HAL
open science

Synthèse, formulation et caractérisation d'organogels aqueux moléculaires/macromoléculaires à base de produits bio-sourcés

Géraldine Rangel Euzcateguy

To cite this version:

Géraldine Rangel Euzcateguy. Synthèse, formulation et caractérisation d'organogels aqueux moléculaires/macromoléculaires à base de produits bio-sourcés. Génie des procédés. Université de Lorraine, 2020. Français. NNT : 2020LORR0300 . tel-03417018

HAL Id: tel-03417018

https://hal.univ-lorraine.fr/tel-03417018v1

Submitted on 5 Nov 2021

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.

UNIVERSITÉ DE LORRAINE

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

Ecole Doctorale SIMPPE

(Sciences et Ingénierie des Molécules, des Produits, des Procédés, et de l'Energie)

Thèse

Présentée et soutenue publiquement pour l'obtention du titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LORRAINE

Mention : « Génie des Procédés et des Produits et des Molécules »

Par RANGEL EUZCATEGUY Geraldine Del Valle

Synthèse, formulation et caractérisation d'organogels aqueux moléculaires/macromoléculaires à base de produits bio-sourcés.

Membres du jury :

Rapporteurs : Monsieur Laurent BOUTEILLER Directeur de recherche, CNRS, Paris

Madame Juliette FITREMANN Chargée de recherche, CNRS, Toulouse

Examinateurs : Madame Christine GERARDIN Professeur, UL, Nancy

Madame Nadia EL KISSI Directeur de recherche, CNRS, Grenoble

Monsieur Alain DURAND Professeur, UL, Nancy directeur de thèse

Monsieur Guillaume PICKAERT Maître de conférences, UL, Nancy co-directeur de thèse

Membres Invités : Monsieur David CHAPRON Maître de conférences, UL, Metz

Monsieur Philippe MARCHAL Ingénieur de recherche, CNRS, Nancy

---

Laboratoire de Chimie Physique Macromoléculaire, UMR 7375, CNRS-Université de Lorraine

Dédié à

Jose RANGEL

Ricardo RANGEL

Louis-Marie DONZE

Remerciement

Je tiens à remercie mon Directeur de Thèse Alain Durand pour m'avoir donné l'opportunité de travailler au sein du laboratoire. Je le remercie très sincèrement pour son excellent encadrement, pour toute sa patience et son soutien. Merci Alain pour ton amitié. Merci à mon Co-directeur de Thèse Guillaume Pickaert aussi pour son excellent encadrement, sa disponibilité et son écoute. Merci à vous deux pour m'avoir fait participer à cette excellente expérience.

Merci à Phillipe Marchal et David Chapron pour m'avoir accompagnée tout au long de cette expérience. Je vous remercie pour les échanges, l'encadrement très riche et pertinent en rhéologie et RAMAN. Merci aussi pour le suivi de mon travail lors des différents comités de suivi réalisés.

Je tiens à remercie à Caroline Parajua-Sejil, Olivier Fabre et Gregory Francius, pour tout leur soutien lors de la caractérisation des gels. Cette caractérisation n'a pas toujours été facile à réaliser mais votre disponibilité m'a permis d'obtenir de très bons résultats.

Je remercie aussi les gens du laboratoire LCPM, permanents (Marie Christine Averlant-Petit, Jacques Bodiguel, Loïc Stefan, Mathilde Achard), doctorants (Tristan Giraud, Hong Ngoc Pham, Amina Ben Mihoub, Mohamed Ibrahim) et stagiaires (Anca-Maria Arnautu, Daniela Tarazona) avec qui j'ai pu passer des moments formidables.

Je remercie très fortement Ricardo Rojas Rangel et Louis-Marie Donze, mon Fils mon époux, mes amis, mes compagnons de voyage. Merci à vous deux pour vos soutien, patience, disposition à m'aider dans les petit détails, pour être toujours à l'écoute, pour la solidarité et fidélité dans les moments les plus difficiles de ce voyage : « Notre Voyage ».

Je remercie aussi ma famille qui au cours de ces années s'agrandit : Famille Rangel et Famille Donze. Merci beaucoup pour votre soutien.

Je remercie mes amis Jose Manuel Hernandez et Thomas Moraux pour votre collaboration dans tout le temps.

Sommaire

Sommaire 5

Abréviations. 11

Introduction Générale 13

Bibliographie 18

Chapitre I 19

De la Conception à la Caractérisation des Gels 19

I. Qu'est-ce qu'un gel ? 20

I.1 Etats fondamentaux de la matière. 20

I.2 La matière molle : des états intermédiaires fascinants. 21

I.3 Les gels. 22

I.3.1 Définitions des gels. 22

I.3.2 Classification des gels. 24

I.3.2.1 Classification selon la phase continue. 25

❖ Gels secs 26

I.3.2.2 Classification en fonction de la nature du réseau solide. 27

I.4 Les gels supramoléculaires. 30

I.5 Méthodes de caractérisation des gels supramoléculaires. 33

I.5.1 Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IR-TF). 35

I.5.2 Spectroscopie RAMAN. 37

I.5.3 Spectroscopie RMN. 37

I.5.4 Spectroscopies optiques (UV-Visible et fluorescence). 39

I.5.5 Techniques de microscopie. 41

I.5.6 Diffraction et diffusion des rayons X. 43

I.5.7 Rhéologie. 43

I.6 Gels supramoléculaires et macromoléculaires 47

I.6.1 Gélifiants à base de protéines, peptides et acide aminé 47

I.6.2 Gélifiant à base de Dextrane 63

I.6.3 Gels à base de mélanges molécules / polymères. 67

❖ Interpénétration entre deux réseaux physiques..... 67

❖ Addition d'un polymère non-gélifié dans un gel issu de petites molécules..... 69

❖ Interconnexion covalente/physique, entre deux réseaux 3D moléculaire/ macromoléculaire. 70

❖ Capture du réseau tridimensionnel dans une matrice de polymère 71

I.7 Conclusion de l'analyse de l'état de l'art et objectifs de la thèse..... 72

Bibliographie..... 74

Chapitre II 84

Synthèse et Caractérisation de Molécules Gélifiantes 84

II.1 Introduction 85

II.2 Synthèse des gélifiants 86

II.2.2 Synthèse du composé B (C_{11}-Lys(2-Cl-Z)-OH)..... 88

II.2.3 Synthèse du composé C (C_{11}-Lys(Z)-$NHNH_2$). 89

II.3 Caractérisation des gélifiants par RMN ^{1}H. 90

II.3.1 Caractérisation du dérivé de lysine A. 90

II.3.2 Caractérisation du dérivé de lysine B par RMN ^{1}H. 95

II.3.3 Caractérisation du dérivé de lysine C par RMN ^{1}H. 103

II.4 Caractérisation des gélifiants par spectroscopie IR-TF. 105

II.5 Caractérisation des produits intermédiaires et finaux par spectrométrie de masse.... 121

II.6 Conclusion..... 124

Experimental section..... 127

I. Reagents and physical measurements..... 127

I.1 Reagents 127

I.2 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy..... 127

I.3 Infrared spectroscopy 127

I.4 Mass spectrometry..... 127

I. Synthesis of lysine derivatives 128

II.1 General procedure for N^{α}-Lauroyl-N^{ε}-carbobenzoxylysine (C_{11}-Lys(Z)-OH). 128

II.2 General procedure for the synthesis of N^{α}-Lauroyl-N^{ε}-carbobenzoxyhydrazide (C_{11}-Lys(Z)-$NHNH_2$). 129

II.3 Synthesis of N^{α}-Lauroyl-N^{ε}-2-chlorine-carbobenzoxylysine (C_{11}-Lys(2-Cl-Z)-OH). 130

Bibliographie 132

Chapitre III 133

Formulation de Gels Supramoléculaires / Macromoléculaires 133

III.1 Procédure de formulation des gels. 134

III.1.1 Ultrasons [1]. 134

III.1.2 Voie Thermique 135

III.1.3 Voie anti-solvant 136

III.1.4 Vois chimique : ajustement de pH. 136

III.1.5 Application à nos systèmes 137

III.2 Gels supramoléculaires préparés avec la molécule A. 137

III.2.1 Essais de formulation directe d'hydrogels 137

III.2.2 Formulation d'organogels aqueux : EtOH/H_2O 140

III.2.3 Formulation d'organogels aqueux : DMSO/H_2O 141

III.2.3.1 Organogels Aqueux. Evaluation de la capacité de gélification en fonction de la proportion de DMSO utilisée. 142

III.2.3.2 Organogels aqueux. Evaluation de la capacité de gélification en fonction de la quantité de gélifiant utilisée. 152

III.2.3.3 Organogels aqueux. Evaluation de la température de transition gel-sol « Tg ». . 155

III.2.3.4 Evaluation de la réversibilité des gels. 156

III.2.4 Formulation d'hydrogels par dialyse des organogels aqueux. 158

III.2.5Organogels aqueux hybrides : moléculaires / macromoléculaires. 159

III.3.1 Hydrogels. 164

III.3.2 Organogels aqueux : DMSO/H_2O. 165

III.3.2.1 Organogels aqueux. Evaluation de l'influence de la proportion de DMSO. 165

III.3.2.2 Organogels aqueux. Evaluation de la capacité de gélification en fonction de la quantité de gélifiant. 169

III.3.3 Formulation d'hydrogels par dialyse des organogels aqueux. 170

III.3.4Organogels aqueux hybrides moléculaires / macromoléculaires..... 170

III.4 Gels supramoléculaires préparés avec la molécule C. 172

III.4.1 Hydrogels 172

III.4.2 Organogel aqueux : DMSO/H_2O 172

III.4.2.1 Organogel aqueux. Evaluation de l'influence de la proportion de solvant. 174

III.4.2.2 Organogel aqueux. Influence de la quantité de molécule utilisée. 177

III.4.3 Organogels aqueux hybrides moléculaires/ macromoléculaires..... 178

III.5 Conclusion 179

Experimental section 183

I. Physical measurements. 183

I.1 UV-Visible 183

I.2 Fluorescence 183

Bibliographie 184

Chapitre IV 195

Caractérisation des Gels Supramoléculaires / Macromoléculaires 195

IV.1 Evaluation des propriétés mécaniques : gels issus de la molécule A..... 197

IV.1.2 Evaluation de G' et G'' en fonction de la composition du solvant utilisé. 197

IV.1.2.1 Choix de la géométrie de mesure 197

IV.1.2.2 Balayage en Contrainte : étude du domaine de linéarité et de la réversibilité mécanique. 203

IV.1.2.3 Balayage en fréquence 210

IV.1.2.4 Balayage en temps : étude du temps de gélification..... 211

IV.1.2.5 Balayage en température : étude de la transition gel-solution et de la réversibilité thermique. 214

IV.1.3 Evaluation de G' et G'' en fonction de la quantité de molécule utilisée. 220

IV.1.3.1 Balayage en Contrainte : évaluation du domaine linéaire et de la force du gel... 220

IV.1.3.2 Suivi en Temps : évaluation du temps de gélification. 222

IV.1.4 Evaluation des modules rhéologiques G' et G'' des gels dialysés. 233

IV.1.5 Evaluation des modules rhéologiques G' et G'' des gels hybrides. 235

IV.1.5.1 Balayage en contrainte : évaluation du domaine linéaire et comparaison des modules des différents gels. 235

IV.1.5.2 Balayage en Temps : évaluation du Temps de Gélification. 238

IV.2 Evaluation des propriétés mécaniques par rhéologie : les gels issus de la molécule B. 242

IV.2.1 Evolution de G' et G'', en fonction de la proportion de solvant. 242

IV.2.1.1 Mise en place de l'échantillon. 242

IV.2.1.2 Balayage en contrainte : étude du domaine linéaire et de la réversibilité mécanique. 243

IV.2.1.3 Balayage en fréquence : étude de la stabilité des échantillons à des temps courts. 245

IV.2.1.4 Balayage en temps : suivi du phénomène de gélification. 246

IV.2.1.5 Balayage en température : étude de la transition gel-solution (Tg). 248

IV.2.2 Evaluation de G' et de G'', en fonction de la quantité de molécule utilisée. 250

IV.2.3 Evaluation des propriétés mécaniques par rhéologie : gels dialysés. 254

IV.2.4 Evaluation des propriétés mécaniques par rhéologie : gels hybrides. 256

IV.3 Evaluation des propriétés mécaniques par rhéologie : gels issus de la molécule C. 257

IV.3.1 Evaluation de G' et de G'', en fonction de la composition du solvant utilisé. 257

IV.3.1.1 Mise en place de l'échantillon. 257

IV.3.1.2 Balayage en contrainte : évaluation du domaine linéaire et de la force des gels. 257

IV.3.1.3 Balayage en temps : évaluation du temps de gélification. 259

IV.3.1.4 Balayage en température : évaluation de la température de transition gel-solution. 260

IV.3.2 Evaluation de G' et G'', en fonction de la quantité de molécule utilisée. 261

IV.3.2.1 Balayage en contrainte : évaluation du domaine linéaire et de la force des gels. 261

IV.3.2.2 Balayage en temps : évaluation du temps de gélification. 263

IV.3.3 Evaluation des propriétés mécaniques par rhéologie : Gels hybrides..... 264

IV.4 Conclusion..... 265

Experimental section..... 267

I. Physical measurements. 267

I.1 Rheometer..... 267

Bibliographie..... 268

Chapitre V 271

Caractérisation des Gels Supramoléculaires / Macromoléculaires 271

V.1 Caractérisation spectroscopique des gels formulés. 272

V.1.1 Spectroscopie IR-TF et spectroscopie RAMAN. 272

V.1.2 Spectroscopie RMN 301

V.2 Caractérisation par microscopique des gels formulés. 305

V.2.1 Microscopie à force Atomique (AFM). 305

V.2.1.1 Mise en place des échantillons. 306

V.2.1.2 Evaluation de la morphologie des Xérogels. 307

V.2.1.3 Evaluation de la morphologie des gels humide. 308

V.2.2 Evaluation morphologique des gels à l'aide de la microscopie optique. 311

Experimental section..... 324

I. Physical measurements. 324

I.1 RAMAN Spectroscopie..... 324

I.2 Atomic force microscopy (AFM)..... 324

Bibliographie..... 325

Conclusion Générale et Perspectives 327

Abstract 333

Abréviations.

Réactifs et solvants :

A : N^{α}-Lauroyl-N^{ε}-carbobenzoxylysine (C_{11}-Lys(Z)-OH).

B : N^{α}-Lauroyl-N^{ε}-2-chlorine-carbobenzoxylysine (C_{11}-Lys(2-Cl-Z)-OH).

C : N^{α}-Lauroyl-N^{ε}-carbobenzoxyhydrazide (C_{11}-Lys(Z)-$NHNH_2$).

MeOH : Méthanol

ET_3N : Trimethylamine

DCM : Dichlorométhane

NaOH : Hydroxyde de Sodium

HCl : Acide Chlorhydrique

$CDCL_3$: Chloroforme deutéré

D_2O : Oxyde de deutérium

DMSO : Diméthylsulfoxyde

DMSO-d6 : Diméthylsulfoxyde deutéré

$SOCL_2$: Chlorure de thionyle

H_2O : Eau

CO_2 : Dioxyde de Carbone

PBS : solution tampon de phosphate

Techniques de Caractérisation :

IR-TF : Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

RMN ^{1}H : Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire de Proton

RMN ^{13}C : Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire de Carbone

RAMAN : Spectroscopie RAMAN

UV-visible : Spectroscopies optiques UV-Visible

AFM : Microscopie à force Atomique

MEB : Microscopie électronique à balayage

MET : Microscopie électronique à transmission

Rayons X : Diffraction et diffusion des X

HRMS : spectrométrie de masse haute résolution

ABS : Absorbance

Divers :

C* : Concentration de recouvrement

CMG : Concentration minimale de gélification

Tg Température de transition gel – solution

γ : déformation

$\boldsymbol{\tau}$: contrainte de cisaillement

δ : angle de déphasage

G* : module complex

G' : module élastique

G'' : module visqueux

Z : groupe protector carboxybenzyle

IG

Introduction Générale

Introduction Générale.

Les gels supramoléculaires constituent un sujet d'étude très attractif pour la communauté scientifique, qui s'intéresse à l'évaluation de leurs propriétés physicochimiques et à la compréhension des mécanismes moléculaires à l'origine de ces propriétés. Ils présentent des applications potentielles dans de nombreux domaines comme la cosmétique, la pharmacologie, la catalyse, etc. [1]

La gélification, est un phénomène rencontré dans certains systèmes où se produit une transition de l'état de liquide à l'état de solide mou et déformable (que l'on appelle « gel »), *via* la formation d'un réseau fibrillaire constitué par l'assemblage de molécules entre elles [2]. Certaines molécules de faible masse molaire, comme par exemple des dérivés d'acides aminés, sont capables de s'auto-assembler (*via* des interactions faibles), pour générer différentes nanostructures (telles que des fibres, rubans, feuillets, ou encore des particules) [1,3]. Les molécules de solvant sont comme « emprisonnées » dans un réseau tridimensionnel issu de cet assemblage. La transition inverse de la gélification, de l'état gel à l'état liquide peut être observée sous l'action de la température, de la lumière ou encore par l'application d'une contrainte mécanique.

Ce travail est consacré à l'étude de gels physiques à base d'acides aminés modifiés. Ces molécules sont des briques élémentaires de choix pour construire des édifices supramoléculaires complexes. En effet, les fonctions amine, amide et acide carboxylique ont une forte propension à être engagées, en tant que donneur ou accepteur, dans des liaisons hydrogène pour donner lieu à des assemblages unidirectionnels, indispensables à la formation de réseaux fibrillaires. Par ailleurs, les acides aminés sont d'excellents candidats pour des applications industrielles puisque la matière première, disponible en grande quantité, est relativement bon marché. Enfin, les gélifiants synthétisés sont potentiellement biocompatibles et biodégradables.

Nous nous sommes intéressés au cas particulier d'un acide aminé, la L-lysine et à l'élaboration d'hydrogels à partir de celui-ci. Sa chaine latérale est constituée d'une chaîne aliphatique de quatre carbones se terminant par une fonction amine. Cet acide aminé est particulièrement intéressant, car il est possible de faire facilement des modifications chimiques sur cette molécule. Il comporte en effet trois groupements fonctionnels qui peuvent être modifiés : l'amine de l'extrémité N-terminale, l'acide carboxylique de l'extrémité C-terminale et l'amine de la chaîne latérale [3,4]. Comme

l'objectif de notre travail est d'obtenir la formation de gels avec des solvants polaires, voire aqueux, les dérivés de la L-lysine ont été envisagés via une acylation des deux fonctions amine, sur le côté N-terminal et le résidu de la chaîne latérale, afin d'introduire des groupements hydrocarbonés [5]. Trois dérivés ont été synthétisés, avec des variations structurales limitées de l'un à l'autre afin de tenter de cerner l'influence de chaque groupement fonctionnel. Des gels hybrides seront aussi développés avec comme objectif l'étude de l'influence d'un polysaccharide non ionique et non-associatif, le dextrane, sur la capacité de gélification des dérivés de la L-lysine. Nous porterons notre effort sur l'établissement de liens entre différentes échelles spatiales caractérisant les gels supramoléculaires : l'échelle des molécules (techniques spectroscopiques), l'échelle des édifices supramoléculaires (techniques microscopiques) et l'échelle macroscopique (techniques rhéologiques).

L'ensemble de ce travail expérimental est rapporté dans ce mémoire de thèse qui est structuré en cinq chapitres.

Une revue de la littérature pertinente sera développée dans le chapitre I. Nous examinerons plus en détail trois aspects : la nature chimique du gélifiant, le type de fluide immobilisé et le type d'interactions impliqué. Les gels seront examinés selon différentes échelles de la matière : l'échelle nanométrique (molécules), l'échelle micrométrique (agrégats), l'échelle millimétrique (objets). Nous verrons les différentes techniques de caractérisation permettant d'une part de comprendre le mode d'organisation des molécules de gélifiant dans le matériau, et d'autre part d'étudier les propriétés physico-chimiques de ce dernier. La partie finale du chapitre I sera consacrée à certains systèmes spécifiques à base de protéines, de peptides, d'acides aminés ainsi que les gels hybrides combinant des polymères et des petites molécules.

Le chapitre II sera dédié à la synthèse et à la caractérisation structurale des molécules gélifiantes. Nous avons synthétisé trois molécules à partir de la L-lysine (Lys) que nous appellerons : **A** (C_{11}-Lys(Z)-OH), **B** (C_{11}-Lys(2-Cl-Z)-OH et **C** (C_{11}-Lys(Z)-$NHNH_2$). Les groupements Z et 2-Cl-Z ne nécessiteront pas d'étape de synthèse de notre part, ils seront déjà présents dans les précurseurs commerciaux que nous utiliserons. Pour obtenir ces trois dérivés nous devrons greffer une chaine alkyl du côté N-terminale. Alors que les dérivés **A** et **B** comporteront une fonction acide carboxylique comme la lysine, la molécule **C** comportera une fonction hydrazide, ce qui nécessitera une étape de transformation fonctionnelle. Enfin, le cycle aromatique de la molécule **B** sera substitué en position 2 par un atome de chlore. Ceci nécessitera

de changer de précurseur commercial par rapport aux synthèses de **A** et **C**. La structure et la pureté des produits obtenus seront évaluées par des analyses spectroscopiques (RMN ^{1}H et ^{13}C, IR-TF) et par spectrométrie de masse.

Le chapitre III abordera la formulation des gels et l'examen visuel de leurs propriétés. Nous examinerons trois types de gels formulés à partir des molécules **A**, **B** et **C** : des hydrogels formulés par voie thermique, des organogels aqueux formulés par voie anti-solvant (avec un mélange DMSO/H_2O) et finalement des hydrogels obtenus en dialysant les organogels aqueux préalablement formulés. L'idée est d'évaluer et comparer l'impact de la structure de la molécule sur la capacité de gélification ainsi que l'importance du procédé de formulation. Nous ferons appel à différents tests « de paillasse » : le retournement des piluliers afin d'évaluer la gélification éventuelle ; la méthode de la bille pour évaluer la température de transition gel-solution ; l'observation directe du vieillissement des gels au cours du temps (jusqu'à 3 mois). Finalement, nous formulerons aussi des gels hybrides en présence de dextrane, afin d'étudier l'influence du dextrane sur la capacité de gélification.

Le chapitre IV décrira l'évaluation détaillée des propriétés mécaniques des gels en utilisant la rhéologie comme technique de caractérisation. L'idée est d'une part, d'évaluer et de comparer les modules viscoélastique G' et G'' des gels formulés et, d'autre part de comparer les résultats de ces mesures avec les observations rapportées dans le chapitre III. Nous évaluerons le domaine de linéarité de systèmes formulés en faisant des balayages en contrainte. Ces expériences nous permettront aussi de comparer la force des gels et d'évaluer leur réversibilité mécanique. Des balayages en fréquence seront également réalisés. Ces premières expériences nous conduiront à proposer une représentation des gels. Des expériences de balayage en température nous permettront de mettre en évidence l'existence d'une température de transition gel-sol pour tous les gels. D'autre part, la réversibilité thermique des systèmes sera évaluée. Ces expériences en température feront apparaître des différences importantes selon la nature de la molécule utilisée. La cinétique de gélification sera évaluée en faisant des balayages en temps. Une interprétation plus quantitative de ces derniers résultats sera proposée en tentant de décrire les courbes obtenues à l'aide d'équations semi-empiriques. Ces expériences nous fourniront des indications précieuses sur les caractéristiques des auto-assemblages formés et leur cinétique de croissance.

Finalement, le chapitre V sera consacré à l'étude des systèmes à l'échelle nanométrique liée aux interactions moléculaires et à l'échelle micrométrique liée aux objets formés pendant le processus de gélification. Les interactions moléculaires seront évaluées en utilisant les spectroscopies IR, RAMAN et RMN ^{1}H. Un examen détaillé de ces résultats nous permettra de mettre en évidence des différences selon la structure des molécules. Concernant l'étude des objets formés lors des phénomènes d'auto-assemblage, nous ferons appel à la microscopie RAMAN et à la technique AFM. Nous tenterons de faire le lien entre les résultats obtenus avec ces techniques et ceux des expériences décrites dans les chapitres III et IV.

Finalement, nous reprendrons l'ensemble des conclusions principales tirées des expériences réalisées et nous dessinerons quelques perspectives à ce travail.

Bibliographie

1. RAEBURN J. ADAMS D. Multicomponent low molecular weight gelator. ChemComm. 51, 5170-5171 (2013).

2. COLLIN D., COVIS R. ALLIX F., JAMART-GREGOIRE B., MARTINOTY P., Jamming transition in solutions containing organogelator molecules of amino-acid type: rheological and calorimetry experiments. Soft Matter. 9, 2947-2958 (2013).

3. MASAHIRO S., HANABUSA K. L-Lysine-based low-molecular-weigth gelators. Chemical Society Reviews. 38, 967-974 (2009)

4. SHANGFENG P., SONG L., YUSI L., YANYAN G., BIN H., ZHONGWEI G., Ultrasound Accelerated Gelation of Novel L-Lysine based hydrogelators. ChemComm. 49, 8045-8047 (2013)

5. MASAHIRO Z., MARIKO Y., MUTSUMI K., HIROFUSA S., KENJI H., Novel family of low molecular weight hydrogelator bese don L-lysine derivatives. ChemComm. 884-885, (2002).

Chapitre I

De la Conception à la Caractérisation des Gels

I. Qu'est-ce qu'un gel ?

I.1 Etats fondamentaux de la matière.

La matière peut être représentée par 3 états dits fondamentaux : solide, liquide et gazeux.

L'état solide est un état condensé de la matière. Il peut être amorphe, semi-cristallin ou cristallin. Dans ce dernier cas, les molécules sont organisées dans les trois directions de l'espace. L'arrangement des molécules a lieu grâce à des interactions physiques entre elles. Cette organisation des molécules se fait aussi bien à courte qu'à longue distance.

L'état liquide est un autre état condensé de la matière où les molécules sont en contact, et les interactions intermoléculaires faibles. La différence avec l'état solide réside essentiellement dans le degré d'ordre existant et dans la mobilité des molécules. Contrairement au solide cristallin où l'ordre, aussi bien en position qu'en orientation, est total, le liquide isotrope est quant à lui un état totalement désorganisé. Parfois un ordre est possible selon certaines directions comme dans les cristaux liquides. Par ailleurs, contrairement à l'état solide, dans l'état liquide les molécules ont la possibilité de se déplacer sur de grandes distances comparées à leur propre taille.

Contrairement aux états solides et liquides, l'état gazeux est un état dispersé de la matière où les contacts intermoléculaires sont plus rares. Les molécules sont isolées les unes des autres, avec une liberté de déplacement beaucoup plus importante que pour les liquides. Ainsi, cet état est beaucoup plus chaotique que l'état liquide, et *a fortiori* que l'état solide. Le niveau de désordre est comparable à celui observé dans l'état liquide, mais avec une mobilité moléculaire encore bien supérieure. La figure 1 représente schématiquement les trois états fondamentaux de la matière et les classe en fonction de leurs quatre propriétés principales : Isotropie/anisotropie, condensé/dispersé, fluidité et désordre.

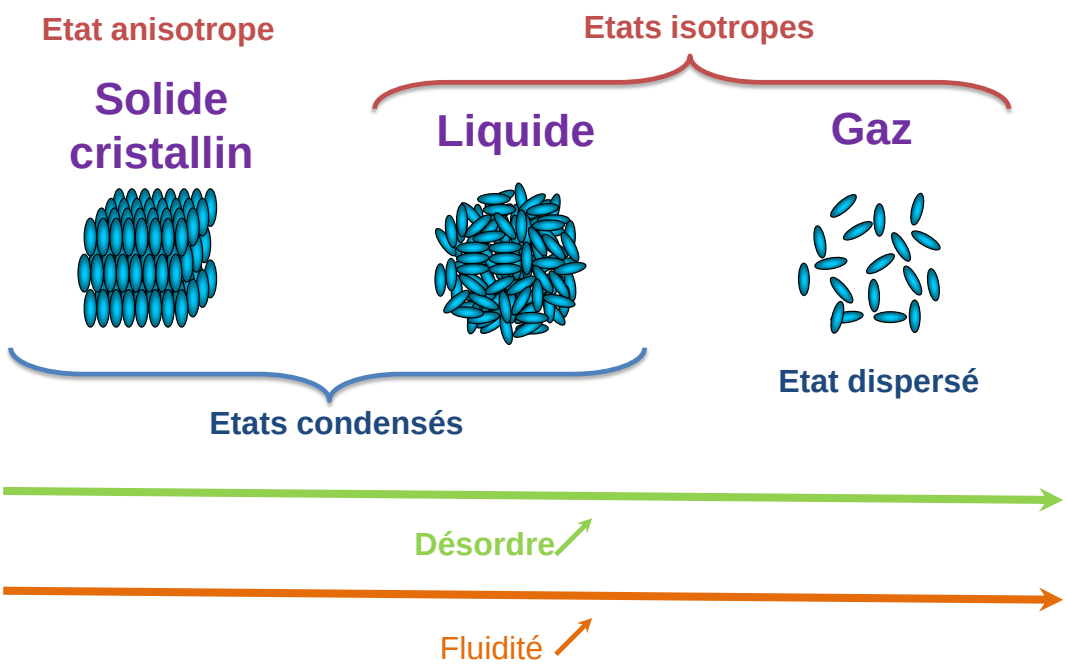


Figure 1 : Représentation schématique des états fondamentaux de la matière et leurs propriétés physiques.

Comme le suggère cette figure ces trois états peuvent être considérés comme des états « limites ». Certains composés peuvent, en fonction des conditions thermodynamiques de température ou de pression, passer d'un de ces états à un autre, ce sont les transitions de phase notamment des « corps purs ». Or, certains matériaux sont impossibles à classer formellement dans l'une ou l'autre des catégories précédentes. C'est le cas d'un grand nombre de produits de tous les jours comme les crèmes cosmétiques, la mayonnaise ou encore certains caoutchoucs, c'est aussi le cas des cristaux liquides. En effet, il est possible de trouver des états intermédiaires dans ce domaine d'étude. Cette zone a été définie par Madeleine Veyssié dans les années 1970 sous le nom de **Matière Molle** [1].

I.2 La matière molle : des états intermédiaires fascinants.

Une rapide analyse sémantique de ce terme "matière molle" nous conduit ainsi à inclure dans cette famille tout produit qui n'est ni un solide en terme de résistance mécanique, ni un liquide en terme d'écoulement ou d'isotropie. Par ailleurs ce type de matériau peut opposer une réponse forte, qu'elle soit

réversible ou irréversible, vis-à-vis d'une contrainte mécanique qui lui est appliquée. En effet, la définition du terme "mou" tirée du dictionnaire Larousse comporte : "qui cède facilement au toucher, qui n'est pas dur" mais aussi "qui est souple, dont la forme peut se modifier sous une légère pression". Nous pouvons donc ranger sous le chapeau "matière molle" des systèmes comme les matériaux polymères, les colloïdes, les solutions de tensioactifs ou de polymères et les cristaux liquides [2]. Ces constituants sont capables de s'organiser à travers des interactions de faibles énergies telles que les liaisons hydrogène, les forces de van der Waals, des interactions de type π-π aromatiques, des interactions hydrophobes [3] etc. La nature même de ces interactions fait que ces matériaux sont stimulables car il est possible de modifier leur organisation très facilement du fait des faibles énergies mises en jeu (comparables à l'énergie d'agitation thermique). Une grande variété de sollicitations de ces matériaux peut donc être envisagée. Ainsi, à des contraintes mécaniques précédemment citées, nous pouvons ajouter des stimuli physico-chimiques tels que la température, la lumière, le pH, la concentration ou encore l'application d'un champ électrique.

Les gels sont des objets qui font pleinement partie de la matière molle.

I.3 Les gels.

Les gels sont des matériaux connus depuis des siècles, notamment en cuisine où ils peuvent être obtenus à partir de jus de viandes ou de fruits cuits. Pour autant, il conviendrait de trouver des définitions simples et suffisamment larges pour pouvoir cerner tous les types de matériaux susceptibles d'entrer dans cette famille [4].

I.3.1 Définitions des gels.

Pour parvenir à définir ce que sont les gels, nous commencerons par citer la définition proposée en 1926 par Dorothy Jordan Lloyd [5] :

« ***The colloidal condition, the "gel", is one which it is easier to recognize than to define, and even recognition is confused by the fact that the limits between***

gel and sol, on the one hand, and gel and what may be termed curd, on the other, are not precise, but consist of a gradual change. For this reason some workers classify as "gels" systems which others exclude. Only one rule seems to hold for all gels, and that is that they must be build up from two components, one of which is a liquid at the temperature under consideration, and the other of which, the gelling substance proper, often spoken of as the gelator, is a solid. The gel itself has the mechanical properties of a solid, i.e., it can maintain its form under the stress of its own weight, and under any mechanical stress it shows the phenomenon of strain».

Cette définition reflète assez justement toute la difficulté de trouver les limites d'étude de ce domaine de recherche. Cependant, LLoyd nous donne un point de départ simple et pertinent pour pouvoir tenter de définir ce qu'est un gel. En effet, ce sont des matériaux souples constitués à minima par deux composants : un gélifiant et un liquide. Le premier, généralement présent en petite quantité (1 % en masse), conduit à la formation d'une structure « solide » continue capable d'emprisonner de grandes quantités du second.

Une autre définition, qui se positionne elle aussi à une échelle macroscopique, a été proposée par Paul John Flory en 1974 **[6]** :

"The one feature identified almost universally as an essential characteristic of a gel is its solid-like behaviour. When deformed its response is that of an elastic body. [...] Further, the elastic compliance of a gel is large, i.e., the modulus of elasticity is low.

One may infer from this universal characteristic of those systems regarded as gels that they must possess a continuous structure of some sort, the range of continuity of the structure being of macroscopic dimensions. [...] As a corollary inference, the continuity of structure must possess a degree of permanency, at least for a period of time commensurate with the duration of the experiment."

Les gels sont donc des systèmes viscoélastiques, qui présent un comportement solide et liquide à la fois. Les gels sont considérés comme un solide car ils sont capables de conserver l'énergie mécanique une fois qu'ils sont soumis à

des déformations. Ainsi, au-dessous d'une contrainte de déformation limite, les gels sont bien des solides. Par contre, au-dessus de cette contrainte, les gels s'écoulent et présentent des caractéristiques liquides. Par ailleurs, la structure des gels est à la fois continue à l'échelle macroscopique, mais aussi stable dans l'échelle de temps de l'analyse.

La gélification est donc un phénomène d'immobilisation d'une phase fluide au sein d'un réseau tridimensionnel continu. La morphologie de ce réseau peut être très variée. Cela peut être notamment des enchevêtrements physiques de macromolécules, des macromolécules liées chimiquement entre elles, des suspensions bloquées de particules (phénomène de « jamming »), des auto-assemblages de petites molécules (assemblages « supramoléculaires »). Pour ces derniers, bien que la structure fibrillaire soit celle la plus couramment rencontrée, le réseau supramoléculaire peut être constitué de rubans, de feuillets ou encore de particules. Pour ce qui est de la phase fluide, il n'y a aucune limite puisqu'il est tout à fait possible de gélifier la quasi-totalité des liquides, y compris des mélanges complexes constitués de plusieurs composants. Après avoir précisé la définition des gels, il convient à présent d'établir une classification de ces derniers.

I.3.2 Classification des gels.

La classification des gels n'est pas non plus une tâche aisée et il n'y a vraisemblablement pas de classification universelle. Selon le point de vue adopté, cette dernière pourra varier de façon importante. Il est en effet possible de classer les gels en prenant en compte la nature chimique du gélifiant (organique / inorganique, moléculaire /macromoléculaire), le type de fluide immobilisé (aqueux, organique) ou encore le type d'interactions impliquées dans la formation du réseau tridimensionnel. Dans le cadre de ce travail, nous nous inspirerons de la définition de Lloyd qui décrit les gels comme des matériaux binaires composé d'un réseau « solide » et d'une phase continue « liquide » (figure 2). Dans cette classification, nous n'incluons pas explicitement les systèmes de type « suspensions bloquées ».

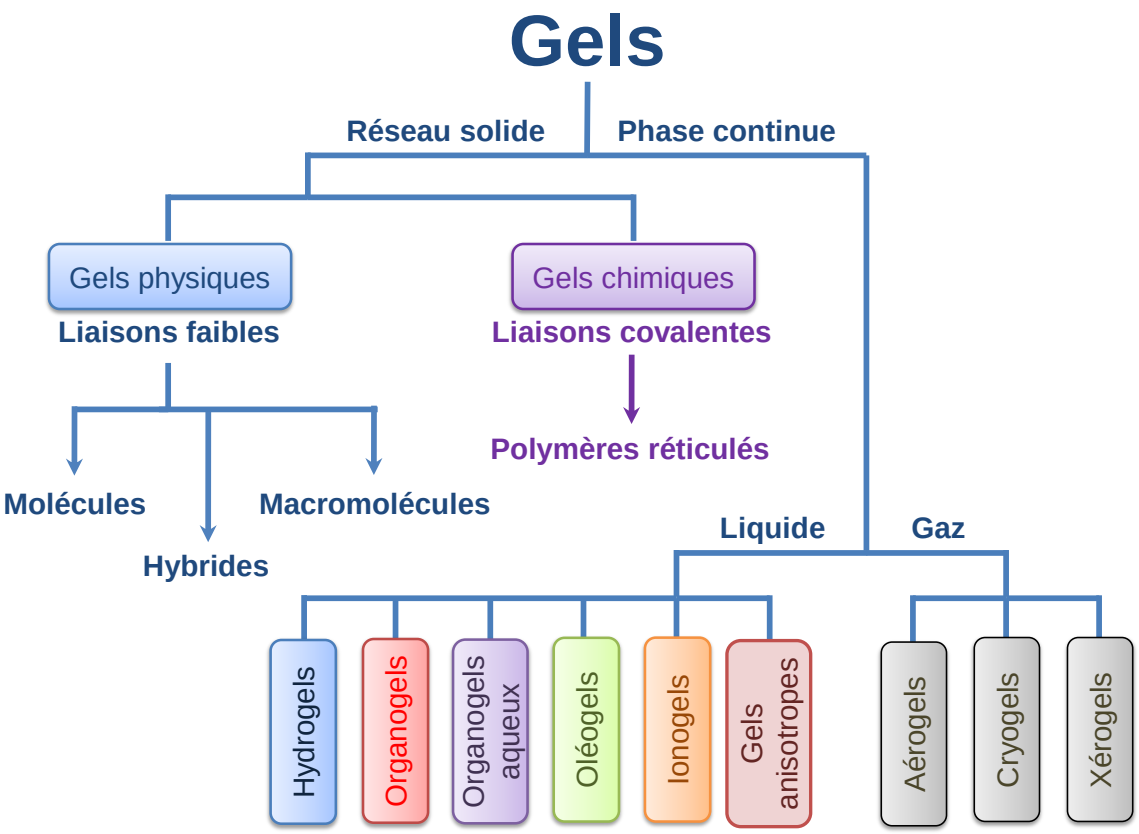


Figure 2 : Classification des gels.

I.3.2.1 Classification selon la phase continue.

Selon le fluide immobilisé nous pouvons répartir les gels en plusieurs catégories :

- Les **hydrogels** si le solvant utilisé est de l'eau ou des tampons aqueux **[7, 8]**.
- Les **organogels** si nous utilisons des solvants organiques dits courants tels que des alcanes (saturés linéaires, saturés cycliques, aromatiques...) des alcools, esters ou d'autres solvants polaires tels que le DMSO ou encore la DMF, **[9, 10]**.
- Si un mélange d'eau et de solvant organique est immobilisé, nous utiliserons le terme d'**organogels aqueux** **[11, 12]**.
- D'autres gels peuvent être obtenus à partir de fluides plus spécifiques tels que des triglycérides **[13, 14]** (oléogels), des liquides ioniques

[15,16] (ionogels) ou encore des cristaux liquides [17, 18] (gels anisotropes).

❖ Gels secs

Ceux-ci sont obtenus par extraction du fluide primitivement immobilisé, ce sont donc des solides poreux et le terme « gels » utilisé pour les désigner provient du procédé utilisé pour les élaborer. Habituellement trois catégories sont distinguées : les aérogels, les cryogels et les xérogels. La différence entre ces trois catégories réside dans le mode de séchage utilisé. Dans le cas des aérogels, le procédé utilise du CO_2 en phase supercritique. Ce procédé permet notamment de conserver la structure tridimensionnelle du gel humide. Le volume du gel est quasiment conservé durant tout le processus de séchage qui se fait en deux étapes. La première consiste à remplacer progressivement le fluide immobilisé dans le gel par du CO_2 en phase supercritique. Puis, lorsque le système est ramené à température ambiante et à pression atmosphérique, le CO_2 repasse en phase gazeuse et s'échappe du matériau sans provoquer de modification de structure. Le séchage supercritique conduit à des matériaux très poreux [19, 20]. L'inconvénient majeur de cette technique est qu'elle est réservée aux gels dont le solvant est miscible au CO_2 en phase supercritique. De fait, il sera impossible d'obtenir un aérogel à partir d'un hydrogel. Les cryogels sont quant à eux formés grâce à un processus de lyophilisation. Connu aussi sous le nom de séchage à froid, ce procédé permet d'extraire l'eau de la matrice du gel par sublimation [21]. Enfin, les xérogels sont, eux, obtenus par un séchage à l'air libre ou sous pression réduite. Dans ce cas-ci, le séchage du gel conduit à l'effondrement du réseau tridimensionnel, donnant comme résultat des matériaux plus denses et moins poreux que les aérogels et les cryogels [22].

I.3.2.2 Classification en fonction de la nature du réseau solide.

Examinons maintenant l'autre branche de la classification (figure 2), à savoir selon la nature du réseau « solide » présent dans le gel. Ce dernier, est tridimensionnel et occupe la totalité du volume du gel. La figure 3 résume les principaux cas, sans prétendre à l'exhaustivité.

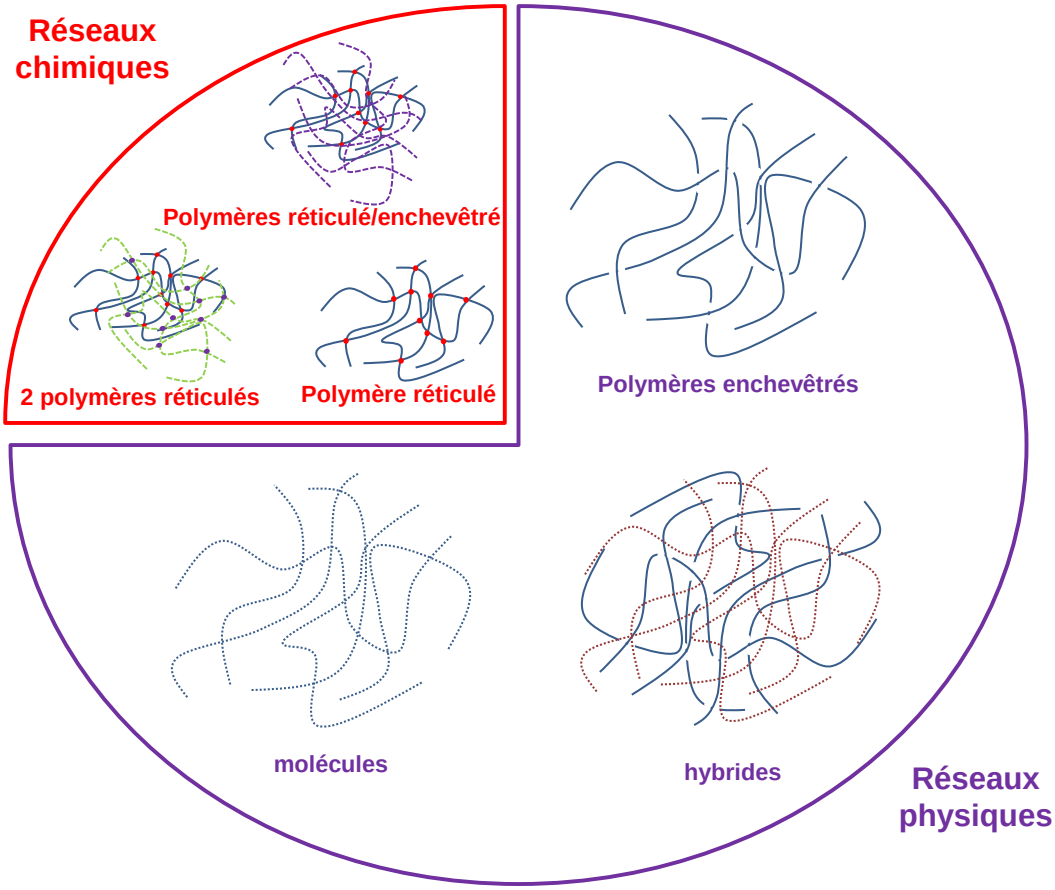


Figure 3 : Représentation schématique des différentes classes de gels en fonction de la nature du gélifiant et des interactions responsables du réseau tridimensionnel: gels chimiques de polymères réticulés (en haut à gauche), gels physiques de polymères enchevêtrés (en haut à droite) de molécules de faible masse moléculaire (en bas à gauches) de systèmes hybrides moléculaires - macromoléculaires (en bas à droite), réseaux chimiques de plusieurs polymères réticulés interpénétrés et réseaux polymères interpénétrés chimiques et physiques. Pour les systèmes à base de molécules, la représentation linéaire choisie pour sa simplicité n'est qu'un exemple.

Dans le cas des gels dits chimiques, ce seront des liaisons covalentes qui sont impliquées. Ces gels peuvent être obtenus suite à la polymérisation de monomères

organiques comme par exemple la copolymérisation du styrène et du *p*-divinylbenzène dans du toluène [23], ou encore de monomères inorganiques comme au cours du procédé "sol-gel" suite à l'hydrolyse du tétraéthyloxyde de silicium (TEOS) [24]. Une autre façon d'obtenir des gels chimiques consiste à réticuler des polymères organiques linéaires préparés préalablement. Nous pouvons citer à titre d'exemple des travaux effectués au laboratoire sur la modification de dextrane par des unités méthacrylates ce qui rend les gels issus de ce polymère réticulé très intéressant pour être utilisé comme moyen de vectorisation de médicaments [25]. Les gels chimiques sont irréversibles. Plus précisément, au-delà d'un seuil de déformation, les ruptures des liaisons sont définitives, elles n'ont pas la possibilité de se reformer pour retrouver l'état initial. Les énergies des liaisons covalentes sont bien supérieures à l'énergie d'agitation thermique.

Dans les gels physiques, le phénomène de gélification est lié à l'assemblage des molécules via l'établissement d'interactions non-covalentes. C'est le cas notamment des liaisons hydrogène, des interactions de type π-π aromatique, de van der Waals, ioniques et dipolaires[3]. En raison de la faible énergie de ces interactions (comparativement à l'énergie d'agitation brownienne), les gels obtenus sont en théorie stimulables, donc réversibles. Cela signifie qu'une fois que la structure du gel a été détruite (transition de l'état gel à l'état liquide), les molécules ont la capacité de se réorganiser pour reformer l'objet supramoléculaire (passage de l'état liquide à l'état gel). La stimulation peut être induite par l'action de différents paramètres physiques et physico-chimiques, tels que la température, la lumière, le pH, la force ionique, ou par l'application d'une contrainte mécanique [26].

Les gels physiques peuvent être conçus à partir de macromolécules linéaires ou ramifiées et de molécules. Dans le premier cas, la gélification est observée grâce aux interactions faibles qui s'établissent entre les chaînes polymères. Ce phénomène dépend fortement de la concentration en polymère (C). En effet, pour qu'un polymère linéaire/ramifié soit capable de gélifier, il faut atteindre la concentration à laquelle les chaînes de polymères commencent à interagir les unes avec les autres. Cette concentration spécifique s'appelle la concentration critique de recouvrement C*. Plusieurs cas sont possibles (figure 4) :

- Si $C < C^*$ la solution est dite diluée. Les chaînes de polymères sont éloignées, mais de temps en temps elles interagissent. Dans ce cas-là, la

concentration n'est pas encore suffisante pour avoir un gel. Nous observons seulement un faible accroissement de la viscosité du milieu qui demeure inférieure à environ deux fois la viscosité du solvant pur.

❖ Si la ***C > C**** les chaînes de polymères interagissent entre elles via des recouvrements ce qui conduit à une augmentation significative de la viscosité mais le fluide conserve un comportement de type liquide visqueux.

❖ Si **C > 10xC*** les chaînes polymères s'enchevêtrent et forment un réseau solide capable d'emprisonner le solvant. La formation d'un gel est observée, ce qui se manifeste par un comportement viscoélastique.

C* représente un paramètre de grande importance pour la formulation des gels **[27]**.

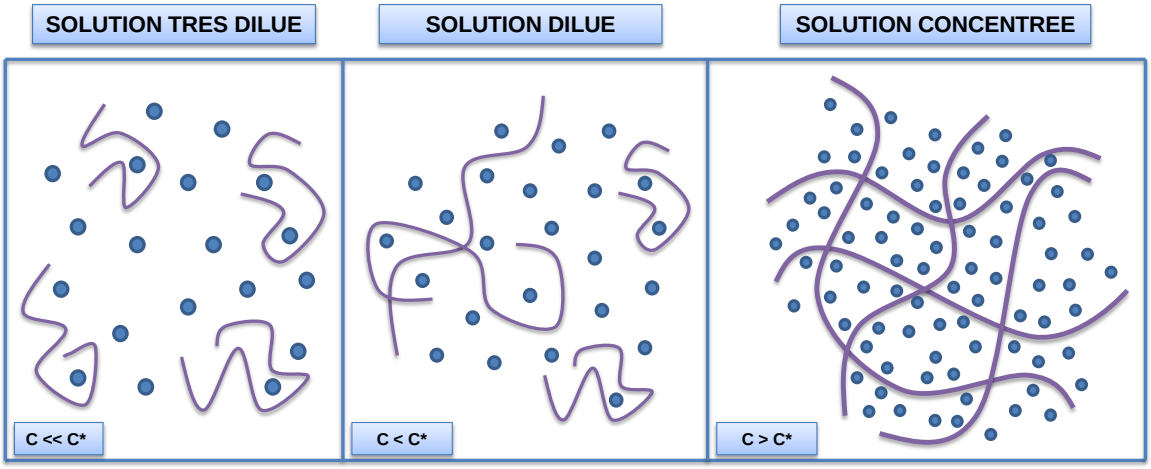


Figure 4 : Représentation de la structure d'un gel physique macromoléculaire.

Les macromolécules peuvent aussi comporter des groupements fonctionnels susceptibles de conduire à l'établissement d'interactions intermoléculaires supplémentaires (complexations, interactions hydrophobes…) qui contribueront à l'obtention de propriétés viscoélastiques. Nous ne détaillerons pas ces aspects ici.

La deuxième classe de gels physiques est celle dont le réseau « solide » est exclusivement composé de gélifiants de type « moléculaire », c'est-à-dire dont les masses molaires sont en général inférieures à 2000 $g.mol^{-1}$. Nous pouvons les trouver dans la littérature sous les dénominations de "gels moléculaires", "gels supramoléculaires" en encore "gels de faibles poids moléculaires". Ces gels se forment lorsque la concentration en molécules dépasse une valeur minimale, dite

concentration minimale de gélification, qui peut dépendre significativement de la température.

Enfin, la dernière classe de gels est obtenue en mélangeant des gélifiants moléculaires et macromoléculaires. Nous avons alors accès à des matériaux hybrides où deux réseaux solides, l'un moléculaire et l'autre macromoléculaire sont plus ou moins interpénétrés et peuvent interagir.

Ces deux dernières classes seront décrites de façon plus détaillées dans la suite du mémoire.

I.4 Les gels supramoléculaires.

La chimie supramoléculaire peut être sommairement divisée en deux grands domaines, le premier étant celui des *supermolécules*, entités discrètes, résultant de l'association d'un nombre bien définies de molécules, et le second celui des *assemblages supramoléculaires* dont le nombre de constituants est indéfini et qui donnent des matériaux aux propriétés spécifiques **[28]**. Les gels supramoléculaires font plutôt partie du second domaine et ils résultent de l'auto-assemblage séquentiel de « briques moléculaires » conduisant à la formation d'un réseau tridimensionnel aux propriétés mécaniques toutes particulières.

Le mécanisme de formation d'un gel supramoléculaire est décrit de façon très schématique sur la figure 5. La première étape consiste à disperser, de quelque façon que ce soit, les molécules de gélifiant dans le fluide à immobiliser. Cette étape indispensable de "solubilisation" temporaire du gélifiant peut être atteinte soit par chauffage, par ajustement de pH, par application d'ultrasons ou encore en utilisant une quantité minimale de bon solvant. Nous aborderons trois de ces quatre voies, elles seront décrites plus précisément dans le chapitre III. Les étapes suivantes du processus sont la nucléation avec la formation de petits agrégats, puis d'objets de taille mésoscopique, par exemple des fibrilles qui s'organisent ensuite en fibres, qui finissent par interagir entre eux jusqu'à bloquer leurs mouvements, par exemple les fibres vont s'enchevêtrer pour donner le réseau tridimensionnel. Il y a deux aspects importants à prendre en considération dans ce processus. Le premier est lié à la topologie du système. En effet, nous partons d'une molécule de gélifiant qui peut être vue comme un objet à zéro dimension. Les objets de taille mésoscopique, par exemple des fibres, peuvent alors être considérés comme des objets de dimension comprise entre 1 et 3,

pour finalement aboutir à un édifice tridimensionnel qu'est le réseau solide complet. Le deuxième aspect important de ce processus est quant à lui lié à la cinétique de formation du gel. Certains gels peuvent se former en quelques secondes, ce qui rend d'ailleurs leur formulation assez complexe d'un point de vue pratique, alors que d'autres systèmes auront besoin de temps beaucoup plus longs pour se former. Cette représentation de la figure 5 est assez simpliste, et il va de soit qu'elle ne dépeint pas complètement la réalité dans toute sa complexité. En effet, non seulement ce modèle ne peut être appliqué qu'aux systèmes désignés dans la littérature sous le terme de "Self-Assembled Fibrillar Network" (SAFiNs) [29], mais il est également assez peu probable que ces événements aient lieu de manière aussi séquentielle. Il y a certainement une part de chevauchement, plus ou moins importante selon les systèmes, entre ces étapes.

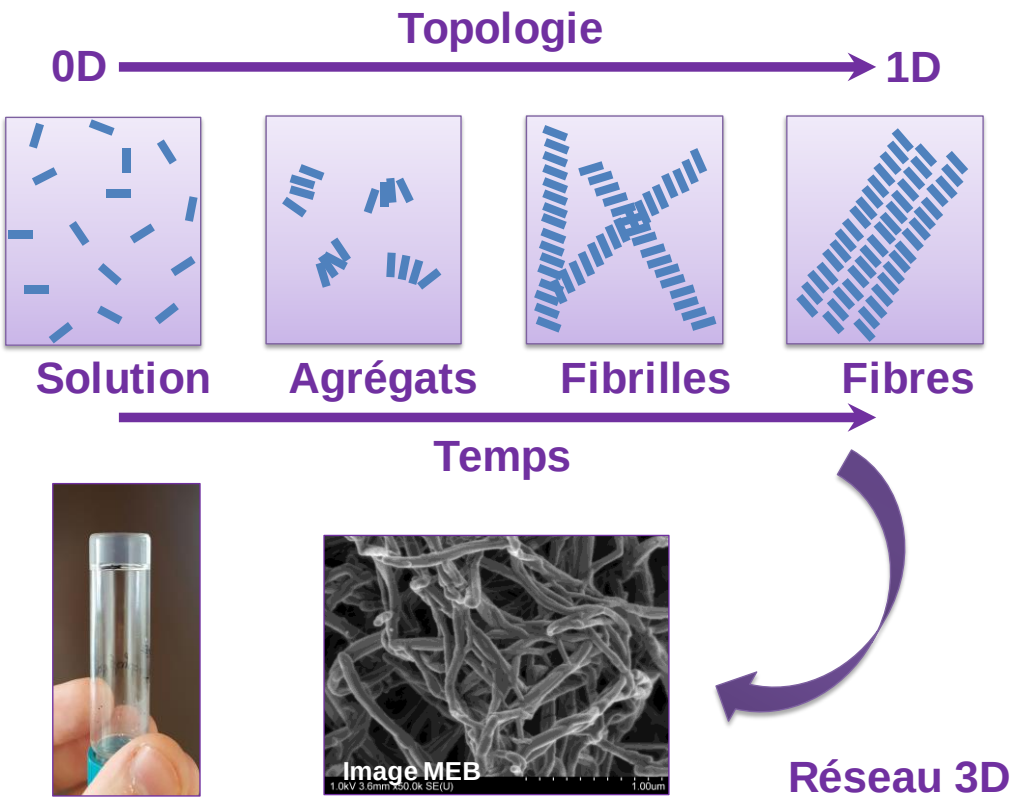


Figure 5 : Représentation schématique des différentes étapes de formation d'un gel supramoléculaire de type fibrillaire (SAFiN) [29]

Ce type d'édifice ne peut être obtenu que si les synthons sont programmés, c'est à dire pourvus topologiquement de sites de reconnaissance spécifiques, pour pouvoir s'auto-organiser. Ainsi, l'obtention d'un tel réseau fibrillaire sera favorisée dans des

cas où le gélifiant aura des prédispositions à s'organiser au cours de la première étape de façon unidirectionnelle. Les interactions faibles impliquées dans ce type de mécanisme ont déjà été évoquées dans les paragraphes précédents et sont bien souvent combinées. Les deux premiers exemples d'organogels qui ont été étudiés dans les années 90 par Pierre Terech et Kenji Hanabusa, sont ceux formés par l'acide 12-hydroxystéarique **[30]** (composé 1, figure 6) et par le *trans*-1,2-bis(alkyl-amide) dans le cyclohexane **[31]**. Dans ces deux cas, la combinaison d'interactions de type van der Waals entre chaînes aliphatiques et de liaisons hydrogène entre fonctions acide carboxylique, hydroxyle et amide permettent aux briques moléculaires de s'auto-organiser de façon unidirectionnelle. Un autre exemple, qui utilise des interactions de type $\pi-\pi$ aromatiques en plus des liaisons hydrogène et des interactions de van der Waals, est celui des dérivés d'oligo(*p*-phénylène vinylène) (composé 3, figure 6) qui donnent des organogels principalement dans des alcanes.

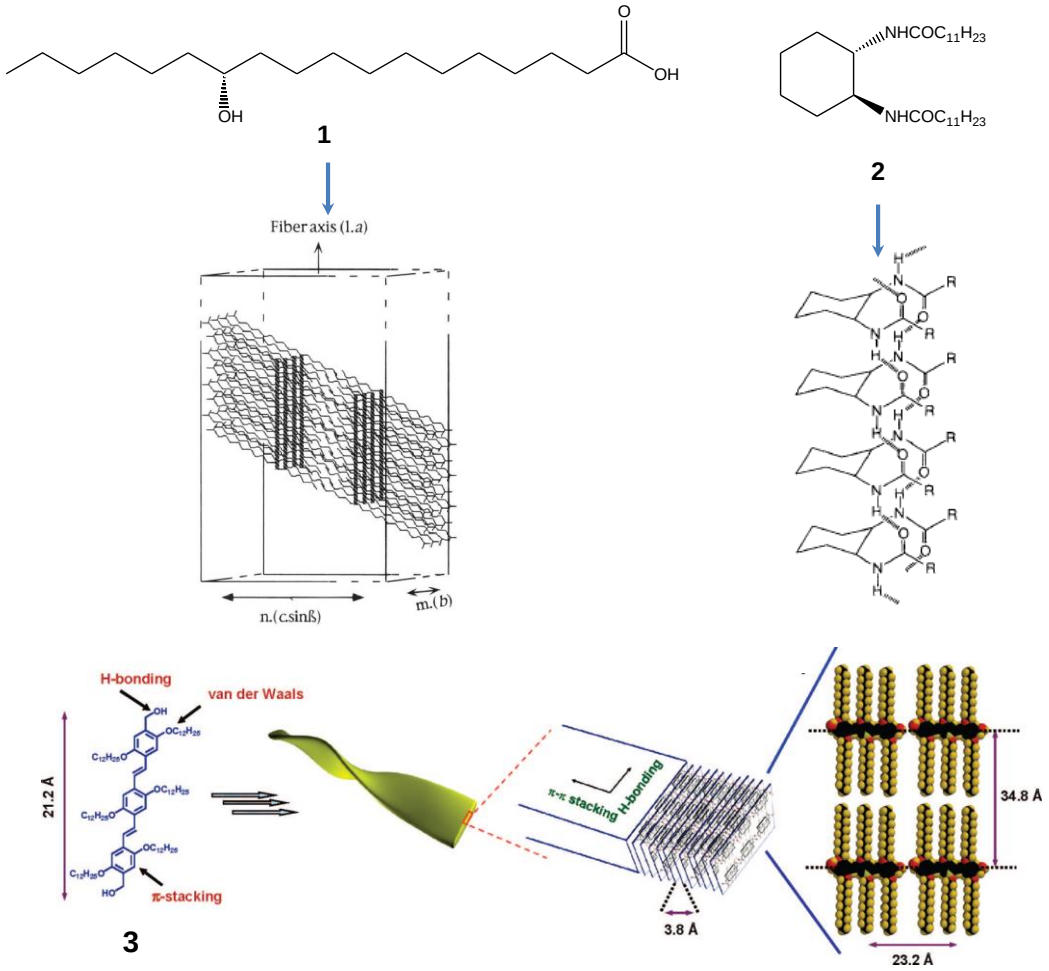


Figure 6 : Synthons moléculaires favorisant des assemblages unidirectionnels **[30,31]**.

I.5 Méthodes de caractérisation des gels supramoléculaires.

Plusieurs techniques de caractérisation peuvent être utilisées pour essayer d'une part de comprendre le mode d'organisation des molécules de gélifiant dans le matériau, d'autre part d'étudier leurs propriétés physico-chimiques.

Les gels sont le résultat de l'évolution d'un système (gélifiant/solvant) dans le temps. Cette évolution comprend plusieurs étapes, associées à différentes échelles de la matière : l'échelle nanométrique (molécules), l'échelle micrométrique (agrégats ou encore auto-assemblages), l'échelle millimétrique (systèmes macroscopiques). Les spectroscopies RMN, IR-TF, RAMAN, UV-visible, les microscopies telles que l'AFM, le MEB, le MET, ainsi que les microscopies optiques, à lumière polarisée ou couplée au RAMAN ainsi que la rhéologie, sont des méthodes très souvent utilisé pour caractériser ces types de systèmes aux différentes échelles pertinentes (figure 7).

❖ La plus petite échelle envisagée ici est celle de la molécule. Les techniques spectroscopiques comme RMN, IR-TF, RAMAN ainsi que les spectroscopies optiques telles que l'UV-visible ou la fluorescence donnent des informations sur l'environnement proche des molécules de gélifiant. Nous pouvons ainsi avoir accès à des informations relatives aux interactions faibles intermoléculaires.

❖ L'échelle micrométrique, celle des auto-assemblages, est quant à elle abordée par les techniques de diffraction et de diffusion des rayons X ou des neutrons. Les informations dans ce cas concernent plutôt l'organisation moléculaire à plus grande distance. Nous pouvons collecter des données sur le mode d'arrangement et sur les distances de répétition des objets qui constituent les auto-assemblages. En effet, nous pouvons par exemple connaitre la distance séparant deux couches dans le cas d'une organisation de type lamellaire, ou encore le diamètre et la symétrie de l'organisation des cylindres dans le cas d'une organisation colonnaire. Les différentes techniques de microscopies (MFA, MET, MEB) donneront des informations sur la morphologie du réseau solide tridimensionnel. Dans le cas d'un gel de type fibrillaire, nous pourrons déterminer une distribution de diamètres des fibres ainsi que le niveau de densité du réseau

❖ Enfin, la dernière échelle, celle du matériau peut être caractérisée en premier lieu par des expériences très simples qui consistent à déterminer visuellement, pour un couple gélifiant - solvant donné, la concentration minimale de gélification (CMG) à

une température donnée, ainsi que la température de transition gel - solution (souvent notée Tg) pour une concentration fixée en molécule gélifiante. Les techniques d'observation consistent par exemple à retourner le pilulier dans lequel le gel est formulé afin d'évaluer la capacité de ce dernier à supporter son propre poids, ou encore à utiliser la méthode de la bille pour déterminer la Tg. Ces informations n'ont toutefois de sens que si les expériences sont menées dans des conditions très précisément définies. Par exemple, la méthode du retournement du pilulier nous amène à des résultats très dépendants des conditions d'observations, ce qui rend les expériences très difficiles à transposer d'une étude à un autre. Il faut en effet que le volume de l'échantillon, le temps d'attente, la masse de la bille ou encore le mode de chauffage soit toujours le même pour éviter toute interprétation erronée des propriétés macroscopiques du gel. Les mesures rhéologiques apportent des informations beaucoup plus quantitatives sur les propriétés mécaniques des gels.

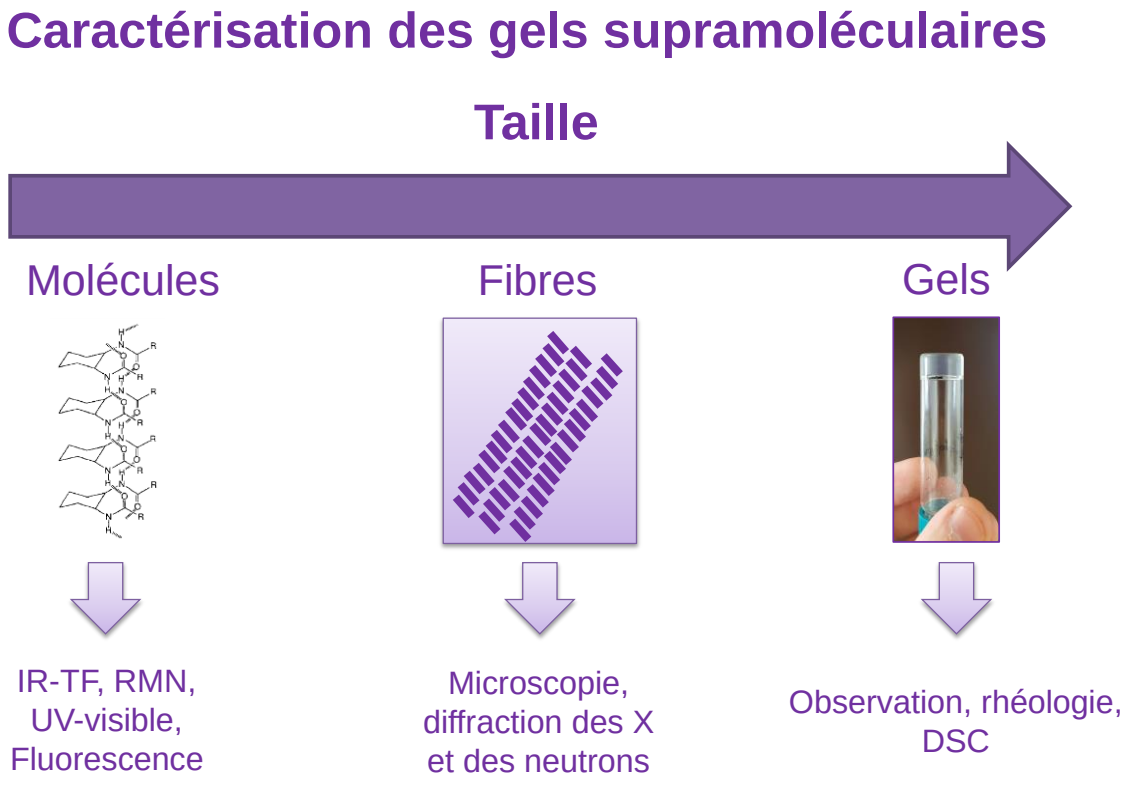


Figure 7 : Techniques des caractérisations à utiliser en fonction de l'échelle d'étude: moléculaire, fibre, matériau.

L'enjeu est donc de faire appel à différentes techniques de caractérisation puis de confronter leurs résultats pour obtenir une représentation aussi détaillée que possible de l'objet d'étude, à savoir les gels supramoléculaires.

I.5.1 Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IR-TF).

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier est une technique de caractérisation moléculaire incontournable pour la synthèse organique. Lorsqu'une molécule absorbe un rayonnement infrarouge, cela provoque des vibrations à l'échelle des liaisons moléculaires entrainant une modification de la forme de la molécule et par voie de conséquence des variations des moments dipolaire. Plusieurs modes de vibration son possibles : les vibrations d'élongation et les vibrations de déformation. Les vibrations d'élongation sont très sensibles à deux paramètres: la masse des atomes impliqués dans la liaison covalente, et la constante de force de cette liaison. En effet, si nous considérons que deux atomes liés entre eux par une liaison covalente peuvent être assimilés à deux masses liées entre elles par un ressort, la loi de Hooke indique (figure 8) que la fréquence ν d'un vibrateur est proportionnelle à la constante de force (k), et est inversement proportionnelle à la masse réduite (μ).

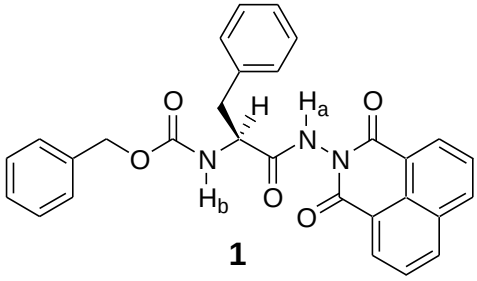
$$\nu(\mathrm{cm}^{-1}) = \frac{1}{2\pi c}\sqrt{\frac{k}{\mu}}$$

Figure 8: Loi de Hooke, avec c = vitesse de la lumière, k = constante de force et μ = masse réduite.

Dans le spectre IR-TF, cela va se traduire par la présence de bandes qui correspondent aux différents vibrateurs de la molécule. L'intensité de chacune de ces bandes sera directement liée à l'amplitude de variation du moment dipolaire qui lui est associé.

Dans le cadre de la caractérisation de gels supramoléculaires, la spectroscopie IR-TF nous permettra d'étudier l'environnement des molécules de gélifiant qui constituent l'échantillon. Par exemple, si certains groupements fonctionnels comme les amides sont libres ou liés à travers des liaisons hydrogène, les signaux seront modifiés. En effet, lorsqu'une liaison hydrogène s'établit entre un groupement carbonyle et un groupement NH, cela a pour conséquence d'affaiblir ces deux liaisons qui voient alors

leur constante de force diminuer. Si nous nous reportons à la loi de Hooke, si k diminue, alors la fréquence ν du vibrateur diminue également. Ce dernier point est d'un grand intérêt pour nous. En effet, pour mieux comprendre la structure des objets supramoléculaires formés, nous cherchons à identifier les interactions entres molécules, qui conduisent à la formation du réseau 3D. Cette technique de caractérisation est donc couramment utilisée pour caractériser des gels supramoléculaires dans lesquels des liaisons hydrogène sont supposées avoir un rôle important. Nous pouvons en effet avoir accès aux abaissements de fréquences de vibrations de groupements fonctionnels qui ont lieu lorsque les gélifiants s'auto-assemblent *via* des liaisons hydrogène. Des études en température variables (figure 9) peuvent également être menées pour voir l'établissement et la rupture de ces liaisons lors des transitions entre la solution et le gel dans le cas de gels thermoréversibles [32].



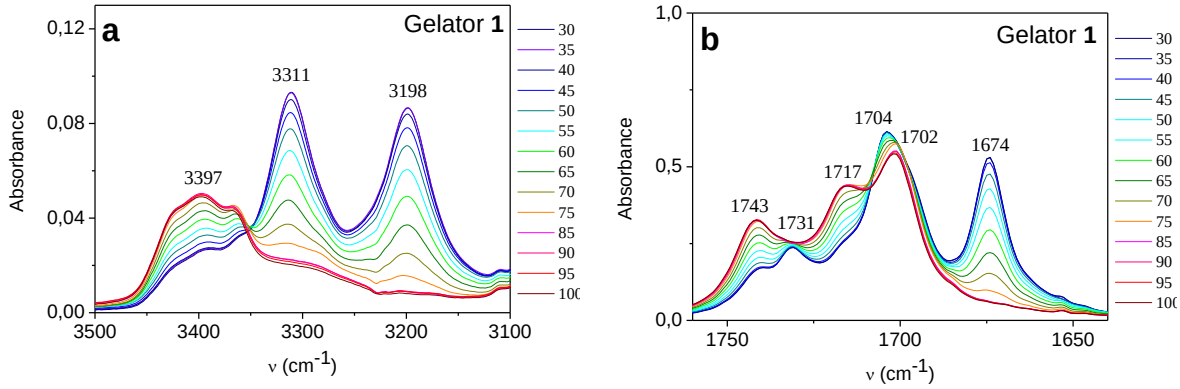


Figure 9 : Evolution en fonction de la température de la vibration d'élongation des NH (bas, gauche) et des carbonyles (bas, droite) pour le gélifiant Z-Phe-NHNapht (**1**, haut) donnant des gels à 0,5 % en masse dans le toluène-*d8* [32].

I.5.2 Spectroscopie RAMAN.

Lors de l'interaction entre la matière et la lumière plusieurs phénomènes sont possibles : l'absorption, phénomène fondamental pour l'IR, la réfraction et la diffusion, où le faisceau est diffusé dans la matière, avec comme conséquence la vibration des atomes et des molécules. Ce dernier phénomène est à l'origine de la spectroscopie Raman. La lumière peut être diffusée dans tous les directions de l'espace. Une grande partie de la lumière diffusée conserve la même longueur d'onde que celle de la lumière incidente, phénomène connu sous le nom de diffusion élastique ou diffusion Rayleigh. Cependant, une petite partie de la lumière incidente subit, une augmentation (diffusion Stokes) ou une diminution (diffusion anti-stokes) de sa longueur d'onde, phénomène connu sous le nom de diffusion inélastique ou encore effet Raman. La spectroscopie Raman apporte des information complémentaire à l'IR à propos des interactions moléculaires. Il est également possible de faire appel à la microscopie RAMAN pour étudier la morphologie des gels car cette technique permet de caractériser le spectre RAMAN de la matière dans différentes zones de l'échantillon **[33, 34]**.

I.5.3 Spectroscopie RMN.

La spectroscopie de résonance magnétique nucléaire RMN, est une technique très utilisée pour caractérisation des composés organiques. Elle est le plus souvent utilisée en phase liquide où la mobilité moléculaire est suffisante, et où les temps de relaxation sont adéquats, pour pouvoir acquérir des signaux dans des temps raisonnables. Au cours d'une transition solution-gel, la mobilité des molécules de gélifiant diminue considérablement au fur et à mesure qu'elles sont incorporées au réseau supramoléculaire du gel. Il en résulte un élargissement progressif des signaux. Deux cas de figure sont alors possibles.

1. L'élargissement des signaux est tel qu'il va jusqu'à la disparition complète de ces derniers car ils deviennent indétectables. Seul le pic du solvant résiduel reste visible. Dans ce cas, la *quasi*-totalité des molécules de gélifiants ont perdu beaucoup de mobilité, piégées dans les fibres du gel. Pour illustrer ce cas, nous pouvons citer les travaux de Santanu Bhattacharya **[35]** sur des dérivés d'oligo(*p*-phénylène vinylène). En effet, nous pouvons voir dans la figure 10, une apparition progressive des signaux lorsque la température de l'échantillon

augmente, avec une forte accentuation du phénomène vers 45°C. Il est également à noter qu'aucune variation de déplacement chimique n'est observée tout au long de cette expérience, seules les surfaces des signaux sont modifiées.

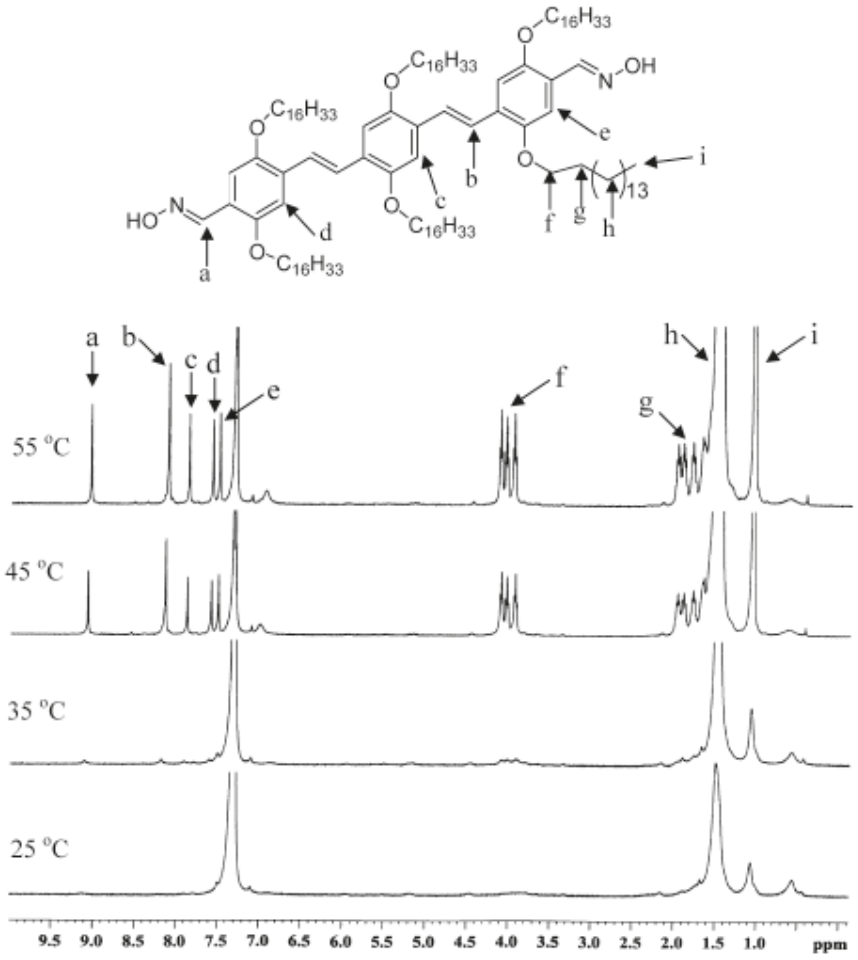


Figure 10 : Spectre RMN ^{1}H en température variable du gélifiant à base d'OPV (C_6D_6, 10 mg/ml).

2. Les signaux des molécules de gélifiant sont observables lorsque l'échantillon est à l'état gel. Ils sont toutefois plus larges, et d'intensité plus faible, que ceux d'un échantillon de même concentration, enregistré en solution. Dans ce cas, la perte d'intensité des pics s'explique par le fait qu'une partie des molécules de gélifiants ne donne pas de signal détectable en RMN car elles sont fortement impliquées dans la formation des fibres. Les signaux du reste des molécules sont détectables en RMN car ces molécules sont soit sous forme isolée, soit sous formes d'agrégats moléculaires. Ce type de système peut être

décrit comme constitué d'agrégats de molécules de gélifiant en équilibre entre un état très solvaté et un état d'assemblages mésoscopiques (par exemple des fibres). Dans des travaux précédents du laboratoire un gélifiant à base de leucine a présenté ce type de comportement [32]. L'évolution de certains signaux, plus particulièrement ceux des fonctions NH impliquées dans les liaisons hydrogène, était particulièrement significative lorsque le gel était chauffé jusqu'à sa transition vers l'état liquide (figure 11).

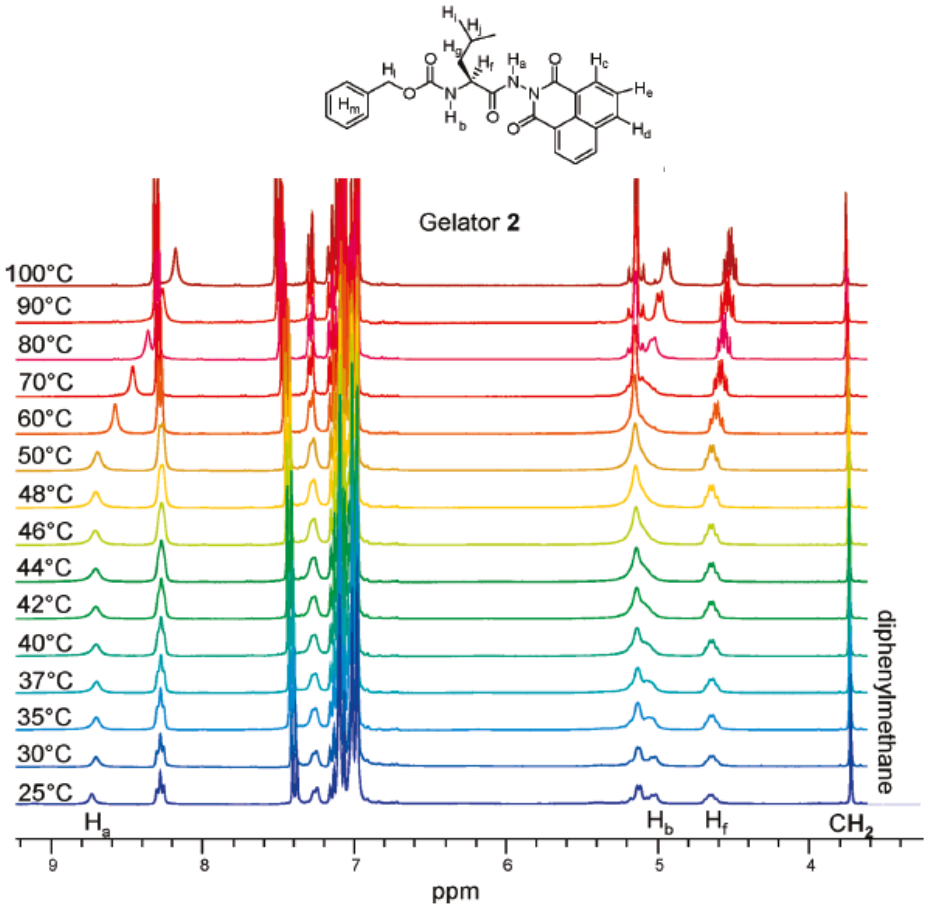


Figure 11 : Spectres RMN ^{1}H en température variable du gel de Z-Leu-NHNapht à 1% en masse dans le toluène-*d8*.

I.5.4 Spectroscopies optiques (UV-Visible et fluorescence).

Les spectroscopies dites optiques concernent des transitions électroniques lorsque la matière absorbe le rayonnement. Dans le cas de la spectroscopie d'absorption UV-Visible, des transitions de l'état fondamental à un état excité sont observées. En spectroscopie de fluorescence, qui est une spectroscopie d'émission, ce sont les transitions d'un état excité à l'état fondamental qui sont considérées. Les

molécules comportant des groupements dits « chromophores » ou « fluorophores » sont particulièrement concernées par ce type de spectroscopie. En effet, en fonction de l'environnement moléculaire, les spectres peuvent subir de fortes modifications. C'est notamment le cas, lorsque le gélifiant comporte des cycles aromatiques favorisant des interactions de type π-π aromatiques, au cours des transitions sol-gel [36]. Ainsi, au cours d'expériences menées en température ou en concentration variables, ces spectroscopies peuvent fournir des informations sur le mode d'assemblage des molécules de gélifiants. Nous pouvons par exemple citer le changement de fluorescence observé en fonction du mode d'agrégation (H ou J) des fluorophores [37]. Dans le cas des empilements de type H, l'angle α entre le fluorophore et le vecteur directeur de l'empilement est compris entre 90 et 54,7° (figure 12, gauche), et un effet hypsochrome (décalage vers les longueurs d'ondes plus petites) est observé par rapport au fluorophore libre. L'angle α dans le cas de l'empilement J est quant à lui compris entre 0 et 54,7° (figure 12, droite), et un effet bathochrome (décalage vers les longueurs d'ondes plus grandes) est observé [38].

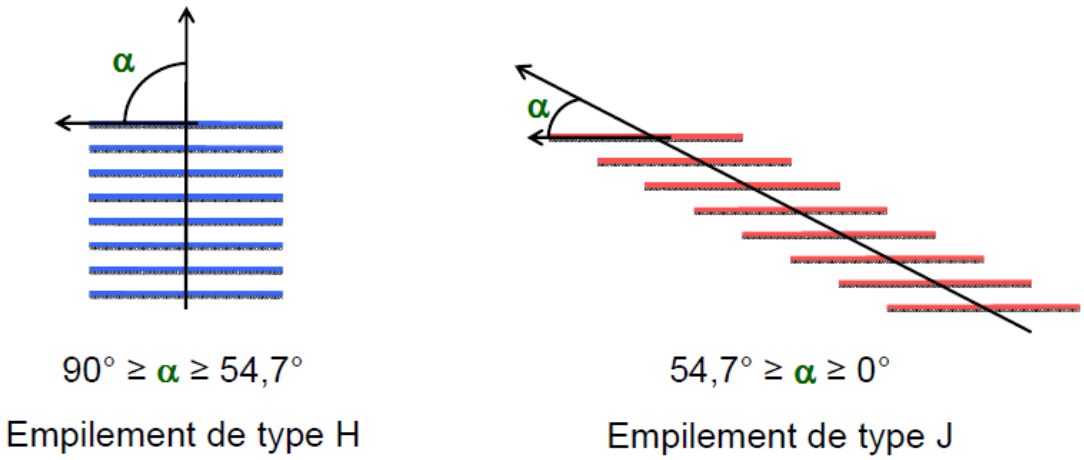


Figure 12 : Mode d'empilement H ou J des fluorophores.

La figure 13 montre les spectres de fluorescence du gélifiant Z-Phe-NHNapht enregistrés à différentes concentration (de 0,05 à 0,25 % en masse) dans le toluène à 25°C (λ_{exc} = 378 nm). Nous avons pu observer une brusque diminution de la longueur d'onde de 426 à 416 nm lorsque la concentration minimale de gélification de 0,17 % en masse a été atteinte. Ces valeurs indiquent que les molécules de gélifiants ont tendance à s'organiser selon un empilement de type H [39].

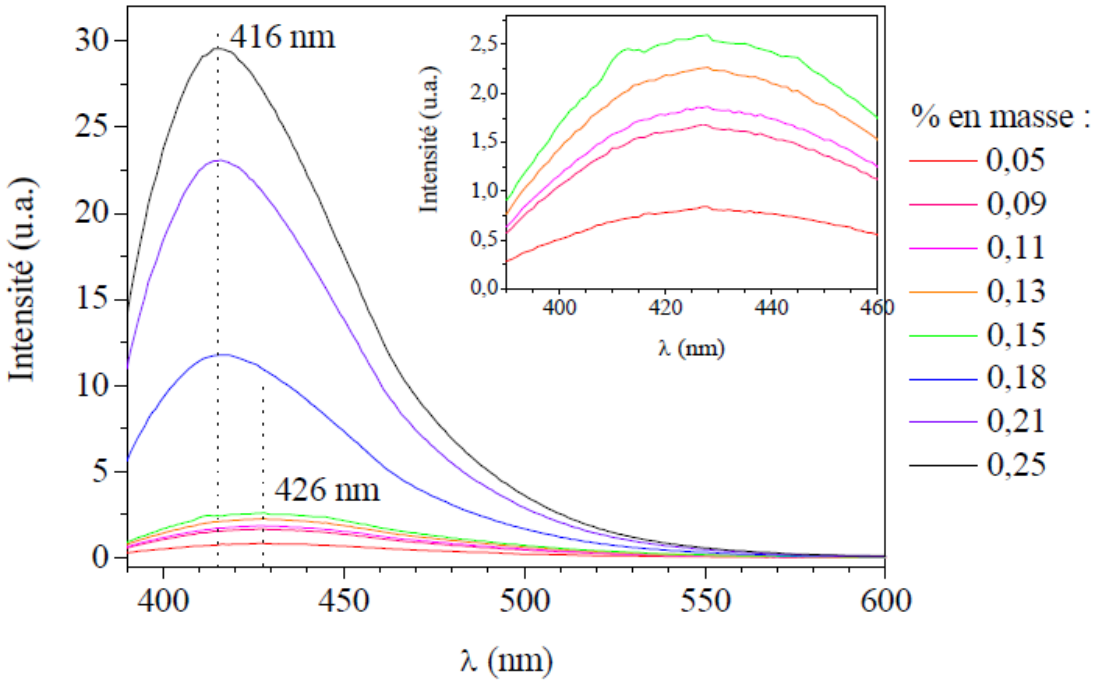


Figure 13 : Spectres de fluorescence non-corrigés du gélifiant Z-Phe-NHNapht enregistré à différentes concentrations dans le toluène (25°C).

Jusqu'ici nous avons évoqué les techniques spectroscopiques qui, comme exposé précédemment, permettent principalement de caractériser les interactions au niveau moléculaire. La morphologie des gels, à l'échelle micrométrique, peut être abordée grâce à l'utilisation de techniques de microscopie et donne accès à la forme et aux dimensions des auto-assemblages.

I.5.5 Techniques de microscopie.

Trois catégories de techniques microscopiques peuvent être utilisées pour observer la morphologie des gels élaborés.

La première, **la microscopie optique**, est basée sur l'interaction d'un faisceau lumineux provenant d'une lampe, avec l'échantillon à étudier. Nous pouvons envisager d'observer des objets jusqu'à une taille de l'ordre du micromètre.

La microscopie électronique, quand à elle, permet d'accéder à des informations à l'échelle du nanomètre. Dans ce cas-ci, le faisceau utilisé pour interagir avec la matière, est un faisceau d'électrons. **[40, 41]**. Les microscopies électroniques sont maintenant devenues des techniques d'investigation très courantes. Les deux

principales techniques utilisées sont la microscopie électronique à balayage (MEB) et la microscopie électronique à transmission (MET).

La dernière catégorie de techniques microscopiques est celle dite « à sonde locale ». La plus souvent utilisée est la microscopie à force atomique (AFM) où une pointe balaye la surface de l'échantillon. Les forces attractives et répulsives qui s'exercent entre cette pointe et la surface sont enregistrées et permettent de reconstituer une image après un certain nombre de traitements et de corrections.

Dans le cas du MEB et du MET, les composés organiques ne sont pas très visibles, et il est nécessaire de contraster les échantillons en y déposant à la surface une très fine couche métallique (2 nm). Cette opération se fait, sous vide, en vaporisant le métal. Ainsi, seuls des échantillons de gels secs (xérogels, aérogels ou cryogels) peuvent être analysés par ces techniques microscopiques. Il est possible d'utiliser le cryo-MEB et le cryo-TEM, techniques où l'échantillon est congelé, pour contourner le problème d'évaporation du solvant lors de la préparation de l'échantillon. Toutefois, il peut devenir complexe d'interpréter des micrographies de gels secs et surtout de les relier aux caractéristiques des gels contenant le solvant. Cette complexité ne provient pas des techniques de séchage (lyophilisation, $scCO_2$, à l'air libre ou sous vide), mais du possible impact du processus de séchage sur la structure du gel. En 2018 **Dave J. Adams**, a publié une étude sur les effets du séchage sur le réseau 3D des gels **[42]**. Il montre que le séchage conventionnel modifie radicalement les structures, ce qui peut conduire à des distorsions de caractérisation, principalement en termes de propriétés des matériaux. Afin de remédier à ces difficultés, il semble préférable de caractériser les gels soit après un séchage par $scCO_2$ (aérogel), soit dans un état humide. Rappelons que pour obtenir un aérogel, il faut impérativement que le solvant soit miscible au CO_2 en phase supercritique, ce qui constitue une limitation.

En AFM, étant donné que c'est une microscopie de surface, il est possible d'analyser indifféremment des échantillons secs et des échantillons contenant du solvant. Cependant, les gels qui contiennent le solvant sont des matériaux parfois fragiles, ce qui signifie que la surface peut être endommagée par la pointe pendant le balayage. En outre, les gels sont des matériaux dynamiques, où la position des fibres n'est pas totalement fixe. Ainsi, lorsqu'une micrographie est obtenue, il est fréquent de ne pas pouvoir l'améliorer en balayant la même zone une deuxième fois. Enfin, un autre inconvénient technique à l'utilisation de l'AFM en phase gel est le phénomène

d'adhérence de la pointe sur la surface du gel. En effet, dans le cas matériaux très souples comme les gels, il peut être assez fréquent que la pointe s'enfonce dans le gel ce qui a pour conséquence de la rendre inutilisable.

I.5.6 Diffraction et diffusion des rayons X.

La diffraction des rayons X est une des techniques qui permet d'obtenir des informations à une échelle intermédiaire ou mésoscopique, qui se situe entre celle des molécules et celle des auto-assemblages. Ainsi, nous pouvons avoir accès à des tailles d'objets, à des symétries et des distances de répétition à l'intérieur des fibres. En étudiant les diffractogrammes, nous pouvons par exemple savoir si les molécules de gélifiant s'organisent de façon lamellaire ou colonnaire, quelle est la distance entre les couches ou le diamètre des cylindres, mais aussi la symétrie de l'arrangement de ces derniers (hexagonale, carrée...).

I.5.7 Rhéologie.

L'échelle la plus grande à laquelle nous nous intéressons est celle des matériaux macroscopiques. Son étude consiste à évaluer les propriétés mécaniques des matériaux développés. Ceci implique l'étude des propriétés viscoélastiques comme par exemple : la force des gels, la part de comportement « solide » et « liquide », les cinétiques de gélification et la température de transition sol-gel. Pour cela nous faisons appel à la rhéologie comme technique de caractérisation. La rhéologie est la science des écoulements et déformations de la matière **[43]**.

De façon schématique, deux modes de sollicitation mécaniques sont fréquemment utilisés lors d'expériences de rhéologie :

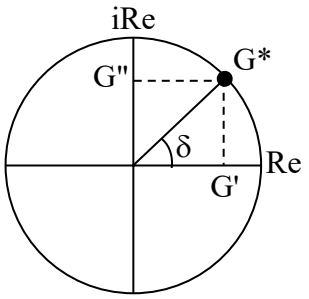
- Le ***mode écoulement***, à partir duquel nous pouvons obtenir des informations concernant la viscosité des systèmes, en régime permanent ou transitoire.
- Le ***mode oscillatoire*** qui va nous permettre d'obtenir des informations sur les caractéristiques structurelles viscoélastiques des systèmes.

Dans le cas des gels supramoléculaires, le mode oscillatoire est très fréquemment utilisé. Le principe d'une expérience rhéologique en mode oscillatoire

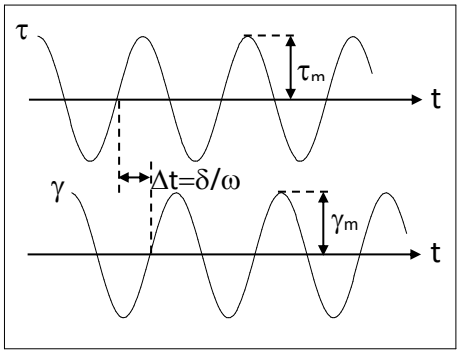
peut être décrit avec un modèle à deux plans entre lesquels se trouve disposé l'échantillon. Le plan supérieur est constitué d'une tige montée sur une roue motrice, ce qui déplace ce plan en arrière et en avant, parallèlement à son homologue inferieur. Pour le mode oscillatoire les deux plans sont dotés des capteurs. Le rôle du premier capteur est de générer une courbe sinusoïde. Pour cela, un signal sera capté par le rhéomètre et traité en termes de déformation $\boldsymbol{\gamma}$. Une fois que la roue motrice tourne, l'évaluation de la contrainte en fonction du temps, va donner la courbe sinusoïde avec sa correspondance en amplitude de déformation. Cette courbe est appelé « **courbe prédéfinie** ».

Le deuxième capteur détecte de son côté, la force exercée sur le plan inférieur. Cette dernière, génère un signal qui est traduit par l'appareil comme la contrainte de cisaillement $\boldsymbol{\tau}$**.** Nous allons donc avoir une deuxième courbe sinusoïdale (**courbe de réponse**) de la contrainte de cisaillement, avec son amplitude correspondante. La comparaison entre ces deux courbes, prédéfinie et de réponse, conduit à des informations qui sont basées, sur le décalage temporel observé entre les courbes. Ce décalage est défini comme le déphasage **δ**. On définit alors le module complexe G*, le module élastique G' et le module visqueux G'' selon les formules suivantes :

$$G^*(\omega) = \frac{\tau}{\gamma} = \frac{\tau_m}{\gamma_m} e^{i\delta} \quad \Rightarrow \quad G' = \frac{\tau_m}{\gamma_m}\cos\delta \quad \text{et} \quad G'' = \frac{\tau_m}{\gamma_m}\sin\delta$$



$$G^*(\omega) = \frac{\tau}{\gamma} = \frac{\tau_m}{\gamma_m} e^{i\delta}$$



L'intérêt de définir le déphasage c'est qu'il peut prendre des valeurs particulières, qui correspondent à des comportements types.

- Si **l'échantillon est un solide élastique idéal**. Dans ce cas, les deux sinusoïdes sont complètement en phase. Il n'existe pas de décalage entre la courbe prédéfinie et la courbe de réponse, par conséquent **δ** = 0° (figure 14 A).

- Si ***l'échantillon est un liquide visqueux idéal***. Dans ce cas les deux courbes sont décalées avec un angle de déphasage **δ** égal à 90° (figure 14 B).

- Si ***l'échantillon a un comportement viscoélastique***. Pour les échantillons viscoélastiques nous observerons un déphasage entre 0 et 90°. Par ailleurs deux cas sont encore distingués : pour un **comportement viscoélastique solide,** l'angle de déphasage se trouvera entre 0 et 45° et pour un déphasage situé entre 45 et 90° les matériaux seront qualifiés de **viscoélastiques liquides** (figure 14 C).

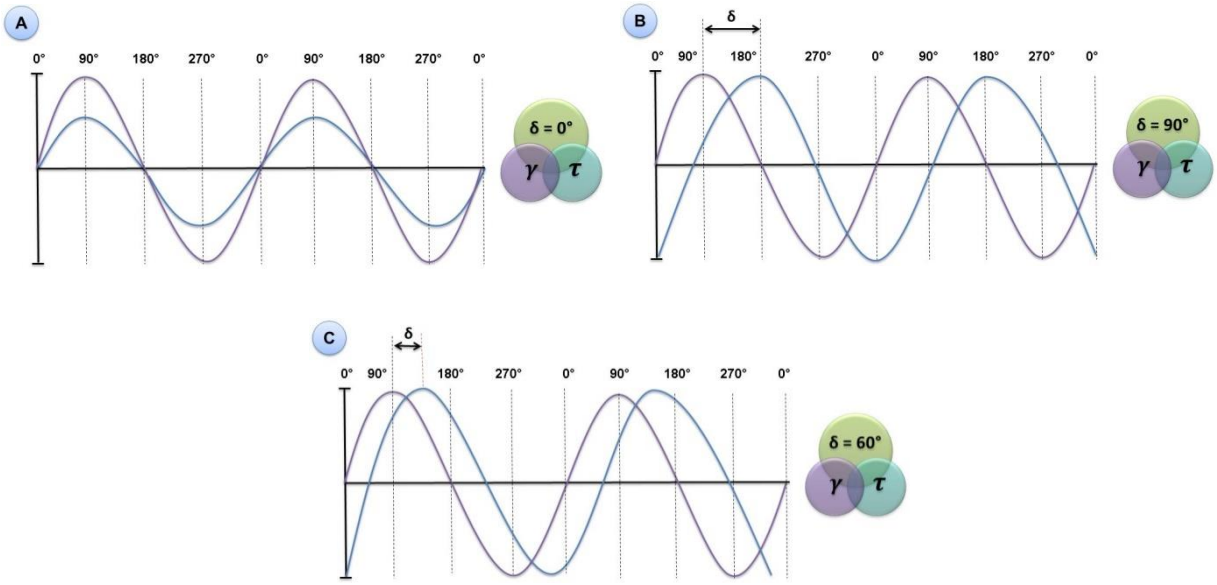


Figure 14 : Courbes sinusoïdes : Prédéfinie (**violet**) ; réponse (**bleu**). **A** : avec un angle de déphasage égal à 0°. **B** : avec un angle de déphasage égal à 90°. **C** : avec un angle de déphasage égal à 60°.

De façon générale, lors d'une expérience rhéologique en mode oscillatoire, une déformation ou contrainte est appliquée sur l'échantillon. Comme résultat nous allons mesurer une réponse, soit en déformation soit en contrainte.

Défini comme un nombre complexe, le module de cisaillement complexe **G*** est la somme de deux composantes : **G' et G"**. Le premier est le module de stockage qui décrit le comportement d'un solide ou le comportement élastique d'un matériau viscoélastique. Le module de perte (**G''**) est caractéristique d'un comportement liquide ou visqueux du matériau viscoélastique.

En fonction des valeurs relatives de G' et G'', nous pouvons distinguer deux cas:

- Si ***G' > G''*** nous nous sommes dans le cas de solides viscoélastiques. C'est-à-dire que le module de stockage est plus élevé que le module de perte. Nous avons donc un gel.

- Si ***G' < G''*** nous parlons de liquides viscoélastiques. Dans ce cas-là le module de perte est supérieur au module de stockage. Nous avons donc une solution.

Nous pouvons aussi évaluer le rapport entre *G''* et *G'*, encore appelé le facteur de perte ou facteur d'amortissement (souvent noté tanδ).

$$\tan\delta = G''/G'$$

Dans cet ordre d'idée si, l'échantillon présent un comportement élastique idéal (G'' = 0 et δ = 0°) alors tanδ = 0. Par contre, si l'échantillon présente un comportement visqueux idéal (G' = 0 et δ = 90°), alors tanδ tend vers l'infini. Dans le cas où, l'échantillon montre une transition de phase : transition liquide/solide ou solide/liquide, le facteur de perte peut aussi être utilisé pour repérer la transition :

- Si $G'' > G'$ alors tan$\delta > 1$
- Si $G' = G''$ alors tan$\delta = 1$ (ce point correspond au point de croissement des modules, connu aussi pour des systèmes gélifiés comme le point de gélification).
- Si $G' > G''$ alors tan$\delta < 1$

L'indépendance du module de stokage G' à la fréquence est aussi un critère très utilisé pour la définition d'un gel.

I.6 Gels supramoléculaires et macromoléculaires

La modification d'acides aminés et la synthèse de peptides et de pseudo-peptides est une des thématiques de recherche du LCPM. Cette classe de molécules est utilisée depuis plus d'une quinzaine d'années maintenant au laboratoire pour mettre au point des molécules gélifiantes de faible masse molaire. Afin de pouvoir replacer notre travail dans le contexte de cette thématique de recherche, nous verrons dans ce paragraphe différents systèmes moléculaires décrits dans la littérature. Ce travail bibliographique, non exhaustif, a pour but de circonscrire le champ d'étude de ce domaine extrêmement vaste.

I.6.1 Gélifiants à base de protéines, peptides et acide aminé

Quelle que soit leur taille, les peptides et protéines sont le résultat de l'assemblage covalent d'acides aminés *via* la formation de fonctions amides qui sont également appelées liens peptidiques. Le terme « protéine » sera habituellement réservé à des molécules dont le nombre d'acides aminés est supérieur à cinquante, et le terme « peptide » sera préféré pour désigner celles qui en comportent moins. Au sein de cette famille des peptides, les molécules qui comportent entre deux et dix acides aminés seront qualifiées de "petits peptides" et pourront être nommées par leur nombre d'acides aminés (di-, tri-, tétra-peptide, etc...). Pour les autres, le terme d'oligopeptide sera utilisé.

L'un des gélifiants naturels à base d'acides aminés les plus connu est très certainement le collagène **[44]**. Cette protéine forme des gels forts par enchevêtrement de fibrilles. Leur structure, en triple hélice, est bien connue. Chaque brin est constitué par une hélice gauche formé de trois résidus : Glycine, Proline, et la 4-hydroxyproline. Seuls la Proline et la 4-hydroxyproline constituent un quart du résidu de collagène. Cette proportion est la principale responsable d'un enroulement gauche de l'hélice, dû aux encombrements stériques de ces deux acides aminés. Il est important de remarquer que la formation de liaisons hydrogène intrachaînes n'est pas possible, car l'hélice de collagène se trouve totalement étirée.

Un deuxième enroulement à droite cette fois-ci est observé entre les trois hélices, ce qui assure la stabilité du collagène. Cette stabilité est atteinte grâce à la formation des liaison hydrogènes, entre l'hydrogène amidique d'un résidu Glycine

(provenant d'une hélice) et l'oxygène carbonyle de la proline (ou 4-hydroxyproline), provenant d'une autre hélice.

Les fibrilles de type β-amyloïdes sont un autre exemple d'arrangement supramoléculaire pouvant donner des gels. Certains, d'origine naturelle, sont impliqués dans des pathologies de type amylose (Alzheimer, Creutzfeldt-Jakob...). D'autres systèmes, synthétiques cette fois ci, sont des polypeptides. Dans ce cas, les séquences peptidiques forment des feuillets β torsadés **[45]** qui sont à l'origine des protofilaments (figure 15).

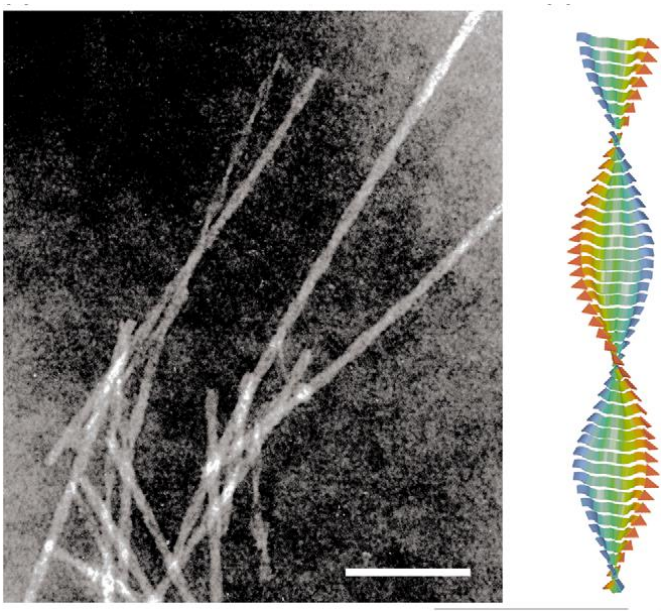


Figure 15 : Image MEB de fibrilles amyloïdes formées par une β-lactoglobuline en présence d'urée (gauche). Représentation schématique d'un protofilament d'une fibrille amyloïde formée de feuillets β **[46]**

Ce même type d'assemblage en feuillets β est également observé dans le cas d'oligopeptides. Ainsi Boden a élaborés des séquences de onze acides aminés comportant des fonctions amide en *N* et *C*-term. A titre d'exemple, le peptide P11-2 donne des hydrogels lorsque le pH est inférieur à cinq. Il peut être considéré comme un monomère en forme de bâtonnet comportant des sites de reconnaissance complémentaires, donneurs et accepteurs de liaison hydrogène. L'auto-assemblage séquentiel commence par la formation d'un ruban simple comportant des surfaces chimiquement différentes: l'une des faces est hydrophile (représentée en clair sur la figure 16) et l'autre est hydrophobe (en sombre sur la figure 16). La deuxième étape

consiste à former un double ruban en assemblant, via les faces hydrophobes, deux simples rubans. Enfin, les fibrilles puis les fibres sont obtenues pour former le réseau tridimensionnel du gel.

Pochan et Schneider [47] ont quant à eux synthétisé un oligopeptide comportant vingt acides aminés, qui forme des hydrogels (dénommé MAX1). Il est constitué de deux brins, dont la séquence est une alternance de valine et de lysine, reliés ensemble par un tétrapeptide formant un coude. Ce peptide se replie tout d'abord sur lui-même pour donner une structure de type épingle à cheveux β, qui s'assemble en superstructure fibrillaire (figure17).

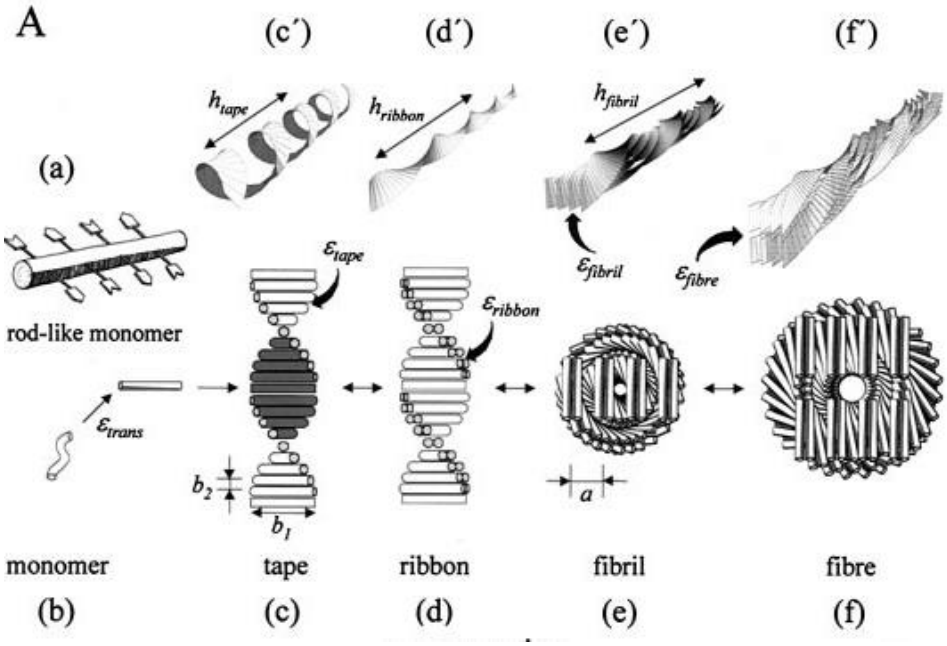


Figure 16 : Représentation schématique de l'auto-assemblage séquentiel des oligopeptides de Boden [47].

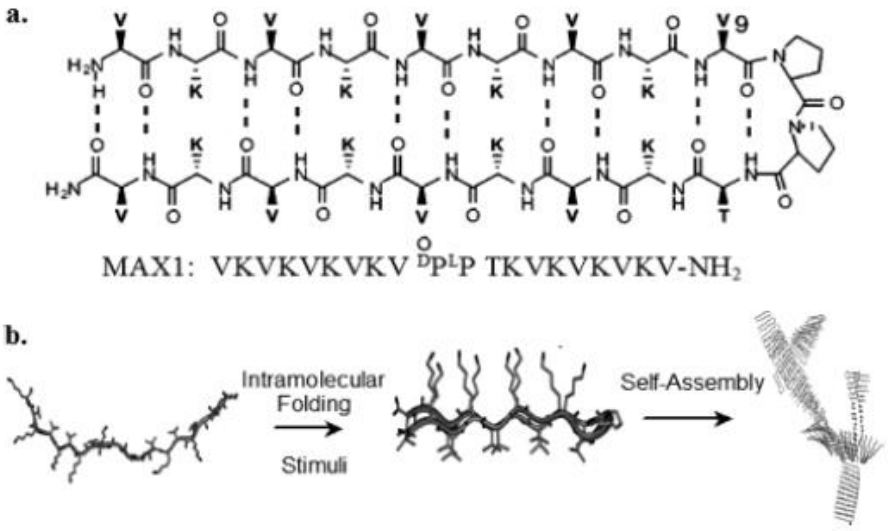


Figure 17 : a) Séquence peptidique et structure en épingle à cheveux β du peptide MAX1. b) Mécanisme séquentiel proposé d'auto-assemblage du peptide MAX1 [47].

Les peptides amphiphiles, une autre famille d'oligomères, ont également été utilisés pour obtenir des hydrogels et des organogels [49, 48]. Stupp et Hartgerink ont synthétisé des peptides de huit à douze acides aminés comportant une chaîne alkyle à leur extrémité *N*-terminale ainsi que des séquences d'acides aminés mises au point pour des applications spécifiques. Celui présenté en figure 18 a été élaboré en vue de mimer la matrice extracellulaire (MEC), qui est un élément essentiel dans le processus de régénération des tissus et des organes [50] .

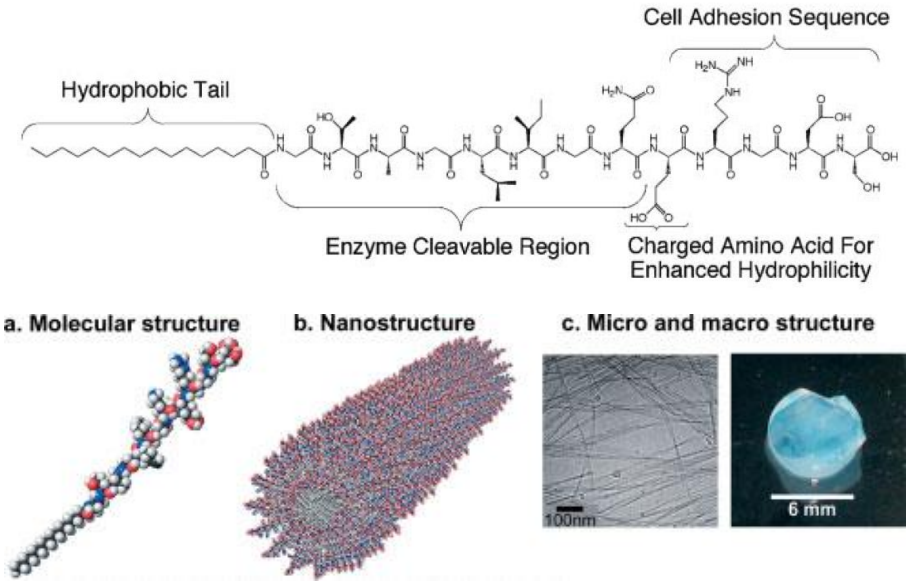


Figure 18 : Composition chimique du peptide amphiphile d'Hartgerink (haut) et sa structure à différentes échelles (bas) [50].

Dans la famille des petits peptides (entre deux et dix acides aminés), force est de constater que la littérature est foisonnante, tant sur le nombre d'acides aminés et l'enchainement de la séquence peptidique que sur la nature du fluide qui est immobilisé. Le premier exemple qui sera cité concerne une série de pentapeptides synthétisée par Arindam Banerjee. Ils ont travaillé sur la séquence Boc-Leu-Val-Phe-Phe-Ala-OMe comme pentapeptide de référence **[51]**. Ce pentapeptide donne des organogels dans des solvants organiques aromatiques tels que le benzène, le toluène, le m-xylène et le 1,2-dichlorobenzène. Le remplacement de la valine par d'autres acides aminés aliphatiques comme la leucine ou l'iso-leucine a un impact limité sur la gélification. Par contre, le remplacement d'une des deux phénylalanine par des acides aminés aliphatiques comme l'alanine ou l'iso-leucine a pour conséquence de diminuer le caractère aromatique du gélifiant et ainsi d'annihiler la capacité de gélification des solvants aromatiques. La nature de l'extrémité *N* et *C*-terminale a également une influence certaine sur le processus de gélification de solvants organiques. Ainsi, les mêmes auteurs ont pu le démontrer en faisant varier la nature des groupes protecteurs d'un tripeptide (Ala-Val-Ala) **[52]**. L'extrémité *C*-terminale est protégée par une fonction ester (méthylique, éthylique, n-propylique, iso-propylique ou benzylique), alors que l'extrémité N-terminale comporte une fonction acétyle, pivaloyle ou encore des groupements uréthane tels que le carboxybenzyle (Z) ou le Boc (figure 19). Des organogels avec des solvants aromatiques ont été obtenus lorsque les couples de groupes protecteurs étaient Boc/OEt, Boc/OMe et Z/OMe. Dans un autre article, ils ont décrit la synthèse d'une série de tripeptides de type Boc-Phe-AA-Phe-OH où l'acide aminé central est soit une valine, une leucine ou une phénylalanine. Dans ce cas, et ce probablement grâce à la présence de la fonction acide carboxylique, des hydrogels sont obtenus en milieu basique (pH entre 11 et 13). Il est également intéressant de constater que la CCG diminue lorsque le caractère aromatique de la séquence peptidique augmente. En effet, un gel avec une concentration en peptide égale à 1,96 % en masse est obtenu lorsque l'acide aminé central est une phénylalanine alors que les peptides contenant la valine ou la leucine nécessitent des concentrations égales à 2,83 et 2,93 % en masse respectivement **[53]**.

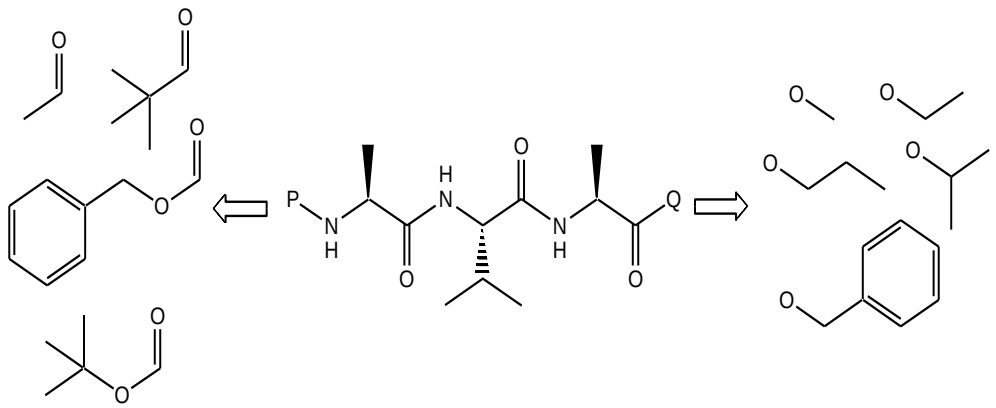


Figure 19 : Structures chimiques de gélifiants tripeptidiques potentiels à base d'Ala-Val-Ala. L'extrémité *N*-term (P à gauche) est soit un acétyle ou un pivaloyle (en haut) ou encore des uréthanes (Z au milieu et Boc en bas). L'extrémité C-term (à droite) est quant à elle protégée par un ester méthylique, éthylique (en haut), propylique (linéaire comme ramifié au milieu) ou encore benzylique (en bas).

Une autre stratégie pour obtenir des hydrogels consiste à structurer le gélifiant peptidique pour en faire un tensioactif. Ainsi, à titre d'exemple, certains auteurs ont mis au point un gélifiant comportant trois blocs distincts: 1) une chaîne alkyle hydrophobe comportant treize atomes de carbone sp3, 2) un tripeptide aux propriétés complexantes (Gly-Gly-His) qui est également polaire grâce à la présence d'un ammonium en *N*-term et de l'imidazole de l'histidine, 3) une jonction hydrophile (diéthylène glycol) permettant d'ajuster l'équilibre hydrophile/lipophile de la molécule (figure 20). Les hydrogels obtenus ont la particularité d'être multi-stimulables. Ils sont en effet thermoréversibles, thixotropes (stress mécanique et ultrasons) et sensibles au pH car les gels sont obtenus à partir d'une solution micellaire, pour un minimum de 0,3 % en masse, lorsque le pH est supérieur à 8 **[54, 55, 56]**.

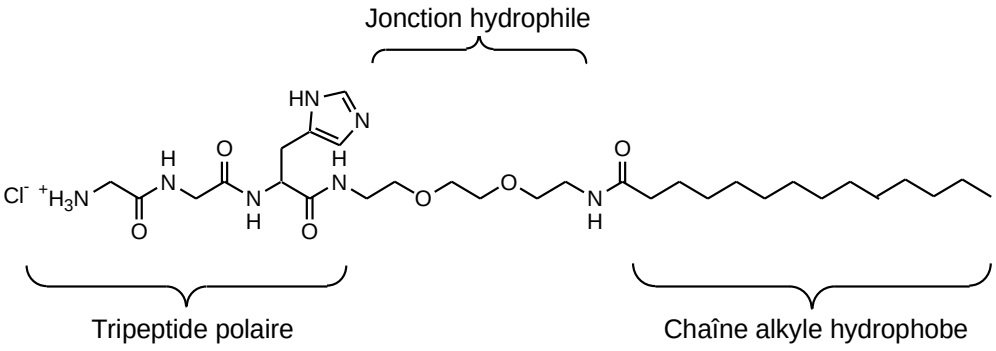


Figure 20 : Structure chimique d'un tensioactif tribloc.

La capacité à gélifier un fluide à l'aide de peptides n'est en rien liée au nombre d'acides aminés constituants la séquence peptidique. En effet, le nombre de gélifiants dipeptidiques (les plus petits peptides concevables) décrits dans la littérature est considérable. La séquence qui a suscité le plus d'intérêt est très probablement la diphénylalanine. Une revue, publiée en 2009 par Junbai Li, est exclusivement consacrée à l'auto-assemblage et aux applications des nanostructures à base de Phe-Phe **[57]**.

Dans cette famille de dipeptide, l'hydrogélifiant le plus étudié est certainement le Fmoc-Phe-Phe-OH, où l'extrémité N-terminale comporte un groupement (Fluorénylméthoxycarbonyle), groupe protecteur utilisé en synthèse peptidique. La capacité de cette molécule à former, à de faibles concentrations, dans un solvant aqueux, des structures fibrillaires a été mise en évidence par TEM en 2005 par Ehud Gazit **[58]**. Le Fmoc-Phe-Phe-OH est tout d'abord dissous dans du 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol (HFIP) pour obtenir une solution à 100 mg/mL qui est ensuite diluée à 2 mg/mL par ajout d'eau. L'année suivante, la même équipe a décrit l'obtention d'hydrogels rigides en augmentant la concentration de gélifiant **[59]** à 5 mg/mL dans le mélange HFIP/H_2O. Cette gélification par changement de solvant peut également être obtenue en remplaçant le HFIP par de l'acétone ou du DMSO. Mais il est également possible d'obtenir un hydrogel en diminuant le pH d'une solution aqueuse basique.

Les propriétés mécaniques des hydrogels obtenus par changement de solvant ou de pH varient beaucoup selon le protocole utilisé **[60]**. L'auto-assemblage de Fmoc-Phe-Phe-OH a par ailleurs été modélisé par Rein Ulijn. Grâce aux données fournies par les différentes spectroscopies, les auteurs ont pu suggérer que le dipeptide s'auto-assemble en feuillets β antiparallèles, qui eux-mêmes s'assemblent par interdigitation des unités Fmoc avec des phényles de feuillets adjacents pour former un « tonneau » β (figure 21) **[61]**.

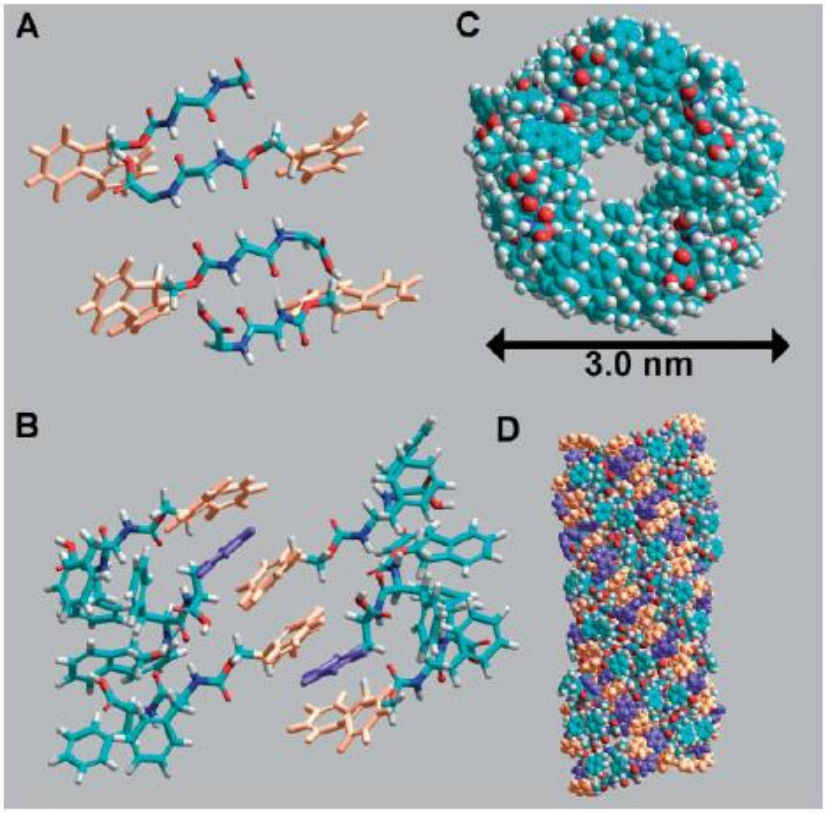


Figure 21 : modèle proposé d'auto-assemblage du dipeptide Fmoc-Phe-Phe-OH. Arrangement selon un motif de feuillet β antiparallèle (A). Interdigitation d'unités Fmoc de feuillets β adjacents avec des phényles (B). Vue du dessus (C) et latérale du nano-tonneau formé **[61]**.

Les peptides ont été aussi beaucoup utilisé pour la formulation de hydrogels en variant le pH du milieu. Pour des diverses applications, par exemple : la culture cellulaire, les hydrogels sont généralement formulés à des Ph physiologique : entre 7 et 7,4. Cette nécessité de contrôler le Ph, à donner lieu à un grand et baste travail bibliographie **[62]**. Ce le cas de Ulijin *et al* qui ont travaillé avec la formulation des hydrogels à base de peptides courte (FmocFF et Fmoc-RGD). Le FmocFF a été solubilisé dans des solutions alcalines à pH 10. Le Fmoc-RGD de son côté a été solubilisé dans des solutions acides à pH 3. Les solutions résultantes ont été neutralisés à pH 7, ce qui a donné lieu à la formation des hydrogels **[63]**.

Quelle que soit la taille de la séquence, nous avons vu que les peptides et les protéines étaient des candidats de choix pour élaborer des gels. Nous allons dans ce

qui suit examiner le potentiel des briques de base, les acides aminés, en tant que gélifiants.

Les acides aminés « natifs », c'est à dire sans aucune modification chimique, ont une certaine solubilité dans l'eau qui dépend toutefois fortement du caractère hydrophile (lysine, acide aspartique, asparagine...) ou hydrophobe (alanine, phénylalanine, thyrosine...) du résidu de chaîne latérale. Ils peuvent dans certains cas donner des hydrogels. Mais, le processus de gélification n'est en général possible que grâce à l'ajout d'un co-gélifiant. Ainsi, Nandi *et al* **[64]**. ont pu préparer un hydrogel à base de tyrosine en présence du sel de potassium de perylène-3,4,9,10-tetracarboxylate. Par ailleurs, des additifs inorganiques, tel que l'ion Cu^{2+}, ont permis de gélifier de l'eau avec le carboxylate de la phénylanine **[65]**.

Ainsi, une modification chimique des acides aminés natifs s'avère souvent nécessaire pour obtenir la formation d'hydrogels. Il s'agit de fonctionnaliser judicieusement l'acide aminé afin de contrôler l'équilibre entre hydrophilie et hydrophobie. Cette modification s'opère principalement sur les extrémités *C* et *N*-terminales, mais aussi sur le résidu de chaîne latérale lorsque ce dernier comporte un groupe fonctionnel (lysine, acide aspartique, cystéine...). Dans la littérature, la plupart de ces transformations consiste à augmenter, soit le caractère aromatique, soit le caractère aliphatique des acides aminés.

Ainsi, dans le cas de l'introduction de groupements aromatiques, nous pouvons citer l'exemple des acides aminés protégés en *N*-terminal par un Fmoc (Fluorénylméthoxycarbonyle), groupe protecteur utilisé en synthèse peptidique. Ces composés sont pour la plupart des produits commerciaux, ou bien faciles à synthétiser à partir des acides aminés natifs. Dave J. Adams a été l'un des premiers à décrire en 2009 la gélification de l'eau à l'aide d'un acide aminé de type Fmoc-AA-OH **[66]**. Ils ont obtenu, en ajustant finement le pH basique à l'aide de glucono-δ-lactone, des hydrogels de Fmoc-Phe-OH et de Fmoc-Tyr-OH. D'autres acides aminés, le tryptophane, la méthionine, la glycine et l'iso-leucine ont été testés plus récemment **[67]** par cette même méthode de changement de pH (figure 22).

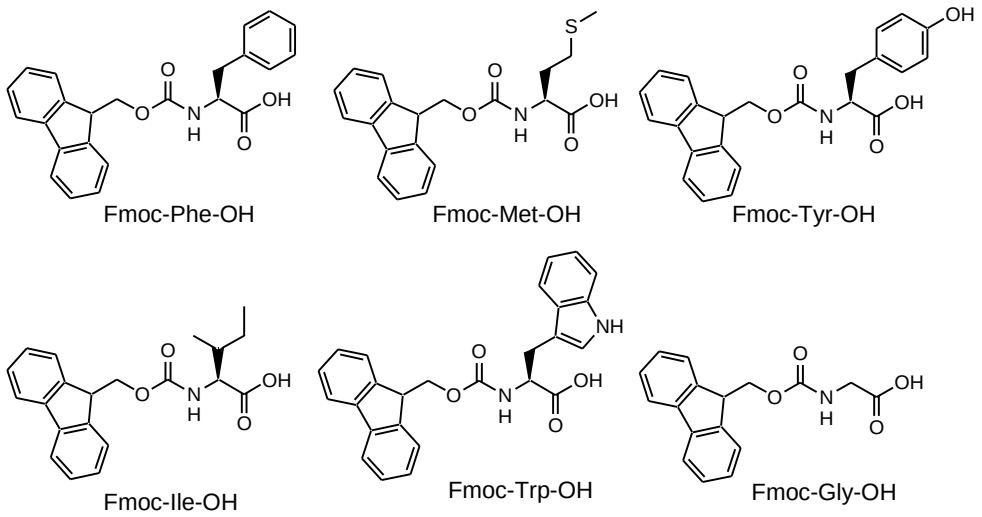


Figure 22 : structures des acides aminés de type Fmoc-AA-OH donnant des hydrogels en milieu basique **[67]**

Au même moment, Bradley Nilsson a travaillé sur l'halogénation du noyau aromatique de la phénylalanine pour en évaluer l'impact sur la gélification **[68]**. Dans un premier temps, il a cherché à comparer la phénylalanine (Fmoc-Phe-OH) avec son analogue perfluoré (Fmoc-F_5-Phe-OH), la phénylalanine substituée en position 4 par un trifluorométhyle (Fmoc-4-CF_3-Phe-OH) et la tyrosine (Fmoc-Tyr-OH). Ces quatre composées sont représentés figure 23. Dans les expériences rapportées, le gélifiant potentiel est d'abord dissous dans du DMSO pour obtenir une solution à 210 mM, puis de l'eau pure est ajoutée jusqu'à avoir une concentration finale de 4,2 mM. Dans tous les cas, à la fin de l'addition de l'eau, une suspension finement divisée est obtenue. Les auteurs ont pu observer l'apparition d'un précipité en moins de cinq minutes pour la Fmoc-Phe-OH et la Fmoc-4-CF_3-Phe-OH. Dans le cas du dérivé de la tyrosine, la suspension s'éclaircit au bout de quinze minutes et un gel transparent est obtenu en 30-45 minutes. Enfin, l'analogue perfluoré donne également un gel transparent mais beaucoup plus rapidement; le processus complet ne prends que quelques minutes. Par ailleurs, ces mêmes auteurs ont travaillé sur des phénylalanines substituées par un seul halogène. Ils ont pu constater que la gélification dépend très fortement de la nature et de la position de l'halogène sur le noyau aromatique **[69]**. En général les gélifiants à base de fluor forment plus vite des gels que ceux contenant du chlore ou du brome. Par ailleurs, lorsque l'halogène est en position 4 sur le noyau aromatique, les temps de gélification sont de l'ordre de trente secondes pour les trois halogènes.

Ils augmentent à 3-5 minutes et 10-15 minutes pour le fluor et chlore/brome respectivement lorsqu'ils sont en position 3. Enfin les temps les plus longs sont observés lorsque l'halogène est en position 2; 30 à 40 minutes pour le fluor et 45-50 minutes pour les deux autres.

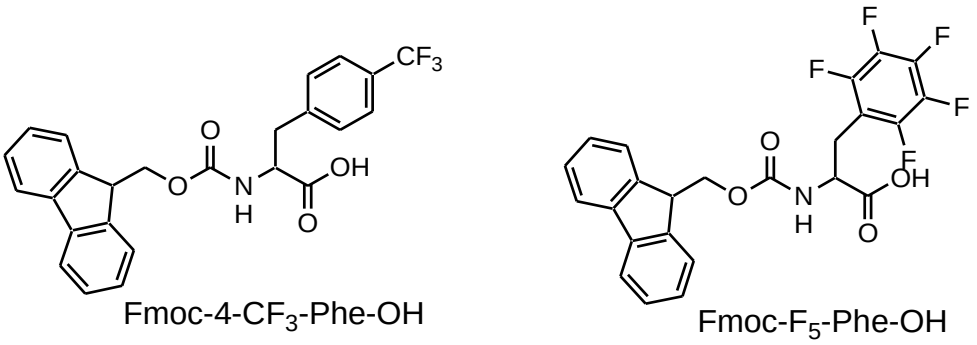
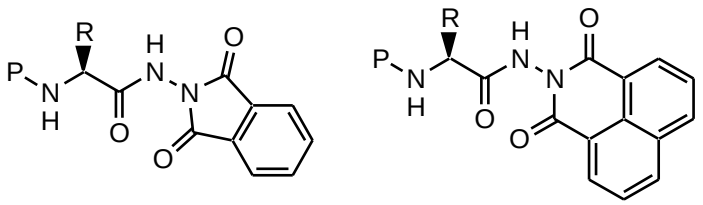


Figure 23 : Gélifiants fluorés dérivés de la Fmoc-Phe-OH.

Un grand nombre de gélifiants, polaires en C-term avec la présence d'une fonction acide carboxylique, et fonctionnalisés en *N*-term par une sous-unité aromatique, autre que le Fmoc, ont été élaborés. Cela peut être un phényle simple comme un groupement Z, des espèces photo-sensibles comme l'azobenzène ou des groupements avec plusieurs cycles aromatiques comme le naphthalène, l'antracène ou le pyrène. Rein Ulijn a publié récemment une revue où il rassemble ces cas d'acides aminés et de dipeptides qu'il qualifie de peptides aromatiques amphiphiles **[70]**.

Dans les travaux réalisés au LCPM, nous pouvons citer deux séries de gélifiants, des variations de la nature de l'acide aminé et du groupe protecteur de l'extrémité N-terminale, ont été explorées (figure 24). Ce sont principalement des solvants aromatiques qui sont gélifiés dans le cas de la phénylalanine, de la phénylglycine et de la leucine **[71]**. Certains de ces gélifiants ont permis d'élaborer par la suite des aérogels aux propriétés d'isolation thermique particulièrement intéressantes **[70]**.



P : $C_6H_5CH_2OCO$ (Z)
: $CH_2{=}CHCH_2OCO$ (Alloc)

R : C_6H_5 (Phényleglycine)
: $CH_2C_6H_5$ (Phénylealanine)
: $CH_2CH(CH_3)_2$ (Leucine)

Figure 24 : Structure moléculaire des gélifiants à base de phtalimide et naphtalimide développés au LCPM [72].

Une autre façon de modifier la solubilité des acides aminés pour en faire des gélifiants consiste à introduire des chaînes hydrocarbonées aliphatiques. Un grand nombre de travaux portent sur ces molécules amphiphiles à base d'acides aminés. La chaine alkyle peut être greffée sur les deux extrémités C et N-term et sur le résidu de chaîne latérale si ce dernier comporte un groupement fonctionnel. Dans le paragraphe qui suit, nous citerons quelques exemples.

Généralement l'extrémité *N*-terminale de l'acide aminé est modifiée en greffant une chaine alkyle. La longueur de cette dernière peut varier entre 6 et 22 carbones, ce qui accroît le caractère hydrophobe. L'insertion d'une chaîne grasse sur une amine est souvent réalisée par une réaction d'acylation avec un acide carboxylique ou un chlorure d'acide.

Le premier exemple d'utilisation d'un acide aminé comportant une chaine alkyle en *N-term* et une fonction acide carboxylique en *C-term* a été décrit en 2001 par Santanu Bhattacharya [73]. Il s'agit de l'alanine fonctionnalisée par l'acide laurique (C_{11}-Ala-OH, figure 25) qui est non seulement capable de gélifier un grand nombre d'hydrocarbures aliphatiques, aromatiques ainsi que du kérosène, du pétrole ou de l'huile de paraffine, mais qui peut aussi gélifier sélectivement les phases huileuses lorsque celles-ci sont en présence d'un volume équivalent d'eau. Ce même gélifiant a été utilisé quelques années plus tard par Jean-Christophe Leroux pour mettre au point des organogels pharmaceutiques pour la libération sélective de principes actifs. Avec cette molécule, ils ont réussi à gélifier de l'huile de soja et des triglycérides à courtes chaînes [74] ou encore de l'huile de carthame [75]. Dans le premier cas, ils ont ainsi réussi à encapsuler

du dextrane (M_w = 9500 g/mol) marqué à la fluorescéine afin d'évaluer la capacité de libération du gel. Bhattacharya diversifié les gélifiants en faisant varier la nature de l'acide aminé (glycine, valine, leucine phénylalanine et tryptophane) ainsi que la longueur de la chaine alkyle (de six à seize carbones) [76]. Ils ont évalué la capacité de gélification de l'hexane, de l'heptane et du toluène avec dix-huit gélifiants potentiels. Ils ont pu constater que seuls les dérivés d'alanine avec des chaines alkyles à 11 et 13 carbones sont capables de gélifier les trois solvants. Celui avec une chaine en C_9 ainsi que le gélifiant à base de phénylalanine avec une chaine en C_{15} ne sont capable de gélifier que les alcanes linéaires. Ces familles de composés, de type C_{15}-AA-OH, ont par ailleurs une capacité plus grande à immobiliser des solvants tels que des liquides ioniques. En effet, Maruyama a publié récemment une étude de gélification de cinq liquides ioniques dont quatre à base d'imidazolium. Les huit gélifiants décrits dans la figure 25 sont capable d'immobiliser quasiment tous les solvants en question [77].

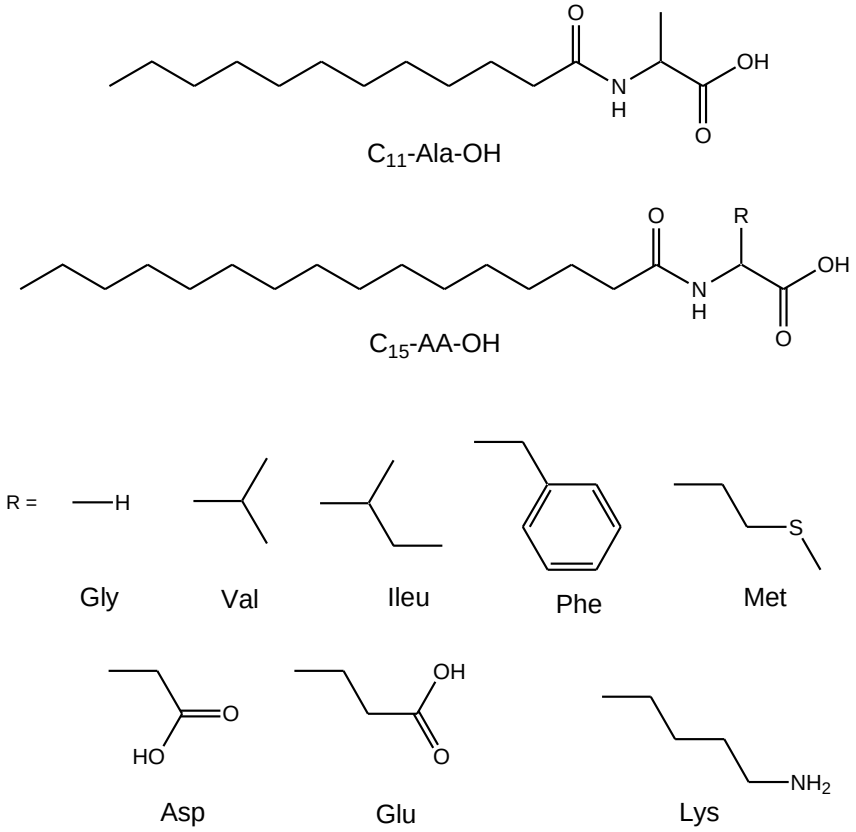


Figure 25 : Gélifiants de structure générale Cn-AA-OH comportant une chaîne alkyle en *N*-term et une fonction acide carboxylique en *C*-term.

Nous détaillerons dans ce qui suit l'exemple de la lysine, qui sera l'objet du travail présenté dans ce manuscrit. La lysine dispose de trois sites qui peuvent être fonctionnalisés:

l'amine de l'extrémité *N*-terminale, l'acide carboxylique de l'extrémité en *C*-terminale et l'amine en ε du résidu de la chaîne latérale (figure 26). Il est donc tout à fait possible d'y greffer une, deux voire trois chaines alkyles.

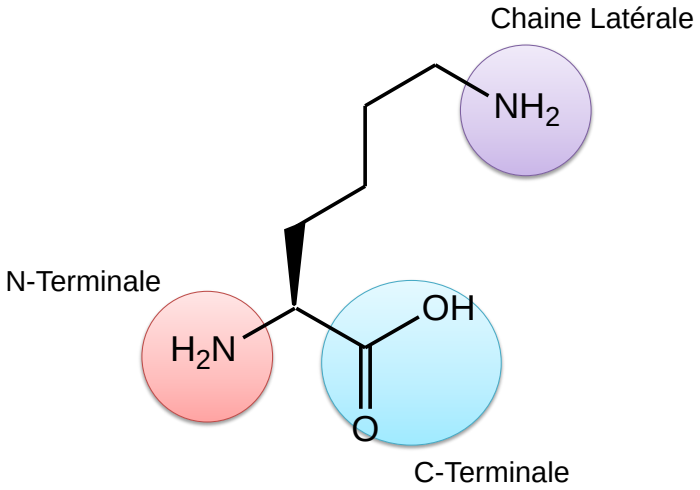


Figure 26 : Structure de la L-lysine et mise en évidence des groupements fonctionnels.

Un grand nombre de gélifiants dérivés de lysine ont été développés par **Masahiro Suzuki.** et **Kenji Hanabusa**. Ils ont d'ailleurs publié en 2009 une revue consacrée aux gélifiants moléculaires à base de cet acide aminé.

Le gélifiant alkylé qui est structurellement le plus simple, est celui dont les deux azotes sont laurylés et l'acide carboxylique est converti en ester éthylique (figure 27). Ce dernier, noté C_{11}-Lys(C_{11})-OEt, a été testé en tant qu'organogélifiant, mais seul le DMSO a pu être immobilisé à une concentration minimale de 30 mg/mL **[78]**. Par contre, ce même gélifiant, lorsqu'il est saponifié et sous la forme d'un carboxylate de sodium ou de potassium (C_{11}-Lys(C_{11})-OM figure 27), est un bien meilleur gélifiant. Ces molécules sont en effet capables d'immobiliser une gamme très large de solvants organiques tels que des aromatiques, des cétones, des éthers cycliques et même de la DMF dans le cas du sel de potassium, mais ils sont également tous les deux capables de former des hydrogels à une concentration de 20 mg/mL **[79]**. Une autre étude a par ailleurs montré qu'un gélifiant similaire, avec une chaine carbonée plus courte en C5 sur l'azote α, n'était pas capable de gélifier de l'eau pure lorsque l'extrémité *C*-term était un acide carboxylique **[80]**.

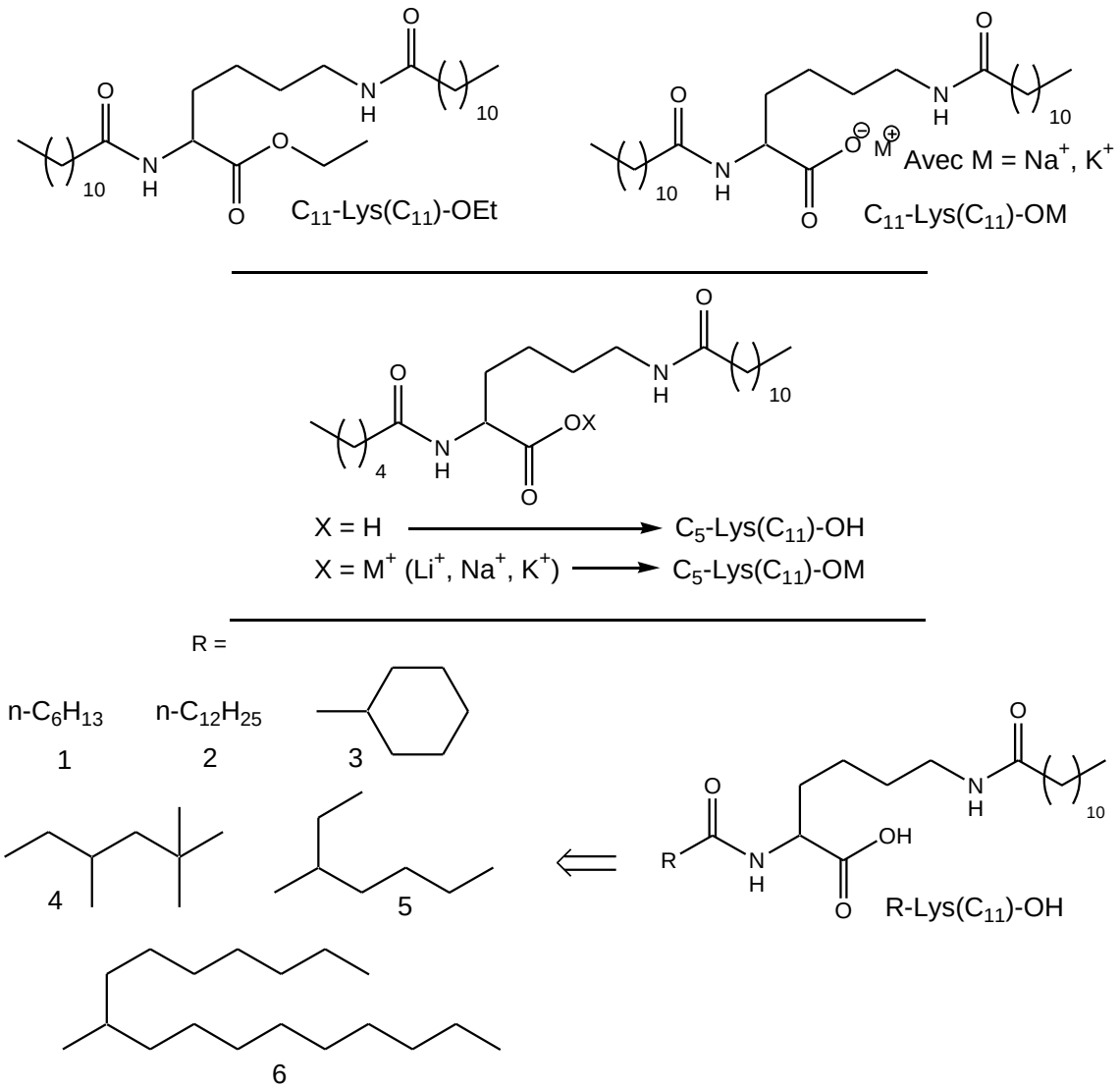


Figure 27 : Organogélifiants et hydrogélifiants négativement chargés à base de lysine laurylée sur l'azote ε.

Ils ont par contre réussi à obtenir des hydrogels de deux façons différentes. La première consiste à mélanger ce gélifiant sous sa forme acide insoluble dans l'eau (C_5-Lys(C_{11})-OH, figure 27) avec lui-même sous sa forme carboxylate soluble dans l'eau (C_5-Lys(C_{11})-OM, avec M = Li^+, Na^+ ou K^+, figure 27). Les auteurs ont réussi à obtenir des hydrogels dans l'eau pure ainsi que dans des tampons (salin, NaCl, KCl). La deuxième méthode consiste à déclencher la gélification par variation de pH. L'addition d'HCl aqueux à une solution aqueuse de carboxylate provoque une gélification à température ambiante.

Suzuki et Hanabusa ont également essayé d'évaluer l'impact de la nature de la chaîne alkyle R située sur l'azote α **[81]**. Ils ont comparé les propriétés de gélification de R-Lys(C_{11})-OH lorsque cette dernière est linéaire, cyclique ou ramifiée et ont pu constater que le gélifiant le plus efficace pour obtenir des organogels est celui qui a une fonction isostéarique (composé 6, figure 27). Il est à noter que les sels de potassium lorsque R est l'octane ramifié et le cyclohexane (composés 4 et 3 respectivement, figure 27) donnent des hydrogels.

Dans le paragraphe précédent, nous avons pu établir que les dérivés de la lysine comportant une chaine alkyle à onze atomes de carbone sur l'azote ε ne peuvent donner d'hydrogels que dans le cas où le groupement carboxylique est sous la forme d'un ion carboxylate. Des hydrogélifiants, chargés positivement, ont également été mis au point par Suzuki et Hanabusa. Lorsque la lysine est modifiée par une chaine alkyle sur l'azote α et que celle-ci se termine par un pyridinium ou un methyl imidazolium (figure 28, haut), des hydrogels sont obtenus **[82]**. Il est à noter les remarquables performances des esters méthyliques et éthyliques comportant le pyridinium qui ont un nombre de gélation (qui est le nombre des molécules de solvant immobilisés par molécule de gélifiant) supérieur à 12 000. Ce chiffre tombe à 7 500 dans le cas de l'imidazolium. Enfin, lorsque l'ester est une chaîne aliphatique à dix atomes de carbone, ce nombre de gélation est de 4 400, et ce quel que soit l'espèce cationique considérée.

Des hydrogélifiants zwitterioniques, comportant une sulfobétaïne comme groupe terminal (figure 28, milieu), ont été publiés plus récemment **[83]**. Ils ont des capacités de gélification similaires à celles des pyridiniums. Le seul hydrogélifiant non chargé, comportant une unique chaîne alkyle, est le composé acétylé sur l'azote α (C_1-Lys(C_{11})-OH, figure 28, bas). Les auteurs ont constaté une augmentation de la solubilité dans l'eau lorsque la taille de la chaine alkyle en *N*-term diminue. Ainsi, la concentration critique de gélification est de 2 g/L dans l'eau pure et de 4 g/L dans un tampon salin **[84]**.

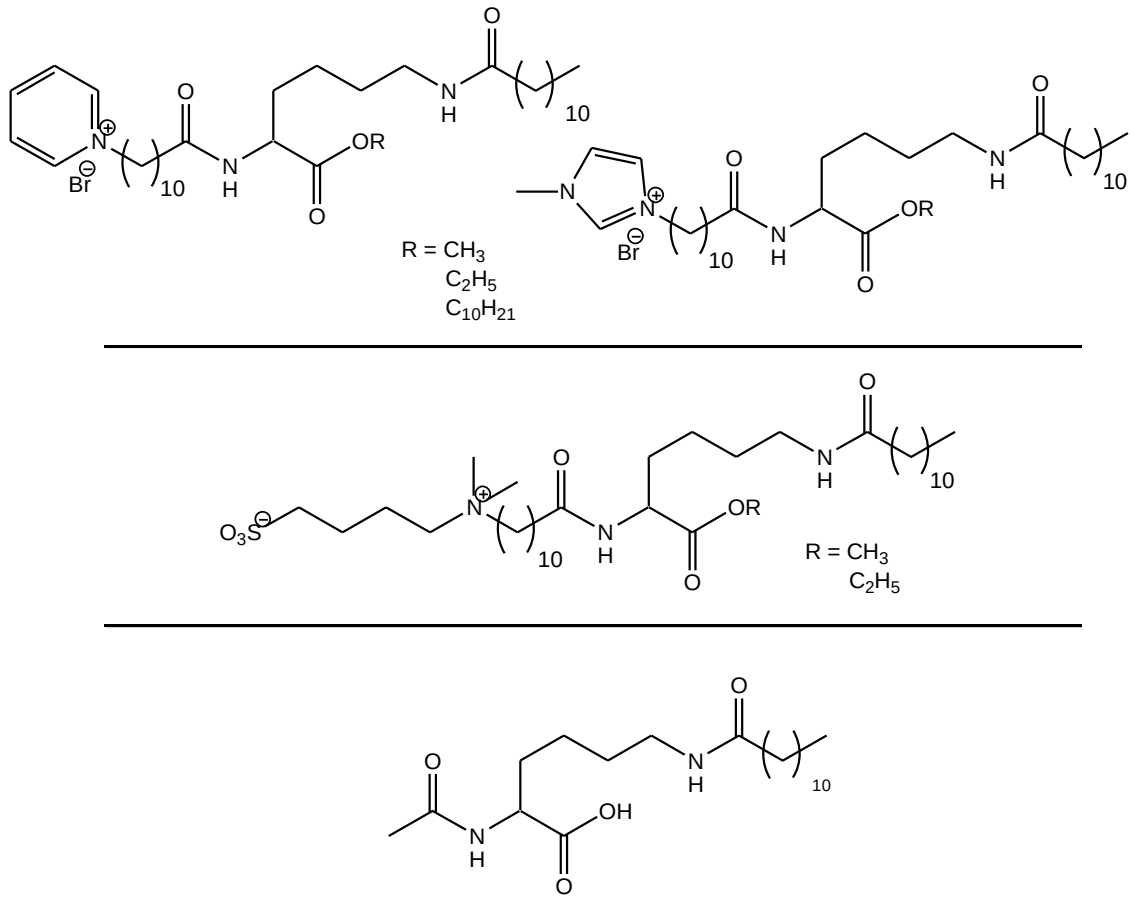


Figure 28 : Structure des hydrogélifiants cationiques (haut), zwitterioniques (milieu) et non ionique (bas) à base de lysine de Suzuki et Hanabusa.

I.6.2 Gélifiant à base de Dextrane

Les macromolécules sont aussi très utilisées pour la formulation des gels. Les polysaccharides sont un exemple de macromolécules qui suscitent un intérêt croissant depuis plusieurs dizaines d'années. En effet, les polysaccharides sont des biopolymères trouvés dans les organismes vivants, tant animaux que végétaux. Ils sont constitués par l'enchaînement de monomères, liés entre eux par des liaisons glycosidiques. La cellulose et l'amidon, sont les biopolymères les plus connus dans le règne végétal. Ces deux macromolécules sont constituées par l'assemblage d'unités D-anhydroglucopyranose.

Au sein de la cellulose, ces unités sont liées en position β(1-4), alors que dans l'amidon c'est en position α(1-4). Cette différence sur la liaison glycosidique procure à chaque biopolymère des caractéristiques totalement différentes. A côté de la cellulose et de l'amidon, il existe bien d'autres polysaccharides : le chitosane, l'alginate, le pullulane, l'inuline, le dextrane, etc. Parmi ces polysaccharides, le dextrane a particulièrement retenu

notre attention. C'est un polysaccharide bactérien non-ionique, de la famille des glucides, le dextrane est un biopolymère α-D-glucopyranose où 50 à 97 % des liaisons glycosidiques sont en position α-(1,6). Il existe aussi, la possibilité d'avoir des liaisons en position α-(1,2), α-(1,3) et α-(1,4) notamment, en proportions moins importantes **[85, 86]**. En termes de propriétés physico-chimiques, le dextrane est un polymère naturel très hydrophile, biocompatible et biodégradable. Très soluble dans l'eau, il peut être aussi solubilisé dans les solvants organiques polaires. Le diméthyle sulfoxide (DMSO), l'éthylène glycol, la formamide et le glycérol, sont les principaux exemples de solvants couramment utilisés pour solubiliser le dextrane **[87]**

Industriellement, le dextrane est synthétisé en utilisant la bactérie Leuconostoc Mesenteroides B512-F. Cette espèce microbienne utilise les molécules de sucrose, pour produire des macromolécules de dextrane essentiellement linéaires. Cependant, il est possible d'utiliser d'autres types de bactéries, par exemple Streptococcus et Lactobacillus. La structure du polymère obtenu peut varier. Le dextrane synthétisé par les bactéries présente des masses molaires moyennes très élevées, aux environs de 10^3 kg/mol. Ces valeurs entraînent des limites dans l'utilisation du polymère. Il est donc, très souvent soumis à des réactions de dégradation, permettant d'obtenir des chaînes de polymères plus courtes (M_W dans l'intervalle 10 – 100 kg/mol), et ainsi plus facilement utilisables dans les domaines pharmaceutiques, cosmétique et alimentaire.

Le dextrane est souvent utilisé comme molécule gélifiante, pour la préparation des gels. Les gels macromoléculaires, tout comme les gels supramoléculaires, sont constitués de deux composés, un à l'origine d'un réseau tridimensionnel et un liquide. A la différence des gels supramoléculaires, les gels macromoléculaires peuvent être chimiques, c'est-à-dire que le réseau tridimensionnel peut reposer en partie ou totalement sur des liaisons covalentes entre les chaînes macromoléculaires.

Cependant, il est aussi possible de former des gels physiques avec des macromolécules, fondés sur des liaisons faibles ou bien des enchevêtrements entre les macromolécules. La présence des groupes fonctionnels comme les acides carboxyliques, les hydroxyles et les groupes sulfoniques est très utile à la formation de gels car elle permet l'établissement d'interactions avec des molécules polaires, voire la fonctionnalisation des macromolécules. Les unités de répétition du dextrane comportent trois groupements hydroxyle susceptibles d'être modifiés, ce qui constitue une opportunité pour fonctionnaliser la macromolécule native. Des modifications comme

l'estérification ou le greffage de chaînes hydrocarbonées sur les groupements -OH, sont courantes [87]. Le dextrane a été la source d'inspirations de nombreux travaux dédiés à la formulation de gels.

En 2008 **Liu *et al.*** [88] ont formulé des hydrogels en se basant sur l'interpénétration de deux réseaux de polymères : gélatine et dextrane bi-fonctionnalisé (Dex-MA-AD), avec un méthacrylate (MA) et un aldéhyde (AD). Quatre hydrogels ont été formés D-A, DG-2, DG-4 et DG-6 en préparant des solutions avec 6% en masse de (Dex-MA-AD) et différentes proportions (2, 4, 6% en masse) de gélatine dans le PBS. La solution résultante a été agitée vigoureusement pendant 10 min dans un bain-marie à 40 °C. Un photo-initiateur Irgacure 2959 (I-2959) dans du PBS a été ajouté avec une concentration de 0,1 % en masse. Une fois la solution homogénéisée, elle a été ajoutée dans un moule et exposée à la lumière UV sous atmosphère d'argon. En général, les hydrogels sont formés soit par réticulation ultraviolette (UV) entre les groupes méthacrylate sur Dex-MA-AD, soit par réaction de base de Schiff entre Dex-MA-AD et la gélatine (figure 29).

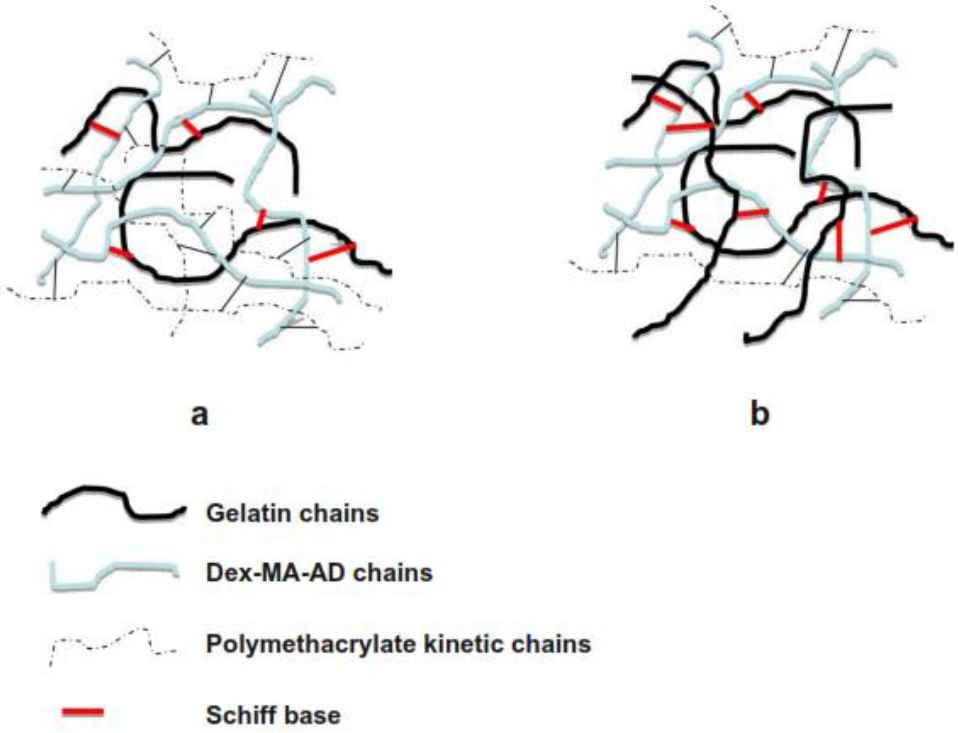


Figure 29 : Réseau d'hydrogels formé par photopolymérisation de Dex-MA-AD avec des quantités de gélatine : **a** faibles, **b** : élevés.

Zhang [89] en 2005 a synthétisé un copolymère à partir de carboxyméthyl dextrane (CM-Dextrane) et de poly(N-isopropylacrylamide)-NH_2 (PNIPAAm). Des hydrogels thermosensibles ont été formulés à partir de ce copolymère. Les propriétés des hydrogels ont été étudiées en prenant en compte les changements structuraux (à partir de la microscopie SEM), et l'effet de la température (à partir de mesures de turbidité). Deux échantillons (à 25 et 37 °C) ont été évalués dans une solution tampon à pH = 7,4. Les auteurs ont observé des structures compactes à 37 °C liées à la déshydratation du gel et des structures gonflées à 25 °C, liées à un gel humide. La LCST de l'hydrogel (température critique à laquelle une solution de polymère subit une transition de phase de l'état soluble à l'état insoluble) a été observée ; il est transparent à 25 °C et trouble à 38 °C. L'utilisation de techniques spectroscopiques comme l'infrarouge, ont confirmé la formation du réseau tridimensionnel, en montrant entre 3700 et 3100 cm^{-1} la bande vibration d'élongation du groupe -OH provenant du CM-Dextrane, et du NH provenant du PNIPAAm. Entre 1652 et 1561 cm^{-1}, les bandes typiques d'amide I et II du PNIPAAm sont observées.

D'un autre côté, **Lihui et *al.*** [90] en 2007 ont évalué les cinétiques de gélification d'un mélange de macromolécules, constitué par du dextrane oxydé (Odex) et du N-carboxyéthyl chitosan (CEC) en utilisant des mesures rhéologiques. Pour cela, les modules de stockage G', et le module de perte G'' ont été évalués en faisant des balayages en temps : à différentes températures (5, 10, 15, 25, 37 °C) pour une concentration de 2 % en masse de Odex-CEC, et à différentes concentrations de Odex-CEC (1, 2, 3 % en masse) pour une température fixe de 37 °C. Les temps de gélification ont été assimilés avec le point de croisement de G' et G''. Des gélifications rapides entre 30 et 600 s ont été observées entre 5 et 37 °C. Les points de croisement ont été en accord avec les mesures en fréquence selon le critère de Winter-Chambon.

Quelques travaux concernent la formation d'hydrogels à partir de solutions concentrées de dextrane natif. C'est l'exemple de **Campos et *al.*** [91] qui en 2013 ont rapporté la formulation de gels de dextrane commercial ayant une masse molaire moyenne de 70 kg/mol (DEX-70). L'idée était de formuler des hydrogels pour l'encapsulation d'une molécule fonctionnelle, le praziquantel (PZQ). Cette dernière était solubilisée avec le DEX-70 dans un mélange eau/éthanol avant évaporation. Lorsque

le mélange était mis en contact avec un milieu aqueux, le temps de gonflement du DEX-70 était suffisamment long pour contrôler la libération du PZQ dans le milieu aqueux environnant. Des propriétés comme la vitesse de gonflement, et la capacité de libération du médicament, ont été évaluées. Les auteurs ont pu observer, un phénomène de gonflement sur plusieurs heures entraînant une libération du médicament en continu, avec une vitesse assez lente elle aussi.

Finalement nous citerons **Stenekes *et al*.** **[92]** qui se sont intéressés à la formulation d'hydrogels et de microsphères de dextrane. La formulation a été basée sur la cristallisation. Les auteurs ont pu observer des précipités, dans des solutions aqueuses très concentrées (50 % en masse) de dextrane ayant des masses molaires faibles (6000 g/mol), bien que le dextrane soit connu pour être très soluble dans l'eau. Les auteurs ont supposé que ce comportement provient de l'association des chaînes par liaisons hydrogène grâce au rapport polymère-eau dans des solutions concentrées de dextrane de faible masse molaire.

I.6.3 Gels à base de mélanges molécules / polymères.

Les gels hybrides sont des systèmes constitués par l'interpénétration de deux réseaux. Parmi toutes les possibilités (cf. figure 3), nous nous concentrerons sur un cas spécifique : la combinaison de deux réseaux physiques, l'un supramoléculaire et l'autre macromoléculaire. Dans ce qui suit, nous examinerons rapidement les différentes possibilités en les répartissant en 4 catégories **[93]**.

❖ Interpénétration entre deux réseaux physiques

Cette catégorie est constituée par l'interpénétration de deux réseaux tridimensionnels, chacun d'eux pouvant exister, dans les mêmes conditions physico-chimiques, indépendamment de l'autre (figure 30).

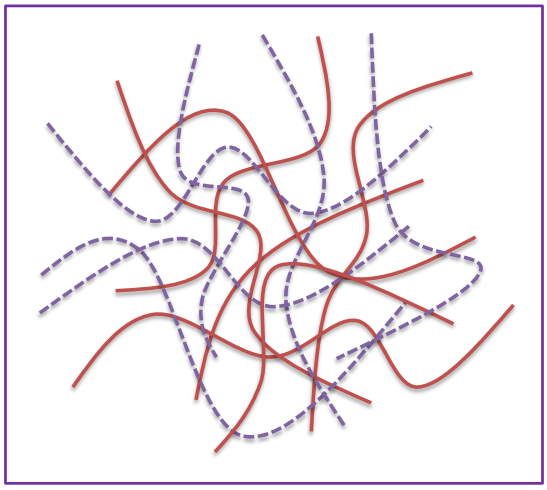


Figure 30 : Interpénétration de deux réseaux physiques moléculaire et macromoléculaire.

Cette combinaison semble très riche en termes des propriétés mécaniques. Une possible compensation des avantages et des inconvénients de chaque réseau séparé, peut donner naissance à des nouvelles propriétés très prometteuses. La présence du polymère peut améliorer par exemple, les propriétés mécaniques comparativement aux gels supramoléculaires seuls.

Fei Song *et al.* [94]. en 2010 ont évalué les propriétés mécaniques des hydrogels à base de 2, 6-di[N-(carboxyethyl-carbonyl)amino]pyridine (**DAP**). L'idée de l'étude était de comparer les propriétés mécaniques (force, viscosité etc.) des gels en absence et en présence de dextrane. D'après les résultats, les auteurs ont constaté des améliorations des modules viscoélastiques, c'est-à-dire que des gels plus forts ont été observés en présence du polymère. Cette amélioration a été attribuée à l'existence d'interactions physiques, plus précisément des liaisons hydrogène, entre le DAP et le dextrane. Ces derniers ont été confirmés par spectroscopie d'infrarouge et RMN. L'imagerie SEM a montré des fibres régulières non-enchevêtrées pour les gels issus de DAP. Par contre les gels avec dextrane ont montré des structures plus complexes, constituées par des fibres très irrégulières et fortement enchevêtrées. Finalement, les gels en présence du polymère ont été capables de retenir un pourcentage plus important de l'eau dans leurs réseaux.

❖ Addition d'un polymère non-gélifié dans un gel issu de petites molécules

A la différence de la catégorie précédente ces gels hybrides (figure 31) ne comportent qu'un seul réseau tridimensionnel, celui formé par les petites molécules (pointillés violets), qui est « dopé » par des macromolécules (bleu) qui, dans les conditions considérées, n'auraient pas de propriétés gélifiantes si elles étaient seules (concentration trop faible). La présence du polymère peut avoir des effets via des interactions directes avec les édifices supramoléculaires (adsorption) ou de façon indirecte en augmentant la viscosité du fluide retenu dans le gel.

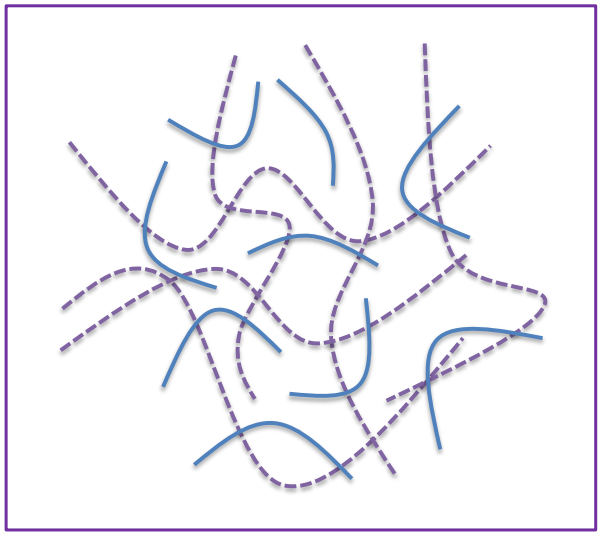


Figure 31 : Addition d'un polymère non-gélifié dans un gel issu de petites molécules.

Lin Chem *et al.* [95] en 2010 ont évalué les modifications apportées par la présence de dextrane dans des hydrogels supramoléculaires à base de naphtalène-dipeptide. Les hydrogels supramoléculaires ont été formulés à des pH inférieurs à 10 (au-dessus de cette valeur, la gélification n'a pas lieu). Le dextrane n'est pas capable de gélifier en étant seul, dans les mêmes conditions physico-chimiques. Pour évaluer l'impact du polymère différentes masse molaires ont été testées, comprises entre 6.10^3 et 2.10^6 g/mol. Les valeurs de la concentration du dextrane ont été variées entre 0,5 et 33 w%. Les résultats en termes de viscosité ont montré :

- Aux plus faibles concentrations en dextrane, par exemple 0.5 w%, la viscosité de la solution multi-constituants à des pH élevés n'a pas varié en comparaison à la viscosité de la solution sans dextrane.

- A des concentrations plus élevées en dextrane, vers 17 w%, la viscosité (dans la même condition de pH) varie proportionnellement à la masse molaire du dextrane. Pour comparaison des échantillons contenant seulement le dextrane ont été formulés et il a été constaté qu'ils ne conduisaient pas à la formation de gels.
- A des pH moins élevés, la formation d'hydrogels a été observée, avec une concentration en dextrane de 33 wt%.

En termes de morphologie, les gels préparés avec le dextrane sont constitués par des fibres plus fines, en comparaison aux fibres observées dans les gels supramoléculaires ne contenant pas de dextrane. Le temps de gélification a été évalué en fonction de la concentration de dextrane. A des faibles concentrations les hydrogels ont des temps de gélification très courts, tandis que les gels plus concentrés ont des temps de gélification plus élevés. Finalement, l'évaluation des modules G' et G'' ont montré des gels plus forts pour les concentrations les plus faibles en dextrane. Pour une masse molaire fixe de dextrane (2.10^6 g/mol) la diminution du module G' est observée à mesure que la concentration du dextrane augmente, tandis qu'une augmentation légère de G'' est observée. Cette variation conduit à la diminution du rapport G'/G'', ce qui indique que les gels deviennent de plus en plus visqueux en augmentant la concentration de dextrane. Il semble que le polymère n'interagit pas directement avec le gel, il intervient plutôt dans l'augmentation de la viscosité.

❖ Interconnexion covalente/physique, entre deux réseaux 3D moléculaire/ macromoléculaire.

La catégorie 3 peut être vue comme une variante des deux cas précédents où il y a en plus, des interactions faibles entre le polymère et le gel supramoléculaire (figure 32).

Un travail illustrant ce type de comportement est celui de **Kobayashi *et al.*** **[96]**. En 2001 les auteurs ont évalué l'amélioration des propriétés des gels issus de cholestérol-saccharide en présence d'un polymère de lysine (poly(L-lysine)). Le côté N^{ε} de la lysine présente à son extrémité un groupement acide borique. Les gels ont

été formulés dans des mélanges DMSO/H_2O. Les molécules de cholestérol-saccharide ne conduisent pas à la formation de gels dans le mélange DMSO/H_2O. Cependant, l'ajout du polymère conduit à des propriétés gélifiantes très marquées, lorsque les proportions entre le polymère et le conjugué cholestérol-saccharide 1 : 6 respectivement. Les auteurs attribuent ce résultat aux interactions entre les groupements acides borique présents sur les chaînes du polymère et les vésicules formées par les molécules de cholestérol-saccharide. Cette interprétation a été confortée par des micrographies TEM.

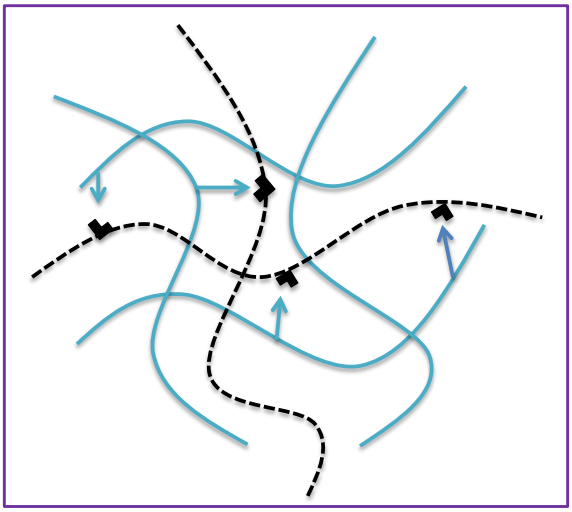


Figure 32 : Interconnexion physique, entre deux réseaux 3D : l'un moléculaire et l'autre macromoléculaire.

❖ Capture du réseau tridimensionnel dans une matrice de polymère.

Finalement pour la catégorie 4 (figure 33), un monomère est immobilisé par le réseau tridimensionnel des petites molécules, puis polymérisé *in situ*.

A partir de cette méthode il est possible de préparer des polymères à empreinte moléculaire. Nous prendrons comme exemple illustratif le travail de **Jamie *et al***. [97]. (2008). Les auteurs ont synthétisé une molécule dendritique qui présente des liaisons doubles terminales. La copolymérisation de styrène et de divinylbenzène (DVB) a été réalisée en présence du gélifiant supramoléculaire. Les matériaux formulés ont montré une grande amélioration en termes de propriétés mécaniques. La Tgel (transition de phase gel-sol) a été évaluée en fonction de la concentration de gélifiant pour une proportion de styrène-DVB de 9 :1. Les résultats montrent des gels plus performants

à des concentrations de gélifiant supérieures à 20 mM. A faibles concentrations les gels ont montrés les Tgel les moins élevées, ce qui indique la formation de gel plus faibles. L'ajout de tétraoxyde d'osmium (OsO_4 réagit avec les doubles liaisons terminales du gélifiant) a permis d'observer par TEM le réseau formé. Finalement, le gélifiant peut être extrait du matériau final, pour conduire à un polymère à empreinte moléculaire.

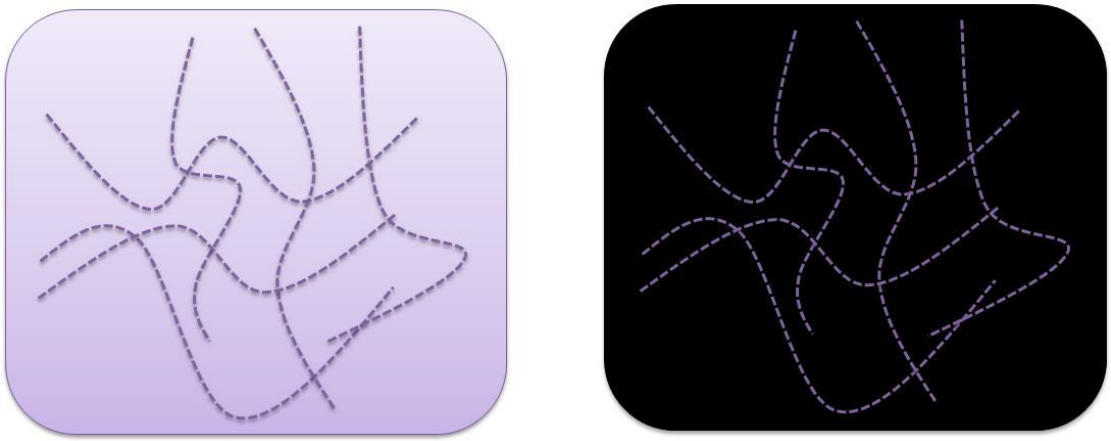


Figure 33 *:* Capture du réseau tridimensionnel dans une matrice de polymère.

I.7 Conclusion de l'analyse de l'état de l'art et objectifs de la thèse

Ce chapitre nous a amené, parmi l'importante littérature touchant à ce sujet, à préciser la notion de gels supramoléculaires, macromoléculaires et hybrides, en nous intéressant plus particulièrement aux systèmes impliquant de protéines, des peptides des acides aminés ou encore certains polysaccharides. Il est apparu que le sujet implique des aspects complémentaires allant de la chimie (synthèse des molécules et macromolécules) à la physico-chimie (formulation des gels, caractérisation de leurs structures et propriétés) et à la physique (compréhension du comportement rhéologique).

Nous allons nous concentrer sur la formulation dans un premier temps d'hydrogels et d'organogels aqueux physiques à base de dérivés d'un acide aminé, la lysine, ainsi que de gels hybrides en incorporant dans les précédents un polysaccharide non ionique, le dextrane. Nous utiliserons des dérivés de la lysine dans lesquels les deux fonctions amines seront modifiées par des groupements hydrocarbonés différents,

l'un aliphatique sur le Nα et l'autre aromatique sur le Nε. Afin d'analyser l'importance et le rôle d'interactions faibles faisant intervenir le cycle aromatique, nous examinerons l'impact de la substitution de ce cycle par un atome de chlore. Enfin, le rôle du groupement acide carboxylique sera apprécié en le transformant en groupement hydrazine et en examinant les conséquences sur la formation de gels.

Nous synthétiserons 3 molécules dérivées de la lysine, en caractérisant précisément leur structure et leur pureté. Ce sera l'objet du chapitre II.

Puis nous réaliserons des essais de formulation avec des examens visuels des échantillons pendant des durées allant jusqu'à plusieurs mois. Nous chercherons à évaluer, à partir de ces essais, l'évolution de la capacité de gélification en fonction de la structure chimique du gélifiant et aussi l'impact de la présence d'un polymère sur la gélification. Ces essais seront discutés dans le chapitre III.

Pour évaluer les propriétés viscoélastiques de gels nous allons faire appel à la rhéologie en mode oscillatoire. Les conditions de composition choisies (concentration en molécule, composition du solvant) seront fondées sur les essais de formulation. Différentes expériences rhéologiques seront réalisées : des balayages en contrainte, en fréquence, en temps et en température. Ces expériences seront rapportées dans le chapitre IV.

Pour aller plus loin dans la caractérisation structurale, nous ferons appel à la spectroscopie IR-TF et à la spectroscopie Raman pour caractériser les molécules gélifiantes dans l'état solide, liquide et dans les gels supramoléculaires. Cela pourra donc nous amener à des informations correspondant aux interactions issues du réseau tridimensionnel. Pour l'évaluation de la morphologie de nos gels, nous allons nous concentrer sur deux techniques microscopiques, l'AFM et la microscopie Raman. L'ensemble des résultats de ces expériences seront discutés dans le chapitre V.

Bibliographie

1 S. Balibar, E. Brézin, Demain la physique, Odile Jacob, Paris, 2009.

2 I. W. Hamley, *Introduction to soft matter: polymers, colloids amphiphiles, and liquid crystals*, Wiley, Chichester : New York, 2000.

3 J. W. Steed, D. R. Turner and K. J. Wallace, *Core concepts in supramolecular chemistry and nanochemistry*, Wiley, Chichester, 2007.

4 K. Almdal, J. Dyre, S. Hvidt, O. Kramer , *Polymer and Gels and Networks,* 1993, **1**, 5-17.

5 D.J Lloyd, *Colloid Chemistry*, 1926, **1**, 767-782

6 J. Flory, *Homepage*, 1974, 7-11

7 A. Chalard, L. Vaysse, P. Joseph, L. Malaquin, S. Souleille, B. Lonetti, J.-C. Sol, I. Loubinoux and J. Fitremann, *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2018, **10**, 17004–17017.

8 E. R. Draper, B. Dietrich, C. Brasnett, S. Sproules, T. O. McDonald, A. M. Seddon and D. J. Adams, *Macromolecular Rapid Communications*, 2018, **39**, 1700746.

9 D. J. Abdallah, S. A. Sirchio and R. G. Weiss, *Langmuir*, 2000, **16**, 7558–7561.

10 A. R. Borges, M. Hyacinth, M. Lum, C. M. Dingle, P. L. Hamilton, M. Chruszcz, L. Pu, M. Sabat and K. L. Caran, *Langmuir*, 2008, **24**, 7421–7431.

11 M. G. F. Angelerou, P. W. J. M. Frederix, M. Wallace, B. Yang, A. Rodger, D. J. Adams, M. Marlow and M. Zelzer, *Langmuir*, 2018, **34**, 6912–6921.

12 L. Chen, J. Raeburn, S. Sutton, D. G. Spiller, J. Williams, J. S. Sharp, P. C. Griffiths, R. K. Heenan, S. M. King, A. Paul, S. Furzeland, D. Atkins and D. J. Adams, *Soft Matter*, 2011, **7**, 9721.

13 V. Tantishaiyakul, P. Ouiyangkul, M. Wajasat, T. Pawisat, N. Hirun and T. Sangfai, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 2018, **120**, 1800178.

14 L. S. K. Dassanayake, D. R. Kodali and S. Ueno, *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 2011, **16**, 432–439.

15 J. Le Bideau, L. Viau and A. Vioux, *Chem. Soc. Rev.*, 2011, **40**, 907–925.

16 S. Dutta, D. Das, A. Dasgupta and P. K. Das, *Chemistry - A European Journal*, 2010, **16**, 1493–1505.

17 S. F. Plappert, J.-M. Nedelec, H. Rennhofer, H. C. Lichtenegger, S. Bernstorff and F. W. Liebner, *Biomacromolecules*, 2018, **19**, 4411–4422.

18 L. Guan and Y. Zhao, *Chemistry of Materials*, 2000, **12**, 3667–3673.

19 N. Diascorn, Elaboration et caractérisation d'aérogels superisolants thermique hybrides à base de silice et de polyuréthane, 338, Thèse doctoral : Paris.: 2014.

20 Akong, Composés amphiphiles originaux à propriétés gélifiantes : synthèse et caractérisations physico-chimiques. Application à la formulation de produits de préservation du bois hydrosolubles, 355, Thèse doctoral : Sciences du bois et des fibres : Nancy : 2012.

21 M. Boissiere, Elaboration et caractérisation de microsphères hybrides Kappa-carraghénane/silice, 163, Thèse doctoral : Sciences physico-chimique et technologique pharmaceutique : Montpellier : 2004.

22 C. Philippot, Elaboration et caractérisation de nanocristaux organique s fluorescente insérés en coquille sol-gel : vers le développement d'un nouveau type d'agent imageant, 220, Thèses Doctoral : Chimie Physique Moléculaire et Structurel : Grenoble : 2010.

23 D. Sakar, A. Saraç, O. Cankurtaran and F. Karaman, *Polymer Bulletin*, 2007, **58**, 305–312.

24 I. Krakovský, H. Urakawa, K. Kajiwara and S. Kohjiya, *Journal of Non-Crystalline Solids*, 1998, **231**, 31–40.

25 C. Nouvel, Synthèse contrôlée de copolymères dextrane-g-polylactide : de leur utilisation comme surfactifs biodégradable à la mise en œuvre de systèmes de vectorisation particulières, 226, Thèse Doctoral : Génie de Procédés : Nancy : 2002.

26 F. Springinsfeld, Mécanisme de gélification et comportement rhéologique d'émulsions d'alcanes parciellement cristalisé, 202, Thèse Doctrale : Chimie physique :Paris : 2009

27 M. M.Benhamou, Introduction à la Physique de Polymères, 77, thèse Doctoral : Maroc : 2004.

28 J.-M. Lehn and A. Pousse, *La chimie supramoléculaire: concepts et perspectives*, De Boeck Université, Bruxelles, 1997.

29 R. G. Weiss, Ed., *Molecular gels: materials with self-assembled fibrillar networks*, Springer, Dordrecht, 2006.

30 P. Terech, V. Rodriguez, J. D. Barnes and G. B. McKenna, *Langmuir*, 1994, **10**, 3406–3418.

31 K. Hanabusa, M. Yamada, M. Kimura and H. Shirai, *Angewandte Chemie International Edition in English*, 1996, **35**, 1949–1951.

32 F. Allix, P. Curcio, Q. N. Pham, G. Pickaert and B. Jamart-Grégoire, *Langmuir*, 2010, **26**, 16818–16827.

33 P. Colomban, Imagerie Raman de matériaux et dispositifs hétérogènes, Techniques de l'ingénieur, 2002, 1-7

34 R. Poilblanc and F. Crasnier, *Spectroscopies infrarouge et Raman*, EDP Sciences, Les Ulis, France, 2006.

35 S. K. Samanta, A. Pal and S. Bhattacharya, *Langmuir*, 2009, **25**, 8567–8578.

36 S. Bhattacharya and S. K. Samanta, *Langmuir*, 2009, **25**, 8378–8381.

37 S. Basak, N. Nandi, A. Baral and A. Banerjee, *Chemical Communications*, 2015, **51**, 780–783.

39 Q. N. Pham, N. Brosse, C. Frochot, D. Dumas, A. Hocquet and B. Jamart-Grégoire, *New Journal of Chemistry*, 2008, **32**, 1131.

40 Tapin-Lingua, Les techniques de microscope application à l'étude des matériaux lignocellulosique, Pôle Technologique Nouveaux Matériaux, 2007, 4, 1-5

41 T. Chen, Développement de biocapteurs hyperfréquences microfluidique pour la spectroscopie diélectrique non-in invasive de la cellule unique. Application en Cancerologie, 171, Thèse Doctoral : Micro et nano systèmes : Toulouse : 2012

42 D. Adams, *Gels*, 2018, **4**, 32.

43 T. G. Mezger, *Rhéologie appliquée: à la découverte de la rhéologie avec Joe Flow*, 2017.

44 S. S. Weinman, P. Méuhul, Biochimie structure et fonction des protéines, 2000.

45 D. Hamada, I. Yanagihara and K. Tsumoto, *Trends in Biotechnology*, 2004, **22**, 93–97.

46 D. Hamada and C. M. Dobson, *Protein Science*, 2009, **11**, 2417–2426.

47 B. Ozbas, J. Kretsinger, K. Rajagopal, J. P. Schneider and D. J. Pochan, *Macromolecules*, 2004, **37**, 7331–7337.

48 H.-W. Jun, S. E. Paramonov and J. D. Hartgerink, *Soft Matter*, 2006, **2**, 177.

49 D. W. P. M. Löwik and J. C. M. van Hest, *Chem. Soc. Rev.*, 2004, **33**, 234–245.

50 H.-W. Jun, V. Yuwono, S. E. Paramonov and J. D. Hartgerink, *Advanced Materials*, 2005, **17**, 2612–2617.

51 A. Banerjee, G. Palui and A. Banerjee, *Soft Matter*, 2008, **4**, 1430.

52 A. K. Das, P. P. Bose, M. G. B. Drew and A. Banerjee, *Tetrahedron*, 2007, **63**, 7432–7442.

53 G. Palui, J. Nanda, S. Ray and A. Banerjee, *Chemistry - A European Journal*, 2009, **15**, 6902–6909.

54 A. Pasc, P. Gizzi, N. Dupuy, S. Parant, J. Ghanbaja and C. Gérardin, *Tetrahedron Letters*, 2009, **50**, 6183–6186.

55 P. Gizzi, A. Pasc, N. Dupuy, S. Parant, B. Henry and C. Gérardin, *European Journal of Organic Chemistry*, 2009, **2009**, 3953–3963.

56 A. Pasc, F. Obounou Akong, S. Cosgun and C. Gérardin, *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 2010, **6**, 973–977.

57 X. Yan, P. Zhu and J. Li, *Chemical Society Reviews*, 2010, **39**, 1877.

58 M. Reches, E Gazit, *Israel Journal of Chemistry*, 2005, **45**, 363-371.

59 A. Mahler, M. Reches, M. Rechter, S. Cohen and E. Gazit, *Advanced Materials*, 2006, **18**, 1365–1370.

60 J. Raeburn, G. Pont, L. Chen, Y. Cesbron, R. Lévy and D. J. Adams, *Soft Matter*, 2012, **8**, 1168–1174.

61 A. M. Smith, R. J. Williams, C. Tang, P. Coppo, R. F. Collins, M. L. Turner, A. Saiani,R. V. Ulijn, *Advanced Materials,* 2008, **20**, 37-41

62 X. Q. Dou, C.-L. Feng, Advanced Materials., 2017, **29**, 2- 9.

63 N Javid, S. Roy, M. Zelzer, Z. Yang, J. Sefcik, R. Ulijin, Biomacromolecules.,2013, **14**, 4368-4376

64 P. Bairi, B. Roy and A. K. Nandi, *RSC Adv.*, 2012, **2**, 264–272.

65 J.-S. Shen, G.-J. Mao, Y.-H. Zhou, Y.-B. Jiang and H.-W. Zhang, *Dalton Transactions*, 2010, **39**, 7054.

66 S. Sutton, N. L. Campbell, A. I. Cooper, M. Kirkland, W. J. Frith and D. J. Adams, *Langmuir*, 2009, **25**, 10285–10291.

67 E. R. Draper, K. L. Morris, M. A. Little, J. Raeburn, C. Colquhoun, E. R. Cross, Tom. O. McDonald, L. C. Serpell and D. J. Adams, *CrystEngComm*, 2015, **17**, 8047–8057.

68 D. M. Ryan, S. B. Anderson, F. T. Senguen, R. E. Youngman and B. L. Nilsson, *Soft Matter*, 2010, **6**, 475–479.

69 D. M. Ryan, S. B. Anderson and B. L. Nilsson, *Soft Matter*, 2010, **6**, 3220.

70 S. Fleming and R. V. Ulijn, *Chem. Soc. Rev.*, 2014, **43**, 8150–8177.

71 N. Brosse, D. Barth and B. Jamart-Grégoire, *Tetrahedron Letters*, 2004, **45**, 9521–9524.

72 B. Jamart-Grégoire, S. Son, F. Allix, V. Felix, D. Barth, Y. Jannot, G. Pickaert and A. Degiovanni, *RSC Advances*, 2016, **6**, 102198–102205.

73 S. Bhattacharya, Y. Krishnan-Ghosh, *Chem Commun*, 2001, 185-186.

74 C. Couffin, P. Delmas, A. Motulsky, J.C. Leroux, *Pharmaceutical Research*, 2004, **21**, 454-457

75 A. Motulsky, M. Lafleur, A.C. Couffin, D. Hoarau, F. Boury, J.P. Benoit, J. C. Leroux, *Biomaterials*, 2005, **26**, 6242 - 6253.

76 A. Pal, Y. K. Ghosh, S. Bhattacharya, *Tetrahedron*, 2007, **63**, 7334-7348.

77 W. K. Restu, K. Ishida, Y. Nishida, M. Mizuhata, T. Kataoka, T Maruyama, *Colloid Polym Sci*, 2017.

78 M. Suzuki, Y Nakajima, H. Shirai,M. Yumoto, M. Kimura, K. Hanabusa, *Langmui*r, 2003, **19**, 8622-8624

79 M. Suzuki, M. Yumoto, M. Kimura, H. Shirai, K. Hanabusa, *Helvetica Chimica Acta*, 2004, **87**, 1-7.

80 M. Suzuki, M. Yumoto, H. Shirai and K. Hanabusa, *Chemistry - A European Journal*, 2008, **14**, 2133–2144.

81 M. Suzuki, M. Yumoto, H. Shirai, K.Hanabusa, *Tetrahedron*, 2008, **64**, 10395–10400

82 M. Suzuki, M. Yumoto, M. Kimura, H. Shirai, K. Hanabusa, *Chem Comm*, 2020, 884-885

83 M. Suzuki, M. Kondo, K. Hanabusa, Macromol Symp, 2015, **358,** 112-119.

84 M. Suzuki, T. Abe, K. Hanabusa, Journal of Colloid and Interface Science, 2010, **341**, 69–74.

85 E. Michel, Rcouvrement à base de dextrane pour pplications médicales, 128, Thèse doctoral : Génie de matériaux et de métallurgie : France : 2016

86 L. M. F. Ramirez, Elaboration de nanocapsules par polymérisation radicalaire contrôlée à partir d'un tensioactif réactif dérivé du dextrane, 386, Thèse doctoral : Génie de procédé : Nancy : 2016.

87 R. Covis, Synthèse de polysaccharides amphiphiles à partir de dextrane et application à la stabilisation d'émulsions directes et inverses, 275, Thèse doctoral : Génie des procédés et de produits : Nancy : 2011.

88 Y. Liu and M. B. Chan-Park, *Biomaterials*, 2009, **30**, 196–207.

89 R. Zhang, *Polymer*, 2005, **46**, 2443–2451.

90 L. Weng, X. Chen and W. Chen, *Biomacromolecules*, 2007, **8**, 1109–1115.

91 F. dos S. Campos, D. L. Cassimiro, M. S. Crespi, A. E. Almeida and M. P. D. Gremião, *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2013, **49**, 75–83.

92 R. J. H. Stenekes, H. Talsma and W. E. Hennink, *Biomaterials*, 2001, **22**, 1891–1898.

93 D. J. Cornwell and D. K. Smith, *Materials Horizons*, 2015, **2**, 279–293.

94 F. Song, L.-M. Zhang, J.-F. Shi, N.-N. Li, C. Yang and L. Yan, *Materials Science and Engineering: C*, 2010, **30**, 804–811.

95 L. Chen, S. Revel, K. Morris, D. G. Spiller, L. C. Serpell and D. J. Adams, *Chemical Communications*, 2010, **46**, 6738.

96 H. Kobayashi, M. Amaike, J. H. Jung, A. Friggeri, S. Shinkai and D. N. Reinhoudt, *Chemical Communications*, 2001, 1038–1039.

97 J. R. Moffat and D. K. Smith, *Chem. Commun.*, 2009, 316–318.

Chapitre II

Synthèse et Caractérisation de Molécules Gélifiantes

II.1 Introduction

Les acides aminés ont un grand potentiel en tant que briques élémentaires de molécules gélifiantes (chapitre I). Parmi tous les acides aminés possibles, nous avons choisi de travailler avec la L-lysine. Ce dernier offre la possibilité de faire aisément des modifications chimiques sur trois groupements fonctionnels de la molécule. En effet, en plus de la fonction acide carboxylique (extrémité *C*-terminale) et de la fonction amine (azote α de l'extrémité *N*-terminale), le résidu de la chaîne latérale comporte une fonction amine ε. Les nombreux travaux de Suzuki consacrés à des gélifiants, dérivés de la lysine, fournissent une littérature précieuse pour notre travail (chapitre I).

Ce chapitre sera consacré à la synthèse et à la caractérisation des molécules gélifiantes. Nous avons synthétisé trois molécules : C_{11}-Lys(Z)-OH, C_{11}-Lys(2-Cl-Z)-OH, et C_{11}-Lys(Z)-$NHNH_2$ que nous appellerons **A**, **B** et **C** respectivement (figure 1). La première molécule a déjà été décrite dans la littérature comme un intermédiaire réactionnel dans la synthèse de dérivés de lysine tensioactifs et antimicrobiens [1]. Nous avons toutefois modifié la stratégie de synthèse par rapport à celle suivie par les auteurs. Un analogue de la molécule **C**, avec une chaîne alkyle en C_{15}, a été également mentionné comme intermédiaire de synthèse de peptides antimicrobiens [2].

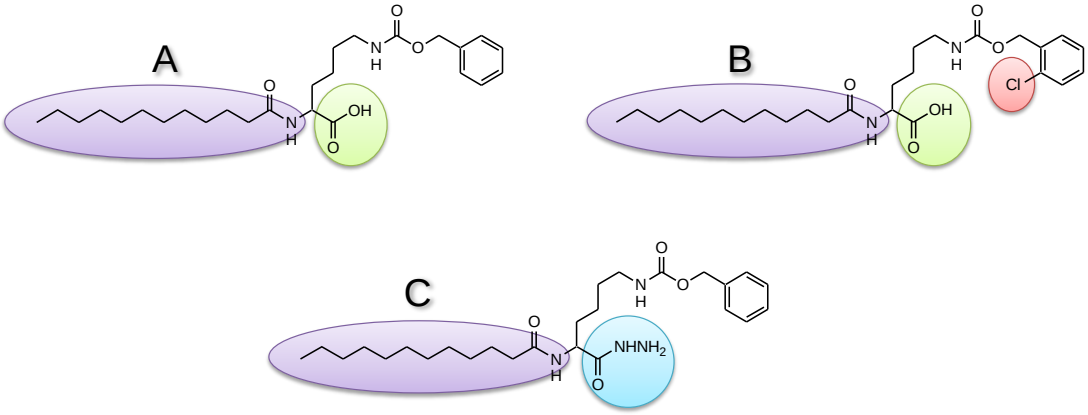


Figure 1 : structures des molécules visées notées **A**, **B** et **C**.

La molécule de départ, pour les synthèses de **A** et **C**, est un dérivé commercial de L-lysine où, l'azote **ε** est protégé par un groupement **Z** (carboxybenzyle), et l'extrémité C-terminale est sous la forme d'un ester méthylique. Pour **B**, nous sommes partis d'un dérivé commercial de L-lysine où, le cycle aromatique du groupe protecteur

Z est substitué par un atome de chlore en position 2. L'extrémité C-terminale est sous la forme d'un acide carboxylique.

La conception de la structure de ces trois molécules (**A**, **B** et **C**) a été guidée par deux considérations : d'une part le souhait de produire des gels supramoléculaires essentiellement aqueux et d'autre part l'objectif de mieux corréler les variations de propriétés de gélification avec les variations de structure moléculaire. Afin d'obtenir des molécules susceptibles de s'auto-assembler en milieu essentiellement aqueux, les deux fonctions amine de la L-lysine ont été substituées par des groupements hydrocarbonés (aliphatique et aromatique) via la formation de liaisons amide (avec l'azote α) et uréthane (avec l'azote ε). Dans le cas de la molécule **B**, l'aromatique est substitué par un atome de chlore en position 2. La troisième fonction polaire de la L-lysine, l'acide carboxylique, a été conservée dans deux des trois molécules (**A** et **B**) alors qu'elle a été convertie en hydrazide, une autre fonction polaire, dans le cas du troisième gélifiant (**C**). Ainsi, afin d'obtenir des gels en milieu polaire essentiellement aqueux, nous avons conçu chaque gélifiant pour qu'il comporte simultanément des groupements hydrocarbonés apolaires et des fonctions polaires (amide, uréthane et acide carboxylique/hydrazide). Par ailleurs, notre stratégie visait à comparer les propriétés gélifiantes des molécules « par paires ». Ainsi, la substitution du cycle aromatique par un atome de chlore dans la molécule **B** visait à mettre en évidence le rôle de ce groupement hydrocarboné dans la formation du gel (*via* une comparaison avec les gels obtenus avec la molécule **A**). De façon similaire, la modification du groupement acide carboxylique en groupement hydrazide dans la molécule **C** avait pour objectif d'évaluer le rôle de la fonction polaire située sur l'extrémité *C*-terminale (*via* une comparaison avec la molécule **A**).

II.2 Synthèse des gélifiants

II.2.1 Synthèse du composé A (C_{11}-Lys(Z)-OH)

Pour mettre au point la synthèse de nos gélifiants, nous avons adapté celle décrite dans la littérature par Santanu Bhattacharya [3] qui a travaillé sur des acides aminés aliphatiques et aromatiques (Gly, Ala, Val, Leu, Phe, Tryp). La synthèse de la molécule **A** a été réalisée en deux étapes (schéma 1).

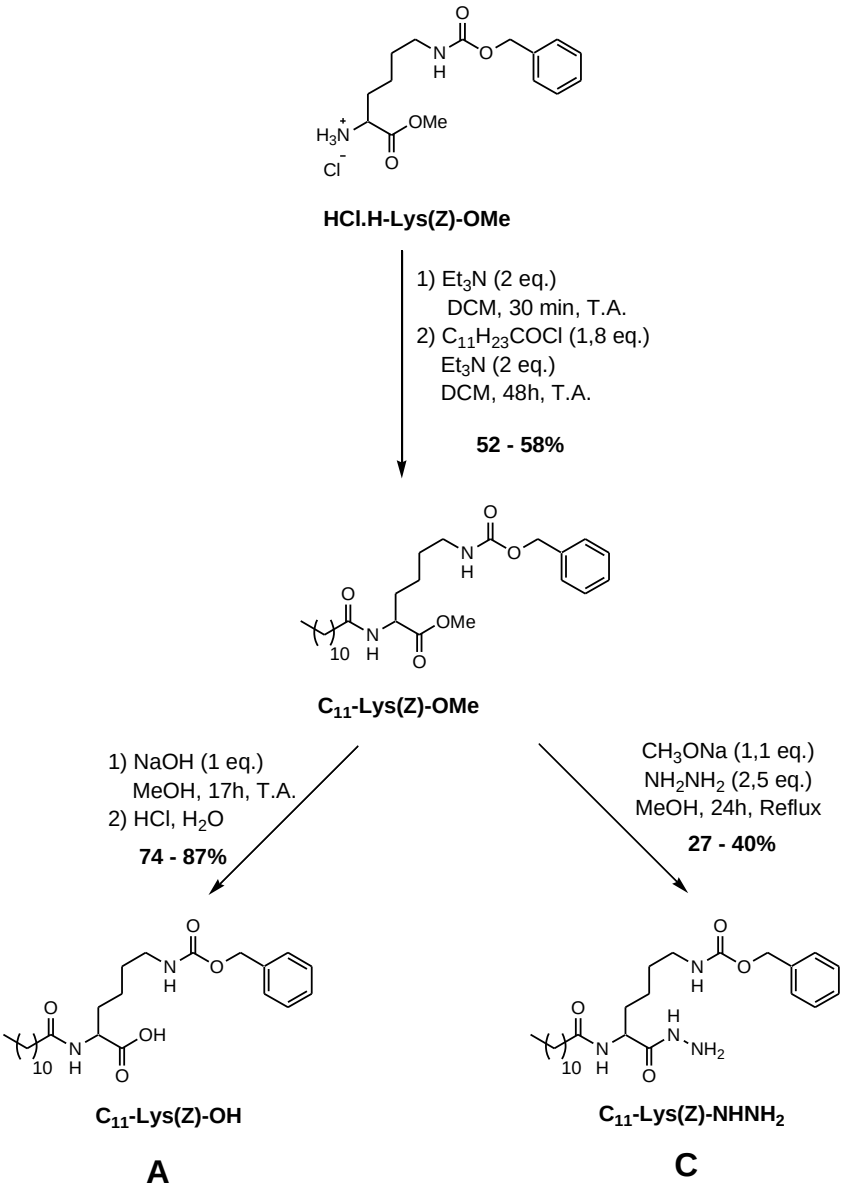


Schéma 1: Synthèse des gélifiants **A** (**C_{11}-Lys(Z)-OH) et C (C_{11}-Lys(Z)-$NHNH_2$).**

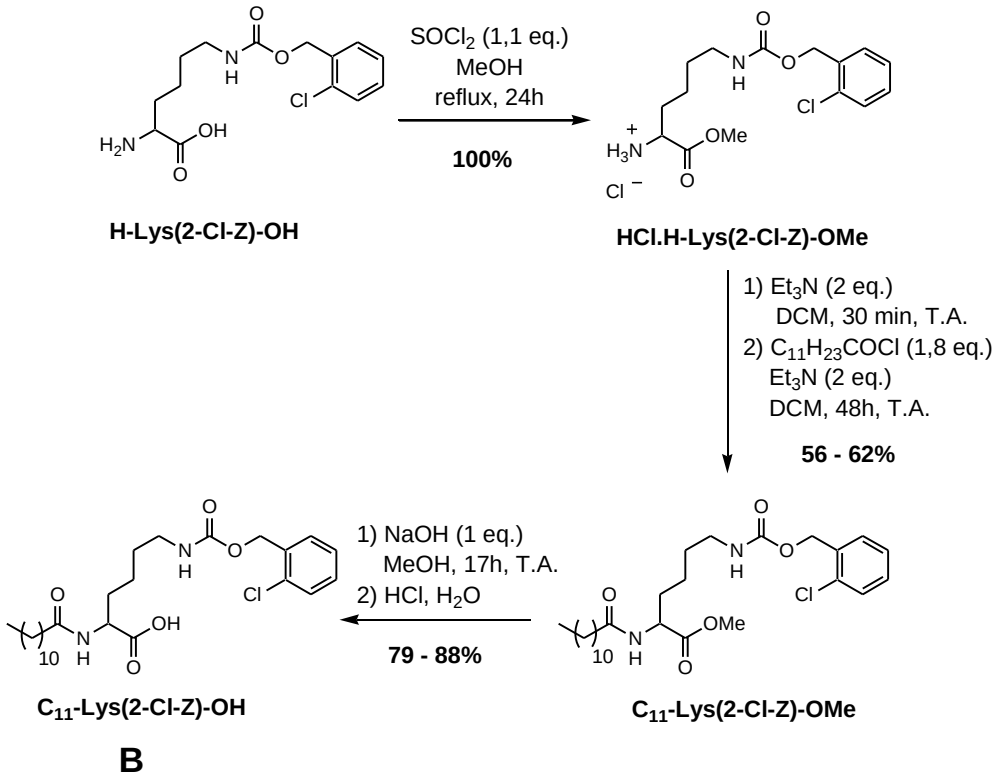
La première consiste à acyler l'amine α avec le chlorure de dodécanoyle pour obtenir l'intermédiaire noté C_{11}-Lys(Z)-OMe. Le produit final **A** est quant à lui obtenu lors de la seconde étape qui est la saponification de l'ester méthylique. Cette synthèse a été effectuée trois fois en partant de 5 g (15,11 mmol) de HCl.H-Lys(Z)-OMe.

Le rendement moyen global de cette synthèse est de 47 % avec des rendements moyens de 62 et 76 % pour la première et la seconde étape respectivement.

II.2.2 Synthèse du composé B (C_{11}-Lys(2-Cl-Z)-OH)

Le groupement Z confère aux molécules la possibilité d'établir entre elles des interactions π-π aromatiques. L'intérêt de la molécule **B** porte précisément sur l'analyse de l'importance de ces interactions et de l'impact d'une modification du noyau aromatique sur le phénomène de gélification.

Pour la synthèse de la molécule **B,** trois étapes de synthèse ont été nécessaires (schéma 2).



B

Schéma 2: Synthèse du gélifiant **B** (**C_{11}-Lys(2-Cl-Z)-OH.)**

Deux des trois étapes sont identiques à celles déjà mises au point pour l'élaboration de l'homologue non halogéné **A**, à savoir les étapes d'acylation de l'amine et de saponification de l'ester. Il est à noter qu'à l'issue de l'étape d'acylation, nous nous sommes affranchis de la recristallisation dans l'hexane. A ces étapes, s'ajoute une étape préliminaire d'estérification de la fonction acide carboxylique qui permet d'introduire un groupe protecteur. En effet, contrairement au cas de la synthèse du gélifiant **A**, le produit de départ commercial n'est pas sous la forme d'ester méthylique. Cette étape a été menée à bien en traitant le composé commercial de départ H-Lys(2-

Cl-Z)-OH par du chlorure de thionyle (1,1 équivalents) à reflux pendant 24 heures dans le méthanol. Après évaporation à sec, l'ester (sous forme de chlorhydrate) est obtenu quantitativement et a été utilisé tel quel, sans autre forme de purification. Comme dans le cas du gélifiant **A**, cette synthèse a été effectuée trois fois en partant de 5 g (15,88 mmol) de H-Lys(2-Cl-Z)-OH. Le rendement moyen global de cette synthèse est de 49 % avec des rendements moyens de 60 et 85 % pour la deuxième et la troisième étape respectivement.

II.2.3 Synthèse du composé C (C_{11}-Lys(Z)-$NHNH_2$).

Le gélifiant **C** diffère de **A** par la nature de l'extrémité *C*-terminale. En effet, une fonction hydrazide va remplacer la fonction acide carboxylique. Ce changement a pour but de modifier les potentialités de formation de liaisons hydrogène.

La première étape de synthèse du gélifiant **C** est strictement la même que celle de **A** (schéma 1). La deuxième consiste à condenser de l'hydrazine sur l'ester méthylique pour obtenir l'hydrazide. Cette réaction est bien connue au laboratoire **[4]**, et elle s'effectue classiquement, en une nuit à température ambiante dans le méthanol en utilisant deux à trois équivalents d'hydrazine monohydratée. Les hydrazides élaborés à partir de leucine ou de phénylalanine précipitent dans le méthanol à l'issue de la réaction et sont simplement isolés après filtration et lavage au méthanol glacé. Or, dans le cas de la lysine, ces conditions se sont révélées inopérantes puisqu'aucune trace d''hydrazide **C** n'a pu être obtenue. Une solution alternative a été trouvée à la suite d'une recherche bibliographique, consistant en l'hydrazinolyse d'esters en présence de méthanolate de sodium **[5]**.

Nous nous sommes donc inspiré de ce travail en faisant réagir l'ester dans le méthanol, avec 2,5 équivalents d'hydrazine monohydratée en présence de 1,1 équivalent de méthanolate de sodium. Le rendement moyen de cette dernière étape est de 36 %. Trois synthèses ont été réalisées pour l'obtention d'une quantité suffisante de molécule **C**.

II.3 Caractérisation des gélifiants par RMN ^{1}H.

II.3.1 Caractérisation du dérivé de lysine A.

Le produit de départ (HCl.H-Lys(Z)-OMe, figure 2), l'intermédiaire réactionnel (C_{11}-Lys(Z)-OMe, figure 3) ainsi que le gélifiant **A** (C_{11}-Lys(Z)-OH, figure 4) ont été caractérisés par RMN du proton. Les spectres ont été enregistrés à 300 MHz en utilisant du $CDCl_3$ comme solvant.

Le spectre de la molécule de départ comporte tous les signaux attendus (figure 2).

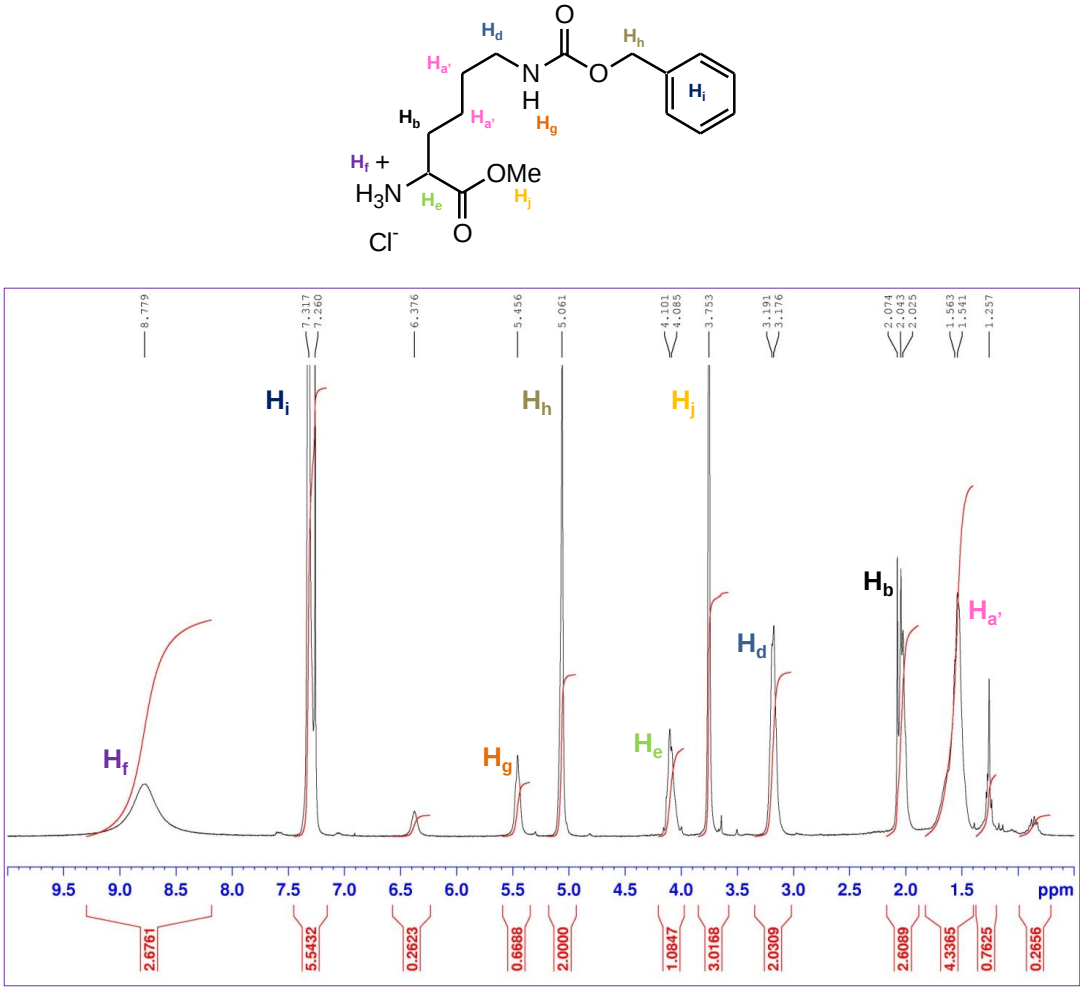


Figure 2 : spectre RMN ^{1}H ($CDCl_3$), enregistré à 300 MHz, de **HCl.H-Lys(Z)-OMe.**

Le signal **Ha'** (4H, 1,54 ppm), **Hb** (2H, 2,04 ppm) **Hd** (2H, 3,17 ppm) **et Hh** (2H, 5,06 ppm) correspondant aux protons des quatre CH_2 de la chaîne latérale de la lysine ainsi que celui en α du phényle; le signal **He** provenant du proton du CH α (1H, 4,08

ppm); le signal du méthyle de l'ester **Hj** (3H, 3,75 ppm) ; le signal du NH de l'uréthane **Hg** (1H, 5,46 ppm) ; le signal des protons du cycle aromatique **Hi** (5H, 7,32 ppm), et finalement le signal du groupe ammonium **Hf** (3H, 8,78 ppm). Le spectre du produit de la réaction d'acylation (C_{11}-Lys(Z)-OMe, figure 3), se différencie de celui du réactif de départ par la disparition du signal de l'ammonium, mais aussi par l'apparition d'un doublet à 6,02 ppm correspondant au NH de la fonction amide. De plus, les signaux de la chaîne alkyle sont également présents entre 0,5 et 2,5 ppm et se superposent à ceux de la chaîne latérale de la lysine.

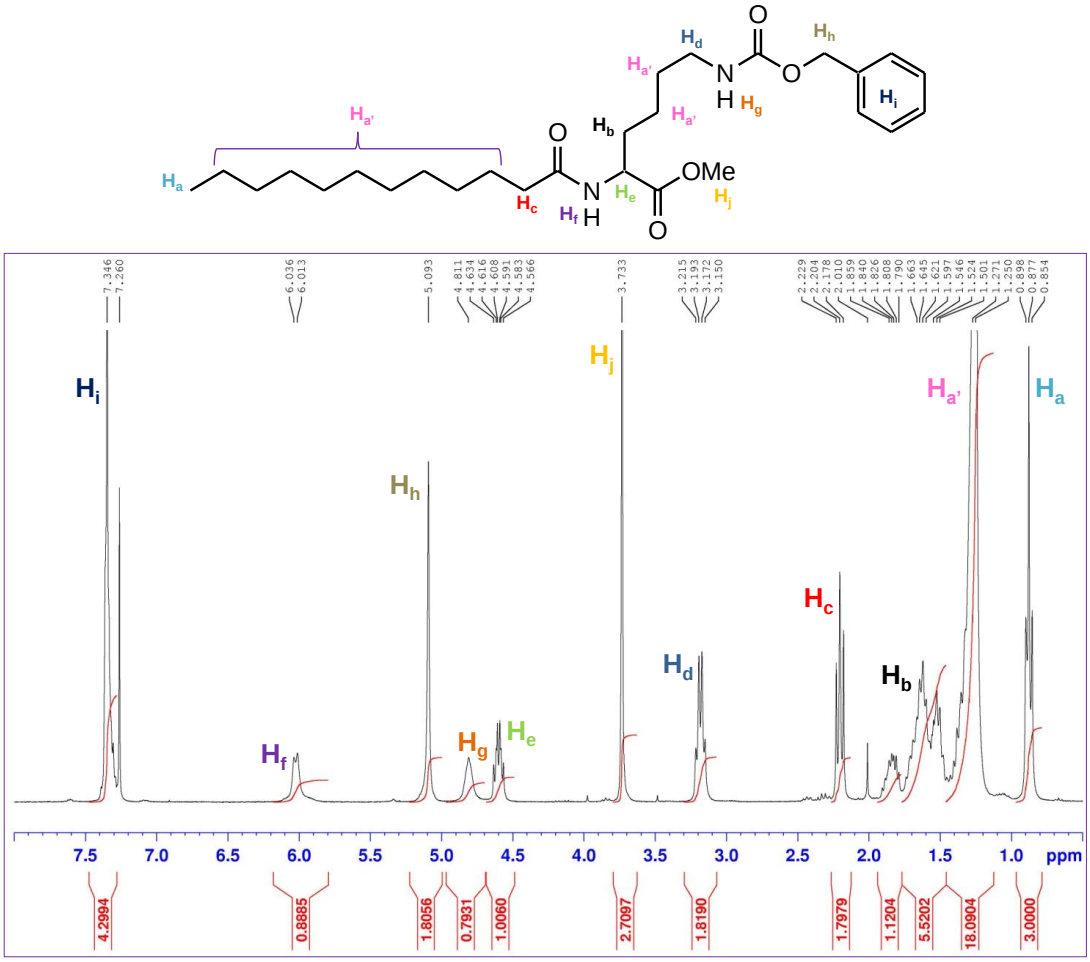


Figure 3 : spectre RMN ^{1}H ($CDCl_3$), enregistré à 300MHz, de **C_{11}-Lys(Z)-OMe**

Après l'introduction de la chaîne alkyle, nous cherchons à mettre en évidence la transformation de l'ester en acide. Dans les spectres des esters (figures 2 et 3) nous observons le singulet correspondant aux trois hydrogènes du méthyle vers 3,7 ppm. Ce pic est absent du spectre de la molécule finale (ellipse violette, figure 4), ce qui confirme la transformation totale de l'ester en acide carboxylique. Aucun signal, qui

pourrait corresponde au proton de la fonction acide carboxylique, n'est observé au delà de 7,5 ppm. Ce phénomène n'est pas surprenant du fait du caractère échangeable de cet hydrogène.

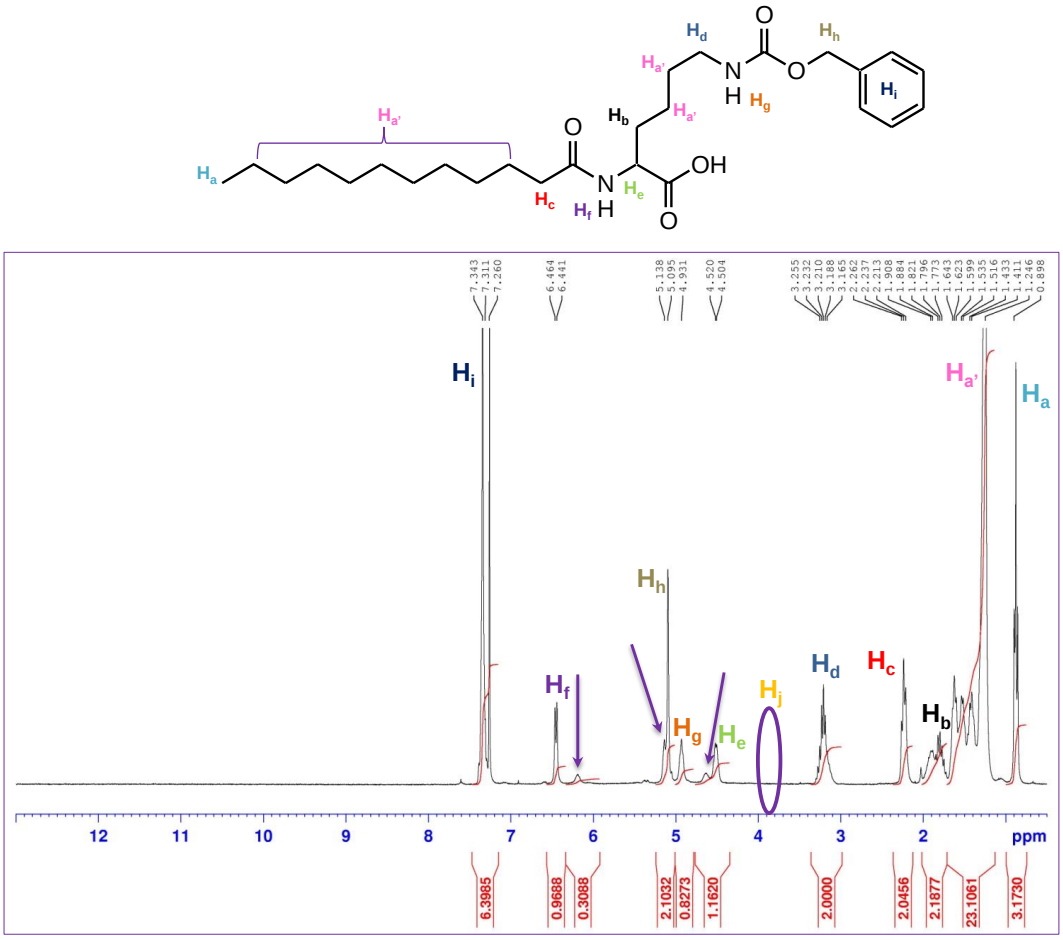


Figure 4 : spectre RMN ^{1}H ($CDCl_3$), enregistré à 300 MHz du gélifiant : **C_{11}-Lys(Z)-OH.**

Par contre, nous observons dans la zone entre 4 et 7 ppm, trois signaux supplémentaires. Le premier, à gauche du pic de **He** (le CH α = CHe), se situe à 4,63 ppm. Le second, qui recouvre en partie le signal de **Hh** est à 5,14 ppm. Enfin, le dernier, proche du signal de **Hf** est à 6,19 ppm (figure 4, flèches violettes). Ces signaux pourraient provenir d'un dédoublement partiel du spectre qui concerne les deux NH et le CH α. Afin de vérifier si certains de ces signaux supplémentaires provenaient des NH (amide et uréthane), qui sont des H échangeables, nous avons ajouté dans les tubes RMN deux gouttes de D_2O. Ceci a provoqué la disparition des signaux supplémentaire à 5,14 et 6,19 ppm, ainsi qu'une diminution considérable de l'intensité

des signaux principaux NH de l'amide et de l'uréthane à 6,45 et 4,93 ppm. Pour ce qui est du troisième signal supplémentaire, situé à 4,63 ppm, nous ne pouvons rien conclure. En effet, le pic de l'eau résiduelle, situé à 4,69 ppm, masque complètement cette zone. Par ailleurs, pour pouvoir évaluer si la présence des ces signaux pouvait être corrélée à l'établissement de liaison hydrogène, nous avons enregistré un spectre de la molécule dans le DMSO-d_6, qui est un solvant très polaire et fortement accepteur de liaisons hydrogène (figure 5).

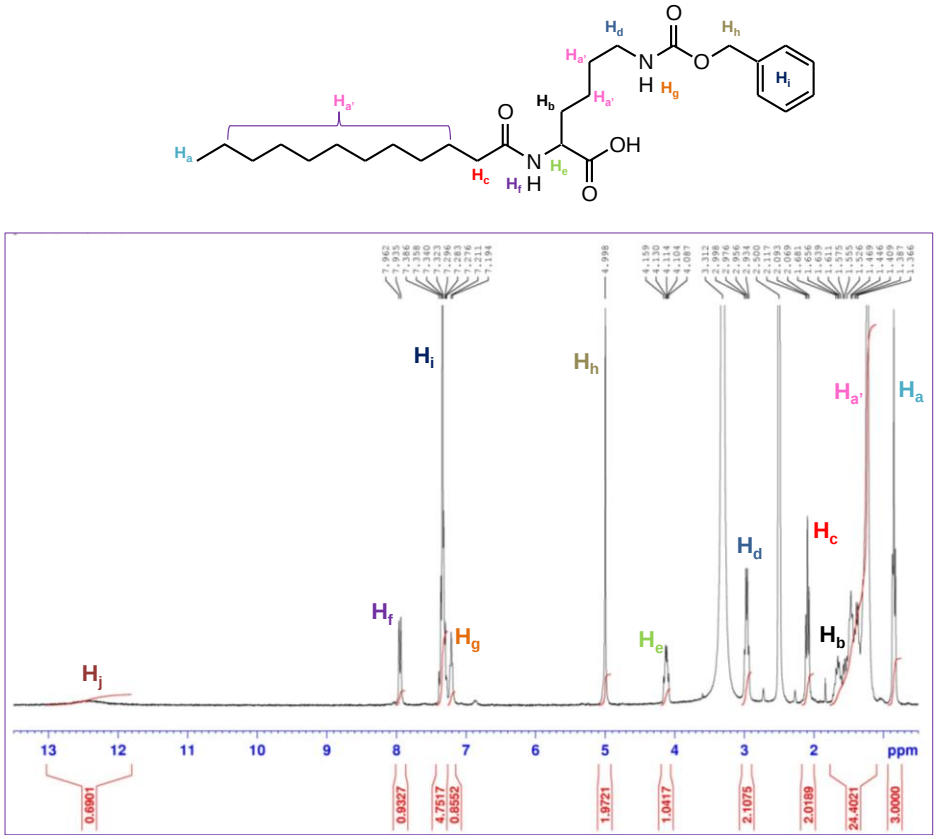


Figure 5 : spectre RMN ^{1}H (DMSO-d_6), enregistré à 300 MHz du gélifiant : **C_{11}-Lys(Z)-OH.**

Alors que nous retrouvons tous les pics caractéristiques de la molécule, les signaux supplémentaires observés dans le $CDCl_3$ n'apparaissent pas dans le spectre enregistré dans le DMSO-d_6. Nous pouvons donc émettre l'hypothèse que, dans le $CDCl_3$, il y a coexistence de plusieurs conformères en solution. En effet, contrairement à la fonction ester qui n'est qu'acceptrice de liaison hydrogène, la fonction acide carboxylique est également donneuse de liaison hydrogène. Cela permet de générer d'une liaison hydrogène supplémentaire entre l'hydroxyle et le carbonyle de l'uréthane.

Par ailleurs nous pouvons confirmer l'attribution des pics amide, uréthane et acide carboxylique à 7,95, 7,20 et 12,45 ppm respectivement, en ajoutant quelques gouttes de D_2O dans le tube RMN. Normalement avec le D_2O, les protons échangeables comme ceux de l'amide et l'uréthane doivent disparaitre, ce qui nous permettra de nous conforter dans l'attribution correcte des signaux. La figure 6 montres le spectre de la molécule **A** dans le DMSO-d_6 après ajout des deux gouttes de D_2O.

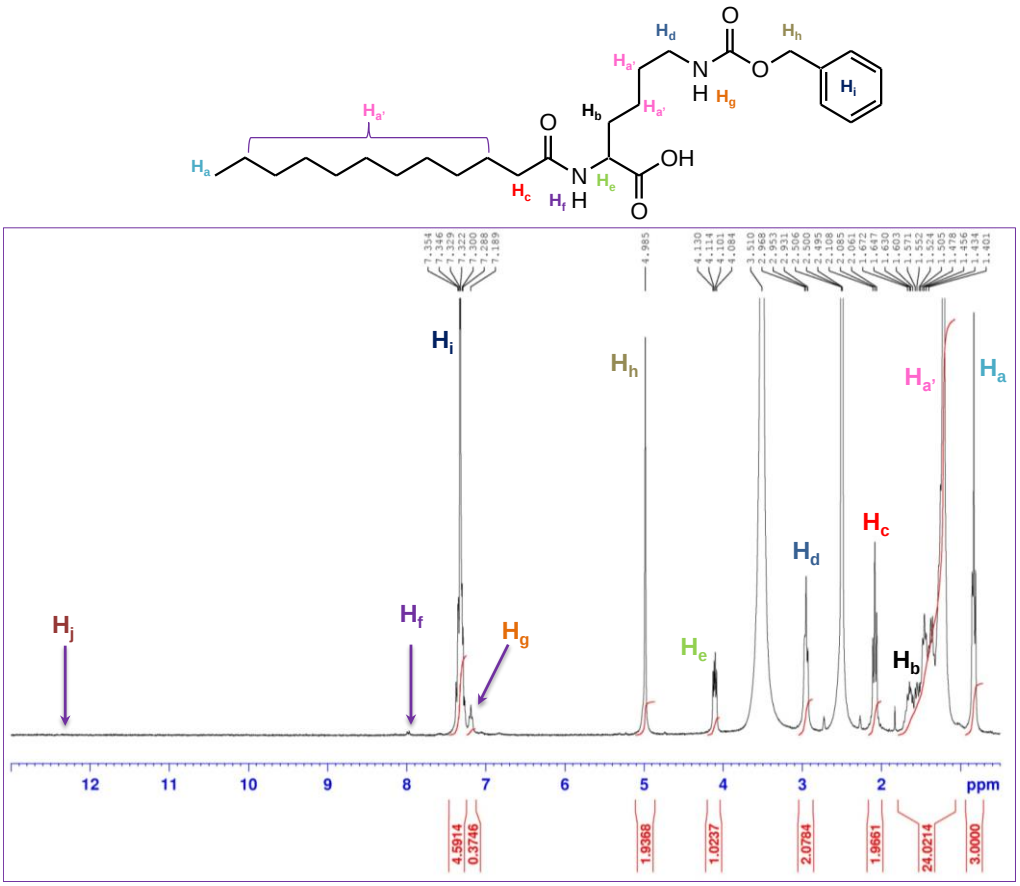


Figure 6 : spectre RMN (DMSO-d_6), enregistré à 300 MHz du gélifiant : **C_{11}-Lys(Z)-OH** en avec 2 gouttes de D_2O. Evaluation de la disparition des bandes amides, uréthane et acide carboxylique.

Le Tableau 1 rassemble toutes les données RMN ^1H enregistrées pour le réactif de départ, l'intermédiaire réactionnel et le gélifiant **A** dans le $CDCl_3$.

Tableau 1 **:** Déplacements chimiques et intégrations, correspondant aux différentes molécules utilisées pendant la synthèse du gélifiant **A** (RMN ^{1}H, $CDCl_3$).

PRODUIT / H	H-Lys(Z)-OMe.HCl Déplacement chimique en ppm (Intégration obtenue ; attendue)	C_{11}-NH-Lys(Z)-OMe Déplacement chimique en ppm (Intégration obtenue ; attendue)	C_{11}-Lys(Z)-OH Déplacement chimique en ppm (Intégration obtenue ; attendue)
Ha	-	0,87 (3,0 ; 3)	0,87 (3,2 ; 3)
Ha'	1,54 (4,3 ; 4)	1,25 - 1,66 (23,6 ; 23)	1,24-1,64 (23,1 ; 23)
Hb	2,04 (2,6 ; 2)	1,79 (1,1*; 2)	1,79 (2,2 ; 2)
Hc	-	2,20(1,8 ; 2)	2,23 (2,0 ; 2)
Hd	3,17 (2,0 ; 2)	3,15 (1,8 ; 2)	3,21 (2,0 ; 2)
Hj	3,75 (3,0 ; 3)	3,73 (2,7 ; 3)	-
He	4,08 (1,1 ; 1)	4,59 (1,0 ; 1)	4,50 (1,2 ; 1)
Hh	5,06 (2,0 ; 2)	5,09 (1,8 ; 2)	5,09 (2,1 ; 2)
Hg	5,45 (0,7 ; 1)	4,81(0,8 ; 1)	4,93 (0,8 ; 1)
Hi	7,32 (5)	7,26 (4,3 ; 5)	7,26 (5,0 ; 5)
Hf	8,77 (2,7 ; 3)	6,01 (0,9 ; 1)	6,44 (1,0 ; 1)

(*) Nous observons une intégration très faible, ça peut être dû au effet que les protons **Hb** sont superposés aux protons **Ha'**.

II.3.2 Caractérisation du dérivé de lysine B par RMN ^{1}H.

Tout comme pour la molécule **A** nous avons rassemblé les résultats RMN (tableau 2) afin d'observer les différents changements au cours de la synthèse. Nous retrouvons donc, les *déplacements* chimiques correspondant au produit obtenu après l'estérification pour obtenir **H-Lys(2-Cl-Z)-OMe**, réaction qui nous a servi à protéger l'extrémité *C*-terminale de la lysine. Il est donc possible d'observer à 3,760 ppm le signal **Hj** caractéristique du méthyle de l'ester formé.

La deuxième colonne rassemble tous les déplacements chimiques observés après le greffage de la chaîne alkyle. Nous observons donc : l'apparition des protons aliphatiques **Ha** (CH_3), **Ha'** (CH_2) et **Hc** (CH_2 en □ de l'amide) ; et l'apparition du pic correspondant à la fonction amide **Hf**.

La troisième colonne rassemble les données obtenues pour le produit final. Cette colonne met en évidence la disparition du pic correspondant à l'ester **Hj**.

Tableau 2 : Déplacements chimiques et intégrations, correspondant aux différentes molécules utilisées pendant la synthèse du gélifiant **B** (RMN ^{1}H, $CDCl_3$).

PRODUIT / H	**H-Lys(2-Cl-Z)-OMe** Déplacement chimique en ppm (Intégration obtenue ; attendue)	**C_{11}-Lys(2-Cl-Z)-OMe** Déplacement chimique en ppm (Intégration obtenue ; attendue)	**C_{11}-Lys(2-Cl-Z)-OH** Déplacement chimique en ppm (Intégration obtenue ; attendue)
Ha	**-**	**0,85 (3,3 ; 3)**	**0,85 (3,0 ; 3)**
Ha'	**1,54 (4,0 ; 4)**	**1,25 - 1,65 (26,3 ; 26)**	**1,24-1,87 (*)**
Hb	**2,04 (2,1 ; 2)**	**1,85 (1,1 ; 2)**	**1,87 (*)**
Hc	**-**	**2,21 (2,1 ; 2)**	**2,20 (2,1 ; 2)**
Hd	**3,19 (2,2 ; 2)**	**3,21 (2,0 ; 2)**	**3,19 (2,0 ; 2)**
Hj	**3,77 (2,9 ; 2)**	**3.74 (3,0 ; 3)**	**-**
He	**4,14 (1,0 ; 1)**	**4,61 (1,1 ; 1)**	**4,45 (1,2 ; 1)**
Hh	**5,16 (2,0 ; 2)**	**5,21 (2)**	**5,19 (*)**
Hg	**-**	**4,87 (1)**	**5,16 (*)**
Hi	**7,32 (4,3 ; 4)**	**7,38 (4,7 ; 4)**	**7,36 (4,5 ; 4)**
Hf	**8,67 (2,9 ; 2)**	**6,01 (0,9 ; 1)**	**6,61 (0,9 ; 1)**

(*) Nous ne donnons pas les valeurs des intégrations car il existe une superposition des pics dans cette zone-ci

Les figures 7, 8, et 9 représentent les trois molécules ainsi que les attributions des signaux.

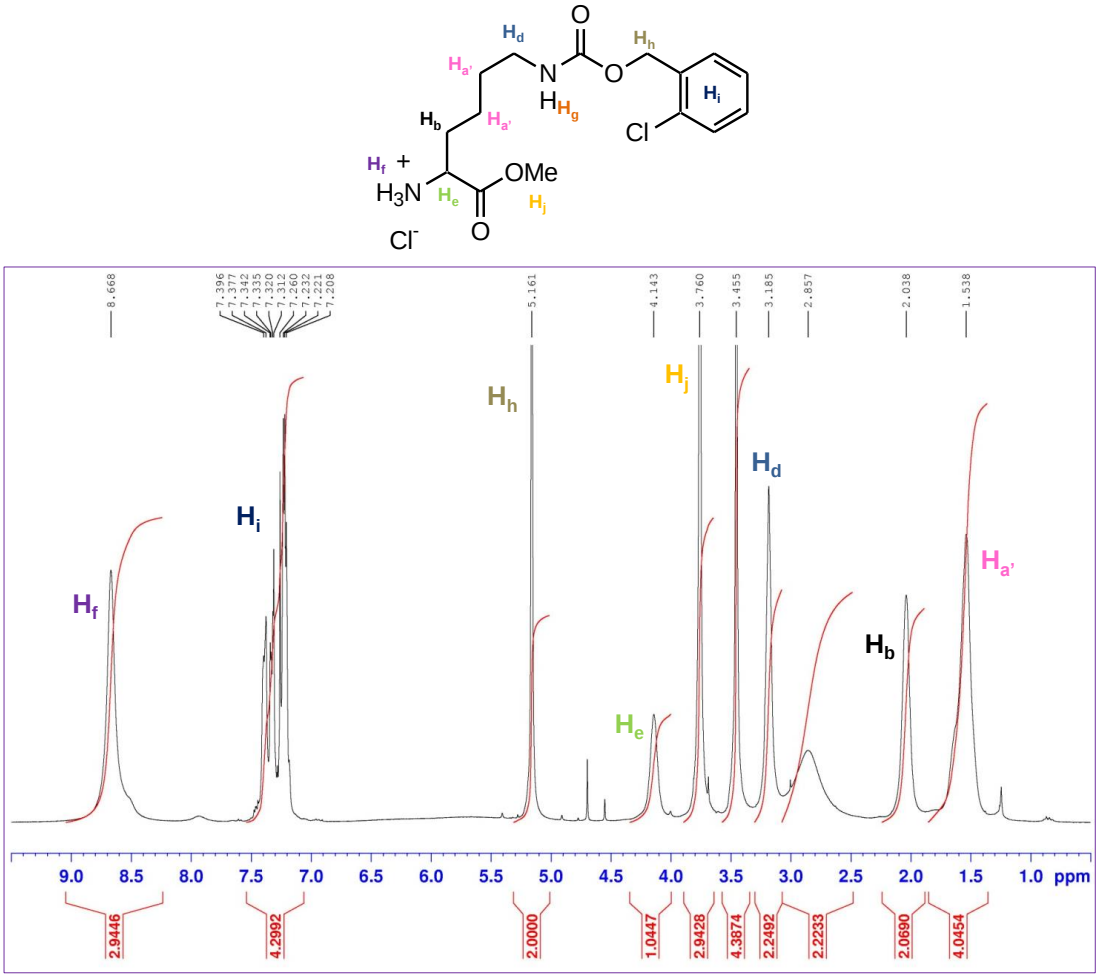


Figure 7 : spectre RMN ^{1}H ($CDCl_3$), enregistré à 300 MHz de **HCl.H-Lys(2-Cl-Z)OMe**

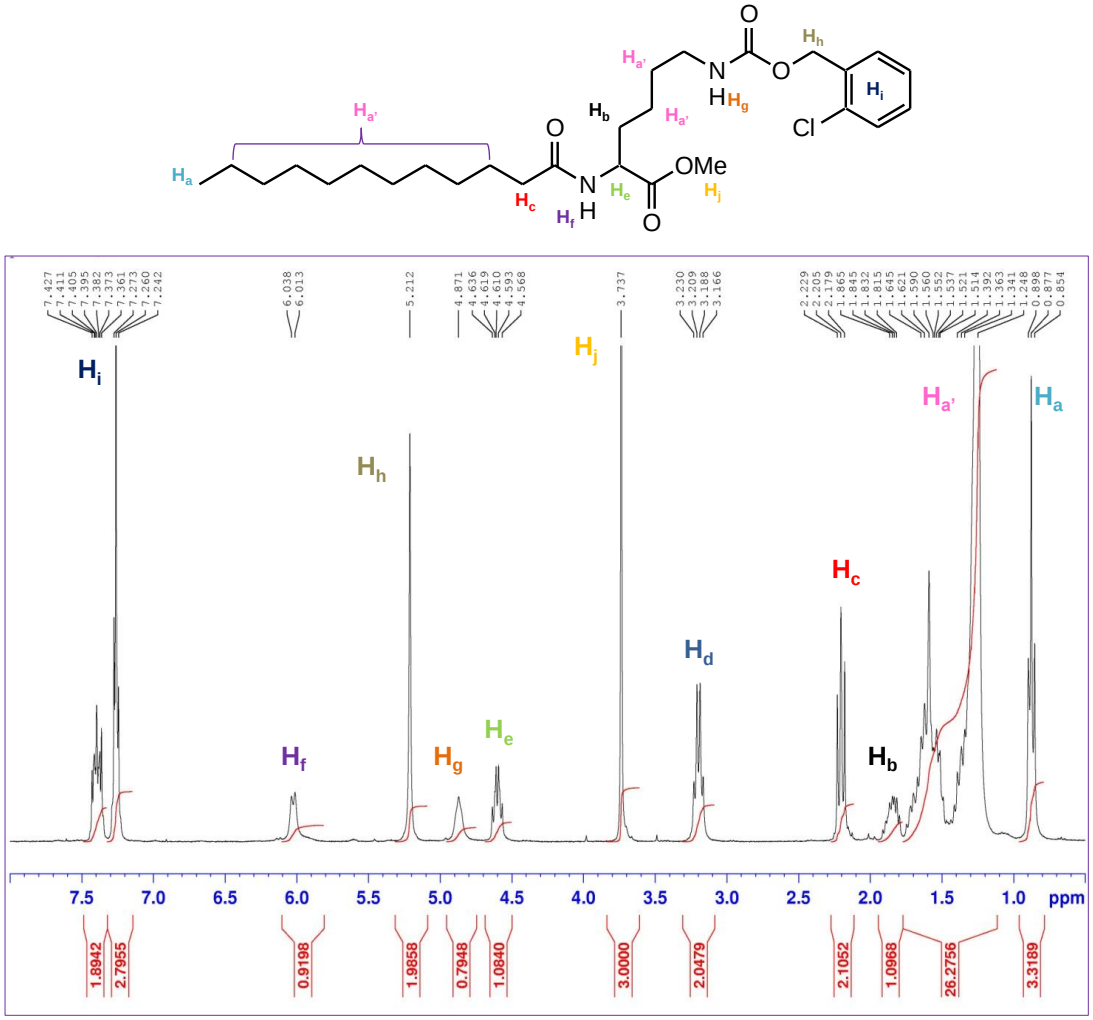


Figure 8 : spectre RMN ^{1}H ($CDCl_3$), enregistré à 300 MHz de **C_{11}-Lys(2-Cl-Z)-OMe**.

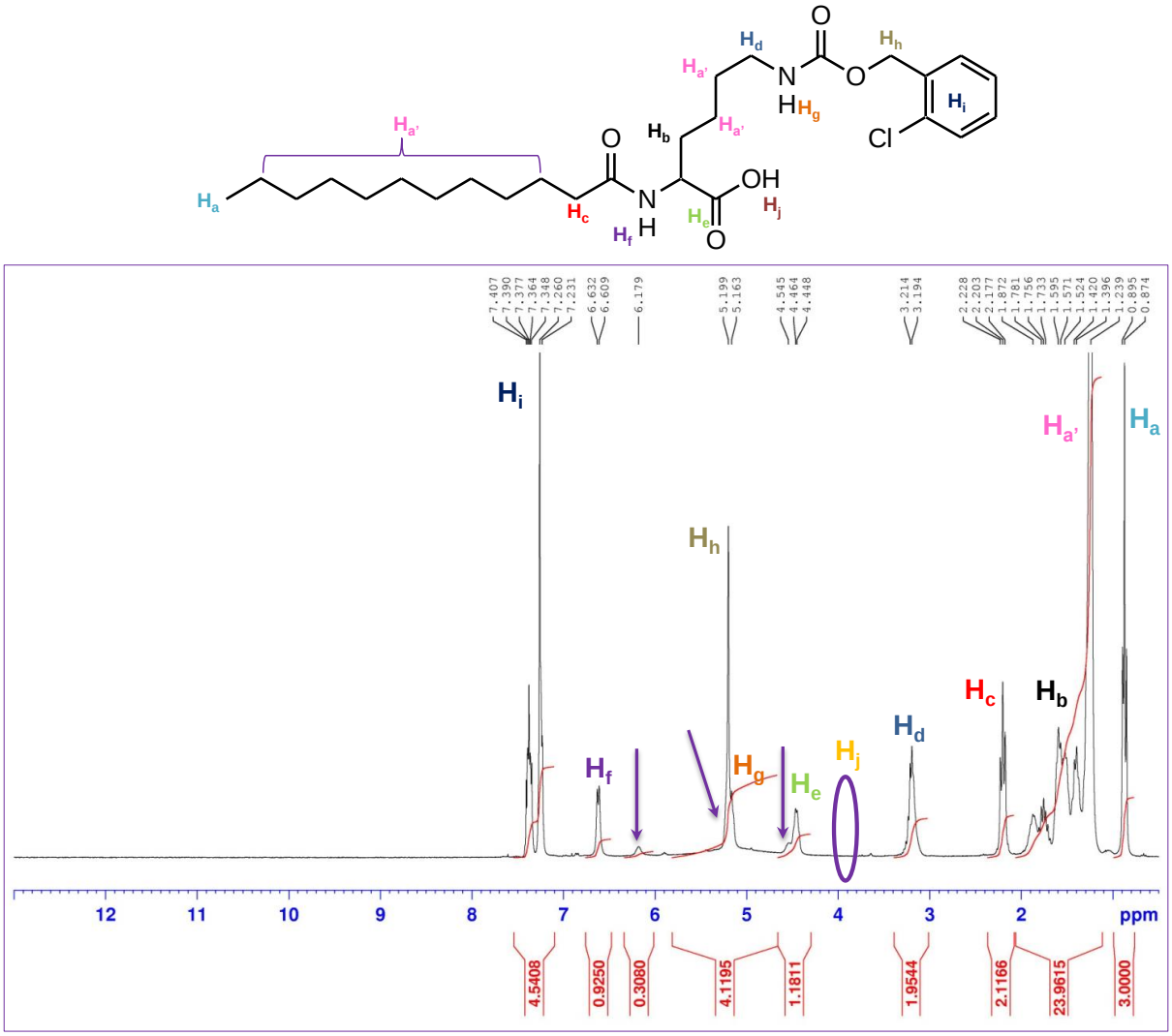


Figure 9: spectre RMN ^{1}H ($CDCl_3$), enregistré à 300 MHz du gélifiant **C_{11}-Lys(2-Cl-Z)-OH**.

Comme dans le cas du gélifiant **A**, le spectre RMN dans le $CDCl_3$ présente trois signaux supplémentaires de faibles intensités. Les deux premiers à 4,54 et 6,18 ppm sont bien visibles, car isolés d'autres signaux, alors que le troisième vers 5,2 ppm se trouve confondu avec les signaux de **Hh** et **Hg**, expliquant ainsi une intégration à 4,12 pour trois protons (flèches violettes, figure 9). Ces derniers ne sont pas présents dans le spectre lorsque l'échantillon est solubilisé dans le DMSO-d_6. Par ailleurs nous pouvons observer la superposition de la bande **Hg** et **Hi** dans le DMSO-d_6 (bande qui intègre pour 4,73). En ajoutant 2 gouttes de D_2O nous observons la disparition de **Hf** et de **Hg**, ce dernier est confirmé grâce à l'intégration qui est passée de 4,73 à 4,09 après l'ajout de D_2O.

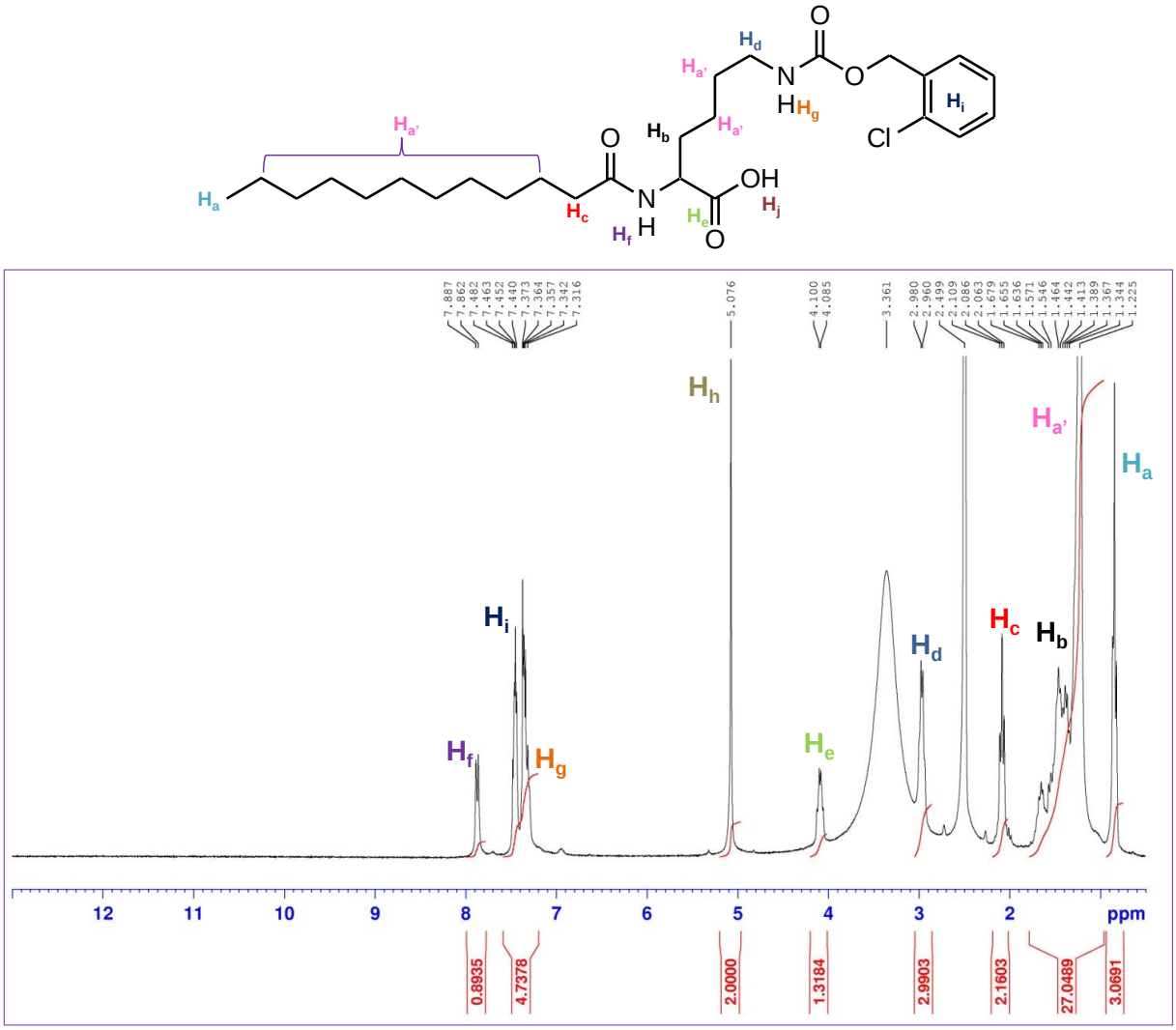


Figure 10 : spectre RMN ^{1}H (DMSO-d_6), enregistré à 300 MHz du gélifiant **C_{11}-Lys(2-Cl-Z)-OH**

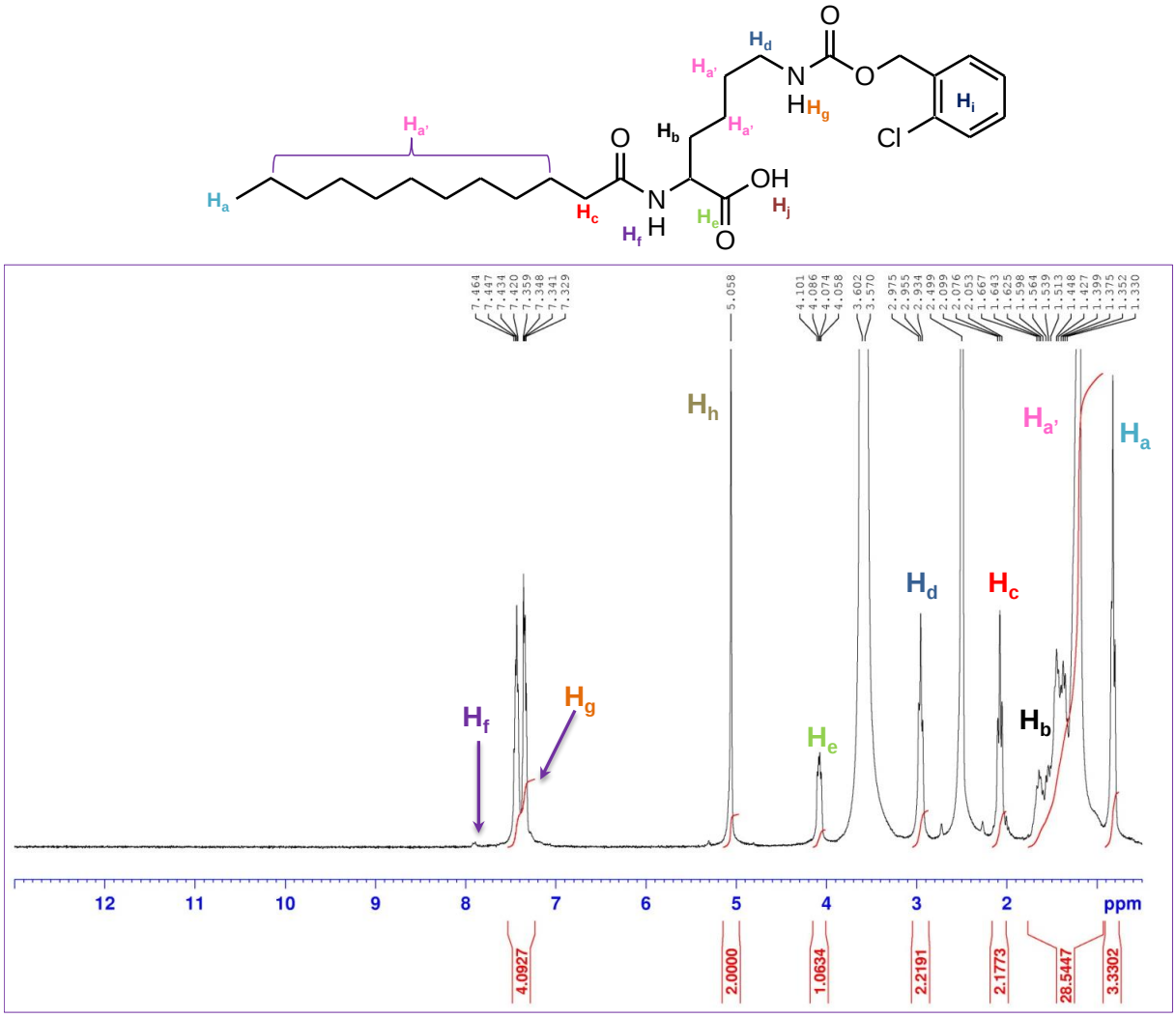


Figure 11 : spectre RMN (DMSO-d_6), enregistré à 300 MHz du gélifiant : **C_{11}-Lys(2-Cl-Z)-OH** avec 2 gouttes de D_2O.

En examinant attentivement les spectres de **A** et de **B**, nous pouvons constater que l'atome de chlore a un impact sur le déplacement chimique et la multiplicité de certains signaux. En effet, si nous superposons les spectres enregistrés dans le $CDCl_3$ des gélifiants **A** et **B**, (figure 12) nous pouvons voir que quatre groupes de protons sont affectés par la présence de l'halogène. De façon assez évidente, et de part leur proximité structurelle avec le chlore, les signaux de l'aromatique, du CH_2 du groupement Z ainsi que le NH de l'uréthane sont modifiés. Les deux premiers sont légèrement déblindés ($\Delta\delta$ = +0,1 ppm) et celui de l'uréthane l'est encore plus ($\Delta\delta$ = +0,23 ppm). Cette différence pourrait s'expliquer par la formation d'une liaison

hydrogène entre le Cl et le NH de l'uréthane. Les autres signaux affectés par la présence du chlore sont celui du NH de l'amide (H_f) ainsi que celui du CHα (H_e). Le doublet correspondant au premier est également déblindé, mais toutefois un peu moins que celui de l'uréthane ($\Delta\delta$ = +0,17 ppm). Enfin, le signal du proton H_e du carbone α voit sa valeur diminuer de 0,05 ppm. En se fondant sur la formule semi-développée de la molécule, la fonction amide ainsi que le carbone adjacent semblent *a priori* éloignés du chlore. Ce résultat laisserait donc à penser que le NH de la fonction amide serait impliqué dans une liaison hydrogène avec le carbonyle de la fonction uréthane.

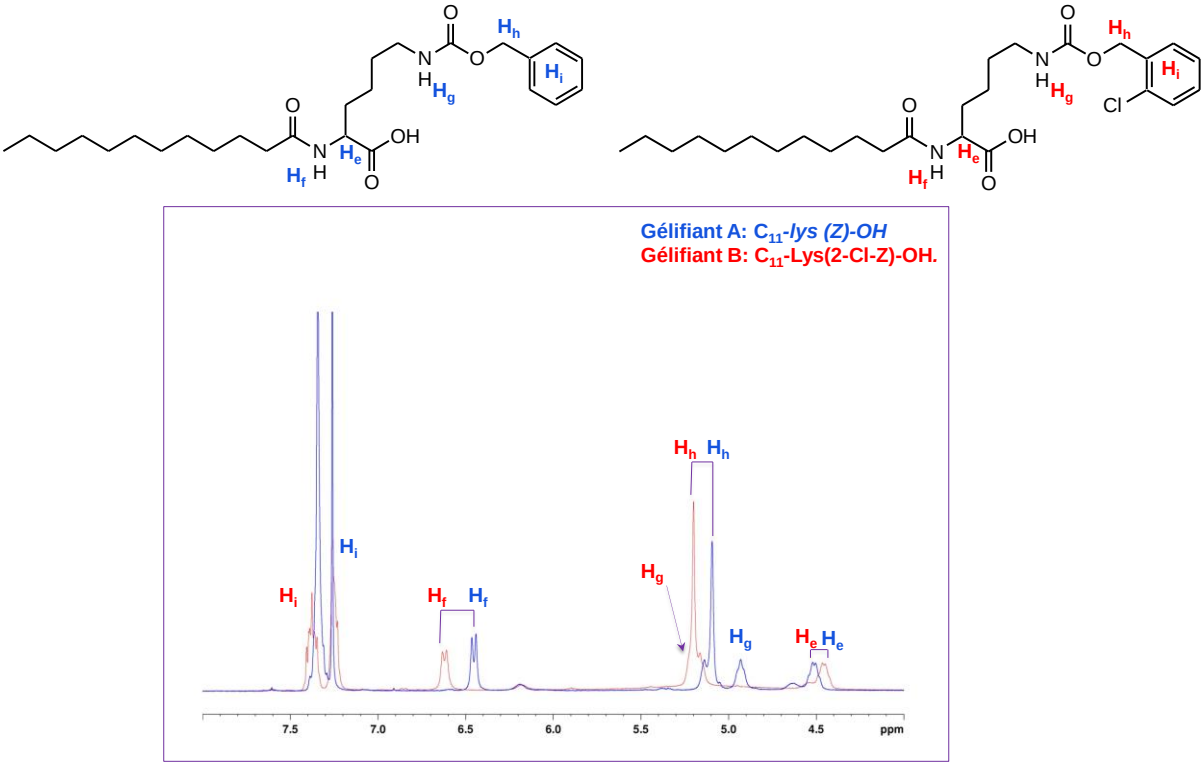


Figure 12 *:* Comparaison des spectres RMN ^{1}H ($CDCl_3$) de la molécule A *:* C_{11}-Lys (Z)-OH et de la molécule B : C_{11}-Lys(2-Cl-Z)-OH*.*

Les résultats montrent seulement la zone entre 4 et 8 ppm. Dans le tableau 3 nous regroupons toute l'information provenant du spectre entier.

Tableau 3 **:** Différences () entre les déplacements chimiques en RMN ^{1}H ($CDCl_3$) pour **C_{11}-Lys (Z)-OH** et **C_{11}-Lys(2-Cl-Z)-OH.**

C_{11}-lys (Z)-OH		C_{11}-Lys(2-Cl-Z)-OH	
Proton	**Déplacement chimique (ppm)**	**Déplacement chimique (ppm)**	□□
Ha	**0,87**	**0,85**	**-0,02**
Ha'	**1,24-1,64**	**1,24-1,87**	**+0,08**
Hb	**1,79**	**1,87**	**+0,08**
Hc	**2,23**	**2,2**	**+0,03**
Hd	**3,21**	**3,19**	**-0,02**
He	**4,5**	**4,45**	**-0,05**
Hh	**5,09**	**5,19**	**+0,1**
Hg	**4,93**	**5,16**	**+0,23**
Hi	**7,26**	**7,36**	**+0,1**
Hf	**6,44**	**6,61**	**+0,17**

II.3.3 Caractérisation du dérivé de lysine C par RMN ^{1}H.

Comme dans le cas du gélifiant **A** (C_{11}-Lys(Z)-OH), lors de la synthèse de l'hydrazide **C**, nous avons pu observer la disparition du signal à 3;74 ppm associé au méthyle de l'ester (figure 13). Par ailleurs, deux nouveaux signaux, assez larges, sont observés à 3,87 (2H) et 7,52 ppm (1H). Ils correspondent respectivement au NH_2 et au NH de la fonction hydrazide. Les déplacements chimiques de ce gélifiant, ainsi que ceux du précurseur C_{11}-Lys(Z)-OMe sont reportés dans le tableau 4. Tous les signaux attendus ont été observé au cours de la synthèse du gélifiant **C**.

Nous observons aussi dans le spectre RMN dans le $CDCl_3$ (tout comme pour **A** et **B**) trois signaux supplémentaires de faibles intensités (flèches violette, figure 13) à 4,8, 5,0 et à 5,4 ppm. Lorsque l'échantillon est solubilisé dans le DMSO-d_6, ces signaux ne sont plus présents dans le spectre, ce qui tend à confirmer la coexistence de plusieurs conformères dans le $CDCl_3$. Finalement si nous ajoutons 2 gouttes de D_2O nous observons la disparition de **Hf**, **Hg**, **Hk** et **Hl**.

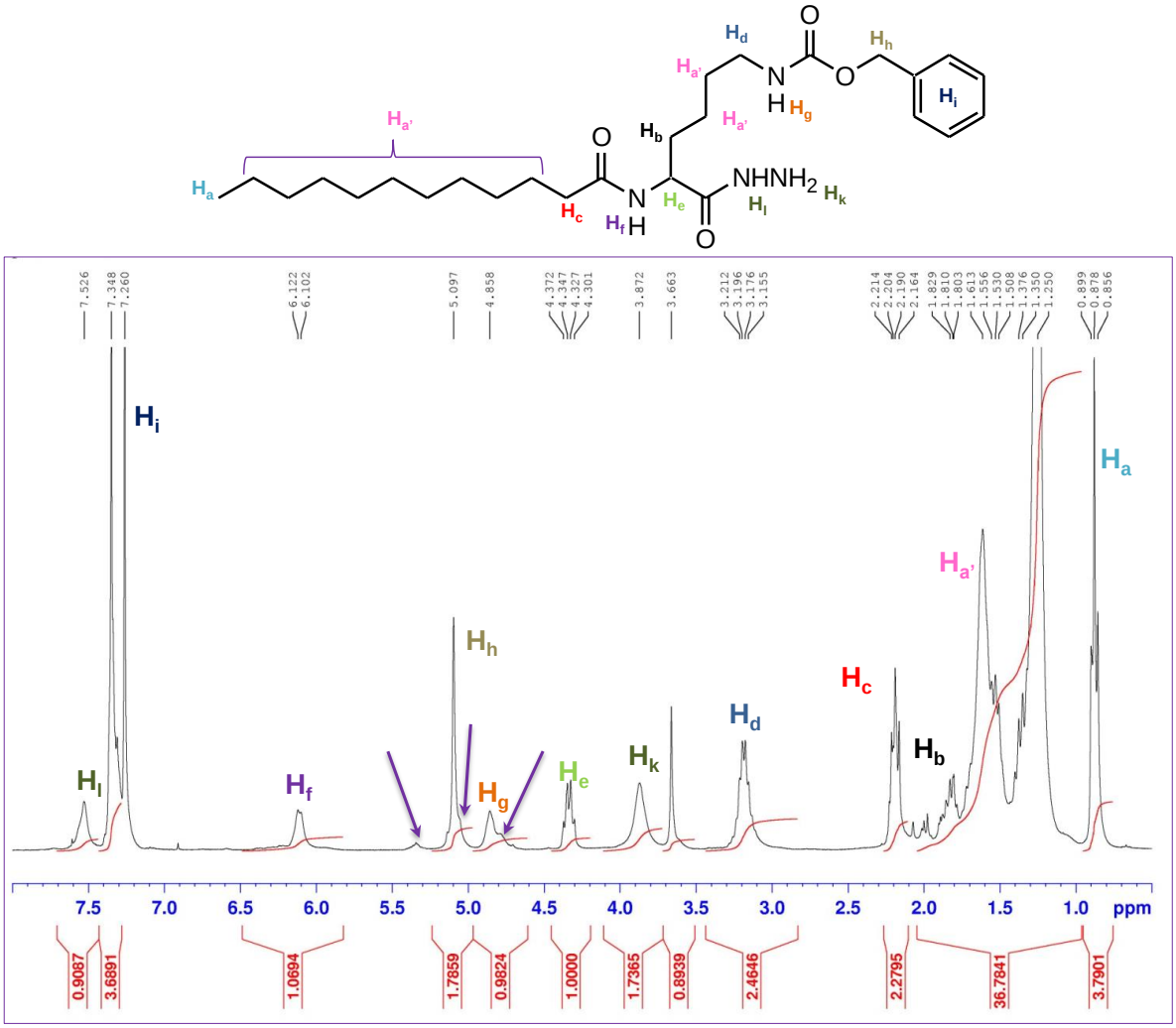


Figure 13 : Spectre RMN ^{1}H ($CDCl_3$) enregistré à 300 MHz du gélifiant C: **C_{11}-Lys(Z)-$NHNH_2$**.

Tableau 4 : déplacements chimiques en RMN ^{1}H ($CDCl_3$), et intégrations correspondant aux molécules intermédiaire et finale de la synthèse de la molécule **C**.

PRODUIT / H	**C_{11}-NH-Lys(Z)OMe** Déplacement chimique en ppm (Intégration obtenue ; attendue)	**C_{11}-NH-Lys(Z)NHNH$_2$** Déplacement chimique en ppm (Intégration obtenue ; attendue)
Ha	**0,88 (3 ; 3)**	**0.88 (3 ; 3)**
Ha'	**1,25 - 1,65 (28 ; 23)**	**1,25-1,61 (* ; 23)**
Hb	**1,83 (* ; 2)**	**1.81 (*; 2)**
Hc	**2,21(2; 2)**	**2.21 (2; 2)**
Hd	**3,17(2; 2)**	**3.19 (2; 2)**
Hj	**3.74 (3; 3)**	**-**
He	**4.59 (1; 1)**	**4,37 (1; 1)**
Hh	**5,09 (2; 2)**	**5,09 (2; 2)**
Hg	**4,79 (1; 1)**	**4,86 (1; 1)**
Hi	**7,35 (4; 5)**	**7.35 (4; 5)**
Hf	**6.02 (1; 1)**	**6,12 (1; 1)**
Hk	**-**	**7.53 (1; 1)**
Hl	**-**	**3,87 (2; 2)**

(*) Nous ne montrons pas les valeurs des intégrations car il existe une superposition des pics dans cette zone-ci

II.4 Caractérisation des gélifiants par spectroscopie IR-TF.

Toutes les molécules impliquées dans la synthèse (réactifs de départ, intermédiaires réactionnels, et produits finaux) des trois gélifiants ont été caractérisées en utilisant l'IR-TF. Les spectres ont été enregistrés aussi bien à l'état solide, en réflectance totale atténuée (diamant ou germanium), qu'à l'état liquide dans le DMSO en transmission (cellule CaF_2, 500µm). Nous nous intéressons particulièrement à trois zones des spectres :

1. La zone de vibration d'élongation des liaisons N-H et O-H (ν_{XH}) entre 3100 et 3500 cm^{-1}. Dans le cas de fonctions amides, ces bandes sont également appelées bandes amide A. Il est à noter que, lorsque les spectres sont enregistrés en solution dans le DMSO, une seule et même enveloppe spectrale peut être observée et ce, quelle que soit la molécule étudiée. En

effet, si le DMSO est suffisamment accepteur de liaison hydrogène nous n'observerons qu'un seul profil de vibrateur correspondant à l'interaction entre les NH et le solvant.

2. La zone des vibrations d'élongation des liaisons C-H aliphatiques et aromatiques (ν_{CH}) entre 2800 et 3000 cm^{-1}. Cette zone ne peut être exploitée correctement lorsque les spectres sont enregistrés en solution dans le DMSO. En effet, les vibrations d'élongation des méthyles du solvant se superposent à celles des CH_2 et CH_3 des molécules étudiées. Il est toutefois possible de contourner ce problème en utilisant du DMSO-d_6. Dans ce cas, le spectre du solvant est décalé vers des fréquences plus élevées et ne se superpose plus au spectre de la molécule étudiée.
3. La zone de vibration d'élongation des carbonyles (ν_{CO}) située entre 1600 et 1800 cm^{-1}. Dans le cas de fonctions amide, ces bandes sont également appelées bandes amide I. Lorsque les carbonyles sont impliqués dans des liaisons hydrogène, un abaissement de fréquence est observé, allant de 10 à 50 cm^{-1} selon le cas. Plus l'interaction est forte, plus la diminution de fréquence est importante. Ce phénomène concerne aussi bien un repliement en solution, que l'état solide condensé ou encore le réseau tridimensionnel du gel. A des fréquences un peu plus basses (entre 1500 et 1600 cm^{-1}) nous trouvons les bandes amide II qui correspondent aux vibrations de déformations des NH (δ_{NH}). Ces dernières sont assez peu étudiées car elles sont plus difficiles à attribuer.

Cas des esters:

Les deux précurseurs des gélifiants **A**, **B** et **C**, à savoir C_{11}-Lys(Z)-OMe et C_{11}-Lys(2-Cl-Z)-OMe, présentent de grandes similitudes spectrales lorsqu'ils sont en solution dans le DMSO (figure 14, gauche). En effet, les vibrations d'élongation des carbonyles associés à l'ester et à l'amide se situent exactement à la même fréquence: 1740 et 1667 cm^{-1} respectivement. C'est par ailleurs également le cas des vibrations de déformation des NH qui se situent à 1541 cm^{-1} dans les deux cas. La présence du chlore ne provoque qu'une légère modification de fréquence de la bande uréthane qui augmente de 3 cm^{-1} lorsque le chlore est ajouté (1717 cm^{-1} pour le dérivé halogéné et

1714 cm^{-1} pour le non chloré). Des spectres dans le DMSO-d_6 à 10 mM ont été enregistrés afin de pourvoir examiner les vibrations d'élongation des CH_2 des chaînes alkyles (figure 14, droite). Nous pouvons relever pour les deux esters des valeurs de 2928 cm^{-1} (ν_{as} CH_2) et 2856 cm^{-1} (ν_s CH_2). Ces valeurs sont cohérentes avec celles rapportées dans la littérature pour des chaînes alkyles solvatées, c'est à dire désordonnées **[6]**. Il est à noter que la présence du chlore ne modifie en rien les fréquences de vibration des CH.

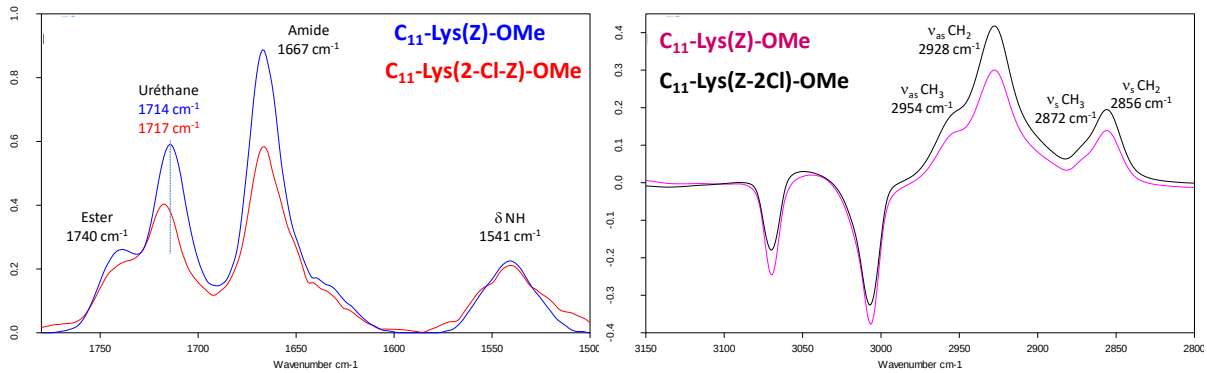


Figure 14: Superposition des spectres de C_{11}-Lys(Z)-OMe et C_{11}-Lys(2-Cl-Z)-OMe. **Gauche**: zone des vibrations d'élongation des carbonyles (ν_{CO}) et vibration de déformation des NH (δ_{NH}) à 10 mM dans le DMSO. **Droite**: zone des vibrations d'élongation des CH (ν_{CH}) à 10 mM dans le DMSO-d_6.

A l'état solide, les deux esters présentent des dédoublements des trois vibrateurs associés aux carbonyles (ester, uréthane et amide). Ces dédoublements, selon la bande et la molécule considérée, sont plus ou moins marqués et vont du simple épaulement à une séparation bien distincte des signaux (figure 15). Dans les deux cas, l'ester donne deux bandes relativement séparées à 1744 et 1734-1733 cm^{-1} et un épaulement à 1650 cm^{-1} pour une bande amide principale située à 1643-1644 cm^{-1}. La différence notable observée entre le dérivé halogéné et le non halogéné réside dans la bande uréthane. Dans le cas de C_{11}-Lys(Z-2-Cl)-OMe, nous observons deux bandes bien distinctes à 1697 et 1676 cm^{-1} (moyenne à 1686 cm^{-1}). Ces deux bandes se trouvent toutes les deux rapprochées, à 1691 et 1686 cm^{-1} (moyenne à 1688 cm^{-1}), dans le cas de C_{11}-Lys(Z)-OMe.

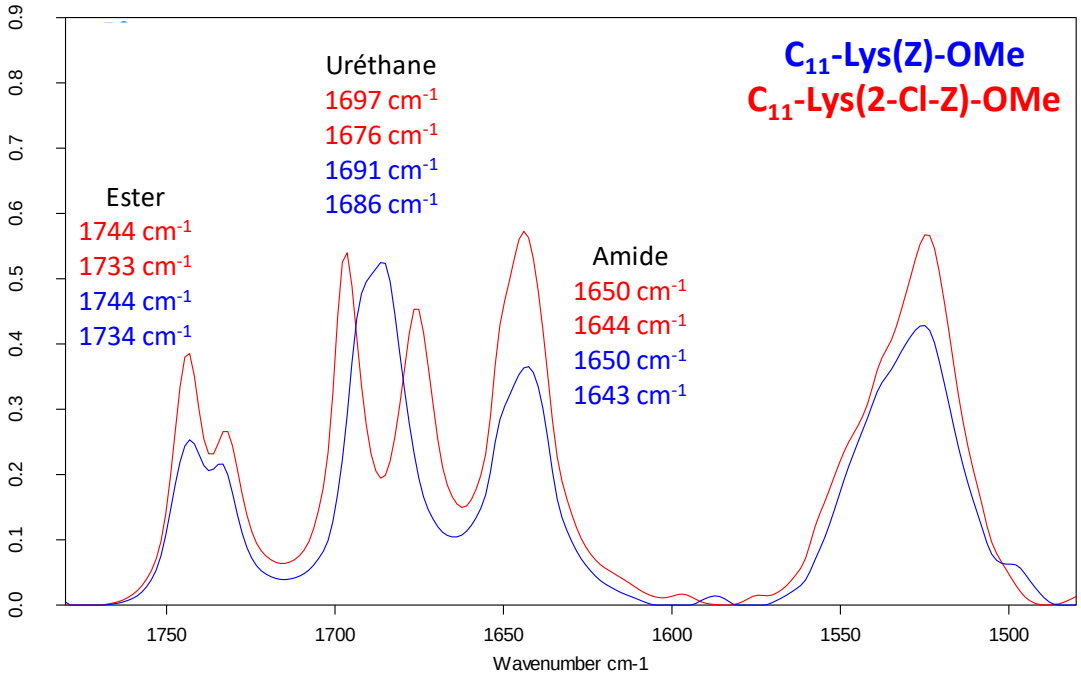


Figure 15: Superposition des spectres ATR diamant, zone des vibrations d'élongation des carbonyles (ν_{CO}) et vibration de déformation des NH (δ_{NH}), de C_{11}-Lys(Z)-OMe et C_{11}-Lys(2-Cl-Z)-OMe à l'état solide.

Si nous comparons maintenant la zone des carbonyles des spectres obtenus en solution et à l'état solide, nous pouvons observer dans le cas de C_{11}-Lys(Z)-OMe (figure 16) que la fréquence de l'ester ne change pas et la bande ne fait que se dédoubler à l'état solide. La fréquence de l'uréthane diminue quant à elle de 1714 à 1692 et 1686 cm^{-1}, soit un écart de 22 et 28 cm^{-1}. Nous observons le même phénomène pour la bande amide qui passe de 1667 à 1649 et 1643 cm^{-1} (écart de 18 et 24 cm^{-1}).

Les observations précédentes sont les mêmes dans le cas du précurseur du gélifiant comportant le chlore (figure 17). L'ester est situé aux mêmes fréquences et se dédouble à l'état solide. Les bandes de l'uréthane et de l'amide se dédoublent également et la fréquence diminue de 20 et 42 cm^{-1} pour la première et de 18 et 24 cm^{-1} pour la seconde.

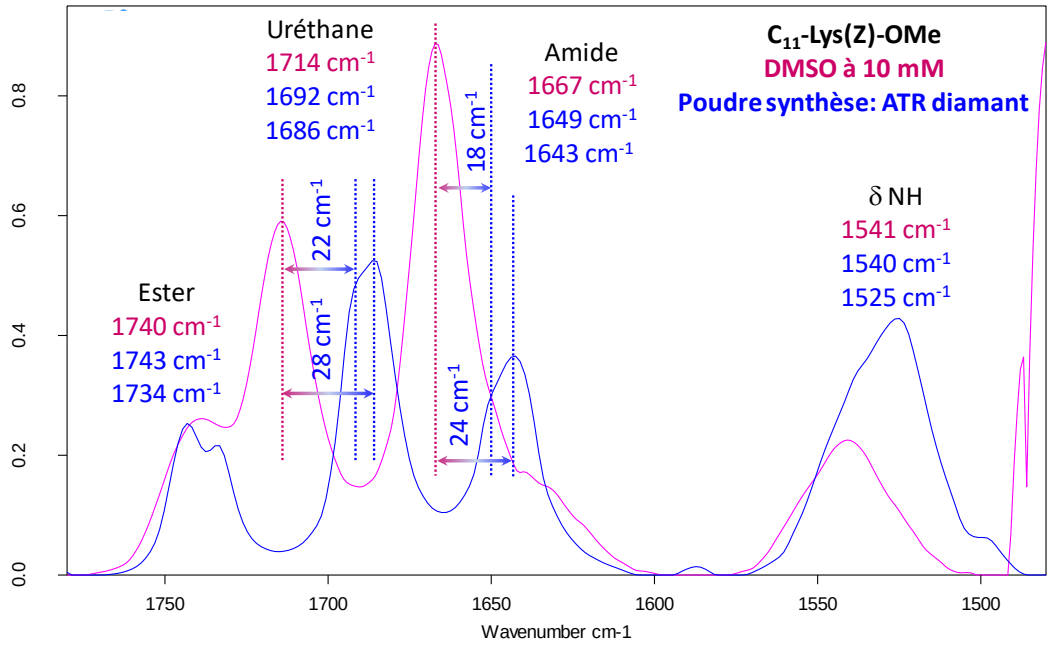


Figure 16: Superpositions des spectres ATR diamant et solution à 10 mM dans le DMSO de C_{11}-Lys(Z)-OMe, zone des vibrations d'élongation des carbonyles (ν_{CO}) et vibration de déformation des NH (δ_{NH}).

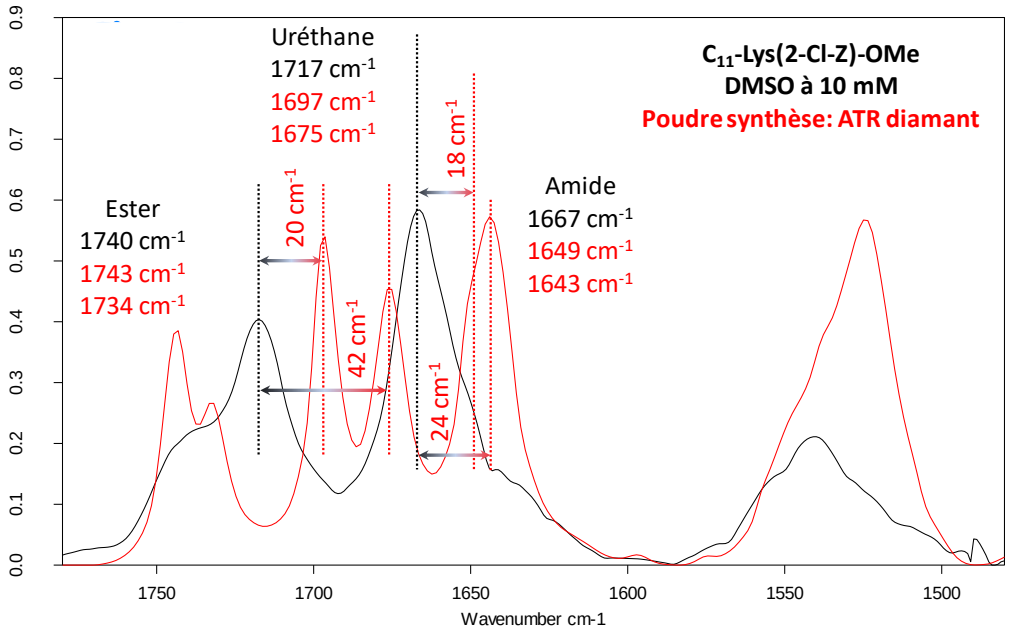


Figure 17: Superpositions des spectres ATR diamant et solution à 10 mM dans le DMSO de C_{11}-Lys(2-Cl-Z)-OMe, zone des vibrations d'élongation des carbonyles (ν_{CO}) et vibration de déformation des NH (δ_{NH}).

Ce dédoublement des signaux à l'état solide est directement lié à la présence de la fonction amide car, le spectre ATR du produit de départ H-Lys(Z)-OMe ne comporte dans cette zone là que deux bandes simples: l'ester à 1736 cm^{-1} et l'uréthane à 1692 cm^{-1} (figure 18).

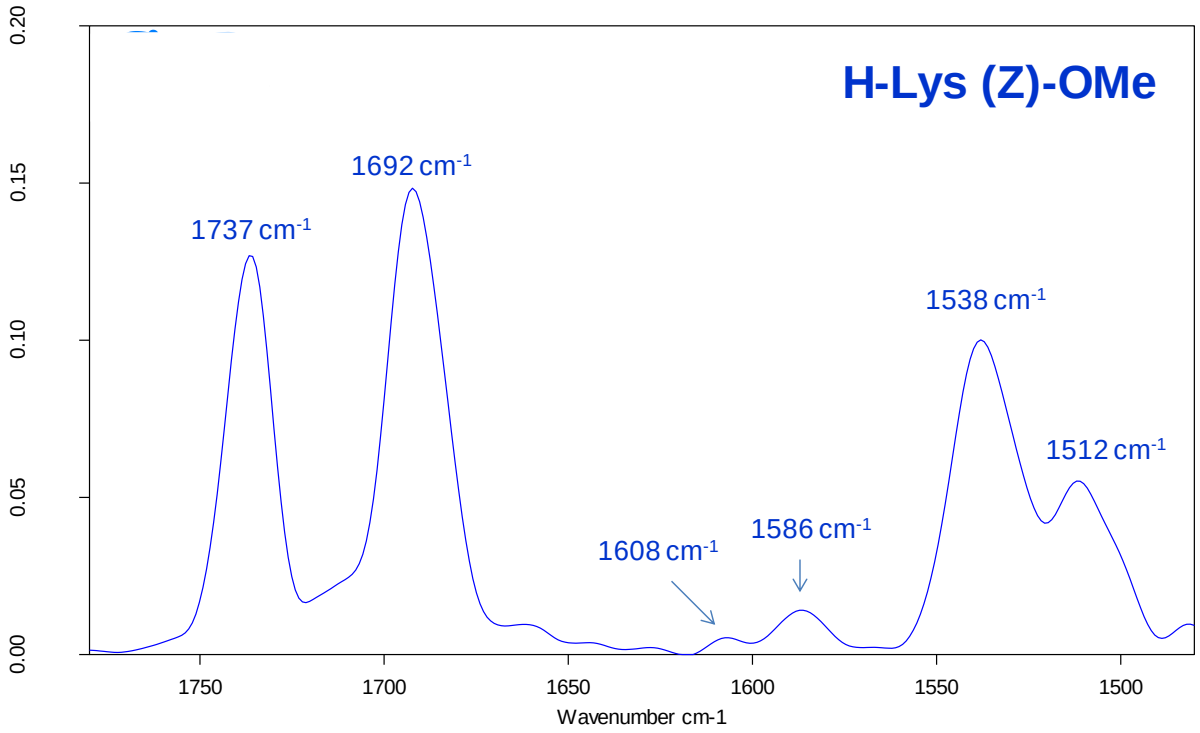


Figure 18: Spectre ATR germanium de **H-Lys(Z)-OMe**

Dans la zone de vibration d'élongation des NH et des CH, les spectres des deux esters présentent de très grandes similitudes. En effet, une bande principale est observée à 3327 et 3328 cm^{-1} pour l'ester halogéné et le non-halogéné (figure 19, gauche). Dans un article de Min Li [7], nous pouvons lire que les chaînes alkyl dans un état désordonné, par exemple lorsque la molécule est en solution, donnent pour les CH_2 des bandes à 2933 cm^{-1} (ν_{as}) et 2860 cm^{-1} (ν_s). Elles se déplacent vers 2928-2921 cm^{-1} (ν_{as}) et 2854-2852 cm^{-1} (ν_s) sous l'effet d'une augmentation de la population de chaînes alkyl dans une conformation *trans*, ce qui est le cas lorsque les chaînes commencent à s'organiser. Dans notre cas, nous relevons les valeurs de 2851 et 2920 cm^{-1} pour les deux esters. Il est à noter que ces deux bandes sont accompagnées de celles attribuées au CH_3 terminal (figure 19, droite). Enfin, si nous comparons cette zone des spectres enregistrés dans le DMSO-d_6 à la même zone dans les spectres enregistrés à l'état solide pour les deux esters, nous voyons très clairement un

abaissement de fréquence de 8 et 5 cm^{-1} dans les deux cas pour ν_{as} CH_2 et ν_s CH_2 respectivement (figure 20).

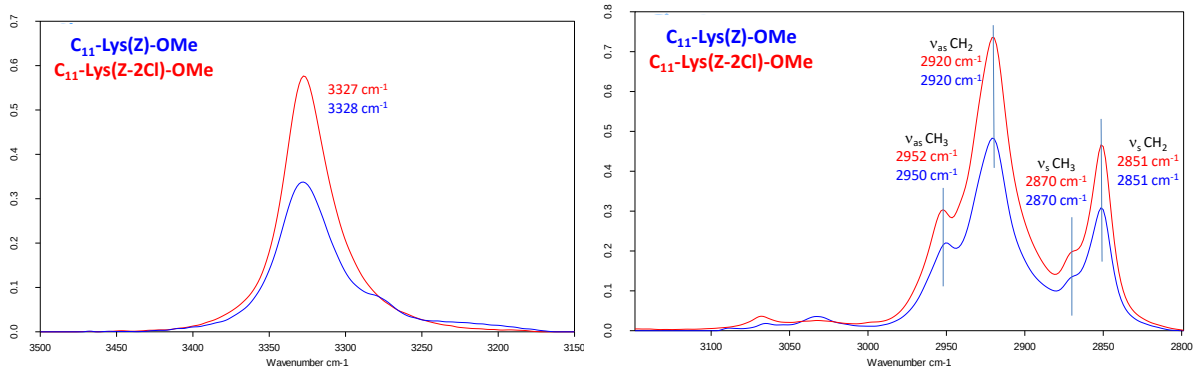


Figure 19: Superposition des spectres ATR diamant, zone des vibrations d'élongation des NH (ν_{NH}) et des CH (ν_{as}, ν_s), de C_{11}-Lys(Z)-OMe et C_{11}-Lys(2-Cl-Z)-OMe à l'état solide.

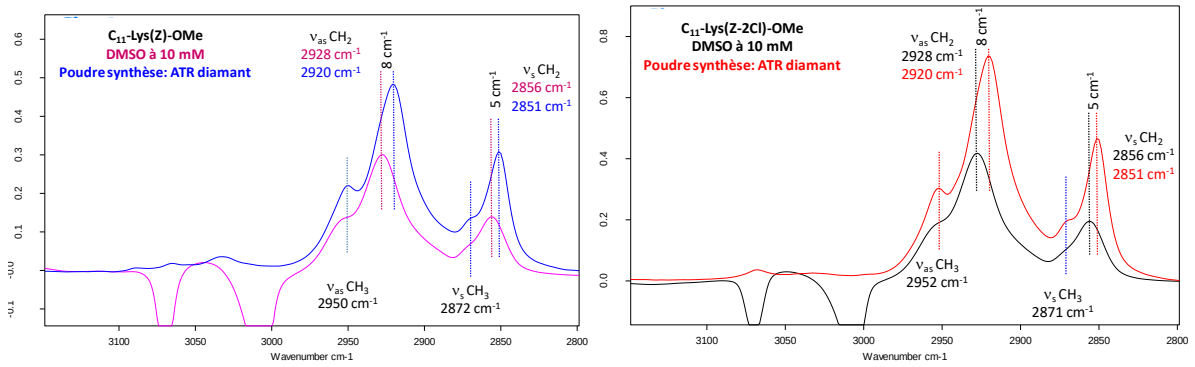


Figure 20: Superposition des spectres ATR diamant et DMSO-d_6 à 10 mM, zone des vibrations d'élongation des CH, de C_{11}-Lys(Z)-OMe (gauche) et C_{11}-Lys(2-Cl-Z)-OMe (droite).

Cas des acides carboxyliques A et B:

Nous examinerons tout d'abord les spectres des deux gélifiants en solution à 5 mM dans le DMSO (figure 21). Pour le gélifiant **A**, deux bandes sont observées pour les carbonyles. Celle associée à l'amide, relativement fine, est située à 1664 cm^{-1}. L'autre, à 1715 cm^{-1}, est plus large et correspond à la superposition de l'uréthane et

de dimères de l'acide carboxylique. En effet, les acides carboxyliques ont une très forte tendance à former des dimères. Les valeurs des vibrateurs CO, dans le cas d'acides carboxyliques aliphatiques saturés sous forme de dimères, se situent entre 1706 et 1720 cm^{-1} alors qu'elle se situe plutôt vers 1760 cm^{-1} dans le cas de monomères [8]. Dans le cas de **B**, nous observons cette bande à 1718 cm^{-1} et l'amide présente, comme pour **A**, une bande à 1664 cm^{-1}. Il est à noter la présence d'un vibrateur à 1606 cm^{-1} observé dans le cas du gélifiant halogéné. Cette bande est fréquemment attribuée à des vibrations d'élongation de C=C aromatiques que l'on retrouve généralement entre 1585 et 1600 cm^{-1} [8].

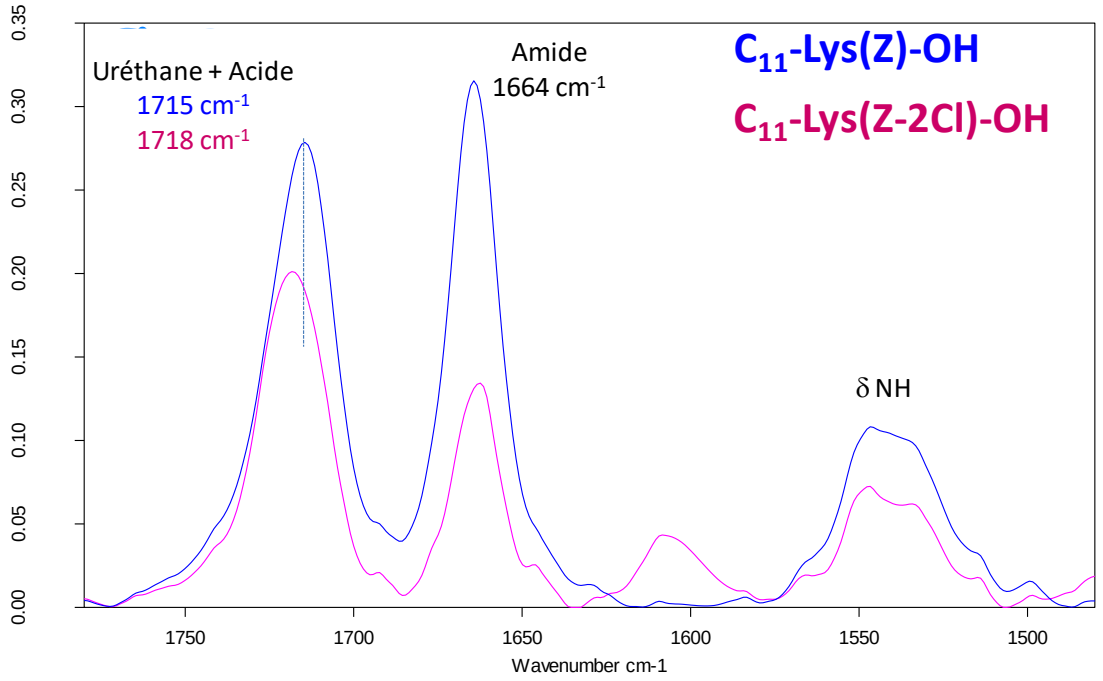


Figure 21: superposition des spectres des gélifiants **A** et **B** solubilisés à 5 mM dans le DMSO, zone des vibrations d'élongation des carbonyles (ν_{CO}) et de la vibration de déformation des NH (δ_{NH})

Si nous comparons ces bandes à celles observées dans les spectres enregistrés à l'état solide, nous observons des différences notables. Tout d'abord, dans la zone des carbonyles (figure 22), nous pouvons constater une relative similitude des CO des fonctions acide carboxylique (1735 et 1725 cm^{-1} pour les deux molécules) et uréthane (1692 et 1688 cm^{-1} pour la molécule A et 1689 cm^{-1} pour la molécule B), avec toutefois un dédoublement moins prononcé de ces bandes dans le cas de **B**. La différence la plus importante concerne la fonction amide. Dans le cas de la molécule

A, une seule bande intense est située à 1590 cm^{-1}. Par contre, pour la molécule **B**, cette bande est située à une fréquence un peu plus faible (1592 cm^{-1}) et une autre bande est détectée à 1643 cm^{-1} dont la fréquence est plus commune pour un carbonyle amidique lié par liaison H. Ces différences se confirment lorsque nous examinons la zone correspondant aux vibrations d'élongation des NH et OH (figure 23). Les profils sont très différents entre les deux molécules. D'après la dérivée seconde (figure 23, droite), il n'y a aucune bande en commun. Concernant la zone des CH, les bandes sont très similaires, avec toutefois un épaulement plus marqué à 2932 cm^{-1} pour C_{11}-Lys(Z)-OH que pour son homologue chloré (figure 24). Il est probable que cette bande puisse être attribuée à une partie des CH_2 qui seraient dans un état plus désordonné à l'état solide. En effet, il ne faut pas oublier que la bande correspondant à ces CH_2 se situe à 2933 cm^{-1} [7]. Vu l'intensité de cet épaulement, il pourrait correspondre aux quatre méthylènes du résidu de la lysine.

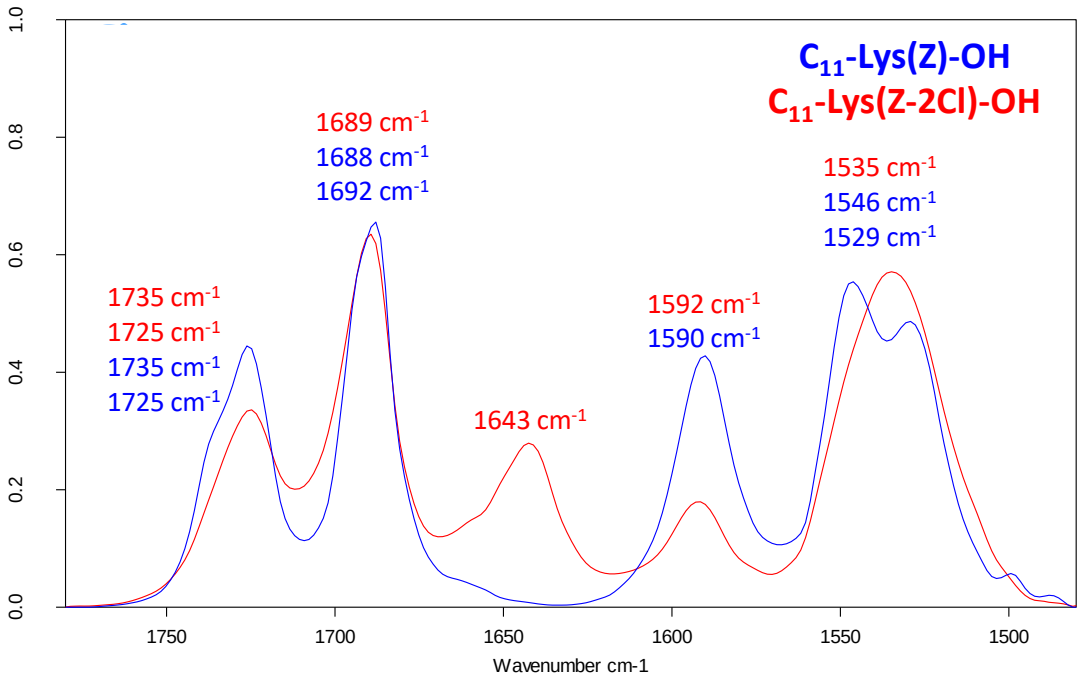


Figure 22: Superposition des spectres ATR diamant de C_{11}-Lys(Z)-OH et C_{11}-Lys(Z-2Cl)-OH, zone des vibrations d'élongation des carbonyles (ν_{CO}) et vibration de déformation des NH (δ_{NH}).

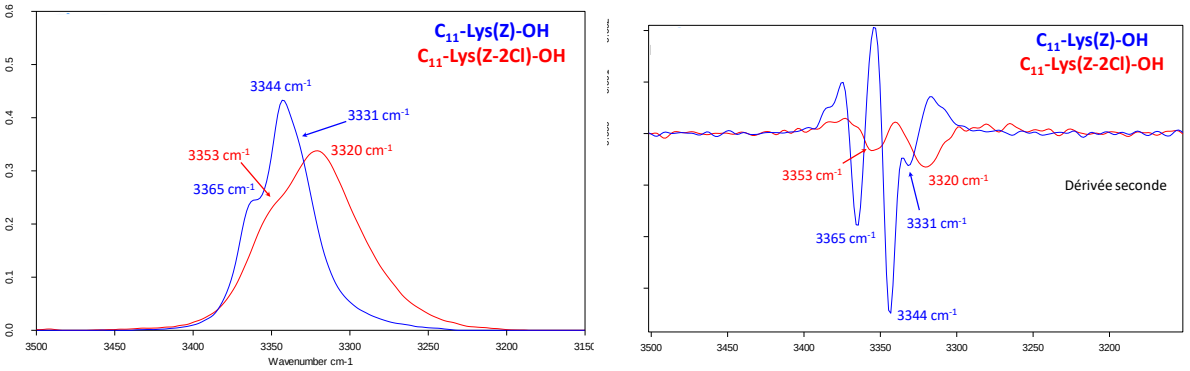


Figure 23: Superposition des spectres ATR diamant de C_{11}-Lys(Z)-OH et C_{11}-Lys(Z-2Cl)-OH, zone des vibrations d'élongation des NH et OH (gauche), dérivée seconde (droite).

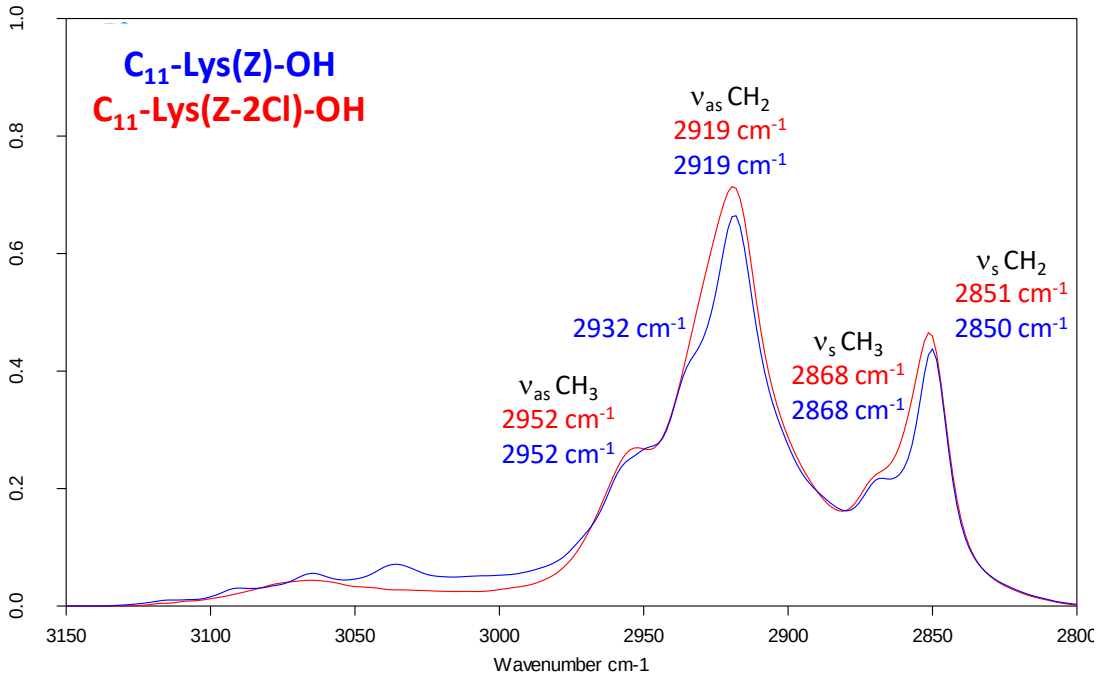


Figure 24: Superpositions des spectres ATR diamant de C_{11}-Lys(Z)-OH et C_{11}-Lys(Z-2Cl)-OH, zone des vibrations d'élongation des CH.

Dans le cas du gélifiant **A**, si nous comparons les spectres obtenus à l'état solide et en solution dans le DMSO ou le DMSO-d_6, nous remarquons que la contribution de la fonction acide carboxylique reste située vers 1735 et 1725 cm^{-1} alors que celle attribuée à l'uréthane passe de 1715 à 1692 et 1688 cm^{-1} entre la solution et le solide. La fonction amide passe quant à elle de 1664 à 1591 cm^{-1}, ce qui correspond à une diminution de fréquence de près de 75 cm^{-1} (figure 25). Cette baisse

considérable sort un peu des normes observées habituellement. Du point de vue des vibrations d'élongation des CH_2, les abaissements de fréquence de 8 et 5 cm^{-1} correspondent à l'immobilisation des chaînes alkyles, exactement comme dans le cas des deux esters précurseurs (figure 26). Comme évoqué dans le paragraphe précédent, nous voyons par ailleurs plus distinctement sur cette superposition que l'épaulement situé à 2932 cm^{-1} pourrait correspondre à des CH_2 dans un état désordonné.

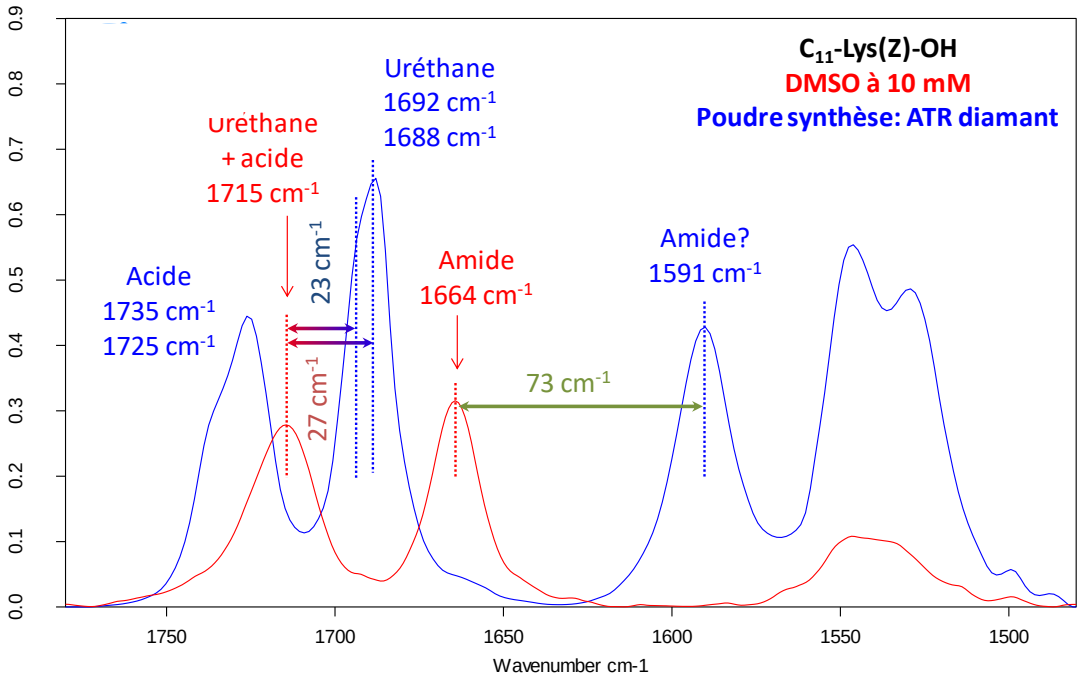


Figure 25: Comparaison état solide-état en solution dans le cas du gélifiant A. zone des vibrations d'élongation des carbonyles (ν_{CO}) et vibration de déformation des NH (δ_{NH}).

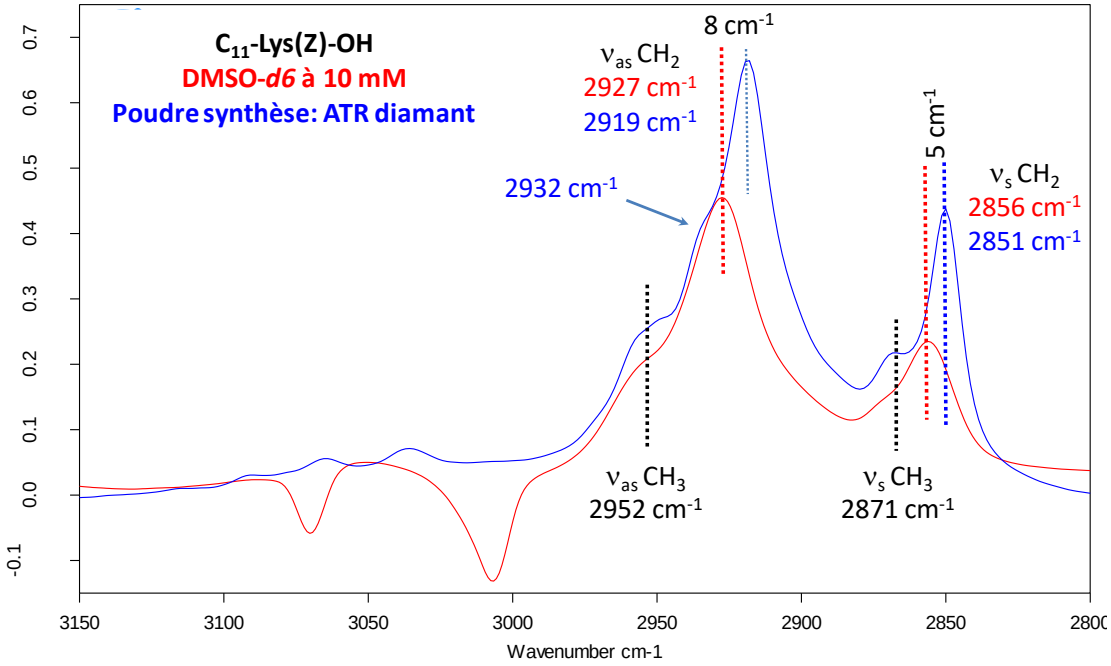


Figure 26: Comparaison état solide-état en solution dans le cas du gélifiant A. zone des vibrations d'élongation des CH (ν_{CH}).

La comparaison état solide/liquide (figure 27) dans le cas de l'acide carboxylique du gélifiant halogéné **B** indique des diminutions de fréquence similaires pour l'uréthane (28 cm^{-1}) et l'amide (71 cm^{-1}) à celles observées avec **A**. Par contre, il faut y ajouter, par rapport au cas du composé non chloré, un abaissement de fréquence plus conventionnel de 21 cm^{-1} de la bande amide. Les considérations précédemment évoquées au sujet des vibrations d'élongation des CH_2 sont les mêmes ici que dans le cas de C_{11}-Lys(Z)-OH, avec toutefois la différence que l'épaulement attribué à des CH_2 désordonnés est un peu moins visible (figure 25).

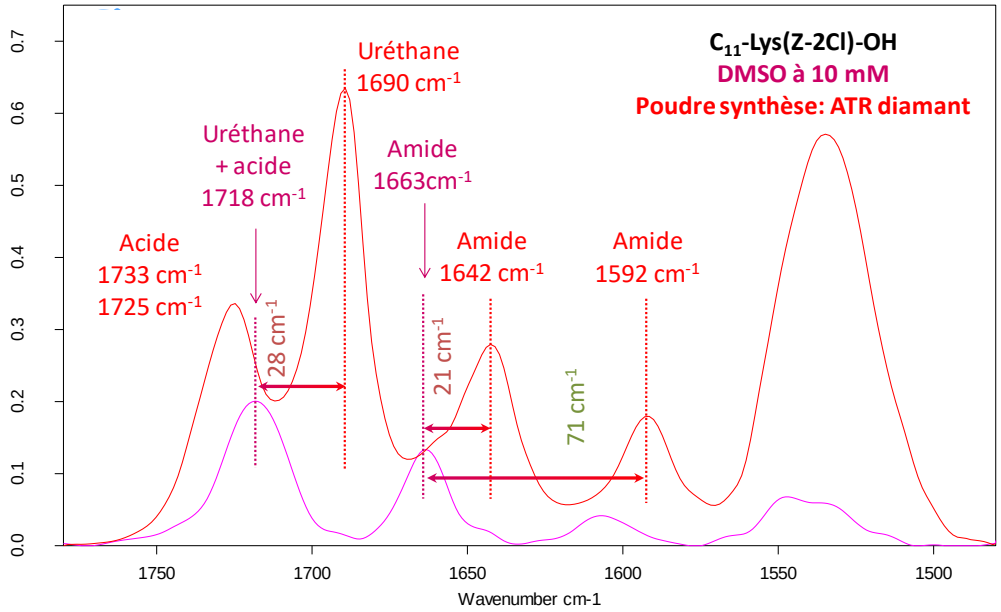


Figure 27: Comparaison état solide-état liquide dans le cas du gélifiant **B**. Zone des vibrations d'élongation des carbonyles (ν_{CO}) et vibration de déformation des NH (δ_{NH}).

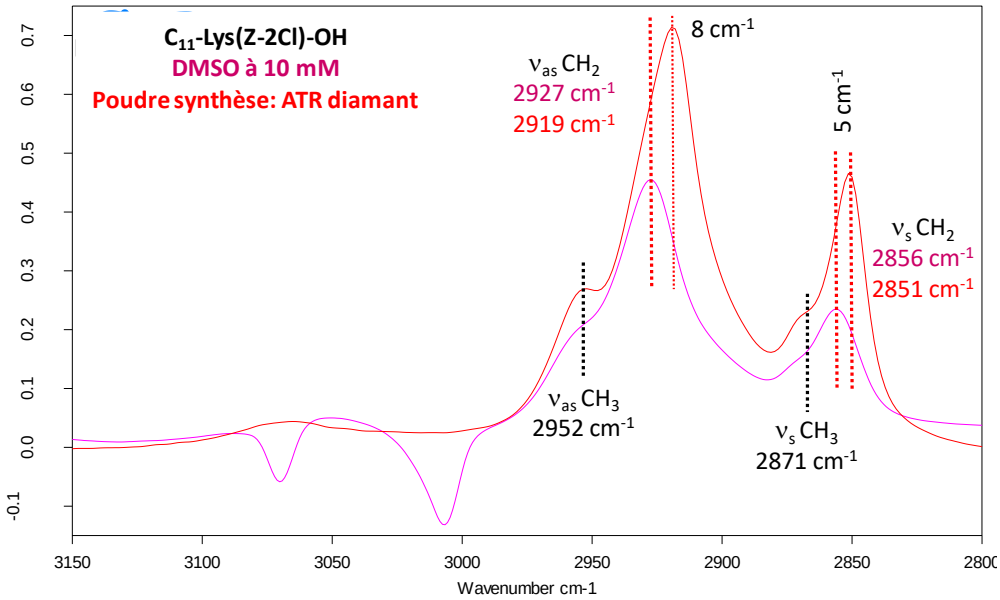


Figure 28: Comparaison état solide-état liquide dans le cas du gélifiant **B**. zone des vibrations d'élongation des CH (ν_{CH}).

Cette analyse détaillée des spectres IR des molécules **A** et **B** et de leurs précurseurs ester, nous amène à plusieurs conclusions importantes. A l'état solide, les

signaux des carbonyles se trouvent dédoublés, ce qui marque l'existence de conformères. De plus, à l'état solide, les groupements fonctionnels uréthane et amide sont engagés dans des liaisons hydrogène. Ces conclusions rejoignent celles tirées de l'analyse des spectres RMN ^{1}H des molécules **A** et **B** en solution dans $CDCl_3$. A l'état solide, les spectres IR des molécules **A** et **B**, dans la zone des carbonyles, diffèrent essentiellement du point de vue du groupement amide, alors que les signaux des groupements acide et uréthane sont très similaires.

Cas de l'hydrazide **C**:

Le spectre de la molécule **C**, en solution à 5,24 mM dans le DMSO comporte deux bandes principales dans la zone des vibrations d'élongation des carbonyles. La première à 1714 cm^{-1} correspond au carbonyle de l'uréthane. La deuxième, à 1661 cm^{-1}, correspond à l'amide. Le carbonyle de l'hydrazide donne une bande peu intense à 1678 cm^{-1} qui se superpose à celle de l'amide (figure 29). Ces attributions ont été déterminées en confrontant les spectres de différents composés faisant varier l'acide aminé ainsi que l'extrémité N-terminale.

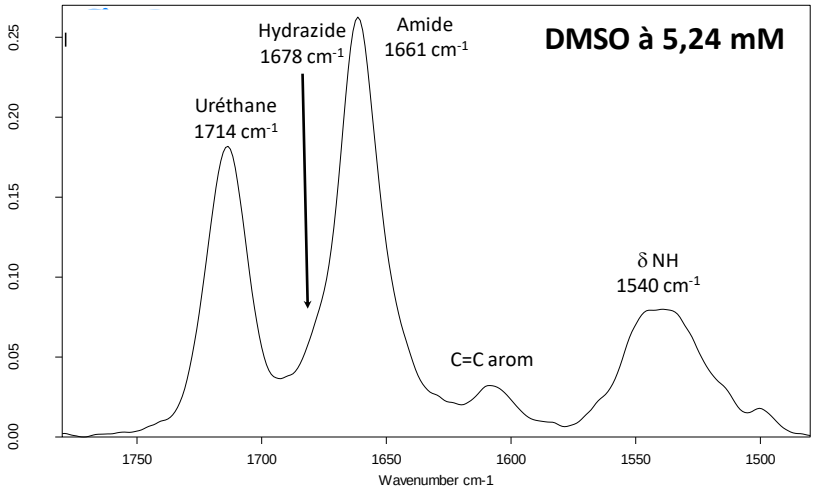


Figure 29: Spectre du gélifiant **C** enregistré en solution dans le DMSO à 5,24 mM.

La comparaison des spectres enregistrés pour l'hydrazide en solution dans le DMSO et à l'état solide (figure 30) indique des diminutions de fréquences standards de 28, 21 et 30 cm^{-1} pour les trois carbonyles à savoir l'uréthane, l'hydrazide et l'amide respectivement, lorsque la molécule est à l'état condensé. Nous observons par ailleurs

une bande à 1608 cm^{-1} dans les deux états qui est une vibration d'élongation associée au noyau aromatique.

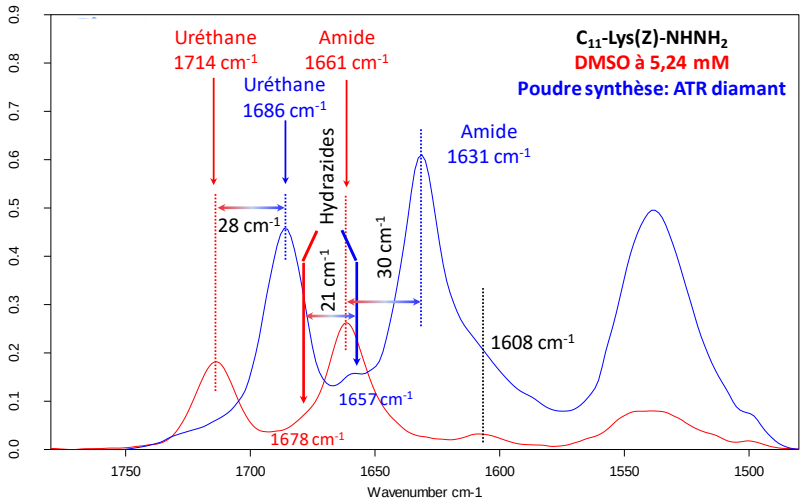


Figure 30: Comparaison état solide-état liquide dans le cas du gélifiant **C**. zone des vibrations d'élongation des carbonyles (ν_{CO}) et vibration de déformation des NH (δ_{NH}).

Si nous comparons l'hydrazide **C** et l'acide carboxylique **A** (figure 31), en solution dans le DMSO, nous remarquons que l'amide est située à 1661 et 1664 cm^{-1} respectivement. Par ailleurs, la bande à 1715 cm^{-1} du gélifiant **A**, correspondant à la superposition de la bande de l'acide et de l'uréthane, est de fait plus large et plus intense que celle du gélifiant **C**. La même comparaison entre **A** et **C**, à l'état solide, est représentée (figure 32). Nous pouvons constater la disparition des bandes attribuées à la fonction acide carboxylique (1725 et 1735 cm^{-1}) au profit de la bande de l'hydrazide à 1657 cm^{-1}. Il semblerait que l'uréthane soit situé à peu près à la même fréquence (entre 1686 et 1692 cm^{-1}) pour les deux produits. Par contre, la bande du groupement amide est très décalée vers les plus basses fréquences dans le spectre de la molécule **A** comparativement au spectre de la molécule **C**. Dans la zone des CH_2, hormis la présence de l'épaulement très marqué à 2932 cm^{-1} pour C_{11}-Lys(Z)-OH, les spectres sont assez similaires (à 1-3 cm^{-1} près). Les signatures spectrales des NH et OH sont quant à elles très différentes. Nous observons toutefois une fréquence commune aux deux produits à 3330-3331 cm^{-1} qui pourrait correspondre au NH de l'uréthane et tendrait à confirmer les observations faites dans la zone des carbonyles.

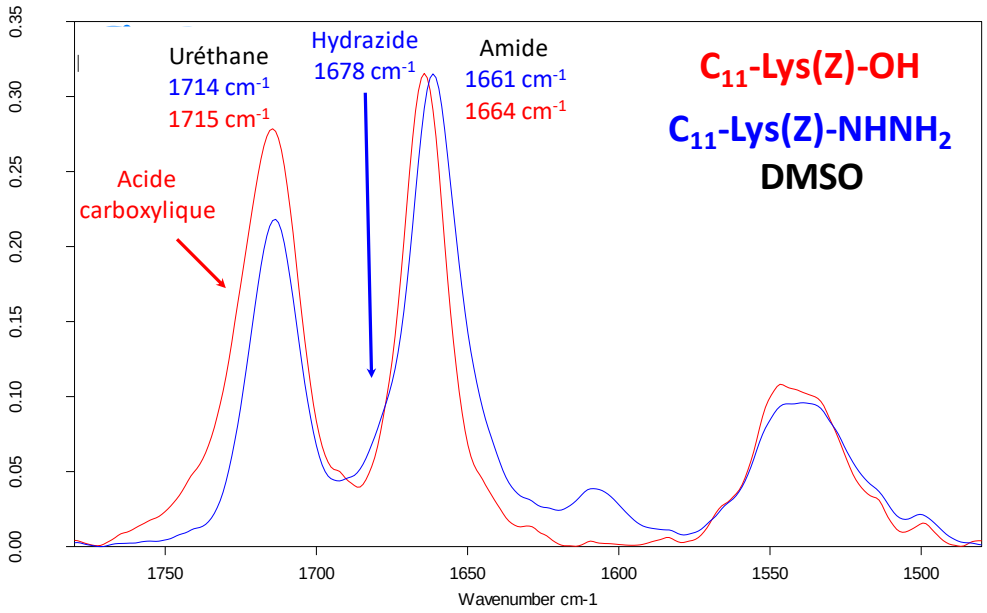


Figure 31: Superposition des spectres normalisés, enregistrés en solution dans le DMSO, des gélifiants C_{11}-Lys(Z)-OH et C_{11}-Lys(Z)-$NHNH_2$.

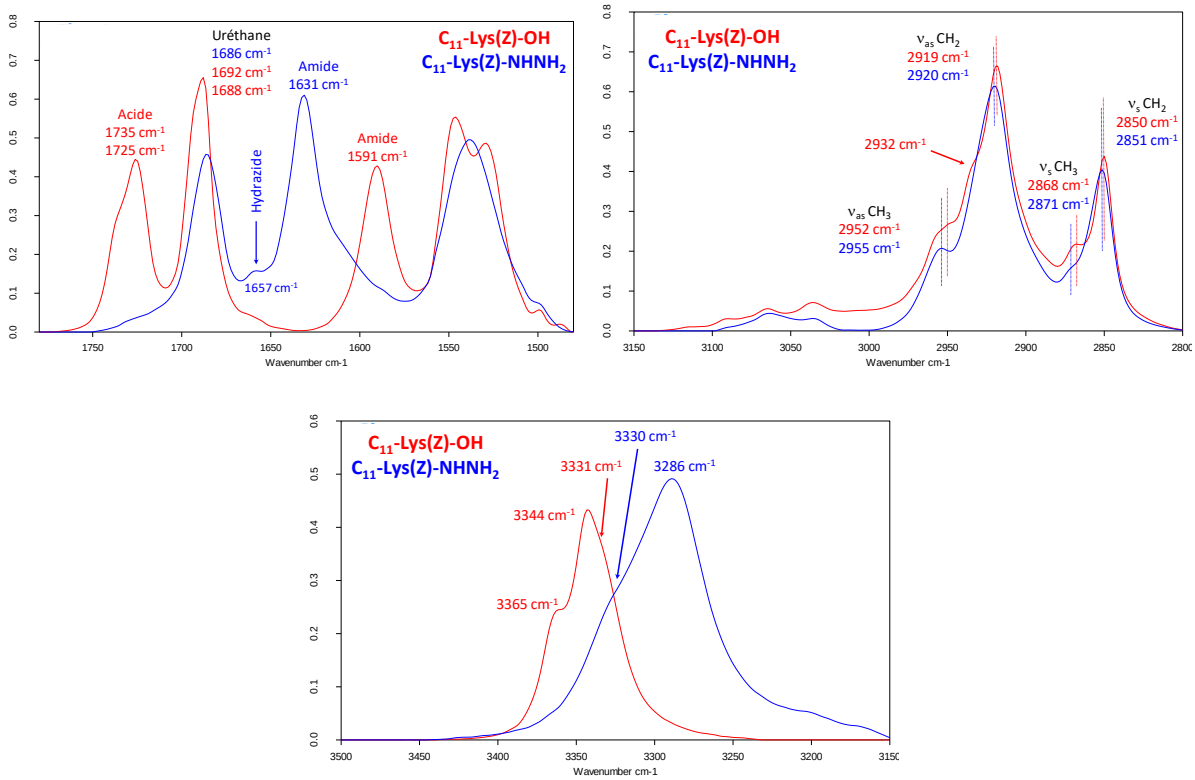


Figure 32: Comparaison des gélifiants C_{11}-Lys(Z)-OH et C_{11}-Lys(Z)-$NHNH_2$ à l'état solide.

II.5 Caractérisation des produits intermédiaires et finaux par spectrométrie de masse

Les produits intermédiaires C_{11}-Lys(Z)-OMe et C_{11}-Lys(2-Cl-Z)-OMe ainsi que les produits finaux C_{11}-Lys(Z)-OH (**A**), C_{11}-Lys(2-Cl-Z)-OH (**B**) et C_{11}-Lys(Z)-$NHNH_2$ (**C**) ont été aussi caractérisés par spectrométrie de masse haute résolution. Les résultats ont été obtenus en utilisant un instrument microTOF-Q avec une source d'ionisation ESI (Faculté des Sciences de l'Université de Lorraine, figures 33 à 37).

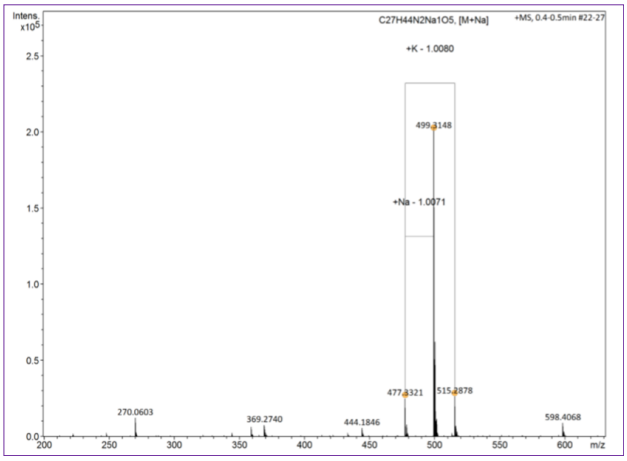


Figure 33 : Spectre de masse en haute résolution de la molécule intermédiaire C_{11}-Lys(Z)-OMe.

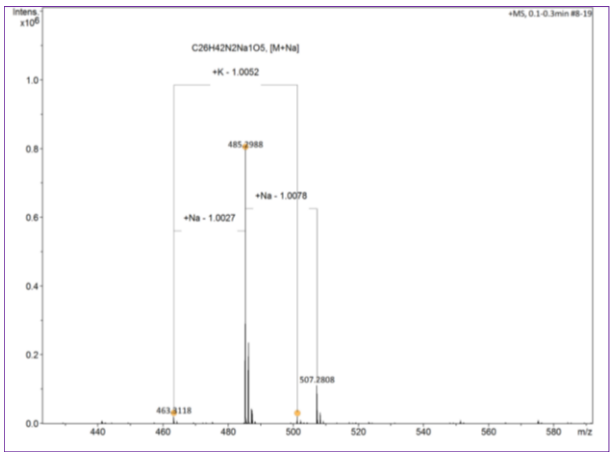


Figure 34 : Spectre de masse en haute résolution de la molécule finale **A**.

Le tableau 5 recense les valeurs de m/z correspondant aux pics expérimentaux et indique les adduits dont les valeurs de m/z sont identiques pour chacune des molécules caractérisées. Les valeurs m/z en violet correspondent aux pics majoritaires. Les spectres de masse obtenus pour les molécules B et C conduisent à des conclusions similaires (les résultats ne sont pas montrés).

Tableau 4 : Signaux observé par HRMS pour la molécule intermédiaire C_{11}-Lys(Z)-OMe et le produit final C_{11}-Lys(Z)-OH.

m/z expérimental C_{11}-Lys(Z)-OMe	Adduit C_{11}-Lys(Z)-OMe	m/z expérimental C_{11}-Lys(Z)-OH	Adduit C_{11}-Lys(Z)-OH
270,0603	-	463,3118	$[M+H]^+$
369,2740	-	**485,2988**	$[M+Na]^+$
444,1846	-	501,4049	$[M+K]^+$
477,3321	$[M+H]^+$	507,2808	-
499,3148	$[M+Na]^+$	-	-
515,2878	$[M+K]^+$	-	-
598,4068	-	-	-

Nous observons pour les deux molécules (C_{11}-Lys(Z)-OMe et C_{11}-Lys(Z)-H) trois valeurs expérimentales qui correspondent très bien aux adduits suivants : $[M+H]^+$ $[M+Na]^+$, et $[M+K]^+$. Nous constatons que chaque pic majoritaire peut être expliqué par l'adduit $[M+Na]^+$, ce qui est cohérent avec les structures attendues pour chaque molécule. Finalement les valeurs m/z qui ne sont pas explicables par les adduits attendus correspondent à des pics assez faibles.

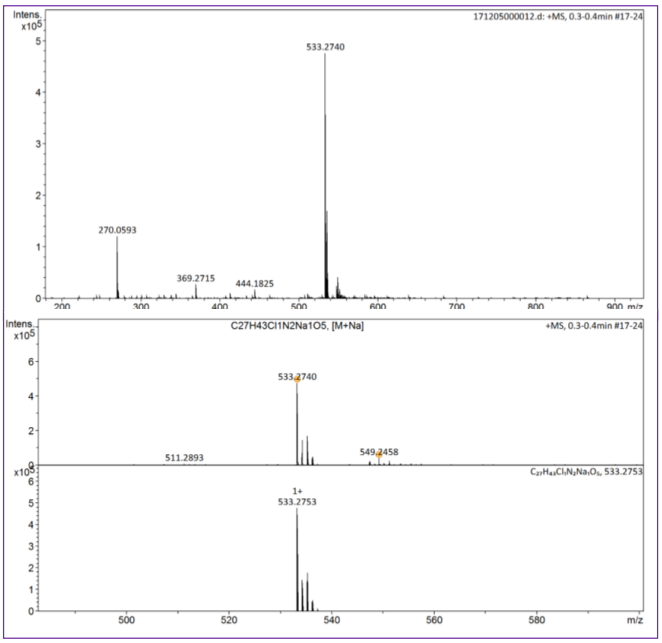


Figure 35 : Spectre de masse en haute résolution de la molécule intermédiaire C_{11}-Lys(2-Cl-Z)-OMe.

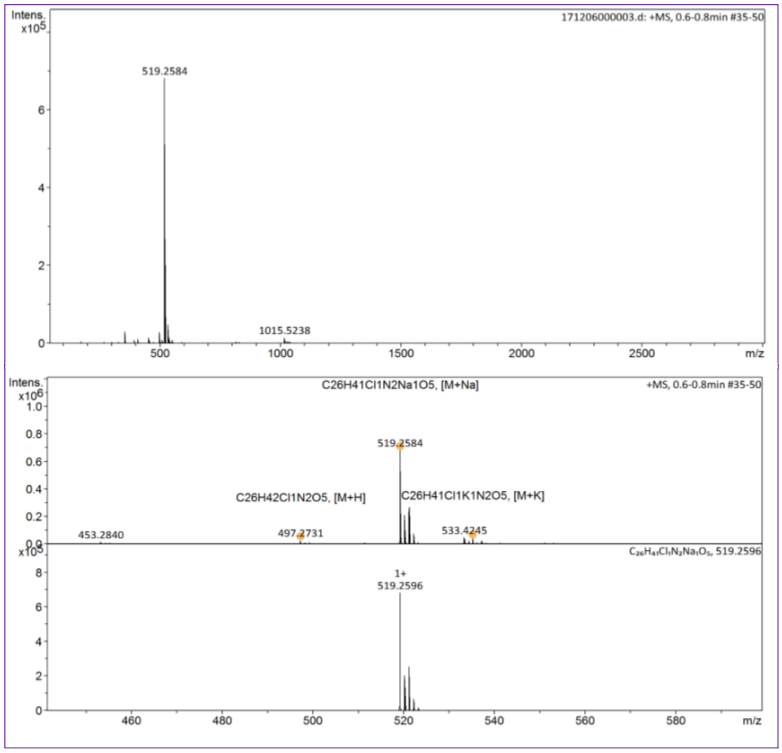


Figure 36 : Spectre de masse en haute résolution de la molécule finale **B**.

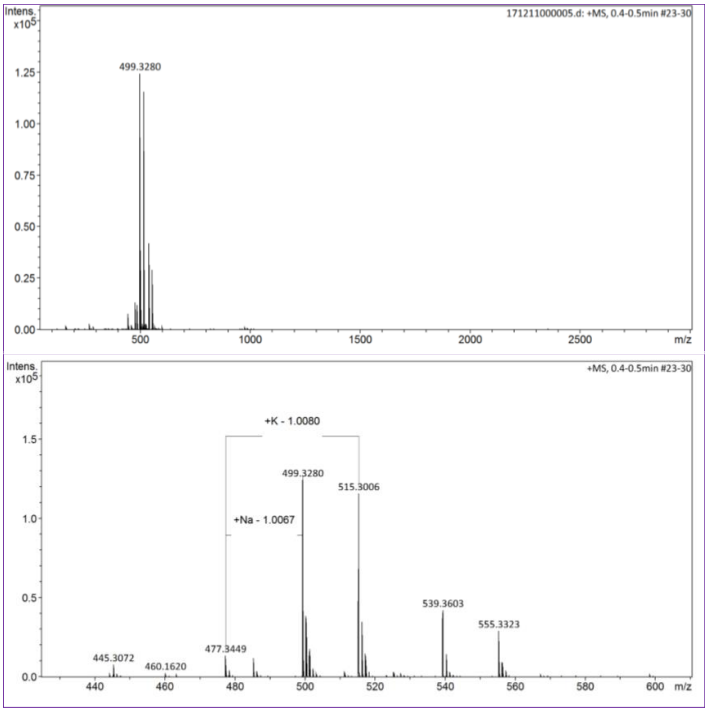


Figure 37 : Spectre de masse en haute résolution de la molécule finale **C**.

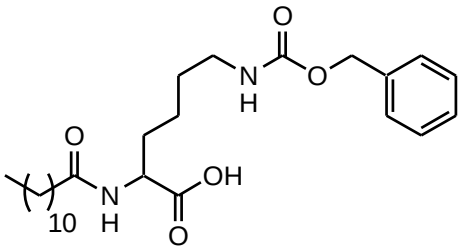
Nous ne détaillerons pas l'analyse des spectres de masse obtenus. Pour les deux esters intermédiaires et pour les trois produits finaux, les pics principaux correspondent

exactement aux masses attendues en se fondant sur les formules élémentaires des molécules et en tenant compte de l'abondance isotopique. Ces résultats, combinés à ceux obtenus par spectrométrie IR et RMN, confirment l'obtention des trois molécules attendues **A**, **B** et **C**.

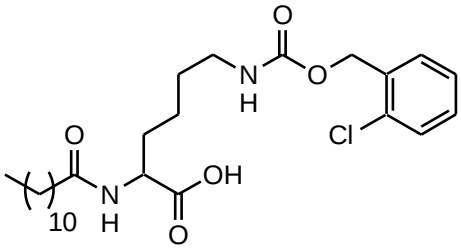
II.6 Conclusion

L'objectif de notre travail de thèse est la formulation et la caractérisation de gels supramoléculaires. Ainsi, nous avons décidé de synthétiser trois gélifiants dérivés de la lysine. Pour cela, de simples modifications chimiques ont été faites sur des produits commerciaux: H-Lys(Z)-OMe et H-Lys(2-Cl-Z)-OH. Les modifications ont été faites en cherchant l'équilibre hydrophilie/hydrophobie nécessaire pour observer le phénomène de gélification de l'eau. Nous avons élaboré trois molécules.

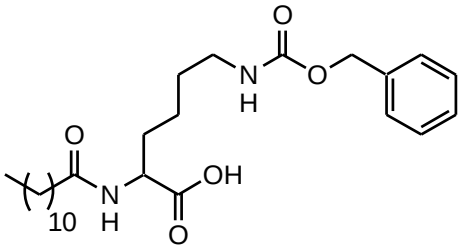
La **molécule A** obtenue en deux étapes (acylation et saponification) avec un rendement moyen global de 47 %.



La **molécule B** obtenue en trois étapes (méthylation, acylation et saponification) avec un rendement moyen global de 49 %.



La **molécule C** obtenue comme A en deux étapes (acylation et saponification) avec un rendement moyen global de 36 %.



Les spectroscopies RMN ^{1}H et IR-TF et la spectrométrie de masse nous ont permis de caractériser les produits intermédiaires et finaux, de façon à nous assurer de la structure et de la pureté des produits obtenus.

Par ailleurs, un examen détaillé des spectres RMN et IR nous a permis de mettre en évidence quelques spécificités touchant à la conformation des molécules **A**, **B** et **C**. En RMN du proton, nous avons pu observer un dédoublement partiel des signaux lorsque le spectre est enregistré dans le $CDCl_3$. Cela concerne le CHα ainsi que les NH de l'amide (côté chaîne alkyle) et de l'uréthane (côté groupe protecteur Z). Ce dédoublement disparaît lorsque le spectre est enregistré dans le DMSO-d_6. Ce phénomène, favorisé dans le chloroforme, est très probablement lié à la présence de différents conformères en solution. Il semble donc, qu'en l'absence de possibilités d'établissement de liaisons hydrogène avec le solvant, ces molécules adoptent des conformations préférentielles via l'établissement de liaisons hydrogène impliquant les groupements amide et uréthane.

L'IR-TF nous a fourni un certain nombre d'informations précieuses. Tout d'abord, en solution dans le DMSO-d_6, les spectres de tous les produits (intermédiaires et finaux) ont présentés toutes les bandes attendues, à des valeurs cohérentes. Par contre, à l'état solide (ATR diamant), les spectres se sont révélés être assez complexes. En effet, des dédoublements de bandes (plus ou moins importants selon les cas), ou encore des décalages de fréquences hors normes (CO amide pour A et B) ont été observés. Seul le gélifiant hydrazide C présente un spectre simple à l'état solide. En particulier, le signal du groupement amide est beaucoup plus proche de celui attendu lors de la formation de liaisons hydrogène. Ceci nous indique donc que les capacités d'interaction des molécules entre elles (notamment via l'établissement de liaisons hydrogène) varient significativement entre les trois molécules **A**, **B** et **C**.

Ces résultats importants seront à prendre en considération lors de l'étude de ces molécules lorsqu'elles seront intégrées dans des gels supramoléculaires.

Experimental section

I. Reagents and physical measurements.

I.1 Reagents

H-Lys(Z)-OMe.HCl and H-Lys(2-Cl-Z)-OH were purchased from BACHEM. The Trimethylamine (Sigma-Aldrich 99%). Dodecanoyl chloride (Sigma-Aldrich 97%). Hydrazin hydrate (Aldrich 80%). Thionyl Chloride (Sigma-Aldrich 99%). Dimethylsulfoxyde extra dry (Biosolve). Deionised water has been recovered from QPAK 1 Milli-Qplus apparatus.

Reactions were monitored by Thin Layer Chromatography (TLC) using aluminium-coated silica gel plates Kieselgel 60 with fluorescent indicator UV_{254} (purchased from Merck or Marcherey-Nagel). Detection was performed by UV or/and by heating the plate after treatement with a staining solution of phosphomolybdic acid or ninhydrin.

I.2 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy.

NMR spectra were recorded at 298 K using a Bruker Avance 300 equipped with a BBO probe (300 MHz for ^{1}H and 75 MHz for ^{13}C) with $SiH(CH_3)_3$ as standard. Chemical shifts for ^{1}H and ^{13}C are reported in parts per million (δ). The following abbreviations are used in reporting the multiplicity for NMR resonances: s = singlet, d = doublet, t = triplet, dd = doublet of doublets, qu = quartet, qn = quintet, sex = sextet, m = multiplet.

I.3 Infrared spectroscopy

Infrared spectra were recorded on a Bruker Tensor 27 spectrometer equipped with a liquid nitrogen cooled MCT photovoltaic detector or a Bruker Alpha. The solid samples were analyzed in attenuated total reflectance (diamond or germanium). The liquid samples were analyzed in a 500 µm optic path length CaF_2 cell. The resolution of spectra is 2 cm^{-1}, and the number of scans is 32.

I.4 Mass spectrometry

Electron Spray ionization mass spectra (ESI-MS) were recorded on a Bruker MicroTof-Q HR spectrometer at the “Services Commun de Spectrométrie de Masse” of Faculté des Sciences et Techniques, Nancy-University, France.

I. Synthesis of lysine derivatives

II.1 General procedure for N^{α}-Lauroyl-N^{ε}-carbobenzoxylysine (C_{11}-Lys(Z)-OH).

The $Cl^{-}NH_3^{+}$-Lys (Z) -OMe (5.0 g, 15,11 mmol) is dissolved in 50 mL of dichloromethane in a 250 mL flask under nitrogen. To this solution is added dropwise triethylamine (5.0 mL, 35 mmol, 2 eq). The mixture is placed under magnetic stirring at room temperature for 1 hour. Then, triethylamine (5.0 mL, 35 mmol, 2 eq) and decanoyl chloride (7.3 mL, 31 mmol, 1,8 eq) are added dropwise. Still with magnetic stirring, the reaction is left for 48 hours. The mixture was transferred to a 500 ml separatory funnel and washed with 3N HCl (3x 10 ml), saturated $KHCO_3$ (2x 15 mL), and finally with saturated NaCl solution. (2x 15 mL). The organic phase is dried over $MgSO_4$, filtered and then concentrated under reduced pressure. The so obtained the crude product is finally purified by recrystallization from hexane (yield = 58-65 %).

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300MHz): δ (ppm): 0.85-0.89 (t, 3H); 1.25-1.64 (m, 22H); 1.81-1.86 (q, 2H); 2.18-2.23 (t, 2H); 3.15-3.22 (m, 2H); 3,73 (s, 1H); 4.57-4.63 (q, 1H); 4.81 (t, 1H); 5.09 (s, 2H); 6.01-6.04 (d, 1H); 7.34 (s, 5H). **^{13}C (DMSO-d6, 300 MHz):** 172.75 ($COOCH_3$), 172.39 (CONH), 137.22 ($C_{1aromatique}$), 128.27 ($C_{2\text{-}5aromatique}$), 127.63 ($C_{2\text{-}5aromatique}$), 65.04 ($CH_{2urethane}$), 51.69 ($C_{asymétrique}$), 51,59 ($OOCH_{3ester}$) 34.87 ($CH_{2alyphatique}$), 31.23 ($CH_{2alyphatique}$), 30.45 ($CH_{2alyphatique}$), 28.93 ($CH_{2alyphatique}$), 28.64 ($CH_{2alyphatique}$), 28.47 ($CH_{2alyphatique}$), 25.14 ($CH_{2alyphatique}$), 22.61 ($CH_{2alyphatique}$), 22.02 ($CH_{2alyphatique}$), 13.88 ($CH_{3alyphatique}$). **IR (DMSO-d6): (cm^{-1}):** 1740 (ester), 1714 (urethane), 1667 (amide).

The obtained intermediate (C_{11}-Lys(Z)-OMe, 4.6 g, 10 mmol,) is then placed in a 250 ml flask under nitrogen and dissolved in 60 mL of MeOH. To this solution is added dropwise 15 mL of NaOH 1N. The mixture is placed under magnetic stirring at room temperature for 17 h. Then 50 ml of H_2O are added. The reaction mixture is placed on a rotary evaporator to evaporate the MeOH. The aqueous solution is then acidified using 1N HCl. The product obtained is filtered and purified by recrystallization from hexane. The white powder was obtained (3.8 mg, 8 mmol, 71-85 % third step, 47 % overall yield).

The final product was characterized by NMR spectroscopy and HRMS. **^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300MHz): δ (ppm):** 0.85-0.89 (t, 3H); 1.25-1.64 (m, 22H); 1.77-1.91 (q, 2H); 2.21-2.26 (t, 2H); 3.17-3.26 (m, 2H); 4.50-4.52 (q, 1H); 4.93 (t, 1H); 5.09 (s, 2H); 6.44-6.46 (d, 1H); 7.31-7.34 (s, 5H). **^{13}C (DMSO-d6, 300 MHz):** 173.84 (COOH), 172.38 (CONH), 156.10 (COONH), 137.27 ($C_{1aromatique}$), 128.34 ($C_{2-5aromatique}$), 127.67 ($C_{2-5aromatique}$), 65.10 ($CH_{2urethane}$), 51.65 ($C_{asymétrique}$), 35.04 ($CH_{2alyphatique}$), 31.29 ($CH_{2alyphatique}$), 30.67 ($CH_{2alyphatique}$), 28.99 ($CH_{2alyphatique}$), 28.78 ($CH_{2alyphatique}$), 28.70 ($CH_{2alyphatique}$), 28.57 ($CH_{2alyphatique}$), 25.26 ($CH_{2alyphatique}$), 22.77($CH_{2alyphatique}$), 22.08($CH_{2alyphatique}$), 13.94 ($CH_{3alyphatique}$). IR (DMSO-d6): (cm-1): 1715 (function acide et uréthane), 1664 (function amide). **HRMS (ESI-MS):** m/z 485.29 $[M+Na]^+$.

II.2 General procedure for the synthesis of N^{α}-Lauroyl-N^{ε}-carbobenzoxyhydrazide (C_{11}-Lys(Z)-$NHNH_2$).

C_{11}-Lys(Z)-OMe intermediate (4.0 g, 8 mmol,) was dissolved in 50 mL of CH_3OH before the successive dropwise additions of the solutions of CH_3ONa (0.5 g, 9.0 mmol, 1,1 eq) and hydrazine hydrate (1,05 mL 21 mmol, 2,5 eq). The mixture was refluxed for 24 h. Then 150 mL of H_2O were added. The reaction mixture was washed with HCl 3N and Chloroform (3 x 10 mL, each). The organic phases were combined and dried over sodium sulphate, filtered and then concentrated under reduced pressure. The product was purified by recrystallization into from hexane. The white powder was obtained (3.0 g, 6 mmol, 24-38 % third step, 42 % overall yield). We characterised the product for NMR spectroscopy and HRMS. **^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300MHz):** δ (ppm): 0,88 (t, 3H); 1,25 - 1,61 (m, 22 H); 1,81 (q, 2H); 2,21 (t, 2H) 3,19 (q, 2H); 3,87 (d, 2H) 4,37 (q, 1H); 4,86 (t, 1H); 5,09 (s, 2H); 6,12 (d, 1H); 7,35 (s, 5H) ; 7,53 (s, 1H) ; (s, 2H-NH_2). **^{13}C (DMSO, 300 MHz):** 171.99 ($CONHNH_2$), 171.09 ($CONH_{amide}$), 156.01 ($COONH_{urethane}$), 137.25 ($C_{1aromatique}$), 128.28 ($C_{2-5aromatique}$), 127.63 ($C_{2-5aromatique}$), 65.04 ($CH_{2urethane}$), 53.54 ($C_{asymétrique}$), 35.63 ($CH_{2alyphatique}$), 31.87 ($CH_{2alyphatique}$), 29.39 ($CH_{2alyphatique}$), 28.97 ($CH_{2alyphatique}$), 28,75 ($CH_{2alyphatique}$), 28,66 ($CH_{2alyphatique}$), 25.39 ($CH_{2alyphatique}$), 22.61($CH_{2alyphatique}$), 22.04 ($CH_{2alyphatique}$), 13.89 ($CH_{3alyphatique}$). **IR (DMSO-d6): (cm^{-1}):** 1714 (function uréthane), 1661 (function amide). **HRMS (ESI-MS):** m/z 499,32 $[M+Na]^+$.

II.3 Synthesis of N^{α}-Lauroyl-N^{ε}-2-chlorine-carbobenzoxylysine (C_{11}-Lys(2-Cl-Z)-OH).

The commercial H-lys(2-Cl-Z)-OH (5.0 g, 16 mmol) is dissolved in 30 mL of MeOH, in a 250 mL flask. $SOCl_2$ (1.3 mL, 18 mmol, 1.1 eq) is then added dropwise to this solution. The mixture refluxed for 24 h. The reaction mixture is placed in a rotary evaporator to evaporate the MeOH to dryness. The obtained methyl ester, used without further purification, is placed in a 250 mL flask under nitrogen and dissolved in 50 mL of dichloromethane. The system then followed the same procedure as for the gelator molecule A: first an amidation reaction (4.9 g, 9 mmol, 61-62 % second step) to obtain C_{11}-Lys(2-Cl-Z)-OMe.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300MHz): δ (ppm): 0.85-0.89 (t, 3H); 1.25-1.64 (m, 22H); 1.82-1.87 (q, 2H); 2.18-2.23 (t, 2H); 3.17-3.23 (m, 2H); 3,73 (s, 1H); 4.57-4.64 (q, 1H); 4.87 (t, 1H); 5.21 (s, 2H); 6.01-6.04 (d, 1H); 7.24-7.43 (s, 5H). **^{13}C (DMSO, 300 MHz):** 172.87 ($COOCH_3$), 172.61(CONH), 155.87 (COONH) 134.62 ($C_{1aromatique}$), 132.31 ($ClC_{aromatique}$), 129.70 ($C_{aromatique}$), 129.31 ($C_{aromatique}$), 127.34 ($C_{aromatique}$), 62.61($CH_{2urethane}$), 51.81 ($C_{asymétrique}$), 51,74 ($OOCH_{3ester}$) 34.98 ($CH_{2alyphatique}$), 31.33 ($CH_{2alyphatique}$), 30.52 ($CH_{2alyphatique}$), 29.03 ($CH_{2alyphatique}$), 28.75 ($CH_{2alyphatique}$), 28.56 ($CH_{2alyphatique}$), 25.26 ($CH_{2alyphatique}$), 22.69 ($CH_{2alyphatique}$), 22.13 ($CH_{2alyphatique}$), 13.98 ($CH_{3alyphatique}$). **IR (DMSO-d6): (cm^{-1}):** 1710 (function ester), 1717 (function urethane), 1667 (function amide)

The product obtained (C_{11}-Lys(2-Cl-Z)-OMe) followed a saponification reaction. The product obtained is filtered and purified by recrystallizing with hexane. The white powder was obtained (4.2 g, 8 mmol, 87-88 % third step, 49 % overall yield). The final product was characterized by NMR spectroscopy and HRMS. **^{1}H-NMR (CDCl3, 300MHz): δ (ppm):** 0.85-0.89 (t, 3H); 1.24-1.62 (m, 22H); 1.79-1.93 (q, 2H); 2.21-2.26 (t, 2H); 3.18-3.29 (m, 2H); 4.47-4.48 (d, 1H); 4.97 (t, 1H); 5.22 (s, 2H); 6.44-6.46 (d, 1H); 7.26-7.41 (s, 4H). **^{13}C (DMSO, 300 MHz):** 173.92 (COOH), 172.21 (CONH), 155.81 (COONH) 134.63 ($C_{1aromatique}$), 132.23 ($ClC_{aromatique}$), 129.62 ($C_{aromatique}$), 129.25 ($C_{aromatique}$), 127.30 ($C_{aromatique}$), 62.53 ($CH_{2urethane}$), 51.94 ($C_{asymétrique}$), 35.15 ($CH_{2alyphatique}$), 31.31 ($CH_{2alyphatique}$), 30.90 ($CH_{2alyphatique}$), 29.01 ($CH_{2alyphatique}$), 28.81

($CH_{2alyphatique}$), 28.72 ($CH_{2alyphatique}$), 28.61 ($CH_{2alyphatique}$), 25.30 ($CH_{2alyphatique}$), 22.73 ($CH_{2alyphatique}$), 22.10 ($CH_{2alyphatique}$), 13.95 ($CH_{3alyphatique}$). **IR (DMSO-d6): (cm^{-1}):** 1718 (function acid, urethane), 1663 (function amide). HRMS (ESI-MS): m/z 519.25 $[M+Na]^+$.

Bibliographie

1. A. Colomer, A. Pinazo, M. A. Manresa, M. P. Vinardell, M. Mitjans, M. R. Infante and L. Pérez, *Journal of Medicinal Chemistry*, 2011, **54**, 989–1002.

2. K. Vogler, P. Lanz, P. Quitt, R. O. Studer, W. Lergier, E. Böhni and B. Fust, *Helvetica Chimica Acta*, 1964, **47**, 526–544.

3. A. Pal, Y. K. Ghosh and S. Bhattacharya, *Tetrahedron*, 2007, **63**, 7334–7348.

4. N. Brosse, D. Barth and B. Jamart-Grégoire, *Tetrahedron Letters*, 2004, **45**, 9521–9524.

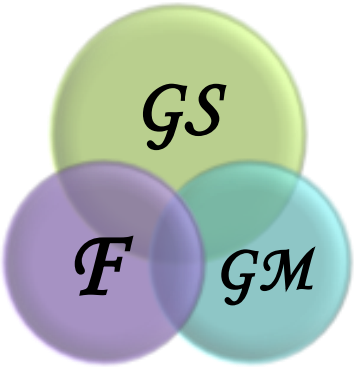
5. R. F. Smith, A. C. Bates, A. J. Battisti, P. G. Byrnes, C. T. Mroz, T. J. Smearing and F. X. Albrecht, *The Journal of Organic Chemistry*, 1968, **33**, 851–855.

6. M. Suzuki, M. Yumoto, H. Shirai and K. Hanabusa, *Tetrahedron*, 2008, **64**, 10395–10400.

7. S. Qu, H. Wang, Z. Yu, B. Bai and M. Li, *New Journal of Chemistry*, 2008, **32**, 2023.

8. R. M. Silverstein, F. X. Webster and D. J. Kiemle, *Identification spectrométrique de composés organiques*, DeBoeck, Bruxelles, 2009.

Chapitre III



Formulation de Gels Supramoléculaires / Macromoléculaires

Ce chapitre sera consacré à la **formulation de gels et à l'examen essentiellement visuel de leurs propriétés**. Nous évaluerons la capacité de gélification des dérivés de lysine notés **A**, **B** et **C** dont la synthèse a été décrite dans le chapitre II. L'ensemble des gels préparés seront constitués de proportions variables d'un solvant organique (bon solvant pour la molécule et miscible avec l'eau) et d'eau (non solvant de la molécule), d'une quantité variable de molécule gélifiante et d'une quantité variable de dextrane.

L'objectif principal est d'établir les conditions optimales de formulation et de préparation des gels. Nous cherchons aussi à comparer les gels obtenus selon la molécule utilisée, afin d'évaluer l'impact de la structure chimique sur la capacité de gélification. Compte tenu de leurs structures chimiques, nous comparerons de façon plus détaillée les gels obtenus avec **A** et **B** d'une part et les gels obtenus avec **A** et **C** d'autre part. Finalement, nous examinerons comment le phénomène de gélification à partir des petites molécules est influencé par la présence d'un polysaccharide non associatif, le dextrane.

Ce chapitre est essentiellement basé sur des examens visuels des gels obtenus. Nous prendrons garde aux limites que peut atteindre cet exercice. L'évolution des systèmes gélifiés a été suivie visuellement pendant trois mois. L'ensemble de ces observations nous permettront de définir les conditions de composition et de préparation de gels qui seront ensuite caractérisés à différentes échelles par plusieurs techniques expérimentales (chapitres IV et V).

III.1 Procédure de formulation des gels.

Dans ce qui suit, nous évoquerons brièvement les quatre procédures de formulation des gels supramoléculaires les plus couramment utilisées : l'application d'ultrasons, la dissolution à chaud suivie d'un refroidissement, ou l'addition d'un non-solvant à une solution homogène et l'ajustement du pH.

III.1.1 Ultrasons [1].

Les ultrasons peuvent dans certains cas être utilisés pour déclencher la gélification (figure 1). C'est cependant la méthode la moins couramment évoquée dans la littérature. Une fois que le mélange gélifiant/solvant a été effectué (**étape I**), le système

est soumis à des ultrasons pendant quelques minutes (**étape II**). Les ondes ultrasonores apportent une énergie très importante qui permet de dissocier les agrégats de molécules et de réorganiser ces dernières au sein du solvant sous la forme d'objets qui conduisent à la formation d'un gel. Par la suite, le système est laissé au repos pour conduire à l'obtention du gel (**étape III**).

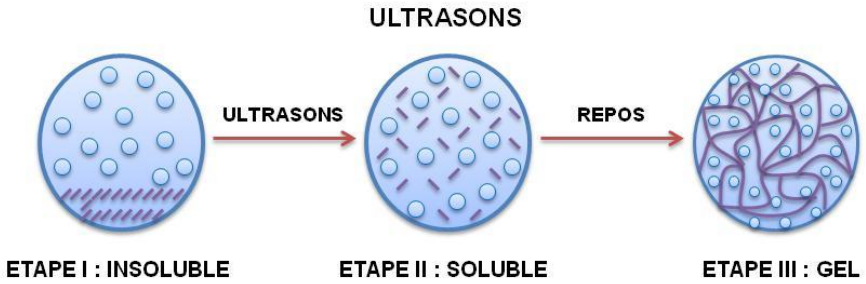


Figure 1 : Principe de formulation de gels supramoléculaires par application d'ultrasons.

III.1.2 Voie Thermique

La formulation de gels par voie thermique est une procédure très souvent utilisée (figure 2). Dans une première étape le gélifiant est mélangé avec un « solvant ». Le choix du solvant est une étape cruciale, car, de façon plus précise, la molécule doit y être soit insoluble soit très peu soluble à température ambiante. La seconde étape consiste à chauffer le mélange jusqu'à la dissolution totale du gélifiant. Puis, dans la dernière étape, le système est refroidi jusqu'à la température ambiante (ou la température envisagée pour l'utilisation du gel).

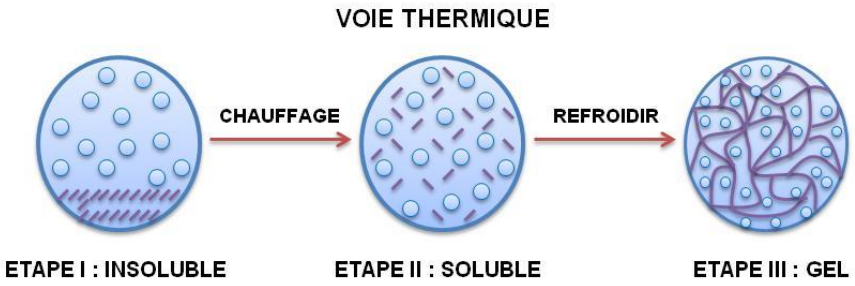


Figure 2 : Principe de formulation de gels supramoléculaires par voie thermique.

III.1.3 Voie anti-solvant

Bien qu'étant une méthode généralement moins commune que la voie thermique, la voie anti-solvant est cependant très utilisée dans le cas où il s'avère difficile de trouver un solvant adapté pour utiliser la voie thermique (figure 3).

Le principe consiste à solubiliser le gélifiant dans un bon solvant de la molécule (**étape I**). Puis l'ajout d'un mauvais solvant de la molécule (mais qui doit être miscible au premier) va occasionner l'auto-assemblage des molécules (**étape II**). Tout de suite après l'ensemble doit être agité. Finalement, le système est laissé au repos, ce qui conduira à la gélification (**étape III**).

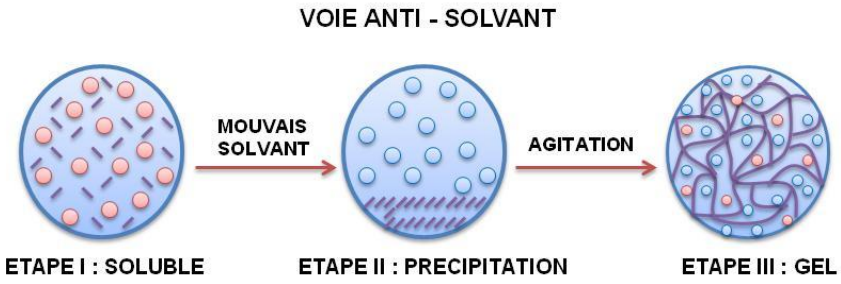


Figure 3 : Principe de formulation des gels par voie anti-solvant.

III.1.4 Vois chimique : ajustement de pH.

Très connue dans le domaine de la formulation de gels, la voie chimique consiste à dissoudre le gélifiant dans une solution acide ou basique (**étape I**) afin de protoner ou déprotoner les groupes fonctionnels sensibles au pH (NH_2, COOH), induisant la formation d'interactions qui favorisent l'établissement du réseau tridimensionnel, entraînant un passage de l'état de solution à l'état de gel (**étape II**).

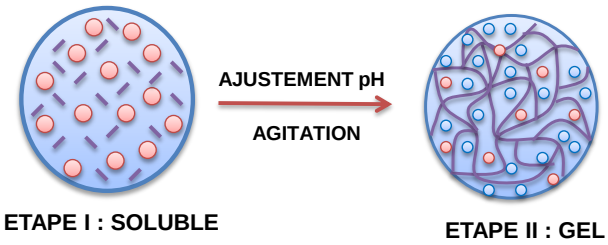


Figure 4 : Principe de formulation des gels par voiechimique.

III.1.5 Application à nos systèmes

Nous avons examiné l'application des trois voies de formulation lors d'expériences préliminaires.

- L'**application des ultrasons** ne donne pas directement de gels dans le cas de nos systèmes. Ils ont toutefois été appliqués aux mélanges « molécule + solvant » afin de disperser le gélifiant dans le solvant avant de suivre la procédure par voie thermique.
- La **voie thermique** a conduit à des gels qui contenaient des particules solides résiduelles, probablement dues à un défaut de solubilité.
- La **voie anti solvant** nous a permis finalement d'obtenir des gels visuellement homogènes.

Dans la suite, nous allons présenter en détail l'ensemble des résultats.

III.2 Gels supramoléculaires préparés avec la molécule A.

La molécule **A** peut être considérée comme le constituant central de ce travail. Cette molécule a été utilisée en suivant différents chemins de formulation des gels. A savoir, la formulation directe d'hydrogels, la formulation directe d'organogels aqueux, et finalement la formulation d'hydrogels par la dialyse d'organogels aqueux.

III.2.1 Essais de formulation directe d'hydrogels

Nous avons d'abord examiné la possibilité de formulation directe d'hydrogels (figure 5). Pour cela nous avons préparé des mélanges contenant 5 mg de molécule et 2 mL de H_2O, dans des piluliers de 3 mL (5,4 mM).

La voie thermique a été choisie comme procédure de formulation. A froid la solubilisation de la molécule s'est avérée impossible. L'utilisation des ultrasons (application durant environ 3 min) a permis de mieux disperser la molécule dans l'eau et a conduit à l'obtention d'une suspension laiteuse à température ambiante.

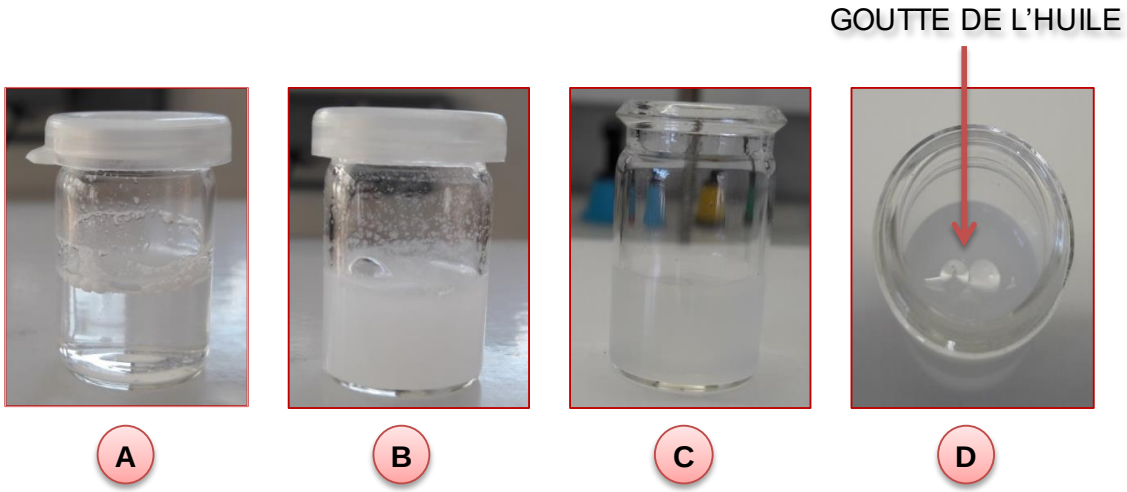


Figure 5 : Essais de formulation directe d'hydrogels : **A** mélange avec l'eau. **B** application des ultrasons à température ambiante. **C** et **D** chauffage jusqu'à 90 °C à l'aide d'un décapeur thermique puis refroidissement jusqu'à la température ambiante.

Un décapeur thermique a été utilisé pour chauffer rapidement le système jusqu'à disparition totale des 5 mg de solide (ce qui se produit à 90 °C). A ce stade le mélange eau plus **A** est devenu un liquide diphasique totalement transparent. Le système revient à température ambiante. Nous avons remarqué pendant le chauffage la formation d'une goutte de liquide à la surface de l'échantillon. Ce dernier conduit à un morceau de solide à la surface du mélange lorsqu'il est refroidi à température ambiante (photo C et D, Figure 5).

Nous nous sommes alors interrogés sur l'origine de ce phénomène. Dans un premier temps nous l'avons attribué à l'étape de chauffage, réalisée avec un décapeur thermique, donc non homogène, ce qui pourrait être à l'origine de l'apparition de cette goutte. L'échantillon a donc été à nouveau formulé en utilisant cette fois-ci un réacteur micro-onde avec les conditions suivantes : 160 °C, 300 Hz, pendant 5 min. La seule différence avec la procédure précédente (figure 5) c'est qu'à la place d'un pilulier de 3 mL, nous avons utilisé un tube à micro-onde. Cependant, avec ces conditions plus contrôlées de chauffage nous avons encore observé le même phénomène.

Le morceau de solide a été récupéré et son contenu caractérisé par IR. Une superposition des spectres de la molécule **A** et du contenu du solide montre une très

forte similarité. La formation de la goutte liquide semble donc provenir de la démixtion d'une fraction des molécules **A**.

En nous fondant sur ce constat, nous avons réalisé une série d'expériences dans lesquelles nous avons diminué la quantité de molécule **A**. Nous avons préparé 5 échantillons en maintenant la quantité de **A** à 5 mg et en augmentant la quantité d'eau (tableau 1). Dans tous les cas les systèmes ont été soumis aux ultrasons pendant 3 min avant de chauffer. Le réacteur micro-onde a été à nouveau utilisé avec les conditions suivantes : 160°C, W: 300 Hz, pendant 5 min.

Tableau 1 : Conditions des essais de formulation directe d'hydrogels (5 mg de **A** dans tous les cas) et observations.

Echantillons	H_2O (mL)	Formation de gel ?	Observations
Hg_1	2,0	Non	Dans tous les cas, présence d'une goutte insoluble en surface
Hg_2	2,3	Non	
Hg_3	2,5	Non	
Hg_4	2,7	Non	
Hg_5	3,0	Non	

Nous avons observé qu'à chaque fois que nous augmentons la quantité d'eau, la goutte liquide est toujours observée et que nous n'avons pas de gel.

Par la suite, nous avons étudié l'influence de la durée d'application des ultrasons (tableau 2). Pour toutes les expériences nous avons utilisé le système contenant 5 mg de **A** et 2 mL d'eau. Nous avons observé que, quel que soit le temps d'application des ultrasons, la goutte liquide est toujours présente. Nous qualifions tous les systèmes comme des systèmes non gélifiés. La raison principale de cette appréciation est leur apparence : il s'agit de mélanges troubles qui apparaissent visuellement comme des « suspensions moutonneuses » plutôt que comme des gels.

Tableau2 : Conditions des essais de formulation directe d'hydrogels (volume total 2 mL).

Echantillons	Molécule (mg)	H_2O (mL)	Temps (min)	Formation de gels ?	Observations
Hg_1	5	2	1	Non	Dans tous les cas, présence d'une goutte insoluble en surface
Hg_2	5	2	2	Non	
Hg_3	5	2	3	Non	
Hg_4	5	2	4	Non	
Hg_5	5	2	5	Non	
Hg_6	5	2	6	Non	
Hg_7	5	2	7	Non	

Nous avons aussi fait quelques tests avec une sonde à ultrasons plus puissante (sonde US, 600 W). Sept expériences ont été conduites avec des durées d'application des ultrasons entre 20 et 180 s. Nous avons observé une augmentation de la dispersion en fonction du temps. Du fait de la puissance appliquée, dans tous les cas, la solution est automatiquement chauffée. Pour les trois premiers essais : 20, 40 et 60s après avoir dispersé la molécule nous avons chauffé les solutions avec le micro-onde (les mêmes conditions que celles utilisées précédemment). Des échantillons non homogènes ont été obtenus. Les autres essais (80 et 180 s) ont comporté un chauffage des solutions avec un décapeur thermique. A nouveau des gouttes liquides ont été observées et suspensions « moutonneuses » ont été formées. Ces résultats nous confirment à nouveau que l'étape de dispersion de la poudre n'est pas la cause du phénomène de démixtion de la goutte huileuse.

La formulation directe d'hydrogels nous est donc apparue impossible du fait d'une solubilité insuffisante de la molécule **A** dans l'eau à chaud. Afin de résoudre cette difficulté, nous avons proposé d'ajouter une quantité minimale d'un solvant miscible à l'eau qui permettrait d'améliorer la solubilité à chaud du gélifiant. L'éthanol et le DMSO seront examinés dans la suite.

III.2.2 Formulation d'organogels aqueux : EtOH/H_2O

L'éthanol a tout d'abord été examiné. La molécule **A** (5 mg) a été dissoute dans 0,3 mL d'éthanol puis nous avons ajouté goutte à goutte 1,7 mL d'eau sous agitation

magnétique. Nous avons observé après l'addition d'environ 11 gouttes d'eau la formation d'un précipité conduisant à une suspension blanche. Après addition de toute la quantité d'eau, nous avons appliqué des ultrasons au système pendant 3 min, ce qui a conduit à une suspension. Nous avons chauffé cette suspension avec le microonde (160 °C, 300 Hz, 5 min), après refroidissement pendant 2-3 min nous avons obtenu un gel d'apparence uniforme (figure 6-A). Des gels ont aussi été formulés sans chauffer la solution éthanol/eau (voie anti-solvant). Nous avons obtenu des gels très faibles qui se cassent instantanément lors du retournement des piluliers.

Figure 6 : Formulation des gels en utilisant l'éthanol comme solvant. **A** chauffage avec le microonde. **B** chauffage avec le décapeur thermique.

En chauffant avec le décapeur thermique nous avons également obtenu des gels mais ils semblaient beaucoup plus faibles, ils se cassaient très facilement, et nous avons aussi noté la présence d'une goutte liquide en surface (*figure6-B*). Nous pensons que cela est dû au fait que l'éthanol servant à la solubilisation de la molécule s'évapore partiellement lors du chauffage avec le décapeur thermique, ce qui impacte le processus de formation du gel. L'utilisation d'un montage avec chauffage à reflux pour conserver l'éthanol a été aussi testée, aucune des formulations (à reflux) n'a été satisfaisante en termes d'aspect des échantillons obtenus.

III.2.3 Formulation d'organogels aqueux : DMSO/H_2O

De la même façon que pour l'éthanol, la molécule **A** a été solubilisée dans le DMSO, puis l'eau a été ajoutée goutte à goutte. Nous avons constaté que les mélanges n'ont pas à être chauffés pour conduire à la formation de gels. En effet, dès que nous commençons à ajouter l'eau, le mélange commence à devenir blanc et, une fois l'addition de l'eau terminée, nous obtenons une suspension avec un aspect laiteux.

Sous l'effet d'une simple agitation manuelle, en quelque minutes (environs 5 minutes) nous obtenons un gel parfaitement uniforme et d'apparence blanc opaque (figure 7).

Figure 7 : Gel formulé en utilisant 0,3 mL de DMSO pour solubiliser la molécule **A** (5 mg) avant l'ajout de 1,7 mL l'eau.

Ces résultats nous ont donc permis d'établir une procédure simple pour la formulation de gels avec la molécule **A** en utilisant le DMSO comme solvant. De plus, le DMSO est également un solvant des molécules **B** et **C** ainsi que du dextrane (contrairement à l'éthanol). Nous avons donc choisi d'adopter cette procédure dans la suite de ce travail. Les influences de la proportion de DMSO et de la quantité de molécule **A** utilisée ont donc été étudiées de façon systématique.

III.2.3.1 Organogels Aqueux. Evaluation de la capacité de gélification en fonction de la proportion de DMSO utilisée.

Dans ce paragraphe, les échantillons ont tous été formulés à partir de 5 mg de molécule **A** et le volume total du mélange de solvant a été fixé à 2 mL. Dans ces conditions la concentration totale de la molécule **A** est donc égale à 5,4 mM pour chaque système (tableau 3).

Nous désignerons les échantillons par les lettres **Ga**, suivies d'un nombre indiquant la proportion de DMSO utilisée (en pourcentage volumique) dans le mélange de solvant. Pour les molécules **B** et **C**, nous utiliserons la même nomenclature avec les racines **Gb** et **Gc** respectivement.

Tableau 3 : Conditions utilisées et observations faites lors de la formulation d'échantillons avec la molécule **A** (5 mg). Evaluation visuelle de la gélification en fonction de la composition du mélange de solvant (volume total 2 mL).

Echantillons	H_2O (mL)	DMSO (mL)	Formation de gel ?	Observations
Ga_0	2	0	NON	(*)
Ga_{10}	1,8	0,2	OUI	Pas de goutte insoluble en surface
Ga_{20}	1,6	0,4	OUI	
Ga_{30}	1,4	0,6	OUI	
Ga_{40}	1,2	0,8	OUI	
Ga_{50}	1,0	1,0	OUI	
Ga_{60}	0,8	1,2	NON	
Ga_{70}	0,6	1,4	NON	
Ga_{80}	0,4	1,6	NON	
Ga_{90}	0,2	1,8	NON	
Ga_{100}	0	2	NON	

(*) La composition **G_{a0}** correspond à 5 mg de molécule **A** dans 2 mL d'eau, comme discuté précédemment, avec ces conditions aucun gel n'est obtenu, probablement à cause de la faible solubilité de la molécule **A** dans l'eau.

Nous nous intéresserons plus précisément à quatre paramètres : l'intervalle de composition du mélange de solvant dans lequel nous observons la formation d'un gel ; le temps de gélification une fois le mélange réalisé, les caractéristiques physiques des gels formulés (apparence, comportement sous l'effet d'un léger mouvement) et le vieillissement des gels à la suite de leur préparation.

Nous avons détecté visuellement la formation de gels dans des formulations où la proportion DMSO se situe entre 10 et 50 % v/v. Pour les systèmes contenant entre 60 et 100 % v/v de DMSO le comportement est plutôt celui de liquides que de solides. Nous avons aussi remarqué un changement progressif d'apparence des échantillons qui deviennent de plus en plus transparents lorsque la proportion de DMSO augmente au-delà de 60 % v/v (figure 8).

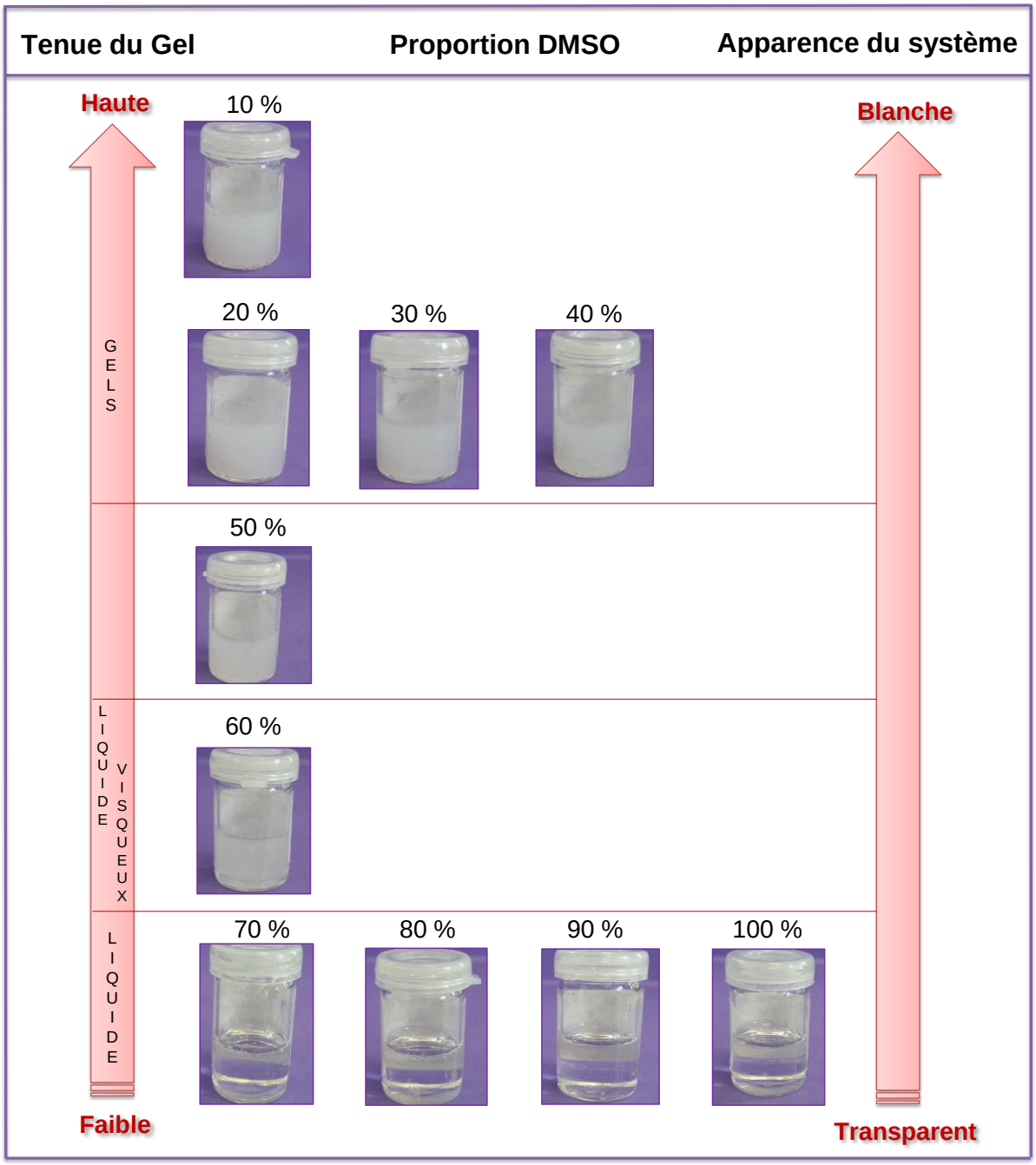


Figure 8 : Formulation et observation des échantillons en fonction de la proportion de DMSO (indiquée par les nombres en % v/v).

En ce qui concerne le temps nécessaire à la gélification, en moyenne la formation des gels est détectée visuellement entre 5 et 10 min après l'addition de l'eau dans la solution organique de **A**.

Pour avoir une étude plus précise sur la cinétique de gélification, les caractéristiques de gels et la possible évolution des systèmes, nous avons réalisé des

observations régulières à partir du moment où les gels ont été formulés et ce pendant 3 mois, à température ambiante. Des examens visuels (avec des prises de photographies) ont été réalisés à différents intervalles de temps. Ici, nous rapporterons les résultats des observations faites à 1 jour, 1 mois, et 3 mois suivant la formulation (tableau 4).

Tableau 4 : Conditions de formulations ; temps de gélifications (le cas échéant) et caractéristiques des échantillons formulés en fonction de la proportion de solvant (volume total 2 mL).

Echantillons	H_2O (mL)	DMSO (mL)	Temps de gélification (min)	Apparence 1 jour	Apparence 1 mois	Apparence 3 mois
Ga_{10}	1,8	0,2	5	Blanc opaque, uniforme		Blanc opaque, apparition de gouttes de solvant sur les parois
Ga_{20}	1,6	0,4	5			
Ga_{30}	1,4	0,6	5			
Ga_{40}	1,2	0,8	5			
Ga_{50}	1,0	1,0	10	Gel opalescent uniforme		Gel opalescent, apparition de gouttes de solvant sur les parois
Ga_{60}	0,8	1,2	-	Liquide trouble, voilé	Séparation de phases (*)	
Ga_{70}	0,6	1,4	-	Liquide transparent	Apparition de cristaux (*)	
Ga_{80}	0,4	1,6	-	Liquide transparent		
Ga_{90}	0,2	1,8	-	Liquide transparent		

(*) Le début de la séparation de phase et l'apparition de cristaux ont été détectés au deuxième jour. Les cristaux ont continué à croître jusqu'à un mois. Pour la séparation de phase après le deuxième jour nous n'avons plus détecté d'évolution significative.

Grâce aux observations réalisées, nous avons pu confirmer que le temps de gélification pour l'ensemble des gels se trouve entre 5 et 10 min. Nous observons une augmentation de la transparence concomitante avec l'augmentation de la proportion de DMSO. Ainsi, pour des proportions de DMSO entre 10 et 40 % v/v, des gels blancs opaques sont obtenus et un gel opalescent est obtenu à 50 % v/v. Ces gels conservent une apparence inchangée durant 3 mois (figure 9).

Au-delà de 50 % v/v nous observons plutôt des mélanges liquides qui sont troubles/voilés avec 60 % v/v de DMSO et totalement transparents pour 70, 80, et 90 % v/v de DMSO.

Quelques évolutions ont été observées pour les systèmes à 60 et à 70 % v/v de DMSO. En effet, le système contenant 60 % v/v de DMSO se présente initialement comme un liquide trouble voilé et a ensuite évolué vers une séparation de phases. Le système contenant 70 % v/v de DMSO a conduit à l'apparition de cristaux (figure 10, ce phénomène est observé à partir du deuxième jour). Nous reviendrons par la suite sur l'intérêt de cette dernière observation (chapitre V).

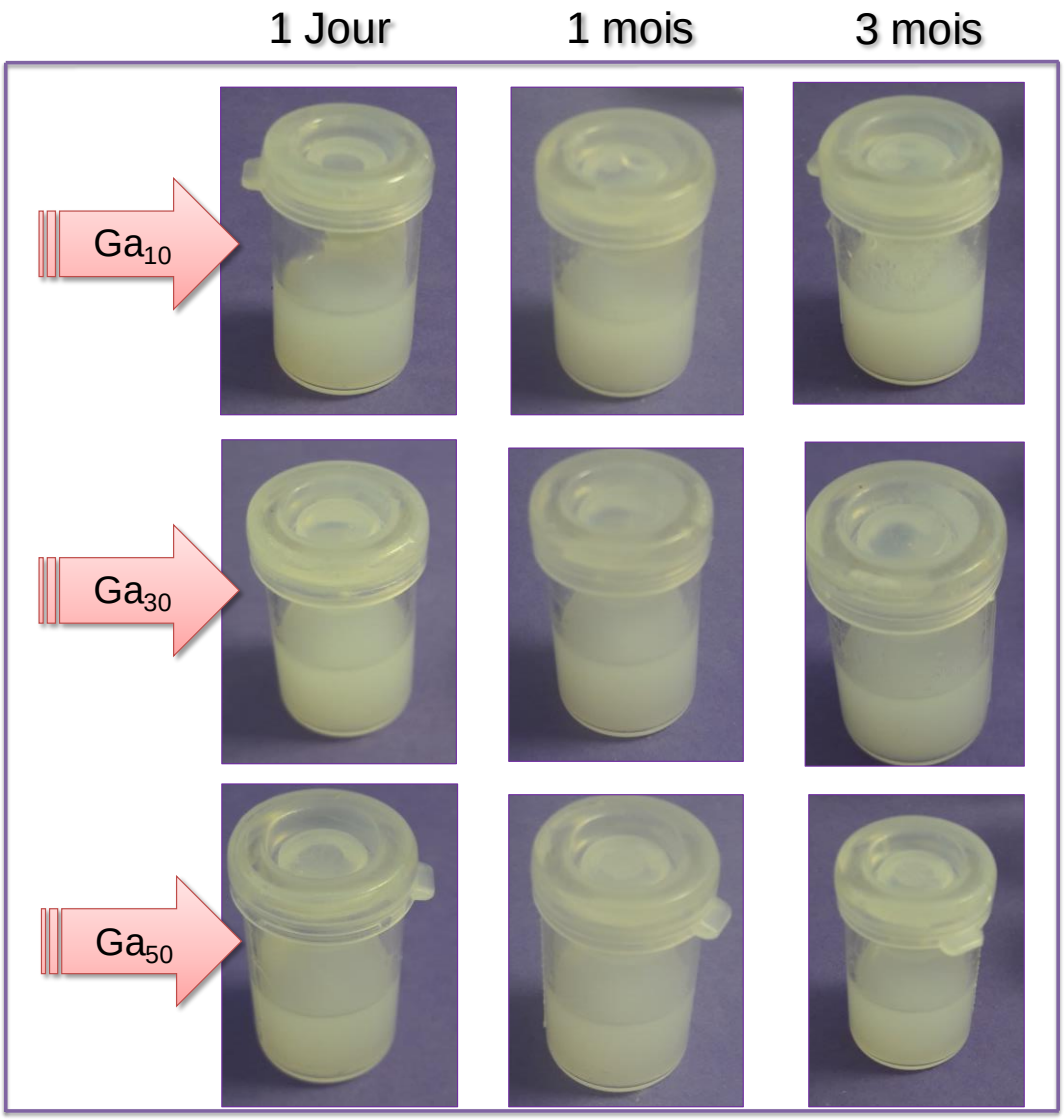


Figure 9 : Photographies des gels : Ga_{10}, Ga_{30} et Ga_{50} à 1 jour, 1 mois et 3 mois d'observation.

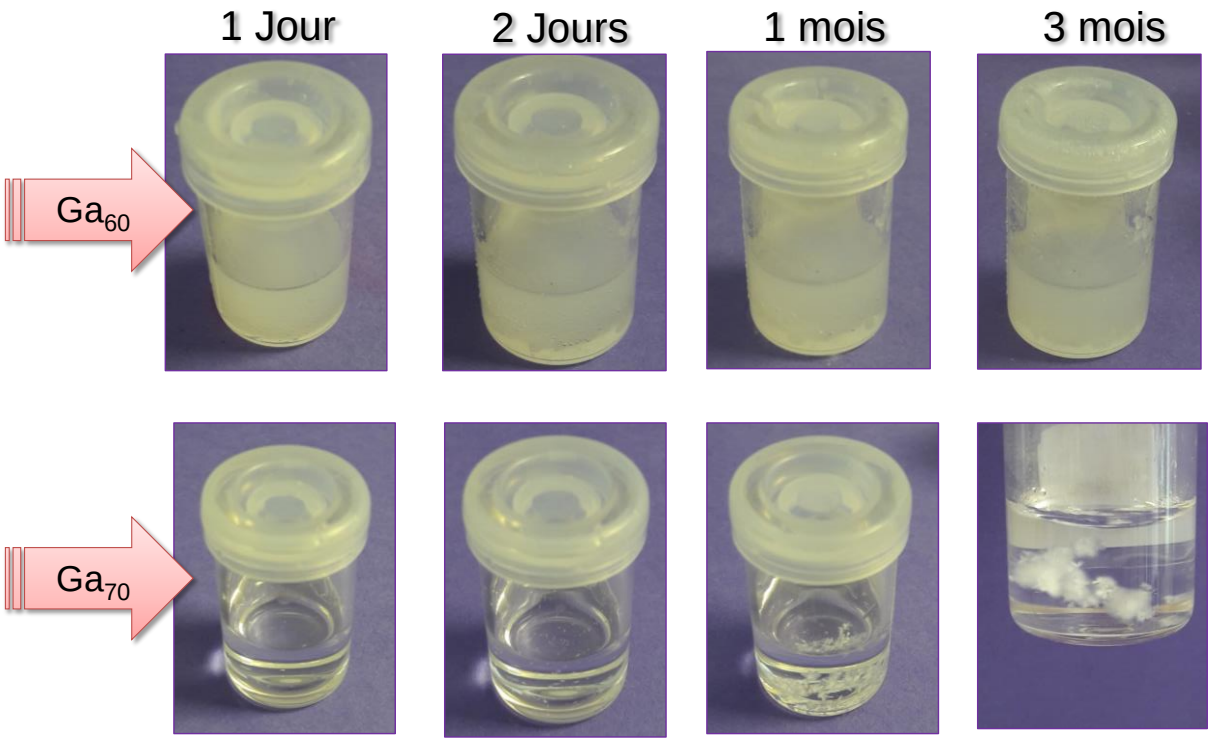


Figure 10 : Photographies des systèmes Ga_{60} et Ga_{70}.

Lors de ces essais de formulation, pour apprécier la force des gels, nous avons utilisé une méthode fondée sur une simple observation des échantillons [3]. Cette méthode consiste à retourner le pilulier dans lequel le mélange a été préparé puis à observer le comportement du mélange. Plusieurs cas sont possibles :

1. Ecoulement du mélange au moment du retournement. Dans ce cas-ci nous dirons qu'il y a absence de gel, ou qu'il s'agit d'un « gel faible » qui ne supporte pas son propre poids.

2. Le mélange reste immobile au fond du pilulier sans s'écouler mais nous observons tout de même une faible quantité de solvant qui s'écoule, comme une démixtion, lors du retournement du pilulier. Nous appelons ces gels des « gels de force moyenne ».

3. Pas d'écoulement du gel, pas de démixtion de solvant, ce qui signifie que le gel supporte son propre poids. Ici, nous considérerons qu'il s'agit d'un « gel fort ».

Les trois désignations précédentes seront fondées sur des examens simples et visuels, dont nous sommes conscients des limites. Elles seront reconsidérées par la

suite, en regard des mesures rhéologiques (chapitre IV). Leur principal intérêt c'est qu'elles peuvent être réalisées très facilement et par suite sur un grand nombre d'échantillons.

Les résultats ont montré, après le retournement des piluliers, que nous avions des gels assez solides entre 10 et 40 % v/v de DMSO (ces résultats complètent les données du tableau 4 (tableau 5). Nous disons « assez solides » car, pendant les premières vingt-quatre heures, le solvant reste dans la matrice du gel. Si nous regardons cinq jours après, quelques gouttes (il nous semble presque négligeable) sont apparues pour les gels contenant 30 et 40 % v/v de DMSO, tandis que pour le gel contenant 50 % v/v DMSO nous avons observé qu'une quantité plus importante de solvant s'est écoulée. Au cours du temps nous dirions que la démixtion pour les trois premiers gels augmente petit à petit. Pour les gels contenant 40 et 50 % v/v de DMSO il a été observé une augmentation du volume de liquide rejeté plus importante au bout de trois mois. A partir de ces informations, nous pouvons dire, en principe, que l'ensemble des gels sont plutôt forts. Cependant, il nous semble bien qu'à mesure que nous augmentons la quantité de DMSO utilisée, les gels deviennent plus souples. Ce qui n'est pas surprenant car plus il y a de DMSO et plus nous allons vers une solubilisation totale du gélifiant. Dans aucun cas nous n'avons observé d'effondrement total du gel (figure 11).

Tableau 5 : Conditions de formulation et observations réalisées au cours du temps (volume total 2 mL).

<table>
<tr><th rowspan="2">Gels</th><th rowspan="2">H_2O (mL)</th><th rowspan="2">DMSO (mL)</th><th rowspan="2">Temps de gélification (min)</th><th colspan="5">Apparence</th></tr>
<tr><th>1 jour</th><th>5 jours</th><th>10 jours</th><th>15 jours</th><th>3 mois</th></tr>
<tr><td>Ga_{10}</td><td>1,8</td><td>0,2</td><td>5</td><td rowspan="4">Pas de démixtion</td><td rowspan="2">Pas de démixtion</td><td colspan="3" rowspan="2">Quelques gouttes de solvant écoulées</td></tr>
<tr><td>Ga_{20}</td><td>1,6</td><td>0,4</td><td>5</td></tr>
<tr><td>Ga_{30}</td><td>1,4</td><td>0,6</td><td>5</td><td rowspan="2">Quelques gouttes</td><td>Quelques gouttes</td><td colspan="2">Démixtion</td></tr>
<tr><td>Ga_{40}</td><td>1,2</td><td>0,8</td><td>5</td><td colspan="3" rowspan="2">Démixtion</td></tr>
<tr><td>Ga_{50}</td><td>1,0</td><td>1,0</td><td>10</td><td>Quelques gouttes</td><td>démixtion</td></tr>
</table>

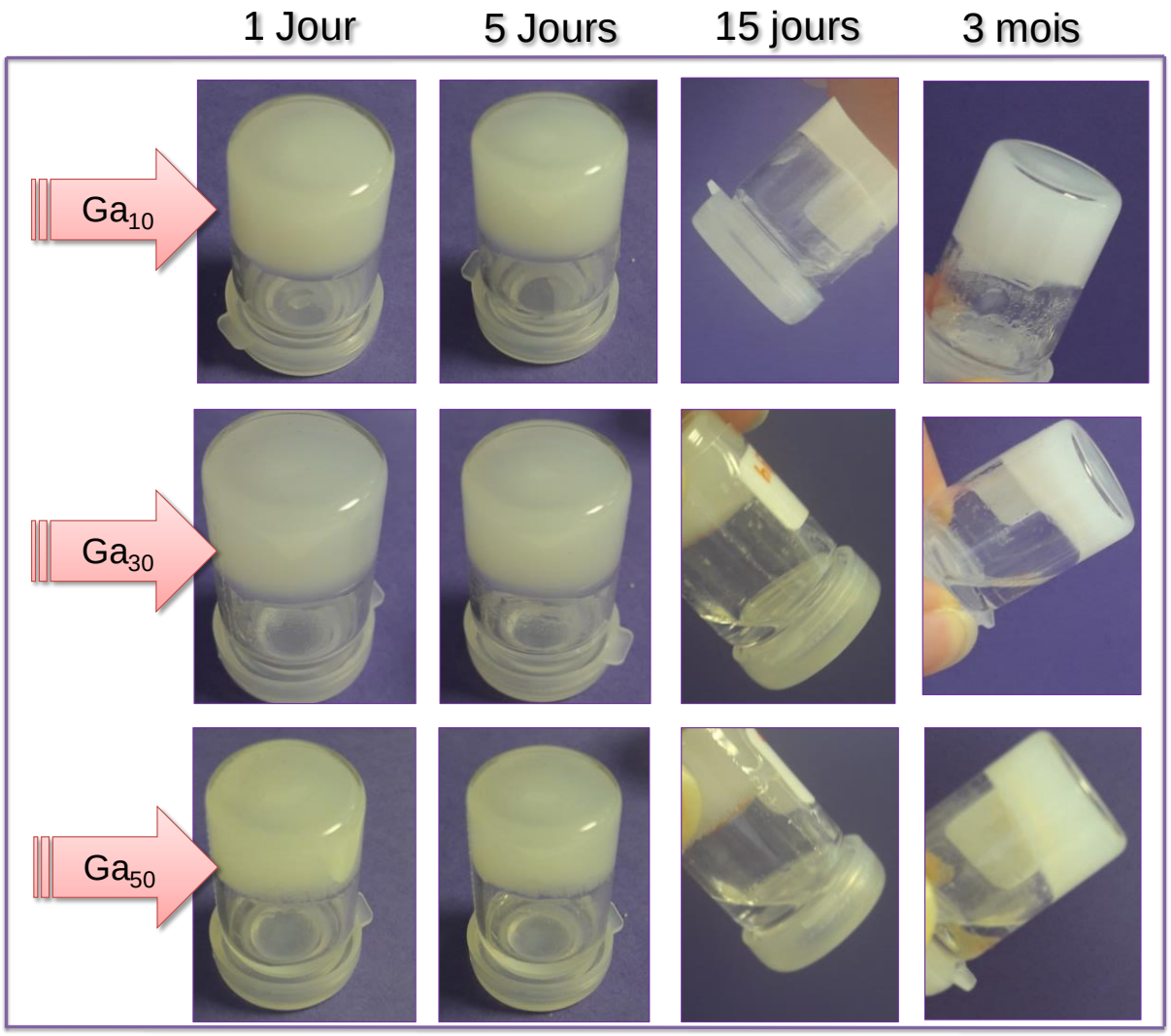


Figure 11 : Observation de la démixtion de solvant pour les gels G_{10}, G_{30} et G_{50}.

Nous ferons une dernière remarque concernant à l'influence du mélange H_2O/DMSO sur la viscosité du système. En effet, nous savons que des mélanges binaires liquides peuvent subir des variations importantes et non monotones de leur viscosité et de leur densité. Des travaux ont été réalisé **[4, 5, 6]** sur la viscosité et la densité de mélanges H_2O/DMSO à différentes températures. Les résultats ont montré des fortes associations entre les liquides via la formation des liaisons hydrogène. Il a été aussi constaté que la viscosité du mélange a un comportement non monotone avec en particulier un maximum qui se situe entre 0,3 – 0,4 en fraction molaire de DMSO. Ce zone correspond à des volumes entre : 1,3 -1,4 mL de DMSO, et 0,6 -0.7 mL d'H_2O. En ce qui nous concerne, les proportions de mélange que nous utilisons sont plutôt

situées entre 0,2 -1,0 mL de DMSO et 1,8 -1,0 mL de H_2O. Donc, la gélification provient exclusivement de la capacité des molécules à s'auto assembler et pas de la modification de la viscosité à cause d'interactions physiques entre les molécules de solvants.

Au cours de cette discussion nous avons souvent utilisé les termes "opaque", "opalescent", et "translucide" pour définir les aspects des systèmes formulés. Nous avons souhaité confronter ces termes à une grandeur mesurable et donc mieux définie à savoir l'absorbance en UV-Vis. Pour cela, des mesures ont été réalisées avec certains des échantillons précédents, en retenant plusieurs échantillons ayant conduit à l'observation de gels et un n'ayant pas conduit à la détection d'un gel.

Les systèmes G_{a10}, G_{a30}, G_{a50} et G_{a70} ont été caractérisés en mesurant leur absorbance à des longueurs d'onde comprises entre 200 et 800 nm (figure 12). Les résultats montrent une diminution de la diffusion à des volumes de DMSO plus importants. Le tableau 6 montre les valeurs des absorbance à plusieurs longueurs d'onde.

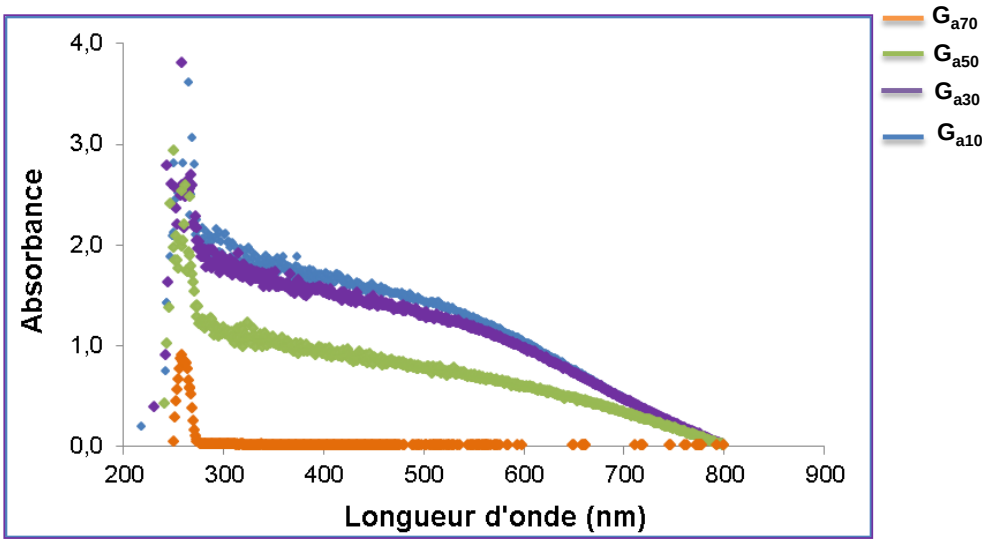


Figure 12 : Evaluation de l'Absorbance en fonction de la longueur d'onde pour quatre systèmes : G_{a10}, G_{a30}, G_{a50} et G_{a70}.

Pour l'échantillon G_{a70} nous avons une absorbance inférieure à 0,01 entre 800 et 300 nm. Par contre pour les échantillons G_{a10}, G_{a30} et G_{a50} les absorbances mesurées sont supérieures à 0,5 jusqu'à des longueurs d'onde de 700 nm. Prenons comme exemple le comportement de l'absorbance à 400 nm : nous observons qu'à

mesure que nous augmentons la quantité de DMSO, l'absorbance diminue. De plus ces valeurs mesurées sont en cohérence avec les apparences visuelles des échantillons (tableau 6) et avec les travaux trouvé dans la littérature [7, 8]. Ceci confirme la cohérence des observations faites lors des essais de formulation.

Tableau 6 : Absorbance mesurée avec les systèmes évalués à différentes longueur d'onde du domaine visible. Comparaison avec les qualifications fondées sur les observations.

Longueur d'onde (nm)	Abs (G_{a10})	Abs (G_{a30})	Abs (G_{a50})	Abs (G_{a70})
258	6,00	2 ,58	2,53	0,89
300	2,00	1,78	1,17	< 0,01
350	1,78	1,64	1,08	< 0,01
400	1,73	1,52	0,93	< 0,01
450	1,56	1,48	0,81	< 0,01
500	1,42	1,32	0,77	< 0,01
600	1,03	0,97	0,58	< 0,01
700	0,47	0,46	0,33	< 0,01
800	0,00	0,00	0,00	< 0,01
Apparence (cf Figure 8)	**G_{a10}**	**G_{a30}**	**G_{a50}**	**G_{a70}**
	Très opaque	Opaque	Opalescent	Transparent

En dehors du domaine visible, à une longueur d'onde moyenne de 258 nm les mesures d'absorbance ont montré l'existence d'un maximum local pour tous les échantillons examinés. Du fait de la présence d'un cycle aromatique dans la structure de la molécule **A**, nous avons associé l'existence de ce maximum à un phénomène de fluorescence. Dans le but d'aller plus loin, des mesures de spectroscopie de fluorescence ont été réalisées en mesurant l'intensité entre 270 et 450 nm avec une excitation à 258 nm. Les résultats ont confirmé, pour tous les échantillons, l'existence d'un pic de fluorescence, cohérent avec la présence du cycle aromatique [9] (figure 13). Nous pouvons remarquer la présence à l'état gel (G_{a10}, G_{a30} et G_{a50}) d'une double bande à 289 et 285 nm assez intense. Cette dernière diminue très significativement

dans le cas de l'échantillon d'aspect plutôt liquide (G_{a70}) pour conduire à une bande très large avec un maximum à environ 287 nm. Plus quantitativement, l'intensité de fluorescence diminue environ d'un facteur 10 entre les échantillons G_{a10}, G_{a30}, G_{a50} et l'échantillon G_{a70}.

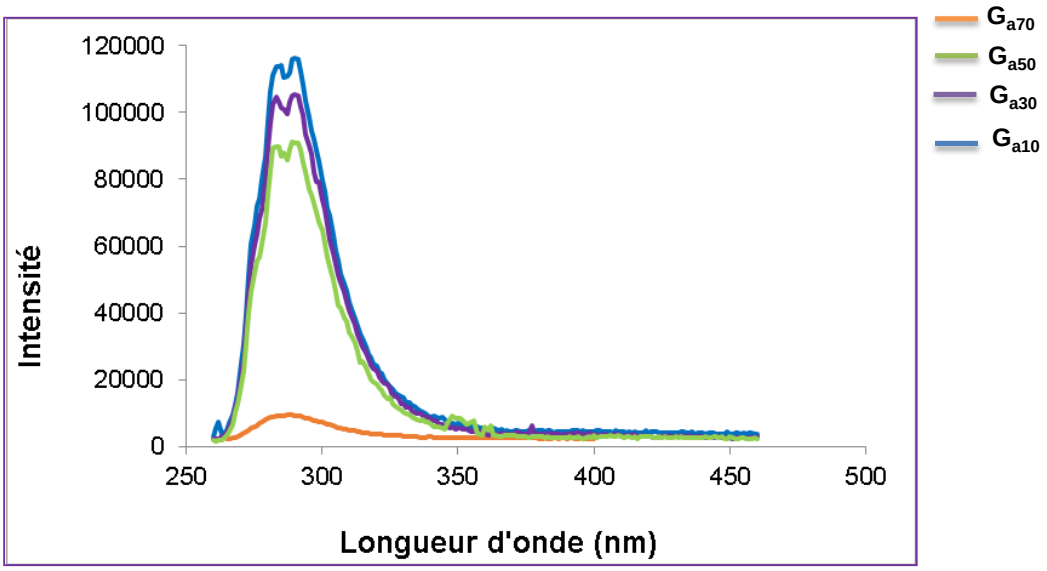


Figure 13 : Intensité de fluorescence en fonction de la longueur d'onde pour quatre systèmes : G_{a10}, G_{a30}, G_{a50} et G_{a70}.

Jusqu'à présent, nous nous sommes concentrés sur des systèmes utilisant 5 mg de gélifiant **A** pour un total de 2 mL de solvant. Dans la suite de ce travail, nous avons examiné quel pouvait être l'impact de la quantité de gélifiant sur les caractéristiques des échantillons obtenus.

III.2.3.2 Organogels aqueux. Evaluation de la capacité de gélification en fonction de la quantité de gélifiant utilisée.

Les essais précédents nous ont conduit à formuler 5 gels en partant de 5 mg de molécule **A** et en variant la composition du solvant (de 10 à 50 % v/v de DMSO). Dans ce paragraphe, nous nous intéressons à l'évaluation de la concentration minimale de gélification (CCG). Pour cela nous avons décidé de nous concentrer sur trois compositions de solvant correspondant à 10, 30 et 50 % v/v de DMSO, en nous fondant sur les observations précédentes. De cette façon, nos essais feront intervenir trois types de gels : un gel fort, représenté par le gel à 10 % v/v de DMSO, un gel de

force moyenne représenté par le gel à 30 % v/v de DMSO et finalement un gel faible, représenté par le gel à 50 % v/v de DMSO.

Pour la nomenclature des gels il a été ajouté au nom du gel déjà explicité un tiré suivi par la quantité de molécule utilisée (en mg). Ainsi, le gel contenant 10 % v/v de DMSO et 1 mg de molécule **A**, sera désigné par Ga_{10-1}. Nous allons donc commencer par les échantillons Ga_{10-x} (tableau 7). Pour cette série d'expériences, les mélanges ont été laissés au repos pendant deux jours, puis le troisième jour nous les avons retournés pour évaluer visuellement la force des gels.

Tableau 7 : Conditions de formulation et observations au cours du temps d'échantillons contenant 10 % v/v de DMSO et diverses quantités de molécule **A** (Volume total 2 mL).

<table>
<tr><th rowspan="2">Echantillon</th><th rowspan="2">Molécule (mg)</th><th rowspan="2">Molécule (mM)</th><th rowspan="2">Temps (min)</th><th rowspan="2">Formation de gel</th><th colspan="3">Apparences</th></tr>
<tr><th>1 jour</th><th>2 jours</th><th>3 jours</th></tr>
<tr><td>$Ga_{10-0,5}$</td><td>0,5</td><td>0,5</td><td>-</td><td>NON</td><td colspan="2" rowspan="4">Solution transparente</td><td rowspan="8">Ecoulement immédiat lors du retournement</td></tr>
<tr><td>Ga_{10-1}</td><td>1,0</td><td>1,1</td><td>-</td><td>NON</td></tr>
<tr><td>$Ga_{10-1,5}$</td><td>1,5</td><td>1,6</td><td>-</td><td>NON</td></tr>
<tr><td>$Ga_{10-2,0}$</td><td>2,0</td><td>2,2</td><td>-</td><td>NON</td></tr>
<tr><td>$Ga_{10-2,5}$</td><td>2,5</td><td>2,7</td><td>-</td><td>NON</td><td rowspan="4">Solution transparente</td><td rowspan="4">Suspension trouble</td></tr>
<tr><td>$Ga_{10-3,0}$</td><td>3,0</td><td>3,2</td><td>-</td><td>NON</td></tr>
<tr><td>$Ga_{10-3,5}$</td><td>3,5</td><td>3,8</td><td>-</td><td>NON</td></tr>
<tr><td>$Ga_{10-4,0}$</td><td>4,0</td><td>4,3</td><td>-</td><td>NON</td></tr>
<tr><td>$Ga_{10-4,5}$</td><td>4,5</td><td>4,9</td><td>5</td><td>OUI</td><td colspan="2" rowspan="2">Gel blanc opaque, homogène</td><td>Gel blanc opaque, démixtion de solvant</td></tr>
<tr><td>$Ga_{10-5,0}$</td><td>5,0</td><td>5,4</td><td>5</td><td>OUI</td><td>Gel blanc opaque, sans démixtion de solvant</td></tr>
<tr><td>$Ga_{10-7,0}$</td><td>7,5</td><td>8,1</td><td>5</td><td>OUI</td><td colspan="3" rowspan="3">Gel blanc opaque, particules de solide en excès</td></tr>
<tr><td>Ga_{10-10}</td><td>10</td><td>10,8</td><td>5</td><td>OUI</td></tr>
<tr><td>Ga_{10-13}</td><td>13</td><td>14,1</td><td>5</td><td>OUI</td></tr>
</table>

La quantité minimale nécessaire à la détection visuelle de la gélification a été estimée à 4,5 mg. Les échantillons $Ga_{10-4,5}$ et $Ga_{10-5,0}$ sont des gels qui présentent des comportements très similaires, tels qu'ils sont perçus visuellement.

En effet, ce sont des gels parfaitement stables et visuellement homogènes, c'est-à-dire qu'aucune particule de solide n'est piégée dans la matrice du gel. Par contre une différence apparaît entre eux au moment de l'évaluation de leurs forces par la méthode du retournement du pilulier. Nous avons pu remarquer que $Ga_{10\text{-}4,5}$ laisse s'écouler quelques gouttes de solvant, tandis que $Ga_{10\text{-}5,0}$ ne montre aucun phénomène similaire. Au-delà de 5 mg nous observons des gels qui semblent solides et très opaques, mais nous observons la présence des petites particules solides dans la matrice du gel. Ces échantillons semblent donc être des gels non homogènes. Avec 7,5 mg de molécule **A**, ces particules sont uniquement visibles à l'aide d'une loupe. En nous fondant sur ces résultats, nous avons décidé de prendre le gel $Ga_{10\text{-}5,0}$ comme système de référence.

Les observations avec les systèmes contenant 30 et 50 % v/v de DMSO ont révélé des tendances très similaires à celle des échantillons contenant 10 % v/v. Pour 30 % v/v de DMSO nous avons utilisé les mêmes quantités de molécule **A** que pour les échantillons contenant 10 % v/v de DMSO (entre 0,5 et 13 mg voir l'annexe 1). Des gels ont été observés pour tous les échantillons contenant entre 4,5 et 13 mg de molécule **A**, avec des temps de gélification d'environ 5 min. Dans l'échantillon contenant 7,5 mg de molécule **A** nous n'observons pas de particules de poudre prises au piège dans le gel, même avec une loupe. Par contre, des particules solides ont été observées dans les échantillons contenant entre 10 et 13 mg de molécule **A**. Les deux systèmes contenant 4,5 et 5 mg de molécule **A** nous ont à nouveau semblé les plus appropriés. Nous n'avons pas pu faire de différence entre ces deux systèmes, ni en termes d'aspect ni en termes de perte de solvant lors du retournement du pilulier (pas d'écoulement de solvant détecté). Nous avons donc retenu le gel $Ga_{30\text{-}5,0}$ comme gel de référence pour cette composition du solvant.

Pour les échantillons contenant 50 % v/v de DMSO, la quantité de molécule **A** a été variée entre 0,5 et 13 mg (avec un incrément de 0,5 mg d'un essai à l'autre, voir l'annexe 2). Nous n'avons pu détecter visuellement la formation d'un gel que pour des quantités de molécules **A** strictement supérieures à 4,5 mg. Entre 5 et 9,5 mg nous avons observé des gels stables. Pour les gels préparés avec des quantités de molécule **A** entre 10 et 13 mg, la présence de particules de poudre en excès dans le

gel a été détectée. Des gouttes de solvant ont été observées pour les gels entre 5,0 et 7,0 mg lors du retournement du pilulier. Pour les autres échantillons (7,5 – 13 mg) nous n'avons pas détecté ce phénomène. Pour la suite des expériences, nous avons choisi de conserver le gel $Ga_{50\text{-}7,5}$ et le gel $Ga_{50\text{-}5,0}$.

III.2.3.3 Organogels aqueux. Evaluation de la température de transition gel-sol « Tg ».

Nous avons évalué la température de transition gel-sol des échantillons retenus dans le paragraphe précédent. Pour cela nous avons fait appel à la méthode de la bille. Cette méthode consiste à mettre en surface du gel une toute petite bille en acier. L'ensemble est immergé dans un bain d'huile qui va être chauffé progressivement (figure 14). Le principe est de repérer la température à laquelle la bille tombe au fond du pilulier. Cette température sera considérée comme celle à laquelle l'échantillon subit une transition de l'état gel à l'état liquide.

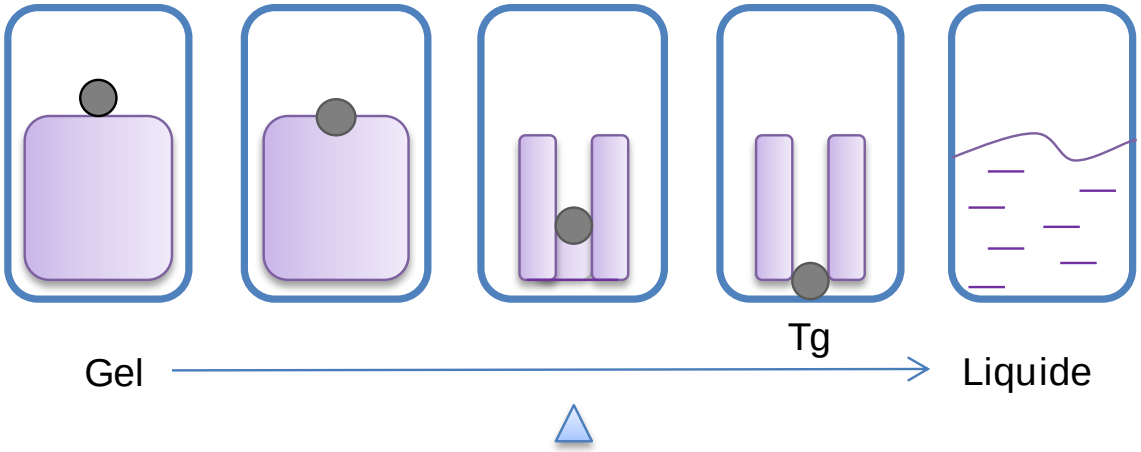
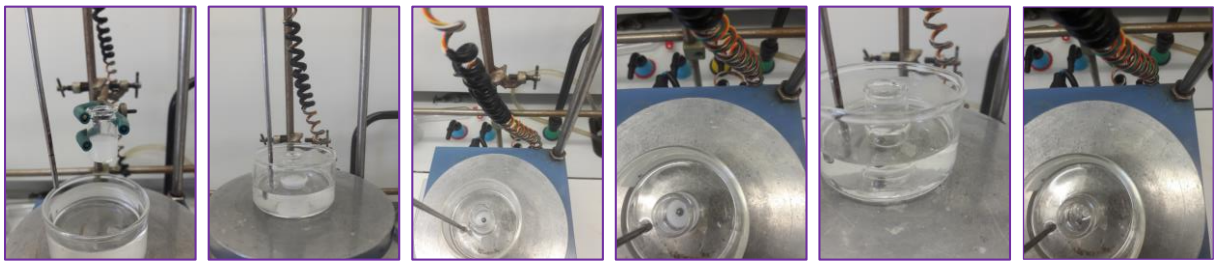


Figure 14 : Schéma explicatif de la méthode de la bille.

Cette méthode est très simple à mettre en œuvre mais assez imprécise. Il existe des paramètres très importants comme la rampe de température et l'homogénéité de chauffage qui peuvent s'avérer difficiles à contrôler (principalement à cause du rapport surface sur volume de l'échantillon). Par exemple pour Ga_{30}, nous avons pu observer différentes étapes d'effondrement : dans un premier temps vers 55 °C les zones de l'échantillon en contact avec la paroi commencent à devenir liquides alors qu'au centre du pilulier nous observons encore une fraction de gel qui maintient la bille en surface.

A mesure que la température augmente la proportion de liquide aux parois du pilulier est de plus en plus importante. Progressivement le volume de gel diminue mais la bille reste emprisonnée dans la fraction de gel qui reste. Nous observons l'effondrement total du gel vers 102 °C. Comme on peut le constater faire une évaluation précise de la Tg en utilisant cette méthode est impossible. En effet, dans le cas précis que nous venons d'évoquer, la plage de température totale de fusion du gel est très large. Il y a un écart de plus de 50°C entre le début de fusion et le moment où la bille touche le fond du pilulier (figure 15). Il faudrait dans ce cas déterminer un événement « standard » qui serait associé à la Tg. Cela peut être le moment où la bille commence à s'enfoncer dans le gel ou encore lorsqu'elle arrive au fond du pilulier. Par ailleurs, cette méthode donne des valeurs qui ne seront valables que pour un volume et une forme de gel donné.



20 °C 20 °C 25 °C 75 °C 95 °C 100 °C

Figure 15 : Système utilisé pour l'évaluation de la température de transition gel-sol à partir de la méthode de la bille.

Vu l'imprécision de la mesure nous avons décidé de pas aller plus loin. Des informations plus précises seront fournies en évaluant la Tg par rhéologie (chapitre IV).

III.2.3.4 Evaluation de la réversibilité des gels.

La gélification est un phénomène qui implique une transition de l'état liquide à l'état solide. Dans le cas des gels qui font l'objet de notre étude, cette transition a lieu grâce à l'assemblage de molécules via des interactions de faible énergie. Une transition inverse est tout-à-fait possible et peut être observée sous l'action de la température, de la lumière ou encore par l'application d'une contrainte mécanique,

c'est-à-dire par un apport d'énergie extérieur conduisant à rompre les assemblages. Cette capacité de passer d'un état à un autre en continu par une sollicitation extérieure est connue sous le nom de réversibilité [11]. Au contraire des gels chimiques, les gels physiques peuvent être réversibles car ce sont des interactions de faible énergie qui sont responsables de leur formation. Dans notre cas, la réversibilité thermique et mécanique a été plus particulièrement examinée.

Les gels ont été déstructurés par voie thermique en chauffant les piluliers avec un décapeur thermique (90 °C, figure 19). Le chauffage a été maintenu jusqu'à l'obtention d'une solution transparente puis, les échantillons ont été laissés à température ambiante.

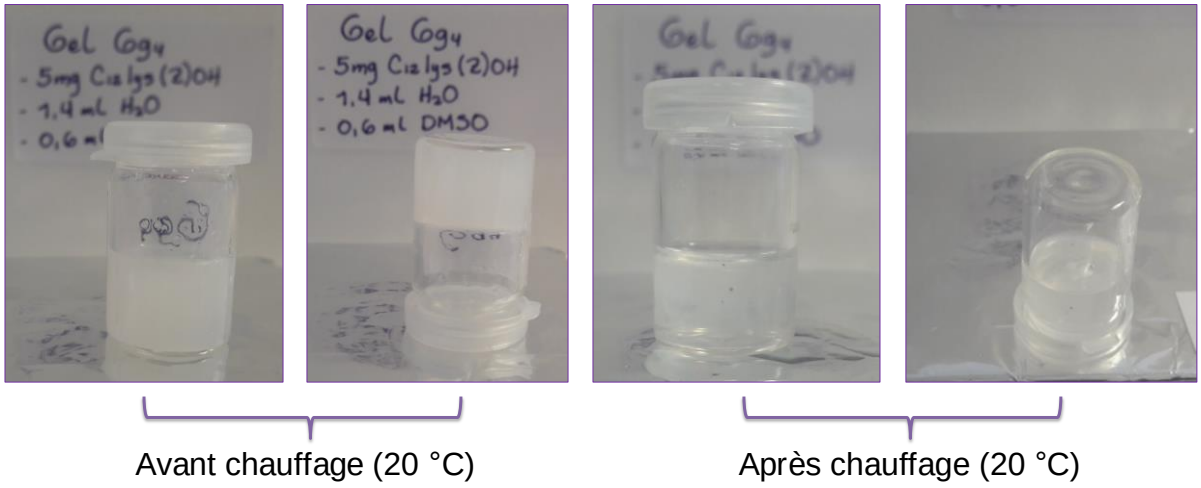


Figure 16 : Evaluation de la réversibilité thermique pour le gel Ga_{30}.

Ces échantillons ont fait l'objet d'observations régulières pendant une semaine. Aucun gel ne s'est reformé, nous avons observé des gels très faibles, nous pouvons dire que ce sont plutôt des suspensions troubles. De plus, le phénomène de démixtion est présent, nous observons une goutte huileuse qui se forme à la surface du gel durant le refroidissement.

Concernant la réversibilité mécanique la déstructuration des gels a été effectuée à l'aide d'une spatule. Nous avons donc mélangé les gels à la main. Dans tous le cas les gels ne sont pas revenus à leurs états initiaux. Au lieu de cela nous avons observé des morceaux des gels plongés dans du solvant.

Ces deux séries d'expériences nous indiquent que les gels obtenus avec la molécule **A** ne semblent pas réversibles, ni mécaniquement, ni thermiquement. Ainsi, les gels obtenus après l'étape de formulation semblent avoir des propriétés macroscopiques qu'il n'est pas possible de retrouver après une étape de chauffage ou bien l'application d'une contrainte mécanique.

III.2.4 Formulation d'hydrogels par dialyse des organogels aqueux.

Nous avons examiné la possibilité d'élaborer des hydrogels via la dialyse des organogels aqueux précédemment préparés. Pour cela il est nécessaire d'extraire le DMSO une fois le réseau tridimensionnel formé sans perdre le comportement de gel. La très faible solubilité dans l'eau de la molécule **A** semblait un élément favorable.

Le gel Ga_{30} a été choisi pour ces expériences. Une membrane avec un seuil de coupure de 12-14 kD a été utilisée. Nous avons préparé le gel dans le pilulier en suivant le protocole décrit précédemment. Après avoir préparé le mélange du gélifiant **A** avec le DMSO et l'eau, la solution résultante encore liquide a été ajoutée dans la membrane préalablement gonflée dans l'eau distillée pendant 30 min. L'ensemble a été laissé au repos pendant 5 min et puis plongé dans un bécher de 500 mL contenant de l'eau sous agitation magnétique. Nous avons laissé le système subir la dialyse pendant 24 h. Des changements réguliers de l'eau extérieure ont été effectués (au moins 4 fois pendant la journée). Après 24 h, nous avons enlevé la membrane et observé que son contenu apparaissait toujours comme un gel. En termes de caractéristiques physiques, il nous semble avoir un gel un peu plus opaque que celui observé avec Ga_{30}, solide et sans qu'aucun phénomène de démixtion n'ait été observé (figure 17). Donc, si nous arrivons à démontrer que le gel obtenu est constitué uniquement de l'eau et du gélifiant, nous allons pouvoir conclure que la dialyse est une méthode de formulation prometteuse pour l'obtention d'hydrogels à partir de la molécule **A**. Ce point sera discuté (et démontré) dans le chapitre V à l'aide de la spectroscopie Raman. Par ailleurs, le comportement rhéologique du gel ayant subi la dialyse sera caractérisé et comparé à celui du gel de départ, afin de conduire une comparaison plus quantitative (chapitre IV).

Enfin, notons à ce stade que la dialyse d'un organogel aqueux conduit à un résultat très différent de celui obtenu par un mélange direct de la molécule A avec de l'eau. Ceci suggère l'idée que les propriétés observées résultent d'une structuration du système étroitement liée à la procédure de préparation des échantillons. Ceci est aussi cohérent avec l'irréversibilité thermique et mécanique observée pour les organogels aqueux.

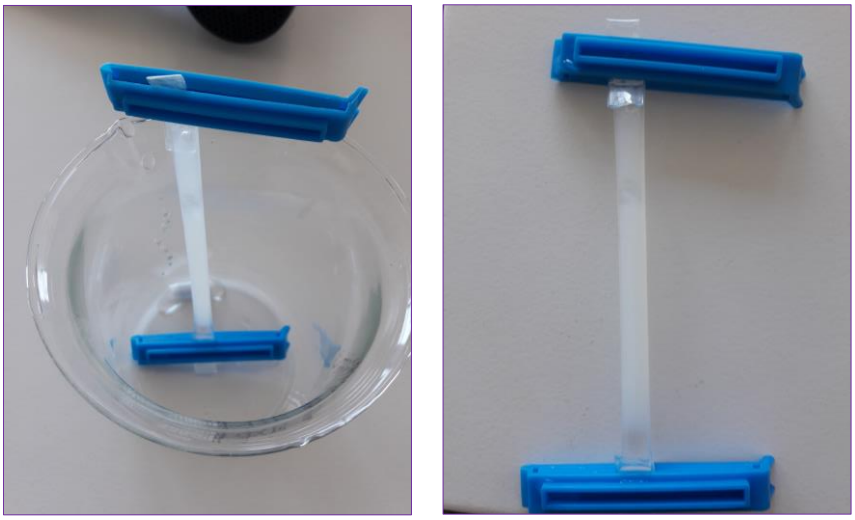


Figure 17 : Hydrogel obtenu après dialyse de l'échantillon G_{a30}.

III.2.5Organogels aqueux hybrides : moléculaires / macromoléculaires.

Notre objectif était d'évaluer l'impact de la présence d'un polymère non associatif sur la capacité de gélification des molécules **A**. Pour cela nous avons utilisé un échantillon commercial de dextrane, un polymère bactérien non ionique qui présente l'intérêt d'être à 25 °C soluble à la fois dans l'eau et dans le DMSO **[12, 13]**. Cet échantillon commercial a été caractérisé du point de vue de sa distribution de masses molaires par chromatographie d'exclusion stérique. Les valeurs obtenues sont de $8{,}8.10^4$ g/mol pour la masse molaire moyenne en nombre et $3{,}9.10^5$ g/mol pour la masse molaire moyenne en masse, soit une dispersité Đ = 4,4. Nous souhaitions avoir un échantillon de dextrane avec une masse molaire assez élevée de façon à pouvoir explorer tous les domaines de concentration (dilué, semi-dilué et concentré) en ajoutant des quantités raisonnables de polysaccharide. Les gels supramoléculaires

choisis pour cette évaluation sont Ga_{10} et Ga_{30}. Nous évoquerons ici seulement les résultats de Ga_{30}. Les résultats obtenus avec Ga_{10} sont très similaires (annexe 5).

Plusieurs quantités de dextrane ont été ajoutées, l'idée était d'évaluer la capacité de gélification dans trois domaines de concentration (dilué, semi-dilué et concentré). Dans la littérature, à partir d'expériences de rhéologie (classique ou micro-rhéologie), le comportement des solutions de dextrane (en particulier des solutions aqueuses) a été décrit comme délimité par deux concentrations critiques notées C* et C** [14]. Le domaine dilué (C < C*) correspond à des solutions peu visqueuses dans lesquelles les pelotes macromoléculaires sont séparées les unes des autres, chacune interagissant essentiellement avec le solvant. Pour des concentrations plus élevées, le domaine semi-dilué non enchevêtré (C* < C < C**) correspond à une situation où les pelotes macromoléculaires se recouvrent et se compactent. Enfin le domaine semi-dilué enchevêtré (C > C**) est celui dans lequel les pelotes macromoléculaires atteignent leurs dimensions non perturbées et s'enchevêtrent. A partir des résultats de la littérature, aussi bien pour les solutions aqueuses que pour les solutions organiques, les valeurs de C* et C** peuvent être estimées par les équations suivantes : $C^* \approx 2{,}5/[\eta]$ et $C^{**} \approx 10/[\eta]$ [14, 15]. Dans ces expressions, $[\eta]$ est la viscosité intrinsèque du dextrane dans le solvant considéré.

A partir des masses molaires moyennes de l'échantillon de dextrane et avec la relation de Mark-Houwink dans le DMSO à 25 °C, nous obtenons les estimations suivantes : $C^* \approx 55$ g/L et $C^{**} \approx 220$ g/L dans le DMSO à 25 °C. Les valeurs estimées de la même façon pour des solutions aqueuses sont très similaires [14, 15]. Nous admettrons dans ce qui suit que les mêmes valeurs sont également raisonnables pour les mélanges de solvant H_2O/DMSO.

En nous fondant sur ces résultats, nous pouvons qualifier les solutions initiales dans le DMSO et dans les solutions obtenues après addition de l'eau (Tableau 8) du point de vue du dextrane et en admettant que la présence de **A** n'apporte pas de modification significative.

Tableau 8: Concentration du dextrane initialement dans le DMSO (volume de 0,6 mL) et après addition de l'eau (volume total de 2 mL). Les couleurs indiquent le domaine de concentration : dilué, **semi-dilué non enchevêtré**, **semi-dilué enchevêtré**.

Masse de dextrane ajoutée (mg)	Concentration du dextrane (g/L)	
	DMSO	Mélange H_2O/DMSO (70:30 v/v)
< 10	< 17	5
20	33	10
40	67	20
60	100	30
80	133	40
160	267	80
240	400	120
360	600	180

Pour la nomenclature des gels hybrides nous avons conservé la racine **Ga** et ajouté la lettre **d** suivie par la quantité de dextrane utilisée. Ainsi, un gel contenant 5 mg de **A** et 1 mg de dextrane sera désigné par **Gad$_1$**.

Nous avons envisagé deux procédures de formulation :

1. Dissolution de **A** et du dextrane dans le DMSO maintenu en agitation pendant une nuit, puis ajout de l'eau.
2. Dissolution du dextrane dans l'eau sous agitation pendant une nuit (sol$_1$). Le lendemain, dissolution de **A** dans le DMSO (sol$_2$) ensuite, ajout de sol$_1$ goutte à goutte dans sol$_2$.

   Les observations des échantillons ont ensuite été poursuivies pendant 1 mois.

Les deux procédures de préparation ont généré des gels. D'après les observations il semble que le gel avec la deuxième procédure soit un peu plus faible. Nous avons choisi d'adopter la procédure 1 pour la formulation des gels hybrides.

De la même façon que pour les homologues ne contenant pas de dextrane quelques min (environ 5 min) ont été suffisantes pour observer la formation des gels.

Les résultats ont montré (tableau 9) pour toutes les quantités de dextrane ajoutées, des gels très stables, opaques et homogènes jusqu'à 240 mg de dextrane (figure 18).

Tableau 9 : Conditions de formulation et observation des organogels aqueux hybrides (volume total 2 mL).

Gels	Dextrane (mg)	Temps (min)	Apparences			
			1 jour	5 jours	15 jours	1mois
Gad_5	5	5	Gel blanc opaque, homogène. Sans évolution détectable dans le temps			
Gad_{10}	10	5				
Gad_{20}	20	5				
Gad_{80}	80	5				
Gad_{160}	160	5				
Gad_{240}	240	5				

5 mg 10 mg 20 mg 80 mg 160 mg 240 mg

Figure 18 : Images des gels hybrides : Gad_5, Gad_{10}, Gad_{20}, Gad_{80}, Gad_{160} et Gad_{240} (5 jours après la formulation).

A mesure que nous augmentons la quantité du polymère, le mélange du gélifiant **A** avec le dextrane dans le DMSO devient de plus en plus visqueux et plus compliqué à utiliser notamment lors du mélange avec l'eau.

Avec 360 mg de polymère, le mélange de **A** avec le dextrane gélifie la solution dans le DMSO. Nous nous attendions à observer ce comportement, car nos calculs indiquaient que nous étions dans le domaine semi-dilué enchevêtré de la solution dans le DMSO (Tableau 8). En termes de caractéristiques physiques, il est impossible de déceler visuellement une différence nette entre les gels supramoléculaires et les gels hybrides.

Malgré les ressemblances d'aspect entre les deux types de gels (supramoléculaires et hybrides), nous avons tout de même pu observer certaines différences lors de l'évaluation de la démixtion de solvant à travers le test du « retournement du pilulier ». Les piluliers ont été retournés un jour après leurs formulations. Pour tous les échantillons contenant entre 1 et 80 mg de polymère, la démixtion de solvant a été observée tout de suite après le retournement des piluliers. La démixtion de solvant pour les gels à 160 et 240 mg de dextrane n'a pas été testée. Si nous comparons ces résultats avec les résultats obtenus pour les gels supramoléculaires, les différences sont clairs. Considérons **Ga_{30}** (5 mg de **A**, 30 % v/v de DMSO) et **Gad_5** (5 mg de **A**, 5 mg de Dextrane, 30 % v/v de DMSO) : avec **Ga_{30}** nous détectons la perte de solvant au bout de 5 jours environs après le retournement, tandis qu'avec son homologue **Gad_5** nous détectons le même phénomène tout de suite après (figure 19). Ces résultats nous indiquent une perte de la capacité de gélification en présence du polymère au moins dans la zone diluée et semi diluée de la solution de polymère.

Ga_{30} Gad_5

Figure 19 : Démixtion de solvant : comparaisons entre les gels : **Ga_{30}** et **Gad_5**. Les gels ont été formulés et laissé en repos pendant deux jours, puis ils ont été retournés.

III.3 Gels supramoléculaires préparés avec la molécule B.

La molécule **B** a été utilisée en suivant les mêmes chemins de formulation que pour la molécule **A** : formulation directe d'hydrogels, formulation d'organogels aqueux DMSO/H_2O et formulation d'hydrogels par dialyse d'échantillons d'organogels aqueux.

III.3.1 Hydrogels.

Pour ces essais de formulation directe d'hydrogels, 5 mg de molécule **B** ont été mélangés avec 2 mL d'eau. Les étapes de la procédure de formulation sont exactement les mêmes que celles suivies pour **A**. Une application d'ultrasons pendant 3 min est suivie par le chauffage de la solution à 90 °C puis enfin son refroidissement jusqu'à la température ambiante. Des gels opaques ont été formés. Le phénomène de démixtion a encore été observé via la formation et la solidification d'une goutte en surface, de la même façon que pour **A** (figure 20). Ces résultats indiquent que la présence du chlore dans le cycle aromatique ne modifie pas les observations comparativement aux expériences réalisées avec la molécule **A**. Il nous a toutefois semblé que les hydrogels formulés avec **B** étaient plus faibles que leurs homologues préparés avec **A.**

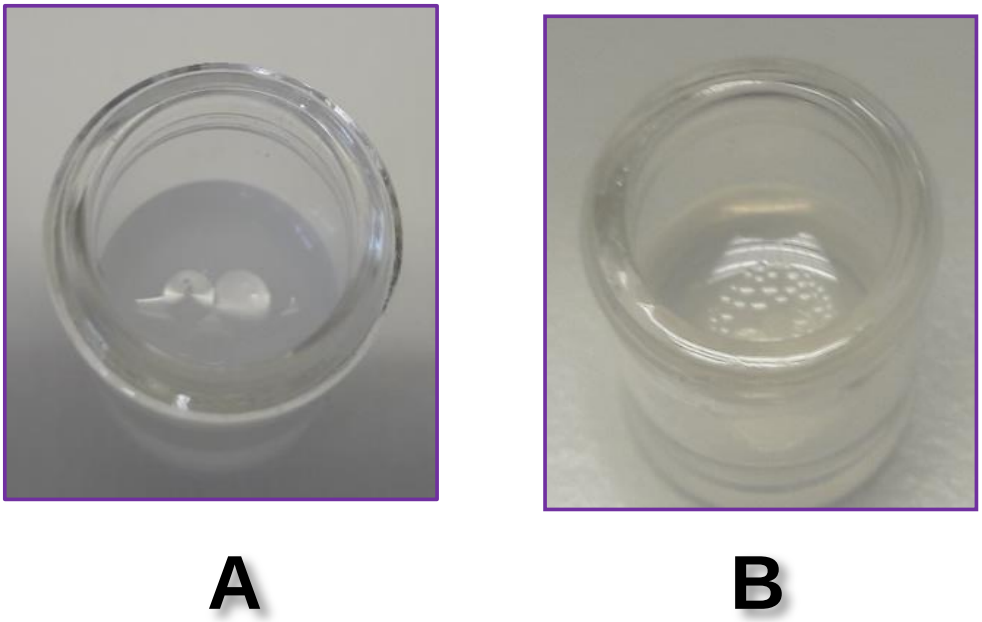


Figure 20 : Comparaison entre les hydrogels préparés avec **A** et **B.**

III.3.2 Organogels aqueux : DMSO/H_2O.

En nous fondant sur les expériences réalisées avec **A**, nous avons utilisé le mélange de solvant DMSO/H_2O. Un premier essai a été fait au cours duquel 5 mg de molécule **B** ont été dissous dans 0,3 mL de DMSO. Ensuite nous avons ajouté 1,7 mL d'eau et agité manuellement la solution résultante. L'échantillon a été laissé au repos pendant un jour à température ambiante. Le lendemain nous avons observé un gel opaque et d'apparence homogène sans démixtion d'une phase solide (figure 21).

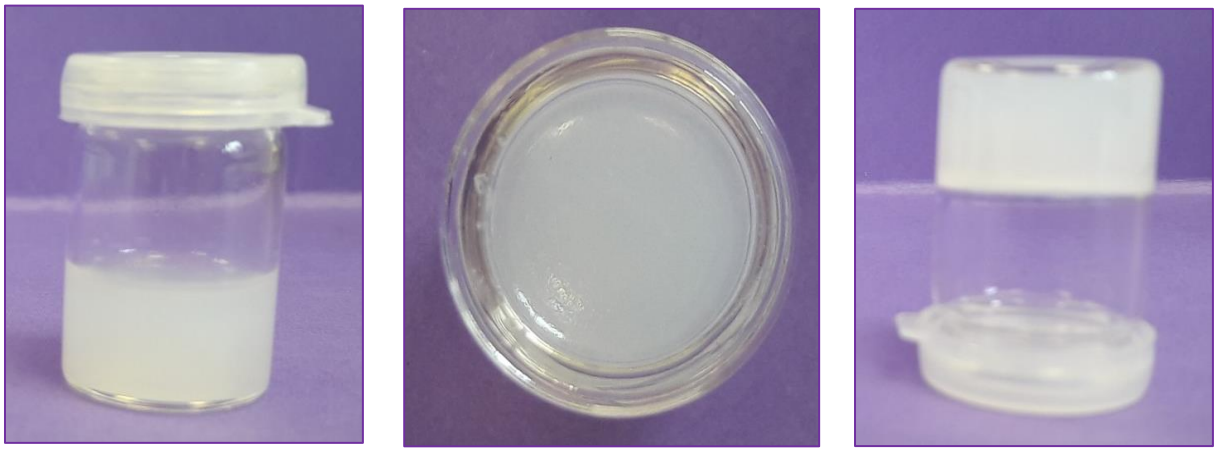


Figure 21 : Organogel aqueux formé à partir de 5 mg de la molécule **B**, de 0,3 mL de DMSO et de 1,7 mL d'eau.

A partir de ces premières observations encourageantes, nous avons étudié de façon systématique l'influence de la proportion de DMSO et de la quantité de molécule **B**.

III.3.2.1 Organogels aqueux. Evaluation de l'influence de la proportion de DMSO.

Nous avons fixé la quantité de molécule à 5 mg. Au total, 9 systèmes ont été préparés (tableau 10). Des gels ont été observés avec les échantillons contenant entre 10 et 40 % v/v de DMSO. Nous pouvons remarquer la perte d'une possibilité de gélification comparativement à la molécule **A** (un gel avait été obtenu avec 50 % v/v de DMSO). Pour **B** la tendance est donc qualitativement la même que celle observée avec **A** sauf que les gels sont visuellement beaucoup plus faibles sur tout l'intervalle de composition (10 à 40 % v/v de DMSO).

Tableau 10 : Conditions de formulations et observations faites pour les échantillons préparés avec la molécule **B** (volume total 2 mL).

Echantillons	H_2O (mL)	DMSO (mL)	Temps (heure)	Apparence			
				1 jour mois	2 jours	1 mois	3
Gb_{10}	1,8	0,2	24	Solution blanche opaque. 1 heure après la formulation, solution opalescente	Gel blanc opaque		Séparation de phases
Gb_{20}	1,6	0,4	24				
Gb_{30}	1,4	0,6	24		Gel blanc opaque	Séparation de phases	
Gb_{40}	1,2	0,8	24				
Gb_{50}	1,0	1,0	-		Solution moutonneuse		
Gb_{60}	0,8	1,2	-				
Gb_{70}	0,6	1,4	-	Solution transparente			
Gb_{80}	0,4	1,6	-				
Gb_{90}	0,2	1,8	-				

Des observations ont été effectuées pour tenter d'évaluer le temps de gélification. Pour cela, nous inclinons doucement le pilulier de façon de façon périodique jusqu'à l'obtention du gel. Vu la lenteur du phénomène, cette opération doit être faite très délicatement afin d'éviter au maximum que cette action externe puisse perturber la cinétique de gélification. Nous avons pu observer à l'œil nu que la formation des gels s'effectue, dans ces conditions, au bout de deux jours environ. En effet, à l'issue de cette période, il nous a semblé avoir des gels forts. Cependant un changement d'apparence a été remarqué dès la première heure après la formulation : les mélanges étaient blancs opaques immédiatement après la préparation et sont devenus translucides après une heure. Finalement, nous avons observé l'apparition de deux phases dans les piluliers, environ 5 jours après leurs formulations. Ces gels ne sont donc pas stables sur des durées dépassant quelques jours, et un phénomène de synérèse est même observé dans certains cas au bout de quelques mois (figure 22).

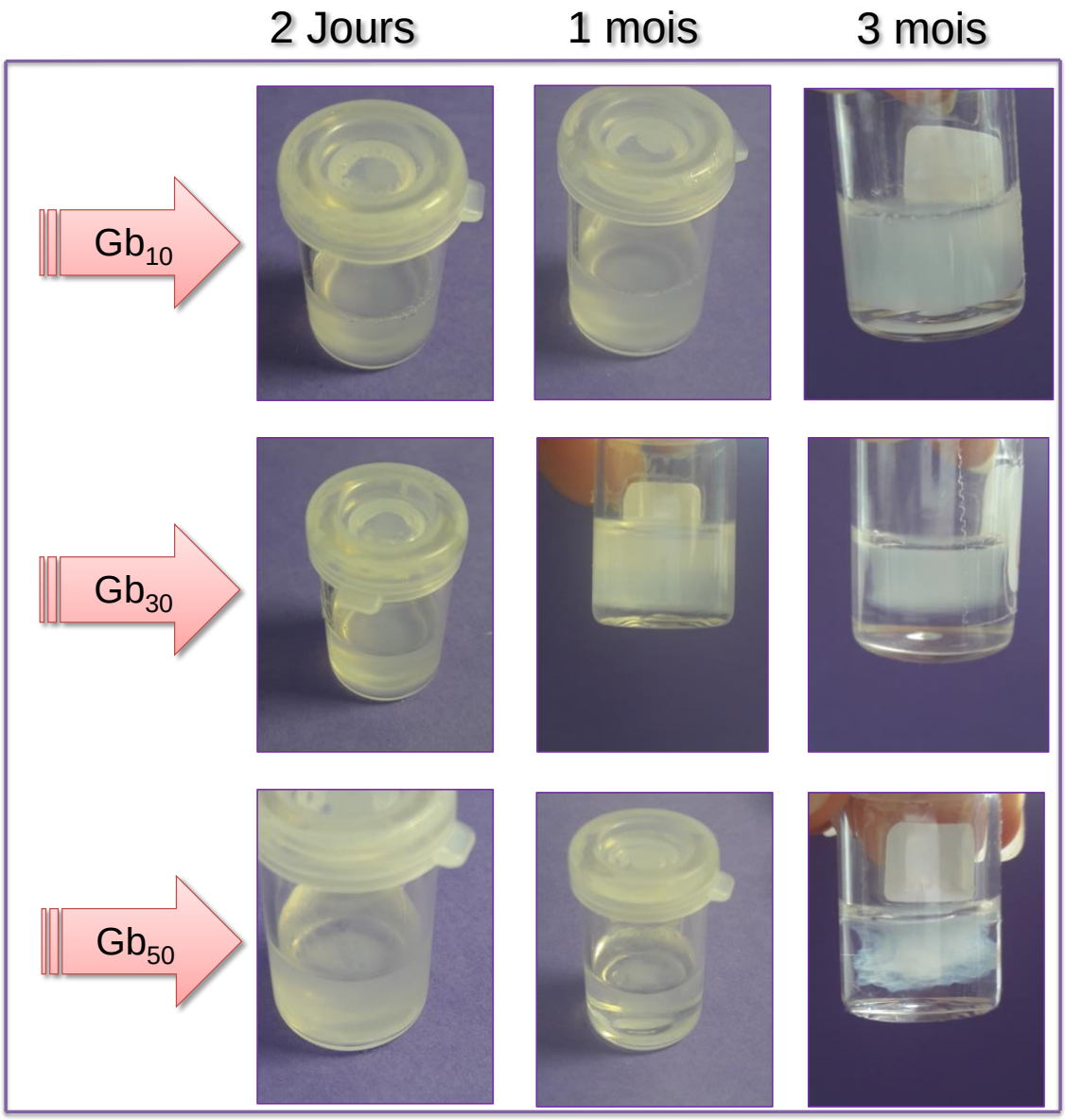


Figure 22 : Evolution dans le temps des organogels aqueux issus de la molécule **B**.

D'après les observations, et en prenant comme base les gels formulés à partir de **A**, nous pouvons dire que la présence de l'atome de chlore au sein du cycle aromatique modifie significativement l'assemblage des molécules à la fois dans sa cinétique de formation et dans sa cinétique d'évolution.

Il nous semble que sa présence impacte l'établissement d'interactions qui sont importantes pour la construction du réseau tridimensionnel. Nous pouvons penser aux interactions de type π-π stacking entre les cycles aromatiques. Il est possible que

l'atome de chlore gêne leur établissement et conduise ainsi à la formation de gels plus faibles. De plus, nous avons établi à l'aide de l'IR que la présence de l'atome de chlore avait un impact sur les signaux des groupements amide (chapitre II). Or ces derniers sont certainement impliqués dans la formation du gel supramoléculaire via l'établissement de liaisons hydrogène. Ces relations entre la structure des molécules et les propriétés des organogels seront discutées par la suite (chapitre V).

Même si ces premières observations nous ont indiqué que nous avons obtenu des gels assez faibles, nous avons appliqué à ces systèmes l'expérience de retournement du pilulier. Des différences de comportement ont pu être mises en évidence :

- **Gb_{10}** s'est écoulé tout de suite après le retournement.
- **Gb_{20}** nécessite environ 15 min avant de s'écouler totalement.
- **Gb_{30}** nécessite environ 4 heures avant de s'écouler totalement.
- **Gb_{40}** a un comportement similaire au Gb_{30} mais nous observons une petite démixtion de solvant tout de suite après le retournement.

Il nous semble donc, que les gels les plus forts sont Gb_{30} et Gb_{40}, car ils se maintiennent pendant 4 heures après le retournement des piluliers.

La température de transition gel-sol a été aussi évaluée. Comme pour les gels issus de **A** la méthode de la bille a été utilisée. Le gel Gb_{30} a montré un début d'écoulement sur les parois à 33 °C. Vers 64°C nous avons observé une transition de l'échantillon entier à l'état liquide. Nous ne reviendrons pas sur le manque de précision de la procédure expérimentale toutefois, nous pouvons retenir que le gel formulé avec la molécule **B** subit une transition vers l'état liquide à une température inférieure d'environ 40 °C à celle correspondant au gel formulé avec la molécule **A**. L'interprétation de cette observation rejoint la discussion précédente sur la modification des interactions entre molécules du fait de la présence de l'atome de chlore au sein de la molécule **B**.

Finalement, concernant la réversibilité des gels nous avons observé des systèmes non réversibles ni thermiquement ni mécaniquement. Pour la réversibilité thermique, le phénomène de démixtion a été à nouveau observé en chauffant les gels, ce qui se traduit par le fait que des gouttes liquides ont été observées en surface des gels. Concernant la réversibilité mécanique la déstructuration des gels a été effectuée de la

même façon que pour **A**, à l'aide d'une spatule. Les gels ne sont pas revenus à leurs états initiaux.

Les résultats précédents montrent une modification importante du comportement macroscopique en substituant un atome d'hydrogène (molécule **A**) par un atome de chlore (molécule **B**) dans le groupement Z. En effet, nous sommes passés d'une cinétique de gélification très rapide (5 min, molécule **A**) à des gels qui nécessitent 2 jours pour se former (molécule **B**). Par ailleurs, nous sommes passés de gels très stables et forts (molécule **A**) à des gels beaucoup plus faibles qui évoluent sur des durées de quelques heures (molécule **B**).

III.3.2.2 Organogels aqueux. Evaluation de la capacité de gélification en fonction de la quantité de gélifiant.

Pour évaluer la capacité de gélification en fonction de la quantité de molécule **B** utilisée, nous avons décidé d'examiner, comme pour **A**, des échantillons avec deux proportions de solvant, 10 et 30 % v/v de DMSO. Pour commencer nous avons évalué l'effet de la concentration pour 10 % v/v de DMSO (annexe 3). Des quantités de molécule entre 4,5 et 10 mg ont été utilisées en augmentant de 0,5 mg par système. Un système contenant 13 mg de molécule **B** a été aussi étudié. La nomenclature est similaire à celle utilisée avec **A** (échantillons dénommés Gb_{10-x}).

Dans tout l'intervalle de quantité de molécule **B** examiné nous observons la formation de gels. Pour ces expériences, nous avons constaté qu'une journée est suffisante pour l'obtention des gels. De la même façon que pour les échantillons homologues (autres proportions de DMSO), les observations ont été délicates à faire à cause de la faiblesse des gels obtenus. Nous constatons qu'en augmentant la quantité de molécule **B** nous avons des gels de plus en plus forts et opaques. Ces observations sont compatibles avec l'idée que de plus en plus de molécules sont impliquées dans la formation du réseau tridimensionnel.

Nous n'avons pas observé de particules de poudre dans la matrice du gel pour 10 et 13 mg de molécule **B**. Pour l'ensemble des échantillons, un phénomène de séparation de phases a été repéré une semaine après la formulation, confirmant ainsi une évolution des gels à l'échelle de quelques jours suivant leur préparation.

De plus, nous pouvons dire que 7 mg de molécule est la quantité minimale nécessaire pour avoir un gel fort pour les échantillons contenant 10 % v/v de DMSO. En plus, ces gels ne donnent lieu à un phénomène de démixtion de solvant qu'après 2 heures. Pour 30 % v/v de DMSO, une tendance similaire a été repérée (annexe 4). Les gels deviennent plus opaques et plus forts en augmentant la quantité de molécule **B**. Des temps assez long comparativement à ce qui avait été observé avec la molécule **A**, environ un jour, ont été nécessaires pour obtenir des gels. D'après nos observations, il nous semble qu'avec 30 % v/v de DMSO les gels sont plus forts et plus stables que ceux contenant 10 % v/v de DMSO. La démixtion de solvant ne survient que 4 heures après la formulation. En général, nous pouvons dire que la quantité minimale de molécule **B** nécessaire pour obtenir un gel fort est de 5 mg pour 30 % v/v de DMSO.

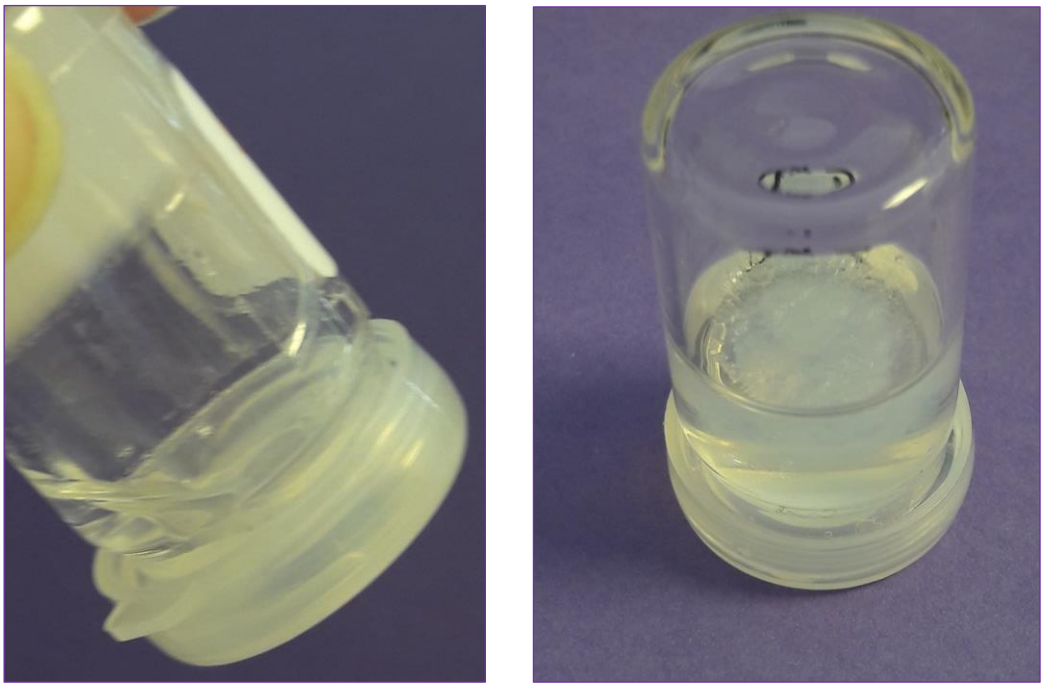
III.3.3 Formulation d'hydrogels par dialyse des organogels aqueux.

Nous avons, comme avec **A**, tenté d'obtenir des hydrogels en utilisant la dialyse. Le gel $Gb_{30\text{-}5}$ a été préparé, puis dialysé en procédant de la même façon que pour le gel $Ga_{30\text{-}5}$. Le choix de $Gb_{30\text{-}5}$ est basé sur le fait qu'avec 30 % v/v de DMSO, nous avons eu des gels plus stables qu'avec 10 % v/v. L'unique différence avec la procédure utilisée pour le gel $Ga_{30\text{-}5}$ est le temps nécessaire pour former le gel avant de commencer la dialyse dans l'eau. Avec **B**, le gel a été laissé pendant 2 heures (5 min avec **A**) avant de démarrer la dialyse. Ce temps a été choisi suite aux résultats obtenus en rhéologie (chapitre IV). A la suite de la dialyse nous n'observons pas de dissociation du gel. Au contraire, nous avons toujours un gel qui nous semble plus fort qu'avant l'étape de dialyse.

III.3.4Organogels aqueux hybrides moléculaires / macromoléculaires.

Pour la molécule **B** nous avons étudié la capacité de gélification dans la zone diluée de polymère avec 10 et 30 % v/v de DMSO. Ici nous nous concentrons sur les gels à 30 % v/v de DMSO (annexe 5). Nous avons formulé 10 gels contenant 5 mg de molécule **B** et des quantités de dextrane comprises entre 1 et 10 mg.

Nous avons obtenu des mélanges blancs opaques tout de suite après le mélange des constituants. Ces mélanges sont devenus opalescents avec la formation des gels au bout d'un jour. Les gels obtenus semblent plus faibles comparés aux échantillons homologues ne contenant pas dextrane. Par ailleurs, nous pouvons observer une cinétique d'évolution plus rapide. Pour les gels avec la molécule **B** seule, la séparation de phase a été observée cinq jours après la formulation. Dans le cas des gels hybrides, cette évolution des échantillons a été observée seulement deux jours après la formulation. Pour confirmer ces observations, nous avons effectué le test du retournement du pilulier. Tous les gels formulés se sont écoulés immédiatement après le retournement, ce qui confirme que les gels formés en présence du polymère sont beaucoup plus faibles que lorsque la molécule **B** est seule au sein du mélange de solvants. En comparant aux observations faites pour **A** nous constatons que des gels plus forts étaient obtenus avec **A** en présence du polymère (figure 23). Finalement, la réversibilité des gels a été examinée. Nous n'avons pas observé de réversibilité ni thermique ni mécanique.



Gad_{-5} Gbd_{-5}

Figure 23 : Comparaison des gels : Gad_{-5} et Gbd_{-5} (Les retournements a été fait 1 jour après la formulation).

III.4 Gels supramoléculaires préparés avec la molécule C.

III.4.1 Hydrogels

Dans un premier temps des hydrogels ont été formulés par une procédure directe de mélange de la molécule **C** avec de l'eau. Comme précédemment, 5 mg de molécule ont été mélangés avec 2 mL d'eau dans un pilulier. Ce mélange a subi trois min d'application d'ultrasons puis un chauffage pendant quelques min à 90 °C. Cependant, la dissolution complète du solide, même après dix minutes de chauffage, s'est avérée impossible. Vu ce comportement et en considérant les risques de dégradation de la molécule lors de ce chauffage assez vif, nous avons abandonné la préparation directe d'hydrogels et examiné la formulation d'organogels dans un mélange DMSO/H_2O. La formulation des hydrogels via la dialyse des organogels n'a pas été examinée avec la molécule **C**, notamment du fait de difficultés pratiques qui apparaîtront dans la suite.

III.4.2 Organogel aqueux : DMSO/H_2O

La formulation des organogels a été effectuée en conservant la procédure réalisée pour **A** et pour **B** et en l'appliquant d'abord aux échantillons contenant 30 % v/v de DMSO. Plus précisément : 5 mg de molécule ont été dissous dans 0,6 mL de DMSO dans un pilulier de 3 mL. Ensuite nous démarrons l'ajout de 1,4 mL d'eau, mais nous avons observé qu'après l'addition de 3 à 4 gouttes d'eau, la formation d'un gel était déjà effective et rendait impossible la poursuite de l'addition de la quantité d'eau prévue (figure 24).

Expérimentalement, nous avons observé que chaque goutte qui entre en contact avec la solution de molécule **C** dans le DMSO a la capacité de gélifier l'endroit où elle entre en contact.

Le mélange hétérogène résultant a été chauffé jusqu'à dissolution totale de la molécule **C** (quelques secondes ont été nécessaires). Au cours du refroidissement nous avons observé la formation d'un gel qui nous a semblé visuellement uniforme.

Pour la procédure de préparation des gels, nous avons décidé de commencer par ajouter la quantité totale d'eau à savoir 1,4 mL dans les 0,6 mL de solution de **C** dans le DMSO, puis de chauffer le pilulier. Cela nous permet d'avoir plusieurs étapes

communes aux procédures utilisées pour **A** et **B** et donc de pouvoir comparer plus facilement.

Ces expériences nous ont indiqué que la molécule **C** semblait conduire à la formation très rapide d'un gel et même en présence d'une très faible quantité d'eau.

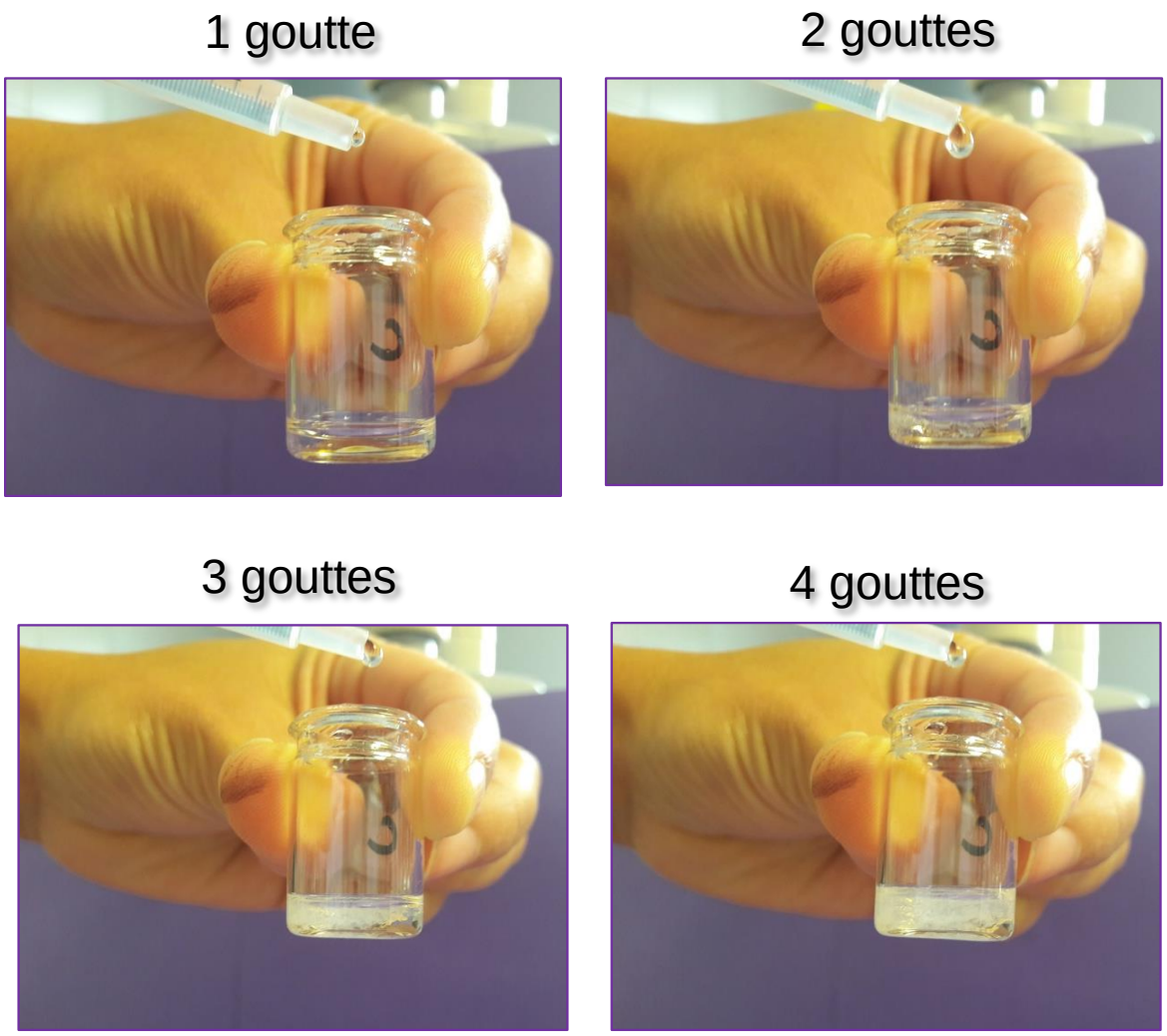


Figure 24 : Gélification de la molécule **C** après l'addition de quelques gouttes d'eau.

Ces expériences préliminaires ont révélé un comportement très différent des échantillons préparés avec la molécule **C**. Il a été nécessaire de modifier en conséquence la procédure de formulation. Par la suite nous avons examiné l'influence de la proportion de solvant.

III.4.2.1 Organogel aqueux. Evaluation de l'influence de la proportion de solvant.

L'influence de la proportion de solvant a été examinée en utilisant des proportions de DMSO variant entre 10 et 100 % v/v. La quantité de molécule **C** a été fixée à 5 mg et le volume total du mélange de solvant à 2 mL (tableau 11).

Les résultats ont montré la formation de gels pour des mélanges contenant entre 10 et 40 % v/v de DMSO, mais avec la particularité que des morceaux de poudre restaient non solubilisés dans les matrices des gels. En effet, pour tous ces échantillons, nous ne sommes pas arrivés à dissoudre toute la molécule, même avec des temps longs de chauffage.

Tableau 11 : Conditions de formulation et observations effectuées pour les échantillons contenant la molécule **C** (5 mg dans tous les cas, volume total 2 mL).

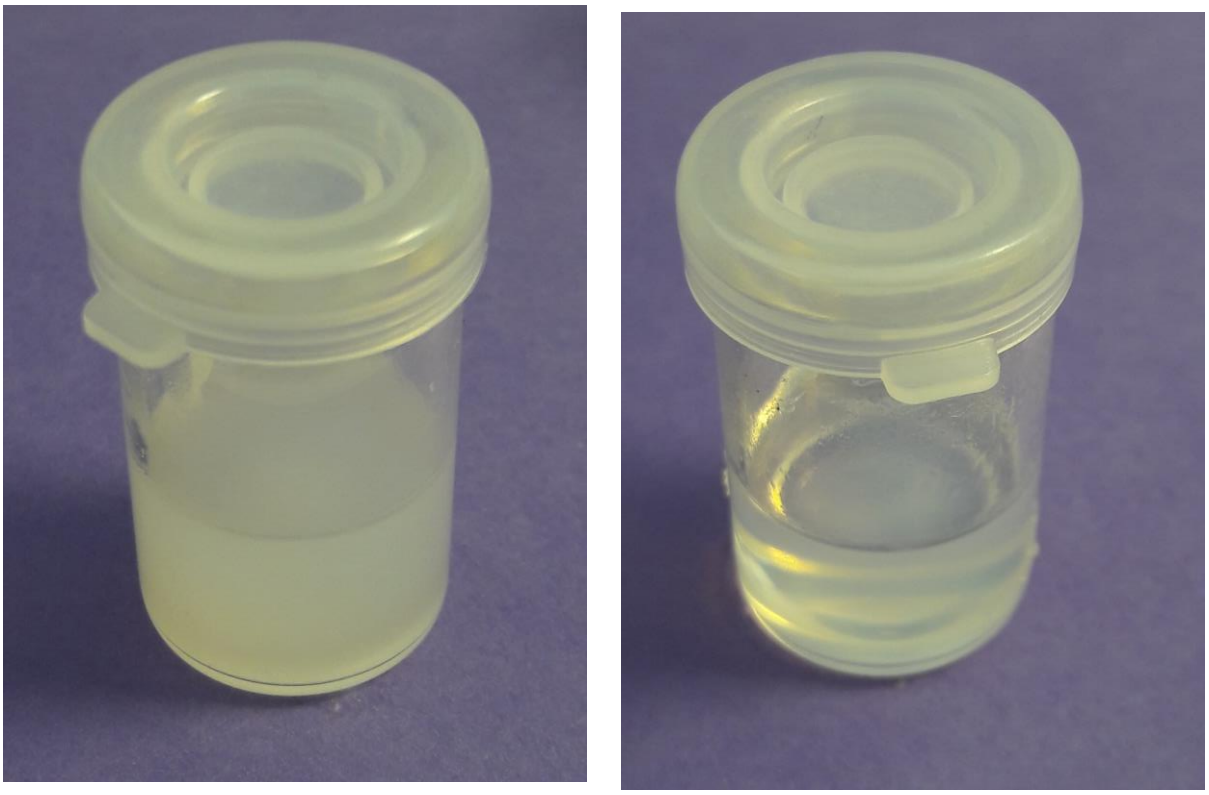
Echantillons	H_2O (mL)	DMSO (mL)	Temps (min)	Apparence			
				1 jour	2 jours	1 mois	3 mois
Gc_{10}	1,8	0,2	3	Gel blanc opaque avec des particules solides			
Gc_{20}	1,6	0,4	3				
Gc_{30}	1,4	0,6	3				
Gc_{40}	1,2	0,8	3				
Gc_{50}	1,0	1,0	3	Gel blanc opaque			
Gc_{60}	0,8	1,2	3				
Gc_{70}	0,6	1,4	-	Solution Translucide			
Gc_{80}	0,4	1,6	-				
Gc_{90}	0,2	1,8	-				

Nous avons remarqué que la quantité de molécule non solubilisée est moins importante en augmentant la proportion de DMSO. Par exemple, des gros morceaux ont été observés pour 10 % v/v, tandis que pour 40 % v/v les morceaux sont devenus beaucoup plus petits (figure 25). Même si ces systèmes gélifient nous ne pouvons pas dire que ce sont des gels homogènes.

Gc_{10} Gc_{40}

Figure 25 : Comparaison des gels Gc_{10} et Gc_{40} après refroidissement à température ambiante (l'aspect est le même à chaud).

Des gels homogènes ont été observés entre 50 et 60 % v/v de DMSO (figure 26). Ces sont des gels qui nous semblent moins forts et moins opaques que les homologues préparés avec **A**. Après trois mois d'observation nous n'avons remarqué aucune modification apparente de ces gels. En retournant le pilulier on a observé la démixtion de solvant environ une heure après la formulation. En termes de cinétique de gélification nous avons pu voir des cinétiques très rapides, trois minutes ont été suffisantes pour avoir le gel. Par ailleurs, ces gels se sont montrés thermiquement réversibles mais pas thixotropes. Finalement, pour les échantillons dont la composition varie entre 70 et 100 % v/v de DMSO, nous avons observé des solutions transparentes.



Gc_{50} Gc_{60}

Figure 26 : Organogels aqueux Gc_{50}. et Gc_{60}.

D'après ces observations il semble que le côté C-terminal de la molécule a un rôle très important dans la construction de l'édifice supramoléculaire. La transformation de la fonction acide carboxylique en fonction hydrazide nous amène à des résultats très différents de ceux observés avec les molécules **A** et **B**.

L'intervalle de proportions DMSO/H_2O permettant l'obtention de gels homogènes, sans excès de gélifiant non dissous, est plus réduit que pour **A** et **B**. Cependant, les gels obtenus avec **C** présentent une réversibilité en température, ce qui n'avait été observé ni avec **A**, ni avec **B**.

L'évaluation de la température de transition gel-solution en utilisant la méthode de la bille a montré qu'une transition complète de l'état gel vers l'état liquide était atteinte à 85 °C.

III.4.2.2 Organogel aqueux. Influence de la quantité de molécule utilisée.

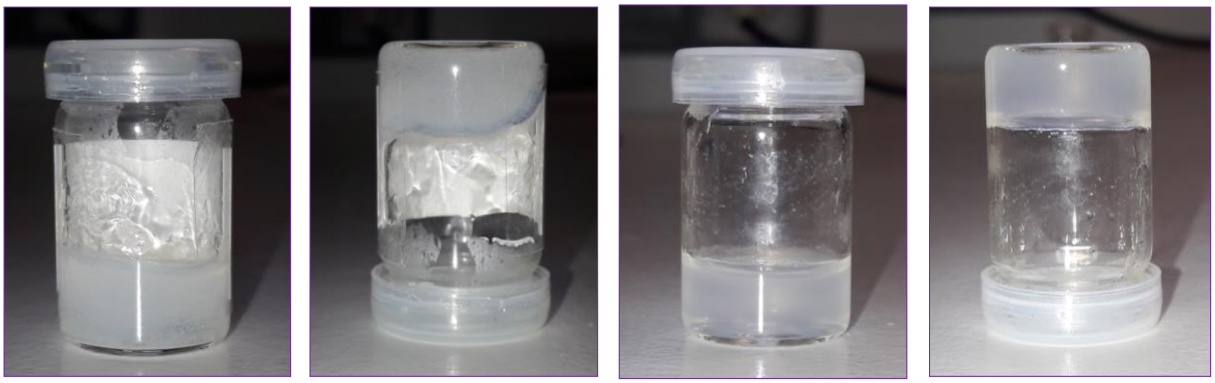
Nous avons commencé par examiner le système à 10 % v/v de DMSO. Le choix a été fait en supposant que 5 mg de molécule représente une quantité trop importante et que par conséquent nous ne réussissons pas à tout dissoudre. En nous basant sur cette hypothèse des mélanges ont été formulés avec des quantités comprises entre 0,5 et 4,5 mg de molécule **C** en incrémentant de 0,5 mg d'un mélange à l'autre. Pour tous les systèmes formulés, la dissolution totale de la molécule s'est révélée impossible. En augmentant la quantité nous observons des temps de gélification moins importants et des gels hétérogènes de plus en plus forts. Par exemple avec 0,5 mg de molécule la gélification est détectée au bout de 30 min et le gel semble très faible avec des morceaux de solide. Par contre, l'échantillon contenant 5 mg de molécule ne nécessite que 5 min pour gélifier et correspond à un gel plus fort mais toujours avec des morceaux de solide non solubilisés dedans.

Nous nous sommes ensuite concentrés sur les systèmes préparés avec 50 % v/v de DMSO. Comme précédemment, nous avons préparé des mélanges contenant entre 0,5 et 5 mg de molécule **C**. Des gels ont été observés pour toutes les compositions. Entre 0,5 et 1,5 mg de molécule **C**, dix minutes ont été nécessaire pour avoir les gels. A partir de 2,0 mg les gels ont été formés en moins de cinq minutes. Tous les mélanges ont conduit à des caractéristiques physiques très similaires : des gels opalescents et stables dans le temps (annexe 7).

Comme nous nous y attendions, des gels plus forts ont été observés à mesure que nous augmentons la quantité de molécule **C**. Même si des quantités plus faibles semblaient possibles, nous avons fixé la quantité de gélifiant à 5 mg afin de pourvoir établir des comparaisons en termes de propriétés physico-chimiques avec les gels homologues obtenus avec la molécule **A** (qui ne diffère de *C* que par une modification fonctionnelle de l'extrémité C-*term*).

Par ailleurs, en retournant les piluliers, une démixtion de solvant plus importante est observée pour le gel contenant 2 mg de molécule **C** que pour celui contenant 5 mg de molécule **C**. Tout comme pour **A** et **B**, les piluliers ont été retournés le troisième jour après l'étape de formulation.

Les gels ont été chauffés pour évaluer la réversibilité thermique. Dans tous les cas les gels se sont montrés thermiquement réversibles, du moins sur la base des examens visuels réalisés (figure 27). Concernant la réversibilité mécanique nous n'avons observé ce phénomène pour aucun de ces échantillons.



Avant chauffage (20 °C) Après chauffage (20 °C)

Figure 27 : Réversibilité thermique de l'organogels Gc_{50}.

III.4.3 Organogels aqueux hybrides moléculaires/ macromoléculaires.

Des gels hybrides ont été formulés avec la molécule **C**. Comme pour **B**, nous avons seulement évalué la zone diluée du polymère, c'est-à-dire avec des quantités de dextrane comprises entre 1 et 10 mg. La quantité de molécule **C** a été fixée à 5 mg et la procédure de formulation est exactement la même que pour **A** et **B** mais avec la différence que nous devons chauffer une fois l'ajout de l'eau terminé.

Nous avons pu constater que la capacité de gélification de la molécule **C** ne se voit pas affectée par la présence du dextrane. Des gels hybrides ont été observés pour toutes les quantités de polymère entre 1 et 10 mg. Ces sont des gels stables dans le temps et en termes de comportement mécanique ils semblent très similaires aux gels supramoléculaires contenant **C** uniquement. Par contre l'apparence des gels diffère car ceux-ci nous semblent plus opaques que ceux obtenus avec la molécule **C** seule.

La cinétique de gélification n'a pas été modifiée de façon décelable par la présence du polymère. Nous avons toujours des gels qui se forment en moins de 5 min. La méthode de retournement des piluliers a été utilisée pour évaluer la démixtion

de solvant et pouvoir comparer la force des gels. Nous avons pu observer que les gels hybrides ne donnent lieu à une démixtion de solvant qu'au bout d'un jour. Si nous comparons ces résultats avec les résultats observés pour les gels avec la molécule **C** seule, nous pouvons dire que les gels hybrides semblent plus forts que les gels supramoléculaires.

III.5 Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons décrit la préparation de différents gels formulés : des organogels aqueux, des organogels aqueux hybrides supra- et macromoléculaires et des hydrogels obtenus par dialyse d'organogels aqueux. Les observations au cours du temps ont donné une description détaillée du comportement physique des gels tel qu'il est perçu visuellement : la cinétique de gélification, la réversibilité thermique ou mécanique, la température de transition gel-sol, le vieillissement des gels éventuellement accompagné de phénomènes de démixtion, les apparences (limpides, troubles…).

Nous avons démontré que des comportements totalement différents étaient observés à la suite de modifications structurales de certains groupements fonctionnels des dérivés de lysine.

Les différences de capacité de gélification des trois molécules étudiées apparaissent en regroupant l'ensemble des résultats (figures 28, 29 et 30). Ainsi, la molécule **A** conduit à 5 gels forts et stables dans la durée jusqu'à 50 % v/v de DMSO, tandis qu'avec la molécule **B**, des gels assez faibles et instables sont obtenus jusqu'à 40 % v/v de DMSO. En termes de temps de gélification la présence d'un atome de chlore en position 2 du cycle aromatique au sein de la molécule **B** conduit à des temps de gélification assez long (environs 2h) alors qu'avec la molécule **A** tous les gels se sont formés en 5 min. L'utilisation de la molécule **C** conduit à la formation de gels homogènes dans un domaine de composition beaucoup plus restreint entre 50 et 60 % v/v de DMSO. De plus, avec la molécule **C**, des temps de gélification assez courts d'environ 3 min ont été observés. Finalement, avec la molécule **C** nous avons obtenus des gels thermiquement réversibles, ce qui n'a pas été observé pour **A** et **B**. Ces observations confirment que le remplacement de la fonction acide carboxylique par une fonction hydrazide modifie de façon significative le phénomène de gélification.

Malgré toutes les informations que nous avons pu collecter en nous fondant sur de simples observations, il est nécessaire d'aller plus loin et donc de faire appel à des techniques de caractérisation quantitative des propriétés rhéologiques et de la structuration multi-échelle des échantillons. Ces points feront l'objet des deux chapitres suivants.

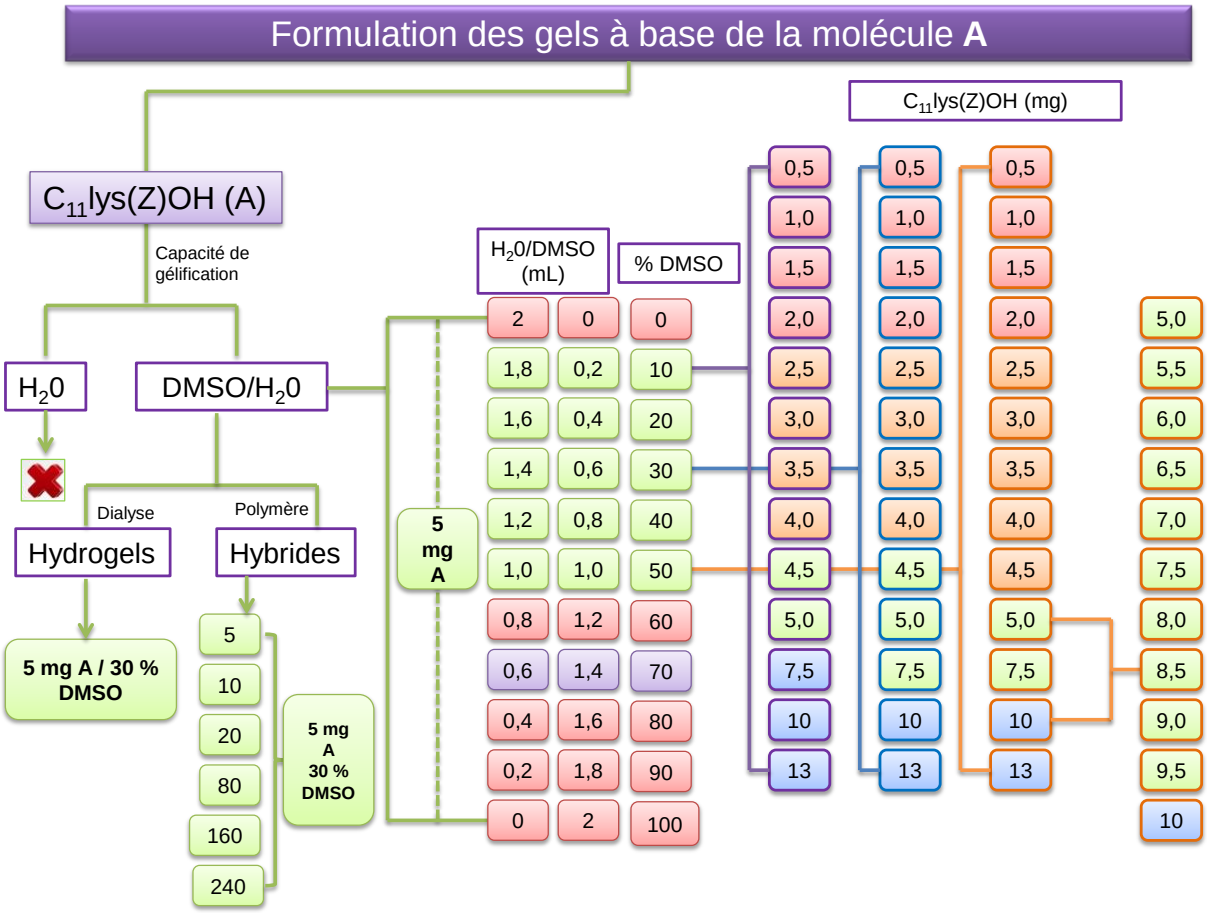


Figure 28 : Résumé de l'ensemble des mélanges formulés avec la molécule **A**. En vert tous les systèmes qui ont gélifié. En orange tous les systèmes qui ont un aspect moutonneux. En bleu tous les systèmes qui ont gélifié mais où la présence de particules solides est détectée. En violet le système qui a montré la formation des cristaux. En rouge tous les systèmes qui n'ont pas gélifié.

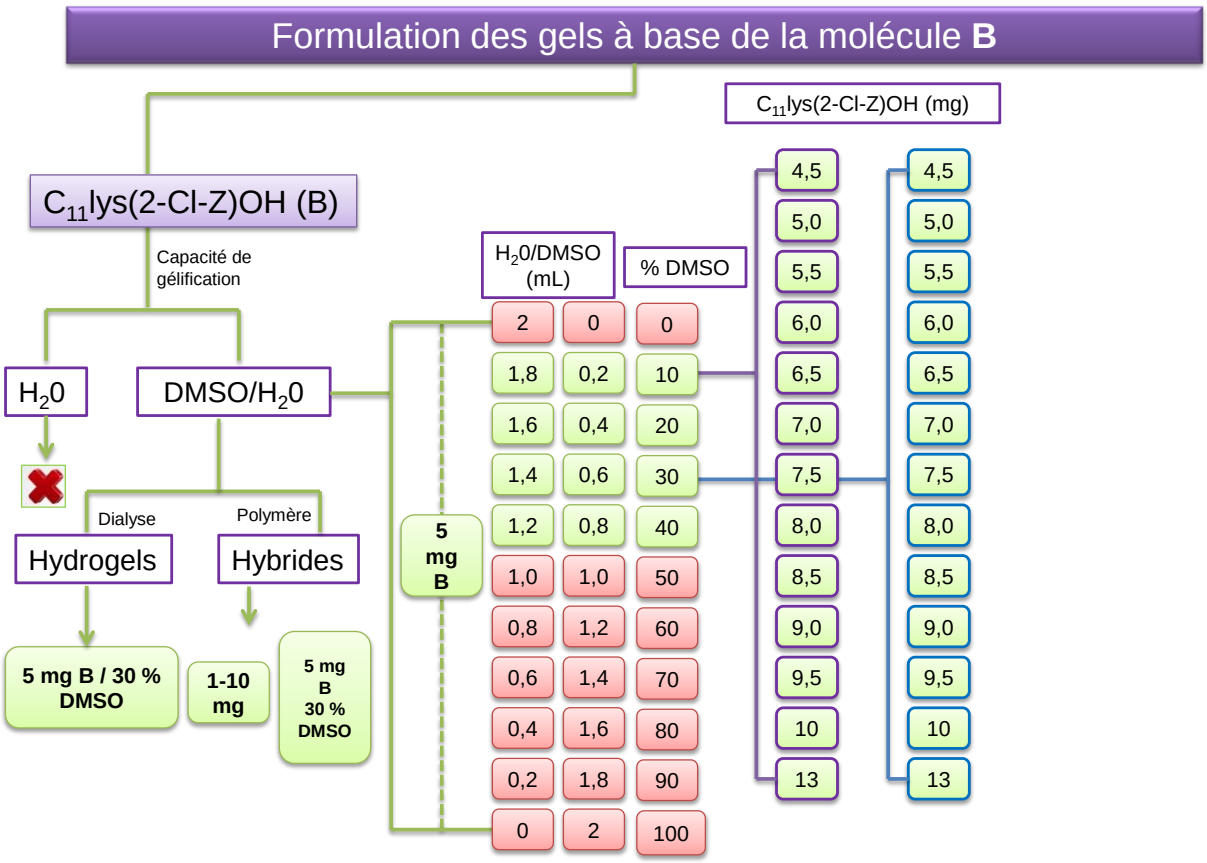


Figure 29 : Résumé de l'ensemble des gels formulés à partir de la molécule **B**. En vert tous les systèmes qui ont gélifié. En rouge tous les systèmes qui n'ont pas gélifié.

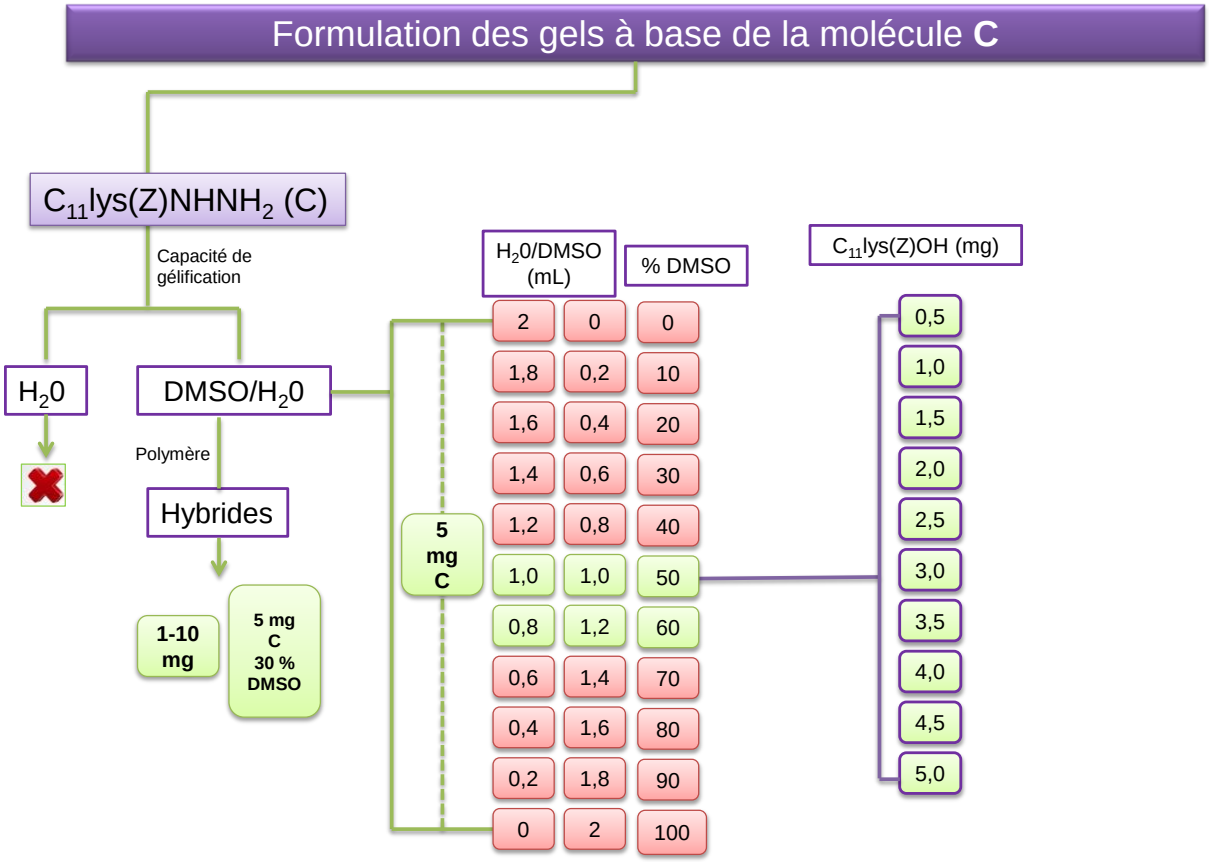


Figure 30 : Résumé de l'ensemble des gels formulés à partir de la molécule **C**. En vert tous les systèmes qui ont gélifié. En rouge tous les systèmes qui n'ont pas gélifié.

Experimental section

I. Physical measurements.

I.1 UV-Visible

The absorption spectra were measured with a UV-visible double beam UV-3600 spectrophotometer (SHIMADZU, MARNE LA VALLEE, France).

I.2 Fluorescence

The fluorescence spectra were measured with a Fluorolog FL3-222 spectrofluorimeter (HORIBA Jobin Yvon, LONGJUMEAU, France) equipped with a 450 W xenon arc lamp, a cell-tank compartment thermostatically controlled (25 ° C) and d " a UV-visible photomultiplier R928 (HAMAMATSU Japan)

Bibliographie

1. D. Bardelang, *Soft Matter*, 2009, **5**, 1969.

2. D. K. Kumar and J. W. Steed, *Chem. Soc. Rev.*, 2014, **43**, 2080–2088.

3. R. G. Weiss, Ed., *Molecular gels: materials with self-assembled fibrillar networks. Formation: Phase Diagrams Using Tabletop Rheology and Calorimetry*, Springer, Dordrecht, 2006.

4. J. M. G. Cowie and P. M. Toporowski, *Canadian Journal of Chemistry*, 1961, **39**, 2240–2243.

5. W. N. Martens, R. L. Frost, J. Kristof and J. Theo Kloprogge, *Journal of Raman Spectroscopy*, 2002, **33**, 84–91.

6. D. B. Wong, K. P. Sokolowsky, M. I. El-Barghouthi, E. E. Fenn, C. H. Giammanco, A. L. Sturlaugson and M. D. Fayer, *The Journal of Physical Chemistry B*, 2012, **116**, 5479–5490.

7. Y. Xu and L. Li, Polymer, 2005, 46, 7410–7417.

8. V. Tantishaiyakul, P. Ouiyangkul, M. Wajasat, T. Pawisat, N. Hirun and T. Sangfai, European Journal of Lipid Science and Technology, 2018, 120, 1800178.

9. C. Ledier, Application de la LIF de molécules aromatiques au dosage de carburants fossiles et biocarburants, 228, thèse doctoral, Physique-Chimie, Paris : 2011.

10 A. Baral, S. Basak, K. Basu, A. Dehsorkhi, I. W. Hamley and A. Banerjee, Soft Matter, 2015, 11, 4944–4951.

11. X. Yang, G. Zhang and D. Zhang, *J. Mater. Chem.*, 2012, **22**, 38–50.

12. A. Güner, Journal of Applied Polymer Science, 1999, **72**, 871–876.

13. E. Çatiker, A. Güner, Polymer Bulletin 1998, **41**, 223–230.

14. D. N. Pinder, A. J. Swanson, P. Hebraud and Y. Hemar, *Food Hydrocolloids*, 2006, **20**, 240–244.

15. E. Antoniou and M. Tsianou, *Journal of Applied Polymer Science*, 2012, **125**, 1681–1692.

ANNEXES

Annexe 1 : Conditions de formulation et observations réalisées au cours du temps pour 30 % v/v de DMSO. Evaluation de la quantité de molécule **A** nécessaire pour avoir un gel.

Gels	Molécule (mg)	CCG (mM)	Temps (min)	Formation de gel	Apparence 1 jour	2 jours	3 jour
$Ga_{30-0,5}$	0,5	0,5	-	NON	Solution transparente		Ecoulement immédiat lors du retournement
Ga_{30-1}	1,0	1,1	-	NON			
$Ga_{30-1,5}$	1,5	1,6	-	NON			
$Ga_{30-2,0}$	2,0	2,2	-	NON			
$Ga_{30-2,5}$	2,5	2,7	-	NON	Solution transparente	Suspension trouble	Démixtion de solvant
$Ga_{30-3,0}$	3,0	3,2	-	NON			
$Ga_{30-3,5}$	3,5	3,8	-	NON			
$Ga_{30-4,0}$	4,0	4,3	-	NON			
$Ga_{30-4,5}$	4,5	4,9	5	OUI	Gel blanc opaque, homogène		Gel blanc opaque, sans démixtion de solvant
$Ga_{30-5,0}$	5,0	5,4	5	OUI			
$Ga_{30-7,5}$	7,5	8,1	5	OUI			
Ga_{30-10}	10	10,8	5	OUI	Gel blanc opaque, particules de solide en excès		
Ga_{30-13}	13	14,1	5	OUI			

Annexe 2 : Conditions de formulation et observations réalisées au cours du temps pour 50 % v/v de DMSO. Evaluation de la quantité de molécule **A** nécessaire pour avoir un gel.

Gels	Molécule (mg)	CCG (mM)	Temps (min)	Formation de gel	Apparence 1 jour	2 jours	3 jour
$Ga_{50-0,5}$	0,5	0,5	-	NON	Solution transparente		Ecoulement immédiat lors du retournement
Ga_{50-1}	1,0	1,1	-	NON			
$Ga_{50-1,5}$	1,5	1,6	-	NON			
$Ga_{50-2,0}$	2,0	2,2	-	NON			
$Ga_{50-2,5}$	2,5	2,7	-	NON	Solution transparente	Suspension trouble	
$Ga_{50-3,0}$	3,0	3,2	-	NON			
$Ga_{50-3,5}$	3,5	3,8	-	NON			
$Ga_{50-4,0}$	4,0	4,3	-	NON			
$Ga_{50-4,5}$	4,5	4,9	10	NON			
$Ga_{50-5,0}$	5,0	5,4	10	OUI	Gel opalescent homogène		Gel opalescent homogène, démixtion de solvant
$Ga_{50-5,5}$	5,5	5,9	10	OUI			
$Ga_{50-6,0}$	6,0	6,5	10	OUI			
$Ga_{50-6,5}$	6,5	7,0	10	OUI			
$Ga_{50-7,0}$	7,0	7,6	10	OUI			
$Ga_{50-7,5}$	7,5	8,1	10	OUI			Gel opalescent homogène, sans démixtion de solvant
$Ga_{50-8,0}$	8,0	8,6	10	OUI			
$Ga_{50-8,5}$	8,5	9,2	10	OUI			
$Ga_{50-9,0}$	9,0	9,7	10	OUI			
$Ga_{50-9,5}$	9,5	10,3	10	OUI			
Ga_{50-10}	10	10,8	10	OUI	Gel blanc opaque, particules de solide en excès		
Ga_{50-13}	13	14,1	10	OUI			

Annexe 3 : Conditions de formulation et observations réalisées au cours du temps pour 10 % v/v de DMSO. Evaluation de la quantité de molécule **B** nécessaire pour avoir un gel.

Gels	Molécule (mg)	CCG (mM)	Temps (h)	Formation de gel	Apparence 1 jour	2 jours	7 jour
$Gb_{10\text{-}4,5}$	4,5		24	OUI	Solution blanche opaque. 1 heure après la formulation, solution opalescente	Gel blanc opaque	Séparation de phases
$Gb_{10\text{-}5,0}$	5,0		24	OUI			
$Gb_{10\text{-}5,5}$	5,5		24	OUI			
$Gb_{10\text{-}6,0}$	6,0		24	OUI			
$Gb_{10\text{-}6,5}$	6,5		24	OUI			
$Gb_{10\text{-}7,0}$	7,0		24	OUI			
$Gb_{10\text{-}7,5}$	7,5		24	OUI			
$Gb_{10\text{-}8,0}$	8,0		24	OUI			
$Gb_{10\text{-}8,5}$	8,5		24	OUI			
$Gb_{10\text{-}9,0}$	9,0		24	OUI			
$Gb_{10\text{-}9,5}$	9,5		24	OUI			
$Gb_{10\text{-}10}$	10		24	OUI			
$Gb_{10\text{-}13}$	13		24	OUI			

Annexe 4 : Conditions de formulation et observations réalisées au cours du temps pour 30 % v/v de DMSO. Evaluation de la quantité de molécule **B** nécessaire pour avoir un gel.

Gels	Molécule (mg)	CCG (mM)	Temps (h)	Formation de gel	Apparence 1 jour	2 jours	7 jour
$Gb_{30\text{-}4,5}$	4,5		24	OUI	Solution blanche opaque. 1 heure après la formulation, solution opalescente	Gel blanc opaque	Séparation de phases
$Gb_{30\text{-}5,0}$	5,0		24	OUI			
$Gb_{30\text{-}5,5}$	5,5		24	OUI			
$Gb_{30\text{-}6,0}$	6,0		24	OUI			
$Gb_{30\text{-}6,5}$	6,5		24	OUI			
$Gb_{0\text{-}7,0}$	7,0		24	OUI			
$Gb_{30\text{-}7,5}$	7,5		24	OUI			
$Gb_{30\text{-}8,0}$	8,0		24	OUI			
$Gb_{30\text{-}8,5}$	8,5		24	OUI			
$Gb_{30\text{-}9,0}$	9,0		24	OUI			
$Gb_{30\text{-}9,5}$	9,5		24	OUI			
$Gb_{30\text{-}10}$	10		24	OUI			
$Gb_{30\text{-}13}$	13		24	OUI			

Annexe 5 : Conditions de formulation et observations réalisées au cours du temps pour 30 % v/v de DMSO. Evaluation de la capacité de gélification de la molécule B en présence de dextrane (zone diluée).

Gels	Dextrane (mg)	Temps (h)	Apparence			
			1 jour	2 jours	2 jours	Demixtion
Gbd_1	1	24	Solution blanche opaque	Gel opalescent	Séparation de phases	Ecoulement immédiat lors du retournement
Gbd_2	2	24				
Gbd_3	3	24				
Gbd_4	4	24				
Gbd_5	5	24				
Gbd_6	6	24				
Gbd_7	7	24				
Gbd_8	8	24				
Gbd_9	9	24				
Gbd_{10}	10	24				

Annexe 6 : Conditions de formulation et observations réalisées au cours du temps pour 10 % v/v de DMSO. Evaluation de la quantité de molécule **C** nécessaire pour avoir un gel.

Gels	Molécule (mg)	CCG (mM)	Temps (min)	Formation de gel	Apparence		
					1 jour	2 jours	3 jour
$Gc_{10\text{-}0,5}$	0,5	0,5	-	OUI	Gels non-homogènes		
$Gc_{10\text{-}1}$	1,0	1,1	-	OUI			
$Gc_{10\text{-}1,5}$	1,5	1,6	-	OUI			
$Gc_{10\text{-}2,0}$	2,0	2,2	-	OUI			
$Gc_{10\text{-}2,5}$	2,5	2,7	-	OUI			
$Gc_{30\text{-}3,0}$	3,0	3,2	-	OUI			
$Gc_{10\text{-}3,5}$	3,5	3,8	-	OUI			
$Gc_{10\text{-}4,0}$	4,0	4,3	-	OUI			
$Gc_{10\text{-}4,5}$	4,5	4,9	-	OUI			
$Gc_{10\text{-}5,0}$	5,0	5,4	-	OUI			

Annexe 7 : Conditions de formulation et observations réalisées au cours du temps pour 50 % v/v de DMSO. Evaluation de la quantité de molécule **C** nécessaire pour avoir un gel.

Gels	Molécule (mg)	CCG (mM)	Temps (min)	Formation de gel	Apparence 1 jour	2 jours	3 jour
$Gc_{50-0,5}$	0,5	0,5	10	OUI	Gel opalescent homogène		
Gc_{50-1}	1,0	1,1	10	OUI			
$Gc_{50-1,5}$	1,5	1,6	10	OUI			
$Gc_{50-2,0}$	2,0	2,2	5	OUI			
$Gc_{50-2,5}$	2,5	2,7	5	OUI			
$Gc_{50-3,0}$	3,0	3,2	5	OUI			
$Gc_{50-3,5}$	3,5	3,8	5	OUI			
$Gc_{50-4,0}$	4,0	4,3	5	OUI			
$Gc_{50-4,5}$	4,5	4,9	5	OUI			
$Gc_{50-5,0}$	5,0	5,4	5	OUI			

Chapitre IV

Caractérisation des Gels Supramoléculaires / Macromoléculaires

I. Rhéologie

Après les essais de formulation décrits dans le chapitre III, la suite de ce manuscrit sera consacrée à la caractérisation des gels formulés. Nous distinguerons trois échelles :

- **L'échelle macroscopique** avec l'évaluation des propriétés mécaniques et notamment les propriétés viscoélastiques des gels en utilisant comme technique de caractérisation la **rhéologie**.

- **L'échelle mésoscopique** avec la caractérisation des morphologies des gels. Dans ce cas-ci nous nous appuierons sur des techniques de caractérisation comme la microscopie **RAMAN** et la microscopie à force atomique **AFM**.

- **L'échelle moléculaire** qui sera abordée en faisant appel à différentes spectroscopies : **IR**, **RMN** et **RAMAN**. L'objectif sera d'identifier les interactions faibles impliquées dans l'organisation à l'échelle des molécules.

Le chapitre IV sera consacré à l'évaluation des propriétés mécaniques (les deux autres échelles de caractérisation seront abordées dans le chapitre V).

L'objectif est de pouvoir connaître le comportement mécanique, de le comparer avec les observations faites au laboratoire au moment de la formulation et d'en extraire le maximum d'information sur la structuration physique des systèmes. Dans ce but, la détermination des modules viscoélastiques (G' et G'') en fonction de différents paramètres physico-chimiques constituera l'essentiel des expériences décrites.

Nous rapporterons les résultats molécule par molécule. Pour chacune d'elle, nous allons répartir les résultats, en deux grands volets : un premier consacré à la caractérisation des gels en fonction de la proportion de solvant, et un deuxième consacré à la caractérisation des gels en fonction de la concentration de la molécule gélifiante (figure 1).

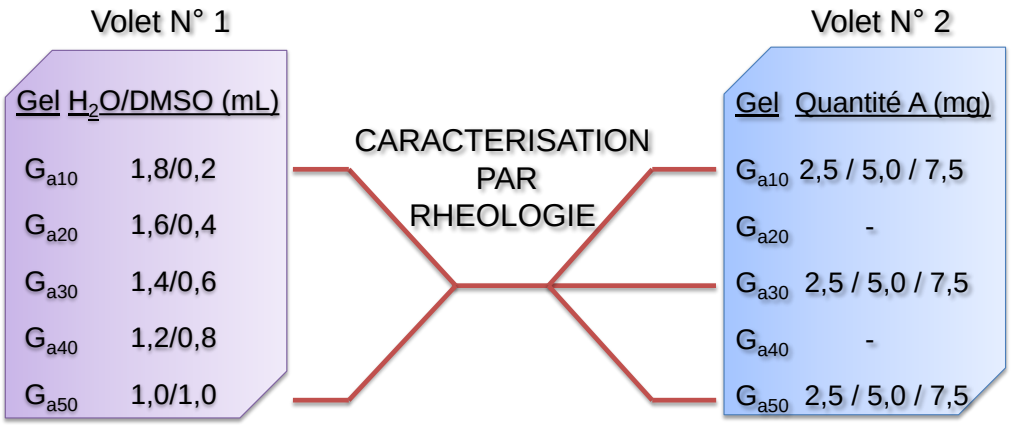


Figure 1 : Bilan des différents systèmes contenant la molécule **A** (exemple) caractérisés par rhéologie. Dans le volet n°1, la quantité de molécule **A** a été fixée à 5 mg.

Les compositions des échantillons retenus pour des mesures rhéologiques ont été choisies en se fondant sur les inspections visuelles rapportées dans le chapitre III. Ceci nous a permis de nous concentrer sur des compositions conduisant à l'observation de « gels forts ». Inversement, nous n'avons pas retenu d'échantillons qui avaient un aspect de solutions transparentes liquides. Par contre, les échantillons préparés avec 2,5 mg de molécule **A**, qui étaient apparus comme des liquides troubles sur le fondement de leur examen simplement visuel, ont été retenus pour des mesures rhéologiques (qui démontreront qu'il s'agit de gels mais avec des modules faibles).

IV.1 Evaluation des propriétés mécaniques : gels issus de la molécule A.

IV.1.2 Evaluation de G' et G'' en fonction de la composition du solvant utilisé.

IV.1.2.1 Choix de la géométrie de mesure

Plusieurs géométries de mesure sont disponibles pour l'évaluation des propriétés rhéologiques : cône/plan (**CP**), plan/plan (**PP**), cylindres concentriques (**CC**), à double entrefer (**DG**), et de Couette (figure 2) **[1, 2]**.

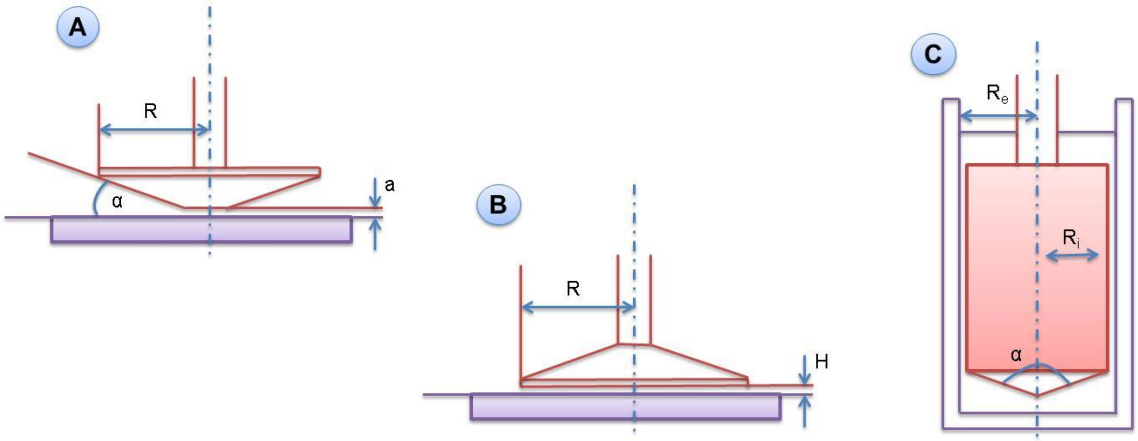


Figure 2 : A. Géométrie cône/plan. **B**. Géométrie plan/plan. **C**. Géométrie de Couette.

Les mesures rhéologiques peuvent être réalisées notamment en mode « écoulement » et en mode « oscillations ». Le premier permet d'accéder à la valeur de la viscosité de cisaillement. Le second permet d'évaluer les caractéristiques viscoélastiques des systèmes via la détermination des modules G' et G'' ainsi que d'autres caractéristiques comme la viscosité complexe ou encore tanδ. Pour ce travail les mesures rhéologiques ont d'abord été réalisées en mode oscillatoire avec une géométrie plan-plan de 40 mm de diamètre en titane. Cette géométrie est communément utilisée pour des échantillons tels que des gels, des solides mous, des colles etc [1].

La procédure de mise en place de l'échantillon est très importante et comporte plusieurs étapes.

1. **Etape 1** : préparation du gel dans un pilulier par addition d'eau dans une solution de **A** dans le DMSO. Nous avons défini le temps initial de gélification (t= 0 s) à partir de la première goutte d'eau ajoutée. Nous poursuivons l'addition dans le pilulier jusqu'à avoir mélangé le volume d'eau entier.
2. **Etape 2** : à l'aide d'une seringue, nous avons prélevé 1 mL de la solution précédemment préparée. Ce volume de matière a été déposé sur le plateau inférieur du rhéomètre.
3. **Etape 3** : Le plateau supérieur a été descendu jusqu'à quelques millimètres du plateau inférieur.

4. **Etape 4** : La hauteur séparant les deux plateaux a été ajustée à 1000 µm avant de procéder au démarrage de la mesure.

Environ 50 s se sont écoulées entre la prise de l'échantillon à l'aide de la seringue et la fin de l'étape n°4.

Au moment de l'ajout de la solution sur le plateau inférieur (étape 2) nous avons pu constater que l'échantillon s'étale considérablement, ce qui provient notamment de ce que la gélification n'est pas encore achevée. Cet étalement donne une couche fine de gel qui, à notre sens, peut conduire à des résultats peu fiables. Pour contourner ce problème nous avons essayé deux solutions :

1. **Confection d'un moule en papier d'aluminium.** Un « moule » a été fabriqué et mis au milieu du plateau inférieur. L'objectif est d'empêcher l'étalement de l'échantillon en restreignant la superficie du contenant. Le principal défaut de cette adaptation de l'appareil est qu'il nous faut absolument laisser le gel s'établir avant lancer la mesure. Donc, ce n'est pas compatible avec des suivis de la cinétique de formation du gel pour lesquels la mesure doit commencer tout de suite après la mise en place de l'échantillon (figure 3).

2. **Conception d'une nouvelle géométrie de mesure**. Nous avons décidé d'utiliser une autre géométrie de mesure qui nous permette de mimer le plus possible la façon de formuler les gels à la paillasse et qui corrige les inconvénients de la géométrie plan-plan. Elle est constituée d'une partie mobile à ailettes (qui remplace le plateau supérieur de la géométrie plan-plan) disposée à l'intérieur d'un cylindre de Couette (qui se substitue au plateau inferieur de la géométrie plan-plan).

Le cylindre de Couette a été construit avec les mêmes dimensions que celles du pilulier (3 mL ; figure 4).

Figure 3 : Moule en aluminium conçu pour empêcher l'étalement excessif de l'échantillon au-delà des limites de la géométrie de mesure.

Figure 4 : Géométrie à ailettes conçue pour caractériser les échantillons de gel.

La calibration de la nouvelle géométrie a été faite en utilisant l'huile de silicone étalon qui présente un comportement newtonien (η = 1 Pa.s). Ce comportement a été confirmé en évaluant la viscosité en fonction de la contrainte. Un balayage en contrainte a été donc réalisé entre 1 et 100 Pa avec une géométrie plan/plan dont les résultats ont été comparés avec ceux obtenus avec cette nouvelle géométrie.

Toutes les mesures décrites dans la suite de ce document ont été réalisées en utilisant la géométrie à ailettes.

La procédure de mise en place de l'échantillon a été adaptée à cette nouvelle géométrie.

Dans un premier temps, afin de nous rapprocher le plus possible de la procédure de formulation (chapitre III), l'addition de l'eau a été envisagée directement dans la géométrie. Par exemple pour un gel contenant 10 % v/v de DMSO, la procédure est la suivante :

1. Solubilisation de la molécule dans le DMSO, puis ajout de la solution résultante dans la géométrie de mesure.
2. Mise en contact de l'ailette avec la solution.
3. Démarrage de la rotation de l'ailette pendant 30 s. Durant ce temps l'eau est ajoutée goute à goute. Environ 1 min 20 s se sont passées entre le mélange de la solution avec de l'eau et l'ajustement du GAP (1000 µm).
4. Attente durant 5 min puis démarrage de la mesure. Au total la préparation de la mesure a pris 6 min 20 s.

Même si cette procédure se rapproche de nos gestes à la paillasse, elle présente un inconvénient à la fin de l'étape d'agitation. En effet, après les 30 s d'agitation l'ailette ne s'arrête pas immédiatement, au contraire l'arrêt se fait tout doucement. Vu que les gels se forment dans un temps très court, nous pensons que le temps d'arrêt de la géométrie (quelques secondes) interfère dans la formation du gel.

Donc, pour améliorer cet aspect nous avons décidé de formuler le gel dans le pilulier. Une fois que l'eau est ajoutée nous mettons tout le mélange, encore liquide, dans la géométrie de Couette. En manipulant assez vite le réglage du GAP est fait et la mesure commencée au bout d'un temps compris entre 50 s et 1 min depuis le début

de la préparation du gel dans le pilulier. Nous verrons par la suite que ce temps est compatible avec des suivis cinétiques des phénomènes de gélification avec les molécules **A** et **B**. Dans le cas de la molécule **C**, la cinétique de gélification est trop rapide en regard de ces conditions opératoires, de sorte qu'elle ne sera saisie que très partiellement lors des expériences.

Nous avons donc réalisé les expériences suivantes avec les différents gels formulés **[1, 3]** :

- **Des expériences de balayage en contrainte** : l'échantillon est soumis à une variation de la contrainte ou de la déformation appliquée. Ces expériences permettent de qualifier les gels, de les comparer entre eux et de déterminer le domaine linéaire de chaque échantillon (LVE). Ce dernier correspond à l'intervalle de valeurs de la déformation ou de la contrainte appliquée dans lequel la structure de l'échantillon n'est pas modifiée de façon irréversible. Toutes les autres expériences seront réalisées en se maintenant à l'intérieur du domaine linéaire, ce qui implique qu'en pratique le balayage en contrainte est la première expérience effectuée. L'étendue du domaine linéaire constitue une autre évaluation de la « force » du gel. La réversibilité mécanique et la transition d'un comportement de type « solide » à un comportement de type « liquide » seront également examinées à l'aide d'expériences de balayage en contrainte et des cycles de contrainte.
- **Des expériences de balayage en fréquence**. Ces expériences consistent à évaluer les modules **G'** et **G''**, dans une gamme de fréquences (que nous exprimerons en fréquences angulaires $\omega = 2\pi f$) non-destructive, en se maintenant dans le domaine linéaire de l'échantillon. Les basses fréquences correspondent aux mouvements lents sur de longues périodes alors que les hautes fréquences correspondent à des mouvements rapides dans des périodes de temps courts. Ces expériences apportent des informations sur la stabilité des gels. Par exemple, il est couramment observé pour les polymères non réticulés, dans la gamme de base fréquences des valeurs de G'' supérieures aux valeurs de G', ce qui signifie un comportement liquide visqueux (dû à un désenchevêtrement des chaînes sur des périodes suffisamment longues). Dans la gamme de hautes fréquences, les valeurs de G' deviens

supérieur aux valeurs de G'', indiquant un comportement solide élastique (maintien des enchevêtrements sur une période suffisamment courte). Entre ces deux comportements différents un point de croissement est observé avec G' = G'' [1]

- **Des expériences de balayage en temps**. Ces expériences consistent à évaluer les modules **G'** et **G''** en fonction du temps et ainsi permettent de caractériser la cinétique de gélification. Pour ces expériences, la contrainte et la fréquence appliquées seront fixées à partir des résultats des expériences de deux séries précédentes. La cinétique de formation des gels pourra être comparée aux observations réalisées lors des essais de formulation. Par ailleurs, un examen détaillé de l'évolution temporelle des modules peut fournir des indications sur la nature et la cinétique de croissance des auto-ssemblages à l'origine des propriétés rhéologiques.
- **Des expériences de balayage en température**. Un gradient de température est appliqué à l'échantillon (la littérature rapporte souvent des valeurs de 1°C par minute) alors que la contrainte, la déformation et la fréquence sont maintenues constantes (à des valeurs définies grâce aux expériences précédentes). Cela nous permettra d'évaluer la température de transition gel-solution. Ces expériences nous permettrons aussi d'examiner la réversibilité en température des systèmes gélifiants via des cycles de température.

IV.1.2.2 Balayage en Contrainte : étude du domaine de linéarité et de la réversibilité mécanique.

Pour nous assurer de la répétabilité des mesures nous avons réalisé les expériences trois fois chacune (cela concerne tous les résultats présentés dans ce chapitre). Les valeurs des modules qui sont présentées sont les moyennes de trois mesures.

L'analyse des résultats va débuter par l'étude du domaine linéaire. Pour cela, nous avons réalisé des expériences de balayage en contrainte entre 0,1 et 100 Pa à 10 rad/s et 20 °C. Les gels G_{a10}, G_{a20}, G_{a30}, G_{a40}, et G_{a50} ont été étudiés et nous prendrons comme exemple le gel G_{a30} (figure 5).

Nous observons à des contraintes entre 0,1 et 10 Pa un plateau qui définit le domaine de linéarité (LVE). C'est-à-dire que dans cet intervalle le gel n'est pas modifié irréversiblement. Au sein du LVE, les valeurs du module élastique (**G'**) sont très supérieures aux valeurs du module visqueux (**G''**), ce qui confirme qu'il s'agit d'échantillons de type gels. Au-delà d'une contrainte de 10 Pa une forte diminution des valeurs des modules est observée. Cette diminution indique la dissociation du réseau tridimensionnel du gel. Cependant, nous n'observons pas d'inversion des valeurs des modules G' et G''. En effet, les valeurs du module **G'** sont toujours supérieures aux valeurs du module **G''** dans toute la gamme de contrainte appliquée (jusqu'à 100 Pa).

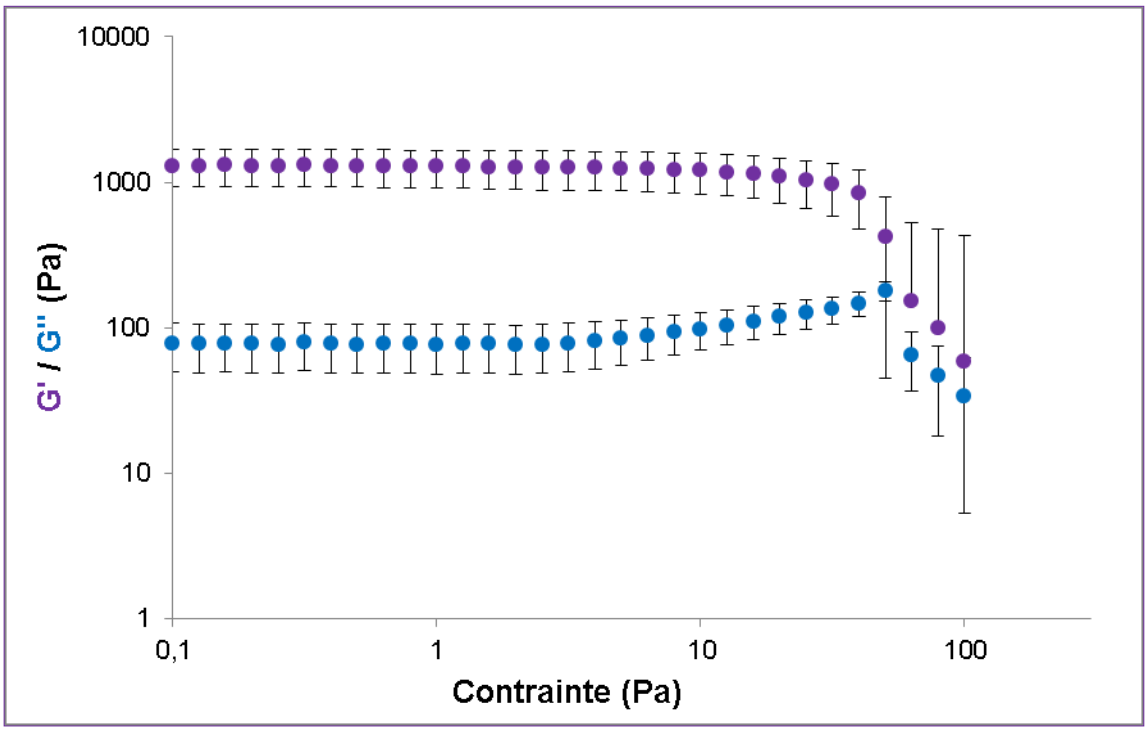


Figure 5 : Variation de G' (courbe violet) et G'' (courbe bleu) en fonction de la contrainte appliquée en appliquant une fréquence de déformation de 10 rad/s à 20°C (G_{a30}).

Ces résultats semblent indiquer que, même avec une contrainte de 100 Pa, le mélange ne se comporte pas comme un liquide mais conserve une composante élastique majoritaire dans sa réponse mécanique. Ceci pourrait signifier qu'il serait nécessaire d'atteindre des contraintes plus élevées pour dissocier suffisamment la structure du gel de façon à retrouver un comportement majoritairement de type « liquide visqueux ».

Si cela est vrai, nous devrions observer l'inversion en augmentant la contrainte. L'expérience a donc été refaite entre 0,1 et 3000 Pa (figure 6). Le résultat met en évidence l'inversion des modules G' et G'' à une contrainte d'environ 1000 Pa, confirmant qu'une contrainte plus élevée que 100 Pa doit être appliquée pour observer la transition mécanique gel-solution et atteindre un comportement essentiellement de type « liquide visqueux ». Donc, en nous fondant sur le balayage en contrainte, nous pouvons définir trois zones :

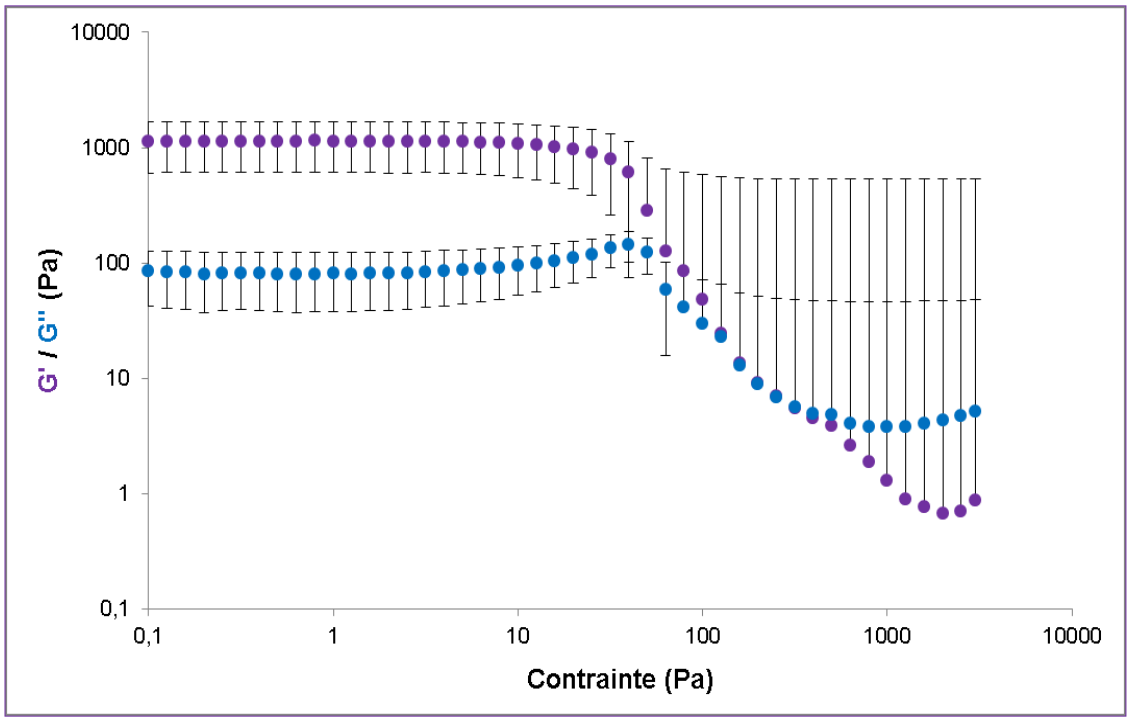


Figure 6 : Evaluation des modules G' (courbe violet) et G'' (courbe bleu) en appliquant une gamme de contrainte entre 0,1 et 3000 Pa (G_{a30}).

La **zone 1** entre 0,1 et 10 Pa où le mélange se comporte comme un gel viscoélastique, constitué par un réseau tridimensionnel construit grâce aux interactions physiques (G' > G'').

La **zone 2** entre 10 Pa et 1000 Pa, où le réseau tridimensionnel a été partiellement dissocié sous l'effet des contraintes mécaniques. Cependant il existe

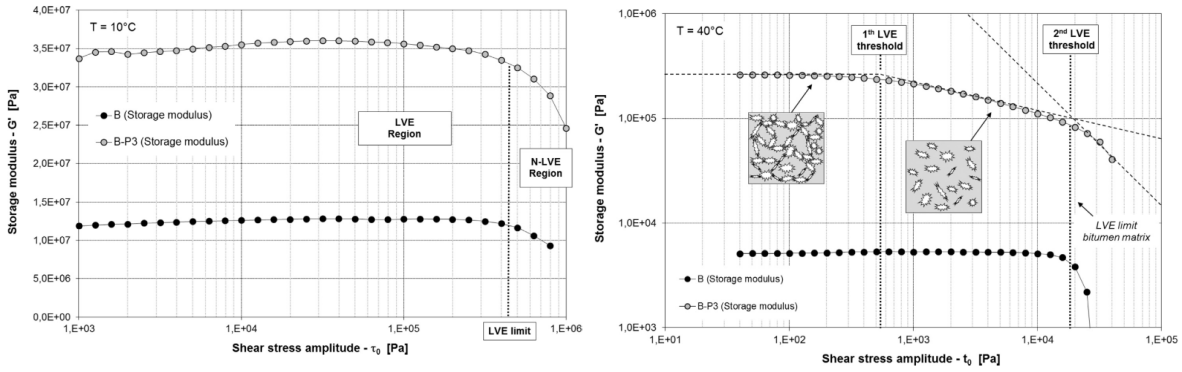
encore des assemblages qui interagissent et qui sont à l'origine d'un comportement viscoélastique.

La **zone 3**, au-delà de 1000 Pa. Cette zone est caractérisée par un comportement mécanique plutôt de type « liquide visqueux » que de type « solide élastique » (G'' > G'). Ceci traduit que lorsque le système est soumis à ces contraintes, les interactions entre assemblages de molécules sont dissociées.

De façon similaire à notre travail, une autre étude rapportée dans la littérature montre également l'existence de plusieurs intervalles de contraintes successifs où un comportement majoritairement élastique est observé. Ainsi **Merussi P. et *al*.** [4] ont évalué les propriétés mécaniques d'un bitume 50/70 qui a été fonctionnalisé par des cires, au total 5 cires ont été utilisées. Les auteurs ont évalué les propriétés thermiques et les morphologies des systèmes en utilisant des techniques comme la calorimétrie à balayage différentiel, et la microscopie optique polarisée respectivement. Pour évaluer la réponse mécanique des échantillons (le bitume pur, et le bitume modifié) des tests rhéologiques ont été réalisé. Ce sont les résultats de ces dernières caractérisations qui nous intéressent, plus précisément l'étude du domaine linéaire.

Les résultats sont très intéressants pour les échantillons de Bitume pur (B) et de Bitume modifié (B-P3). En effet, Merussi a trouvé des différences dans le domaine linéaire évalué à deux températures : 10 et 40 °C. La figure 7-A montre à 10 °C un comportement assez standard pour les deux échantillons (B ronds pleins, et B-P3 ronds vides), avec un plateau qui définit le domaine LVE et la chute caractéristique de la sortie du système du LVE. A 40 °C le Bitume pur (B, figure 7-B) montre un comportement similaire que à 10 °C, avec des valeurs de modules inférieures. Par contre, pour le Bitume fonctionnalisé (B-P3) un comportement différent a été observé. En effet, les auteurs indiquent la présence de trois régions différentes : le premier est caractéristique du domaine linéaire avec de valeurs de modules constantes. La deuxième et la troisième région présente des valeurs du module G' qui diminuent progressivement jusqu'à la perte totale du LVE. Les frontières entre les régions sont appelés les limites 1 et 2 du domaine de linéarité. La valeur de contrainte à laquelle a

été observée la limite 2 du LVE, est exactement la même que celui observé pour le bitume pur (B ronds pleins). Concernant à la limite 1 du LVE cela correspond plutôt à la modification du réseau de cire (P3) formé à l'intérieur du bitume.



A B

Figure 7 : Balayage en contrainte évaluation du domaine linéaire pour le bitume pure (B ronds pleins) et pour le bitume fonctionnalisé (B-P3 ronds vides), à différentes températures. [4].

Les résultats montrent aussi l'association des structures différentes à chaque région définie. Nous voyons donc, un réseau bien défini jusqu'à la première limite du LVE. Au-delà de cette première limite les contraintes appliquées induisent des modifications qui vont conduire à la déstructuration du réseau.

Nous avons aussi évalué le LVE pour les gels contenant 5 mg de **A** et 10, 20, 40 et 50 % v/v de DMSO. Cette évaluation a été faite en faisant des expériences de balayage de contrainte entre 0,1 et 100 Pa.

Basés sur les résultats obtenus nous observons pour les systèmes contenants entre 10 et 40 % v/v de DMSO, (figure 8) une superposition quasi-parfaite dans le domaine linéaire (entre 0,1 et 10 Pa). Cela signifie que nous ne pouvons pas faire de différence en termes de force des gels. Ces résultats sont cohérents avec nos observations au moment des expériences de formulation (Chapitre III).

Quant au gel contenant 50 % v/v de DMSO (figure 8, courbe verte) c'est, de façon nette, le gel le moins fort, ce qui est toujours en accord avec nos observations.

Finalement, à partir de l'évaluation du LVE nous pouvons donc choisir, une contrainte de **1 Pa** pour les expériences à venir.

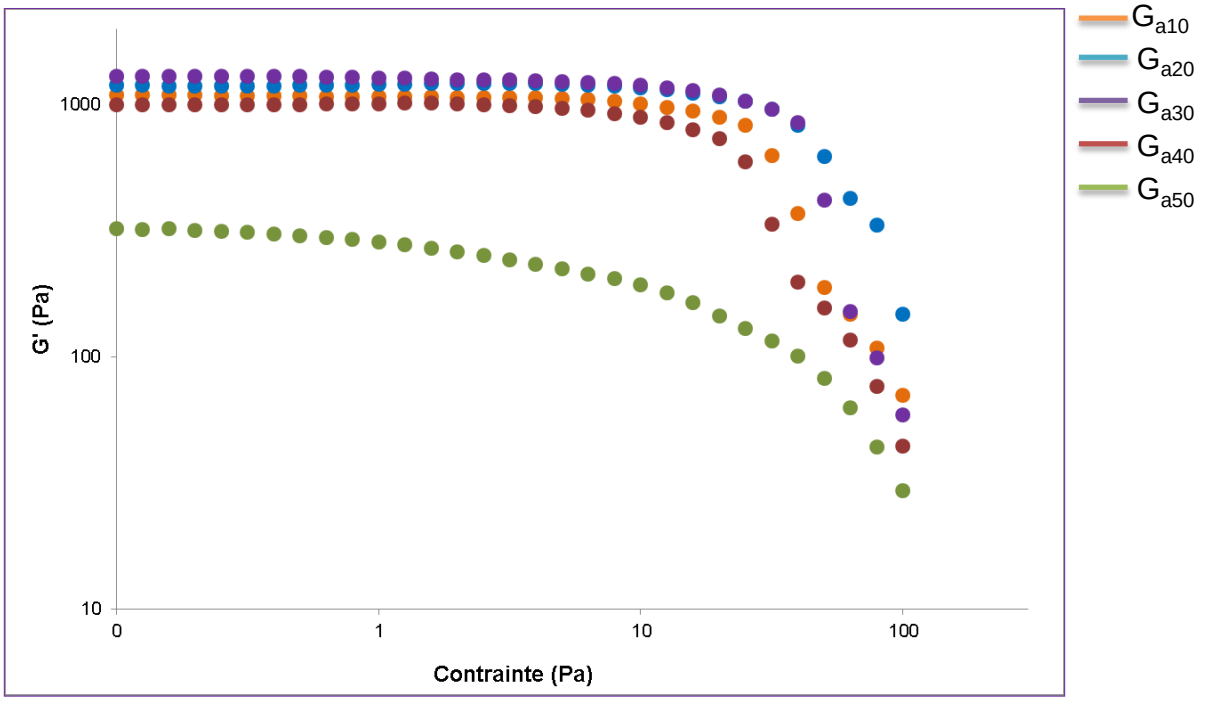


Figure 8 : Evaluation de G' en fonction de la contrainte : orange 10 % (G_{a10}) bleu 20 % v/v (G_{a20}), violet 30 % v/v (G_{a30}), rouge 40 % v/v (G_{a40}), et vert 50 % v/v (G_{a50}) DMSO à une fréquence angulaire de 10 rad/s et à 20 °C.

Pour les gels contenant jusqu'à 40 % v/v de DMSO, une chute brutale du module G' est observée au-delà de 10 Pa alors que pour le gel contenant 50 % v/v de DMSO, la diminution de G' est beaucoup plus progressive. Ces deux types de comportements observés nous amènent à qualifier les systèmes G_{a10}, G_{a20}, G_{a30}, G_{a40} de « très rigides » et le système G_{a50} de « souple ». Cette qualification est en accord avec les observations et les résultats obtenus par fluorescence (chapitre III, section III.2.3), où nous avons vu une diminution de la fluorescence à mesure que le pourcentage de DMSO augmente.

Lors des essais de formulation, nous avions constaté l'irréversibilité mécanique des gels (chapitre III, section III.2.3.4). Nous avons donc voulu confirmer ce comportement par des mesures de rhéologie.

Nous avons évalué les variations de G' et G'' lors d'un cycle de contrainte (figure 9). Plus précisément, nous démarrons par un balayage entre 0,1 et 1000 Pa qui est

suivi par un autre balayage en contrainte de 1000 à 0,1 Pa. L'évaluation a été faite à 20 °C et 10 rad/s pour le gel G_{a30}.

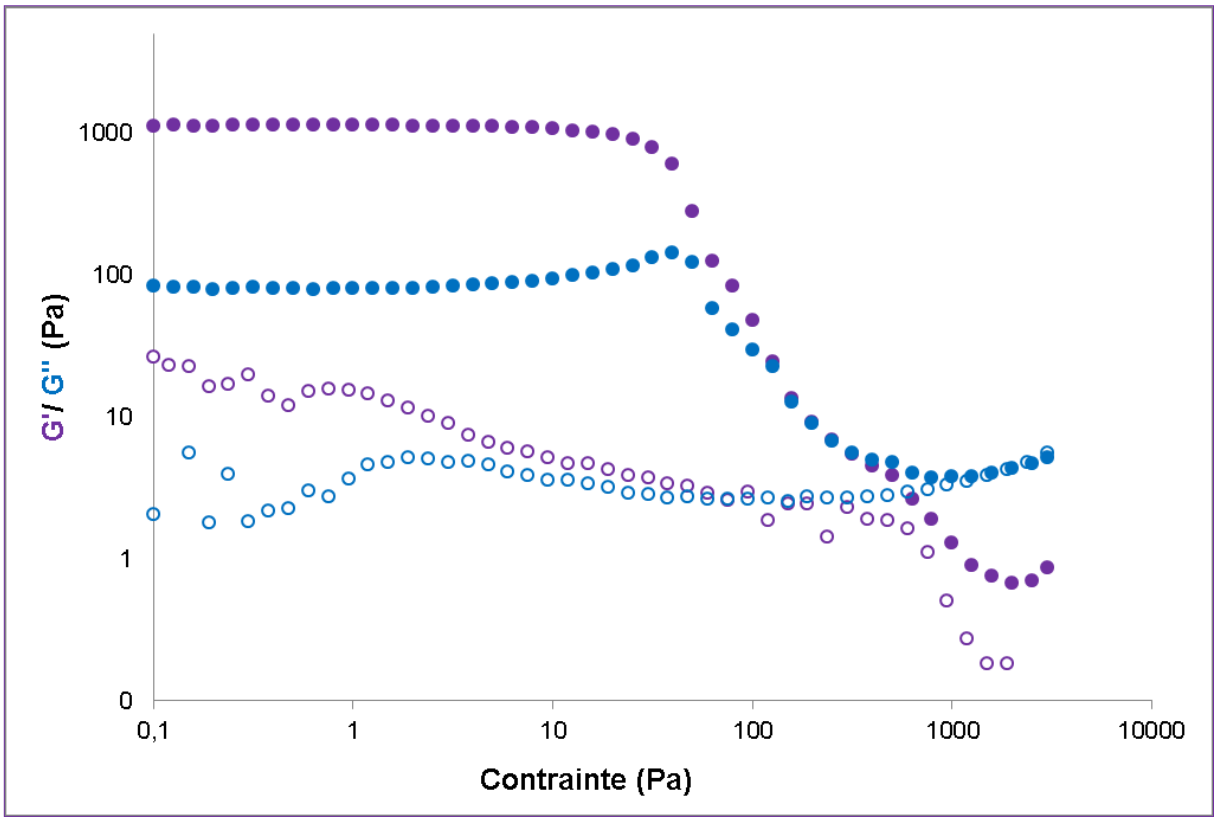


Figure 9 : Evaluation de la réversibilité du gel G_{a30} en faisant un balayage en contrainte entre 0,1 et 1000 Pa (ronds pleins), puis entre 1000 et 0,1 Pa (ronds vides) à 10 rad/s et à 20 °C.

Le résultat confirme nos conclusions fondées sur des observations faites à la paillasse. En effet, le gel n'est pas réversible mécaniquement. Nous observons au départ des valeurs de G' proches de 1000 Pa, tandis qu'à l'issue des deux balayages en contrainte, des valeurs très faibles sont observées d'environ 20 Pa. Par ailleurs, nous constatons qu'à la fin du cycle de contrainte, l'échantillon présente un comportement de type gel avec G' > G'' mais les valeurs des deux modules sont environ 50 fois plus faibles que celles mesurées sur le gel issu de l'étape de formulation. Ce résultat constitue une indication importante car il suggère que lors de la formation des autoassemblages, ces derniers sont agencés d'une façon qui conduit à des modules rhéologiques élevés mais qui se trouve dissociée par des contraintes de l'ordre de 10

Pa et qu'il n'est plus possible de retrouver après un cycle de contrainte. Cet agencement pourrait être lié de près à la cinétique de formation des autoassemblages. Les expériences de balayage en temps seront donc à examiner en détail en regard de ces premières interprétations.

IV.1.2.3 Balayage en fréquence

Comme nous l'avions dit précédemment l'évaluation de G' et de G'' en fonction de la fréquence permet d'étudier la sensibilité des gels à des sollicitations mécaniques générant des mouvements sur des temps courts ou longs. Deux cas sont donc possibles :

1. **L'évaluation de G' et de G'' à des basses fréquences**, pour simuler les mouvements lents sur de longues périodes, ou même quasiment au repos.

L'évaluation de G' et de G'' à des hautes fréquences pour simuler les mouvements rapides dans de périodes de temps courts sont simulés

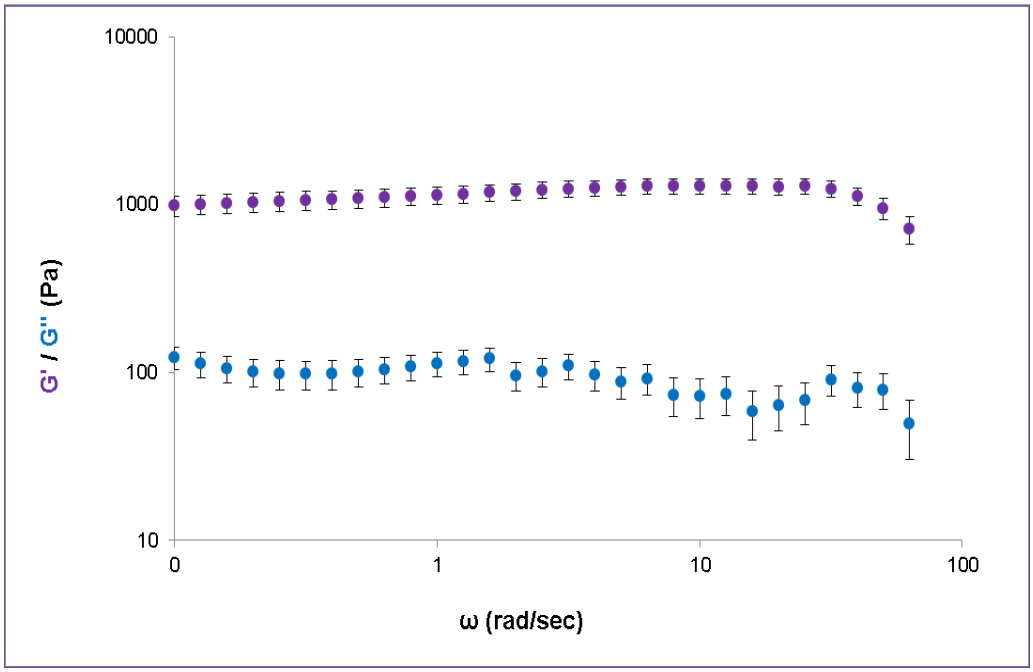


Figure 10 : Evaluation de G' (courbe violet) et G'' (courbe bleu) du gel Ga_{30} en fonction de la fréquence angulaire en appliquant une contrainte de 1 Pa à 20 °C G_{a30}.

Pour des raisons liées à la durée des expériences, les expériences de balayage en fréquence ont été effectuées entre 0,1 et 100 rad/s avec une contrainte fixée à 1 Pa et à une température de 20 °C. Pour la mise en place de l'échantillon, nous avons procédé de la même façon que pour le balayage en contrainte. Nous montrons les résultats obtenus pour le gel G_{a30} (figure 10). Dans toute la gamme de fréquence explorée nous observons un module élastique plus élevé que le module visqueux. Par ailleurs, dans tout cet intervalle, les valeurs des deux modules et en particulier G' sont peu affectées. Cela signifie que le gel a un structure solide stable avec une résistance structurale de 1000 Pa.

Les mêmes observations ont été faites pour les échantillons Ga_{10}, Ga_{20}, Ga_{40} et Ga_{50}. A partir de ces mesures, nous avons fixé la fréquence à 10 rad/s pour l'ensemble des mesures qui suivront.

IV.1.2.4 Balayage en temps : étude du temps de gélification.

Lors des essais de formulation nous avions pu établir une durée nécessaire entre 5 et 10 min pour avoir un gel à partir d'examens visuels (chapitre III section III.2.3.1). Cette durée dépend de la proportion de DMSO et de la quantité de molécule **A** utilisée.

Pour les expériences de suivi en fonction du temps nous avons utilisé les conditions suivantes : 1 Pa, 10 rad/s et 20 °C pour une durée totale de 20 min (dont nous verrons qu'elle est suffisante).

L'évaluation des temps de gélification a été une mesure assez particulière, pas pour la mise en place de l'échantillon (même procédure que durant les balayages en contrainte) mais plutôt, à cause de la nécessité de réduire au minimum le temps de mise en place avant de démarrer la mesure. En effet, nos observations préliminaires ont indiqué que quelques minutes suffisaient pour observer un comportement de gel. Donc, afin d'observer l'évolution de G' et G'', nous avons réalisé les étapes suivantes :

1. **Etape 1** : Préparation du mélange dans le pilulier (de la même façon que pour les balayages en contrainte).

2. **Etape 2** : Introduction du mélange encore liquide dans la géométrie de Couette suivie de la descente de l'ailette pour ajuster le GAP (1000 µm). La durée de cette étape est déterminante et doit être réduite au minimum.
3. **Etape 3** : Démarrage de la mesure.

Il est nécessaire de souligner que nous avons essayé d'utiliser la même durée (au plus près) pour préparer l'échantillon et ajuster le GAP que pour les expériences de balayage en contrainte, à savoir 1 min 10 s. Ce qui change c'est que nous n'avons pas attendu 5 min que le gel se fasse, au contraire nous commençons la mesure tout de suite après l'ajustement du GAP.

Les 70 s précédentes ne sont pas intégrés dans les temps qui figurerons dans les courbes expérimentales de balayage en temps. Pour ces dernières, l'instant initial correspond au démarrage des mesures rhéologiques. Ceci ne remet en cause ni la discussion des résultats ni leur ajustement par différents modèles.

Pour commencer l'analyse des résultats nous examinerons la courbe obtenue pour le gel contenant 30 % v/v de DMSO et 5 mg de molécule **A** ($G_{a30\text{-}5}$, figure 11, 2 mL volume total).

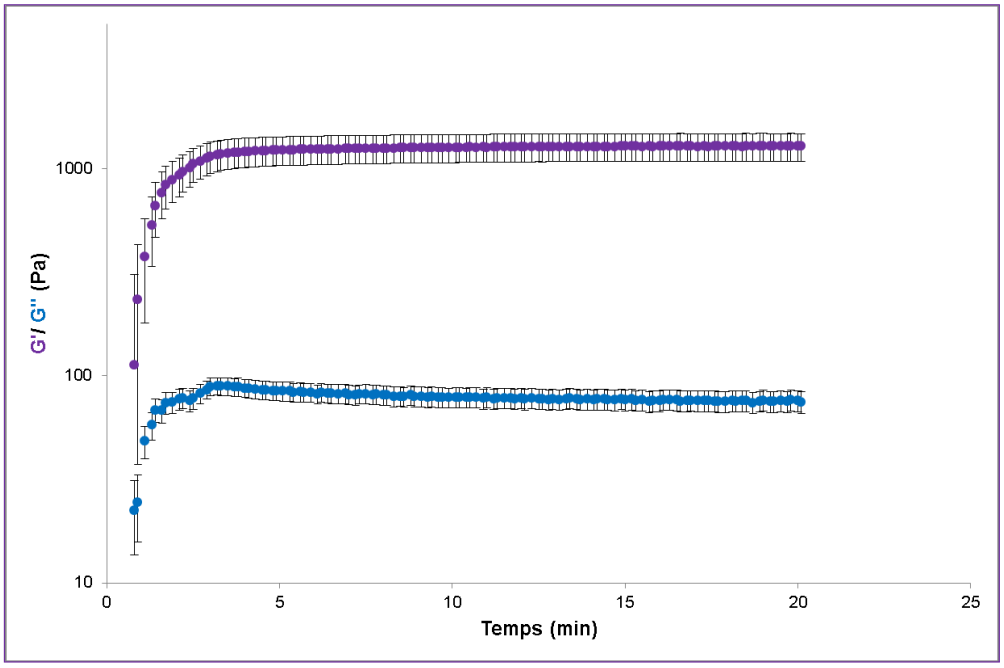


Figure 11 : Evaluation de G' (courbe en violet) et G'' (courbe en bleu) en fonction du temps, en appliquant une contrainte de 1 Pa à 20°C avec l'échantillon $G_{a30\text{-}5}$.

Entre 0 et 4 min nous observons une augmentation assez significative des modules G' et G''. Nous pouvons observer que dans cet intervalle, G' est toujours supérieur à G''. Cela confirme que la construction de la brique élémentaire du réseau se déroule très tôt. Nous ne pouvons pas repérer la transition de l'état liquide à l'état gel (aux premiers points observés la transition a été déjà faite puisque G' >> G''), ce qui implique qu'elle a lieu durant la première minute suivant la préparation du mélange (et durant laquelle les mesures rhéologiques n'ont pas encore commencé). Au-delà de 4 min nous n'observons plus de variation significative des modules G' et G''. Les expériences de balayage en temps vont donc principalement nous donner accès à la cinétique d'évolution qui amène le gel à atteindre ses propriétés stationnaires.

Les cinq gels formulés avec 5 mg de **A** et différentes proportions de solvant ont été caractérisés. La superposition des courbe (figure 12) montre encore une fois des comportements assez similaires pour les systèmes contenant jusqu'à 40 % v/v de DMSO (cette proximité de comportement a été aussi observée lors des expériences de balayage en contrainte). Si nous nous concentrons sur la zone entre 0 et 4 min, il est assez difficile de distinguer G_{a10}, G_{a20}, G_{a30}, et G_{a40} de conclure quelque chose en relation au comportement viscoélastique avec la proportion de DMSO.

Dans tous les cas, le début du plateau de G' est atteint aux environs de 2 min et le plateau est considéré comme établi vers 5 min. Ce résultat confirme nos observations : une durée 5 min est suffisante pour la formation d'un gel avec ces mélanges. Dans le cas de l'échantillon G_{a50} le début du plateau de G' est atteint un peu plus tard, environs 4 min sont nécessaires pour l'observer. Le plateau est considéré comme établi au bout de 8 min après le démarrage de la mesure. Nos observations avaient amené à la conclusion que 10 min étaient nécessaires pour avoir un gel dans le cas de G_{a50}. Ajoutons que les modules obtenus avec G_{a50} sont significativement plus faibles que pour les autres gels, ce qui modifie la perception visuelle du phénomène. Nous pouvons conclure que les conclusions tirées de l'examen visuel des échantillons sont relativement cohérentes avec les résultats de ces premières expériences de balayage en temps.

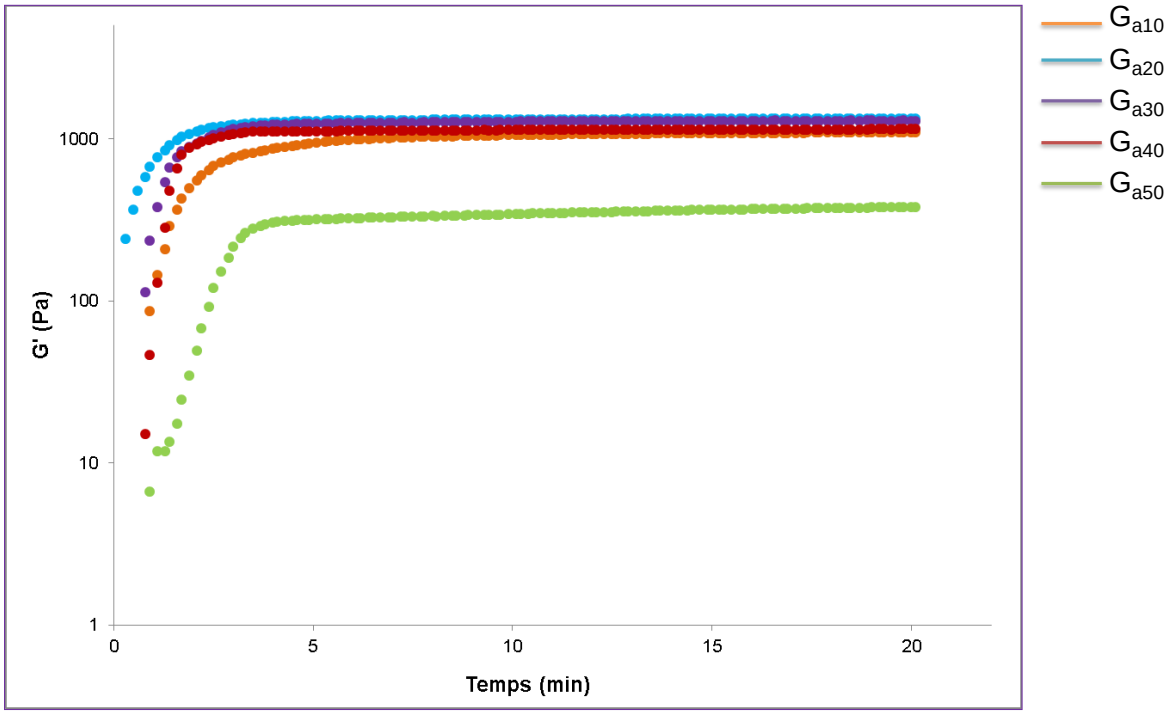


Figure 12 : Evolution de G' en fonction du temps : courbe orange 10 % v/v (G_{a10}), courbe bleu 20 % v/v (G_{a20}), courbe violet 30 % v/v (G_{a30}), courbe rouge 40 % v/v (G_{a40}), et courbe vert 50 % v/v (G_{a50}) de DMSO, en appliquant les conditions suivantes : 1 Pa, 10 rad/s à 20 °C

IV.1.2.5 Balayage en température : étude de la transition gel-solution et de la réversibilité thermique.

Les modules G' et G'' ont été étudiés en fonction de la température. L'idée est de pouvoir évaluer dans un premier temps la température à laquelle le système passe de l'état de « solide mou » à l'état de « liquide ». Dans un deuxième temps nous examinerons la réversibilité en température de ces gels.

Le gel G_{a30} a été caractérisé en utilisant les paramètres suivants : 1 Pa, et 10 rad/s (figure 13). Nous avons choisi de réaliser les expériences entre 20 et 90 °C en appliquant un gradient de température de 1 degré par minute. La procédure suivie pour la mesure est la même que celle utilisée pour les expériences de balayage en contrainte. Avant de démarrer la mesure un capuchon a été déposé sur la géométrie de Couette pour minimiser l'évaporation.

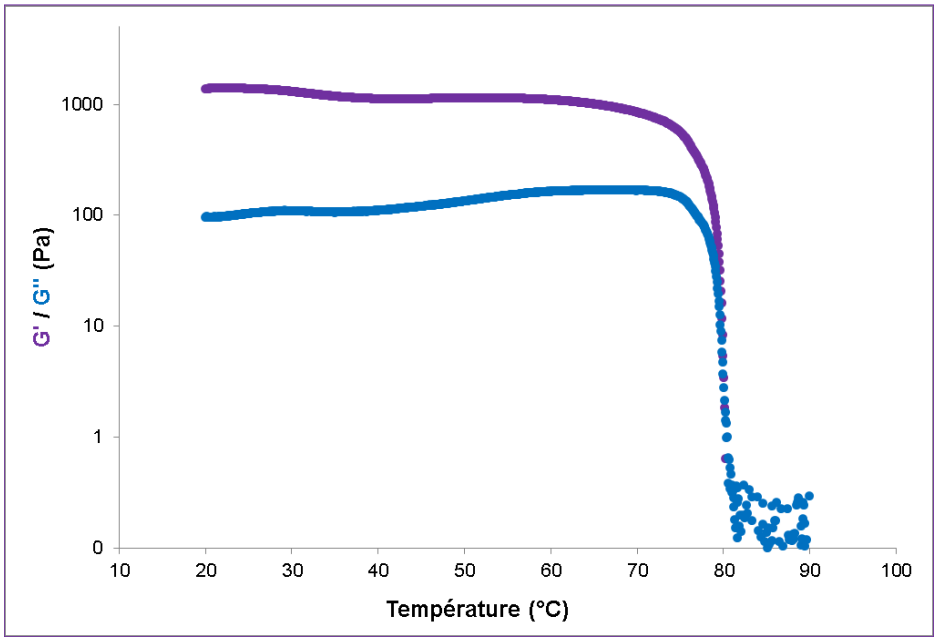


Figure 13 : Evolution de G' (courbe en violet) et G'' (courbe en bleu) en fonction de la température (chauffage), en appliquant une contrainte de 1 Pa et 10 rad/s (G_{a30}).

Les résultats ont montré (chauffage, figure 13) un comportement essentiellement élastique (G' > G'') caractérisé par des modules variant très peu jusqu'à 70 °C. Cela signifie que l'augmentation de la température ne modifie pas la structure du gel telle qu'elle est obtenue immédiatement après l'étape de préparation de l'échantillon. Au-delà de 70 °C les valeurs des modules commencent à diminuer progressivement jusqu'à une diminution assez nette vers 80 °C. Après 80°C, il est difficile de donner une conclusion car il existe une fluctuation des points assez importante. Il semble que le module G' reste supérieur au module G''. Lors des balayages en contrainte entre 0,1 et 100 Pa, nous avons également observé que G' est toujours supérieur à G'' même après une diminution significative des modules en dehors du domaine linéaire.

Il semble que cette transition en température correspond à une modification significative des interactions entre assemblages supramoléculaires mais, pas à une disparition de ces derniers. Pour préciser l'interprétation de ces phénomènes, nous avons recommencé la mesure en faisant cette fois un cycle en température complet avec un retour à température ambiante. Cette mesure va notamment nous permettre aussi de vérifier la réversibilité thermique du système.

Si nous faisons le cycle complet en température, chauffage suivi d'un refroidissement (figure 14), nous observons que tout au cours de la mesure, G' reste supérieur à G''. Une possible solution à cette problématique pourrait être l'augmentation de température au-delà de 90 °C. L'objectif est de pouvoir observer si à des températures supérieures l'inversion est possible. Cependant, le dispositif expérimental n'était pas adapté pour cela, de sorte que nous n'avons pas fait d'expériences au-delà de 90 °C.

A 20 °C nous ne retrouvons pas les valeurs de modules observés au début de la mesure. Ce résultat nous indique qu'effectivement le gel n'est pas réversible thermiquement. Ceci correspond exactement à ce que nous avions observé lors des expériences décrites dans le chapitre III. Les observations effectuées nous avaient également amenés à constater que le système devenait diphasique à chaud (formation d'une goutte liquide). Cette hétérogénéité pourrait expliquer pourquoi les courbes expérimentales deviennent beaucoup plus bruitées lors de l'étape de diminution de la température (figure 14).

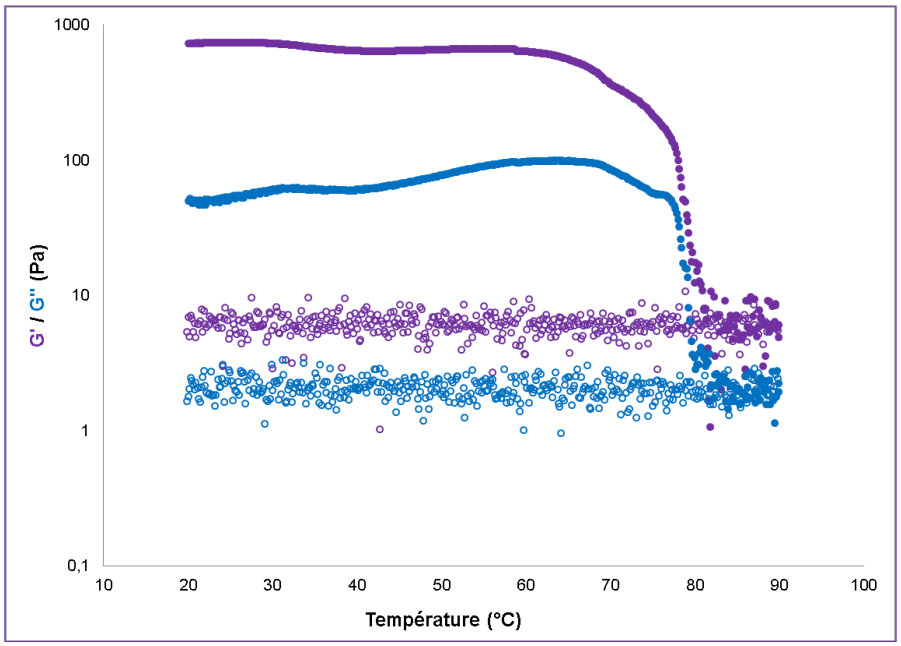


Figure 14 : Evolution de G' (courbe violet) et G'' (courbe bleu) en fonction de la température (chauffage plus refroidissement), en appliquant une contrainte de 1 Pa et une fréquence angulaire de 10 rad/s (G_{a30}).

En tenant compte des résultats des expériences de balayages en contrainte, nous proposons d'interpréter ces expériences de balayages en température de la façon suivante. Les auto-assemblages formés lors de l'étape de préparation reposent sur des interactions faibles entre les molécules (qui en sont les « briques élémentaires ») et ont une structure et des dimensions qui, certes ne nous sont pas accessible par ces expériences, mais se situent certainement à l'échelle du micromètre (échelle « mésoscopique ») puisque c'est la seule façon d'expliquer la formation de gels. Ces structures mésoscopiques sont formées à la suite de l'addition de l'eau (qui entraîne une diminution de la qualité de solvant en comparaison du DMSO seul). Leur formation et la croissance de leurs dimensions suivent une cinétique (qui reste à préciser) et qui aboutit à un blocage correspond à l'atteinte des valeurs stationnaires de G' et G''. Dans cette situation de blocage cinétique des auto-assemblages, ces derniers n'ont pas la possibilité d'explorer d'autres agencements spatiaux tant que l'échantillon ne subit ni sollicitation mécanique suffisante, ni apport d'énergie cinétique via une variation de température. Cette interprétation dite de « suspension bloquée » a déjà été proposée pour des organogels fondés sur des dérivés de la phénylalanine [5]. Sur cette base, nous pouvons interpréter les diminutions irréversibles des modules G' et G'' observées lors des expériences de balayage en contrainte et de balayage en température comme résultat du réarrangement irréversible des auto-assemblages à partir d'un état bloqué cinétiquement (un phénomène de « jamming »). Nous reviendrons plus loin dans ce chapitre sur cette interprétation qui demande à être confortée mais qui, à ce stade, offre une explication plausible à plusieurs résultats expérimentaux déjà obtenus.

La superposition des résultats pour les cinq gels montre à nouveau des comportements très similaire pour G_{a10}, G_{a20}, G_{a30}, G_{a40} entre 20 et 70 °C. A partir de 60-70 °C les valeurs du module G' commencent à diminuer puis une très forte diminution est observée entre 70 et 80°C. Contrairement aux expériences de balayage en contrainte, ces expériences mettent en évidence une influence de la proportion de solvant. En effet, lorsque la fraction volumique de DMSO augmente, la température de transition gel-sol diminue (figure 15).

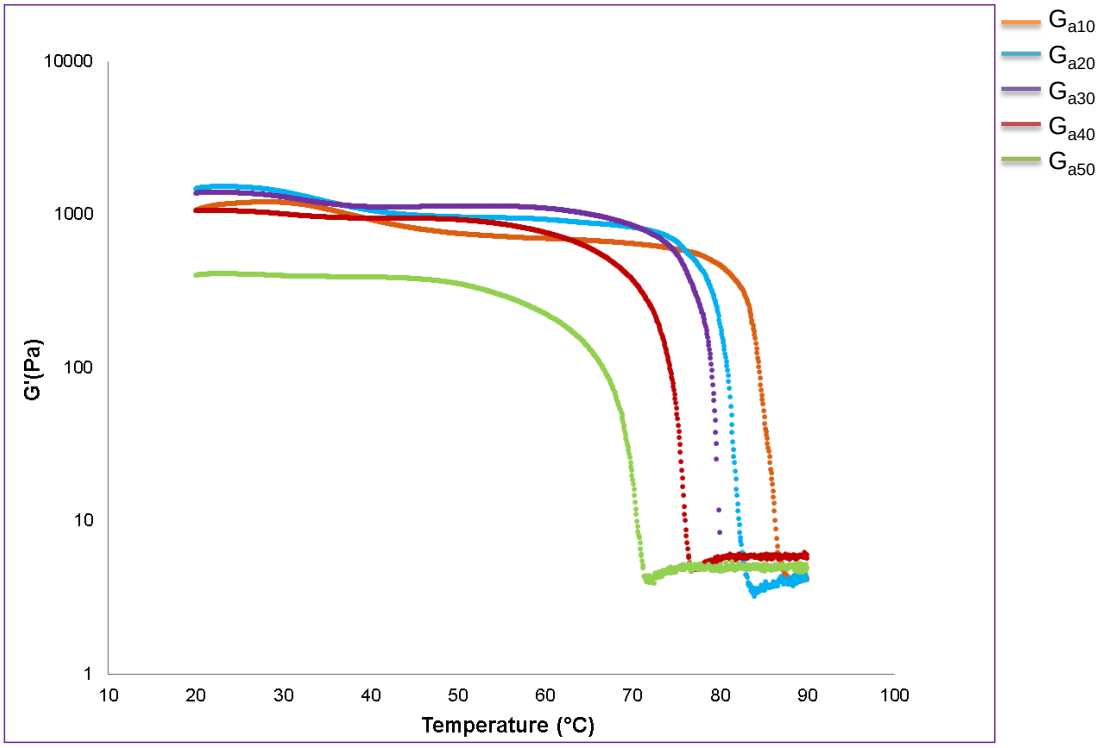


Figure 15 : Evaluation de G' en fonction de la température pour des échantillons contenant 5 mg de molécule **A** et différentes proportions de DMSO : courbe orange 10 % v/v (G_{a10}), courbe bleu 20 % v/v (G_{a20}), courbe violet 30 % v/v (G_{a30}), courbe rouge 40 % v/v (G_{a40}), et courbe vert 50 % v/v (G_{a50}). En appliquant une contrainte de 1 Pa et une fréquence angulaire de 10 rad/s.

La variation observée de G' avec la température lors du chauffage révèle que, dans la zone de transition gel-sol, G' est divisé par 10 sur un intervalle de quelques degrés. Ceci rend possible la définition d'une « température de transition gel-sol ou Tg » mais il est nécessaire de définir un critère. Pour cela, nous avons considéré la variation de tanδ en fonction de la température. Le graphe montre un maximum et nous avons défini Tg comme la température correspondant à ce maximum (figure 16).

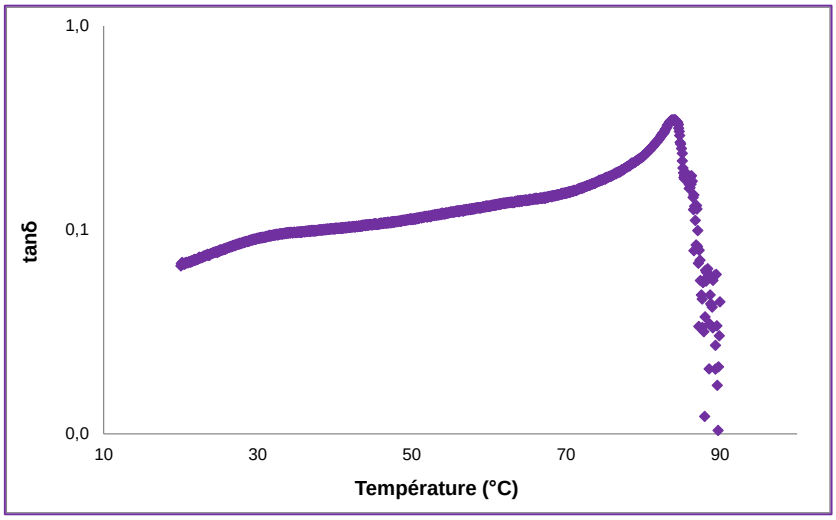


Figure 16 : Evolution de tanδ en fonction de la température pour le gel G_{a10}, en appliquant une contrainte de 1 Pa et avec une fréquence de 10 rad/s.

La valeur de Tg diminue lorsque la proportion de DMSO dans le mélange de solvants est augmentée (figure 17).

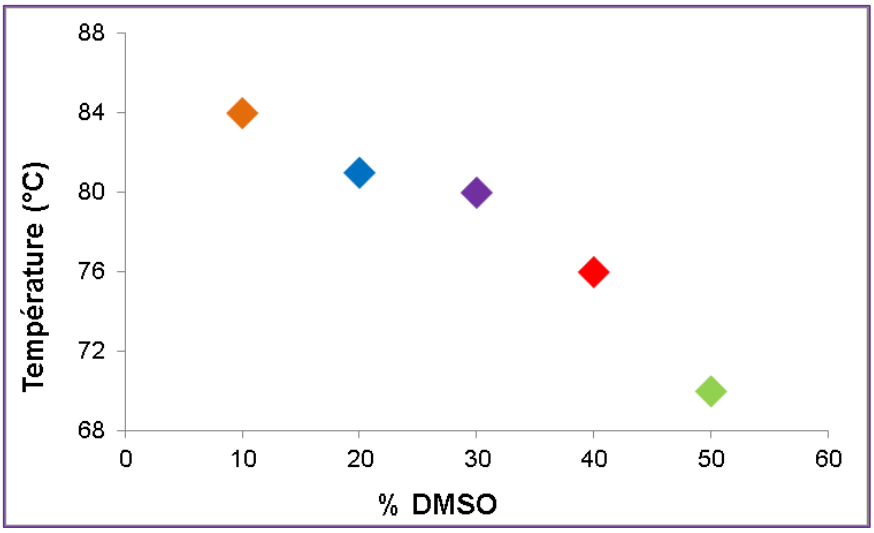


Figure 17 : Evolution de la température de transition gel-sol Tg en fonction de la proportion de DMSO. G_{a10} (orange), G_{a20} (bleu), G_{a30} (violet), G_{a40} (rouge) et G_{a50} (vert). 5 mg **A**, 1 Pa et 10 rad/s ont été les conditions de mesure appliquées.

Si nous nous référons à l'interprétation des gels de la série Ga comme des « suspensions bloquées », ce résultat indique qu'en augmentant la proportion de DMSO, l'énergie nécessaire pour dissocier le réseau bloqué d'auto-assemblages et induire leur réorganisation est plus faible. Il n'est pas possible d'aller plus loin dans l'interprétation à ce stade car plusieurs paramètres tels que le nombre, la forme et les dimensions des auto-assemblages pourraient expliquer cette variation de la Tg.

IV.1.3 Evaluation de G' et G'' en fonction de la quantité de molécule utilisée.

Pour l'analyse de l'influence de la concentration en molécule **A**, nous allons nous concentrer sur deux gels ayant des proportions de DMSO différentes : G_{a30} et G_{a50}, qui correspondent respectivement à un gel « fort » et à un gel « faible » tels que définis par les observations, confirmées par les mesures des propriétés rhéologiques.

Les expériences ont été concentrées sur des balayages en contrainte et des suivis dans le temps. Trois concentrations ont été donc évaluées, 2,7, 5,4 et 8,1 mM, ce qui correspond à des masses de 2,5 mg, 5,0 mg et 7,5 mg ajoutées dans 2 mL de mélange H_2O/DMSO respectivement.

IV.1.3.1 Balayage en Contrainte : évaluation du domaine linéaire et de la force du gel.

Des expériences de balayage en contrainte entre 0,1 et 1000 Pa ont été réalisées. Les mesures ont été effectuées avec une fréquence de 10 rad/sec et à 20 °C avec 30 % v/v de DMSO (figure 18). Nous examinerons seulement le module élastique en fonction de la contrainte car nous avons vu précédemment que les deux modules avaient des variations très similaires. Cependant, dans tous les cas nous avons observé G' > G'' dans le LVE et G'' >G' après la chute des modules.

D'après les résultats nous observons une augmentation des valeurs de G' en augmentant la concentration de molécule **A**. Ce résultat était attendu car la population de molécules disponibles pour construire le réseau tridimensionnel est plus importante. Nous observons le domaine linéaire entre 0,1 et 10 Pa pour les trois systèmes, de façon similaire à ce qui a été observé en fonction de la proportion de DMSO. Cependant nous observons que le domaine linéaire de $G_{a30\text{-}7,5}$ est un peu plus

large. C'est-à-dire que des gels avec une résistance mécanique plus élevée sont obtenus en augmentant la concentration.

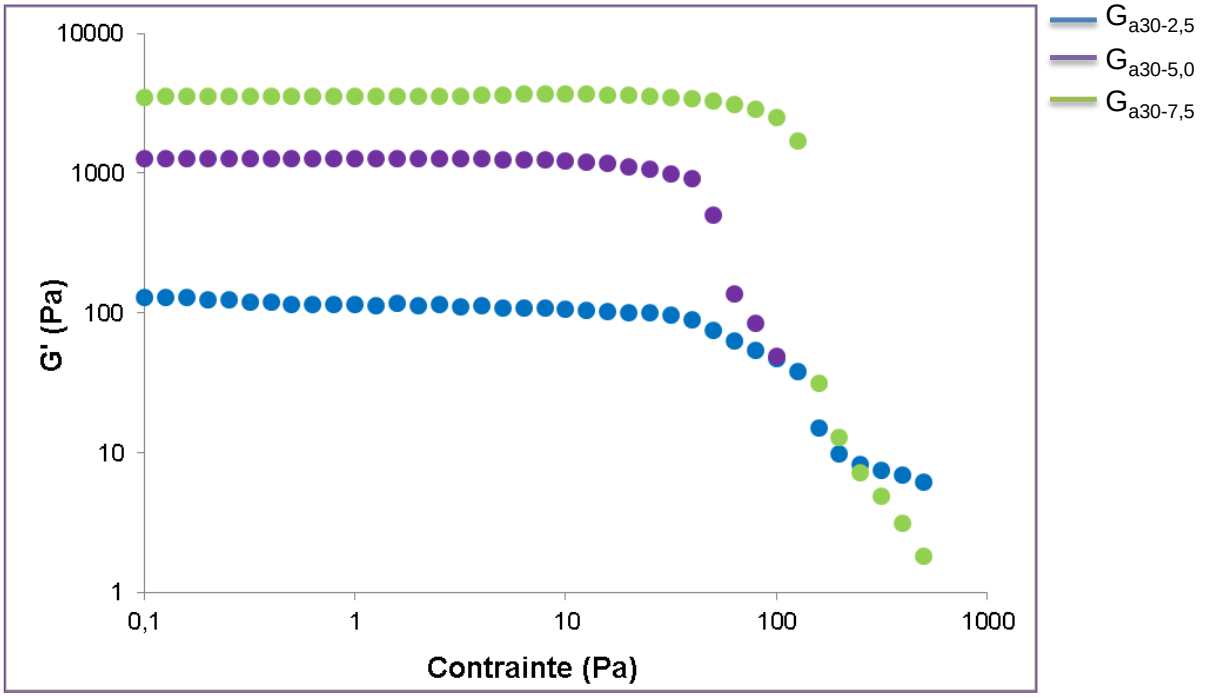


Figure 18 : Evaluation de G' en fonction de la contrainte pour des gels contenant 30 % v/v de DMSO et : 2,5 mg (bleu, $G_{a30-2,5}$), 5,0 mg (violet, $G_{a30-5,0}$), 7,5 mg (vert, $G_{a30-7,5}$) de molécule **A**. Les résultats ont été obtenus en appliquant une fréquence angulaire de 10 rad/s à 20 °C.

En nous concentrant sur la zone de diminution du module, nous constatons que plus la quantité de molécule **A** augmente plus la chute du module au-delà du LVE est marquée.

Les résultats obtenus avec les gels contenant 50 % v/v de DMSO sont similaires (Figure 19). Pour les deux quantités les plus faibles de molécule **A** (2,5 et 5 mg), la diminution de G' au-delà de 10 Pa se fait de façon plus progressive que ce qui a été observé avec les gels contenant 30 % v/v de DMSO. A nouveau, nous observons que le domaine linéaire est plus étendu pour la quantité de molécule **A** la plus élevée (7,5 mg).

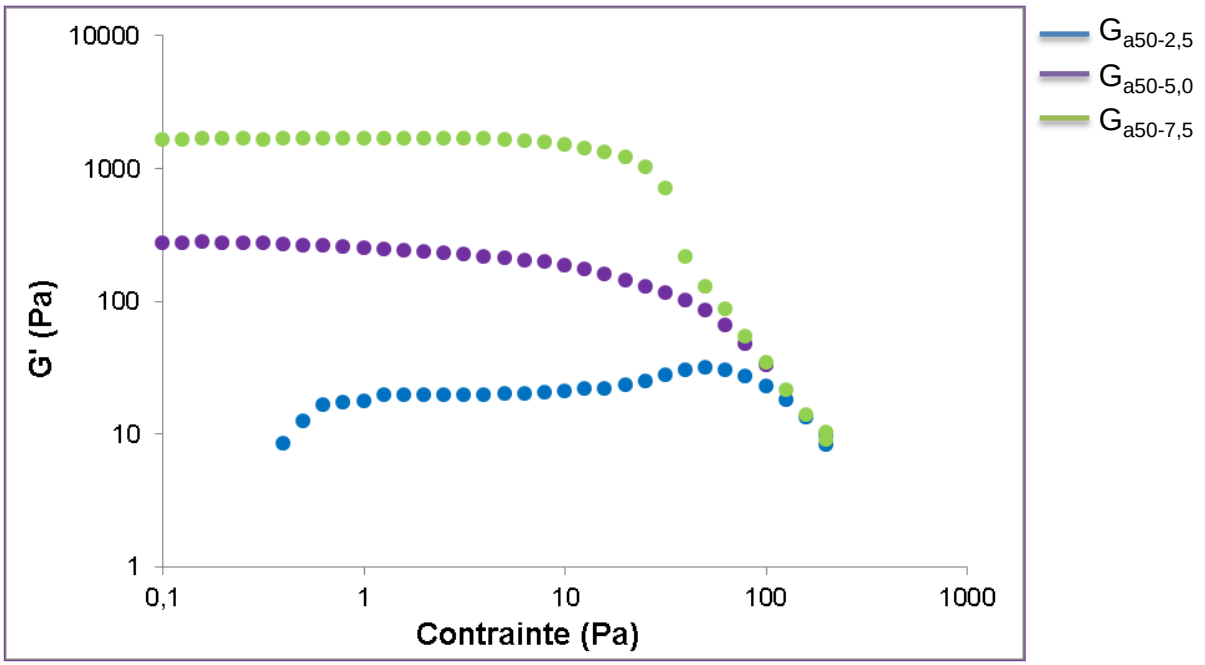


Figure 19 : Variation de G' en fonction de la contrainte pour des gels contenant 50 % v/v de DMSO et différentes masses de molécule **A** : 2,5 mg (bleu, $G_{a50-2,5}$), 5,0 mg (violet, $G_{a50-5,0}$), 7,5 mg (vert, $G_{a50-7,5}$), en appliquant une fréquence de 10 rad/s à 20 °C.

Les échantillons contenant 2,5 mg de molécule **A** présentent des modules nettement plus faibles pour les deux compositions de solvant, que les autres échantillons. Rappelons que lors de leur examen visuel, ces échantillons étaient apparus comme des fluides troubles et non comme des gels de type « solides mous ». Si nous mettons à part cette différence, les expériences menées avec les deux concentrations les plus élevées en molécule **A** rejoignent très bien les observations des essais de formulation.

IV.1.3.2 Suivi en Temps : évaluation du temps de gélification.

Les temps de gélification ont été aussi évalués, avec différentes quantités de molécule **A**, par un suivi des propriétés rhéologiques.

Pour cette étude nous avons décidé de travailler avec des systèmes contenant 30 % v/v de DMSO. Le suivi en temps a été fait entre 0 et 20 min, après la préparation du mélange et la mise en place de l'échantillon dans la géométrie de mesure. Pour le

réglage de l'appareil nous avons travaillé avec les conditions suivantes : 1Pa, 10 rad/s et 20 °C. Nous montrons seulement les résultats obtenus pour G' (figure 20).

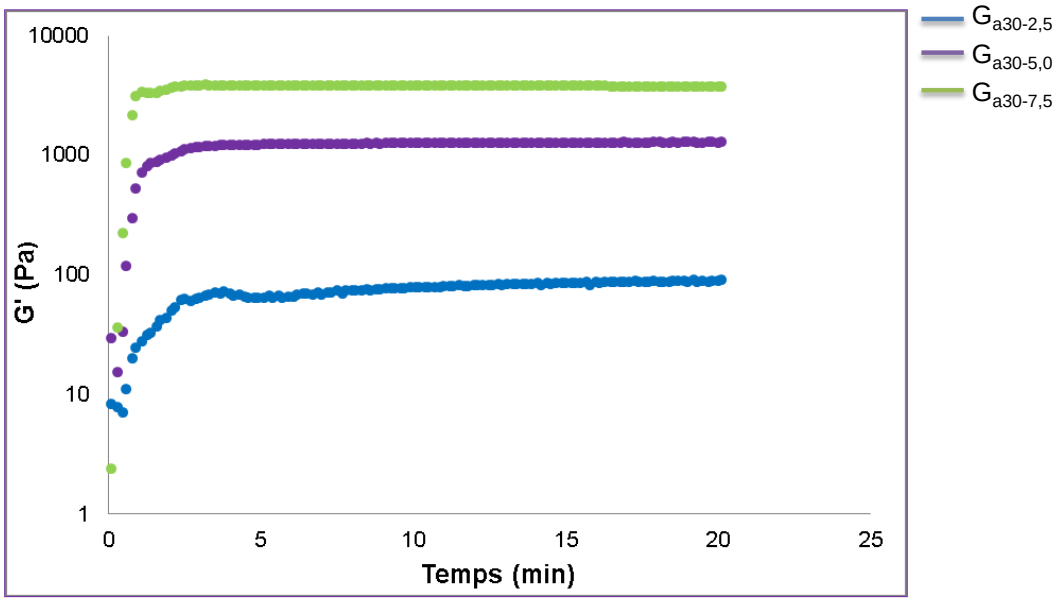


Figure 20 : Evaluation de G' en fonction du temps pour 30 % v/v de DMSO et 2,5 mg (bleu, $G_{a30-2,5}$), 5,0 mg (violet, $G_{a30-5,0}$), 7,5 mg (vert, $G_{a30-7,5}$) de molécule **A**, en appliquant une contrainte de 1 Pa, une fréquence de 10 rad/s, à 20 °C.

Nous distinguons un premier intervalle de temps entre 0 et 5 min où le module augmente de façon assez accentuée, puis un second intervalle entre 10 et 20 min, durant lequel la valeur du module reste inchangée, définissant ainsi la valeur stationnaire. Nous pouvons aussi observer qu'à mesure que nous augmentons la quantité de molécule **A**, l'augmentation du module est de plus en plus accentuée et corrélativement le premier intervalle de temps se réduit.

Les comportements sont similaires pour les systèmes contenant 10 et 50 % v/v de DMSO. Afin d'avoir une interprétation plus quantitative de ces résultats de suivi en temps, nous avons tenté de décrire les courbes obtenues à l'aide d'équations semi-empiriques. En effet, plusieurs modèles ont été proposés pour caractériser la cinétique de variation des grandeurs rhéologiques G' et G'' dans le cas de gels physiques à la fois supramoléculaires et macromoléculaires.

Ainsi, **Giacomazza Daniela et *al***. [6] ont examiné la cinétique de gélification de pectines hautement méthylées et en particulier comment la présence de saccharose

conduit au retardement du processus de gélification. Les auteurs ont proposé une équation mathématique (équation 1) décrivant l'évolution temporelle sigmoïdale des modules G' et G''.

$$G(t) = G_0 + \frac{(G_\infty + G_0)\left(\frac{t}{t_c}\right)^n}{\left(1+\left(\frac{t}{t_c}\right)^n\right)} \quad (1)$$

En 2011 les mêmes auteurs avaient réalisé une étude sur les effets du calcium sur la morphologie et les propriétés mécaniques de gels de lactosérum [7]. Ces gels avaient été formulés en fixant la concentration de la protéine (10 % en masse), et en variant la concentration de calcium (40, 80 et 120 % en masse). Le même modèle sigmoïdal décrit bien ces données expérimentales. Le modèle leur a permis de mettre en évidence que les cinétiques des gélifications ne sont pas affectées par la présence de calcium, même si les morphologies varient.

Les modèles utilisés pour décrire les cinétiques d'évolution isotherme des modules rhéologiques de gels physiques sont fondés sur des expressions de cinétiques de cristallisation. Un exemple de cela a été proposé par **Kelarakis A. et *al.*** [8] Ces auteurs ont évalué la cinétique de cristallisation de copolymères à bloc en utilisant le modèle d'Avrami à partir de résultats de rhéologie et de calorimétrie différentielle à balayage (DSC). Plusieurs modèles cinétiques sont disponibles pour exprimer l'avancement de la cristallisation en fonction du temps en conditions isothermes [9]. Ces modèles expriment la fraction de molécules cristallisée X en fonction du temps (équations 2 à 4).

Equation d'Avrami $$X(t) = 1 - \exp\left[-(K_a t)^{n_a}\right] \quad (2)$$

Equation de Tobin $$X(t) = \frac{(K_T t)^{n_T}}{1+(K_T t)^{n_T}} \quad (3)$$

Equation de Malkin $$X(t) = 1 - \frac{C_0+1}{C_0+\exp(C_1 t)} \quad (4)$$

Dans ces expressions, K_a, K_T et C_1 sont des constantes dont les unités sont les inverses d'unités de temps et n_a, n_T et C_0 sont des constantes sans unités.

Le lien avec les propriétés rhéologiques est établi en considérant que X(t) est égale à la variation relative du module rhéologique (équation (5)) **[10]**.

$$X(t) = \frac{G'(t)-G'_0}{G'_\infty-G'_0} \quad (5)$$

Ces expressions, issues de la cristallisation ont ensuite été étendues à l'étude des cinétiques d'évolution de gels supramoléculaires et macromoléculaires sous l'effet de la formation d'un réseau tridimensionnel. Ceci se justifie par le fait que les interactions faibles entre les molécules lors de la gélification peuvent être parfois très similaires à celles qui s'établissent lors de la cristallisation. Lorsque ces équations sont appliquées à des phénomènes de gélification, X(t) représente la « fraction volumique des auto-assemblages ». Il faut toutefois garder à l'esprit que cette « fraction volumique », tout comme G', dépend non seulement de la quantité d'auto-assemblages mais aussi de leur agencement dans l'espace. Cette considération est d'ailleurs essentielle dans notre proposition de considérer les gels Ga comme des « suspensions bloquées ». Peut-être que le terme « fraction volumique apparente des auto-assemblages » serait plus adapté.

L'étude des cinétiques de gélification de petites molécules a été très étudiée à l'aide du modèle d'Avrami. Outre le module de stockage, G', d'autres grandeurs (par exemple spectroscopiques) ont été utilisées pour calculer X(t). **[11, 12, 13, 14]**. L'intérêt principal de l'utilisation de l'équation d'Avrami, c'est que la valeur de l'exposant n_a, donne une indication sur le mécanisme de formation et de croissance des auto-assemblages.

Dans notre cas, nous ferons l'approximation $G'_0 \approx 0$. Nous avons

Après examen de nos résultats expérimentaux, il est apparu que deux équations décrivaient correctement les courbes rhéologiques de suivi en temps, chacune apportant des informations spécifiques. D'une part l'équation d'Avrami et d'autre part une équation de la forme suivante (équation 6) :

$$G'(t) = \frac{G'_{inf}}{1+\left(\frac{t_{0,5}}{t}\right)^b} \qquad (6)$$

Dans cette expression, $\mathbf{G'_{inf}}$ correspond à la valeur du module élastique à des temps infini; $\mathbf{t_{0,5}}$ est le temps nécessaire pour que G' atteigne la valeur $G'_{inf}/2$ (ce paramètre nous permet d'avoir une indication du temps caractéristique de formation du gel) ; et **b** indique la raideur de l'augmentation de G' en fonction du temps. Il est facile de vérifier que cette équation résulte de l'utilisation de l'équation de Tobin pour décrire la cinétique de formation des auto-assemblages. L'équation est aussi parfois dénommée « équation de Hill » **[15]**. Cette équation est aussi équivalente à l'équation (1).

L'intérêt principal de l'équation (6) c'est qu'elle décrit toute la courbe rhéologique, depuis l'instant initial. Par ailleurs elle conduit à déterminer deux valeurs importantes $\mathbf{G'_{inf}}$ et $\mathbf{t_{0,5}}$, qui nous permettront de « réduire » les courbes expérimentales et ainsi de comparer des conditions et des molécules gélifiantes différentes.

Par comparaison, l'équation d'Avrami s'applique dès que $G'(t) > 0$, c'est-à-dire dès que le module de stockage augmente de façon significative. Ainsi, s'il existe une « période d'induction » ($0 < t < t_0$) durant laquelle $G' \approx 0$ (comme c'est le cas pour nos expériences), alors il faut considérer uniquement la portion à $t > t_0$.

Dans ce qui suit, toutes les courbes calculées à partir d'une équation seront représentées avec des lignes continues. Lorsque nous représenterons des données expérimentales, les valeurs seront représentées avec des points.

Nous avons étudié trois systèmes contenant 5 mg de molécule **A** et 10, 30 et 50 % v/v de DMSO. Un ajustement satisfaisant des courbes expérimentales est observé (figure 21).

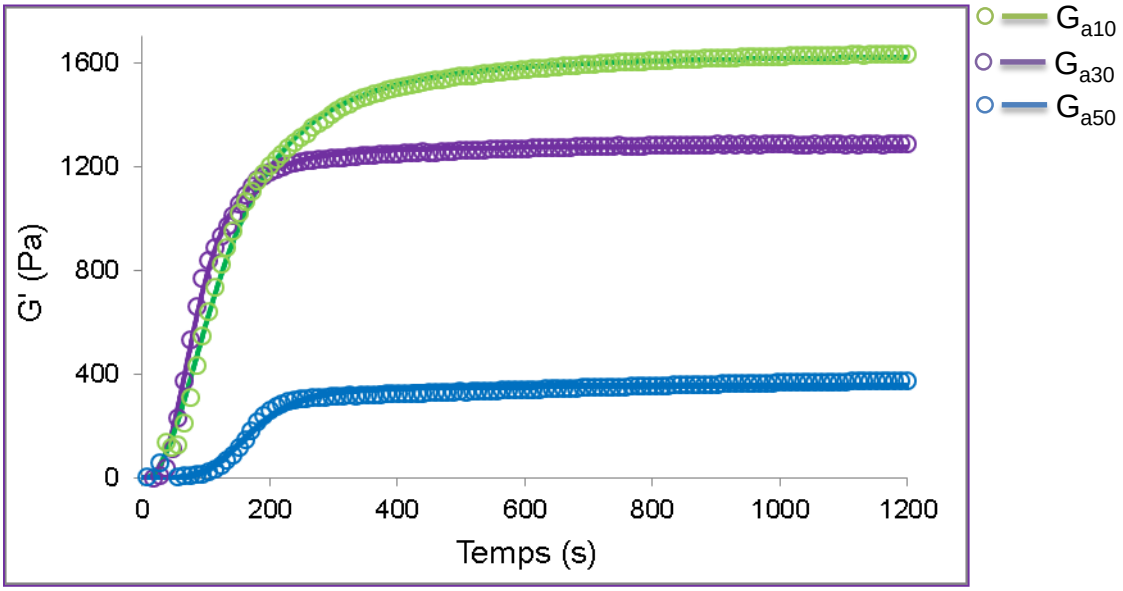


Figure 21 : Superposition des données expérimentales (G_{a10} vert, G_{a30} violet et G_{a50} bleu) avec les courbes ajustées en utilisant l'équation (6) (lignes continues).

D'après les résultats nous pouvons dire que G'_{inf} diminue à mesure que nous augmentons la proportion de DMSO (figure 22).

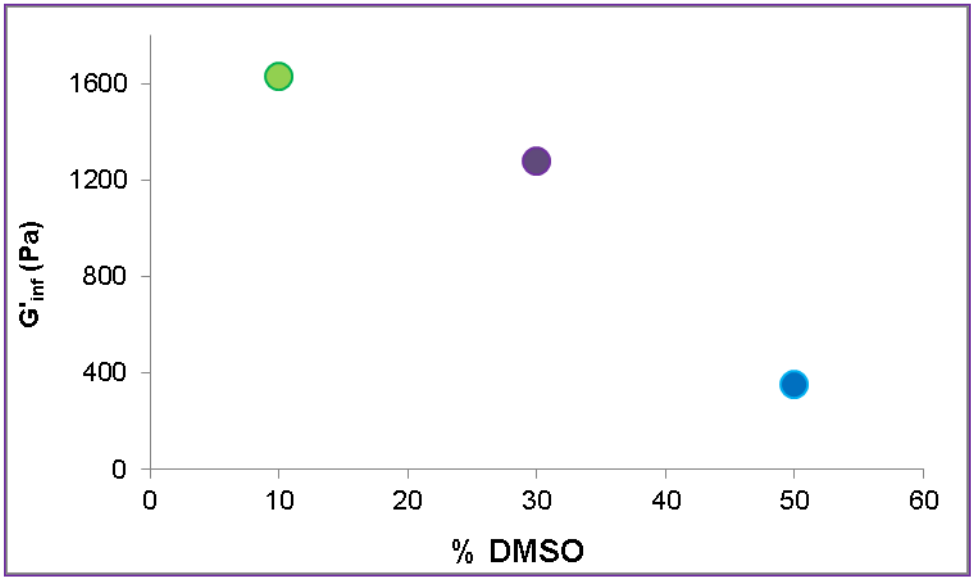


Figure 22 : Evolution de G'_{inf} en fonction de la proportion de solvant utilisé.

Les observations à l'œil nu n'avaient pas permis de préciser une différence nette entre les systèmes contenant de 10 à 40 % v/v de DMSO. Nous avions toutefois pu constater qu'en augmentant le volume de DMSO (chapitre III, section III.2.3.1), nous nous dirigions vers la perte de la capacité de gélification. Les résultats obtenus ici sont donc en accord avec cette observation : un comportement élastique moins important est observé en augmentant la proportion de DMSO.

Tendances en relation à la quantité de molécule utilisée :

En ce qui concerne l'influence de la quantité de gélifiant utilisée nous avons comparé les données expérimentales avec les courbes ajustées avec l'équation 6 (figure 23).

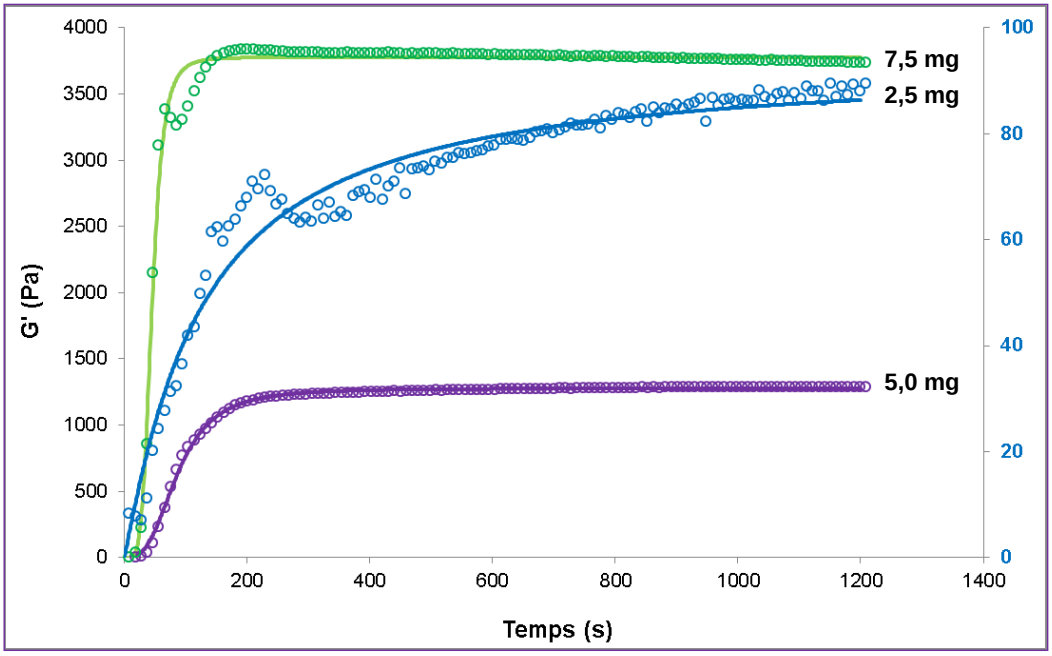


Figure 23 : Superposition des données expérimentales (2,5 mg bleu, $G_{a30\text{-}2,5}$ échelle de droite, 5,0 mg violet, $G_{a30\text{-}5,0}$ et 7,5 mg vert, $G_{a30\text{-}7,5}$ échelle de gauche) avec les courbes ajustées en utilisant l'équation (6) (lignes) pour des gels contenant 30 % v/v de DMSO.

Cette comparaison nous a permis de constater une bonne correspondance, des courbes calculées avec les points expérimentaux (figure 23). De tels ajustements sont aussi observés pour les systèmes contenant 10 et 50 % v/v de DMSO.

Nous avons aussi évalué les différents paramètres : **G'_{inf}, $t_{0,5}$,** et **b** :

- **Evolution de G'_{inf} en fonction de la quantité de molécule utilisé**

Nous concentrerons sur les résultats obtenus avec des systèmes contenant 30 % v/v de DMSO. Les systèmes contenant 10 et 50 % v/v de DMSO conduisent à des tendances identiques. Les valeurs du modules élastique G'_{inf} augmentent avec la quantité de gélifiant (figure 24-A).

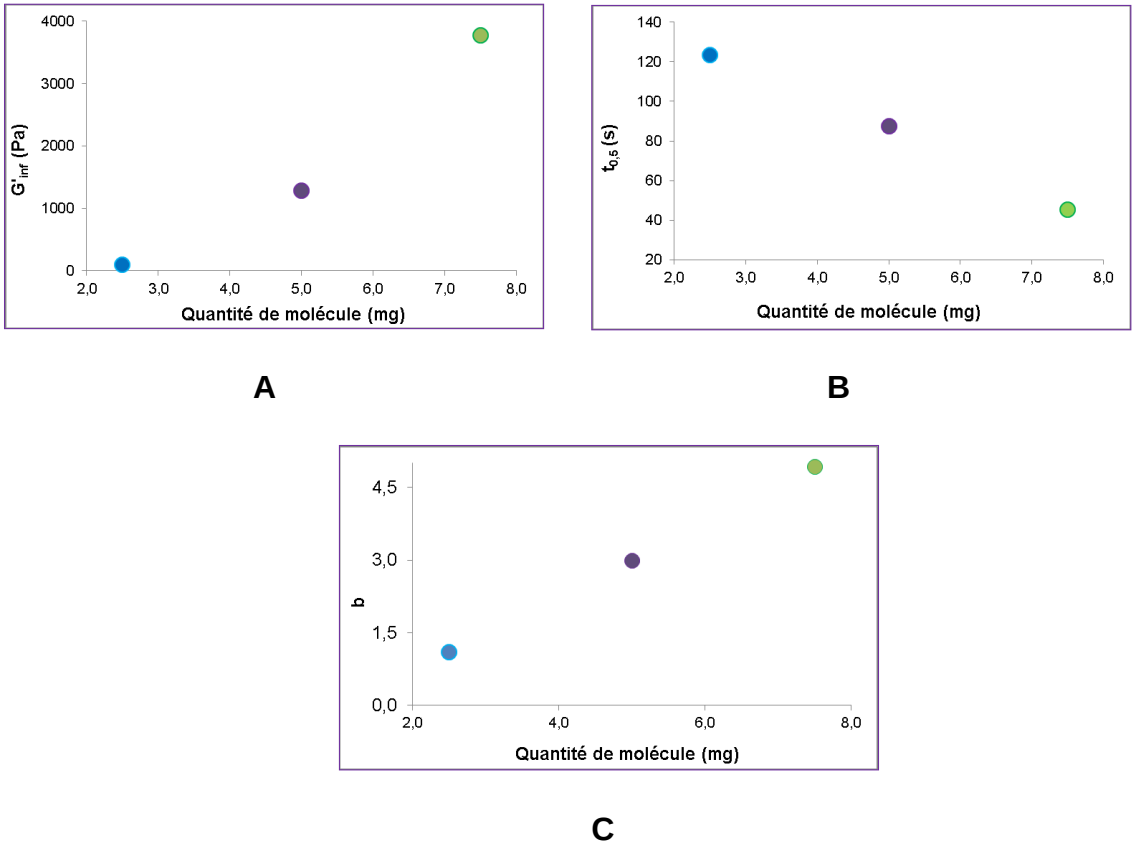


Figure 24 : Evolution de **G'$_{inf}$** (**A**), de **$t_{0,5}$** (**B**) et du paramètre **b** (**C**) en fonction de la quantité de molécule utilisée.

- **Evolution du $t_{0,5}$ en fonction de la quantité de molécule.**

Les résultats indiquent une diminution du temps caractéristique $t_{0,5}$ en augmentant la quantité de gélifiant (figure 24-B). Cela veut dire qu'à des concentrations plus élevées le temps nécessaire pour atteindre G'$_{inf}$/2 est moins important. Nous confirmons donc de manière quantitative nos observations lors des essais de formulation.

- **Evolution du paramètre b en fonction de la quantité de molécule :**

Nous constatons que b atteint des valeurs plus élevées en augmentant la quantité de gélifiant (figure 24-C). Or, le rapport b/$t_{0,5}$ donne une idée de la vitesse de formation du gel. Les valeurs trouvées pour b et $t_{0,5}$ confirment qu'à des quantités plus élevées de molécule **A** la vitesse de formation du gel est plus grande.

- **Comparaison de courbes « adimensionnelles »**

Pour aller un peu plus loin nous avons défini deux grandeurs adimensionnelles : le module relatif, **G'/G'_{inf}** et le temps relatif, **$t/t_{0,5}$**. En représentant **G'/G'_{inf}** en fonction de **$t/t_{0,5}$** le seul paramètre qui caractérise le système est **b**, et les courbes obtenues doivent comporter le point de coordonnées (1, 0,5). Nous constatons que c'est effectivement le cas (figure 25). Pour des quantités de molécule **A** égales à 5 et 7,5 mg les ajustements des courbes sont assez fiables pour toutes les proportions de DMSO (10, 30 et 50 % v/v). Pour 2,5 mg l'ajustement des courbes est moins fiable du fait des incertitudes expérimentales. D'après les résultats nous pouvons observer une très bonne superposition des courbes. Cette superposition nous indique que les cinétiques de gélifications sont similaires, quelle que soit la concentration de molécule et la fraction volumique de DMSO utilisée. C'est-à-dire que la variation de ces deux paramètres ne modifie pas le mécanisme selon lequel les auto-assemblages se forment pour conduire finalement au réseau tridimensionnel (ou au minimum le mécanisme du processus cinétiquement limitant) responsable des propriétés rhéologiques obtenues.

Tout ce que nous venons de décrire est fondé sur l'utilisation des valeurs du module de stockage, G'. Nous ne le détaillerons pas ici mais l'ensemble du traitement mathématique a également été effectué en utilisant les valeurs du module de perte G''. Pour la quantité de molécule **A** la plus faible, 2,5 mg, les données expérimentales sont bruitées et n'ont pas toujours permis un ajustement raisonnable. Cependant, pour toutes les autres courbes expérimentales, l'ajustement des valeurs de G'' a conduit à des valeurs de **$t_{0,5}$** très proches de celles déterminées avec les valeurs de G'.

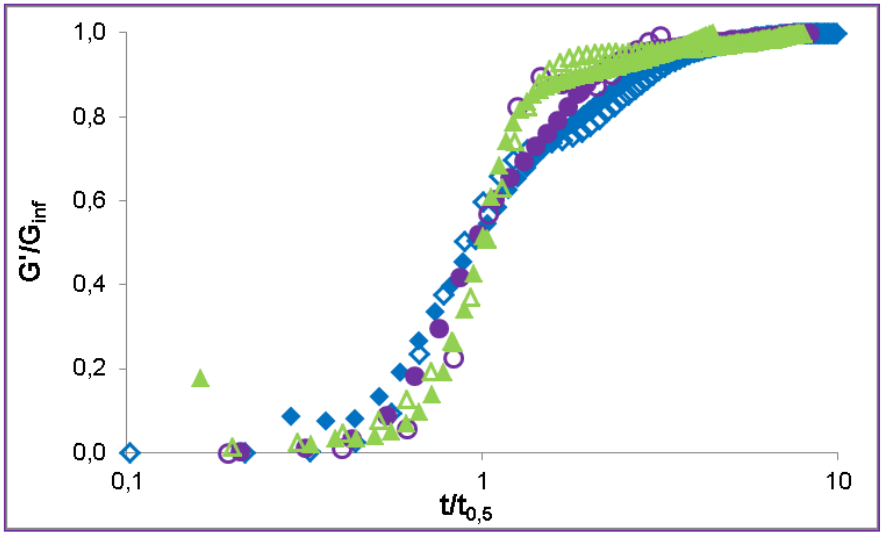


Figure 25 : Evaluation de **G'/G$_{inf}$** en fonction de **t/t$_{0,5}$** : 10 % de DMSO courbe bleu (diamant plein 5 mg G$_{a10-5,0}$, vide 7,5 mg G$_{a10-7,5}$) ; 30 % de DMSO courbe violet (rond plein 5 mg G$_{a30-5,0}$, vide 7,5 mg G$_{a30-7,5}$) ; 50 % v/v de DMSO courbe vert (triangle plein 5 mg G$_{a50-5,0}$, vide 7,5 mg G$_{a50-7,5}$).

Par ailleurs, les valeurs adimensionnelles G''/G''$_{inf}$ étaient toujours parfaitement superposées aux valeurs de G'/G'$_{inf}$ représentées en fonction de t/t$_{0,5}$. Ces résultats démontrent que les courbes de suivi dans le temps de G'' conduisent à des informations strictement identiques.

Le caractère essentiellement phénoménologique de l'équation (6) ne permet pas d'en tirer des informations sur la cinétique de formation et de croissance des auto-assemblages.

Afin d'aller plus loin sur ce dernier point, nous avons utilisé l'équation d'Avrami qui elle aussi décrivait correctement les courbes expérimentales (lorsque t > t$_0$).

Nous avons vérifié que les valeurs de **G'$_{inf}$** déduite de cette équation étaient toujours très proches de celles obtenues avec l'équation (6). De même, l'équation d'Avrami permet d'estimer des valeurs de **t$_{0,5}$** en très bon accord avec celles données par l'équation (6). Enfin les valeurs de la constante de vitesse **K$_a$** (équation d'Avrami) et celles du rapport **b/t$_{0,5}$** (équation (6)) varient de façon très similaire, ce qui est encore un gage de cohérence entre les deux ajustements des courbes expérimentales.

Pour toutes les conditions expérimentales, l'équation d'Avrami conduit à des valeurs de l'exposant n_a comprises entre 0,5 et 1,0. Ces valeurs sont compatibles avec un mécanisme de croissance des auto-assemblages selon une dimension. C'est-à-dire des auto-assemblages plutôt linéaires dont la croissance se ferait principalement selon la longueur.

Dans le but de confirmer cette information importante, le modèle proposé par Dickinson, qui suppose la formation d'auto-assemblages fractals (dimension fractale D_f), a été utilisé pour ajuster la partie croissante des courbes (équation 7) [16].

$$LnX = C + \frac{3 - D_f}{D_f} Ln(t - t_0) \qquad (7)$$

Dans cette équation, C est une constante et D_f la dimension fractale des auto-assemblages. Avec nos résultats expérimentaux, cette équation conduit à des valeurs de D_f toujours comprises entre 1,5 et 2,0, ce qui correspond à des objets de type ramifiés [17].

Le bilan de l'analyse des courbes expérimentales de balayages en temps des échantillons contenant la molécule **A** peut être résumé comme suit :

- un même mécanisme de croissance unidimensionnelle des auto-assemblages semble à l'origine des propriétés rhéologiques,
- des informations équivalentes sont obtenues avec G' et G'', indépendamment des questions de précision des mesures,
- des auto-assemblages fractals de type ramifiés rendraient compte de la cinétique d'augmentation de G' et G''.

IV.1.4 Evaluation des modules rhéologiques G' et G'' des gels dialysés.

Des hydrogels ont été préparés en dialysant les organogels aqueux après leur préparation. Afin de vérifier que l'opération de dialyse a permis d'extraire totalement le DMSO nous avons eu recours à des mesures de spectroscopie RAMAN. Nous détaillerons ce point dans le chapitre suivant (chapitre V).

Le gel G_{a30}, une fois dialysé, a été caractérisé par rhéologie en utilisant la géométrie plan-plan de 40 mm en titane. L'échantillon a été préparé et dialysé pendant

2 jours avant la mesure. Pour la mise en place du gel dans la géométrie, nous avons ouvert très soigneusement la membrane et déplacé le gel sur le plateau inférieur de la géométrie. Le gap a été fait et la mesure lancée. Nous avons évalué seulement le LVE et la force de l'hydrogel par des balayages en contrainte entre 0,1 et 100 Pa, avec une fréquence de 10 rad/sec et à 20 °C.

Les résultats ont montré (figure 26) un comportement viscoélastique proche de celui de l'organogel aqueux avant dialyse. Nous retrouvons donc, un domaine linéaire défini entre 0,1 et 10 Pa. Dans cet intervalle nous observons une assez bonne superposition des points expérimentaux obtenus avec G_{a30} et $G_{a30\text{-dialysé}}$.

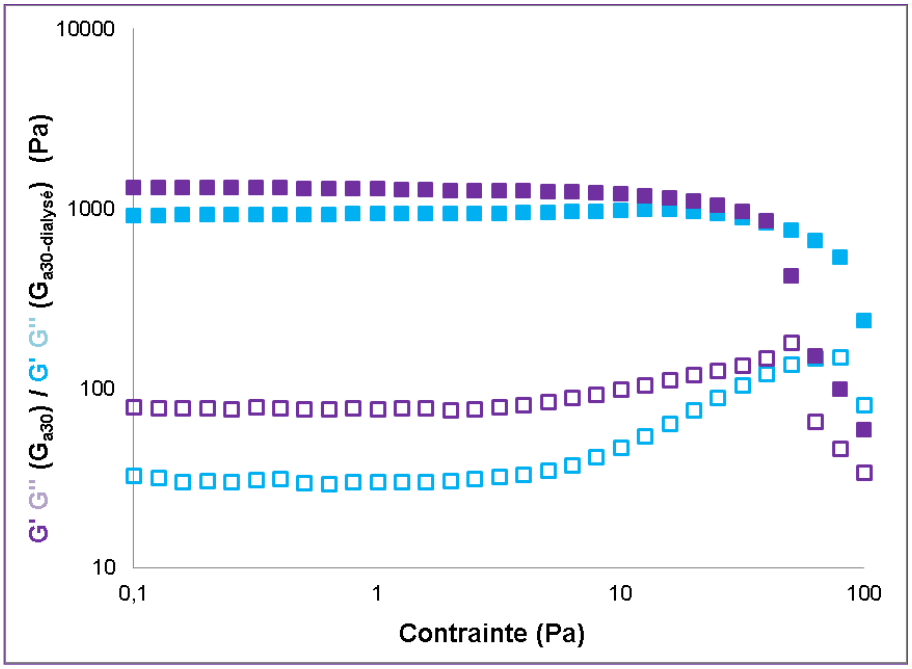


Figure 26 : Comparaison des propriétés viscoélastiques entre le gel G_{a30} dialysé ($G_{a30\text{-dialisé}}$) et l'organogel aqueux de départ (G_{a30}). La mesure a été faite en appliquant une fréquence angulaire de 10 rad/s à 20 °C.

En tenant compte des erreurs expérimentales, les différences de valeurs des modules rhéologiques du gel avant et après dialyse ne sont pas significatives.

Au-delà du LVE il semble que la chute du module G' pour le gel dialysé a lieu à des contraintes plus élevées que celle observée avec l'organogel aqueux de départ. Cette différence semble indiquer une résistance mécanique plus importante pour $G_{a30\text{-}}$

dialysé que pour G_{a30}. Cette tendance demanderait à être confirmée par davantage d'expériences.

Ces expériences ont démontré la possibilité de préparer des hydrogels avec la molécule **A**, à condition d'utiliser un procédé adapté comprenant une étape de dialyse.

IV.1.5 Evaluation des modules rhéologiques G' et G'' des gels hybrides.

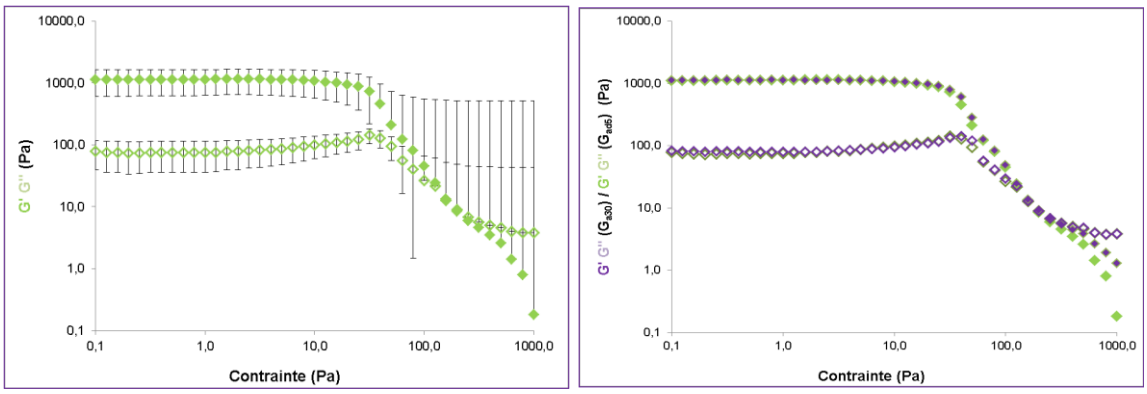
Lors des essais de formulation nous avons évalué (chapitre III section III.2.5) l'effet d'ajouter un polymère non associatif au sein des mélanges contenant la molécule **A**. L'objectif était de formuler des gels hybrides supra-macromoléculaires et de préciser l'impact de la présence du dextrane sur les propriétés de gélification de la molécule **A**. Nous avons observé des gels dans les trois domaines de concentration du polymère dans la solution initiale dans le DMSO : dilué, semi dilué et concentré, pour 5 mg de molécule **A** et 30 % v/v de DMSO dans le mélange final. Dans ce paragraphe, nous souhaitons comparer les propriétés mécaniques des gels supramoléculaires et des gels hybrides dérivés. Dans ce but, nous avons évalué les propriétés rhéologiques de 5 gels hybrides (G_{ad5}, G_{ad20}, G_{ad80}, G_{ad160}, G_{ad240}) et nous les avons comparées avec celles du gel G_{a30}.

Les expériences réalisées comportent, comme précédemment, des balayages en contrainte pour l'évaluation du domaine linéaire, et la comparaison des modules des différents gels. L'évaluation du temps de gélification à travers des suivis en temps, et finalement des expériences de balayage en température pour mettre en évidence l'effet de la présence du polysaccharide sur la transition gel-solution.

IV.1.5.1 Balayage en contrainte : évaluation du domaine linéaire et comparaison des modules des différents gels.

L'évaluation du domaine linéaire a été réalisée à l'aide de balayages en contrainte entre 0,1 et 1000 Pa. Comme précédemment nous avons fixé la fréquence angulaire ω à 10 rad/sec et utilisé une température de 20 °C. Nous allons analyser et comparer les résultats dans différents domaines de concentration. La zone diluée sera tout d'abord étudiée avec le gel contenant 5 mg de dextrane. Les résultats montrent (figure 27-A) un module élastique G' supérieur au module visqueux G'' avec un

domaine linéaire qui s'étend entre 0,1 et 10 Pa. Une diminution significative de G' est observée au-delà de 30 Pa. Globalement les modules G' et G'' ne sont pas significativement différents de ceux déterminés avec le gel supramoléculaire G_{a30} sur tout l'intervalle de contrainte exploré. Pour les deux systèmes, une inversion des modules G' et G'' intervient à des contraintes élevées (vers 500 Pa, figure 27-B). Le domaine dilué implique des chaînes de polymère éloignées les unes des autres et sans interactions. Dans ces conditions, il semble que les pelotes macromoléculaires de dextrane coexistent sans interactions avec le gel supramoléculaire formé par la molécule **A**.

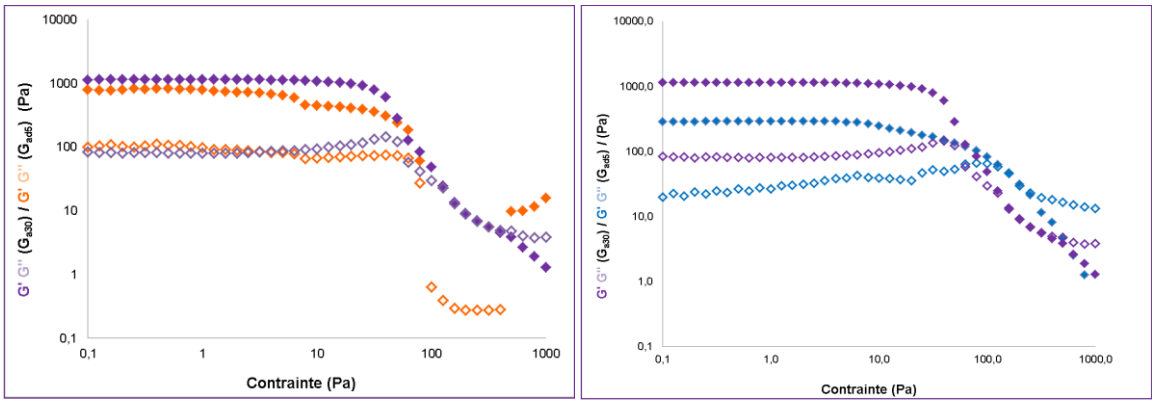


A B

Figure 27 : **A.** Evolution de G' et G'' pour le gel hybride G_{a30d5} en fonction de la contrainte. B. Superposition des valeurs des modules rhéologiques G' et G'' pour : G_{a30d5} (vert), G_{a30} (violet). 10 rad/sec à 20 °C ont été utilisé.

Pour confirmer cette conclusion, nous allons examiner le gel G_{ad80}. Dans ce gel, le dextrane est initialement en solution semi-diluée dans le DMSO et se trouve en solution diluée après l'addition de l'eau. Globalement les modules G' et G'' ont des valeurs similaires à celles des systèmes G_{a30} et G_{a30d5} (figure 28-A). Cependant, sur le domaine linéaire (entre 0, et 10 Pa) le système G_{a30} conduit à des valeurs de modules (G' et G'') plus élevées que le gel hybride G_{a30d80}. Si nous nous concentrons sur la valeur de G' à la contrainte de 1 Pa (domaine linéaire), nous observons une valeur de G' pour G_{a30} de 1283 Pa et de 780 Pa pour G_{ad80} à la même contrainte. Donc lorsque le dextrane se trouve en solution diluée dans le gel, son influence sur les propriétés rhéologiques du gel est limitée.

Nous avons ensuite examiné les propriétés rhéologiques d'un gel hybride dans lequel le dextrane se trouve en solution semi-diluée. Pour cela nous avons retenu le système contenant 240 mg de dextrane dans lequel le dextrane est en solution semi-diluée enchevêtrée dans le DMSO et en solution semi-diluée non enchevêtrée dans le gel une fois l'eau ajoutée (figure 28-B). Les valeurs des modules G' et G'' sont beaucoup moins élevées pour le gel G_{ad240} que pour le gel G_{a30}. En évaluant les erreurs associées aux mesures nous confirmons une différence significative entre les deux gels. Une interprétation possible c'est que l'enchevêtrement des macromolécules (dans le DMSO) puis le recouvrement de celles-ci (dans le gel) constituent des gênes à la formation du réseau supramoléculaire et finalement limitent sa connectivité.



A B

Figure 28 : **A.** Evaluation de G' et G'' pour le gel hybride G_{a30d80} (orange), en fonction de la contrainte. **B.** Evaluation de G' et G'' pour le gel hybride $G_{a30d240}$ (bleu), en fonction de la contrainte. Dans les figures **A** et **B**, la courbe violette correspond au gel G_{a30}. 10 rad/sec à 20 °C ont été utilisé.

La superposition des courbes obtenues avec les 4 systèmes confirme cette tendance (Figure 29). Nous montrons juste le module élastique G' mais la même tendance apparaît avec G''.

La présence du dextrane ne permet donc pas de renforcer le gel supramoléculaire mais semble au contraire diminuer les propriétés rhéologiques de ce dernier. Les examens visuels dans les heures et jours suivant la préparation nous ont par ailleurs révélé que les gels contenant du dextrane présentaient une démixtion de solvant après quelques heures contrairement au gel contenant seulement la molécule

A pour lequel la démixtion n'était détectée qu'au bout de 5 jours suivant leur préparation (chapitre III, section III.2.5).

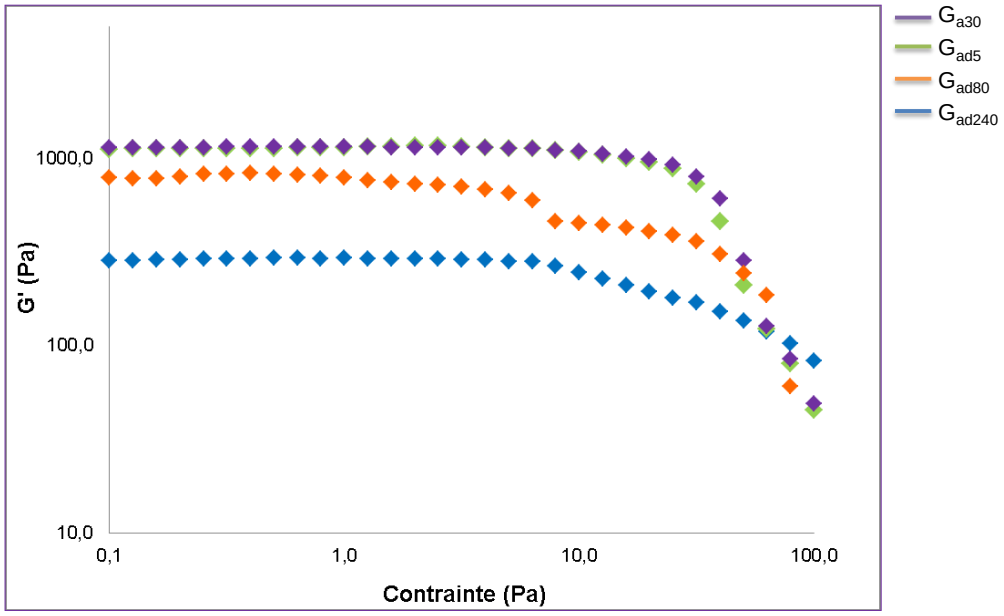


Figure 29 : Balayage en Contrainte : comparaison des modules élastiques G' pour G_{a30} (violet), G_{a30d5} (vert) G_{a30d80} (orange), $G_{a30d240}$ (bleu). 10 rad/sec à 20 °C ont été appliqué.

IV.1.5.2 Balayage en Temps : évaluation du Temps de Gélification.

D'après les observations visuelles lors des essais de formulation, il est apparu que 5 min étaient nécessaires pour la formation du gel, avec tous les systèmes évalués. Des suivis en temps entre 0 et 20 min ont été réalisés pour caractériser la cinétique d'évolution des propriétés rhéologiques selon la quantité de dextrane présent. La fréquence angulaire a été fixée à 10 rad/sec et la température à 20 °C. La superposition des quatre courbes correspondant à G_{a30}, G_{ad5}, G_{ad80} et G_{ad240} (figures 30) fait apparaître quelques tendances. Comme précédemment, nous montrons seulement le modules élastique G' mais les conclusions seraient les mêmes en examinant G''.

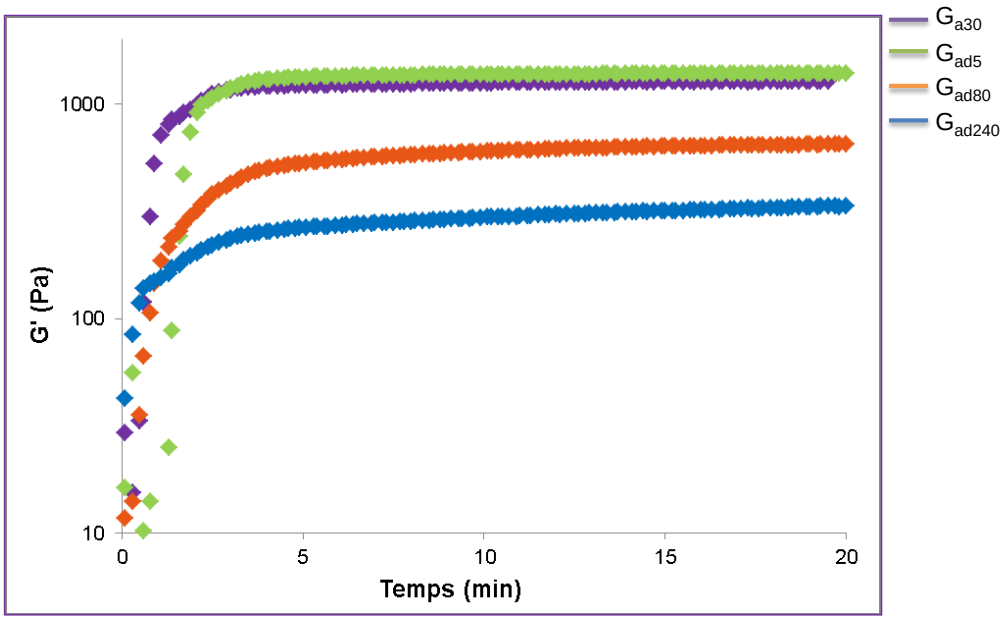


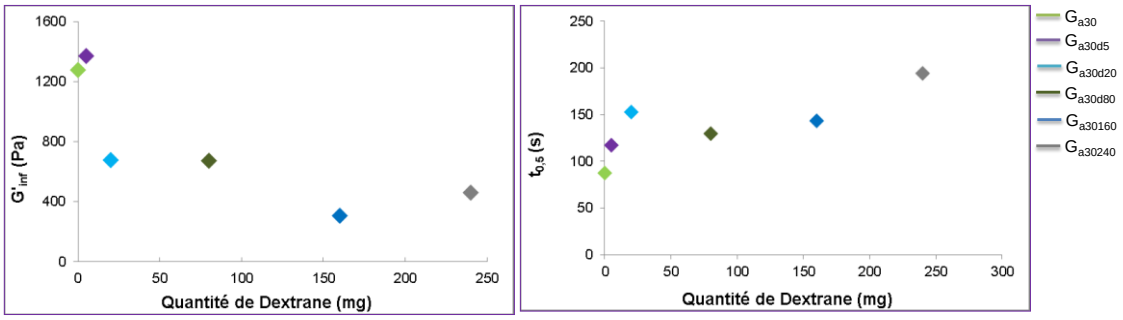
Figure 30 : Suivi en temps : comparaison des valeurs du module élastique G' pour les systèmes G_{a30} (violet), G_{a30d5} (vert) G_{a30d80} (orange), $G_{a30d240}$ (bleu). Les mesures ont été réalisées en appliquant une fréquence angulaire de 10 rad/sec à 20 °C.

Dans tous les cas, 5 min sont suffisantes pour avoir les valeurs stationnaires des modules G' des gels. Cependant, il est presque impossible de donner une conclusion claire ou de soulever une tendance en fonction de la quantité de dextrane pour ce qui concerne l'intervalle de temps entre 0 et 5 min.

Pour essayer d'avoir un peu plus d'information sur les cinétiques qui gouvernent la formation du gel, nous avons décidé d'utiliser à nouveau l'équation 6. Des systèmes supplémentaires (contenant 20 et 160 mg de dextrane) ont été ajoutés pour avoir une vision plus large du comportement.

L'évolution de G'_{inf} indique une claire diminution en fonction de la quantité de polymère ajouté (figure 31-A). Ce comportement est en accord avec nos résultats expérimentaux de rhéologie et aussi avec nos examens visuels des échantillons.

Concernant le temps caractéristique, le modèle montre une légère augmentation de $t_{0,5}$ avec l'augmentation de la quantité de dextrane ajoutée (figure 31-B). Ceci indique que la présence du polysaccharide augmente le temps nécessaire à l'établissement du gel supramoléculaire.



A **B**

Figure 31 : **A.** Evolution de G'_{inf} en fonction de la quantité de dextrane. **B.** Evolution de $t_{0,5}$ en fonction de la quantité de dextrane.

Il est plus aisé de comparer les courbes en coordonnées réduites (G'/G'_{inf} en fonction de $t/t_{0,5}$) pour les gels hybrides G_{a30d5}, G_{a30d20}, G_{a30d80}, $G_{a30d160}$ et $G_{a30d240}$ et pour le gel supramoléculaire G_{a30} (figure 32).

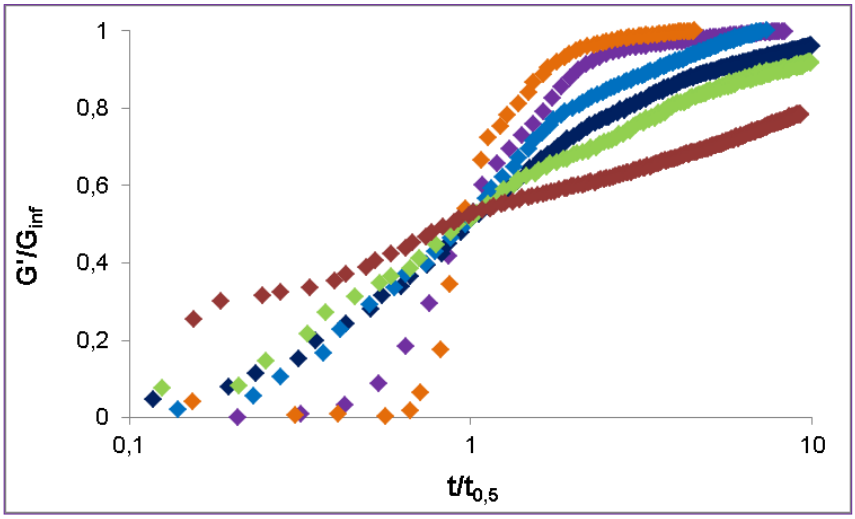


Figure 32 : Evolution de **G'/G'_{inf}** en fonction de **$t/t_{0,5}$** : G_{a30} (violet), G_{a30d5}, (orange), G_{a30d20} (bleu); G_{a30d80} (bleu ciel), $G_{a30d160}$ (vert), $G_{a30d240}$ (rouge).

Toutes les courbes ont en commun le point (1 ; 0,5). De plus nous observons que seulement les courbes de G_{a30} et G_{a30d5} sont similaires. Toutes les autres courbes indiquent un ralentissement de la cinétique d'évolution de G'/G'_{inf} lorsque la quantité de dextrane ajouté augmente. Ce ralentissement est particulièrement marqué lorsque le système contient 240 mg de dextrane.

L'évolution de G' et de G'' a été étudiée en fonction de la fréquence. Nous avons décidé de ne pas détailler ici ces résultats car, les allures des courbes sont exactement les même que pour les organogels aqueux. Nous trouvons donc pour le balayage en fréquence des gels stables dans toute la gamme de fréquences évaluée (0,1 et 100 rad/s).

Concernant la transition gel-solution en température, nous avons caractérisé deux gels : G_{a30d5} et $G_{a30d160}$ (figure 33). Les deux systèmes correspondent à des concentrations du dextrane en domaine dilué et semi-dilué au sein du gel. Nous voyons que la quantité de dextrane présent dans le gel, ne modifie pas significativement la Tg. Nous observons des températures de transition très proches pour les deux systèmes. Par ailleurs les Tg sont aussi similaires à la Tg pour le G_{a30}, trouvée dans les environs de 80 °C.

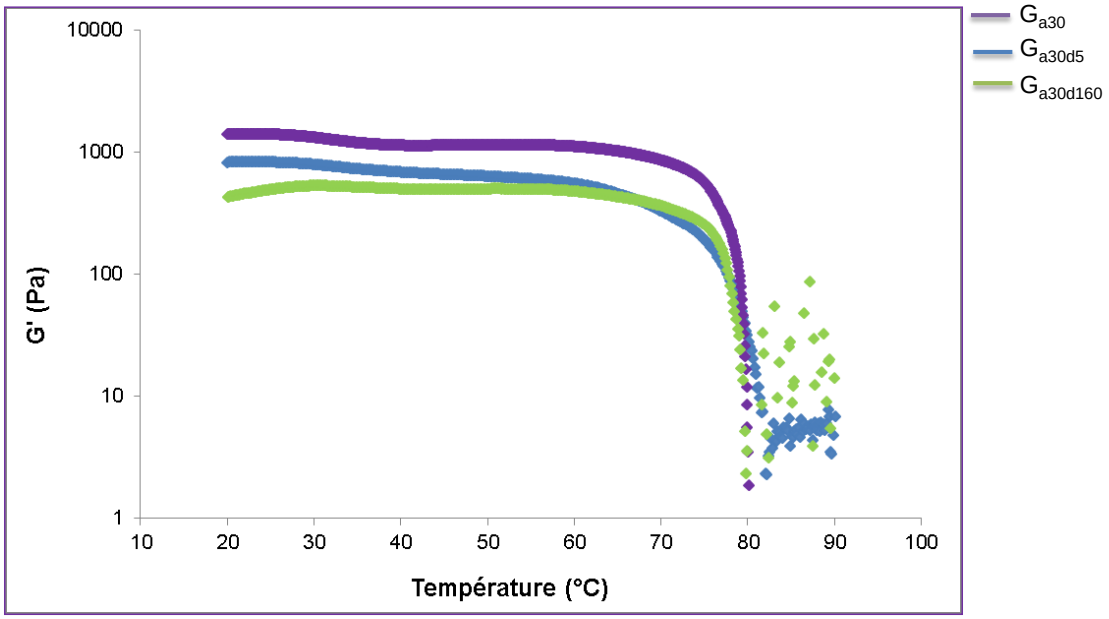


Figure 33 : Balayage en Température : comparaison des modules viscoélastiques normalisés G' et G'' pour G_{a30} (violet), G_{a30d5} (bleu), $G_{a30d160}$ (vert). Les mesures ont été faites en appliquant une contrainte de 1 Pa et une fréquence angulaire de 10 rad/s.

L'ensemble des résultats obtenus dans ce paragraphe indiquent une coexistence (au moins transitoire) du réseau supramoléculaire et du polysaccharide mais ne mettent en évidence aucune interaction directe entre les deux. La molécule **A** semble former un réseau supramoléculaire alors que les macromolécules de dextrane vont plutôt être à l'origine d'une gêne stérique. Les conséquences de cette dernière sont un ralentissement de la cinétique d'établissement du gel et une diminution de sa connectivité.

IV.2 Evaluation des propriétés mécaniques par rhéologie : les gels issus de la molécule B.

IV.2.1 Evolution de G' et G'', en fonction de la proportion de solvant.

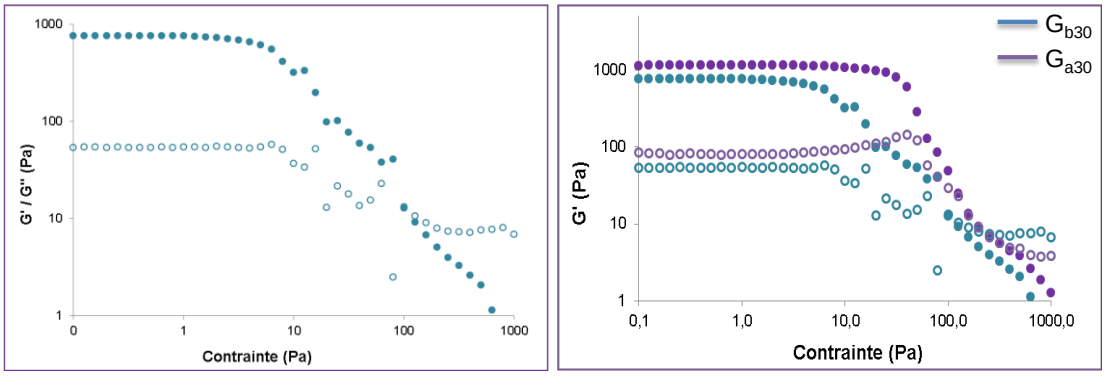
IV.2.1.1 Mise en place de l'échantillon.

Les observations faites précédemment (chapitre III section III.3.3.1) nous ont conduits à retenir quatre échantillons : G_{b10}, G_{b20}, G_{b30} et G_{b40}. Nous avons commencé la caractérisation avec G_{b30}, qui d'après nos observations correspond au gel le plus fort. Pour la mise en place de l'échantillon, nous avons suivi la procédure établie pour la molécule **A** en réalisant la préparation du gel dans le pilulier, puis en ajoutant le mélange encore liquide dans la géométrie de Couette et enfin en effectuant la descente de la géométrie suivie de l'ajustement du gap (1000 µm). La différence avec **A** se trouve spécifiquement pour les balayages en contrainte, en fréquence et en température, où nous laissons 1h30 le gel en repos afin d'assurer leur formation (ce choix est basé sur des observations). Pour le balayage en temps la mesure est, comme pour **A**, commencée tout de suite après la réalisation du gap afin d'observer l'évolution transitoire des modules G' et G''.

IV.2.1.2 Balayage en contrainte : étude du domaine linéaire et de la réversibilité mécanique.

L'évaluation du domaine linéaire pour les gels issus de **B** a débuté avec la caractérisation de G_{b30}. Les modules G' et G'' ont été évalués en faisant un balayage en contrainte entre 0,1 et 1000 Pa. La fréquence angulaire et la température ont été fixées à 10 rad/s et 20 °C. Un total de trois mesures a été réalisé pour assurer la répétabilité.

Le rhéogramme montre (Figure 34-A) un LVE défini entre 0,1 et 2 Pa.



A **B**

Figure 34: Evaluation des modules G' et G'' en fonction de la contrainte: **A**. gel G_{b30}. **B**. Comparaison entre le gel avec **A** (G_{a30}) et le gel avec **B** (G_{b30}).

Nous observons (figure 34-A) qu'à partir de 2 Pa les valeurs des modules commencent à diminuer. Ce qui conduit progressivement à l'effondrement du gel vers 10 Pa. Nous observons aussi l'inversion des modules avec un G'' > G' pour des contraintes légèrement supérieures à 100 Pa.

En comparant ce résultat avec le résultat obtenu pour G_{a30} (figure 34-B), nous pouvons dégager plusieurs tendances :

1. Le LVE pour G_{b30} est plus restreint (0,1 et 2 Pa) que pour G_{a30} (0,1 et 10 Pa). Entre 0,1 et 2 Pa (même un peu plus loin) les barres d'erreur se superposent indiquant qu'il n'existe pas de différence significative.
2. L'effondrement de la structure survient à des contraintes bien plus faibles pour G_{b30} que pour G_{a30}. Cela indique que G_{a30} est un gel mécaniquement plus résistant. Ce résultat est tout-à-fait en accord avec nos observations où, les gels

issus de la molécule **A**, nous ont semblé vraiment plus forts que les gels préparés avec la molécule **B**.

3. L'inversion de G' est G'' est atteint au-delà de 100 Pa pour les deux gels G_{b30} et G_{a30}. Comme pour les gels préparés avec la molécule **A**, les gels obtenus avec la molécule **B** conservent une composante élastique majoritaire même au-delà de la limite du domaine linéaire.

Les gels G_{b10}, G_{b20} et G_{b40} ont été aussi caractérisés (figure 35). Malheureusement il a été impossible d'obtenir des mesures satisfaisantes avec le gel G_{b40}. En effet nous avons constaté un manque de répétabilité des mesures qui nous a conduits à décider de ne pas les présenter.

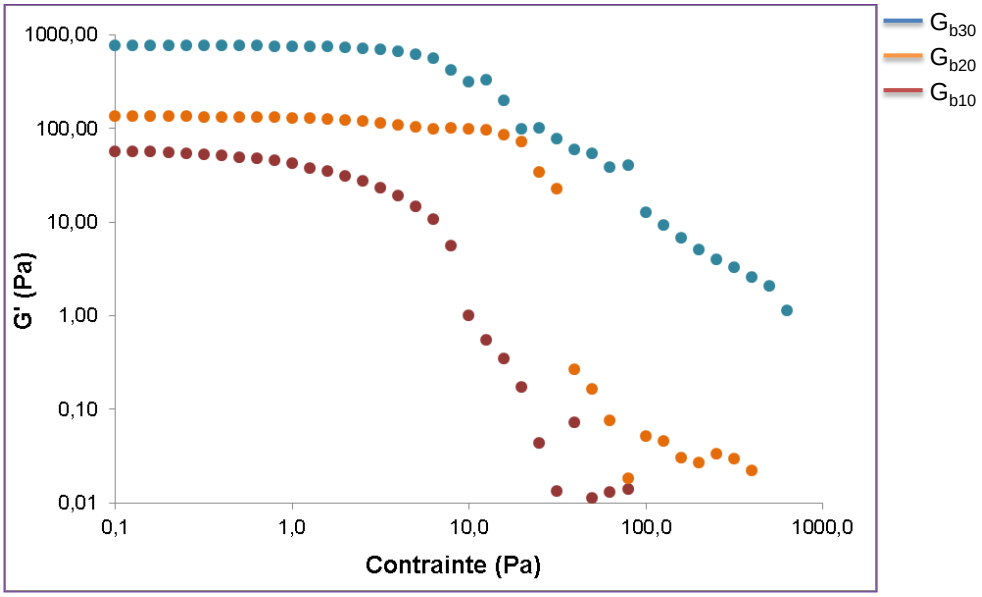


Figure 35 : Comparaison des modules G' en fonction de la contrainte pour les gels G_{b10} (rouge), G_{b20} (orange), et G_{b30} (bleu). Les mesures ont été faites en appliquant une fréquence angulaire de 10 rad/sec à 20 °C.

En général une tendance qui nous semble claire se présente : à mesure que nous augmentons le volume de DMSO les modules G' et G'' augmentent. Des gels plus mous sont donc observés à 10 % DMSO qu'à 30 %. Les erreurs associées aux mesures confirmant qu'ils existent des différences significatives entre eux, au moins entre G_{b30} et G_{b20} et G_{b30} et G_{b10}. Donc nous pouvons dire avec précision que le gel plus fort de la gamme est G_{b30}. Finalement est grâces aux résultats nous avons décidé

de continuer à travailler avec G_{b30} et de choisir une contrainte de 1 Pa pour les mesures à venir. La réversibilité mécanique n'a pas été évaluée car d'après les observations nous avons établi que les gels formulés avec la molécule **B** ne sont pas réversibles, tout comme c'était le cas pour ceux préparés avec la molécule **A**.

IV.2.1.3 Balayage en fréquence : étude de la stabilité des échantillons à des temps courts.

L'évolution des modules viscoélastiques en fonction de la fréquence angulaire a été mesurée en appliquant une contrainte de 1 Pa (comme précédemment) et à une température de 20 °C. Les résultats sont très similaires à ceux que nous avons observés pour les gels préparés avec la molécule **A** (figure 36). En effet les modules G' et G'' du gel G_{b30} varient assez peu dans toute la plage de fréquence appliquée. Il nous semble donc qu'une fréquence de 10 rad/sec est adaptée pour les mesures en temps et en température, tout comme cela a été fait pour les balayages en contrainte.

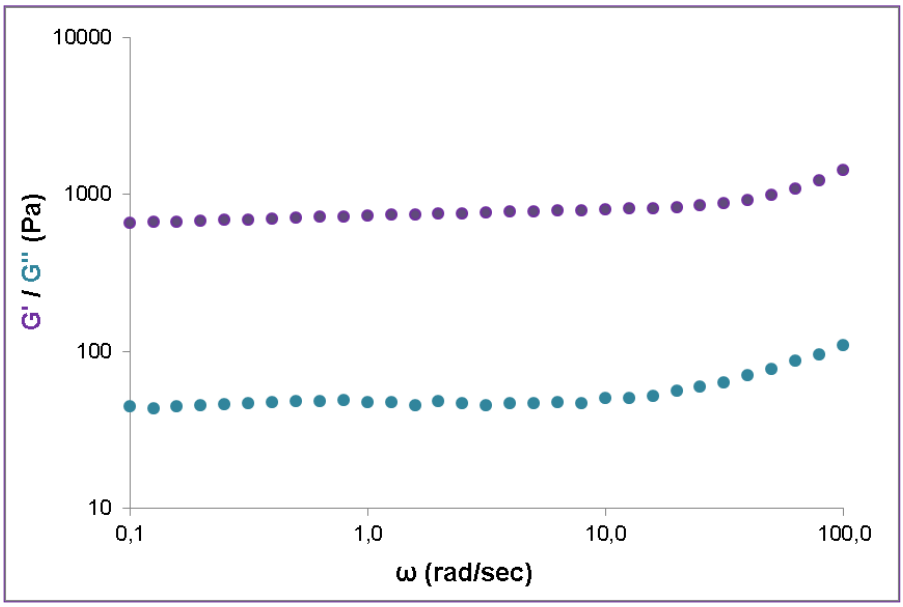


Figure 36 : Evaluation des modules G' et G'' en fonction de la fréquence angulaire pour le gel G_{b30}, en appliquant une contrainte de 1 Pa à 20 °C.

IV.2.1.4 Balayage en temps : suivi du phénomène de gélification.

Tout comme pour les gels obtenus avec la molécule **A**, nous avons examiné l'évolution des modules en fonction du temps à la suite de la préparation des mélanges. Les suivis ont été réalisés avec les conditions suivantes : 1 Pa, 10 rad/sec et 20 ° C.

Nous observons (figure 37) une allure qui parait assez différente de celle observée pour les gels obtenus avec la molécule **A** (gel G_{a30}, figure 11). Nous pouvons diviser la courbe en trois zones (figure 37). La zone entre 0 et 40 min où nous observons des valeurs des modules très faibles. La zone entre 40 et 100 min dans laquelle se produit une augmentation considérable des valeurs des modules. Finalement la zone entre 100 et 120 min où se produit une augmentation des modules plus lente.

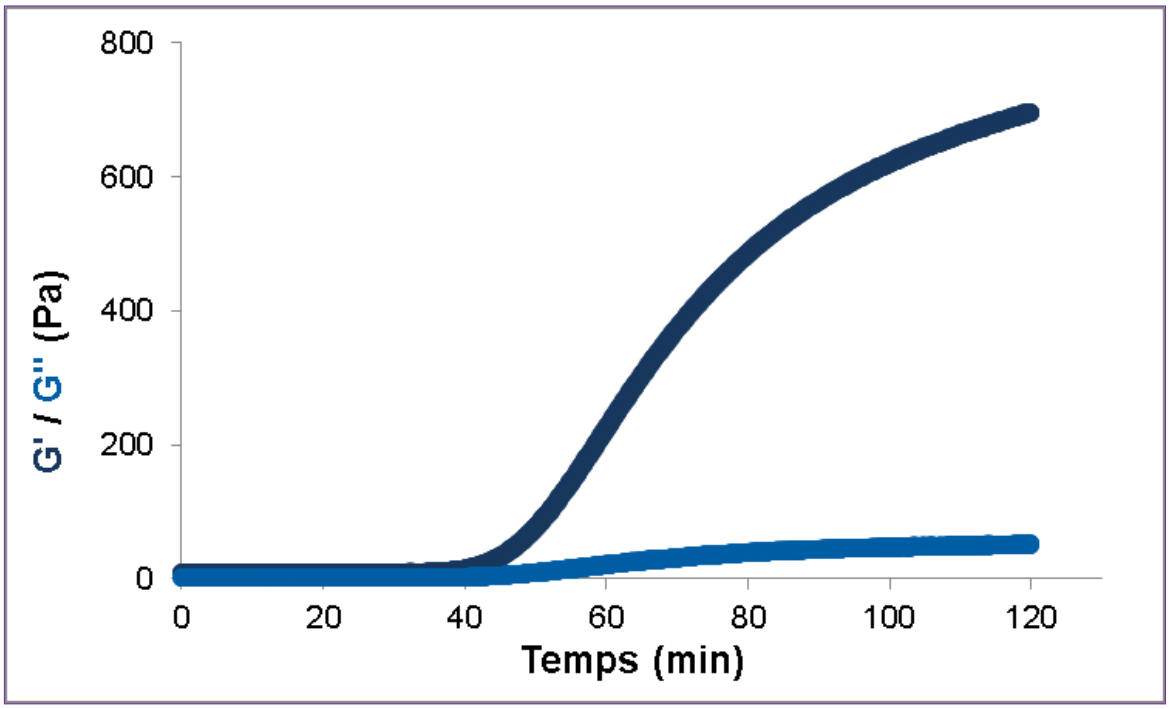


Figure 37: Evaluation des modules G' (bleu foncé) et G'' (bleu clair) en fonction du temps pour le gel G_{b30}. La mesure a été réalisée en utilisant 1 Pa, 10 rad/s à 20 °C.

En effet la zone entre 0 et 40 min, est assez particulière car nous y observons une période de latence (parfois dénommée « période d'induction »). L'existence de cette période nous indique que notre système reste un liquide viscoélastique durant 40 min après avoir commencé la mesure. Il semble que la présence d'un atome de chlore dans la structure du gélifiant **B** gêne la transition du système, de l'état liquide à l'état gel. Nous pouvons proposer que la présence du chlore ralentit ou empêche la mise en place d'interactions indispensables à la formation du réseau supramoléculaire. Nous pouvons assez naturellement envisager que ce sont les interactions de type π-π aromatique qui sont concernées. Nous pouvons renfoncer notre hypothèse en comparant les temps de gélification entre les gélifiant **A** et **B**. Nous savons que seulement 5 min son nécessaire pour avoir un gel à partir de la molécule **A** (G_{a30}).

Aux environs de 40 min nous observons une différence d'évolution des modules G' et G''. Alors que les valeurs du module G' augmentent de façon accentuée, les valeurs du module G'' continuent à évoluer progressivement sans aucune rupture de pente. Ici nous retrouvons donc, un comportement similaire à celui des gels contenant la molécule **A**. Nous associons cette augmentation accentuée du module G' à la formation du réseau 3D.

Finalement, au bout de 100 min G' continue à évoluer mais dans cette zone-ci l'évolution se fait plus doucement, avec une tendance asymptotique vers la valeur stationnaire.

D'après nos observations, les gels issus de la molécule **B** évoluent au cours du temps avec la démixtion d'une phase liquide. De ce fait, nous avons limité les suivis en temps à des durées de 2 heures. En comparant les résultats des gels obtenus avec les molécules **A** et **B** (en nous limitant à la zone entre 40 et 120 min pour le gel formé avec la molécule **B**, figure 37), il apparaît que l'augmentation du module G' est plus accentuée pour G_{a30} que pour G_{b30} (figure 38).

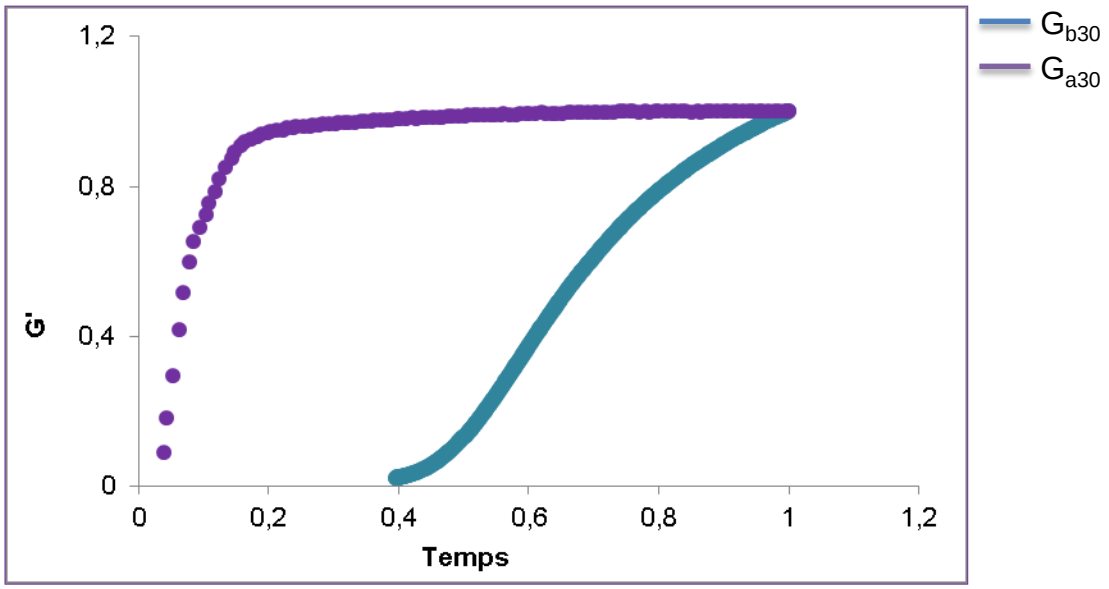


Figure 38 : Comparaison du module G' entres G_{a30} (violet) et G_{b30} (bleu) en fonction du temps. Les valeurs de G' et le temps ont été normalisés.

Dans le cas de molécules dérivées de la phénylalanine, il a été démontré que la présence, la nature et la position d'un atome d'halogène substituant sur le cycle aromatique avaient un impact significatif sur la cinétique de gélification (étudiée par le suivi du signal en dichroïsme circulaire) ainsi que sur les valeurs des modules rhéologiques, dans le cas de mélanges eau/DMSO contenant 2 % v/v de DMSO. En particulier, selon la position d'un atome de chlore au sein du cycle aromatique, les variations observées pour le $t_{1/2}$ (par application de l'équation 6) sont entre moins d'une minute et 40 min. Ces variations sont attribuées à la modification des interactions π-π aromatiques [18].

IV.2.1.5 Balayage en température : étude de la transition gel-solution (Tg).

Pour le balayage en température nous avons continué à utiliser le gel G_{b30}. Les paramètres expérimentaux ont été fixés à 1 Pa, 10 rad/sec en laissant les gels se former pendant 1h30. Nous avons ensuite appliqué un chauffage entre 20 et 90 °C avec un gradient de température de 1 degré par min. De la même façon que pour **A** nous avons mis un capuchon autour de l'ailette pour minimiser les phénomènes

d'évaporation. Les mesures montrent entre 20 et 28 °C un gel thermiquement stable (figure 39). Les valeurs de G' et de G'' augmentent ensuite entre 28 et 31 °C.

A 31 °C chaque module atteint un maximum et puis les deux chutent ensuite à partir de 33 °C. Cela est plutôt en accord avec les résultats d'observation macroscopique obtenus par la méthode de la bille, laquelle avait montré un début d'effondrement du gel à 33 °C. Entre 35 °C et 90 °C les mesures sont très bruitées et ne permettent pas un commentaire détaillé.

Ces mesures sont cohérentes avec les observations expérimentales (chapitre III) qui avaient conduit à déceler une transition gel-sol dans la même zone de température.

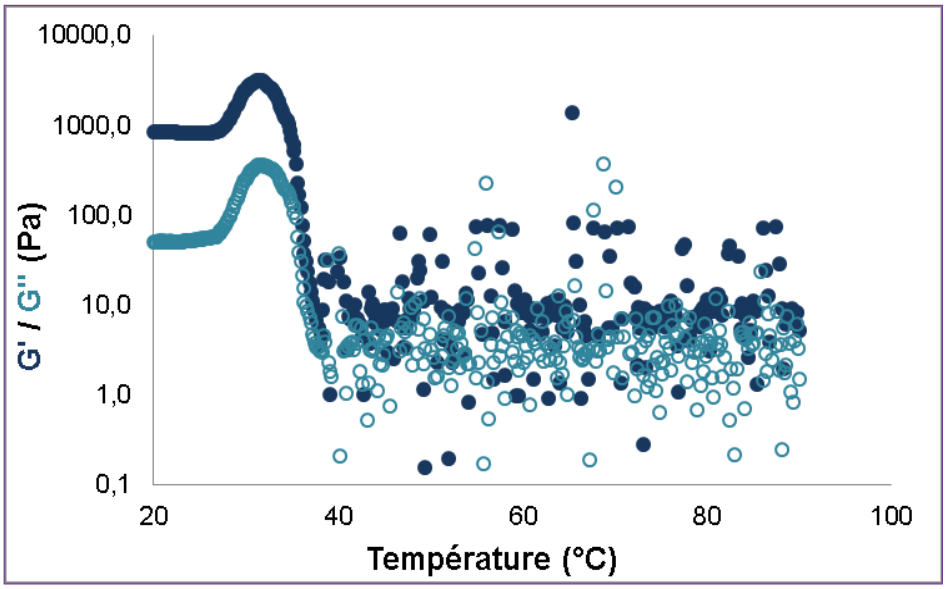


Figure 39: Evolution des modules G' (courbe bleu foncé) et G'' (courbe bleu clair) en fonction de la température pour G_{b30}. La mesure a été faite en appliquant une contrainte de 1 Pa et 10 rad/sec.

Pour essayer de comprendre ce comportement deux stratégies ont été mises en place :

1. **Evaluation de la répétabilité de la mesure**. La répétabilité a été évaluée en faisant la mesure trois fois. Dans tous les cas nous avons eu des allures de courbes très similaires, confirmant de cette façon nos observations.

2. **Evaluation du phénomène en comparant avec des possibles cas similaire présents dans la littérature.** Une augmentation des modules rhéologiques lors d'une augmentation de la température a déjà été rapportée dans le cas de gels physiques supramoléculaires. Les auteurs expliquent cette variation par une réorganisation des assemblages. Nous poursuivrons la discussion de ces résultats en les complétant par des observations microscopiques et des mesures spectrométriques.

Mis à part le comportement du gel G_{b30} lui-même, l'autre fait marquant c'est la modification du comportement en comparaison de celui du gel G_{a30}. Là encore, nous constatons que la présence d'un atome de chlore au sein du cycle aromatique a considérablement modifié la variation de G' avec la température. Nous ne pouvons pas discuter plus avant ces résultats à ce stade. D'autres indications concernant les interactions à l'échelle des molécules sont nécessaires.

IV.2.2 Evaluation de G' et de G'', en fonction de la quantité de molécule utilisée.

Pour évaluer les propriétés mécaniques des gels en fonction de la quantité de molécule utilisée nous avons étudié les gels contenant 30 % v/v de DMSO et 5 ou 8 mg de molécule **B** (G_{b30-5} et G_{b30-8}). Nous avons donc évalué la force du gel (balayage en contrainte), la température de transition gel/solution (Tg) et le temps de gélification (balayage en temps). Le balayage en fréquence a conduit à des résultats très similaires à ceux déjà obtenus et ne sera pas commenté en détail.

Le balayage en contrainte a été fait entre 0,1 et 1000 Pa. Nous avons travaillé à 20 °C en utilisant à nouveau une fréquence angulaire de 10 rad/sec. Les résultats font apparaître (figure 40) un comportement assez similaire à ceux des précédentes expériences.

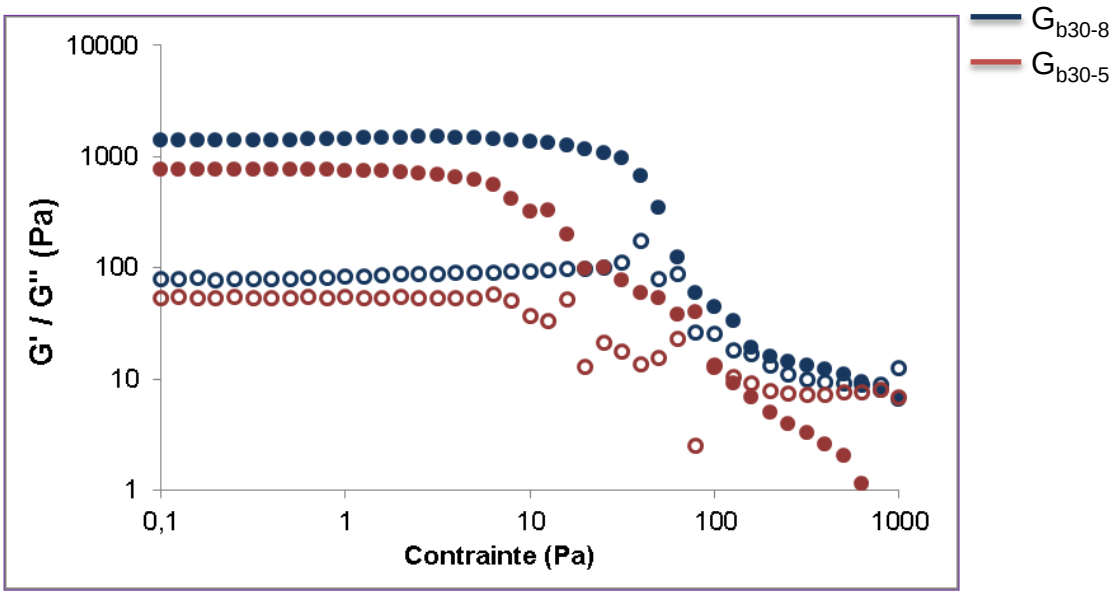


Figure 40: Evolution des modules G' et G'' en fonction de la contrainte pour G_{b30-5} (orange) et G_{b30-8} (bleu). Les mesures ont été faites en appliquant une fréquence angulaire de 10 rad/sec à 20 °C.

Toutefois la comparaison entre G_{b30-5} et G_{b30-8} montre un LVE plus large pour G_{b30-8}, ce qui conduit à un effondrement du gel à des contraintes plus élevées. Cela signifie qu'à des quantités plus importantes de gélifiants, nous arrivons à développer des gels plus forts, tout comme nous l'avions observé visuellement et comme cela a été observé avec la molécule **A**.

La température de transition gel/solution a été aussi évaluée entre 20 et 90 °C, nous avons décidé de montrer la courbe entre 20 et 40 °C qui correspond à la région au sein de laquelle nous avons des informations fiables (figure 41). Cependant, l'allure de la courbe est de la même nature que celle observé pour G_{b30} (figure 39) dans tout le domaine de température examiné. Si nous comparons G_{b30-5} et G_{b30-8} (figure 41) il est possible d'observer des valeurs de G' plus importante pour Gb_{30-8}, ce qui est tout-à-fait normal car nous avons une population plus importante de molécules. La Tg se décale vers des températures plus hautes, pour G_{b30-8} un maximum (début de la chute de G') est observé à 33 °C, maximum qui avait été observé à 31 °C pour G_{b30-5}.

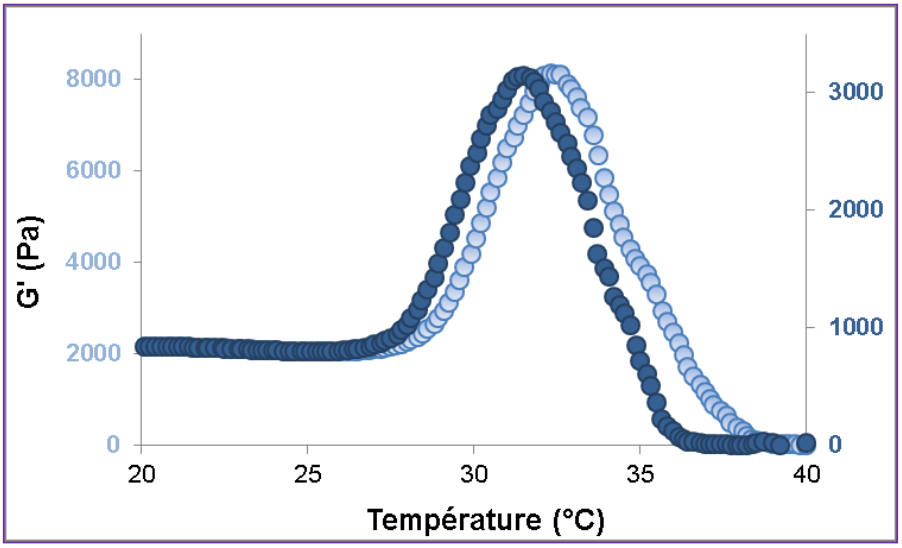


Figure 41 : Evolution des modules G' et G'' en fonction de la température pour G_{b30-5} (bleu foncé, axe à droite) et G_{b30-8} (bleu clair, axe à gauche). Les mesures ont été faites en appliquant une contrainte de 1 Pa et 10 rad/s.

Nous avons réalisé des suivis en temps pendant 1h30 à 10 rad/sec et 20 °C. Les résultats montrent (figure 42) qu'à des quantités plus élevées de gélifiant la période de latence est plus courte (25 min avec 8 mg comparé à 45 min avec 5 mg). Par ailleurs, pour G_{b30-8} l'augmentation de G' est plus accentuée et s'étend entre 40 et 60 min. Au-delà de 60 min, la variation de G' est de type asymptotique.

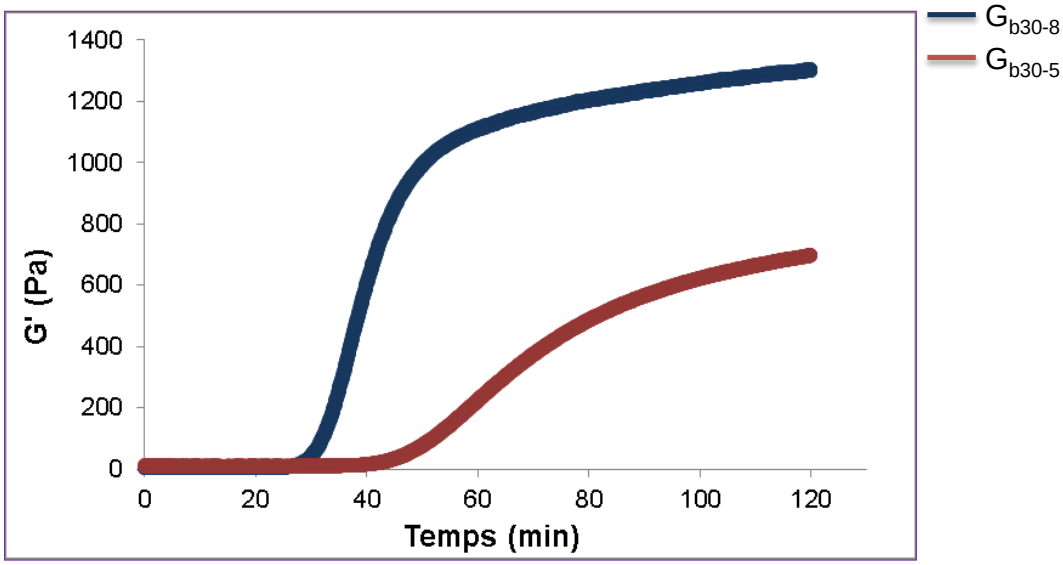


Figure 42: Evolution du module G' en fonction du temps pour G_{b30-5} (rouge) et G_{b30-8} (leu). Les mesures ont été faites en appliquant une contrainte de 1 Pa et 10 rad/s.

Nous avons aussi appliqué l'équation 6 et l'équation d'Avrami aux expériences cinétiques pour la molécule **B**, tout comme nous l'avions fait pour la molécule **A**.

Nous allons superposer trois courbes de suivi en temps : G_{b30-5}, G_{b30-8} et G_{a30-5} (Figure 43). Les données ont été normalisées, c'est-à-dire que les valeurs de G' ont été divisées par G'_{inf}.

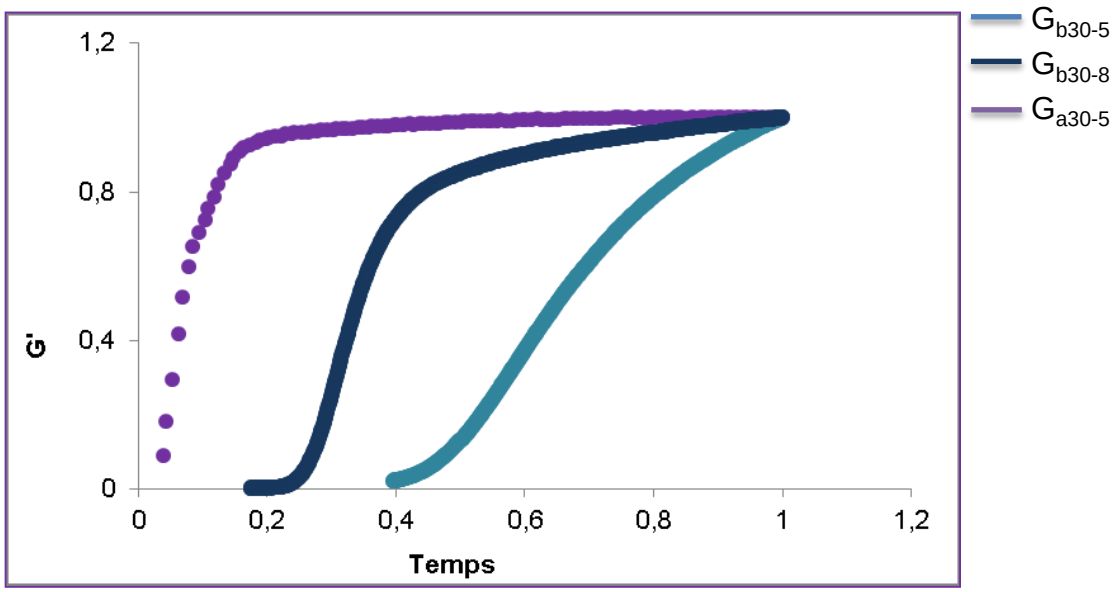


Figure 43 : Evolution des modules normalisés G'/G'_{inf} en fonction de la contrainte pour G_{b30-5} (bleu claire) et G_{b30-8} (bleu foncé) et G_{a30} (violet). Pour la comparaison les courbes ont été normalisées.

Lorsque nous augmentons la concentration $\mathbf{G'_{inf}}$ augmente donc, des gels plus fort sont formés. Le temps $\mathbf{t_{0,5}}$ diminue lorsque la concentration augmente. Donc, des temps plus court sont nécessaires pour la formation d'un gel.

Finalement, en évaluant le rapport **b/** $\mathbf{t_{0,5}}$ nous confirmons que la vitesse de gélification augmente en augmentant la concertation. Pour les trois paramètres les résultats s'accordent bien aux résultats des mesures rhéologiques et aussi aux observations faites au laboratoire.

Nous avons finalement comparé l'évolution de G'/G'_{inf} en fonction de $t/t_{0,5}$ pour **A** et **B** (30 % de DMSO et 5 mg de molécule A et B, figure 44).

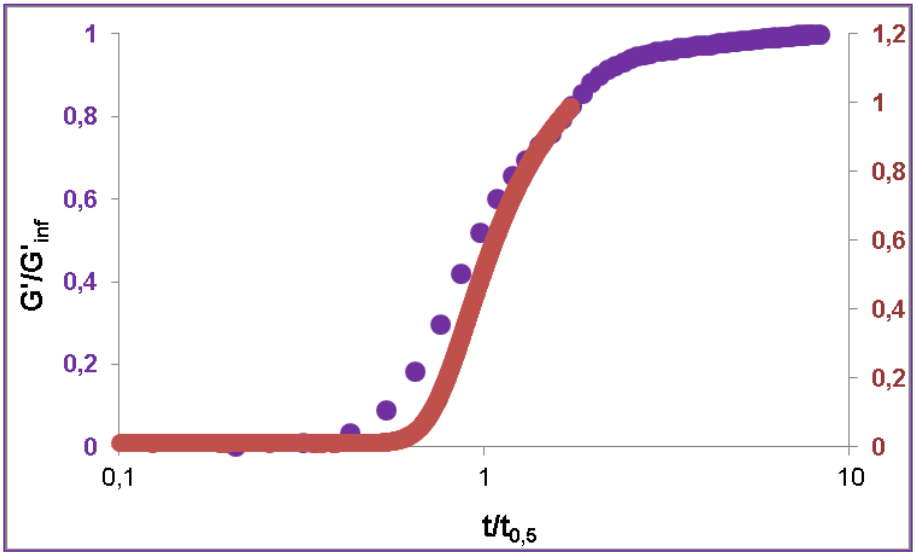


Figure 44 : Superposition de G'/G_{inf} en fonction du $t/t_{0,5}$ pour : la molécule **A** (courbe violet), molécule **B** (courbe rouge).

D'après le graphe nous observons une assez bonne superposition. Cela peut indiquer que le mécanisme de gélification est identique, même s'il se déroule sur des échelles de temps très différentes. Le même résultat est obtenu en comparant les courbes réduites de $G_{a\text{-}7,5}$ et $G_{b30\text{-}8}$.

De la même façon que pour la molécule **A**, l'application de l'équation d'Avrami conduit à des valeurs de n_a égales à 1,0 pour les deux concentrations en molécule **B**. Enfin, l'équation de Dickinson s'applique elle aussi et fournit des valeurs de dimensions fractales égales à 1,6 pour les deux concentrations en molécule **B**.

Nous retrouvons donc ici des indications similaires à propos de la formation et des caractéristiques des auto-assemblages : une croissance unidirectionnelle et des auto-assemblages de type ramifiés. Les deux principales différences que nous avons pu mettre en évidence entre les gels obtenus avec les molécules A et B sont d'une part les ordres de grandeurs des temps caractéristiques de gélification et d'autre part l'influence de la température.

IV.2.3 Evaluation des propriétés mécaniques par rhéologie : gels dialysés.

Comme précédemment (chapitre III section III.3.5) des hydrogels ont été obtenus et caractérisés par des mesures rhéologiques. Pour la mise en place de

l'échantillon dans le rhéomètre nous avons essayé de procéder exactement de la même façon que nous l'avons fait pour les hydrogels obtenus avec la molécule **A**. Les modules viscoélastiques G' et G'' ont été évalués, en fonction de la contrainte entre 0,1 et 1000 Pa, à 10 rad/sec et 20 °C (figure 45).

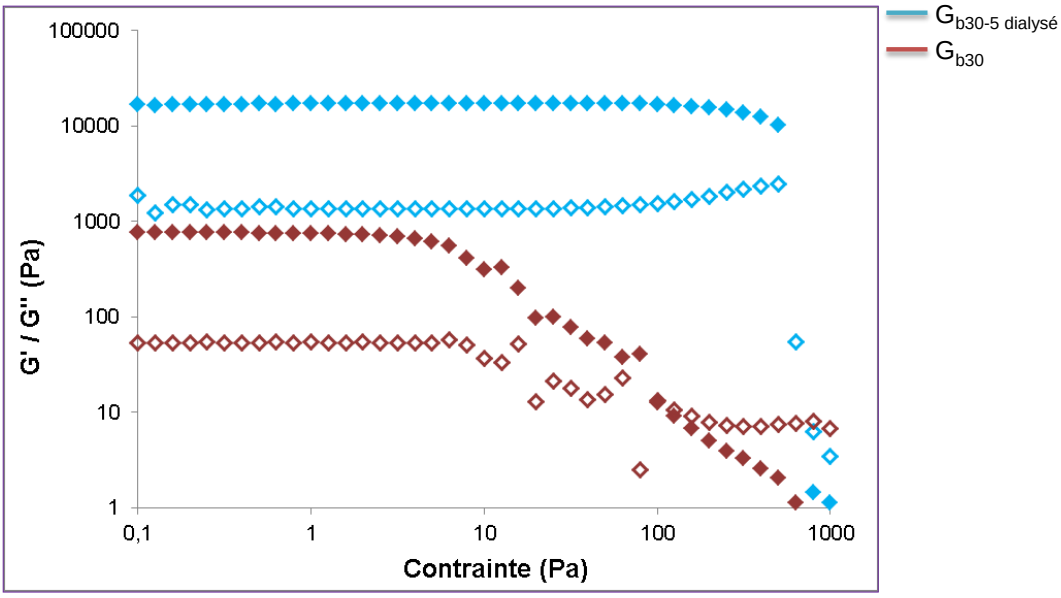


Figure 45 : Evolution des modules G' et G'' en fonction de la contrainte pour $G_{b30\text{-}5}$ (orange) et $G_{b30\text{-}5dialysé}$ (bleu). La fréquence appliquée est 10 rad/sec et la température est de 20°C.

Les résultats nous indiquent que la dialyse conduit à des hydrogels avec des modules G' et G'' 10 fois plus élevés que l'organogel de départ. Le domaine de linéarité est aussi beaucoup plus large. Comme pour les hydrogels obtenus avec la molécule **A**, la mise en place du gel dialysé au sein de la géométrie de mesure nous est apparue délicate et susceptible d'occasionner des erreurs. De ce fait, nous considérerons que ces mesures nous confirment l'obtention d'hydrogels à la suite de la dialyse mais nous ne commenterons pas davantage les résultats de ces mesures. D'autres expériences sont nécessaires pour préciser si la dialyse conduit réellement à des modules rhéologiques aussi élevés.

IV.2.4 Evaluation des propriétés mécaniques par rhéologie : gels hybrides.

Nous avons examiné un gel correspondant au domaine dilué du polysaccharide. Le système G_{b5d5} contenant 30 % v/v de DMSO a été étudié. Les résultats ont été comparés avec les résultats obtenus pour G_{b30-5}. Pour la mise en place de l'échantillon nous avons suivi la même procédure que pour les gels préparés avec la molécule **A**. Le balayage en contrainte a été réalisé entre 0,1 et 1000 Pa avec une fréquence fixée à 10 rad/sec et une température de 20°C (figure 46). Nous observons que la présence du polymère n'affecte en rien les propriétés mécaniques du gel supramoléculaire. Les deux mesures sont presque superposées. La même observation avait été faite avec la molécule **A**.

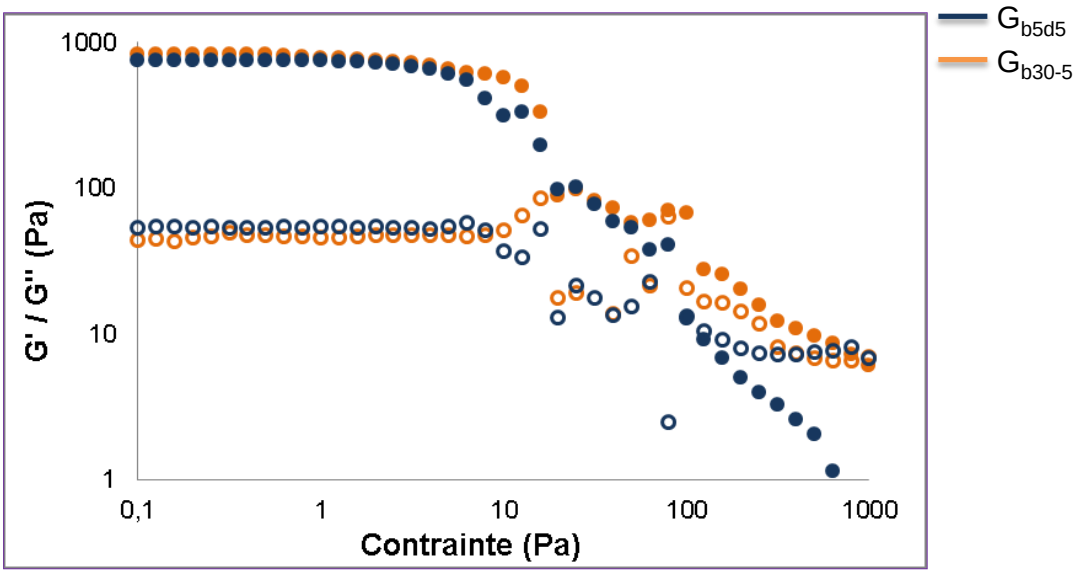


Figure 46 *:* Evaluation de G' et G'' en fonction de la contrainte pour les gels : G_{b5d5} (bleu) et G_{b30-5} (orange). La fréquence utilisée est 10 rad/sec et la température est 20°C.

Ces résultats sont cohérents avec ceux obtenus avec la molécule **A** et semblent indiquer que le polymère coexiste avec le réseau supramoléculaire sans établir d'interactions.

IV.3 Evaluation des propriétés mécaniques par rhéologie : gels issus de la molécule C.

IV.3.1 Evaluation de G' et de G'', en fonction de la composition du solvant utilisé.

IV.3.1.1 Mise en place de l'échantillon.

Comme il a été expliqué dans le chapitre précédent (chapitre III section III.4.2) les gels formés avec la molécule **C** sont préparés par voie thermique. Donc, pour mettre en place l'échantillon nous avons chauffé le pilulier après avoir ajouté l'eau. La solution a été ensuite très rapidement introduite dans la géométrie de Couette et le Gap (1000 µm) réalisé. Pour les balayages en contrainte, fréquence et température le gel a été laissé au repos pendant 3 min avant de commencer la mesure. Pour les balayages en temps comme précédemment nous avons démarré la mesure tout de suite après la réalisation du Gap.

Nous cherchons, comme pour **B**, à évaluer les propriétés rhéologiques des gels formulés et à les comparer avec celles des gels préparés avec la molécule **A**.

IV.3.1.2 Balayage en contrainte : évaluation du domaine linéaire et de la force des gels.

Des balayages en contrainte ont été réalisés entre 0,1 et 1000 Pa, à une fréquence angulaire de 10 rad/sec et 20 °C pour les systèmes $G_{c50\text{-}5}$ et $G_{c60\text{-}5}$ (deux gel contenant 50 et 60 % v/v de DMSO ainsi que 5 mg de molécule **C**). D'après les résultats (figure 47) le LVE s'étend entre 0,1 et 10 Pa pour $G_{c50\text{-}5}$ et, entre 0,1 et 2 Pa pour G_{c605}. Nous observons que dans ces zones les gels ont un comportement de type solide. Nous ne pouvons pas faire de différence entre les deux gels car les erreurs associées aux mesures se recouvrent. Nous examinerons donc, dans ce qui suit, le gel $G_{c50\text{-}5}$ en appliquant une contrainte de 1 Pa pour toutes les mesures à venir. A des contraintes plus élevées la déstructuration du gel est marquée par l'inversion des modules (G'' > G'). La destruction de la structure de $G_{c60\text{-}5}$ a lieu à des contraintes plus faibles que la déstructuration de $G_{c50\text{-}5}$.

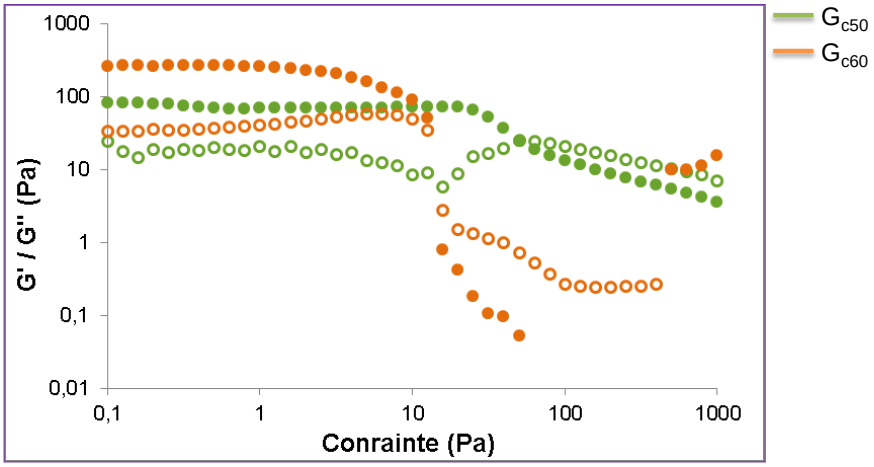


Figure 47 : Evaluation des modules G' et G'' en fonction de la contrainte pour les gels : G_{c50-5} (vert)et G_{c60-5} (orange). La fréquence est 10 rad/sec et la température est 20°C.

Si nous comparons les valeurs du module élastique G' pour G_{c50-5} avec son homologue G_{a50-5} (figure 48) nous pouvons remarquer que les domaines de linéarité sont très similaires. Par ailleurs, même en tenant compte des erreurs expérimentales, le gel G_{a50-5} présente des modules G' et G'' avec des valeurs plus élevées que le gel G_{c50-5}.

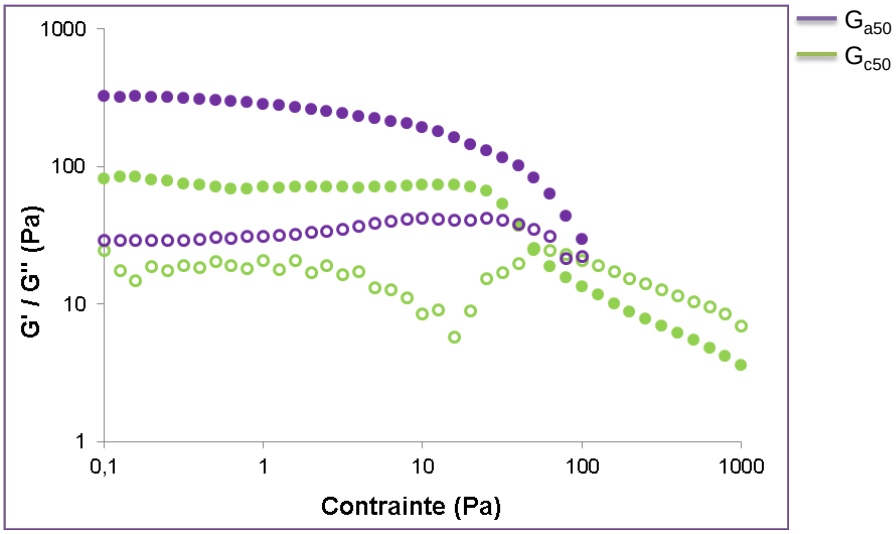


Figure 48 : Comparaison des modules G' (ronds pleins) et G'' (ronds vides) en fonction de la contrainte pour les gels G_{a50-5} (violet) et G_{c50-5} (vert). 10 rad/sec et 20°C.

Des balayages en fréquence entre 0,1 et 100 rad/sec ont été faits pour évaluer la stabilité des gels. Les gels préparés avec la molécule **C** sont stables dans l'intervalle de fréquence exploré.

IV.3.1.3 Balayage en temps : évaluation du temps de gélification.

Des balayages en temps entre 0 et 20 min ont été réalisés pour évaluer le temps caractéristique d'évolution des modules rhéologiques. Le système G_{c50-5} a été retenu pour cela. La contrainte appliquée durant la mesure a été fixée à 1 Pa, et la fréquence angulaire à 10 rad/sec. Nous montrons dans le rhéogramme (figure 49) le résultat obtenu pour G_{c50-5} (vert) et la superposition avec G_{a50-5} (violet). Il apparaît que le processus de gélification a lieu plus rapidement pour G_{c50-5} que pour G_{a50-5}. Cela est en accord avec nos observations.

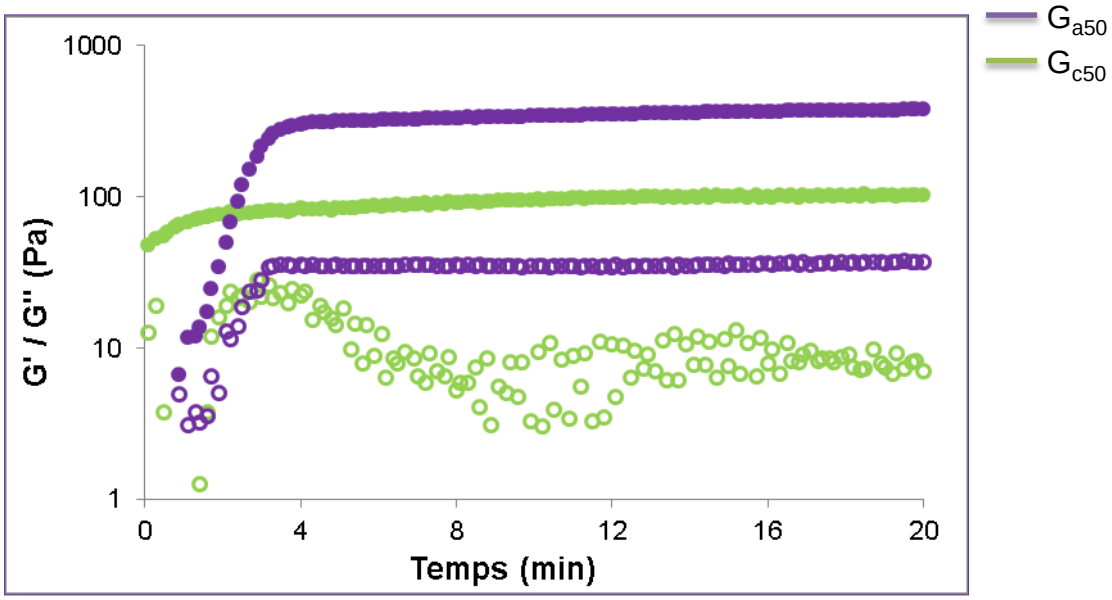


Figure 49 : Comparaison des modules G' (ronds pleins) et G'' (ronds vides) en fonction du temps pour les gels : G_{a50-5} (violet) et G_{c50-5} (vert).

Ces mesures montrent, tout comme la comparaison entre **A** et **B**, que les temps de gélification sont très dépendants de la structure moléculaire du gélifiant :

- Pour le gélifiant **C_{11}-Lys(Z)-OH (A)** nous avons une allure qui nous indique une évolution nette des modules pendant les 4 premières secondes.

Même si nous ne détectons pas le point de croisement entre G' et G'' qui indiquerait la transformation de l'état liquide à l'état gel, nous pouvons voir une augmentation abrupte des modules.

- Pour le gélifiant **C_{11}-Lys(2-Cl-Z)-OH (B)** l'allure montre une étape entre 0 et 40 min que nous appelons zone de latence. Après 40 min l'augmentation des modules est très accentuée et similaire à ce qui est observé avec la molécule A.
- Pour le gélifiant **C_{11}-Lys(Z)-OH (C)** l'augmentation des modules se produit dans une période de temps très courte (moins de 10 s).

Il n'a pas été possible d'analyser plus en détail les expériences de balayage en temps comme cela a été fait avec les systèmes contenant les molécules **A** et **B**. Notamment l'équation 6 et l'équation d'Avrami n'ont pas pu être appliquées.

IV.3.1.4 Balayage en température : évaluation de la température de transition gel-solution.

La température de transition gel-sol a été évaluée en faisant des cycles en température entre 20 à 90 °C et de 90 à 20 °C. Ce choix a été fait afin de confirmer la réversibilité thermique de gels. La contrainte appliquée a été de 1 Pa, et comme précédemment une fréquence angulaire de 10 rad/sec a été utilisée. Un couvercle a été déposé au-dessus de la géométrie de Couette pour limiter les phénomènes d'évaporation. Le gel $G_{c50\text{-}5}$ a été retenu pour ces expériences.

Lors du chauffage les mesures montrent un gel stable thermiquement entre 20 et 50 °C (figure 50).

A mesure que nous augmentons la température au-delà de 50 °C le module diminue progressivement. Nous n'observons pas une chute nette de la valeur de G' qui nous permettrait de définir une température de transition gel-sol, comme cela avait pu être fait pour les gels formés avec les molécules A et B. De façon arbitraire, en considérant les valeurs de G', nous avons défini la Tg à 70 °C.

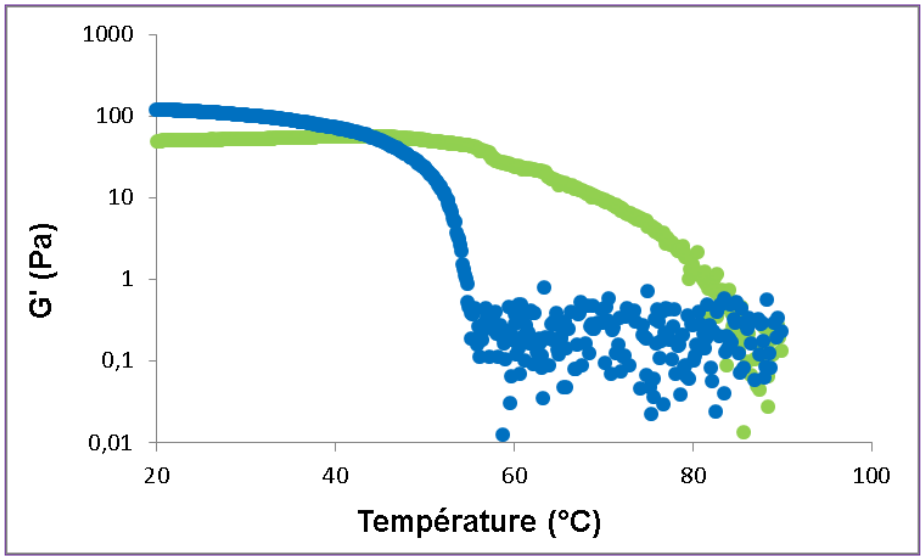


Figure 50 : Evolution de G' en fonction de la température. Entre 20 et 90 rond vert °C, et entre 90 et 20 °C rond bleu pour le gel G_{c50}.

Dans le cas du refroidissement nous observons une hystérèse importante. Ce phénomène nous indique que le réassemblage des molécules ne suit pas le même chemin que l'assemblage suivi avant l'effondrement de la structure. Des points un peu bruités sont observés entre 90 °C et 60 °C. En-dessous de 60 °C le module augmente de façon accentuée ce qui est interprété comme la reformation du réseau tridimensionnel. Ces expériences confirment que les gels issus de la molécule C sont thermiquement réversibles tout comme nous l'avions observé au laboratoire. Cette différence est une distinction importante par rapport aux gels obtenus avec les molécules **A** et **B**.

IV.3.2 Evaluation de G' et G'', en fonction de la quantité de molécule utilisée.

IV.3.2.1 Balayage en contrainte : évaluation du domaine linéaire et de la force des gels.

Pour évaluer l'effet de la quantité de molécule utilisée nous avons choisi de travailler avec deux systèmes contenant 3 et 5 mg de molécule C ainsi que 50 % v/v de DMSO. Des balayages en contrainte ont été effectués entre 0,1 et 1000 Pa. 10 rad/sec et 20 °C ont été toujours utilisés pour le réglage des paramètres (figure 51).

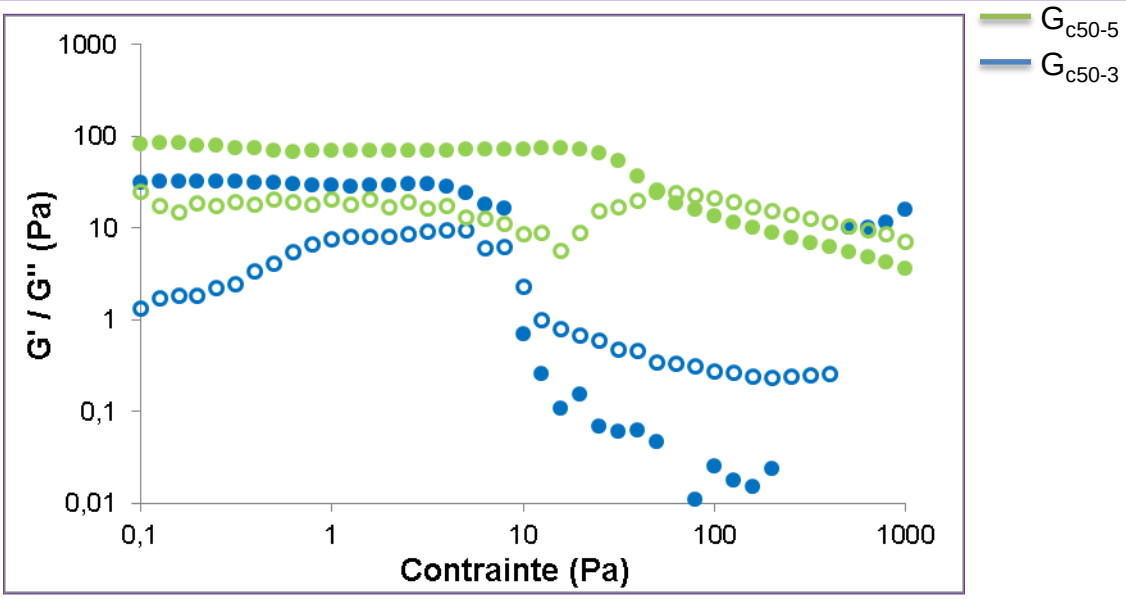


Figure 51 *:* Comparaison des modules G' (rond plein) et G'' (rond vide) en fonction de la contrainte appliquée : G_{c50-5} (vert) et G_{c50-3} (bleu).

D'après les résultats le domaine linéaire est plus étendu lorsque la concentration en molécule **C** augmente. Nous observons donc un domaine linéaire entre 0,1 et 3 Pa pour G_{c50-3} et entre 0,1 et 10 Pa pour G_{c50-5}. La tendance reste la même que pour **A** et **B**, des gels plus forts sont formés en augmentant la quantité de molécule. Au-delà de ces limites le caractère visqueux devient plus important que le caractère élastique ce qui confirme la déstructuration totale du réseau pour les deux systèmes évalués.

Nous pouvons ajouter un dernier commentaire. Entre 0,1 et 3 Pa les deux gels ont des caractéristiques viscoélastiques très similaires et la prise en compte des erreurs expérimentales confirme qu'il n'y a pas de différence significative entre les deux

IV.3.2.2 Balayage en temps : évaluation du temps de gélification.

Des suivis dans le temps ont été effectués entre 0 et 20 min. Nous avons imposé une contrainte de 1 Pa, une fréquence de 10 rad/sec et une température de 20 °C (figure 52).

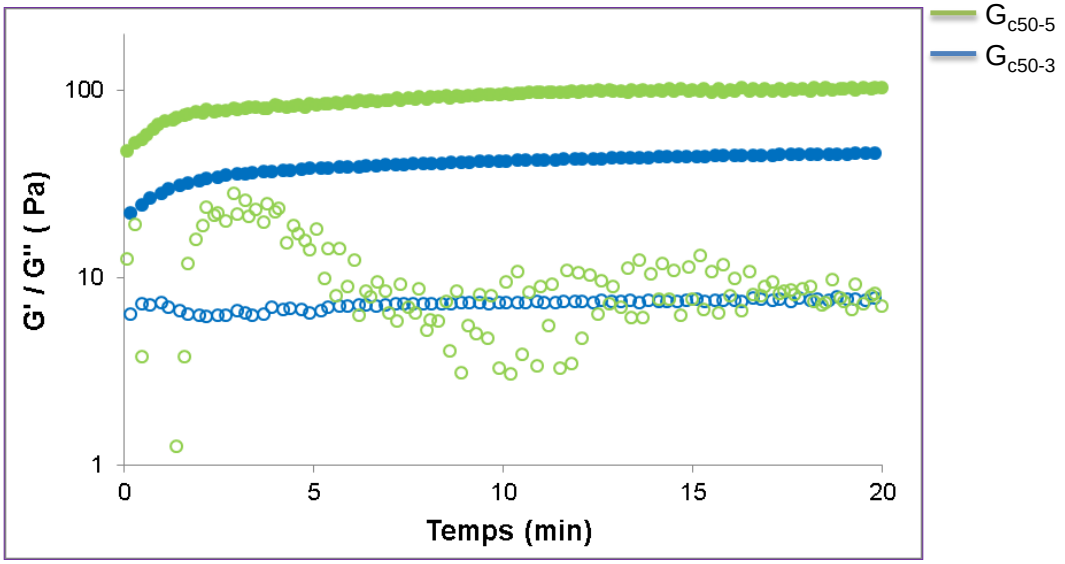


Figure 52 *:* Comparaison des modules G' (rond plein) et G'' (rond vide) en fonction du temps : G_{c50-5} (vert) et G_{c50-3} (bleu).

Les résultats montrent des comportements viscoélastiques très similaires. Les gels se forment très rapidement et atteignent leurs propriétés stationnaires en quelques minutes. La différence de concentration ne conduit pas à des différences dans les évolutions observées mais cela peut tenir au fait que l'intervalle de temps durant lequel les modules augmentent de façon très accentuée n'est pas accessible expérimentalement.

Nous avons trouvé que l'équation 6 ne permet pas d'ajuster convenablement les résultats expérimentaux. Cette différence avec les gels formés par les molécules **A** et **B** est cohérente avec l'ensemble des observations expérimentales issues des mesures de rhéologie. Il semble donc que la modification de la fonction acide carboxylique par une fonction hydrazide entraîne des différences importantes dans les comportements rhéologiques des gels.

IV.3.3 Evaluation des propriétés mécaniques par rhéologie : Gels hybrides.

Tout comme pour la molécule **B** nous avons exploré le domaine dilué du polymère. Pour cela nous avons retenu le gel $G_{c50\text{-}5}$. Dans le chapitre précédent (Chapitre III section III.4.4) nous avions formulé des gels contenant 5 mg de molécule **C** et des quantités comprises entre 1 et 10 mg de dextrane. Ici nous caractériserons le système contenant 5 mg de **C** et 5 mg de dextrane (G_{c5d5}) avec 50 % v/v de DMSO. Nous avons réalisé des expériences de balayages en contrainte.

Pour analyser les résultats nous avons superposé les résultats obtenus avec les gels G_{c5d5} et $G_{c50\text{-}5}$. Le rhéogramme montre un LVE plus petit (entre 0,1 et 6 Pa) et une chute de module plus tôt pour le gel hybride en comparant avec son homologue $G_{c50\text{-}5}$ (figure 53). Cela indique que la présence de dextrane modifie les propriétés mécaniques du gel supramoléculaire. D'après les examens visuels, il nous avait semblé que les gels hybrides étaient plus forts, ce que ne confirment pas ces expériences. Ce comportement est différent de ceux observés avec les molécules **A** et **B**. Toutefois les expériences en questions avaient été effectuées avec des gels contenant moins de DMSO.

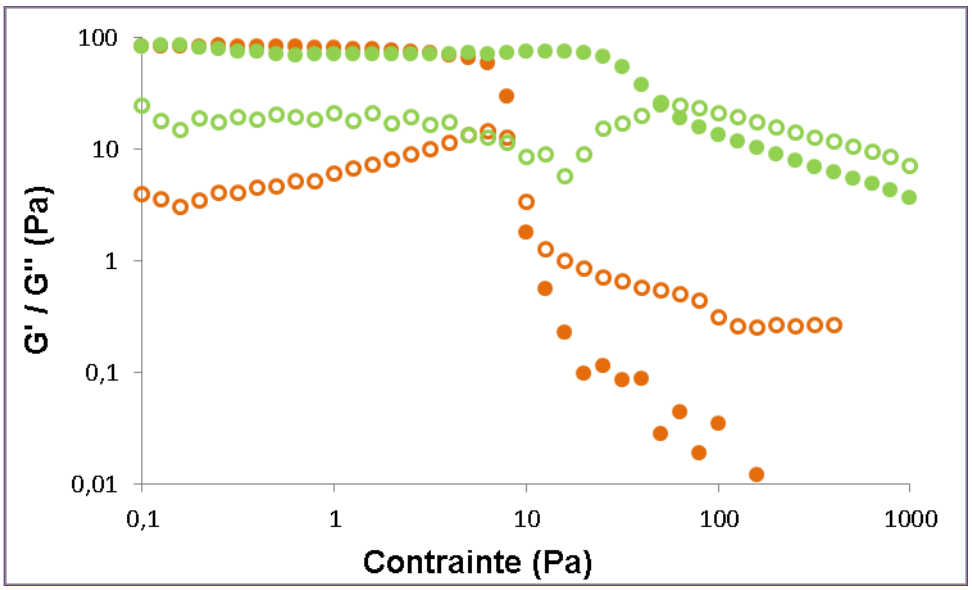


Figure 53 : Evolution de G' et G'' en fonction de la contrainte appliquée : Courbe vert gel $G_{c50\text{-}5}$, courbe orange G_{c5d5} (G' rond plein et G'' rond vide).

Nous observons que la valeur du module G' n'est pas modifiée par la présence du polymère. Ce qui peut être attribué au fait que le polymère est dans le domaine dilué et aussi par l'absence d'interactions avec le réseau supramoléculaire.

IV.4 Conclusion

Grâce à l'évaluation des propriétés viscoélastiques G' et G'' nous avons pu évaluer pour les trois molécules gélifiantes **A**, **B** et **C** :

- Les domaines de linéarité pour tout l'ensemble de gels formulés : organogels aqueux, hydrogels et gels hybride, en fonction de la proportion de solvant et de la quantité de molécules. Nous avons donc choisi **1 Pa** comme paramètre pour toutes les mesures réalisées.
- La réversibilité mécanique. Les balayages en contrainte nous ont aussi permis de confirmer la non réversibilité mécanique des gels.
- L'étude du comportement et de la stabilité des gels à travers de l'évaluation de G' et G'' en fonction de ω, a défini les gels comme des systèmes étant stables en ce qui concerne la plage de fréquence évalués. Cela nous a permis donc d'établir 10 rad/sec comme paramètre pour le reste des mesures réalisées.
- L'évaluation des temps de gélification a permis d'évaluer les cinétiques de formations. Un modèle sigmoïdal a été proposé et nous avons constaté un ajustement correct avec les données expérimentales pour les molécules **A** et **B**, indiquant qu'elles suivent le même mécanisme de gélification. Concernant à la molécule **C**, le modèle ne s'ajuste pas aux données expérimentales. Cela peut impliquer un mécanisme de gélification différent à celui de **A** et **B**. Par ailleurs l'application des équations d'Avrami et de Dickinson aux données expérimentales des molécules **A** et **B** suggère des auto-assemblages linéaires/ramifiés et une croissance unidirectionnelle.
- Finalement, l'évaluation des températures de transition gel-solution a montré des gels plus résistants thermiquement en augmentant la proportion de solvant pour **A**. La molécule **B** révèle un comportement très différent, suggérant une modification des caractéristiques des auto-assemblages avec la température. Grâce aux balayages en température nous avons confirmé la non réversibilité

thermique pour les gels formés à partir de molécule **A**, et la réversibilité pour les gels issus de la molécule **C**.

Tous les résultats obtenus sont en cohérence avec les observations faites au laboratoire. Pour obtenir plus d'éléments sur la nature de ces gels, il est indispensable de les examiner à l'échelle microscopique de façon à mieux cerner la nature des interactions impliquées dans la formation auto-assemblages et in fine des réseaux tridimensionnels responsables des propriétés rhéologiques étudiées dans ce chapitre.

Experimental section

I. Physical measurements.

I.1 Rheometer

The measurements were obtained using a rheometer of the Advanced Rheometer type (RA2000).

Bibliographie

1 T. G. Mezger, *Rhéologie appliquée: à la découverte de la rhéologie avec Joe Flow*, 2017.

2 N. El Kissi, S. Nigen, F. Pignon, *Rhéologie*, 2006, **10**, 13-38

3 B. Escuder, *Functional molecular gels*, Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, 2014.

4 F. Merusi, S. Filippi and G. Polacco, *Construction and Building Materials*, 2017, **136**, 541–555.

5 D. Collin, R. Covis, F. Allix, B. Jamart-Grégoireb , P. Martinoty, 2013, **9**, *Soft Matter*, 2947-2957

6 D. Giacomazza, D. Bulone, P. L. San Biagio, R. Marino and R. Lapasin, *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, **112**, 1183–1190.

7 S. M. Loveday, J. Su, M. A. Rao, S. G. Anema and H. Singh, *Biomacromolecules*, 2011, **12**, 3780–3788.

8 A. Kelarakis, S.-M. Mai, C. Booth and A. J. Ryan, *Polymer*, 2005, **46**, 2739–2747.

9 P. Supaphol, *Thermochimica Acta*, 2001, **370**, 37–48.

10 S. Migliozzi, P. Angeli, L. Mazzei, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2019, **577**, 84–95.

11 C. Zhang, T. Zhang, N. Ji, Y. Zhang, B. Bai, H. Wang and M. Li, *Soft Matter*, 2016, **12**, 1525–1533.

12 X. Huang, P. Terech, S. R. Raghavan, R. G. Weiss, 2005, 127, *J. Am. Chem. Soc*, 4336-4344.

13 A. Saha, S. Manna, A. K. Nandi, 2007, *Langmuir*, **23**, 13126-13135.

14 D. J. Cornwell, B. O. Okesola, D. K. Smith, 2013, Soft Matter, 9, 8730-8736.

15 D. Calvet, J. Y. Wong and S. Giasson, *Macromolecules*, 2004, **37**, 7762–7771.

16 E. Dickinson, 1997, J. Chem. Soc., Faraday Trans., 93(1), 111-114

17 L. Hench, J. K. West, 1990, *Chem. Rev*, **90**, 33-72

18 D. M. Ryan, S. B. Anderson and B. L. Nilsson, *Soft Matter*, 2010, **6**, 3220.

Chapitre V

Caractérisation des Gels Supramoléculaires / Macromoléculaires II. Spectroscopies et Microscopies

Ce chapitre sera consacré à l'évaluation de l'organisation supramoléculaire à l'échelle moléculaire et à l'échelle mésoscopique correspondant aux édifices supramoléculaires. Dans un premier temps nous nous allons nous concentrer sur l'évaluation des interactions entre molécules. L'idée est d'essayer de comprendre l'assemblage mis en place et qui conduit à la formation des édifices supramoléculaire. Puis les morphologies des gels seront étudiées avec le but d'observer et de qualifier les objets formés (fibres, rubans, agrégats sans forme définie, particules…). Nous remercions très sincèrement David Chapron (LMOPS) et Olivier Fabre (LCPM) pour les mesures réalisées en RAMAN et RMN respectivement. Ainsi nous remercions Grégory Francius (LCPME) pour les mesures AFM.

V.1 Caractérisation spectroscopique des gels formulés.

En nous appuyant sur des techniques de caractérisation comme la spectroscopie RAMAN, IR-TF et de RMN nous avons essayé de préciser l'assemblage des molécules. Ces interactions intermoléculaires constituent les fondements de la formation des objets supramoléculaires. Nous commencerons avec les analyses des résultats obtenus par IR-TF, ce qui nous conduira naturellement vers les résultats de spectroscopie RAMAN, et finalement nous évoquerons la spectroscopie RMN.

V.1.1 Spectroscopie IR-TF et spectroscopie RAMAN.

L'Infrarouge a déjà été utilisé pour la caractérisation structurale des molécules gélifiantes. Elle nous a permis donc, d'étudier les molécules gélifiantes à l'état solide et à l'état liquide en solution dans le DMSO (chapitre II). Maintenant, nous allons faire appel à cette technique pour essayer de comprendre quelles sont, à l'échelle moléculaire, les interactions mises en jeu lorsque les molécules s'assemblent en présence d'eau pour finalement générer le réseau tridimensionnel responsable des propriétés rhéologiques mesurées (chapitre IV). Les gels développés à partir des trois molécules gélifiantes **A**, **B** et **C** ont été donc enregistrés en réflectance totale atténuée (diamant ou germanium).

Examinons tout d'abord le cas du gélifiant C_{11}-Lys(Z)-OH. Nous avons essayé d'évaluer l'impact de la concentration en gélifiant ainsi que la proportion DMSO/H_2O sur les signatures spectrales. **Est-ce que les paramètres modifiés vont jouer un**

rôle important sur la façon dont les molécules interagissent entre elles et finalement sur les édifices supramoléculaires ?

La première observation que nous pouvons faire concerne la grande similitude des spectres à l'état gel et à l'état solide. En effet, si nous comparons les spectres normalisés de la poudre de synthèse et du gel formulé avec 50 % v/v de DMSO et 5 mg de gélifiant, nous constatons que les enveloppes spectrales des vibrations d'élongation des CH se superposent très bien (figure 1b). Dans le cas des vibrations d'élongation des NH (figure 1a), une grande similitude est également observée, à la différence toutefois que l'épaulement observé à 3331 cm^{-1} à l'état solide, qui est beaucoup moins présent dans le gel. Enfin, hormis dans la zone des vibrations de déformation des NH, les vibrateurs correspondant aux carbonyles se superposent quant à eux très bien (figure1c).

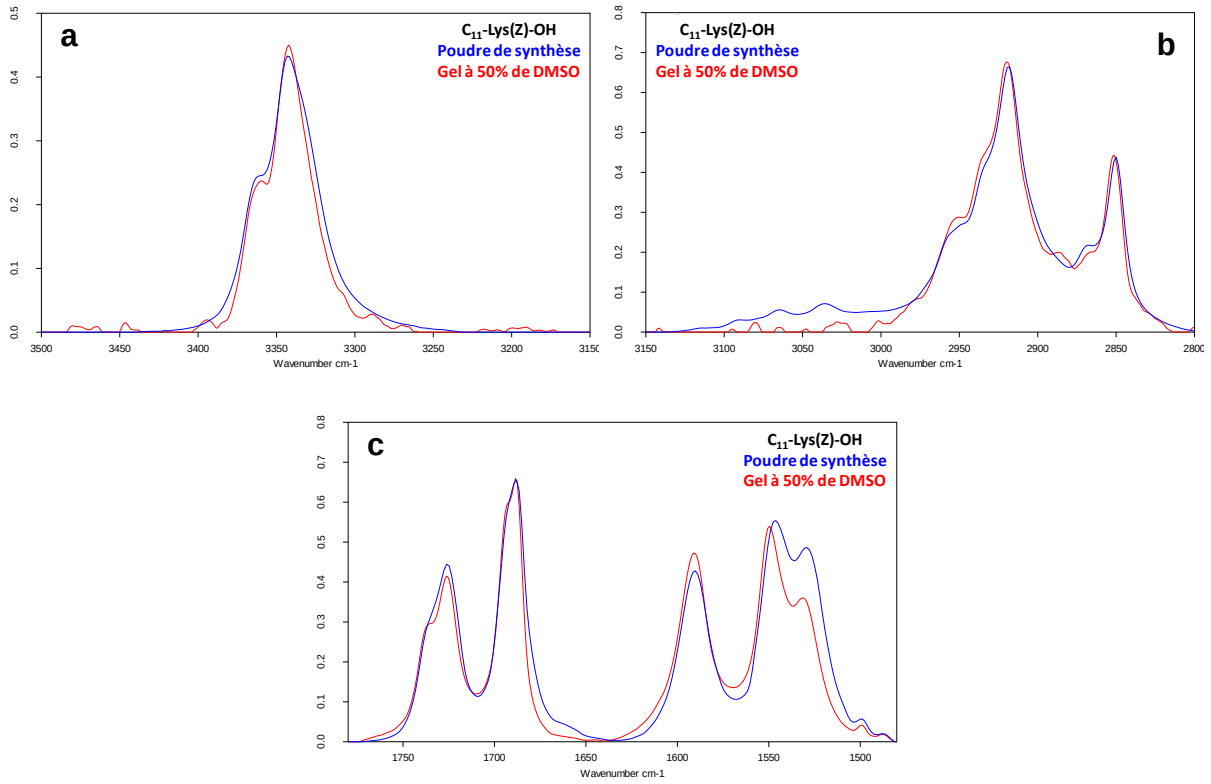


Figure 1 : Superposition des spectres IR-TF normalisés de la poudre de synthèse et du gel à 50% de DMSO du gélifiant C_{11}-Lys(Z)-OH (2,5mg/ml). a) zone des ν_{NH}, b) zone des ν_{CH}, c) zone des ν_{CO} et δ_{NH}.

Afin d'évaluer l'impact de la quantité de gélifiant utilisée, des spectres ont été enregistrés pour une proportion de DMSO fixée à 30 % v/v tout en faisant varier la concentration en gélifiant. Tous les échantillons ont été préparés en considérant un volume total d'échantillon de 2 ml. Quatre quantités différentes en gélifiant, de 2,5 à 7,5 mg, ont été comparées. Nous pouvons remarquer une assez bonne superposition des vibrateurs associés aux vibrations d'élongation des CH (figure 2b). Dans le cas des carbonyles, la superposition est presque parfaite (figure 2c). Les vibrations d'élongation des NH offrent aussi de grandes similitudes, avec néanmoins de légers écarts de valeurs de l'ordre de 5 cm^{-1} (de 3337 cm^{-1} pour 4,5 mg à 3342 cm^{-1} pour 5 mg).

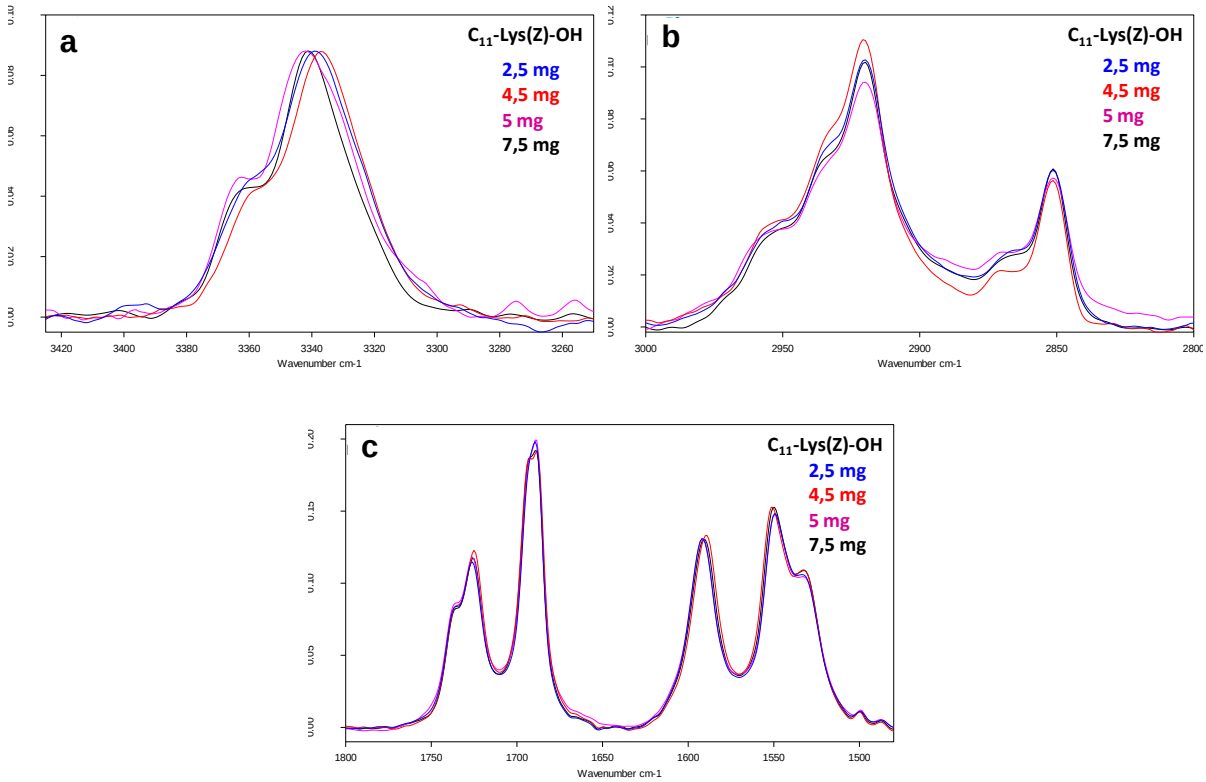


Figure2 : Superposition des spectres IR-TF normalisés des gels formulés à 30% de DMSO de C_{11}-Lys(Z)-OH avec différentes masses de gélifiant (de 2,5 à 7,5 mg pour 2 mL de solvant). a) zone des ν_{NH}, b) zone des ν_{CH}, c) zone des ν_{CO} et δ_{NH}.

Enfin, examinons l'influence de la proportion de DMSO sur la signature spectrale. Pour ce faire, nous avons préparé des échantillons en fixant la quantité de

gélifiant à 5 mg pour 2 mL, soit donc pour une concentration de 5,40 mM trois gels à 10, 30 et 50 % v/v de DMSO, mais aussi une solution à 70 % v/v de DMSO dans laquelle des cristaux, de très fines aiguilles de type oursins, se sont formés au bout de deux jours (figure 11 chapitre III). Les trois gels et les cristaux ont été analysés par IR-TF. Comme dans les cas précédents, nous pouvons constater que les spectres sont quasiment identiques pour ces quatre échantillons, et ce quelle que soit la zone d'étude (figure 3).

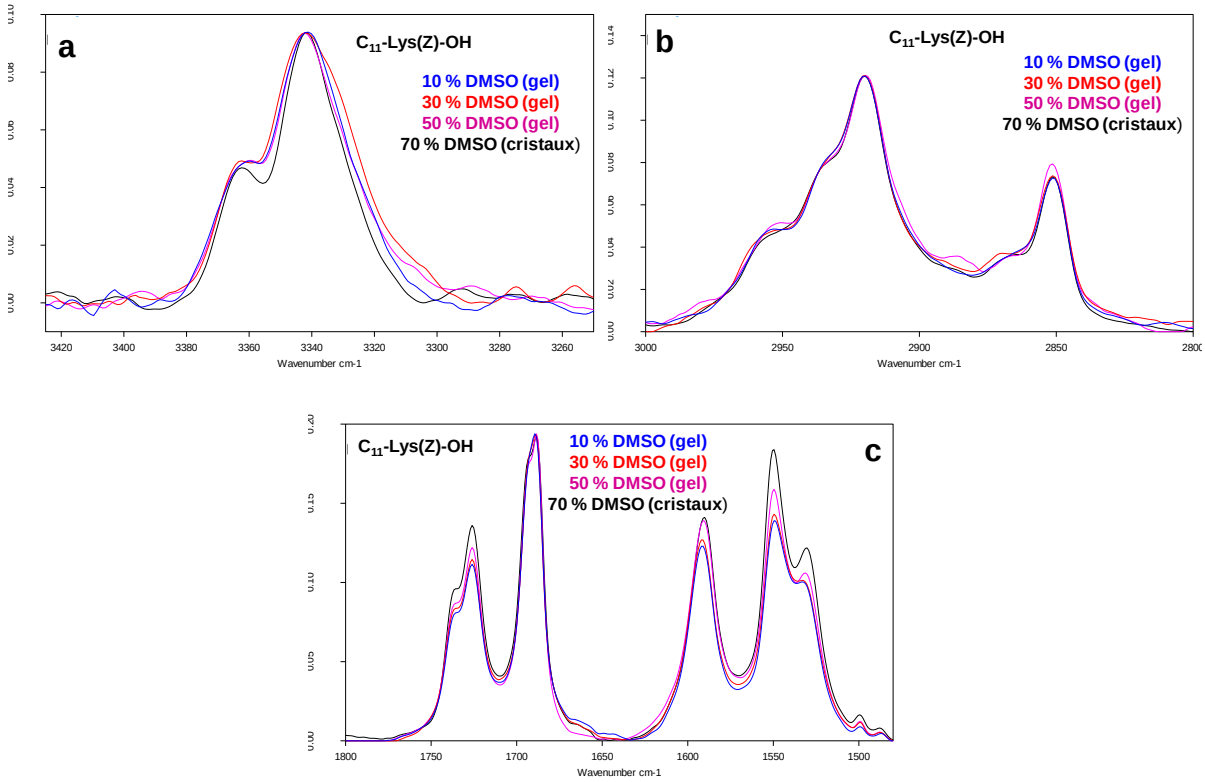


Figure 3 : Superposition des spectres IR-TF normalisés des gels formulés à 10, 30 et 50 % v/v de DMSO ainsi que des cristaux obtenus à partir d'une solution à 70 % v/v de DMSO du gélifiant C_{11}-Lys(Z)-OH. a) zone des ν_{NH}, b) zone des ν_{CH}, c) zone des ν_{CO} et δ_{NH}.

Enfin, des spectres ont été enregistrés sur des gels dialysés et des gels lavés. Cette opération avait pour but d'éliminer le DMSO présent dans le gel afin d'obtenir un hydrogel. Nous ne constatons aucune modification spectrale résultant de ce traitement.

Concernant le gélifiant C_{11}-Lys(Z)-OH, nous pouvons donc conclure que, quel que soit la concentration et la proportion de DMSO utilisées pour formuler les gels, les signatures spectrales sont toutes identiques. Ainsi, le mode d'assemblage à l'échelle moléculaire semble toujours le même. Par ailleurs, la superposition des spectres des gels avec ceux de la poudre de synthèse (décrite dans le chapitre II), ainsi qu'à celui des monocristaux obtenus à partir d'un mélange contenant 70 % v/v de DMSO est quasiment parfaite. Il est à noter que ces monocristaux sont extrêmement fins et n'ont pu être exploités en diffraction des rayons X afin d'en obtenir la structure. Ainsi, qu'il soit gel ou solide condensé, le gélifiant C_{11}-Lys(Z)-OH sera toujours dans le même état « cristallin » à l'échelle des molécules individuelles.

Si nous considérons maintenant le spectre dans l'absolu, nous pouvons constater que ce dernier est assez complexe au regard de la relative simplicité de la molécule. Ce point a été en partie discuté dans le chapitre II. En effet, si nous commençons par examiner la zone des vibrations d'élongation des CO, nous pouvons voir qu'il y a trop de vibrateurs. A première vue, nous pouvons en compter cinq alors que la molécule n'en comporte que trois: l'acide carboxylique, l'uréthane du groupe Z et la fonction amide de la chaîne grasse. Si celles attribuées à l'acide carboxylique et à l'uréthane sont clairement dédoublées, il ne serait pas à exclure que le vibrateur situé à 1590 cm^{-1} (attribué aux CO des amides liés) puisse correspondre à la superposition de deux contributions. Nous avons pu observer précédemment un phénomène similaire avec le précurseur de ce gélifiant, à savoir l'ester méthylique C_{11}-Lys(Z)-OMe, (figure 15 du chapitre II). En effet, dans ce cas le dédoublement des signaux est beaucoup plus marqué et il concerne les trois groupements carbonyle. Ce phénomène pourrait être la conséquence de la coexistence de deux modes d'organisation différents au sein du solide. Par ailleurs, si nous examinons les trois bandes associées au trois carbonyles de la molécule, nous pouvons remarquer tout d'abord que les valeurs associées à l'acide carboxylique, à 1725 et 1735 cm^{-1}, sont typiques de la dimérisation de ce dernier. En effet, **Bhattacharya** [1] a décrit en 2007 la présence à 1732 cm^{-1} de la bande associée à la dimérisation de l'acide carboxylique du gélifiant C_{11}-Ala-OH dans le benzène. **Suzuki** [2] a trouvé un résultat similaire dans le cas de ses gélifiants à base de lysine. En effet, pour C_5-Lys(C_{11})-OH, une bande attribuée au carbonyle de l'acide carboxylique a été relevée à 1733 cm^{-1} dans des gels de CCl_4.

Cette dernière disparaît lorsque le carboxylate de sodium correspondant est utilisé comme gélifiant. L'uréthane est également impliqué dans une liaison hydrogène puisque sa fréquence diminue de 1715 lorsque le gélifiant est en solution dans le DMSO (cf. chapitre II) à 1692 et 1688 cm^{-1} dans le gel.

Les vibrations d'élongation des NH et OH sont plus difficiles à exploiter. Tout d'abord, vu l'absence de bande au-delà de 3400 cm^{-1}, qui seraient typiques de NH ou OH libres, nous pouvons affirmer que les deux NH et le OH sont impliqués dans des liaisons hydrogène. L'étendue de la gamme dans laquelle se situe ces types de vibrateurs rends très délicate leur attribution formelle. Toutefois, si nous comparons les spectres du précurseur, à savoir l'ester qui ne comporte que deux NH, et de notre gélifiant acide carboxylique, nous observons une bande assez large dans les deux cas qui pourraient être attribuées aux NH (figure 4). Ces dernières se situent vers 3328 cm^{-1} pour l'ester et 3342 cm^{-1} pour l'acide. Par contre, une bande relativement fine vers 3362 cm^{-1} n'est observée que pour l'acide carboxylique et pourrait donc correspondre à la vibration d'élongation de l'hydroxyle de l'acide carboxylique.

Pour ce qui est des chaînes alkyles, les bandes correspondant aux vibrations d'élongation symétrique (ν_s) et antisymétrique (ν_{As}) de méthylènes en conformation *trans*, c'est à dire lorsque les chaînes sont complètement étirées et immobiles, sont observés aux valeurs standards **[3]** de 2919 et 2851 cm^{-1}. Il faut tout de même noter la présence d'un épaulement à 2932 cm^{-1} pour les ν_{as}. Cette valeur est typique de CH_2 d'une chaîne alkyle désordonnée. Vu l'intensité de ce signal, il pourrait correspondre aux quatre méthylènes du résidu de chaîne latérale. En d'autre termes, la chaîne alkyle est complètement étirée, avec tous les CH_2 adoptant une conformation *trans*, alors que celle de la lysine est probablement repliée.

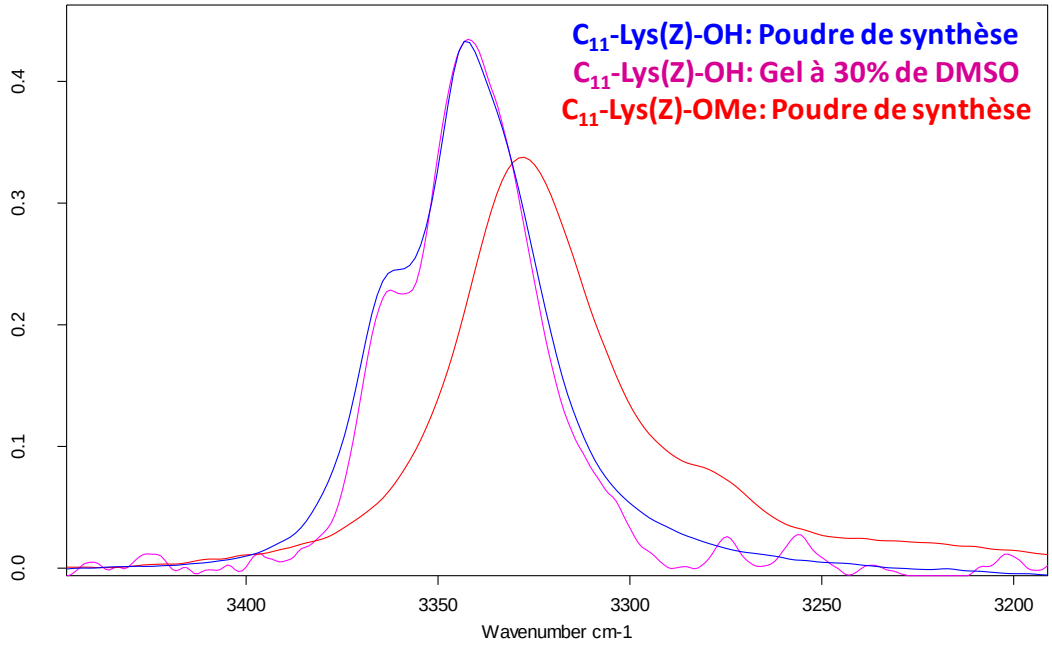


Figure 4 : Superposition des spectres normalisés du gel à 30 % v/v de DMSO (5mg dans 2 mL) et de la poudre de synthèse de C_{11}-Lys(Z)-OH et de C_{11}-Lys(Z)-OMe.

La question qu'il convient alors de se poser à ce stade est la suivante: **Quel mode d'organisation à l'échelle moléculaire pourrait être à l'origine de ce dédoublement?** Tout d'abord, nous avons pu mettre en évidence que la molécule se dimérise via le groupement acide carboxylique. Or, la libre rotation autour de la liaison entre le carbone de l'acide carboxylique et le carbone α fait que ce dimère peut exister sous une forme E ou Z selon le positionnement relatif de la chaîne alkyle (figure 5a et b respectivement). Par ailleurs, l'examen des vibrations d'élongation des CH_2 a montré un probable repliement des quatre carbones du résidu de chaîne latérale contrairement aux chaînes alkyles, complètement étirées, avec les CH_2 en conformation tout *trans*. Ainsi, une probable organisation des molécules pourrait être représentée (figures 5c et 5d) avec toujours une organisation possible des dimères en *trans* et en *cis*.

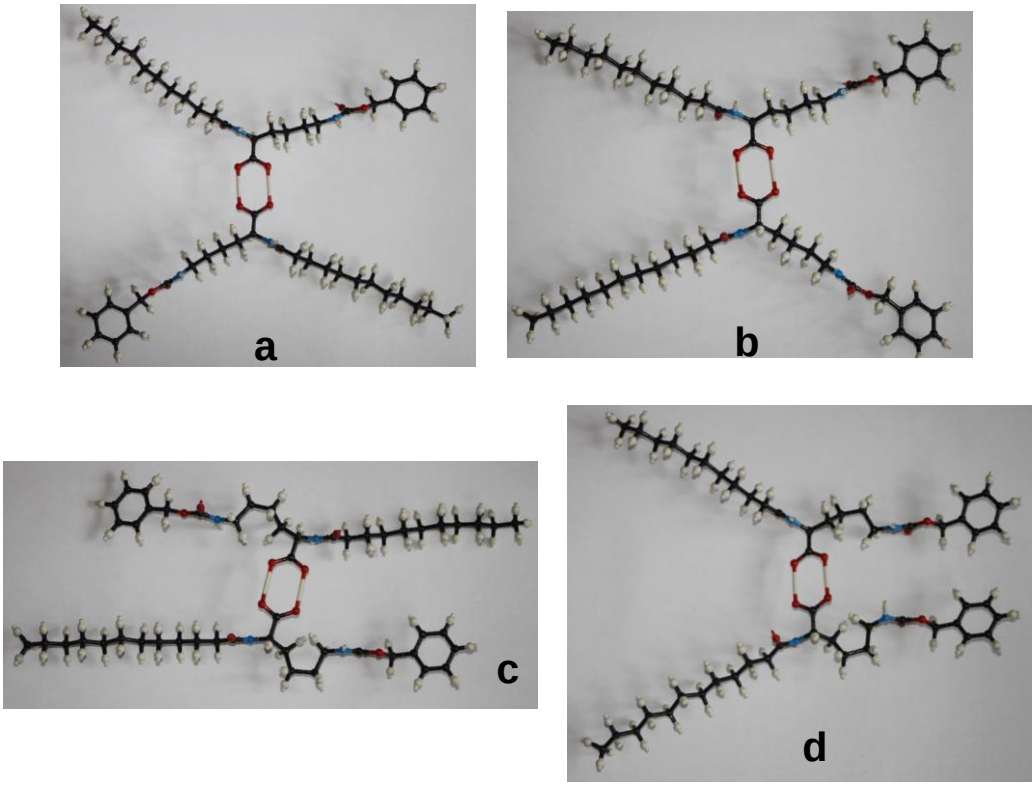


Figure 5 : Modélisation des assemblages de C_{11}-Lys(Z)-OH, où la chaine en C_{11} et le résidu de la lysine sont en tout-*trans* (a et b), où seule la chaine en C_{11} est en tout-*trans* (c et d), et où le dimère est Z (b et d) ou E (a et c).

Nous pouvons remarquer en effet que ce repliement de la chaîne latérale permettrait d'obtenir des objets moléculaires ayant des formes plus allongées (surtout la figure 5c) que ceux où les quatre carbones de la lysine sont en tout-*trans*. En effet, dans ces cas représentés figure 5a et 5b, les espaces à combler sont plus conséquents, ce qui est probablement moins favorable pour le système lors de la cristallisation des molécules.

Considérons à présent le cas du gélifiant comportant l'atome de chlore. Les organogels aqueux obtenus avec C_{11}-Lys(2-Cl-Z)-OH sont plus faibles que ceux obtenus avec son homologue non halogéné. Les gels sont plus difficiles à manipuler, et le dépôt de l'échantillon sur le cristal de l'ATR pour faire la mesure est plus délicat. Pour une concentration en gélifiant fixée à 5,03 mM (5 mg dans 2 mL de solvant), nous

avons préparé deux gels ayant des proportions de DMSO différentes (10 et 30 % v/v). Malgré plusieurs tentatives pour obtenir une couche homogène de gel, les spectres sont à chaque fois assez bruités. Il n'a donc pas été possible d'exploiter certaines zones du spectre. C'est notamment le cas des vibrations d'élongation des NH et OH qui sont invisibles et ce quelle que soit la proportion de DMSO. Pour ce qui est des CH, seuls les échantillons enregistrés avec 30 % v/v de DMSO donnent des signaux visibles. Toutefois, comme le montre la superposition des spectres normalisés de quatre échantillons différents (figure 6), les spectres ne sont pas parfaitement superposables. Par ailleurs, nous pouvons remarquer, lorsque nous les comparons au spectre de l'analogue non halogéné, que les fréquences des vibrations d'élongation symétriques et asymétriques des CH sont globalement similaires.

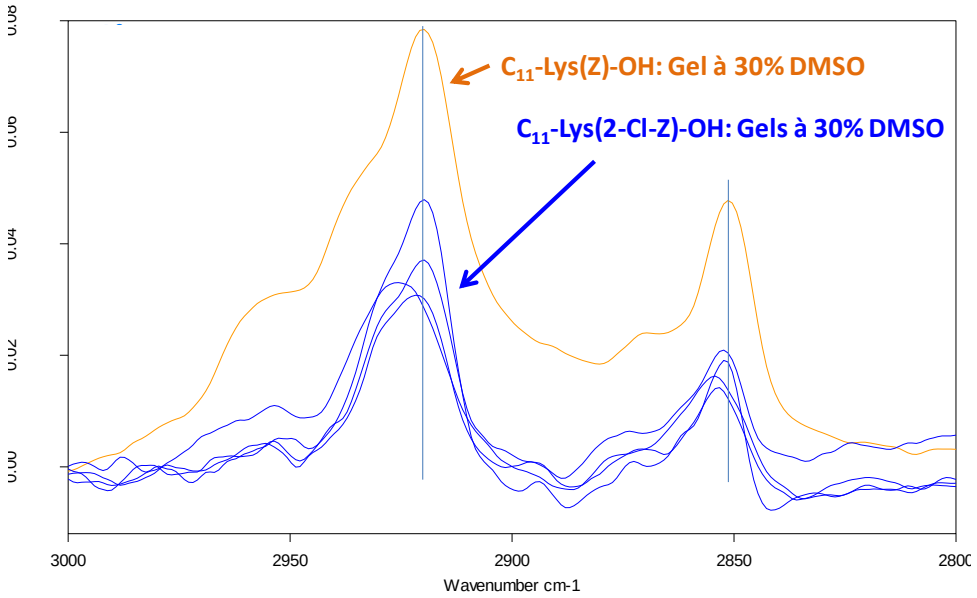


Figure 6 : Superposition de spectres normalisés de quatre échantillons différents (bleus) de gels de C_{11}-Lys(2-Cl-Z)-OH formulés avec 30 % v/v de DMSO. Le spectre de l'analogue non halogéné (orange) est indiqué à titre de comparaison.

L'examen de la zone des CO donne, quant à elle, des résultats relativement similaires quelle que soit la proportion de DMSO utilisée pour la formulation. Néanmoins, comme pour les vibrations d'élongation des CH, les superpositions ne sont pas parfaites. En effet, lorsque nous superposons quatre échantillons formulés avec 30 % v/v de DMSO (en bleu Figure 7) avec trois échantillons formulés avec 10

% v/v de DMSO (en rouge figure 7), nous retrouvons globalement le même nombre de vibrateurs avec tout de même des différences notables entre les différents échantillons. C'est en particulier le cas des bandes correspondant aux amides situées entre 1620 et 1660 cm^{-1}. Leurs intensités varient beaucoup d'un échantillon à l'autre.

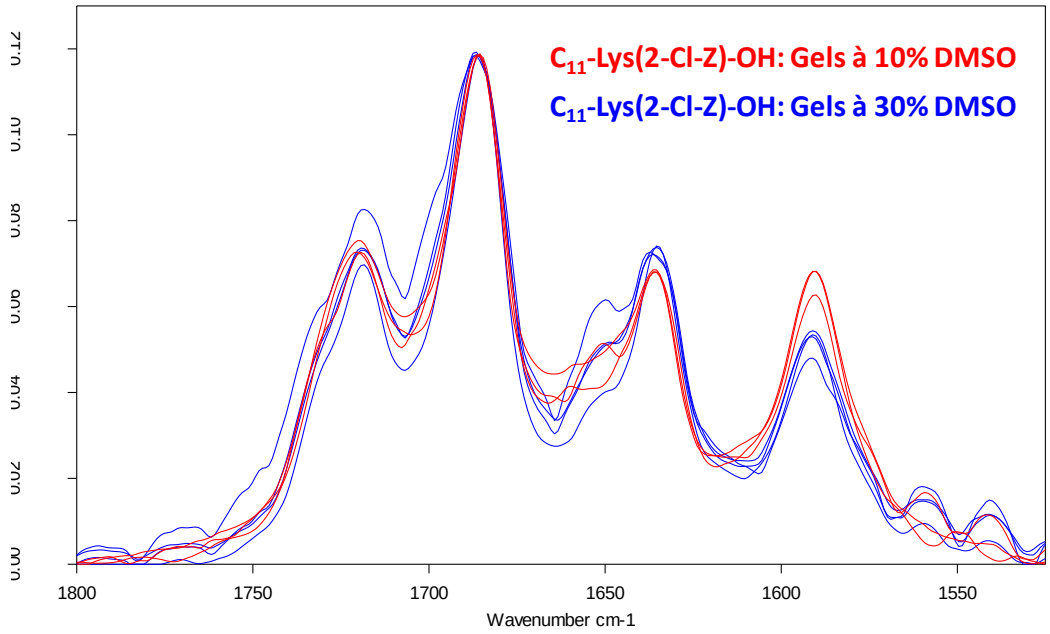


Figure 7 : superpositions de spectres normalisés de trois échantillons formulés avec 10 % v/v et de quatre échantillons formulés avec 30 % v/v de DMSO du gélifiant halogéné.

Si nous comparons maintenant les zones carbonyles des spectres du gel avec 30 % v/v de DMSO, la poudre de synthèse et de la solution dans le DMSO, la première chose que nous pouvons remarquer est la différence notable existant entre l'état solide condensé et le gel (figure 8). En effet, contrairement au cas de C_{11}-Lys(Z)-OH où les spectres se superposent parfaitement, nous observons des écarts de morphologie et de positionnement des vibrateurs. Dans les deux cas, vu les valeurs des vibrateurs, la fonction acide carboxylique est sous forme de dimères. Nous avons une seule bande à 1725 cm^{-1} dans le cas la poudre et deux bandes à 1729 et 1719 cm^{-1} pour le gel. Pour mémoire, en solution dans le DMSO, l'acide carboxylique est également détecté sous la forme d'un dimère. En effet, ce vibrateur se superpose à 1718 cm^{-1} avec celui de l'uréthane. Dans le gel, nous observons que ce dernier est également dédoublé à

1685 et 1692 cm^{-1} alors qu'une seule bande à 1690 cm^{-1} est observée dans le solide. Les choses se compliquent lorsque nous essayons d'attribuer les amides. En solution, une seule bande est visible à 1663 cm^{-1}. Pour le solide et le gel, seule la bande située vers 1590 cm^{-1} est commune aux deux états. Pour le reste, une seule bande à 1642 cm^{-1} est visible pour la poudre de synthèse, alors que nous en relevons deux situées de part et d'autre à 1635 et 1650 cm^{-1} dans le cas du gel. La relative complexité des spectres enregistrés à l'état gel est probablement le reflet d'une dynamique forte au sein du matériau qui est en constante évolution rapide. L'important écart de positionnement et d'intensité des vibrateurs situés entre 1640 et 1660 cm^{-1}, lorsque des spectres d'échantillons différents sont enregistrés, est probablement la conséquence de ce phénomène. Il ne faut pas perdre de vue que les gels formulés à l'aide de ce gélifiant halogéné ne sont pas stable dans le temps et finissent par se dégrader. Il pourrait être pertinent d'effectuer dans ce cas des expériences de cinétique pour observer tout d'abord sa formation puis son vieillissement.

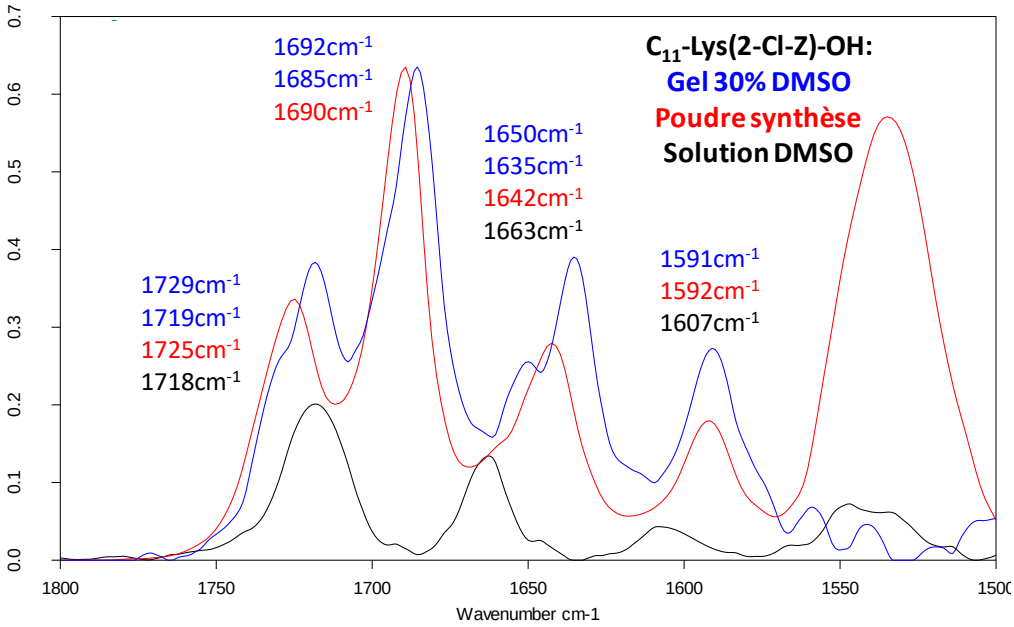


Figure 8 : Superposition des spectres du gel (5.4 mM et 30 % v/v de DMSO), du solide et de la solution dans le DMSO de C_{11}-Lys(2-Cl-Z)-OH. Les spectres des états gel et solide ont été normalisés.

Si nous comparons à présent le spectre du gel de C_{11}-Lys(2-Cl-Z)-OH avec celui de C_{11}-Lys(Z)-OH, formulé avec 5 mg de gélifiant dans 2mL de solvant avec 30 % v/v de DMSO, nous pouvons constater le fort impact du chlore sur la structuration à l'échelle moléculaire. En effet la figure 9 montre les écarts des fréquences entre les vibrateurs de ces deux molécules. Pour mémoire, ces différences sont moins importantes lorsque nous comparons les états solides (figure 22, chapitre II) puisque les seuls changements notables concerne la bande amide. Donc, lorsque nous passons de l'état solide à l'état gel, nous accentuons les différences de structure à l'échelle moléculaire lorsqu'un atome de chlore est ajouté. Il semble même que le vibrateur le plus influencé par la présence du chlore soit le carbonyle de l'amide.

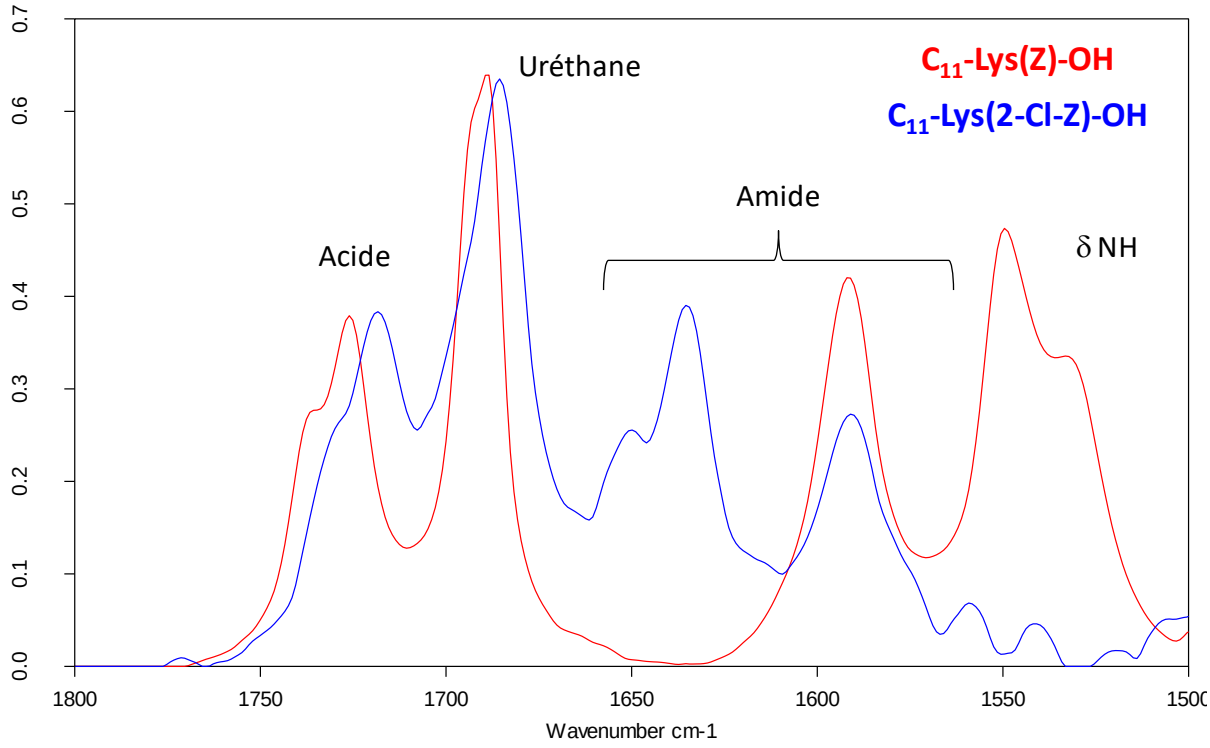


Figure 9 : superposition des spectres normalisés des gels formulés avec 30 % v/v de DMSO et 5 mg, pour 2 mL de solvant, de gélifiant halogéné et non halogéné.

Dans le cas du gélifiant comportant la fonction hydrazide, nous pouvons remarquer, en comparant la poudre de synthèse et le gel formulé à 5,24 mM dans 50 % v/v de DMSO, que la morphologie des spectres est similaire, à la différence que les trois carbonyles voient leurs fréquences diminuer d'une dizaine de cm^{-1} et que la bande

de vibration de déformation des NH vers 1540 cm^{-1} disparaît lorsque l'on passe de la poudre au gel (figure 10c). Pour ce qui est des vibrations d'élongation des CH, elles se superposent parfaitement (figure 10b). Enfin les vibrations d'élongation des NH ont des intensités très faibles et cette zone est très bruitée. Les opérations de lissage et de correction de ligne de base deviennent délicates à faire correctement, ce qui rend les données peu fiables. Par conséquent cette zone est difficilement exploitable (figure 10a). Cette observation est à relier avec la disparition des vibrations de déformation des NH.

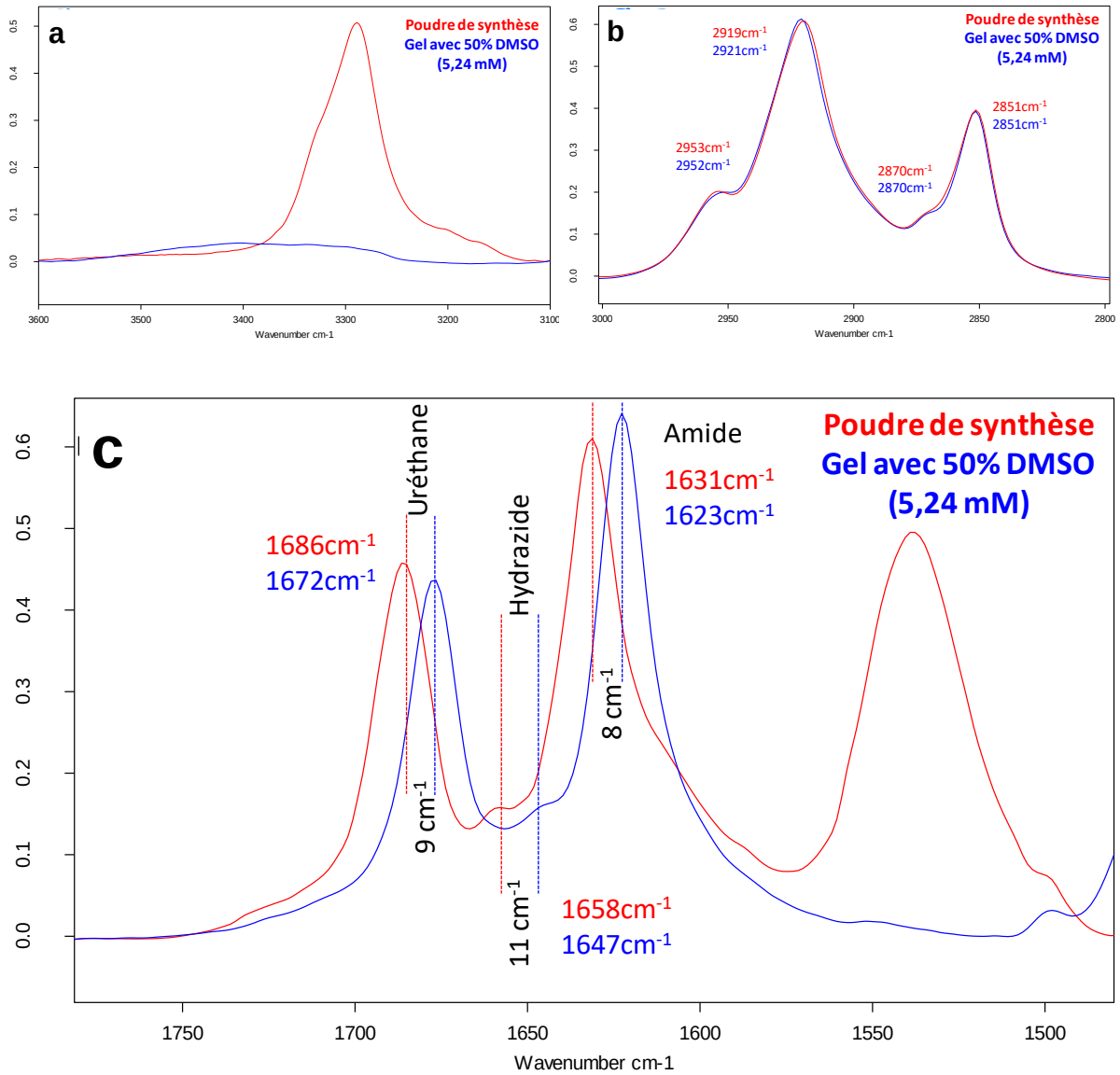


Figure 10 : superposition des spectres normalisés de C_{11}-Lys(Z)-$NHNH_2$ à l'état gel (5,24 mM avec 50 % v/v de DMSO) et à l'état solide.

Lorsque nous augmentons la proportion de DMSO à 60 % v/v, nous pouvons constater quelques modifications dans les spectres. Cette différence est particulièrement visible pour les vibrations d'élongation des carbonyles. En effet, le spectre est plus complexe (figure 11a). Nous pouvons noter l'apparition de bandes supplémentaires à 1720, et 1540 cm^{-1} ainsi que d'un épaulement à 1695 cm^{-1}. La présence de ce dernier est confirmée lorsque nous examinons la dérivée seconde de ces spectres (figure 11b) qui est une opération mathématique permettant de révéler la présence de signaux peu visibles sur le spectre direct. En dérivée seconde, les minimas relevés correspondent aux points d'inflexions présents sur la courbe. Ainsi, nous pouvons constater la présence d'un minima à 1697 cm^{-1} (figure 11b) correspondant à l'épaulement observé. Cette bande pourrait correspondre à l'uréthane lié. En effet, nous relevons une valeur très similaire dans le cas des esters à l'état solide. La bande à 1720 cm^{-1} est quant à elle la superposition de deux contributions: l'une à 1728 cm^{-1} et l'autre à 1719 cm^{-1}, attribuées respectivement à l'uréthane libre et solvaté par le DMSO. Enfin, la bande de l'uréthane dans le gel se décale de 3 cm^{-1} vers des fréquences plus hautes (à 1680 au lieu de 1677 cm^{-1}) lorsqu'on augmente la proportion de DMSO. Par contre, l'effet inverse est observé dans le cas de la bande associée à l'hydrazide, puisque sa fréquence diminue de 4 cm^{-1} (de 1647 à 1643 cm^{-1}) lorsque la proportion de DMSO passe de 50 à 60 % v/v. Seule la bande amide reste stable à 1623 cm^{-1}, quelle que soit la proportion de DMSO. Enfin, alors qu'elles étaient invisibles à 50 % v/v de DMSO, les vibrations de déformation des NH (δ_{NH}) sont à nouveau observées vers 1540 cm^{-1}. Il en est de même des vibrations d'élongation des NH qui sont à nouveau visibles à 60 % v/v de DMSO (figure 11c). Nous observons la présence d'une bande assez large centrée à 3316 cm^{-1}. Nous pouvons par ailleurs constater, lorsque la proportion de DMSO augmente à 60 % v/v, que la fréquence de l'uréthane augmente de 3 cm^{-1} et celle de l'hydrazide diminue de 4 cm^{-1}. Enfin, quelle que soit la proportion de DMSO, les chaînes alkyles se comportent de la même manière (figure 11d). En conclusion, à 60 % v/v de DMSO, le gel est en évolution, avec probablement une dissociation partielle des assemblages au niveau du Z et la coexistence de plusieurs formes différentes.

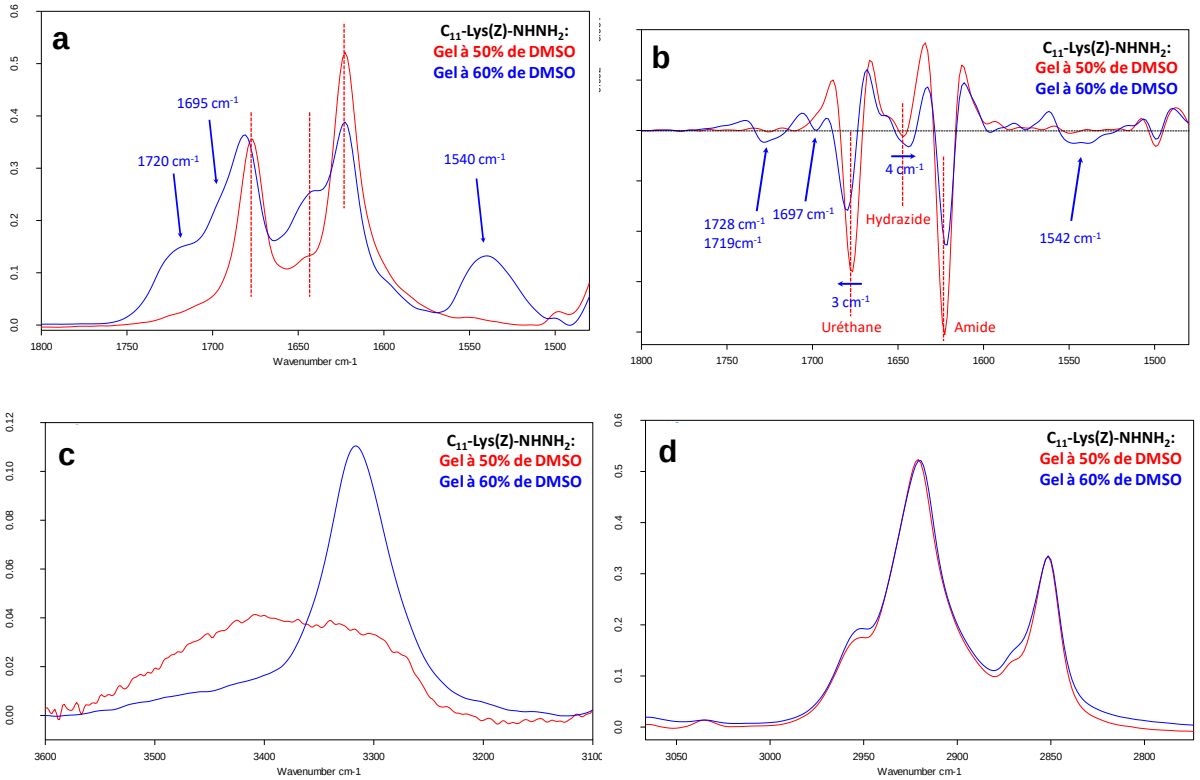


Figure 11 : Superposition des spectres des gels formulés avec 50 et 60 % v/v de DMSO. Spectre direct (a) et dérivées secondes (b) des vibrations d'élongation des carbonyles et de déformation des NH. Vibrations d'élongations des NH (c) et CH (d).

Si maintenant nous comparons le spectre du gel formulé avec 50 % v/v de C_{11}-Lys(Z)-NHNH$_2$ avec celui de monocristaux obtenus pour son homologue en phénylalanine (C_{11}-Phe-NHNH$_2$, résultats non publiés), nous pouvons constater qu'il y a de fortes similitudes entre les deux molécules. En effet, nous retrouvons un profil quasiment identique, mais avec des bandes décalées de 16 cm^{-1} vers des fréquences plus basses dans le cas du gel de C_{11}-Lys(Z)-NHNH$_2$, pour les bandes carbonyles de l'hydrazide et l'amide (figure 12a). Il va de soi que la bande uréthane du Z à 1672 cm^{-1} n'est pas présente dans le cas du dérivé de la phénylalanine. Si nous procédons à un décalage artificiel du spectre de la phénylalanine de 16 cm^{-1} vers des fréquences plus basses, la ressemblance entre les deux spectres est plus évidente (figure 12b).

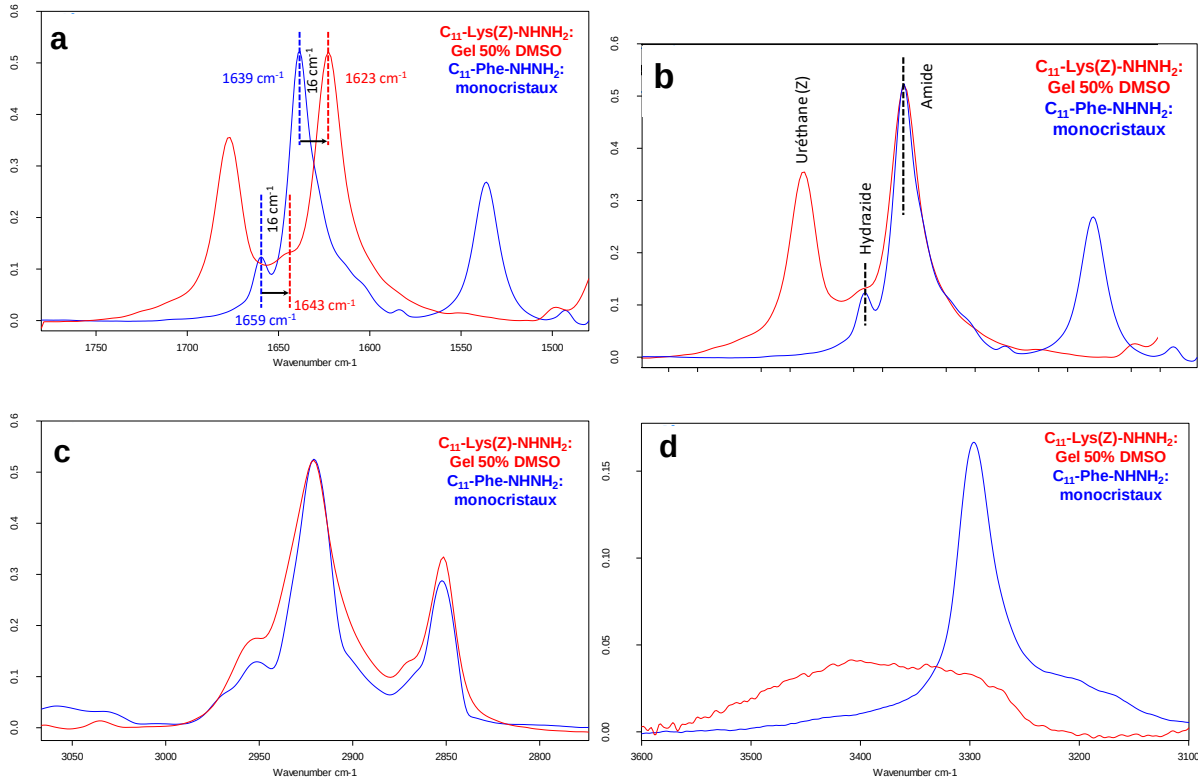


Figure 12 : Superposition des spectres de C_{11}-Lys(Z)-$NHNH_2$ (gel contenant 50 % v/v de DMSO) et de C_{11}-Phe-$NHNH_2$ (monocristaux) à fréquences réelles (a) avec un décalage de 16 cm^{-1} vers des fréquences plus basses du spectre des monocristaux (b). Superposition des vibrateurs CH (c) et NH (d) à fréquences réelles.

L'intérêt majeur de cette comparaison c'est que la structure cristallographique a pu être déterminée pour C_{11}-Phe-$NHNH_2$ (figure 13). La molécule s'auto-assemble de façon parallèle pour former des colonnes primaires. Puis, ces dernières s'assemblent de façon tête-bêche par les extrémités polaires NH_2 et par interdigitation des chaînes alkyles. La figure 14 montre une vue selon l'axe du réseau de liaison hydrogène. Vue les similitudes de signatures en spectroscopie infrarouge entre le gel à 50 % v/v de DMSO de C_{11}-Lys(Z)-$NHNH_2$ et les monocristaux de C_{11}-Phe-$NHNH_2$, il pourrait être envisageable que les deux organisations moléculaires soient proches.

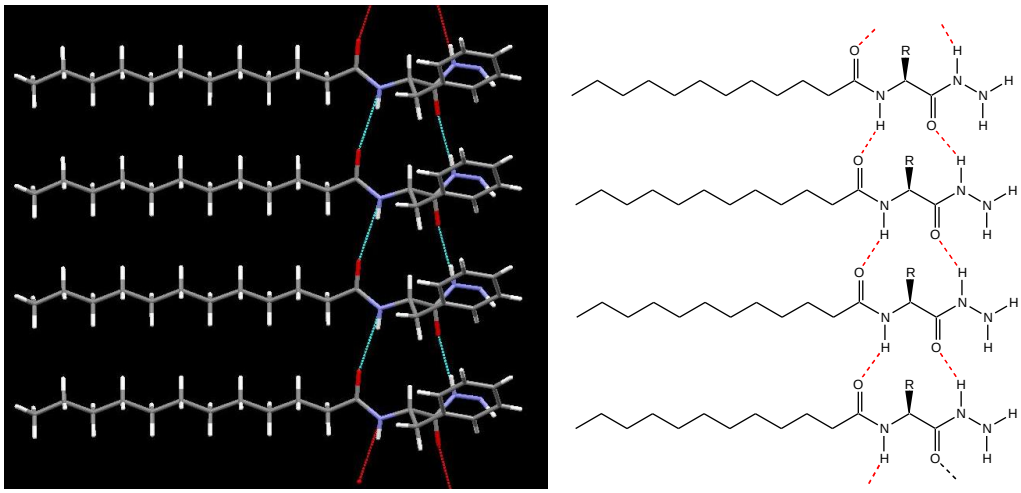


Figure 13 : structure cristallographique de C_{11}-Phe-$NHNH_2$, colonne primaire (gauche) et représentation schématique du réseau de liaisons hydrogène unidirectionnel (droite)

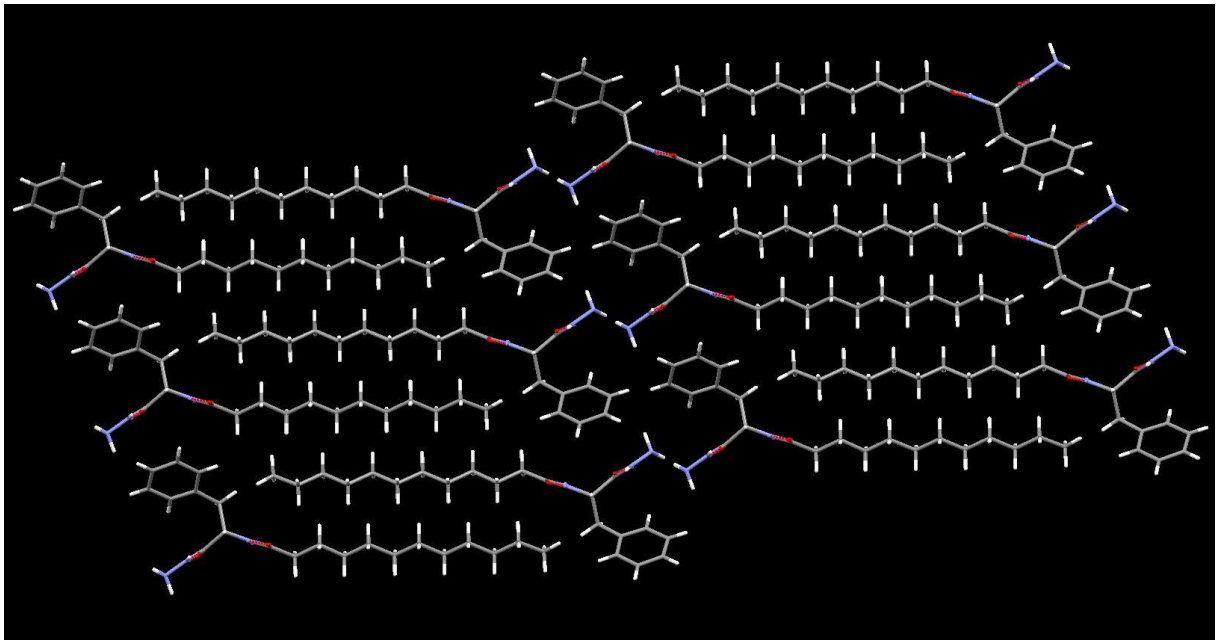


Figure 14 : structure cristallographique de C_{11}-Phe-$NHNH_2$, projection selon l'axe du réseau de liaisons hydrogène.

En conclusion de cette étude, nous pouvons dire que, quelles que soient les conditions (concentration en gélifiant, proportion DMSO/H_2O ou nature de l'état à savoir solide ou gel), l'organisation à l'échelle moléculaire de C_{11}-Lys(Z)-OH est toujours la même. La molécule de gélifiant forme tout d'abord un dimère *via* la fonction

acide carboxylique, puis le réseau solide se forme à partir de la coexistence de deux conformères. Ainsi, les différences en termes de propriétés mécaniques macroscopiques observées entre les gels selon la proportion de DMSO et selon la concentration (dans les chapitre III et confirmées dans le chapitre IV), proviennent uniquement des objets formés (fibres, ruban, etc.) et pas des interactions mise en place à l'échelle moléculaire au moment de l'assemblage.

Lorsqu'un atome de chlore est incorporé en position 2 de l'aromatique du Z, l'impact sur le processus de gélification et sur la structuration des molécules est important. Nous pouvons constater que le système est beaucoup plus dynamique et en constante évolution. Contrairement au cas de C_{11}-Lys(Z)-OH, l'état gel est un peu différent de l'état solide. Par contre, comme pour son analogue non halogéné, l'état gel n'est pas affecté par la proportion DMSO/H_2O et nous avons également la formation de dimères. La présence du chlore a donc un effet de déstabilisation, probablement en raison de la possible formation d'une liaison hydrogène entre le NH du Z et le chlore, avec formation d'un pseudo-cycle à huit atomes (figure 15). Cette interaction faible pourrait être à l'origine de perturbations lors de l'établissement de liaisons hydrogène intermoléculaires entre fonctions uréthane.

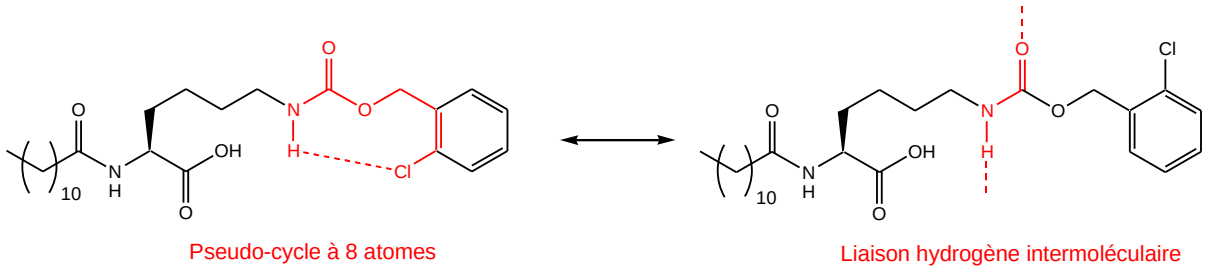
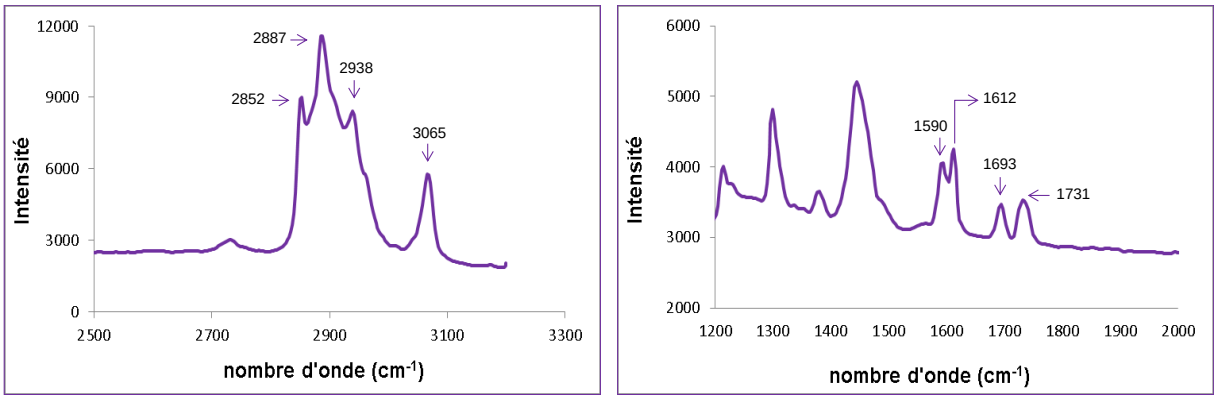


Figure 15 : compétition potentielle entre liaisons hydrogène intramoléculaire et intermoléculaire.

Ces différences sont à rapprocher des différences de cinétique de formation des gels mises en évidence dans le chapitre IV. Dans le cas de C_{11}-Lys(2-Cl-Z)-OH des cinétiques beaucoup plus lentes ont été observées, comparativement aux systèmes formulés avec C_{11}-Lys(Z)-OH.

Enfin, dans le cas de C_{11}-Lys(Z)-$NHNH_2$, l'assemblage moléculaire est très fortement impacté par la proportion DMSO/H_2O. Lorsque le gel est formulé avec 50 % v/v de DMSO, les spectres sont relativement simples. Des similitudes spectrales peuvent être établies avec la forme cristallisée de l'analogue en phenylalanine où les molécules sont assemblées de façon parallèle.

La spectroscopie RAMAN, de son côté, nous a permis, tout comme l'IR-TF, de caractériser les molécules à l'état solide et liquide, ainsi que dans les systèmes gélifiés. La caractérisation de l'état condensé (molécule **A**) a montré plusieurs zones intéressantes : La zone de vibration NH et OH représenté par un pic à 3065 cm^{-1} (figure 16-A) caractéristiques de la vibration d'élongation NH et OH.



A **B**

Figure 16 : Spectre RAMAN de la molécule C_{11}-Lys(Z)-OH. **A.** Zone des aliphatiques. **B.** Zone des carbonyles.

Entre 2938 cm^{-1} et 2852 cm^{-1} nous observons la zone de vibration de méthyles et méthylènes (figure 16-A). Finalement, nous trouvons (figure 16-B) la vibration de l'acide carboxylique à 1731 cm^{-1}, et la vibration du groupe uréthane à 1693 cm^{-1}. Par rapport à la vibration du groupe amide il est possible de voir le pic hors norme à 1590 cm^{-1} qui a été associé par IR-TF à cette fonction dans le chapitre II. Or, nous dirions que le pic se divise en deux et par conséquent il est possible de voir encore une autre bande à 1612 cm^{-1} (ce dédoublement n'avait pas été observé pendant la caractérisation de la molécule **A** par IR-TF). Nous pouvons dire de manière générale

que les informations apportées par la spectroscopie RAMAN sont en accord avec celles issues de l'IR car, nous retrouvons des valeurs très similaires.

Une solution à 5,40 mM dans le DMSO a été aussi analysée. Le spectre a montré une allure identique (figure 17, courbe violette) à celle du DMSO pur (figure 17, courbe bleue). En effet le DMSO masque les signaux des molécules. Le même comportement a été observé pour les solutions issues de **B** et de **C**. Il a donc été impossible d'observer autre chose que le DMSO à l'état liquide.

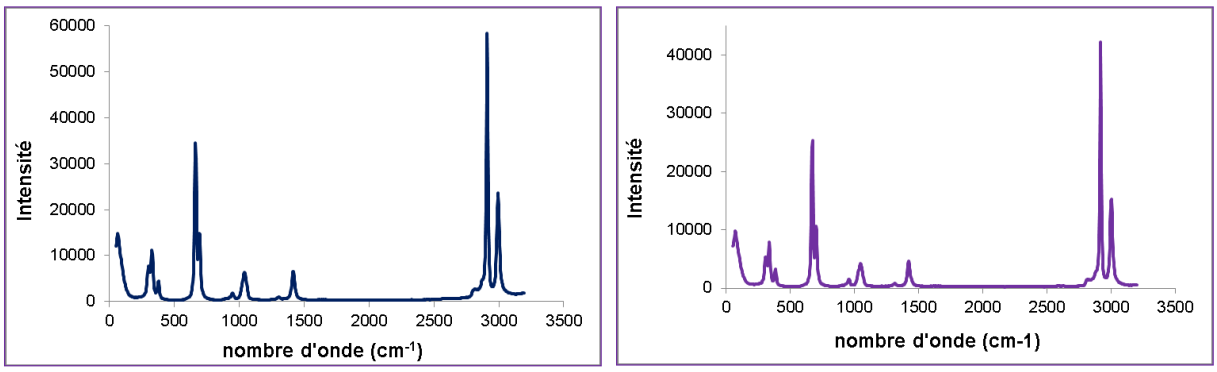


Figure 17 : Courbe bleu DMSO pur, Courbe violet solution à 5,40 mM dans le DMSO.

L'étape suivant la caractérisation par RAMAN à était l'évaluation des gels. Nous avons commencé l'étude en caractérisant le gel G_{a30} (5 mg de **A** dans 30 % v/v de DMSO). Une solution du gélifiant **A** a été préparée dans un pilulier de 3 mL, et une petite quantité (entre 0,3 et 0,4 mL) prélevée à l'aide d'une seringue, qui a ensuite été placée dans un petit cristallisoir. L'échantillon a été laissé au repos pendant 5 min pour assurer la formation du gel, avant mesure. Les premiers essais que nous avons faits ont été infructueux. En effet, les gels sont en réalité des structures très dynamiques, et pour chacune des mesures, nous analysions en réalité des domaines riches en DMSO. Par conséquent, les spectres obtenus correspondaient aux signaux du DMSO qui masquaient ceux du gélifiant (figure 18).

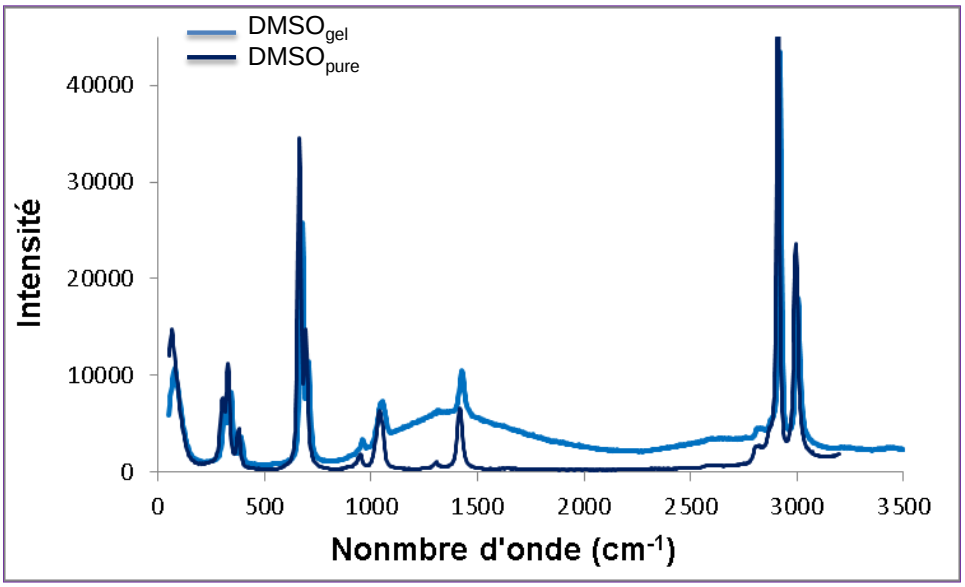


Figure 18 : Spectre RAMAN du gel G_{a30} (courbe bleu clair), et le DMSO pur (courbe bleu foncé).

Ces premiers spectres ont été enregistrés en choisissant un peu au hasard les zones à étudier. Or, le spectromètre RAMAN est couplé à un microscope optique. Ainsi, pour améliorer la mesure, nous avons décidé à l'aide du microscope, de balayer la surface du gel pour essayer de trouver différentes zones qui puissent nous permettre d'obtenir des informations sur la molécule de gélifiant. C'est donc grâce à la visualisation du gel qu'un choix plus précis de la zone d'étude a été réalisé. Nous avons pu repérer deux types de zones :

1. Des zones que nous appelons « zones foncées » où nous observons le spectre caractéristique du DMSO.

2. Des zones appelés « zones claires » où nous avons pu obtenir un spectre différent du spectre de DMSO. En comparant le spectre du gel (zone claire, figure 18-A) avec le spectre de la molécule, nous constatons que les signaux sont similaires à ceux de la molécule (figure 19-B et 19-C).

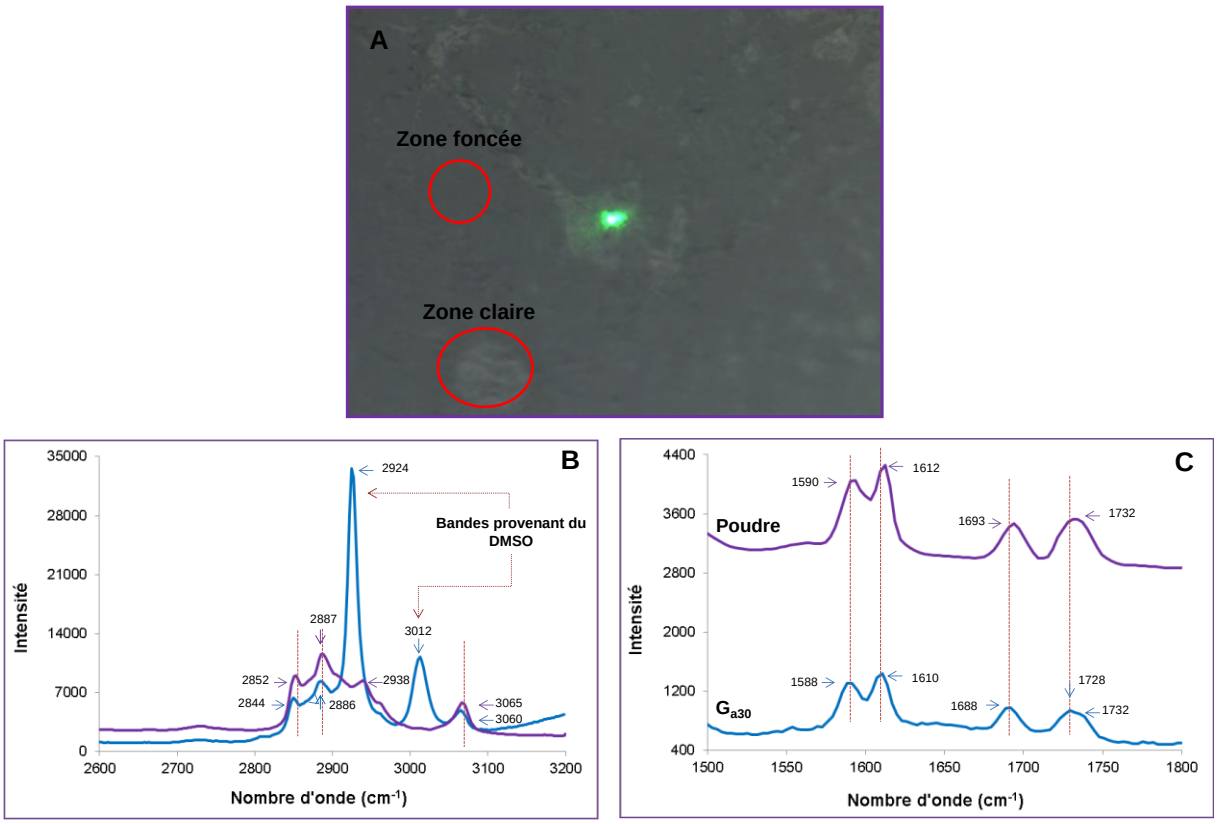
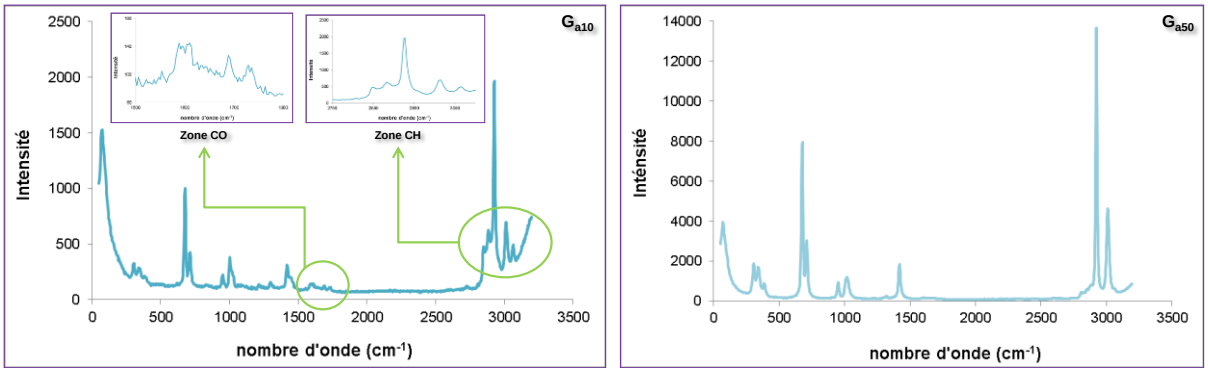


Figure 19 : spectre RAMAN de : zone claire de G_{a30} (courbe bleu), poudre de synthèse (courbe violet): **A.** zones des aliphatiques. **B.** zone de carbonyles.

Il semble que les zones claires soient constituées donc par une concentration d'objets formés important, ce qui permet d'obtenir un spectre différent de celui du DMSO. Nous observons entre 2844 cm^{-1}et 2886 cm^{-1} les pics caractéristiques de aliphatiques. Les pics à 2924 cm^{-1} et à 3012 cm^{-1} provenant du DMSO. A 1732 cm^{-1} se trouve le pic correspondant à l'acide carboxylique, avec un épaulement dans le cas du gel à 1728 cm^{-1}. La fonction uréthane est présente à 1688 cm^{-1} et puis, pour la fonction amide, nous observons une double bande à 1588 et 1610 cm^{-1}.

Les gels G_{a10} et G_{a50} ont été aussi caractérisés de la même façon. Les mesures se sont montrées elles aussi compliquées à faire. Le spectre pour le gel G_{a10} (figure 20-A) est moins net que celui obtenu pour G_{a30}. D'après les agrandissements faits (figure 20-A en haut à gauche pour la zone de carbonyles et à droite pour la zone des aliphatiques), il est clair que le spectre nous donne moins d'informations. Nous voyons assez bien les pics attendus pour les CH. Par contre la zone des carbonyles est très bruitée, et nous ne pouvons que deviner la présence des signaux que nous attendons.

Pour ce qui est du gel G_{a50} nous ne voyons que les signaux du DMSO (figure 20-B).



A B

Figure 20 : spectres RAMAN : **A.** gel G_{a10}, sur la partie supérieure la zone aliphatique et la zone carbonyle agrandies. **B.** Gel G_{a50}.

Le fait de ne pas pouvoir enregistrer de spectres avec un gel formulé avec 50 % v/v de DMSO n'est pas surprenant du fait des quantités importantes de ce solvant. Il nous semble qu'à mesure que nous augmentons le volume de DMSO, les zones claires disparaissent, ce qui conduit à l'incapacité de repérer la molécule à des grandes proportions de DMSO.

Nous nous étions aussi intéressés à la caractérisation des cristaux formés dans le système contenant 70 % v/v de DMSO (figure 8, chapitre III). Pour cela, une analyse de la surface point par point ou cartographie RAMAN a été réalisée. En effet, l'objectif de cette analyse est basé sur l'acquisition des spectres pendant le balayage de la surface d'un échantillon. L'échantillon est posé sur une platine qui a la possibilité de se déplacer en x, y et z. La surface de l'échantillon peut être visualisée grâce à une caméra vidéo. L'observation va donc permettre la sélection en amont d'une zone d'intérêt.

La zone est ensuite divisée en petits parties de taille définie. Le faisceau laser est envoyé et localisé sur une première partie. La diffusion Raman est mesurée est le spectre correspondant enregistré. La platine motorisée va ensuite se déplacer et une deuxième partie sera focalisée. Cette procédure se répète tout au long de la zone choisie. A la fin de la cartographie, les données sont représentées comme un cube de données spectrales [4].

Cette disposition permet de traiter les résultats en utilisant une analyse en composant principale (ACP). Cette analyse va conduire à la distinction des groupes dans l'ensemble de résultats. Par exemple, si nous cherchons à analyser les données en deux composantes principales, nous allons assembler les résultats en regardant les spectres qui se ressemblent, et ceux qui ne se ressemblent pas.

Il faut préciser que les cristaux ont été récupérés avec du solvant de cristallisation (DMSO 70%/H_2O 30%) et placés sur un petit cristallisoir (aucune procédure de séchage n'a été appliquée). Les résultats (figure 21).ont proposé deux composantes principales : MCR1 qui présente comme constituant principal la fibre, et la MCR2 qui présente un spectre caractéristiques du DMSO. Donc, il est évident que le spectre qui nous intéresse est celui de la composante MCR1, et ce dernier a une allure très similaire au spectre du gel.

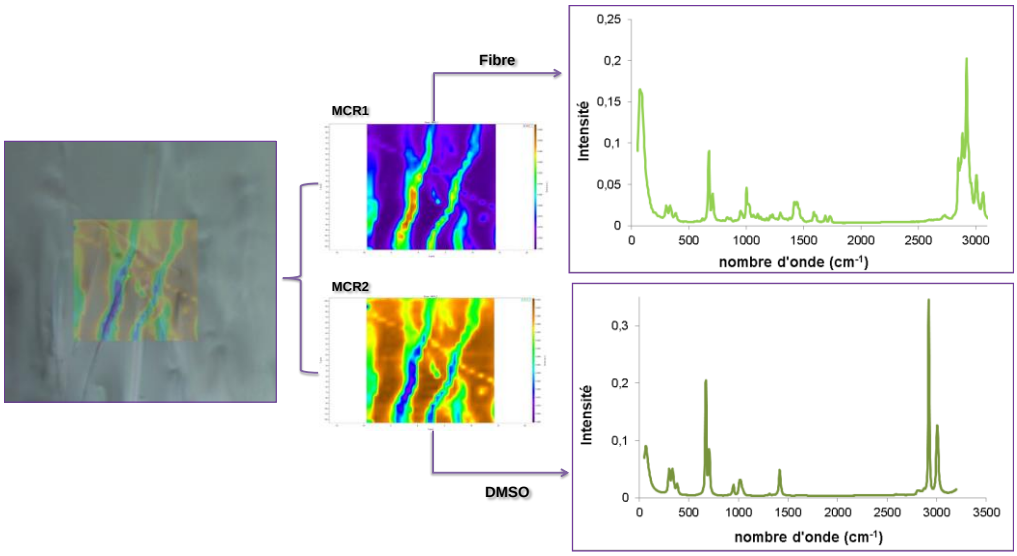


Figure 21 : schématisation de la cartographie. A gauche la zone des cristaux évaluée, à droit les spectres associés aux composantes principales trouvées.

En faisant une comparaison de deux zones (aliphatique et carbonyle) pour les deux systèmes G_{a30} et G_{a70} (figure 22) nous confirmons qu'en effet ils se ressemblent. Cela nous amène à nouveau sur les comportements que nous avons vus en IR : la poudre de synthèse, les gels et les cristaux ont la même allure de spectres. Nous pourrions donc dire, grâce à l'IR-TF et au RAMAN que les interactions entre molécules sont toujours les même.

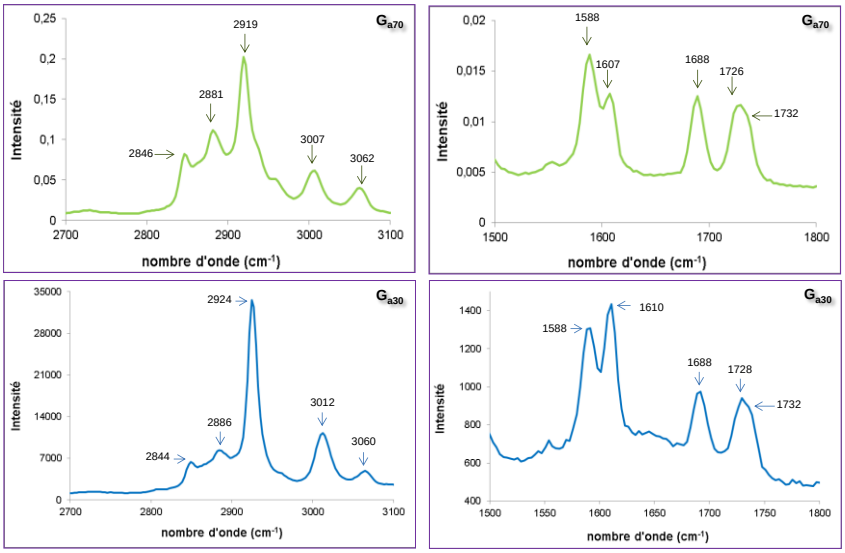
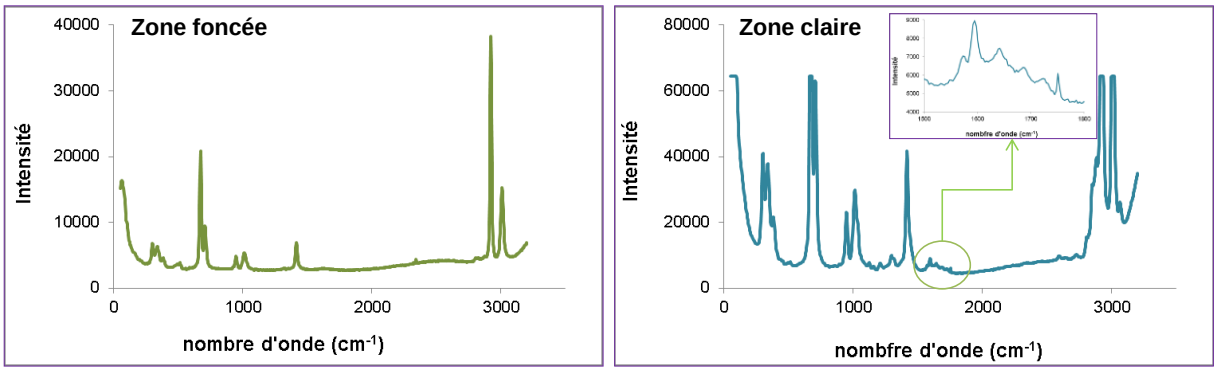


Figure 22 : En haut à gauche zone des aliphatique et à droite zone de carbonyles pour G_{a70}. En bas à gauche zone des aliphatiques, à droit zone des carbonyles pour G_{a30}.

La spectroscopie RAMAN nous a aussi permis d'évaluer le gel G_{b30} formulé à partir de la molécule **B**. Il faut savoir que les mesures faites pour **B** sont toutes moins performantes que celles faites pour **A**, ce qui conduit à l'obtention de moins d'informations.

Pour l'obtention du spectre, nous avons procédé de la même façon que pour **A**, en essayant de repérer différentes zones dans le gel. Dans ce cas, deux zones ont été aussi observées : la zone foncée où nous voyons principalement le DMSO (figure 23-A), et la zone claire là où le spectre diffère de celui du DMSO. Cependant, le spectre n'est pas très net (figure 23-B). Même en visant les zones qui nous ont semblé plus claires, et en saturant la mesure, il nous a été impossible d'en améliorer la qualité. Nous devinons donc dans la zone claire (figure 23-B) l'apparition de signaux entre 1600 et 1800 cm^{-1} correspondant aux différents carbonyles de la molécule. Or, aucune attribution n'a été faite car la mesure est très bruitée (zoom en haut à droite, figure 23-B).



A B

Figure 23 : **A.** Spectre du gel G_{b30} zone foncée. **B.** Spectre du gel G_{b30} zone claire.

Le gel G_{c50} a lui aussi été analysé, mais sans résultats. En effet, G_{c50} c'est un gel constitué par une proportion important de DMSO (50 % v/v) ce qui nous empêche repérer la molécule dans le gel. En général toutes les mesures faites ont montré le DMSO comme composant principal (figure 24). Cela est en accord avec les résultats obtenus à partir des gels issus du gélifiant **A**, où nous avons pu constater la perte d'information concernant la molécule en augmentant la quantité de DMSO. Par ailleurs aucune zone claire n'a pu être repérée dans le gel G_{c50}.

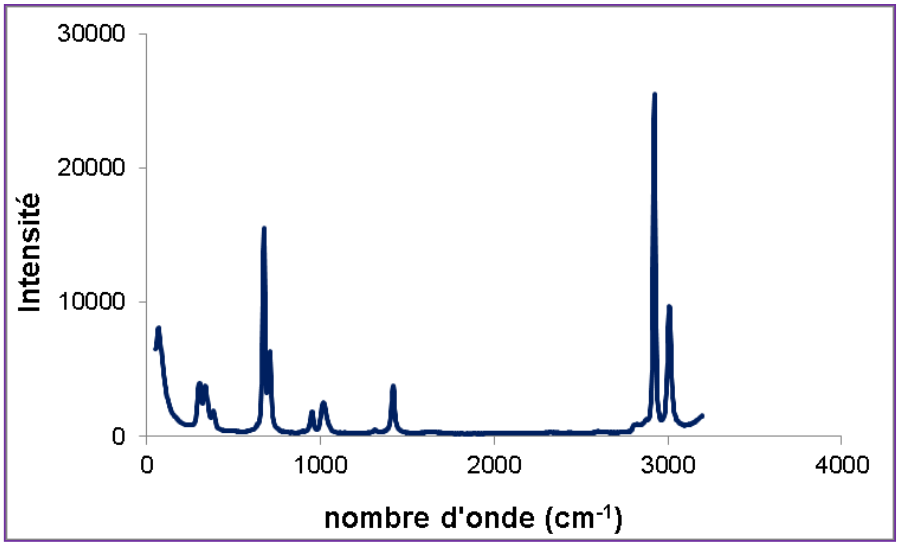


Figure 24 : Spectre RAMAN du gel G_{c50}. Aucun signal de la molécule n'est visible.

Les hydrogels ont été aussi l'objet de caractérisation par spectroscopie RAMAN. Dans les chapitres précédents (III et IV) nous avons pu dialyser l'organogel aqueux G_{a30} et évaluer ses propriétés viscoélastiques. La spectroscopie RAMAN nous

a confirmé que cette opération de dialyse a permis d'enlever la totalité du DMSO de la matrice du gel. La figure 25 montre 3 spectres : En haut à gauche le spectre du DMSO avec ses deux bandes principales entourées en rouge. Dans le spectre à droite, correspondant au gel G_{a30}, les pics entourés en vert sont ceux des vibrations des groupes aliphatiques et carbonyles de la molécule **A**. Enfin, nous observons aussi les bandes du DMSO (entourées en rouge). Finalement en bas, nous montrons le spectre du gel dialysé ($G_{a30dilalysé}$), où les bandes de vibration caractéristiques de la molécule sont toujours présentes, par contre nous ne voyons plus les bandes correspondant au DMSO. Cela prouve l'efficacité de la dialyse et que nous avons réussir à formuler des hydrogels.

La dialyse du gel G_{b30} a également été étudiée par RAMAN. Les résultats ont montré la disparition des bandes du DMSO (figure 26) indiquant donc que la dialyse a très bien fonctionnée. Malheureusement, les spectres sont toujours aussi bruités, et il est toujours très difficile de relever les valeurs précises des bandes de vibration.

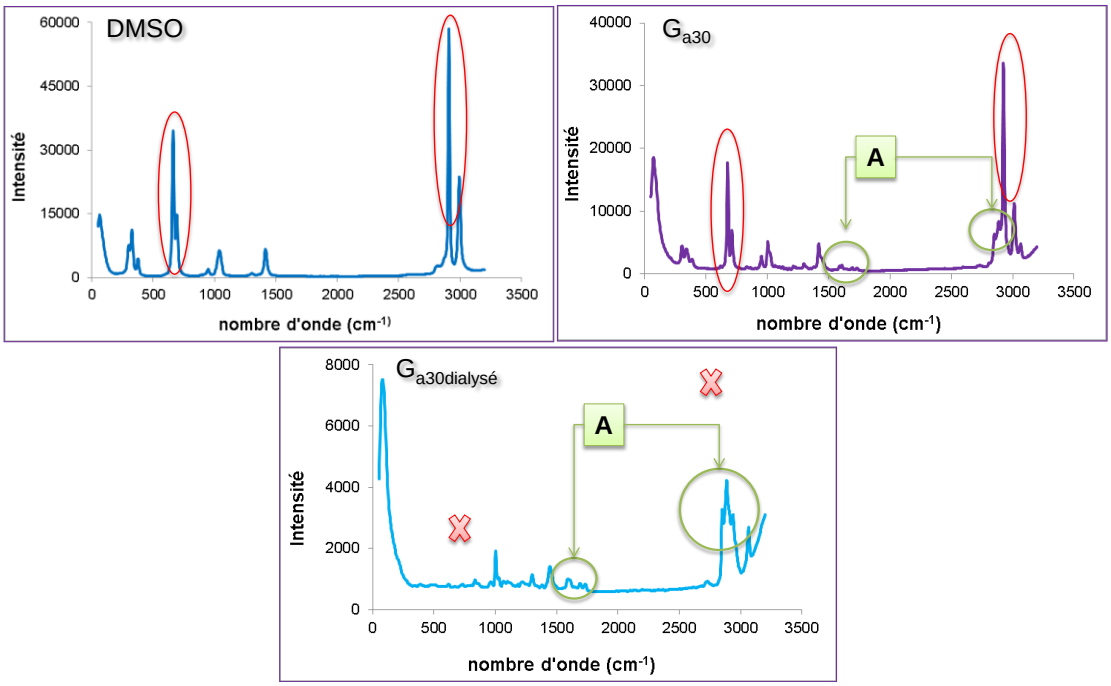


Figure 25 : Spectres RAMAN : en haut à gauche spectre du DMSO. En haut à droite spectre du gel G_{a30}. En bas spectre de l'hydrogel $G_{a30dialysé}$.

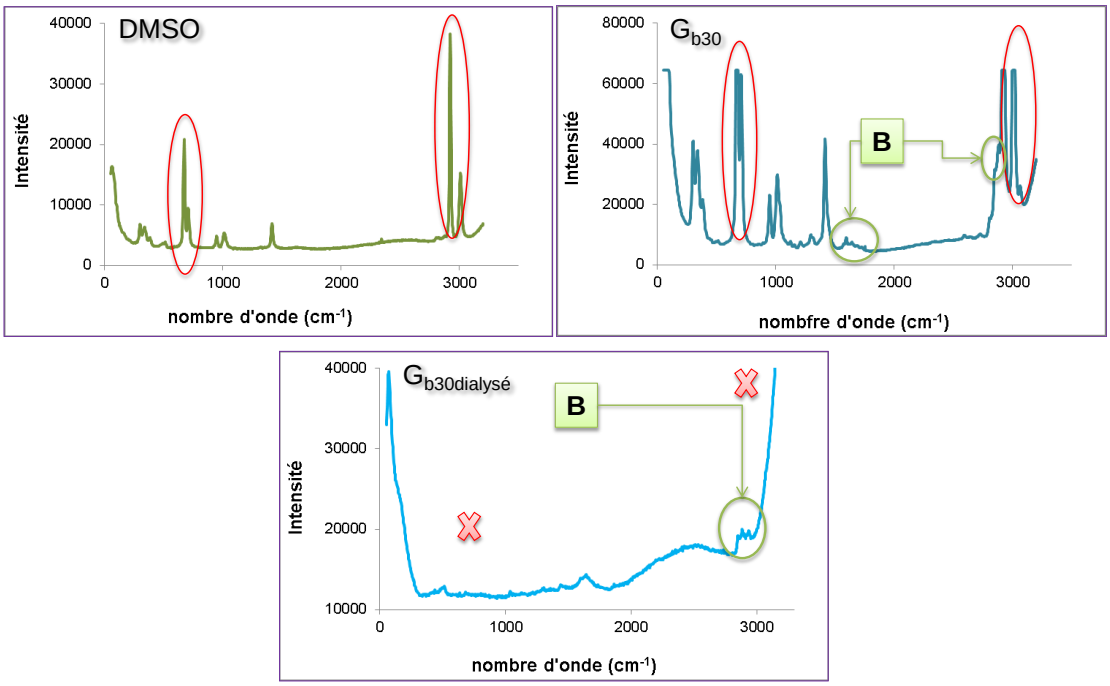


Figure 26 : En haut à gauche spectre du DMSO. En hait à droite spectre du gel G_{b30}. En bas spectre de l'hydrogel $G_{b30dialysé}$.

Finalement, les gels hybrides ont été examinés avec la spectroscopie RAMAN (figure 27). Seuls, les gels hybrides issus de la molécule **A** ont été caractérisés. Nous avons pu voir que leur utilisation nous permet d'identifier plusieurs zones dans le gel. En nous basant sur cela, nous pensons pouvoir trouver les bandes des vibrations caractéristiques du gélifiant, du dextrane et du solvant. Pour cela nous avons choisi de travailler avec le gel à 80 mg de dextrane, classé dans la zone semi diluée. Grâce au balayage du gel avec le microscope, nous avons pu repérer trois zones différentes : la zone claire, la zone foncée, et la zone très foncée (figure 27, haute à droite). Un spectre a été associé aux trois zones. Les résultats ont montrés comme composés principaux: la molécule (dans la zone claire), et le solvant (dans les zones foncées et très foncées, figure 27, bas gauche et droite respectivement). Malheureusement, nous n'avons pas pu observer le polymère, même en augmentant la concentration de ce dernier.

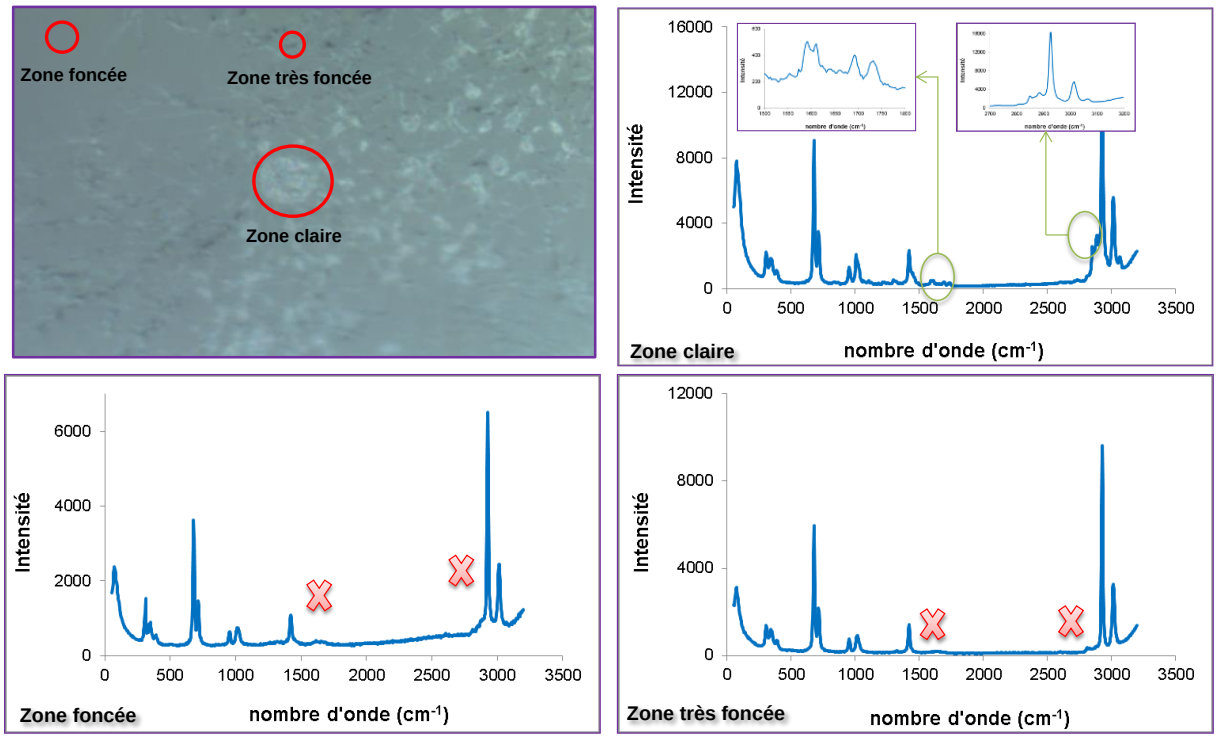


Figure 27 *:* Spectre RAMAN du gel hybride G_{a5d80}. En haut à gauche représentation des différentes zones évaluées. En haut à droite spectre de a zone claire. En haut à gauche spectre de la zone foncée. En bas à droite spectre de la zone très foncée.

Les gels hybrides obtenus à partir de **B** et de **C** n'ont pas pu être caractérisés correctement. En effet, les signaux avec les gels issus de **B** sont très bruités et peu exploitables. Concernant les gels de **C** aucune information n'a été obtenue en raison des signaux importants du DMSO.

En conclusion, nous avons été confrontés au problème majeur de l'absorption du DMSO en spectroscopie Raman. Ce phénomène a beaucoup perturbé l'analyse de tous les gels. Il nous a notamment privé de toute analyse de la molécule **C** (C_{11}-Lys(Z)-$NHNH_2$). En effet, cette dernière ne gélifie que des solvants ayant des proportions conséquentes de DMSO (50 et 60 % v/v). Pour ce qui est de la molécule **A** (C_{11}-Lys(Z)-OH), les spectres Raman donnent des informations similaires à celles obtenues en IR-TF. Nous retrouvons le dédoublement des bandes acide carboxylique (vers 1730 cm^{-1}) et uréthane (un peu moins marqué vers 1688 cm^{-1}), mais surtout de la bande amide à 1610 et 1590 cm^{-1}. Pour mémoire, le dédoublement de cette dernière n'avait pas été observé en IR-TF. Toutefois, nous avions envisagé la possibilité d'une superposition de deux contributions, et les spectres Raman viennent étayer cette hypothèse. Nous

pouvons également observer à 3010 et 3060 cm^{-1} les vibrateurs associés aux CH aromatiques du Z. Ces derniers étaient difficiles à observer car beaucoup trop faibles en IR-TF. Il pourrait être envisagé d'étudier les interactions de type π-π aromatiques à travers ces signaux, et notamment l'influence du chlore dans le cas du gélifiant B (C_{11}-Lys(2-Cl-Z)-OH). Malheureusement, les spectres Raman des gels de B sont très bruités, et peu d'informations peuvent en être tirées. Ce phénomène est probablement dû, comme ce qui a été constaté en IR-TF, à un caractère très dynamique du système.

Une autre technique spectroscopique, la RMN, a été utilisée afin de collecter des informations sur le mode d'assemblage des molécules, notamment selon la température.

V.1.2 Spectroscopie RMN

D'après la littérature (chapitre I, section I.5.3) nous savons que la spectroscopie RMN sur des systèmes gélifiés peut nous donner deux types d'informations :

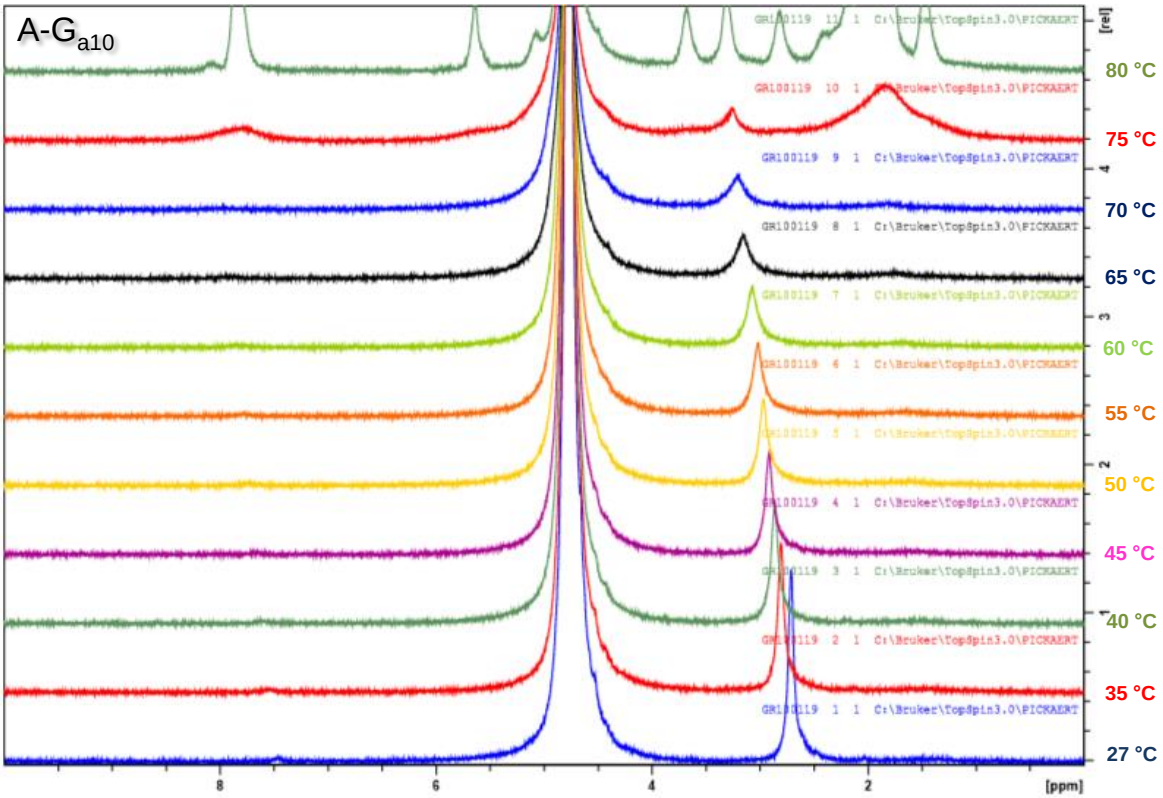
- Des signaux très élargis ou tout simplement la disparition totale des signaux indiquent que les gels sont constitués par des fibres, avec une organisation cristalline, où le mouvement des molécules de gélifiant est extrêmement limité, voire inexistant.
- Des signaux plus larges et d'intensité plus faible comparé avec un échantillon en solution à la même concentration. Dans ce cas-ci, de petits agrégats, voire des fibrilles dans les gels ont encore de la mobilité.

Sur cette base, nous sommes intéressées à l'évaluation de l'évolution des signaux RMN en fonction de la température afin de :

1. Evaluer le comportement du gel à température ambiante.
2. Repérer la température de transition gel-solution. Cela pourrait nous permettre de comparer avec les températures observées en utilisant d'autres techniques, la méthode de la bille (chapitre III) ou la rhéologie (chapitre IV).

Trois gels ont été étudiés : G_{a10}, G_{a30} et G_{a50}. Le balayage en température a été réalisé entre 27 °C et 80 °C. L'attribution des signaux se montre compliquée à faire, surtout en dessous de 6 ppm à cause de la présence des signaux du solvant. Cependant, et malgré la complexité des spectres, nous pouvons faire quelques

interprétations. En nous concentrant sur la zone comprise entre 6 et 8 ppm nous pouvons voir (27 °C, figure 28-A) pour G_{a10} une toute petite bande à peine détectable à 7,5 ppm. Il nous semble que cette bande est plus visible à mesure que nous augmentons en DMSO (plus prononcé pour G_{a30} et G_{a50} à la même température). G_{a10} ne montre pas d'évolution entre 27 °C et 70 °C, à 75 °C nous observons l'apparition d'une bande large peu intense, et finalement à 80 °C cette bande est plus intense. Ce comportement est retrouvé pour G_{a30} et G_{a50}. La différence porte sur la température à laquelle nous observons une variation de largeur ou d'intensité (figure 28-B G_{a30} et 28-C G_{a50}). Par exemple, la bande à 7,5 ppm pour G_{a30} commence à varier à 70 °C (5 °C de mois que pour G_{a10}), tandis que cette même bande commence à varier à 55 °C pour G_{a50} (20 °C et 15 °C plus base que pour G_{a10} et G_{A30} respectivement). D'après ces informations, il nous parait judicieux de dire qu'à mesure que nous augmentant en volume de DMSO la mobilité de molécules est plus important pour une température de 27 °C. Cela basé sur l'effet que la bande à 7,5 ppm est plus visible à des proportions de solvant plus importantes.



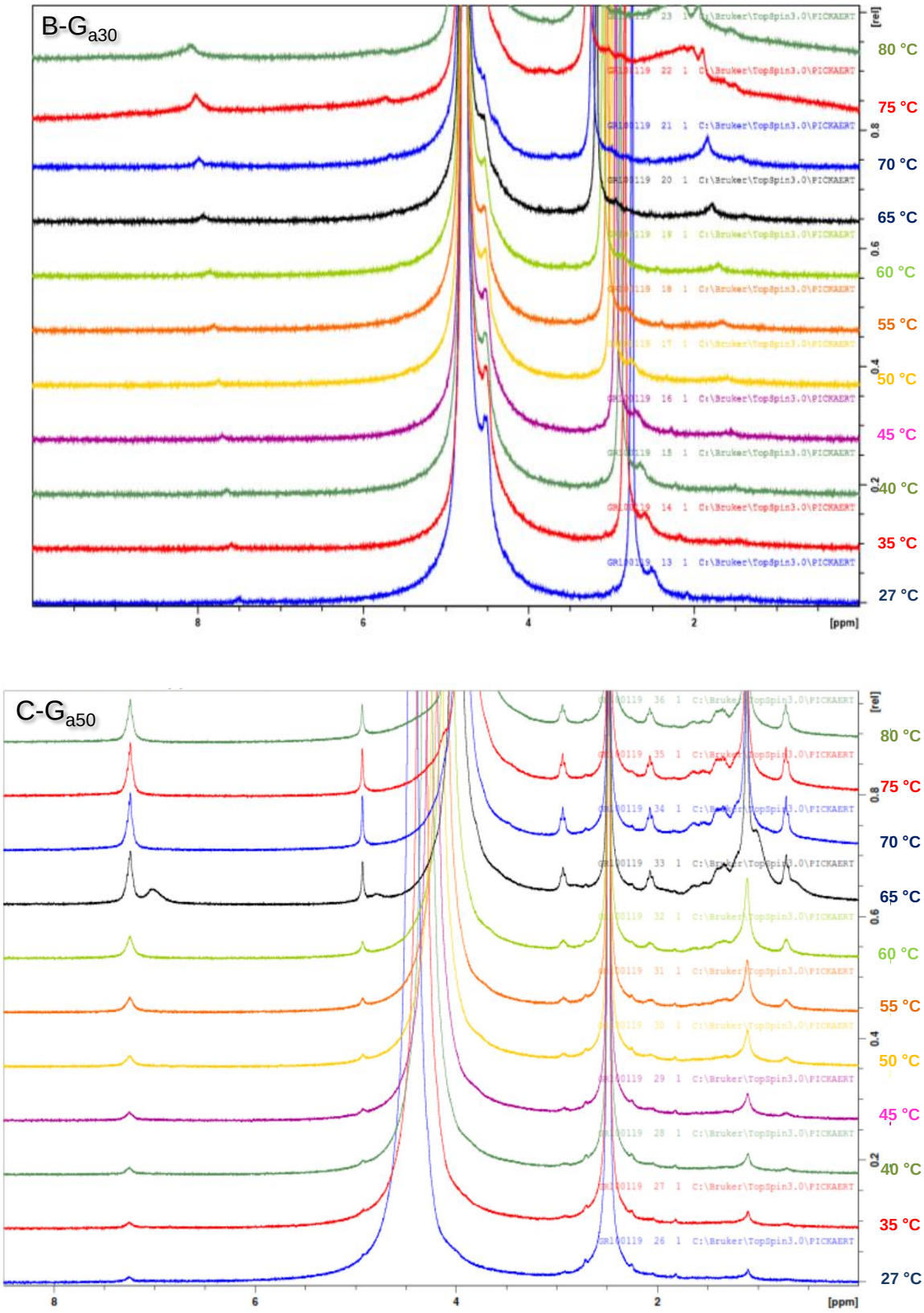


Figure 28 : Balayage en Température en RMN : **A**. Gel à 10 % v/v de DMSO. **B**. gel à 30 % v/v de DMSO. **C**. gel à 50 % v/v de DMSO.

Nous avons pu repérer la température de transition gel-solution pour G_{a50}. En effet à 70 °C nous observons un changement radical des signaux dans tout le spectre. Ce changement nous l'associons à l'effondrement du réseau tridimensionnel. Cette température est tout-à-fait en accord avec la température de transition trouvé par rhéologie, laquelle a été reporté aussi à 70 °C. Pour G_{a10} et G_{a30} nous n'avons pas pu associer un spectre à une température de transition. Cela nous parait normal car G_{a10} et G_{a30} présentent par rhéologie des températures de transition supérieure à 80 °C, laquelle correspond à la dernière température mesurée en RMN.

La RMN nous a permis de constater dans un premier temps, un engagement assez importante des molécules dans le réseau solide du gel G_{a10}, car nous avons à 7,5 ppm une bande très peu intense. Cette observation nous indique, comme mentionné précédemment, que les mouvements des molécules sont très limités voire inexistants dans le gel à 10 % v/v de DMSO. Mouvements qui deviennent un peu plus présents à des volumes de DMSO plus élevés, car l'intensité de cette bande (27 °C) est plus important pour le gel à 30 et 50 % de DMSO (G_{a30} et G_{a50}). Grâce à la RMN nous avons aussi pu faire des liens entre techniques de caractérisation. Nous avons pu associer l'apparition des signaux à une température de transition de l'état gel à l'état liquide vers 70 °C (G_{a50}). Cette température de transition a également été observée en rhéologie pour le même système.

Finalement, des évaluations pour les gels à base de **B** et de **C** n'ont pas été réalisées, la cause principale c'est le manque du temps. En effet, les résultats RMN montrés dans cette mémoire de thèse sont les résultats des nombreuses tentatives et d'essais qui se sont montré difficiles à réaliser. Ces difficultés ont été principalement dues à la nature échangeable des protons OH et NH. En effet, en présence de D_2O, ces signaux deviennent invisibles, ce qui rends impossible l'étude de liaisons hydrogène. De plus, les gels issus de **B** et **C** présent des caractéristiques assez particulières qui a notre sens rendent les mesures RMN plus difficile à faire. Par exemple, la dynamique d'évolution très importante associée aux gels de **B** ou le temps de gélification très rapide associé aux gels de **C**.

V.2 Caractérisation par microscopique des gels formulés.

V.2.1 Microscopie à force Atomique (AFM).

L'AFM est une technique microscopique de la famille à sonde de balayage qui est beaucoup utilisée pour l'évaluation topologique des matériaux. Cependant, cette technique permet aussi de faire des études plus approfondies, en donnant des informations par rapport aux propriétés mécaniques, électriques et magnétiques des échantillons évalués [5]. Le fonctionnement de l'AFM est basé sur l'étude des interactions interatomique (Van der Waal, électrostatiques, coulombiennes), entre une pointe et la surface d'un échantillon. Cette technique a la potentialité de pouvoir être utilisée selon plusieurs modes de fonctionnement parmi lesquels trois sont très couramment utilisés [6, 7] :

- ***Le mode contact***. Ce mode de fonctionnement permet le balayage de la surface en appliquant une force constante. Basé sur les forces de répulsion, la pointe sera amenée à appliquer une force de l'ordre de 10^{-8} N, ce qui assure le contact de la pointe avec l'échantillon dans le domaine répulsif. Le mode contact a des avantages et des inconvénients. D'un côté, il permet d'obtenir des images de haute résolution. D'un autre côté, selon la nature de l'échantillon étudié, la pointe peut être endommagée, en raison d'une application de force excessive.

- ***Le mode non-contact***. comme son nom l'indique ce mode permet d'imager une surface sans mettre en contact la pointe et l'échantillon. Appelé aussi modulation de fréquence, le non-contact met en place des interactions attractives. Tandis que le mode contact peut être agressif pour l'échantillon, le mode non-contact est non destructif, caractéristique très intéressante pour l'étude morphologique des échantillons qui sont souples. En plus, il est très utilisé pour la caractérisation physique. En effet, il est possible de sonder des forces électroniques et magnétiques. Cependant, en termes de résolution, la résolution obtenue est de faible qualité, en comparaison avec la résolution en mode contact.

- ***Le mode tapping***. Connu aussi sous le nom de mode intermittent, le mode tapping se situe entre ses homologues : contact et non-contact. Il présente des résolutions intermédiaires. Concernant à son fonctionnement, l'image sera obtenue en balayant la surface, avec une pointe qui viendra toucher l'échantillon de façon intermittente **[7, 8]**.

La microscopie à force atomique nous a permis d'évaluer les objets formés pendant le processus de gélification. Plusieurs étapes ont été mise en place pour l'obtention des images.

V.2.1.1 Mise en place des échantillons.

La mise en place des échantillons pour les étudier en microscopie AFM n'a pas fait la différence avec les autres techniques. En effet, les analyses des gels par AFM se sont aussi montrées complexes. Dans un premier temps à cause de la nature du matériau « très mou ». Cela a comme conséquence que la pointe reste collée (finissant par être cassée ou endommagée) dans gel. Finalement, l'obtention d'images nette s'est avérée très difficile dû à la dynamique très importante associée aux gels.

Plusieurs solutions ont été proposées pour parvenir à obtenir des images. Comme le gel est en mouvement constant, nous avons proposé des procédures où la structure du gel puisse être ralentie, voire fixée.

1. **Préparation et caractérisation de Xérogels**. Dans le cas d'un gel sec, nous nous affranchirions des problématiques de dynamiques. Toutefois, les images obtenues sont à considérer avec prudence car les étapes de séchage peuvent conduire à des modifications structurelles du réseau tridimensionnel (chapitre I section I.5.5). Donc, est-ce que l'image obtenue correspond vraiment à la constitution du gel original ?
2. **Congélation du gel humide**. La congélation est donc aussi proposée pour fixer la structure. Or, l'appareil ne dispose pas d'un système de refroidissement jusqu'à la congélation.
3. **Charger le mode de fonctionnement de l'appareil**. Pour les premiers essais le mode contact a été utilisé (le balayage de la surface c'est fait en appliquant

une force constante). Nous proposons donc d'essayer l'utilisation du mode tapping.

Les trois propositions ont été mise en place. Nous sommes parvenus à avoir des résultats en caractérisant les xérogels en mode contact, et les gels humide en mode tapping.

V.2.1.2 Evaluation de la morphologie des Xérogels.

Parmi l'ensemble des gels formulés en fonction de la proportion de solvant, G_{a30} a été choisi pour la caractérisation. Le gel a été préparé et placé dans une boite de Petri. Un morceau de papier a été déposé à la surface de la boite pour protéger l'échantillon de la poussière. Le système a été laissé au repos pendant une semaine. A la fin du séchage nous avons obtenu une fine pellicule transparente. Dans ce cas-ci, nous avons pu imager la surface de l'échantillon sans aucun souci, en utilisant le mode contact. Les images obtenues ont montré des fibres et des rubans au sein du xérogel. Les images ont été faites en balayant des zones de 20x20 µm (figure 29, à gauche) et 10x10 µm (figure 29, à droite). Nous pouvons observer la présence de fibres plutôt rectilignes dont les diamètres sont très variables. Nous pouvons également remarquer que certains rubans semblent en fait être le résultat de la coalescence de plus petites fibres. Même si les résultats sont nets et montrent très clairement un réseau tridimensionnel de fibres, il est nécessaire de vérifier si ce maillage correspond bien à celui que nous avons au sein d'un gel humide. Nous savons que les conditions de séchage jouent un rôle fondamental sur la morphologie des gels. Des modifications peuvent avoir lieu après un processus de séchage. Par exemple :

- Des objets qui semblent aplatis comme résultats des interactions avec la surface. Situation qui peut aussi être plus importante si nous considérons que la pointe exerce une pression sur l'échantillon.

- La longueur de la fibre peut sembler augmentée et la hauteur diminuée. Dans des systèmes qui sont souples, ce phénomène peut être plus prononcé. La cause est la présence de structures plus facilement compressibles. Cela correspond notamment à notre cas.

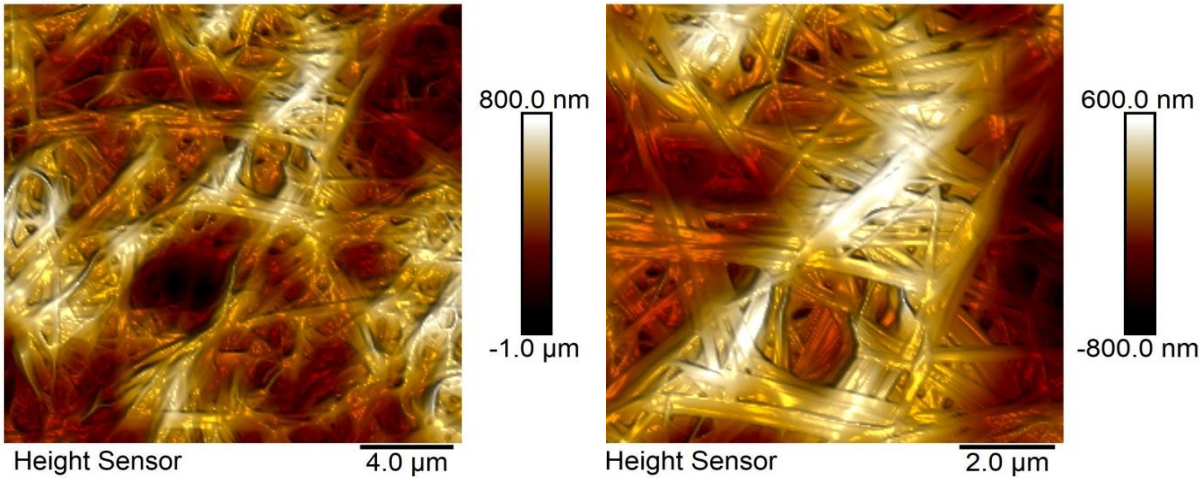


Figure 29 *:* Images AFM du xerogel G_{a30}. A gauche zone de 20x20 µm et à droite à une zone de 10x10 µm.

Pour essayer de confirmer la composition par des fibres et de rubans de G_{a30} nous avons essayé de caractériser les gels humides.

V.2.1.3 Evaluation de la morphologie des gels humide.

En parallèle avec la caractérisation des xerogels, nous avons travaillé dans la mise en place d'un système nous permettant de ralentir la dynamique du gel. Pour cela il a été construit au laboratoire un appareil qui s'adapte à l'AFM et qui permet de baisser la température de l'échantillon mis en place. Le gel G_{a30} a été à nouveau préparé et cette fois-ci refroidi vers 0 °C. La pointe a été mise en contact avec la surface et la mesure lancée en mode contact. Or, la mesure a été sans succès apparent. En effet, nous n'avons pas réussi à calibrer l'appareil dans ces conditions.

Vu que fixer la structure par refroidissement n'a pas réussi, nous avons décidé de faire un essai à température ambiante, mais cette fois ci en mode tapping, et l'obtention d'une image a été possible (figure 30). Grâce à cette procédure, nous avons pu évaluer presque toute la gamme des gels formulés en fonction de la proportion de solvant : G_{a10}, G_{a20}, G_{a30} et G_{a40}.

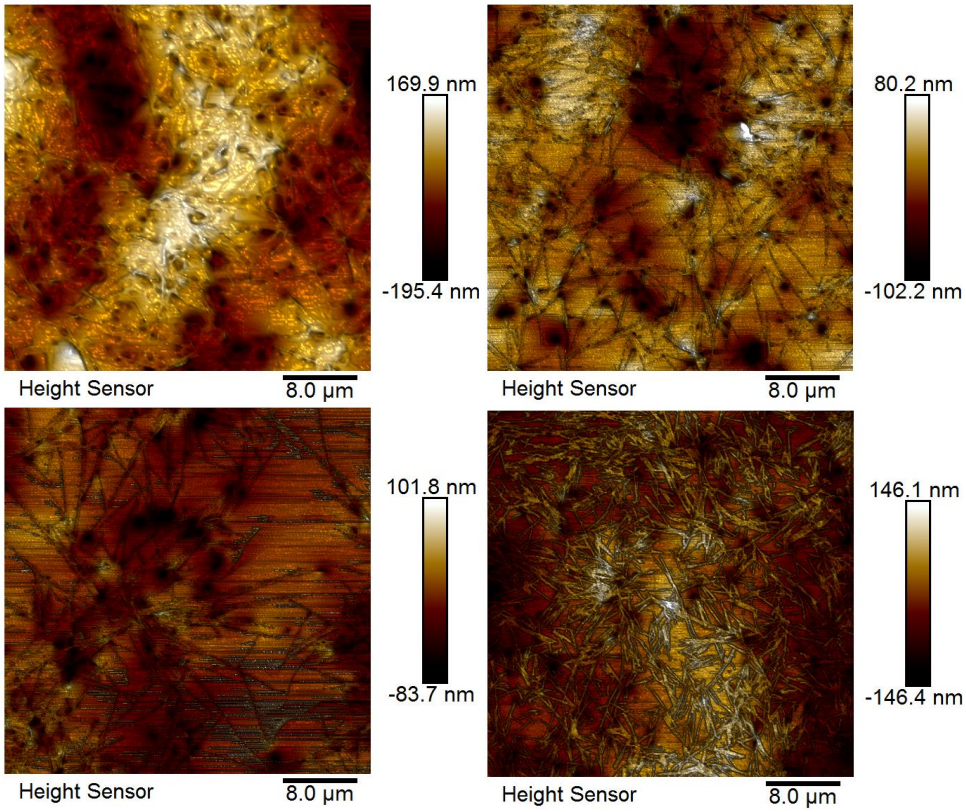


Figure 30 : Images AFM des gels humide : En haut à gauche 10 % v/v de DMSO (G_{a10}), en haute à droite 20 % v/v DMSO (G_{a20}), en bas à gauche 30 % v/v de DMSO (G_{a30}) et en bas à droite 40 % v/v de DMSO (G_{a40}). Zone d'étude de 40x40 µm.

Nous pouvons remarquer que les morphologies ne sont pas tout à fait les mêmes en fonction de la proportion DMSO/H_2O. En effet, pour un même agrandissement, à 10 % v/v de DMSO le réseau de fibre est relativement dense, et a plutôt une morphologie de type "mousse" où nous pouvons y voir des cavités de forme plus ou moins sphériques. Les gels à 20 et 30 % v/v de DMSO se ressemblent beaucoup, et paraissent plutôt constitués de fibres très fines et rectilignes comme des aiguilles. Elles sont par contre un peu plus courtes et larges pour des gels à 40 % v/v de DMSO. Les images montrées ont été obtenues en balayant des zones correspondant à 40x40 µm à une échelle de 8,0 µm. Si nous comparons G_{a30} sec (figure 29) et G_{a30} humide (figure 30) il est possible de confirmer la présence des fibres et des rubans dans le gel.

Lorsque nous agrandissons la zone d'étude (20x20 µm et 10x10 µm) nous constatons que la morphologie correspond plutôt à un réseau très dense de fibres très fines (figure 31 et 32).

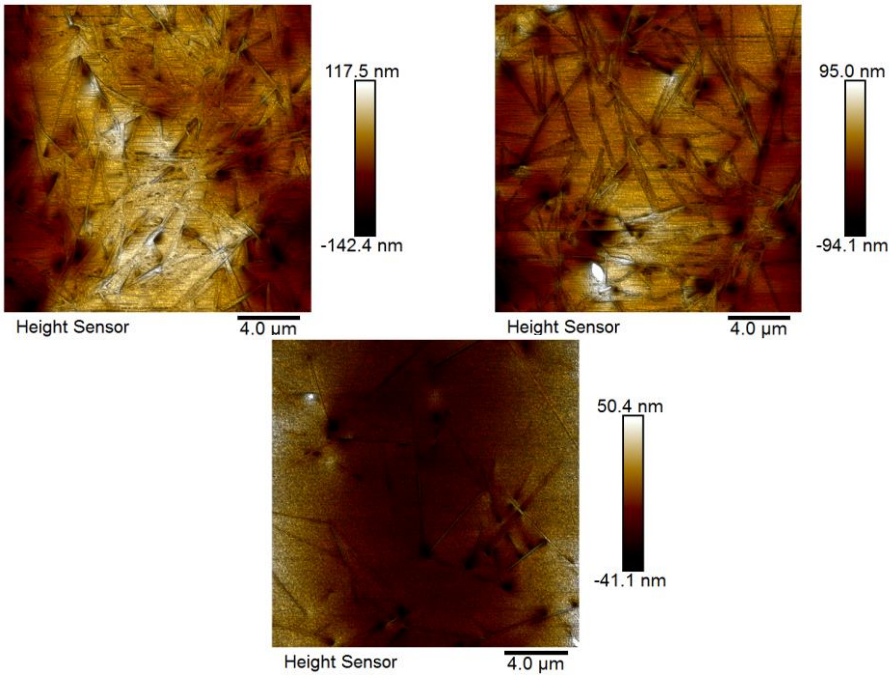


Figure 31 : Images AFM des gels humide : En haut à gauche 10 % v/v de DMSO (G_{a10}), en haut à droite 20 % v/v DMSO (G_{a20}), en bas à gauche 30 % v/v de DMSO (G_{a30}). Zone d'étude de 20x20 µm.

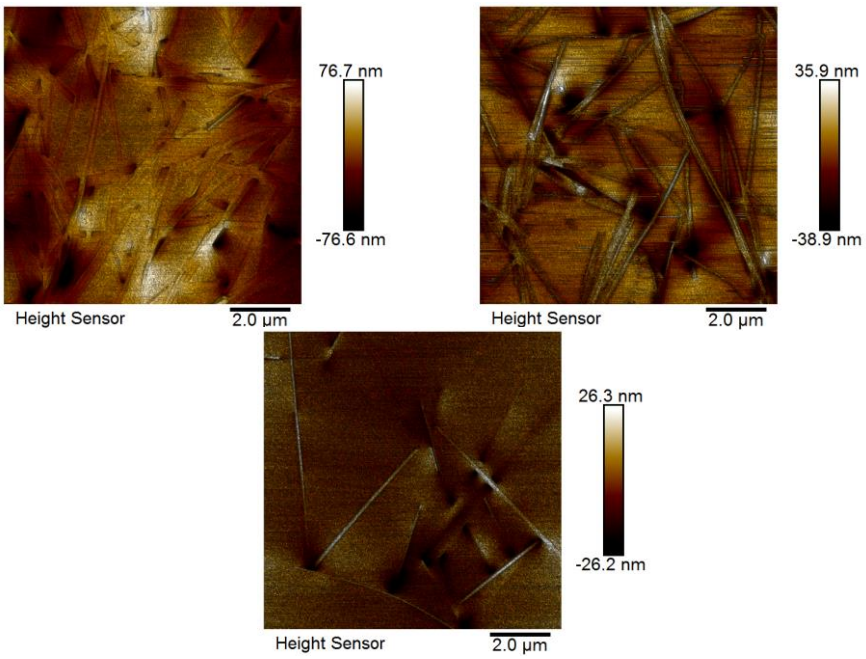


Figure 32 : Images AFM des gels humide : En haut à gauche 10 % v/v de DMSO (G_{a10}), en haute à droite 20 % v/v de DMSO (G_{a20}), en bas à gauche 30 % v/v de DMSO (G_{a30}). Zone d'étude de 10x10 µm.

En raison de la complexité des mesures nous n'avons pas pu caractériser ni les gels hybrides ni les gels dialysés.

Nous pouvons noter que ces résultats sont assez en accord avec les conclusions des expériences de rhéologie (chapitre IV). Les expériences de suivi dans le temps des propriétés rhéologiques avaient permis de conclure à la formation d'auto-assemblages fractals plutôt linéaires ou ramifiés (D_f entre 1,5 et 2,0).

V.2.2 Evaluation morphologique des gels à l'aide de la microscopie optique.

Les morphologies des gels ont été évaluées en utilisant le microscope optique couplé au RAMAN. Des objectifs à x10, x50 et x100 ont été utilisés. Tout comme pour l'AFM, les mesures ont été difficiles à mettre en œuvre, et donc les images compliquées à obtenir.

Nous avons évalué la morphologie de plusieurs gels. Pour commencer, le gel à 30 % v/v de DMSO et 5 mg de molécule **A** (G_{a30}) a été étudié. Pour cela nous avons utilisé un objectif x50. L'image montre (figure 33) un système fibreux non homogène, avec les zones claires (entourées en rouge), et les zones foncées (entourées en vert). Comme il a été identifié par spectroscopie RAMAN (section V.1.1) ces zones sont associées à 2 composants : les fibres issues de la molécule et le solvant respectivement.

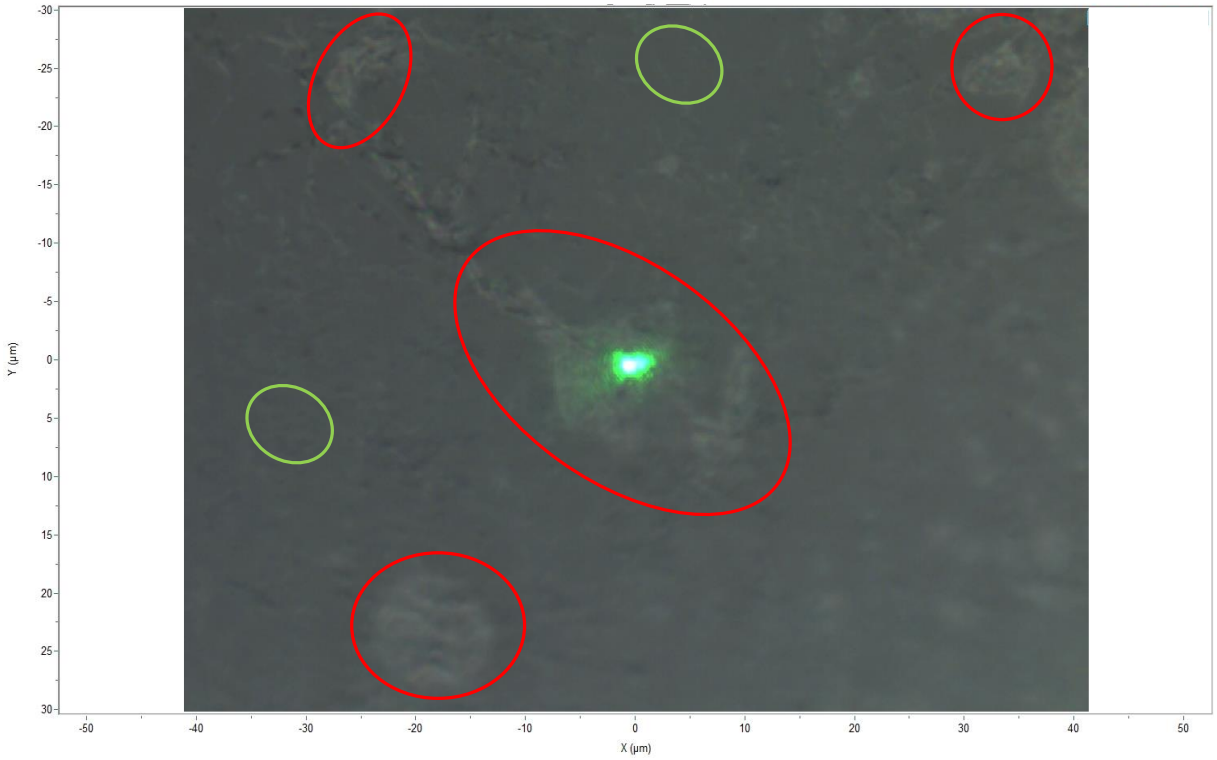


Figure 33 : Image obtenue grâce au microscope RAMAN avec un objectif de x50 (gel G_{a30}).

Concernant le gel G_{a50} (figure 34) nous voyons aussi des fibres, mais cette fois-ci il nous semble que la distribution des fibres est plus homogène. Nous ne distinguons pas de zones différentes.

Nous avons décidé d'observer les cristaux formés à 70 % v/v de DMSO. Pour cela un objectif x100 a été utilisé. L'image est nette et montre des aiguilles qui partent dans tous les sens (figure 35). Il faut juste remarquer que cette observation a été faite sur un cristal entouré de solvant.

Un échantillon d'hydrogel humide (issu de la dialyse de l'organogel aqueux G_{a30}) a aussi révélé des fibres (figure 36). L'image a été prise avec un objectif de 50x.

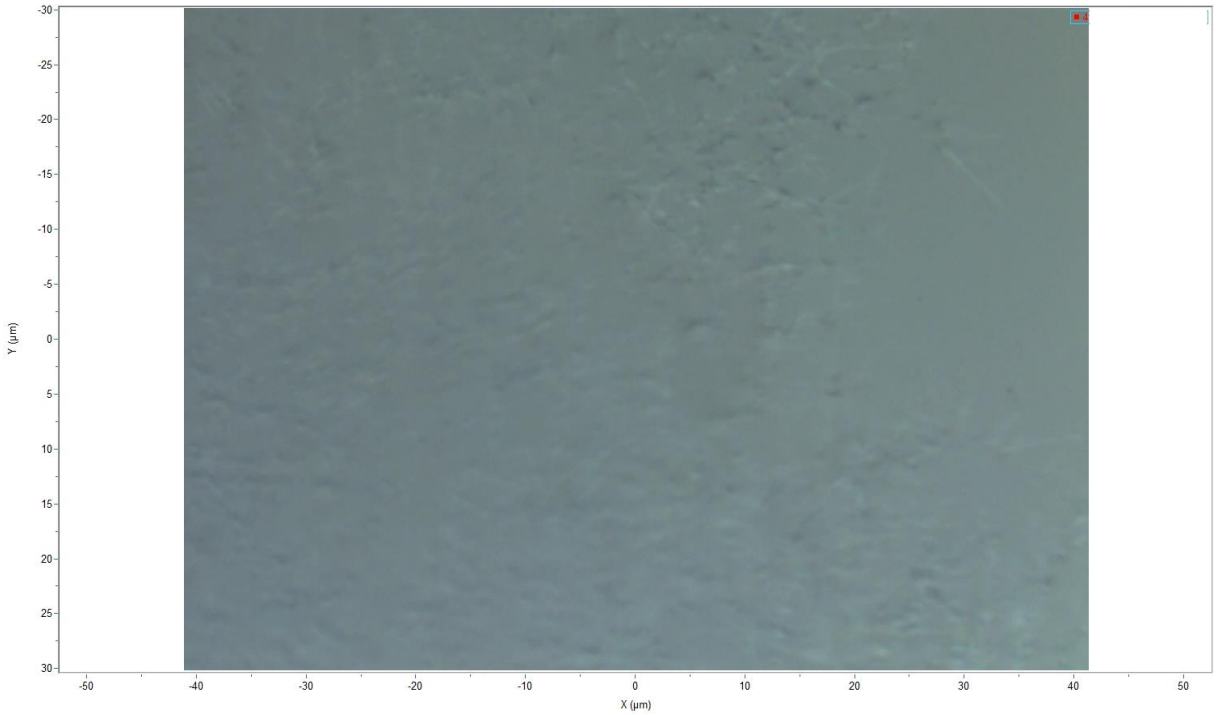


Figure 34 : Image obtenue grâce au microscope RAMAN avec un objectif de x50 (gel G_{a50}).

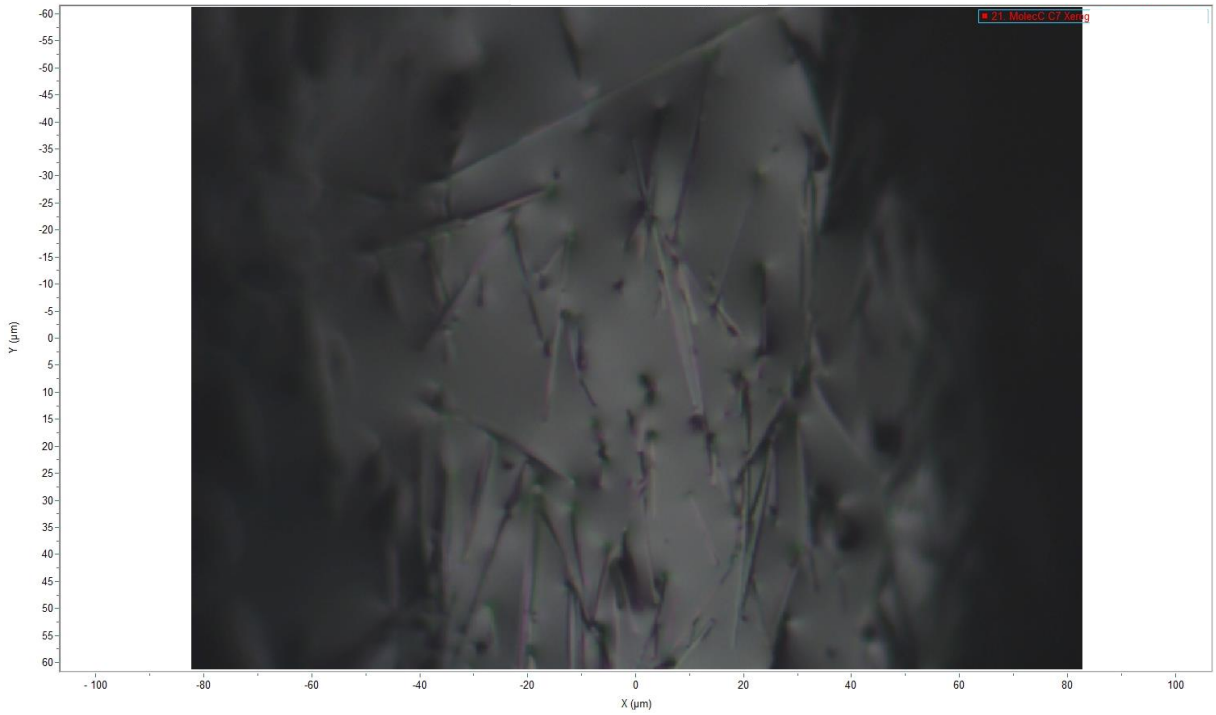


Figure 35 : Image obtenue avec un objectif de x100 (cristaux formés au sein du système constitué par 70 % v/v de DMSO et 5 mg de molécule **A**).

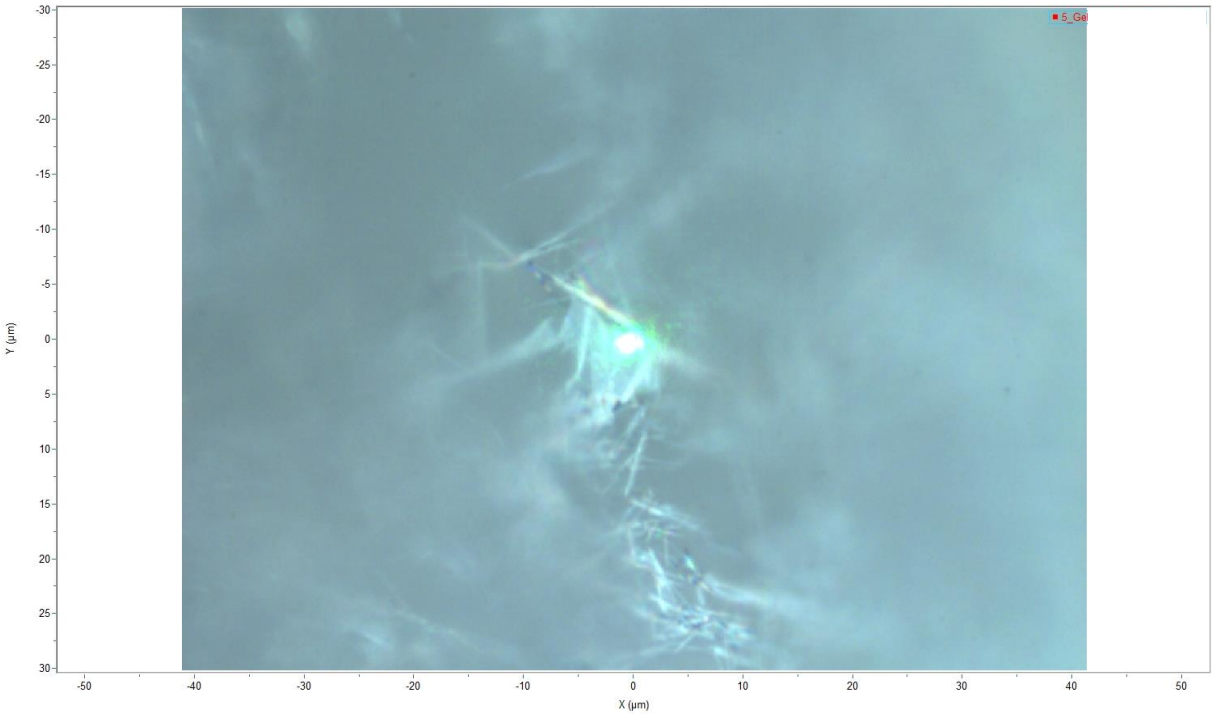


Figure 36 : Image obtenue grâce au microscope RAMAN avec un objectif de x50 du gel $G_{a30dialysé}$.

Finalement, les gels hybrides ont été évalués. Trois gels ont été choisis G_{ad5}, G_{ad80} et G_{ad160}. L'idée est de pouvoir évaluer un éventuel changement de la morphologie en fonction de la quantité de dextrane utilisée.

Les résultats montrent (figure 37) des images qui nous semblent très similaires entre elles. En effet, Nous pourrions même dire que ces images sont très proches de celles que nous avons vues pour le gel supramoléculaire G_{a30} (figure 33). Dans ces images, nous pouvons voir les trois zones repérées : la zone claire identifiée comme caractéristique de la fibre, et le zones foncée et très foncée où nous avions pu observer le DMSO.

En résumé, l'évaluation de l'ensemble des gels nous a permis d'observer des morphologies constituées par des fibres. Cela est tout-à-fait en accord avec les observations obtenues par AFM et avec les interprétations proposées des mesures de rhéologie.

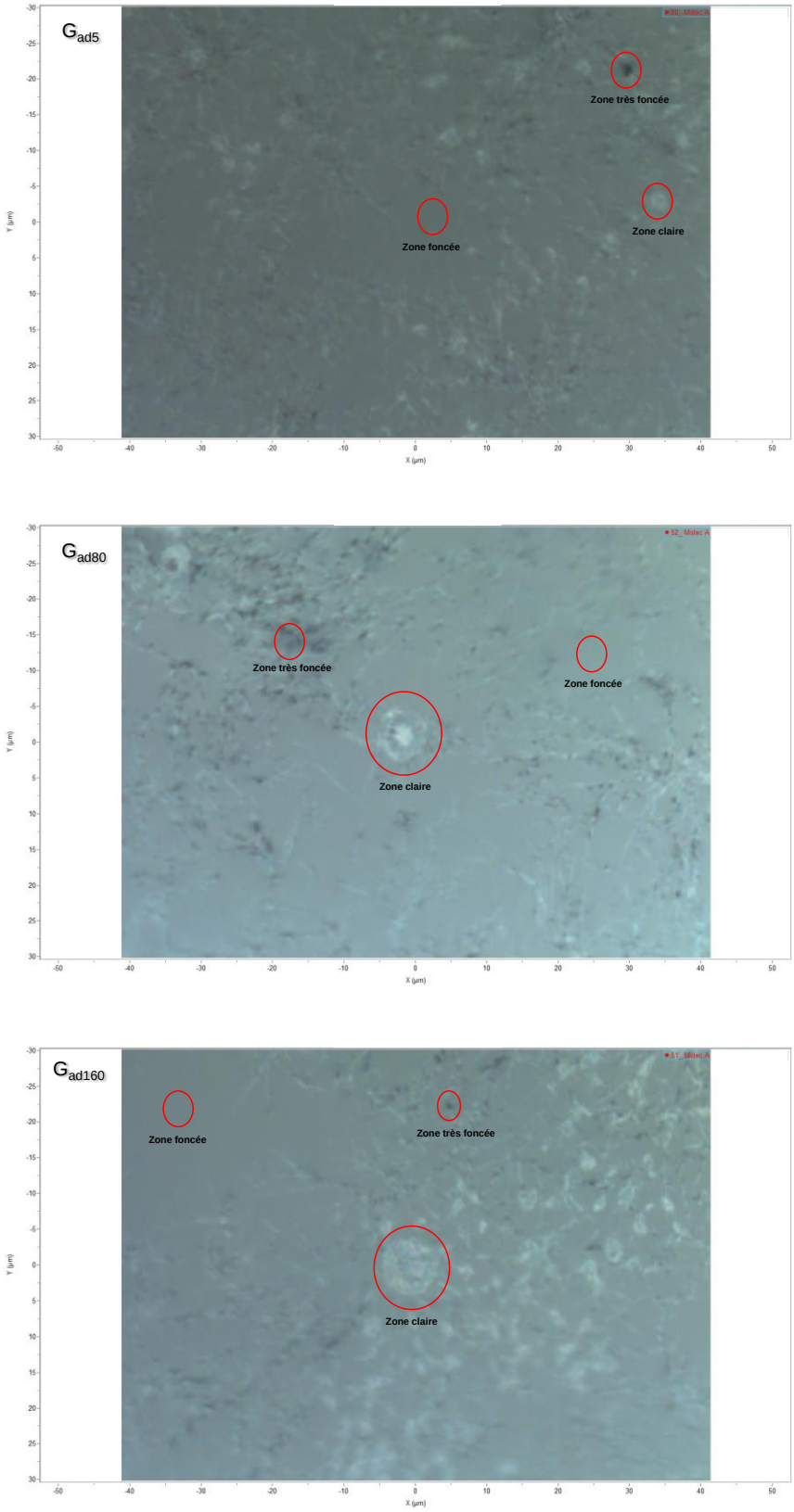


Figure 37 : Image obtenue grâce au microscope RAMAN avec un objectif de x50 (de haut au bas G_{ad5}, G_{ad80}, G_{ad160}.

La discussion de la section V.1.1 nous a montré l'incapacité de repérer la fibre par spectroscopie RAMAN à des volumes de DMSO importants. A 50 % v/v de DMSO, seul le spectre du solvant a été identifié. Nous avons proposé la possibilité d'avoir des fibres plus petites à des volumes de DMSO plus grands. Pour essayer d'élucider nos hypothèses, nous avons pris quelques vidéos au cours de la formation de gels. Nous montrons dans ce qui suit des photos à différents instants (figure 38).

Un nouveau système a été évalué (G_{a0}), constitué par 0,03 mL de DMSO, 0,97 mL de H_2O et 5 mg de molécule **A**. Les résultats confirment nos hypothèses : à des petits volumes de DMSO nous observons des fibres très longues, longueurs qui nous semblent diminuer à mesure que nous augmentons la proportion de DMSO. Il est visible que G_{a0} presente de longues fibres qui ne sont pas observées pour le système à 50 % v/v de DMSO (G_{a50}). Cela, en parallèle avec nos observations (chapitre III) et la caractérisation par rhéologie (chapitre IV), nous indique que les propriétés mécaniques des gels sont gouvernées par la taille des fibres formées.

Ce comportement a été observé par **Lin Chen** [9] qui a évalué les propriétés mécaniques et les structures formés en fonction de la fraction de solvant utilisé. Les auteurs ont développé des gels en utilisant également le DMSO pour solubiliser le gélifiant (Fmoc-Leu-Gly) avant d'ajouter de l'eau pour induire la gélification. En général ils ont observé :

- Des gels avec des propriétés mécaniques (G', G'') qui diminuent en augmentant la fraction de DMSO.
- Des structures fibrillaires différentes en fonction de la fraction de DMSO utilisée.

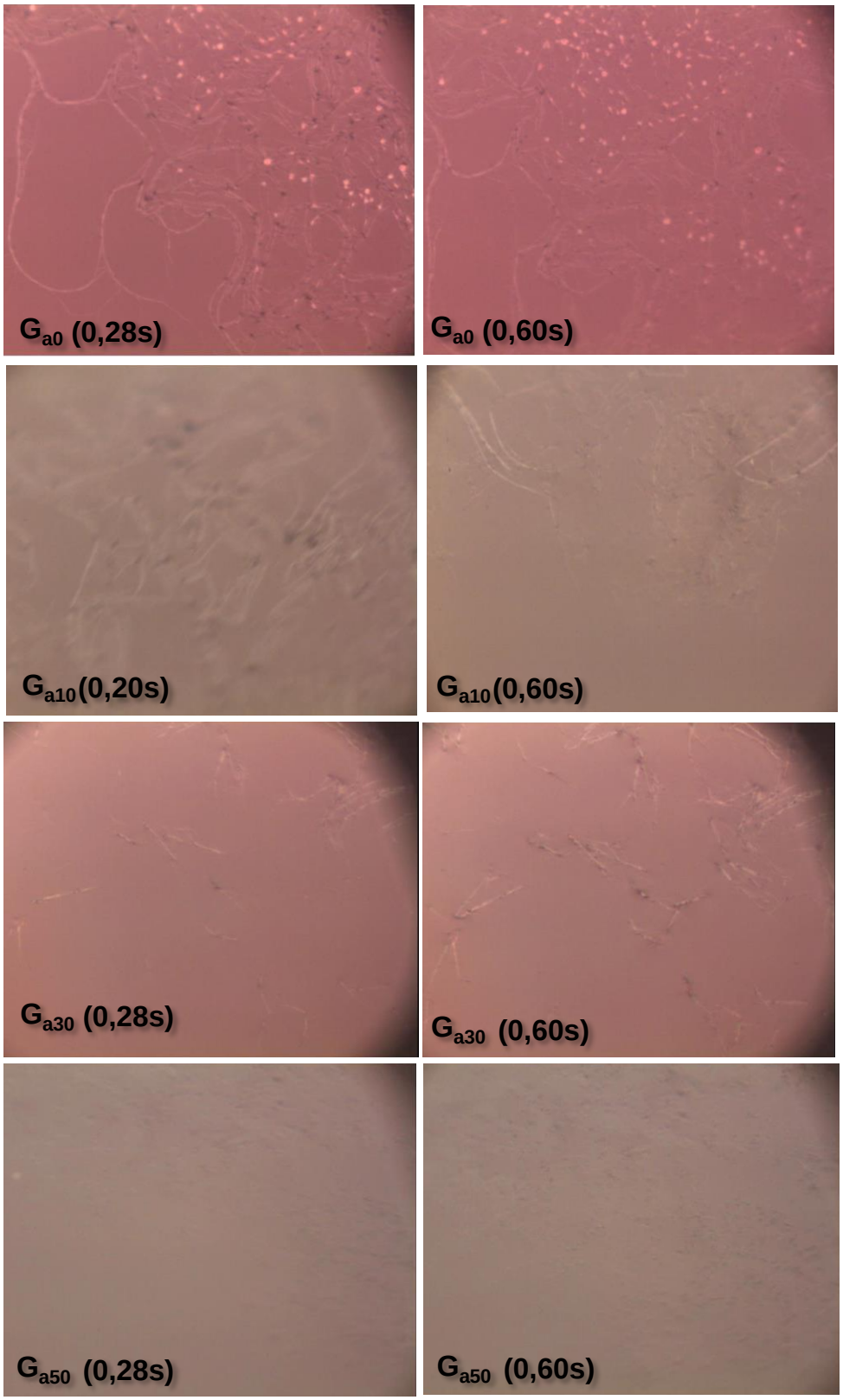


Figure 38 : photos des gels : G_{a0}, G_{a10}, G_{a30} et G_{a50} à différents instants de la formation du réseau.

Concernant les gels issus du gélifiant **B**, nous avons réussi seulement à évaluer les morphologies à partir de la microscopie RAMAN. L'évaluation avec la microscopie optique AFM n'a pas été possible. Des essais ont été faits mais sans aucun succès. La caractérisation des gels avec la molécule **A** n'a pas été aisée en raison de la souplesse qui caractérise nos systèmes. Les gels issus de **B**, plus mous encore que ceux de **A**, ont été encore plus délicats à étudier. En effet, à ce stade-ci nous savions que les gels issus de **B** ont une cinétique de gélification différente et en plus ils sont plus faibles que ceux issus de la molécule **A**. Pour la mise en place de l'échantillon nous avons procédé de la même façon que pour **A** sauf que, le gel a été laissé au repos pendant 1h30, après avoir été mis dans le petit cristallisoir. Toutes les évaluations réalisées ont été faites sur le gel G_{b30}. Après plusieurs essais nous avons pu obtenir des images. Les images de deux endroits différents, ont montré un gel constitué par des objets en forme d'étoiles (figure 39).

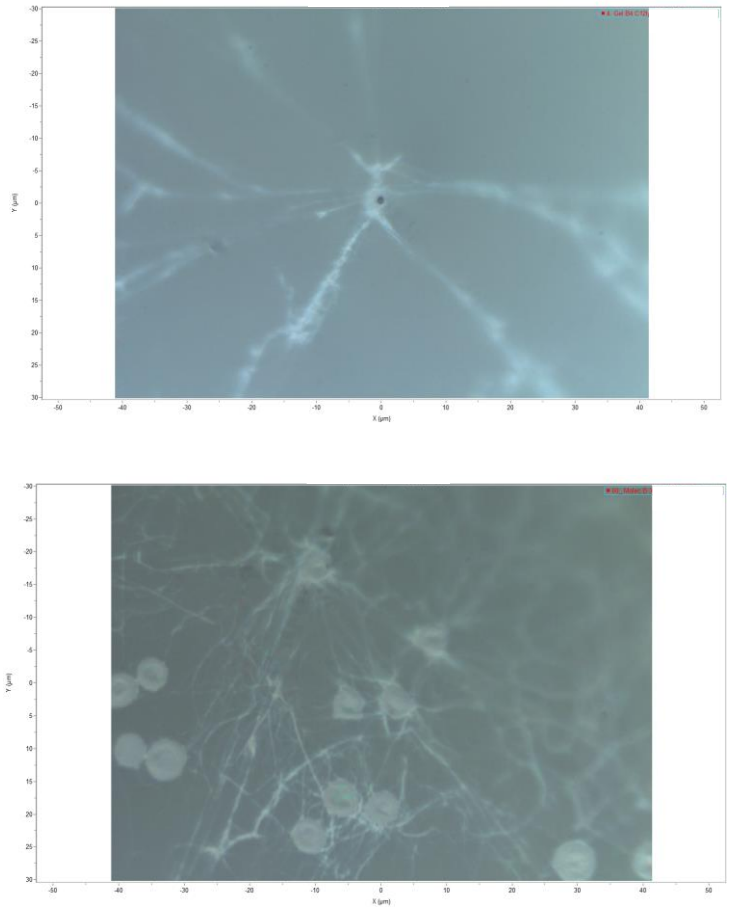


Figure 39 : Images obtenues grâce au microscope RAMAN avec un objectif de x50 (gel G_{b30}).

Ces objets nous font penser au travail de **Bing Y. et *al*. [10].** Ils ont observé des structures similaires (un peu plus denses) en utilisant la microscopie SEM comme technique de caractérisation (figure 40-A). Les auteurs ont qualifiés ces objets de sphérulites. Ils ont constaté qu'en augmentant la température, des structures qui passent de 100 µm (20 °C) à presque 1 mm (70 °C) ont été développées.

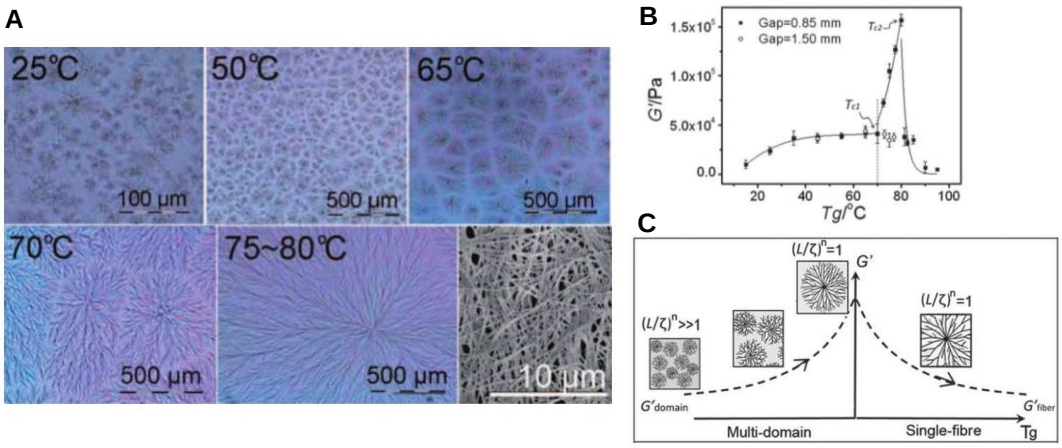


Figure 40 : **A** : Evaluation morphologique de gel en fonction de la température (en bas à droit image d'un xérogel). **B** : Evaluation du module G' en fonction de la température. **C** : Définition du multi-domaine et du domaine unique en fonction de G' **[10].**

En nous basant sur ce travail nous pouvons dire que nos objets sont aussi des sphérulites, du moins à 25 °C. Certes, nous n'avons pas fait des évaluations en variant la température, et nos spherulites sont moins denses. Cependant notre hypothèse peut être confortée par les travaux de Bing Yuan et al. qui ont aussi évalué les propriétés mécaniques des systèmes en fonction de la température. Ils ont observé un comportement de G' et de G'' en fonction de la température (figure 40-B) tout-à-fait similaire à celui observé pour le gel G_{b30} (figure 39, chapitre IV). Ils ont pu constater qu'à 70 °C leur système présente des modules 15 fois plus grande qu'à des températures plus base. Ce comportement a été expliqué en associant différents domaines de populations structurales à la variation de température (figure 40-C). Ils ont conclu que le taux de nucléation dépend de la température : à des températures base le taux de nucléation est élevé et par conséquence des nombreuse petits structures (sphérulites) sont développé, définissant donc ce que Yuan appel un multi domaine. Par contre à des températures élevées le taux de nucléation diminue conduisant à une formation de structures moins nombreuses mais plus grands, ce qui

constitue le domaine unique. Cette transition des petites structures à des grandes structures est liée à des grandes augmentations dans les modules, et dépend du volume où la mesure est faite. Pour des volumes à 0,50, 0,70 et 0,85 mm (GAP associé à la mesure) l'augmentation a été observée, par contre à 1,50 mm pas de changements radicaux dans les modules. Cela indique un effet clair du confinement du gel sur G' et G''. Dans notre cas nous travaillons en utilisant un GAP de 1 mm. Donc, en nous appuyant sur la littérature (sachant que ce comportement a été aussi observé par **De la Pena-Gil A**. **et *al***. **[11]** en variant la vitesse de refroidissement) et nos résultats rhéologique et microscopique nous pouvons dire que les gels issus de **B** présent une morphologie de sphérulite et que le comportement viscoélastique en fonction de la température pourrait provenir d'un changement dans la population des objets. Des expériences complémentaires seraient nécessaires pour conforter cette interprétation.

Par ailleurs les images font apparaître des structures fibreuses allongées, ce qui est en accord avec les résultats des mesures rhéologiques (suivis dans le temps à 20°C).

Concernant la molécule **C**, des images ont été aussi obtenues pour le gel G_{c50}. Comme attendu, les mesures avec la molécule **C** ont été assez difficiles à faire. L'image (figure 41) montre des fibres, il nous semble que ce sont des petites fibres très fines.

C'est un résultat plutôt en accord avec ce que nous avons conclu pour les gels issus de la molécule **A**. En effet, en augmentant la quantité de DMSO, les fibres deviennent de plus en plus petites. Ici nous observons un gel à 50 % v/v de DMSO, donc il semble raisonnable d'observer des petits objets. La caractérisation par AFM n'a pas été possible malgré plusieurs essais.

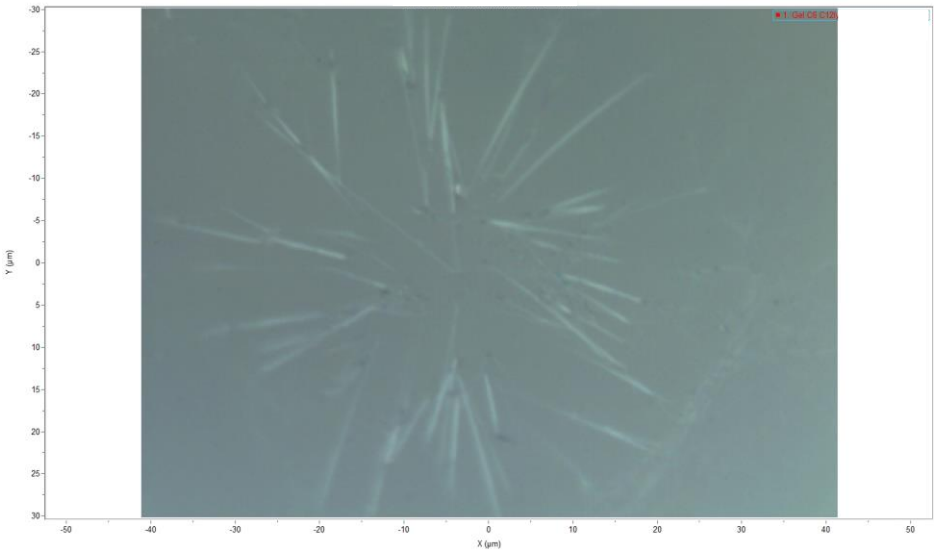


Figure 41 *:* Image obtenu grâce au microscope RAMAN avec un objectif de x50 (gel G_{c50}).

En général la microscopie optique nous a permis d'observer les différents objets formés. Pour les gels issus de la molécule **A**, les images montrent des paquets de fibres (appelé « zone claire ») qui disparaissent en augmentant la quantité de DMSO utilisé. Ces caractéristiques ont été aussi observées dans les gels hybrides. Les hydrogels ont montré être constitué par des fibres. Des aiguilles qui partent dans toutes les directions ont été associées aux cristaux formés à 70 % v/v de DMSO. Les gels issus de **B**, étaient plus difficiles à étudier que ceux de **A**. Cependant des images qui ont été enregistrées, montrent des objets plutôt en forme d'étoiles. Finalement, les gels à base de **C** ont été évalués et leur morphologie a montré des objets en forme d'aiguilles fines.

V.3 Conclusion

Ce dernier chapitre nous a permis d'évaluer et comparer en termes spectroscopiques et microscopiques les gels formulés à partir de différentes molécules gélifiantes : C_{11}-Lys(Z)-OH (**A**), C_{11}-Lys(2-Cl-Z)-OH (**B**), C_{11}-Lys(Z)-$NHNH_2$ (**C**). La quantité d'informations que peut nous apporter la spectroscopie IR est remarquable. Dans un premier temps nous avons pu voir la même signature spectrale pour les

échantillons de la molécule **A**, quelle que soit leur nature : poudre de synthèse, gels (à différentes proportions de DMSO/H2O et différentes concentrations), ou cristaux. C'est différent pour la molécule **B**. En effet, avec cette dernière, nous ne trouvons pas forcément la même signature spectrale entre la poudre de synthèse et les gels formulés. Cependant, un même comportement a été observé lors de gels formulés à différentes proportions DMSO/H_2O. Nous avons proposé une possible déstabilisation du système en présence de l'halogène dû à la formation d'une liaison hydrogène entre le NH du groupe Z et l'atome de chlore. Finalement, la molécule **C** montre un comportement totalement opposé à celui de **A** et de **B**. Nous avons observé en effet, des signatures spectrales totalement différentes en fonction de la proportion de solvant utilisé. Les résultats obtenus à partir de la spectroscopie RAMAN sont en accord avec ceux obtenus en IR-TF. En effet, nous avons observé les différents groupes carbonyle correspondant à l'acide, l'uréthane et l'amide. Par contre les spectres RAMAN sont uniquement exploitables pour les gels issus de la molécule **A** à des proportions de DMSO peu élevé (10 et 30 % v/v de DMSO). Aucun signal de molécules n'a été détecté avec des volumes élevés de DMSO (50 % v/v) dû à son absorption très importante. Par conséquent, nous n'avons pas pu obtenir d'informations concernant les gels de **C**. Les spectres de gels à base de **B** se sont montrés très bruités et donc difficile à interpréter.

Grâce à la spectroscopie RMN nous avons pu constater une immobilisation important des molécules dans les gels issus de **A.** Celle-ci a été observée pour des proportions de DMSO faible, par exemple 10 % v/v. Pour une proportion de DMSO de 50 % v/v nous avons réussi à repérer la température à laquelle il y a une transition de l'état gel à l'état liquide. Cette température est tout-à-fait en accord avec la température observé par rhéologie.

Finalement, les études AFM des gels à base du gélifiant **A** montrent une constitution principale en fibres. L'imagerie optique de son côté nous a permis aussi d'observer des fibres pour **A**, plutôt des sphérulites reliées par des fibres pour **B**, et des fibres très fines, comme des aiguilles, pour **C**. Ces résultats pour **A** et **B** sont apparus en assez bon accord avec les expériences de rhéologie (chapitre IV). De plus, les expériences de rhéologie avaient également montré certaines similarités entre les gels issus des molécules **A** et **B** et des différences beaucoup plus grandes avec les gels issus de la

molécule **C**. Nous retrouvons également ces tendances avec les résultats des caractérisations spectroscopiques et morphologiques.

Experimental section

I. Physical measurements.

I.1 RAMAN Spectroscopie

The RAMAN spectra were measured with a Microscope Labram HR Evolution. The software used for data processing is LabSpec 6 – HORIBA Scientific.

I.2 Atomic force microscopy (AFM)

The photos obtained in AFM were taken by a Bruker Bioscope Resolve camera using a point Scan Assist of 0.4 Nm.

Bibliographie

1 A. Pal, Y. K. Ghosh, S. Bhattacharya, *Tetrahedron*, 2007, **63**, 7334-7348.

2 M. Suzuki, M. Yumoto, H. Shirai, K. Hanabusa, *Chem.Eur.J*, 2008, **14**, 2133-2144.

3 S. Qu, H. Wang, Z. Yu, B. Bai and M. Li, *New Journal of Chemistry*, 2008, **32**, 2023.

4 M. Bouchard, Evaluation des capacités de la Microscopie Raman dans la caractérisation minéralogique et physicochimique de matériaux Archeologique : Métaux, Vitaux et Pigment, 359, Thèse Doctoral : Spectroscopie/Archéométrie/Minéralogie : Paris : 2001.

5 Buchoux, Nanotubes de carbones comme sondes en microscopie à force atomique, 164, Thèse Doctoral : Lasers, Matières, Nanosciences : Bordeaux : 2011

6 P. Bacle, L. Henry et C. Rossi-Gendron. (19 Octobre 2016). La microscopie à force Atomique pour l'observation de molécules avec une résolution atomique. Consulté sur http://culturesciences.chimie.ens.fr/la-microscopie-à-force-atomique-pour-lobservation-de-molécules-avec-une-résolution-atomique.

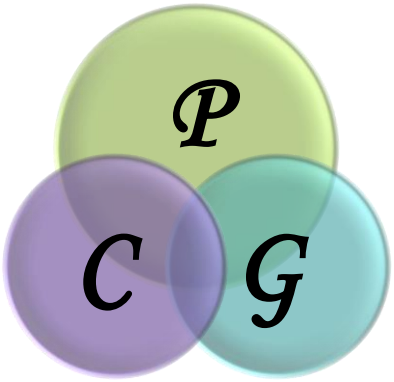
7 D. Sicard, Caractérisation par microscopie à force atomique des arrangements protéiques/sucres impliquant la lectine PA-IL de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa,141,* Thèse Doctoral : Matériaux : Lyon : 2012.

8 B. Poyet, Coception de la microscopie à force atomique métrologique, 265, Thèse Doctoral : Optoélectronique : Paris : 2010.7 M. Bouchard, 359.

9 L. Chen, J. Raeburn, S. Sutton, D. G. Spiller, J. Williams, J. S. Sharp, P. C. Griffiths, R. K. Heenan, S. M. King, A. Paul, S. Furzeland, D. Atkins and D. J. Adams, *Soft Matter*, 2011, 7, 9721.

10 B. Yuan, X.-Y. Liu, J.-L. Li and H.-Y. Xu, *Soft Matter*, 2011, 7, 1708–1713.

11 A. De la Peña-Gil, F. M. Álvarez-Mitre, M. M. González-Chávez, M. A. Charó Alonso and J. F. Toro-Vazquez, *Food Research International*, 2017, 93, 52–65.



Conclusion Générale et Perspectives

L'objectif de ce travail est la formulation est la caractérisation d'organogels aqueux supramoléculaires/macromoléculaires à base de dérivés de la lysine. Pour cela nous avons dans un premier temps synthétisé les gélifiants. Trois molécules, C_{11}-Lys(Z)-OH (**A**), C_{11}-Lys(2-Cl-Z)-OH (**B**) et C_{11}-Lys(Z)-$NHNH_2$ (**C**), ont été obtenues en ayant des modifications structurales ponctuelles entre **A** et **B** et entre **A** et **C**. Les synthèses ont été basées sur des réactions chimiques simples, appliquées sur des dérivés de lysine commerciaux. La molécule **A** par exemple a été synthétisée en deux étapes de réaction : acylation puis saponification. La molécule **B** a pu être obtenue en trois étapes : méthylation, acylation et saponification. La différence structurale entre **A** et **B** repose sur la présence d'un atome de chlore sur le cycle aromatique du groupement Z. Finalement la molécule **C** a été préparée en deux étapes de réaction : acylation puis hydrazinolyse. Cela nous a permis d'obtenir sur le côté *C-Term* de la lysine un groupe hydrazide ($NHNH_2$) à la place d'un groupe acide carboxylique (COOH), ce qui constitue la seule différence avec la molécule **A**. L'objectif est donc de pouvoir évaluer les effets de ces modifications, sur la capacité d'auto-assemblage et de gélification. Des techniques spectroscopiques, RMN-^{1}H et l'IR-TF ainsi que la spectroscopie de masse ont permis de confirmer la structure chimique. De plus la RMN-^{1}H et l'IR nous ont apporté d'autres informations concernant les conformations et interactions entre les molécules. En RMN-^{1}H, par exemple, nous avons observé des dédoublements de bandes lorsque l'on utilise comme solvant le $CDCl_3$. Ces dédoublements ne sont plus présents si nous utilisons le DMSO-d_6. Nous avons associé ce comportement à la présence de conformères en solution. Du côté IR, les spectres en ATR se sont montrés difficiles à interpréter. Des dédoublements de bandes ont été associés aux vibrations d'élongation de groupes carbonyle et uréthane pour les molécules **A** et **B**. Cependant le comportement le plus étonnant a été le décalage de fréquence hors norme (1590 cm^{-1}) de la fonction amide toujours pour **A** et **B**. La molécule **C** a conduit à des spectres beaucoup plus simples à interpréter.

La capacité de gélification de trois molécules a été examinée d'abord par des expériences de formulation. Nous avons commencé par essayer de formuler directement des hydrogels. Malgré toutes les tentatives réalisées, il a été impossible de les obtenir. Il nous semble que la balance hydrophile/hydrophobe nécessaire pour ces systèmes n'est pas atteinte avec nos gélifiants. Suite à cela, nous avons formulé

des organogel aqueux avec un mélange de solvants DMSO/H_2O. Ces organogels ont été formulés en solubilisant la molécule dans le DMSO et en y ajoutant de l'eau. Des observations pendant trois mois ont été faites afin de déceler l'évolution éventuelle des systèmes. Pour cela nous avons-nous avons suivi deux lignes directrices.

1. En fonction de la proportion de solvant utilisé. Nous avons fixé la quantité de molécule à 5 mg dans 2 mL avec des proportions de DMSO de 10 à 90 % v/v.
2. En fonction de la concentration. Nous avons dans ce cas-ci fixé la proportion de solvant et fait varier la quantité de gélifiant entre 0,5 et 13 mg dans 2 mL.

Ainsi, nous avons pu établir la plage de composition dans laquelle les meilleures conditions sont possibles pour obtenir un gel, pour **A, B** et **C**. Des gels entre 10 et 50 % v/v de DMSO ont été obtenus pour la molécule **A.** Des cristaux ont été observés à 70 % v/v de DMSO. En général les systèmes sont apparus opaques, forts, sans évolution apparente dans le temps et avec des cinétiques de gélification rapide (5 min). La molécule **B** a conduit à des gels entre 10 et 40 % v/v de DMSO. Par contre ce sont de gels qui nous ont semblé faibles, avec des durées de gélification longues (1h30) et associés à des évolutions perceptibles dans le temps. En ce qui concerne la molécule **C**, nous avons pu obtenir des gels seulement avec 50 et 60 %v/v de DMSO. Pour ces derniers, les temps de gélification ont été extrêmement rapides (3 min), les gels sont translucides, sans évolution détectable dans le temps. Par ailleurs, des gels thermoréversibles ont été obtenus seulement avec la molécule **C**.

Des hydrogels ont été finalement obtenus grâces à la dialyse d'organogels produits par les molécules **A** et **B**. En termes d'aspect physique, ces hydrogels sont très similaires aux organogels. Nous avons aussi des gels hybrides avec les trois gélifiants et différentes quantités de dextrane. La présence du polymère dans les systèmes ne fait pas perdre la capacité de gélification des molécules mais il nous a semblé que les gels hybrides étaient un peu plus faibles.

Nous avons fait appel à la rhéologie pour évaluer les propriétés mécaniques des gels. Les résultats au niveau de force des gels, cinétiques de gélification, réversibilité thermique entre autres, ont été en accord avec les examens visuels. De plus, les expériences de rhéologie nous ont permis d'évaluer :

1. Les domaines de linéarité et les forces des gels en faisant des balayages en contrainte. Pour l'ensemble des gels, que çe soit avec la molécule **A**, **B** ou **C,**

nous avons observé des gels moins forts en augmentant la proportion de DMSO, et des gels plus forts ont augmentant la quantité de molécule utilisée.

2. Les stabilités des systèmes en faisant de balayage en fréquence. Dans la gamme de fréquence évaluée, l'ensemble de gels se sont montré stables.
3. Les cinétiques de gélification en faisant des expériences de balayage en temps. Nous avons pu constater en effet, des cinétiques de gélifications très rapide pour les gels issus de **A** et de **C**, et plus longues pour les gels préparés avec **B**. Ces résultats ont été ajustés avec plusieurs équations empiriques ou fondées sur des modèles. Les résultats ont montré un ajustement avec les données expérimentales de **A** et de **B**. Pour **C** cet ajustement n'a pas été observé. Cela nous indique donc que les molécules **A** et **B** suivent le même mécanisme de gélification qui est par contre différent de celui de la molécule **C**. Par ailleurs, ces modèles suggèrent la formation d'auto-assemblages principalement linéaires ou ramifiés et qui croissent de façon unidirectionnelle.
4. Les températures de transition gel-sol, ainsi que la réversibilité thermique a été évaluée. Nous avons pu observer des gels assez résistants à la température, avec des systèmes dont la Tg diminue en augmentant la proportion de DMSO utilisée. La non réversibilité thermique pour les gels de **A** et **B**, déjà observée à l'œil nu, a été confirmée. Par contre les résultats pour les gels de **C** ont montré des systèmes réversibles.

Finalement, l'évaluation de l'organisation supramoléculaire à l'échelle moléculaire et à l'échelle mésoscopique correspondant aux édifices supramoléculaires a été abordée. De nouveau, la spectroscopie IR-TF nous a fourni un nombre important d'informations. Nous avons observé un arrangement moléculaire pour tous les gels à base de la molécule **A** très similaire à celui observé pour la poudre de synthèse et pour les cristaux à 70 % v/v de DMSO. Pour les gels issus de **B** la signature spectrale est la même pour toutes les proportions de solvant mais nous n'observons pas de similitudes entres les gels et la poudre de synthèse. Dans le cas de la molécule **C**, les bandes de vibration sont différentes selon les gels étudiés. Les résultat RAMAN ont confirmé et conforté les résultats IR. La microscopie AFM et la microscopie optique nous ont montré des objets en forme de fibres pour les gels issus de **A** et de **C**. Par contre nous dirions que les fibres observés de **A** sont plus dense que celles observé

pour **C**. Les gels de B ont plutôt montré des objets en forme des sphérulites reliées par des fibres.

Au terme de ce travail, nous pouvons esquisser quelques perspectives que nous rassemblerons en deux volets.

Tout d'abord, il y a encore plusieurs aspects de compréhension des systèmes étudiés dans ce travail sur lesquels il serait possible de progresser. Notamment, l'influence de la température mériterait d'être examinée plus en détail afin de mieux comprendre les modifications de structure des auto-assemblages en lien avec les variations des propriétés rhéologiques. Toujours sur ce point, le rôle de la structure chimique des dérivés de la lysine s'est avéré essentiel. Pour préciser ce rôle, des informations sur la structure cristallographique des dérivés de la lysine à l'état solide seraient certainement précieuses. Enfin, des expériences de diffusion de rayonnement nous permettraient d'avoir des informations à propos de la structuration des molécules à l'échelle des auto-assemblages.

D'autre part, de nouvelles pistes de formulation de gels pourraient explorées. Le pH est une variable physico-chimique qui n'a pas été envisagée et qui pourrait modifier les auto-assemblages obtenus voire conduire à de nouvelles propriétés (rhéologiques…). Comme plusieurs des molécules étudiées (**A** et **B**) présentent des temps caractéristiques de gélification très différents, il pourrait être opportun de considérer la formulation de gels à l'aide de mélanges de molécules. L'intérêt serait de vérifier la possibilité de contrôler les cinétiques de formation et les propriétés stationnaires des gels produits.

Abstract

In that work, a natural amino acid, lysine, has been chemically modified for synthesizing three gelling agents with similar structures and differing from each other by one or two functional groups. All three molecules were fully soluble in dimethylsulfoxide (DMSO) and gelled DMSO/H_2O mixtures with various compositions giving rise to aqueous organogels. Hydrogels could be produced after dialysis of DMSO/H_2O gels. Mechanical strength of the gels, thermal/mechanical reversibility, temperature of gel-sol transition as well as kinetics of gel formation were analysed and correlated to the chemical structure of the gelators as well as to the composition of solvent. Semi-empirical equations were used to describe the experimental results. The results of visual observation, rheological measurements, FT-IR and Raman spectra were compared. We demonstrated that subtle variations in the chemical structure of the gelator dramatically modified some properties like the time for gel formation (which varied between 10 s and 1h30) or thermal reversibility. The formulation pathway must be adapted to the gelling behaviour of each molecule. In addition a specific geometry was designed for rheological measurements. The modification of gel properties by the addition of a non ionic polysaccharide (dextran, $M_n \approx 200{,}000$ g.mol^{-1}) was also investigated below and above its critical overlap concentration. According to the formulation of gels, their macroscopic properties could be adapted to specific applications.

Keywords : Lysine, Dextran, Hydrogel, Aqueous Organogel, Rheology, Kinetics.

Resumé

Dans ce travail, un acide aminé naturel, la lysine, a été modifié chimiquement pour synthétiser trois agents gélifiants de structures similaires et différant les uns des autres par un ou deux groupes fonctionnels. Les trois molécules étaient entièrement solubles dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) et les mélanges gélifiés DMSO/H2O avec diverses compositions donnant naissance à des organogels aqueux. Des hydrogels pourraient être produits après dialyse de gels DMSO/H2O. La résistance mécanique des gels, la réversibilité thermique/mécanique, la température de transition gel-sol ainsi que la cinétique de formation du gel ont été analysées et corrélées à la structure chimique des gélifiants ainsi qu'à la composition du solvant. Des équations semi-empiriques ont été utilisées pour décrire les résultats expérimentaux. Les résultats de l'observation visuelle, des mesures rhéologiques, des spectres FT-IR et Raman ont été comparés. Nous avons démontré que de subtiles variations dans la structure chimique du gélifiant, modifiaient considérablement certaines propriétés comme le temps de formation du gel (qui variait entre 10s et 1h30) ou la réversibilité thermique. La voie de formulation doit être adaptée au comportement gélifiant de chaque molécule. De plus, une géométrie spécifique a été conçue pour les mesures rhéologiques. La modification des propriétés du gel par l'ajout d'un polysaccharide non ionique (dextrane, Mn 200000 g.mol-1) a également été étudiée en dessous et au-dessus de sa concentration critique de chevauchement. Selon la formulation des gels, leurs propriétés macroscopiques pourraient être adaptées à des applications spécifiques.

Mots-Clefs : Lysine, Dextran Hydogel, Organogel Aqueux, Rhéologie