociation de la paire d'ion du S[NP].

2.5. Cas particulier d'un échantillon sec

Tout comme pour les échantillons hydratés B et C, un suivi en température de la relaxation a été effectué sur l'échantillon plus sec A (HR = 6%). Les données acquises sont présentées en Figure 31. Dans l'intervalle de température étudié, tant pour le ^{13}C que pour le ^{23}Na , il n'est pas possible de trouver une unique évolution linéaire pouvant décrire les données avec un coefficient R^2 satisfaisant ($>0,99$). Ceci indique une dynamique plus complexe que dans le cas précédent des échantillons hydratés.

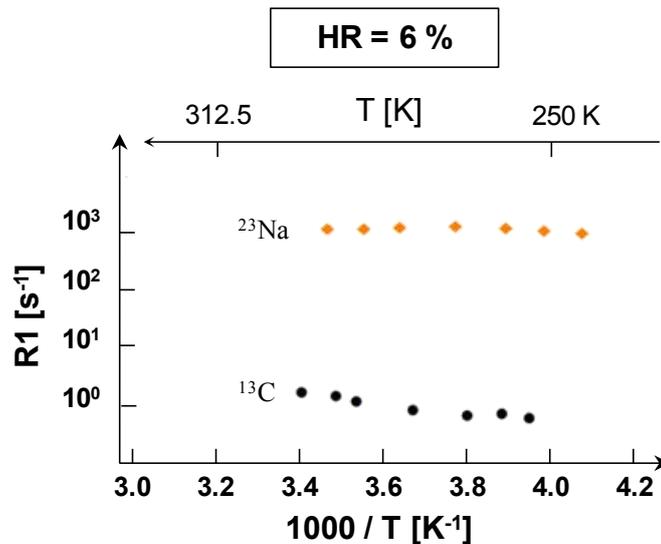


Figure 31 : Vitesse de relaxation R_1 en s^{-1} (échelle logarithmique) en fonction de l'inverse de la température pour l'échantillon A.

Les données relatives au ^{13}C sont représentées avec des cercles, celles au ^{23}Na avec des carrés.

2.5.1. Restriction des propriétés dynamiques

Pour obtenir plus d'informations sur les propriétés du $\text{S}[\text{NP}]\in\text{SiO}_2$ dans un environnement pauvre en eau, une analyse quantitative des spectres ^{13}C est effectuée (Figure 29). En effet, la présence de bandes de rotation permet, par décomposition spectrale, d'évaluer l'anisotropie de déplacement chimique ^{13}C (Tableau 2). Dans le système ici étudié, l'intensité de l'interaction reflète directement la réduction de la mobilité des ions. En effet, il est rappelé que le CSA du $\text{S}[\text{NP}]$ est d'origine intramoléculaire, et permet d'utiliser le cristal, où $\Delta\sigma = -212$ ppm comme référence statique. Ainsi, l'échantillon A est associé à un CSA résiduel de $\Delta\sigma = 56$ ppm. Deux hypothèses sont émises pour expliquer cette valeur. Soit le $[\text{NP}]$ est animé d'un mouvement anisotrope dans les pores de la matrice, soit il se produit un échange rapide

($\tau_{\text{échange}} < \mu\text{s}$) entre une population de [NP] adsorbé sur les surfaces de silice et une population libre dans les pores.

	Cristal	A'	A	B	C
$\Delta\sigma$ [ppm]	-212	-207	56	56	
Fraction de S[NP] immobilisé		86 %	63 %	11 %	0

Tableau 2 : Fit* de l'anisotropie de déplacement chimique $\Delta\sigma(^{13}\text{C})$ [ppm]. Dans tous les cas, le facteur d'asymétrie η est égal à 0.

Afin de comprendre les phénomènes mis en jeu, il est choisi de diminuer la teneur en eau dans les pores. Pour ce faire, l'échantillon A est séché à 50°C pendant 48h sous vide (10^{-4} mbar). Après ce traitement, il est référé sous la dénomination d'échantillon A'. La Figure 32 illustre l'efficacité de ce stockage et sa traduction sur le spectre ^{13}C . Sur le spectre CP, où le transfert de polarisation réalisé (via les couplages dipolaires) permet de sélectionner la population immobile de [NP]⁵⁷, le CSA est estimé à -207 ppm, valeur très proche de la référence à -212 ppm. Il est donc montré qu'enlever les molécules d'eau contenues dans la matrice de silice s'accompagne d'une réduction de la mobilité des anions [NP], jusqu'à retrouver le cas statique. La Figure 33, où les spectres ^{23}Na de l'échantillon A' et du cristal de S[NP] sont comparés permet de vérifier que ce cas statique précédemment décrit n'est pas lié à une cristallisation du S[NP].

* Les déconvolutions spectrales et le fit du CSA est réalisé grâce au programme DMfit¹⁶². La convention de Haeberlen est utilisée¹⁶³.

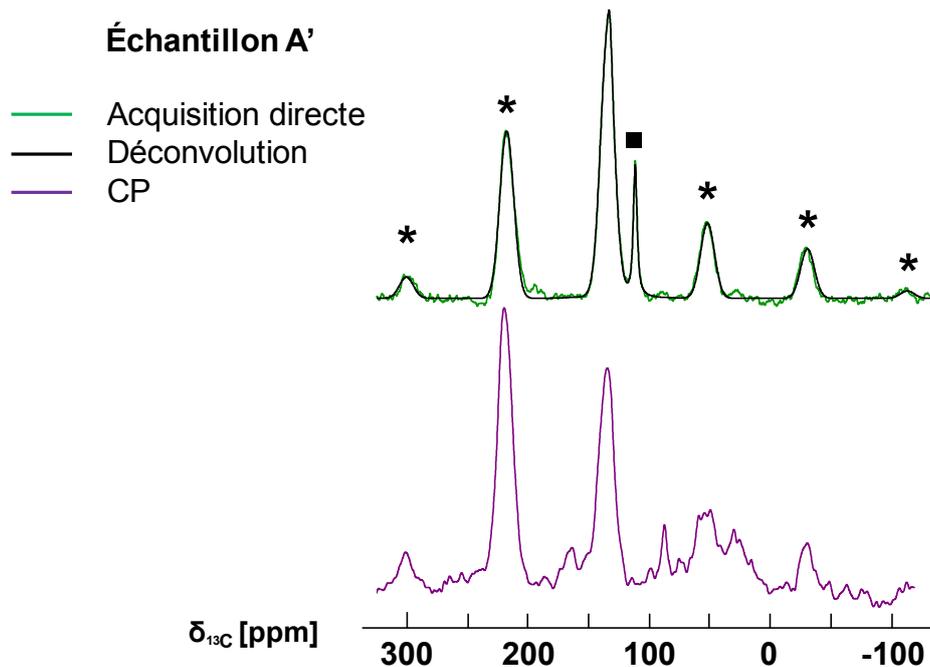


Figure 32 : Comparaison des spectres ^{13}C de l'échantillon A'.

- En vert : Acquisition directe ; $B_0=600\text{MHz}$; $\nu_{\text{MAS}}=12,5\text{ kHz}$; 800 scans ; $d_1=50\text{s}$

- En violet : CP ; $B_0=600\text{MHz}$; $\nu_{\text{MAS}}=12,5\text{ kHz}$; 7168 scans ; $d_1=3\text{s}$; $t_{\text{contact}}=2,35\text{ms}$

- Les bandes de rotation MAS sont marquées par des *. Le carré noir note le signal provenant d'un séparateur en

Téflon placé dans le rotor MAS entre les poudres de $\text{S}[\text{NP}] \in \text{SiO}_2$ et de KBr .

- La déconvolution du spectre vert est réalisé avec DMfit. 3 composantes sont considérées : la 1^{ère} est un pic seul pour la composante de $[\text{NP}]$ mobile (modèle Gaussien / Lorentzien), la 2^{ème} avec 4 bandes de rotation pour la composante de $[\text{NP}]$ immobilisée (modèle CSA MAS) et la 3^{ème} pour le Téflon. Pour chacun d'entre eux, les paramètres d'amplitude de position et de largeur de raie son laissés libres. Pour le fit du CSA, l'asymétrie η est fixée à 0 (valeur obtenue précédemment par calcul DFT sur le $\text{S}[\text{NP}]$ cristallin).

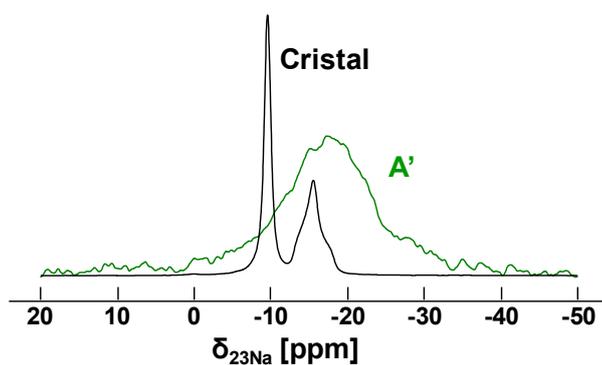


Figure 33 : Comparaison des spectres ^{23}Na de l'échantillon A' et du cristal de $\text{S}[\text{NP}]$.

$B_0=600\text{MHz}$; $\nu_{\text{MAS}}=12,5\text{ kHz}$; 128 / 4 scans respectivement ; $d_1=5\text{s}$; T ambiante ; $lb = 100\text{ Hz}$

La caractérisation de l'échantillon A' se poursuit par l'interprétation du spectre ^{13}C obtenu par acquisition directe (Figure 32). Pour avoir un bon accord entre le spectre expérimental et fit le théorique au niveau de la ligne centrale à 133,2 ppm, il est nécessaire d'utiliser deux composantes. Elles démontrent la coexistence de deux populations de S[NP]. La composante majoritaire est attribuée à la fraction de S[NP] immobilisée. C'est son CSA qui contribue à la génération des bandes de rotation sur le spectre. La seconde composante de S[NP] produit quant-à elle un signal caractéristique d'un composé en mouvement totalement isotrope. Par conséquent, elle est attribuée au S[NP] libre et mobile dans les pores de la matrice. Lors de l'acquisition directe du spectre, un délai inter-scan long de 50 s permet un retour à l'équilibre de l'aimantation de chacune des deux populations de S[NP]. Le spectre résultant de la somme de ces deux signaux permet, après intégration, d'établir la proportion relative entre les deux populations. Il en est déduit que dans l'échantillon le plus sec A', environ 86% du [NP] est statique.

Ce traitement des spectres ^{13}C est aussi appliqué aux échantillons A et B, où la fraction immobilisée de [NP] chute respectivement à 63% et 11 %. Dans ces échantillons, la population statique génère un CSA résiduel de 56 ppm.

En fonction du taux d'hydratation des échantillons, trois populations distinctes de [NP] sont ainsi mises en évidence, chacune possédant une dynamique bien particulière :

- [NP] complètement immobilisé. Elle est retrouvée dans l'échantillon le plus sec (A') et son CSA est proche de la limite statique du cristal. Il est évalué à -207 ppm.

- [NP] a la mobilité restreinte. Elle est présente quand de l'eau est aussi incluse dans les pores de la matrice. C'est le cas des échantillons A et B. Son CSA de 56 ppm traduit les restrictions de mouvement imposées à l'anion [NP].

- [NP] libre en mouvement isotrope rapide, moyennant le CSA à 0. Elle est observée dans tous les échantillons en proportion d'autant plus élevée que la présence d'eau est importante.

La présence de [NP] ayant une dynamique contrainte dans les échantillons les moins hydratés est significative d'une interaction entre ce [NP] et la surface interne des pores de la matrice de silice.

2.5.2. Mise en évidences des interactions hôte / invités

Dans cette section, l'accent est porté sur la fraction de S[NP] immobilisée à la surface des pores. Comme montré en Figure 32, un transfert de polarisation CP permet de sélectionner cette population. Il est à noter que la possibilité même d'effectuer un tel transfert est une preuve de l'existence d'une interaction hôte / invité. En effet, pour avoir du signal, il est nécessaire de disposer d'une source de protons. Ici, les seuls jouant ce rôle sont les protons appartenant aux fonctions silanols de la matrice (et éventuellement de quelques molécules d'eau résiduelles adsorbées à sa surface).

Pour vérifier cette interaction, un spectre 2D de corrélation hétéronucléaire CP $^1\text{H} / ^{13}\text{C}$ est acquis (Figure 34). À partir du déplacement chimique ^1H , il est possible de déterminer la nature des protons fournissant l'aimantation aux carbones du [NP]. Silanols isolés, eau libre, silanols ou eau en liaison hydrogène comptent parmi les différentes possibilités^{164,165}. La corrélation observée en Figure 34 fait intervenir un signal proton large centrée sur 4,3 ppm. À partir des références données ci-dessus, un tel déplacement chimique correspond généralement à un proton issu de la surface des pores de la matrice de silice amorphe, impliqué dans une liaison hydrogène. Plus précisément, trois attributions sont possibles :

- Groupements de silanols vicinaux de surface interagissant ensembles
- Eau adsorbée en interaction avec des silanols de surface
- Silanols en échange avec des molécules d'eau libres.

Étant donné que l'échantillon A' sur lequel l'expérience de corrélation a été menée a subi un séchage extensif, sa contenance d'eau libre est exclue. Elle est renforcée par l'absence de pic fin aux alentours de 5 ppm sur le spectre 1D proton de l'échantillon (en pointillés sur la Figure 34). Ainsi, la dernière hypothèse peut être éliminée.

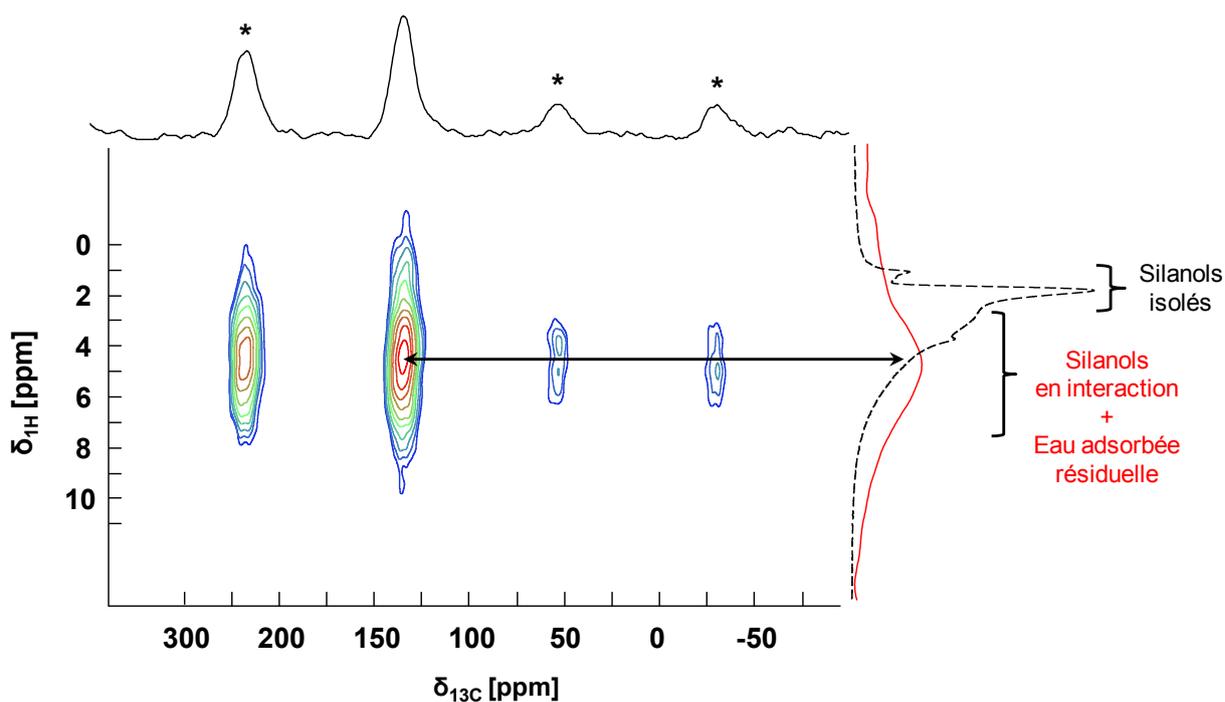


Figure 34 : Spectre de corrélation hétéronucléaire $^1\text{H} / ^{13}\text{C}$ complété par les projections (lignes continues) et le spectre ^1H de référence en pointillés de l'échantillon A'.

$B_0=600\text{MHz}$; $\nu_{\text{MAS}}=12,5\text{kHz}$; 368 scans ; $d_i=3\text{s}$; $t_{\text{contact}}=2,35\text{ms}$; $\text{TD}_i=64$

Une fois l'interaction entre le [NP] et les silanols de la matrice mise en évidence, il est intéressant de discuter de sa nature. En effet, même si le déplacement chimique proton indique des liaisons hydrogènes typiquement de type O-H--O, il est également possible qu'ils s'agissent d'interactions silanol / [NP] avec établissement d'une liaison faible de type O-H--N.

2.5.3. Caractérisation des interactions hôte / invités

Pour poursuivre l'étude, une série d'expériences de déphasage REDOR $^1\text{H}\text{-}^{29}\text{Si}\{^{13}\text{C}\}$ est menée, selon la méthode décrite en section 1.2.3.1. Elle permet de détecter une éventuelle interaction dipolaire hétéronucléaire entre carbone(s) du [NP] et silicium de la matrice. Le premier résultat est apporté par l'expérience conduite avec le temps de déphasage le plus long de 50 ms.

En Figure 35, une comparaison des résultats obtenus sur A' et sur une silice poreuse non imprégnée de S[NP] est présentée. Avec la matrice vide, la différence nulle entre signal de référence S_0 et déphasé S_r permet de s'assurer que le déphasage observé dans le cas du $\text{S[NP]}\in\text{SiO}_2$ ne provient pas d'instabilités liées à l'électronique. La conclusion clef issue de cette comparaison réside dans l'écart significatif d'intensité entre les signaux S_0 et S_r (environ 8,2%)

avec A'. Ceci démontre l'existence d'une l'interaction dipolaire entre ^{13}C de l'anion [NP] et les ^{29}Si appartenant aux groupes silanols de la matrice.

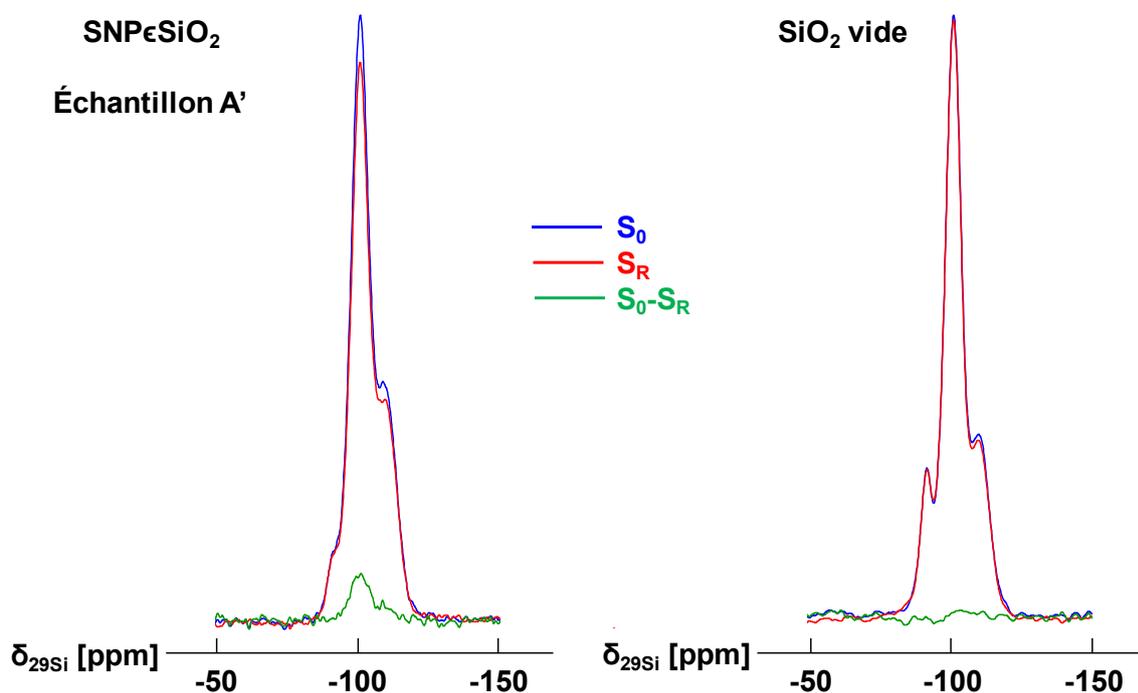


Figure 35 : Spectres REDOR $^1\text{H}-^{29}\text{Si}\{^{13}\text{C}\}$ de référence (en bleu) et déphasé (en rouge). La différence entre les deux spectres est tracée en vert.

$B_0=600\text{MHz}$; $\nu_{\text{MAS}}=12,5\text{kHz}$; 8 192 scans

En Figure 36 est tracée l'évolution du ratio d'intensité entre S_r et S_0 en fonction du temps de déphasage. Il est rappelé que pour une paire de spins couplés isolée, cette courbe doit pouvoir être modélisée par une fonction de Bessel amortie. En d'autres termes, son allure doit être croissante et suivie d'une modulation autour de 1, dont la pente et la fréquence respective reflètent la force de l'interaction dipolaire $^{29}\text{Si}-^{13}\text{C}$, et donc la distance entre les deux atomes. Si une croissance du ratio S_r/S_0 est effectivement observée en Figure 36, même en explorant des temps de déphasage longs, aucune modulation n'est apparente. Deux facteurs expliquent cette allure. D'une part, le marquage isotopique uniforme du [NP] amène une multiplicité des couplages dipolaires $^{29}\text{Si}-^{13}\text{C}$. Ainsi, la somme de ces contributions respectives empêche l'observation d'une modulation correspondant à un couplage unique. D'autres part, les distances carbone – silicium sont longues et supérieures à 0,4 nm, de par les dimensions du S[NP] (Figure 25), et en considérant l'établissement éventuel d'une liaison de type $\text{C}\equiv\text{N}\text{---}\text{H}\text{---}\text{O}\text{---}\text{Si}$. De plus, tous les siliciums de la matrice ne sont pas dans l'environnement des ions [NP]. De ce fait, l'atténuation maximale relative au nombre de spins ^{29}Si effectivement en interaction n'est pas

connue. En l'absence de ce facteur de normalisation, il ne peut pas être envisagé une modélisation de la courbe de déphasage par une fonction de Bessel complète, ou approximée au premier ordre par une fonction quadratique. Cette étude ne permet donc pas d'obtenir une distance carbone – silicium précise.

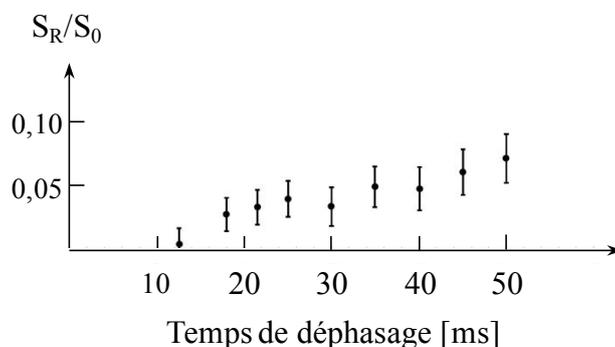


Figure 36 : Courbe de déphasage REDOR $^1\text{H}-^{29}\text{Si}\{^{13}\text{C}\}$ pour l'échantillon A'.

$B_0=600\text{MHz}$; $\nu_{\text{MAS}}=12,5\text{kHz}$; 3 000 scans

Cependant, la possibilité-même d'observer un déphasage REDOR induite par l'interaction dipolaire $^{13}\text{C}-^{29}\text{Si}$ au temps de 50 ms implique qu'il n'y a pas suffisamment d'espace entre l'anion [NP] et les silanols de surface pour permettre l'intercalation d'une molécule d'eau. De ce fait, le résultat amené par l'expérience de corrélation hétéronucléaire (Figure 34) d'une corrélation directe entre [NP] et proton silanol est confirmé. Or, d'après son déplacement chimique, ce proton est en liaison hydrogène. La nature de cette liaison pourrait donc être forgée par un lien avec un des atomes d'azote du [NP], et plus précisément un azote appartenant à une fonction cyanure. En effet, si c'était l'azote du groupement NO, la distance carbone – silicium serait trop grande pour observer un déphasage REDOR.

Le déplacement chimique du site proton impliqué dans l'interaction hôte / invité, 4,3 ppm, observé dans l'expérience de corrélation (Figure 34), est à expliciter. En effet, l'hypothèse d'un proton silanol en liaison hydrogène forte avec un azote des groupements cyanures du [NP] est mise en difficulté par ce déplacement chimique de 4,3 ppm qui ne correspond pas à la gamme des 7 à 10 ppm relevés dans la littérature pour un proton d'une telle nature¹⁶⁶⁻¹⁶⁸. Un décalage vers les déplacements chimiques plus faibles pourrait être associé à un affaiblissement de la liaison hydrogène ; comme si plusieurs azotes d'un même ion [NP] interagissaient simultanément avec la matrice, ou si le site en interaction était rapidement échangé. Pour l'attribution du site à 4,3 ppm, il subsiste également l'option de sa correspondance à une paire de

silanols proches dans l'espace (types vicinaux) impliqués dans un couplage mutuel. Cependant, cette hypothèse ne permet pas d'expliquer l'origine de l'interaction carbone – silicium entre [NP] et la matrice.

2.5.4. Conséquence des interactions

Dans une étude précédente¹⁶⁹, il avait été montré que le S[NP] est en mesure de cristalliser dans les pores d'une matrice de silice, dont les diamètres sont seulement de 6 nm. Un tel phénomène est assez surprenant. En effet, la limite inférieure d'espace disponible pour observer une cristallisation en milieu confiné correspond généralement à des pores de diamètre 10 fois supérieur aux molécules qu'ils contiennent¹⁷⁰⁻¹⁷². Or, le S[NP] fait environ 0,8 nm et réussit à cristalliser dans sa forme naturelle à l'intérieur de pores de 6 nm, ce qui est nettement en dessous de ce critère. Cependant, les travaux menés dans ce chapitre mettent en évidence la possibilité de l'adsorption du [NP] sur la surface interne des pores de la matrice lorsque l'eau est absente. Cette interaction réduit donc grandement sa mobilité, offrant par conséquent des conditions de nucléation favorables à la croissance de cristaux lorsque le matériau est séché à l'étuve par exemple.

2.6. Conclusions

Dans ce chapitre, il a été montré que l'encapsulation de complexes de S[NP] dans les nano-pores (1-2 nm) d'une matrice de silice forme un nanomatériau dont les propriétés structurales et dynamiques sont modulées par sa teneur en eau.

Dans un premier temps, pour les échantillons les plus hydratés, une étude de la relaxation longitudinale a permis d'établir que, dans des intervalles de température donnés, les ions [NP] et sodium sont animés d'un mouvement dont l'énergie d'activation est identique. Ce résultat permet de montrer que chaque élément du complexe de S[NP] suit des mouvements isotropes, mais aussi corrélés. Ceci se traduit par un état pseudo-liquide du S[NP], sans que les ions ne soient dissociés. En d'autres termes, tout en étant isolés dans les pores de la matrice, sodium et [NP] suivent une dynamique isotrope rapide et corrélée. Ces résultats permettent également de répondre à la problématique initiale, qui mettait en avant une contradiction apparente entre un modèle PDF d'arrangement préférentiel du sodium vis-à-vis du [NP] et un modèle RMN de dynamique isotrope des ions, en accordant les modèles structuraux et dynamiques précédemment établis¹⁵⁰.

Dans un second temps, les limites de ces conclusions ont été observées dans les échantillons secs ; via la présence d'un CSA ^{13}C résiduel, la restriction des propriétés dynamiques du S[NP] confiné est mise en évidence. Elle est détaillée par la comparaison des spectres carbones obtenus par excitation directe, ou par transfert de polarisation CP, qui permet de mettre en évidence la (co)-existence de trois différentes populations de S[NP], dont les proportions varient avec la quantité d'eau présente. Ainsi, dans les pores de la matrice, le [NP] peut être soit en mouvement isotrope rapide, soit dans une configuration où sa mobilité est partiellement restreinte, soit complètement immobilisé car adsorbé sur la surface interne des pores. Un séchage extensif de l'échantillon pour éliminer toute trace d'eau libre pourvoit les conditions nécessaires à la réalisation d'expériences complémentaires de corrélation hétéronucléaire $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ et de déphasage REDOR $^1\text{H}-^{29}\text{Si}\{^{13}\text{C}\}$. Leur interprétation permet de discuter la nature des interactions hôtes / invités, masquées en présence d'eau. De plus, la mise en évidence de l'affinité entre [NP] et silanols de la matrice suggère une facilité de la nucléation en milieu confiné et fournit donc un indice relatif à l'explication de la surprenante capacité de cristallisation du S[NP] dans une matrice ayant des pores de 6 nm.

Finalement, des perspectives d'études futures sont offertes, particulièrement dans une caractérisation quantitative des interactions hôtes / invités, ainsi que de la géométrie adoptée par l'ion [NP] par rapport aux silanols de la matrice. Pour ce faire, il serait pris avantage de la multiplicité des noyaux sensibles en RMN dans le système étudié. Ainsi, l'acquisition de spectres REDOR $^1\text{H}-^{29}\text{Si}\{^{15}\text{N}\}$ peut être envisagée. Ils permettraient de démontrer si l'interaction entre le [NP] et la matrice passe effectivement par l'établissement d'une liaison hydrogène entre un silanol et un azote d'un groupement $\text{C}\equiv\text{N}$. De plus, en complétant ces données par des spectres REDOR $^1\text{H}-^{29}\text{Si}\{^{23}\text{Na}\}$, une description complète de l'arrangement du S[NP] dans la matrice pourrait être proposé.

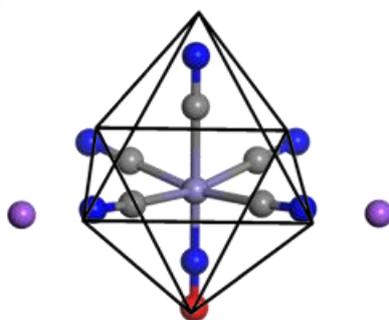
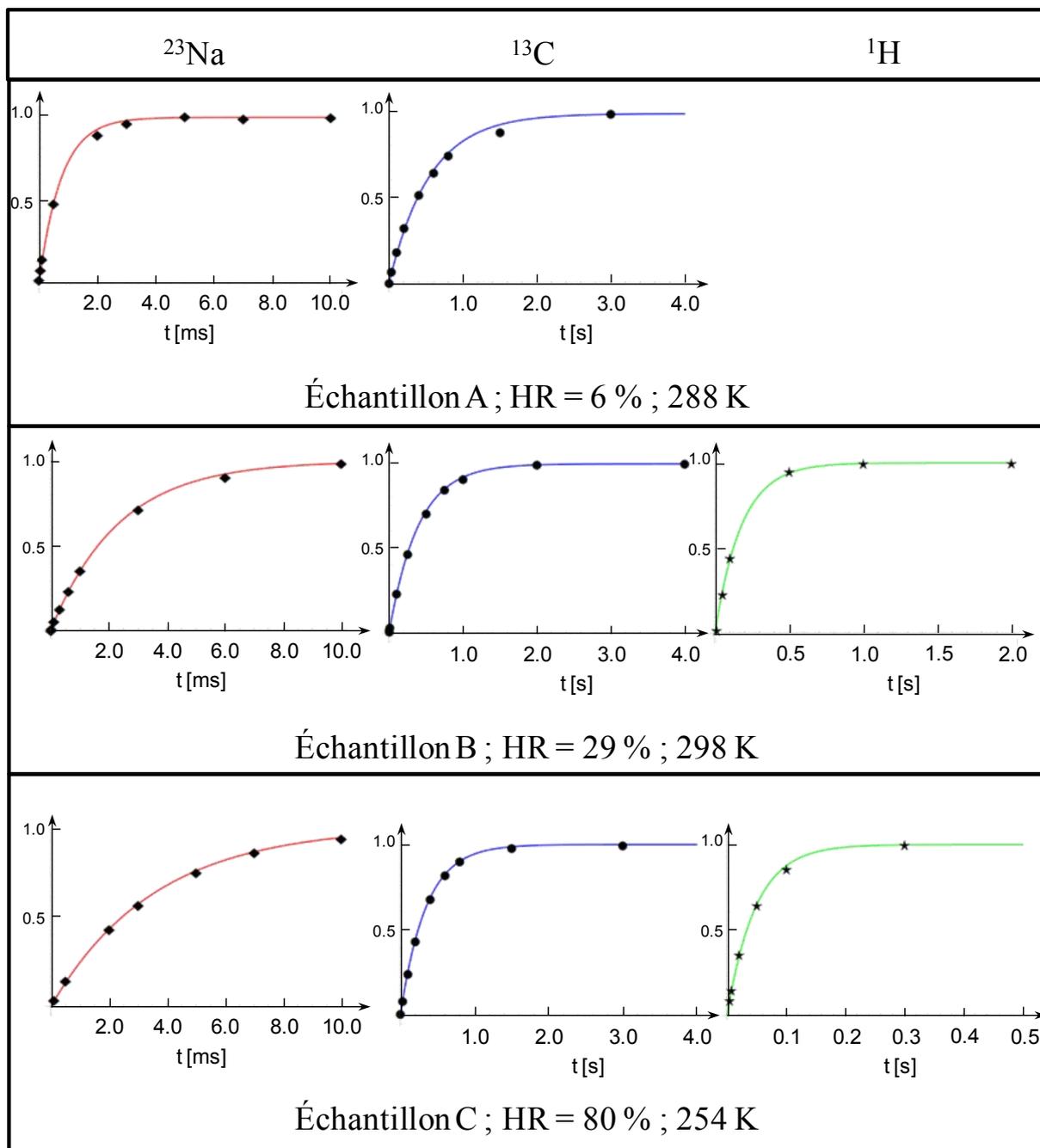


Figure 37 : Représentation schématique du S[NP]

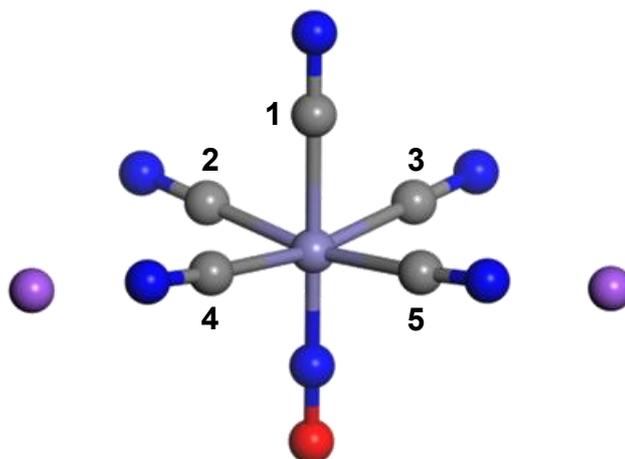
En effet, en supposant que le S[NP] a une géométrie octaédrique (Figure 37), il serait intéressant de montrer si l'interaction avec un silanol se fait avec un unique azote, c'est-à-dire par un des sommets de l'octaèdre, ou si l'interaction fait intervenir plusieurs azotes, c'est-à-dire par le centre d'une face de l'octaèdre.

Annexe 1



Annexe 1 : Exemples de données expérimentales de saturation-récupération des échantillons A, B et C de $S[\text{NP}]_x\text{SiO}_2$, pour les trois noyaux considérés (^{23}Na , ^{13}C et ^1H). En couleurs sont tracés les fits **mono**-exponentiels permettant de déterminer les T_1 . Pour un meilleur affichage, certains points aux temps longs ne sont pas représentés.

Annexe 2



Carbones	Couplages dipolaires [Hz]
1 – 2	441
1 – 2	441
1 – 3	431
1 – 4	431
1 – 5	431
2 – 3	374
2 – 4	134
2 – 5	390
3 – 4	390
3 – 5	134
4 – 5	358

Annexe 2 : L'ensemble des couplages dipolaires ^{13}C - ^{13}C (calculés à partir de la structure cristalline du composé bulk) sont négligeables par rapport au CSA ^{13}C de 32 kHz à $B_0 = 600$ MHz

3. Vectorisation de la curcumine dans des nanoparticules de lipides solides contenues dans une matrice de silice poreuse.

3.1. Introduction

Ce chapitre est consacré à l'étude de "nano"-matériaux développés dans la perspective de proposer un nouveau système dédié à la vectorisation d'une molécule bioactive hydrophobe : la curcumine. Ce projet a été initié par Pr. Andreea Pasc, et mené en collaboration avec le Laboratoire Lorrain de Chimie Moléculaire (L2CM) de l'Université de Lorraine.

Le système étudié associe l'encapsulation de la curcumine (notée CU dans le texte) dans des nanoparticules de lipides solides (SLNs), véhicules de choix, de par leur facilité de préparation et leurs propriétés modulables selon les lipides et surfactant utilisés, ainsi que l'inclusion de ces SLNs dans une matrice poreuse de silice organisée de type SBA-15. Il s'agit donc d'un matériau novateur, car entièrement à l'état solide, les SLNs étant habituellement dispersées en milieu aqueux. De plus, l'addition d'une matrice de silice protège les SLNs et permet une conservation durable du matériau. En effet, sous forme de solution, les cœurs de lipides sont souvent fragiles, notamment par rapport aux variations de température, amenant au final à l'expulsion des molécules invités qu'ils contenaient initialement.

L'étude de ces systèmes hybrides s'inscrit dans la continuité d'une publication antérieure¹⁷³, ayant pour objectif l'élucidation de la structure générale des différentes enceintes de confinement, ainsi que la répartition de la CU en leur sein. L'objectif de la poursuite de la caractérisation de ces matériaux est d'expliquer les différents profils de relargage de la CU observés selon leur base de lipide, de type cétyl-palmitate (NHP), ou acide stéarique (SA). Les différentes cinétiques sont illustrées en Figure 38, adaptée à partir de la référence¹⁷³. Il a été initialement montré qu'aux pH les plus acides, la libération de la CU de NHP@SBA-15 (appelé NHP-Mat dans la publication) se faisait selon un mécanisme en une seule étape, alors que celle de SA@SBA-15 était décrite par un mécanisme en deux temps (profil a). Consécutivement, il est aussi mis en lumière que la vitesse de relargage de la CU est globalement plus rapide pour le matériau hybride à base de NHP, que pour celui à base d'SA.

De plus, il a été estimé, par spectroscopie UV, après extraction et séparation des phases organiques et aqueuses des différents matériaux, que la concentration en CU était plus élevée dans l'SA que dans le NHP. La justification de cette plus grande affinité est portée par

l'hypothèse d'établissement de liaisons hydrogènes entre la fonction émol de la CU et l'acide carboxylique de SA, celle-ci ne pouvant exister avec le NHP qui est un ester. La compréhension de la répartition de la CU dans les différents échantillons est donc à affiner pour expliciter les différentes interactions auxquelles les molécules sont soumises, ces dernières modulant *in fine* les propriétés de relargage, et donc les propriétés pharmaceutiques.

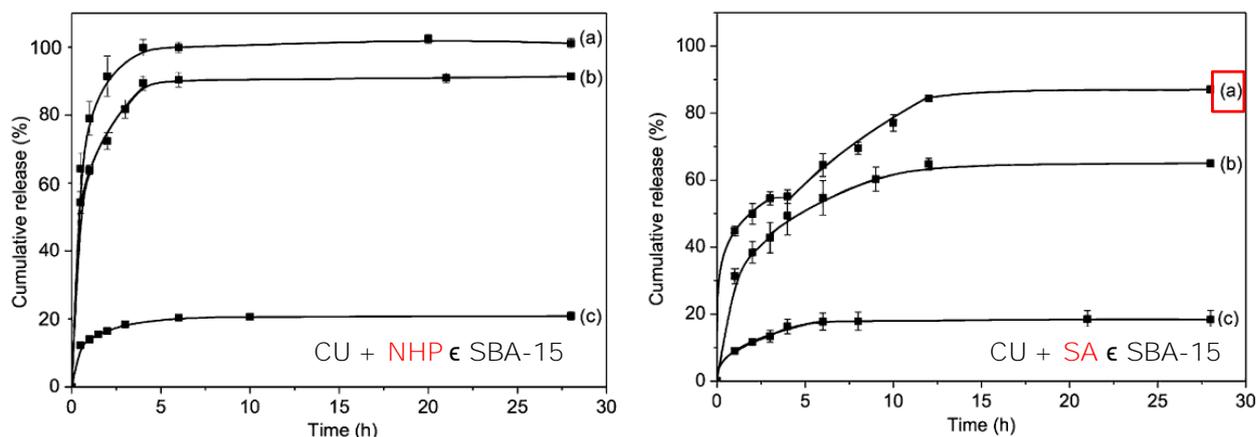


Figure 38 : Relargage *in vitro* cumulative de la CU de NHP \in SBA-15 et de SA \in SBA-15 dans une solution tampon, analysé par spectroscopie UV/visible. Respectivement, pour les profils a, b et c, pH = 1,2 ; 4,5 et 7,4.

Les données présentées sont la moyenne des valeurs mesurée pour une série de trois expériences.

Figure adaptée de la publication de Kim et al¹⁷³.

À cet objectif concernant la partition de la CU dans SA \in SBA-15 et NHP \in SBA-15, est ajoutée l'idée d'étendre les techniques d'analyses communément utilisées avec les SLNs, en y apportant les données recueillies par RMN du solide. La finalité du projet est de disposer d'une méthode *in situ* de qualification de la partition de molécules bioactives contenues dans de telles nanoparticules, ne nécessitant pas l'extraction des phases organiques et aqueuses, afin de savoir s'il est possible d'obtenir des informations qualitatives distinctes pour des matériaux différent uniquement par les lipides employées pour former les SLNs. Cette analyse RMN est un véritable défi, lié à la faible sensibilité de la technique expérimentale. En effet, la masse de CU ne représente que 1,7% de la masse totale d'échantillon. De plus, ne disposant pas de CU marquée ¹³C, l'ensemble de l'étude de répartition sera abordée via l'interprétation de spectres ¹H, dont la résolution est une source constante de discussion.

Ce chapitre est divisé en trois grandes parties. Tout d'abord, l'attribution des spectres ¹H est réalisée. Puis, la réponse du matériau aux effets de la température sera analysée. À l'aide d'informations complémentaires apportées par des mesures de calorimétrie différentielle à

balayage (DSC), des phénomènes de polymorphisme seront mis en évidence pour les lipides et leurs origines explicitées grâce à des spectres RMN de corrélation homonucléaire. Enfin, après avoir établi un protocole précis dédié à l'analyse d'échantillons hybrides, la question de la répartition de la CU dans les différents compartiments sera abordée.

3.1.1. Les enjeux de la CU

La curcumine (CU), ou diferuloylméthane, ayant pour dénomination standard (1*E*,6*E*)-1,7-bis(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)-1,6-heptadiène-3,5-dione, est un polyphénol d'origine naturelle, trouvé en quantité dans les rhizomes de *Curcuma longa*¹⁷⁴. En solution, elle est en équilibre entre sa forme cétone et ses deux formes énols équivalentes.

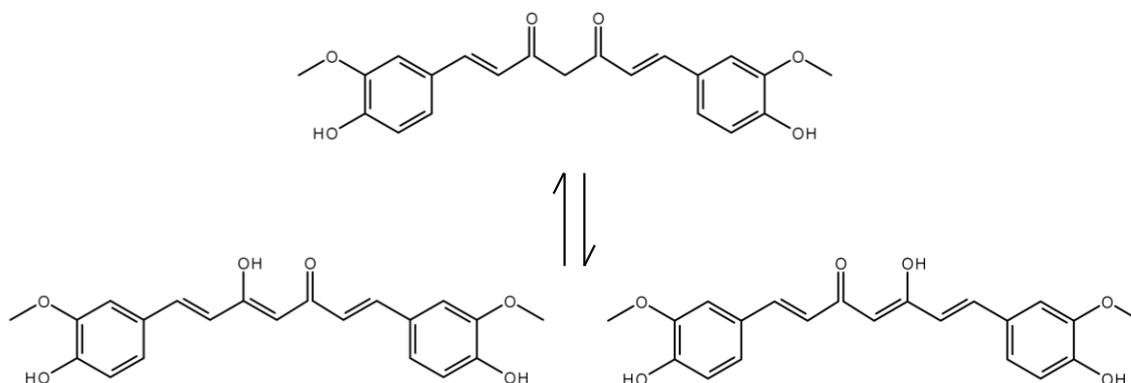


Figure 39 : Formes cétone et énols de la curcumine (CU).

Si elle est couramment utilisée en temps que colorant orange, de nombreuses études lui sont consacrées car elle présente une très large gamme d'intérêts pharmaceutiques¹⁷⁵⁻¹⁷⁷. Parmi eux, sont notés ses effets antioxydants¹⁷⁸ et anti-inflammatoire¹⁷⁹. De plus, la CU est particulièrement prometteuse envers la prévention et la thérapie de nombreux cancers¹⁸⁰, ou encore la lutte contre Alzheimer¹⁸¹. Dans une review¹⁸² publiée en 2014, le spectre des études se décompose en 6 grandes catégories pour lesquelles la CU a déjà été envisagée comme solution thérapeutique :

- Cancers
- Infections (VIH, malaria, infections bactériennes et fongiques,...)
- Troubles neurologiques (Alzheimer, Parkinson, épilepsie)
- Inflammations et allergies
- Maladies liées au mode de vie (insuffisance cardiaque, diabète, alcoolisme,...)
- Autres (dépression, fatigue musculaire,...)

L'utilisation courante et directe de CU pour des traitements médicaux est cependant très limitée, car il est rapporté une faible biodisponibilité de la CU chez l'Homme. Ceci a pour conséquence de rendre son impact sur l'organisme discutable, comme le montrent les essais cliniques menés¹⁸³. En effet, après administration de CU, elle est trop souvent détectée à l'état de trace pour pouvoir justifier l'obtention de quelque vertu. Une des difficultés majeures de l'administration de la CU réside dans son caractère hydrophobe. Pour un pH de 7,4, valeur prédominante dans l'organisme humain, la solubilité relevée est seulement de 0,4 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Acquérir une concentration suffisante de CU dans le sang reste donc un objectif à atteindre¹⁸⁴, pour obtenir des effets thérapeutiques notoires. C'est une combinaison de trois facteurs qui justifie cette faible biodisponibilité de la CU¹⁸⁵. Premièrement, il est mesuré une faible absorption de la molécule par l'organisme¹⁸⁶. Celle-ci est couplée à des voies de métabolisation rapides et efficaces^{187,188}, formant des métabolites inactifs en comparaison à la molécule originelle de CU. Enfin, ces processus sont suivis d'une élimination systémique rapide. En effet, il a été mesuré que 60 % à 70 % de la quantité initiale de CU absorbé par voie orale est éliminée¹⁸⁹.

L'amélioration des propriétés thérapeutiques de la CU s'articule donc autour de trois axes¹⁹⁰ : sa solubilité¹⁹¹, sa stabilité chimique aux pH d'utilisation (pour éviter son hydrolyse) et sa biodisponibilité lors d'une administration par voie orale. Les problématiques associées à la CU s'étendent au-delà du domaine biologique. Par exemple, le stockage à long terme de la CU, nécessaire en vue d'applications industrielles de composés à base de CU, est lui aussi complexifié par la photosensibilité de la molécule, qui sous l'influence de la lumière se dégrade en plusieurs sous-produits, dont la vanilline, l'acide vanillique et l'acide férulique¹⁹².

Pour répondre à ces attentes, l'encapsulation de la CU dans des nanoparticules amène un large choix quant aux structures disponibles^{193,194}. Les thématiques liées à la CU sont évidemment communes, notamment à celles associées à d'autres traitements anti-cancéreux, pour lesquels les nanotechnologies sont prometteuses¹⁹⁵. En effet, la grande variété de ces matériaux ouvre de nombreuses perspectives de stockage et de protection des molécules organiques. Si l'ajustement des propriétés ainsi apportées est indéniablement une qualité intrinsèque de ces matériaux hybrides, il reste tout de même absolument nécessaire de les caractériser afin de maîtriser leur capacité à stocker de grandes quantités de molécules actives, de s'assurer de leur stabilité dans le temps, de connaître leur réponse à différentes perturbations tels les effets de la température, du pH, ... En effet, tous ses paramètres auront une influence sur les profils de relargage des molécules actives, modulant ainsi leurs effets sur les organismes.

Le point de départ à l'élaboration de formulations capables de contenir de la CU est dans leur capacité à s'accomoder de ses propriétés hydrophobiques. L'emploi de lipides comme vecteurs de base est donc approprié. Elles peuvent être exprimées selon plusieurs formes : liposomes, émulsions, nanoparticules de lipides solides,... Il existe aussi d'autres possibilités permettant d'utiliser des polymères, voire des molécules s'auto-arrangeant sous forme de micelles, de dendrimères, ou de gels. L'ensemble de ces formulations, ainsi que certaines de leurs perspectives d'emploi ont été définies¹⁹⁶, et une présentation individuelle leur est consacrée dans la section suivante.

3.1.2. Vectorisation de la curcumine

Les possibilités qu'offrent les nanotechnologies dans le développement de formulations de CU sont d'une grande variété. Cependant, il est possible de les présenter en les séparant en deux catégories, suivant l'utilisation ou non de lipides. Les systèmes à base de lipides se distinguent des autres nanoparticules du fait de leur haute biocompatibilité, notamment car pouvant être développées à partir d'acide gras naturellement présent dans l'organisme ou comestibles¹⁹⁷, et de par leur versatilité¹⁹⁸. Créées pour accroître la solubilité de composés hydrophobes, elles sont ainsi des vecteurs de choix pour la CU. Dans cette présentations des systèmes à base de lipides¹⁹⁸, les avantages suivants sont relevés :

- Capacité de contrôler et cibler le relargage
- Accroissement de la stabilité des produits pharmaceutiques
- Capacité accrue d'encapsulation de molécules actives (en comparaison aux formulations à base de polymères
- Accommodation de molécules invitées hydrophiles et/ou hydrophobes
- Une majorité des lipides est biocompatible, car non toxique, biodégradable,...
- L'eau peut être le solvant utilisé lors de la synthèse, circonvenant l'incompatibilité biologique des solvants organiques
- Augmentation facile des échelles de production
- Économiquement intéressantes
- Efficacité aisément vérifiable.

3.1.2.1. Silices méso-poreuses

Les silices mésoporeuses utilisent un assemblage de surfactant pour produire un réseau autour duquel s'effectue une organisation de silice. Cette étape peut éventuellement être suivie d'une calcination pour éliminer la phase organique. Ce sont des matériaux récents¹⁹⁹, qui se sont développés, en des structures ayant un fort degré d'organisation. Ils sont particulièrement intéressants car ils ont des grandes surfaces caractéristiques (entre 700 et 1000 m².g⁻¹), une porosité élevée, et surtout des pores dont la taille est ajustable entre 1 et 10 nm, d'où la possibilité de les convertir en porteurs de molécules actives²⁰⁰. Parmi ces silices sont à citer pour leur popularité les matériaux dénommés MCM-41 et SBA-15. Bien qu'ils constituent tous deux un réseau hexagonal de pores, ils se distinguent notamment par leur méthode de synthèse²⁰¹. Les matrices de silices sont adaptables aux molécules qu'elles ont à véhiculer, grâce aux possibilités de fonctionnaliser l'intérieur des pores. Il existe ainsi toute une gamme de matériaux adaptés à la CU²⁰²⁻²⁰⁴. Une description plus ample de ces nanomatériaux est proposée dans le chapitre précédent (Voir section 2.2.1).

3.1.2.2. Micelles de polymères

Les micelles de polymère sont formées par des copolymères amphiphiles²⁰⁵ pouvant s'organiser spontanément en des structures sphériques ayant un diamètre de 15 à 100 nm, lorsque leur concentration dépasse une valeur critique, à une température donnée. Cet assemblage est rendu possible par le contraste entre le cœur hydrophobe et leur enveloppe externe hydrophile. Par exemple, les copolymères tri-blocs, tels les polymères formés par deux chaînes hydrophiles de poly(éthylène oxide), notée PEO, encadrant une chaîne hydrophobe de poly(propylène oxide), notée PPO, sont des surfactants capables de former des micelles²⁰⁶. Par la suite, il est possible de charger les micelles avec des molécules actives. Le choix des longueurs des différentes chaînes de polymères est crucial. En effet, elles ont une influence directe sur les capacités de stockage des micelles. Les vitesses de relargage, ainsi que le pourcentage de la quantité initiale de molécule active libérée devient lui aussi contrôlable par l'utilisateur. Ces caractéristiques ont été montrées lors d'une étude comparative de trois agents anti-cancéreux encapsulés dans 6 différents polymères²⁰⁷.

La capacité des surfactants à former des micelles peut aussi servir à la vectorisation de la CU. En effet, la CU se retrouve protégée du milieu extérieur, et donc notamment des conditions favorables à l'hydrolyse auxquelles elle pourrait être soumise²⁰⁸. Il a donc été développé un système micellaire à partir de deux surfactants de PEO-PPO-PEO présentant des caractéristiques

synergiques, l'un plus hydrophile que l'autre, permettant une bonne capacité de stockage de la CU²⁰⁹, une plus longue stabilité dans le temps, et pour lequel les premiers résultats montrent une efficacité accrue des effets cytotoxiques de la CU²¹⁰. Les micelles étant dispersées dans l'eau, elles sont une solution de choix pour accroître la solubilité de la CU transportée par leur biais²¹¹. Enfin, lors d'une étude sur la répartition de la CU distribuée via des micelles de PLGA-PEG-PLGA, comparativement à un apport de CU seule, il est montré que certains organes, tels le cerveau ou les poumons reçoivent un apport accru en CU, alors que d'autres comme le foie voient leur consommation restreinte²¹². Cette efficacité dans le ciblage des organes est possible de par la petite taille des micelles ici utilisées (26 nm).

3.1.2.3. Microémulsions et nano-émulsions

Les microémulsions sont définies comme étant un mélange d'eau, d'huile et de tensioactif formant une solution d'apparence transparente et isotrope. De plus, le système doit être thermodynamiquement stable²¹³. Elles existent dans des conditions bien précises de rapports de quantités de ses constituants. Elles constituent une technique intéressante dans le transport de molécules actives de part la simplicité de leur préparation et de leur stabilité sur le long terme. De plus, les gouttelettes étant de petite taille (10 à 100nm), leur absorption en est facilitée. Cependant, une fois vectrice de la CU, il est indispensable de quantifier à nouveau la stabilité des microémulsions, notamment en fonction des lipides utilisés²¹⁴. Quant à elles, les nano-émulsions sont définies comme des dispersions colloïdales, thermodynamiquement instables, de deux liquides non miscibles, l'un formant des gouttelettes sphériques de rayon inférieur à 100 nm dans le second²¹⁵. L'optimisation de leurs propriétés permet d'envisager la préparation de vecteurs de la CU²¹⁶.

3.1.2.4. Liposomes

Les liposomes sont des vésicules sphériques formées par une ou plusieurs bicouches lipidiques qui s'auto-assemblent de façon à pouvoir englober un cœur aqueux. Ils peuvent servir de capsule pour des molécules hydrophobes insérées dans leurs lipides, ou pour des molécules hydrophiles solubilisées dans le milieu aqueux de leur cœur. L'interface entre la bicouche phospholipidique et le milieu aqueux piégé en son sein est aussi propice à l'encapsulation²¹⁷. La bio-compatibilité des liposomes étant déjà établie, ils peuvent être soumis à des essais cliniques et font parti intégrante du marché²¹⁸.

Ils peuvent être adaptés pour servir de véhicule aux molécules désirées, comme la CU²¹⁹, notamment en jouant sur le nombre (et la nature) des différentes couches de lipides et surfactants. Par exemple, la possibilité d'effectuer une encapsulation commune et un relargage conjoint de deux agents anti-cancéreux (cisplatine et CU) a été récemment démontrée²²⁰.

La CU peut ainsi voir sa biodisponibilité augmentée, de part son inclusion dans des liposomes lors d'une administration par voie orale. Une meilleure absorption gastro-intestinale est mesurée, résultant en des concentrations sanguines significativement plus élevées²²¹.

Les trois principales difficultés rencontrées avec les liposomes sont une faible capacité d'encapsulation, des pertes rapides des molécules actives si elles sont hydrophiles, et des difficultés de stockage de part une faible stabilité dans le temps.

3.1.2.5. Nanoparticules de lipides solides (SLN)

Par la suite, sera utilisée l'abréviation anglaise de cette classe de colloïdes que sont les nanoparticules de lipides solides : SLN. Historiquement, les SLNs désignent des colloïdes développées depuis le milieu des années 90^{222,223}, où des cœurs de lipides sous formes de nanocristaux sont en suspension dans l'eau via une enveloppe de polymère qui joue le rôle de surfactant, formant ainsi des nanoparticules ayant généralement une forme sphérique, dans lesquelles peuvent être incorporées des médicaments. Les SLNs se distinguent donc des autres formes d'émulsion de lipides par l'état solide, voire cristallin de ces dernières.

En fonction de la solubilité dans les lipides et de l'affinité avec l'eau des molécules invitées, trois grands modèles se dégagent pour décrire l'arrangement des SLNs, comme illustré en Figure 40. Dans le cas N°1, si la molécule active est miscible avec les lipides, une dispersion homogène du principe actif peut être obtenue. Si les molécules encapsulées sont hydrophiles, comme dans le cas N°2, elles auront une répartition préférentielle dans l'enveloppe des SLNs. Avec les molécules hydrophobes du cas N°3, une répartition dans le cœur des lipides est attendue. Ainsi, l'utilisation des SLNs offre une flexibilité intéressante quant aux différents types de composés qu'elles peuvent contenir.

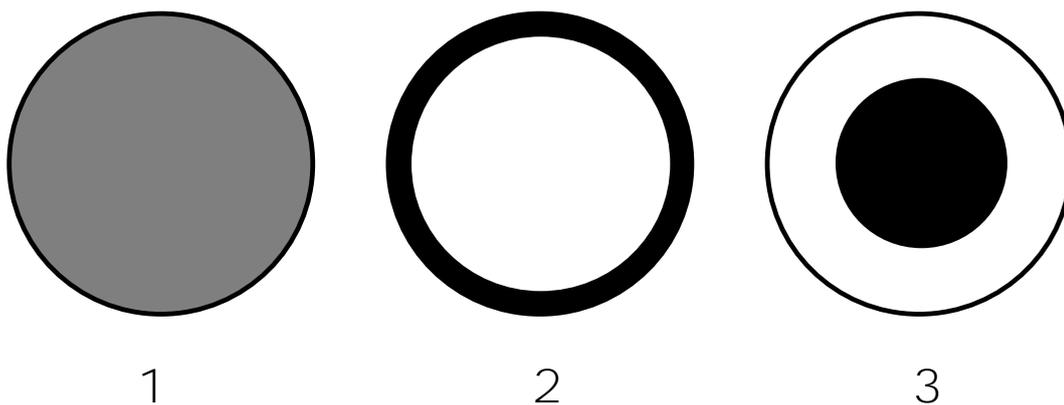


Figure 40 : Modèles de répartition de molécules hôtes dans des SLNs.

L'importance de quantifier la taille des SLNs préparées est cruciale. En effet, selon le diamètre moyen la capacité de stockage peut s'en retrouver modifiée. Par exemple, dans un système où la CU est incluse dans des lipides d'origines naturelles, il est montré que la quantité de CU encapsulée est restreinte avec l'augmentation du diamètre des SLNs¹⁹⁷. Dérivé de ces informations structurales, il a été possible de remonter à un modèle de structure où les interactions entre la CU et le surfactant sont favorisées, justifiant un modèle de type 2 (décrit en Figure 40).

Les SLNs sont une alternative attractive par rapport aux autres systèmes de vectorisation à base de lipides. Tout d'abord, la simplicité de ses constituants fait qu'ils ont déjà souvent été approuvés comme étant biocompatible, et donc utilisable lors de traitements. Il est aussi possible d'établir des protocoles de préparation, tels qu'aucun solvant organique ne soit utilisé au cours de la synthèse. C'est notamment le cas pour les SLNs étudiées dans la suite de ce manuscrit. Ces facilités de préparation constituent également des arguments convaincants dans des éventualités de production sur des échelles industrielles. Enfin, il a désormais été rapporté de nombreux succès d'incorporations de molécules actives en leur sein, amenant des effets bénéfiques.

Il est aussi à noter qu'il existe un nombre conséquent de méthodes de préparation des SLNs^{224,225}. Selon la méthode de préparation choisie, pour des mêmes réactifs de départ, l'organisation finale des lipides dans les SLNs peuvent être différentes. Les deux caractéristiques des SLNs majoritairement affectées par ce choix sont donc leur stabilité thermodynamique et leur capacité de stockage. Ces techniques de synthèse ont été extensivement décrites et illustrées²²⁶.

Si les SLNs présentent des avantages multiples, des aspects négatifs sont aussi à souligner²²⁷. Parmi eux sont à citer des limitations en termes de capacité de stockage de par la forte influence des caractéristiques de solubilité des molécules invitées dans le réseau de lipides. Le caractère cristallin et ordonné de ses dernières amène aussi souvent à l'expulsion d'une quantité non négligeable de médicaments lors de leur solidification. Cet inconvénient peut être contourné en préparant des SLN où la cristallinité des lipides n'est pas parfaite²²⁸. Enfin, la grande quantité d'eau dans une dispersion de SLNs est aussi problématique lors de l'administration. Une voie d'amélioration des SLNs réside dans le travail sur la composition de leur surface²²⁶.

Comme présenté ci-avant, la cristallinité du cœur de lipides des SLNs est un paramètre crucial dans sa capacité de charge et de rétention de molécules actives²²⁹, et donc un facteur permettant de juger de la qualité des SLNs. Les caractérisations de l'état physique des lipides montrent que le passage aux échelles nanométriques induit plusieurs possibilités de changement. Tout d'abord, le degré de cristallinité peut diminuer. Cela correspond au fait qu'une partie des lipides n'est plus organisée, mais dans une phase amorphe : l'arrangement des molécules au sein du solide est désordonné, ne suivant plus la structure régulière d'un réseau. La DSC est une méthode de choix pour mettre en évidence ce phénomène²³⁰.

Les procédés de préparation des SLNs font souvent intervenir une étape de recristallisation des lipides, favorisant souvent l'apparition de phases dans une structure cristalline moins ordonnée et thermodynamiquement moins stable appelée polymorphe. Les lipides appartenant à la famille des triglycérides sont particulièrement prompts à générer du polymorphisme. À nouveau, la DSC est utile, permettant de visualiser facilement des transitions de phases surnuméraires aux différentes températures de fusion des polymorphes²³¹. Dans le cas des SLNs, la présence d'un agent surfactant autour du cœur de lipide est aussi un facteur influant sur les différentes transitions polymorphiques observées²³². En effet, plus le système à base de lipides a un petit diamètre, plus le nombre de molécules de lipides en interaction avec les chaînes de surfactant augmente.

Pour établir le bilan de l'impact du polymorphisme sur les SLNs, deux facteurs sont à considérer : leur stabilité thermodynamique et la différence de réseau par rapport au cristal de base. Ainsi, la présence de polymorphes peut se révéler intéressante de par le plus grand espace qu'ils présentent entre leur chaîne dans le réseau cristallin¹⁹⁸, permettant une plus grande capacité de stockage des molécules actives. Cet effet est contrebalancé, car des réorganisations

du réseau cristallin vers des états plus stables, souvent synonyme d'expulsion des molécules actives, se retrouvent favorisées.

Chauffage et refroidissement d'une SLN sont tous deux à considérer. En effet, il est possible de mesurer une température de fusion plus élevée que celle de solidification, avec des écarts pouvant dépasser la vingtaine de degrés. Ainsi, si après la fusion des lipides le refroidissement n'est pas fait jusqu'à une température suffisamment basse, les lipides peuvent se retrouver dans un état de surfusion.

Il est important de noter que pour envisager des applications pharmaceutiques, il est souvent souhaitable que les lipides soient solides dans les conditions de température internes à l'organisme. De plus, le contrôle de l'état physique des lipides nécessite de maîtriser les changements de températures auxquels sont soumis les SLNs durant leur stockage, et ce tout particulièrement quand elles sont sujettes à des phénomènes de surfusion.

3.1.2.6. Vecteurs nano-lipidiques (NLC)

Les NLCs, abréviation pour Nano Lipid Carriers sont des nanomatériaux dérivés des SLNs développés très récemment et offrant des perspectives intéressantes, car combinant les aspects positifs des SLNs, tout en dépassant certaines de leurs limitations. Ils se différencient des SLNs de par l'inclusion de lipides à l'état liquide à l'intérieur des cœurs solides. Ce contraste dans l'état physique du vecteur permet des taux de remplissage en molécules actives plus élevés. En effet, les pertes par expulsion lors de la cristallisation dans des phases très stables des lipides sont ainsi contournées. Les NLCs sont aussi plus aptes à stabiliser le stockage des molécules actives²³³.

3.2. Développement de nouveaux matériaux dédiés au transport de la curcumine

L'étude suivante porte sur des matériaux capables de répondre aux défis de la vectorisation de la CU, molécule hydrophobe. Ils sont formés par l'alliance de nanoparticules de lipides solides (SLNs) et d'une matrice de silice texturée de type SBA-15¹⁷³. Suivant les lipides utilisées, ils sont notés SA \in SBA-15 et NHP \in SBA-15. Un des avantages notables des matériaux présentés réside en la biocompatibilité de tous leurs constituants et de la non nécessité d'utiliser des solvants organiques pour leur synthèse. Qui plus est, la polymérisation d'une matrice de silice autour des SLNs est une voie permettant de s'affranchir de la problématique de sensibilité des SLNs en phase liquide à la température²³⁴, le produit final étant solide.

La caractérisation des SLNs est un véritable challenge induit par la petite taille des particules, la complexité des structures et les phénomènes liés aux propriétés de dynamique (présence de polymorphisme, phénomènes de surfusion,...). Ainsi, plusieurs paramètres gouvernent directement la stabilité du système et sa cinétique de relargage²²⁷ : la taille des particules, le degré de cristallinité des lipides et l'hétérogénéité des structures contenues dans le système. Ceux-ci sont complétés par le mode de répartition des molécules actives (Figure 40).

La RMN permet de répondre à certaines de ces problématiques. Technique d'analyse non destructive, elle permet, notamment à partir de spectres bidimensionnels, de répondre aux questions de partition des différentes molécules. Les séquences de transfert de polarisation permettent quant à elle d'accéder aux informations dynamiques et de différencier les composés solides et liquides. De plus, les protons à l'état liquide donnent des signaux fins avec une forte amplitude, tandis que les protons plus rigides ou à l'état solide donnent des signaux RMN large et de faible intensité²³⁵. Cependant, il est reconnu dans la littérature que le potentiel offert par la RMN, dont ces applications dans l'étude de solides, reste sous-exploité lors de l'analyse de SLNs.

Pour développer cette l'analyse par RMN du solide des SLNs, la forte dilution des molécules de CU dans les matériaux oblige à pratiquer la RMN des ¹H qui sont les noyaux les plus sensibles dans ces systèmes. L'attribution des spectres ¹H des SLNs est premièrement accomplie à partir des composés pris séparément, puis de mélanges de complexité croissante. Puis, en combinant un suivi en température de l'évolution des spectres ¹H et de l'efficacité de

différents transferts d'aimantation $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$ à des mesures DSC, les propriétés dynamiques des différents compartiments sont discutées. Enfin, les possibilités qu'apportent la RMN du ^1H seront explorées pour tenter de répondre aux questions de partition de la CU et ce, à partir d'expériences de corrélations homonucléaires. Pour ce faire, il sera nécessaire d'identifier les conditions de températures optimales permettant un compromis satisfaisant entre gain en résolution et efficacité des transferts de polarisation reposant sur les couplages dipolaires $^1\text{H}-^1\text{H}$.

3.2.1. Préparation des échantillons simples (mélanges binaires)

Des mélanges binaires sont aussi utilisés tout au long de l'étude. Pour préparer ces échantillons, 10 mg de CU et 190 mg de SA, NHP ou P123 sont conjointement dissout dans du chloroforme (CHCl_3). Ce ratio CU / lipide est choisi égal à celui des matériaux hybrides finaux. Le liquide obtenu est placé dans un bain d'eau chaude ($\approx 80^\circ\text{C}$) et soumis à des ultrasons jusqu'à obtention d'un mélange homogène à l'œil nu, c'est-à-dire sans particule de CU visiblement en suspension. Enfin, l'échantillon est isolé sous hotte à température ambiante jusqu'à évaporation totale du solvant, aboutissant à l'obtention d'une poudre (ou d'un gel dans le cas du P123).

3.2.2. Synthèse et conditionnement des matériaux hybrides

La synthèse des échantillons hybrides (SLNs dans une matrice de silice) a été réalisée selon un protocole précis précédemment établi¹⁷³, divisé en deux étapes. Ce procédé est employé pour former les matériaux, qu'ils soient chargés en CU ou non*.

La première étape concerne la préparation des SLNs. Les particules lipidiques de cétyl-palmitate (NHP) ou d'acide stéarique (SA) sont préparées par diffusion/ évaporation de solvant suivi d'une ultrasonification de la pré-émulsion. Puis, la phase organique est préparée en dissolvant les lipides et la curcumine (CU) dans du tétrahydrofurane. Dans cette présente étude, la concentration en CU est de 5% en masse par rapport à celle des lipides. Ensuite, dans une phase aqueuse constituée d'une solution de P123, la phase organique y est injectée goutte à goutte. Cette étape se fait à une température où les lipides sont fondus : 70°C pour le NHP, 80°C pour l'SA. Une fois le solvant évaporé, la pré-émulsion est ultrasoniquée pendant 5 minutes. L'émulsion est ensuite refroidie à température ambiante sous agitation.

* CU et P123 ont été acheté à Sigma-Aldrich, SA et NHP à ACROS.

Lors de la seconde étape, les SLNs résultantes de la première partie de la synthèse sont utilisées telles qu'elles. Il leur est rajouté les précurseurs nécessaires à la formation de la matrice de silice. Elle est synthétisée suivant le procédé sol-gel. L'orthosilicate de tétraméthyle (TMOS) est ajouté goutte à goutte sous agitation à température ambiante dans les suspensions. Un ratio molaire de 0,008 est respecté entre le tensioactif et le précurseur de silice. Le mélange est ensuite laissé sous agitation pendant 1h puis transféré dans un autoclave en Teflon afin de subir un traitement hydrothermal à 70°C pendant 24h. Pour finir, le matériau est séché pendant 7 jours à 40°C. Après évaporation de l'eau, les produits finis sont désignés sous les noms de SA \in SBA-15 et de NHP \in SBA-15.

La synthèse de SA \in SBA-15 et de CU+SA \in SBA-15 a été réalisée par M. Maxime Girardon. La synthèse de CU + NHP \in SBA-15 a été réalisée par M. Sanghoon Kim. Toutes deux ont été effectuées au L2CM, Université de Lorraine.

	CU	Lipides	P123
CU + SA \in SBA-15	1	20	12,5
CU + NHP \in SBA-15	1	20	6

Tableau 3 : Ratios massiques des différents constituants pour la synthèse des échantillons hybrides.
Le ratio molaire P123 / précurseur de silice est de 0.008.

Les rotors RMN sont remplis avec ces matériaux hybrides qui se présentent sous forme de poudre. Ils sont stockés à température ambiante. Cependant, avant et entre deux études consécutives sur les effets de la température, les échantillons sont placés au réfrigérateur quelques heures pour s'assurer que toutes les phases soient bien à l'état solide en début de mesure RMN. Cette étape est nécessaire à la reproductibilité des résultats.

3.2.3. Structure globale des matériaux hybrides

SA \in SBA-15 et NHP \in SBA-15 possèdent tous deux une structure similaire¹⁷³. La matrice de silice est de type SBA-15 et possède donc un réseau de mésopores définis par les micelles de P123. À ces pores s'ajoutent ceux créés par l'inclusion des SLNs. Ces derniers de taille bien supérieure appartiennent à la catégorie des macropores. À nouveau l'interface avec la matrice de silice se fait par le biais du surfactant. Cette double structure mésoporeuse est schématiquement

représentée en Figure 41. Elle est notamment justifiée par les résultats issus des expériences d'absorption-désorption d'azote (distribution de la taille des mésopores), des mesures de porosimétrie par intrusion de mercure (distribution de la taille des macropores) et les images de microscopie électronique en transmission données en Annexe 3.

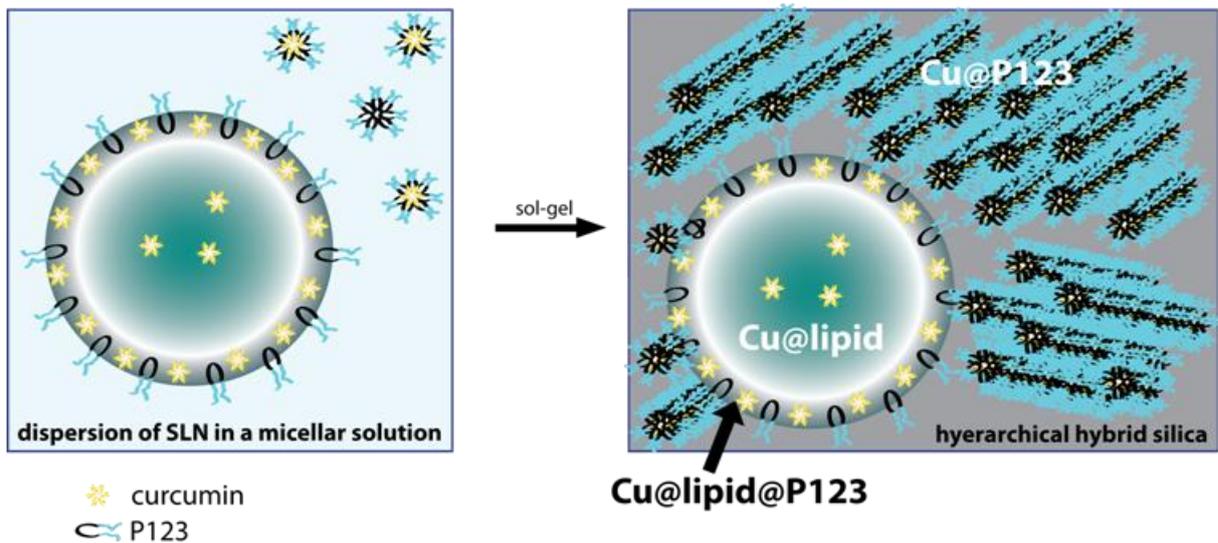


Figure 41 : Représentation schématique des SLNs avant et après leur inclusion dans la matrice de silice. Dans le matériau final, les macropores où se situent les SLNs ont une dimension (ordre de grandeur) de 900 nm (NHP-SLN) et 470 nm (SA-SLN)*. Les mésopores accueillant les micelles de P123 ont quant à eux, une dimension inférieure à la dizaine de nm.

Figure mise à disposition par Pr. Andreea Pasc.

* Pour deux matériaux hybrides préparés avec un ratio massique CU/Lipide/Surfactant de 1/20/6.

3.3. Attribution des spectres RMN

Cette section est consacrée à l'attribution des différents signaux observés sur les spectres RMN. Pour simplifier le travail, un processus en trois étapes est suivi. Dans un premier temps, à l'aide de références, certes souvent issues de la RMN du liquide, il est possible d'attribuer les spectres 1D des composés solides purs utilisés dans ce chapitre. Puis, les sites provenant de l'ajout d'une matrice de silice sont relevés. Ces étapes préliminaires sont nécessaires pour établir, la signature de la CU après son mélange dans chacun des matériaux.

La majorité des spectres solides sont acquis sur un spectromètre ayant un champ B_0 de 14,1 T (fréquence de résonance du ^1H à $\nu_0 = 600$ MHz). Les deux sondes disponibles permettent la rotation MAS de rotors 4 mm et 2,5 mm. Les vitesses maximales sont respectivement de 15 et 35 kHz. Pour évaluer le potentiel gain en résolution apporté par les technologies RMN de dernière génération, certains spectres ont pu être acquis lors d'une semaine de travail au CRMN de Lyon, laboratoire ayant une instrumentation appartenant aux Très Grandes Infrastructures de Recherche (T.G.I.R.). Le champ B_0 est alors de 23,5 T ($\nu_0 = 1$ GHz), et la sonde MAS 1,3 mm permet une vitesse de rotation allant jusque 60 kHz. Ces conditions optimales ont été utilisées pour caractériser la CU pure et la SLN à base de SA.

Sur tous les spectres acquis avec des échantillons contenus dans des rotors 2,5 mm, le signal provenant du rotor lui-même est à retrancher, le capuchon en Vespel contenant des protons. En effet, comme montré en Figure 42, le matériel choisi produit une composante large centrée sur 6,9 ppm.

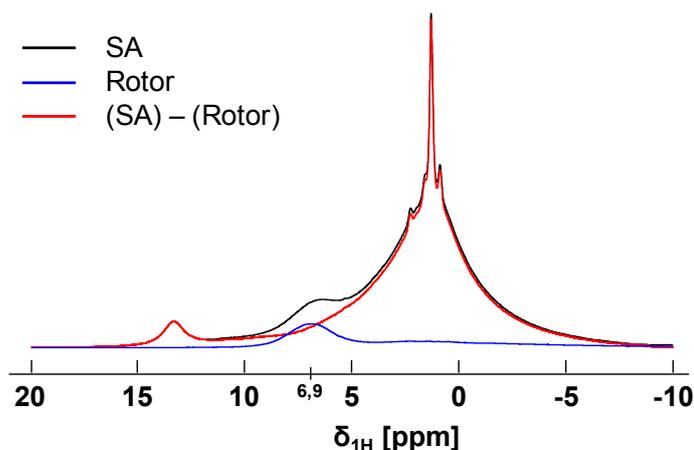


Figure 42 : Spectre ^1H de SA (noir), superposé à la celui d'un rotor 2,5 mm vide (bleu).

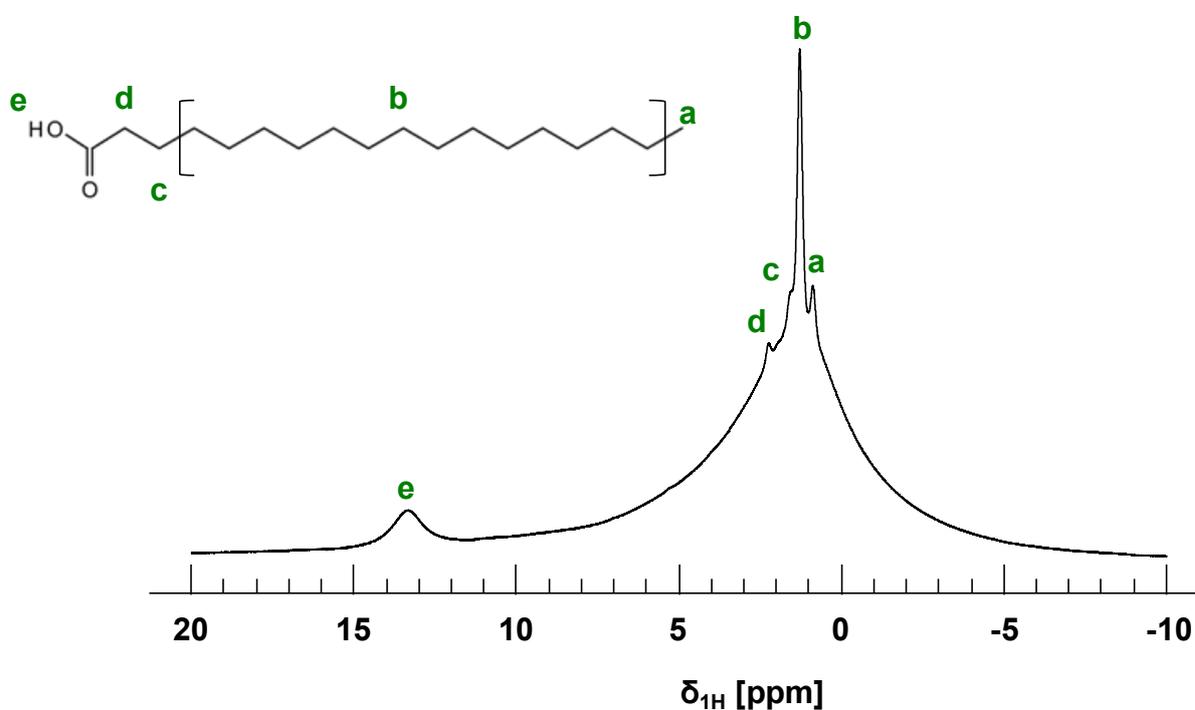
La différence (rouge) permet de corriger la zone entre 5 et 10 ppm.

$\nu_0=600\text{MHz}$; $\nu_{\text{MAS}}=31,25$ kHz ; 256 scans ; $d_1=3\text{s}$

3.3.1. Attributions des spectres ^1H des composés purs

3.3.1.1. Acide stéarique (SA)

L'attribution du spectre ^1H de l'acide stéarique, nom commun de l'acide octadécanoïque, est donnée en Figure 43. Le déplacement chimique du site e (COOH) est lié à l'état physique de SA. S'il est solide, et dans sa forme cristalline la plus stable, alors des liaisons hydrogène sont établies, telles que des dimères de SA soient formés²³⁶. Son déplacement chimique est alors de 13,30 ppm. Au-delà de la température de fusion, celles-ci sont rompues, positionnant le site à 11,76 ppm.



δ [ppm]	13,3	2,22	1,55	1,26	0,86
^1H	e	d	c	b	a

Figure 43 : Attribution du spectre ^1H de SA

$\nu_0=600\text{MHz}$; $\nu_{\text{MAS}}=31,25\text{ kHz}$; 256 scans ; $d_1=3\text{s}$; $t_{\text{echo}}=29,25\mu\text{s}$; $T\approx 53^\circ\text{C}$

3.3.1.2. Cétyl-palmitate (NHP)

L'attribution du spectre ^1H du NHP, est donnée en Figure 44. Elle correspond à celle du NHP dissout dans du chloroforme²³⁷. Il est aussi noté que le composé ici utilisé n'est pas parfaitement pur, des impuretés étant retrouvées à 3,5 ppm et 2,6 ppm, notés avec des points en Figure 44. Ces pics sont relevés pour ne pas être ultérieurement confondus avec ceux de la CU dans les expériences 2D.

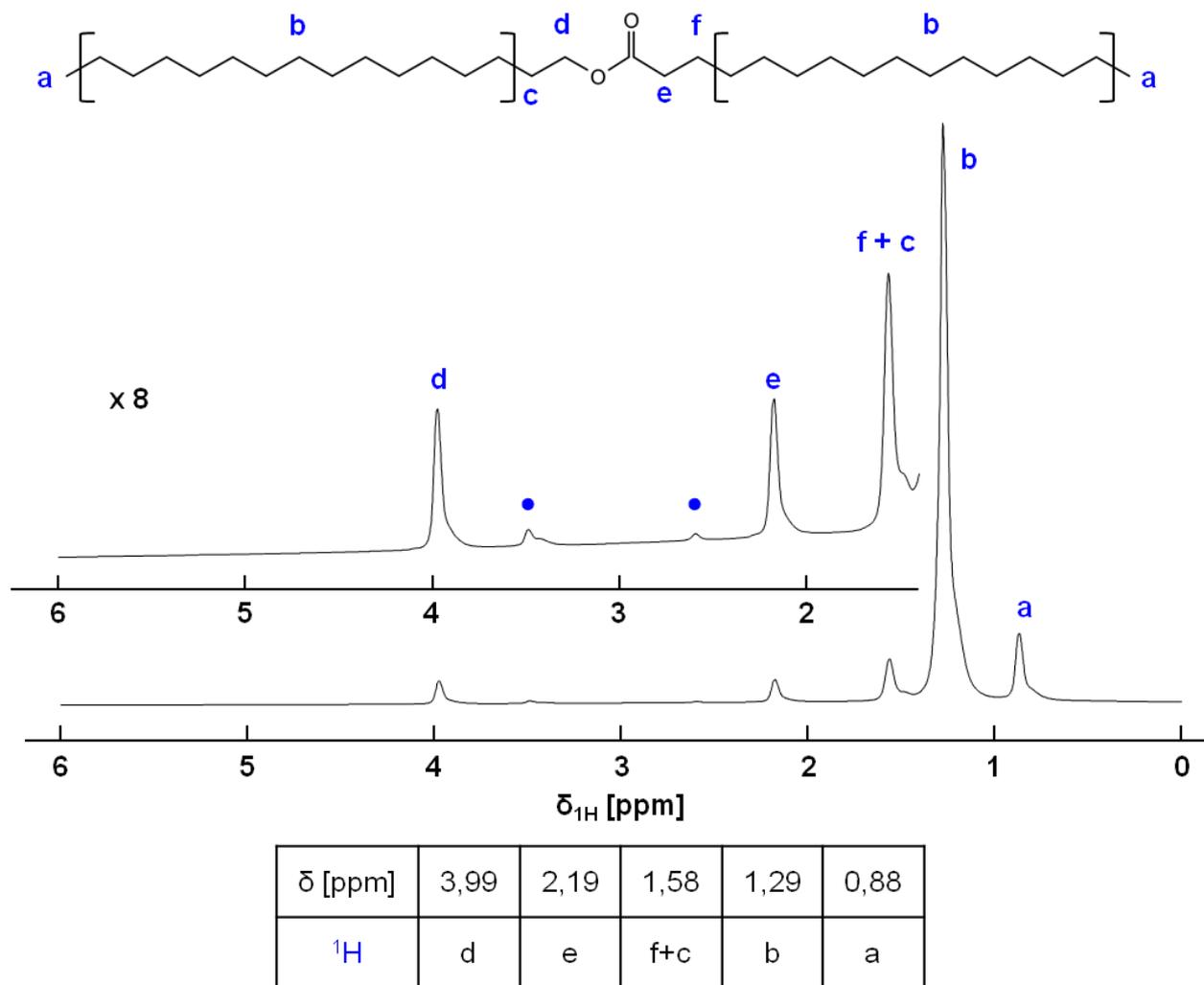


Figure 44 : Attribution du spectre ^1H de NHP

$\nu_0=600\text{MHz}$; $\nu_{\text{MAS}}=31,25\text{ kHz}$; 256 scans ; $d_1=3\text{s}$; $t_{\text{echo}}=29,25\mu\text{s}$; $l_b=5\text{Hz}$; $T\approx 53^\circ\text{C}$

Les impuretés continues dans le NHP sont mis en évidence dans l'encart (agrandissement 8 fois de la zone entre 1,5 et 3ppm).

3.3.1.3. Pluronic® 123

Le Pluronic® 123 est un copolymère de poly(ethylene oxide) hydrophile, notée PEO, encadrant une chaîne hydrophobe de poly(propylene oxide), notée PPO, avec un ratio moyen 20/70/20 dans les longueurs des trois chaînes carbonées.

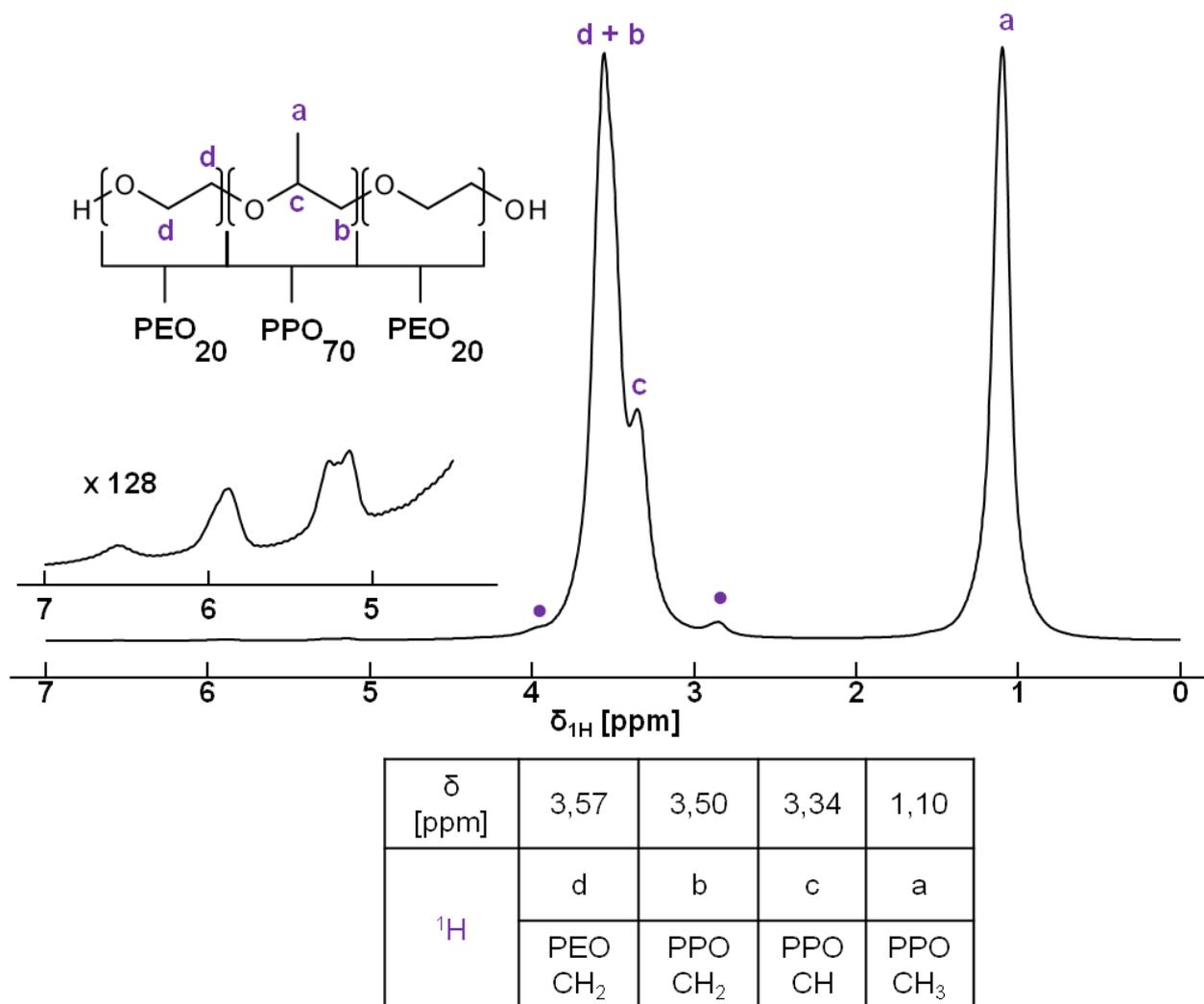


Figure 45 : Attribution du spectre ^1H de P123

$\nu_0=300\text{MHz}$; $\nu_{MAS}=5\text{kHz}$; 8 scans ; $d_1=3\text{s}$; $l_b=10\text{Hz}$; $T\approx 10^\circ\text{C}$

En encart, agrandissement 128 fois de la zone entre 4,5 et 7ppm.

L'attribution du spectre ^1H du P123 est donnée en Figure 45*. Théoriquement, le ratio des intégrales des pics doit être de 36% (a), 24% (b), 12% (c) et 26% (d). Avec un fit, les protons a et

* Le spectre de P123^{238,239} est plus complexe car il existe sous de nombreuses formes en fonction du milieu dans lequel il est considéré, de sa concentration, ainsi que des conditions de température^{240,241}.

c se distinguent aisément grâce à ces valeurs intégrées, certifiant leurs attributions respectives à 1,10 et 3,34 ppm. Visuellement, le pic centré sur 3,52 ppm est décrit par deux composantes, celle à 3,57 ppm correspondant aux protons d et celle à 3,50 ppm pour b. Cette attribution est vérifiée par le spectre de corrélation $^1\text{H} / ^{13}\text{C}$ donné en Annexe 4.

Quatre sites supplémentaires proviennent de l'échantillon de P123, pouvant être associés soit aux protons terminaux du PEO, soit à ceux de monomères n'ayant pas polymérisé. Pour référence, leurs déplacements chimiques sont de 6,55 ; 5,87 ; 5,26 et 5,14 ppm et leurs ratios d'intensité 0,5:1:1:1. La position de deux pics non attribués, marqués avec des points, est relevée à 2,85 et environ 4 ppm.

3.3.1.4. Curcumine en solution et curcumine solide

Dans un premier temps, une solution de CU dans du DMSO-d₆^{242,243} (concentration de 70 mmol.L⁻¹) est préparée pour être utilisée comme référence. L'attribution est donnée en Figure 46.

La Figure 46 présente une comparaison des spectres de CU en solution et sous forme solide cristalline^{244,245}, mettant clairement en évidence la différence de résolution entre les deux états physiques. En effet, à l'opposé des composés jusqu'à présents considérés (SA, NHP, P123), la CU est une petite molécule rigide, où les couplages dipolaires ¹H / ¹H sont très forts. Pour la CU, il est donc particulièrement utile d'acquérir des spectres à haut champ et haute vitesse MAS, tels ceux acquis grâce à l'infrastructure TGIR. Les gains en résolution apportés par de meilleurs champs B₀ et des vitesses MAS plus élevées, résultant au meilleur spectre de CU cristalline présenté en Figure 46, sont illustrés dans les Annexes 3 à 5.

Même si la différence de résolution est particulièrement marquée dans le domaine des protons aromatiques, il est établi que l'intervalle de déplacement chimique où se situent les sites de CU dans les échantillons hybrides s'étend de 6 à 8ppm. Par rapport aux solutions, il est souligné la présence d'un pic supplémentaire à 2,9 ppm. C'est une caractéristique de l'organisation cristalline de la CU. En effet, dans la maille cristalline, la CU n'est pas symétrique^{246,247} : un seul des CH₃ est en liaison hydrogène avec un oxygène porté par le carbone n°2 (Voir Annexe 9). Il en résulte que ses deux groupes CH₃ ne sont plus chimiquement équivalents et résonnent donc à des fréquences différentes. Une attribution partielle des sites de CU solide a été effectuée à partir d'expériences 2D de corrélations SQ / SQ (séquence fp-RFDR) et SQ / DQ (séquence BaBa), dont les résultats sont donnés en Figure 47.

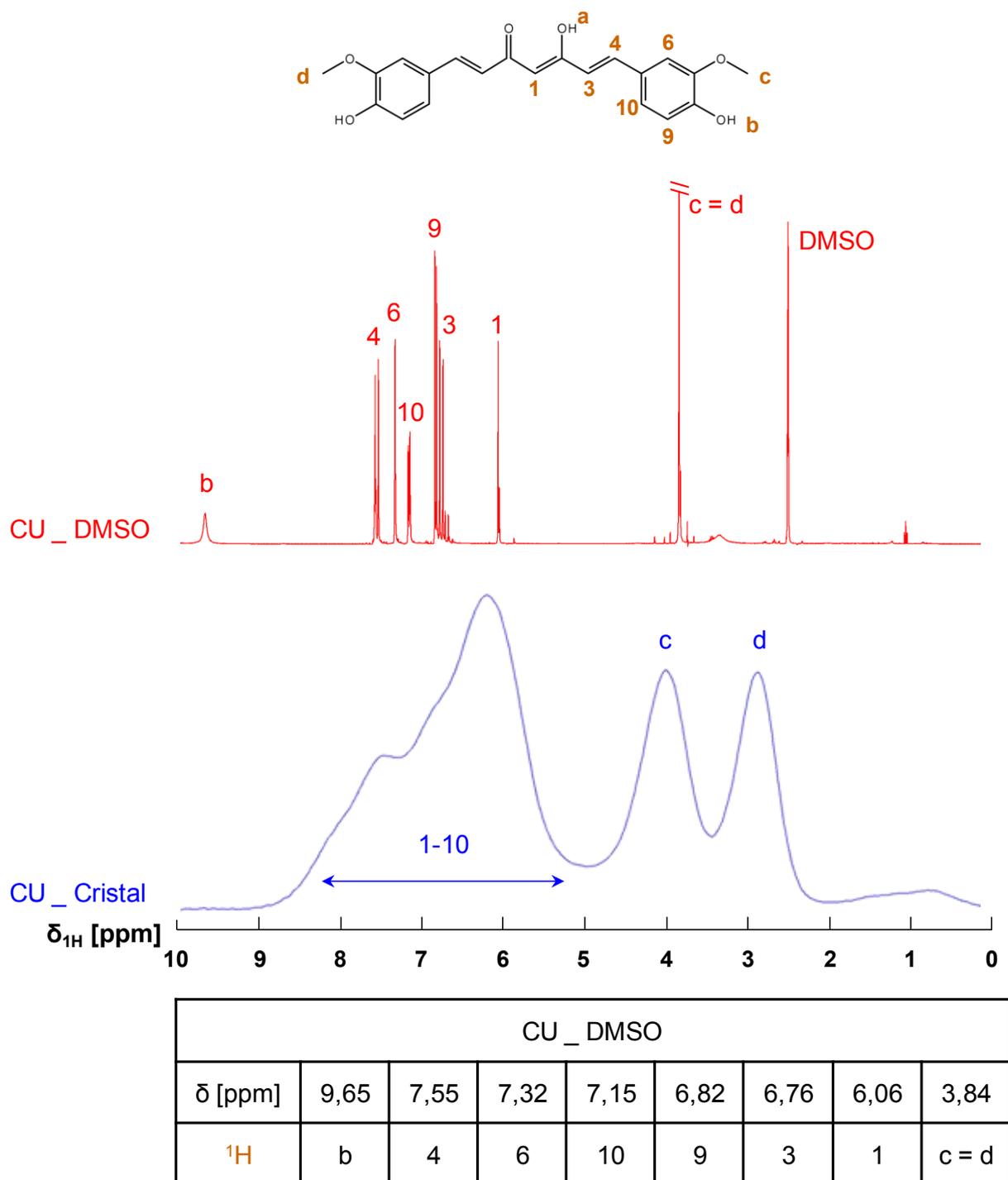
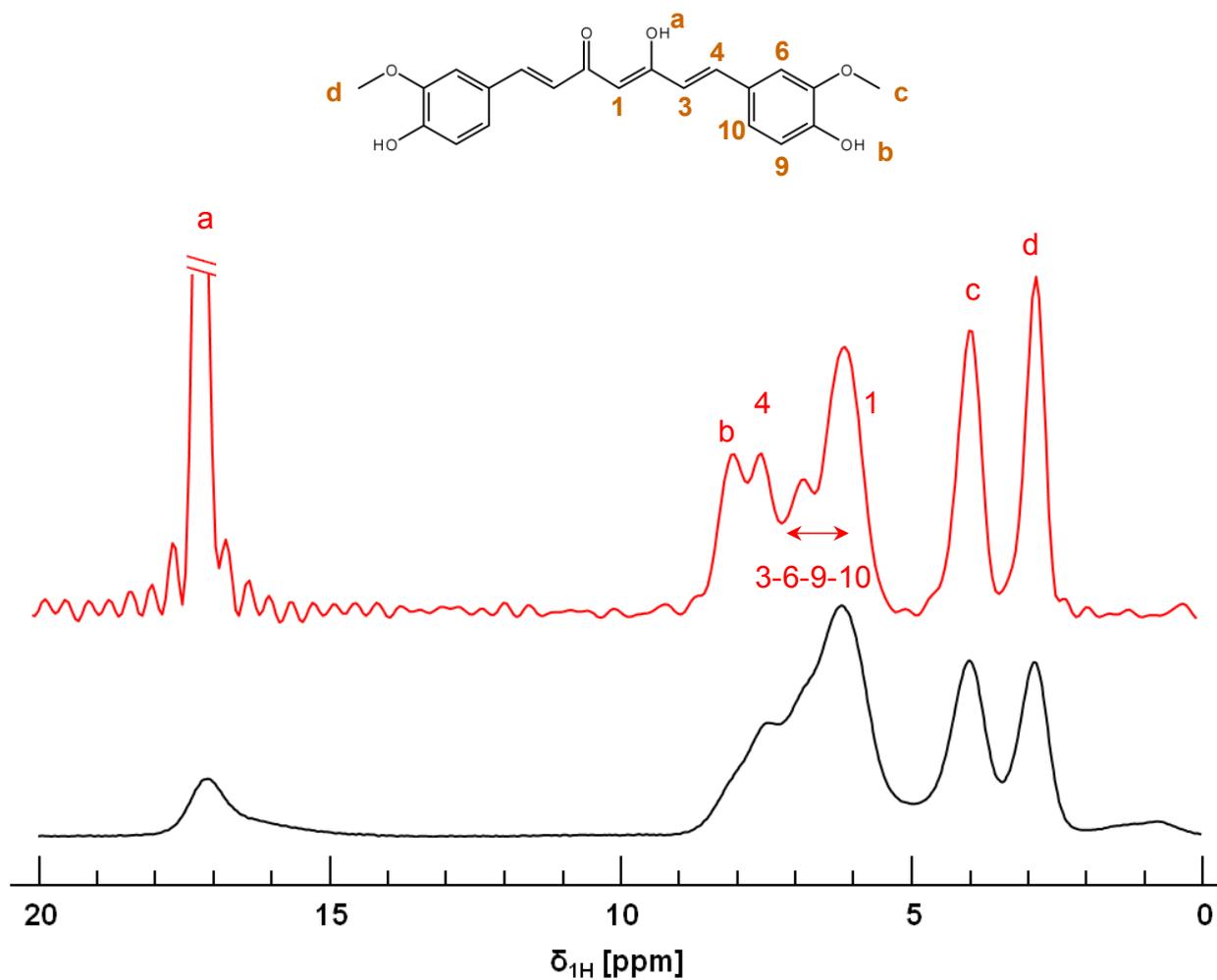


Figure 46 : Spectres ^1H de CU ; solvant DMSO (rouge)^{242,243}

$\nu_0=400$ MHz ; $d_1=3\text{s}$; 16 scans

Spectre ^1H de CU cristalline (bleu)

$\nu_0=1\text{GHz}$; $\nu_{\text{MAS}}=59,00$ kHz ; 1 scan ; $d_1=3\text{s}$



CU_Cristal							
δ [ppm]	17,0	8,0	7,5	6,8*	6,2*	5,95	3,96
							2,89
^1H	a	b	4	-	3-6-9-10	1	c/d

Figure 47 : Spectre ^1H de CU cristalline (noir)

$\nu_0=1\text{GHz}$; $\nu_{\text{MAS}}=59,00\text{ kHz}$; 1 scan ; $d_1=3\text{s}$

La projection de la colonne du site a issue du spectre RFDR avec $t_{\text{mix}}=1\text{ms}$ (rouge) montre la résolution maximale acquise sur ce système, permettant d'établir l'attribution partielle du spectre de CU solide. Les sites marqués d'une * traduisent la superposition de plusieurs sites. Le site 1 est attribué à partir du spectre DQ (c.f. Annexe 8)

3.3.2. Composés complexes sans curcumine

3.3.2.1. Matrice de silice : SBA-15

La matrice de silice employée pour l'encapsulation des SLNs est de type SBA-15. Elle contient donc des groupes silanols, dont la signature est à identifier sur les spectres¹⁶⁵. De plus, lors de la préparation de la silice, l'absence d'étape de calcination préserve le P123 utilisé pour sa structuration. La comparaison du spectre de P123 pur et inclus dans la matrice permet de mettre en évidence deux composantes supplémentaires : une large centrée sur 6,4 ppm et une plus fine vers 4 ppm (Figure 48). Elles correspondent respectivement à des protons en interaction forte par liaison hydrogène (silanols / silanols ou silanol / eau coincée dans des hétérogénéités de surface)²⁴⁸, et à des silanols en liaison hydrogène avec de l'eau et le P123 (justifié page 135, en Figure 67).

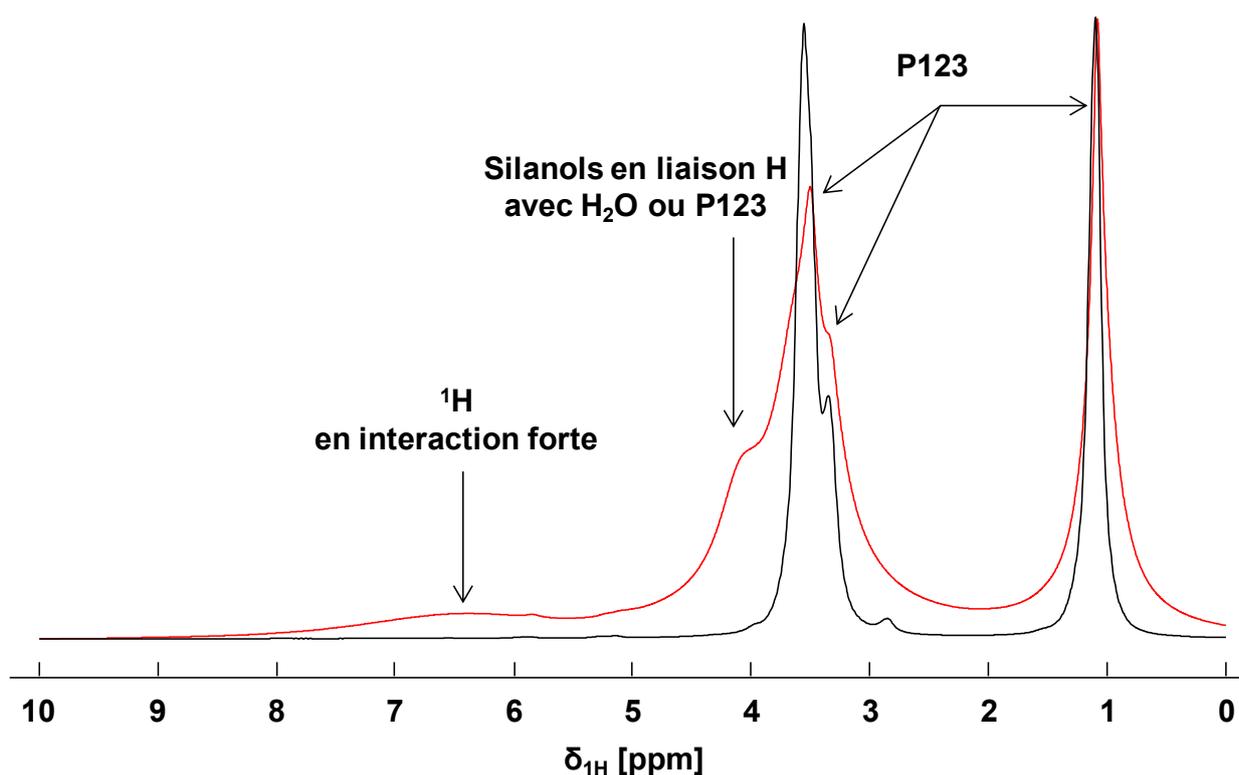


Figure 48 : Spectres ^1H de P123 (noir) et de SBA-15 non calciné (en rouge).

En noir : $\nu_0=300\text{MHz}$; $\nu_{\text{MAS}}=5,00\text{ kHz}$; 8 scans ; $d_1=3\text{s}$; $l_b=10\text{Hz}$; $T\approx 10^\circ\text{C}$

En rouge : $\nu_0=600\text{MHz}$; $\nu_{\text{MAS}}=12,50\text{ kHz}$; 256 scans ; $d_1=3\text{s}$; $T\approx 33^\circ\text{C}$

3.3.2.2. Matériaux hybrides : SA@SBA-15

À partir de la superposition du spectre de l'échantillon de SA@SBA-15 avec ceux de ses constituants séparés (Figure 49), il est mis en évidence que le confinement des lipides dans la matrice de silice n'affecte pas ses déplacements chimiques protons.

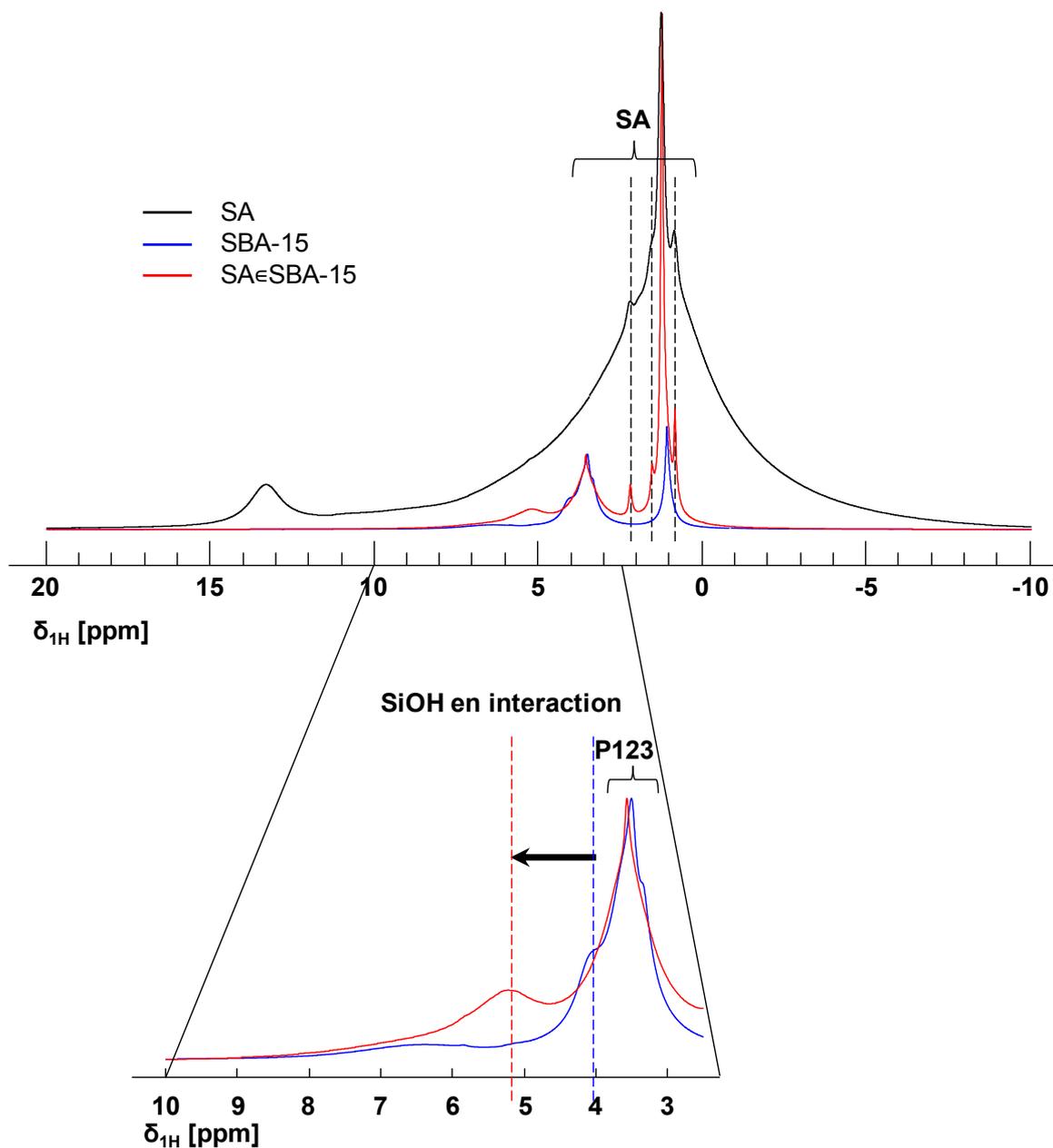


Figure 49 : Effet du confinement de l'SA

En noir : Spectre ^1H de SA utilisé lors de l'attribution en Figure 43

$\nu_0=600\text{MHz}$; $\nu_{\text{MAS}}=31,25\text{ kHz}$; 256 scans ; $d_1=3\text{s}$; $t_{\text{echo}}=29,25\mu\text{s}$; $T\approx 53^\circ\text{C}$

En bleu : Spectre ^1H de SBA-15. En rouge : Spectre ^1H de SA@SBA-15

$\nu_0=600\text{MHz}$; $\nu_{\text{MAS}}=12,5\text{ kHz}$; 256 scans ; $d_1=3\text{s}$; $T\approx 33^\circ\text{C}$.

La partie inférieure de la figure est un agrandissement de 2,5 à 10 ppm.

En revanche, lorsque la matrice de SBA-15 contient des SLNs d'SA dans les macropores, il est remarqué que le déplacement chimique de la composante issue des silanols en interaction est fortement affecté (Figure 48). Sa position appartient à l'intervalle de déplacement chimique allant de 4 à 6 ppm environ. Cette observation est réitérée sur les échantillons de SA ϵ SBA-15 chargés en CU. La vérification de son attribution à des protons provenant effectivement de la matrice est réalisée grâce au spectre de corrélation hétéro-nucléaire $^1\text{H}/^{29}\text{Si}$, enregistré pour un temps de contact court (0,2ms), présenté en Figure 50. Une hypothèse d'attribution de ce site est aux silanols se situant à la surface des pores et en interaction avec le P123. En effet, au niveau de la surface des macropores, il est mis en évidence par la suite, une interaction supplémentaire entre les micelles de surfactant et les lipides. Celle-ci est suffisante pour affecter l'environnement des silanols, et donc moduler leur déplacement chimique. Cette hypothèse est confortée par le spectre DQ (Figure 67), où des contacts P123 silanols sont observés.

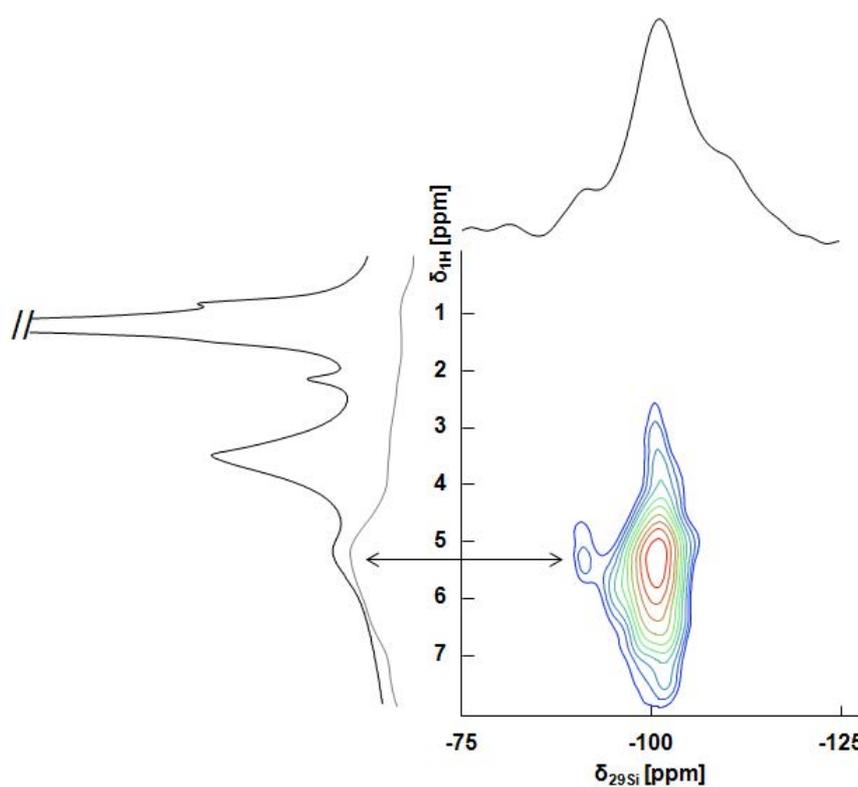


Figure 50 : Spectre de corrélation hétéronucléaire $^1\text{H}/^{29}\text{Si}$ de SA ϵ SBA-15
 $\nu_0=600\text{MHz}$; $\nu_{\text{MAS}}=12,5\text{ kHz}$; 400 scans ; $d_1=3\text{s}$; $t_{\text{contact}}=0,2\text{ms}$; $TD_i=50$; $T\approx 33^\circ\text{C}$
 Représenté en gris les projections, en noir les spectres 1D.

Il est important de noter que le site provenant des silanols de surface est très affecté par les variations de températures. En Figure 51, quatre spectres parmi l'ensemble de ceux acquis sur l'intervalle de température allant de 20°C à 80°C sont présentés. Ils permettent de mesurer un décalage d'environ +0,8 ppm du pic associé aux silanols en interaction entre basse et haute température. Il est surprenant d'observer, lorsque la température augmente, une augmentation du déplacement chimique des silanols, traduisant une plus grande force des liaisons hydrogènes établies par ces sites. Une hypothèse de cet effet réside dans l'augmentation du volume des micelles de P123 avec la température^{249,250}, et donc une diminution des distances avec les silanols de la matrice.

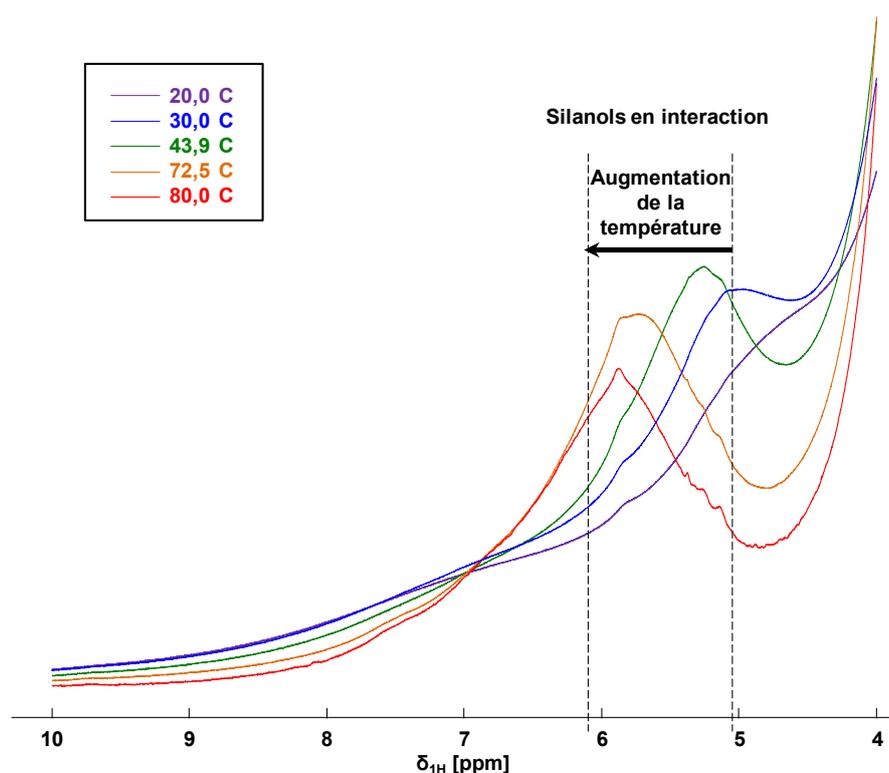


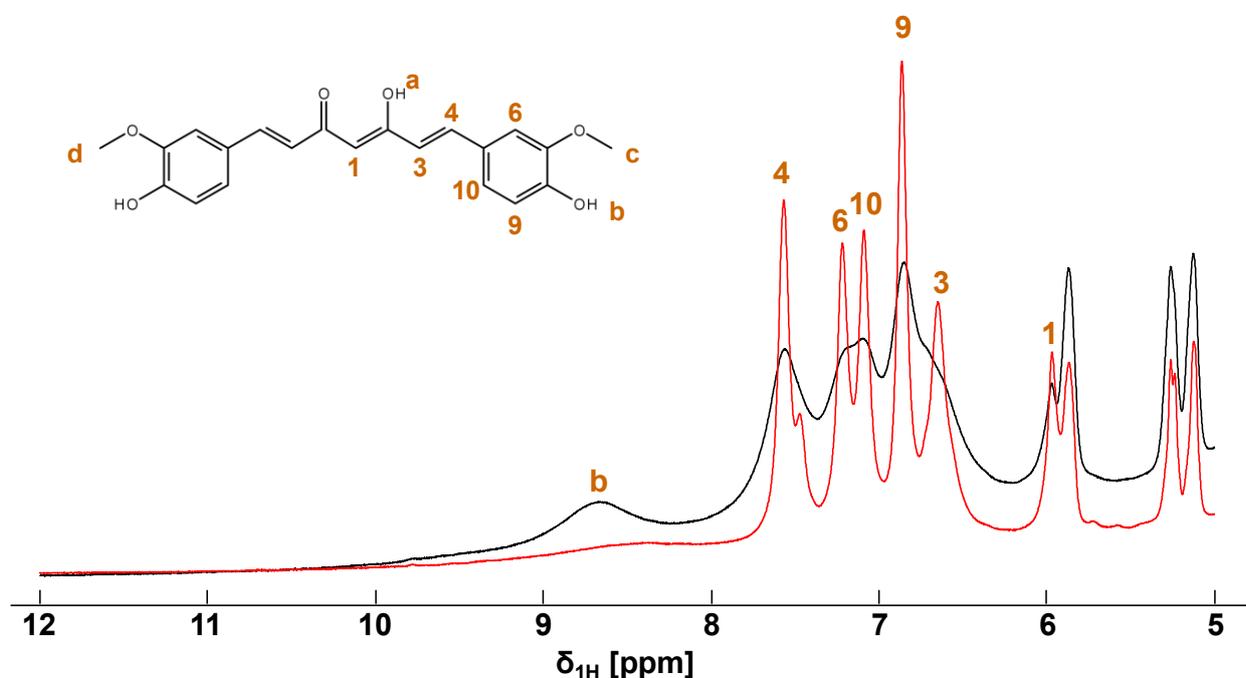
Figure 51 : Spectres ^1H de $(\text{CU}^+) \text{SA}\epsilon\text{SBA-15}$ entre 20°C et 80°C
 $\nu_0=600\text{MHz}$; $\nu_{\text{MAS}}=12,50\text{ kHz}$; 256 scans ; $d_1=3\text{s}$

Lors d'un chauffage, le temps de stabilisation laissé à l'échantillon, ainsi que l'amplitude des variations thermiques auxquelles il est soumis sont deux paramètres faisant fluctuer l'allure du site des silanols en interaction, et au final impactent la reproductibilité des résultats (illustré en Annexe 10). De plus, si l'échantillon est refroidi trop rapidement, la structure se retrouve figée et empêche toute observation de deux sites de silanols. Ainsi, les expériences en fonction de la température sont effectuées à partir d'échantillons stockés à température ambiante, soumis à un chauffage par pas de 5°C maximum avec 1 heure de stabilisation entre chaque variation.

3.3.3. Composés complexes avec curcumine

3.3.3.1. Mélange binaire CU + P123

Dans ce mélange, une bonne résolution sur les pics de CU est observée, ce qui permet d'établir un relevé des déplacements chimiques. (Cette résolution résulte de la dynamique du P123 dans lequel la CU est mélangée ; voir paragraphe 3.5.1.1 et Annexe 11). Deux spectres à différentes températures sont présentés en Figure 52 : avec l'augmentation de cette dernière les sites de CU gagnent en résolution, ce qui permet de les séparer des composantes appartenant au P123 (marquées par des •). Dans ce mélange, le site b de la CU forme probablement des liaisons H, son déplacement chimique étant sensible à la température.



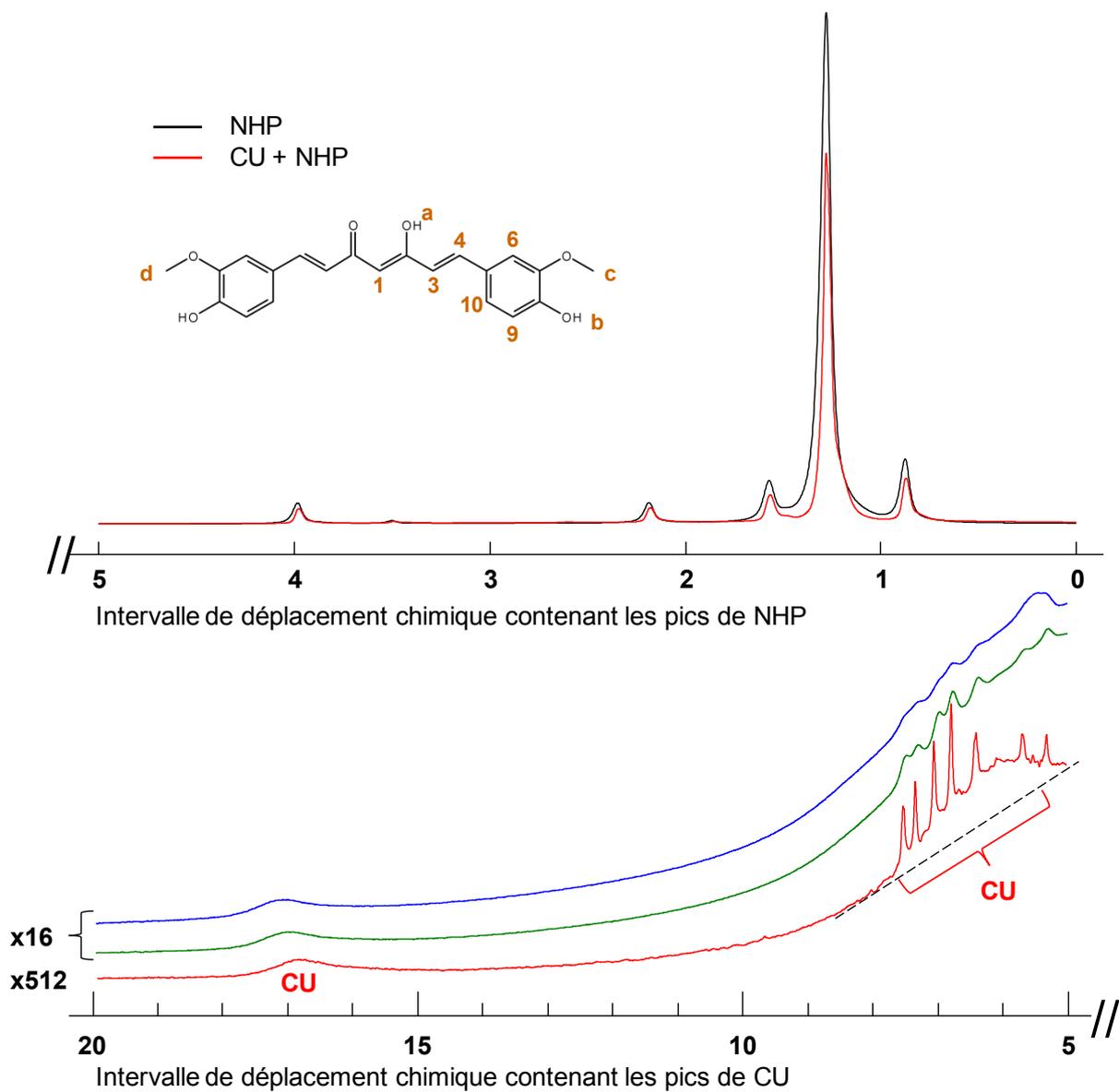
CU _ P123								
δ [ppm]	8,66*	7,57	7,22	7,09	6,87	6,65	5,97	3,87
¹ H	b	4	6	10	9	3	1	c / d

Figure 52 : Sites ¹H de CU dans un mélange de CU et de P123. En noir, T≈10°C ; En rouge, T≈25°C.

$\nu_0=600\text{MHz}$; $\nu_{MAS}=10,00\text{ kHz}$; 256 scans ; $d_1=3\text{ s}$;

Il est noté que le déplacement chimique des sites de P123 dans le mélange binaire ne diffère pas de ceux du P123 pur.

3.3.3.1. Mélange binaire CU + NHP



CU_ NHP								
δ [ppm]	16,9	7,51	7,33	7,04	6,77	6,39	5,67	3,86
^1H	a	4	6	9	10	3	1	c / d

Figure 53 : Spectres ^1H de CU + NHP

Le zoom effectué dans la partie inférieure est la continuité directe du spectre au-dessus de 5ppm.

$\nu_0=600\text{MHz}$; $\nu_{\text{MAS}}=31,25\text{ kHz}$; 256 scans ; $d_1=3\text{s}$; $l_b=10\text{Hz}$

$T\approx 30^\circ\text{C}$ (bleu) ; $T\approx 40^\circ\text{C}$ (vert) ; $T\approx 53^\circ\text{C}$ (noir et rouge)

Dans le cas du mélange de CU et de NHP, deux composantes de CU sont observées, une large et une suffisamment résolue pour établir un relevé de déplacements chimiques. Cette dernière voit sa résolution augmenter avec la température car elle est liée à la dynamique du NHP (voir paragraphe 3.5.1.2 et Annexe 11). Ceci indique que les molécules de CU ne sont pas dispersées de manière homogène et qu'il y a vraisemblablement deux phases de CU, une agrégée ou cristalline non incorporée au NHP, et une dispersée dans le NHP.

Les très légères variations de déplacements chimiques des sites des lipides sont inférieures à la marge d'erreur de 0,01 ppm.

3.3.3.2. Mélange binaire CU + SA

Le spectre proton du mélange binaire de CU et d'SA est présenté en Figure 54. La comparaison des déplacements chimiques des lipides avec le composé pur ne révèle pas de différence. L'agrandissement effectué sur cette figure permet d'observer l'addition d'une composante large provenant des protons aromatiques de la CU dans l'intervalle de déplacement chimique 6 à 8 ppm. Contrairement au cas du mélange binaire CU + NHP, il n'est pas observé de CU dispersée dans l'SA* (voir paragraphe 3.5.1.3).

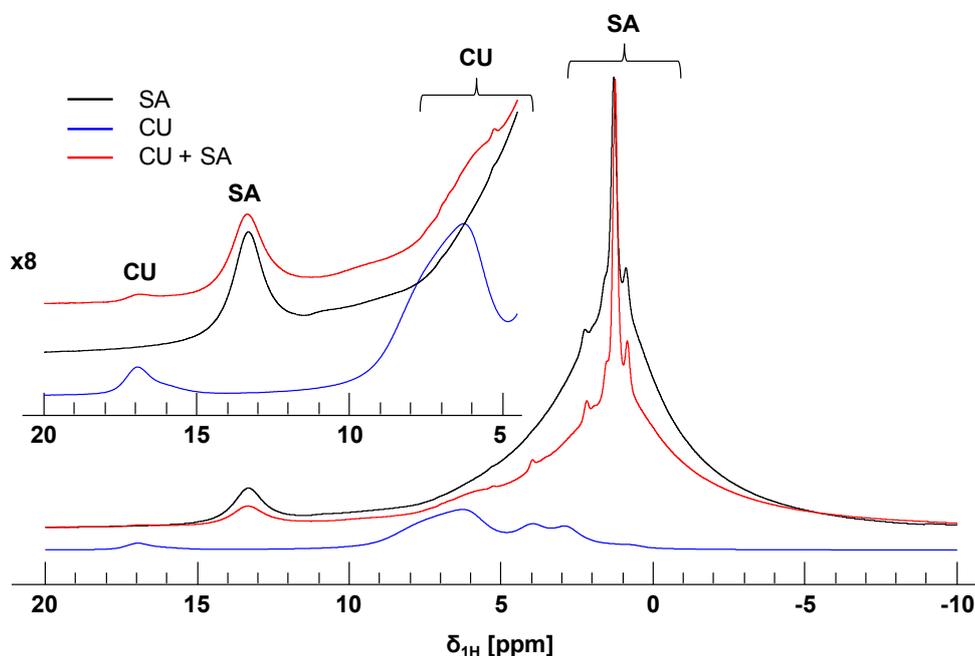


Figure 54 : Spectre ^1H du mélange CU+SA. En insert, agrandissement x8 de l'intervalle entre 5 et 20 ppm.

$\nu_0=600\text{MHz}$; $\nu_{\text{MAS}}=31,25\text{ kHz}$; 256 scans ; $d_1=3\text{s}$; $T\approx 53^\circ\text{C}$

* Et ce même pour des températures allant jusqu'au-delà de la température de fusion de l'SA.

3.3.3.3. Matériaux hybrides chargés en curcumine : CU + SA \in SBA-15

L'ajout de CU au matériau SA \in SBA-15 n'influe pas sur les déplacements chimiques des lipides et du surfactant. Le bilan de l'attribution est donné en Figure 55, où sont mises en évidence les différentes zones où se retrouvent les sites de CU, des silanols, de P123 et d'SA.

Cette superposition met également en évidence, que sur une instrumentation RMN communément accessible en laboratoire ($\nu_0=600\text{MHz}$; $\nu_{\text{MAS}}=12,5\text{ kHz}$), il est tout juste possible de discerner la composante spectrale provenant de la CU de celle sous-jacente des silanols. En effet, dans le matériau hybride, contrairement aux mélanges binaires, seule une composante large de CU est détectée. Ainsi, la comparaison d'échantillons hybrides vides et chargés en CU est requise lors de l'étude de la partition de la CU.

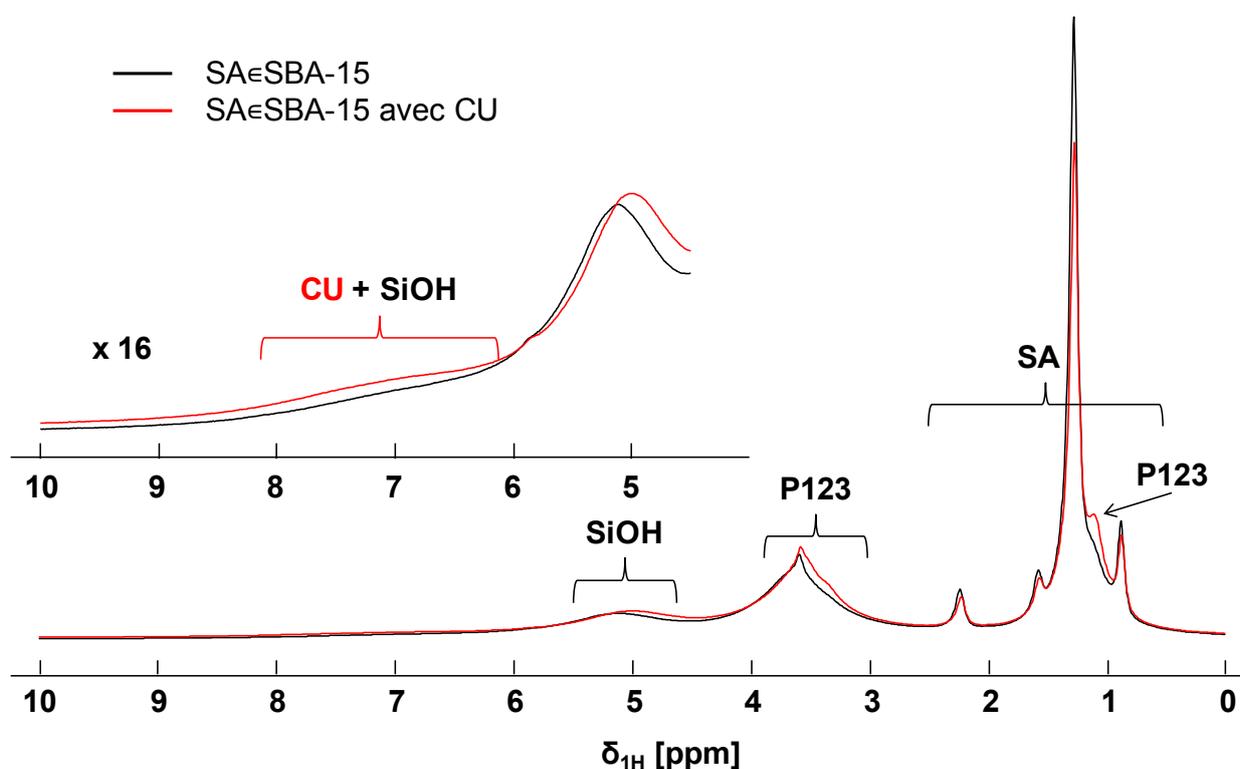


Figure 55 : Spectres ^1H de SA \in SBA-15 avec et sans CU.

$\nu_0=600\text{MHz}$; $\nu_{\text{MAS}}=12,5\text{ kHz}$; 16 scans ; $d_1=3\text{s}$; $T\approx 33^\circ\text{C}$

3.3.3.4. Matériaux hybrides chargés en curcumine : CU + NHP \in SBA-15

Le matériau NHP \in SBA-15 n'était pas disponible lors de ce travail, sa synthèse dans les conditions de la publication de référence n'ayant pas pu être reproduite à l'identique. Cependant, dans le matériau chargé en CU (où cette dernière est très peu abondante), aucune différence de déplacement chimique par rapport aux composés purs n'est observée pour les lipides ou le P123. De plus, tout comme dans l'autre matériau hybride (CU+ SA \in SBA-15), la CU produit une composante large superposée et indifférenciée de celle des silanols.

Suivant les lipides employées pour la préparation des SLNs, la quantité de surfactant est variable (Tableau 3). Ce résultat est retrouvé en comparant les intensités relatives des pics de P123 et de lipide sur les spectres RMN.

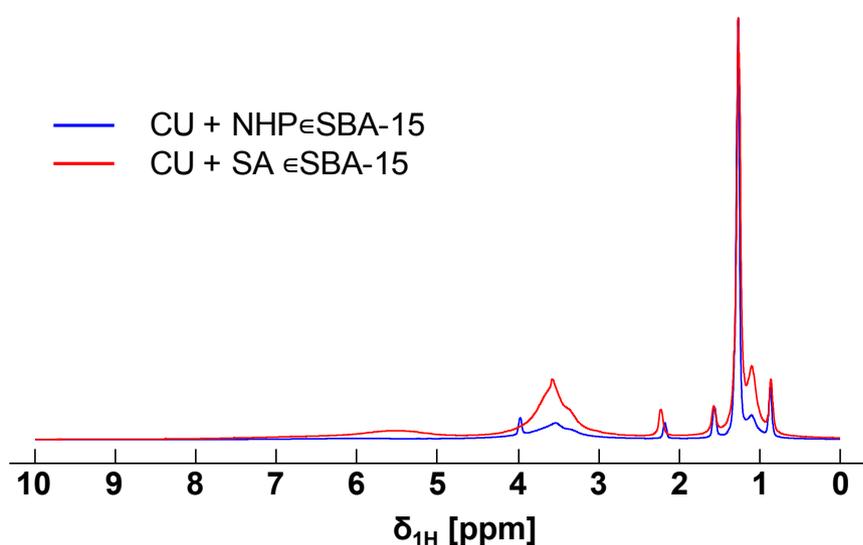


Figure 56 : Comparaison des spectres des échantillons hybrides.

En bleu, CU+ NHP \in SBA-15 ; en rouge CU+ SA \in SBA-15.

Les intensités sont normalisées par rapport au pic des lipides.

$\nu_0=600\text{MHz}$; $\nu_{\text{MAS}}=31,25\text{ kHz}$; 256 scans ; $d_1=3\text{s}$; $T\approx 53^\circ\text{C}$

3.3.4. Conclusions

Les points clefs de l'attribution des spectres ^1H sont les suivants :

- Dans tous les échantillons contenant de la CU, la majorité de ses sites ^1H appartiennent à l'intervalle de déplacement chimique allant de 6 à 8 ppm.
- Les silanols produisent deux composantes :
 - o Une large aussi positionnée entre 6 et 8 ppm
 - o Un site qui reflète les interactions SiOH / P123, dont la position est variable avec la température et la présence ou non de lipides.
- À partir des mélanges binaires, il est mis en évidence que la température a une forte influence sur les spectres, notamment sur la résolution de la CU quand elle est dispersée dans un milieu hôte (justifié en section 3.5). En effet, elle suit les propriétés du composé dans lequel elle est incorporée.
 - o Mélangée au P123, la CU est bien résolue dès 25°C
 - o Dans le NHP, deux populations de CU sont observées à 53°C : une résolue mélangée au NHP, l'autre large, potentiellement issue d'agrégats ou de CU cristalline.
 - o Dans l'SA, seule une composante large de CU est détectée. Dans cet échantillon, la CU est probablement agrégée ou cristalline.
- Dans les matériaux hybrides SA \in SBA-15 et NHP \in SBA-15, la CU n'a d'effet visible, ni sur les lipides, ni sur le P123. De plus, la CU produit une composante large de faible intensité superposée au site des silanols. Par la suite, pour relever le défi de l'étude de ces matériaux, il sera nécessaire de comparer les échantillons vides et chargés en CU

Enfin, la forte influence de la température sur les spectres (résolution, déplacement chimique) indique une dynamique moléculaire importante et variable des composants.

Donc, il sera particulièrement important par la suite de caractériser en amont ces propriétés pour les différents matériaux, ainsi que d'être attentif aux variations de température qu'ils subissent. Pour ce faire, la première étape de l'étude d'encapsulation sera d'effectuer une étude DSC des composants des matériaux.

3.4. Effets de l'encapsulation sur la structure et la dynamique des compartiments

La structure des lipides dans NHP@SBA-15 et SA@SBA-15 peut être étudiée sous l'angle des propriétés thermiques des échantillons. Dans cette section, il est pris avantage de la quantité suffisante de lipides (et de surfactant) dans les matériaux hybrides pour l'acquisition de spectres ^{13}C en abondance naturelle. De plus, les spectres RMN sont mis en parallèle de mesures de calorimétrie. L'association de ces deux techniques expérimentales permet de visualiser par DSC les transitions de phases advenant dans les matériaux et d'attribuer les constituants qui sont affectés par RMN.

3.4.1. Mesures DSC

L'analyse d'un composé par calorimétrie différentielle à balayage, plus communément appelée DSC (Differential Scanning Calorimetry) permet de visualiser ses températures de changement de phase. Il est aussi possible de déterminer les enthalpies associées²⁵¹. Les mesures calorimétriques reposent sur l'équation liant l'échange de chaleur à la capacité calorifique C_p d'un composé :

$$\delta Q = mC_p\Delta T \quad [46]$$

Où δQ est la chaleur échangée et ΔT la différence de température causée par cet échange.

En supposant que la capacité calorifique et la masse de l'échantillon ne varient pas en fonction du temps, la relation suivante décrit les résultats expérimentaux :

$$\frac{\delta Q}{\delta t} = mC_p \frac{dT}{dt} \quad [47]$$

Pour comparer des résultats, il convient de normaliser cette relation par la vitesse de balayage de l'intervalle de température.

En DSC, le principe réside dans le contrôle précis du chauffage (ou du refroidissement) de deux creusets, l'un vide servant de référence, l'autre chargé avec une masse connue du matériau étudié, pour que le flux de chaleur les traversant soient une constante en fonction du temps. Ainsi, l'évolution de la température en fonction du temps dans les deux creusets est une constante. Pendant la mesure, le composé peut effectuer des transitions de phases. Ces procédés étant exothermiques ou endothermiques, il est possible d'enregistrer l'écart dans le flux de

chaleur à fournir au cours du temps. C'est cette courbe, appelée thermogramme, qui est analysée par l'expérimentateur. L'orientation du graphique est conventionnellement fixée : un pic vers le bas correspond à une transition endothermique, un vers le haut à une transition exothermique. Dans les études ici menées, les pics associés aux différentes transitions de phases seront supposés suffisamment fins pour utiliser l'abscisse de leur extremum comme températures de changement d'état*.

En divisant les valeurs tracées du flux de chaleur par la masse d'échantillon, il est possible de directement comparer les pics de deux thermogrammes différents. En effet, l'aire sous la courbe correspond à l'enthalpie associée à la transition de phase, suivant la relation suivante :

$$\Delta H = \int_{T_i}^{T_f} mC_p dT \quad [48]$$

Le ratio de l'enthalpie expérimentale d'un composé par rapport à celle de sa forme cristalline de référence peut permettre d'établir son degré de cristallinité :

$$\text{Cristallinité [\%]} = \frac{\Delta H_{\text{produit}}}{\Delta H_{\text{référence}}} \quad [49]$$

Avec l'appareil utilisé, les flux de chaleurs sont calibrés par rapport à une référence en indium, telle que :

$$T_f = 429,7 \text{ K} \pm 0,4 \text{ K}$$

$$\Delta_{fus}H = 28,45 \text{ J} \cdot \text{g}^{-1}$$

La méthode utilisée consiste en une unique étape de chauffe, pour balayer l'intervalle de température allant de -50°C à +250°C, avec une vitesse de 10°C par minute (0,1667°C.s⁻¹). Les enthalpies de changement d'état sont obtenues par intégration de la courbe, après correction de la ligne de base par une fonction polynomiale, avec un R² > 0,999, sans tenir compte des premiers points qui reflètent le démarrage de l'instrumentation. Une exception est adoptée dans le paragraphe 3.4.1.1, où pour réduire la durée d'acquisition, la plage de température considérée est limitée à [-20°C ; +100°C], tandis que la vitesse de balayage est maintenue constante à 0,1667°C.s⁻¹, lors de quatre montées et descentes en température successives.

* À l'exception de la transition large du P123€SiO₂.

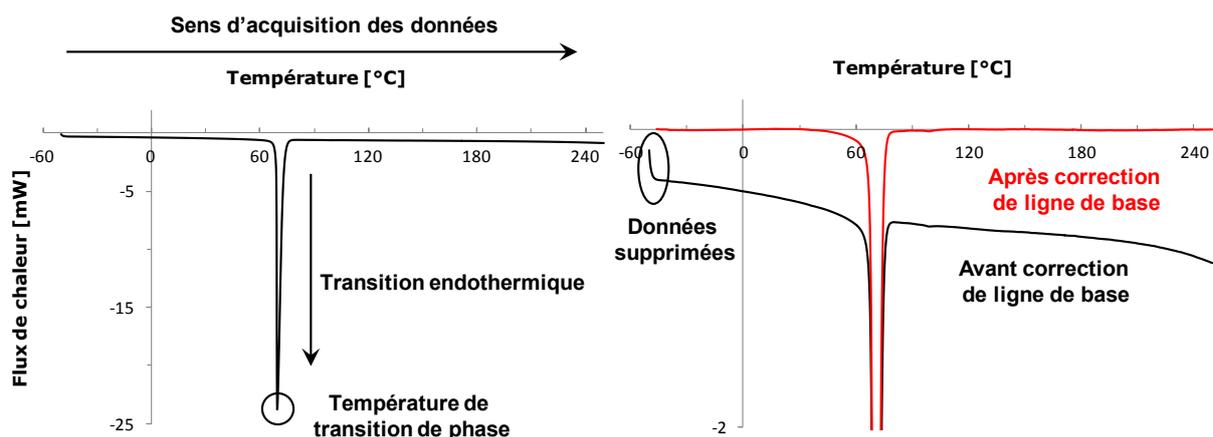


Figure 57 : Procédure d'obtention des thermogrammes DSC. Exemple mené sur de l'SA. Les données préliminaires recueillis sur les composés purs (CU, NHP, SA et P123) sont résumées en Annexe 12. À droite, la figure est un zoom de l'échelle verticale.

3.4.1.1. Réversibilité des effets de la température

Les échantillons pouvant être soumis à des montées et des descentes en température au cours d'une session expérimentale, il est nécessaire de connaître en amont les températures de fusion et de solidification des différents composés, celles-ci n'étant pas toujours égale dans le cas des lipides formant des SLNs. De plus, il est possible de juger si l'échantillon subit une dégradation irréversible sous l'effet de la chaleur. Les thermogrammes suivant quatre cycles de chauffage / refroidissement sur NHP@SBA-15 sont présentés en Figure 58. (La présence de deux pics lors du chauffage est justifiée en section 3.4.2).

Les différents thermogrammes étant visuellement quasiment identiques, ils sont placés sur une échelle verticale arbitraire pour les distinguer. À toute itération du cycle DSC, les endothermes et exothermes associés aux transitions affectant les lipides, ont lieu à température constante. Il est ainsi conclu que les effets de température sont réversibles sur les SLNs. Cependant, comme en Figure 51, il est montré que lors de cette expérience DSC, l'élévation de la température est trop brusque pour permettre à la structure globale du matériau de se stabiliser. En effet, la composante large, notée [x], trace du P123 structurant la matrice, n'est présente que pendant l'étape de chauffage n°1. Ceci peut être interprété comme une élongation de la structure micellaire du surfactant, dont le retour à l'équilibre nécessite nettement plus de temps^{249,250}.

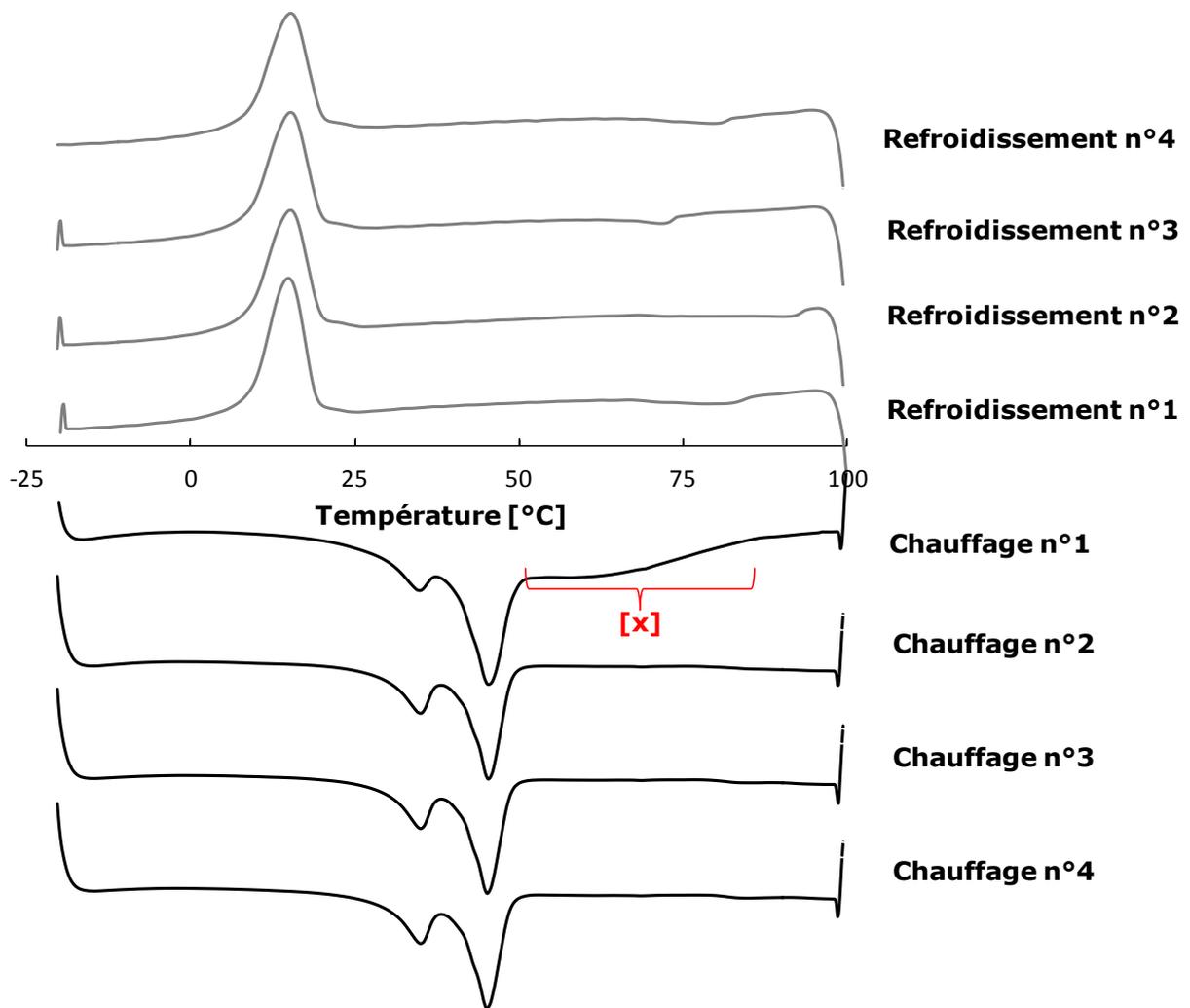


Figure 58 : Quatre cycles DSC consécutifs sur NHP@SBA-15 de -20 à +100°C pour avérer la réversibilité des effets de la température.

Cette expérience permet aussi d'observer que la température de fusion des lipides est supérieure à celle de solidification. Ainsi, il est possible de placer les lipides dans un état de surfusion. Il est donc nécessaire de considérer avec attention les cycles de températures appliqués aux échantillons pour prévoir l'état physique des lipides qu'ils contiennent.

3.4.1.2. Inclusion du P123 dans la matrice de silice

Comme présenté en Figure 59, l'effet de la structuration d'une matrice de silice autour de micelles de P123 transforme la nature et les caractéristiques des transitions de phase subies. Le P123 pur disponible est une dispersion de molécules de P123 dans une petite fraction d'eau inconnue. Le point d'écoulement du P123 est à 39°C (ici relevé à 37,5°C), et le point de trouble à 90°C (pour une solution de 1% de P123 dans l'eau)²⁵². De plus, entre 0°C et 50°C, plusieurs transitions peuvent prendre place entre divers arrangements des molécules de P123^{240,241}. Au lieu de présenter des transitions marquées par des endothermes bien définis, le P123 confiné dans la silice subit une transition progressive, dont la position est centrée sur des températures plus élevées. Cette différence de comportement est justifiée par la structure sous forme de micelles²⁵³ du P123 dans le SBA-15 (non calciné), où sous l'effet d'une température croissante, les micelles subissent une élongation progressive^{249,250}.

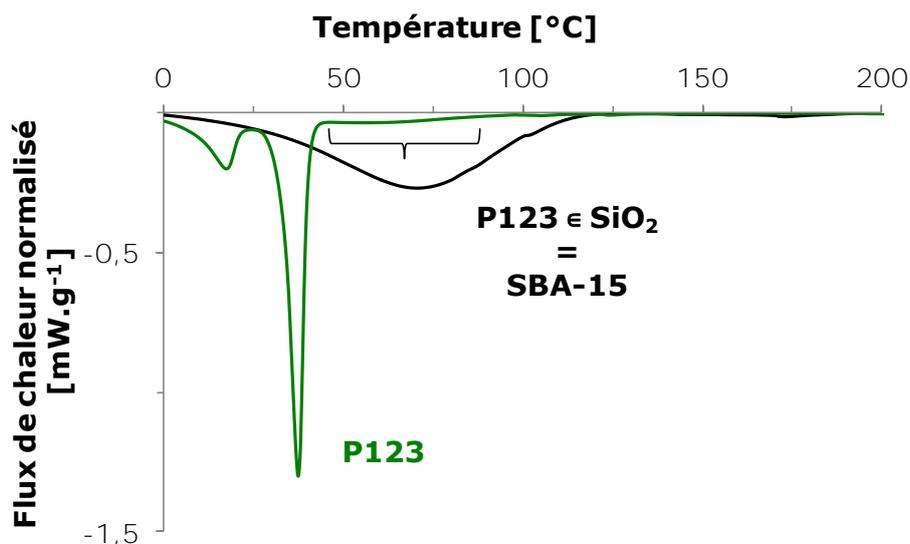


Figure 59 : Section entre 0°C et 200°C des thermogrammes du P123, avant et après structuration de la silice.

En vert : P123. En noir : P123 ∈ SiO₂

(Quelques micelles semblent déjà être présentes dans le composé initial, leur trace sur le thermogramme du P123 est soulignée avec une accolade.)

3.4.1.3. Addition des lipides

L'effet d'inclusion de l'SA dans la matrice de SBA-15 est observé via le thermogramme présenté en Figure 60. La transition de l'SA est mesurée à 68,2°C, soit 1,2° plus basse que celle du composé pur, probablement sous l'effet du confinement. La trace large caractéristique du P123 inclus dans la matrice de silice est retrouvée, superposée à l'endotherme associé à l'SA. De plus, il est important de noter la présence d'une transition supplémentaire par rapport aux composés purs pris séparément (lipides et SBA-15) entre 25° et 40°C. Son attribution est réalisée par RMN dans le paragraphe suivant.

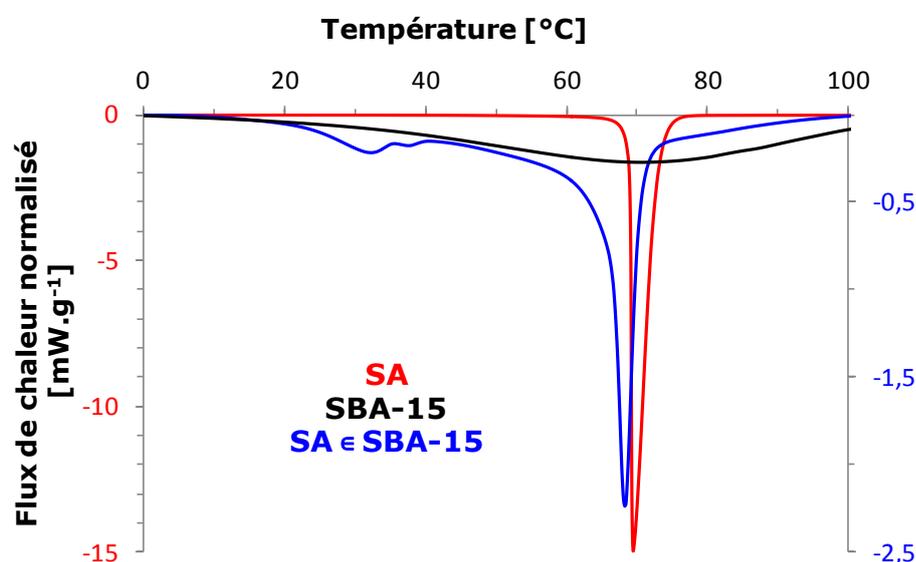


Figure 60 : Section entre 0°C et 100°C des thermogrammes d'SA avant et après inclusion dans le SBA-15.
En rouge : SA. En noir : SBA-15. En bleu : SA ∈ SBA-15.

De même, l'effet d'inclusion du NHP dans la matrice de SBA-15 est observé en Figure 61. Si la transition du NHP à 53°C n'est pas affectée, une transition de phase supplémentaire est également observée entre 33° et 43°C.

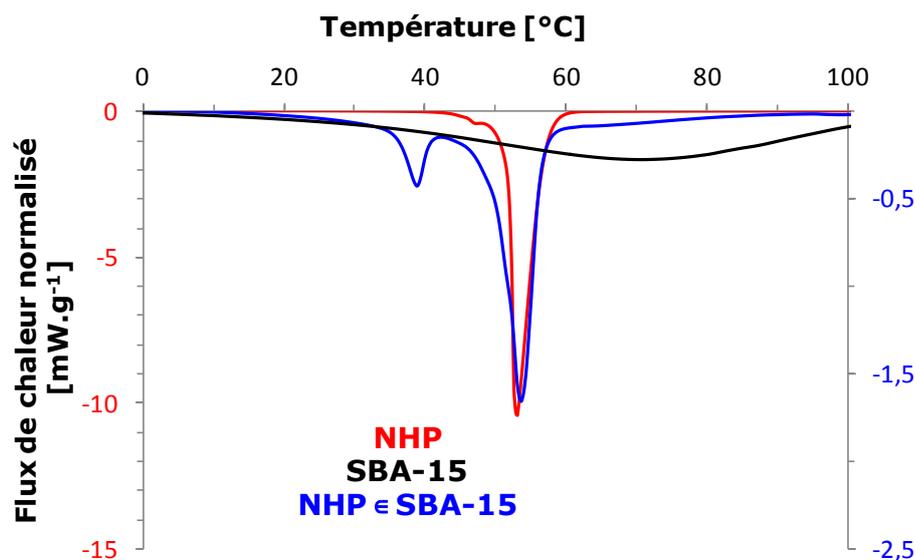


Figure 61 : Section entre 0°C et 100°C des thermogrammes de NHP avant et après inclusion dans le SBA-15. En rouge : NHP. En noir : SBA-15. En bleu : (CU+) NHP @ SBA-15.

3.4.2. Suivi RMN des transitions de phase

Pour identifier la nature et l'origine des transitions de phase supplémentaires, un suivi des effets de la température observés par DSC est réalisé par RMN. Travailler sur les lipides et le surfactant permet non seulement de suivre l'évolution des largeurs de raie des spectres ^1H , mais aussi d'accéder aux informations contenues dans les spectres ^{13}C .

3.4.2.1. À partir des spectres ^1H

Dans un premier temps, le suivi de l'évolution des largeurs de raies des pics de lipides et de surfactant des spectres ^1H permet de discriminer les composés en fonction de ceux qui suivent des transitions de phases. Pour cela, une série de spectres est acquise à différentes températures. Pour avoir des résultats reproductibles, une durée d'une heure est attendue après chaque changement de température. Les intensités des pics sont relevées manuellement. Pour effectuer la comparaison entre les différents sites, pour chacun d'entre eux, il est nécessaire de normaliser l'intensité par rapport à sa valeur maximale*.

* Pour un même échantillon, cela permet également de comparer les séries expérimentales acquises à différentes vitesses de rotation MAS (Annexe 13).

À partir de la Figure 52 présentant ces évolutions le long du thermogramme DSC, des profils différents sont relevés pour les lipides et le surfactant, et ce tant dans SA@SBA-15* que dans NHP@SBA-15. Il est noté que ces évolutions sont aussi valides pour les sites non représentés. Ceux choisis, l'ont été pour leur bonne résolution.

L'intensité des sites protons a, b, c et d (CH₃ et CH₂) d'SA et de tous les protons du NHP évolue selon deux "sigmoïdes" croissantes. La mise en parallèle de ces évolutions avec la DSC montre une bonne coïncidence des températures des deux transitions endothermes principales avec les points d'inflexion de ces sigmoïdes. Il est donc possible de conclure qu'elles correspondent à des transitions affectant les lipides.

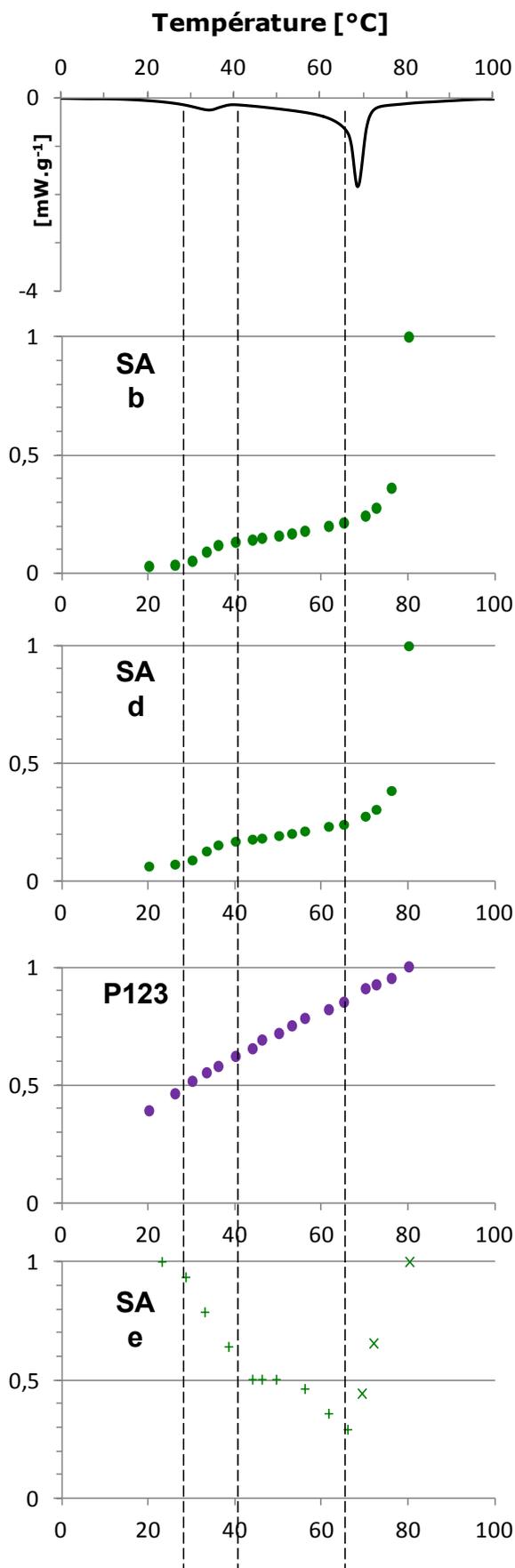
La transition à haute température correspond à la fonte de lipides, initialement dans leur forme cristalline. En effet, les températures de fusion correspondent quasiment à celles des composés purs d'SA ou de NHP relevées dans la littérature²⁵⁴⁻²⁵⁶. De plus, sur les spectres RMN à la plus haute température, les lipides sont décrits par des pics fins très intenses, caractéristique de l'état liquide, contrastant fortement avec les composantes larges initiales. En outre, au niveau de ce second endotherme, le déplacement chimique du site e d'SA (fonction acide) change brusquement de 13,6 à 11,8 ppm. Ce shift du signal est induit par la rupture des liaisons hydrogènes liant les molécules de SA sous forme de dimères²³⁶.

L'endotherme à basse température affectant aussi les lipides, une série de spectres ¹³C sont acquis dans le paragraphe suivant pour déterminer s'il correspond à la fonte d'une phase déstabilisée de lipides (coexistent avec la phase cristalline), ou à une réorganisation du réseau cristallin à l'état solide²⁵⁴.

Contrairement aux phénomènes affectant les lipides, l'augmentation continue et uniforme de l'intensité des sites du P123 sur tout l'intervalle de température considéré est représentative de l'évolution progressive affectant le surfactant quand il sert de support à la silice. Elle est mise en parallèle de la grande largeur de la transition du P123 observée en DSC (Figure 60, thermogramme tracé en noir), qui prend place sur et au-delà de tout l'intervalle de température exploré par RMN.

* L'acquisition des données relatives aux transformations de l'SA et du P123 sont limitées par la température maximale accessible avec la sonde RMN, c'est-à-dire 80°C.

CU + SA \in SBA-15



CU + NHP \in SBA-15

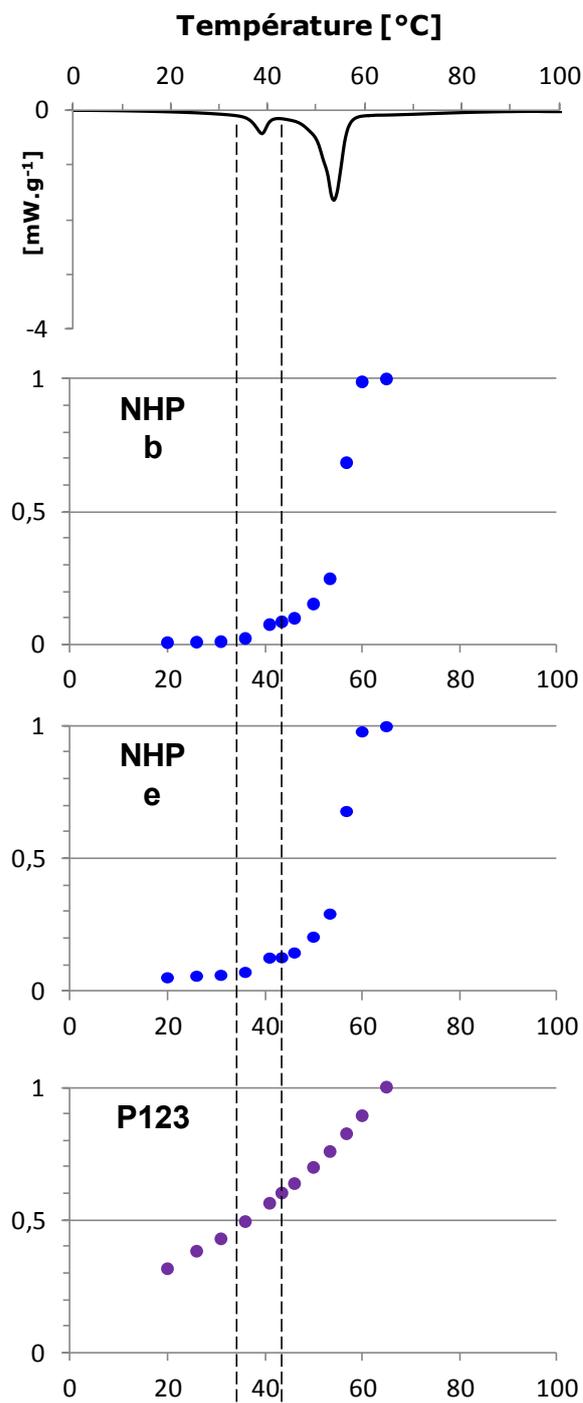


Figure 62 :
 Thermogrammes DSC et évolution
 parallèle de l'intensité normée des pics
 des spectres ¹H
 Toutes les données sont présentées pour
 une fréquence $\nu_{MAS}=12,5$ kHz (sonde 4
 mm), sauf le site SA e qui est présenté
 pour $\nu_{MAS}=31,25$ kHz (sonde 2,5 mm)

3.4.2.2. À partir des spectres ^{13}C

La possibilité de réaliser des transferts de polarisation du proton vers le carbone est explorée à différentes températures croissantes, choisies pour décrire au plus juste le thermogramme présenté en Figure 63, c'est-à-dire à basse température avant toute transition de phase (20°C), entre les deux pics endothermes affectant les lipides (44°C), et à haute température, après la dernière transition de phase (80°C). Ici, ne sont présentées que les analyses de SA \in SBA-15. Le travail mené sur NHP \in SBA-15 à 20°C, 41°C et 60°C livre les mêmes résultats.

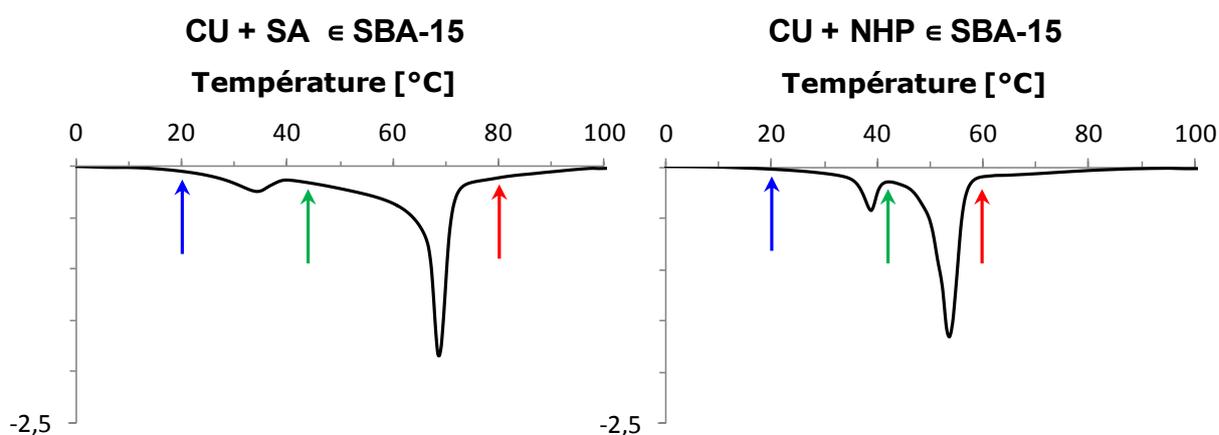


Figure 63 : Températures d'acquisition des spectres ^{13}C .

À chaque température, sont testées deux méthodes de transfert de l'aimantation :

- le transfert CP permettant de sélectionner les composantes rigides possédant des couplages dipolaires ^{13}C - ^1H significatifs, c'est-à-dire les composés à l'état solide.
- le transfert INEPT permettant à l'inverse de s'intéresser aux phases mobiles où les couplages dipolaires ^1H - ^1H sont négligeables, c'est-à-dire liquide^{57,58}.

En effet, ce lien entre mobilité et état physique est justifiable, temps que ce sont les carbones non terminaux des chaînes carbonés qui sont considérées, d'où l'omission dans la discussion des pics correspondant aux CH_3 qui sont toujours relativement mobiles. Les résultats sont présentés en Figure 64. À 20 °C, il n'y a du signal quasiment que sur le spectre CP, montrant qu'à la température initiale de travail, P123 et lipides sont des phases solides. Pour les sites de SA, plus la température augmente, plus le transfert INEPT devient efficace, au détriment du CP. À 80°C, la détection du signal uniquement par INEPT montre que l'SA est complètement

liquéfié. En revanche, il est aussi constaté que la majorité du surfactant reste solide sur toute la gamme de température.

De plus, ces expériences ^{13}C permettent de compléter les informations obtenues jusqu'à présent par DSC et RMN du proton. En effet, à une température intermédiaire de 44°C , le signal de SA est détecté à la fois par CP et par INEPT, mettant ainsi en évidence la coexistence d'une phase SA solide (détectée par transfert CP) et d'une phase SA liquide (détectée par transfert INEPT). Ceci peut être affirmé car ces signaux de SA détectés CP et INEPT n'ont pas des déplacements chimiques et largeur de raies identiques selon leur mode de détection. Ainsi ils ne sont donc pas dans un régime de dynamique anisotrope rapide de temps de corrélation $\tau_C < 1\text{ns}$, permettant une détection simultanée par transfert CP et INEPT^{57,58}. Dans un premier temps, cela confirme l'attribution des deux endothermes à des transformations de SA (ou de NHP). Dans un second temps, il est désormais acquis qu'il s'agit de deux événements distincts, faisant intervenir la fonte de différentes phases de SA (ou de NHP) dans les macropores du matériau.

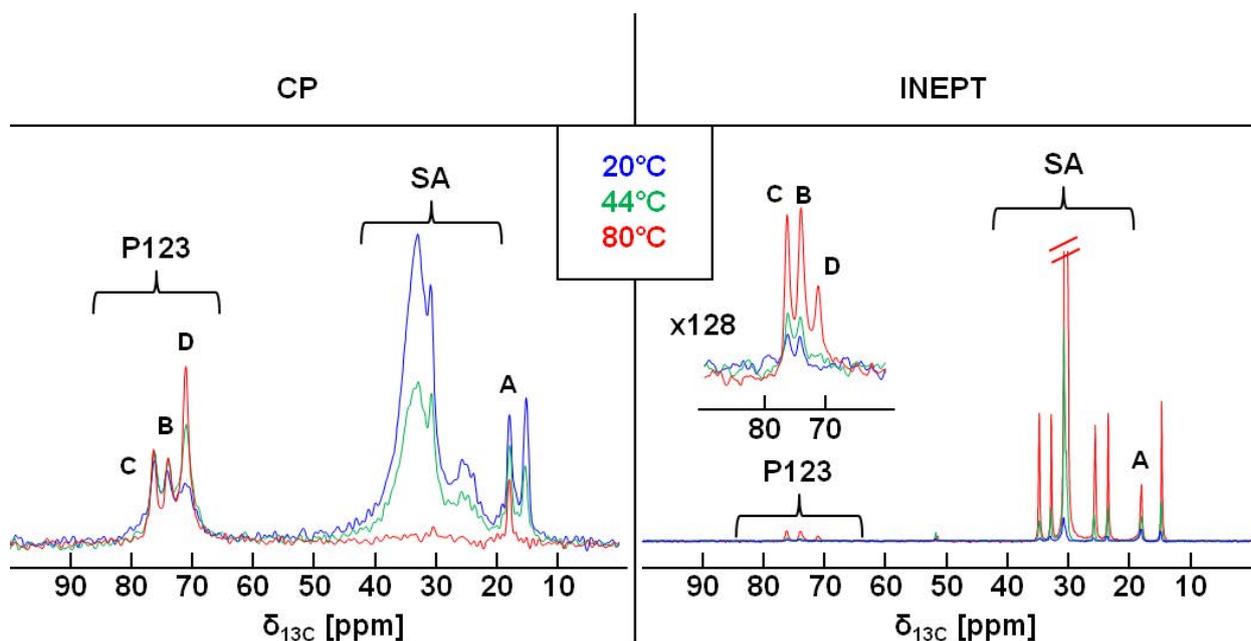


Figure 64 : Évolution des spectres ^{13}C en fonction de la température pour deux modes de transfert de la polarisation.

$\nu_0=600\text{MHz}$; $\nu_{\text{MAS}}=12,50\text{ kHz}$; 2048 scans ; $d_1=3\text{s}$;

CP : $t_{\text{contact}}=1\text{ms}$; $l_b=25\text{Hz}$; INEPT : $l_b=100\text{Hz}$

Pour les trois sites associés au P123, le signal INEPT est toujours quasiment inexistant, au profit d'un signal quasi-constant par CP. Dans la gamme de température étudiée, ceci montre que le P123 n'est pas déstructuré : il reste sous forme de micelles.

Il est cependant remarqué qu'avec les deux méthodes de transfert de polarisation, l'effet de la température n'est pas identique pour les sites C et B de la chaîne hydrophobe, que pour le site D des deux chaînes hydrophiles. En effet sur les spectres CP, les carbones D (du PEO hydrophile) produisent une composante dont l'intensité augmente nettement avec la température, alors que cette variation est plus que modérée pour les carbones C et B (du PPO hydrophobe). Cet effet peut s'expliquer non pas par un changement d'état physique, mais sous l'angle d'un gain en résolution apporté par une mobilité grandissante des chaînes carbonées avec la température. Cette observation est cohérente avec l'élongation des micelles de P123 contenues dans les mésopores avec la chaleur^{249,250}. En effet, celle-ci s'accompagne d'un espacement accru entre les chaînes hydrophiles, des interactions intermoléculaires moins fortes, et donc finalement une mobilité accrue (sans qu'il y ait pour autant passage à l'état liquide). Sur les spectres INEPT, l'augmentation de l'intensité des pics de P123, et tout particulièrement les sites B et C de la chaîne hydrophobe, suit une évolution parallèle à celle de SA. Avec ce transfert de polarisation est sélectionnée la composante la plus mobile de P123. Puisque ce mode de transfert de polarisation sélectionne, à priori, les composantes liquides de P123, ces signaux pourraient donc correspondre à du P123 contenu dans les macropores et en interaction avec les lipides (contact démontré en Figure 67).

3.4.2.3. Interprétation

La présence de différents polymorphes de lipides dans les SLNs est relativement courante. En effet, le travail aux petites échelles des colloïdes et les effets de confinement dans des nanomatériaux favorisent la cristallisation selon des phases polymorphes²⁵⁷. De plus, les interactions des composés hôtes avec les molécules invitées et le surfactant favorisent l'apparition de nouvelles phases cristallographiques, de par la déstabilisation qu'elles apportent aux structures les plus ordonnées. Ceci est vrai, tant avec l'emploi d'acides carboxyliques que de triglycérides^{231,258,259} pour les cœurs de lipide. Le seul changement intervient dans la dénomination des phases. Pour les deux matériaux étudiés, NHP \in SBA-15 et SA \in SBA-15, la nature des deux phases de lipides est obtenue par comparaison des températures de leur fusion mesurées par DSC à des références.

La coexistence de deux polymorphes de lipide dans un matériau peut s'interpréter de par une structuration des lipides, en deux compartiments, l'un constituant le cœur des SLNs selon la structure cristalline la plus stable, l'autre formant une enveloppe de surface, délimitant ainsi une interface avec le P123 (Figure 40, cas N°2, page 95). Les interactions entre les micelles de surfactant et la surface de lipides résultent donc en la formation d'une nouvelle phase solide de lipides, selon une structure cristalline polymorphe*.

Dans le cas du NHP, plusieurs polymorphes existent, qui dans le cas des esters et des triglycérides^{261,262} sont nommées α et β (la plus stable). Il existe aussi une forme β' métastable. La présence de ces polymorphes de NHP dans des SLNs est relevée dans la littérature^{263,264}. Avec le matériau ici considéré, NHP \in SBA-15, les deux températures de transition de phase du NHP relevées à 38,7°C et 53,5°C \pm 0,4°C concordent respectivement avec celles associées aux formes α et β , qui sont de 38,9°C et de 52,8°C.

Dans le cas de l'SA, quatre formes cristallographiques distinctes ont été observées : A, B²⁶⁵, C²³⁶ et E²⁶⁶. La forme C est thermodynamiquement la plus stable de toute, et sa température de fusion est de 69°C. Elle est présente dans SA \in SBA-15, avec une fusion relevée à 69,4°C \pm 0,4°C. Il est relevé dans la littérature la présence de l'SA sous sa forme B dans des SLNs^{267,268}. En effet, les formes A et E sont rares ou instables²⁶⁹ et issues de conditions de croissance très particulières, alors que la forme B est suffisamment stable pour survivre à des recristallisations. Cependant, dans SA \in SBA-15 l'attribution de l'endotherme à basse température à une structure précédemment définie est plus difficile. Prenant effet à seulement 34°C, elle se distingue de celles du polymorphe B qui a lieu à 54°C.

La dépression de la température de fusion des lipides de surface présente avec SA \in SBA-15, mais absente avec NHP \in SBA-15 peut être mise en parallèle avec un effet accru du confinement. En effet, les macropores de silice accueillant les SLNs à base d'SA ont un diamètre moyen largement inférieur à ceux contenant les SLNs de NHP : 470 nm au lieu de 900 nm. De plus, une affinité polaire plus grande de l'SA que du NHP avec le surfactant, induit une perturbation plus marquée du réseau de lipide par les chaînes du surfactant[†].

* La présence d'endothermes bien définis permet d'éliminer la présence de phases amorphes^{251,260}.

† L'effet de l'inclusion d'une molécule comme la CU est trop faible (quelques degrés) pour expliciter la baisse de température de fusion des lipides ici observée²⁷⁰.

La présence d'un contact lipide / surfactant induisant les formations des polymorphes est démontrée par les spectres RFDR de corrélations proton-proton acquis sur SA ϵ SBA-15 (Figure 65) et sur NHP ϵ SBA-15 (Figure 66) avec des temps de mélanges courts d'environ 10 ms. Les résultats suivants ont été reproduits dans toutes les autres conditions expérimentales utilisées par la suite. Ainsi, dans les encadrés, sont mis en avant les corrélations intermoléculaires entre les lipides et le P123. La troncature du signal empêche parfois l'observation de leurs symétriques dans la dimension indirecte.

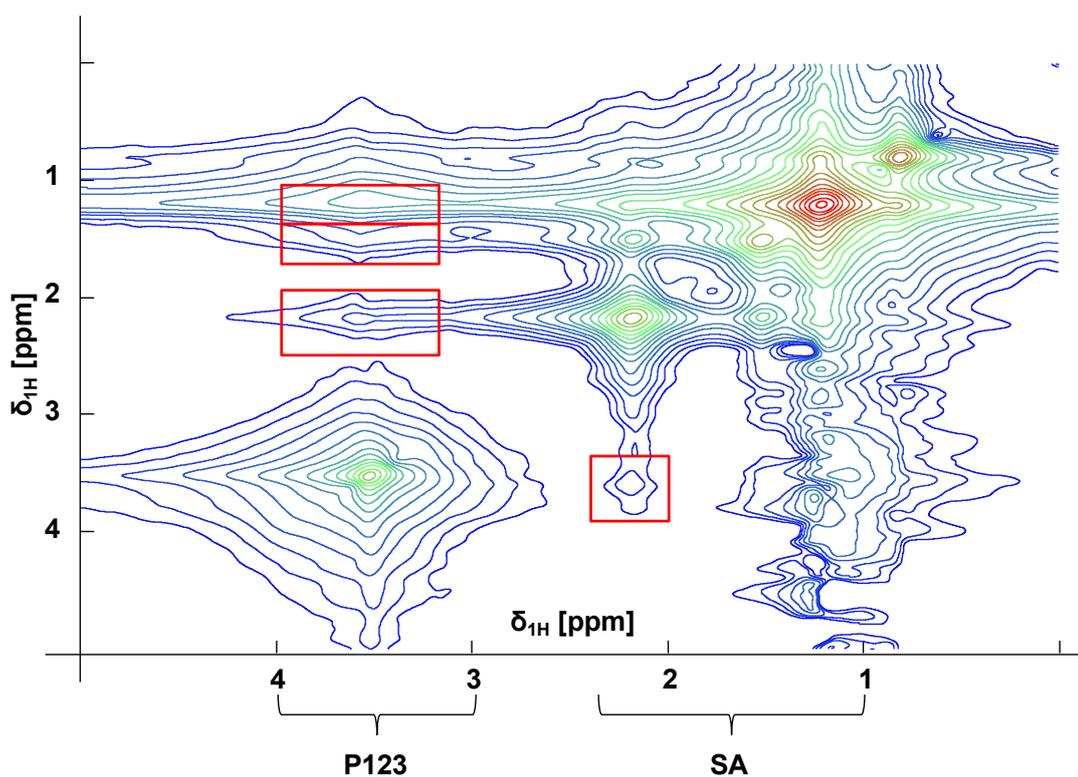


Figure 65 : $^1\text{H} / ^1\text{H}$ RFDR de SA ϵ SBA-15 : corrélations SA / P123

$\nu_0=600\text{MHz}$; $\nu_{MAS}=12,5\text{ kHz}$; 8 scans ; $d_1=3\text{s}$; $t_{mix}=10\text{ms}$; $TD_i=1500$; $T\approx 33^\circ\text{C}$

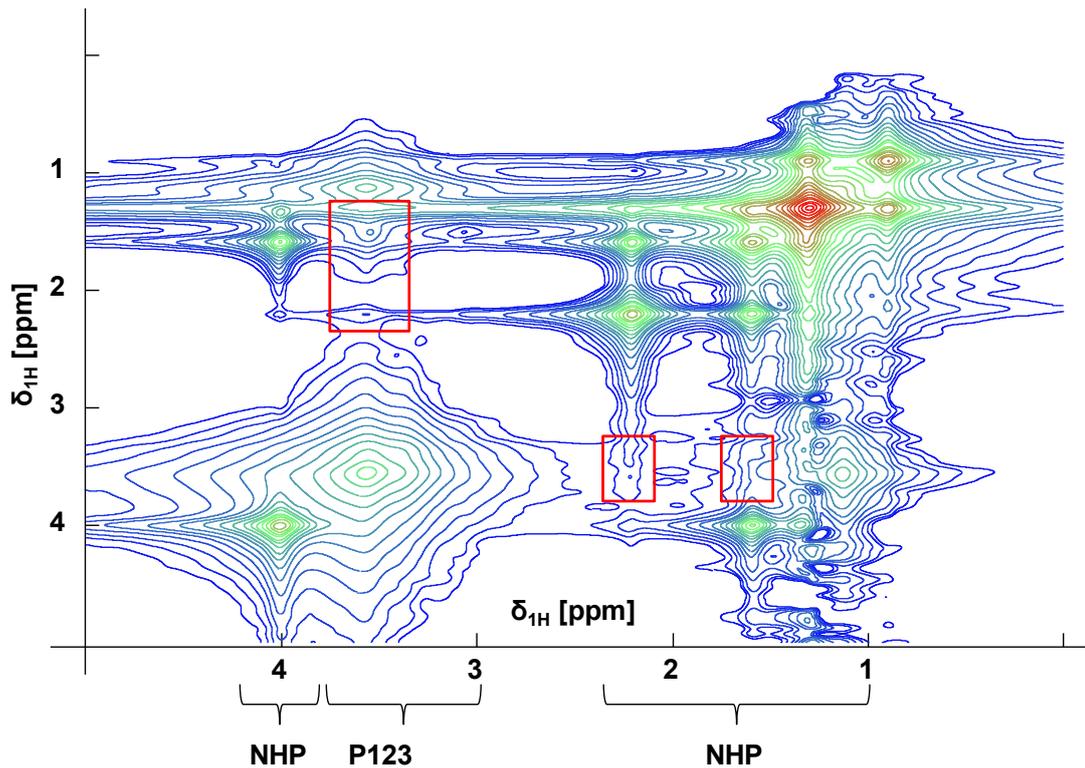


Figure 66 : $^1\text{H}/^1\text{H}$ RFDR de NHP/SBA-15 : corrélations NHP / P123
 $\nu_0=600\text{MHz}$; $\nu_{\text{MAS}}=31,25\text{ kHz}$; 8 scans ; $d_1=3\text{s}$; $t_{\text{mix}}=19,2\text{ms}$; $TD_1=1200$; $T\approx 53^\circ\text{C}$

Avec CU+SA/SBA-15, une expérience double quanta (DQ) est menée à la plus basse température stable accessible ($28,5^\circ\text{C}$) en ayant une MAS élevée de 58 kHz. En effet, faible température étant synonyme de mobilité restreinte, et donc de couplages dipolaires plus forts, l'efficacité du DQ est accrue. Cette technique expérimentale empêchant la diffusion de spin, les corrélations observées seront synonymes de contacts directs entre composés. Comme le filtrage DQ réduit significativement la sensibilité des expériences, la CU ne sera pas détectable ici, de par le signal trop important provenant des silanols. Cependant, des informations importantes sont obtenues sur l'organisation des lipides et du surfactant.

Sur le spectre présenté en Figure 67, sont tout d'abord observées sur la diagonale, tracée en pointillés, les auto-corrélations des sites décrits sur le spectre 1D. La tache [1] correspond au contact entre les protons e et b des molécules d'SA. Dans la zone [2] est retrouvé le contact attendu entre le P123 et la matrice de silice qu'il structure. La présence d'une corrélation intermoléculaire entre le P123 et l'SA est mise en avant dans la zone [3]. Il existe donc une interface significative entre des lipides et le surfactant. Ceci confirme qu'à l'interface des macropores, le réseau de lipides doit être perturbé par la présence de surfactant sus-jacent. Qui plus est, ce résultat fournit une justification à la présence d'une phase de lipide fondant à basse

température, et permet de décrire l'organisation des lipides des SLNs par un modèle en deux couches. Le cœur des lipides étant cristallin, et l'enveloppe forme un composé polymorphe suite à la déstabilisation du réseau cristallin induite par le P123.

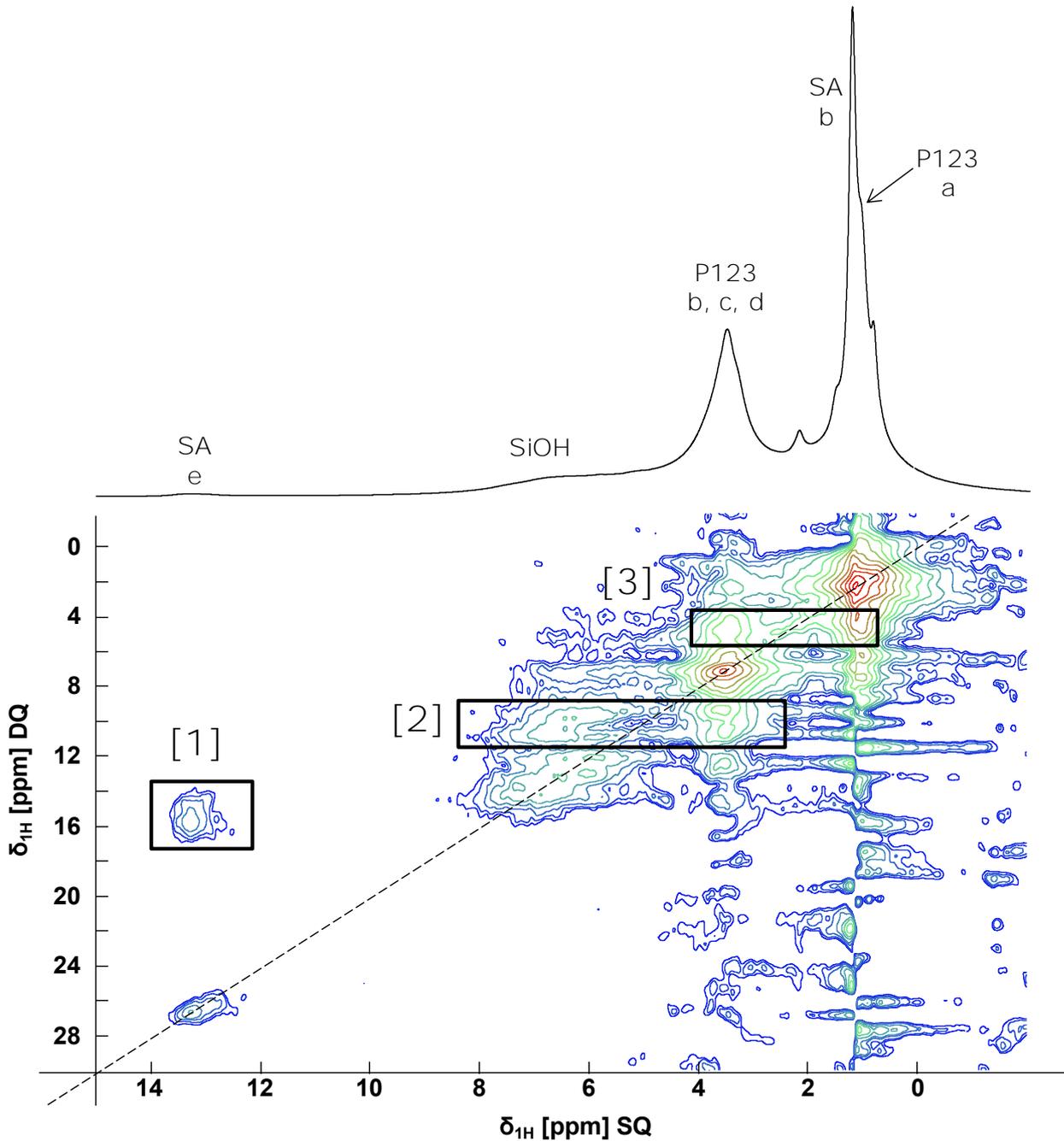


Figure 67 : Spectre de corrélation SQ/DQ de SAεSBA-15

$\nu_0=1\text{GHz}$; $\nu_{MAS}=58,14\text{ kHz}$; 32 scans ; $d_1=3\text{s}$; $t_z = 1\text{ms}$; $TD_i=174$; $T=28,2^\circ\text{C}$

La séquence est précédée d'une pré-saturation de 20 impulsions toutes les 1ms

3.4.2.4. Conclusions

Dans cette partie, l'effet de l'encapsulation des lipides et du P123 a été observé par DSC. Le tableau suivant résume les températures de transitions de phase.

	Pur	ε Matériau hybride
P123	2 endothermes 17,5°C 37,5°C	1 transition large ~15°C → 120°C
NHP	1 endotherme 52,8°C	2 endothermes 38,7 53,5
SA	1 endotherme 69,4°C	2 endothermes 34°C 69,4°C

Tableau 4 : Températures des transitions de phases relevées par DSC.

L'attribution des transitions de phases a été réalisée par RMN. Les spectres ^1H ont montré que dans les matériaux hybrides, la transition large provient du P123, alors que les deux endothermes bien définis correspondent chacun à des transitions affectant les lipides. Les spectres ^{13}C complètent ces conclusions en démontrant qu'il s'agit de deux événements successifs de fonte de deux phases de lipides de structures distinctes. Celle fondant à plus haute température correspond bien à la phase de lipide cristalline organisée (retrouvée dans les lipides purs). En revanche, celle fondant à basse température est issue d'une phase déstabilisée par le P123. Le contact lipide / P123 est démontré par les spectres de corrélation 2D. De plus, la comparaison des spectres ^{13}C CP et INEPT du P123, semble indiquer l'existence de deux populations de surfactant : une rigide, sous forme de micelles dans les mésopores, l'autre dont la mobilité suit celle des lipides.

En conclusion, dans les matériaux hybrides, les mésopores contiennent des micelles de P123 s'allongeant progressivement avec l'augmentation de la température. Quant aux SLNs contenues dans les macropores, elles peuvent être décrites par un modèle en deux couches : un cœur de lipide cristallin, entouré d'une enveloppe polymorphe issue de la déstabilisation par des chaînes de P123 se trouvant à sa surface. Par la suite, lors de l'addition de CU, il est donc pertinent de s'interroger sur sa répartition dans l'ensemble des compartiments identifiés.

3.5. Étude de la partition de la curcumine

Dans cette section, la question de la répartition de la CU dans les matériaux hybrides est posée car plusieurs compartiments sont disponibles pour le stockage de la CU. Si la CU peut être fractionnée entre les micelles de surfactant et les lipides des SLNs, il peut aussi être envisagé que la division de la structure des lipides en plusieurs phases cristallines polymorphes amène une subdivision supplémentaire de la CU, celle-ci pouvant avoir une répartition préférentielle dans l'une ou l'autre des deux phases de lipides.

Les difficultés lors de l'étude de la vectorisation d'une molécule active dans des SLNs, elles-mêmes dans de la silice résident simultanément dans les limitations de sensibilité et de résolution. En effet, avec ce premier point qu'est la sensibilité, il faut rappeler que les échantillons sont préparés de telle façon qu'il n'y ait pas séparation de phase entre la CU et les lipides lors de la préparation de la phase organique. Ainsi, la quantité de CU est limitée à 5% en masse par rapport aux lipides, ce qui après inclusion dans la matrice de silice la réduit à environ 1,7%. Cette faible teneur en CU amène la contrainte de l'acquisition de spectres ^1H , et donc des questions de résolution liées à trois facteurs. Tout d'abord, le signal ^1H associé à la CU consiste en une composante large, due aux forts couplages dipolaires intramoléculaires. À celle-ci est à ajouter la contribution des silanols qui ont des déplacements chimiques très proches, superposant à la contribution de la CU une composante large supplémentaire (Figure 79). Finalement, la présence de CU amorphe induit une distribution de ses déplacements chimiques et un élargissement supplémentaire de ses raies ^1H .

Pour pallier la complexité des systèmes considérés, plusieurs étapes ont été effectuées, en analysant dans un premier temps des mélanges binaires de CU avec les différents constituants des matériaux hybrides, puis en considérant dans un second temps les effets de la vectorisation dans une matrice de silice. Pour chaque échantillon analysé, il s'est montré judicieux de suivre un protocole en trois étapes. Tout d'abord, les propriétés thermiques sont observées par DSC. L'évolution des spectres RMN 1D est ensuite mise en parallèle des températures de transition de phase. En effet, quand la CU est mélangée / dispersée dans une phase hôte, leurs mobilités augmentent conjointement avec l'élévation de la température. Ceci se traduit par la présence de pics résolus de CU sur les spectres. Enfin, une température est choisie pour l'acquisition de spectres 2D. Elle est déterminée pour concilier le gain en résolution à plus haute température, tout en maintenant des couplages dipolaires suffisants, nécessaires à l'établissement des corrélations intermoléculaires. De plus, les expériences 2D sont réalisées pour une série de temps

de mélange allant de quelques ms à environ 150 ms. Les spectres ici présentés représentent les meilleurs résultats en termes de corrélations intermoléculaires, afin de caractériser l'incorporation de la CU dans le réseau de lipides ou de surfactant.

Qui plus est, pour dépasser les difficultés inhérentes à la nature hétérogène et à l'état solide des composés étudiés, plusieurs approches expérimentales ont été testées, afin d'obtenir les résultats les plus probants possibles. En plus de la recherche de températures optimales, différentes techniques de filtrage des signaux ont été explorées. Celles-ci se révèlent absolument indispensables à l'interprétation des spectres de CU+SA€SBA-15. Enfin, les premiers résultats encourageants ont permis de déployer ces méthodes sur TGIR à haut champ magnétique ($\nu_0 = 1$ GHz) et vitesse de rotation MAS élevée ($\nu_{MAS} = 60$ kHz).

Il est noté, et justifié dans le paragraphe 3.5.3, que le découplage de l'interaction dipolaire par des MAS élevées n'apporte finalement que peu à la résolution dans les échantillons hybrides, de nature particulièrement hétérogène. Dans ceux-ci la largeur de raie provenant principalement de distributions de déplacements chimiques, l'utilisation de séquences de découplage homonucléaire a été tentée mais n'a donc pas été retenue. Ce fait est renforcé par leur addition d'artefacts aux spectres, d'influence délétère sur les très faibles signaux provenant de la CU.

3.5.1. Effets de l'inclusion de curcumine dans les lipides et le tensioactif

3.5.1.1. Mélange avec le surfactant P123

Sur le thermogramme DSC (Figure 68) du mélange binaire de CU et de P123, l'absence de transition vers 176°C démontre l'absence de CU cristalline dans cet échantillon, suggérant ainsi une dispersion des molécules de CU dans le surfactant. Cet ajout de CU impacte aussi le P123, dont l'enthalpie de changement d'état diminue d'environ 6% par rapport au composé pur.

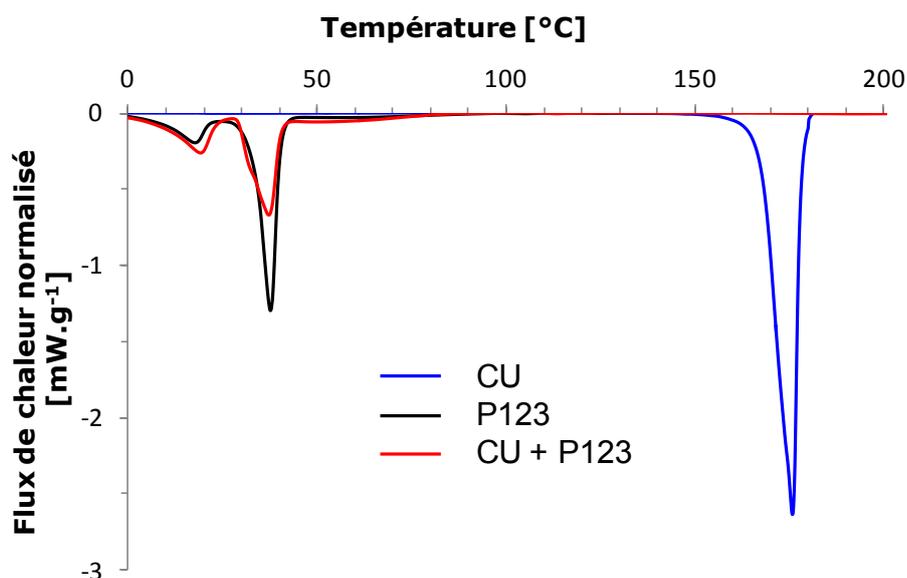


Figure 68 : Section entre 0°C et 200°C du thermogramme DSC du mélange CU + P123.

Comme le montre la Figure 52 (page 114), spectres 1D du mélange de CU et de P123 à 10° et 25°C, c'est-à-dire avant et entre les deux transitions de phase du P123, la CU est uniquement décrite par une série de pics bien résolus (absence de composante large), dont la largeur de raie diminue significativement avec l'augmentation de la température, c'est-à-dire quand la mobilité des chaînes de P123 augmente. Ceci constitue donc un argument supplémentaire en faveur d'un mélange homogène de la CU dans le P123. Pour le confirmer, une série d'expériences RFDR est enregistrée. Il est choisi d'acquérir ces spectres à 10°C, température simultanément en dessous des transitions de phase du P123 et amenant une résolution convenable des sites de CU. En Figure 69, il est possible de distinguer dans les encadrés [1] et [2] les corrélations intramoléculaires, respectivement associées à la CU et au P123. De plus, dans la zone [3], il est clairement mis en évidence un jeu complet de corrélations

entre l'ensemble des sites de CU et de P123, démontrant l'existence d'un mélange effectif entre la CU et le P123. L'exemple de la projection de la ligne à 3,48 ppm confirme ce résultat.

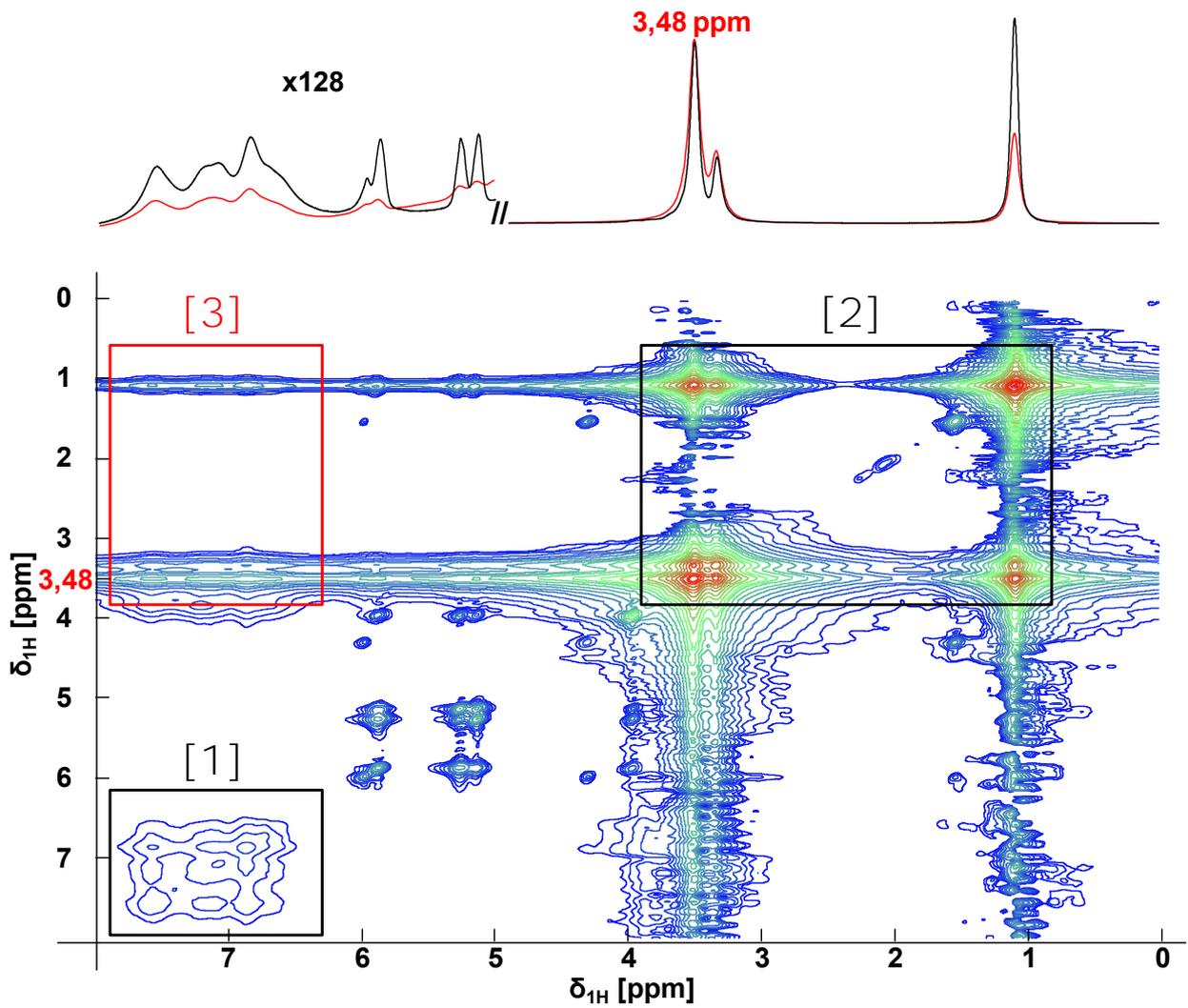


Figure 69 : $^1\text{H}/^1\text{H}$ RFDR de P123 + CU

$\nu_0=600\text{MHz}$; $\nu_{\text{MAS}}=10\text{ kHz}$; 8 scans ; $d_f=3\text{s}$; $t_{\text{mix}}=30,0\text{ms}$; $TD_f=1024$; $T\approx 10^\circ\text{C}$

En noir, spectre 1D, en rouge, projection de la ligne à 3,48 ppm.

3.5.1.2. Mélange avec les lipides, cas du NHP

Le mélange binaire suivant considéré est celui entre la CU et le NHP, dont le thermogramme DSC est présenté en Figure 70.

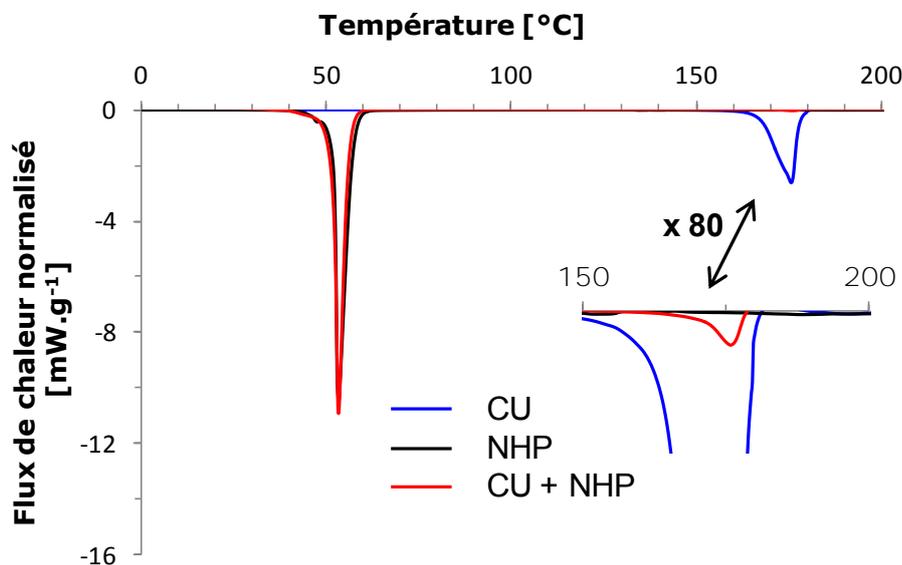


Figure 70 : Section entre 0°C et 200°C du thermogramme DSC du mélange CU + NHP.

Deux transitions de phases sont clairement discernables, les pics associés ayant leur minimum à 52,9°C et 175,9°C. Ils correspondent respectivement à la fusion du NHP, suivi de celle de la CU cristalline. L'intégration des deux endothermes livre les enthalpies de fusion associées :

$$\Delta_{fus}H[NHP] = 226 \text{ J. g}^{-1}$$

$$\Delta_{fus}H[CU] = 49 \text{ J. g}^{-1}$$

Elles sont à comparer aux valeurs obtenues pour les composés purs :

$$\Delta_{fus}H[NHP] = 226 \text{ J. g}^{-1}$$

$$\Delta_{fus}H[CU] = 107 \text{ J. g}^{-1}$$

Après l'ajout de 5% de CU, le NHP conserve sa température et son enthalpie de fusion, donc il conserve sa structure initiale. En revanche, le degré de cristallinité de la CU chute à 46%. Ce résultat est cohérent avec les deux formes de CU détectées en RMN (Figure 53, page 114) et suggère que 54% de la CU est dispersée dans le réseau de NHP. En effet, l'observation des spectres 1D présentés en Figure 53, se distingue par la présence de pics fins entre 6 et 7,5 ppm,

correspondant aux protons aromatiques de la CU. Ces pics résolus sont superposés à une composante large, correspondant à la trace habituelle de la CU cristalline pure (Figure 46, page 108) non mélangée au NHP. Diminuer la température se traduit directement par une réduction considérable de la résolution des pics de la CU (Figure 44, page 104). Cette observation est compatible avec une diminution de la mobilité locale des chaînes de NHP, où cette fraction de CU est contenue. En effet, une évolution similaire a été précédemment notée sur le mélange de CU et de P123, pour lequel il est assuré que le mélange homogène des composés est effectif.

L'incorporation d'une partie de la CU dans le NHP est vérifiée à partir du spectre de corrélation donné en Figure 71. Pour observer la très faible corrélation entre les protons b du NHP et les pics "résolus" CU, il est nécessaire de se placer à 30°C, température suffisamment inférieure à celle de fusion des lipides. De plus, comme l'indique la projection, cette corrélation, certes peu intense, se détache du bruit et la comparaison avec le spectre à 53°C donne une concordance du déplacement chimique avec les sites fins de CU. Ce résultat permet aussi de mettre en évidence la possibilité d'établir la répartition d'une quantité très faible de CU dans un échantillon, quand celle-ci interagit avec son environnement.

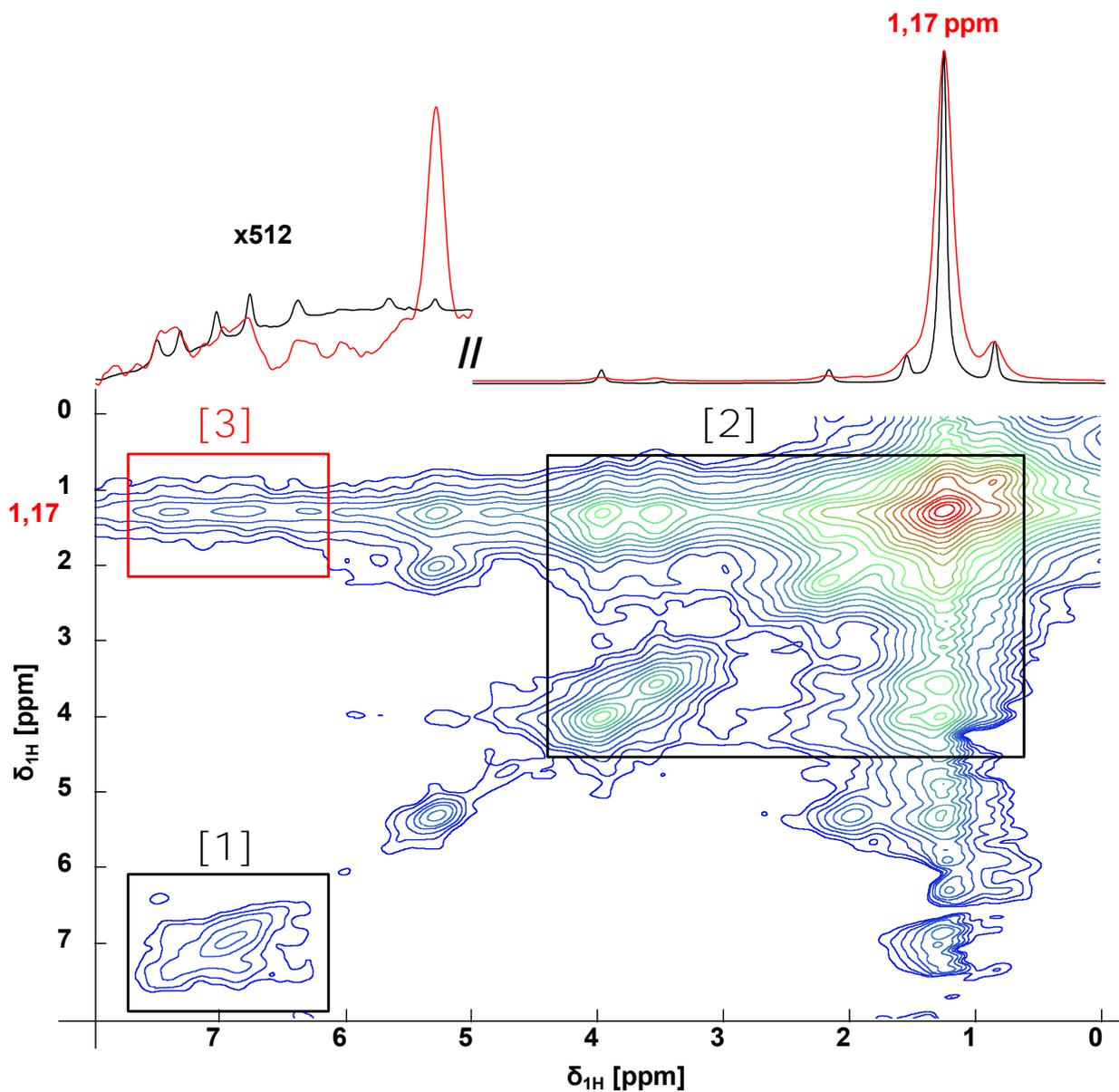


Figure 71 : $^1\text{H}/^1\text{H}$ RFDR de NHP + CU

$\nu_0=600\text{MHz}$; $\nu_{\text{MAS}}=31,25\text{ kHz}$; 8 scans ; $d_1=3\text{s}$; $t_{\text{mix}}=115,2\text{ms}$; $TD_i=1024$; $T\approx 30,7^\circ\text{C}$; $lb=100\text{Hz}$

En noir, spectre 1D de NHP + CU. En rouge, projection de la ligne à 1,17 ppm. Sur ces spectres, pour mettre en évidence les sites issus de la CU, un zoom (x 512) est effectué entre 5 et 8ppm.

3.5.1.3. Mélange avec les lipides, cas de SA

Dès lors de la préparation de l'échantillon CU + SA, il a été nécessaire de re-dissoudre partiellement les solides plusieurs fois dans du CDCl_3 , une séparation des phases étant prononcée après évaporation du solvant. Malgré cela, dans le "mélange" final, une séparation claire entre une poudre blanche d'SA et orange de CU est visuellement remarquée dans le mélange binaire CU + SA*.

En observant le thermogramme du mélange CU + SA, un seul pic est observé. Son minimum est à la température de fusion de l'acide stéarique pur de $69,7^\circ\text{C}$. Il est assez surprenant de ne pas avoir de transition de phase aux alentours de 176°C associée à la fusion de CU cristalline, comme dans le cas précédent du mélange de CU et de NHP. Une explication pouvant être avancée réside dans la forte séparation des phases solides de CU et de SA, résultant en une quantité de CU effectivement soumise à l'analyse DSC bien inférieure à 5% de la masse totale d'échantillon, et donc inférieure à la limite de détection de l'appareil. Une autre hypothèse est la présence uniquement de CU amorphe dans cet échantillon.

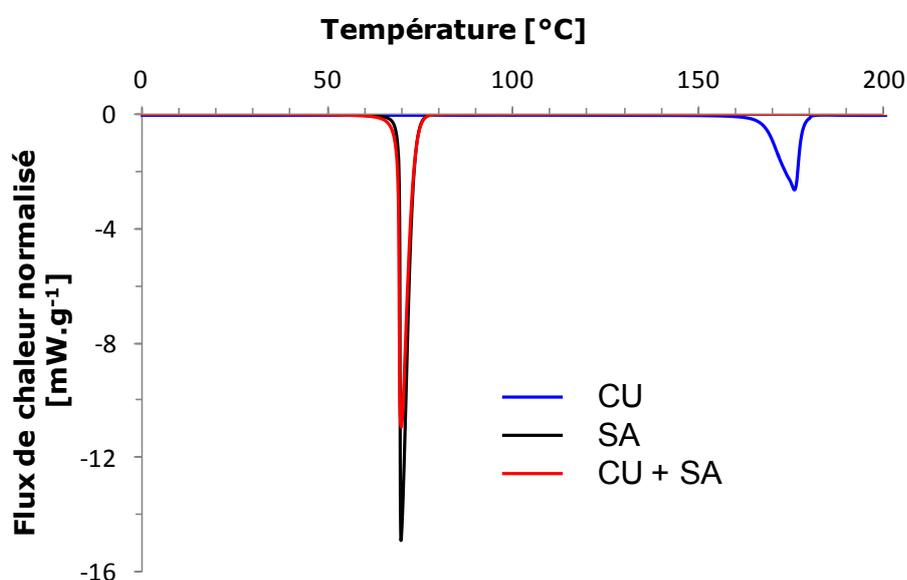


Figure 72 : Section entre 0°C et 200°C du thermogramme DSC du mélange CU + SA.

* Pour remédier à cette difficulté de préparation, il aurait été judicieux de réaliser les mélanges binaires dans les mêmes conditions de température et de sonication que les SLN \in SBA-15.

Contrairement aux autres échantillons, et même en dépassant la température de fusion de SA, il n'est jamais observé de pics résolus de CU sur les spectres 1D.

Pour le spectre RMN de corrélation, une température $T - T_{\text{fusion}}$ proche de celle employée dans le cas du mélange CU + NHP est choisie. Sur tout l'intervalle de temps de mélange exploré, l'absence de corrélation intermoléculaire (exemple en Figure 73) confirme la suspicion que le mélange entre CU et SA est difficile, amenant à la formation d'agrégats de CU amorphe. Cependant, pour s'assurer que la non observation des taches de corrélations ne provient pas d'un manque de sensibilité, l'expérience ici présentée a été réalisée avec un plus grand nombre de scans (64 au lieu de 8).

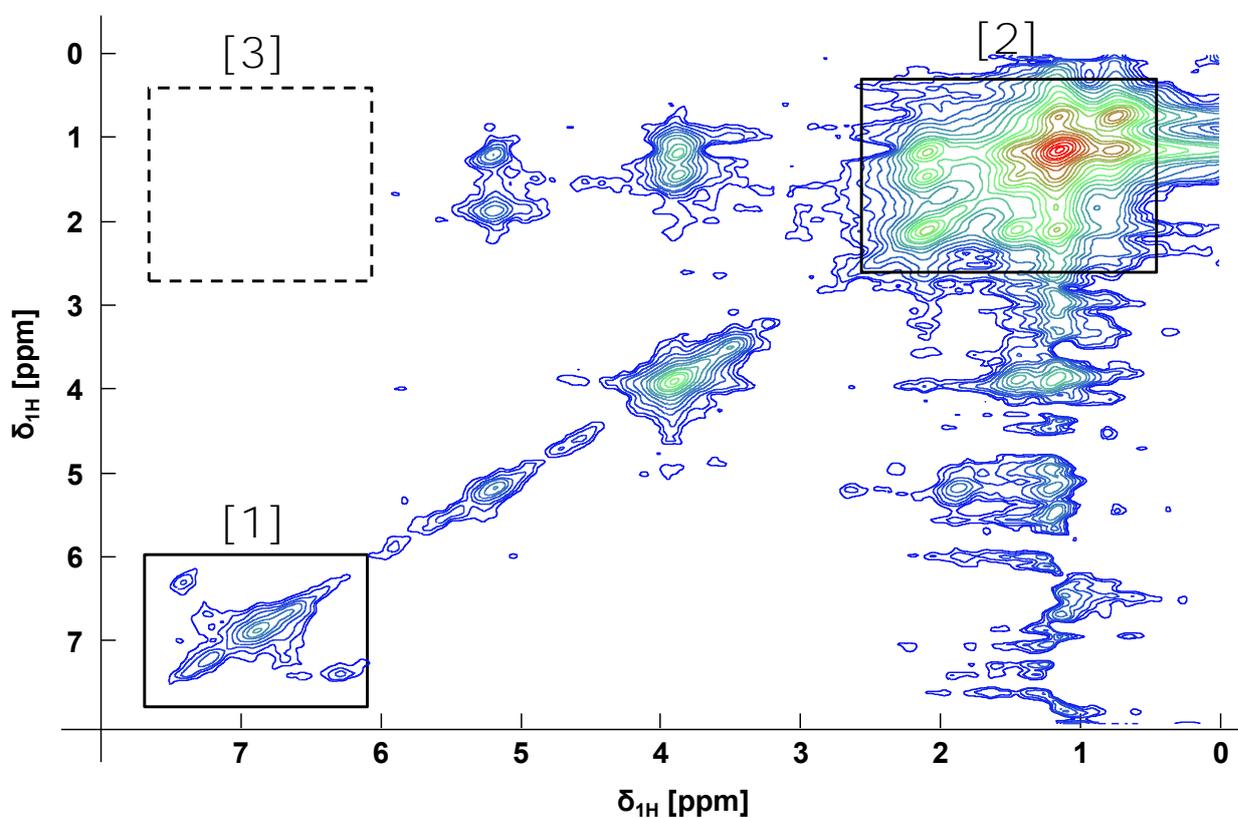


Figure 73 : $^1\text{H} / ^1\text{H}$ RFDR de SA + CU

$\nu_0 = 600\text{MHz}$; $\nu_{\text{MAS}} = 31,25\text{kHz}$; 64 scans ; $d_1 = 3\text{s}$; $t_{\text{mix}} = 102,4\text{ms}$; $TD_1 = 1024$; $T \approx 53^\circ\text{C}$

3.5.1.4. Conclusions obtenues à partir des mélanges binaires

Les mélanges binaires de 5% de CU avec les différents lipides et surfactants utilisés par la suite permettent d'établir un schéma expérimental à suivre pour la caractérisation de matériaux de complexité croissante. Dans un premier temps, l'observation des thermogrammes DSC permet de positionner les températures de transitions de phase affectant les composés auxquels la CU est susceptible d'être incorporée. Puis, l'évolution des spectres 1D proton des matériaux est mise en parallèle de ces températures. En effet, dans les cas où la CU est dispersée ou mélangée à un hôte, sa mobilité, et par conséquent la résolution de ses pics, augmente lorsque la température d'acquisition des spectres se rapproche de la fusion des matériaux hôtes. Enfin, en effectuant une série d'expériences de corrélation RFDR, il est possible de trouver un temps de mélange et une température tels que des corrélations intermoléculaires démontrent la distribution de la CU.

Les résultats obtenus sur les mélanges binaires permettent également de qualifier la qualité des mélanges entre la CU et ses hôtes potentiels dans les SLNs. Les conclusions suivantes sont ainsi mises en avant :

- La CU a une grande affinité pour le surfactant P123 :
 - o Mélange visuellement homogène
 - o Absence de transition de CU cristalline en DSC
 - o Mobilité de la CU parallèle à celle du P123
 - o Nombreuses corrélations CU / P123 en RMN 2D
- Seule la moitié de la CU s'est mélangée au NHP
 - o Présence d'une phase cristalline de CU en DSC, avec un degré de cristallinité de 46%
 - o Deux composantes spectrales décrivent la CU
 - o Mobilité d'une partie de la CU parallèle à celle du NHP
 - o Faibles corrélation CU / NHP en RMN 2D
- Les phases de CU et de SA se séparent
 - o Contraste visuel entre les phases de CU et de SA
 - o CU amorphe, car non détectée par DSC
 - o Absence de CU suivant la mobilité de SA
 - o Absence de corrélation CU / SA sur les spectres 2D

3.5.2. Vectorisation de la CU dans du SBA-15 non calciné

3.5.2.1. SBA-15 non calciné

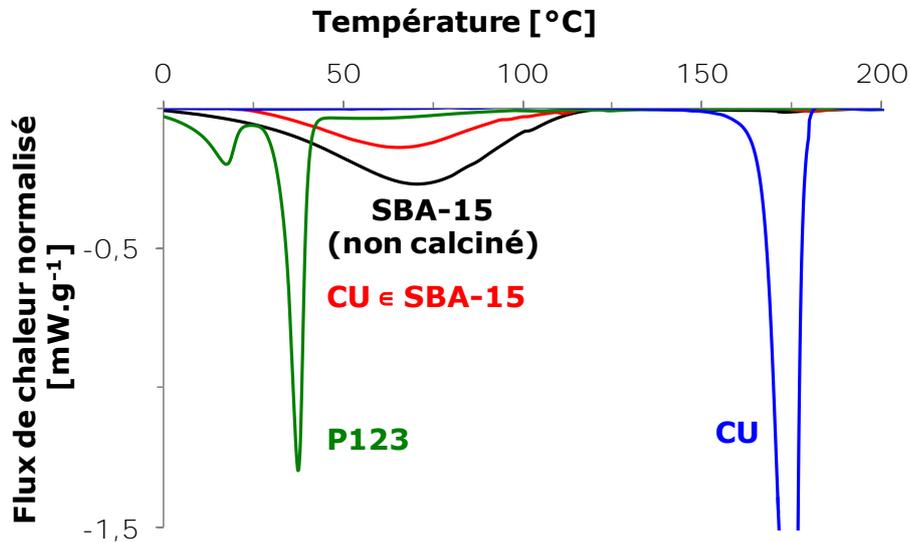


Figure 74 : Section entre 0°C et 200°C des thermogrammes de la matrice de SBA-15 non calcinée vide (en noir) et chargée en CU (en rouge). Sont aussi tracés les thermogrammes du P123 (en vert) et de la CU (en bleu).

L'impact de la matrice de silice sur la dispersion de SLNs est jugé en considérant dans un premier temps un échantillon de SBA-15. Comme vu précédemment, il s'agit d'un réseau ordonné de pores hexagonaux de silice, dont la structuration a été possible par la condensation de silice autour d'un réseau de micelles de surfactant (P123)²⁷¹. La DSC indique clairement que le passage d'un état dispersé à une forme micellaire du P123 s'accompagne d'un changement majeur dans ses propriétés dynamiques. Produisant initialement des endothermes clairement définies, les transitions de phases du P123 deviennent après l'ajout de la silice associées à une transition large pouvant être attribuée à une évolution progressive des diamètres des micelles.

En Figure 75 est présenté le spectre 2D acquis sur cet échantillon. Dans l'encadré rouge, est mis en évidence un contact entre le P123 et les silanols de la matrice, et ce dès le temps relativement court de 10ms.

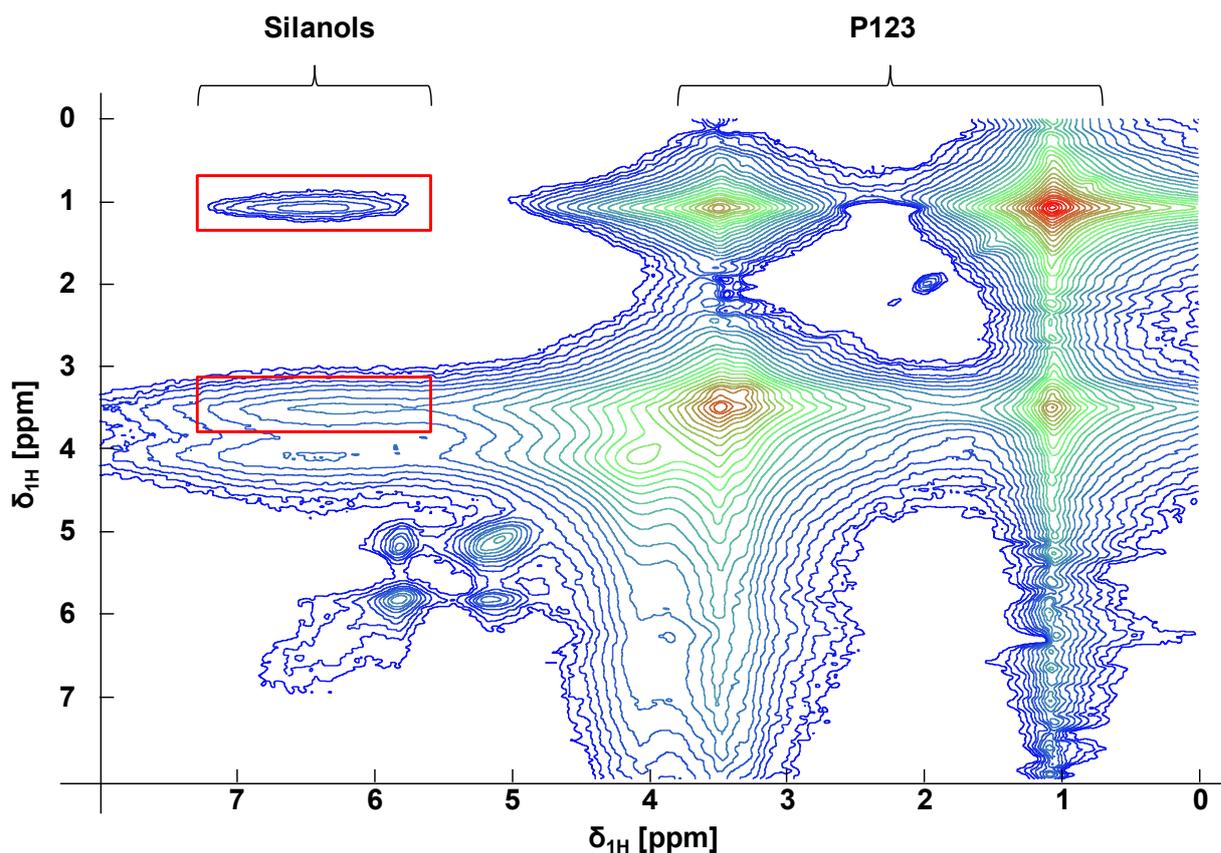


Figure 75 : $^1\text{H}/^1\text{H}$ RFDR de SBA-15 (P123+SiO₂)

$\nu_0=600\text{MHz}$; $\nu_{MAS}=12,5\text{ kHz}$; 8 scans ; $d_1=3\text{s}$; $t_{mix}=10\text{ms}$; $TD_i=1500$; $T\approx 33^\circ\text{C}$

3.5.2.2. SBA-15 non calciné chargé en CU

Fort de la connaissance des interactions deux à deux des différents composés utilisés dans l'élaboration des matériaux finaux que sont les SLNs chargées en CU dans une matrice de silice, le cas intermédiaire de micelles de P123 chargées en CU prises comme réseau de structure de la matrice de silice est considéré. Cet échantillon de CU \in SBA-15 a une signature (Figure 76) combinant celles des spectres du mélange binaire de CU+P123 et de la matrice de SBA-15 (P123 \in SiO₂). En effet, malgré l'encapsulation dans la silice, en se plaçant dans des conditions expérimentales appropriées, des pics relativement résolus de CU sont trouvés. Ils correspondent a fortiori à de la CU bien mélangée à du P123. De plus, la résolution de ces pics fluctue comme dans le mélange binaire CU + P123 avec la dynamique du surfactant. Cependant, ils sont désormais superposés à une composante large provenant des silanols.

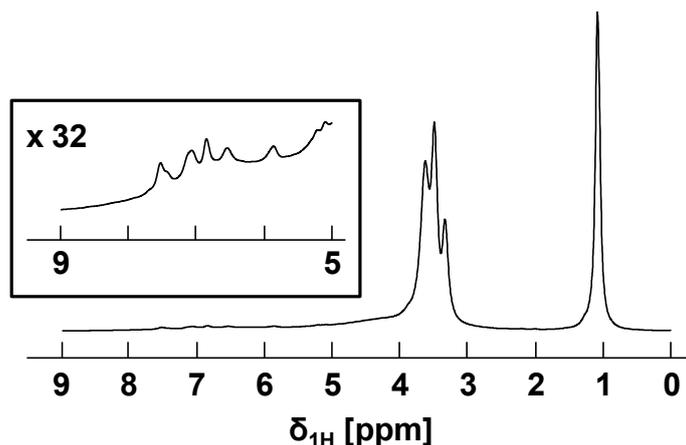


Figure 76 : Spectre ^1H de $\text{CU}+\text{P123}\in\text{SiO}_2$

$\nu_0=600\text{MHz}$; $\nu_{\text{MAS}}=33,00\text{ kHz}$; 256 scans ; $d_1=3\text{s}$; $t_{\text{echo}}=27,4\mu\text{s}$; $T>53^\circ\text{C}$

Pour vérifier la dispersion de la CU dans le surfactant après ajout d'une matrice de silice, des expériences RFDR sont menées sur cet échantillon de $\text{CU}\in\text{SBA-15}$. Les meilleurs résultats sont obtenus à des temps de mélange d'environ 30 (Figure 77) et 60 ms. Dans un premier temps, dans les encadrés [1] et [2] de la Figure 77 sont retrouvées les corrélations intramoléculaires au sein des sites de P123 et de ceux de CU. Puis, comme justifiée par l'encadré [3] et la projection de la ligne du P123 à 3,48 ppm, la double interaction du surfactant avec les parois de la matrice et les molécules de CU est établie. Il est aussi noté que le site de silanols à 3,63 ppm corrèle tant avec le P123 qu'avec la CU, correspondant ainsi à des silanols proches des micelles de P123 contenant la CU.

Si le P123 a une signature DSC très différente avant et après ajout de la silice, les expériences RMN de corrélations démontrent qu'il est toujours en mesure de contenir de la CU. Il est donc intéressant de noter que ce résultat est déjà prometteur quand aux possibilités de combiner matériaux organiques et inorganiques, pour la vectorisation de la CU.

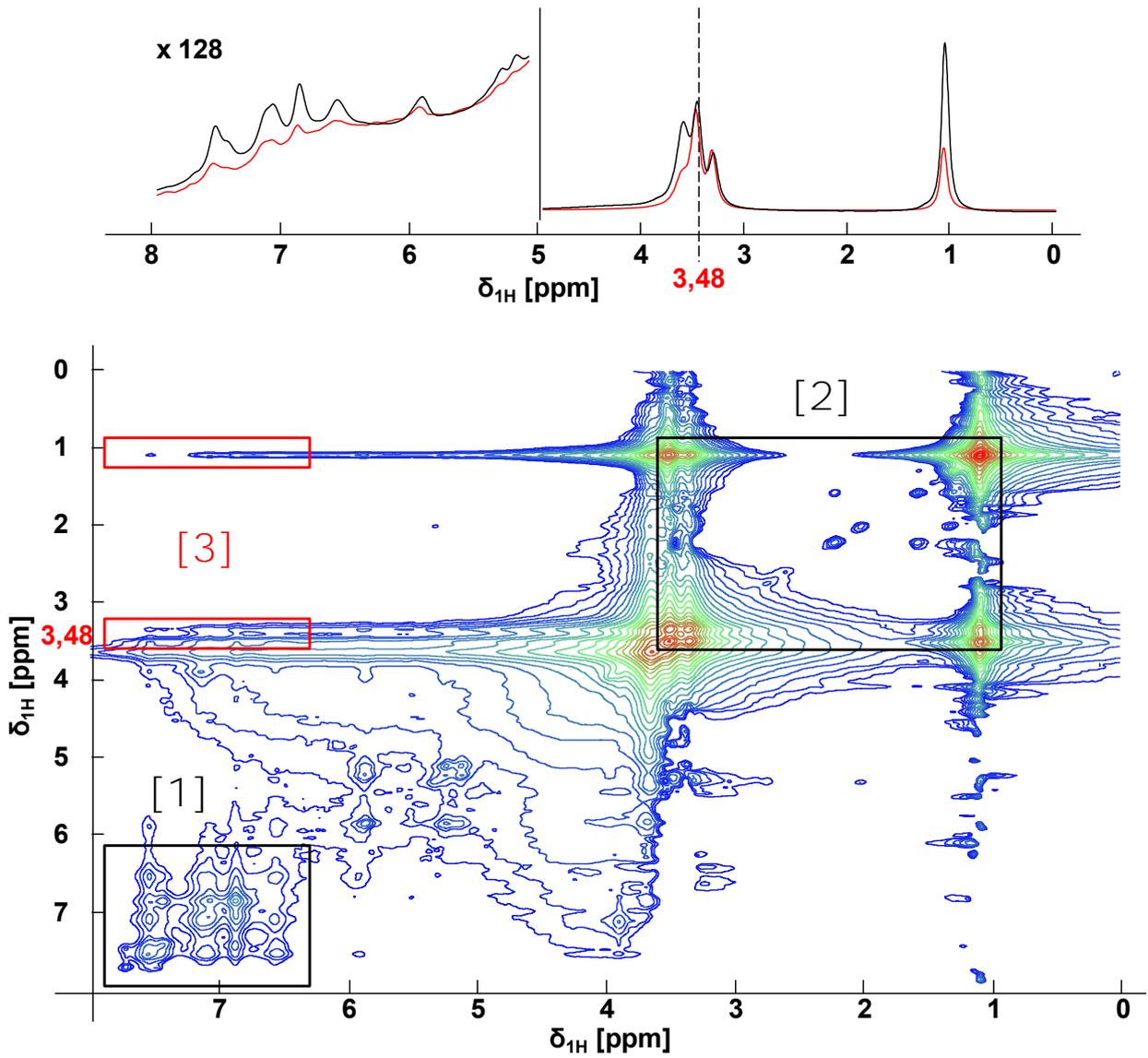


Figure 77 : $^1\text{H} / ^1\text{H}$ RFDR de $\text{CU} + \text{P123} \in \text{SiO}_2$

$\nu_0 = 600 \text{ MHz}$; $\nu_{\text{MAS}} = 33,0 \text{ kHz}$; 8 scans ; $d_1 = 3 \text{ s}$; $t_{\text{mix}} = 29,1 \text{ ms}$; $\text{TD}_i = 1200$; $T > 53^\circ \text{C}$

En noir, spectre 1D de $\text{CU} + \text{P123} \in \text{SiO}_2$. En rouge, projection de la ligne à 3,48 ppm. Sur ces spectres, pour mettre en évidence les sites issus de la CU, un zoom (x 128) est effectué entre 5 et 8 ppm

3.5.1. Partition de la CU dans SA€SBA-15

L'ensemble des spectres de CU+NHP€SBA-15 ont été acquis sur une instrumentation couramment disponible (600 MHz ; MAS de 35 kHz). Cependant, il n'a pas été possible d'obtenir de résultat probant pour la répartition de la CU dans ce matériau, car ni des corrélations avec le P123, ni avec le NHP n'ont été observées. De plus, dans l'éventualité d'en détecter une, l'absence de NHP€SBA-15 (échantillon sans CU), ne permet pas de disposer d'une référence à laquelle comparer les projections issues des spectres 2D. Il est donc choisi d'orienter la recherche sur le matériau hybride SA€SBA-15, comme justifié dans le paragraphe suivant.

3.5.2. Partition de la curcumine dans SA€SBA-15

La plus grande partie des expériences menées sur les matériaux hybrides l'ont été sur SA€SBA-15. Ce dernier a été favorisé par rapport à celui basé sur du NHP, car c'est à partir de ce matériau qu'avait été observée une cinétique de relargage en deux temps, dont l'origine a suscité des hypothèses restantes à démontrer¹⁷³. De plus, dans cette même étude, l'extraction des phases avait montré une concentration de CU plus élevée dans l'SA que dans le NHP. Ainsi, avec l'étude de SA€SBA-15, il est attendu d'observer plus aisément la double partition de la CU dans le P123 et l'SA.

En Figure 78, sont présentés les thermogrammes du matériau hybride avec et sans CU. Entre 30°C et 40°C, c'est-à-dire au niveau de la première transition de phase de l'SA, une légère différence est observée dans l'allure des courbes. La seule variable entre ces deux thermogrammes étant la présence de CU, la DSC fournit un indice quant à une présence de CU dans la phase de lipide ayant une structure déstabilisée (Figure 67); c'est-à-dire l'enveloppe externe des lipides des SLNs (Figure 40, cas n°2).

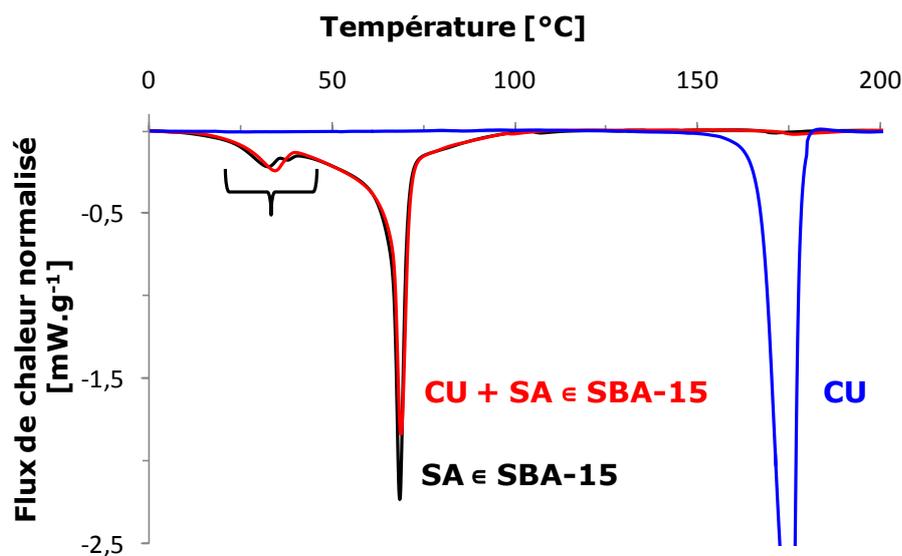


Figure 78 : Section entre 0 et 200°C des thermogrammes DSC du matériau hybride SA \in SBA-15 vide et chargé en CU. L'accolade souligne la modification d'allure entre les deux thermogrammes induite par la présence de CU. En revanche, les fluctuations observées vers 175°C ne sont pas significatives car présentes sur les deux matériaux.

En rappelant la faible masse de CU contenue dans un échantillon par rapport aux autres constituants, il n'est cependant pas possible de conclure quant à l'absence de transition associée à la CU à 176°C.

Les premières informations apportées par RMN sur la partition de la CU dans SA \in SBA-15 le sont par les spectres 1D, dans l'intervalle [4,5 ppm ; 8 ppm] de déplacement chimique, en fonction de la température. La Figure 79 montre qu'un léger gain en résolution est apporté à la CU avec la hausse de la température. Comme expliqué en section 1.3.2, ajouter un écho avant l'acquisition du signal permet de filtrer les raies subissant un élargissement de type homogène, comme les silanols par exemple. Ce filtrage permet donc de détecter un peu plus précisément la CU dans SA \in SBA-15.

Cette Figure 79 présente également le gain en résolution apporté par l'instrumentation lorsqu'il est possible de travailler à très haut champ et haute MAS. Dans les conditions optimales ($\nu_0=1\ 000\ \text{MHz}$; $\nu_{\text{MAS}}\approx 60\ \text{kHz}$; $t_{\text{echo}}\approx 0,9\ \text{ms}$; $T\approx 50^\circ\text{C}$), il est possible de résoudre partiellement certains protons aromatiques de la CU des silanols sous-jacents. Il est cependant intéressant de souligner que les avantages d'une instrumentation de pointe ne sont pas aussi marqués sur l'échantillon de SA \in SBA-15 chargé en CU que sur la CU cristalline. En effet, dans le cas de la CU pure, ce sont les forts couplages dipolaires $^1\text{H}-^1\text{H}$ qui sont la source principale

d'élargissement des raies. Comme illustré en Annexes 3 à 5, le découplage de cette interaction par un haut champ et une MAS rapide permet une amélioration sensible de la résolution et la détection de pics auparavant indistincts. En revanche, dans le matériau hybride, ce découplage n'est pas aussi efficace, car c'est l'hétérogénéité des environnements qui est la source de l'élargissement des sites de CU, de par les distributions de déplacement chimique qu'elle amène.

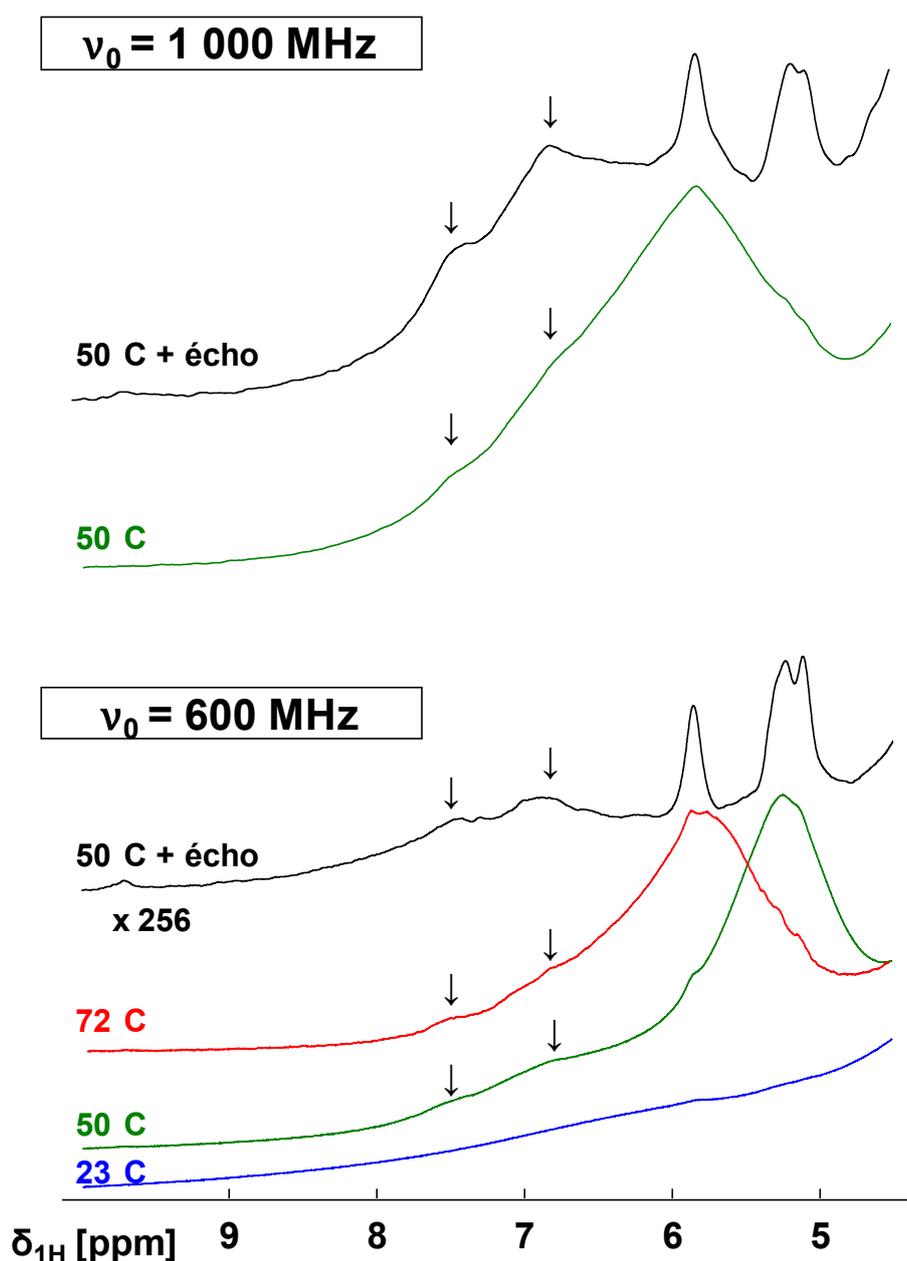


Figure 79 : Spectres ^1H de CU + SA ϵ SBA-15

Spectres à $\nu_0=600\ \text{MHz}$: $\nu_{MAS}=31,25\ \text{kHz}$; 64 scans ; $d_1=3\ \text{s}$ (+ $t_{echo}=1,9\ \text{ms}$)

Spectres à $\nu_0=1\ 000\ \text{MHz}$: $\nu_{MAS}=58,14\ \text{kHz}$; 768 scans ; $d_1=3\ \text{s}$ (+ $t_{echo}=0,86\ \text{ms}$) ; $T=51,5^\circ\text{C}$

Pour l'acquisition du spectre RFDR, il est choisi de se placer à une température de 51,5°C. En effet, à une MAS de 58 kHz, le système de refroidissement ne permettant pas d'atteindre une température inférieure aux transitions de phase de l'SA, la température est réglée à une valeur comprise entre les deux endothermes, à une différence de température par rapport à la fonte totale des lipides proche de celle employée dans le mélange binaire CU + NHP, condition expérimentale ayant permis l'obtention de corrélations lipides-CU. De plus, c'est à cette température qu'ont été observés les contacts surfactant-CU dans l'échantillon de CU@SBA-15. Sur l'ensemble des temps de mélanges explorés à 51,5°C à haut champ, 5 ms est celui s'étant révélé le plus adapté à obtenir un spectre présentant une corrélation intermoléculaire faisant intervenir la CU. Enfin, pour partiellement filtrer le signal des silanols, qui résulte en une composante large superposée à la CU, est ajouté à la séquence RFDR un écho avant l'acquisition. Celui-ci a été optimisé pour laisser apparaître un site résolu de CU superposé au signal des silanols, tout en conservant un rapport signal sur bruit acceptable, pour des spectres acquis avec un relativement faible nombre de scans.

Une indication de l'encapsulation d'une partie de la CU dans le réseau de P123 est apportée par le spectre présenté en Figure 80. En effet, dans la zone encadrée, il est discerné une tache de corrélation, certes superposée à celle entre le P123 et les silanols, faisant intervenir un site de CU résolu. Pour valider ce résultat, la projection de la ligne à 3,54 ppm de l'expérience 2D est comparée à deux autres spectres de référence : le spectre 1D de CU+SA@SBA, ainsi que celui acquis dans les mêmes conditions, mais sur un échantillon de SA@SBA-15 non chargé en CU. Ainsi, en Figure 81, il est possible de constater une bonne concordance du déplacement chimique de la tache de corrélation avec le site de CU, associée à l'absence de signal à la même position sur le matériau vide. En revanche, si la DSC avait suggéré la présence d'une population de CU dans l'SA, il n'a pas été possible de la démontrer par RMN à cette température.

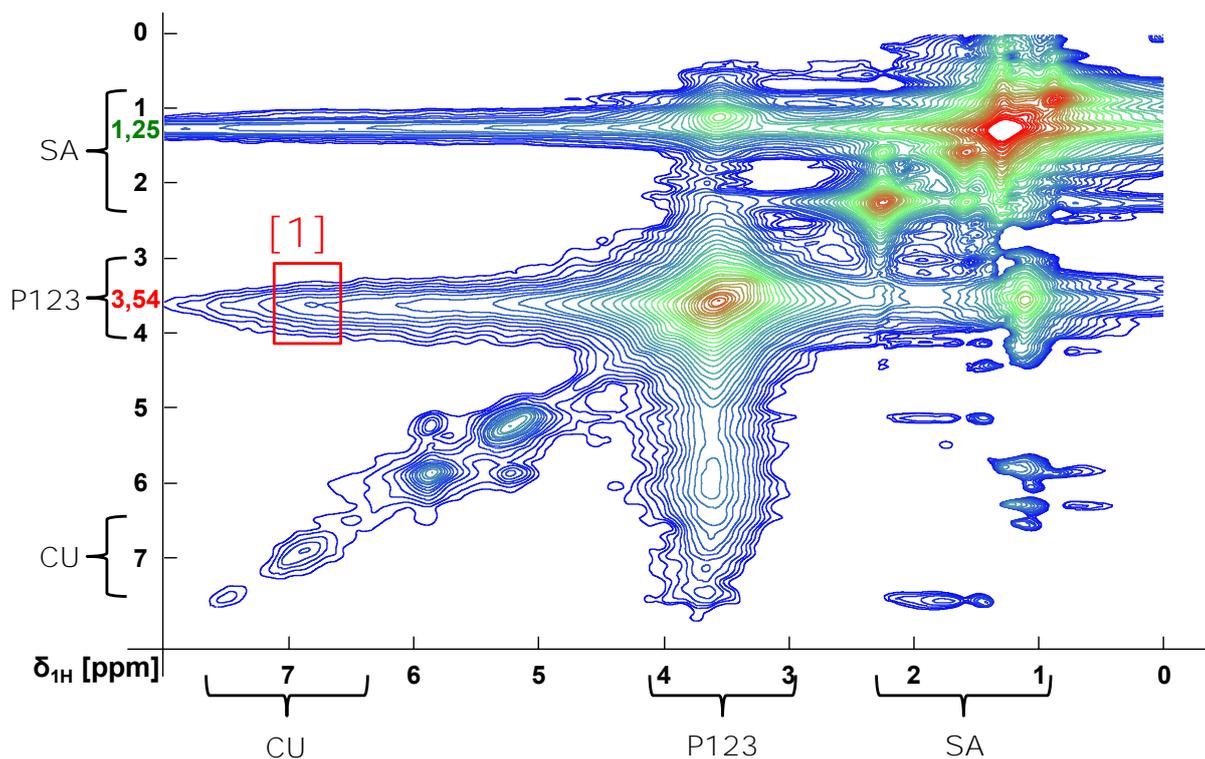


Figure 80 : $^1\text{H}/^1\text{H}$ RFDR de $\text{CU} \in \text{SA} \in \text{SBA-15}$

$\nu_0=1 \text{ GHz}$; $\nu_{\text{MAS}}=58,14 \text{ kHz}$; 16 scans ; $d_1=3\text{s}$; $t_{\text{mix}}=5,16\text{ms}$; $TD_i=688$; $T=51,5^\circ\text{C}$; $t_{\text{echo}}=0,86\text{ms}$

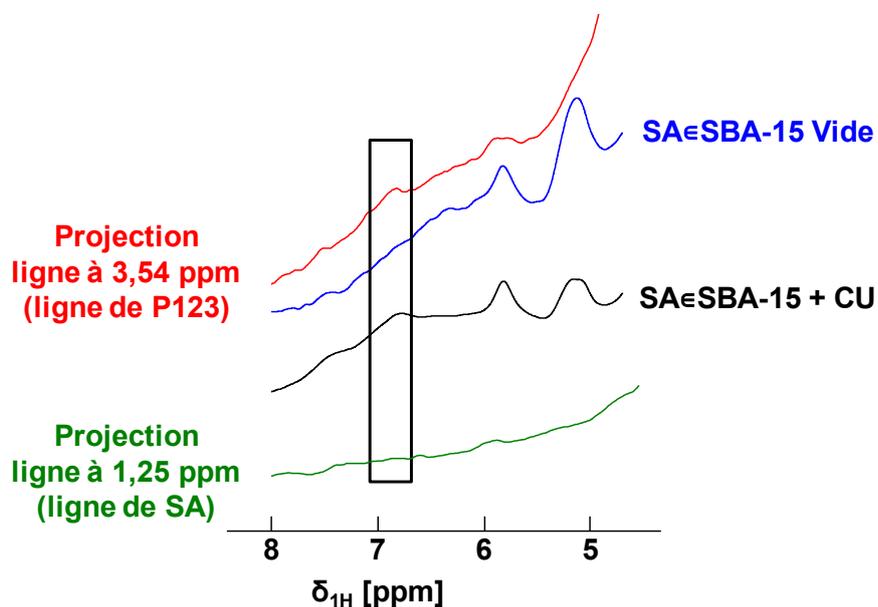


Figure 81 : En bleu et en noir, spectres 1D de $\text{SA} \in \text{SBA-15}$, respectivement vide et chargé en CU. Ils permettent de distinguer vers 6,8 ppm un site provenant de la CU. En rouge est tracée la projection de la ligne à 3,54 ppm du P123 issue de la Figure 80. Elle permet de vérifier la corrélation CU / surfactant. En vert est tracée la projection issue de la ligne à 1,25 ppm d'SA. Elle montre que dans ces conditions, il n'est pas observé de corrélation CU / lipide.

Cette absence de corrélation avec l'SA peut être mise en perspective des données obtenues jusqu'à présent. Tout d'abord, les résultats portés par les mélanges binaires montrent que la CU a une bonne affinité pour le P123, dans laquelle elle est aisément dispersée. De plus, à la température d'acquisition de la Figure 80, le système est placé entre les deux températures de fusion des lipides : la phase déstabilisée de surface est fondue, tandis que le cœur est toujours solide. De ce fait, il est possible d'émettre l'hypothèse que la population de CU attendue dans l'SA soit située dans cette zone coronale des lipides. Deux arguments étayent cette hypothèse. D'une part, la structure de cette partie de la SLN est désordonnée, c'est-à-dire qu'elle peut plus aisément accommoder l'inclusion d'une petite molécule que l'SA cristallin. D'autre part, l'étude des propriétés dynamiques (menée en 3.4.2) a démontré qu'elle est une interface naturelle avec le P123. Ainsi, dans les conditions expérimentales de température permettant de partiellement résoudre les sites de CU, l'intensité des couplages dipolaires établis entre la CU et l'SA est *a fortiori* insuffisante à l'établissement de corrélations interatomiques, car ce composé hôte est fondu.

Pour accéder à la population de CU au contact des lipides, il serait nécessaire de pouvoir acquérir des spectres en-deçà des deux transitions de phase des lipides. Cependant, pour une fréquence de rotation de 58 kHz, le dispositif de refroidissement de la sonde MAS haute vitesse n'a permis d'obtenir qu'une température stable minimale de 28,5°C, soit au cours de la première transition de phase. De plus, il est incertain que le filtrage par écho de spin soit véritablement efficace à cette température, celui-ci filtrant tout aussi bien les composantes larges issues des silanols, que celles d'une CU plus rigide à cette température.

3.6. Conclusions

Ce chapitre consacré à l'étude de matériaux hybrides alliant la vectorisation de la CU dans des SLNs, elles-mêmes dans du SBA-15, était initié par deux objectifs. Le premier était d'expliquer les différences dans les profils de relargage de la CU en fonction de la nature des lipides (SA ou NHP) utilisés dans les SLNs. L'hypothèse à tester reposait sur une différence de partition de la CU selon les matériaux. Le second objectif était d'étendre les techniques communément employées pour la caractérisation des SLNs en explorant le potentiel des dernières avancées en RMN du solide détectée ^1H .

La complexité de ces systèmes est intrinsèquement liée à l'hétérogénéité des matériaux. Pour les caractériser, un protocole précis a été établi. Il débute par une première étape de simplification du problème, en considérant des mélanges binaires des constituants. Ils permettent notamment de juger l'affinité de la CU avec les différents hôtes potentiels et sa capacité à se mélanger à eux. Pour chacun de ces sous-systèmes, il est apparu crucial de caractériser leurs propriétés thermiques, en mettant en parallèle l'évolution de leurs spectres ^1H avec leurs thermogrammes DSC. Ceci permet ensuite, de mener des expériences de corrélation homonucléaire dans des conditions optimales. Celles-ci correspondent à une température où la résolution est suffisante, tout en conservant la possibilité d'établir des corrélations via les couplages dipolaires intermoléculaires. Dans une deuxième étape, les propriétés des composés confinés dans la matrice de silice sont examinées selon le même schéma. Enfin, lors de la caractérisation des matériaux hybrides complets, les résultats des expériences 2D sont validés en comparant des échantillons vides et chargés en CU.

L'analyse couplée DSC / RMN a amené à un modèle de la structuration des lipides dans les matériaux hybrides. En effet, aussi bien pour l'SA que le NHP, il est montré qu'il existe deux étapes successives de fonte des lipides. Celle à haute température correspond à une partie cristalline ordonnée. En revanche, celle à plus basse température est produite par une phase polymorphe. Cette phase déstabilisée est interprétée grâce à des spectres de corrélation dipolaire mettant en évidence des couplages dipolaires entre les lipides et le surfactant. De plus, la comparaison des spectres carbone CP et INEPT du P123 en fonction de la température semble confirmer la présence de deux populations de surfactant : une rigide structurant les mésopores du SBA-15, l'autre dont la mobilité suit celle des lipides, correspondant au surfactant au contact des lipides dans les macropores. Par conséquent, un modèle de structure en deux couches pour les lipides des SLNs est proposé. Dans les macropores du matériau, le cœur des SLNs conserve

une structure cristalline ordonnée stable, tandis qu'à sa surface une phase polymorphe se forme suite à la déstabilisation apportée par l'interface de P123.

La détermination *in-situ* de la partition de la CU dans SA \in SBA-15 et NHP \in SBA-15 doit ainsi surmonter des difficultés majeures liées à la grande hétérogénéité structurale et dynamique des matériaux. Comme la quantité de CU effectivement contenue dans le matériau (1,7% de la masse totale d'échantillon) est faible, et comme le travail est mené en abondance isotopique naturelle, il est requis d'acquérir des spectres ^1H soumis aux contraintes d'une résolution limitée. Pour tenter d'y pallier, le matériau SA \in SBA-15 a été caractérisé sur des équipements à la pointe de la technologie en termes de champ magnétique (23,5 T) et de vitesse MAS (60 kHz). Cependant, les gains en résolutions sont restés limités, de part une source d'élargissement des raies principalement issue de l'hétérogénéité du matériau et donc de distributions des déplacements chimiques. De plus, la nouvelle technologie de rotation MAS haute vitesse ne permet pas encore d'accéder à toute la gamme de température nécessaire à l'étude des composés étudiés. Finalement, les résultats obtenus permettent seulement d'accéder à la fraction de CU incluse dans le P123, via l'observation d'une faible corrélation sur un spectre RFDR acquis dans des conditions optimisées. Cette observation est cependant concordante avec les conclusions issues de l'analyse des mélanges binaires qui démontrent un mélange aisé de la CU au P123. Si la DSC de SA \in SBA-15, (et les résultats de partition de la CU après extraction du matériau¹⁷³), suggérerait aussi une dispersion de CU dans l'SA, cette composante n'a pu être observée.

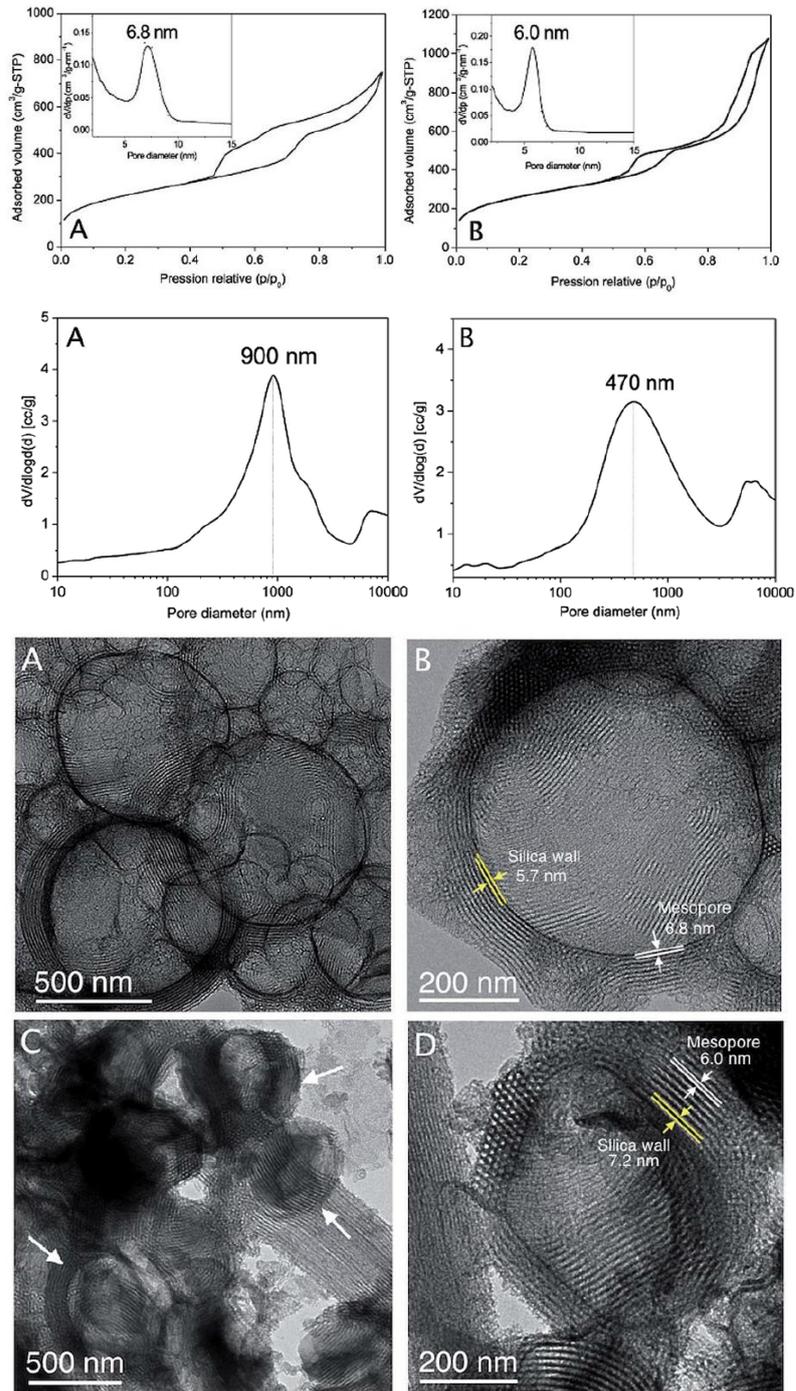
Établir une corrélation CU / lipide se révèle difficile de par les propriétés thermiques des lipides. En effet, le fait qu'en se plaçant entre les deux températures de fusion de l'SA, aucune corrélation ne soit établi avec l'SA, a permis d'émettre un raisonnement suggérant que la CU en contact avec les lipides est dispersée dans la couronne des SLNs. Accéder à cette composante requiert donc de travailler à basse température (en dessous de toute température de fusion des lipides).

De ce fait, il n'a pas encore été possible de proposer une stratégie de caractérisation de la partition de la CU afin d'expliquer les différents profils de relargage dans les SLNs hybrides. En revanche, la caractérisation de la dynamique des différents constituants a apporté des éléments novateurs. En effet, cette étude a permis de montrer une structuration des lipides en deux phases polymorphes, dont les températures de fusion sont dépendantes de la nature des lipides (NHP ou SA). Une perspective intéressante réside ainsi dans la caractérisation couplant DSC et RMN pour

étudier le lien la composition lipidique des matériaux, la dynamique des compartiments, et les comportements de relargage de la CU.

In fine, cette étude loin d'être terminée et les perspectives de travail sur ces matériaux reposent en partie sur les possibilités d'effectuer de nouvelles expériences à partir de curcumine ayant ses carbones aromatiques marqués ^{13}C . En effet, à partir de spectres de corrélation hétéronucléaire $^1\text{H}/^{13}\text{C}$, il serait alors possible de s'affranchir des problèmes de résolution des spectres ^1H et d'établir les corrélations CU / P123 et CU / lipides. De plus, en travaillant à différentes températures, par rapport aux transitions de phase des lipides, il serait possible de sonder si la CU a effectivement une répartition préférentielle dans la surface des SLNs.

Annexe 3



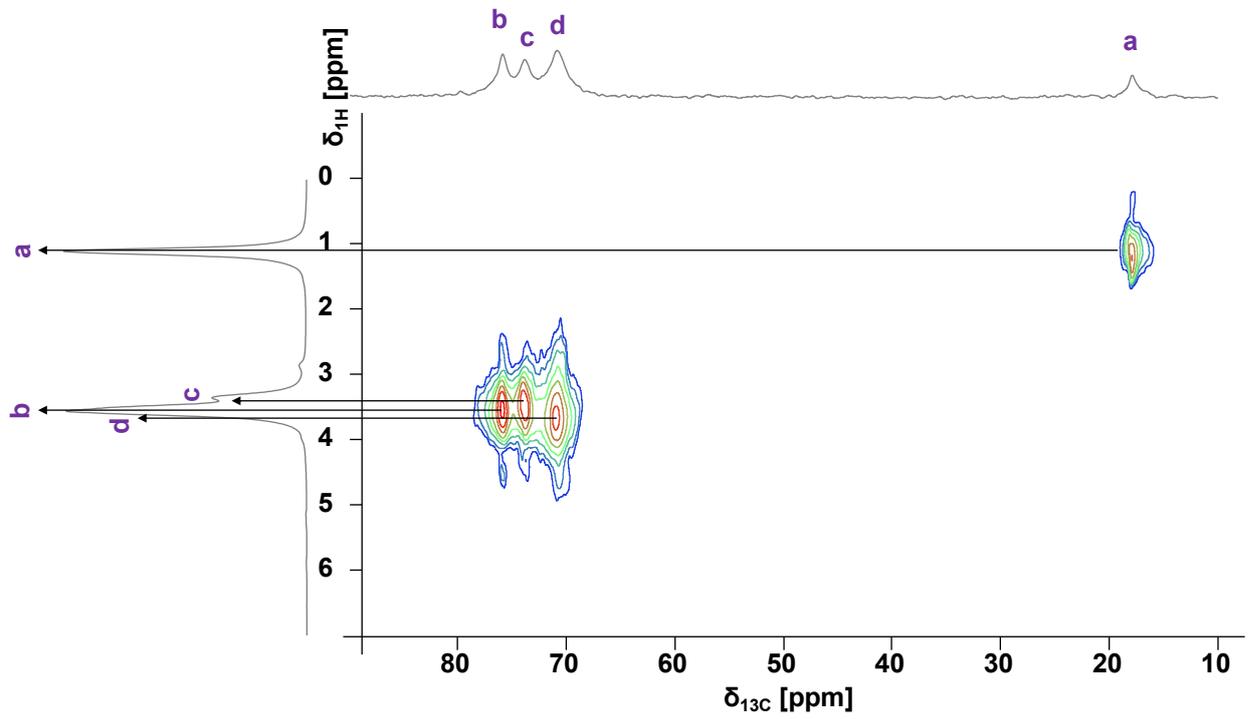
*Annexe 3 : Mise en évidence de la double porosité des matériaux hybrides SLN \in SBA-15
De haut en bas : Isothermes d'adsorption-désorption d'azote et distribution de la taille des mésopores,
Mesures de porosimétrie par intrusion de mercure (distribution de la taille des macropores)*

Images de microscopie électronique en transmission

Pour chaque figure, les données de à gauche sont relatives à NHP \in SBA-15, à droite à SA \in SBA-15

Figures adaptée de la publication de Kim et al¹⁷³

Annexe 4

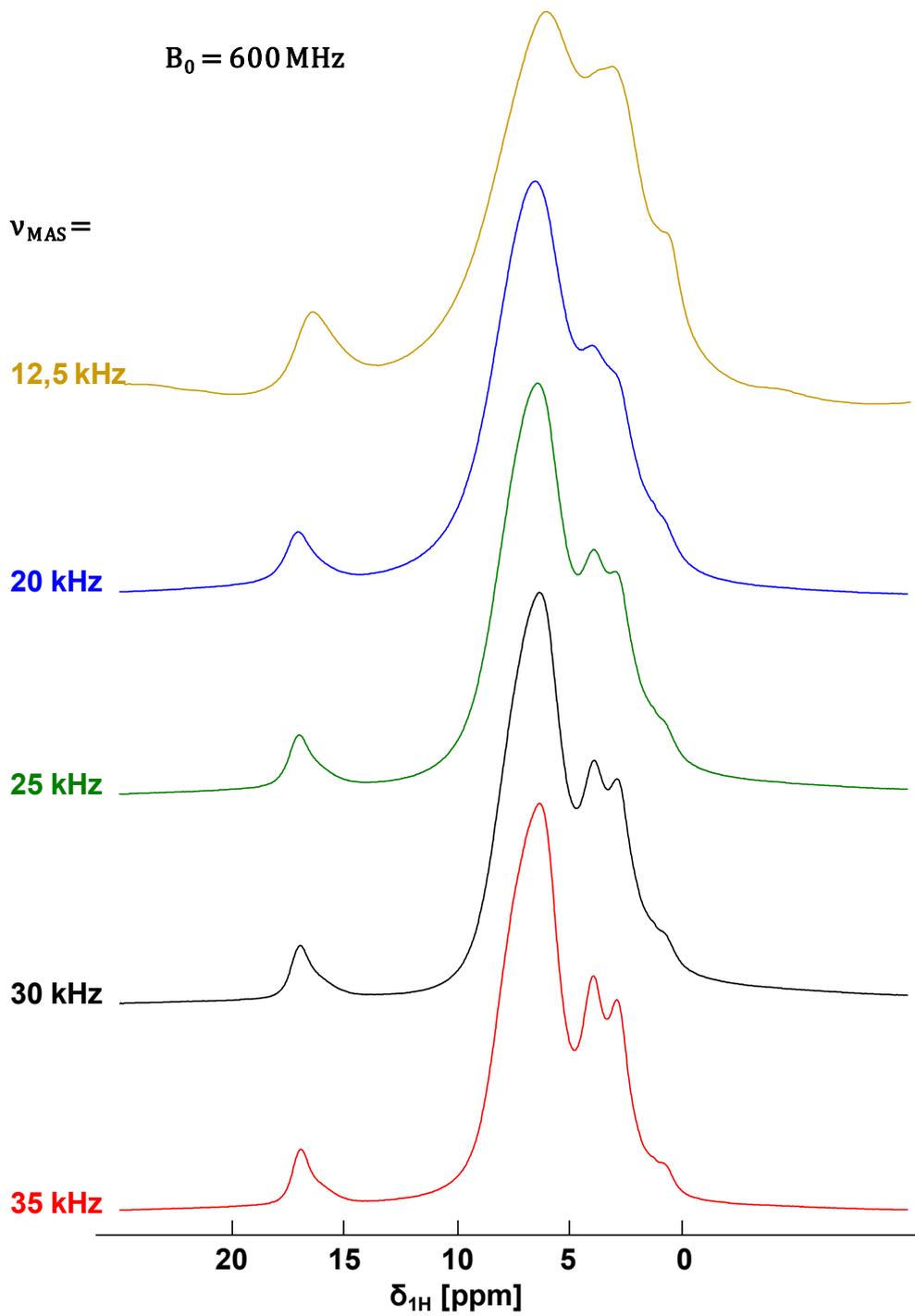


Annexe 4 : Attribution du spectre proton du P123 à partir du spectre de corrélation $^1\text{H}/^{13}\text{C}$.

En gris sont tracées les projections.

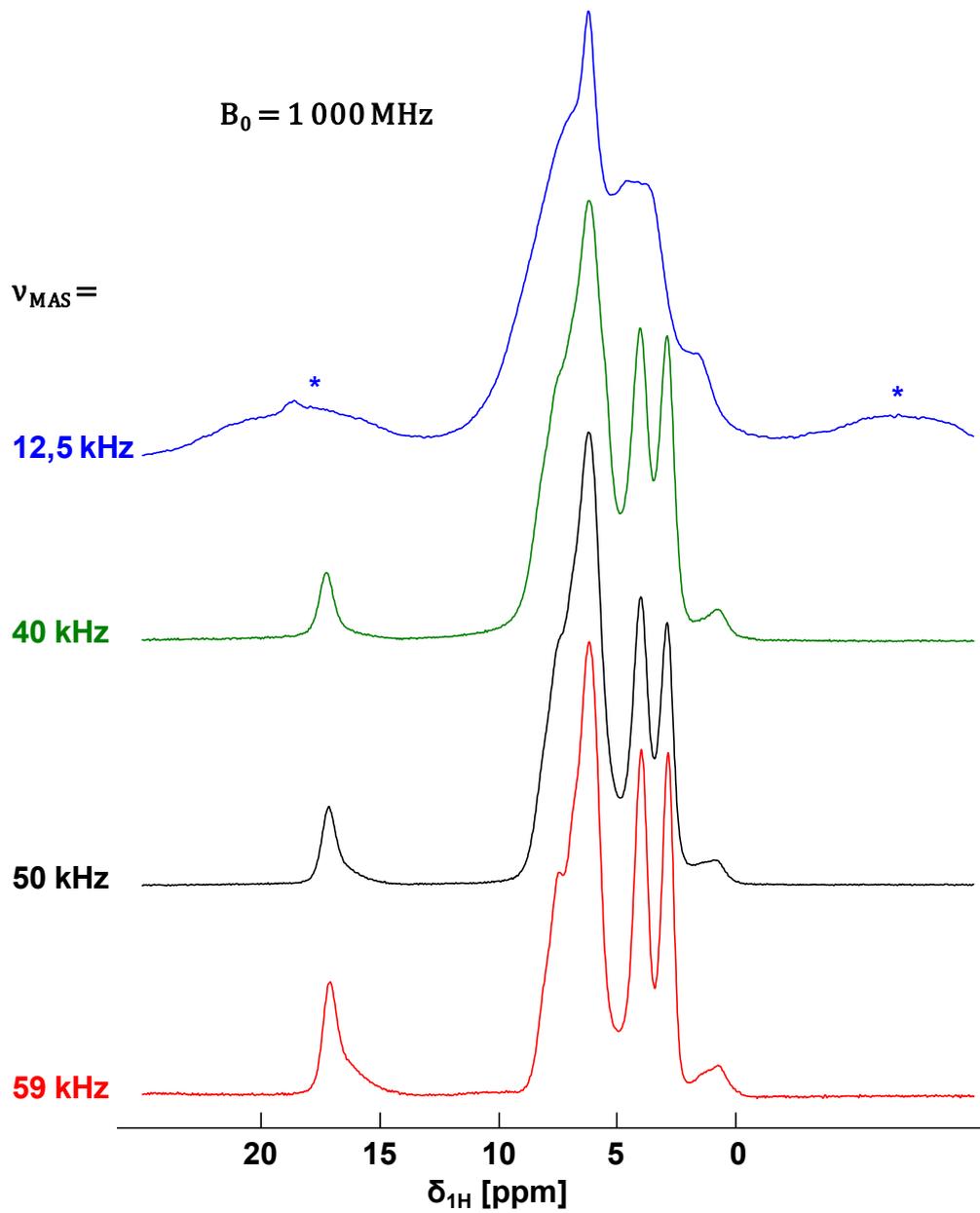
$\nu_0=600\text{MHz}$; $\nu_{\text{MAS}}=14,43\text{ kHz}$; 128 scans ; $d_1=3\text{s}$; $t_{\text{contact}} = 1\text{ms}$; $TD_i=128$

Annexe 5



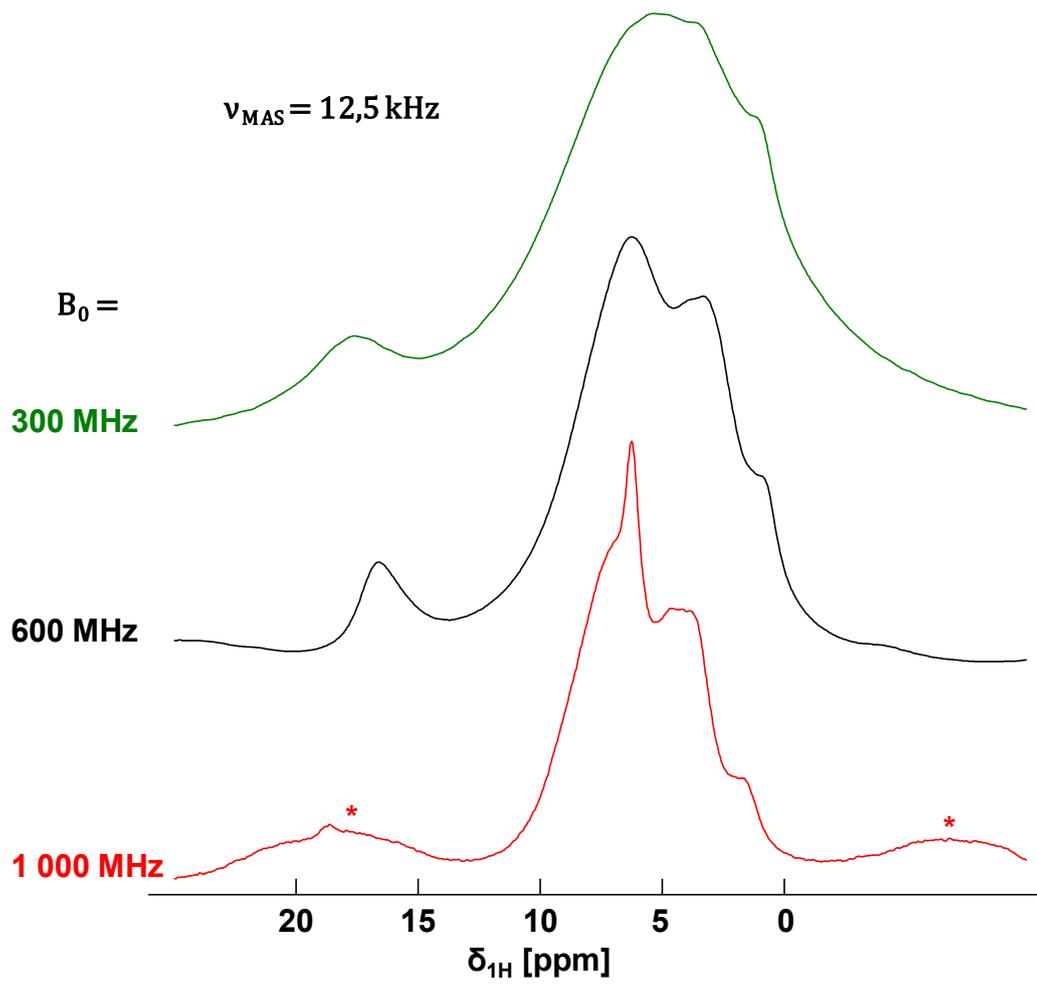
Annexe 5 : Spectres ^1H de CU cristalline enregistrés à champ constant (600 MHz), pour des vitesses MAS croissantes.

Annexe 6



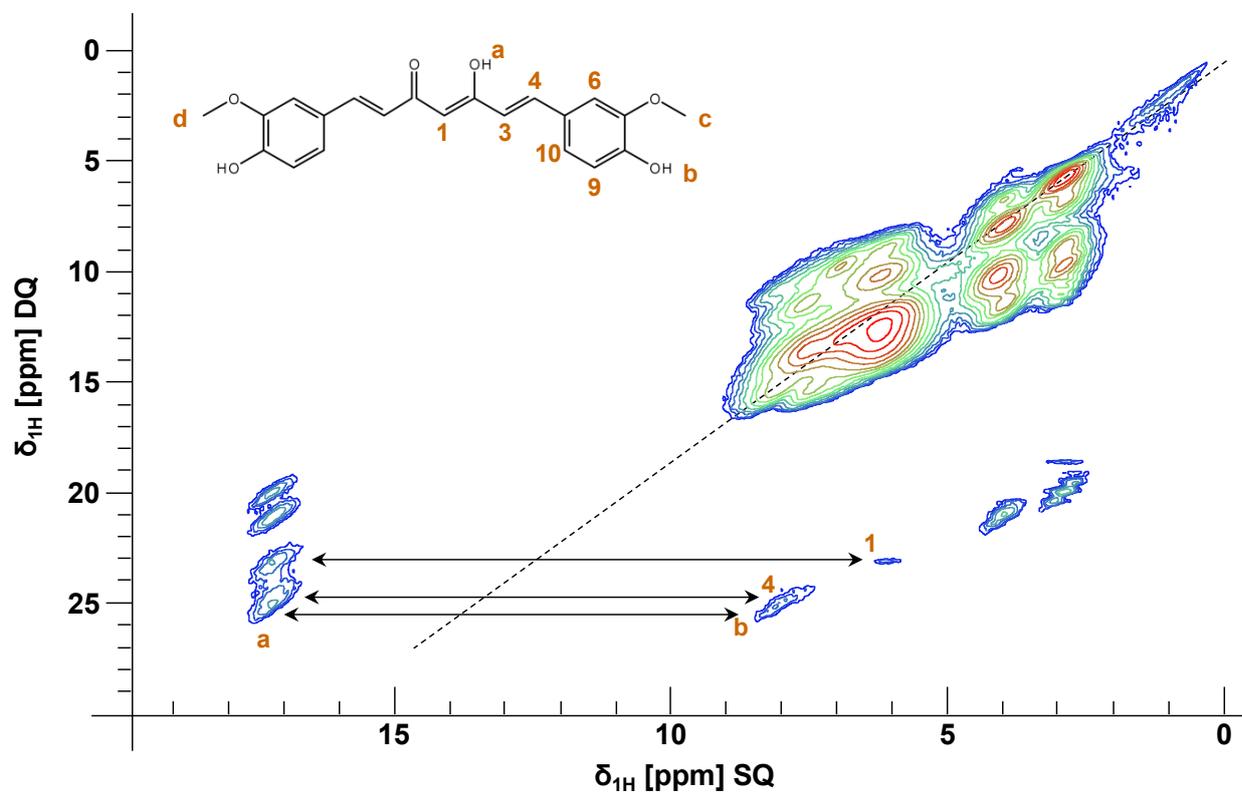
Annexe 6 : ^1H de CU cristalline enregistrés à champ constant (1 000 MHz), pour des vitesses MAS croissantes.

Annexe 7



Annexe 7 : ^1H de CU cristalline enregistrés à MAS constante (12,5 kHz), pour des champs B_0 croissants.

Annexe 8

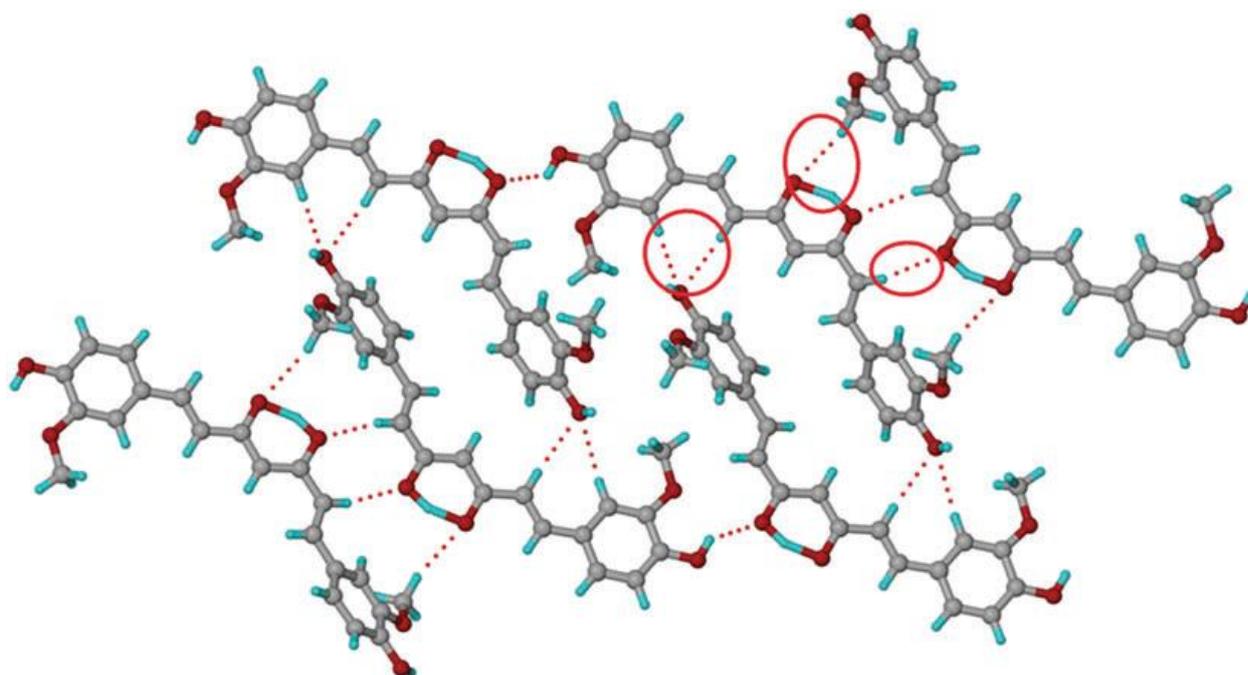
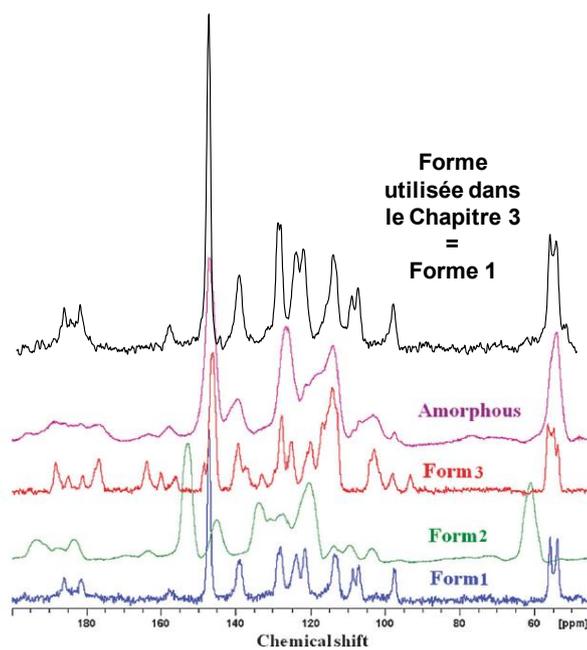


Annexe 8 : Spectre de corrélation SQ/DQ de la CU ayant permit l'attribution des sites 1 et 4.

$\nu_0=1\text{GHz}$; $\nu_{MAS}=59\text{ kHz}$; 16 scans ; $d_1=4\text{s}$; $t_z = 1\text{ms}$; $TD_1=320$

La séquence est précédée d'une pré-saturation de 100 impulsions toutes les 0,1ms

Annexe 9



Annexe 9 :

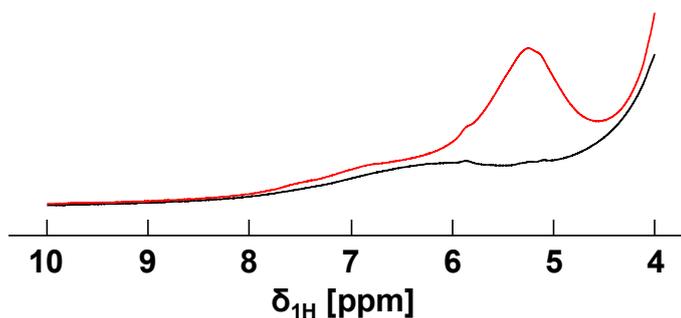
En haut, la comparaison du spectre ¹³C de la CU utilisée dans ce travail avec ceux des différents polymorphes étudiés par Sanphui et al. montre qu'il s'agit de CU cristalline dans sa forme N°1.

$\nu_0=600\text{MHz}$; $\nu_{\text{MAS}}=14,43\text{ kHz}$; 128 scans ; $d_1=3\text{s}$; $t_{\text{contact}}=1\text{ms}$; $lb=50\text{Hz}$

En bas, liaisons hydrogène et empilement moléculaire de la CU dans sa forme cristalline N°1.

Figures adaptées de la publication de Sanphui²⁴⁷

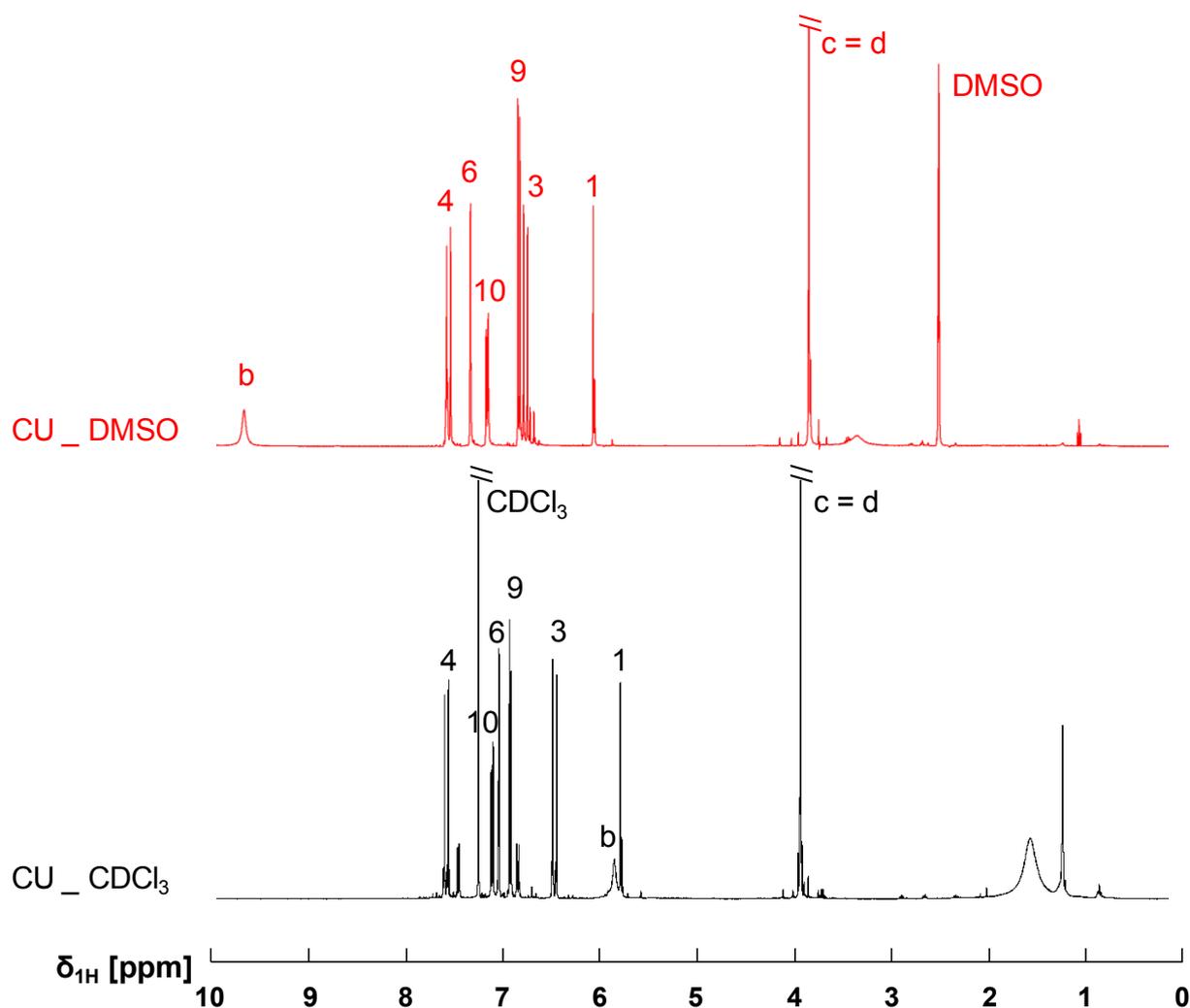
Annexe 10



*Annexe 10 : Spectres ^1H de SA ϵ SBA-15 à 49,4°C
 $\nu_0=600\text{MHz}$; $\nu_{\text{MAS}}=31,25\text{ kHz}$; 256 scans ; $d_1=3\text{s}$*

Deux spectres de SA ϵ SBA-15 à la même température. Le spectre en noir, a été acquis sur un échantillon qui avait été préalablement chauffé à 80°C, puis repassé rapidement à 12°C, avant une évolution progressive vers la température d'acquisition du spectre à 49,4°C. En revanche, celui en rouge est obtenu en suivant le protocole toujours utilisé par la suite ; c'est-à-dire partir d'échantillons stockés à température ambiante, soumis à un chauffage par pas de 5°C maximum avec 1 heure de stabilisation entre chaque variation.

Annexe 11

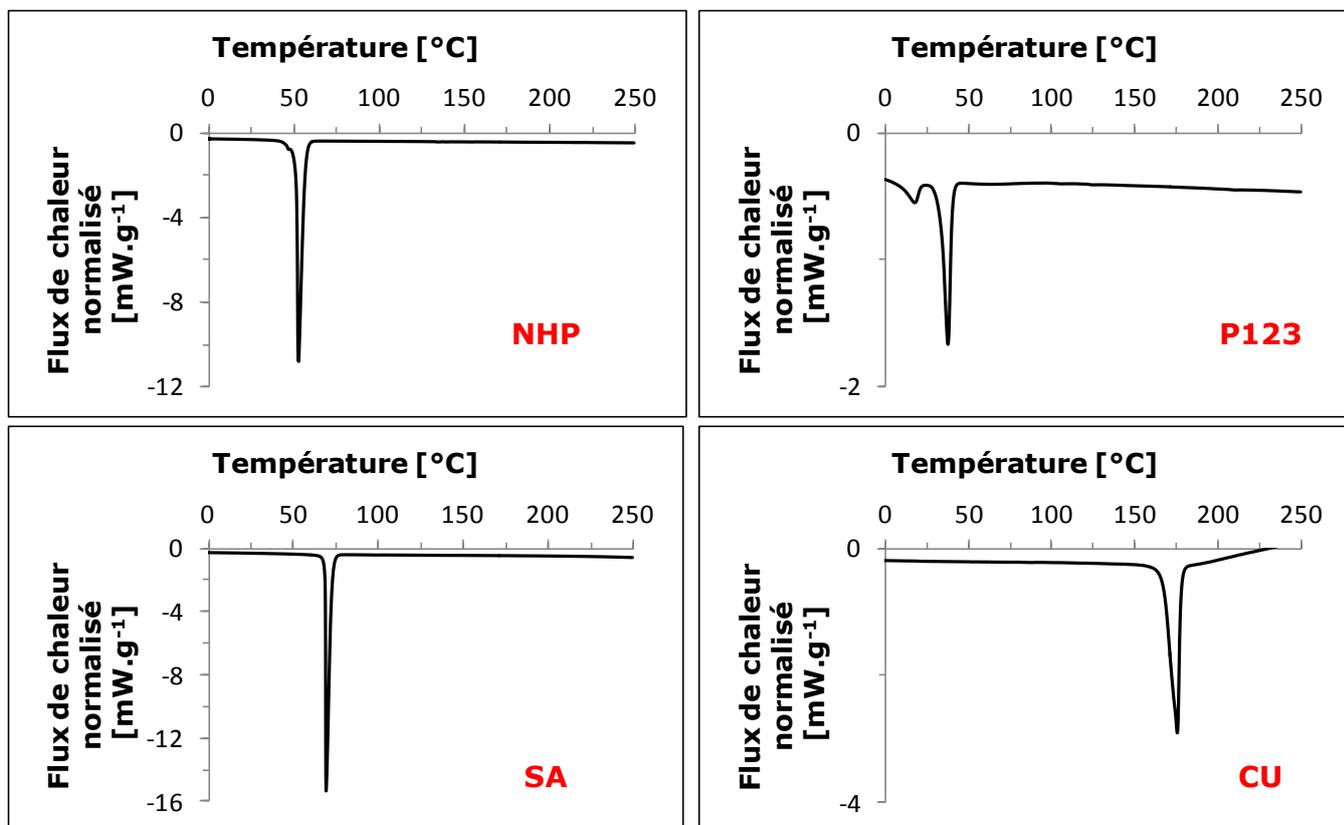


CU_DMSO								
δ [ppm]	9,65	7,55	7,32	7,15	6,82	6,76	6,06	3,84
^1H	b	4	6	10	9	3	1	c = d
CU_CDCl ₃								
δ [ppm]	7,58	7,10	7,03	6,91	6,46	5,84	5,78	3,93
^1H	4	10	6	9	3	b	1	c = d

Annexe 11 : Spectres ^1H de CU ; solvant DMSO (rouge)^{242,243}, solvant CDCl_3 (noir)²⁷² à 70 et 7 mmol.L⁻¹
 $\nu_0=400$ MHz ; $d_1=3$ s ; 16 scans (DMSO) : 256 scans (CDCl_3)

La comparaison des déplacements chimiques des sites résolus de CU des mélanges binaires avec le spectre noir permet d'exclure leur attribution à de la CU dissoute dans du CDCl_3 résiduel.

Annexe 12



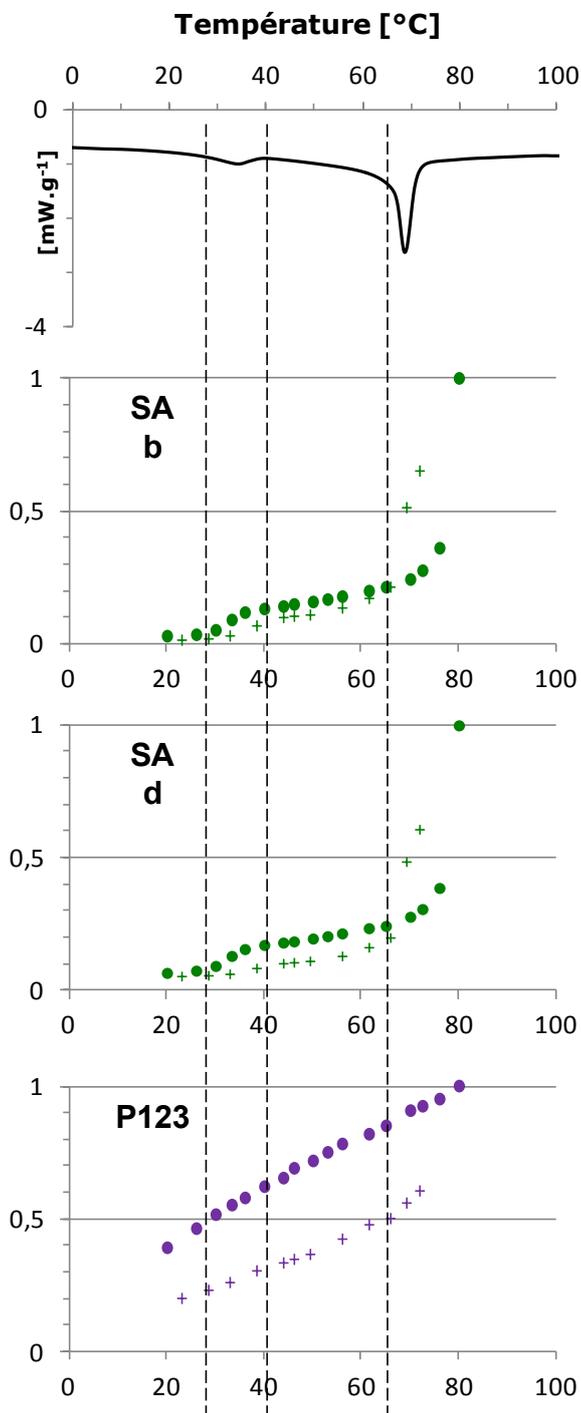
Annexe 12 : Thermogrammes des composés purs utilisés pour préparer les SLNs.

Les valeurs relevées de températures de fusion et les enthalpies associées calculées sont consistantes avec celles attendues pour les phases cristallines de NHP^{255,256}, SA²⁵⁴ et CU²⁴⁷. De part la multiplicité des arrangements des polymères de P123, de nombreuses phases existent, rendant son thermogramme complexe. De plus, les diagrammes de phase sont fortement dépendent de la quantité d'eau aussi présente^{240,241}. Ici, deux endothermes sont observés à 17,5°C et 37,5°C. La seconde correspondant visuellement au passage à l'état liquide de l'échantillon.

	NHP	SA	CU
T_{fus} [C]	52,8	69,4	175,6
Enthalpie de fusion [J.g ⁻¹]	226	228	107
Enthalpie de fusion [kJ.mol ⁻¹]	108,7	64,9	39,4

Annexe 13

CU + SA \in SBA-15



Annexe 13 : Thermogramme DSC et évolution parallèle de l'intensité normalisée des pics du spectre ^1H de CU+SA \in SBA-15. Les points expérimentaux à 80°C sont confondus suite à la normalisation. Il est montré que les transitions de phases débutent et finissent aux mêmes températures pour deux jeux de données acquises à différentes vitesses MAS : $v_{\text{MAS}}=12,50$ kHz (Ronds) et : $v_{\text{MAS}}=31,25$ kHz (Croix).

Conclusion générale

Dans ce travail, deux classes de nanomatériaux dédiés à la vectorisation de principes actifs ont été étudiées. La distinction majeure sur leurs natures réside dans leur capacité d'accueillir des principes actifs soit hydrophiles (ici, le nitroprussiate de sodium, S[NP]), soit hydrophobes (ici, la curcumine, CU). Pour mener ces projets, les opportunités apportées par la RMN du solide ont été exploitées. En effet, la sensibilité de cette technique expérimentale aux phénomènes survenant aux échelles nanométriques a permis de caractériser les propriétés structurales et dynamiques ainsi que les interactions hôtes / invités qui régissent les activités pharmaceutiques de ces matériaux. Pour chacun des systèmes considérés, les analyses ont été conduites sur des matériaux plus complexes que des simples associations de molécules confinées dans un hôte nano-porteur. Dans le cas du $S[NP] \in SiO_2$, il a été montré qu'une troisième espèce, en l'occurrence l'eau, permettait de moduler les propriétés structurales du principe actif. Pour la CU, le cas d'une double encapsulation dans des nanoparticules lipidiques solides SLNs et une matrice de silice (SBA-15) a été traité. Ainsi, chacun des deux systèmes a requis l'établissement d'un protocole d'analyse qui lui était propre.

Le $SNP \in SiO_2$ fut considéré en prenant avantage de la multiplicité de la nature des noyaux sensibles en RMN présents dans ce matériau. En effet, chacun sonde un composant différent du système : ^{13}C pour le [NP], ^{23}Na pour ses contre-ions, 1H pour l'eau et ^{29}Si pour la matrice. La première étape a été de classifier les échantillons selon la dynamique du [NP] confiné, en fonction du taux d'hydratation. En effet, à la quantité d'eau présente s'est révélée être une variable clef du système. Pour des échantillons suffisamment hydratés, les mouvements du S[NP] sont isotropes et rapides. Cependant l'étude de la relaxation longitudinale en fonction de la température a mis en lumière des mouvements corrélés des ions du complexe S[NP], permettant ainsi de combiner la description structurale de complexes restant associés, avec une dynamique isotrope rapide dans les pores de la matrice. Pour des échantillons moins hydratés, la restriction de la dynamique des ions indique la présence de différentes populations de S[NP] : une libre, et une en interaction avec la surface de silice. Ainsi, une compétition entre l'eau et le [NP] pour interagir avec les silanols de la matrice a pu être révélée. En considérant le cas limite d'échantillons secs, celle-ci a été confirmée en détectant qualitativement des interactions dipolaires $^{13}C/^{29}Si$. Finalement, même si la nature de l'interaction entre le nitroprussiate et les silanols n'a pas été identifiée son existence permet de donner des éléments d'explication quant à la possibilité inhabituelle du S[NP] de former des cristaux en milieu confiné.

Le traitement de la double encapsulation de la CU a été réalisé en prenant avantage de la possibilité de décomposer le problème de l'hétérogénéité du matériau hybride, en préparant des échantillons plus simples, contenant uniquement une partie des ses constituants. Dans ce projet, les possibilités de caractériser un matériau très complexe par la RMN du proton ont été explorées. La variable clef à l'interprétation des données expérimentales était la température. En effet, en associant les résultats RMN et DSC, une élucidation des propriétés dynamiques des matériaux hôtes confinés (lipides et surfactant) a été accomplie, amenant à la proposition d'un modèle de structure des SLNs confinées dans la silice. Dans les macropores, ces dernières sont constituées d'un cœur de lipides cristallin, enveloppé d'une couche polymorphe déstabilisée par la présence du surfactant surjacent. Les problèmes de résolution inhérents à la RMN ^1H à l'état solide n'ont pas permis un établissement définitif de la partition de la CU dans les différents compartiments du nano-vecteur par des expériences de corrélation homonucléaire. Cependant, la découverte d'une structuration des lipides du matériau en deux couches de structures distinctes a apportée de nouvelles perspectives sur la compréhension des profils de relargage. En effet, ces derniers pourraient être influencés par la nature des lipides des SLNs, non pas sous l'action d'une affinité plus ou moins marquée avec la CU, mais sous l'action de différences notables de dynamique des chaînes de lipides. De ce fait, il serait par exemple intéressant de prolonger ce projet en considérant des échantillons aux propriétés thermiques modifiées par des ratios lipides / surfactant différents.

Enfin, en considérant en parallèle les deux études ici menées, l'accent est mis sur l'interdépendance des propriétés structurelles et dynamiques, tant des composés hôtes, que des molécules confinées dans les nanomatériaux. Ainsi, l'élucidation des interactions qui couplent ces propriétés permet de faire le lien entre la structure moléculaire et les propriétés des nanomatériaux.

Références bibliographiques

- 1 W. Mehnert and K. Mäder, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2012, **64**, 83–101.
- 2 A. C. Anselmo and S. Mitragotri, *J. Controlled Release*, 2014, **190**, 15–28.
- 3 S. K. Sahoo and V. Labhasetwar, *Drug Discov. Today*, 2003, **8**, 1112–1120.
- 4 W. E. Bawarski, E. Chidlowsky, D. J. Bharali and S. A. Mousa, *Nanomedicine Nanotechnol. Biol. Med.*, 2008, **4**, 273–282.
- 5 O. M. Koo, I. Rubinstein and H. Onyuksel, *Nanomedicine Nanotechnol. Biol. Med.*, 2005, **1**, 193–212.
- 6 R. Thiruvengadathan, V. Korampally, A. Ghosh, N. Chanda, K. Gangopadhyay and S. Gangopadhyay, *Rep. Prog. Phys.*, 2013, **76**, 066501.
- 7 N. Grimaldi, F. Andrade, N. Segovia, L. Ferrer-Tasies, S. Sala, J. Veciana and N. Ventosa, *Chem. Soc. Rev.*, 2016, **45**, 6520–6545.
- 8 Q. He and J. Shi, *J. Mater. Chem.*, 2011, **21**, 5845.
- 9 M. M. Yallapu, M. Jaggi and S. C. Chauhan, *Drug Discov. Today*, 2012, **17**, 71–80.
- 10 Y. He, Y. Huang and Y. Cheng, *Cryst. Growth Des.*, 2010, **10**, 1021–1024.
- 11 T. Ishihara and T. Mizushima, *Expert Opin. Drug Deliv.*, 2010, **7**, 565–575.
- 12 N. Bertrand, J. Wu, X. Xu, N. Kamaly and O. C. Farokhzad, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2014, **66**, 2–25.
- 13 S. R. Kiihne and H. J. M. De Groot, *Perspectives on solid state NMR in biology*, Springer, Dordrecht; London, 2011.
- 14 M. J. Duer, Ed., *Solid-State NMR Spectroscopy Principles and Applications: Duer/Solid-State*, Blackwell Science Ltd, Oxford, UK, 2001.
- 15 J. Kaski, P. Lantto, J. Vaara and J. Jokisaari, *J. Am. Chem. Soc.*, 1998, **120**, 3993–4005.
- 16 C. Ramanathan, S. Sinha, J. Baugh, T. F. Havel and D. G. Cory, *Phys. Rev. A*, , DOI:10.1103/PhysRevA.71.020303.
- 17 G. E. Pake, *J. Chem. Phys.*, 1948, **16**, 327–336.
- 18 I. Schnell and H. W. Spiess, *J. Magn. Reson.*, 2001, **151**, 153–227.
- 19 S. P. Brown, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.*, 2007, **50**, 199–251.
- 20 R. Tycko and G. Dabbagh, *Chem. Phys. Lett.*, 1990, **173**, 461–465.
- 21 A. Brinkmann, A. P. M. Kentgens, T. Anupöld and A. Samoson, *J. Chem. Phys.*, 2008, **129**, 174507.
- 22 Y. K. Lee, N. D. Kurur, M. Helmle, O. G. Johannessen, N. C. Nielsen and M. H. Levitt, *Chem. Phys. Lett.*, 1995, **242**, 304–309.
- 23 M. H. Levitt, *J. Chem. Phys.*, 2008, **128**, 052205.
- 24 R. W. Schurko, *Acc. Chem. Res.*, 2013, **46**, 1985–1995.
- 25 S. E. Ashbrook and M. J. Duer, *Concepts Magn. Reson. Part A*, 2006, **28A**, 183–248.
- 26 M. M. Maricq and J. S. Waugh, *J. Chem. Phys.*, 1979, **70**, 3300–3316.
- 27 E. R. Andrew, A. Bradbury and R. G. Eades, *Nature*, 1958, **182**, 1659.
- 28 E. R. Andrew, A. Bradbury and R. G. Eades, *Nature*, 1959, **183**, 1802–1803.
- 29 J. S. Frye and G. E. Maciel, *J. Magn. Reson. 1969*, 1982, **48**, 125–131.
- 30 J. Klinowski, Ed., *New techniques in solid-state NMR*, Springer, Berlin ; New York, 2005.
- 31 N. S. Sisombath, F. Jalilehvand, A. C. Schell and Q. Wu, *Inorg. Chem.*, 2014, **53**, 12459–12468.
- 32 A. Samoson, T. Tuherm, J. Past, A. Reinhold, T. Anupöld and I. Heinmaa, in *New Techniques in Solid-State NMR*, ed. J. Klinowski, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2005, vol. 246, pp. 15–31.
- 33 M. Deschamps, in *Annual Reports on NMR Spectroscopy*, Elsevier, 2014, vol. 81, pp. 109–144.
- 34 Y. Nishiyama, *Solid State Nucl. Magn. Reson.*, 2016, **78**, 24–36.

- 35 A. Lesage, 2009, 18.
- 36 F. G. Vogt, in *New Developments in NMR*, eds. L. Garrido and N. Beckmann, Royal Society of Chemistry, Cambridge, 2013, pp. 43–100.
- 37 S. P. Brown, *Solid State Nucl. Magn. Reson.*, 2012, **41**, 1–27.
- 38 P. Thureau, G. Mollica, F. Ziarelli and S. Viel, in *Annual Reports on NMR Spectroscopy*, Elsevier, 2014, vol. 82, pp. 217–249.
- 39 M. Ernst, *J. Magn. Reson.*, 2003, **162**, 1–34.
- 40 P. Hodgkinson, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.*, 2005, **46**, 197–222.
- 41 A. L. Bloom and J. N. Shoolery, *Phys. Rev.*, 1955, **97**, 1261–1265.
- 42 D. D. Laws, H.-M. L. Bitter and A. Jerschow, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2002, **41**, 3096–3129.
- 43 M. Kotecha, N. P. Wickramasinghe and Y. Ishii, *Magn. Reson. Chem.*, 2007, **45**, S221–S230.
- 44 P. K. Madhu, *Isr. J. Chem.*, 2014, **54**, 25–38.
- 45 B. M. Fung, A. K. Khitrin and K. Ermolaev, *J. Magn. Reson.*, 2000, **142**, 97–101.
- 46 T. Bräuniger, P. Wormald and P. Hodgkinson, *Monatshefte Fr Chem. Chem. Mon.*, 2002, **133**, 1549–1554.
- 47 M. Lee and W. I. Goldberg, *Phys. Rev.*, 1965, **140**, A1261–A1271.
- 48 B.-J. van Rossum, H. Förster and H. J. M. de Groot, *J. Magn. Reson.*, 1997, **124**, 516–519.
- 49 A. Bielecki, A. C. Kolbert and M. H. Levitt, *Chem. Phys. Lett.*, 1989, **155**, 341–346.
- 50 A. Bielecki, A. C. Kolbert, H. J. M. De groot, R. G. Griffin and M. H. Levitt, in *Advances in Magnetic and Optical Resonance*, ed. W. S. Warren, Academic Press, 1990, vol. 14, pp. 111–124.
- 51 E. Vinogradov, P. K. Madhu and S. Vega, *Chem. Phys. Lett.*, 1999, **314**, 443–450.
- 52 E. Vinogradov, P. K. Madhu and S. Vega, *Chem. Phys. Lett.*, 2002, **354**, 193–202.
- 53 M. Leskes, P. K. Madhu and S. Vega, *J. Chem. Phys.*, 2008, **128**, 052309.
- 54 D. Sakellariou, A. Lesage, P. Hodgkinson and L. Emsley, *Chem. Phys. Lett.*, 2000, **319**, 253–260.
- 55 B. Elena, G. de Paëpe and L. Emsley, *Chem. Phys. Lett.*, 2004, **398**, 532–538.
- 56 E. Salager, J.-N. Dumez, R. S. Stein, S. Steuernagel, A. Lesage, B. Elena-Herrmann and L. Emsley, *Chem. Phys. Lett.*, 2010, **498**, 214–220.
- 57 A. Nowacka, P. C. Mohr, J. Norrman, R. W. Martin and D. Topgaard, *Langmuir*, 2010, **26**, 16848–16856.
- 58 A. Nowacka, N. A. Bongartz, O. H. S. Ollila, T. Nylander and D. Topgaard, *J. Magn. Reson.*, 2013, **230**, 165–175.
- 59 N. Bloembergen, *Physica*, 1949, **15**, 386–426.
- 60 D. Suter and R. R. Ernst, *Phys. Rev. B*, 1985, **32**, 5608–5627.
- 61 T. T. P. Cheung, *Phys. Rev. B*, 1981, **23**, 1404–1418.
- 62 P. Thureau, G. Mollica, F. Ziarelli and S. Viel, in *Annual Reports on NMR Spectroscopy*, Elsevier, 2014, vol. 82, pp. 217–249.
- 63 D. M. Grant and R. K. Harris, Eds., *Encyclopedia of nuclear magnetic resonance*, John Wiley, Chichester ; New York, 1996.
- 64 W. Kolodziejski and J. Klinowski, *Chem. Rev.*, 2002, **102**, 613–628.
- 65 A. Pines, M. G. Gibby and J. S. Waugh, *J. Chem. Phys.*, 1973, **59**, 569–590.
- 66 P. Li, Q. Chen and S. Zhang, *J. Magn. Reson.*, 2015, **250**, 76–79.
- 67 C. A. Fyfe, A. R. Lewis and J.-M. Chézeau, 1999, **77**, 10.
- 68 C. Bonhomme and L. Camus, *MRS Proc.*, DOI:10.1557/PROC-847-EE4.6.
- 69 V. Klimavicius, L. Dagys and V. Balevicius, *J. Phys. Chem. C*, 2016, **120**, 3542–3549.
- 70 S. R. Hartmann and E. L. Hahn, *Phys. Rev.*, 1962, **128**, 2042–2053.
- 71 S. W. Ding, C. A. Mcdowell and C. H. Ye, *J. Magn. Reson. A*, 1994, **109**, 6–13.
- 72 G. Metz, X. L. Wu and S. O. Smith, *J. Magn. Reson. A*, 1994, **110**, 219–227.
- 73 M. Fukuchi, A. Ramamoorthy and K. Takegoshi, *J. Magn. Reson.*, 2009, **196**, 105–109.

- 74P. Caravatti, G. Bodenhausen and R. R. Ernst, *Chem. Phys. Lett.*, 1982, **89**, 363–367.
- 75P. Caravatti, L. Braunschweiler and R. R. Ernst, *Chem. Phys. Lett.*, 1983, **100**, 305–310.
- 76M. R. Bendall, D. T. Pegg and D. M. Doddrell, *J. Magn. Reson.* 1969, 1981, **45**, 8–29.
- 77G. A. Morris and R. Freeman, *J. Am. Chem. Soc.*, 1979, **101**, 760–762.
- 78M. H. Levitt, *Spin dynamics: basics of nuclear magnetic resonance*, John Wiley & Sons, Chichester, England ; Hoboken, NJ, 2nd ed., 2008.
- 79G. S. Rule and T. K. Hitchens, *Fundamentals of protein NMR spectroscopy*, Springer, Dordrecht, 2006.
- 80H. Bock, R. A. Bowling, B. Solouki, T. J. Barton and G. T. Burns, *J. Am. Chem. Soc.*, 1980, **102**, 429–430.
- 81G. De Paëpe, *Annu. Rev. Phys. Chem.*, 2012, **63**, 661–684.
- 82J. Schaefer, *J. Magn. Reson.*, 2011, **213**, 421–422.
- 83T. Gullion, in *Modern Magnetic Resonance*, Springer, 2008, pp. 713–718.
- 84S. Dusold and A. Sebald, in *Annual Reports on NMR Spectroscopy*, Elsevier, 2000, vol. 41, pp. 185–264.
- 85T. Gullion, in *Annual Reports on NMR Spectroscopy*, Elsevier, 2009, vol. 65, pp. 111–137.
- 86D. D. Laws, *Novel nuclear magnetic resonance techniques for studying biological molecules*, 2000.
- 87Y. Nishiyama, R. Zhang and A. Ramamoorthy, *J. Magn. Reson.*, 2014, **243**, 25–32.
- 88A. E. Bennett, R. G. Griffin, J. H. Ok and S. Vega, *J. Chem. Phys.*, 1992, **96**, 8624–8627.
- 89Y. Ishii, 12.
- 90R. Zhang, Y. Nishiyama, P. Sun and A. Ramamoorthy, *J. Magn. Reson.*, 2015, **252**, 55–66.
- 91A. Ramamoorthy and J. Xu, *J. Phys. Chem. B*, 2013, **117**, 6693–6700.
- 92D. Aucoin, D. Camenares, X. Zhao, J. Jung, T. Sato and S. O. Smith, *J. Magn. Reson.*, 2009, **197**, 77–86.
- 93S. P. Brown and H. W. Spiess, *Chem. Rev.*, 2001, **101**, 4125–4156.
- 94S. Hafner and H. W. Spiess, 30.
- 95I. Schnell and H. W. Spiess, *J. Magn. Reson.*, 2001, **151**, 153–227.
- 96M. Feike, D. E. Demco, R. Graf, J. Gottwald, S. Hafner and H. W. Spiess, *J. Magn. Reson. A*, 1996, **122**, 214–221.
- 97W. Sommer, J. Gottwald, D. Demco and H. Spiess, *J. Magn. Reson. A*, 1995, **113**, 131–134.
- 98M. Carravetta, M. Edén, X. Zhao, A. Brinkmann and M. H. Levitt, *Chem. Phys. Lett.*, 2000, **321**, 205–215.
- 99K. Saalwächter, F. Lange, K. Matyjaszewski, C.-F. Huang and R. Graf, *J. Magn. Reson.*, 2011, **212**, 204–215.
- 100 K. Saalwächter, *ChemPhysChem*, 2013, **14**, 3000–3014.
- 101 N. Bloembergen, E. M. Purcell and R. V. Pound, *Phys. Rev.*, 1948, **73**, 679–712.
- 102 A. G. Redfield, *IBM J. Res. Dev.*, 1957, **1**, 19–31.
- 103 N. Murali and V. V. Krishnan, *Concepts Magn. Reson.*, 2003, **17A**, 86–116.
- 104 E. L. Hahn, *Phys. Rev.*, 1950, **80**, 580–594.
- 105 S. Meiboom and D. Gill, *Rev. Sci. Instrum.*, 1958, **29**, 688.
- 106 D. Canet, *Nuclear magnetic resonance: concepts and methods*, Wiley, Chichester ; New York, 1996.
- 107 P. T. Manoharan and W. C. Hamilton, *Inorg. Chem.*, 1963, **2**, 1043–1047.
- 108 L. Playfair, *Philos. Trans. R. Soc. Lond.*, 1849, **139**, 477–518.
- 109 K. Belani, D. Hottinger, T. Kozhimannil, R. Prielipp and D. Beebe, *J. Anaesthesiol. Clin. Pharmacol.*, 2014, **30**, 462.
- 110 M. D. Carlson and P. M. Eckman, *J. Card. Fail.*, 2013, **19**, 478–493.
- 111 Nitroprusside - DrugBank, <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00325>, (accessed 23 August 2018).

- 112 Chas. C. Johnson, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1928, **26**, 102–103.
- 113 D. G. McDOWALL, N. P. Keaney, J. M. Turner, J. R. Lane and Y. Okuda, *Br. J. Anaesth.*, 1974, **46**, 327–332.
- 114 Z. Wang, F. Wen, R. Zhang and Q. Zhang, *MRS Commun.*, 2017, **7**, 348–360.
- 115 M. R. Miller and I. L. Megson, *Br. J. Pharmacol.*, 2009, **151**, 305–321.
- 116 J. N. Bates, M. T. Baker, R. Guerra Jr. and D. G. Harrison, *Biochem. Pharmacol.*, 1991, **42**, **Supplement 1**, S157–S165.
- 117 J. N. Cohn, G. T. McInnes and A. M. Shepherd, *J. Clin. Hypertens.*, 2011, **13**, 690–692.
- 118 C. J. Vesey, P. V. Cole and P. J. Simpson, *Br. J. Anaesth.*, 1976, **48**, 651–660.
- 119 C. Napoli and L. J. Ignarro, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 2003, **43**, 97–123.
- 120 J. Tinker and J. Michenfelder, *Anesthesiology*, 1976, **45**, 340–354.
- 121 A. R. Butler and C. Glidewell, *Chem. Soc. Rev.*, 1987, **16**, 361.
- 122 J. A. Friederich and J. F. Butterworth, *ANESTH ANALG*, 1995, **11**.
- 123 *Coord. Chem. Rev.*, 2001, **219–221**, 839–879.
- 124 H. Tian and S. Yang, *Chem. Soc. Rev.*, 2004, **33**, 85.
- 125 S. Vrignaud, J.-P. Benoit and P. Saulnier, *Biomaterials*, 2011, **32**, 8593–8604.
- 126 C. Barbé, J. Bartlett, L. Kong, K. Finnie, H. Q. Lin, M. Larkin, S. Calleja, A. Bush and G. Calleja, *Adv. Mater.*, 2004, **16**, 1959–1966.
- 127 K. Ariga, A. Vinu, Y. Yamauchi, Q. Ji and J. P. Hill, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 2012, **85**, 1–32.
- 128 S.-H. Wu, C.-Y. Mou and H.-P. Lin, *Chem. Soc. Rev.*, 2013, **42**, 3862.
- 129 S. Wang, *Microporous Mesoporous Mater.*, 2009, **117**, 1–9.
- 130 D. Quintanar-Guerrero, A. Ganem-Quintanar, M. G. Nava-Arzaluz and E. Piñón-Segundo, *Expert Opin. Drug Deliv.*, 2009, **6**, 485–498.
- 131 M. Vallet-Regí, A. Rámila, R. P. del Real and J. Pérez-Pariente, *Chem. Mater.*, 2001, **13**, 308–311.
- 132 M. Vallet-Regí, F. Balas and D. Arcos, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2007, **46**, 7548–7558.
- 133 A. Bitar, N. M. Ahmad, H. Fessi and A. Elaissari, *Drug Discov. Today*, 2012, **17**, 1147–1154.
- 134 C. Bharti, U. Nagaich, A. K. Pal and N. Gulati, *Int. J. Pharm. Investig.*, 2015, **5**, 124–133.
- 135 Y. Wang, Q. Zhao, N. Han, L. Bai, J. Li, J. Liu, E. Che, L. Hu, Q. Zhang, T. Jiang and S. Wang, *Nanomedicine Nanotechnol. Biol. Med.*, 2015, **11**, 313–327.
- 136 Y. Song, Y. Li, Q. Xu and Z. Liu, *Int. J. Nanomedicine*, 2016, **Volume 12**, 87–110.
- 137 Q. He and J. Shi, *J. Mater. Chem.*, 2011, **21**, 5845.
- 138 F. Tang, L. Li and D. Chen, *Adv. Mater.*, 2012, **24**, 1504–1534.
- 139 A. Farooq, L. Tosheva, M. Azzawi and D. Whitehead, *J. Colloid Interface Sci.*, 2016, **478**, 127–135.
- 140 M. Vogel, *Eur. Phys. J. Spec. Top.*, 2010, **189**, 47–64.
- 141 R. R. Madathingal and S. L. Wunder, *Macromolecules*, 2011, **44**, 2873–2882.
- 142 M. P. Singh, R. K. Singh and S. Chandra, *Prog. Mater. Sci.*, 2014, **64**, 73–120.
- 143 Y. Komori and S. Hayashi, *Microporous Mesoporous Mater.*, 2004, **68**, 111–118.
- 144 J.-M. Ha, J. H. Wolf, M. A. Hillmyer and M. D. Ward, *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, **126**, 3382–3383.
- 145 T. Azais, G. Hartmeyer, S. Quignard, G. Laurent and F. Babonneau, *J. Phys. Chem. C*, 2010, **114**, 8884–8891.
- 146 E. Mäkilä, H. Kivelä, N. Shrestha, A. Correia, M. Kaasalainen, E. Kukk, J. Hirvonen, H. A. Santos and J. Salonen, *Langmuir*, 2016, **32**, 13020–13029.
- 147 S. Jayanthi, S. Kababya, A. Schmidt and S. Vega, *J. Phys. Chem. C*, 2016, **120**, 2797–2806.

- 148 T. Ukmar, T. Čendak, M. Mazaj, V. Kaučič and G. Mali, *J. Phys. Chem. C*, 2012, **116**, 2662–2671.
- 149 I. Ben Shir, S. Kababya and A. Schmidt, *J. Phys. Chem. C*, 2012, **116**, 9691–9702.
- 150 K.-Y. Hsieh, E.-E. Bendeif, A. Gansmuller, S. Pillet, T. Woike and D. Schaniel, *RSC Adv.*, 2013, **3**, 26132.
- 151 R. J. Reeder and F. M. Michel, in *Methods in Enzymology*, Elsevier, 2013, vol. 532, pp. 477–500.
- 152 J. Tritt-Goc and N. Pislewski, *J. Phys. Chem. Solids*, 1993, **54**, 123–126.
- 153 O. A. Babanova, A. V. Soloninin, A. V. Skripov, D. B. Ravnsbaek, T. R. Jensen and Y. Filinchuk, *J. Phys. Chem. C*, 2011, **115**, 10305–10309.
- 154 T. M. Alam, D. R. Dreyer, C. W. Bielwaski and R. S. Ruoff, *J. Phys. Chem. A*, 2011, **115**, 4307–4316.
- 155 Z. T. Lalowicz, A. Birczyński and A. Krzyżak, *J. Phys. Chem. C*, 2017, **121**, 26472–26482.
- 156 A. R. Butler, C. Glidewell, A. R. Hyde and J. McGinnis, *Polyhedron*, 1984, **3**, 1165–1167.
- 157 A. R. Butler, C. Glidewell, A. R. Hyde and J. McGinnis, *Inorg. Chem.*, 1985, **24**, 2931–2934.
- 158 L. Greenspan, *J. Res. Natl. Bur. Stand. Sect. -Phys. Chem.*, 1977, **81**, 89–96.
- 159 P. W. Winston and D. H. Bates, *Ecology*, 1960, **41**, 232–237.
- 160 K. R. Thurber and R. Tycko, *J. Magn. Reson.*, 2009, **196**, 84–87.
- 161 D. E. Woessner, *Concepts Magn. Reson.*, 2001, **13**, 294–325.
- 162 D. Massiot, F. Fayon, M. Capron, I. King, S. Le Calvé, B. Alonso, J.-O. Durand, B. Bujoli, Z. Gan and G. Hoatson, *Magn. Reson. Chem.*, 2002, **40**, 70–76.
- 163 U. Haerberlen, *Advances in Magnetic Resonance: Supplement*, Academic Pr, 1976.
- 164 B. Grünberg, T. Emmler, E. Gedat, I. Shenderovich, G. H. Findenegg, H.-H. Limbach and G. Buntkowsky, *Chem. – Eur. J.*, 2004, **10**, 5689–5696.
- 165 J. Walia, J. Crone, J. Liang, M. Niknam, C. Lemaire, R. Terry Thompson and H. Peemoeller, *Solid State Nucl. Magn. Reson.*, 2013, **49–50**, 26–32.
- 166 I. G. Shenderovich, G. Buntkowsky, A. Schreiber, E. Gedat, S. Sharif, J. Albrecht, N. S. Golubev, G. H. Findenegg and H.-H. Limbach, *J. Phys. Chem. B*, 2003, **107**, 11924–11939.
- 167 G. Paul, G. E. Musso, E. Bottinelli, M. Cossi, L. Marchese and G. Berlier, *ChemPhysChem*, 2017, **18**, 839–849.
- 168 C. Guo and G. P. Holland, *J. Phys. Chem. C*, 2014, **118**, 25792–25801.
- 169 E.-E. Bendeif, A. Gansmuller, K.-Y. Hsieh, S. Pillet, Th. Woike, M. Zobel, R. B. Neder, M. Bouazaoui, H. El Hamzaoui and D. Schaniel, *RSC Adv*, 2015, **5**, 8895–8902.
- 170 B. Coasne, J. Czwartos, M. Sliwinska-Bartkowiak and K. E. Gubbins, *J. Chem. Phys.*, 2010, **133**, 084701.
- 171 M. Sliwinska-Bartkowiak, G. Dudziak, R. Sikorski, R. Gras, R. Radhakrishnan and K. E. Gubbins, *J. Chem. Phys.*, 2001, **114**, 950.
- 172 C. Alba-Simionesco, G. Dosseh, E. Dumont, B. Frick, B. Geil, D. Morineau, V. Teboul and Y. Xia, *Eur. Phys. J. E - Soft Matter*, 2003, **12**, 19–28.
- 173 S. Kim, M.-J. Stébé, J.-L. Blin and A. Pasc, *J Mater Chem B*, 2014, **2**, 7910–7917.
- 174 M. Lechtenberg, B. Quandt and A. Nahrstedt, *Phytochem. Anal.*, **15**, 152–158.
- 175 V. Soleimani, A. Sahebkar and H. Hosseinzadeh, *Phytother. Res.*, 2018, **32**, 985–995.
- 176 B. Joe, M. Vijaykumar and B. R. Lokesh, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2004, **44**, 97–111.
- 177 A. Rauf, M. Imran, I. E. Orhan and S. Bawazeer, *Trends Food Sci. Technol.*, 2018, **74**, 33–45.
- 178 T. Ak and İ. Gülçin, *Chem. Biol. Interact.*, 2008, **174**, 27–37.
- 179 B. B. Aggarwal and K. B. Harikumar, *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2009, **41**, 40–59.

- 180 B. B. AGGARWAL, A. KUMAR and A. C. BHARTI, *ANTICANCER Res.*, 2003, 36.
- 181 S. Sundar Dhillip Kumar, N. Houreld and H. Abrahamse, *Molecules*, 2018, **23**, 835.
- 182 O. Naksuriya, S. Okonogi, R. M. Schiffelers and W. E. Hennink, *Biomaterials*, 2014, **35**, 3365–3383.
- 183 S. C. Gupta, S. Patchva and B. B. Aggarwal, *AAPS J.*, 2013, **15**, 195–218.
- 184 A. L. Cheng, C. H. Hsu, J. K. Lin, M. M. Hsu, Y. F. Ho, T. S. Shen, J. Y. Ko, J. T. Lin, B. R. Lin, W. Ming-Shiang, H. S. Yu, S. H. Jee, G. S. Chen, T. M. Chen, C. A. Chen, M. K. Lai, Y. S. Pu, M. H. Pan, Y. J. Wang, C. C. Tsai and C. Y. Hsieh, *Anticancer Res.*, 2001, **21**, 2895–2900.
- 185 R. A. Sharma, W. P. Steward and A. J. Gescher, *SPHP*, 2007, 18.
- 186 P. Anand, A. B. Kunnumakkara, R. A. Newman and B. B. Aggarwal, *Mol. Pharm.*, 2007, **4**, 807–818.
- 187 C. Ireson, S. Orr, D. J. L. Jones, R. Verschoyle, C.-K. Lim, J.-L. Luo, L. Howells, S. Plummer, R. Jukes, M. Williams, W. P. Steward and A. Gescher, 8.
- 188 C. R. Ireson, D. J. L. Jones, S. Orr, M. W. H. Coughtrie, D. J. Boocock, M. L. Williams, P. B. Farmer, W. P. Steward and A. J. Gescher, 8.
- 189 M.-H. PAN, T.-M. HUANG and J.-K. LIN, 9.
- 190 K. Suresh and A. Nangia, *CrystEngComm*, 2018, **20**, 3277–3296.
- 191 B. T. Kurien, A. Singh, H. Matsumoto and R. H. Scofield, *ASSAY Drug Dev. Technol.*, 2007, **5**, 567–576.
- 192 K. Priyadarsini, *Molecules*, 2014, **19**, 20091–20112.
- 193 C. Mohanty, M. Das and S. K. Sahoo, *Expert Opin. Drug Deliv.*, 2012, **9**, 1347–1364.
- 194 M. Mehanny, R. M. Hathout, A. S. Geneidi and S. Mansour, *J. Controlled Release*, 2016, **225**, 1–30.
- 195 I. Muqbil, A. Masood, F. H. Sarkar, R. M. Mohammad and A. S. Azmi, *Cancers*, 2011, **3**, 428–445.
- 196 M. Sun, X. Su, B. Ding, X. He, X. Liu, A. Yu, H. Lou and G. Zhai, *Nanomed.*, 2012, **7**, 1085–1100.
- 197 H. Hajj Ali, F. Michaux, I. S. Bouelet Ntsama, P. Durand, J. Jasniewski and M. Linder, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2016, **118**, 1168–1178.
- 198 A. A., M. A. and P. F., in *Recent Advances in Novel Drug Carrier Systems*, ed. A. D. Sezer, InTech, 2012.
- 199 S. Inagaki, Y. Fukushima and K. Kuroda, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 1993, 680.
- 200 D. Douroumis, I. Onyesom, M. Maniruzzaman and J. Mitchell, *Crit. Rev. Biotechnol.*, 2013, **33**, 229–245.
- 201 H.-P. Lin, C.-Y. Tang and C.-Y. Lin, *J. Chin. Chem. Soc.*, 2002, **49**, 981–988.
- 202 R. Kotcherlakota, A. K. Barui, S. Prashar, M. Fajardo, D. Briones, A. Rodríguez-Diéguez, C. R. Patra and S. Gómez-Ruiz, *Biomater. Sci.*, 2016, **4**, 448–459.
- 203 V. S. Bollu, A. K. Barui, S. K. Mondal, S. Prashar, M. Fajardo, D. Briones, A. Rodríguez-Diéguez, C. R. Patra and S. Gómez-Ruiz, *Mater. Sci. Eng. C*, 2016, **63**, 393–410.
- 204 S. Jambhrunkar, Z. Qu, A. Popat, J. Yang, O. Noonan, L. Acauan, Y. Ahmad Nor, C. Yu and S. Karmakar, *Mol. Pharm.*, 2014, **11**, 3642–3655.
- 205 S. Garnier, A. Laschewsky and J. Storsberg, *Tenside Surfactants Deterg.*, 2006, **43**, 88–102.
- 206 P. Alexandridis and A. Hatton’J, 12.
- 207 A. Raval, S. A. Pillai, A. Bahadur and P. Bahadur, *J. Mol. Liq.*, 2017, **230**, 473–481.
- 208 M. H. M. Leung, H. Colangelo and T. W. Kee, *Langmuir*, 2008, **24**, 5672–5675.
- 209 A. Sahu, N. Kasoju, P. Goswami and U. Bora, *J. Biomater. Appl.*, 2011, **25**, 619–639.
- 210 L. Zhao, J. Du, Y. Duan, Y. Zang, H. Zhang, C. Yang, F. Cao and G. Zhai, *Colloids Surf. B Biointerfaces*, 2012, **97**, 101–108.

- 211 M. Gou, K. Men, H. Shi, M. Xiang, J. Zhang, J. Song, J. Long, Y. Wan, F. Luo, X. Zhao and Z. Qian, *Nanoscale*, 2011, **3**, 1558.
- 212 Z. Song, R. Feng, M. Sun, C. Guo, Y. Gao, L. Li and G. Zhai, *J. Colloid Interface Sci.*, 2011, **354**, 116–123.
- 213 M. Kreilgaard, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2002, **54**, S77–S98.
- 214 C.-C. Lin, H.-Y. Lin, H.-C. Chen, M.-W. Yu and M.-H. Lee, *Food Chem.*, 2009, **116**, 923–928.
- 215 D. J. McClements, *Soft Matter*, 2012, **8**, 1719–1729.
- 216 S. Abbas, *Ultrason. Sonochem.*, 2014, 10.
- 217 T. M. Fahmy, P. M. Fong, J. Park, T. Constable and W. M. Saltzman, *AAPS J.*, 2007, **9**, E171–E180.
- 218 M. L. Immordino, F. Dosio and L. Cattel, *Int. J. Nanomedicine*, 19.
- 219 J. Barry, M. Fritz, J. R. Brender, P. E. S. Smith, D.-K. Lee and A. Ramamoorthy, *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, **131**, 4490–4498.
- 220 Y. Cheng, P. Zhao, S. Wu, T. Yang, Y. Chen, X. Zhang, C. He, C. Zheng, K. Li, X. Ma and G. Xiang, *Int. J. Pharm.*, 2018, **545**, 261–273.
- 221 M. Takahashi, S. Uechi, K. Takara, Y. Asikin and K. Wada, *J. Agric. Food Chem.*, 2009, **57**, 9141–9146.
- 222 M. Gasco, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2007, **59**, 377–378.
- 223 O. M. Bagade, R. R. Pujari and V. S. Raskar, 12.
- 224 L. Battaglia and M. Gallarate, *Expert Opin. Drug Deliv.*, 2012, **9**, 497–508.
- 225 M. Ünner, 2006, 12.
- 226 P. Ganesan, P. Ramalingam, G. Karthivashan, Y. T. Ko and D.-K. Choi, *Int. J. Nanomedicine*, 2018, **Volume 13**, 1569–1583.
- 227 R. H. Müller, K. Mäder and S. Gohla, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2000, **50**, 161–177.
- 228 A. A. Attama and C. C. Müller-Goymann, *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.*, 2008, **315**, 189–195.
- 229 V. Jennings, A. F. Thünemann and S. H. Gohla, *Int. J. Pharm.*, 2000, **199**, 167–177.
- 230 R. S. Andriamitantsoa, W. Dong, H. Gao and G. Wang, *New J. Chem.*, 2017, **41**, 1790–1797.
- 231 H. Bunjes, K. Westesen and M. H. J. Koch, *Int. J. Pharm.*, 1996, **129**, 159–173.
- 232 H. Bunjes, M. H. J. Koch and K. Westesen, *J. Pharm. Sci.*, 2003, **92**, 1509–1520.
- 233 Deep Ram, *ASIAN Pac. J. Health Sci.*, 18.
- 234 S. Gao and D. J. McClements, *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.*, 2016, **499**, 79–87.
- 235 V. Jennings, K. Mäder and S. H. Gohla, *Int. J. Pharm.*, 2000, **205**, 15–21.
- 236 V. Malta, G. Celotti, R. Zannetti and A. Ferrero Martelli, *J. Chem. Soc. B Phys. Org.*, 1971, **0**, 548–553.
- 237 Palmityl palmitate P0169, <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/p0169>, (accessed 3 September 2018).
- 238 Y. K. Bae and O. H. Han, *Microporous Mesoporous Mater.*, 2007, **106**, 304–307.
- 239 J. Ma, C. Guo, Y. Tang, J. Wang, L. Zheng, X. Liang, S. Chen and H. Liu, *J. Colloid Interface Sci.*, 2006, **299**, 953–961.
- 240 Phase Diagrams and Aggregation Behavior of Poly(oxyethylene)-Poly(oxypropylene)-Poly(oxyethylene) Triblock Copolymers in Aqueous Solutions | Wanka, G.; Hoffmann, H.; Ulbricht, W. | digital library booksc, <http://booksc.org/book/15463243>, (accessed 8 March 2017).
- 241 T. A. LaFollette and L. M. Walker, *Polymers*, 2011, **3**, 281–298.
- 242 F. Payton, P. Sandusky and W. L. Alworth, *J. Nat. Prod.*, 2007, **70**, 143–146.
- 243 W. Li, S. Wang, J. Feng, Y. Xiao, X. Xue, H. Zhang, Y. Wang and X. Liang, *Magn. Reson. Chem.*, 2009, **47**, 902–908.

- 244 M. A. Matlinska, R. E. Wasylshen, G. M. Bernard, V. V. Terskikh, A. Brinkmann and V. K. Michaelis, *Cryst. Growth Des.*, 2018, **18**, 5556–5563.
- 245 X. Kong, A. Brinkmann, V. Terskikh, R. E. Wasylshen, G. M. Bernard, Z. Duan, Q. Wu and G. Wu, *J. Phys. Chem. B*, 2016, **120**, 11692–11704.
- 246 S. P. Parimita, Y. V. Ramshankar, S. Suresh and T. N. Guru Row, *Acta Crystallogr. Sect. E*, 2007, **63**, o860–o862.
- 247 P. Sanphui, N. R. Goud, U. B. R. Khandavilli, S. Bhanoth and A. Nangia, *Chem. Commun.*, 2011, **47**, 5013.
- 248 J. Trébosc, J. W. Wiench, S. Huh, V. S.-Y. Lin and M. Pruski, *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, **127**, 3057–3068.
- 249 M. Almgren, W. Brown and S. Hvidt, *Colloid Polym. Sci.*, 1995, **273**, 2–15.
- 250 K. Mortensen, *J. Phys. Condens. Matter*, 1996, **8**, A103–A124.
- 251 C. Schick, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2009, **395**, 1589–1611.
- 252 Poly(ethylene glycol)-block-poly(propylene glycol)-block-poly(ethylene glycol) 435465, <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/435465>, (accessed 2 July 2019).
- 253 S. Liu, H. Zhang, X. Meng, Y. Zhang, L. Ren, F. Nawaz, J. Liu, Z. Li and F.-S. Xiao, *Microporous Mesoporous Mater.*, 2010, **136**, 126–131.
- 254 E. Moreno, R. Cordobilla, T. Calvet, M. A. Cuevas-Diarte, G. Gbabode, P. Negrier, D. Mondieig and H. A. J. Oonk, *New J. Chem.*, 2007, **31**, 947.
- 255 U. Ruktanonchai, S. Limpakdee, S. Meejoo, U. Sakulkhu, N. Bunyaphatsara, V. Junyaprasert and S. Puttipatkhachorn, *Nanotechnology*, 2008, **19**, 095701.
- 256 V. Teeranachaideekul, E. B. Souto, V. B. Junyaprasert and R. H. Müller, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2007, **67**, 141–148.
- 257 Q. Jiang and M. D. Ward, *Chem Soc Rev*, 2014, **43**, 2066–2079.
- 258 B. Heurtault, *Biomaterials*, 2003, **24**, 4283–4300.
- 259 H. Bunjes, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, 2011, **16**, 405–411.
- 260 S.-D. Clas, C. R. Dalton and B. C. Hancock, *Pharm. Sci. Technol. Today*, 1999, **2**, 311–320.
- 261 Volkhard Jenning, Sven H. Gohla, *J. Microencapsul.*, 2001, **18**, 149–158.
- 262 E. S. Lutton, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1972, **49**, 1–9.
- 263 I. Zafeiri, J. E. Norton, P. Smith, I. T. Norton and F. Spyropoulos, *J. Colloid Interface Sci.*, 2017, **500**, 228–240.
- 264 C. M. Keck, A. Kovačević, R. H. Müller, S. Savić, G. Vuleta and J. Milić, *Int. J. Pharm.*, 2014, **474**, 33–41.
- 265 M. Goto and E. Asada, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1978, **51**, 2456–2459.
- 266 F. Kaneko, M. Kobayashi, Y. Kitagawa and Y. Matsuura, *Acta Crystallogr. C*, 1990, **46**, 1490–1492.
- 267 L. Battaglia, M. Gallarate, R. Cavalli and M. Trotta, *J. Microencapsul.*, 2010, **27**, 78–85.
- 268 M. Gallarate, M. Trotta, L. Battaglia and D. Chirio, *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, 2010, **20**, 343–347.
- 269 M. Moniruzzaman and P. R. Sundararajan, *Pure Appl. Chem.*, 2004, **76**, 1353–1363.
- 270 D. Chirio, M. Gallarate, E. Peira, L. Battaglia, L. Serpe and M. Trotta, *J. Microencapsul.*, 2011, **28**, 537–548.
- 271 D. Zhao, *Science*, 1998, **279**, 548–552.
- 272 X.-Z. Zhao, T. Jiang, L. Wang, H. Yang, S. Zhang and P. Zhou, *J. Mol. Struct.*, 2010, **984**, 316–325.

Résumé :

Actuellement, une voie de développement de formulations médicamenteuses novatrices passe par la vectorisation de principes actifs connus dans des nanoparticules. Des matériaux hybrides sont ainsi formés, possédant de nouvelles propriétés liées au nano-confinement. Les travaux ici menés s'appuient sur la sensibilité de la Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) du solide aux phénomènes prenant place aux échelles moléculaires, pour effectuer une analyse structurale et dynamique de deux vecteurs.

Le premier, hydrophile, est une matrice nanoporeuse de silice sol-gel, dans laquelle sont confinés des complexes de nitroprussiate de sodium isolés. À partir de mesures de relaxation de spin et d'anisotropie de déplacement chimique, différents régimes de dynamique moléculaire sont mis en évidence. Ils sont modulés par la présence de molécules de solvant résiduelles (H_2O). Des gammes de température et d'hydratation sont identifiées, pour lesquelles le complexe reste associé malgré un état "pseudo-liquide". Dans la condition limite d'absence d'eau, la restriction du mouvement des complexes confinés est élucidée en caractérisant les interactions dipolaires hôtes / invités.

Le second système allie la double vectorisation de la curcumine hydrophobe dans des nanoparticules de lipides solides encapsulées dans une matrice de silice (SBA-15). Une stratégie d'étude conjointe par RMN du solide et par calorimétrie différentielle à balayage (DSC) est mise en place. Les résultats montrent que d'autres facteurs que la compartimentalisation (polymorphisme, dynamique moléculaire des composés hôtes) doivent également être pris en compte pour la compréhension des propriétés de ces matériaux très hétérogènes. Malgré le recours à une instrumentation RMN de dernière génération (spectromètre 1GHz, sonde MAS 1.3mm), la présence de principe actif est observée uniquement dans les compartiments de tensioactif. Ces résultats permettent d'émettre de nouvelles hypothèses sur la distribution du principe actif, tout en montrant les limites de l'approche RMN basée uniquement sur l'étude des noyaux 1H .

Mots clefs : Résonance Magnétique Nucléaire, Encapsulation, Principe actif, RMN du solide, Nitroprussiate de Sodium, Curcumine

Abstract :

Nowadays, a way of developing novel medicinal compounds focuses on confinement of known active molecules inside nanoparticles. Therefore, hybrid materials emerge, exhibiting new properties related to nano-confinement. This work relies on the sensibility of solid-state Nuclear Magnetic Resonance (SS-NMR) towards molecular scale phenomena in order to perform structural and dynamical analysis of two delivery systems. They are modulated by the influence of residual solvent molecules (H_2O). Temperature and hydration ranges are identified, for which the complex stays associated, although it is in a liquid-like state. Toward the limit of water absence, movement restrictions of the confined complexes are elucidated by characterizing dipolar host / guest interactions.

The second system combines a double vectorization of hydrophobic curcumin molecules inside solid lipid nanoparticles, encapsulated inside a silica matrix (SBA-15). A joint SS-NMR and Differential Scanning Calorimetry (DSC) characterization strategy is put in place. The results show that other factors than compartmentalization (polymorphism, molecular dynamics of host compounds) should also be taken into account to understand the properties of these very heterogeneous materials. Despite resorting to the latest NMR instrumentation (1GHz spectrometer, 1.3mm MAS probehead), presence of the active ingredient is only detected inside the surfactant compartment. These results allow making new assumptions for the distribution of curcumin inside the material while showing the limits of an NMR approach relying solely on the study of 1H nuclei.

Key words : Nuclear Magnetic Resonance ; Confinement, Active compound, Solid-state NMR, Sodium Nitroprusside, Curcumin