

# UNIVERSITE DE PROVENCE – AIX-MARSEILLE I

Thèse pour obtenir le grade de

**DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE PROVENCE**

*Discipline : Chimie, Informatique, Spectrométrie et Analyse*

*présentée et soutenue publiquement le 26 août 2011 par*

**Caroline BARRERE**

---

## **Analyse de polymères synthétiques par Résonance Magnétique Nucléaire et Spectrométrie de Masse**

---

*Directeurs de thèse : Docteur Stéphane Viel et Professeur Laurence Charles*

**Ecole Doctorale des Sciences Chimiques de Marseille**

### **Jury**

Pr Daniel CANET	Université de Nancy	Rapporteur
Pr Jean-François GAL	Université de Nice	Rapporteur
Pr Denis BERTIN	Université de Provence	Examineur
Pr Bernadette CHARLEUX	Université de Lyon 1	Examinatrice
Pr André THEVAND	Université de Provence	Examineur
Pr Laurence CHARLES	Université de Provence	Co-directrice de thèse
Dr Stéphane VIEL	Université de Provence	Directeur de thèse

ANNEE 2011

## *Remerciements*

Tout d'abord, merci à toi mon Amour, je ne serai jamais arrivée là sans ton soutien et ton amour.

J'ai une pensée particulière pour mes parents et mes sœurs, que j'aime, et qui m'ont appris ce qui est important dans la vie.

Je tiens également à remercier les rapporteurs qui ont accepté d'évaluer mes travaux de thèse.

Tous mes remerciements vont également à André Thévand, mon premier directeur de thèse pour m'avoir encouragée dans cette voie et avoir cru en moi.

J'aimerais également témoigner toute ma gratitude à mes directeurs de thèse Stéphane Viel et Laurence Charles, que j'estime et que j'apprécie. Merci à Stéphane d'avoir su me guider en me laissant travailler en toute autonomie. Merci à Laurence de m'avoir toujours encouragée à aller plus loin. Merci à tous les deux d'avoir toujours été là.

Merci également à Stéphane Humbel pour m'avoir initiée aux calculs théoriques, pour sa gentillesse et sa disponibilité.

Merci à Pierre Thureau pour m'avoir fait profiter de ces connaissances en simulation, de sa patience et de son aide.

Un grand merci à Valérie Monnier pour les discussions scientifiques, son aide toujours précieuse, sa bonne humeur et sa gentillesse.

J'adresse une pensée particulière à Thierry Fouquet, pour les discussions passionnées, les éclats de rire et son amitié si précieuse. Sans oublier Christophe Chendo, sans qui le laboratoire serait moins joyeux. Je le remercie pour son aide, pour son indéfectible bonne humeur et son amitié. Merci à tous les deux pour toutes les aventures et bons moments passés ensemble.

Je remercie également les doctorants qui partagent mon quotidien au laboratoire, Yannis et Mohamed Major, Manjunatha Reddy, Jima Chandran et Ichrak Toumi, ainsi que Claire Lopez pour cette ambiance si sympathique.

Merci à Hélène Pizzala et Aura Tintaru qui m'ont accompagnée dans mon apprentissage de l'enseignement. Merci également à Giulia Mollica et Béatrice Tuccio ainsi que tous les membres de l'équipe CES et du Spectropole. Un clin d'œil également aux anciens doctorants, Mickaël Mazarin, Salimo Mohamed, Marion Girod, Caroline Carrara, Rémi Giordanengo et Mathilde Triquigneaux.

Un clin d'œil également à des amis précieux, Clément, Romain, Frédéric et Céline.

# Sommaire

<b>SYMBOLES ET ABREVIATIONS</b> .....	<b>4</b>
<b>LISTE DES FIGURES</b> .....	<b>7</b>
<b>LISTE DES SCHEMAS</b> .....	<b>11</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX</b> .....	<b>13</b>
<b>INTRODUCTION GENERALE</b> .....	<b>16</b>
<b>CHAPITRE 1 : POLYMERES SYNTHETIQUES ET ANALYSE</b> .....	<b>19</b>
<b>1. LES POLYMERES SYNTHETIQUES</b> .....	<b>20</b>
1.1. LES DIFFERENTES CLASSES DE POLYMERES.....	20
1.1.1. Les homopolymères.....	21
1.1.2. Les copolymères.....	21
1.2. LES METHODES DE POLYMERISATION.....	22
1.2.1. La polycondensation .....	22
1.2.2. La polymérisation en chaîne .....	22
1.3. MICROSTRUCTURE DES POLYMERES .....	26
1.3.1. Structure moléculaire.....	27
1.3.2. Structure configurationnelle .....	28
<b>2. CARACTERISATION DES POLYMERES</b> .....	<b>28</b>
2.1. DETERMINATION DE LA NATURE DU MONOMERE .....	29
2.2. DETERMINATION DE LA NATURE DES GROUPEMENTS TERMINAUX .....	31
2.3. DETERMINATION DES PARAMETRES DE DISTRIBUTION .....	34
2.3.1. Les méthodes absolues .....	35
2.3.1.a. La spectrométrie de masse.....	35
2.3.1.b. Résonance Magnétique Nucléaire du proton (RMN <sup>1</sup> H) .....	36
2.3.1.c. L'osmométrie .....	38
2.3.1.d. L'ultracentrifugation analytique .....	40
2.3.1.e. La diffusion de la lumière.....	41
2.3.2. Les méthodes relatives .....	44
2.3.2.a. Chromatographie d'Exclusion Stérique (SEC) .....	44
2.3.2.b. Fractionnement par couplage Flux/Force (FFF).....	46
2.3.2.c. La viscosimétrie.....	48
2.3.2.d. La RMN Diffusionnelle.....	49
2.4. PROBLEMATIQUE DES COPOLYMERES .....	56
<b>PARTIE 1 : CARACTERISATION DE LA TAILLE ET DES GROUPEMENTS TERMINAUX DE COPOLYMERES A BLOCS AMPHIPHILES POE-<i>b</i>-PS</b> .....	<b>59</b>
<b>CHAPITRE 2 : DETERMINATION DE LA MASSE MOYENNE EN MASSE M<sub>w</sub> DE COPOLYMERES A BLOCS POE-<i>b</i>-PS PAR RMN PGSE</b> .....	<b>60</b>
<b>1. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE : LA CARACTERISATION DES COPOLYMERES</b> .....	<b>61</b>
<b>2. DETERMINATION INDIRECTE DE LA MASSE MOYENNE EN MASSE DES COPOLYMERES A BLOCS POE-<i>b</i>-PS</b> .....	<b>64</b>
2.1. HYDROLYSE DU COPOLYMERE.....	65
2.2. CARACTERISATION DES HOMOPOLYMERES ISSUS DE L'HYDROLYSE .....	65
<b>3. DETERMINATION DU M<sub>w</sub> DE COPOLYMERES A BLOCS POE-<i>b</i>-PS PAR RMN PGSE</b> ..	<b>66</b>
3.1. UTILISATION DES COURBES D'ETALONNAGE DES HOMOPOLYMERES.....	66
3.1.1. Détermination du M <sub>w</sub> d'homopolymères POE et PS par RMN PGSE .....	66
3.1.2. Application aux copolymères POE- <i>b</i> -PS.....	68
3.2. HYPOTHESES DE CONFORMATION .....	69
3.3. LES DIFFERENTS MODELES HYDRODYNAMIQUES .....	70
3.3.1. La sphère.....	70
3.3.2. Equation de Stokes-Einstein générale et modèles de Perrin .....	72
3.3.3. Modèle ellipsoïdal prolata .....	73
3.3.4. Modèle ellipsoïdal oblate.....	75

3.4. DETERMINATION DU $M_w$ DE COPOLYMERES POE-B-PS PAR INTERPRETATION DES DONNEES DE DIFFUSION A L'AIDE DU MODELE OBLATE.....	78
<b>4. APPLICATION A DES COPOLYMERES STATISTIQUES PMAM-PAMA .....</b>	<b>81</b>
4.1. CARACTERISATION DES COPOLYMERES STATISTIQUES PMAM-PAMA .....	81
4.2. STRATEGIE DE DETERMINATION DE LA MASSE SANS PRETRAITEMENT PAR RMN PGSE .....	83
<b>5. CONCLUSION .....</b>	<b>84</b>

### **CHAPITRE 3 : SPECTROMETRIE DE MASSE DES POLYMERES POSSEDANT DES GROUPEMENTS TERMINAUX FRAGILES.....85**

<b>1. INTRODUCTION .....</b>	<b>86</b>
<b>2. UTILISATION DE CATIONS DIVALENTS EN MALDI.....</b>	<b>89</b>
2.1. ANALYSE MALDI D'UN PEG COMMERCIAL EN PRESENCE DE CATIONS DIVALENTS .....	89
2.2. REDUCTION DES METAUX DANS LA SOURCE MALDI .....	92
2.3. CONCLUSION.....	94
<b>3. ETUDE DE LA FRAGMENTATION D'UN POLYMERE POE-MAMA-SG1 PAR ESI-MS/MS EN PRESENCE DE CATIONS DIVALENTS.....</b>	<b>94</b>
3.1. ETUDE DES SPECTRES ESI-MS .....	95
3.2. ETUDE DE LA FRAGMENTATION DU POE-MAMA-SG1 EN PRESENCE DE $C^{II}$ PAR ESI-MS/MS .....	96
3.2.1. <i>Etude de la fragmentation des distributions doublement chargées <math>[P_n+C^{II}]^{2+}</math></i> .....	96
3.2.2. <i>Etude de la fragmentation des distributions simplement chargées <math>[P_n-H+C^{II}]^+</math></i> .....	98
3.2.2.a. Cas des alcalino-terreux.....	99
3.2.2.b. Cas des métaux de transition .....	100
3.2.2.c. Cas particulier du $Fe^{2+}$ .....	101
<b>4. ETUDE AB INITIO DES VOIES DE FRAGMENTATION D'UN POLYMERE POE-MAMA-SG1 EN PRESENCE DE CATIONS DIVALENTS.....</b>	<b>104</b>
4.1. MOLECULE MODELE ET CONDITIONS.....	104
4.1.1. <i>Systèmes étudiés</i> .....	104
4.1.2. <i>Niveau de calculs et bases employées</i> .....	105
4.1.3. <i>Adduits simplifiés modèles</i> .....	105
4.2. PERTE DE $SG1^\bullet$ vs $SG1-O^\bullet$ .....	107
4.3. PERTE DE $MAMA^\bullet$ vs PERTE DE $141^\bullet$ .....	108
4.4. DISCUSSION .....	110
<b>5. CONCLUSION .....</b>	<b>110</b>

### **CHAPITRE 4 : PRE-TRAITEMENT DE L'ECHANTILLON AVANT ANALYSE MALDI-MS ... ..112**

<b>1. MISE EN EVIDENCE DU RENFORCEMENT DE LA LIAISON C-ON PAR UNE ETUDE AB INITIO .....</b>	<b>113</b>
1.1. METHODOLOGIE .....	113
1.2. MISE EN EVIDENCE DU RENFORCEMENT DE LA LIAISON C-ON.....	116
<b>2. DERIVATION DU SG1 PAR TRAITEMENT AU TFA .....</b>	<b>119</b>
2.1. PRINCIPE DU TRAITEMENT .....	119
2.2. CONFIRMATION DE LA MODIFICATION DU GROUPEMENT TERMINAL .....	120
2.2.1. <i>Spectrométrie de masse</i> .....	120
2.2.2. <i>RMN</i> .....	121
<b>3. ANALYSE MALDI DE POLYMERES TERMINEES SG1 APRES TRAITEMENT AU TFA.</b>	<b>123</b>
<b>4. CONCLUSION .....</b>	<b>124</b>

### **PARTIE 2 : UTILISATION DE LA RMN POUR L'ANALYSE DE MELANGES, ASPECTS QUANTITATIFS.....125**

### **CHAPITRE 5 : ASPECT QUANTITATIF DES EXPERIENCES PGSE POUR L'ANALYSE DE MELANGES .....** **126** |

<b>1. CONTEXTE.....</b>	<b>127</b>
1.1. INTRODUCTION .....	127
1.2. LIMITES DE L'EXPERIENCE PGSE/DOSY .....	128

1.3. ASPECTS QUANTITATIFS DE L'EXPERIENCE PGSE/DOSY .....	130
1.3.1. Rappels théoriques concernant la relaxation magnétique nucléaire .....	130
1.3.2. Mise en évidence expérimentale de la relaxation magnétique dans une expérience PGSE/DOSY .....	132
1.3.3. Influence des temps de relaxation sur l'intensité des signaux RMN .....	135
1.4. METHODOLOGIE qDECRA .....	136
1.4.1. Méthode de traitement DECRA .....	137
1.4.2. Application quantitative de la méthode DECRA (qDECRA) .....	138
1.4.3. Limites de la méthode qDECRA .....	139
1.5. CONCLUSION .....	139
<b>2. NOUVELLE STRATEGIE DE QUANTIFICATION DES DONNEES PGSE/DOSY (ABSENCE DE RECOUVREMENT SPECTRAL) .....</b>	<b>140</b>
2.1. CAS I : SPECTRE FILTRE EN DIFFUSION .....	140
2.1.1. Renormalisation des données à l'aide des temps de relaxation .....	140
2.1.2. Mesure des temps de relaxation au cours des expériences PGSE .....	142
2.1.2.a. Mesure de $T_1$ .....	142
2.1.2.b. Mesure de $T_2$ .....	144
2.1.3. Influence de la justesse des valeurs de temps de relaxation sur la renormalisation des signaux .....	145
2.1.4. Renormalisation des signaux .....	147
2.2. CAS II : EXPERIENCE PGSE/DOSY .....	148
2.2.1. Mesure de $T_1$ .....	148
2.2.2. Mesure de $T_2$ .....	150
<b>3. NOUVELLE STRATEGIE DE QUANTIFICATION DES DONNEES PGSE/DOSY (PRESENCE DE RECOUVREMENTS SPECTRAUX) .....</b>	<b>152</b>
3.1. MELANGE ETUDIE .....	152
3.2. DETERMINATION DES TEMPS DE RELAXATION MAGNETIQUE .....	153
<b>4. APPLICATION A LA QUANTIFICATION DES IMPURETES D'UN COPOLYMERE A BLOCS POE-b-PS .....</b>	<b>155</b>
4.1. MELANGE ETUDIE .....	155
4.2. MESURE DES TEMPS DE RELAXATION .....	157
<b>5. CONCLUSION .....</b>	<b>160</b>
<b>CHAPITRE 6 : MESURE DE <math>T_2</math> DANS LES SYSTEMES DE DEUX SPINS COUPLES .....</b>	<b>162</b>
<b>1. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE .....</b>	<b>163</b>
<b>2. MESURE DU TEMPS DE RELAXATION TRANSVERSALE DE SYSTEMES A DEUX SPINS COUPLES .....</b>	<b>165</b>
2.1. THEORIE .....	166
2.1.1. Cas du couplage scalaire faible .....	169
2.1.2. Cas du couplage scalaire fort .....	171
2.2. APPLICATION DE LA METHODE .....	173
2.2.1. Cas de deux spins faiblement couplés : les protons de l'uracile .....	173
2.2.1. Cas de deux spins fortement couplés : les protons de l'acide citrique .....	176
<b>3. CONCLUSION .....</b>	<b>176</b>
<b>CONCLUSION GENERALE .....</b>	<b>179</b>
<b>PARTIE EXPERIMENTALE .....</b>	<b>182</b>
<b>ANNEXE 1 : PROTOCOLE DE SYNTHESE DES COPOLYMERES POE-b-PS .....</b>	<b>184</b>
<b>ANNEXE 2 : PRINCIPE DE FONCTIONNEMENT DES SOURCES D'IONISATION ET ANALYSEUR DE MASSE UTILISES .....</b>	<b>185</b>
<b>ANNEXE 3 : DESCRIPTION DE L'ALGORITHME DECRA .....</b>	<b>200</b>
<b>ANNEXE 4 : ANALYSE DE LA SEQUENCE DE MESURE DE <math>T_2</math> A L'AIDE DES OPERATEURS PRODUITS .....</b>	<b>201</b>
<b>ANNEXE 5 : PRODUCTIONS SCIENTIFIQUES ASSOCIEES A CES TRAVAUX DE THESE .....</b>	<b>202</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>2044</b>

## *Symboles et abréviations*

$\delta$	Déplacement chimique (ppm)
$\delta$	Durée d'une impulsion gradient (s)
$\Delta$	Temps de diffusion (s)
$\phi$	Phase
$\gamma$	Rapport gyromagnétique (rad.G <sup>-1</sup> .s <sup>-1</sup> )
$\eta$	Viscosité (Pa.s)
$[\eta]$	Viscosité intrinsèque (Pa.s)
$\eta_{red}$	Viscosité réduite (cm <sup>3</sup> .g <sup>-1</sup> )
$\eta_{sp}$	Viscosité spécifique
$\omega$	Nombre entier
$\omega$	Vitesse angulaire (rad.s <sup>-1</sup> ) ou fréquence de Larmor
$\Pi$	Pression osmotique
$\rho$	Masse volumique (kg.m <sup>-3</sup> )
ATRP	Atom transfer radical polymerization
$\vec{B}_{eff}$	Champ magnétique effectif
BDE	Bond dissociation energy
$B_0$	Intensité d'un champ magnétique statique (G)
$\vec{B}_0$	Champ magnétique statique
$C$	Concentration massique (kg.m <sup>-3</sup> )
CID	Collision-induced dissociations
$D$	Coefficient de diffusion ou d'autodiffusion (m <sup>2</sup> .s <sup>-1</sup> )
Da	Dalton
DCTB	<i>Trans</i> -2-[3-(4- <i>tert</i> -butylphenyl)-2-methyl-2-propenylidene]malononitrile
DECRA	Direct Exponential Component Resolution Analysis
DFT	Density functional theory
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DOSY	Diffusion Ordered Spectroscopy
DQ	Double quanta
$E_c$	Energie de collision
ESI	Electrospray ionization
$f$	Facteur de friction (J.s.m <sup>-2</sup> )
$F_d$	Force de friction (N)
$g$	Intensité d'un gradient de champ magnétique (G.cm <sup>-1</sup> )
$\vec{g}$	Gradient de champ magnétique
GPC	Gel permeation chromatography
GRAM	Generalized Rank Anihilation Method
HCCA	$\alpha$ -cyano-4-hydroxycinnamic acid
$I$	Intensité
$I_p$	Indice de polydispersité ou polymolécularité
IMOMO	Integrated molecular orbital plus molecular orbital
IR	Infrarouge à transformée de Fourier
IR	Inversion Recovery
$I_\theta$	Intensité de lumière diffusée à l'angle $\theta$
$k$	Constante de Boltzmann (J.K <sup>-1</sup> )
$K_{opt}$	Constante optique dépendante de l'indice de réfraction (kg <sup>-2</sup> .m <sup>2</sup> .mol)
$L$	Longueur (m)

LDI	Laser Desorption Ionization
LED	Longitudinal eddy currents delay
$m$	Masse (g)
$M$	Masse molaire ( $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ )
MAMA-SG1	2-methyl-2-[ <i>N-tert</i> -butyl- <i>N</i> -(1-diethoxyphosphoryl)-2,2-dimethylpropyl]aminoxy] propanoic acid
MALDI	Matrix assisted laser desorption/ionization
MALLS	Multi-angle laser light scattering
$m_{eff}$	Masse effective d'une particule dans un liquide (g)
$M_i$	Masse d'un oligomère de degré de polymérisation $i$ ( $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ )
$M_n$	Masse moléculaire moyenne en nombre ( $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ )
$M_p$	Masse moléculaire moyenne la plus probable ( $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ )
MHS	Constante de Mark-Houwink-Sakurada
MS	Mass spectrometry
MS/MS	Tandem mass spectrometry
$M_w$	Masse moléculaire moyenne en masse ( $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ )
$m/z$	Rapport masse sur charge
$M_v$	Masse moléculaire moyenne viscosimétrique ( $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ )
$n$	Indice de réfraction
$n$	Nombre de motifs monomère
$N_a$	Nombre d'Avogadro ( $\text{mol}^{-1}$ )
$N_i$	Nombre d'oligomères de degré de polymérisation $i$
NMP	Nitroxide-mediated polymerization
OR	Tension d'orifice (V)
PAMA	Poly(acide méthacrylique)
PEG	Polyéthylène glycol
PGSE	Pulsed gradient spin-echo
PMAM	Poly(méthacrylate de méthyle)
POE	Poly(oxyde d'éthylène)
POE- <i>b</i> -PS	Copolymère à blocs poly(oxyde d'éthylène)/polystyrène
POE-Me	Poly(oxyde d'éthylène) $\alpha$ -méthyléther
PS	Polystyrène
$P_\theta$	Facteur de forme lié à la taille d'une particule
$q$ DECRA	<i>quantitative</i> DECRA
$r$	Distance radiale (m)
$R$	Constante des gaz parfaits
R	Résolution
RAFT	Reversible addition-fragmentation chain transfer
RI	Refractive index
$R_g$	Rayon de giration
$r_s$	Rayon hydrodynamique ou rayon de Stokes (m)
$R_\theta$	Rapport de Rayleigh ( $\text{m}^{-1}$ )
RMN	Résonance magnétique nucléaire
$s$	Vitesse de sédimentation ( $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ )
$S$	Constante de sédimentation (s)
$\bar{s}$	Déplacement quadratique moyen
SANS	Small Angle Neutron Scattering
SEC	Size exclusion chromatography
SIMS	Secondary ion mass spectrometry
$t$	Temps (s)
$T$	Température (K)
TEMPO	2,2,6,6-tetraméthyl-1-piperidinyloxy
TFA	Trifluoroacetic acid
TOF	Time-of-flight

UV	Ultraviolet
$v$	Vitesse ( $\text{m.s}^{-1}$ )
$V$	Volume molaire de solution ( $\text{L.mol}^{-1}$ )
$\bar{v}$	Volume spécifique partiel ( $\text{cm}^3.\text{g}^{-1}$ )
$V_e$	Volume d'élution
$V_s$	Volume partiel spécifique de soluté ( $\text{m}^3.\text{kg}^{-1}$ )
X,Y	Groupements terminaux X et Y d'un polymère
$z$	Nombre de charges d'un ion
ZQ	Zéro quantum



## Liste des Figures

- Figure 1 :** Spectre ESI(+)-MS d'un poly(méthacrylate de méthyle) p 30
- Figure 2 :** Exemple des paramètres de distribution  $M_n$ ,  $M_w$ ,  $M_p$  obtenus à partir du spectre MALDI-TOF MS d'un poly(propylène glycol) p 36
- Figure 3 :** Spectre RMN  $^1\text{H}$  d'un acrylate de poly(oxyde d'éthylène) méthoxylé de masse moléculaire inconnue p 38
- Figure 4 :** Evolution de l'intensité (normalisée) d'un signal de résonance (-CH-aromatiques) en fonction de l'intensité du gradient de champ magnétique  $g$  obtenue pour un polystyrène de  $10\,000\text{ g mol}^{-1}$  p 53
- Figure 5 :** Courbes d'étalonnage obtenues pour le POE (cercle noir) et le PS (cercle blanc) pour une concentration de  $3\text{ mg mL}^{-1}$  dans  $\text{CDCl}_3$  à 300 K. Les paramètres d'ajustement obtenus à partir de l'équation 40 sont également reportés pour les deux polymères p 67
- Figure 6 :** Modèle hydrodynamique sphérique (en vert) du copolymère A4 (2000-22000). Chaque bloc est considéré comme une pelote aléatoire globalement sphérique. Les blocs POE et PS sont représentés respectivement en bleu et rose p 70
- Figure 7 :** Comparaison des valeurs expérimentales ( $D^{\text{exp}}$ ) des coefficients d'autodiffusion des différents copolymères mesurées par RMN PGSE avec les valeurs théoriques ( $D^{\text{calc}}$ ) calculées selon un modèle de diffusion sphérique (Eq. 44). L'ajustement linéaire employé passe par l'origine p 71
- Figure 8 :** Ellipsoïdes de révolution Prolate et Oblate avec leurs semi axes principaux  $a$  et  $b$  p 73
- Figure 9 :** Utilisation du modèle ellipsoïdal prolate pour décrire la diffusion du copolymère A4 (2000-22000). Les blocs POE et PS sont respectivement représentés en bleu et rose p 73
- Figure 10 :** Comparaison des valeurs expérimentales ( $D^{\text{exp}}$ ) des coefficients d'autodiffusion des différents copolymères mesurées par RMN PGSE avec les valeurs théoriques ( $D^{\text{calc}}$ ) calculées avec un modèle de diffusion ellipsoïdal prolate. L'ajustement linéaire employé passe par l'origine p 75
- Figure 11 :** Utilisation du modèle ellipsoïdal oblate pour décrire la diffusion du copolymère A4 (2000-22000), les blocs POE et PS sont respectivement représentés en bleu et rose p 76
- Figure 12 :** Comparaison des valeurs expérimentales ( $D^{\text{exp}}$ ) des coefficients d'autodiffusion des différents copolymères mesurées par RMN PGSE avec les valeurs théoriques ( $D^{\text{calc}}$ ) calculées avec un modèle de diffusion ellipsoïdal oblate. L'ajustement linéaire employé passe par l'origine p 77
- Figure 13 :** Fonction  $f^{\text{oblate}}(M_w^{\text{T}})$  tracée pour le copolymère A1. On obtient  $M_w^{\text{T}} = 9041\text{ g mol}^{-1}$  pour ce copolymère p 79
- Figure 14 :** Spectre de masse MALDI-TOF d'un PEG commercial ( $M_w=1490\text{ g mol}^{-1}$ ) obtenu avec HCCA comme matrice et  $\text{CuSO}_4$  comme agent cationisant (ratio molaire matrice/polymère/sel 1000 : 1 : 10 ; fluence laser : 42% ; 300 tirs). Les distributions annotées de cercles rouges, bleus et verts, correspondent respectivement à des adduits p 90

de type  $[P_n+Na]^+$ ,  $[P_n+K]^+$  et  $[P_n+Cu]^+$

**Figure 15** : Spectre de masse MALDI-TOF d'un PEG commercial ( $M_w=1490$  g mol<sup>-1</sup>) obtenu avec HCCA comme matrice et FeSO<sub>4</sub> comme agent cationisant (ratio molaire matrice/polymère/sel 1000 : 1 : 30 ; fluence laser : 40% ; 300 tirs). Les distributions annotées de cercles rouges, bleus et verts, correspondent respectivement à des adduits de type  $[P_n+Na]^+$ ,  $[P_n+K]^+$  et  $[P_n-H+Fe]^+$  p 91

**Figure 16** : Spectre de masse MALDI-TOF d'un PEG commercial ( $M_w=1490$  g mol<sup>-1</sup>) obtenu avec HCCA comme matrice et FeSO<sub>4</sub> comme agent cationisant. L'échantillon est préparé par broyage à sec des différents constituants [fluence laser : 42% ; 200 tirs]. Les distributions annotées de cercles rouges et verts, correspondent respectivement à des adduits de type  $[P_n+Na]^+$  et  $[P_n-H+Fe]^+$  p 92

**Figure 17** : Spectre de masse LDI-TOF d'un PEG commercial ( $M_w=1490$  g mol<sup>-1</sup>) obtenu avec FeSO<sub>4</sub> comme agent cationisant. L'échantillon est préparé par broyage à sec de la matrice HCCA et du sel [fluence laser : 71% ; 249 tirs]. La distribution annotée de cercles rouges correspond à des adduits de type  $[P_n+Na]^+$ , celle annotée de cercles jaunes n'est pas identifiée et correspond à  $m_x+m_y+m_{cat} = 19,3 + k 44$  Da (où  $k$  est un entier naturel) p 93

**Figure 18** : Spectre LDI de FeSO<sub>4</sub> broyé à sec. L'ion Fe<sup>+</sup> est détecté à  $m/z$  56,1 p 94

**Figure 19** : Spectre de masse ESI-MS de POE-MAMA-SG1 900 en présence de Co(II) pour une tension d'orifice de 30V. Les distributions annotées de cercles bleus et rouges correspondent respectivement à des adduits de type  $[P_n-H+Co^{II}]^+$  et  $[P_n+Co^{II}]^{2+}$  p 95

**Figure 20** : Spectre de masse ESI-MS/MS de l'adduit  $[P_{11}+Co^{II}]^{2+}$  enregistré pour une tension d'orifice de 30 V à une énergie de collision  $E_c = 7$  eV (référentiel laboratoire) p 96

**Figure 21** : Spectre ESI-MS/MS de  $[P_7-H+Ca]^+$  obtenu pour une énergie de collision de 20 eV (référentiel laboratoire) p 99

**Figure 22** : Spectre ESI-MS/MS de  $[P_8-H+Mn]^+$  obtenu pour une énergie de collision de 25 eV (référentiel laboratoire) p 100

**Figure 23** : Spectre ESI-MS/MS de  $[P_8-H+Fe]^+$  à  $m/z$  874,4 obtenu pour une énergie de collision de 20 eV (référentiel laboratoire) p 102

**Figure 24** : Géométries des adduits (a)  $S_4Fe^+$ , (b)  $S_4Fe-SG1^{\bullet+}$  et (c)  $S_4-(SG1-O)Fe^{\bullet+}$  p 108

**Figure 25** : Géométries des adduits (a)  $S_4Fe-SG1-141^+$ , (b)  $S_4Fe-SG1-MAMA^+$  et (c) la géométrie la plus stable obtenue pour ce même adduit p 109

**Figure 26** : Spectre ESI-MS du POE-MAMA-SG1 ( $M_n= 5000$  g mol<sup>-1</sup>) après traitement au TFA. Les pics de la distribution utilisée pour calculer la somme des groupements terminaux sont annotés de cercles rouges p 120

**Figure 27** : Comparaison des spectres <sup>1</sup>H du polymère (a) avant et (b) après traitement au TFA. L'attribution des signaux a été réalisée d'après les expériences de corrélation <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C HSQC et HMBC. \* Impureté p 121

**Figure 28** : Spectre MALDI du POE ( $M_n= 5000$  g mol<sup>-1</sup>) (a) avant et (b) après traitement au TFA. Les distributions annotées de cercles rouges et verts correspondent respectivement à des distributions fragmentée et intacte terminée -SG1'. (matrice : DCTB, sel : KI, ratio molaire matrice/polymère/sel 3000 : 1 : 10 ; fluence laser : (a) 50% et (b) 45% ; 300 tirs) p 124

**Figure 29** : Spectre DOSY <sup>1</sup>H d'un mélange de Poly(Ethylene Glycol) (PEG,  $M_w=42700$  g mol<sup>-1</sup>) et L-Phénylalanine (Phe) dans D<sub>2</sub>O (HOD) à 300 K. Dans cette figure, on observe très nettement les deux signaux singulets liés respectivement au p 127

PEG (3.6 ppm) et au proton résiduel de l'eau deutériée (4.8 ppm), ainsi que les quatre groupes de signaux liés à la phénylalanine (7.5, 4.0, 3.3 et 3.1 ppm)

**Figure 30 :** Spectre  $^1\text{H}$  quantitatif obtenu à 300 K du mélange modèle *MM1* composé de Poly(Ethylene Glycol) ( $M_w = 6550 \text{ g mol}^{-1}$ ,  $5,1 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ), L-Phénylalanine ( $1,0 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ ) et de méthanol ( $7,6 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ) dans  $\text{D}_2\text{O}$ . Les signaux RMN des protons labiles ne sont pas observables dans le solvant utilisé p 133

**Figure 31 :** Influence du temps de relaxation transversale sur l'intensité du signal RMN pour la séquence utilisée (courbe bleue) lorsque  $\tau_2$  est égal à 10 ms. L'équation de la courbe rouge est  $y = 0,985$  p 136

**Figure 32 :** (a) Spectre  $^1\text{H}$  du mélange présenté Figure 30 ainsi que les spectres  $^1\text{H}$  extraits d'une expérience PGSE/DOSY traitée avec l'algorithme DECRA (b) du PEG ( $M_w = 42700 \text{ g mol}^{-1}$ ), (c) de la L-Phénylalanine et (d) de HOD p 138

**Figure 33 :** Extrapolation à  $\tau_1=0$  (relaxation nulle) des intégrales issues des expériences PGSE/DOSY par la méthode qDECRA pour le mélange présenté Figure S. Les losanges bleus et les carrés rouges correspondent respectivement aux protons aromatiques de la L-phénylalanine et aux protons du PEG ( $M_w = 42700 \text{ g mol}^{-1}$ ) p 139

**Figure 34 :** Mesure du temps de relaxation transversale  $T_2$  par CPMG avec un demi-écho  $\tau_{\text{CPMG}}$  de 1 ms pour les signaux (a) **4** et (b) **1** du mélange *MM1*. Les courbes (c) et (d) ont été enregistrées respectivement pour ces mêmes signaux avec un demi-écho  $\tau_{\text{CPMG}}$  de 0,7 ms p 141

**Figure 35 :** Logarithme de l'intégrale des signaux mesurée sur les spectres  $^1\text{H}$  filtrés en diffusion en fonction de  $\Delta$  p 143

**Figure 36 :** Logarithme de l'intégrale des signaux mesurée sur les spectres  $^1\text{H}$  filtrés en diffusion en fonction de  $\tau$  p 144

**Figure 37 :** Erreur de la renormalisation issue de la justesse de la mesure du temps de relaxation transversale pour une valeur de  $\tau_2$  de 10 ms p 146

**Figure 38 :** Erreur de la renormalisation issue de la justesse de la mesure du temps de relaxation longitudinale pour différentes valeurs de  $\tau_1$  égales à 100, 400 et 700 ms p 147

**Figure 39 :** Evolution du logarithme des intégrales des signaux mesurées sur les spectres  $^1\text{H}$  extraits des expériences PGSE/DOSY analysées avec l'algorithme DECRA en fonction de  $\Delta$  pour le mélange *MM2*. Par convention, les signaux de la L-Phénylalanine et du PEG ont la même numérotation que pour le mélange *MM1* p 149

**Figure 40 :** Evolution du logarithme des intégrales des signaux mesurées sur les spectres  $^1\text{H}$  extraits des expériences PGSE/DOSY analysées avec l'algorithme DECRA en fonction de  $\Delta$  pour le mélange *MM2*. Par convention, les signaux de la L-Phénylalanine et du PEG ont la même numérotation que pour le mélange *MM1* p 151

**Figure 41 :** Spectre  $^1\text{H}$  quantitatif du mélange *MM3* et spectres des composés séparés obtenus après traitement DECRA d'une expérience PGSE. Les signaux verts, bleus, noirs et violets correspondent respectivement à la L-Phénylalanine, au PEG, à  $\text{D}_2\text{O}$  et au PPG.\*artefacts p 152

**Figure 42 :** Spectre  $^1\text{H}$  quantitatif du mélange *MM4* p 156

**Figure 43 :** Spectre  $^1\text{H}$  DOSY du *MM4* p 156

**Figure 44 :** Logarithme des intégrales des signaux mesurées sur les spectres  $^1\text{H}$  extraits des expériences PGSE/DOSY analysées avec l'algorithme DECRA en fonction de  $\Delta$  p 158

- Figure 45 :** Logarithme de l'intégrale des signaux mesurés sur les spectres  $^1\text{H}$  extrait par l'algorithme DECRA des expérience PGSE en fonction de  $\tau_2$  p 159
- Figure 46 :** (a) Evolutions en fonction de  $\tau$  des signaux  $S_{ZQ}(\tau)$  et  $S_{DQ}(\tau)$ , respectivement en bleu et rouge, obtenues par simulation numérique en utilisant le logiciel Mathematica avec les routines mPackages. La somme de ces deux courbes, correspondant au signal  $S_{ZQ}(\tau) + S_{DQ}(\tau)$ , est représentée par la courbe verte. (b) L'évolution du signal  $S_{ZQ}(\tau) + S_{DQ}(\tau)$  est décrite sur une plus grande gamme de valeurs de  $\tau$  p 171
- Figure 47 :** Evolution en fonction de  $\tau$  obtenue pour (a) un écho de Hahn et (b) la somme des signaux  $S_{ZQ}(\tau)$  et  $S_{DQ}(\tau)$  p 172
- Figure 48 :** Evolution en fonction de  $\tau$  du signal **H-1** pour une expérience d'écho de Hahn. Une courbe similaire est obtenue pour le proton **H-2** (non reportée) p 174
- Figure 49 :** Evolution en fonction de  $\tau$  du signal **H** p 175
- Figure 50 :** Mesure du temps de relaxation du proton **H** p 175
- Figure 51 :** Evolutions en fonction de  $\tau$  obtenues pour le signal  $S_{ZQ}(\tau) + S_{DQ}(\tau)$  (●) et pour la CPMG avec un temps de demi-écho de 1 ms (■) et 2 ms (◆) p 176
- Figure 52 :** Mesure du temps de relaxation du proton **H-A** de la molécule d'acide citrique par (a) la somme des signaux  $S_{ZQ}(\tau) + S_{DQ}(\tau)$  et (b) CPMG avec un demi-écho de 1 ms. Des courbes similaires sont obtenues pour le proton **H-B** (non reportées) p 177

## Liste des Schémas

<b>Schéma 1</b> : Homopolymères (a) linéaire, (b) branché et (c) en étoile	p 21
<b>Schéma 2</b> : Copolymères (a) statistique, (b) alterné, (c) à bloc et (d) greffé	p 22
<b>Schéma 3</b> : Principe de la polymérisation radicalaire. Ici M et I représentent respectivement le monomère et l'initiateur (ou amorceur), et // une double liaison C-C	p 23
<b>Schéma 4</b> : Principe de la NMP. $k_d$ , $k_c$ , $k_p$ , et $k_t$ représentent respectivement les constantes cinétiques des réactions de dissociation, combinaison, propagation et terminaison	p 24
<b>Schéma 5</b> : Structure de l'alkoxyamine MAMA-SG1. Les groupements MAMA et SG1 sont respectivement représentés en bleu et vert	p 25
<b>Schéma 6</b> : Synthèse d'un copolymère POE- <i>b</i> -PS-SG1 par NMP	p 26
<b>Schéma 7</b> : Représentation de deux homopolymères linéaires de même masse malgré des groupements terminaux et des degrés de polymérisation $n$ différents	p 32
<b>Schéma 8</b> : Structure d'un acrylate de poly(oxyde d'éthylène) méthoxylé	p 37
<b>Schéma 9</b> : Principe de fonctionnement du Fractionnement par couplage Flux/Force. (Schéma extrait du site internet de la compagnie Nanolytics <a href="http://www.nanolytics.de">www.nanolytics.de</a> )	p 47
<b>Schéma 10</b> : Représentation schématique de la séquence d'impulsions PGSE	p 50
<b>Schéma 11</b> : Principe d'hydrolyse des copolymères POE- <i>b</i> -PS-SG1	p 65
<b>Schéma 12</b> : Structure des copolymères statistiques PMAM-PAMA	p 81
<b>Schéma 13</b> : Voie de dissociation du groupement terminal lors de l'analyse MALDI en présence de cation alcalin $\text{Na}^+$	p 88
<b>Schéma 14</b> : Mécanisme de fragmentation proposé pour la formation des ions $m/z$ 477,2 puis $m/z$ 408,2 à partir de l'ion précurseur $m/z$ 505,2	p 97
<b>Schéma 15</b> : Mécanisme de fragmentation proposé pour expliquer la formation des ions $m/z$ 436,2 puis $m/z$ 408,2 à partir de l'ion précurseur $m/z$ 505,2	p 97
<b>Schéma 16</b> : Mécanisme proposé pour la formation de l'ion $m/z$ 408,2 à partir de l'ion précurseur $m/z$ 505,2	p 98
<b>Schéma 17</b> : Mécanisme proposé pour la formation de l'ion $m/z$ 357,6 à partir de l'ion précurseur $m/z$ 505,2	p 98
<b>Schéma 18</b> : Mécanisme proposé pour la formation de l'ion $m/z$ 433,2 à partir de l'ion précurseur $m/z$ 520,2	p 100
<b>Schéma 19</b> : Mécanisme proposé pour la formation de l'ion $m/z$ 438,2 à partir de l'ion précurseur $m/z$ 579,2	p 101
<b>Schéma 20</b> : Mécanisme proposé pour la formation de l'ion $m/z$ 733,2 à partir de l'ion précurseur $m/z$ 874,4	p 103
<b>Schéma 21</b> : Adduit simplifié modèle $\text{S}_n\text{C}^+$ utilisé pour les calculs théoriques	p 105
<b>Schéma 22</b> : Stabilisation énergétique due à l'ajout d'une unité monomérique dans une chaîne de POE linéaire	p 106
<b>Schéma 23</b> : Effet de stabilisation énergétique des adduits $\text{S}_n\text{Zn}^+$ et $\text{S}_n\text{Mg}^+$ dû à l'ajout	p 107

d'unités monomériques dans une chaîne de POE

<b>Schéma 24</b> : Mécanisme d'élimination du groupement SG1 exploré par chimie théorique pour différents groupements <i>R</i>	p 114
<b>Schéma 25</b> : Principe de la méthode IMOMO	p 115
<b>Schéma 26</b> : Rupture de la liaison C-ON dans le modèle simplifié	p 115
<b>Schéma 27</b> : Effet énergétique de la substitution du groupement tBu par H pour la molécule <i>S</i>	p 117
<b>Schéma 28</b> : Géométries des molécules <i>SR</i> ainsi que celles des molécules NH <sub>2</sub> -OH simplifiées correspondantes, dans les configurations (a) <i>StBu(SR)</i> et (b) <i>SH(SS)</i> . Les hydrogènes du groupement tBu ont été retirés pour plus de clarté	p 118
<b>Schéma 29</b> : Mécanisme réactionnel du traitement au TFA	p 119
<b>Schéma 30</b> : Structure du polymère (a) avant et (b) après traitement au TFA	p 121
<b>Schéma 31</b> : Séquence PGSE basée sur l'utilisation d'un écho stimulé	p 132
<b>Schéma 32</b> : Séquence d'impulsions utilisée pour les expériences PGSE. Le cyclage de phase en 16 étapes utilisé est le suivant $\phi_1 (0)_{16}$ ; $\phi_2 (0)_{16}$ ; $\phi_3 (0022)_4$ ; $\phi_4 (0_4 2_4 1_4 3_4)$ ; $\phi_5 (0)_{16}$ ; $\phi_6 (0202 2020 1313 3131)$ ; $\phi_7 (0_4 2_4 1_4 3_4)$ ; $\phi_8 (0220 2002 3113 1331)$ . $\tau_1$ et $\tau_2$ représentent respectivement les temps pendant lesquels l'aimantation est longitudinale et transversale, et LED le délai permettant de minimiser les effets des courants de Foucault. Les demi-ovales pleins et vides correspondent aux impulsions de gradient servant respectivement à encoder la diffusion et à simplifier le cyclage de phase	p 134
<b>Schéma 33</b> : Séquences d'impulsions des expériences (a) d'Inversion-Récupération et (b) CPMG	p 141
<b>Schéma 34</b> : Séquence d'impulsion utilisée pour les expériences PGSE. Le cyclage de phase en 16 étapes utilisé est le suivant $\phi_1 (0)_{16}$ ; $\phi_2 (2)_{16}$ ; $\phi_3 (0)_{16}$ ; $\phi_4 (0022)_4$ ; $\phi_5 (0_4 2_4 1_4 3_4)$ ; $\phi_6 (0)_{16}$ ; $\phi_7 (0202 2020 1313 3131)$ ; $\phi_8 (0_4 2_4 1_4 3_4)$ ; $\phi_9 (0220 2002 3113 1331)$ . $\tau_1$ et $\tau_2$ représentent respectivement les temps pendant lesquels l'aimantation est longitudinale et transversale, et LED le délai permettant de minimiser les effets des courants de Foucault	p 150
<b>Schéma 35</b> : Séquence d'impulsion anti-convection utilisée pour les expériences PGSE. Le cyclage de phase en 16 étapes utilisé est le suivant $\phi_1 (0011 2233)_4$ ; $\phi_2 (1122 3300)_4$ ; $\phi_3 (1223 3001)_4$ ; $\phi_4 (0)_{32}$ ; $\phi_5 (2233)_8$ ; $\phi_6 (3300 3300 0011 0011)_2$ ; $\phi_7 (2)_{32}$ ; $\phi_8 (0)_{32}$ ; $\phi_9 (0_{16} 2_{16})$ ; $\phi_{10} (0)_{32}$ ; $\phi_{11} (1122 3300)_8$ ; $\phi_{12} (0202 2020 2020 0202)_2$ . $\tau_1$ et $\tau_2$ représentent respectivement les temps pendant lesquels l'aimantation est longitudinale et transversale, et LED le délai permettant de minimiser les effets des courants de Foucault	p 157
<b>Schéma 36</b> : Séquence d'impulsions multi-quanta filtrée utilisée pour les mesures de $T_2$ dans les systèmes à deux spins couplés	p 166
<b>Schéma 37</b> : Diagramme de cohérence de la séquence présentée Schéma 36 pour le filtre des cohérences à zéro-quantum	p 167
<b>Schéma 38</b> : Diagramme de cohérence de la séquence présentée Schéma 36 pour le filtre des cohérences à deux-quanta	p 168
<b>Schéma 39</b> : Structure de la molécule d'uracile	p 173
<b>Schéma 40</b> : Molécule d'acide citrique	p 177

## Liste des Tableaux

<b>Tableau 1 :</b> Structure et masse de monomères communs	p 30
<b>Tableau 2 :</b> Indice de polydispersité moyen obtenu en fonction de la méthode de polymérisation employée	p 35
<b>Tableau 3 :</b> Paramètres de distribution obtenus à l'aide des différentes techniques analytiques	p 56
<b>Tableau 4 :</b> Paramètres de distribution du copolymère POE- <i>b</i> -PS ( $M_n^T$ , $M_w^T$ ) calculés à partir des valeurs des paramètres de distributions déterminés par MALDI des homopolymères issus de l'hydrolyse ( $M_n^{POE}$ , $M_n^{PS}$ , $M_w^{POE}$ , $M_w^{PS}$ ) et des spectres RMN $^1H$ quantitative	p 66
<b>Tableau 5 :</b> Masses moléculaires moyennes en masse des copolymères ( $M_w^T$ ) calculées à l'aide des mesures de coefficients de diffusion obtenues par PGSE et des courbes d'étalonnage des homopolymères POE ou PS. L'écart est calculé en prenant les données MALDI comme références	p 68
<b>Tableau 6 :</b> Masses moyennes en masse totale $M_w^T$ des copolymères déterminées par la méthode graphique en utilisant le modèle de diffusion oblate. Les erreurs sont calculées en utilisant les valeurs obtenues par MALDI comme référence	p 79
<b>Tableau 7 :</b> Masses moyennes en masse de chacun des blocs des copolymères déterminées à l'aide des fractions molaires de chaque bloc et en utilisant le modèle de diffusion oblate. Les erreurs sont calculées en utilisant les valeurs obtenues par MALDI comme référence	p 80
<b>Tableau 8 :</b> Proportion molaire des unités MAM et AMA, masse moyenne en nombre et coefficient d'autodiffusion des copolymères I et II, obtenus par RMN quantitative du proton et RMN PGSE	p 82
<b>Tableau 9 :</b> Masses moyennes en masse obtenues par MALDI-MS et RMN PGSE avant et après méthylation des copolymères I et II	p 82
<b>Tableau 10 :</b> Masses exactes et composition élémentaire des ions présents dans le spectre de masse de la Figure 20	p 96
<b>Tableau 11 :</b> Masses exactes et composition élémentaire des ions présents dans le spectre de masse de la Figure 21	p 99
<b>Tableau 12 :</b> Masses exactes et attributions des pics présents dans le spectre de masse de la Figure 22	p 100
<b>Tableau 13 :</b> Masses exactes et attributions des pics présents dans le spectre de masse de la Figure 23	p 102
<b>Tableau 14 :</b> Energies absolues des différents adduits et énergies de dissociation associées	p 108
<b>Tableau 15 :</b> Energies absolues des différents adduits et énergies de dissociation associées	p 110

<b>Tableau 16 :</b> Energies de dissociation de la liaison C-ON en fonction du groupement <i>R</i> pour les différents diastéréoisomères. Les énergies absolues sont données en unités atomiques (u. a.) et les énergies de dissociations de liaison qui sont des énergies relatives sont données en kcal mol <sup>-1</sup>	p 116
<b>Tableau 17 :</b> Attribution des signaux RMN <sup>1</sup> H (400 MHz) et <sup>13</sup> C (100 MHz) du POE-MAMA-SG1 avant traitement au TFA	p 122
<b>Tableau 18 :</b> Attribution des signaux RMN <sup>1</sup> H (400 MHz) et <sup>13</sup> C (100 MHz) du POE-MAMA-SG1' après traitement au TFA	p 123
<b>Tableau 19 :</b> Comparaison de l'intégrale des signaux mesurée sur un spectre <sup>1</sup> H quantitatif ( <i>I<sub>Q</sub></i> ) avec celle mesurée sur un spectre filtré en diffusion ( <i>I</i> ) et renormalisée à l'aide des coefficients de diffusion mesurés séparément ( <i>I<sub>D</sub></i> ). Le spectre filtré en diffusion a été enregistré avec les paramètres suivants : <i>g</i> = 2 G cm <sup>-1</sup> , $\Delta$ = 400 ms et $\delta$ = 3,5 ms. Le signal 6 a été pris comme intégrale de référence dans les deux cas	p 135
<b>Tableau 20 :</b> Comparaison des intégrales des signaux mesurées sur un spectre <sup>1</sup> H quantitatif ( <i>I<sub>Q</sub></i> ) avec les intégrales de ces mêmes signaux mesurées sur un spectre filtré en diffusion et renormalisées à partir des valeurs de <i>D</i> ( <i>I<sub>D</sub></i> ), et à partir des valeurs de <i>D</i> et des temps de relaxation <i>T<sub>1</sub></i> et <i>T<sub>2</sub></i> ( <i>I<sub>D, T1/T2</sub></i> ). Le spectre filtré en diffusion a été enregistré avec les paramètres suivants : <i>g</i> = 2 G cm <sup>-1</sup> , $\Delta$ = 400 ms et $\delta$ = 3.5 ms.	p 142
<b>Tableau 21 :</b> Comparaison des mesures de <i>T<sub>1</sub></i> mesurées à partir des spectres filtrés en diffusion avec les valeurs de référence mesurées par IR	p 144
<b>Tableau 22 :</b> Comparaison des mesures de <i>T<sub>2</sub></i> mesurées avec les spectres filtrés en diffusion avec les valeurs de référence mesurées par CPMG	p 145
<b>Tableau 23 :</b> Comparaison des intégrales des signaux mesurées sur un spectre <sup>1</sup> H quantitatif <i>I<sub>Q</sub></i> avec les intégrales de ces mêmes signaux mesurées sur un spectre filtré en diffusion <i>I<sub>D</sub></i> et renormalisées à l'aide de <i>D</i> et <i>T<sub>1</sub></i> ( <i>I<sub>D, T1</sub></i> ), et de <i>D</i> , <i>T<sub>1</sub></i> et <i>T<sub>2</sub></i> ( <i>I<sub>D, T1/T2</sub></i> ). Le spectre filtré en diffusion a été enregistré avec les paramètres suivants : <i>g</i> = 2 G cm <sup>-1</sup> , $\Delta$ = 400 ms, $\delta$ = 3,5 ms	p 148
<b>Tableau 24 :</b> Comparaison des valeurs de <i>T<sub>1</sub></i> obtenues à l'aide des spectres extraits d'expériences PGSE ( $\Delta$ = 100, 1100 ms) avec les valeurs de référence mesurées par IR	p 150
<b>Tableau 25 :</b> Comparaison des mesures de <i>T<sub>2</sub></i> obtenues à l'aide des spectres extraits des expériences PGSE ( $\tau_{\text{CPMG}}$ = 0.7 ms, <i>n</i> = 35, 100) avec les valeurs de référence mesurées par CPMG	p 151
<b>Tableau 26 :</b> Mesures de <i>T<sub>1</sub></i> et <i>T<sub>2</sub></i> réalisées à l'aide de quatre expériences PGSE ( $\Delta$ = 400 and 500 ms, <i>n</i> =1) and ( $\Delta$ = 500 ms, <i>n</i> =100 et 300). Ces mesures sont comparées aux mesures de références réalisées par IR et CPMG	p 153
<b>Tableau 27 :</b> Comparaison des valeurs des intégrales mesurées sur les spectres des composés séparés extrait par l'algorithme DECRA d'une expérience PGSE ( $\Delta$ = 400 ms, $\delta$ = 2,3 ms), avant ( <i>I<sub>D</sub></i> ) et après ( <i>I<sub>D, T1/T2</sub></i> ) renormalisation avec les temps de relaxations	p 154
<b>Tableau 28 :</b> Comparaison des valeurs des intégrales d'une expérience PGSE/DOSY ( $\Delta$ = 400 ms, $\delta$ = 2.3 ms), après renormalisation avec les temps de relaxation ( <i>I<sub>D, T1/T2</sub></i> ) et traité par qDECRA ( <i>I<sub>qDECRA</sub></i> ) avec les intégrales issues d'un spectre <sup>1</sup> H quantitatif ( <i>I<sub>Q</sub></i> )	p 155
<b>Tableau 29 :</b> Mesures de <i>T<sub>1</sub></i> des signaux du mélange <i>MM4</i> (obtenues avec un délai $\Delta$ de 350 et 650 ms	p 158
<b>Tableau 30 :</b> Mesures de <i>T<sub>2</sub></i> des signaux du mélange <i>MM4</i>	p 159
<b>Tableau 31 :</b> Renormalisation des intégrales des signaux du mélange <i>MM4</i>	p 159



<b>Tableau 32</b> : Cyclages de phase de la séquence multi-quanta filtrée. La phase du récepteur est notée respectivement $\phi_{rDQ}$ et $\phi_{rZQ}$ pour l'enregistrement du signal filtré à double quanta et à zéro quantum. Les phases à $0^\circ$ , $90^\circ$ , $180^\circ$ et $270^\circ$ sont notées par convention 0, 1, 2 et 3	p 167
<b>Tableau 33</b> : Calcul de la phase du récepteur $\phi_{rZQ}$ utilisée pour filtrer les cohérences à zéro-quantum. Les phases à $0^\circ$ , $90^\circ$ , $180^\circ$ et $270^\circ$ sont notées par convention 0, 1, 2 et 3	p 168
<b>Tableau 34</b> : Calcul de la phase du récepteur $\phi_{rZQ}$ utilisée pour filtrer les cohérences à deux-quanta. Les phases à $0^\circ$ , $90^\circ$ , $180^\circ$ et $270^\circ$ sont notées par convention 0, 1, 2 et 3	p 168
<b>Tableau 35</b> : Cyclage de phase de la séquence multi-quanta filtrée en soixante quatre étapes utilisé. La phase du récepteur est notée respectivement $\phi_{rDQ}$ et $\phi_{rZQ}$ pour l'enregistrement du signal filtré à double quanta et à zéro quantum. Les phases à $0^\circ$ , $90^\circ$ , $180^\circ$ et $270^\circ$ sont notées par convention 0, 1, 2 et 3	p 169
<b>Tableau 36</b> : Paramètres utilisés pour les simulations numériques du signal RMN en présence de relaxation magnétique	p 171
<b>Tableau 37</b> : Paramètres utilisés pour les simulations numériques du signal RMN en présence de relaxation magnétique pour un système AB	p 172
<b>Tableau 38</b> : Comparaison des temps de relaxation transversale obtenus avec : l'écho de Hahn (référence), la méthode ZQ+DQ, et la CPMG	p 176
<b>Tableau 39</b> : Comparaison des temps de relaxation transversale des protons de la molécule d'acide citrique obtenus avec la méthode ZQ+DQ et CPMG	p 178

## *Introduction générale*

La sophistication croissante des processus de polymérisation permet de synthétiser des polymères à l'architecture toujours plus complexe, nécessitant le développement de nouvelles méthodologies analytiques. Des avancées majeures dans la caractérisation des polymères ont ainsi vu le jour au cours de ces trois dernières décennies grâce à l'essor de nombreuses méthodes d'analyse. A titre d'exemples, on peut citer les techniques cryoscopiques, qui donnent accès à la masse moléculaire de polymères au moyen du suivi des variations du point de congélation.<sup>1</sup> De la même manière, de nombreuses techniques spectroscopiques (UV/Visible, IR/Raman, spectroscopie par Corrélation de Photons, Résonance Magnétique Nucléaire, Résonance Paramagnétique Electronique, Spectrométrie de Masse) ont toutes joué un rôle important dans la compréhension de la structure des polymères. D'autres techniques encore (diffraction des rayons X, diffusion aux petits angles des rayons X et des neutrons, RMN du solide) permettent de caractériser directement les polymères à l'état solide.<sup>2</sup> Dans ce cadre, les analyses thermiques différentielles permettent notamment d'obtenir des informations quantitatives sur le degré de cristallinité de l'arrangement des chaînes polymères au sein du solide.<sup>3</sup> Par ailleurs, les méthodes de séparation chromatographiques (chromatographies : d'exclusion stérique, hydrodynamique, aux conditions critiques...) ou autres (fractionnement par couplage flux/force) sont aussi très largement utilisées pour déterminer les masses moléculaires.<sup>4</sup>

Actuellement, la RMN et la spectrométrie de masse (MS), qui font l'objet des travaux de thèse décrits dans ce manuscrit, figurent parmi les techniques spectroscopiques les plus largement utilisées pour caractériser la structure des polymères synthétiques.

D'une part, la RMN à l'état liquide permet d'obtenir des informations à la fois qualitatives et quantitatives sur la majorité des paramètres microstructuraux,<sup>5</sup> depuis la structure et la composition du polymère jusqu'à sa masse moléculaire et sa tacticité. En particulier, la technique de RMN diffusionnelle (RMN PGSE pour Pulsed Gradient Spin Echo), qui permet de déterminer le volume hydrodynamique de composés en solution, est un outil puissant qui renseigne non seulement sur la

---

<sup>1</sup> Stevens, M. P., *Polymer Chemistry an introduction*. 3 ed.; Oxford University Press: New York, 1999;

<sup>2</sup> *Polymer Characterization*. AMERICAN CHEMICAL SOCIETY: 1983;

<sup>3</sup> *Polymer Characterization*. Springer: 1992;

<sup>4</sup> Provder, T., *Chromatography of Polymers (ACS Symposium Series, #521): Characterization by SEC and FFF* An American Chemical Society Publication: 1993;

<sup>5</sup> Mirau, P. A., *A practical guide to understanding the NMR of polymer materials*. John Wiley & Sons: New Jersey, 2005;

masse des macromolécules mais également sur les impuretés de l'échantillon issues du processus de synthèse.

D'autre part, depuis le développement des techniques d'ionisation douce permettant la formation d'ions intacts en phase gazeuse à partir de molécules non volatiles, les applications de la spectrométrie de masse aux macromolécules synthétiques n'ont cessé de se multiplier. Consistant à ioniser, la plupart du temps par adduction d'un cation, puis à analyser les molécules en fonction de leur rapport masse sur charge, la spectrométrie de masse permet de détecter distinctement l'ensemble des macromolécules constituant le polymère.<sup>6</sup> Ainsi, à partir d'un spectre enregistré en quelques secondes, elle permet de déterminer simplement les unités monomériques, les groupements terminaux et les distributions de masse moléculaire aussi bien d'homopolymères que de copolymères. De plus, les techniques de spectrométrie de masse en tandem (MS/MS) offrent la possibilité d'étudier les mécanismes et cinétiques réactionnels, ainsi que d'éventuelles réactions de dégradation.

Cependant, compte tenu de la complexité intrinsèque des systèmes analysés, il s'avère généralement préférable, pour parvenir à une caractérisation la plus fiable possible, de confronter les informations issues de différentes techniques analytiques. C'est notamment l'un des objectifs principaux de cette thèse, qui combine avantageusement la RMN et la MS pour mieux analyser des solutions de copolymères synthétiques.

Dans ce contexte, le premier chapitre de ce manuscrit se focalisera sur les différents procédés de polymérisation en se limitant à la polymérisation radicalaire contrôlée et, plus spécifiquement, à la polymérisation assistée par nitroxyde. Celle-ci a en effet été utilisée pour synthétiser les polymères qui ont fait l'objet de ces travaux de thèse. De plus, les principales techniques de caractérisation des polymères seront succinctement décrites, en insistant plus particulièrement sur la RMN et la spectrométrie de masse.

Par la suite, une première partie du manuscrit sera consacrée à l'analyse de copolymères à blocs, de type poly(oxyde d'éthylène)-*b*-polystyrène, en abordant deux principaux thèmes : la détermination de la masse moléculaire par RMN PGSE (*Chapitre 2*) et la caractérisation des groupements terminaux par analyse MALDI (*Chapitres 3 et 4*).

Une seconde partie sera consacrée à l'analyse structurale et à la quantification de polymères en mélange, notamment dans le cadre du contrôle des impuretés de synthèse. A ce titre, la RMN PGSE semble la technique idéale puisqu'elle permet l'analyse RMN de composés en mélange. Cependant, celle-ci ne permet pas actuellement d'obtenir facilement des résultats quantitatifs, notamment du fait

---

<sup>6</sup> Montaudo, G.; Lattimer, R. P., *Mass Spectrometry of Polymers*. CRC PRESS: 2002;

de phénomènes de relaxation magnétique. Une méthodologie a donc été développée pour pallier cette difficulté, grâce à une renormalisation des données PGSE basée sur la mesure des temps de relaxation magnétique (*Chapitre 5*). Lors de la mise au point de cette stratégie de quantification, des difficultés sont apparues dans le cas spécifique de la mesure des temps de relaxation de noyaux magnétiquement couplés. Il s'agit dans ce cas d'un problème de nature plus fondamentale, pour lequel une nouvelle méthodologie de résolution a été proposée (*Chapitre 6*).

---

***Chapitre 1 : Polymères synthétiques et Analyse***

---

L'objectif de ce chapitre d'introduction est de présenter les principales méthodes de synthèse et de caractérisation des polymères synthétisés par polymérisation radicalaire contrôlée (PRC). Les différentes parties développées par la suite tentent donc de donner une description non exhaustive de l'état de l'art dans ce domaine de la chimie macromoléculaire.

## **1. Les polymères synthétiques**

Les polymères sont des macromolécules construites à partir d'unités appelées « monomères » ou « mers », reliées les unes aux autres par des liaisons covalentes, et qui, selon leur structure et nature chimique vont donner naissance à des polymères de nature variée. Les liaisons covalentes constituant le squelette macromoléculaire sont le plus souvent des liaisons carbone-carbone (cas des polyoléfines comme le polyéthylène, le polypropylène...), mais peuvent également résulter de la liaison d'atomes de carbone avec d'autres atomes, notamment l'oxygène (cas des polyéthers et des polyesters) ou l'azote (cas des polyamides). Il existe aussi des polymères pour lesquels l'enchaînement résulte de liaisons ne comportant pas d'atomes de carbone (polysilanes, polysiloxanes, etc...).

Les propriétés macroscopiques des polymères dépendent autant de la nature chimique des unités constituant les chaînes que de leur agencement dans une architecture donnée. La caractérisation précise de ces espèces est donc un prérequis nécessaire à la maîtrise des réactions de polymérisation visant à obtenir des polymères de dimension, de structure et d'architecture contrôlées.

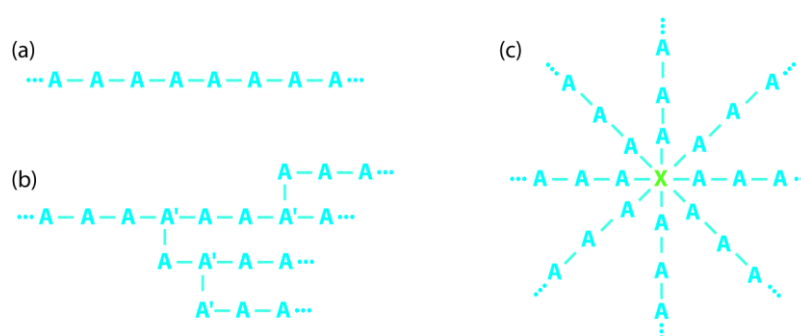
### **1.1. LES DIFFERENTES CLASSES DE POLYMERES**

Il existe deux principales classes de polymères. Dans le cas où les macromolécules sont composées d'un seul motif répétitif, qui résulte le plus souvent de la polymérisation d'un seul type de monomère, on parle d'homopolymères. Quand plusieurs motifs différents constituent le polymère, on parle d'hétéropolymères. On se limitera dans cette étude aux copolymères, constitués de 2 types de monomères, qui sont les plus nombreux, devant les terpolymères et quaterpolymères, respectivement constitués de 3 ou 4 types de monomères différents.

### 1.1.1. Les homopolymères

Les homopolymères sont des polymères qui ne possèdent qu'un seul type d'unité monomérique (notée ici A). Il existe différentes familles d'homopolymères :

- les homopolymères linéaires présentent un enchaînement linéaire de leur motif monomérique, comme pour un collier de perles (Schéma 1a).
- les homopolymères branchés présentent des branches latérales, elles-mêmes plus ou moins branchées. Ces branches résultent soit d'une réaction chimique parasite au cours de la synthèse du polymère, soit d'une réaction de greffage pratiquée volontairement sur les unités monomériques A' du polymère pour en modifier les propriétés physico-chimiques (Schéma 1b).
- les homopolymères étoilés présentent l'architecture ramifiée la plus élémentaire, les étoiles ne comportant en effet qu'un seul point de ramification noté X par macromolécule à l'inverse des polymères branchés (Schéma 1c).

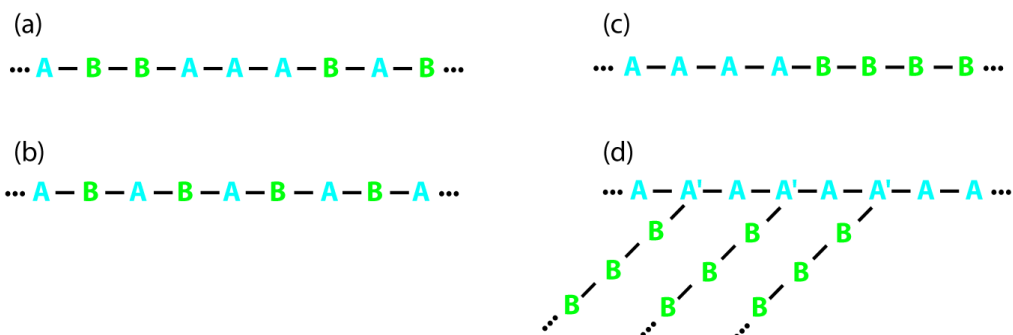


**Schéma 1** : Homopolymères (a) linéaire, (b) branché et (c) en étoile

### 1.1.2. Les copolymères

Les copolymères sont des polymères qui possèdent plusieurs types de monomères (notés ici A et B). Comme pour les homopolymères, les copolymères peuvent se classer dans différentes familles :

- les copolymères statistiques pour lesquels les différents monomères se mélangent au hasard de leur réactivité et de leur concentration (Schéma 2a).
- les copolymères alternés pour lesquels les différentes unités monomériques se succèdent à tour de rôle (Schéma 2b).
- les copolymères séquencés (ou à blocs) pour lesquels les différents monomères sont organisés en blocs (Schéma 2c).
- les copolymères greffés pour lesquels des segments constitués d'un type de monomère sont branchés sur une chaîne principale à base d'un autre type de monomère (Schéma 2d).



**Schéma 2** : Copolymères (a) statistique, (b) alterné, (c) à bloc et (d) greffé

Dans le cas d'un copolymère séquencé, alterné ou greffé, il peut y avoir combinaison des propriétés mécaniques. De plus, les polymères sont également définis par leurs groupements terminaux qui résultent de réactions de fonctionnalisation spécifiques ou du processus de polymérisation lui-même.

## 1.2. LES METHODES DE POLYMERISATION

### 1.2.1. La polycondensation

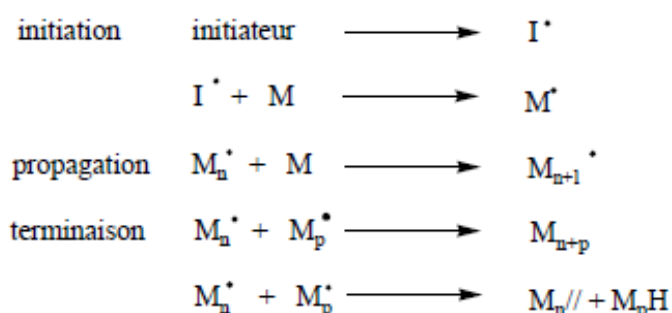
La polycondensation, aussi désignée par le terme de polymérisation par étapes, consiste en des réactions de condensation successives entre les fonctions chimiques de monomères di- ou polyfonctionnels. Ces réactions s'accompagnent généralement de l'élimination de petites molécules. Elles permettent d'augmenter la taille de la chaîne soit par addition de monomères, soit par addition de groupes de monomères. Ainsi, les hautes masses moléculaires ne sont obtenues que pour un taux de conversion des fonctions réactives proche de 100%.

### 1.2.2. La polymérisation en chaîne

La polymérisation en chaîne se décline en deux principaux types de processus : la polymérisation radicalaire et la polymérisation ionique. Seul le processus de polymérisation radicalaire sera abordé ici car les copolymères à blocs étudiés dans les chapitres suivants sont issus de ce procédé. Dans le cas de la polymérisation radicalaire, les réactions en chaîne font intervenir un nombre réduit de centres très réactifs et se déroulent suivant trois grandes étapes présentées Schéma 3 :



1. l'amorçage (ou l'initiation), qui conduit à la formation du premier centre actif,
2. la propagation, pendant laquelle la taille des macromolécules augmente,
3. la terminaison, qui correspond à l'arrêt de la croissance des chaînes.



**Schéma 3** : Principe de la polymérisation radicalaire. Ici M et I représentent respectivement le monomère et l'initiateur (ou amorceur), et // une double liaison C-C

Les réactions de terminaison déterminent la taille des chaînes. En polymérisation radicalaire, cette terminaison résulte de la réaction entre deux radicaux macromoléculaires. Par conséquent, elle peut correspondre à une *combinaison*, conduisant à une plus longue chaîne macromoléculaire ( $M_{n+p}$ ), ou à une *dismutation*, conduisant à deux chaînes macromoléculaires de masse sensiblement égales à celles des deux radicaux macromoléculaires, l'une contenant un bout de chaîne saturé ( $M_n\text{H}$ ) et l'autre un bout de chaîne insaturé ( $M_n//$ ). Les réactions de terminaison entraînent la formation de chaînes de tailles très limitées et très différentes les unes des autres, favorisant ainsi une polydispersité élevée et pouvant être à l'origine de particularités (par exemple : doubles liaisons terminales) dans l'architecture du polymère. Cette technique de polymérisation est répertoriée sous l'appellation de polymérisation radicalaire « classique ».<sup>7</sup>

Par ailleurs, plusieurs techniques de polymérisation radicalaire contrôlée ont été développées pour maîtriser les réactions de terminaison, dans le but d'obtenir des polymères de structure et de masse plus homogènes ou d'accéder à des polymères dit « vivants », c'est-à-dire capables d'être utilisés comme macroinitiateurs de polymérisation. Ainsi, la polymérisation radicalaire contrôlée se décline en plusieurs variantes, à savoir les procédés RAFT (Reversible Addition-Fragmentation Chain Transfer)<sup>8</sup>, ATRP (Atom Transfer Radical Polymerization)<sup>9</sup>, ou NMP (Nitroxyde Mediated Polymerization).<sup>10,11</sup>

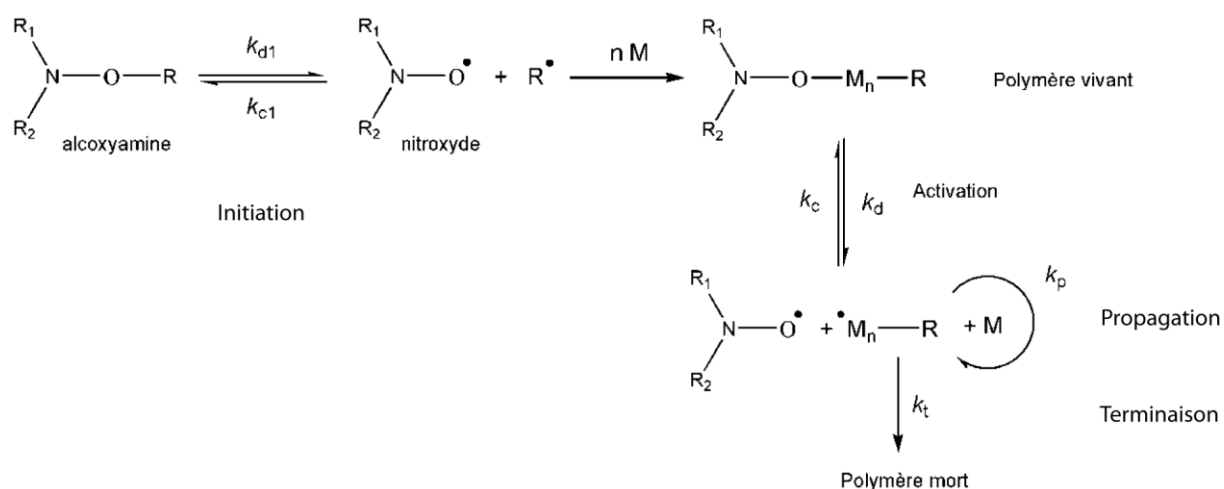
<sup>7</sup> Odian, G., *Principles of Polymerization*. 4 ed.; John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, New Jersey, 2004;

<sup>8</sup> Thang, S. H.; Chong, Y. K.; Mayadunne, R. T. A.; Moad, G.; Rizzardo, E., A novel synthesis of functional dithioesters, dithiocarbamates, xanthates and trithiocarbonates. *Tetrahedron Letters* **1999**, 40, (12), 2435-2438.

<sup>9</sup> Patten, T. E.; Xia, J. H.; Abernathy, T.; Matyjaszewski, K., Polymers with very low polydispersities from atom transfer radical polymerization. *Science* **1996**, 272, (5263), 866-868.

Dans ces trois cas, le centre actif des chaînes polymériques en croissance est un radical centré sur un atome de carbone, la croissance du polymère étant assurée par la désactivation réversible de ces macroradicaux. La technique de polymérisation radicalaire contrôlée en présence de nitroxyde (NMP) a été utilisée pour la synthèse des copolymères à blocs Poly(Oxyde d'Éthylène)-*b*-Poly(Styrène) (POE-*b*-PS) dont la caractérisation sera étudiée aux *Chapitres 2 et 3* de ce manuscrit.

Le principe de la NMP, décrit Schéma 4, repose sur le piégeage réversible des radicaux polymères par une espèce radicalaire persistante (ou stable), conduisant à la formation d'espèces dormantes (ou vivantes) via la création d'une liaison covalente. Le paramètre clef de cette technique est le contrôle de la concentration des nitroxydes libres durant le processus de synthèse.

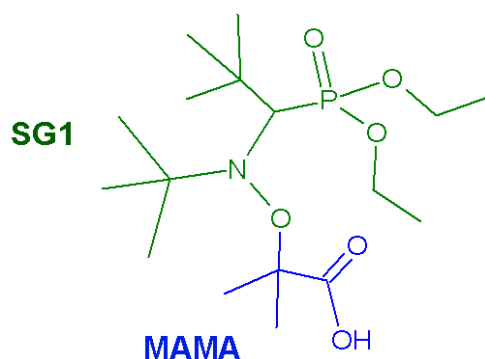


**Schéma 4 :** Principe de la NMP.  $k_d$ ,  $k_c$ ,  $k_p$ , et  $k_t$  représentent respectivement les constantes cinétiques des réactions de dissociation, combinaison, propagation et terminaison

Actuellement, le TEMPO (radical 2,2,6,6-tétraméthylpipéridine-1-oxyle) et le SG1 (radical *N*-tertobutyl-*N*-(1-diéthylphosphoryl-2,2'-diméthylpropyl)aminoxyle), introduits respectivement par Solomon *et al.*<sup>10</sup> et par Tordo *et al.*<sup>11</sup>, figurent parmi les nitroxydes les plus utilisés. De nombreuses alcoxyamines dérivées du TEMPO et du SG1 ont également été développées, notamment la MAMA-SG1 (acide 2-méthyl-2[*N*-tert-butyl-*N*-(1-diéthylphosphoryl-2,2'-diméthylpropyl)aminoxyle]propanoïque), dont la structure est reportée Schéma 5.

<sup>10</sup> Solomon, D. H.; Rizzardo, E.; Cacioli, P. European patent application EP19840304756 19840711, 135, 280, 1985.

<sup>11</sup> Grimaldi, S.; Le Moigne, F.; Finet, J. P.; Tordo, P. CA19962185164 19960202, PCT International Patent Application 1996.



**Schéma 5** : Structure de l'alkoxyamine MAMA-SG1. Les groupements MAMA et SG1 sont respectivement représentés en bleu et vert

Cette alkoxyamine, commercialisée par la société ARKEMA sous le nom de BlocBuilder<sup>®</sup>, a été utilisée lors de la synthèse par NMP des copolymères à blocs amphiphiles POE-*b*-PS étudiés dans cette thèse, qui présentent notamment un intérêt industriel en tant qu'électrolyte pour des batteries au lithium<sup>12</sup>. Leur synthèse a été réalisée par le Dr. T. N. T. Phan, Maître de Conférences de l'Université de Provence (Laboratoire Chimie Provence, Equipe Chimie Radicalaire Organique et Polymères de Spécialité).<sup>13</sup>

Le principe de cette synthèse consiste à fonctionnaliser un POE commercial à l'aide d'un chlorure d'acryloyle puis de la macroalkoxyamine MAMA-SG1 (Schéma 6). La liaison fragile C-ON reliant le nitroxyde au groupement terminal du polymère fonctionnalisé  $P_n$  permet de faire polymériser le second bloc par addition de styrène. Le protocole de cette synthèse est décrit plus en détails en annexe 1.

<sup>12</sup> Singh, M.; Odusanya, O.; Wilmes, G. M.; Eitouni, H. B.; Gomez, E. D.; Patel, A. J.; Chen, V. L.; Park, M. J.; Fragouli, P.; Iatrou, H.; Hadjichristidis, N.; Cookson, D.; Balsara, N. P., Effect of Molecular Weight on the Mechanical and Electrical Properties of Block Copolymer Electrolytes. *Macromolecules* **2007**, 40, (13), 4578-4585.

<sup>13</sup> Girod, M.; Phan, T. N. T.; Charles, L., Microstructural study of a nitroxide-mediated poly(ethylene oxide)/polystyrene block copolymer (PEO-*b*-PS) by electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **2008**, 19, (8), 1163-1175.

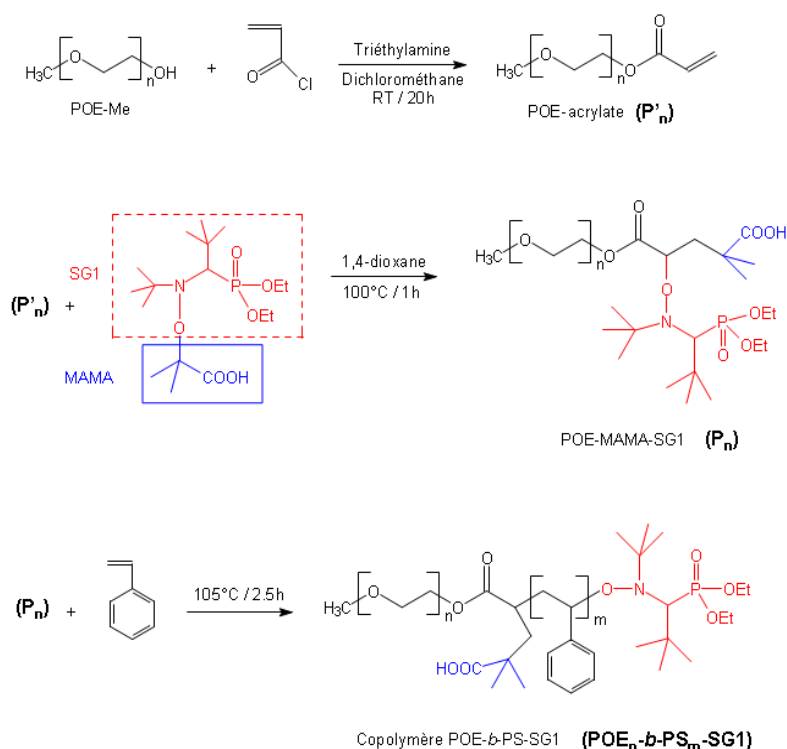


Schéma 6 : Synthèse d'un copolymère POE-*b*-PS-SG1 par NMP

### 1.3. MICROSTRUCTURE DES POLYMERES

Le terme de structure (ou microstructure) recouvre en réalité des aspects très différents en science des matériaux :

- **La structure primaire** qui regroupe la structure moléculaire et la structure conformationnelle. La première correspond à la détermination d'un certain nombre de paramètres tels que la nature chimique du (ou des) monomère(s) et des groupements terminaux, la composition en monomères, la nature du polymère ou les paramètres de distribution en masse. La seconde fait référence à la notion de tacticité ;
- **La structure secondaire** correspond à la conformation d'une chaîne isolée. Dans la majorité des cas, en solution, les chaînes polymériques sont sous forme de pelote statistique sauf pour les polymères rigides.
- **La structure tertiaire** influence la nature du matériau obtenu selon que les chaînes sont désorganisées, sous forme de pelotes statistiques (matériau amorphe) ou au contraire sous forme organisée (matériau cristallin). Cependant, très peu de polymères sont strictement cristallins

comme le Téflon<sup>®</sup>, la plupart des polymères étant constitués à la fois d'une partie amorphe et d'une partie cristalline. La structure tertiaire d'un polymère peut aisément être évaluée par analyse thermique, via son pourcentage de cristallinité.<sup>1</sup>

Les techniques spectroscopiques qui ont été utilisés dans ces travaux de thèse donnent principalement accès à la détermination des structures primaire et secondaire des polymères.

### 1.3.1. Structure moléculaire

Comme indiqué à la section précédente, la structure moléculaire se caractérise par un certain nombre de paramètres qui sont explicités ci-dessous :

- **Nature du monomère.** Les polymères sont définis comme étant la répétition d'un ou plusieurs motifs monomériques. Ils auront donc des propriétés complètement différentes selon la nature des monomères qui composent la chaîne.
- **Groupements terminaux.** Les polymères sont aussi définis par leurs groupements terminaux (encore appelés bouts de chaîne) qui résultent généralement du processus de polymérisation employé. Ils seront notés ici X et Y.
- **Composition en monomères.** La composition en monomères est définie comme la proportion de chaque unité monomérique présente dans un copolymère. Ce paramètre peut être contrôlé lors de la synthèse et dépend du type de polymérisation utilisé.
- **Nature du polymère.** On entend par nature du polymère l'agencement des monomères (ou comonomères) au sein des molécules (ex : homopolymères linéaires ou branchés, copolymères alternés, statistiques ou à blocs...).
- **Paramètres de distribution.** Quelle que soit la technique de polymérisation employée, la synthèse de polymères s'accompagne inévitablement de réactions parasites, telles que les réactions de terminaison ou de transfert, conduisant à une distribution de chaînes de longueurs différentes.<sup>14</sup> C'est pourquoi un polymère n'est pas une espèce isomoléculaire mais un mélange de macromolécules (ou oligomères) de différentes tailles et, pour un hétéropolymère, de compositions variées. Pour éviter toute ambiguïté par la suite, il est important de souligner ici la différence terminologique que font les polyméristes et les spectrométristes de masse concernant le

---

<sup>14</sup> Rempp, P.; Merril, E. W., *Polymer Synthesis*. 2nd ed: Hüthig-Wepf, Basel: 1991;

terme « oligomère ». Les polyméristes emploient le terme oligomère pour désigner un polymère de petite taille composé généralement de chaînes comportant 4 à 20 unités monomériques. Probablement issu d'un abus de langage, le terme oligomère, en spectrométrie de masse, signifie « molécule individuelle au sein d'un polymère ». De fait, on ne trouve presque jamais de polymère synthétique pour lequel toutes les chaînes ont la même masse moléculaire, mais on observe plutôt une distribution statistique des masses moléculaires qui peut prendre l'allure d'une gaussienne. Par conséquent, lorsqu'il s'agit de polymères synthétiques, on parlera de masse moléculaire moyenne, cette dernière pouvant être évaluée de différentes façons comme nous le verrons par la suite. Cette distribution de masses, centrée sur la masse moléculaire initialement visée lors de la synthèse, est alors caractérisée par trois grandeurs : la masse moléculaire moyenne en nombre ( $M_n$ ), la masse moléculaire moyenne en masse ( $M_w$ ) et l'indice de polydispersité ( $I_p$ ) défini comme le rapport entre  $M_w$  et  $M_n$ .

Ces grandeurs peuvent être reliées à des propriétés macroscopiques, et notamment mécaniques, du polymère. De plus, la nature et la composition en unités du polymère peuvent lui conférer des propriétés telles que la stabilité thermique ou chimique, la résistance aux flammes, ainsi que des propriétés optiques ou mécaniques. La nature des groupements terminaux peut quant à elle avoir une importance sur la vitesse de dégradation du matériau si la liaison fragile liant le groupement terminal au polymère se rompt.

### 1.3.2. Structure configurationnelle

La notion de tacticité implique la présence, dans le polymère, d'unités monomères possédant un centre asymétrique et donc des configurations  $R$  ou  $S$ . La tacticité d'un polymère est de ce fait définie comme la régularité configurationnelle relative des unités monomères successives. On distingue trois qualifications en terme de tacticité :

- **Isotactique (I)** : toutes les unités monomériques constituant le polymère ont la même configuration absolue ( $R$  ou  $S$ ),
- **Syndiotactique (S)** : il existe une alternance de configurations  $R$  et  $S$ ,
- **Hétérotactique (H) ou atactique** : la location des monomères de configuration  $R$  ou  $S$  est totalement aléatoire.

## 2. CARACTERISATION DES POLYMERES

Dans la suite de ce chapitre, certaines techniques analytiques permettant d'appréhender les différents paramètres microstructuraux décrits à la section précédente seront abordées, essentiellement

dans le cas d'homopolymère, en insistant plus particulièrement sur la RMN et la SM qui ont été utilisées au cours de ces travaux de thèse.

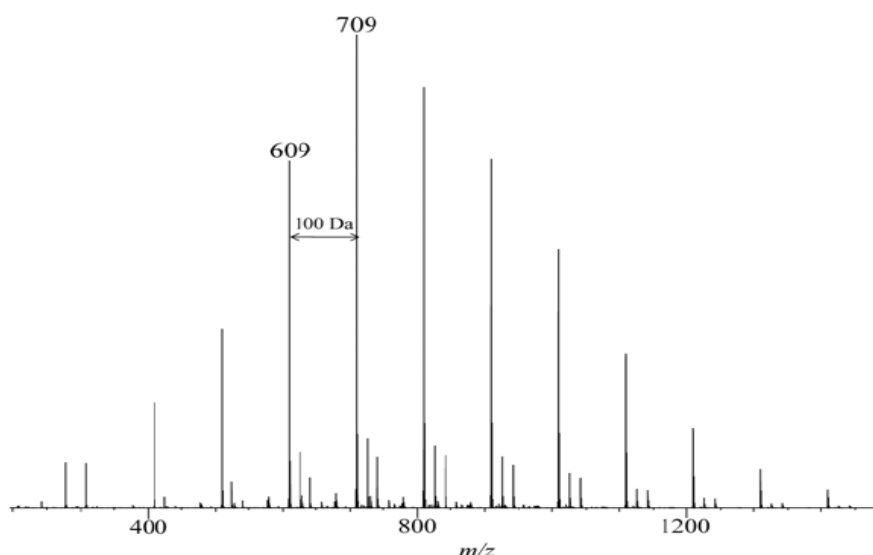
## 2.1. DETERMINATION DE LA NATURE DU MONOMERE

La détermination de la structure primaire du polymère consiste en premier lieu à identifier les unités monomériques qui constituent le squelette polymérique. Si les analyses élémentaires permettent d'obtenir la formule brute du polymère, elles ne permettent pas d'accéder à la structure du polymère recherché.

En revanche, la spectrométrie de masse apparaît comme une technique de choix pour la confirmation de l'unité monomérique des polymères puisque les spectres de masse sont caractéristiques de chaque type de polymères. D'abord étudiée avec des méthodes d'ionisation telles que l'ionisation électronique (EI pour Electron Ionization) ou encore l'émission ionique secondaire (SIMS pour Secondary Ion Mass Spectrometry), c'est avec le développement des techniques d'ionisation douce (*Annexe 2*) telles que l'ionisation electrospray (ESI pour ElectroSpray Ionization) ou l'ionisation desorption laser assistée par matrice (MALDI pour Matrix Assisted Laser Desorption Ionization) que la spectrométrie de masse des polymères a connu un grand essor.

Un homopolymère a pour formule générale  $X-A_n-Y$ , où  $X$  et  $Y$  représentent les groupements terminaux,  $A$  l'unité monomérique et  $n$  le degré de polymérisation. Pour être observé en spectrométrie de masse, chaque oligomère doit être ionisé sous la forme d'un adduit  $[X-A_n-Y+zC]^{z+}$ , où  $C$  représente le monocation adduit et  $z$  le nombre de cations adduits. Dans le cas de macromolécules acides, une ionisation en mode négatif peut être envisagée, la forme de l'ion est alors du type  $[X-A_n-Y - zH]^{z-}$ .

Chaque oligomère ainsi ionisé présente sur le spectre de masse un signal constitué de plusieurs pics, correspondant aux rapports  $m/z$  de ses différentes formes isotopiques. Les pics au sein d'un massif isotopique étant distants de  $1/z$  unité de masse, il est donc aisé de déterminer la charge  $z$  de l'ion observé, dès lors que le pouvoir résolutif de l'analyseur est suffisant. L'ensemble des signaux des oligomères constitue une distribution gaussienne au sein de laquelle les différents pics sont équidistants d'une valeur  $m_A/z$ . La masse du monomère  $m_A$  peut donc être rapidement déterminée à partir du spectre MS. Ainsi, deux polymères qui possèdent des unités monomériques de masse différente produiront des spectres de masse où l'écart entre deux pics consécutifs au sein de la distribution sera différent. Par exemple, dans le cas d'un poly(méthacrylate de méthyle) chargé une fois, les pics au sein de la distribution seront espacés de 100 Da (Figure 1).


**Figure 1** : Spectre ESI(+)-MS d'un poly(méthacrylate de méthyle)

Les masses, les structures et appellations de certains monomères parmi les plus étudiés sont reportées dans le Tableau 1.

**Tableau 1** : Structure et masse de monomères communs

Acronyme	Structure moléculaire	Masse du monomère (g mol <sup>-1</sup> )	Désignation courante
PE		28	poly(éthylène)
PP		42	poly(propylène)
PVC		62	poly(chlorure de vinyle)
PS		104	poly(styrène)
PMAM		100	poly(méthacrylate de méthyle)
PAMA		86	poly(acide méthacrylique)



En RMN, la détermination de la nature du ou des monomères s'effectue par interprétation spectrale. Dans le cas où le polymère est connu, il suffit de relever les déplacements chimiques  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  caractéristiques de l'espèce polymérique considérée. Dans le cas où la structure des monomères n'est pas connue, la RMN apporte de précieuses informations structurales, indispensables à la caractérisation du polymère en complément de la détermination de la masse du monomère par spectrométrie de masse.

## 2.2. DETERMINATION DE LA NATURE DES GROUPEMENTS TERMINAUX

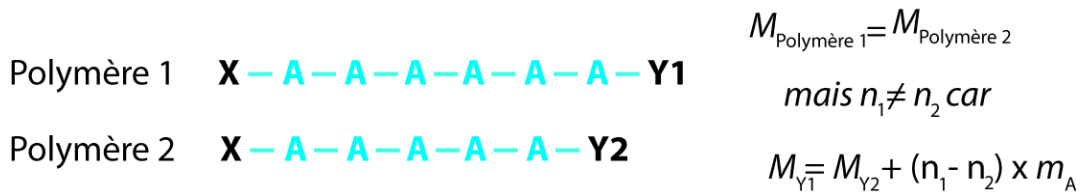
La détermination des groupements terminaux est une étape cruciale de l'analyse des polymères car leur connaissance apporte des informations fondamentales sur le processus de polymérisation utilisé. Cette information est également essentielle pour envisager des modifications chimiques ultérieures, pour la synthèse de polymères à architecture complexe par exemple. Les techniques de titrage (conductimétrique, UV-visible) peuvent être appliquées à la caractérisation des groupements terminaux. Toutefois, ces méthodes analytiques, longues à mettre en œuvre, sont spécifiques de certains types de groupements terminaux et sont limitées aux polymères de basse masse moléculaire.

La spectrométrie de masse est une technique analytique de choix pour confirmer la nature des groupements terminaux. Le rapport  $(m/z)_{\text{exp}}$  mesuré pour un ion oligomère au sein du spectre de masse s'exprime de la manière suivante :

$$\left(\frac{m}{z}\right)_{\text{exp}} = \frac{m_A \times n + (m_X + m_Y + zm_{\text{cation}})}{z} \quad \text{Eq. 1}$$

où  $m_A$  représente la masse de l'unité monomérique,  $m_{\text{cation}}$  la masse du cation adduit à la chaîne polymérique,  $m_X$  et  $m_Y$  les masses respectives des groupements terminaux  $X$  et  $Y$ , et  $z$  le nombre de charges cationiques adduites.

A partir de l'équation 1, si la masse du cation adduit est connue et la masse de l'unité monomérique déterminée, la détermination de la somme  $(m_X + m_Y)$  peut confirmer une hypothèse de structure de groupement terminal, par exemple donnée par RMN, et le degré de polymérisation peut être obtenu. En revanche, dans le cas de groupements terminaux inconnus, cette première approche ne permet pas de connaître le nombre exact d'unités monomériques. En effet, deux oligomères peuvent posséder la même masse moléculaire mais différer en termes de  $n$  et de  $(m_X + m_Y)$  comme illustré Schéma 7.



**Schéma 7 :** Représentation de deux homopolymères linéaires de même masse malgré des groupements terminaux et des degrés de polymérisation  $n$  différents

Ainsi, les solutions de l'équation 1 pour la masse des groupements terminaux deviennent une fonction du nombre d'unités monomériques. Nous pouvons alors définir une masse résiduelle  $(m_X + m_Y)_{\min}$  comme étant la masse minimale des groupements terminaux qui est associée au nombre maximal d'unités monomériques  $n_{\max}$  dans l'oligomère considéré. La valeur  $n_{\max}$  est la partie entière notée E, du nombre obtenu en faisant l'hypothèse  $(m_X + m_Y)_{\min} = 0$ .

$$n_{\max} = E \left( \frac{(m/z)_{\text{exp}} z - z m_{\text{cation}}}{m_A} \right) \quad \text{Eq. 2}$$

A partir de cette valeur  $n_{\max}$ , il est possible de spéculer sur le degré de polymérisation  $n$  de chaque oligomère au sein d'une distribution.

$$\left( \frac{m}{z} \right)_{\text{exp}} = \frac{m_A}{z} \times n_{\max} + \frac{((m_X + m_Y)_{\min} + z m_{\text{cation}})}{z} \quad \text{Eq. 3}$$

Cette équation montre qu'il existe une relation linéaire entre  $(m/z)_{\text{exp}}$  et  $n_{\max}$ , dont  $m_A/z$  est le coefficient directeur et  $\frac{(m_X + m_Y)_{\min}}{z} + m_{\text{cation}}$  l'ordonnée à l'origine. La masse résiduelle  $(m_X + m_Y)_{\min}$  peut donc être graphiquement déterminée par extrapolation de cette droite à l'origine. On peut finalement en déduire la valeur de la somme des masses des groupements terminaux qui s'exprime sous la forme de l'équation suivante :

$$(m_X + m_Y) = (m_X + m_Y)_{\min} + k m_A \quad \text{Eq. 4}$$

où  $k$  est un entier naturel.

En l'absence de points proches de l'origine (c'est-à-dire dans le cas d'oligomères de degré  $n$  élevé), cette méthode de régression peut induire une erreur importante sur la valeur de l'ordonnée à l'origine. La méthode des moyennes constitue alors une approche plus longue mais plus précise.

A partir de la valeur  $(m/z)_{\text{exp}}$  mesurée pour chaque oligomère dans le spectre de masse, on calcule la masse de chaque molécule, selon l'équation 5.

$$m_{\text{oligomère}} = \left( \frac{m}{z} \right)_{\text{exp}} z - z \cdot m_{\text{cation}} \quad \text{Eq. 5}$$

A partir de la relation qui lie la masse de l'oligomère à la somme des masses des groupements terminaux on calcule une valeur  $(m_X + m_Y)_{\text{min}}$  pour chaque molécule et on réalise la moyenne (Eq. 6).

$$(m_X + m_Y) = m_{\text{oligomère}} - (m_A \times n_{\text{max}}) \quad \text{Eq. 6}$$

Les méthodes de spectrométrie de masse décrites précédemment permettent seulement de déterminer la somme des masses des groupements terminaux. Des informations sur la masse individuelle de chaque groupement X et Y peuvent être obtenues à l'aide d'expériences de spectrométrie de masse en tandem. Lors de ces expériences, un oligomère particulier peut être sélectionné et soumis à dissociation induite par collision. Sachant que chaque type de polymère se fragmente suivant des règles précises,<sup>15</sup> il est possible d'obtenir des informations sur la masse de chaque groupement terminal si les réactions de dissociation du polymère se produisent via des ruptures de la chaîne.

La RMN est également largement utilisée pour caractériser la structure des groupements terminaux d'un polymère. La méthode est assez générale puisqu'elle ne dépend pas, dans la plupart des cas, de la nature chimique des groupements terminaux analysés. Ainsi, dès lors que la sensibilité et la résolution spectrale sont suffisantes, l'analyse et l'interprétation des déplacements chimiques des spectres <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C renseignent efficacement sur la présence de certaines fonctions ou groupements particuliers, permettant ainsi de proposer des hypothèses de structure. Celles-ci peuvent ensuite être affinées grâce à l'utilisation d'expériences RMN à une ou plusieurs dimensions (1D ou nD). Un grand nombre d'expériences RMN à plusieurs dimensions a été développé dans le but de caractériser la structure de polymères complexes. Les plus utilisées sont fondées sur l'observation des noyaux <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C et permettent d'élucider entièrement la structure des groupements terminaux d'un polymère au moyen de corrélations scalaires ou dipolaires de nature homo- ou hétéronucléaire (COSY, NOESY, HSQC, HMBC, HOESY,...).<sup>16,17</sup> Néanmoins, cette analyse structurale se complique sévèrement

---

<sup>15</sup> Wesdemiotis, C.; Solak, N.; Polce, M. J.; Dabney, D. E.; Chaicharoen, K.; Katzenmeyer, B. C., Fragmentation pathways of polymer ions. *Mass Spectrometry Reviews*, 2011, 30, 523– 559.

<sup>16</sup> S. Braun, H. O. K., S. Berger, *150 and More Basic NMR Experiments*. Wiley-VCH: Weinheim, 1998;

<sup>17</sup> Rinaldi, P. L., Three-dimensional solution NMR spectroscopy of complex structures and mixtures. *Analyst* **2004**, 129, (8), 687-699.

lorsque la masse moléculaire du polymère analysé augmente. En effet, les signaux RMN relatifs aux groupements terminaux deviennent dans ce cas difficilement détectables car leur intensité est très faible par rapport à celle des signaux de la chaîne polymérique.

### 2.3. DETERMINATION DES PARAMETRES DE DISTRIBUTION

#### ➤ *Masses moléculaires moyennes en nombre $M_n$ et en masse $M_w$*

La masse moléculaire moyenne en nombre correspond à la masse totale de tous les oligomères d'un échantillon divisée par le nombre total d'oligomères dans l'échantillon. Ce paramètre  $M_n$  donne une idée de la flexibilité et de l'adhésion du polymère, propriétés qui sont liées à la proportion de constituants de faible masse moléculaire. La masse moléculaire moyenne en nombre  $M_n$  peut être exprimée selon :

$$M_n = \frac{\sum N_i M_i}{\sum N_i} \quad \text{Eq. 7}$$

où  $N_i$  représente le nombre d'oligomères de degré de polymérisation  $i$  et de masse  $M_i$ . La définition de la masse moléculaire moyenne en masse ( $M_w$ ) est quant à elle basée sur le constat selon lequel une molécule de masse élevée contient davantage de la masse totale de l'échantillon de polymère qu'une molécule de faible masse. Elle est définie par l'équation 8. Le paramètre  $M_w$  reflète la quantité de constituants de masse moléculaire élevée, qui ont une incidence plus particulière sur la résistance mécanique du polymère.

$$M_w = \frac{\sum N_i M_i^2}{\sum N_i M_i} \quad \text{Eq. 8}$$

#### ➤ *Indice de polydispersité ou polymolécularité $I_p$*

La polydispersité (ou polymolécularité) représente l'inhomogénéité en masse de l'échantillon et se définit selon :

$$I_p = \frac{M_w}{M_n} \quad \text{Eq. 9}$$

On appelle alors « polymère isomoléculaire » un polymère ayant un indice de polydispersité proche de 1 (seuls des polymères naturels peuvent posséder un  $I_p$  exactement égal à 1). Le mode de polymérisation influe grandement sur le contrôle des distributions de masses<sup>12</sup> (Tableau 2).

**Tableau 2 :** Indice de polydispersité moyen obtenu en fonction de la méthode de polymérisation employée

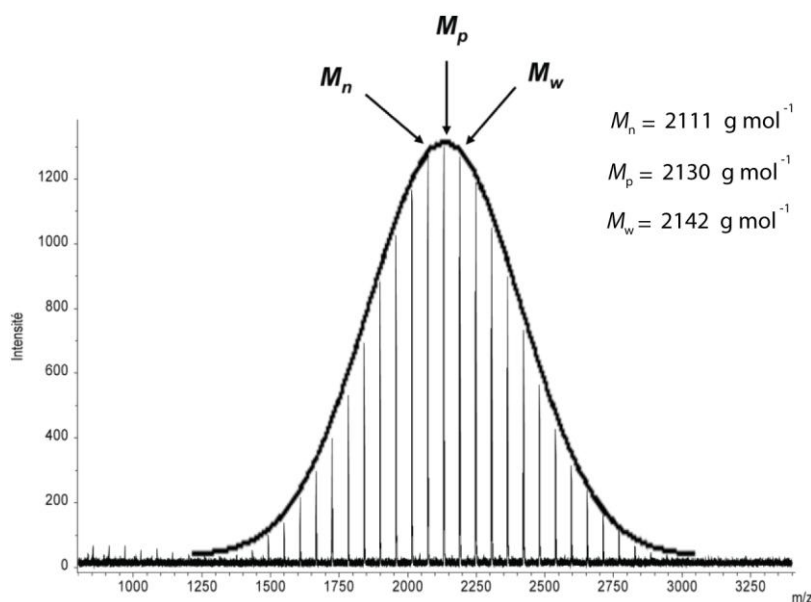
Type de polymérisation	$I_p$
Polycondensation	2,0 à 4,0
Radicalaire non contrôlée	1,5 à 3,0
Radicalaire contrôlée	1,2 à 1,5
Anionique	1,0 à 1,5

La masse moléculaire et la polydispersité constituent donc des grandeurs extrêmement importantes pour contrôler l'avancement de la réaction. De nombreuses techniques analytiques permettent la détermination de ces paramètres. Ainsi, on recense des méthodes *absolues*, parmi lesquelles la spectrométrie de masse, la RMN  $^1\text{H}$ , l'osmométrie, l'ultracentrifugation analytique, la diffusion de la lumière, et des méthodes *relatives*, c'est-à-dire basées sur un étalonnage, telles que la Chromatographie d'Exclusion Stérique SEC, le Fractionnement par couplage Flux/Force FFF, la RMN PGSE ou la viscosimétrie.

### 2.3.1. Les méthodes absolues

#### 2.3.1.a. La spectrométrie de masse

Les paramètres de distribution définis précédemment (Eq. 7 à 9) peuvent être déterminés à partir d'un spectre de masse,  $N_i$  étant assimilé à l'intensité ou à l'aire du pic correspondant à l'oligomère de masse  $M_i$  déduite du rapport  $m/z$  de l'ion oligomère. La spectrométrie de masse permet également la détermination de la valeur modale de la masse moléculaire. Cette masse moléculaire la plus probable, notée  $M_p$ , est donnée par le pic d'intensité maximale dans la distribution (Figure 2).



**Figure 2 :** Exemple des paramètres de distribution  $M_n$ ,  $M_w$ ,  $M_p$  obtenus à partir du spectre MALDI-TOF MS d'un poly(propylène glycol)

Il faut noter que les valeurs de  $M_n$ ,  $M_w$  et  $M_p$  déterminées à partir d'un spectre de masse sont correctes tant que la polydispersité du polymère n'est pas trop élevée. En effet, nous supposons ici que la spectrométrie de masse permet une analyse quantitative du polymère, c'est-à-dire que l'intensité des ions détectés sur le spectre de masse reflète le nombre d'oligomères réellement présents dans l'échantillon. Cependant, comme nous l'avons évoqué précédemment, le rendement d'ionisation des différents oligomères peut dépendre de leur taille. De plus, les détecteurs généralement utilisés en spectrométrie de masse induisent un effet discriminant vis-à-vis des hautes masses, c'est-à-dire qu'ils ne détectent pas aussi bien les ions de haute masse moléculaire que ceux de faible masse. Ainsi, l'estimation précise des paramètres de distribution en spectrométrie de masse est limitée aux échantillons de polymères dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée ( $M_w < 20\,000 \text{ g mol}^{-1}$ ) et ayant un indice de polydispersité inférieur à 1,2. Dans ces conditions, la spectrométrie de masse MALDI-TOF permet de déterminer des valeurs de paramètres de distribution proches de celles obtenues par les techniques analytiques décrites dans la suite de ce chapitre. Dans le cas de polymère d'indice de polydispersité plus important, un fractionnement préalable du polymère par SEC est nécessaire.<sup>18</sup>

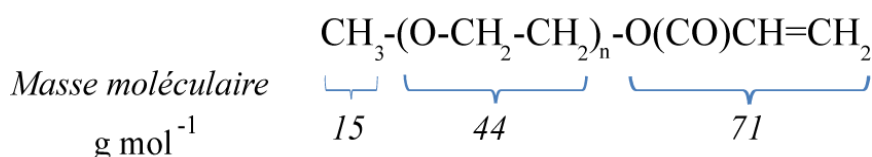
### 2.3.1.b. Résonance Magnétique Nucléaire du proton (RMN $^1\text{H}$ )

De manière générale, la RMN est une technique quantitative à condition que les expériences soient enregistrées de façon à respecter les propriétés de relaxation magnétique des noyaux étudiés.

<sup>18</sup> Sato, H.; Ichieda, N.; Tao, H.; Ohtani, H., Data processing method for the determination of accurate molecular weight distribution of polymers by SEC/MALDI-MS. *Analytical Sciences* **2004**, 20, (9), 1289-1294.

Ainsi, l'intégrale d'un signal RMN donné est proportionnelle au nombre de noyaux contribuant au signal et permet donc d'accéder à la concentration molaire de l'espèce considérée.

Dans le cas des polymères, la concentration d'un ou des groupements terminaux est mesurée par RMN  $^1\text{H}$  puis, à partir de la structure connue du polymère, la valeur du paramètre  $M_n$  peut être calculée. Expérimentalement, la démarche consiste dans un premier temps à identifier et distinguer les protons des bouts de chaîne de ceux appartenant aux unités monomériques. Une intégration précise de l'aire de tous les signaux est alors effectuée. Puisque la structure du polymère est connue, la comparaison des populations protoniques issues des groupements terminaux à celles caractérisant la chaîne polymérique permet le calcul de la valeur de  $M_n$  (en supposant toutefois que le composé est seul en solution). Cette méthodologie est communément appelée « analyse des groupements terminaux par RMN  $^1\text{H}$  ». <sup>19</sup> Prenons l'exemple d'un poly(oxyde d'éthylène) de masse moléculaire inconnue dont les groupement terminaux X et Y sont respectivement des groupements acrylate et méthyle (Schéma 8).



**Schéma 8** : Structure d'un acrylate de poly(oxyde d'éthylène) méthoxylé

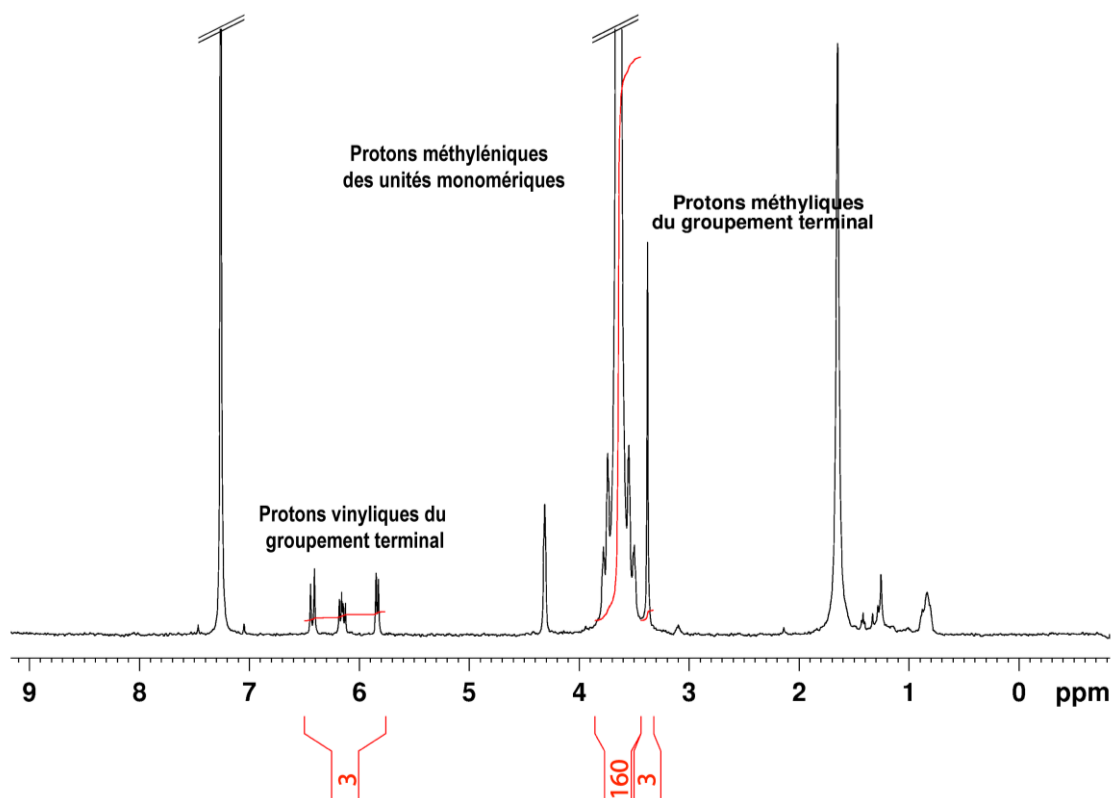
Au vu de la structure présentée ci-dessus, il est possible de formaliser la proportion relative de protons  $\alpha$ -méthyliques par rapport au  $-\text{CH}_2-$  méthyléniques des unités répétitives par :

$$\frac{I(\text{CH}_3)}{3} = n \times \frac{I(\text{CH}_2 - \text{CH}_2)}{4} \qquad \text{Eq. 10}$$

où  $I$  représente la valeur de l'intégrale du signal RMN correspondant.

Après acquisition du spectre RMN  $^1\text{H}$ , attribution et intégration des signaux (Figure 3), il nous est donc possible de déterminer dans un premier temps le nombre d'unités monomériques  $n$  (degré de polymérisation) dans le polymère.

<sup>19</sup> Tonelli, A. E., *NMR Spectroscopy and Polymer Microstructure: The Conformational Connection*. Wiley-VCH: New York 1989;



**Figure 3 :** Spectre RMN  $^1\text{H}$  d'un acrylate de poly(oxyde d'éthylène) méthoxylé de masse moléculaire inconnue

Après application numérique, on obtient un degré de polymérisation  $n$  égal à 40, ce qui nous permet de calculer dans un deuxième temps la valeur de  $M_n$  de ce polymère :

$$M_n = (15 + 71) + (44 \times 40) \approx 1\,845 \text{ g mol}^{-1}.$$

De manière générale, les valeurs de  $M_n$  calculées à partir de l'analyse des groupements terminaux sont en accord avec celles déterminées par MALDI-TOF MS. Cependant, l'analyse des groupements terminaux par RMN s'avère limitée à des polymères n'excédant pas  $10\,000 \text{ g mol}^{-1}$ , valeur pour laquelle cette technique peut déjà s'avérer extrêmement imprécise, comme l'ont expérimenté Bozanko *et al.* lors de l'étude de polymères zwitterioniques.<sup>20</sup> En effet, la sensibilité de l'instrument et sa capacité à détecter les protons des groupements terminaux (de plus faible abondance que ceux des unités répétitives) sont déterminantes pour la précision des mesures.

### 2.3.1.c. L'osmométrie

Cette technique repose sur la mesure de la pression osmotique  $\Pi$  de solutions diluées de polymère. En 1887, Van't Hoff a établi que la pression osmotique se comportait comme la pression

<sup>20</sup> Bozanko, A.; Carswell, W. D.; Hutchings, L. R.; Richards, R. W., Synthesis of  $[\alpha],[\omega]$ -macrozwitterionic polymers. End group analysis by SEC. *Polymer* **2000**, 41, (23), 8175-8182.



d'un gaz et que la loi des gaz parfaits était applicable pourvu que l'on maintienne le système dans des conditions proches des conditions prévalant pour les gaz parfaits<sup>21</sup>. Ainsi, on peut écrire :

$$\Pi V = nRT \quad \text{Eq. 11}$$

avec  $V$  le volume molaire de solution ( $\text{L mol}^{-1}$ ) dans lequel  $n$  molécules de soluté sont dissoutes,  $R$  la constante des gaz parfaits ( $\text{J mol}^{-1} \text{K}^{-1}$ ) et  $T$  la température (K). Dans le cas d'un polymère, en notant  $C$  la concentration massique de la solution ( $\text{g L}^{-1}$ ), l'équation 11 peut s'écrire :

$$\Pi = \frac{RTC}{M_n} \quad \text{Eq. 12}$$

McMillan et Mayer<sup>22</sup> ont montré que, pour des composés non électrolytiques, la pression osmotique pouvait s'exprimer sous la forme d'une équation du Viriel :

$$\frac{\Pi}{RT} = \frac{C}{M_n} + A_2 C^2 + A_3 C^3 + \dots \quad \text{Eq. 13}$$

où  $A_i$  représente le  $i^{\text{ème}}$  coefficient du Viriel. La quantité  $\Pi/RTC$  peut alors être calculée pour chacune des solutions diluées et reportée sur un graphe en fonction de  $C$ . Le graphe ainsi obtenu est une droite dont l'ordonnée à l'origine par extrapolation à dilution infinie permet d'atteindre la valeur du rapport  $RT/M_n$ , donnant ainsi accès à la masse moléculaire moyenne en nombre  $M_n$  du polymère.

Le domaine d'application de l'osmométrie permet d'analyser des polymères jusqu'à une masse moléculaire moyenne en nombre de  $100\,000 \text{ g mol}^{-1}$  et la précision diminue pour des masses plus importantes. Il est aussi à noter que l'osmométrie ne permet d'atteindre que la valeur du paramètre  $M_n$  et non celle du paramètre  $M_w$ , signifiant de fait que la polydispersité de l'échantillon ne peut être évaluée.

Utilisée complémentirement à la spectrométrie de masse MALDI-TOF, l'osmométrie a déjà été appliquée avec succès pour déterminer la valeur de  $M_n$  de polymères en étoile de hautes masses moléculaires allant de  $50\,000$  à  $100\,000 \text{ g mol}^{-1}$ , après modification chimique.<sup>23</sup> Lors de l'étude d'une

<sup>21</sup> Vanthoff, J. H., The Role of Osmotic-Pressure in the Analogy between Solutions and Gases (Reprinted from *Zeitschrift Fur Physikalische Chemie*, Vol 1, Pg 481, 1887). *Journal of Membrane Science* **1995**, 100, (1), 39-44.

<sup>22</sup> McMillan, J. W. G.; Mayer, J. E., The Statistical Thermodynamics of Multicomponent Systems. *The Journal of Chemical Physics* **1945**, 13, (7), 276-305.

<sup>23</sup> Lapienis, G.; Penczek, S., Reaction of oligoalcohol with diepoxides: An easy, one-pot way to star-shaped, multibranched polymers. II. Poly(ethylene oxide) Stars - Synthesis and analysis by size exclusion chromatography triple-detection method. *Journal of Polymer Science Part a-Polymer Chemistry* **2004**, 42, (7), 1576-1598.

large gamme de poly(éthylméthylsiloxane)s excédant  $15\,000\text{ g mol}^{-1}$ , Götz *et al.*<sup>24</sup> ont reporté que les valeurs de  $M_n$  obtenues par osmométrie étaient en parfait accord avec celles déterminées par MALDI-TOF-MS, ces valeurs pouvant par suite être introduites dans des courbes d'étalonnage pour les mesures par SEC.

### 2.3.1.d. L'ultracentrifugation analytique

Inventée et mise au point au début des années 1920 par Svedberg (Prix Nobel de Chimie en 1926), l'ultracentrifugation est basée sur la centrifugation à très grande vitesse<sup>25</sup>. Dans le champ de pesanteur, la vitesse de sédimentation de particules en suspension est directement proportionnelle à leur masse. Dans des ultracentrifugeuses (allant jusqu'à  $60\,000\text{ tours min}^{-1}$ ), la force de gravité est remplacée par une force centrifuge qui est plusieurs centaines de milliers de fois plus importante et suffisante pour sédimenter des macromolécules telles que les polymères.

Par ultracentrifugation, une particule de masse  $m$  (kg) située à une distance radiale  $r$  (m) dans un rotor tournant à une vitesse angulaire  $\omega$  ( $\text{rad s}^{-1}$ ) est soumise à une force centrifuge  $F_c$  (N) telle que

$$F_c = m_{\text{eff}} r \omega^2 \quad \text{Eq. 14}$$

où  $m_{\text{eff}} = bm$  représente la masse de la particule dans le liquide (kg), avec  $b = 1 - \rho V_s$  où  $\rho$  représente la masse volumique du solvant utilisé ( $\text{kg m}^{-3}$ ) et  $V_s$  le volume partiel spécifique du soluté ( $\text{m}^3 \text{kg}^{-1}$ ). La force de friction  $F_d$  (N), opposée à la force centrifuge, est proportionnelle à la vitesse de sédimentation de la particule notée  $s$  ( $\text{m s}^{-1}$ ), selon :

$$F_d = f \times s \quad \text{Eq. 15}$$

où  $f$  est une constante de proportionnalité appelée facteur de friction ( $\text{J s m}^{-2}$ ).

Ainsi, l'équilibre des forces  $F_d = F_c$  permet de définir une constante de sédimentation  $S$  (dont l'unité est le Svedberg =  $10^{-13}\text{ s}$ ) et qui laisse apprécier la vitesse de migration d'une particule soumise à une force centrifuge :

$$S = \frac{s}{r \omega^2} \quad \text{Eq. 16}$$

En notant  $M$  la masse molaire de la particule ( $\text{kg mol}^{-1}$ ) et  $N_a$  le nombre d'Avogadro ( $\text{mol}^{-1}$ ), on obtient :

<sup>24</sup> Gotz, H.; Maschke, U.; Wagner, T.; Rosenauer, C.; Martin, K.; Ritz, S.; Ewen, B., Comparison of different methods for the determination of the molar mass and molar mass distribution of poly(ethylmethylsiloxane). *Macromolecular Chemistry and Physics* **2000**, 201, (12), 1311-1316.

<sup>25</sup> Svedberg, T.; Pedersen, K. O., *The Ultracentrifuge*. Oxford University Press: London, U.K., 1940;

$$S = \frac{b m r \omega^2}{f r \omega^2} = \frac{b M}{f N_a} \quad \text{Eq. 17}$$

qui dépend de la viscosité du milieu et de la forme de la particule. Or le facteur de friction  $f$  d'une particule peut être relié à son coefficient d'autodiffusion  $D$  ( $\text{m}^2 \text{s}^{-1}$ ) à dilution infinie grâce à la relation d'Einstein-Smoluchowski :

$$f = \frac{kT}{D} \quad \text{Eq. 18}$$

avec  $k$  la constante de Boltzmann ( $\text{J K}^{-1}$ ) et  $T$  la température absolue (K).

Il s'en suit que la constante de sédimentation permet de déduire la masse molaire  $M$  de la particule ( $\text{kg mol}^{-1}$ ) tel que :

$$M = \frac{k N_a S T}{b D} \quad \text{Eq. 19}$$

puisque  $D$  peut être déterminé expérimentalement.

Dans le cas des polymères, en combinant la valeur de  $D$  obtenue à celle du  $S$  moyen en masse ou en nombre, la valeur du paramètre  $M_w$  ou  $M_n$  peut être déterminée. L'application de la méthode d'ultracentrifugation pour calculer les distributions de masses moléculaires est extrêmement complexe mais s'est déjà avérée fructueuse.<sup>26</sup>

Bien que l'ultracentrifugation analytique soit une technique utilisée pour l'analyse des paramètres de distribution de biopolymères, elle n'est que peu appliquée aux polymères synthétiques pour des raisons de complexité comparé aux autres méthodes détaillées au cours de ce chapitre.

### 2.3.1.e. La diffusion de la lumière

Dans les méthodes reposant sur la diffusion élastique de rayonnement, une onde monochromatique (de longueur d'onde  $\lambda$  plus grande que la taille des particules en solution) traverse une solution très diluée de soluté, dont une partie est déviée à différents angles  $\theta$  par les atomes constituants l'échantillon<sup>27</sup>. Ainsi,  $\theta$  représente l'angle entre le rayon incident et la direction de détection. Les ondes ainsi dispersées produisent des interférences dont l'analyse peut fournir des renseignements sur certaines caractéristiques de l'échantillon. Les solutions utilisées doivent être

<sup>26</sup> Michels, J. J.; O'Connell, M. J.; Taylor, P. N.; Wilson, J. S.; Cacialli, F.; Anderson, H. L., Synthesis of conjugated polyrotaxanes. *Chemistry-a European Journal* **2003**, 9, (24), 6167-6176.

<sup>27</sup> Schärfl, W., *Light scattering from polymer solutions & nanoparticle dispersions*. 1st ed.; Springer: 2007;

exemptes de poussières et sont habituellement filtrées ou centrifugées. L'intensité moyenne d'une lumière diffusée dépend de la polarisabilité, qui dépend elle-même de l'indice de réfraction.

L'intensité de la lumière diffusée est normalisée vis-à-vis de la distance échantillon-détecteur et de l'intensité du rayon incident :

$$R_{\theta} = \frac{I_{\theta}}{I_0} = K_{opt} P_{\theta} C M \quad \text{Eq. 20}$$

avec  $I_{\theta}$  l'intensité de lumière diffusée à l'angle  $\theta$ ,  $K_{opt}$  une constante optique dépendante de l'indice de réfraction de la solution ( $\text{mol m}^2 \text{ kg}^{-2}$ ),  $P_{\theta}$  un facteur de forme relié à la taille de la particule,  $C$  la concentration massique ( $\text{kg m}^{-3}$ ) et  $M$  la masse molaire de la particule ( $\text{kg mol}^{-1}$ ); pour des molécules beaucoup plus petites que  $\lambda$ ,  $P_{\theta} \sim 1$ . Ce ratio  $I_{\theta}/I_0$  est appelé rapport de Rayleigh et est généralement noté  $R_{\theta}$  ( $\text{m}^{-1}$ ).

Dans le cas des polymères, la diffusion de la lumière dépend de la masse moléculaire moyenne en masse  $M_w$ . Si la taille des molécules de polymère est environ 10 fois inférieure à celle de la longueur d'onde  $\lambda$  utilisée, le facteur de forme  $P_{\theta}$  peut s'écrire :

$$P_{\theta} \sim 1 - \frac{16\pi^2 R_g^2 \sin^2\left(\frac{\theta}{2}\right)}{3\lambda^2} \quad \text{Eq. 21}$$

où  $R_g$  représente le rayon de giration de la macromolécule, c'est-à-dire la moyenne quadratique des distances entre monomères, qui peut s'exprimer selon :

$$R_g^2 = \frac{1}{6} C_{\infty} N l^2 \quad \text{Eq. 22}$$

avec  $C_{\infty}$  un rapport caractéristique de la flexibilité de la molécule (répertorié dans la littérature relative aux polymères),  $N$  le nombre de liaisons de la chaîne et  $l$  la longueur de chaque liaison.

Comme avec l'osmométrie, la majorité des expériences de diffusion de la lumière sont réalisées à partir de solutions de polymère non-idéales malgré le fait qu'elles soient très diluées. A l'instar de l'équation 13 établie pour le calcul de la pression osmotique de solutions diluées réelles de polymère, l'équation 20 peut être transformée sous la forme d'une équation du Viriel afin de prendre en compte les inévitables interactions solvant/polymère :

$$\frac{K_{opt}C}{R_{\theta}} = \frac{1}{P_{\theta}M_w} + 2A_2C + (3A_3C^2 + \dots) \quad \text{Eq. 23}$$

où  $A_i$  représentent les coefficients du Viriel,  $A_2$  étant relié à l'interaction inter-particule. Expérimentalement, il est alors nécessaire de mesurer l'intensité de la lumière diffusée par l'échantillon à différents angles de détection  $\theta$ . Les rapports  $K_{opt}C/R_{\theta}$  peuvent être calculés et reportés en fonction de  $\sin^2(\theta/2)$  pour différentes concentrations ; le graphe ainsi obtenu est appelé graphique de Zimm. Les paramètres  $M_w$ ,  $R_g$  et  $A_2$  peuvent ainsi être déterminés à l'aide de l'équation 22 et du graphique de Zimm<sup>28</sup> par extrapolation à  $\theta = 0$  et  $C = 0$ , l'ordonnée à l'origine commune permet d'atteindre la valeur  $1/M_w$ . La pente issue de l'extrapolation à  $C = 0$  est liée à  $R_g$  et la pente de l'extrapolation à  $\theta = 0$  est reliée à  $A_2$ .

Les masses moléculaires moyennes en masse accessibles à partir de cette technique s'étendent de quelques centaines à plusieurs millions de  $\text{g mol}^{-1}$ . La technique de diffusion de la lumière a déjà été employée avec succès pour caractériser divers types de polymères comme les poly(éthylméthylsiloxane)s<sup>23</sup> allant de 4 000 à 110 000  $\text{g mol}^{-1}$ . De plus, comme l'ont montré Guttman *et al.*<sup>29</sup> pour l'analyse d'un polystyrène d'environ 7 000  $\text{g mol}^{-1}$  par différentes techniques appropriées, la valeur de  $M_w$  mesurée par diffusion de la lumière est en bon accord avec celle obtenue par MALDI-TOF MS dans l'intervalle d'incertitude estimé pour la technique ( $\pm 7,8 \%$ ). Notons néanmoins que le choix du solvant est un point essentiel inhérent à cette technique puisqu'il doit s'effectuer de sorte à obtenir une différence significative dans l'indice de réfraction vis-à-vis du soluté.

Plus conventionnellement, la diffusion de la lumière est couplée en amont à une technique chromatographique séparative telle que la SEC que nous aborderons ci-après. Récemment, Ji *et al.*<sup>30</sup> ont caractérisé des fractions de polyisobutylène par diffusion de la lumière laser à plusieurs angles (MALLS, pour Multi-Angle Laser Light Scattering) et spectrométrie de masse MALDI-TOF, et comparé les valeurs de  $M_w$  obtenues par les deux méthodes. Les résultats sont comparables (avec des écarts absolus allant de 0,7 à 18,4 %), excepté pour la fraction de plus haute masse moléculaire pour

<sup>28</sup> Zimm, B. H., The Scattering of Light and the Radial Distribution Function of High Polymer Solutions. *The Journal of Chemical Physics* **1948**, 16, (12), 1093-1099.

<sup>29</sup> Guttman, C. M.; Wetzel, S. J.; Blair, W. R.; Fanconi, B. M.; Girard, J. E.; Goldschmidt, R. J.; Wallace, W. E.; VanderHart, D. L., NIST-sponsored interlaboratory comparison of polystyrene molecular mass distribution obtained by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry: Statistical analysis. *Analytical Chemistry* **2001**, 73, (6), 1252-1262.

<sup>30</sup> Ji, H. N.; Sato, N.; Nakamura, Y.; Wan, Y. N.; Howell, A.; Thomas, Q. A.; Storey, R. F.; Nonidez, W. K.; Mays, J. W., Characterization of polyisobutylene by matrix-assisted laser Desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Macromolecules* **2002**, 35, (4), 1196-1199.

laquelle le MALDI-TOF MS sous-estime la valeur de  $M_w$  (jusqu'à -50 % environ), phénomène attribué à la plus grande polydispersité de cette fraction.

Xie *et al.*<sup>31</sup> ont reporté la grande fiabilité de la technique SEC-MALLS pour l'évaluation de  $M_n$  de polymères de faibles masses moléculaires (2 000 à 10 000 g mol<sup>-1</sup>) et leurs résultats obtenus pour des échantillons de poly(diisopropyl triméthylène-1,1-dicarboxylate) sont en parfait accord avec ceux obtenus par MALDI-TOF MS.

## 2.3.2. Les méthodes relatives

### 2.3.2.a. Chromatographie d'Exclusion Stérique (SEC)

La SEC, encore appelée GPC (pour Gel Permeation Chromatography), est l'une des techniques les plus répandues pour mesurer les paramètres de distribution en masse de polymères synthétiques. Cette technique de chromatographie en phase liquide permet la séparation des molécules selon leur volume hydrodynamique, contrairement à la plupart des autres méthodes chromatographiques dont le principe repose sur la différence d'affinité du soluté entre la phase mobile et le support stationnaire. Une solution diluée de polymère est introduite dans un flux de solvant à travers la colonne. Les molécules de polymère éluées peuvent ou non pénétrer dans le support constitué de billes dont les pores ont une dimension similaire à celle des molécules de polymère à analyser. Les molécules les plus petites peuvent pénétrer à l'intérieur des pores et se retrouvent donc plus retenues que les plus grosses molécules. Ainsi les différentes espèces sont éluées dans l'ordre inverse de leur taille moléculaire.

Les appareils standards de SEC sont équipés d'un système délivrant le solvant et d'un réfractomètre différentiel. Ce détecteur mesure la différence entre l'indice de réfraction de la solution éluée à un volume  $V_e$  et l'indice de réfraction du solvant. La réponse du détecteur est proportionnelle à la masse du polymère dissout, ce qui implique que le réfractomètre mesure la concentration massique de macromolécules.

En fait, comme précisé précédemment, la mesure par SEC n'évalue pas réellement la masse mais le volume hydrodynamique des molécules de polymère, c'est-à-dire l'espace occupé par les molécules de polymère en solution. Elle donne donc accès à la structure dite « secondaire » du polymère. Des polymères commerciaux de faible indice de polydispersité et de masses moléculaires connues sont

---

<sup>31</sup> Xie, T.; Penelle, J.; Verraver, M., Experimental investigation on the reliability of routine SEC-MALLS for the determination of absolute molecular weights in the oligomeric range. *Polymer* **2002**, 43, (14), 3973-3977.

alors utilisés comme étalons afin d'obtenir la relation entre la masse moléculaire et le volume ( $V_e$ ) ou le temps ( $t_e$ ) d'éluion. La relation utilisée est habituellement du type :

$$\log M = b_0 - b_1 V_e = b_0 - b_1' t_e \quad \text{Eq. 24}$$

où  $b_0$  et  $b_1$  sont deux constantes positives qui dépendent à la fois de la nature de la colonne et du solvant utilisé pour une série de conditions expérimentales données.

Les courbes d'étalonnage ainsi obtenues ne sont valides que pour des polymères de même nature chimique car deux molécules de polymère de même masse mais de nature différente n'ont pas nécessairement le même volume hydrodynamique. A partir de telles courbes d'étalonnage, la distribution de masse moléculaire d'un polymère de masse inconnue peut être déterminée, en supposant toutefois la réponse du détecteur linéairement proportionnelle à la concentration. Notons que pour des polymères dont il n'existe pas d'étalons commerciaux, un étalonnage universel est alors possible ; il consiste à mettre plusieurs détecteurs en série dont un au moins est sensible à la masse moléculaire (viscosimètre, diffusion de la lumière) et l'autre à la concentration en polymère (réfractométrie différentielle, UV)<sup>32</sup>.

La méthode SEC requiert une durée d'analyse de 30 à 120 min par échantillon (pour quelques milligrammes de polymère seulement) et permet d'atteindre, en fonction du type de détecteur, les paramètres  $M_n$ ,  $M_w$  ou la masse moyenne viscosimétrique  $M_v$  dépendamment du type de détecteur utilisé. On peut noter qu'il existe de nombreuses variantes de la SEC comme la SEC-Viscosimétrie<sup>33,34</sup> ou la SEC-diffusion de la lumière<sup>35,36</sup>.

L'un des principaux désavantages de la technique SEC dans la détermination de masse moléculaire de polymères synthétiques réside dans les éventuelles interactions indésirables polymère/support dans le cas de l'analyse d'échantillons de polymères inhomogènes, à groupements

---

<sup>32</sup> Trathnigg, B., *Size-Exclusion Chromatography of Polymers in Encyclopedia of Analytical Chemistry*. R.A. Meyers ed.; John Wiley & Sons Ltd: Chichester, 2000;

<sup>33</sup> Thijs, H. M. L.; Meier, M. A. R.; Schubert, U. S., Application possibilities of preparative size exclusion chromatography to analytical problems in polymer science. *e-Polymers* **2007**, 46, 1-7.

<sup>34</sup> Lepoittevin, B.; Dourges, M. A.; Masure, M.; Hemery, P.; Baran, K.; Cramail, H., Synthesis and Characterization of Ring-Shaped Polystyrenes. *Macromolecules* **2000**, 33, (22), 8218-8224.

<sup>35</sup> Arikian, B.; Stadler, F. J.; Kaschta, J.; Munstedt, H.; Kaminsky, W., Synthesis and characterization of novel ethene-graft-ethene/propene copolymers. *Macromolecular Rapid Communications* **2007**, 28, (14), 1472-1478.

<sup>36</sup> Bender, J. T.; Knauss, D. M., Synthesis of low polydispersity polybutadiene and polyethylene stars by convergent living anionic polymerization. *Journal of Polymer Science Part a-Polymer Chemistry* **2006**, 44, (2), 828-836.

terminaux différents par exemple.<sup>37</sup> Rader *et al.*<sup>38</sup> ont par ailleurs reporté que l'analyse par SEC de polymères à squelette rigide constituait un véritable défi comparé aux analyses en routine de polymères flexibles. En effet, les polymères à chaîne flexible peuvent adopter une forme de spire enroulée en solution, ce qui permet de corrélérer la mesure de leur volume hydrodynamique à leur masse moléculaire. Dans le cas de polymères à squelette rigide, les valeurs de masse moléculaire obtenues dévient fortement des valeurs réelles. Wu et Odom<sup>39</sup> ont aussi reporté que la SEC utilisée en routine pour la détermination des distributions de masses des polymères ne fournissait pas toujours des informations fiables pour des polymères de taille inférieure à 20 kDa, et que cette technique était de plus extrêmement longue à mettre en œuvre alors que ces mêmes données peuvent être obtenues par MALDI-TOF MS en moins de 20 min. Plus récemment, Choi *et al.*<sup>40</sup> ont synthétisé et caractérisé une série de poly( $\epsilon$ -caprolactone)s en forme d'étoile par RMN  $^1\text{H}$ , spectrométrie de masse MALDI-TOF et SEC. Ils ont obtenu par RMN  $^1\text{H}$  et spectrométrie de masse MALDI-TOF des valeurs de masses moléculaires voisines alors que la SEC a fourni des valeurs très différentes. Ces divergences ont été principalement attribuées à la décroissance du volume hydrodynamique imposée par le degré de ramification et à la différence de volume hydrodynamique entre un étalon de polystyrène linéaire et une poly( $\epsilon$ -caprolactone).

### 2.3.2.b. Fractionnement par couplage Flux/Force (FFF)

La méthode de Fractionnement par couplage Flux/Force ou FFF,<sup>4,41</sup> bien que moins connue, permet également de déterminer la masse molaire de polymères. De la même manière que la SEC, la FFF est une technique séparative qui permet de séparer des molécules, des particules ou des systèmes macromoléculaires fragiles. La particularité de cette famille de techniques est l'absence de phase stationnaire contrairement à l'ensemble des méthodes de séparation chromatographique. Le principe est ici de faire circuler les analytes dans un flux de solvant à basse pression dans un canal et d'appliquer un champ de force perpendiculaire au flux de solvant dans le but de séparer les molécules suivant leur volume hydrodynamique notamment (Schéma 9).

---

<sup>37</sup> Bootz, A.; Russ, T.; Gores, F.; Karas, M.; Kreuter, J., Molecular weights of poly(butyl cyanoacrylate) nanoparticles determined by mass spectrometry and size exclusion chromatography. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **2005**, 60, (3), 391-399.

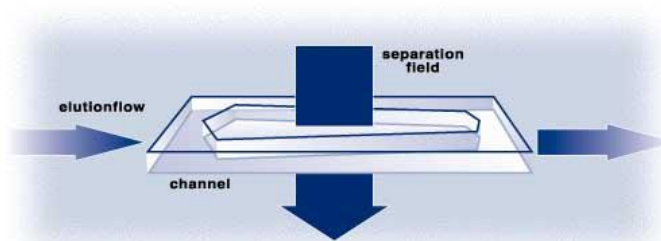
<sup>38</sup> Rader, H. J.; Spickermann, J.; Kreyenschmidt, M.; Mullen, K., MALDI-TOF mass spectrometry in polymer analytics .2. Molecular weight analysis of rigid-rod polymers. *Macromolecular Chemistry and Physics* **1996**, 197, (10), 3285-3296.

<sup>39</sup> Wu, K. J.; Odom, R. W., Characterizing synthetic polymers by MALDI MS. *Analytical Chemistry* **1998**, 70, (13), 456A-461A.

<sup>40</sup> Choi, J.; Kim, I. K.; Kwak, S. Y., Synthesis and characterization of a series of star-branched poly( $\epsilon$ -caprolactone)s with the variation in arm numbers and lengths. *Polymer* **2005**, 46, (23), 9725-9735.

<sup>41</sup> Katasonova, O. N.; Fedotov, P. S., Methods for continuous flow fractionation of microparticles: Outlooks and fields of application. *Journal of Analytical Chemistry* **2009**, 64, (3), 212-225.





**Schéma 9** : Principe de fonctionnement du Fractionnement par couplage Flux/Force. (Schéma extrait du site internet de la compagnie Nanolytics [www.nanolytics.de](http://www.nanolytics.de))

Le champ de force appliqué peut être de différente nature<sup>4</sup> :

- *Flow FFF (FFFF)* : un second flux de solvant perpendiculaire au premier traverse les parois du canal tout au long de celui-ci. Les molécules diffusant le plus lentement sont alors plus ralenties que celles diffusant rapidement, ce qui conduit à une séparation suivant la taille des molécules.
- *Thermal FFF* : un gradient thermique appliqué entre le haut et le bas du canal, sépare les macromolécules de type pelote aléatoire qui possèdent généralement une entropie importante les conduisant à se déplacer davantage dans un gradient thermique. Cette technique est généralement utilisée pour l'analyse des polymères synthétiques mais les mécanismes de séparation associés ne sont pas encore complètement élucidés.
- *Sedimentation FFF* : le canal est soumis à une centrifugation qui permet de séparer les molécules en fonction de leur volume hydrodynamique.
- *Electrical FFF* : développée plus récemment, cette technique consiste à appliquer un champ électrique entre les deux parois du canal, ce qui permet de séparer les molécules suivant leur mobilité électrophorétique.

Tous les types de détecteurs classiquement utilisés en chromatographie (UV/visible, fluorescence, réfractomètre ou diffusion de la lumière) peuvent être combinés à ce mode de séparation. Cette famille de techniques présente des avantages certains par rapport à la chromatographie de par l'absence de phase stationnaire qui évite les phénomènes indésirables comme l'adsorption faible ou le vieillissement de la colonne. De plus, cette technique, plus douce que la chromatographie, permet l'analyse de macromolécules ou d'agrégats macromoléculaires fragiles. Enfin, des techniques comme la *Thermal FFF* permettent de séparer des molécules suivant leur volume hydrodynamique mais aussi

leur composition chimique. Ainsi, Gunderson *et al.*<sup>42</sup> ont séparé par *Thermal FFF* deux polymères de volume hydrodynamique semblable mais de nature différente, qui étaient coélusés en SEC.

### 2.3.2.c. La viscosimétrie

Lorsqu'un fluide est soumis à un écoulement laminaire, sa résistance à la déformation ou bien au glissement relatif de ses couches définit sa viscosité. Au cours de l'écoulement dans un tube capillaire par exemple, la vitesse des molécules est maximale dans l'axe du tube et diminue jusqu'à s'annuler à la paroi tandis qu'entre les couches se développe un glissement relatif. On dit qu'il apparaît des forces tangentielles de frottement qui, selon Newton, dépendent de la nature du fluide considéré et du régime de son écoulement.

Dans l'étude de solutions colloïdales par viscosimétrie,<sup>43</sup> le temps mis par une solution diluée de polymère de concentration massique  $C$  ( $\text{g cm}^{-3}$ ) pour s'écouler le long d'un tube en un temps  $t$  est mesuré (en s). La viscosité spécifique  $\eta_{sp}$ , définie comme l'augmentation relative de la viscosité de la solution, est alors calculée selon :

$$\eta_{sp} = \frac{\eta - \eta_0}{\eta_0} \quad \text{Eq. 25}$$

où  $\eta$  représente la viscosité de la solution macromoléculaire et  $\eta_0$  la viscosité du solvant (Pa s). Pour des solutions suffisamment diluées, la viscosité spécifique est donnée directement par l'équation 26 :

$$\eta_{sp} = \frac{t - t_0}{t_0} \quad \text{Eq. 26}$$

où  $t_0$  représente le temps mis par le solvant pur pour s'écouler sur la même distance. Cette viscosité spécifique est proportionnelle au nombre de macromolécules dissoutes par unités de volume ( $\text{cm}^3$ ). De nombreuses mesures sont effectuées en faisant varier la concentration de la solution diluée de polymère, pour lesquelles la viscosité réduite  $\eta_{red}$  ( $\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$ ) est calculée selon :

$$\eta_{red} = \frac{\eta_{sp}}{C} \quad \text{Eq. 27}$$

La viscosité intrinsèque  $[\eta]$  correspond au cas idéal où les molécules de soluté sont indépendantes les unes des autres (approximation valable pour des solutions infiniment diluées). Elle est alors définie comme étant l'ordonnée à l'origine obtenue par extrapolation de la droite construite en reportant sur un graphe les viscosités réduites en fonction des concentrations. On relie alors la viscosité intrinsèque

<sup>42</sup> Gunderson, J. J.; Giddings, J. C., Chemical composition and molecular-size factors in polymer analysis by thermal field-flow fractionation and size exclusion chromatography. *Macromolecules* **1986**, 19, (10), 2618-2621.

<sup>43</sup> Kulicke, W.-M.; Clasen, C., *Viscosimetry of Polymers and Polyelectrolytes*. Springer: Germany, 2004;

$[\eta]$  (Pa s) à la masse moléculaire moyenne viscosimétrique  $M_v$  ( $\text{g mol}^{-1}$ ) par l'équation de Mark-Houwink-Sakurada (MHS) :

$$[\eta] = KM_v^a \quad \text{Eq. 28}$$

où  $K$  et  $a$  sont appelées constantes de Mark-Houwink, caractéristiques du système polymère-solvant à une température donnée ; une compilation des valeurs de ces constantes est disponible.<sup>44</sup>

Les relations théoriques entre la viscosité et la masse moléculaire sont cependant difficiles à établir puisque d'autres facteurs, par exemple la forme des macromolécules interviennent. A titre d'exemple, pour des polymères linéaires flexibles ("pelotes"), on peut considérer que  $a$  est compris entre 0,5 et 0,8 ; pour le styrène en solution dans le toluène à 25°C, on a des paramètres égaux à  $K = 1,18 \cdot 10^{-2}$  et  $a = 0,72$ . Notons que la masse moléculaire moyenne viscosimétrique  $M_v$  déterminée par cette technique est différente à la fois des paramètres  $M_n$  et  $M_w$  ; toutefois, sa valeur se rapproche globalement de celle du  $M_w$ .

### 2.3.2.d. La RMN Diffusionnelle

L'objectif des paragraphes suivants n'est pas de réaliser une étude théorique approfondie sur les méthodes de mesure de la diffusion par RMN mais d'établir un bref aperçu des bases sous-jacentes à cette théorie. Des notions complémentaires peuvent être apportées par différents ouvrages et articles,<sup>45,46,47,48</sup> notamment l'ouvrage de Price récemment paru.<sup>49</sup>

#### (i) Introduction à l'autodiffusion

L'autodiffusion est définie à l'état liquide comme le mouvement translationnel aléatoire de molécules ou d'ions issu de l'énergie moléculaire thermique (mouvement Brownien) dans des conditions d'équilibre thermodynamique. A ce titre, l'autodiffusion diffère fondamentalement de la diffusion mutuelle et de la convection, respectivement liées à la présence d'un gradient de concentration ou d'un gradient thermique, et ne doit pas être confondue avec la diffusion de spin ou diffusion rotationnelle.

<sup>44</sup> Kurata, M.; Tsunashima, Y., *Polymer Handbook*. in J. Brandrup and E. H. Immergut, 3rd ed.; Wiley-Interscience: New York, 1989;

<sup>45</sup> Callaghan, P. T., *Principles of Nuclear Magnetic Resonance Microscopy*. Oxford University Press ed.; New York, 1991;

<sup>46</sup> Canet, D., Radiofrequency field gradient experiments. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy* **1997**, 30, (1-2), 101-135.

<sup>47</sup> Johnson, C. S., Diffusion ordered nuclear magnetic resonance spectroscopy: principles and applications. *Ibid.* **1999**, 34, (3-4), 203-256.

<sup>48</sup> Stilbs, P., Fourier transform pulsed-gradient spin-echo studies of molecular diffusion. *Ibid.* **1987**, 19, (1), 1-45.

<sup>49</sup> Price, W. S., *NMR Studies of Translational Motion, Principles and Applications*. Cambridge, 2009;

Le mouvement translationnel d'une molécule en solution peut être décrit par un trajet aléatoire tridimensionnel dont le déplacement carré moyen, noté  $\bar{s}$ , s'exprime selon :

$$\bar{s} = \sqrt{2nDt} \quad \text{Eq. 29}$$

où  $n$  représente le nombre de degré de liberté de la molécule ( $n=3$  pour une diffusion tridimensionnelle),  $D$  représente le coefficient d'autodiffusion de la molécule ( $\text{m}^2 \text{s}^{-1}$ ) et  $t$  le temps pendant lequel la molécule diffuse.  $D$  peut être relié à la taille d'une molécule sphérique selon :

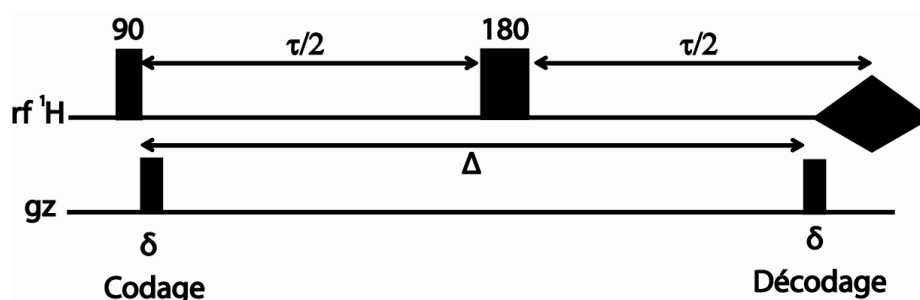
$$D = \frac{kT}{6\pi\eta r_H} \quad \text{Eq. 30}$$

avec  $k$  la constante de Boltzmann ( $\text{J K}^{-1}$ ),  $T$  la température absolue (K),  $\eta$  la viscosité du solvant (Pa s) et  $r_H$  le rayon hydrodynamique de la molécule.

**(ii) Mesure du coefficient d'autodiffusion par RMN**

Les séquences d'impulsions permettant d'encoder le signal RMN en fonction de la diffusion moléculaire utilisent principalement des gradients de champ magnétique pulsés grâce auxquels la fréquence de précession des spins devient une fonction de leur position dans le tube RMN.

La séquence d'impulsions permettant d'expliquer le plus simplement le principe de la mesure de diffusion en RMN a été décrite par Stejskal et Tanner<sup>50</sup> en 1965 (Schéma 10) et porte le nom d'écho de spin avec gradients de champ pulsés (PGSE, pour Pulsed Gradient Spin Echo).



**Schéma 10** : Représentation schématique de la séquence d'impulsions PGSE

<sup>50</sup> Stejskal, E. O.; Tanner, J. E., Spin Diffusion Measurements: Spin Echoes in the Presence of a Time-Dependent Field Gradient. *The Journal of Chemical Physics* **1965**, 42, (1), 288-292.

Ces gradients de champ magnétique peuvent être appliqués le long de l'une des trois coordonnées cartésiennes mais la diffusion étant isotrope, les mêmes résultats sont attendus. On suppose un champ magnétique statique  $B_0$  orienté uniquement le long de l'axe  $z$  et on considère un gradient constant et unique  $g$  dans la composante  $z$  du champ magnétique externe :

$$\vec{g} = \frac{\partial B_0}{\partial z} \vec{e}_z = g \vec{e}_z \quad \text{Eq. 31}$$

Par conséquent, le champ magnétique effectif  $\vec{B}_{eff}$  ressenti par un spin nucléaire positionné à la distance  $\vec{r}$  s'exprime par :

$$\vec{B}_{eff}(\vec{r}) = \vec{B}_0 + \vec{g}(\vec{r}) \quad \text{Eq. 32}$$

Le champ magnétique effectif subi par un spin nucléaire devient alors une fonction de sa coordonnée  $z$ , tout comme sa fréquence de Larmor qui s'écrit alors :

$$\omega(z) = -\gamma(B_0 + gz) \quad \text{Eq. 33}$$

où  $\gamma$  représente le rapport gyromagnétique du spin nucléaire observé. Cette dernière équation n'est bien entendu valide que pour le temps durant lequel l'impulsion gradient est appliquée.

Dans ces conditions, une cohérence simple quantum va acquérir, durant une impulsion gradient de durée  $\delta$ , une phase  $\phi(\delta)$  telle que :

$$\phi(\delta) = -\gamma\delta(B_0 + gz) \quad \text{Eq. 34}$$

En se reportant à la séquence PGSE (Schéma 10), on comprend alors que lors de l'encodage (1<sup>er</sup> gradient pulsé), un spin nucléaire considéré acquiert une phase  $\phi_1(\delta_1)$  telle que :

$$\phi_1(\delta_1) = -\gamma\delta_1(B_0 + g_1 z_1) \quad \text{Eq. 35}$$

avec  $z_1$  la position du spin nucléaire,  $\delta_1$  et  $g_1$  la durée et l'intensité de la première impulsion gradient.

De la même manière, l'application d'un 2<sup>nd</sup> gradient pulsé conduit au déphasage suivant :

$$\phi_2(\delta_2) = -\gamma\delta_2(B_0 + g_2 z_2) \quad \text{Eq. 36}$$

Dans le cas où les deux gradients appliqués sont de même intensité ( $g_1 = g_2$ ) et de même durée ( $\delta_1 = \delta_2$ ), le déphasage global  $\Delta\phi$  correspond à la somme des deux phases acquises  $\phi_1 + \phi_2$ . Cependant, étant donnée l'impulsion radiofréquence à  $180^\circ$  qui inverse l'ordre de cohérence entre les deux gradients appliqués, le déphasage global peut en réalité s'écrire tel que :

$$\Delta\phi = \phi_1 - \phi_2 = -\gamma g \delta (z_1 - z_2) \quad \text{Eq. 37}$$

Deux cas peuvent alors se présenter :

- $z_1 = z_2$  (les spins ont la même position) impliquant un déphasage global nul ( $\Delta\phi = 0$ ) : l'intensité du signal RMN mesurée à l'écho est alors maximale ;
- $z_1 \neq z_2$ , c'est-à-dire les spins ont diffusé entre les 2 impulsions gradient, ce qui implique un déphasage global non nul ( $\Delta\phi \neq 0$ ) : l'intensité du signal RMN mesuré à l'écho est donc diminuée.

Ainsi, dans le cas d'un déphasage global non nul, l'intensité du signal RMN mesuré devient fonction à la fois du coefficient d'autodiffusion  $D$  du composé étudié, du temps de diffusion  $\Delta$ , ainsi que de l'intensité  $g$  et de la durée  $\delta$  du gradient<sup>51, 52</sup> selon :

$$I = I_0 e^{-D\gamma^2 g^2 \delta^2 (\Delta - \frac{\delta}{3})} \quad \text{Eq. 38}$$

avec  $I$  et  $I_0$  l'intensité (ou l'aire) du signal respectivement en présence et en absence de gradient.

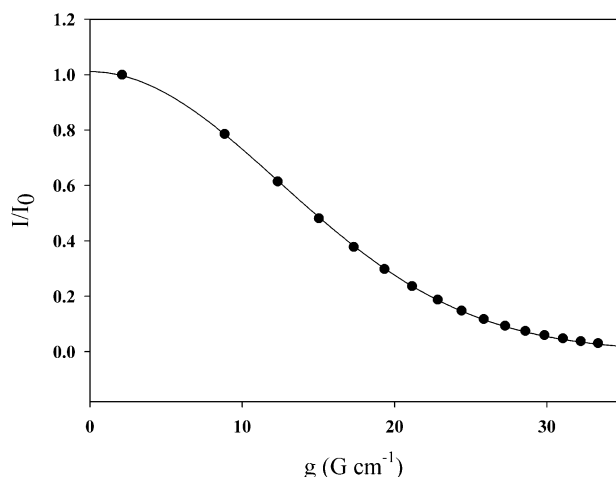
Expérimentalement, le coefficient d'autodiffusion est obtenu par ajustement mathématique des données avec l'équation 38 en maintenant constants  $\delta$  et  $\Delta$  afin de s'affranchir des effets de relaxation magnétique longitudinale ( $T_1$ ) et transversale ( $T_2$ ). C'est donc l'intensité  $g$  du gradient qui varie et l'équation 38 devient alors :

$$\frac{I}{I_0} = e^{-K D g^2} \quad \text{Eq. 39}$$

où  $I/I_0$  représente l'intensité normalisée du signal RMN mesuré et  $K = \gamma^2 \delta^2 (\Delta - \frac{\delta}{3})$  une constante expérimentale connue ( $s T^{-2}$ ). En suivant ensuite l'évolution de l'intensité ou de l'aire normalisée du signal RMN en fonction de  $g$ , on peut déterminer  $D$  par ajustement non linéaire des moindres carrés comme l'illustre la Figure 4.

<sup>51</sup> Groves, P.; Rasmussen, M. O.; Molero, M. D.; Samain, E.; Canada, F. J.; Driguez, H.; Jimenez-Barbero, J., Diffusion ordered spectroscopy as a complement to size exclusion chromatography in oligosaccharide analysis. *Glycobiology* **2004**, 14, (5), 451-456.

<sup>52</sup> Chen, A.; Wu, D.; Johnson, C. S., Jr., Determination of molecular weight distributions for polymers by diffusion ordered NMR. *Journal of the American Chemical Society* **1995**, 117, 7965-7970.



**Figure 4 :** Evolution de l'intensité (normalisée) d'un signal de résonance (-CH- aromatiques) en fonction de l'intensité du gradient de champ magnétique  $g$  obtenue pour un polystyrène de  $10\,000\text{ g mol}^{-1}$

Il est important de noter que l'équation 39 n'est valable que pour une décroissance monoexponentielle du signal RMN normalisé. En réalité, dans le cas des polymères, la présence de chaînes polymériques présentant une distribution de tailles implique la présence d'une distribution de coefficients d'autodiffusion, ce qui complique l'analyse des données.<sup>52,53</sup> De manière générale, même si l'utilisation de solutions mathématiques complexes telles que l'application d'une transformée de Laplace inverse permettent en théorie de déduire la distribution des masses moléculaires à partir de la distribution des coefficients de diffusion,<sup>54</sup> un simple ajustement monoexponentiel est suffisant pour estimer la valeur de  $D$ , notamment pour des échantillons de polydispersité limitée ( $I_p < 1,5$ ).

Notons également qu'il est nécessaire d'optimiser au préalable les paramètres  $\delta$  et  $\Delta$  afin de détecter une fonction décroissante complète et donc de minimiser l'erreur sur la mesure des coefficients de diffusion. Le protocole à suivre peut être consulté dans l'un des manuels d'instructions fournis par la société Bruker.<sup>55</sup>

Comme indiqué précédemment, les expériences de RMN PGSE nous permettent en réalité d'atteindre le déplacement quadratique moyen  $\bar{s}$  unidimensionnel des molécules de polymère en solution diluée. Dans le cas qui nous intéresse, il est donc important de s'assurer que le temps de diffusion  $\Delta$  choisi dans nos expériences est suffisant pour s'affranchir d'éventuels déplacements anisotropes internes aux molécules (déplacement d'un segment, rotation des molécules sur elles-

<sup>53</sup> Bovey, F. A., *Chain Structure and Conformation of Macromolecules* Academic Press: New York, 1982;

<sup>54</sup> Hakansson, B.; Nyden, M.; Soderman, O., The influence of polymer molecular-weight distributions on pulsed field gradient nuclear magnetic resonance self-diffusion experiments. *Colloid and Polymer Science* **2000**, 278, (5), 399-405.

<sup>55</sup> Kerssebaum, R., (*NMR Application Lab*) *Users Guide: DOSY and Diffusion by NMR* Bruker Biospin GmbH, Rheinstetten, Germany, 2002;

mêmes...). En effet, ces mécanismes influeraient sur les résultats diffusionnels par déplacement des noyaux observés durant le temps  $\Delta$ . Comme l'ont suggéré Tanner *et al.*<sup>56</sup> en 1971, ces déplacements spatiaux non translationnels sont toutefois limités à des distances ne pouvant excéder le rayon de giration des molécules de polymère. La valeur de  $\Delta$  doit donc être suffisamment élevée pour s'assurer que le déplacement moyen du centre de masse de la molécule est supérieur au rayon de giration moyen et, par conséquent, plus grand que n'importe quel déplacement interne relatif au centre de masse.

Puisque la technique PGSE est sensible au mouvement moléculaire incohérent tel que l'autodiffusion, elle l'est d'autant plus aux mouvements cohérents tels que la convection. En effet, des flux de convection peuvent être causés par de petits gradients de température au sein de l'échantillon, pouvant engendrer une décroissance additionnelle du signal RMN, affectant de fait la mesure du coefficient d'autodiffusion. Cependant, différentes solutions ont été proposées pour réduire la convection. Une simple augmentation du flux d'air peut réduire notamment le gradient de température. Par ailleurs, la rotation de l'échantillon supprime la convection mais cette option est difficilement applicable aux expériences de diffusion puisqu'elle peut entraîner conjointement des problèmes de vibration du tube RMN qui peuvent perturber les mesures de diffusion<sup>57</sup>. D'autres alternatives telles que la mise en place de séquences impulsives spécifiques<sup>58,59</sup> ou l'utilisation de certains types de tubes RMN<sup>60</sup> permettent également d'éviter ou de minimiser ces effets. Enfin, notons que l'utilisation de gradients de champ magnétique le long des axes  $x$  ou  $y$  lors de la mesure de diffusion permet de s'affranchir de ces interférences convectives.

Ainsi, à un polymère monodisperse de masse moléculaire  $M_w$  donnée correspond un coefficient d'autodiffusion moyen  $D$  ; il semble donc possible d'estimer la masse  $M_w$  d'un polymère à partir du moment où une droite d'étalonnage a été établie au préalable à l'aide de polymères étalons de même nature.<sup>48</sup>

---

<sup>56</sup>Tanner, J. E.; Liu, K.-J.; Anderson, J. E., Proton Magnetic Resonance Self-Diffusion Studies of Poly(ethylene oxide) and Polydimethylsiloxane Solutions. *Macromolecules* **1971**, 4, (5), 586-588.

<sup>57</sup>Esturau, N.; Sanchez-Ferrando, F.; Gavin, J. A.; Roumestand, C.; Delsuc, M. A.; Parella, T., The use of sample rotation for minimizing convection effects in self-diffusion NMR measurements. *Journal of Magnetic Resonance* **2001**, 153, (1), 48-55.

<sup>58</sup>Jerschow, A.; Müller, N., Suppression of Convection Artifacts in Stimulated-Echo Diffusion Experiments. Double-Stimulated-Echo Experiments. *Ibid.* **1997**, 125, (2), 372-375.

<sup>59</sup>Jerschow, A.; Müller, N., Convection Compensation in Gradient Enhanced Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *Journal of Magnetic Resonance* **1998**, 132, (1), 13-18.

<sup>60</sup>Hayamizu, K.; Price, W. S., A new type of sample tube for reducing convection effects in PGSE-NMR measurements of self-diffusion coefficients of liquid samples. *Ibid.* **2004**, 167, (2), 328-333.



**(iii) Détermination de  $M_w$  à partir du coefficient d'autodiffusion  $D$** 

Dans la mesure où la conformation adoptée par le polymère en solution n'est pas fonction de sa masse moléculaire (« random coil »), la loi empirique de Flory<sup>61</sup> fait état que :

$$D = KM_w^{-\alpha} \quad \text{Eq. 40}$$

où  $K$  et  $\alpha$  sont fixés pour un polymère donné en solution très diluée. Il est donc possible d'établir une courbe d'étalonnage en portant sur un graphe doublement logarithmique le coefficient d'autodiffusion  $D$  (obtenu par RMN PGSE) en fonction de la masse moléculaire  $M_w$  d'un nombre donné d'étalons ; les points pourront être ajustés à l'aide de l'équation Eq. 40. La courbe d'étalonnage ainsi obtenue permet d'évaluer la masse moléculaire de n'importe quel polymère de même nature, à l'instar de ce qui est normalement fait en SEC. Il reste entendu que pour de telles applications quantitatives, la relation de Flory est à établir dans des conditions bien spécifiques énumérées ci-après.

Il est à noter que les courbes d'étalonnage sont établies pour un polymère de nature donnée, soluble dans un **solvant donné** et pour une **température fixée**. En fait, ces contraintes sont très similaires à celles rencontrées en SEC. Comme nous l'avons déjà énoncé, la mesure du coefficient de diffusion revient à évaluer le volume hydrodynamique des molécules de polymère en solution qui dépend, d'une part, de la conformation de la chaîne du polymère en solution et, d'autre part, de la viscosité du solvant qui influe à la fois sur cette structure et sur la diffusion du polymère lui-même. La température est une composante majeure puisque ces différentes propriétés en dépendent.

De plus, pour parer à d'éventuels **effets de concentration** (agrégation, micellisation,...) et limiter les phénomènes d'obstruction, les courbes d'étalonnage sont établies à partir de solutions diluées de polymère. Le polymère à analyser doit ensuite être préparé à la même concentration. De plus, les courbes d'étalonnage sont réalisées sur une large gamme de masses encadrant la masse de l'échantillon à analyser. Il est à noter que, dans la mesure où la température et les gradients appliqués sont correctement calibrés, les coefficients de diffusion obtenus par RMN PGSE ne dépendent pas du spectromètre RMN utilisé. De fait, une courbe d'étalonnage établie sur un instrument donné peut être utilisée pour estimer une valeur de  $D$ , et donc évaluer un paramètre  $M_w$ , à partir de n'importe quel autre spectromètre.<sup>62</sup>

Nous venons de voir que la liste des méthodes permettant de déterminer la masse d'homopolymères est importante. Ces méthodes sont plus ou moins rapides à mettre en œuvre, suivant

<sup>61</sup> Doi, M.; Edwards, S. F., *The Theory of Polymer Dynamics*. Oxford University Press: New York, 1986;

<sup>62</sup> Mazarin, M.; Viel, S.; Allard-Breton, B.; Thevand, A.; Charles, L., Use of pulsed gradient spin-echo NMR as a tool in MALDI method development for polymer molecular weight determination. *Analytical Chemistry* **2006**, 78, (8), 2758-2764.

qu'elles nécessitent ou non l'établissement de courbes d'étalonnage, et apportent une quantité d'information variable (Tableau 3).

**Tableau 3 :** Paramètres de distribution obtenus à l'aide des différentes techniques analytiques abordées

Méthode	Détermination de $M_n$	Détermination de $M_w$	Détermination de $I_p$
<b>Absolute</b>			
<i>Spectrométrie de masse</i>	X	X	X
<i>RMN <math>^1H</math></i>	X		
<i>Osmométrie</i>	X		
<i>Ultracentrifugation Analytique</i>	X	X	X
<i>Diffusion de la lumière</i>		X	
<b>Relative</b>			
<i>SEC</i>	X	X	X
<i>FFF</i>	X	X	X
<i>Viscosimétrie</i>		X	
<i>RMN PGSE</i>		X	

## 2.4. PROBLEMATIQUE DES COPOLYMERES

L'introduction d'un ou plusieurs types de monomères supplémentaires va compliquer sérieusement la caractérisation de ces polymères, les différentes méthodes évoquées précédemment s'adaptant plus ou moins à ce cas plus complexe.

La détermination de la nature des monomères ainsi que l'identification des groupements terminaux d'un copolymère pourront être effectuées par spectrométrie de masse et RMN, de la même manière que pour les homopolymères. Le cas particulier des copolymères amphiphiles est cependant plus complexe puisqu'ils vont présenter des problèmes d'ionisation en spectrométrie de masse MALDI.

Un paramètre important de la caractérisation des copolymères étant leur composition comonomérique. Différentes méthodes ont été recensées dans la littérature pour la détermination de cette composition par spectrométrie de masse. La méthode la plus développée est répertoriée sous l'appellation « méthode de combinaison des intensités spectrales ».<sup>63,64,65</sup> Dans cette approche, il suffit

<sup>63</sup> Nuwaysir, L. M. W., C. L.; Simonsick, W. J., Analysis of Copolymers by Laser Desorption Fourier-Transform Mass-Spectrometry. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **1990**, 1, (1), 66-71.

de déterminer la composition moyenne du copolymère en évaluant la contribution de chaque comonomère au sein de chaque ion co-oligomère. L'intensité des pics détectés dans le spectre de masse du copolymère d'intérêt est directement liée à l'abondance relative des co-oligomères présents dans le copolymère. Elle peut donc être utilisée pour déterminer la proportion co-monomérique, à condition que la méthode d'ionisation des co-oligomères ne favorise pas la fragmentation des ions et permette une expression homogène des molécules quelle que soit leur composition. Cependant, les rendements d'ionisation dépendent de la taille des molécules considérées et ont tendance à diminuer avec la taille des oligomères. Cette inhomogénéité des rendements d'ionisation induit des biais plus ou moins importants, notamment dans la détermination des masses moléculaires, cet effet étant plus ou moins prononcé en fonction de la technique d'ionisation utilisée et du polymère étudié.

La RMN est quant à elle une technique analytique de choix pour déterminer la composition de copolymères car elle permet d'obtenir des informations à la fois qualitatives et quantitatives sur les échantillons étudiés. D'une part, l'analyse des déplacements chimiques permet de distinguer les signaux RMN caractéristiques des deux co-monomères étudiés. D'autre part, le signal RMN est directement proportionnel au nombre de noyaux associés au pic considéré, si tant est que le spectre ait été enregistré dans des conditions qui tiennent compte des phénomènes de relaxation magnétique. Elle permet donc d'accéder précisément à la composition co-monomérique et à la masse moléculaire moyenne en nombre, à condition dans ce dernier cas qu'un signal au moins du groupement terminal soit identifié pour calibrer les intégrales du spectre.

La nature à blocs ou statistique d'un copolymère est également un paramètre clef de leur caractérisation. Bien que les données extraites des spectres de masse puissent indiquer le nombre de chacun des co-monomères, elles ne renseignent pas sur la position des différentes unités monomériques au sein de la molécule. Pour distinguer les copolymères à blocs des copolymères alternés ou statistiques, la fragmentation des ions est nécessaire. En effet, des différences significatives entre les spectres d'ions fragments obtenus permettent de distinguer les copolymères à blocs des copolymères alternés ou statistiques. Tout d'abord, le nombre d'ions fragments provenant de la dissociation d'un co-oligomère à blocs est plus restreint que celui issu de la fragmentation d'un copolymère alterné qui présente plus de séquences possibles. De plus, les voies de fragmentation le

---

<sup>64</sup> Montaudo, G. M., M. S.; Scamporrino, E.; Vitalini, D., Mechanism of Exchange in Polyesters - Composition and Microstructure of Copolymers Formed in the Melt Mixing Process of Poly(Ethylene-Terephthalate) and Poly(Ethylene Adipate). *Macromolecules* **1992**, 25, (19), 5099-5107.

<sup>65</sup> Montaudo, M. S. M., G., Further-Studies on the Composition and Microstructure of Copolymers by Statistical Modeling of Their Mass-Spectra. *Ibid.*, (17), 4264-4280.

long de la chaîne peuvent permettre le séquençage du copolymère lorsque les mécanismes de dissociation impliquent deux co-monomères successifs

En revanche, la RMN ne permet pas de déterminer simplement l'agencement des monomères au sein d'un copolymère, du fait du recouvrement de signaux relatifs à la chaîne polymérique, notamment pour les polymères de haute masse.

La détermination des paramètres de distribution en masse est quant à elle plus délicate dans le cas des copolymères. En effet, l'ensemble des méthodes relatives décrites précédemment va rapidement se heurter au problème de l'étalonnage, tandis que les méthodes spectroscopiques vont présenter des spectres de plus en plus complexes à analyser. Le développement de nouvelles méthodologies s'avère donc indispensable. La caractérisation des copolymères amphiphiles dont la synthèse a été présentée précédemment va être étudiée plus en détails au travers de la première partie de ce manuscrit intitulée « *Caractérisation de la taille et des groupements terminaux d'un copolymère à blocs amphiphile POE-b-PS* ».

***Partie 1 : Caractérisation de la taille et des groupements terminaux de copolymères à blocs amphiphiles POE-b-PS***

---

***Chapitre 2 : Détermination de la masse moyenne en masse  
 $M_w$  de copolymères à blocs POE-b-PS par RMN PGSE***

---

## 1. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE : LA CARACTERISATION DES COPOLYMERES

L'utilisation de plusieurs types de monomères dans le but de synthétiser des matériaux aux propriétés toujours plus intéressantes s'accompagne inévitablement d'un challenge analytique pour la caractérisation de ces macromolécules. La détermination des masses moléculaires et des groupements terminaux devient plus difficile, nécessitant le développement de nouvelles stratégies analytiques. Ces stratégies recourent le plus souvent au couplage entre plusieurs techniques, et notamment avec des méthodes séparatives telle que la chromatographie d'exclusion stérique ou la Chromatographie Liquide aux Conditions Critiques (LCCC). Un aperçu non exhaustif de différentes stratégies analytiques développées pour la caractérisation de copolymères à blocs est donné dans les paragraphes suivants.

Les masses moléculaires moyennes sont parmi les paramètres les plus importants qu'il convient de caractériser pour un polymère. Comme cela a été souligné au chapitre 1, de nombreuses techniques permettent d'accéder aux paramètres  $M_n$  et  $M_w$ ; en particulier, la RMN quantitative du proton donne accès à la masse moyenne en nombre des copolymères, à condition que la résolution spectrale soit suffisante et qu'au moins un signal des groupements terminaux soit identifié.

L'ensemble des méthodes « relatives » de détermination des masses moléculaires, dont la SEC est la plus largement utilisée, se heurte aux problèmes de l'étalonnage. Plusieurs alternatives sont envisageables lorsqu'on ne dispose pas d'étalons de copolymères pour l'étalonnage SEC. La première consiste à utiliser un jeu d'homopolymères étalons X et d'exprimer la masse du copolymère analysé en « équivalent X ». Cette approche, assez fréquemment employée, a été utilisée par Fandrich *et al.* lors de l'analyse de poly(vinyl pyrrolidone)-*b*-poly(vinyl acétate)<sup>66</sup> dont les masses moléculaires ont été exprimées en « équivalents PMMA ». Une deuxième approche est fondée sur l'utilisation d'une étalonnage universelle<sup>67</sup> utilisant les paramètres de Mark-Houwink-Kuhn-Sakurada (MHKS) à la fois pour les étalons et pour les analytes. Cependant, ces paramètres dépendant à la fois de la nature et de la proportion des co-monomères, il apparaît long et fastidieux de les déterminer pour chaque copolymère

---

<sup>66</sup> Fandrich, N.; Falkenhagen, J.; Weidner, S. M.; Pfeifer, D.; Staal, B.; Thunemann, A. F.; Laschewsky, A., Characterization of New Amphiphilic Block Copolymers of N-Vinyl Pyrrolidone and Vinyl Acetate, 1-Analysis of Copolymer Composition, End Groups, Molar Masses and Molar Mass Distributions. *Macromolecular Chemistry and Physics* 211, **2010** (8), 869-878.

<sup>67</sup> Grubisic, Z.; Rempp, P.; Benoit, H., A universal calibration for gel permeation chromatography (Reprinted from Polymer Letters, vol 5, pg 753-759, 1967). *Journal of Polymer Science Part B-Polymer Physics* **1996**, 34, (10), 1707-1713.

à analyser. Une dernière approche, décrite par Sebastian et Register, consiste à utiliser les homopolymères étalons constituant les blocs d'un copolymère poly(styrène)-*b*-poly(isoprène) ainsi que des règles de combinaison adéquates pour déterminer la masse moléculaire du copolymère à blocs.<sup>68</sup>

L'attrait et la complémentarité des différentes techniques chromatographiques ont été confirmés par le développement de méthodologies à deux dimensions couplant les méthodes chromatographiques entre elles. Par exemple, Lee *et al.* utilisent la chromatographie à deux dimensions (SEC et LCCC) pour l'analyse de copolymère poly(oxyde d'éthylène)-*b*-poly(lactide).<sup>69</sup> De plus, de nouvelles méthodes, telles que la Chromatographie aux Conditions Limites introduite par Berek *et al.*,<sup>70</sup> permettent d'améliorer la séparation par SEC. Cette méthodologie utilise des petites molécules introduites dans la colonne chromatographique pour favoriser ou au contraire supprimer sélectivement des interactions entre les analytes et la phase stationnaire, ce qui permet de donner une dimension de séparation supplémentaire aux méthodes chromatographiques usuelles. Elle permet notamment de séparer un copolymère PS-*b*-PMMA d'homopolymères résiduels perturbant la détermination des masses moléculaires. Le principal inconvénient de l'ensemble de ces méthodes chromatographiques reste cependant leurs durées d'optimisation et de mise en œuvre.

Devant la complexité des échantillons de copolymères, et donc des différents spectres associés, les méthodes spectroscopiques se voient de plus en plus souvent associées à des méthodes séparatives dans le but de simplifier l'analyse des données. Ainsi, la SEC a été couplée à la RMN par Hiller *et al.*<sup>71</sup> Plus récemment, la chromatographie liquide aux conditions critiques (LCCC) a été développée et permet de favoriser un mécanisme de séparation plutôt qu'un autre en jouant sur les conditions expérimentales de composition de solvant ou de température. Il est alors possible de trouver les conditions critiques d'un polymère qui correspondent à un jeu de conditions expérimentales pour lesquelles les oligomères ne sont pas élués suivant leur taille mais plutôt suivant leur composition chimique. Elle permet, lors de l'analyse de copolymères à blocs, de se placer dans les conditions critiques d'un des blocs pour séparer les macromolécules en fonction de la taille de l'autre bloc. En effet, Hiller *et al.* ont utilisé la LCCC couplée à la RMN pour l'analyse de polystyrène-*b*-

---

<sup>68</sup> Sebastian, J. M.; Register, R. A., Block copolymer molecular weight determination via gel permeation chromatography: Choosing a combining rule. *Journal of Applied Polymer Science* **2001**, 82, (8), 2056-2069.

<sup>69</sup> Lee, D.; Teraoka, I.; Fujiwara, T.; Kimura, Y., Composition analysis of poly(ethylene glycol)-poly(L-lactide) diblock copolymer studied by two-dimensional column chromatography. *Journal of Chromatography A* **2002**, 966, (1-2), 41-51.

<sup>70</sup> Berek, D., Separation of Parent Homopolymers from Diblock Copolymers by Liquid Chromatography under Limiting Conditions of Desorption, 2-Optimization of Experimental Arrangement. *Macromolecular Chemistry and Physics* **2008**, 209, (21), 2213-2222.

<sup>71</sup> Hiller, W.; Hehn, M.; Hofe, T.; Oleschko, K., Online Size Exclusion Chromatography-NMR for the Determination of Molar Mass Distributions of Copolymers. *Analytical Chemistry* **2010**, 82, (19), 8244-8250.



poly(méthacrylate de méthyle).<sup>72</sup> Girod *et al.* ont également mis au point un couplage LCCC avec la spectrométrie de masse après ionisation electrospray pour l'analyse des copolymères POE-*b*-PS<sup>73</sup>. Cette dernière approche est cependant limitée à des copolymères de taille réduite du fait de la méthode d'ionisation employée ( $M_w < 10\,000\text{ g mol}^{-1}$ ).

De par les nombreuses informations qu'elle apporte, la spectrométrie de masse reste un outil privilégié pour l'analyse des copolymères, malgré la complexité des spectres obtenus, comme le soulignaient Gruending *et al.*<sup>74</sup> Les études par spectrométrie de masse en tandem après ionisation electrospray permettent d'accéder à la microstructure ainsi qu'aux groupements terminaux des macromolécules.<sup>75</sup> De même, Girod *et al.* ont utilisé ce type de méthodologie pour déterminer la microstructure des copolymères à blocs POE-*b*-PS de faible masse moléculaire.<sup>13</sup> L'ionisation MALDI, très largement utilisée pour les homopolymères, est aussi employée pour les copolymères. Une difficulté se pose cependant dans le cas de l'analyse de copolymères amphiphiles. En effet, les mécanismes de l'ionisation MALDI n'étant pas complètement élucidés, la préparation des échantillons reste très empirique. Elle s'appuie généralement sur des procédés publiés ayant fait leur preuve pour l'ionisation d'autres composés, qui accordent la plupart du temps la polarité de la matrice à celle de l'analyte. De plus, le choix d'un protocole s'appuie sur la taille et la composition chimique d'un polymère.<sup>76,77</sup> Il apparaît donc très difficile voire impossible de trouver des conditions expérimentales favorables à l'ionisation de copolymères amphiphiles, ces conditions étant antagonistes pour chacun de ses blocs constitutifs. Fandrich *et al.* ont néanmoins réussi à obtenir un signal MALDI-MS pour un échantillon de poly(vinyl pyrrolidone)-*b*-poly(vinyl acétate) mais ces auteurs ont dû utiliser deux matrices de polarité différente pour l'analyse des oligomères présentant une forte proportion de l'un des deux constituants.<sup>66</sup>

---

<sup>72</sup> Hiller, W.; Pasch, H.; Sinha, P.; Wagner, T.; Thiel, J.; Wagner, M.; Mullen, K., Coupling of NMR and Liquid Chromatography at Critical Conditions: A New Tool for the Block Length and Microstructure Analysis of Block Copolymers. *Macromolecules* **2010**, 43, (11), 4853-4863.

<sup>73</sup> Girod, M.; Phan, T. N. T.; Charles, L., On-line coupling of liquid chromatography at critical conditions with electrospray ionization tandem mass spectrometry for the characterization of a nitroxide-mediated poly(ethylene oxide)/polystyrene block copolymer. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2008**, 22, (23), 3767-3775.

<sup>74</sup> Gruending, T.; Weidner, S.; Falkenhagen, J.; Barner-Kowollik, C., Mass spectrometry in polymer chemistry: a state-of-the-art up-date. *Polymer Chemistry* **2010**, 1, (5), 599-617.

<sup>75</sup> Crecelius, A. C.; Baumgaertel, A.; Schubert, U. S., Tandem mass spectrometry of synthetic polymers. *Journal of Mass Spectrometry* **2009**, 44, (9), 1277-1286.

<sup>76</sup> Lim, H.; Lee, Y.; Han, S. H.; Yoo, Y.; Kim, K. J., Investigation of polystyrene, polyisoprene, and poly(2-vinylpyridine) using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Bulletin of the Korean Chemical Society* **1999**, 20, (7), 853-856.

<sup>77</sup> Scrivens, J. H.; Jackson, A. T.; Yates, H. T.; Green, M. R.; Critchley, G.; Brown, J.; Bateman, R. H.; Bowers, M. T.; Gidden, J., The effect of the variation of cation in the matrix-assisted laser desorption/ionisation collision induced dissociation (MALDI-CID) spectra of oligomeric systems. *International Journal of Mass Spectrometry* **1997**, 165, 363-375.

Devant les difficultés rencontrées pour l'analyse directe des échantillons de copolymères amphiphiles en MALDI, des stratégies ont été mises au point pour permettre une analyse indirecte. Par exemple, Giordanengo *et al.* ont récemment développé une stratégie de dérivation transformant des copolymères statistiques poly(méthacrylate de méthyle)-poly(acide méthacrylique) en homopolymères poly(méthacrylate de méthyle) pour permettre leur analyse MALDI.<sup>78</sup> Dans le cas des copolymères à blocs amphiphiles POE-*b*-PS, Girod *et al.* ont développé une stratégie d'hydrolyse du bloc de jonction entre les deux segments pour permettre l'analyse MALDI des deux homopolymères résultants.<sup>79</sup>

Au final, une large gamme de méthodologies a été développée pour faciliter l'analyse des copolymères à blocs. L'inconvénient majeur de cet ensemble de méthodes réside dans leur durée de mise en œuvre. En effet, les méthodes chromatographiques doivent être optimisées pour minimiser les phénomènes d'adsorption et nécessitent de refaire régulièrement les courbes d'étalonnage pour s'affranchir des effets de vieillissement des supports chromatographiques. Les méthodes de dérivation quant à elles sont généralement des réactions chimiques qu'il convient d'optimiser, qui peuvent être longues et qui dénaturent l'échantillon. Il apparaît donc nécessaire de développer une méthode rapide et sans prétraitement pour la détermination de la masse des copolymères à blocs. Dans ce contexte, nous avons exploré le potentiel de la RMN PGSE pour l'analyse de copolymères, cette méthodologie rapide et simple étant appliquée régulièrement au laboratoire pour la caractérisation d'homopolymères. Cette méthode étant relative, l'étalonnage constitue le principal problème à résoudre pour l'adapter à la détermination de la masse moléculaire des copolymères à blocs de type POE-*b*-PS. Les paragraphes suivant décrivent la stratégie adoptée pour atteindre cet objectif.

## 2. DETERMINATION INDIRECTE DE LA MASSE MOYENNE EN MASSE DES COPOLYMERES A BLOCS POE-*b*-PS

Dans le but de valider les résultats de l'approche par RMN PGSE, compte tenu du fait qu'il n'existe pas d'étalons commerciaux de copolymères à blocs POE-*b*-PS, il est nécessaire de déterminer précisément leur masse. La RMN <sup>1</sup>H quantitative permet d'accéder rapidement à la valeur de  $M_n$  puisque les signaux des deux blocs sont distincts et clairement identifiables sur le spectre, mais pas à

---

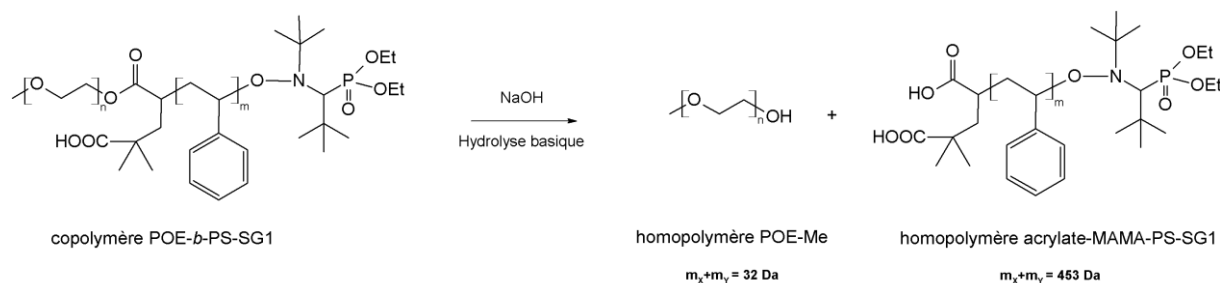
<sup>78</sup> Giordanengo, R.; Viel, S.; Hidalgo, M.; Allard-Breton, B.; Thevand, A.; Charles, L., Analytical Strategy for the Molecular Weight Determination of Random Copolymers of Poly(Methyl Methacrylate) and Poly(Methacrylic Acid). *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **2010**, 21, (6), 1075-1085.

<sup>79</sup> Girod, M.; Mazarin, M.; Phan, T. N. T.; Gimes, D.; Charles, L., Determination of Block Size in Poly(ethylene oxide)-*b*-polystyrene Block Copolymers by Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Journal of Polymer Science Part a-Polymer Chemistry* **2009**, 47, (13), 3380-3390.

celle de  $M_w$ . La stratégie d'hydrolyse développée par Girod *et al.*<sup>79</sup> a donc été utilisée. Elle consiste en une hydrolyse basique du bloc de jonction du copolymère (Schéma 11), dans le but d'obtenir deux homopolymères distincts analysables en MALDI. Les résultats de la caractérisation en masse des copolymères POE-*b*-PS hydrolysés<sup>79</sup> vont être utilisés par la suite pour mettre au point l'approche par RMN PGSE.

## 2.1. HYDROLYSE DU COPOLYMERE

Le copolymère (1 g) est dissous avec 10 ou 20 équivalents molaires de soude (NaOH) dans 10 mL d'un mélange 9:1 v/v THF/H<sub>2</sub>O dans un ballon équipé d'un système réfrigérant. Le mélange est chauffé à 70°C sous reflux durant 72 heures. Après évaporation, le résidu est solubilisé dans un mélange dichlorométhane/H<sub>2</sub>O. La phase organique est ensuite séchée au moyen de sulfate de magnésium puis filtrée. Le produit après séchage à sec est dissous dans quelques millilitres de THF, mélangé à environ 10 mL d'éther froid et placé dans un bain de glace jusqu'à précipitation totale du POE qui peut être récupéré par filtration. Une ultime étape d'évaporation sous vide permet de récupérer le bloc PS sous forme de solide. Le rendement de production de l'homopolymère PS est compris entre 70 et 80 %.



**Schéma 11** : Principe d'hydrolyse des copolymères POE-*b*-PS-SG1

## 2.2. CARACTERISATION DES HOMOPOLYMERES ISSUS DE L'HYDROLYSE

Deux séries de copolymères, A et B, ont été synthétisées à partir de deux POE commerciaux de masse moyenne en masse respectivement égale à 2100 et 5400 g mol<sup>-1</sup>. Les résultats de leur caractérisation après hydrolyse du bloc de jonction sont reportés Tableau 4.

**Tableau 4 :** Paramètres de distribution du copolymère POE-*b*-PS ( $M_n^T$ ,  $M_w^T$ ) calculés à partir des valeurs des paramètres de distributions déterminés par MALDI des homopolymères issus de l'hydrolyse ( $M_n^{POE}$ ,  $M_n^{PS}$ ,  $M_w^{POE}$ ,  $M_w^{PS}$ ) et des spectres RMN  $^1H$  quantitative

#	MALDI						$^1H$ RMN		
	$M_n^{POE}$ (g mol $^{-1}$ )	$M_n^{PS}$ (g mol $^{-1}$ )	$M_n^T$ (g mol $^{-1}$ ) <sup>a</sup>	$M_w^{POE}$ (g mol $^{-1}$ )	$M_w^{PS}$ (g mol $^{-1}$ )	$M_w^T$ (g mol $^{-1}$ ) <sup>a</sup>	$M_n^{POE}$ (g mol $^{-1}$ ) <sup>b</sup>	$M_n^{PS}$ (g mol $^{-1}$ ) <sup>c</sup>	$M_n^T$ (g mol $^{-1}$ ) <sup>a</sup>
A1	1835	4815	7117	1873	5385	7725	1910	4960	7337
A2	1859	14563	16889	1909	15360	17736	1950	13539	15956
A3	1829	16062	18358	1872	16921	19260	1980	17594	20041
A4	1826	20571	22864	1868	21647	23982	1910	21375	23752
B1	4967	3699	9133	4994	3983	9444	4770	3700	8937
B2	4981	4250	9698	5104	4332	9903	4660	4960	10087
B3	4959	9016	14442	5138	9080	14685	4540	9200	14207
B4	4962	13243	18672	5022	14694	20183	4620	13350	18437
B5	4969	21697	27133	5017	22715	28199	4610	21300	26377

<sup>a</sup> Calculé en ajoutant la masse du bloc de jonction et des groupements terminaux (467 g mol $^{-1}$ ) à la masse des deux blocs POE et PS. <sup>b</sup> Calculé en considérant l'intégrale du groupement OCH $_3$  terminal comme référence. <sup>c</sup> Calculé en considérant la valeur  $M_n^{POE}$  comme référence.

On peut voir dans le Tableau 4 que les valeurs de masses moléculaires moyennes en nombre  $M_n$  obtenues par MALDI (après hydrolyse) et par RMN quantitative du proton (avant hydrolyse) sont cohérentes.

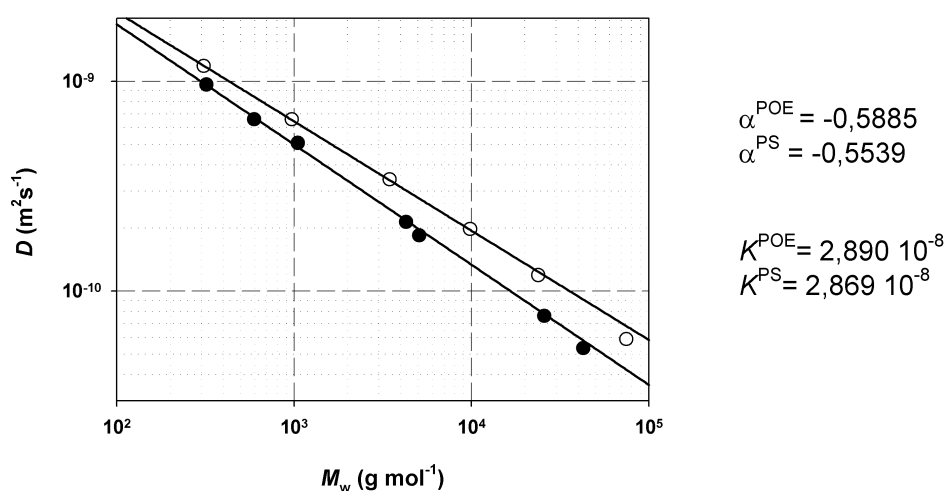
### 3. Détermination du $M_w$ de copolymères à blocs POE-*b*-PS par RMN PGSE

#### 3.1. UTILISATION DES COURBES D'ETALONNAGE DES HOMOPOLYMERES

##### 3.1.1. Détermination du $M_w$ d'homopolymères POE et PS par RMN PGSE

Comme nous l'avons détaillé précédemment, la méthode RMN PGSE permet de mesurer le coefficient d'autodiffusion  $D$  d'un polymère en solution très diluée. Cette valeur de  $D$  peut être reliée à la masse moyenne en masse  $M_w$  d'un homopolymère en solution au moyen de la loi de Flory, ce qui permet d'établir une courbe d'étalonnage pour des séries d'homopolymères de taille différente et d'indice de polydispersité relativement faible. Ainsi la Figure 5 montre les courbes d'étalonnage<sup>62</sup> obtenues à l'aide d'étalons commerciaux de POE ( $M_w = 320, 596, 1047, 4270, 5080, 25\ 639$  et  $42\ 700$  g mol $^{-1}$ ) et de PS ( $M_w = 309, 972, 3460, 9\ 830, 23\ 800$  et  $74\ 500$  g mol $^{-1}$ ) respectivement fournis par Sigma Aldrich (St. Louis, MO) et Polymer Standards Service (Mainz, Germany). Les expériences ont

été enregistrées dans le chloroforme deutérié 99.9% (Euriso-Top Saint-Aubin, France) à différentes concentrations afin de s'assurer que les échantillons analysés étaient suffisamment dilués. Une concentration de  $3 \text{ mg mL}^{-1}$  a ainsi été sélectionnée.<sup>80</sup> De plus, la température a été ajustée à 300 K par un flux d'air d'environ  $545 \text{ L h}^{-1}$ . La séquence d'impulsions mise en jeu est basée sur un double écho stimulé et utilise des impulsions de gradient de champ magnétique bipolaires (microprogramme Bruker : leddstebpgp3s). Cette séquence limite les effets de la convection et réduit l'impact des courants de Foucault générés par les impulsions de gradient.



**Figure 5 :** Courbes d'étalonnage obtenues pour le POE (cercle noir) et le PS (cercle blanc) pour une concentration de  $3 \text{ mg mL}^{-1}$  dans  $\text{CDCl}_3$  à 300 K. Les paramètres d'ajustement obtenus à partir de l'équation 40 sont également reportés pour les deux polymères

Notons que le paramètre  $\alpha$  peut être comparé à celui intervenant dans la relation de Mark-Houwink-Sakurada (Eq. 28), communément déterminé par viscosimétrie et pour lequel des valeurs comprises entre 0,5 et 0,8 indiquent une forme d'enroulement aléatoire (random coil) des chaînes polymériques en solution. De plus, ces valeurs expérimentales de  $\alpha$  semblent cohérentes avec celles attendues pour de tels systèmes polymère/solvant,<sup>81,82</sup> dans la mesure où le chloroforme deutérié  $\text{CDCl}_3$  apparaît être un solvant adéquat pour ces deux types de polymères flexibles. En effet, pour de tels systèmes, le modèle de Zimm prédit des valeurs de  $\alpha$  proches de 0,55.<sup>66</sup>

<sup>80</sup> Mazarin, M. L'ionisation MALDI de polymères synthétiques en Spectrométrie de Masse. Thèse de doctorat, Université de Provence, Marseille, 2008.

<sup>81</sup> Brandrup, J.; Immergut, E. H., *Polymer Handbook*. Wiley: New York, 1989;

<sup>82</sup> Von Meerwall, E. D., Self-Diffusion in Polymer Systems, Measured with Field-Gradient Spin-Echo NMR Methods. *Advances in Polymer Science* **1984**, 54, 1-29.

### 3.1.2. Application aux copolymères POE-*b*-PS

Les coefficients d'autodiffusion des copolymères POE-*b*-PS ont été mesurés par RMN PGSE dans les mêmes conditions expérimentales que celles ayant permis d'établir les courbes d'étalonnage des homopolymères reportées Figure 5. A l'image de la SEC, une première stratégie de détermination de la masse moyenne en masse des copolymères pourrait consister à utiliser directement ces courbes d'étalonnage et d'exprimer les résultats en termes « d'équivalents PS » ou « d'équivalents POE ». Les masses moléculaires ainsi obtenues sont reportées Tableau 5, où elles sont comparées aux valeurs de référence obtenues par MALDI après hydrolyse.

**Tableau 5 :** Masses moléculaires moyennes en masse des copolymères ( $M_w^T$ ) calculées à l'aide des mesures de coefficients de diffusion obtenues par PGSE et des courbes d'étalonnage des homopolymères POE ou PS. L'écart est calculé en prenant les données MALDI comme références

#	MALDI	PGSE	Courbe d'étalonnage POE		Courbe d'étalonnage PS	
	$(M_w^{PS}/M_w^{POE})^a$	$D$ ( $\times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ )	$M_w^T$ ( $\text{g mol}^{-1}$ )	Ecart (%) <sup>a</sup>	$M_w^T$ ( $\text{g mol}^{-1}$ )	Ecart (%) <sup>a</sup>
A1	2,9	1,474	7874	+ 2	13581	+ 76
A2	8,0	1,135	12276	- 31	21770	+ 23
A3	9,0	1,077	13421	- 30	23932	+ 24
A4	11,6	0,976	15865	- 34	28588	+ 19
B1	0,8	1,384	8764	- 7	15217	+ 61
B2	0,8	1,256	10335	+ 4	18131	+ 83
B3	1,8	1,102	12907	- 12	22961	+ 56
B4	2,9	0,948	16669	- 17	30131	+ 49
B5	4,5	0,875	19101	- 32	34821	+ 23

<sup>a</sup> Calculé en prenant les données MALDI du Tableau 3 comme références.

Comme escompté, dans la mesure où les courbes d'étalonnage sont distinctes pour le POE et le PS, les masses moléculaires obtenues sont assez différentes. Typiquement, la justesse des estimations de  $M_w$  obtenues par PGSE pour les homopolymères est de l'ordre de  $\pm 10\%$ .<sup>62</sup> Comme l'indique le Tableau 5, les valeurs de  $M_w$  déduites de la courbe d'étalonnage PS sont donc totalement inexploitables. En revanche, lorsque la taille du bloc PS n'est pas trop importante devant la taille du bloc POE ( $M_w^{PS}/M_w^{POE} < 2,9$ ), soit le cas des copolymères A1, B1, B2 et B3, la masse  $M_w^T$  du copolymère obtenue à l'aide de la courbe d'étalonnage de l'homopolymère POE constitue une bonne estimation de la masse moyenne en masse totale. Ces résultats suggèrent que, tant que la taille du bloc PS n'est pas trop importante devant celle du bloc POE, le comportement diffusionnel du copolymère POE-*b*-PS s'approche de celui d'un POE. Cependant, pour les autres copolymères, le modèle hydrodynamique associé aux homopolymères POE n'est clairement pas adapté.

### 3.2. HYPOTHESES DE CONFORMATION

De nombreux auteurs ont étudié la conformation de copolymères à blocs en solution diluée, la plupart du temps par des expériences de diffusion de la lumière ou par diffraction de neutrons aux petits angles. Deux principaux cas limites peuvent être envisagés pour décrire la conformation du copolymère selon qu'il existe ou non des interactions intramoléculaires entre les blocs.<sup>83</sup>

Prud'homme et Bywater ont montré par diffusion de la lumière (DLS) que les deux blocs de copolymères PS-*b*-PI sont séparés en solution, notamment lorsque le solvant peut être considéré comme mauvais pour l'un des deux blocs.<sup>84</sup> En étudiant des systèmes similaires par SANS, Ionescu *et al.* ont aussi mis en évidence la présence d'une ségrégation conformationnelle des deux blocs, indépendamment cette fois-ci de la qualité du solvant (vis-à-vis des deux blocs).<sup>85</sup> En revanche, une étude analogue réalisée par Han et Mozer<sup>86</sup> conduit aux conclusions inverses, suggérant la présence d'une conformation de type pelote statistique. De même, dans le cas plus spécifique des copolymères amphiphiles, Tanaka *et al.* ont montré en étudiant par DLS des copolymères polystyrène-*b*-poly(méthacrylate de méthyle) en solution dans la 2-butanone, que leurs résultats n'étaient pas en accord avec une ségrégation des blocs.<sup>87</sup> Au contraire, en étudiant par diffusion des neutrons aux petits angles des poly(styrène)-*b*-poly(2-vinylpyridine)s avec des blocs de taille identique et en solution diluée, Matsushita *et al.* ont montré que la conformation d'un bloc dans un copolymère di-bloc n'est pas affectée par le second bloc, et ce quel que soit le solvant utilisé, tant que la masse moléculaire du copolymère n'est pas trop élevée ( $M_n < 84\,000 \text{ g mol}^{-1}$ ).<sup>88</sup> Ces diverses études montrent que la conformation des copolymères diblocs en solution dépend non seulement de la nature des blocs du copolymère mais également des propriétés du solvant utilisé vis-à-vis de chacun des deux blocs.

---

<sup>83</sup> Hadjichristidis, N. P., S. ; Floudas, G. A., *Block copolymers synthetic strategies, Physical Properties and Applications*. Wiley-Interscience: New York, 2003;

<sup>84</sup> Prud'homme, J.; Bywaters, S., Light-Scattering Studies on Polystyrene-Polyisoprene Block Copolymers. *Macromolecules* **1971**, 4, (543-548).

<sup>85</sup> Ionescu, L.; Picot, C.; Duplessix, R.; Duval, M.; Benoit, H.; Lingelser, J. P.; Gallot, Y., Polystyrene-Polyisoprene block co-polymers in dilute-solutions - characterization of the conformation by Small-Angle Neutron-Scattering *Journal of Polymer Science Part B-Polymer Physics* **1981**, 19, (7), 1033-1046.

<sup>86</sup> Han, C. C.; Mozer, B., Conformation of PS-PMMA Diblock Copolymer in Toluene by Small Angle Neutron Scattering. *Macromolecules* **1977**, 10, (1), 44-51.

<sup>87</sup> Tanaka, T.; Omoto, M.; Inagaki, H., Conformation of Block Copolymers in Dilute Solution. 3. Determination of the Center-to-Center Distance between the Two Blocks by Light Scattering. *Ibid.* **1979**, 12, 146-152.

<sup>88</sup> Matsushita, Y.; Shimizu, K.; Node, I.; Chang, T.; Han, C. C., Chain conformation of block copolymers in dilute solutions measured by small-angle neutron scattering. *Polymer* **1992**, 33, (11), 2412-2415.

Par la suite, compte tenu du caractère amphiphile des copolymères POE-*b*-PS étudiés, nous allons considérer une conformation de pelote aléatoire sans interaction intramoléculaire entre les blocs hydrophile (POE) et hydrophobe (PS).

### 3.3. LES DIFFERENTS MODELES HYDRODYNAMIQUES

#### 3.3.1. La sphère

Le modèle hydrodynamique le plus simple est le modèle sphérique. C'est le modèle implicitement utilisé lors de l'établissement des courbes d'étalonnage des homopolymères puisque la loi de Stokes-Einstein est typiquement définie pour des particules sphériques diffusant en régime laminaire à l'équilibre thermodynamique (Eq. 30). Compte tenu de ce modèle et en considérant l'hypothèse conformationnelle formulée à la section précédente, le rayon hydrodynamique d'une macromolécule POE-*b*-PS est donc la somme des rayons hydrodynamiques des deux blocs, chaque bloc étant assimilé à une pelote aléatoire, comme illustré Figure 6.



**Figure 6 :** Modèle hydrodynamique sphérique (en vert) du copolymère A4 (2000-22000). Chaque bloc est considéré comme une pelote aléatoire globalement sphérique. Les blocs POE et PS sont représentés respectivement en bleu et rose

Le rayon hydrodynamique  $r_H^{\text{copo}}$  d'une telle sphère s'écrit :

$$r_H^{\text{copo}} = r_H^{\text{POE}} + r_H^{\text{PS}} \quad \text{Eq. 41}$$

où  $r_H^{\text{POE}}$  et  $r_H^{\text{PS}}$  sont respectivement les rayons hydrodynamiques des blocs POE et PS. En combinant les lois de Flory (Eq. 40) et de Stokes-Einstein (Eq. 30), les rayons hydrodynamiques de chaque bloc peuvent s'écrire :



$$r_H^{POE} = \frac{kT}{6\pi\eta K^{POE} (M_w^{POE})^{-\alpha_{POE}}} \quad \text{Eq. 42}$$

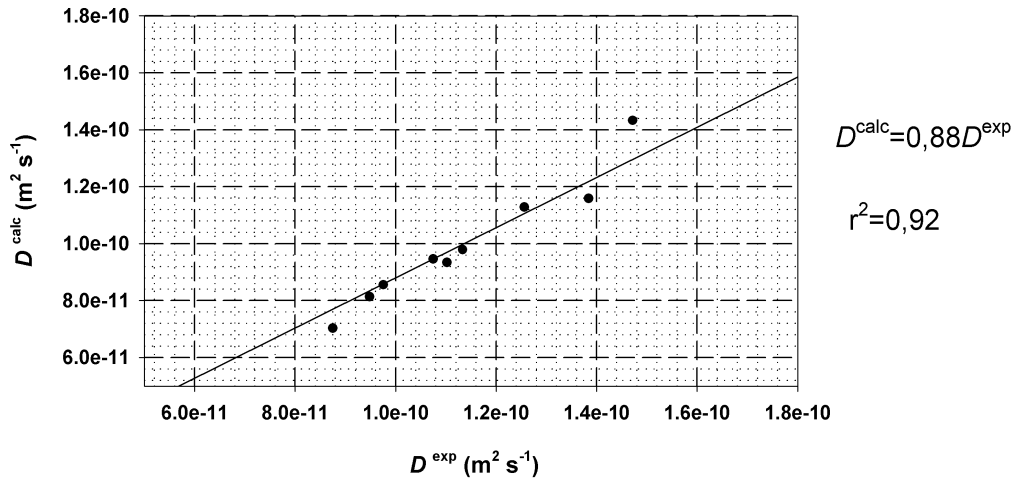
$$r_H^{PS} = \frac{kT}{6\pi\eta K^{PS} (M_w^{PS})^{-\alpha_{PS}}} \quad \text{Eq. 43}$$

où  $K^{POE}$ ,  $\alpha_{POE}$ ,  $K^{PS}$ ,  $\alpha_{PS}$  sont les paramètres d'ajustement des courbes d'étalonnage des homopolymères POE et PS, et  $M_w^{POE}$ ,  $M_w^{PS}$  la masse moyenne en masse de chaque bloc.

En appliquant la loi de Stokes-Einstein à ce modèle sphérique, on obtient après développement l'expression du coefficient d'autodiffusion de la macromolécule modèle :

$$D^{copo} = \frac{K^{POE} (M_w^{POE})^{-\alpha_{POE}} K^{PS} (M_w^{PS})^{-\alpha_{PS}}}{K^{POE} (M_w^{POE})^{-\alpha_{POE}} + K^{PS} (M_w^{PS})^{-\alpha_{PS}}} \quad \text{Eq. 44}$$

On peut constater que l'équation 44 dépend des paramètres  $K$  et  $\alpha$  des homopolymères ainsi que des  $M_w$  de chaque bloc qui ont été mesurés par MALDI-MS. On peut donc calculer la valeur du coefficient d'autodiffusion théorique issue de ce modèle sphérique  $D^{calc}$  et la comparer à la valeur expérimentale mesurée par RMN PGSE  $D^{exp}$  (Figure 7).



**Figure 7 :** Comparaison des valeurs expérimentales ( $D^{exp}$ ) des coefficients d'autodiffusion des différents copolymères mesurés par RMN PGSE avec les valeurs théoriques ( $D^{calc}$ ) calculées selon un modèle de diffusion sphérique (Eq. 44). L'ajustement linéaire employé passe par l'origine

La qualité de la corrélation ( $r^2=0,92$ ) obtenue témoigne de la pertinence de l'hypothèse conformationnelle formulée (ségrégation des deux blocs). En revanche, le coefficient directeur égal à 0,88 semble indiquer que le modèle sphérique ne décrit pas correctement le comportement

diffusionnel des copolymères à blocs POE-*b*-PS. Il apparaît donc nécessaire de prendre en compte la forme non sphérique de la macromolécule, en utilisant une loi de Stokes Einstein plus générale.

### 3.3.2. Equation de Stokes-Einstein générale et modèles de Perrin

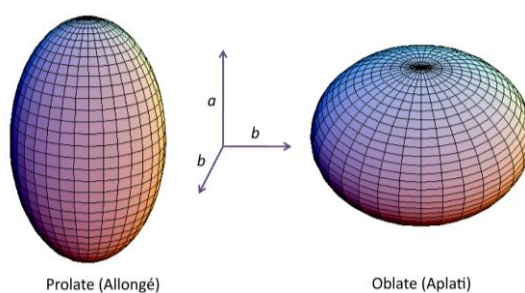
L'équation de Stokes-Einstein énoncée par l'équation 30 est une équation simplifiée qui, bien que couramment utilisée, ne s'applique qu'à des particules sphériques diffusant dans un continuum de solvant. L'équation plus générale s'exprime par :

$$D = \frac{kT}{c(r_{\text{solvant}}, r_H) f_s \pi \eta r_H} \quad \text{Eq. 45}$$

où  $c(r_{\text{solvant}}, r_H)$  est un coefficient qui dépend du ratio entre le rayon hydrodynamique du solvant  $r_{\text{solvant}}$  et le rayon hydrodynamique de l'analyte  $r_H$ , et  $f_s$  un facteur de correction qui tient compte de la forme de la molécule qui diffuse (ce facteur étant égal à 1 pour une molécule sphérique).

Macchioni *et al.*<sup>89</sup> ont rappelé que si le rayon hydrodynamique de la molécule est au moins 5 fois plus grand que celui du solvant, la valeur de  $c(r_{\text{solvant}}, r_H)$  tend vers 6. Cette hypothèse est clairement valide pour des macromolécules telles que les copolymères POE-*b*-PS étudiés diffusant dans le chloroforme deutérié.

Perrin a développé en 1936 des modèles théoriques pour décrire la diffusion d'ellipsoïdes de révolution de type prolate (en forme de cigare) et oblate (en forme de soucoupe).<sup>90</sup> Ces deux types d'ellipsoïdes sont représentés Figure 8 avec leurs semi-axes principaux : le semi-axe de révolution  $a$  et le semi-axe équatorial  $b$ .



**Figure 8 :** Ellipsoïdes de révolution Prolate et Oblate avec leurs semi axes principaux  $a$  et  $b$

<sup>89</sup> Macchioni, A.; Ciancaleoni, G.; Zuccaccia, C.; Zuccaccia, D., Determining accurate molecular sizes in solution through NMR diffusion spectroscopy. *Chemical Society Reviews* **2008**, 37, 479-489.

<sup>90</sup> Perrin, F., Mouvement Brownien d'un ellipsoïde (II). Rotation libre et dépolariation des fluorescences. Translation et diffusion de molécules ellipsoïdales. *Le journal de physique et le radium* **1936**, VII, (VII), 1-11.

Perrin définit l'inverse du facteur de forme  $f_s$  comme le rapport entre le coefficient d'autodiffusion de la particule ellipsoïdale ( $D$ ) et le coefficient d'autodiffusion d'une particule sphérique de volume équivalent ( $D_0$ ). En définissant  $\rho$  comme le rapport entre les deux semi-axes principaux  $b$  et  $a$ , il développe l'expression du facteur de forme pour les deux ellipsoïdes de révolution :

$$\frac{1}{f_s^{prolate}(\rho)} = \frac{D^{prolate}}{D_0^{prolate}} = \frac{\rho^{2/3}}{\sqrt{1-\rho^2}} \ln \left( \frac{1+\sqrt{1-\rho^2}}{\rho} \right) \quad \text{Eq. 46}$$

$$\frac{1}{f_s^{oblate}(\rho)} = \frac{D^{oblate}}{D_0^{oblate}} = \frac{\rho^{2/3}}{\sqrt{\rho^2-1}} \arctan \left( \sqrt{\rho^2-1} \right) \quad \text{Eq. 47}$$

Ces modèles ont été testés pour décrire la diffusion des copolymères à blocs POE-*b*-PS.

### 3.3.3. Modèle ellipsoïdal prolata

L'utilisation du modèle ellipsoïdal prolata pour décrire la diffusion des copolymères POE-*b*-PS est illustrée Figure 9.



**Figure 9** : Utilisation du modèle ellipsoïdal prolata pour décrire la diffusion du copolymère A4 (2000-22000). Les blocs POE et PS sont respectivement représentés en bleu et rose

Cette représentation permet de déterminer l'expression des semi-axes de l'ellipsoïde en fonction des rayons hydrodynamiques de chaque bloc, selon :

$$b = r^{grand} \quad \text{Eq. 48}$$

$$a = r^{petit} + r^{grand} \quad \text{Eq. 49}$$

où  $r^{petit}$  et  $r^{grand}$  sont les rayons hydrodynamiques des blocs les moins et plus volumineux respectivement. Les équations 48 et 49 conduisent à l'expression pour le paramètre  $\rho$  :

$$\rho = \frac{b}{a} = \frac{r^{grand}}{r^{petit} + r^{grand}} \quad \text{Eq. 50}$$

De la même manière que pour le modèle sphérique, la loi de Flory peut être utilisée pour déterminer le rayon hydrodynamique de chaque bloc en fonction des paramètres d'étalonnage des homopolymères et de leur masse moyenne en masse (Eq. 48 et Eq. 49). Ainsi, l'expression de  $\rho$  peut être développée :

$$\rho = \frac{K^{petit} (M_w^{petit})^{-\alpha_{petit}}}{K^{petit} (M_w^{petit})^{-\alpha_{petit}} + K^{grand} (M_w^{grand})^{-\alpha_{grand}}} \quad \text{Eq. 51}$$

Le rayon  $r_0$  d'une sphère ayant le même volume qu'un ellipsoïde de révolution s'exprime selon :

$$r_0 = a\rho^{2/3} \quad \text{Eq. 52}$$

Le développement de cette expression, en utilisant l'équation 51 ainsi que la loi de Flory pour chaque bloc, conduit à :

$$r_0^{prolate} = \frac{kT}{6\pi\eta} \left( \frac{1}{K^{petit} (M_w^{petit})^{-\alpha_{petit}}} + \frac{1}{K^{grand} (M_w^{grand})^{-\alpha_{grand}}} \right) \rho^{2/3} \quad \text{Eq. 53}$$

Finalement, l'utilisation de la loi de Stokes-Einstein pour cette sphère de même volume que l'ellipsoïde prolate permet de déterminer l'expression de son coefficient d'autodiffusion  $D_0^{prolate}$  :

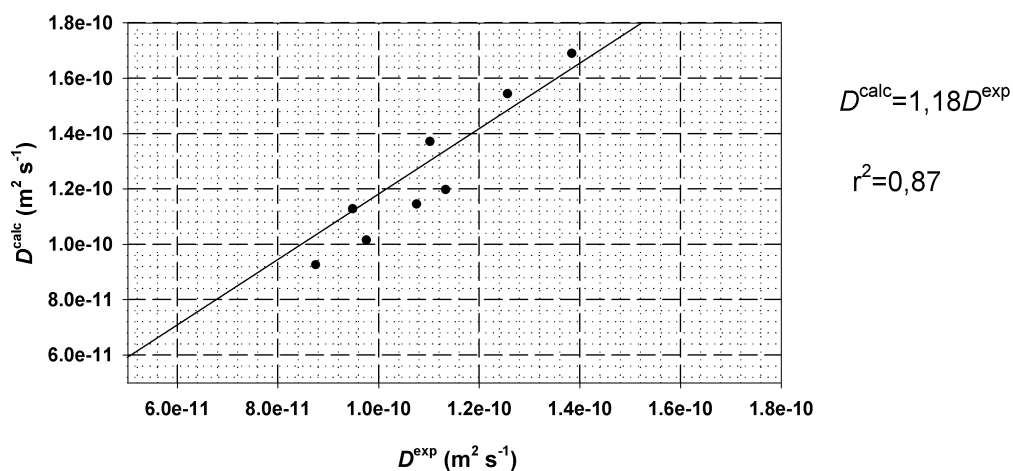
$$D_0^{prolate} = \left( \frac{1}{K^{petit} (M_w^{petit})^{-\alpha_{petit}}} + \frac{1}{K^{grand} (M_w^{grand})^{-\alpha_{grand}}} \right)^{-1} \rho^{-2/3} \quad \text{Eq. 54}$$

où  $\rho$  est donné par l'équation 51. L'utilisation du facteur de forme développé par Perrin (Eq. 46) permet alors de déduire l'expression du coefficient de diffusion du modèle prolate :

$$D^{prolate} = \frac{1}{\sqrt{1-\rho^2}} \ln \left( \frac{1+\sqrt{1-\rho^2}}{\rho} \right) \left( \frac{1}{K^{petit} (M_w^{petit})^{-\alpha_{petit}}} + \frac{1}{K^{grand} (M_w^{grand})^{-\alpha_{grand}}} \right)^{-1} \quad \text{Eq. 55}$$

Cette expression ne dépendant que des paramètres d'étalonnage des homopolymères et de la masse moyenne en masse de chaque bloc, les différentes valeurs de  $D^{prolate}$  peuvent être calculées pour nos échantillons en utilisant les valeurs de  $M_w^{POE}$  et  $M_w^{PS}$  déterminées par MALDI (les masses

moyennes et les paramètres d'étalonnage permettant de déterminer le bloc le plus volumineux). De la même manière que pour le modèle précédent, les valeurs calculées pour les coefficients d'autodiffusion peuvent être comparées aux valeurs expérimentales mesurées par PGSE (Figure 10).

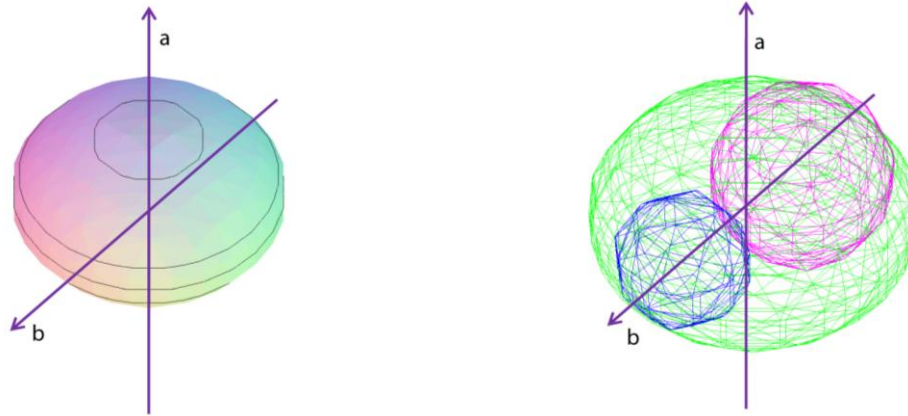


**Figure 10 :** Comparaison des valeurs expérimentales ( $D^{\text{exp}}$ ) des coefficients d'autodiffusion des différents copolymères mesurées par RMN PGSE avec les valeurs théoriques ( $D^{\text{calc}}$ ) calculées avec un modèle de diffusion ellipsoïdal prolata. L'ajustement linéaire employé passe par l'origine

Comme pour le modèle sphérique, la Figure 10 indique que le modèle ellipsoïdal prolata ne décrit pas correctement la diffusion des copolymères à blocs POE-*b*-PS. En effet, le coefficient directeur issu de la régression linéaire des données est assez éloigné de 1.

### 3.3.4. Modèle ellipsoïdal oblate

La même approche a été adoptée avec le modèle ellipsoïdal oblate. L'utilisation de ce modèle pour décrire la diffusion de nos macromolécules est illustré Figure 11.



**Figure 11 :** Utilisation du modèle ellipsoïdal oblate pour décrire la diffusion du copolymère A4 (2000-22000), les blocs POE et PS sont respectivement représentés en bleu et rose

Contrairement au modèle prolate, on aura ici :

$$a = r^{grand} \quad \text{Eq. 56}$$

$$b = r^{petit} + r^{grand} \quad \text{Eq. 57}$$

Les équations 56 et 57 conduisent à l'expression du paramètre  $\rho$  :

$$\rho = \frac{b}{a} = 1 + \frac{r^{petit}}{r^{grand}} \quad \text{Eq. 58}$$

De la même manière que pour les modèles précédents, la loi de Flory peut être utilisée pour déterminer le rayon hydrodynamique de chaque bloc en fonction des paramètres d'étalonnage des homopolymères et de leur masse moyenne en masse (Eq. 48 et Eq. 49). Ainsi, l'expression de  $\rho$  peut être développée :

$$\rho = 1 + \frac{K^{grand} (M_w^{grand})^{-\alpha_{grand}}}{K^{petit} (M_w^{petit})^{-\alpha_{petit}}} \quad \text{Eq. 59}$$

L'utilisation de l'équation 58, ainsi que des lois de Stokes-Einstein et Flory pour chaque bloc, permet de déterminer le rayon de la sphère ayant le même volume que l'ellipsoïde de révolution oblate :

$$r_0^{oblate} = \frac{kT}{6\pi\eta K^{grand} (M_w^{grand})^{-\alpha_{grand}}} \rho^{2/3} \quad \text{Eq. 60}$$

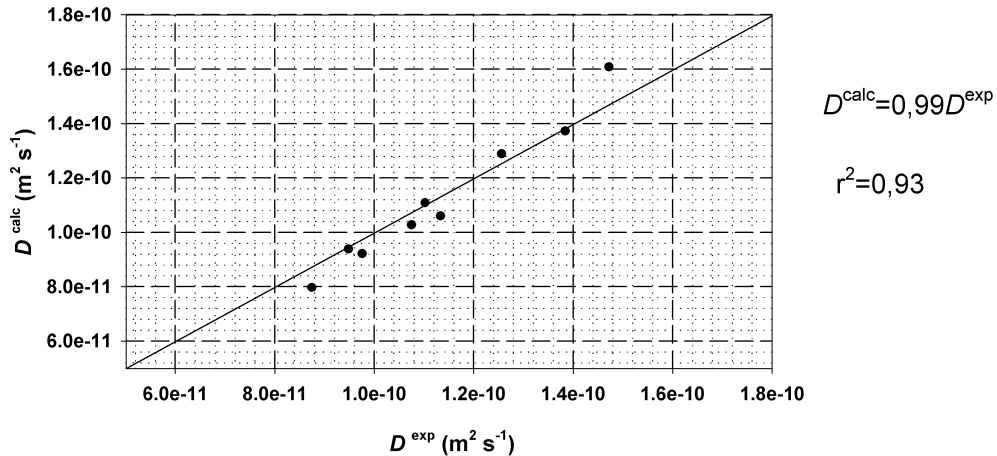
Finalement, l'utilisation de la loi de Flory pour cette sphère de même volume que l'ellipsoïde oblate permet de déterminer l'expression de son coefficient d'autodiffusion  $D_0^{oblate}$  :

$$D_0^{oblate} = K^{grand} (M_w^{grand})^{-\alpha_{grand}} \rho^{-2/3} \quad \text{Eq. 61}$$

avec  $\rho$  donné par l'équation 59. L'utilisation du facteur de forme développé par Perrin (Eq. 53) permet alors de déduire l'expression du coefficient de diffusion du modèle oblate :

$$D^{oblate} = \frac{1}{\sqrt{\rho^2 - 1}} \arctan(\sqrt{\rho^2 - 1}) K^{grand} (M_w^{grand})^{-\alpha_{grand}} \quad \text{Eq. 62}$$

Cette expression ne dépendant que des paramètres d'étalonnage des homopolymères et de la masse moyenne en masse de chaque bloc, les différentes valeurs de  $D^{prolate}$  peuvent être calculées pour nos échantillons en utilisant les valeurs de  $M_w^{POE}$  et  $M_w^{PS}$  déterminées par MALDI. De la même manière que pour les modèles précédents, les valeurs calculées de coefficient d'autodiffusion peuvent être comparées aux valeurs expérimentales mesurées par PGSE (Figure 12).



**Figure 12 :** Comparaison des valeurs expérimentales ( $D^{exp}$ ) des coefficients d'autodiffusion des différents copolymères mesurées par RMN PGSE avec les valeurs théoriques ( $D^{calc}$ ) calculées avec un modèle de diffusion ellipsoïdal oblate. L'ajustement linéaire employé passe par l'origine

La Figure 12 met en évidence une bonne adéquation globale entre les valeurs expérimentales de coefficients de diffusion et les valeurs calculées. En effet, un coefficient directeur de 0,99 indique que le modèle ellipsoïde prolate décrit bien la diffusion des copolymères dans la gamme de masse étudiée.

Ce modèle peut donc être utilisé pour l'interprétation de données de diffusion dans le but de déterminer la masse moyenne en masse de copolymères POE-*b*-PS de masse inconnue.

### 3.4. DETERMINATION DU $M_w$ DE COPOLYMERES POE-*b*-PS PAR INTERPRETATION DES DONNEES DE DIFFUSION A L'AIDE DU MODELE OBLATE

L'utilisation du modèle hydrodynamique oblate dans le but de déterminer la masse moyenne en masse du copolymère nécessite d'introduire les paramètres  $X^{grand}$  et  $X^{petit}$  qui représentent la fraction massique de chaque bloc au sein du copolymère. Ainsi, en considérant une polydispersité des deux blocs homogène à celle du copolymère, les masses moyennes en masse de chaque bloc peuvent s'écrire en fonction de la masse moyenne en masse totale du copolymère  $M_w^T$  en négligeant la masse des groupements terminaux :

$$M_w^{grand} = X^{grand} M_w^T \quad \text{Eq. 63}$$

$$M_w^{petit} = X^{petit} M_w^T \quad \text{Eq. 64}$$

En particulier, les expressions de  $\rho$  et du coefficient d'autodiffusion oblate  $D^{oblate}$  définies par les équations 59 et 62 peuvent être réécrites en fonction de  $M_w^T$  :

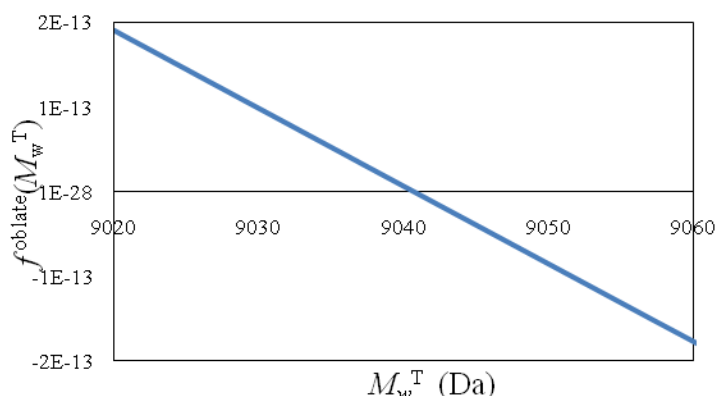
$$\rho = 1 + \frac{K^{grand} (X^{grand})^{-\alpha_{grand}}}{K^{petit} (X^{petit})^{-\alpha_{petit}}} (M_w^T)^{-(\alpha_{grand} - \alpha_{petit})} \quad \text{Eq. 65}$$

$$D^{oblate} = \frac{1}{\sqrt{\rho^2 - 1}} \arctan(\sqrt{\rho^2 - 1}) K^{grand} (X^{grand} M_w^T)^{-\alpha_{grand}} \quad \text{Eq. 66}$$

Les fractions massiques des blocs sont obtenues par RMN quantitative du proton. L'utilisation des courbes d'étalonnage des homopolymères permettent d'étudier la taille relative des deux blocs pour la gamme de masse considérée (5000 à 30 000 g mol<sup>-1</sup>). On peut ainsi déterminer que, lorsque la fraction massique de POE est inférieure à 0,36, le bloc PS est le plus volumineux. Par contre lorsqu'elle est supérieure à 0,38, c'est le bloc POE qui est le plus volumineux. Une estimation de la masse moyenne en masse totale du copolymère sera par ailleurs nécessaire pour déterminer quel bloc est le plus volumineux dans les situations intermédiaires (ce n'est cependant pas le cas ici). Finalement, après avoir mesuré par RMN PGSE la valeur expérimentale du coefficient d'autodiffusion du copolymère, ainsi que les fractions massiques de chaque bloc au sein du copolymère par RMN quantitative du proton, l'équation 66 ne présente plus que la masse moyenne en masse totale du copolymère comme



inconnue. Cependant, cette équation complexe ne présente pas de solution analytique. Une méthode de résolution graphique a donc été mise en œuvre pour déterminer  $M_w^T$ . Cette méthodologie consiste à tracer la fonction  $f^{\text{oblate}}(M_w^T) = D^{\text{oblate}}(M_w^T) - D^{\text{exp}}$  en fonction de  $M_w^T$ . Elle est illustrée Figure 13 pour le copolymère A1.



**Figure 13 :** Fonction  $f^{\text{oblate}}(M_w^T)$  tracée pour le copolymère A1. On obtient  $M_w^T = 9041 \text{ g mol}^{-1}$  pour ce copolymère

En utilisant cette méthode graphique pour chaque copolymère, il est possible de déterminer les masses  $M_w$  des deux séries de copolymères A et B (Tableau 6).

**Tableau 6 :** Masses moyennes en masse totale  $M_w^T$  des copolymères déterminées par la méthode graphique en utilisant le modèle de diffusion oblate. Les erreurs sont calculées en utilisant les valeurs obtenues par MALDI comme référence

#	$M_w^T$ (g mol <sup>-1</sup> )	Erreur (%)
A1	9041	+17
A2	15762	-11
A3	17780	-8
A4	21681	-10
B1	8481	-10
B2	10599	+7
B3	14860	+1
B4	19840	-2
B5	23910	-15

On peut remarquer que l'utilisation de cette méthode et du modèle de diffusion oblate a permis de déterminer la masse moyenne en masse des copolymères avec une justesse moyenne du même ordre de grandeur que celle obtenue typiquement pour des homopolymères par RMN PGSE ( $\pm 10\%$ ).

Connaissant les fractions molaires de chaque bloc, il est possible de déduire du Tableau 6 la masse moyenne en masse des blocs POE et PS (Tableau 7).

**Tableau 7 :** Masses moyennes en masse de chacun des blocs des copolymères déterminées à l'aide des fractions molaires de chaque bloc et en utilisant le modèle de diffusion oblate. Les erreurs sont calculées en utilisant les valeurs obtenues par MALDI comme référence

#	$X^{\text{POE}}$	$M_w^{\text{POE}}$ (g mol <sup>-1</sup> )	Erreur (%)	$X^{\text{PS}}$	$M_w^{\text{PS}}$ (g mol <sup>-1</sup> )	Erreur (%)
A1	0,28	2514	34	0,72	6527	21
A2	0,13	1984	4	0,87	13778	-10
A3	0,10	1799	-4	0,90	15981	-6
A4	0,08	1778	-5	0,92	19903	-8
B1	0,56	4776	-4	0,44	3705	-7
B2	0,48	5134	1	0,52	5465	26
B3	0,33	4910	-4	0,67	9950	10
B4	0,26	5101	2	0,74	14739	0
B5	0,18	4254	-15	0,82	19656	-13

### 3.5. CONCLUSION

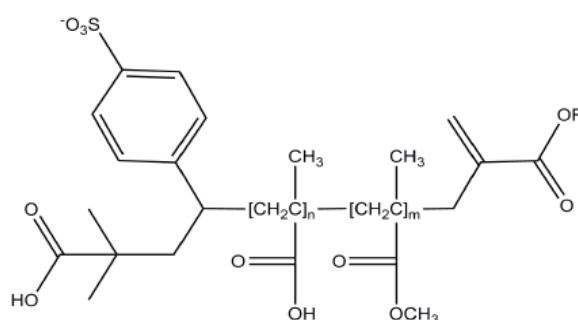
La RMN PGSE a été utilisée avec succès pour déterminer la masse moyenne en masse de copolymères à blocs POE-*b*-PS avec une justesse d'environ  $\pm 10\%$ , validant ainsi l'hypothèse d'une conformation sans interaction entre les blocs du copolymère. Le modèle de diffusion ellipsoïde oblate a permis de décrire correctement la diffusion de ces macromolécules dans la gamme de masse étudiée. Cependant, les erreurs plus importantes commises sur les copolymères A1 et B5, qui sont respectivement le plus petit et le plus gros des échantillons disponibles, laisse supposer que l'on a atteint les limites de validité de la gamme de tailles explorée. Ces travaux ont fait l'objet d'une publication dans la revue *Analytical Chemistry*<sup>91</sup> ainsi que de communications scientifiques (*Annexe 5*).

L'aptitude de la RMN PGSE à déterminer, sans prétraitement ni séparation, le paramètre  $M_w$  de copolymères à blocs amphiphiles a été clairement mise en évidence. Cette méthode représente donc une alternative avantageuse à la spectrométrie de masse qui se heurte à des problèmes d'ionisation et à la SEC dont l'optimisation et la mise en œuvre peuvent s'avérer fastidieuse. Cette stratégie va donc être testée dans le cas de copolymères de nature différente, tels que les copolymères statistiques poly(méthacrylate de méthyle)-poly(acide méthacrylique) (PMAM-PAMA).

<sup>91</sup> Barrere, C.; Mazarin, M.; Giordanengo, R.; Phan, T. N. T.; Thevand, A.; Viel, S.; Charles, L., Molecular Weight Determination of Block Copolymers by Pulsed Gradient Spin Echo NMR. *Analytical Chemistry* **2009**, 81, (19), 8054-8060.

#### 4. APPLICATION A DES COPOLYMERES STATISTIQUES PMAM-PAMA

Les polymères à base d'acide faible tel que les poly(acide méthacrylique)s sont particulièrement intéressants de par leur capacité à changer leurs propriétés en fonction du pH ou de la force ionique. Par exemple, les copolymères à blocs à base de PAMA ont montré une aptitude intéressante à former des micelles dont la forme varie en fonction du pH,<sup>92</sup> et qui dépendent notamment des paramètres de distribution en masse. Des propriétés intéressantes ont également été démontrées pour des copolymères contenant des segments MAM-AMA aléatoires.<sup>93</sup> Les copolymères statistiques PMAM-PAMA étudiés ici sont représentés Schéma 12.



**Schéma 12** : Structure des copolymères statistiques PMAM-PAMA

De la même manière que pour les copolymères POE-*b*-PS, le caractère amphiphile de ces macromolécules rend impossible leur analyse par MALDI. De plus, les méthodes relatives de détermination de la masse telle que la SEC ou la RMN PGSE se heurtent une fois encore au problème d'étalonnage. Une méthode de dérivation du copolymère, décrite ci-après, a donc été développée par Giordanengo *et al.* dans le but de permettre l'analyse MALDI du copolymère.<sup>78</sup>

##### 4.1. CARACTERISATION DES COPOLYMERES STATISTIQUES PMAM-PAMA

La stratégie de dérivation des copolymères consiste en une méthylation des fonctions acides des unités AMA, conduisant ainsi à un homopolymère PMAM qui peut être par la suite caractérisé par MALDI, RMN PGSE ou SEC. Cette approche a été appliquée avec succès à deux copolymères, notés

<sup>92</sup> Gotzamanis, G.; Tsitsilianis, C., Stimuli-responsive A-*b*-(B-co-C) diblock terpolymers bearing polyampholyte sequences. *Macromolecular Rapid Communications* **2006**, 27, (20), 1757-1763.

<sup>93</sup> Zielinski, J. M.; Spontak, R. J., Thermodynamic Considerations of Triblock Copolymers with a Random Middle Block. *Macromolecules* **1992**, 25, (22), 5957-5964.

I et II, dont les caractéristiques obtenues par RMN quantitative du proton et RMN PGSE sont données Tableau 8.

**Tableau 8 :** Proportion molaire des unités MAM et AMA, masse moyenne en nombre et coefficient d'autodiffusion des copolymères I et II, obtenus par RMN quantitative du proton et RMN PGSE

#	Proportion des unités MAM -AMA	$M_n$ (RMN quantitative $^1\text{H}$ )	$D^*$ ( $\text{m}^2 \text{s}^{-1}$ )
I	60-40	3460	$3,06 \cdot 10^{-10}$
II	50-50	4190	$3,27 \cdot 10^{-10}$

\*Mesuré à  $3 \text{ mg mL}^{-1}$  dans  $\text{CD}_3\text{OD/D-ACN } 50/50$  (vol/vol) à 300K

La masse moyenne en masse de chaque copolymère avant méthylation peut s'écrire :

$$M_w = n(X_{MAM} m_{MAM} + X_{AMA} m_{AMA}) + m_X + m_Y \quad \text{Eq. 67}$$

où  $n$  est le nombre d'unités monomériques,  $X_{MAM}$  et  $X_{AMA}$  les fractions molaires d'unités MAM et AMA déterminées par RMN  $^1\text{H}$  quantitative pour chaque copolymère, et  $m_X$  et  $m_Y$  la masse des groupements terminaux des copolymères ( $m_X = 279$  et  $m_Y = 99$  Da).

Après méthylation, la masse moyenne en masse des copolymères méthylés peut s'écrire selon :

$$M_w^{\text{méthylé}} = nm_{MAM} + m_{X'} + m_{Y'} \quad \text{Eq. 68}$$

où  $m_{X'}$  et  $m_{Y'}$  représentent la masse des groupements terminaux des copolymères méthylés ( $m_{X'} = 294$  et  $m_{Y'} = 99$  Da). Une fois la méthylation réalisée, le paramètre  $M_w$  peut être déterminé soit par MALDI, soit par RMN PGSE à l'aide d'une courbe d'étalonnage réalisée à partir d'homopolymères PMAM étalons à  $3 \text{ mg mL}^{-1}$  dans un mélange de solvants deutériés méthanol/acétonitrile (50/50, vol/vol) et à 300 K ( $D = 2,140 \cdot 10^{-8} M_w^{-0,4680}$ ). Cette dernière équation permet alors de déterminer la masse moyenne en masse du copolymère méthylé, qui permet de remonter à la masse moyenne en masse des copolymères avant méthylation connaissant le nombre total d'unités  $n$  (déterminés à partir des  $M_w$  obtenues par MALDI) ainsi que les proportions d'unités AMA et MAM (caractérisés par RMN  $^1\text{H}$ ). L'ensemble des masses moyennes obtenues par MALDI et RMN PGSE est donné Tableau 9.

**Tableau 9 :** Masses moyennes en masse obtenues par MALDI-MS et RMN PGSE avant et après méthylation des copolymères I et II

#	$(M_w^{\text{méthylé}})_{\text{MALDI}}$	$D^{\text{méthylé}}$ ( $\text{m}^2 \text{s}^{-1}$ )	$(M_w^{\text{méthylé}})_{\text{PGSE}}$	$(M_w)_{\text{MALDI}}$	$(M_w)_{\text{PGSE}}$
I	3915	$3,91 \cdot 10^{-10}$	4678	3705	4423
II	4374	$4,10 \cdot 10^{-10}$	5180	4080	4830

Les valeurs obtenues par MALDI sont en accord avec celles obtenues par RMN PGSE. L'utilisation d'une méthode de dérivation a permis de déterminer la masse moyenne en masse de ces copolymères amphiphiles. Cependant, cette méthodologie étant longue et contraignante à mettre en œuvre, une méthodologie alternative, uniquement basée sur la RMN diffusionnelle, peut être envisagée de la même manière que pour les copolymères à blocs POE-*b*-PS.

#### 4.2. STRATEGIE DE DETERMINATION DE LA MASSE SANS PRETRAITEMENT PAR RMN PGSE

Il apparaît difficile ici de démontrer une méthodologie de détermination de la masse moyenne en masse alors que seuls deux échantillons caractérisés sont à disposition. L'objectif est donc plutôt de mettre en évidence qu'une stratégie de détermination de la masse de copolymères statistiques par RMN PGSE sans prétraitement est envisageable.

Le premier point intéressant à noter est que le coefficient de diffusion des copolymères après méthylation (Tableau 8) est sensiblement plus important que celui avant méthylation (Tableau 7). Ce résultat traduit une augmentation de la mobilité translationnelle des polymères après méthylation. La diminution du volume hydrodynamique correspondante peut être étudiée en comparant les coefficients d'autodiffusion avant et après méthylation au travers d'un facteur d'accroissement du coefficient d'autodiffusion  $R$  défini pour les copolymères I et II comme :

$$R^I = \frac{D^{I_{\text{méthylé}}}}{D^I} = \frac{4,10 \cdot 10^{-10}}{3,27 \cdot 10^{-10}} = 1,25 \quad \text{Eq. 69}$$

$$R^{II} = \frac{D^{II_{\text{méthylé}}}}{D^{II}} = \frac{3,91 \cdot 10^{-10}}{3,06 \cdot 10^{-10}} = 1,28 \quad \text{Eq. 70}$$

On obtient finalement une valeur de  $R^{II} > R^I$ , ce qui apparaît cohérent avec le fait que le copolymère II possède une plus grande proportion d'unités AMA (Tableau 7). En considérant la loi de Stokes-Einstein (Eq. 32) on peut définir  $R$  comme le rapport du rayon hydrodynamique du copolymère et du copolymère méthylé. Sachant que le volume d'une sphère est égal à  $4\pi r^3/3$  on peut finalement calculer le facteur d'augmentation de volume d'un copolymère par rapport à un homopolymère PMAM ayant le même nombre d'unités :

$$\frac{V^I}{V^I_{\text{méthylé}}} = (R^I)^3 = 1,97 \quad \text{Eq. 71}$$

$$\frac{V^{II}}{V^{II}_{\text{méthylé}}} = (R^{II})^3 = 2,08 \quad \text{Eq. 72}$$

On constate que l'augmentation de volume lorsqu'on introduit 40 % d'unités AMA dans un homopolymère PMAM de  $3460 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$  est d'environ 97 %. Cette augmentation passe à 108 % lorsqu'on ajoute 50 % d'unités AMA. Ces dernières valeurs invalident complètement l'étalonnage des copolymères statistiques à l'aide d'homopolymères PMAM, puisque les volumes hydrodynamiques sont très différents pour des masses proches. En revanche, si l'on considère que le facteur d'accroissement  $R$  du coefficient d'autodiffusion ne dépend que de la proportion d'unités AMA et MAM pour une certaine gamme de masse, alors il est possible de déterminer la masse moyenne en masse du copolymère sans prétraitement de l'échantillon. En effet, un spectre de RMN  $^1\text{H}$  quantitatif fournit la proportion d'unités MAM et AMA. Une mesure du coefficient d'autodiffusion du copolymère permet d'extrapoler celui d'un homopolymère PMAM si le facteur  $R$  est connu. On peut ensuite déterminer le  $M_w$  de ce PMAM à l'aide de la courbe d'étalonnage PGSE et en déduire celle du copolymère de départ.

## 5. CONCLUSION

La RMN PGSE s'illustre comme une méthode de choix pour la détermination de la masse moyenne en masse des polymères. L'utilisation d'un modèle de diffusion s'avère toutefois nécessaire pour les copolymères à blocs ou les copolymères statistiques. Un modèle de type ellipsoïde oblate a notamment été utilisé avec succès pour l'étude de la diffusion de copolymères à blocs POE-*b*-PS tandis qu'une stratégie basée sur la comparaison du volume hydrodynamique de copolymères statistiques avec des homopolymères ayant le même nombre d'unités semble prometteuse pour la détermination de la masse des copolymères statistiques MAM /AMA. Le choix et la mise en place de tels modèles peuvent apparaître contraignants, cependant la transposabilité à n'importe quel instrument et la validité dans le temps des courbes d'étalonnage, ainsi que la rapidité des mesures de diffusion, constituent autant d'avantages pour le développement futur de ce type de méthodologie.

---

***Chapitre 3 : Spectrométrie de Masse des polymères  
possédant des groupements terminaux fragiles***

---

## 1. INTRODUCTION

Comme décrit précédemment, les procédés de polymérisation radicalaire contrôlée sont fondés sur l'activation et la désactivation de macroradicaux par rupture homolytique d'une liaison fragile, qui permet la croissance de la chaîne polymérique par ajouts successifs de monomères. Au final, c'est par cette liaison que le groupement terminal est connecté au reste de la macromolécule polymérique.

L'altération des groupements terminaux contenant une liaison fragile lors d'analyses par spectrométrie de masse MALDI-MS (principe de fonctionnement décrit en *Annexe 2*) a déjà été reportée dans la littérature pour des polymères synthétisés par RAFT. En effet, bien que l'ionisation MALDI soit considérée comme une méthode d'ionisation douce, elle est connue pour mettre en jeu plus d'énergie que l'ESI et peut induire des réactions de fragmentations spontanées de l'ion dues à un excès d'énergie interne. Par exemple, d'Agosto *et al.*<sup>94</sup> ont synthétisé un poly(*N*-acryloyl morpholine) d'un dérivé acrylamide par RAFT à l'aide d'un agent de transfert de type dithioester, et l'ont ensuite caractérisé par MALDI-TOF. Ils ont observé des adduits de l'espèce intacte mais aussi ceux d'un produit de dégradation minoritaire qui serait possiblement formé sous irradiation laser par rupture de la liaison fragile CH-S. Le macroradical ainsi formé pourrait alors arracher un hydrogène à une molécule de matrice pour conduire à l'espèce détectée. Les travaux de Jiang *et al.*<sup>95</sup> sur la caractérisation de différents poly(méthacrylate de méthyle)s fonctionnels synthétisés par RAFT mènent aux mêmes conclusions : les groupements terminaux labiles seraient éliminés lors de l'analyse MALDI et remplacés par un atome d'hydrogène. Dans une étude menée par Schilli *et al.*<sup>96</sup> sur des poly(*N*-isopropylacrylamide)s également synthétisés par RAFT, le polymère intact a pu être détecté ainsi que des produits de dégradations de forte intensité. A l'inverse, Ladavière *et al.*<sup>97</sup> n'observent aucun pic correspondant au polymère intact mais seulement des signaux correspondant aux produits de dégradation lors de l'analyse d'un polystyrène possédant également un dithioester comme groupement terminal. De la même manière que pour d'Agosto, le groupement terminal fragile CH-S est éliminé,

---

<sup>94</sup> D'Agosto, F.; Hughes, R.; Charreyre, M. T.; Pichot, C.; Gilbert, R. G., Molecular weight and functional end group control by RAFT polymerization of a bisubstituted acrylamide derivative. *Ibid.* **2003**, 36, (3), 621-629.

<sup>95</sup> Jiang, X. L.; Schoenmakers, P. J.; van Dongen, J. L. J.; Lou, X. W.; Lima, V.; Brokken-Zijp, J., Mass spectrometric characterization of functional poly(methyl methacrylate) in combination with critical liquid chromatography. *Analytical Chemistry* **2003**, 75, (20), 5517-5524.

<sup>96</sup> Schilli, C.; Lanzendorfer, M. G.; Muller, A. H. E., Benzyl and cumyl dithiocarbamates as chain transfer agent in the RAFT polymerization of *N*-isopropylacrylamide. In situ FT-NIR and MALDI-TOF MS investigation. *Macromolecules* **2002**, 35, (18), 6819-6827.

<sup>97</sup> Ladavière, C.; Lacroix-Desmazes, P.; Delolme, F., First Systematic MALDI/ESI Mass Spectrometry Comparison to Characterize Polystyrene Synthesized by Different Controlled Radical Polymerizations. *Ibid.* **2009**, 42, (1), 70-84.



mais pour donner un groupement terminal insaturé. L'exploration d'autres conditions expérimentales en MALDI a permis de mettre en évidence que l'agent de cationisation  $\text{Ag}^+$ , très largement utilisé pour l'ionisation des polymères hydrocarbonés insaturés, jouait un rôle important dans l'élimination de ce groupement terminal. Ces derniers résultats confirment ceux de Gruendling *et al.*<sup>98</sup> qui avaient déjà mis en évidence le rôle de catalyseur des ions  $\text{Ag}^+$  dans l'élimination de ce type de groupement terminal par ESI.

Dans la majorité des cas, la modification des conditions expérimentales a été la principale approche mise en œuvre pour tenter d'empêcher ces réactions indésirables. Par exemple, Berger-Nicoletti *et al.*<sup>99</sup>, qui analysent des polystyrènes dont la fonctionnalisation silyl hybride est généralement dégradée pour des conditions expérimentales classiques, ont utilisé une matrice plus exotique qu'est la mine de crayon pour prévenir l'oxydation du groupement terminal. Ladavière *et al.*<sup>97</sup> ont également proposé des conditions expérimentales alternatives, avec NaI comme agent de cationisation, qui permettent d'obtenir des adduits de polymères intacts mais au prix de la qualité spectrale. En effet, comme l'ont montré Belu *et al.*<sup>100</sup> et Deery *et al.*<sup>101</sup>, l'ionisation MALDI des polystyrènes avec un autre agent de cationisation que l'argent reste difficile.

Dans le cas des polymères terminés SG1 synthétisés par NMP qui nous intéressent plus particulièrement, la labilité du groupement terminal a déjà été reportée par Mazarin *et al.*<sup>102</sup> pour des POE fonctionnalisés. Aucun oligomère intact n'a pu être détecté lorsque l'échantillon est préparé selon la méthode de la goutte séchée avec des sels de sodium ou de potassium comme agent de cationisation.

La seule distribution observée correspondrait au polymère ayant perdu les groupements SG1 puis MAMA par ruptures homolytiques successives pour donner des oligomères terminés par une fonction acrylate (Schéma 13). Girod *et al.*<sup>79</sup> ont obtenu des résultats similaires pour des PS.

---

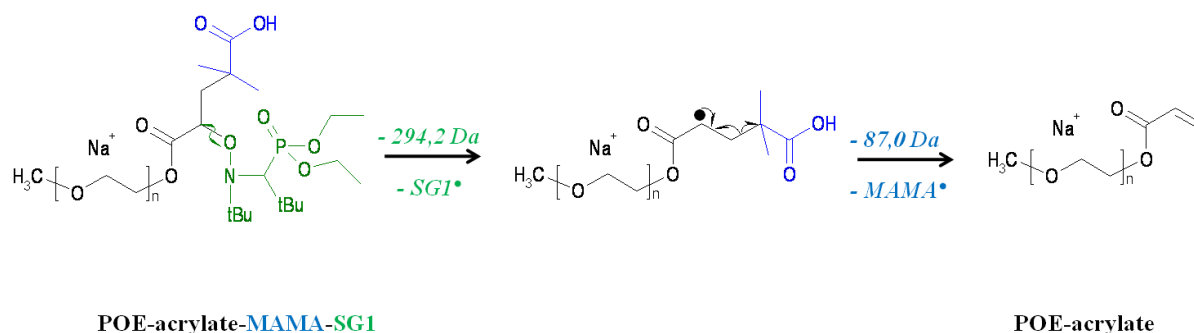
<sup>98</sup> Gruendling, T.; Hart-Smith, G.; Davis, T. P.; Stenzel, M. H.; Barner-Kowollik, C., Enhanced ionization in electrospray ionization mass spectrometry of labile end-group-containing polystyrenes using silver(I) tetrafluoroborate as doping salt. *Ibid.* **2008**, 41, (6), 1966-1971.

<sup>99</sup> Berger-Nicoletti, E.; Wurm, F.; Kilbinger, A. F. M.; Frey, H., Pencil lead as a matrix for MALDI-ToF mass spectrometry of sensitive functional polymers. *Ibid.* **2007**, 40, (3), 746-751.

<sup>100</sup> Belu, A. M.; DeSimone, J. M.; Linton, R. W.; Lange, G. W.; Friedman, R. M., Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry for polymer characterization. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **1996**, 7, (1), 11-24.

<sup>101</sup> Deery, M. J.; Jennings, K. R.; Jasieczek, C. B.; Haddleton, D. M.; Jackson, A. T.; Yates, H. T.; Scrivens, J. H., A study of cation attachment to polystyrene by means of matrix-assisted laser desorption/ionization and electrospray ionization-mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **1997**, 11, (1), 57-62.

<sup>102</sup> Mazarin, M.; Trang, T. N. T.; Charles, L., Using solvent-free sample preparation to promote protonation of poly(ethylene oxide)s with labile end-groups in matrix-assisted laser desorption/ionisation. *Ibid.* **2008**, 22, 3776-3782.



**Schéma 13 :** Voie de dissociation du groupement terminal lors de l'analyse MALDI en présence de cations alcalins  $\text{Na}^+$

Le rôle du cation adduit dans l'élimination du groupement terminal a été exploré plus en détails par Mazarin *et al.*<sup>103</sup> Une série de calculs théoriques a permis de mettre en évidence que la protonation de l'atome d'azote du nitroxyde SG1 renforçait la liaison fragile C-ON d'environ 25 kcal mol<sup>-1</sup>. L'utilisation du proton comme agent de cationisation a donc été explorée mais s'est révélée infructueuse. En effet, les polymères synthétiques présentent une faible affinité vis-à-vis des protons et la présence de cations sodium et potassium à l'état de traces dans les solvants suffit à les cationiser, lorsque les échantillons MALDI sont préparés par la méthode de la « goutte séchée ». Une méthode de préparation alternative, sans solvant, a été utilisée et permet, sans ajout d'agent de cationisation, d'obtenir des oligomères protonés intacts à l'aide d'une matrice protique telle que la 2,4,6-trihydroxyacétophénone (THAP).<sup>102</sup> Cependant, cette méthode est limitée aux oligomères de faible taille.

Une autre piste a été explorée avec l'utilisation d'un cation divalent tel que le  $\text{Cu}^{2+}$  comme agent de cationisation. Une étude combinant des expériences ESI-MS/MS (principe de fonctionnement décrit en Annexe 2), RMN ainsi que des calculs théoriques a montré que le proton acide du groupement MAMA pouvait être déplacé par  $\text{Cu}^{2+}$  vers l'atome d'azote du groupement SG1.<sup>103</sup> La mise en œuvre d'expériences ESI-MS/MS a permis d'étudier l'étape de dissociation indépendamment de l'étape d'ionisation, ce qui simplifie grandement la situation par rapport au cas du MALDI où ces deux étapes ont lieu quasiment simultanément dans la source d'ionisation. L'ion intact généré par ESI, du type  $[\text{M} + \text{H} + \text{Cu} + \text{H}]^{2+}$ , et soumis à dissociation induite par collision, n'élimine pas le groupement SG1 de manière radicalaire. Dans le but de promouvoir la protonation de l'atome d'azote du groupement SG1, l'utilisation de cations divalents semble donc être une voie intéressante pour éviter la dissociation du

<sup>103</sup> Mazarin, M.; Girod, M.; Viel, S.; Phan, T. N. T.; Marque, S. R. A.; Humbel, S.; Charles, L., Role of the Adducted Cation in the Release of Nitroxide End Group of Controlled Polymer in Mass Spectrometry. *Macromolecules* **2009**, 42, (6), 1849-1859.

groupement terminal en MALDI. Cependant, la réduction de certains métaux divalents lors du processus d'ionisation MALDI est à craindre.<sup>104,105</sup>

## 2. UTILISATION DE CATIONS DIVALENTS EN MALDI

L'aptitude de différents cations à produire des adduits doublement chargés en MALDI a été testée, en utilisant en première approche un poly(éthylène glycol) (PEG) pour tester l'affinité de la chaîne polymérique vis-à-vis de ces cations. Les sels explorés sont CaNO<sub>3</sub>, MgSO<sub>4</sub>, MnCl<sub>2</sub>, FeSO<sub>4</sub>, Co(C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)<sub>2</sub>, NiCl<sub>2</sub>, CuSO<sub>4</sub> et ZnCl<sub>2</sub>.

### 2.1. ANALYSE MALDI D'UN PEG COMMERCIAL EN PRESENCE DE CATIONS DIVALENTS

La matrice utilisée HCCA et l'échantillon de PEG commercial ( $M_w = 1490 \text{ g mol}^{-1}$ ) ont été dissous dans du méthanol. Pour permettre la dissolution des différents sels, un mélange méthanol/eau (50/50 v/v) a été utilisé. Un mélange de ces trois composés est alors réalisé pour obtenir un ratio molaire de 1000/1/10 ou 1000/1/30 (matrice/polymère/sel) dont un aliquote est déposé sur la cible MALDI dans le but d'obtenir un échantillon co-précipité après évaporation du solvant.

Les résultats obtenus permettent de classer les sels testés en trois catégories.

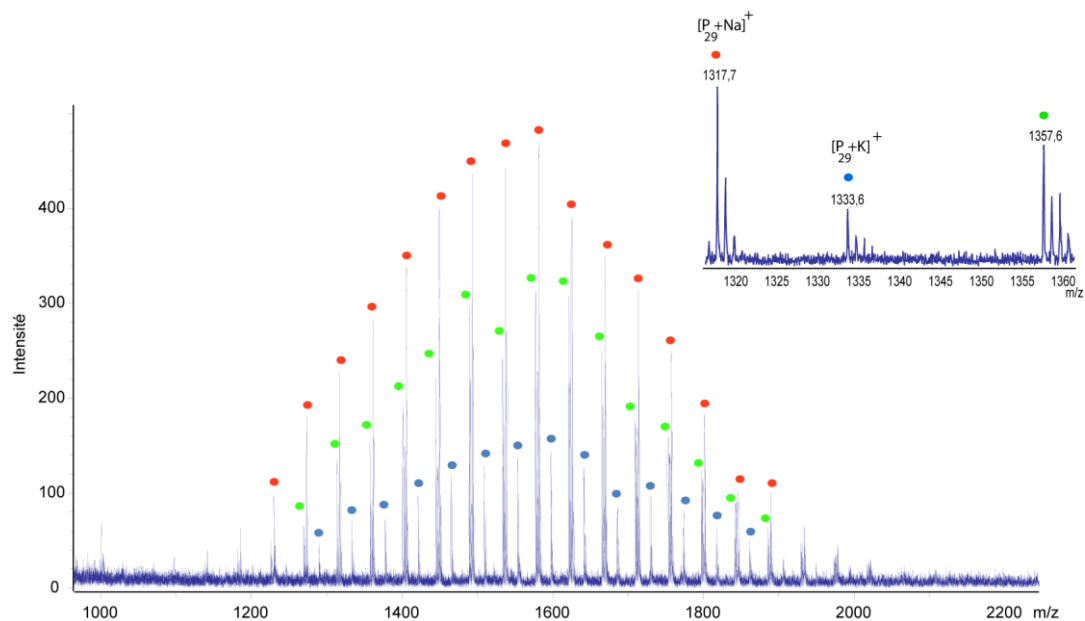
Un premier groupe, composé de ZnCl<sub>2</sub>, NiCl<sub>2</sub>, MgSO<sub>4</sub> et CaNO<sub>3</sub>, correspond aux sels qui ne permettent pas d'obtenir de signal MALDI autre que celui correspondant à l'analyte cationisé avec du sodium ou du potassium résiduel de la matrice et/ou du solvant. On peut conclure que le PEG n'a pas d'affinité pour ces différents cations.

La seconde catégorie correspond au CuSO<sub>4</sub>, qui permet l'obtention du spectre présenté Figure 14.

---

<sup>104</sup> Poehlein, S. K.; Dormady, S. J.; McMillin, D. R.; Regnier, F. E., Metallocenes as cationizing agents in the characterization of polystyrenes and polyethylene glycols by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **1999**, 13, (14), 1349-1353.

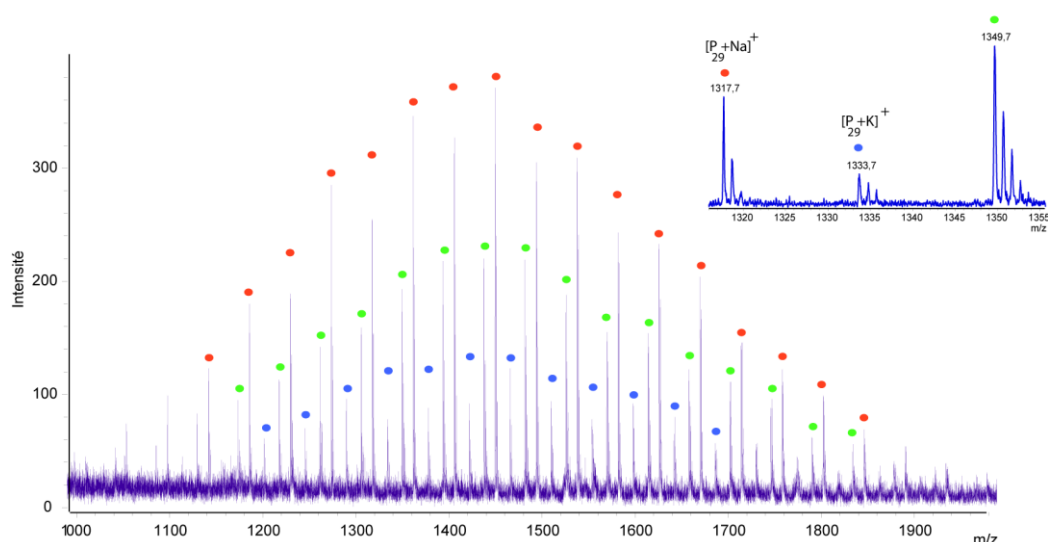
<sup>105</sup> Zhang, J.; Frankevich, V.; Knochenmuss, R.; Friess, S. D.; Zenobi, R., Reduction of Cu(II) in matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **2003**, 14, (1), 42-50.



**Figure 14 :** Spectre de masse MALDI-TOF d'un PEG commercial ( $M_w=1490 \text{ g mol}^{-1}$ ) obtenu avec HCCA comme matrice et  $\text{CuSO}_4$  comme agent cationisant (ratio molaire matrice/polymère/sel 1000 : 1 : 10 ; fluence laser : 42% ; 300 tirs). Les distributions annotées de cercles rouges, bleus et verts, correspondent respectivement à des adduits de type  $[\text{P}_n+\text{Na}]^+$ ,  $[\text{P}_n+\text{K}]^+$  et  $[\text{P}_n+\text{Cu}]^+$

Le spectre de la Figure 14 met en évidence la présence de trois distributions, dont deux proviennent d'une pollution au sodium et au potassium, également observées lors d'expériences menées sans ajout d'agent cationisant. La dernière distribution annotée de cercles verts, est également une distribution simplement chargée et les massifs isotopiques confirment bien des adduits cationisés au cuivre. Cependant, l'ion  $m/z$  1357,6 attribué à  $[\text{P}_{29}+\text{Cu}]^+$  indique clairement une réduction du cuivre conduisant à la production d'ions simplement chargés. L'utilisation d'un sel ayant un contre-anion différent, tel que  $\text{CuCl}_2$ , donne les mêmes résultats.

Une dernière catégorie, constituée de  $\text{FeSO}_4$ ,  $\text{Co}(\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_2)_2$  et  $\text{MnCl}_2$ , permet également l'obtention d'un spectre de masse MALDI-TOF, comme illustré Figure 15 par l'exemple du fer.



**Figure 15 :** Spectre de masse MALDI-TOF d'un PEG commercial ( $M_w=1490 \text{ g mol}^{-1}$ ) obtenu avec HCCA comme matrice et  $\text{FeSO}_4$  comme agent cationisant (ratio molaire matrice/polymère/sel 1000 : 1 : 30 ; fluence laser : 40% ; 300 tirs). Les distributions annotées de cercles rouges, bleus et verts, correspondent respectivement à des adduits de type  $[\text{P}_n+\text{Na}]^+$ ,  $[\text{P}_n+\text{K}]^+$  et  $[\text{P}_n-\text{H}+\text{Fe}]^+$

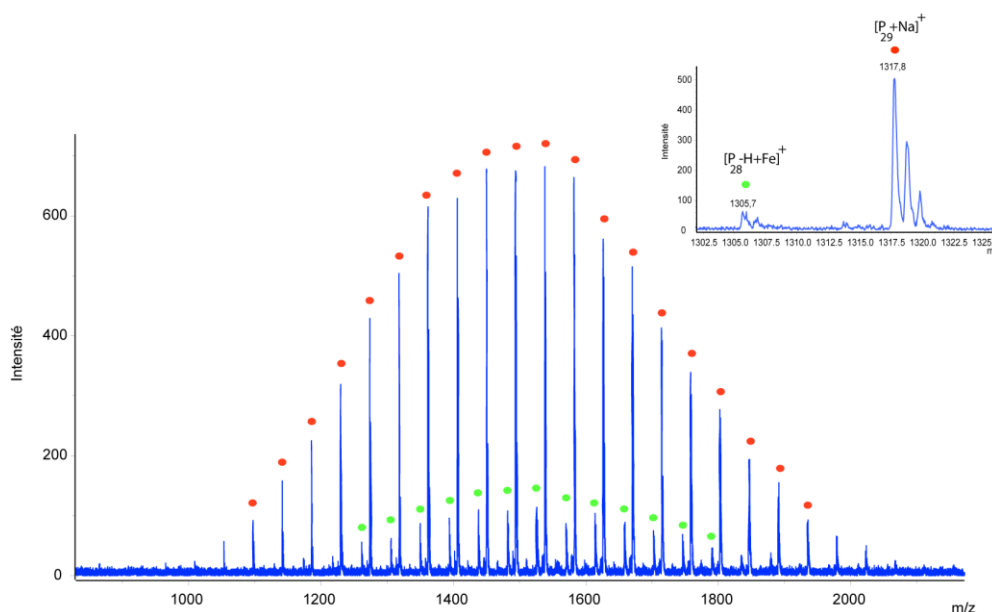
Comme précédemment, les distributions annotées de cercles rouges et bleus peuvent être attribuées respectivement à des adduits au sodium  $[\text{P}_n+\text{Na}]^+$  et au potassium  $[\text{P}_n+\text{K}]^+$ . La dernière distribution annotée de cercles verts est une distribution simplement chargée. Les massifs isotopiques semblent indiquer des adduits cationisés par un ion fer. Cependant, les ions de cette distribution, comme par exemple l'ion  $m/z$  1349,7, ne correspondent pas à des adduits de polymère intacts en présence d'un cation réduit. Le calcul de la somme des masses des groupements terminaux du polymère observé aboutit à  $m_x+m_y = 17 \text{ g mol}^{-1}$  ce qui laisse supposer une distribution du type  $[\text{P}_n-\text{H}+\text{Fe}]^+$ . Les mêmes résultats sont obtenus pour les adduits cationisés par  $\text{Co}^{2+}$  et  $\text{Mn}^{2+}$ , avec des intensités toutefois plus faibles pour la distribution de type  $[\text{P}_n-\text{H}+\text{C}]^+$ .

A ce stade, aucun adduit doublement chargé n'a pu être produit dans la source MALDI. Une partie des cations divalents utilisés ne permettant pas d'obtenir d'adduits cationiques en MALDI, ils ne présentent pas d'intérêt pour la suite de l'étude. Comme reporté dans la littérature,  $\text{Cu}^{2+}$  est réduit en  $\text{Cu}^+$  lors du processus d'ionisation.<sup>101,106</sup> Quant aux autres métaux, ils ne permettent pas à l'heure actuelle d'obtenir de distribution doublement chargée mais ne semblent pas subir le même mécanisme de réduction que le cuivre.

<sup>106</sup> Llenes, C. F.; O'Malley, R. M.; Cotter, R. J., Cation attachment in the analysis of polystyrene and polyethylene glycol by laser-desorption time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **1992**, 6, (9), 564-570.

## 2.2. REDUCTION DES METAUX DANS LA SOURCE MALDI

Zhang *et al.*<sup>105</sup> ont étudié la réduction de  $\text{Cu}^{2+}$  dans la source MALDI. Ils ont pu mettre en évidence que le processus de réduction s'effectue en phase gazeuse et peut avoir deux origines distinctes, dont l'une serait une réaction de transfert de charge avec une molécule de matrice. En effet, Knochenmuss *et al.*<sup>107</sup> avaient déjà mis en évidence que ce type de réaction entre ions secondaires et molécules était favorable dans la source MALDI car exothermique. Un processus de réduction alternatif est la capture d'un électron dans la plume MALDI. Cette dernière voie peut cependant être largement réduite par l'utilisation de plaque non métallique qui évite l'émission importante d'électrons lors de l'irradiation laser ou, à défaut, l'isolation de l'échantillon vis-à-vis de la cible à l'aide d'une couche épaisse de matrice. Le mode de préparation d'échantillon sans solvant apparaît alors comme une alternative intéressante dans le but de minimiser la quantité d'électrons dans la plume. Le spectre d'un échantillon préparé sans solvant du PEG commercial en présence de HCCA et  $\text{FeSO}_4$  est donné Figure 16.

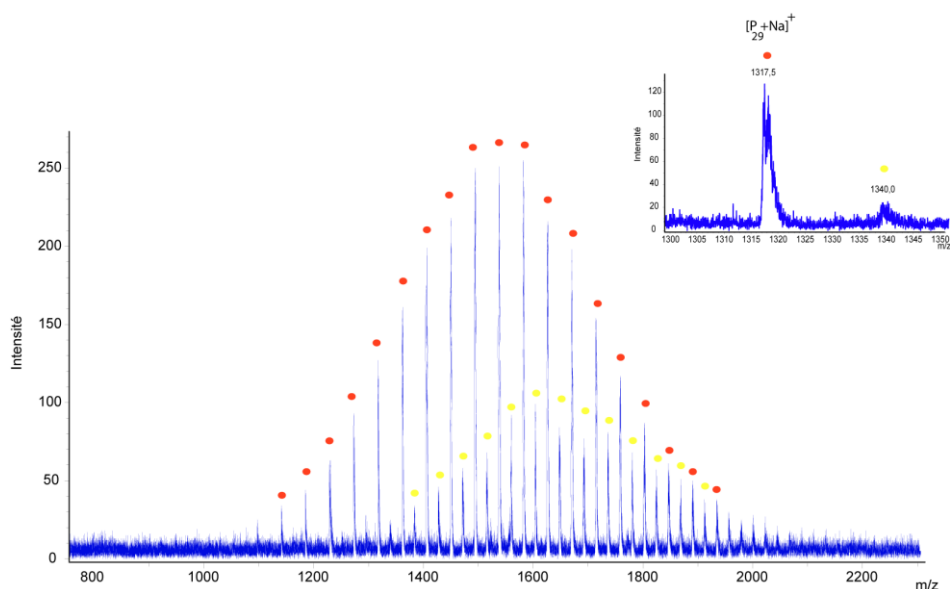


**Figure 16 :** Spectre de masse MALDI-TOF d'un PEG commercial ( $M_w=1490 \text{ g mol}^{-1}$ ) obtenu avec HCCA comme matrice et  $\text{FeSO}_4$  comme agent cationisant. L'échantillon est préparé par broyage à sec des différents constituants [fluence laser : 42% ; 200 tirs]. Les distributions annotées de cercles rouges et verts, correspondent respectivement à des adduits de type  $[\text{P}_n+\text{Na}]^+$  et  $[\text{P}_n-\text{H}+\text{Fe}]^+$

Le spectre de la Figure 16 met en évidence la même distribution déprotonée, annotée d'un cercle vert, que celle observée sur le spectre de la Figure 16. On peut alors penser que soit le mode de

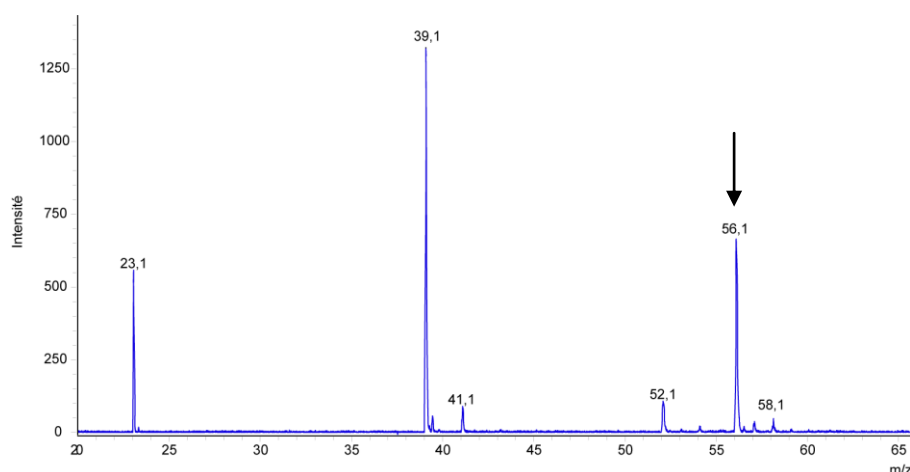
<sup>107</sup> Knochenmuss, R.; Stortelder, A.; Breuker, K.; Zenobi, R., Secondary ion-molecule reactions in matrix-assisted laser desorption/ionization. *Journal of Mass Spectrometry* **2000**, 35, (11), 1237-1245.

préparation de l'échantillon n'a pas permis de réduire suffisamment le nombre d'électrons émis lors du processus d'ionisation, soit la modification du polymère observée se fait pas interaction avec une molécule de matrice. Le mode d'ionisation par désorption laser (LDI), sans matrice, a également été testé. Il permet d'obtenir le spectre présenté Figure 17.



**Figure 17** : Spectre de masse LDI-TOF d'un PEG commercial ( $M_w=1490 \text{ g mol}^{-1}$ ) obtenu avec  $\text{FeSO}_4$  comme agent cationisant. L'échantillon est préparé par broyage à sec de la matrice HCCA et du sel [fluence laser : 71% ; 249 tirs]. La distribution annotée de cercles rouges correspond à des adduits de type  $[\text{P}_n+\text{Na}]^+$ , celle annotée de cercles jaunes n'est pas identifiée et correspond à  $m_X+m_Y+m_{\text{Cat}} = 19,3 + k \text{ Da}$  (où  $k$  est un entier naturel)

Le mode LDI n'utilisant pas de matrice pour absorber l'énergie laser, la fluence utilisée est beaucoup plus importante, il en résulte une perte notable de résolution spectrale ne permettant pas de mesurer précisément les rapports  $m/z$  des différents ions. Cependant, le spectre de la Figure 17 semble mettre en évidence une distribution cationisée au sodium (annotée avec des cercles rouges) ainsi qu'une distribution simplement chargée (annotée de cercles jaunes) non identifiée. Dans tous les cas, cette distribution ne correspond pas à des adduits de polymère intact cationisés au fer. Une dernière expérience de LDI a été réalisée sur un échantillon de  $\text{FeSO}_4$  seul, broyé à sec. Le spectre obtenu est donné Figure 18.



**Figure 18** : Spectre LDI de  $\text{FeSO}_4$  broyé à sec. L'ion  $\text{Fe}^+$  est détecté à  $m/z$  56,1

Le spectre de la Figure 18 montre la présence d'ions  $\text{Fe}^+$  à  $m/z$  56,1 et l'absence totale d'ions  $\text{Fe}^{2+}$  attendus à  $m/z$  28,1. On peut donc conclure que le mode de préparation sans solvant, ne permet pas d'éviter les phénomènes de réduction observés lors des processus LDI ou MALDI.

### 2.3. CONCLUSION

Malgré l'exploration d'un grand nombre de modes de préparation d'échantillons et de nombreuses conditions expérimentales, aucun adduit doublement chargé n'a pu être obtenu en MALDI. L'utilisation de cations divalents, bien que permettant de prévenir l'élimination du groupement SG1 en ESI-MS/MS, n'est pas transposable en MALDI à cause des phénomènes de réduction en source. Notons cependant que des adduits différents sont obtenus en fonction des agents de cationisation utilisés. Notamment, les adduits au fer correspondraient à des polymères déprotonés. L'influence des différents cations divalents sur la dissociation induite par collision d'un POE-MAMA-SG1 a donc fait l'objet d'une étude plus fondamentale par ESI-MS/MS.

## 3. ETUDE DE LA FRAGMENTATION D'UN POLYMERE POE-MAMA-SG1 PAR ESI-MS/MS EN PRESENCE DE CATIONS DIVALENTS.

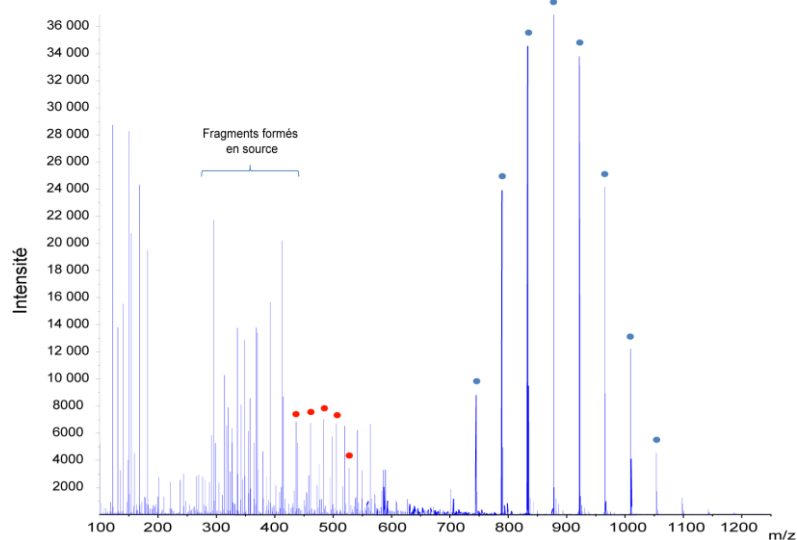
Deux séries de cations divalents ont été étudiées : les alcalino-terreux ( $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{Mg}^{2+}$ ) et les métaux de transition du bloc d ( $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  et  $\text{Zn}^{2+}$ ). Les solutions salines, à savoir  $\text{CaNO}_3$ ,



MgSO<sub>4</sub>, MnCl<sub>2</sub>, FeSO<sub>4</sub>, Co(C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)<sub>2</sub>, NiCl<sub>2</sub>, CuSO<sub>4</sub> et ZnCl<sub>2</sub>, ont été préparées à une concentration de 1 mM dans un mélange méthanol/eau, avec une proportion variable d'eau permettant de faciliter la dissolution du sel mais n'excédant pas 50% (v/v). Des dilutions d'une solution-mère de POE-MAMA-SG1 900 à 5,7 mg mL<sup>-1</sup> dans le méthanol à l'aide de ces solutions salines ont été réalisées pour atteindre une concentration finale de 57 µg mL<sup>-1</sup> en polymère.

### 3.1. ETUDE DES SPECTRES ESI-MS

Les spectres ESI-MS enregistrés à partir des solutions de POE-MAMA-SG1 sont complexes de par la présence de nombreux fragments formés en source. En effet, l'augmentation de la tension d'orifice dans ce type d'instrument, destinée à mieux désolvater les ions formés en source, suffit pour engendrer la fragmentation de groupements fragiles. Dans le but d'optimiser les conditions d'analyse, les spectres de masse ont été acquis avec des tensions d'orifice variables à partir de différentes solutions d'échantillon. Pour chaque sel testé, deux distributions principales, correspondant à  $[P_n-H+C^{II}]^+$  et  $[P_n+C^{II}]^{2+}$ , ont pu être observées, comme déjà décrit par Mazarin *et al.*<sup>103</sup> Le spectre de masse obtenu avec Co<sup>2+</sup> comme agent de cationisation pour le POE-MAMA-SG1 900, est présenté Figure 19.



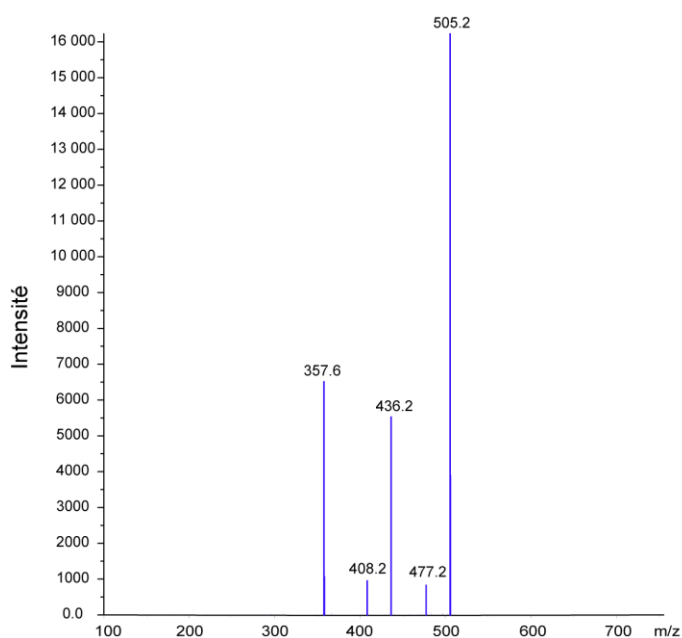
**Figure 19 :** Spectre de masse ESI-MS de POE-MAMA-SG1 900 en présence de Co(II) pour une tension d'orifice de 30V. Les distributions annotées de cercles bleus et rouges correspondent respectivement à des adduits de type  $[P_n-H+Co^{II}]^+$  et  $[P_n+Co^{II}]^{2+}$

Les deux types d'adduits oligomériques,  $[P_n-H+C^{II}]^+$  et  $[P_n+C^{II}]^{2+}$ , ont été soumis à des expériences de spectrométrie de masse en tandem après activation par collision.

### 3.2. ETUDE DE LA FRAGMENTATION DU POE-MAMA-SG1 EN PRESENCE DE $C^{II}$ PAR ESI-MS/MS

#### 3.2.1. Etude de la fragmentation des distributions doublement chargées $[P_n+C^{II}]^{2+}$

La dissociation induite par collision des adduits  $[P_n+C^{II}]^{2+}$  ne met en évidence aucune perte du groupement terminal fragile SG1 sous forme radicalaire, quel que soit le cation divalent utilisé. Comme déjà observé par Mazarin *et al.*<sup>103</sup> pour  $Cu^{2+}$ , la dissociation induite par collision des adduits doublement chargés produit d'autres fragments (Figure 20) dont la composition élémentaire a pu être déterminée d'après la mesure de leur masse exacte.



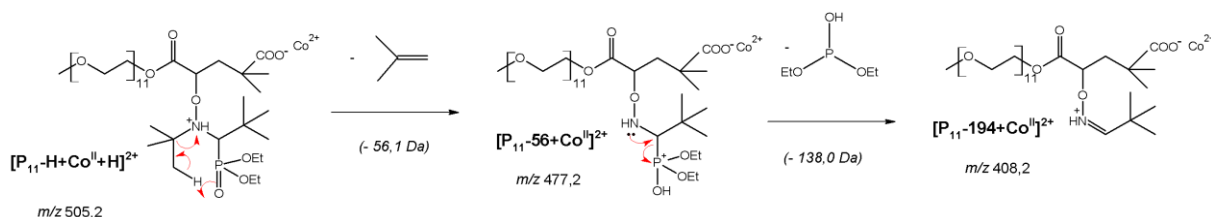
**Figure 20 :** Spectre de masse ESI-MS/MS de l'adduit  $[P_{11}+Co^{II}]^{2+}$  enregistré pour une tension d'orifice de 30 V à une énergie de collision  $E_c = 7$  eV (référentiel laboratoire)

**Tableau 10 :** Masse exacte et composition élémentaire des ions présents dans le spectre de masse de la Figure 20

<i>m/z</i> exp (Da)	Composition élémentaire	<i>m/z</i> théo (Da)	Erreur (ppm)
505,2426	$C_{43}H_{86}O_{19}NPCo^{2+}$	505,2426	référence
477,2149	$C_{39}H_{78}O_{19}NPCo^{2+}$	477,2113	+ 7.5
436,2194	$C_{39}H_{75}O_{16}NCo^{2+}$	436,2203	- 2.2
408,1907	$C_{35}H_{67}O_{16}NCo^{2+}$	408,1890	+ 4.0
357,6447	$C_{30}H_{56}O_{15}Co^{2+}$	357,6470	- 6.5

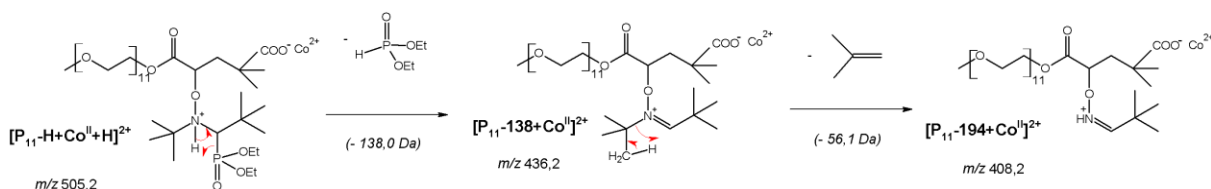
En considérant que l'hydrogène acide du groupement MAMA est déplacé par le cation divalent et vient protoner l'atome d'azote du groupement SG1, l'ensemble des ions fragments peut être expliqué par différents mécanismes de dissociation interne au groupement terminal SG1.

La perte de 2-méthylprop-1-ène ( $C_4H_8$ , 56,1 Da) après transfert 1,6 d'un proton sur l'atome d'oxygène du groupement phosphonate engendrerait la formation de l'ion  $m/z$  477,2, à partir de l'ion précurseur  $m/z$  505,2 Da. La réduction de l'atome de phosphore dans l'ion  $m/z$  477,2 permettrait d'expliquer ensuite la formation de l'ion  $m/z$  408,2 (noté  $[P_{11}-194+Co^{II}]^{2+}$ ) suite à la perte d'un neutre de masse 138,0 Da (Schéma 14).



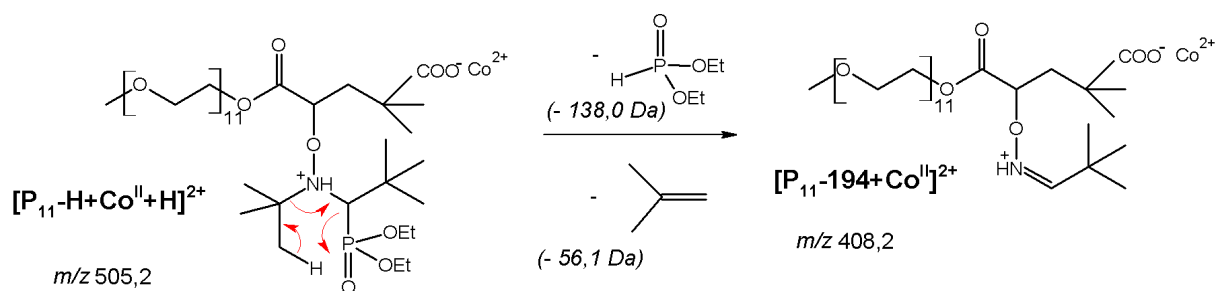
**Schéma 14 :** Mécanisme de fragmentation proposé pour la formation des ions  $m/z$  477,2 puis  $m/z$  408,2 à partir de l'ion précurseur  $m/z$  505,2

L'ion  $m/z$  436,2 (noté  $[P_{11}-138+Co^{II}]^{2+}$ ) peut quant à lui être expliqué par l'élimination d'une molécule de diéthylphosphonate (138,0 Da), par transfert 1,3 du proton depuis l'atome d'azote vers l'atome de phosphore (Schéma 15). L'élimination de 2-méthylprop-1-ène après transfert 1,3 d'un proton sur l'atome d'azote permet d'obtenir à nouveau l'ion  $[P_{11}-194]^{2+}$  à  $m/z$  408,2.



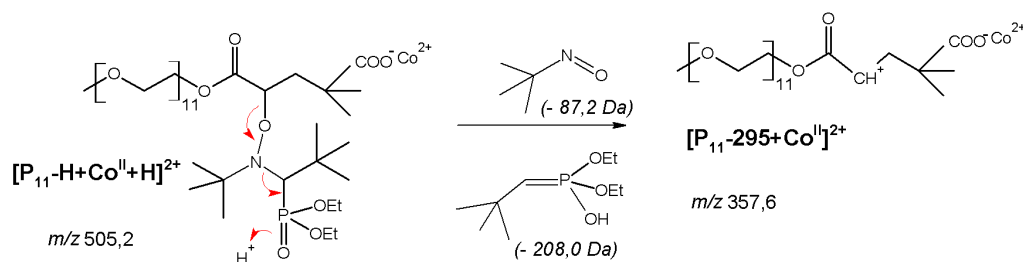
**Schéma 15 :** Mécanisme de fragmentation proposé pour expliquer la formation des ions  $m/z$  436,2 puis  $m/z$  408,2 à partir de l'ion précurseur  $m/z$  505,2

Un mécanisme de type Mac Lafferty (Schéma 16) peut aussi être imaginé pour expliquer la formation de l'ion  $m/z$  408,2, via la perte conjointe de diéthylphosphonate et de 2-méthylprop-1-ène.



**Schéma 16 :** Mécanisme proposé pour la formation de l'ion  $m/z$  408,2 à partir de l'ion précurseur  $m/z$  505,2

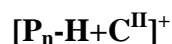
Pour finir, l'ion  $m/z$  357,6 serait directement issu de l'ion précurseur  $m/z$  505,2, par un mécanisme faisant intervenir le proton acide déplacé par le cation divalent (Schéma 17). En effet, bien que moins stable en énergie, le groupement phosphonate peut être considéré comme un emplacement alternatif à l'atome d'azote pour le proton acide.<sup>103</sup>



**Schéma 17 :** Mécanisme proposé pour la formation de l'ion  $m/z$  357,6 à partir de l'ion précurseur  $m/z$  505,2

Finalement, comme pour  $\text{Co}^{2+}$ , les différents cations divalents testés ne donnent pas lieu à l'homolyse de la liaison C-ON permettant l'élimination du radical SGI quand les adduits activés sont du type  $[P_n+\text{C}^{\text{II}}]^{2+}$ . Ces résultats sont cohérents avec ceux obtenus pour  $\text{Cu}^{2+}$  par Mazarin *et al.*<sup>103</sup>

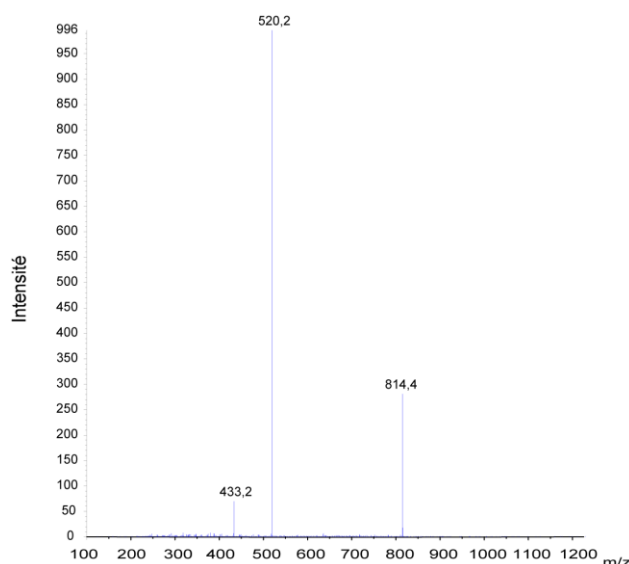
### 3.2.2. Etude de la fragmentation des distributions simplement chargées



Contrairement aux voies de fragmentation des adduits doublement chargés, les comportements de dissociation induite par collision des adduits de type  $[P_n\text{-H}+\text{C}^{\text{II}}]^+$  sont différents selon l'agent de cationisation utilisé. Il convient de distinguer trois comportements particuliers, le cas des adduits alcalino-terreux, celui des métaux de transition du bloc d et le cas des ions ferreux.

### 3.2.2.a. Cas des alcalino-terreux

La dissociation induite par collision des adduits  $[P_n-H+C^{II}]^+$ , avec C = Ca ou Mg, ne donne lieu qu'à deux fragments, comme illustré Figure 21 par le spectre MS/MS de l'adduit  $[P_7-H+Ca]^+$  à  $m/z$  814,4.



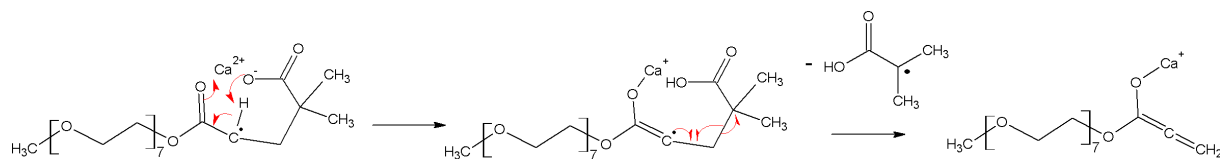
**Figure 21** : Spectre ESI-MS/MS de  $[P_7-H+Ca]^+$  obtenu pour une énergie de collision de 20 eV (référentiel laboratoire)

Les mesures de masse exacte de ces deux fragments (Tableau 11) indiquent une perte radicalaire de  $SG1^\bullet$  suivie de l'élimination de  $MAMA^\bullet$ . Cette voie de dissociation est surprenante pour des adduits déprotonés : elle doit en effet impliquer un transfert de proton vers le groupement MAMA.

**Tableau 11** : Masse exacte et composition élémentaire des ions présents dans le spectre de masse de la Figure 21

$m/z$ exp (Da)	Composition élémentaire	$m/z$ théo (Da)	Erreur (ppm)	Attribution
814,4025	$C_{35}H_{69}O_{15}NPCa^+$	814,4025	référence	$[P_7-H+Ca]^+$
520,2130	$C_{22}H_{40}O_{11}Ca^+$	520,2196	- 10,6	$[P_7-H-SG1+Ca]^{\bullet+}$
433,1782	$C_{18}H_{33}O_9Ca^+$	433,1745	+ 8,5	$[P_{11}-H-SG1-MAMA+Ca]^+$

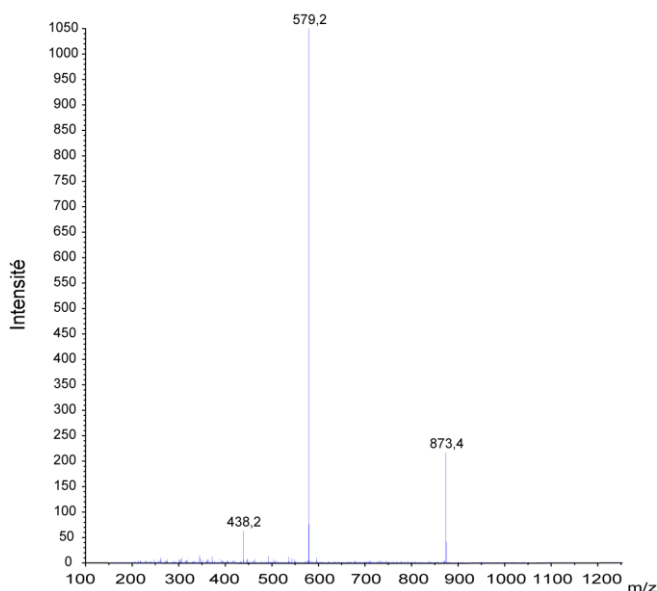
Un mécanisme est proposé Schéma 18 pour expliquer la formation de l'ion fragment  $m/z$  433,2. Un transfert 1,5 de proton depuis le carbone radicalaire vers la fonction carboxylate terminale pourrait être assisté par l'interaction existant entre le groupement carbonyle de la fonction acrylate et l'atome de calcium. Suite au transfert de proton, la rupture homolytique de la liaison C-C située en  $\alpha$  du radical libèrerait le radical  $MAMA^\bullet$  ainsi qu'un ion portant une fonction cumulène détecté à  $m/z$  433,2.



**Schéma 18** : Mécanisme proposé pour la formation de l'ion  $m/z$  433,2 à partir de l'ion précurseur  $m/z$  520,2

### 3.2.2.b. Cas des métaux de transition

La dissociation des adduits simplement chargés avec un métal de transition divalent conduit également à l'obtention de deux fragments, comme indiqué Figure 22 par le spectre ESI-MS/MS de l'ion  $[P_8-H+Mn]^+$ .



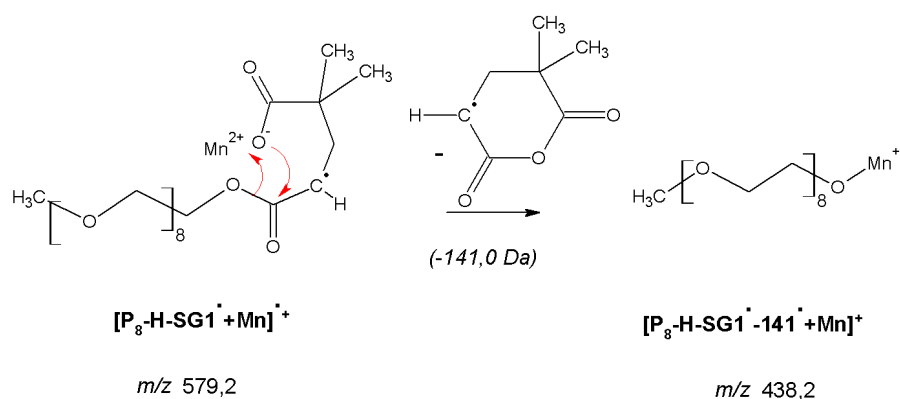
**Figure 22** : Spectre ESI-MS/MS de  $[P_8-H+Mn]^+$  obtenu pour une énergie de collision de 25 eV (référentiel laboratoire)

Les mesures de masse exacte de ces deux fragments (Tableau 12) indiquent clairement que les mécanismes de fragmentation sont différents dans le cas des métaux de transition et des alcalino-terreux. En effet, même si la perte de  $SG1^\bullet$  est observée dans les deux cas, le fragment issu de l'élimination du radical  $MAMA^\bullet$  n'est jamais détectée dans le cas des métaux de transition.

**Tableau 12** : Masses exactes et attributions des pics présents dans le spectre de masse de la Figure 22

$m/z$ exp (Da)	Composition élémentaire	$m/z$ théo (Da)	Erreur (ppm)	Attribution
873,4042	$C_{37}H_{73}O_{16}NPMn^+$	873,4042	référence	$[P_8-H+Mn]^+$
579,2154	$C_{24}H_{44}O_{12}Mn^+$	579,2207	- 9.3	$[P_8-H-SG1+Mn]^{\bullet+}$
438,1604	$C_{17}H_{35}O_9Mn^+$	438,1656	-11.9	$[P_8-SG1-141+Mn]^+$

Par contre, l'élimination d'un radical de masse 141 Da ( $C_7H_9O_3^\bullet$ ) est observée à partir de  $[P_8\text{-H-SG1+Mn}]^{\bullet+}$  et donne naissance à l'ion  $m/z$  438,2. Cette réaction pourrait consister en l'attaque nucléophile de l'anion carboxylate sur l'atome de carbone du carbonyle de la fonction acrylate, permettant d'une part l'élimination d'une espèce de masse 141,0 Da (où le radical est stabilisé par résonance), et d'autre part la formation d'une liaison O-Mn<sup>+</sup> dans le groupement terminal de la chaîne POE détectée à  $m/z$  438,2 (Schéma 19).

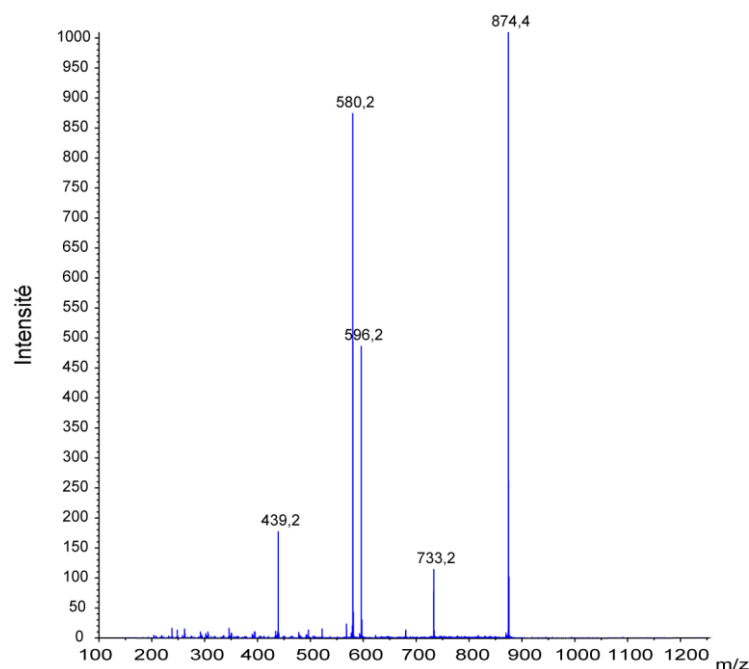


**Schéma 19 :** Mécanisme proposé pour la formation de l'ion  $m/z$  438,2 à partir de l'ion  $m/z$  579,2

Il est à noter ici que l'ensemble des adduits contenant un cation métallique présente tous ces deux seules voies de dissociation successives, à l'exception des adduits au fer.

### 3.2.2.c. Cas particulier du $Fe^{2+}$

Comme le montre le spectre ESI-MS/MS présenté Figure 23, les adduits de type  $[P_n\text{-H+Fe}]^+$  présentent plus de fragments que leurs homologues contenant d'autres métaux de transitions.



**Figure 23** : Spectre ESI-MS/MS de  $[P_8\text{-H+Fe}]^+$  à  $m/z$  874,4 obtenu pour une énergie de collision de 20 eV (référentiel laboratoire)

Les mesures de masse exacte des ions fragments (Tableau 13) mettent en évidence la perte radicalaire de SG1 à  $m/z$  580,2 à partir de l'ion  $[P_8\text{-H+Fe}]^+$  à  $m/z$  874,4. De la même manière que pour les autres métaux de transition du bloc d, l'élimination d'un radical de masse 141 Da ( $C_7H_9O_3^\bullet$ ) est observée à partir de  $[P_8\text{-H-SG1+Fe}]^{\bullet+}$  et donne naissance à l'ion  $m/z$  439,2. De plus, les ions observés à  $m/z$  580,2 et  $m/z$  596,2 suggèrent une dissociation radicalaire compétitive des liaisons C-ON et CO-N.

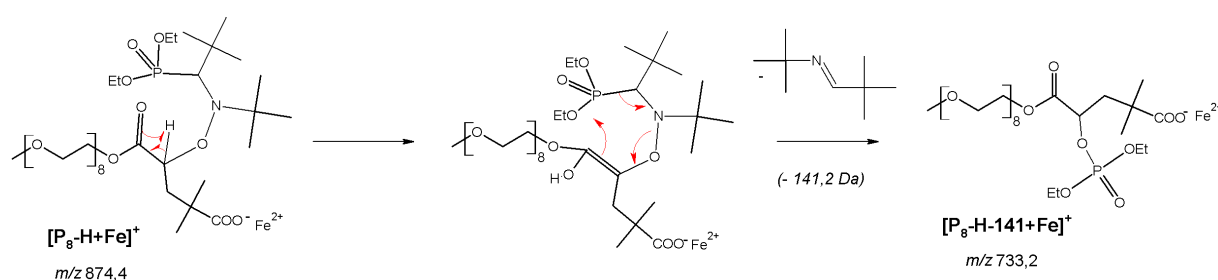
**Tableau 13** : Masse exacte, composition élémentaire et attribution des pics présents dans le spectre de masse de la Figure 23

$m/z$ exp (Da)	Composition élémentaire	$m/z$ théo (Da)	Erreur (ppm)	Attribution
874,4012	$C_{37}H_{73}O_{16}NPF_6^+$	874,4012	référence	$[P_8\text{-H+Fe}]^+$
733,2486	$C_{28}H_{54}O_{16}PF_6^+$	733,2494	- 1.0	$[P_8\text{-H-141+Fe}]^+$
596,2063	$C_{24}H_{44}O_{13}Fe^+$	596,2125	- 10.5	$[P_8\text{-H-(SG1-O)+Fe}]^{\bullet+}$
580,2107	$C_{24}H_{44}O_{12}Fe^+$	580,2176	- 12.0	$[P_8\text{-H-SG1+Fe}]^{\bullet+}$
439,1564	$C_{17}H_{35}O_9Fe^+$	439,1624	- 13.9	$[P_8\text{-SG1-141+Fe}]^+$



Cette dissociation compétitive a été reportée par Gignes *et al.*<sup>108</sup> après comparaison d'alcoxyamines possédant des groupements alkyles différents liés à l'atome d'oxygène. Il a été montré que la nature de ce groupement favorise la dissociation de C-ON plutôt que CO-N quand le radical alkyle est stabilisé, comme pour des radicaux tertiaires ou des groupements benzyle. En effet, Bertin *et al.*<sup>109</sup> avaient déjà montré que le taux de dissociation de la liaison C-ON d'alcoxyamines comme le TEMPO ou le SG1 augmente avec la polarité, la taille et donc la stabilité du groupement alkyle libéré. De plus, l'effet opposé a été observé pour une polarité croissante du groupement lié à l'atome d'azote.<sup>110</sup> Des résultats similaires ont été obtenus par Hodgson *et al.*<sup>111</sup> qui concluent que la rupture de la liaison CO-N est favorisée par rapport à la rupture C-ON seulement quand cette dernière liaison est stabilisée ou que le radical alkyle issu de la rupture C-ON n'est pas stabilisé. L'ensemble de ces données suggèrent une proximité du cation Fe<sup>2+</sup> et de la liaison C-ON, qui serait ainsi renforcée.

La fragilité de la liaison CO-N observée dans les adduits de type [P<sub>8</sub>-H+Fe]<sup>+</sup> permet également d'expliquer la formation de l'ion *m/z* 733,2, non observé pour les autres métaux. Cet ion fragment serait issu de la perte d'un neutre de formule C<sub>9</sub>H<sub>19</sub>N suite à un réarrangement de l'ion *m/z* 874,4, induit par la rupture homolytique des liaisons CO-N et C-P pour former une liaison CO-P (Schéma 20).



**Schéma 20** : Mécanisme proposé pour la formation de l'ion *m/z* 733,2 à partir de l'ion *m/z* 874,4

De la même manière que pour les autres métaux de transition, l'ion *m/z* 439,2 peut quant à lui s'expliquer par la perte d'un radical cyclique de masse 141,0 Da successive à celle de SG1<sup>•</sup>, comme décrit Schéma 19.

<sup>108</sup> Gignes, D.; Gaudel-Siri, A.; Marque, S. R. A.; Bertin, D.; Tordo, P.; Astolfi, P.; Greci, L.; Rizzoli, C., Alkoxyamines of stable aromatic nitroxides: N-O vs. C-O bond homolysis. *Helvetica Chimica Acta* **2006**, 89, (10), 2312-2326.

<sup>109</sup> Bertin, D.; Gignes, D.; Marque, S. R. A.; Tordo, P., Polar, steric, and stabilization effects in alkoxyamines C-ON bond homolysis: A multiparameter analysis. *Macromolecules* **2005**, 38, (7), 2638-2650.

<sup>110</sup> Fischer, H.; Kramer, A.; Marque, S. R. A.; Nesvadba, P., Steric and polar effects of the cyclic nitroxyl fragment on the C-ON bond homolysis rate constant. *Ibid.*, (24), 9974-9984.

<sup>111</sup> Hodgson, J. L.; Roskop, L. B.; Gordon, M. S.; Lin, C. Y.; Coote, M. L., Side Reactions of Nitroxide-Mediated Polymerization: N-O versus O-C Cleavage of Alkoxyamines. *Journal of Physical Chemistry A* **2010**, 114, (38), 10458-10466.

En résumé, trois comportements de fragmentation distincts ont été observés pour les oligomères POE-MAMA-SG1 adduits par un cation divalent mais simplement chargés :

- les adduits contenant des alcalino-terreux pour lesquels un transfert de proton est nécessaire pour perdre le groupement MAMA par voie radicalaire successivement au groupement SG1,
- les adduits contenant des métaux de transition qui perdent plutôt un radical cyclique de masse 141 consécutivement à la perte du groupement SG1,
- les adduits au  $Fe^{2+}$  qui donnent lieu à de nouvelles voies de dissociation, dues à la fragilité de la liaison CO-N, en plus de celle observée pour les autres métaux de transition.

Une étude de chimie théorique a donc été menée pour tenter de rationaliser les différents comportements observés au cours de ces expériences ESI-MS/MS.

## **4. ETUDE *AB INITIO* DES VOIES DE FRAGMENTATION D'UN POLYMERE POE-MAMA-SG1 EN PRESENCE DE CATIONS DIVALENTS.**

### **4.1. MOLECULE MODELE ET CONDITIONS**

#### **4.1.1. Systèmes étudiés**

Dans le but de comprendre les différents mécanismes de fragmentation décrits précédemment, trois séries de calculs théoriques ont été réalisées avec différents agents de cationisation

- (i)  $Mg^{2+}$  pour modéliser le comportement des alcalino-terreux ;
- (ii)  $Zn^{2+}$  pour modéliser le comportement des métaux de transition ;
- (iii)  $Fe^{2+}$ .

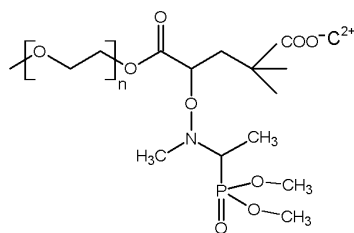
Quatre voies de fragmentation ont été étudiées : la dissociation compétitive des liaisons C-ON et CO-N et la perte compétitive des radicaux MAMA $\bullet$  ou 141 $\bullet$ , successive à celle de SG1 $\bullet$ .

#### 4.1.2. Niveau de calculs et bases employées

La méthode basée sur la Théorie de la Fonctionnelle de la Densité (DFT) est largement employée pour ce type d'étude. Cependant les méthodes DFT sont généralement connues pour mal décrire les électrons célibataires.<sup>112</sup> Les mécanismes de dissociation étudiés étant radicalaires, les optimisations de géométrie ont donc été réalisées au niveau Hartree-Fock avec la base 6-31g(d). Bien que modeste, cette base a déjà donné de bons résultats pour l'optimisation de la géométrie d'alcoxyamines dans une étude similaire.<sup>111</sup> Les calculs d'énergie ont été réalisés selon la méthode de perturbation MP2 à l'aide d'une base 6-311g(d) qui permet l'analyse des métaux de transition et des alcalino-terreux. De plus, le choix de cette base a été optimisé dans le but de réduire les temps de calculs. A cet effet, l'énergie au niveau MP2 d'une molécule simplifiée a été calculée à l'aide de bases différentes possédant plus ou moins d'orbitales diffuses (6-311g(2d,p), 6-311g(d,p), 6-311g(d)). Les énergies obtenues étant très similaires, la base 6-311g(d) a été retenue. L'ensemble des énergies de dissociation sera donné après correction du premier niveau de vibration.

#### 4.1.3. Adduits simplifiés modèles

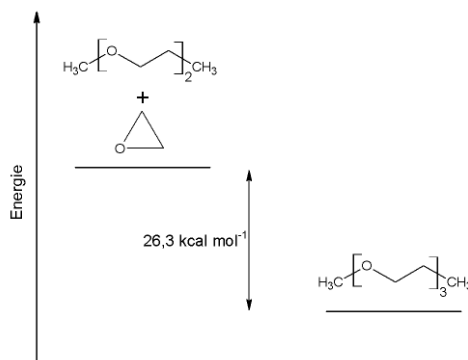
Le temps de calcul augmentant avec le nombre d'atomes présents dans la molécule, un adduit modèle a été utilisé (Schéma 21). Les groupements *tert*-butyl (tBu) du groupement SG1 ont été remplacés par des groupements méthyles. De même, les groupements éthoxy liés à l'atome de phosphore ont été remplacés par des groupements méthoxy. De plus, les adduits étudiés étant déprotonés, l'agent de cationisation a été placé en interaction forte avec les atomes d'oxygène du groupement MAMA de manière à former un sel d'acide. Cet adduit modèle sera noté  $S_nC^+$ , avec  $n$  le nombre d'unités monomériques et  $C$  le cation adduit.



**Schéma 21** : Adduit simplifié modèle  $S_nC^+$  utilisé pour les calculs théoriques

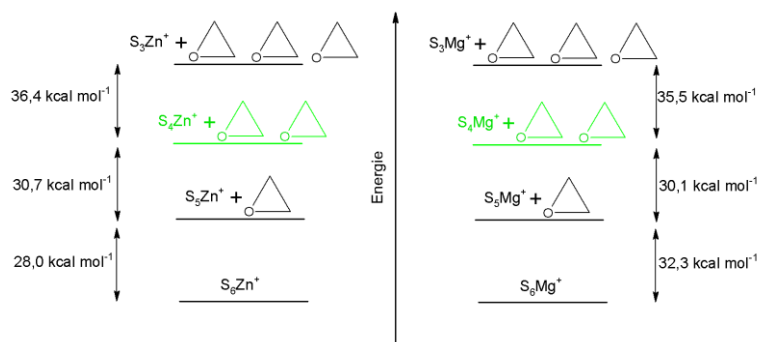
<sup>112</sup> Braida, B.; Hiberty, P. C.; Savin, A., A systematic failing of current density functionals: Overestimation of two-center three-electron bonding energies. *Ibid.* **1998**, 102, (40), 7872-7877.

Par ailleurs, le nombre d'unités monomériques  $n$  de la chaîne POE de l'adduit modèle  $S_nC^+$  a dû être optimisé pour trouver un compromis entre le temps de calcul et les effets de stabilisation de l'adduit provenant des interactions entre les atomes d'oxygène de la chaîne et le cation. Pour cela, la stabilisation énergétique de l'ajout d'une unité monomérique dans une chaîne de POE simple a été calculée et serait de  $26,3 \text{ kcal mol}^{-1}$  (Schéma 22).



**Schéma 22 :** Stabilisation énergétique due à l'ajout d'une unité monomérique dans une chaîne de POE linéaire

La même démarche peut alors être réalisée pour l'adduit modèle  $S_nC^+$  en présence de l'agent de cationisation. Il convient de distinguer deux phénomènes : la stabilisation due à l'ajout d'une unité dans la chaîne, identique à celle présentée Schéma 22, et celle due à l'ajout d'une interaction stabilisante entre le cation et un oxygène de la chaîne. L'effet de stabilisation global peut alors être calculé après ajout successif d'unités dans la chaîne de l'adduit modèle et devrait tendre vers l'effet de stabilisation d'une unité dans la chaîne lorsqu'aucune nouvelle interaction stabilisante n'est induite par l'ajout de l'unité monomérique. On obtient alors le nombre d'unités  $n$  idéal pour les calculs théoriques puisque c'est le  $n$  minimal pour lequel toutes les interactions stabilisantes chaîne/cation possibles sont prises en compte. Les résultats obtenus pour les adduits modèles contenant les cations  $Zn^{2+}$  et  $Mg^{2+}$  sont donnés Schéma 23.



**Schéma 23 :** Effet de stabilisation énergétique des adduits  $S_nZn^+$  et  $S_nMg^+$  dû à l'ajout d'unités monomériques dans une chaîne de POE

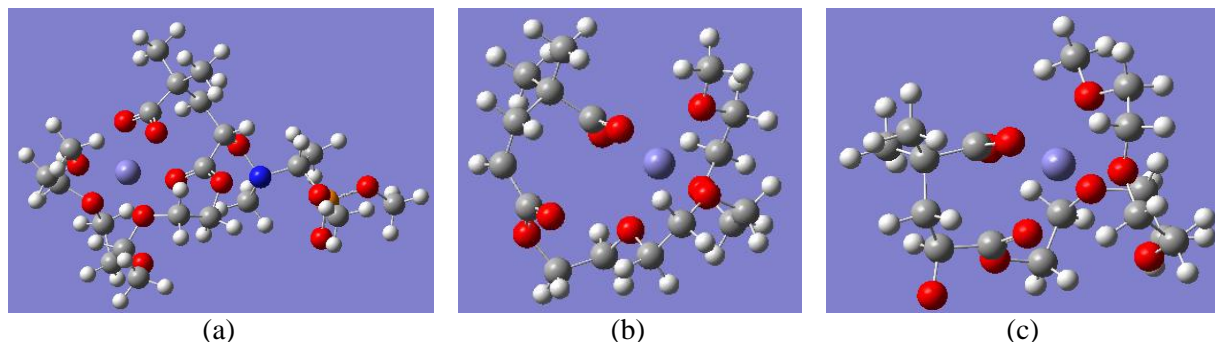
Le Schéma 23 met en évidence une stabilisation importante (environ 36 kcal mol<sup>-1</sup>) des adduits au zinc et au magnésium lorsqu'on passe de 3 à 4 unités dans la chaîne. Au-delà, aucune nouvelle interaction oxygène/métal n'est envisageable et l'effet de stabilisation semble tendre vers 30 kcal mol<sup>-1</sup> quel que soit le métal. Les adduits seront donc modélisés par la suite avec 4 unités monomériques. Cependant, l'optimisation des géométries reste délicate car plusieurs arrangements de la molécule autour du cation sont possibles. La nomenclature suivante sera employée par la suite pour distinguer ces géométries :

- *la géométrie A correspond à des interactions entre le cation, les atomes d'oxygène de la fonction acide et les atomes d'oxygène de la chaîne polymérique.*
- *la géométrie B correspond à des interactions entre le cation, les atomes d'oxygène de la fonction acide, ceux de la fonction acrylate et ceux de la chaîne polymérique.*

#### 4.2. PERTE DE SG1• VS SG1-O•

Le mécanisme proposé pour expliquer la perte du nitroxyde SG1• est une rupture homolytique de la liaison C-ON. On supposera un mécanisme équivalent pour la rupture de la liaison CO-N. Les réactions en compétition étant des ruptures homolytiques, on ne considèrera pas de barrières d'énergie à franchir. L'énergie de dissociation sera alors égale à la différence entre l'énergie de l'adduit entier et la somme des énergies des deux fragments résultants.

Il est à noter que l'optimisation des géométries est difficile de par la taille des systèmes ainsi que les différentes possibilités d'interaction entre le cation et les nombreux atomes d'oxygène des fonctions acide, acrylate et de la chaîne polymérique. En particulier, les adduits au fer, présentés Figure 24, ne sont stables que lorsque le cation présente une géométrie strictement octogonale. Pour ce métal, la plupart des géométries ont du être optimisées à l'aide d'une méthode Hatree-Fock restreinte, qui converge plus facilement dans un premier temps, puis non restreinte par la suite en utilisant les orbitales de la première optimisation pour que le calcul aboutisse. Les géométries des adduits au fer ont été utilisées comme point de départ pour les géométries des autres adduits. Finalement, l'ensemble des géométries obtenues pour les adduits intacts est de type B. Par ailleurs, les géométries des fragments ayant perdu SG1• et SG1-O• sont plutôt de type A, quel que soit le cation adduit, sauf pour l'adduit au fer ayant perdu SG1-O• (géométrie B). Il est à noter que la géométrie de ce dernier adduit a été particulièrement difficile à optimiser : en effet, le radical centré sur l'oxygène a tendance à migrer sur un carbone lié à une fonction alcool.



**Figure 24** : Géométries des adduits (a)  $S_4Fe^+$ , (b)  $S_4Fe-SG1^{\bullet+}$  et (c)  $S_4-(SG1-O)Fe^{\bullet+}$

Les énergies absolues de chaque ion ainsi que les énergies de dissociation résultantes sont données Tableau 14.

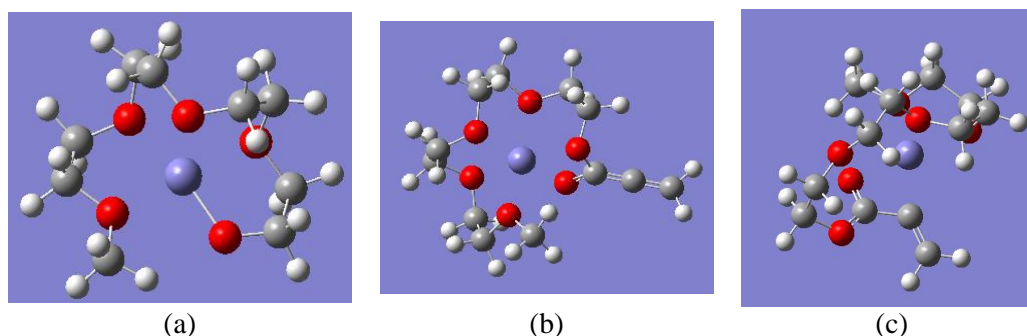
**Tableau 14** : Energies absolues des différents adduits et énergies de dissociation associées

	#	Energie absolue (Ha)	Energie de dissociation (kcal mol <sup>-1</sup> )
$Zn^{2+}$	$S_4Zn^+$	-3896,469006	
	$SG1^{\bullet}$	-893,4014158	<b>50,3</b>
	$S_4Zn-SG1^{\bullet+}$	-3002,980244	
$Fe^{2+}$	$SG1-O^{\bullet}$	-818,3390483	<b>60,1</b>
	$S_4-(SG1-O)Zn^{\bullet+}$	-3078,026021	
	$S_4Fe^+$	-3380,887903	<b>57,4</b>
$Mg^{2+}$	$S_4Fe-SG1^{\bullet+}$	-2487,388583	
	$S_4Fe-(SG1-O)^{\bullet+}$	-2562,418352	<b>77,1</b>
	$S_4Mg^+$	-2318,161989	<b>50,6</b>
$Mg^{2+}$	$S_4Mg-SG1^{\bullet+}$	-1424,67284	
	$S_4Mg-(SG1-O)^{\bullet+}$	-1499,717155	<b>61,5</b>

Le Tableau 14 met en évidence que la rupture de la liaison C-ON est moins coûteuse en énergie (entre 50,3 et 57,4 kcal mol<sup>-1</sup>) que la rupture CO-N (entre 60,1 et 77,1 kcal mol<sup>-1</sup>). De plus, l'écart le plus important entre les énergies de dissociation de ces voies de fragmentation compétitives est obtenu pour les adduits au fer, ce qui est en contradiction avec les résultats expérimentaux. L'origine de cette différence sera discutée dans la suite du chapitre.

### 4.3. PERTE DE MAMA<sup>•</sup> VS PERTE DE 141<sup>•</sup>

De la même façon que pour les calculs précédents, on ne considèrera pas de barrière d'énergie pour les pertes compétitives de MAMA<sup>•</sup> et 141<sup>•</sup>. Pour exemple, les géométries optimisées obtenues pour les adduits au fer sont données Figure 25.



**Figure 25 :** Géométries des adduits (a)  $S_4Fe-SG1-141^+$ , (b)  $S_4Fe-SG1-MAMA^+$  et (c) la géométrie la plus stable obtenue pour ce même adduit

Il est à noter que la géométrie la plus stable obtenue pour les adduits  $S_4C-SG1-MAMA^+$  ne fait pas intervenir un cumulène comme proposé Schéma 18 mais plutôt un carbanion quel que soit le métal, comme représenté Figure 25c dans le cas du fer. Les énergies des molécules présentées ainsi que les énergies de dissociation correspondantes sont données Tableau 15.

**Tableau 15 :** Energies absolues des différents adduits et énergies de dissociation associées

	#	Energie absolue (Ha)	Energie de dissociation (kcal mol <sup>-1</sup> )
$Zn^{2+}$	$S_4Zn-SG1^{\bullet+}$	-3002,980244	
	$MAMA^{\bullet}$	-306,2416032	<b>65,2</b>
	$S_4Zn-SG1-MAMA^+$	-2696,628482	
$Fe^{2+}$	$141^{\bullet}$	-496,5088988	<b>51,1</b>
	$S_4-SG1-141Zn^+$	-2506,385376	
	$S_4Fe-SG1^{\bullet+}$	-2487,388583	<b>70,6</b>
$Mg^{2+}$	$S_4Fe-SG1-MAMA^+$	-2181,027052	
	$S_4Fe-SG1-141^+$	-1990,805991	<b>43,5</b>
	$S_4Mg-SG1^{\bullet+}$	-1424,67284	<b>91,1</b>
	$S_4Mg-SG1-MAMA^+$	-1118,278451	
	$S_4Mg-SG1-141^+$	-928,0761137	<b>51,9</b>

Le Tableau 15 indique que, quel que soit le cation, la perte de  $141^{\bullet}$  est moins coûteuse en énergie (entre 43,5 et 51,9 kcal mol<sup>-1</sup>) que celle de  $MAMA^{\bullet}$  (entre 65,2 et 91,1 kcal mol<sup>-1</sup>). Ces résultats ne sont pas en accord avec les résultats expérimentaux pour les alcalino-terreux qui mettent en jeu une perte de MAMA plutôt que 141,0.

#### 4.4. DISCUSSION

On peut constater que les résultats des calculs ne sont pas en accord avec les données expérimentales, ils n'expliquent aucun des deux comportements de fragmentation singuliers rencontrés. Toutes les méthodes *ab initio* accessibles pour des systèmes de cette taille et de cette complexité sont entachées d'erreurs. Cependant, l'écart d'énergie entre les voies de fragmentation obtenu (10 à 20 kcal mol<sup>-1</sup>) est beaucoup plus important que l'erreur prévisible pour des énergies relatives à ce niveau de calcul, qui sont de l'ordre de 5 kcal mol<sup>-1</sup>.

Deux phénomènes peuvent être à l'origine de ces différences dans les voies de fragmentation. La première est une différence entre les propriétés intrinsèques, notamment électroniques, de chaque cation. Une première hypothèse consisterait alors à penser que les bases de calculs utilisées ne décrivent pas suffisamment finement les cations employés.

Une seconde explication consisterait à penser que les différentes voies de fragmentation observées expérimentalement sont issues d'une différence de géométrie notable, induite par le cation, entre les adduits. On peut alors supposer que les géométries les plus stables sont différentes pour chacun des adduits mais qu'elles n'ont pas été explorées, conduisant à des biais dans le calcul des énergies de dissociation. Néanmoins, de nombreuses géométries et voies de fragmentations ont été explorées sans résultat, soulignant la difficulté d'optimisation des géométries pour des systèmes si complexes. De plus, la possibilité de la présence d'une barrière d'énergie pour les réactions compétitives de perte des radicaux MAMA• et 141• ne peut être écartée.

#### 5. CONCLUSION

Dans ce chapitre, nous avons mis en évidence par ESI-MS/MS que l'utilisation de métaux divalents comme agent de cationisation est efficace pour prévenir la dissociation indésirable du groupement terminal. Cependant, de par des phénomènes de réduction des cations divalents dans la source, cette stratégie n'est pas transposable en MALDI. En effet, malgré les efforts mis en œuvre pour limiter les phénomènes de réduction des cations au cours du processus d'ionisation, aucune molécule doublement chargée n'a pu être générée par MALDI.

Par ailleurs, le comportement différent de certains cations divalents mis en évidence en MALDI a conduit à une étude plus fondamentale du comportement de dissociation induite par collision des



distributions simplement chargées de type  $[P_n-H+C^{II}]^+$  en présence des divers cations divalents. Cette étude a permis de mettre en évidence des voies de fragmentation particulières en fonction de la nature du cation adduit. Une étude *ab initio* a été conduite mais n'a cependant pas permis d'expliquer ces différents comportements. Outre de possibles problèmes de précision des calculs, deux raisons peuvent être avancées pour expliquer l'écart entre les données expérimentales et les résultats des calculs théoriques : soit un problème conformationnel, relié à la complexité du système, soit un problème de correspondance entre les espèces calculées et celle effectivement étudiées, dû à de possibles réarrangement.

Puisque la production d'adduits intacts du POE-MAMA-SG1 n'a pas été possible via la modification des conditions de préparation des échantillons MALDI, une stratégie alternative a été adoptée. Elle consiste à développer un protocole de modification du groupement terminal SG1 dans le but de renforcer la liaison fragile et ainsi permettre l'ionisation de polymères intacts. Cette approche fait l'objet du chapitre suivant.

---

***Chapitre 4 : Pré-traitement de l'échantillon avant analyse  
MALDI-MS***

---

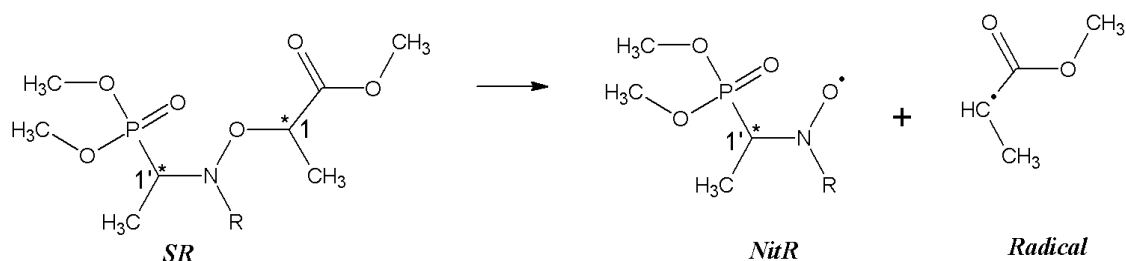
Comme évoqué dans le chapitre précédent, le seul procédé permettant de prévenir la rupture indésirable du groupement SG1 dans la source MALDI reste la protonation de l'atome d'azote du nitroxyde. Cependant, aucune méthode de préparation des échantillons n'a permis de réaliser cette protonation, qu'elle soit intra ou inter-moléculaire, pour des polymères de masse supérieure à 1000 Da. Le développement d'une méthode de dérivation du groupement terminal apparaît donc comme une solution alternative. La dissociation de la liaison fragile C-ON de diverses alkoxyamines a été largement étudiée par chimie théorique dans le but de guider la mise au point de nouveaux nitroxydes toujours plus performants pour le procédé de NMP.

Il a été mis en évidence que l'augmentation du caractère électro-attracteur du groupement porté par l'azote du nitroxyde renforce la liaison C-ON.<sup>110</sup> Bertin *et al.*<sup>109</sup> ont montré que le taux de dissociation de la liaison C-ON d'alkoxyamines comme le TEMPO ou le SG1 augmente avec le caractère électro-attracteur, la taille et donc la stabilité du groupement alkyle libéré. La substitution du groupement *tert*-butyle par un groupement plus polaire ou moins encombrant pourrait s'avérer une approche intéressante pour éviter la rupture homolytique spontanée de la liaison C-ON en MALDI.

## **1. MISE EN EVIDENCE DU RENFORCEMENT DE LA LIAISON C-ON PAR UNE ETUDE *ab initio***

### **1.1. METHODOLOGIE**

Le clivage homolytique de la liaison C-ON liant le groupement SG1 au groupement terminal a été étudié précédemment par calculs théoriques dans le but de mettre en évidence le rôle du cation adduit dans cette fragmentation.<sup>103</sup> Une approche similaire a été utilisée et consiste à calculer l'énergie de dissociation de la rupture homolytique de la liaison C-ON, présentée Schéma 24, d'une molécule modèle notée *SR*. Le modèle *SR* est une molécule simplifiée centrée sur la liaison fragile C-ON, le groupement MAMA, la chaîne polymérique ainsi que le groupement *tert*-butyle porté par le carbone en  $\alpha$  de l'atome d'azote ont été remplacés par des groupements méthyles. De la même façon, les groupements éthoxy ont été remplacés par des groupements méthoxy.

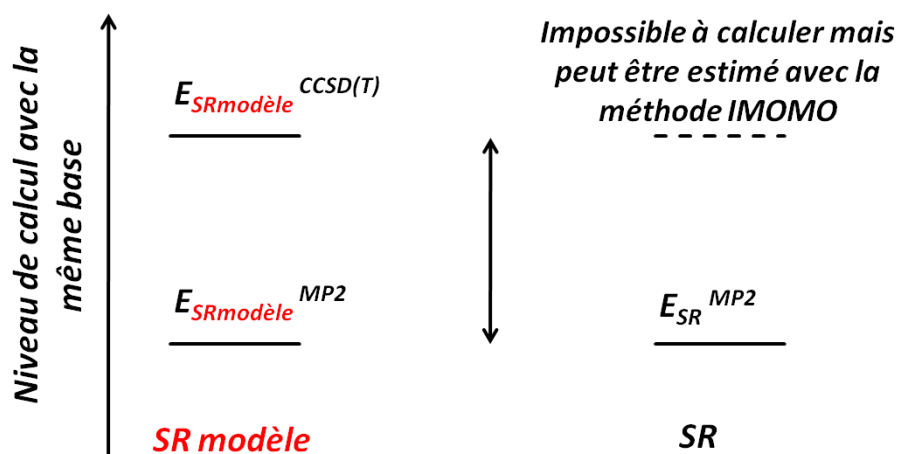


**Schéma 24** : Mécanisme d'élimination du groupement SG1 exploré par chimie théorique pour différents groupements  $R$

Deux séries de calculs ont été réalisées en prenant le groupement  $R$  égal à un groupement *tert*-butyle (tBu) ou un H, ce qui a permis d'étudier l'influence de ce groupement sur la labilité du nitroxyde. De plus, de par la présence de deux carbones asymétriques, les molécules  $SR$  doivent en fait être considérées comme un mélange de 4 diastéréoisomères, énantiomères deux à deux. Cependant, les molécules énantiomères ayant les mêmes énergies absolues, seules deux configurations diastéréoisomériques ont été explorées pour les calculs d'énergie. Par convention, les configurations étudiées seront notées en ajoutant la configuration absolue des carbones asymétriques 1' et 1 après le nom de la molécule modèle étudiée. Par exemple, les structures des molécules  $SH$  et  $StBu$ , sont donc respectivement appelées  $SH(SS)$  et  $StBu(SS)$  lorsque les deux carbones asymétriques sont de configuration absolue S et  $SH(SR)$  and  $StBu(SR)$  pour la configuration diastéréoisomère explorée. Les fragments nitroxydes correspondants sont alors nommés  $NitH(S)$  et  $NittBu(S)$  et, de par une perte de chiralité due à la dissociation, le fragment *Radical* est le même pour les deux diastéréoisomères.

Le nombre d'atomes des molécules  $SR$  ne permet pas d'envisager l'étude à un très haut niveau de calcul avec des durées de calcul raisonnables. L'utilisation de la méthodologie IMOMO, développée par Humbel *et al.*,<sup>113</sup> permet cependant d'estimer les énergies à un très haut niveau tout en ne nécessitant qu'un temps de calcul limité. Cette méthode repose sur le constat que la bonne description d'une réaction chimique nécessite seulement une bonne description du centre réactionnel. La stratégie consiste alors à extrapoler l'énergie à un très haut niveau d'une molécule à partir de l'énergie à un niveau plus faible de la molécule entière ainsi que l'énergie à un très haut niveau d'une molécule modèle, de taille réduite, resserrée autour du centre réactionnel (Schéma 25). Les énergies calculées selon cette méthode sont alors notées par convention « niveau de calcul haut:niveau de calcul bas ».

<sup>113</sup> Humbel, S.; Sieber, S.; Morokuma, K., The IMOMO method: Integration of different levels of molecular orbital approximations for geometry optimization of large systems: Test for n-butane conformation and S(N)2 reaction:  $RCI+Cl$ . *Journal of Chemical Physics* **1996**, 105, (5), 1959-1967.



$$E_{SR}^{CCSD(T):MP2} \approx E_{SR}^{MP2} + E_{SR\text{modèle}}^{CCSD(T)} - E_{SR\text{modèle}}^{MP2}$$

Schéma 25 : Principe de la méthode IMOMO

Les molécules modèles destinées à être calculées à un très haut niveau sont réalisées à partir des différentes molécules *SR*, *NitR* et *Radical*, simplifiées comme indiqué Schéma 26, en remplaçant tous les atomes rouges par des hydrogènes et en maintenant les angles constants. Comme démontré précédemment par Derat *et al.*,<sup>114</sup> les résultats issus de cette méthodologie sont fortement dépendants des longueurs de liaison entre les atomes lourds de la molécule modèle et les hydrogènes de substitution. Les longueurs de liaison standards suivantes ont donc été utilisées : C-H 1,092 10<sup>-10</sup> m, O-H=0,960 10<sup>-10</sup> m et N-H=1,023 10<sup>-10</sup> m.

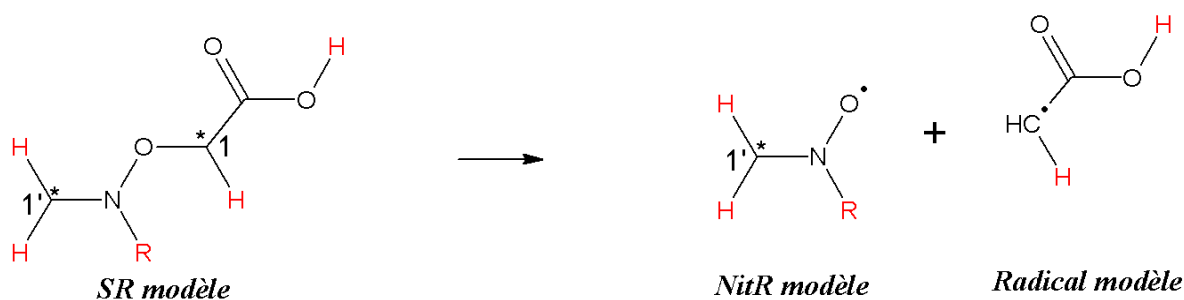


Schéma 26 : Rupture de la liaison C-ON dans le modèle simplifié

L'optimisation des géométries a été réalisée au niveau B3LYP/6-31G(d), à l'aide du logiciel Gaussian 03 version C.02. Les calculs d'énergie ont été effectués au niveau MP2 à l'aide d'une base cc-pvtz et sont corrigés de leur énergie au point zéro. La méthodologie IMOMO a été développée au niveau CCSD(T) avec une base cc-pvtz.

<sup>114</sup> Derat, E.; Bouquant, J.; Humbel, S., On the link atom distance in the ONIOM scheme. An harmonic approximation analysis. *Journal of Molecular Structure-Theochem* **2003**, 632, 61-69.

## 1.2. MISE EN EVIDENCE DU RENFORCEMENT DE LA LIAISON C-ON

Les différentes énergies des espèces mises en jeu dans le processus de dissociation décrit précédemment ont été calculées et sont données Tableau 16 pour les diastéréoisomères substitués avec  $R = tBu$  ou  $H$ . Une combinaison linéaire de ces différentes valeurs d'énergie permet d'estimer l'énergie de dissociation de la liaison C-ON étudiée.

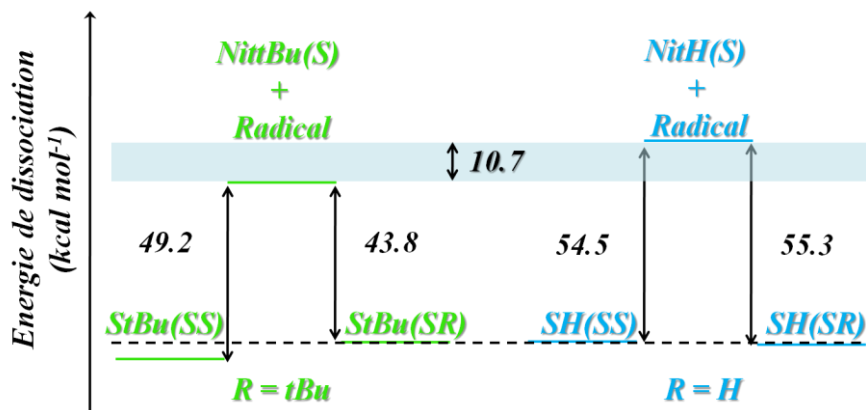
**Tableau 16:** Energies de dissociation de la liaison C-ON en fonction du groupement  $R$  pour les différents diastéréoisomères. Les énergies absolues sont données en unités atomiques (u. a.) et les énergies de dissociations de liaison qui sont des énergies relatives sont données en kcal mol<sup>-1</sup>

Espèce	HF	MP2	CCSD(T):MP2
<i>NittBu(S)</i> (a.u.)	-1008,91712	-1011,60303	-1011,65045
<i>Radical</i> (a.u.)	-305,36917	-306,47417	-306,51976
<i>StBu(SS)</i> (a.u.)	-1314,29339	-1318,15835	-1318,24865
<b>BDE (kcal mol<sup>-1</sup>)</b>	<b>4,5</b>	<b>50,9</b>	<b>49,2</b>
<i>StBu(SR)</i> (a.u.)	-1314,28371	-1318,14992	-1318,24009
<b>BDE (kcal mol<sup>-1</sup>)</b>	<b>-1,6</b>	<b>45,6</b>	<b>43,8</b>
<i>NitH(S)</i> (a.u.)	-852,73369	-854,70453	-854,75204
<i>Radical</i> (a.u.)	-305,36917	-306,47417	-306,51976
<i>SH(SS)</i> (a.u.)	-1158,12984	-1161,26886	-1161,35867
<b>BDE (kcal mol<sup>-1</sup>)</b>	<b>16,9</b>	<b>56,6</b>	<b>54,5</b>
<i>SH(SR)</i> (a.u.)	-1158,13067	-1161,27010	-1161,35998
<b>BDE (kcal mol<sup>-1</sup>)</b>	<b>17,5</b>	<b>57,4</b>	<b>55,3</b>

Dans un premier temps, on peut voir que le niveau Hartree-Fock (HF) décrit assez mal la dissociation de la liaison C-ON puisque les énergies de dissociation sont très faibles, voire négatives, lorsque le groupement  $R$  est un  $tBu$ . De plus, des effets de corrélations importants sont observés pour le calcul de l'énergie de dissociation en comparant l'énergie au niveau non corrélé HF au niveau MP2. Les résultats CCSD(T):MP2, en bon accord avec les résultats MP2 permettent dans un premier temps de confirmer la validité de ces derniers.

Les énergies de dissociation données Tableau 16 sont respectivement de 49,2 et 54,5 kcal mol<sup>-1</sup> lorsque  $R=tBu$  ou  $H$  pour le diastéréoisomère ( $SS$ ), soit une augmentation de 5,3 kcal mol<sup>-1</sup>. Dans le cas du diastéréoisomère ( $SR$ ), l'énergie de dissociation est respectivement de 43,8 et 55,3 kcal mol<sup>-1</sup> lorsque  $R=tBu$  ou  $H$ , soit une augmentation de 11,5 kcal mol<sup>-1</sup>. Globalement on peut noter que l'énergie de dissociation de la liaison est plus importante lorsque la molécule est substituée par un hydrogène. De plus, dans ce dernier cas, l'énergie de dissociation est sensiblement la même quelle soit la configuration. Par contre, l'énergie de dissociation varie d'environ 5 kcal mol<sup>-1</sup> dans le cas des molécules substituées par un groupement  $tBu$ , pour lesquelles le diastéréoisomère ( $SS$ ) est plus stable,

probablement pour des raisons stériques. Or, dans le cas d'expériences de spectrométrie de masse, les dissociations observées seront celles des espèces les moins stables, soit respectivement *StBu(SR)* et *SH(SS)* plutôt que *StBu(SS)* et *SH(SR)*. Les résultats du Tableau 16, donnés sous forme de diagramme énergétique (Schéma 27) mettent en évidence que l'augmentation globale de l'énergie de dissociation par substitution du groupement tBu par H est de 10,7 kcal mol<sup>-1</sup> pour le mélange de diastéréoisomères.



**Schéma 27** : Effet énergétique de la substitution du groupement tBu par H pour la molécule *S*

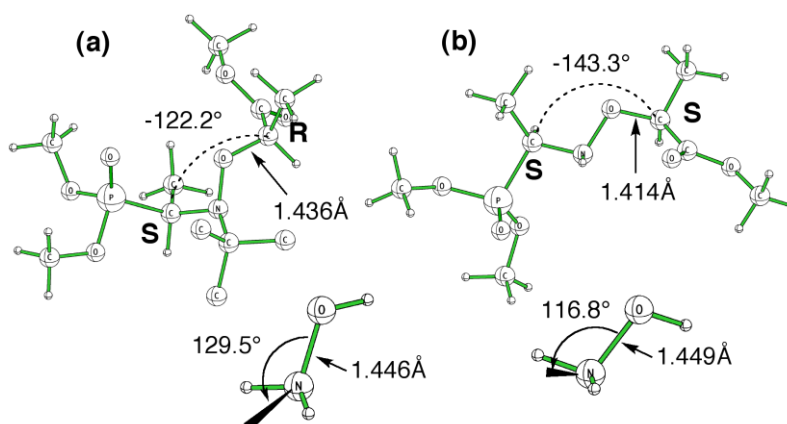
Les résultats de ces calculs d'énergie de dissociation mettent en évidence qu'une méthode de dérivation du groupement terminal consistant à remplacer tBu par H pourrait alors être avantageusement développée pour renforcer la liaison fragile C-ON et la rendre plus résistante lors de l'ionisation MALDI.

Par ailleurs, la méthode de calculs IMOMO permet d'étudier la répartition des effets énergétiques, c'est-à-dire l'origine de ces différences d'énergie de dissociation en fonction du groupement *R* considéré. Dans un premier temps, les énergies des systèmes modèles *SR* sont comparées pour chaque géométrie et chaque groupement *R*. On constate alors que les molécules substituées par H plutôt que tBu sont plus stables, respectivement de 11 et 9 kcal mol<sup>-1</sup> pour les diastéréoisomères (*SS*) et (*SR*). De la même manière, la comparaison des énergies des fragments *NitR* ne donne lieu qu'à une différence de 1 kcal mol<sup>-1</sup>. On peut donc en conclure que la différence entre les énergies de dissociation s'explique principalement par une différence de stabilité entre les molécules *SR* plutôt qu'entre les fragments issus de la dissociation.

Les molécules modèles développées pour la méthode IMOMO sont alors utilisées pour explorer l'impact des effets stériques induits par le groupement tBu sur l'énergie de dissociation de la liaison. Une différence géométrique notable entre les molécules substituées par tBu plutôt que H est la longueur de la liaison fragile C-ON qui est respectivement de 1,436 Å et 1,414 Å (Schéma 28). Pour évaluer l'impact de cette élongation, l'énergie des molécules modèle *StBu* a été calculée en

raccourcissant la liaison C-ON de 1,436 Å à 1,414 Å, et se traduit par une stabilisation de 0,3 kcal mol<sup>-1</sup>. On peut donc conclure que cette élongation ne contribue pas à la différence entre l'énergie de dissociation des molécules *StBu* et *SH*.

Dans le but de mieux comprendre les effets de déstabilisation induits par le groupement tBu, un système modèle simplifié des espèces *SR* dans leurs configurations (*SR*) et (*SS*), et centré sur la liaison N-O a été utilisé : H<sub>2</sub>N-OH. De la même façon que précédemment, les angles sont maintenus constants, les atomes lourds remplacés par des H et les longueurs de liaison ajustées. Ce système simplifié permet notamment d'étudier l'influence énergétique des angles autour de la liaison CO-N. La différence énergétique, calculée dans les mêmes conditions que pour la méthode IMOMO, entre les modèles simplifiés extraits des molécules *SH* et *StBu* est d'environ + 4,7 kcal mol<sup>-1</sup>, expliquant près de la moitié de la différence d'énergie entre ces deux molécules. La principale différence de géométrie entre ces deux molécules simplifiées consiste en une dépyramidalisation de l'atome d'azote pour le modèle correspondant au système substitué par un groupement tBu. En effet, l'angle entre la liaison CO-N et la bissectrice des liaisons N-H est respectivement de 129,5 ° et 116,8 ° pour les modèles provenant des molécules substituées *StBu* et *SH* (Schéma 28). L'étude plus précise de la configuration de l'atome d'azote permet de mettre en évidence que la déformation géométrique de l'atome d'azote due au groupement tBu déstabilise les molécules *StBu* de +3,4 kcal mol<sup>-1</sup>.



**Schéma 28:** Géométries des molécules *SR* ainsi que celles des molécules NH<sub>2</sub>-OH simplifiées correspondantes, dans les configurations (a) *StBu(SR)* et (b) *SH(SS)*. Les hydrogènes du groupement tBu ont été retirés pour plus de clarté

Finalement, la différence d'énergie mise en évidence entre les molécules *StBu* et *SH* s'explique principalement par des effets d'encombrement stérique.

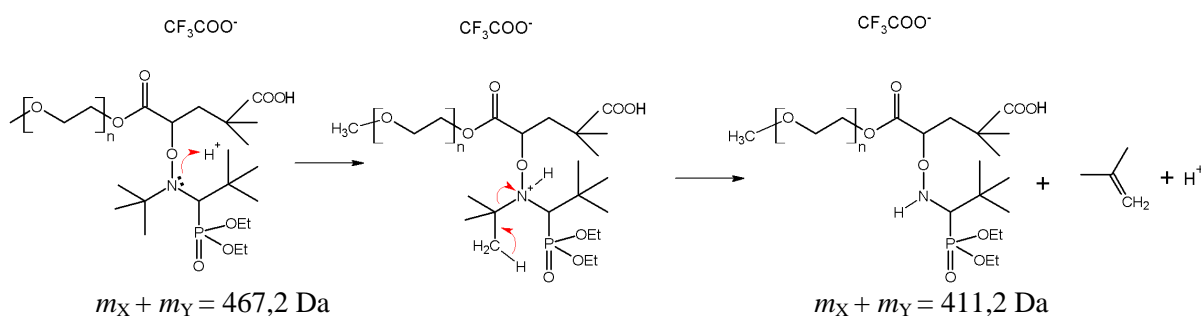


## 2. DERIVATION DU SG1 PAR TRAITEMENT AU TFA

Les calculs théoriques ayant mis en évidence un renforcement de la liaison C-ON par la substitution du groupement tBu par un atome d'hydrogène, une stratégie de dérivation a donc été développée dans ce sens.

### 2.1. PRINCIPE DU TRAITEMENT

La stratégie proposée par l'équipe CROPS consiste en l'utilisation d'un acide fort tel que l'acide trifluoroacétique (TFA) comme catalyseur pour l'élimination d'une molécule de 2-méthylpropène via l'attaque de l'atome d'azote du nitroxyde (Schéma 29). Le nouveau groupement terminal sera alors noté SG1'.



**Schéma 29** : Mécanisme réactionnel du traitement au TFA

L'utilisation de TFA avait déjà été reportée par Pfeifer et Lutz,<sup>115</sup> qui l'utilisaient dans le but d'éliminer le groupement terminal issu de la synthèse ATRP d'un polystyrène, transformant un groupement ester  $-\text{COOR}$  en acide carboxylique  $-\text{COOH}$  par substitution du groupement R par un atome d'hydrogène.

Le protocole de la dérivation consiste à placer 4 mg de polymère dans 1 mL de TFA sous agitation, dans un flacon fermé, à température ambiante pendant 7 heures.

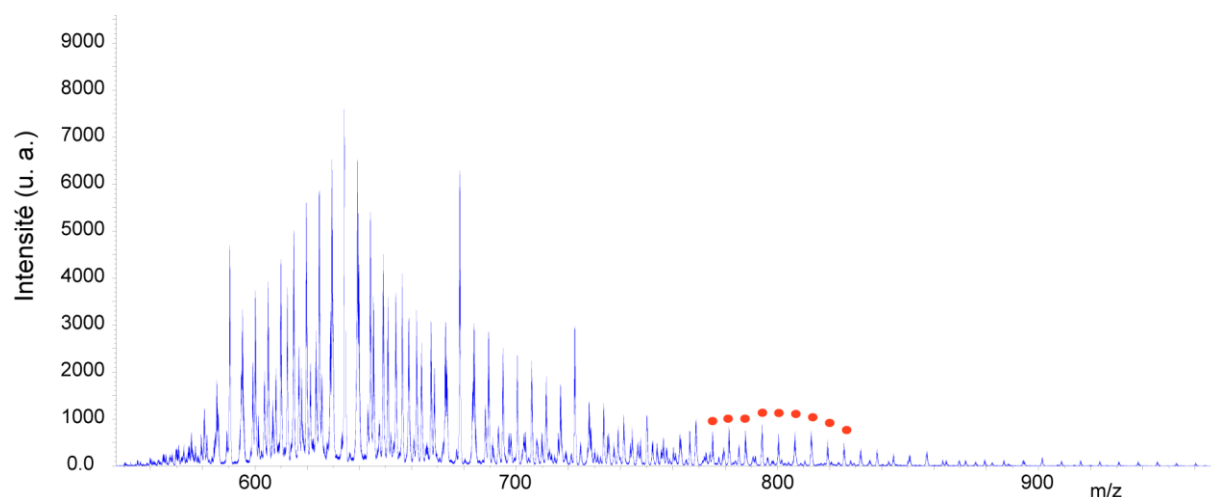
<sup>115</sup> Pfeifer, S.; Lutz, J. F., Tailor-Made Soluble Polymer Supports: Synthesis of a Series of ATRP Initiators Containing Labile Wang Linkers. *Macromolecular Chemistry and Physics* 211, (8), 940-947.

## 2.2. CONFIRMATION DE LA MODIFICATION DU GROUPEMENT TERMINAL

La dérivation décrite au paragraphe précédent a été mise en œuvre pour un échantillon de POE-MAMA-SG1 ( $M_n = 5000 \text{ g mol}^{-1}$ ).

### 2.2.1. Spectrométrie de masse

Dans le but de mettre en évidence que le groupement tBu porté par l'azote du nitroxyde a bien été remplacé par un atome d'hydrogène par le traitement au TFA, un spectre ESI-MS a été enregistré sur un échantillon de quelques mg de polymère traité au TFA dissous dans une solution d'acétate d'ammonium à 3 mM dans le méthanol (Figure 26). L'ionisation ESI, connue pour être moins énergétique que le MALDI, a été utilisée ici pour s'assurer de la production d'adduits intacts.

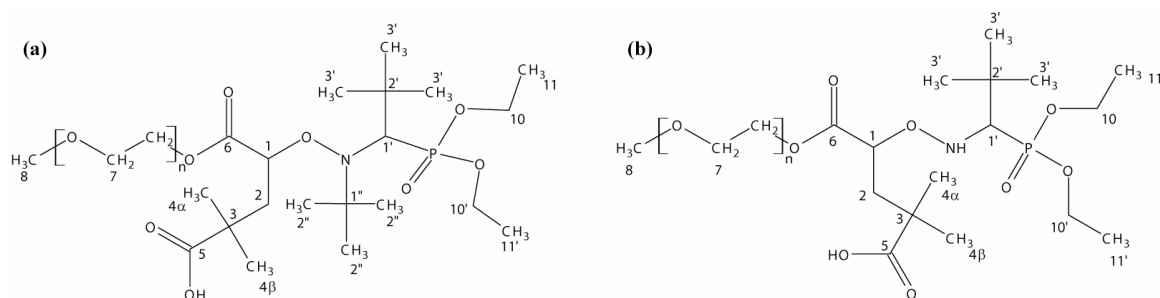


**Figure 26** : Spectre ESI-MS du POE-MAMA-SG1 ( $M_n = 5000 \text{ g mol}^{-1}$ ) après traitement au TFA. Les pics de la distribution utilisée pour calculer la somme des groupements terminaux sont annotés de cercles rouges

La Figure 26 met en évidence la complexité du spectre ESI-MS de ce composé, qui, de par sa masse importante s'ionise sous la forme de plusieurs distributions multichargées. Le manque de résolution empêche toute mesure de masse exacte correcte, la somme des masses des groupements terminaux peut cependant être calculée par la méthode des moyennes pour la distribution chargée sept fois et annotée de cercles rouges. On obtient finalement  $m_X + m_Y = 411,1 \text{ Da}$  qui est bien la somme des masses des groupements terminaux attendue après traitement.

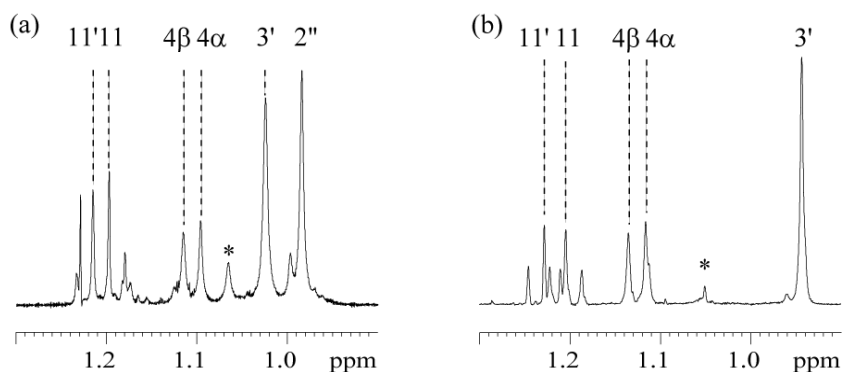
### 2.2.2. RMN

Dans le but de mettre en évidence que c'est bien le groupement tBu porté par l'azote du nitroxyde qui a été éliminé par le traitement au TFA, des expériences de RMN  $^1\text{H}$  ont été enregistrées, avant et après traitement (Schéma 30). Les expériences ont été enregistrées à 298 K sur un spectromètre Bruker Avance II opérant à 400 et 100 MHz respectivement pour les fréquences de Larmor  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$ . Les échantillons sont solubilisés dans  $\text{D}_2\text{O}$  à une concentration d'environ  $20 \text{ mg mL}^{-1}$ .



**Schéma 30** : Structure du polymère (a) avant et (b) après traitement au TFA

Le spectre  $^1\text{H}$  de l'échantillon avant traitement (Figure 27a), met en évidence deux singulets particulièrement intenses correspondants aux groupements tBu du SG1. La Figure 28b correspondant au polymère après traitement met clairement en évidence l'absence de l'un des deux signaux après dérivation. A ce stade, on peut donc affirmer que l'un des groupements tBu a été éliminé. Cependant, le traitement au TFA ayant changé l'environnement chimique des protons, leurs déplacements chimiques ont peut-être changé ce qui ne nous permet pas d'affirmer lequel des deux groupements tBu a été éliminé. Pour cela, il est nécessaire d'enregistrer des expériences de corrélation  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  à deux dimensions ( $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC).<sup>16</sup>



**Figure 27** : Comparaison des spectres  $^1\text{H}$  du polymère (a) avant et (b) après traitement au TFA. L'attribution des signaux a été réalisée d'après les expériences de corrélation  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC et HMBC. \* Impureté

L'attribution des signaux du POE-MAMA-SG1 avant traitement a été réalisée d'après les expériences de corrélation  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC et HMBC (Tableau 17).

**Tableau 17** : Attribution des signaux RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) et  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) du POE-MAMA-SG1 avant traitement au TFA

#	Type	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm) <sup>a,b</sup>	$\delta^1\text{H}$ (ppm) <sup>b</sup>	Multiplicité <sup>d</sup>	J (Hz) <sup>c</sup>	Principale corrélation $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ HMBC
1	CH	83,9	4,48	dd	3,4 ; 12,3	2, 3, 6
2	CH <sub>2</sub>	41,9	$\alpha$ 2,08 $\beta$ 2,29	m	-	1, 3, 4 $\beta$ , 5, 6
3	C	40,1	-	-	-	-
4 $\alpha$	CH <sub>3</sub>	28,6	1,10	s	-	2, 3, 4 $\beta$ , 5
4 $\beta$	CH <sub>3</sub>	22,6	1,12	s	-	2, 3, 4 $\alpha$ , 5
5	C	181,2	-	-	-	-
1'	CH	69,75	3,35	d	$^2\text{J}^1\text{H}$ - $^{31}\text{P}$ =26,2	2', 3', 1''
2'	C	35,4	-	-	-	-
3'	3CH <sub>3</sub>	29,5	1,03	s	-	1', 2', 3'
1''	C	61,0	-	-	-	-
2''	3CH <sub>3</sub>	27,8	0,98	s	-	1'', 2''
10	CH <sub>2</sub>	61,3	3,96	m	-	11
11	CH <sub>3</sub>	15,8	1,20	t	7,2	10
10'	CH <sub>2</sub>	63,5	4,10	m	-	11'
11'	CH <sub>3</sub>	16,0	1,22	t	5,8	10'
6	C	174,5	-	-	-	-
7	CH <sub>2</sub>	69,8	3,57	s	-	7
8	CH <sub>3</sub>	58,3	3,25	s	-	7

<sup>a</sup> Dédit des expériences HSQC

<sup>b</sup> Les déplacements chimiques sont donnés relativement au TMS

<sup>c</sup> Les valeurs absolues des constantes de couplage scalaire sont données à  $\pm 0,1$  Hz

<sup>d</sup> s: singulet, d: doublet, t: triplet et m: multiplet

De la même façon, l'attribution des signaux du POE-MAMA-SG1' est donnée Tableau 18.

**Tableau 18** : Attribution des signaux RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) et  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) du POE-MAMA-SG1' après traitement au TFA

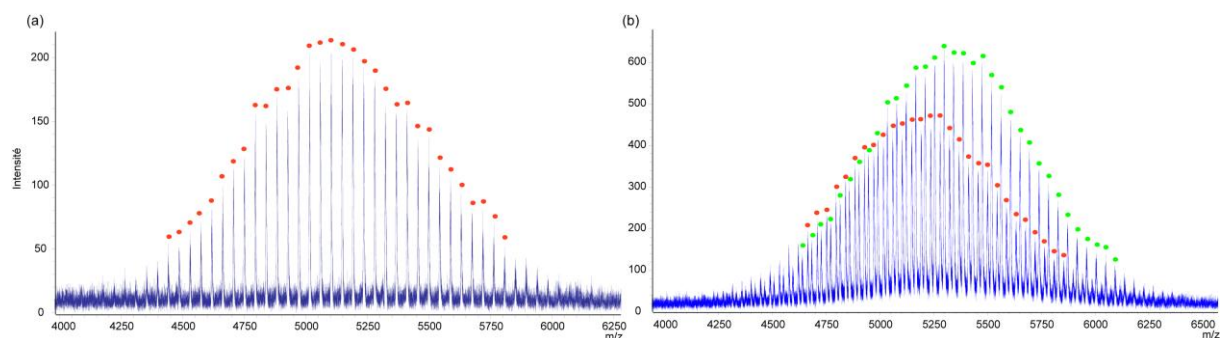
#	Type	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm) <sup>a,b</sup>	$\delta^1\text{H}$ (ppm) <sup>b</sup>	Multiplicité <sup>d</sup>	J (Hz) <sup>c</sup>	Principale corrélation $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ HMBC
1	CH	80,5	4,37	dd	3,89 ; 9,92	2, 6
2	CH <sub>2</sub>	40,4	$\alpha$ 1,77 $\beta$ 1,91	dd m	3,90 ; 14,80 -	1, 3, 4 $\alpha$ , 5, 6 1, 3, 4 $\beta$ , 5, 6
3	C	40,6	-	-	-	-
4 $\alpha$	CH <sub>3</sub>	26,3	1,12	s	-	2, 4 $\beta$ , 5
4 $\beta$	CH <sub>3</sub>	23,6	1,14	s	-	2, 4 $\alpha$ , 5
5	C	180,2	-	-	-	-
1'	CH	68,0	3,05	d	$^2\text{J } ^1\text{H}-^{31}\text{P} = 19,91$	2', 3'
2'	C	33,6	-	-	-	-
3'	3CH <sub>3</sub>	27,4	0,94	s	-	1', 2', 3'
10'	CH <sub>2</sub>	63,7	4,04	q	6,49	11'
11	CH <sub>3</sub>	15,9	1,20	t	7,12	10
10	CH <sub>2</sub>	63,9	4,06	q	7,30	11
11'	CH <sub>3</sub>	15,9	1,23	t	7,12	10'
6	C	174,2	-	-	-	-
7	CH <sub>2</sub>	69,7	3,57	s	-	7
8	CH <sub>3</sub>	58,18	3,25	s	-	7

<sup>a</sup> Dédit des expériences HSQC<sup>b</sup> Les déplacements chimiques sont donnés relativement au TMS<sup>c</sup> Les valeurs absolues des constantes de couplage scalaire sont données à  $\pm 0.1$  Hz<sup>d</sup> s: singulet, d: doublet, t: triplet et m: multiplet

La présence d'une corrélation entre H3' et C1' sur le spectre  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC optimisé pour les couplages à trois liaisons confirme que ce groupement tBu est bien lié au carbone C1'. De plus la corrélation entre le C1'' et le proton H1' qui disparaît après le traitement confirme bien l'élimination du groupement. Par ailleurs, la corrélation des protons H3' du groupement tBu restant après traitement au TFA présentent une corrélation avec le carbone C2' dont le déplacement chimique à 33,6 ppm prouve clairement que ce carbone est lié à un atome de carbone (C1') et pas à un atome d'azote.

### 3. ANALYSE MALDI DE POLYMERES TERMINEES SG1 APRES TRAITEMENT AU TFA

Les expériences MS et RMN précédentes ayant mis en évidence que le traitement au TFA permet bien de transformer le groupement terminal SG1 en SG1', le polymère traité va pouvoir être analysé en MALDI pour tester l'efficacité de la dérivation (Figure 28).



**Figure 28** : Spectre MALDI du POE ( $M_n = 5000 \text{ g mol}^{-1}$ ) (a) avant et (b) après traitement au TFA. Les distributions annotées de cercles rouges et verts correspondent respectivement à des distributions fragmentée et intacte terminée  $-SG1'$ . (matrice : DCTB, sel : KI, ratio molaire matrice/polymère/sel 3000 : 1 : 10 ; fluence laser : (a) 50% et (b) 45% ; 300 tirs)

La Figure 28(a) met en évidence qu'avant le traitement au TFA aucune distribution intacte n'a pu être obtenue. En effet, les groupements SG1 et MAMA sont éliminés successivement par voie radicalaire, comme décrit Schéma 13, pour donner une somme des masses des groupements terminaux de  $m_X + m_Y = 85,8 \text{ Da}$ . En revanche après le traitement au TFA (Figure 28b), la distribution majoritaire obtenue, annotée de cercles verts, correspond au polymère intact, dont la somme des masses des groupements terminaux est bien  $m_X + m_Y = 411,7 \text{ Da}$ . Une seconde distribution, minoritaire, correspondrait au polymère ayant perdu successivement  $SG1^\bullet$  et  $MAMA^\bullet$  ( $m_X + m_Y = 85,3 \text{ Da}$ ), et pourrait provenir d'un résidu de polymère non traité, non observé en RMN qui est une technique moins sensible que la spectrométrie de masse.

## 4. CONCLUSION

Moyennant une légère modification du groupement SG1 par un traitement chimique simple, des adduits intacts de POE fonctionnalisés par un nitroxyde ont été pour la première fois générés par MALDI. La méthode de calcul IMOMO a été utilisée avec succès pour montrer que le remplacement du groupement tBu porté par l'atome d'azote du nitroxyde renforce la liaison fragile du nitroxyde. Cette méthodologie a clairement mis en évidence les causes stériques de cette augmentation d'énergie de liaison. Ces travaux font l'objet de l'écriture d'une publication qui sera soumise à la revue *Macromolecules*.

*Partie 2 : Utilisation de la RMN pour l'analyse de mélanges,  
aspects quantitatifs*

---

***Chapitre 5 : Aspect quantitatif des expériences PGSE pour  
l'analyse de mélanges***

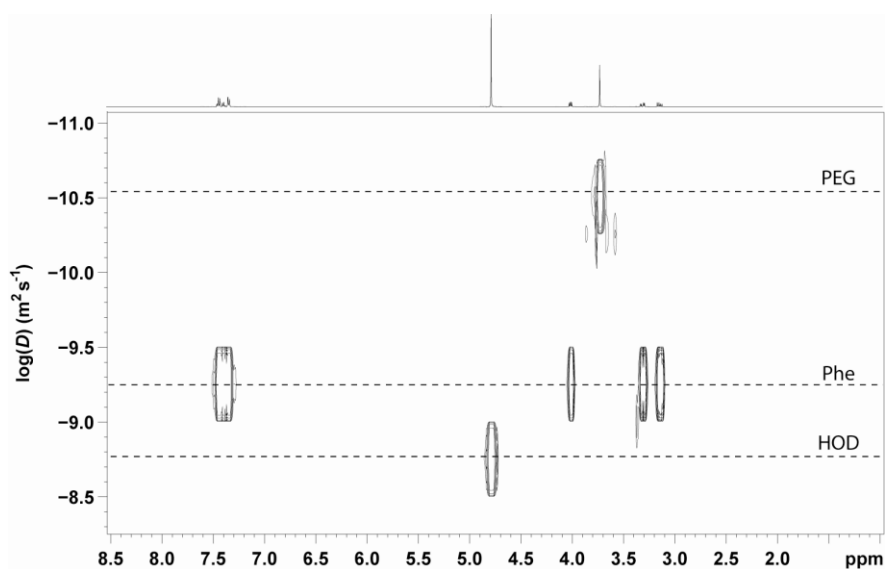
---



## 1. CONTEXTE

### 1.1. INTRODUCTION

Le chapitre 2 a montré que la technique PGSE permet de mesurer le coefficient d'autodiffusion d'une molécule et ainsi de déterminer sa taille. Elle est donc tout naturellement adaptée à l'analyse RMN des mélanges complexes, comme suggéré par Stilbs dès 1981.<sup>116</sup> Cette idée a par la suite été développée par Morris et Johnson en 1992 qui ont introduit la technique DOSY (Diffusion Ordered Spectroscopy).<sup>117</sup> Ces auteurs ont en effet proposé de représenter les données PGSE sous la forme d'une carte à deux dimensions montrant les déplacements chimiques (ou fréquences de Larmor) sur un axe horizontal et les coefficients de diffusion sur un axe vertical. La représentation des données PGSE sous la forme d'une carte DOSY, illustrée Figure 29 pour un mélange simple, permet par conséquent d'établir des corrélations entre les signaux RMN  $^1\text{H}$  de noyaux donnés et le coefficient de diffusion de la molécule à laquelle ces mêmes noyaux appartiennent.



**Figure 29** : Spectre DOSY  $^1\text{H}$  d'un mélange de Poly(Ethylene Glycol) (**PEG**,  $M_w=42700 \text{ g mol}^{-1}$ ) et L-Phénylalanine (**Phe**) dans  $\text{D}_2\text{O}$  (**HOD**) à 300 K. Dans cette figure, on observe très nettement les deux signaux singulets liés respectivement au PEG (3,6 ppm) et au proton résiduel de l'eau deutériée (4,8 ppm), ainsi que les quatre groupes de signaux liés à la phénylalanine (7,5, 4,0, 3,3 et 3,1 ppm)

<sup>116</sup> Stilbs, P., Molecular Self-Diffusion Coefficients in Fourier-Transform Nuclear Magnetic-Resonance Spectrometric Analysis of Complex-Mixtures. *Analytical Chemistry* **1981**, 53, (13), 2135-2137.

<sup>117</sup> Morris, K. F.; Johnson, C. S., Diffusion-Ordered 2-Dimensional Nuclear-Magnetic-Resonance Spectroscopy. *Journal of the American Chemical Society* **1992**, 114, (8), 3139-3141.

De manière plus spécifique, les cartes DOSY sont typiquement générées en analysant, fréquence par fréquence, l'évolution de l'intensité du signal RMN en fonction de l'amplitude de l'impulsion de gradient  $g$ . Les courbes ainsi obtenues (décroissances exponentielles) sont ensuite ajustées à l'aide d'un algorithme non linéaire des moindres carrés pour obtenir, pour chaque point de fréquence, une valeur de coefficient de diffusion  $D$ . La dimension verticale est alors construite en reportant une série de fonctions gaussiennes qui sont centrées sur les valeurs de  $D$  ainsi obtenues et dont les largeurs à mi-hauteur sont reliées à la précision de l'ajustement correspondant. Les corrélations entre les signaux des deux dimensions (fréquence et diffusion) sont alors illustrées sous la forme d'une carte de niveaux à deux dimensions. De cette manière, la carte DOSY permet très simplement de discriminer les signaux RMN des différents composés d'un mélange, à condition bien entendu que les molécules considérées présentent une mobilité translationnelle (et donc une taille) différente.

Pour cette raison, la DOSY est rapidement apparue comme une technique de choix pour l'analyse RMN des mélanges complexes.<sup>47,118,119,47</sup> Cependant, son développement se heurte à un certain nombre de difficultés intrinsèques qui seront détaillées dans la section suivante. A noter que la littérature scientifique fait quelquefois la distinction entre PGSE et DOSY, notamment dans le cadre du contexte spécifique de l'analyse des mélanges. En réalité, les deux expériences sont fondamentalement les mêmes, la DOSY n'étant qu'une méthode d'analyse et de représentation des données PGSE. De ce fait, dans la suite du manuscrit, on parlera dorénavant d'expériences PGSE/DOSY.

## 1.2. LIMITES DE L'EXPERIENCE PGSE/DOSY

L'analyse des données PGSE/DOSY implique une inversion d'une fonction exponentielle décroissante. Cette étape d'inversion est fondamentale et nécessite rigoureusement d'utiliser une transformée de Laplace inverse. Malheureusement, cette opération mathématique est dite : « mal posée ». Cela signifie qu'elle peut donner lieu à une infinité de solutions en fonction du rapport signal/bruit et du nombre de composantes considérées (décroissance mono- ou multi-exponentielle). Pour contourner cette difficulté, les données PGSE/DOSY sont parfois analysées en faisant l'hypothèse que la résolution spectrale est optimale, garantissant ainsi une faible probabilité de

---

<sup>118</sup> Antalek, B., Using pulsed gradient spin echo NMR for chemical mixture analysis: how to obtain optimum results. *Concepts in Magnetic Resonance* **2002**, 14, (4), 225-258.

<sup>119</sup> Cobas, J. C.; Groves, P.; Martin-Pastor, M.; De Capua, A., New applications, processing methods and pulse sequences using diffusion NMR. *Current Analytical Chemistry* **2005**, 1, (3), 289-305.

recouvrement des signaux RMN dans la dimension de la fréquence.<sup>120</sup> En absence de recouvrement, chaque signal n'est associé qu'à une seule composante et il est alors possible de s'affranchir de l'utilisation d'une transformée de Laplace inverse en utilisant un simple ajustement monoexponentiel. Clairement, la validité de cette approximation devient de plus en plus discutable dès que la complexité du mélange, et donc la probabilité de recouvrement spectral, augmente. Pour contourner cette difficulté, plusieurs stratégies ont été envisagées, qu'il est possible de regrouper en deux grandes catégories, selon qu'elles jouent sur l'acquisition ou le traitement des données.

La première catégorie se base sur le constat selon lequel le problème dans l'analyse PGSE/DOSY provient du recouvrement spectral. Diminuer ce recouvrement facilitera donc l'analyse des données. Pour ce faire, plusieurs méthodologies ont été proposées, les principales impliquant soit un découplage homonucléaire,<sup>121</sup> soit l'ajout d'une dimension de fréquence supplémentaire.<sup>47</sup> Dans le premier cas, la multiplicité des signaux (liée au couplage scalaire) est en quelque sorte éliminée du spectre RMN <sup>1</sup>H. Autrement dit, chaque signal correspond uniquement à une valeur de déplacement chimique donné. Ceci limite grandement la probabilité de recouvrement car un multiplet s'étend sur une gamme spectrale plus importante qu'un singulet. Dans le second cas, le recouvrement spectral est supprimé en augmentant la résolution grâce à l'ajout d'une dimension de fréquence (homo- ou hétéro-nucléaire) supplémentaire. Ces améliorations ont néanmoins un coût. Dans le premier cas, la sensibilité est fortement réduite tandis que, dans le second cas, la durée de l'expérience augmente dramatiquement.

La seconde catégorie se base sur l'amélioration des méthodes de traitement des données. De nombreux algorithmes sont en effet disponibles pour analyser les données PGSE/DOSY,<sup>122,123,124,125,126,127,128,129</sup> et les résultats obtenus peuvent varier selon que les méthodes utilisées sont

---

<sup>120</sup> Barjat, H.; Morris, G. A.; Smart, S.; Swanson, A. G.; Williams, S. C. R., High-Resolution Diffusion-Ordered 2d Spectroscopy (Hr-Dosy) - a New Tool for the Analysis of Complex-Mixtures. *Journal of Magnetic Resonance Series B* **1995**, 108, (2), 170-172.

<sup>121</sup> Nilsson, M.; Morris, G. A., Pure shift proton DOSY: diffusion-ordered H-1 spectra without multiplet structure. *Chemical Communications* **2007**, (9), 933-935.

<sup>122</sup> Stilbs, P.; Paulsen, K.; Griffiths, P. C., Global least-squares analysis of large, correlated spectral data sets: Application to component-resolved FT-PGSE NMR spectroscopy. *Journal of Physical Chemistry* **1996**, 100, (20), 8180-8189.

<sup>123</sup> Nilsson, M.; Morris, G. A., Speedy component resolution: An improved tool for processing diffusion-ordered spectroscopy data. *Analytical Chemistry* **2008**, 80, (10), 3777-3782.

<sup>124</sup> Antalek, B.; Windig, W., Generalized rank annihilation method applied to a single multicomponent pulsed gradient spin echo NMR data set. *Journal of the American Chemical Society* **1996**, 118, (42), 10331-10332.

<sup>125</sup> Delsuc M.-A., Malliavin T. E., Maximum Entropy Processing of DOSY NMR Spectra. *Anal. Chem.* **1998**, 70, 2146-2148.

<sup>126</sup> Van Gorkom, L. C. M.; Hancewicz, T. M., Analysis of DOSY and GPC-NMR experiments on polymers by multivariate curve resolution. *Journal of Magnetic Resonance* **1998**, 130, (1), 125-130.

univariées (analyse du spectre fréquence par fréquence) ou multivariées (analyse du spectre dans sa globalité). Néanmoins, aucune méthode n'est actuellement totalement efficace et il s'avère souvent nécessaire d'en utiliser plusieurs pour s'assurer de la robustesse des résultats obtenus.

Une limite supplémentaire de la technique PGSE/DOSY est son manque de quantitatativité. En d'autres termes, même lorsque l'expérience parvient à séparer les spectres des molécules d'un mélange, il est généralement impossible de comparer la proportion d'une composante par rapport aux autres. Les intégrales des signaux d'une même composante peuvent même ne plus être respectées, c'est-à-dire qu'un même nombre de protons ne sera plus caractérisé par une même intégrale. Ce problème vient du fait que les différents noyaux de différentes molécules n'ont pas les mêmes propriétés de relaxation magnétique. L'objectif de ce chapitre étant de corriger cette dernière limitation, celle-ci sera par conséquent explicitée plus en détails dans les sections suivantes.

### 1.3. ASPECTS QUANTITATIFS DE L'EXPERIENCE PGSE/DOSY

Cette section a pour objectif d'expliciter les aspects quantitatifs de l'expérience PGSE/DOSY. Dans un premier temps, quelques notions élémentaires concernant la relaxation magnétique nucléaire seront précisées, et l'impact de la relaxation magnétique sur le résultat d'une analyse PGSE/DOSY d'un mélange simple sera expérimentalement illustré. Dans un second temps, la seule méthode actuellement disponible pour contrer ce problème (méthode qDECRA) sera décrite, en insistant notamment sur les limites de cette approche.

#### 1.3.1. Rappels théoriques concernant la relaxation magnétique nucléaire

En RMN, l'aimantation macroscopique d'un échantillon à l'équilibre thermique est colinéaire au champ magnétique statique  $B_0$  (appliqué le long de l'axe vertical  $z$ ). On parle alors d'aimantation longitudinale. Pour être observée, cette aimantation doit être basculée dans un plan transversal ( $xOy$ ) au moyen d'une impulsion RF  $90^\circ$  (appelée parfois impulsion de lecture). Autrement dit, après une

---

<sup>127</sup> Huo, R.; Geurts, C.; Brands, J.; Wehrens, R.; Buydens, L. M. C., Real-life applications of the MULVADO software package for processing DOSY NMR data. *Magnetic Resonance in Chemistry* **2006**, 44, (2), 110-117.

<sup>128</sup> Armstrong, G. S.; Loening, N. M.; Curtis, J. E.; Shaka, A. J.; Mandelshtam, V. A., Processing DOSY spectra using the regularized resolvent transform. *Journal of Magnetic Resonance* **2003**, 163, (1), 139-148.

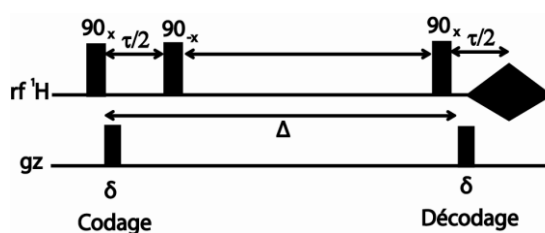
<sup>129</sup> Mouro, C.; Mutzenhardt, P.; Diter, B.; Canet, D., HR-DOSY experiments with radiofrequency field gradients (RFG) and their processing according to the HD method. *Magnetic Resonance in Chemistry* **2002**, 40, S133-S138.

impulsion de lecture, l'aimantation devient transversale. La relaxation magnétique correspond à l'ensemble des processus irréversibles qui vont permettre à l'aimantation de retrouver son état d'équilibre initial après cette perturbation. On distingue alors deux principaux types de relaxation, selon la composante de l'aimantation considérée. La relaxation longitudinale (ou relaxation spin-réseau) correspond au temps nécessaire pour que l'aimantation longitudinale retrouve sa valeur d'équilibre. La relaxation transversale (ou relaxation spin-spin) traduit quant à elle l'annulation de l'aimantation transversale, qui s'effectue au travers d'une perte de cohérence des phases des moments magnétiques microscopiques dans le plan transversal ( $xOy$ ). Ces deux types de relaxation sont caractérisés par des équations cinétiques du premier ordre auxquelles sont associées des constantes de temps (exprimées en secondes) et notées respectivement  $T_1$  et  $T_2$  pour la relaxation longitudinale et transversale. A noter que, par abus de langage,  $T_1$  et  $T_2$  sont le plus souvent appelés simplement temps de relaxation (au lieu de constante de temps). Ainsi, une valeur élevée de temps de relaxation traduit une relaxation lente. Ces temps de relaxation dépendent de nombreux paramètres (mobilité moléculaire, géométrie, interaction magnétique...), si bien que les différents noyaux d'une même molécule (ou bien les mêmes noyaux de molécules différentes) n'ont généralement pas les mêmes valeurs de  $T_1$  et  $T_2$ .

La spectroscopie RMN est intrinsèquement une technique quantitative. Cela signifie que les intégrales des signaux d'un spectre sont proportionnelles au nombre de noyaux associé à chaque signal. Cependant, lorsque l'on enregistre un spectre RMN  $^1\text{H}$ , il est souvent nécessaire d'enregistrer plusieurs expériences successives (ou scans) afin d'augmenter le rapport signal/bruit. Si le temps d'attente entre deux impulsions de lecture consécutives n'est pas suffisant, alors les noyaux caractérisés par une relaxation longitudinale lente ( $T_1$  grand) n'auront pas eu le temps de relaxer totalement entre les deux impulsions. Il s'en suivra une perte d'intensité de signal relative vis-à-vis de l'intensité des signaux associés à des noyaux qui relaxent rapidement ( $T_1$  faible). Autrement dit, la proportion des intégrales ne sera plus respectée. Typiquement, on considère qu'il suffit d'attendre au moins cinq fois la durée du plus long  $T_1$  de l'échantillon pour que les intégrales d'un spectre RMN  $^1\text{H}$  soient quantitatives. Dans la suite de ce manuscrit, on parlera dans ce cas de spectre RMN  $^1\text{H}$  quantitatif.

La situation se complique dans le cas des échos de spin car l'aimantation n'est pas détectée directement après une simple impulsion de lecture, mais après toute une succession d'impulsions et de délais (séquence d'impulsions). L'intensité des signaux devient donc fonction des temps de relaxation  $T_1$  et/ou  $T_2$ , selon que l'aimantation est longitudinale et/ou transversale au cours de la séquence d'impulsions. Comme évoqué au chapitre 1, les séquences d'impulsions des expériences PGSE/DOSY sont basées sur l'utilisation d'échos de spin. La séquence la plus simple est constituée d'un écho de

Hahn auquel on ajoute une paire d'impulsions de gradient de champ magnétique dans le but de coder et décoder spatialement les spins (Schéma 10). Dans cette séquence, l'aimantation est transversale pendant toute la durée du délai de diffusion  $\Delta$ . De ce fait, le temps de relaxation impliqué ici est  $T_2$ . Compte tenu du fait que  $T_2$  est généralement inférieur à  $T_1$ , la perte d'intensité du signal RMN mesuré à l'écho peut être significative. Par ailleurs, dans cette séquence d'impulsions, l'aimantation se retrouve fortement modulée du fait de l'évolution de l'interaction de couplage scalaire  $J$ . Cela signifie que l'intensité des signaux couplés détectés à l'écho n'est plus une simple fonction exponentielle décroissante mais devient une fonction complexe impliquant à la fois une décroissance exponentielle et une oscillation périodique. Ce phénomène porte le nom de modulation  $J$ . Par conséquent, la séquence de l'écho de Hahn est très peu utilisée dans le cadre de l'analyse des mélanges par PGSE/DOSY. On préfère au contraire utiliser des séquences d'écho de spin stimulé, qui offrent l'avantage de laisser principalement l'aimantation sur l'axe longitudinal au cours de la séquence, ce qui permet de réduire les artefacts liés à la modulation  $J$  (Schéma 31).



**Schéma 31** : Séquence PGSE basée sur l'utilisation d'un écho stimulé

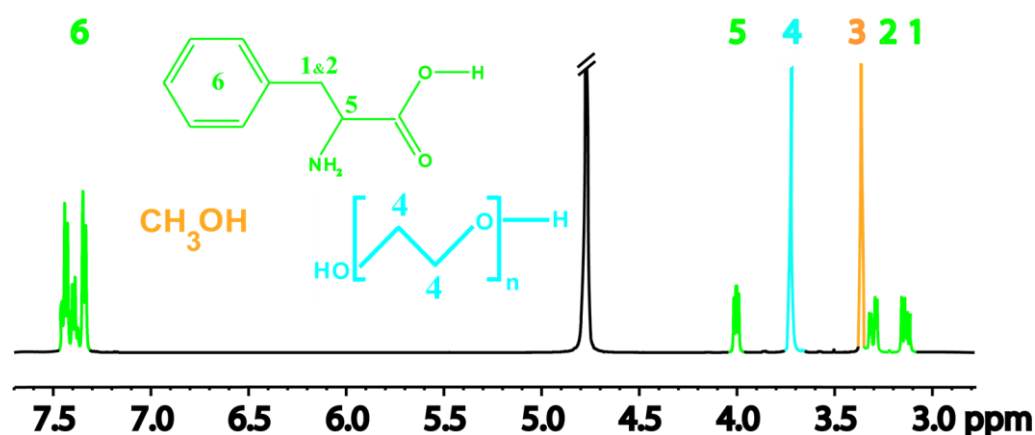
De manière générale, les délais d'une séquence de type écho de spin sont généralement longs (de l'ordre de 100 ms à 1000 ms pour le délai de diffusion  $\Delta$ ). Ceci implique que les phénomènes de relaxation ne peuvent pas être négligés, comme l'illustre expérimentalement la section suivante.

### 1.3.2. Mise en évidence expérimentale de la relaxation magnétique dans une expérience PGSE/DOSY

La méthode la plus simple pour mettre en évidence l'absence de quantitatativité des intégrales des signaux d'une expérience PGSE/DOSY est d'analyser les intégrales obtenues dans un spectre enregistré pour une seule amplitude de gradient  $g$  (à la différence d'une expérience PGSE/DOSY qui nécessite  $N$  amplitudes de gradient distinctes). Ces spectres sont quelques fois appelés « spectres filtrés en diffusion », compte tenu du fait que le gradient appliqué pendant la séquence d'impulsions atténue les intensités de certains signaux en fonction de la mobilité translationnelle des noyaux

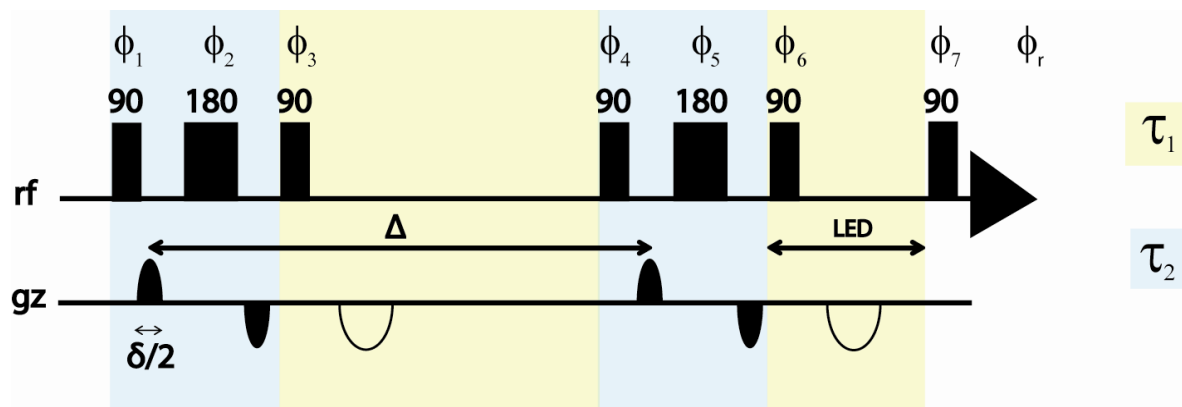
correspondants, ce qui peut aller jusqu'à éliminer du spectre les signaux des espèces les plus mobiles (d'où le terme « filtré en diffusion »).

Pour ce faire, un premier mélange modèle ne présentant pas de recouvrements spectraux (nommé *MMI*) a été préparé dans de l'eau deutériée. Ce solvant a été choisi car il est suffisamment visqueux pour éviter, à température ambiante, des complications provenant de phénomènes de convection thermique. Ce mélange contient trois composés présentant des mobilités très différentes : Poly(Ethylene Glycol ( $M_w = 6550 \text{ g mol}^{-1}$ ,  $D = 9,62 \cdot 10^{-11} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ ), L-Phénylalanine ( $D = 6,16 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ ) et méthanol ( $D = 1,36 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ ). Le spectre RMN  $^1\text{H}$  quantitatif de ce mélange est reporté Figure 30.



**Figure 30 :** Spectre  $^1\text{H}$  quantitatif obtenu à 300 K du mélange modèle *MMI* composé de Poly(Ethylene Glycol ( $M_w = 6550 \text{ g mol}^{-1}$ ,  $5,1 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ), L-Phénylalanine ( $1,0 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ ) et de méthanol ( $7,6 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ) dans  $\text{D}_2\text{O}$ . Les signaux RMN des protons labiles ne sont pas observables dans le solvant utilisé

Le spectre filtré en diffusion du mélange *MMI* a alors été enregistré avec la séquence d'impulsions de type écho stimulé illustrée Schéma 32. Celle-ci est basée sur la séquence BPP-LED proposée par Johnson.<sup>47</sup> Elle contient des paires de gradients bipolaires ainsi qu'un délai LED pour minimiser les effets des courants de Foucault induits par les gradients de champ magnétique. La séquence d'impulsions inclut également des gradients de « purge » qui simplifient le cyclage de phase utilisé pour la sélection de cohérences.



**Schéma 32 :** Séquence d'impulsions utilisée pour les expériences PGSE. Le cyclage de phase en 16 étapes utilisé est le suivant  $\phi_1 (0)_{16}$ ;  $\phi_2 (0)_{16}$ ;  $\phi_3 (0022)_4$ ;  $\phi_4 (0_4 2_4 1_4 3_4)$ ;  $\phi_5 (0)_{16}$ ;  $\phi_6 (0202 2020 1313 3131)$ ;  $\phi_7 (0_4 2_4 1_4 3_4)$ ;  $\phi_r (0220 2002 3113 1331)$ .  $\tau_1$  et  $\tau_2$  représentent respectivement les temps pendant lesquels l'aimantation est longitudinale et transversale, et LED le délai permettant de minimiser les effets des courants de Foucault. Les demi-ovales pleins et vides correspondent aux impulsions de gradient servant respectivement à encoder la diffusion et à simplifier le cyclage de phase

Pour cette séquence d'impulsions, l'intensité du signal RMN détecté à l'écho s'écrit :

$$I = \frac{I_0}{2} e^{-\frac{\tau_1}{T_1} - \frac{\tau_2}{T_2}} e^{-D(\gamma\delta g)^2 (\Delta - \frac{\delta}{4} - \frac{\tau}{2})} \quad \text{Eq. 73}$$

où  $T_1$  et  $T_2$  sont respectivement les temps de relaxation longitudinale et transversale,  $\tau_1$  et  $\tau_2$  les temps pendant lesquels l'aimantation est respectivement longitudinale et transversale, et  $\tau$  le temps de récupération après l'application du gradient de champ magnétique.

Dans un premier temps, les intégrales des signaux mesurées sur le spectre  $^1\text{H}$  quantitatif donné Figure 30 peuvent être comparées aux intégrales mesurées sur le spectre  $^1\text{H}$  filtré en diffusion (Tableau 19). Ces dernières ont pour ce faire ont été renormalisées en tenant compte de l'atténuation liée à la diffusion moléculaire (c'est-à-dire en injectant dans l'équation 73 les valeurs connues des coefficients de diffusion de chacune des espèces). Il est à noter ici que les intégrales peuvent être comparées soit de manière relative, c'est-à-dire les unes par rapport aux autres, soit de manière absolue. Ce dernier mode de comparaison implique que le spectre  $^1\text{H}$  quantitatif de référence ait été enregistré avec les mêmes paramètres d'acquisition que le spectre filtré en diffusion. Cependant, les expériences PGSE/DOSY étant intrinsèquement moins sensibles que les spectres  $^1\text{H}$ , il est plus pratique de les enregistrer avec des paramètres choisis pour optimiser la sensibilité (notamment un gain plus élevé du détecteur), ce qui du coup ne permet plus de comparer les intégrales d'un spectre à



l'autre. Par conséquent, les intégrales seront ici comparées de manière relative (c'est-à-dire les unes par rapport aux autres au sein d'un même spectre).

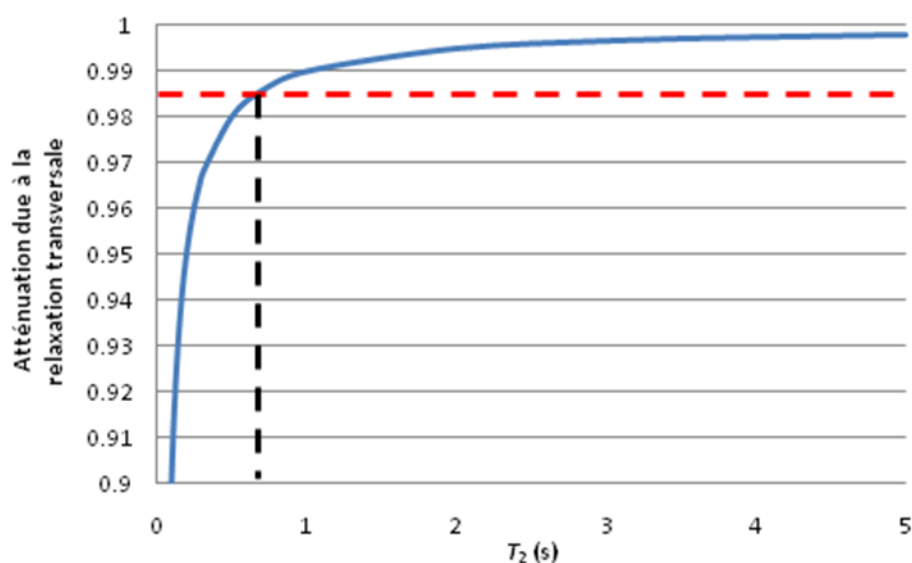
**Tableau 19 :** Comparaison de l'intégrale des signaux mesurée sur un spectre  $^1\text{H}$  quantitatif ( $I_Q$ ) avec celle mesurée sur un spectre filtré en diffusion ( $I$ ) et renormalisée à l'aide des coefficients de diffusion mesurés séparément ( $I_D$ ). Le spectre filtré en diffusion a été enregistré avec les paramètres suivants :  $g = 2 \text{ G cm}^{-1}$ ,  $\Delta = 400 \text{ ms}$  et  $\delta = 3,5 \text{ ms}$ . Le signal 6 a été pris comme intégrale de référence dans les deux cas

#	$I_Q$ (u. a.)	$I$ (u. a.)	$D$ ( $\text{m}^2 \text{ s}^{-1}$ )	$I_D$ (u. a.)	Ecart (%)
1	0,361	0,239	$6,16 \cdot 10^{-10}$	0,263	<b>-27,5</b>
2	0,365	0,237	$6,16 \cdot 10^{-10}$	0,261	<b>-28,0</b>
3	0,764	0,661	$1,36 \cdot 10^{-9}$	0,816	<b>-1,1</b>
4	1,051	0,668	$9,62 \cdot 10^{-11}$	0,678	<b>-38,5</b>
5	0,361	0,316	$6,16 \cdot 10^{-10}$	0,348	<b>-3,9</b>
6	1,830	1,663	$6,16 \cdot 10^{-10}$	1,830	<b>0,0</b>

Le Tableau 19 met clairement en évidence un écart important entre les intégrales des signaux mesurées sur les spectres  $^1\text{H}$  quantitatif et filtré en diffusion. Cette différence est liée aux phénomènes de relaxation magnétique durant les périodes  $\tau_1$  et  $\tau_2$ , et ne permet donc pas d'envisager une analyse quantitative du mélange. Dans le cas spécifique de la séquence illustrée Schéma 32, on remarque que l'aimantation est préférentiellement longitudinale (typiquement :  $\tau_1 \gg \tau_2$ ). L'impact de la relaxation longitudinale sera donc significatif. En revanche, l'impact de la relaxation transversale est plus difficile à évaluer. En effet, bien que  $\tau_2$  soit systématiquement plus faible que  $\tau_1$ , la perte de signal par relaxation magnétique transversale peut néanmoins s'avérer significative car, dans de nombreux cas, on observe que  $T_2$  est plus court que  $T_1$ . L'impact de la relaxation transversale sera donc évalué plus précisément dans la section suivante.

### 1.3.3. Influence des temps de relaxation sur l'intensité des signaux RMN

Pour estimer l'impact de la relaxation magnétique transversale dans la séquence d'impulsions présentée Schéma 32, il suffit de suivre l'évolution du facteur d'atténuation liée à la relaxation transversale, qui vaut  $\exp(-\tau_2/T_2)$  d'après l'équation 73, en fonction du temps de relaxation  $T_2$  pour une valeur de  $\tau_2$  maximale de 10 ms (Figure 31). Cette valeur correspond à la valeur expérimentale maximale typiquement atteinte sur les sondes RMN liquide haute résolution.



**Figure 31 :** Influence du temps de relaxation transversale sur l'intensité du signal RMN pour la séquence utilisée (courbe bleue) lorsque  $\tau_2$  est égal à 10 ms. L'équation de la courbe rouge est  $y = 0,985$

La Figure 31 met en évidence que, pour une valeur maximale de  $\tau_2$  égale à 10 ms, la perte de signal par relaxation transversale est inférieure à 1,5 % dès que  $T_2$  est supérieur à 0,75 s. On peut donc dire que l'atténuation due à la relaxation transversale est négligeable pour des molécules de petite taille. En revanche, cette approximation ne sera plus valide pour les macromolécules. Le paramètre  $T_2$  sera donc également déterminant pour obtenir des données quantitatives lors de l'analyse de solutions polymères.

Comme stipulé dans l'introduction de cette section, la seule méthode actuellement disponible pour obtenir des données PGSE/DOSY quantitatives s'appelle la méthode qDECRA. Celle-ci sera donc détaillée dans la section suivante.

#### 1.4. METHODOLOGIE qDECRA

L'acronyme qDECRA fait en réalité référence à *quantitative* DECRA, où DECRA (Direct Exponential Component Resolution Analysis) est une méthode permettant de traiter les données PGSE/DOSY. Pour l'expliquer, il est donc nécessaire de présenter dans un premier temps la méthode de traitement DECRA.

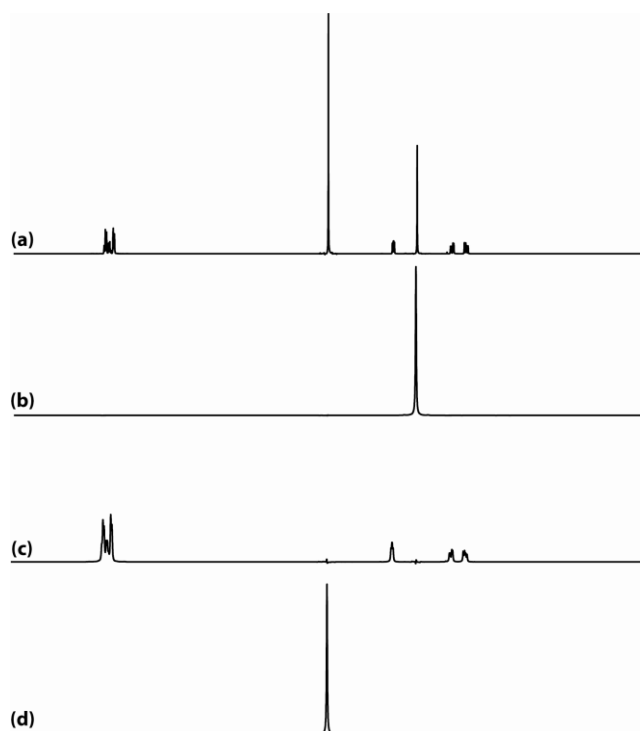
### 1.4.1. Méthode de traitement DECRA

Proposée par Antalek *et al.*,<sup>124,130</sup> DECRA est une méthode de traitement des données PGSE/DOSY qui permet d'extraire directement les spectres séparés des composés d'un mélange. Cette méthode consiste à considérer le spectre du mélange comme la somme des spectres des composés séparés pondérés par leur concentration respective. Une approche matricielle permet de résoudre simplement le problème si les spectres des composés séparés sont connus, ce qui n'est généralement pas le cas. Cependant, le problème peut être résolu analytiquement avec la méthode GRAM (Generalized Rank Anihilation Method) à condition de disposer de deux jeux de données proportionnelles, comme le suggèrent Booksh et Kowalski.<sup>131</sup> L'algorithme DECRA applique cette stratégie en utilisant deux jeux de données issus d'une même expérience PGSE dont l'échantillonnage des  $N$  amplitudes de gradient  $g_i$  est réalisé de manière quadratique. Puisque la décroissance du signal RMN est exponentielle on peut alors former ces deux jeux de données proportionnelles en considérant l'ensemble des  $N-1$  spectres associés aux amplitudes de gradient allant de  $g_1$  à  $g_{N-1}$  et de  $g_2$  à  $g_N$ . Par exemple, pour  $N=16$  on utilise les expériences 1 à 15 et 2 à 16 pour former respectivement le premier et le second jeu de données. Cet algorithme, rapide et efficace, permet d'obtenir le spectre des composés séparés à partir d'une expérience PGSE du mélange comme illustré Figure 29 pour le même mélange que pour la Figure 28.

---

<sup>130</sup> Antalek, B.; Hewitt, J. M.; Windig, W.; Yacobucci, P. D.; Mourey, T.; Le, K., The use of PGSE NMR and DECRA for determining polymer composition. *Ibid.*, S60-S71.

<sup>131</sup> Booksh, K. S.; Kowalski, B. R., Comments on the Data-Analysis (Datan) Algorithm and Rank Anihilation Factor-Analysis for the Analysis of Correlated Spectral Data. *Journal of Chemometrics* **1994**, 8, (4), 287-292.

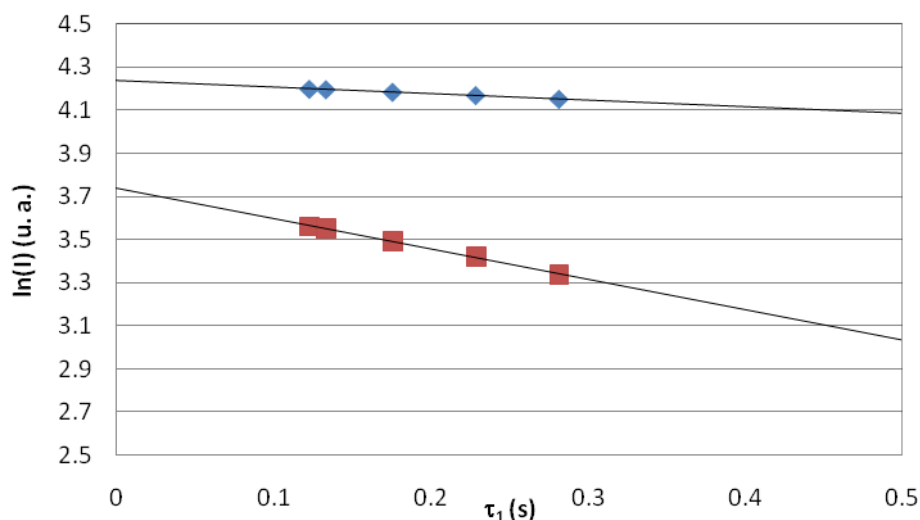


**Figure 32 :** (a) Spectre  $^1\text{H}$  du mélange présenté Figure 30 ainsi que les spectres  $^1\text{H}$  extraits d'une expérience PGSE/DOSY traitée avec l'algorithme DECRA (b) du PEG ( $M_w = 42700 \text{ g mol}^{-1}$ ), (c) de la L-Phénylalanine et (d) de HOD

#### 1.4.2. Application quantitative de la méthode DECRA (qDECRA)

Antalek a développé une stratégie de quantification<sup>132</sup> qui consiste à enregistrer plusieurs expériences PGSE/DOSY en faisant varier les temps pendant lesquels l'aimantation est longitudinale et transversale, respectivement notés  $\tau_1$  et  $\tau_2$ , tout en gardant le rapport  $\tau_1/\tau_2$  constant. Les expériences sont ensuite traitées à l'aide de l'algorithme DECRA qui permet d'obtenir les spectres  $^1\text{H}$  des composés séparés. Les intégrales des signaux sont ensuite mesurées et peuvent être comparées en fonction des valeurs de  $\tau_1$  pour extrapoler l'atténuation du signal à  $\tau_1=0$ , qui correspond aux intégrales quantitatives, comme illustré Figure 33.

<sup>132</sup> Antalek, B., Using PGSE NMR for chemical mixture analysis: Quantitative aspects. *Concepts in Magnetic Resonance Part A* **2007**, 30A, (5), 219-235.



**Figure 33** : Extrapolation à  $\tau_1=0$  (relaxation nulle) des intégrales issues des expériences PGSE/DOSY par la méthode qDECRA pour le mélange présenté Figure S. Les losanges bleus et les carrés rouges correspondent respectivement aux protons aromatiques de la L-phénylalanine et aux protons du PEG ( $M_w = 42700 \text{ g mol}^{-1}$ )

### 1.4.3. Limites de la méthode qDECRA

Antalek a mis en évidence que la justesse des quantifications réalisées avec la méthode qDECRA est très perturbée par les phénomènes de modulation  $J$ . En effet, pour maintenir le rapport  $\tau_1/\tau_2$  constant, il est nécessaire de faire varier  $\tau_2$ , ce qui module de fait l'intensité des signaux couplés mesurée à l'écho. De manière générale, on constate que la justesse des quantifications obtenues avec cette méthode est en moyenne de l'ordre de  $\pm 15 \%$ . D'autre part, cette stratégie est assez longue à mettre en œuvre puisqu'elle nécessite d'enregistrer plusieurs expériences PGSE/DOSY complètes (c'est-à-dire avec  $N$  amplitudes de gradient chacune) avec des délais différents. Cela donne lieu à de longues durées d'acquisition, ce qui ne facilite pas l'application de cette méthodologie.

## 1.5. CONCLUSION

Devant l'intérêt de disposer d'une méthodologie rapide et efficace pour la quantification de composé en mélange, nous nous sommes proposés de développer une alternative à la méthode qDECRA, qui soit moins sensible aux phénomènes de modulation  $J$ . Cette stratégie de quantification originale est détaillée dans les sections suivantes, en considérant successivement deux mélanges modèles caractérisés par différents degrés de recouvrement spectral (Sections 2 et 3). L'intérêt de cette

nouvelle méthodologie pour l'analyse d'échantillons de copolymères à blocs issus d'une polymérisation par NMP sera également mis en évidence (Section 4).

## **2. NOUVELLE STRATEGIE DE QUANTIFICATION DES DONNEES PGSE/DOSY (ABSENCE DE RECOUVREMENT SPECTRAL)**

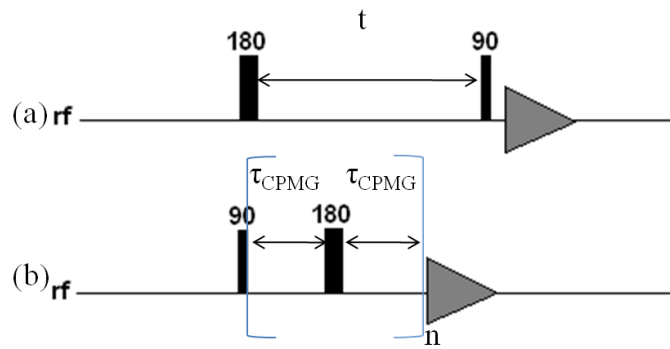
Le développement de la nouvelle stratégie de quantification proposée dans le cadre de ces travaux de thèse repose sur le constat selon lequel il est possible de prendre en compte la perte de signal observée dans les expériences PGSE/DOSY, dès lors que les temps de relaxation magnétique des noyaux sont connus. En effet, en connaissant les valeurs des temps de relaxation magnétique  $T_1$  et  $T_2$  des différents noyaux d'un mélange donné, il devrait être possible *a priori* de prendre en compte la perte d'intensité liée à la relaxation et de renormaliser les données PGSE/DOSY en appliquant l'équation 73. Le problème se réduit alors à mesurer les temps de relaxation et, surtout, à estimer la précision nécessaire pour obtenir, après renormalisation, une justesse de quantification de l'ordre de  $\pm 5\%$ . Cette idée a donc été testée dans un premier temps sur un mélange simple (absence de recouvrement spectral) en considérant successivement un spectre filtré en diffusion (cas 1) et une expérience PGSE/DOSY (cas 2).

### **2.1. CAS I : SPECTRE FILTRE EN DIFFUSION**

Le mélange utilisé ici est le mélange *MMI* (Poly(Ethylene Glycol), L-Phénylalanine et méthanol dans  $D_2O$ ). Pour effectuer la renormalisation des données, il est nécessaire dans un premier temps de mesurer les temps de relaxation magnétique des différents noyaux.

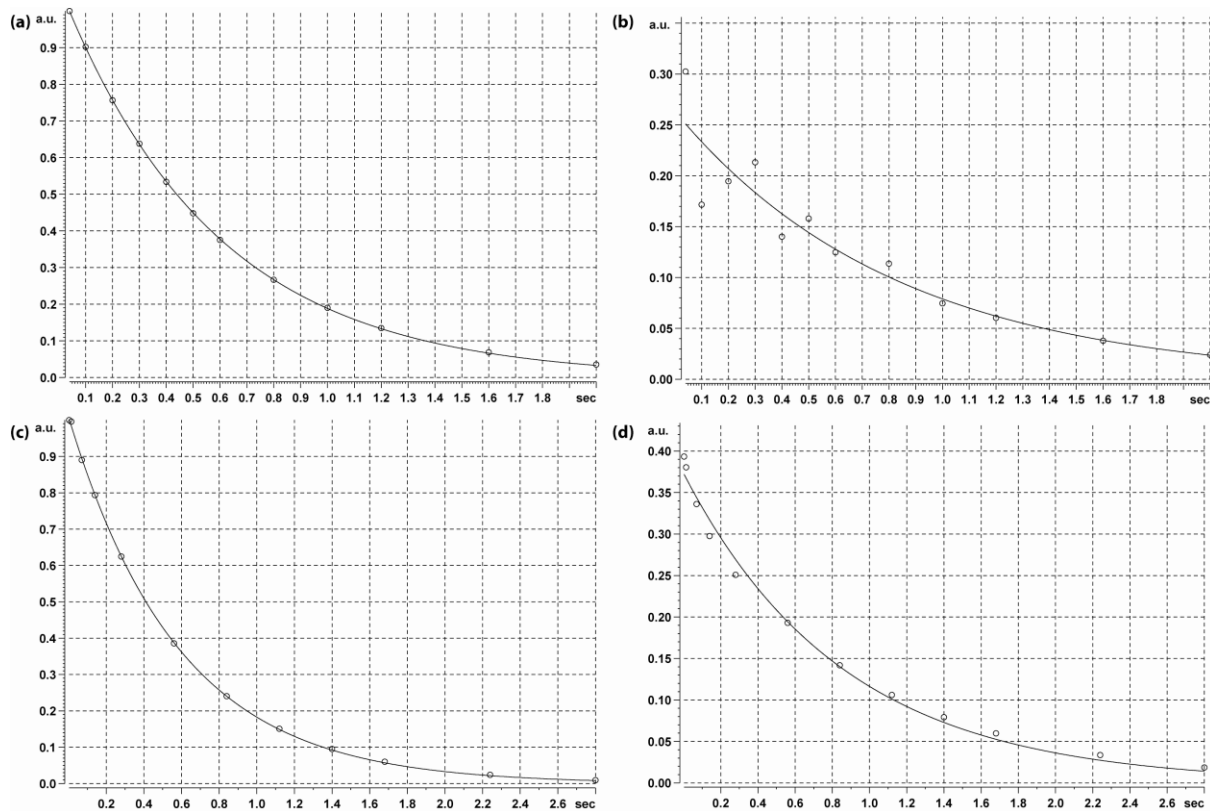
#### **2.1.1. Renormalisation des données à l'aide des temps de relaxation**

Les temps de relaxation  $T_1$  et  $T_2$  des différents signaux du mélange *MMI* ont été mesurés en utilisant respectivement les méthodes de référence d'Inversion-Récupération (IR) et Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG), illustrées Schéma 33.



**Schéma 33** : Séquences d'impulsions des expériences (a) d'Inversion-Récupération et (b) CPMG

La séquence IR ne présente aucune difficulté particulière. En revanche, la séquence CPMG peut être perturbée par les phénomènes de modulation  $J$ , ce qui diminue la précision des mesures de temps de relaxation  $T_2$ , comme le montre la Figure 34.



**Figure 34** : Mesure du temps de relaxation transversale  $T_2$  par CPMG avec un demi-écho  $\tau_{\text{CPMG}}$  de 1 ms pour les signaux (a) **4** et (b) **1** du mélange *MMI*. Les courbes (c) et (d) ont été enregistrées respectivement pour ces mêmes signaux avec un demi-écho  $\tau_{\text{CPMG}}$  de 0,7 ms

Les Figures 34a et 34c mettent en évidence que la décroissance des signaux non couplés lors d'expériences CPMG est strictement monoexponentielle, ce qui permet une bonne mesure du temps de relaxation  $T_2$ . En revanche, pour les signaux couplés, des oscillations sont clairement visibles (voir

Figure 34b). Bien que celles-ci s'atténuent pour des valeurs de  $\tau$  plus faibles, on remarque clairement que la modulation  $J$  perturbe la mesure du temps de relaxation  $T_2$  (Figure 34c). On utilisera néanmoins ces valeurs comme références par la suite car la CPMG figure actuellement parmi les méthodes les plus fiables pour mesurer  $T_2$ .

A partir des valeurs de  $T_1$  et de  $T_2$  ainsi obtenues, les intégrales des signaux mesurées sur le spectre  $^1\text{H}$  filtré en diffusion sont ensuite renormalisées en utilisant l'équation 75, puis comparées aux intégrales correspondantes du spectre  $^1\text{H}$  quantitatif (Tableau 20).

**Tableau 20 :** Comparaison des intégrales des signaux mesurées sur un spectre  $^1\text{H}$  quantitatif ( $I_Q$ ) avec les intégrales de ces mêmes signaux mesurées sur un spectre filtré en diffusion et renormalisées à partir des valeurs de  $D$  ( $I_D$ ), et à partir des valeurs de  $D$  et des temps de relaxation  $T_1$  et  $T_2$  ( $I_{D,T1/T2}$ ). Le spectre filtré en diffusion a été enregistré avec les paramètres suivants :  $g = 2 \text{ G cm}^{-1}$ ,  $\Delta = 400 \text{ ms}$  et  $\delta = 3.5 \text{ ms}$ .

#	$I_Q$ (u. a.)	$I_D$ (u. a.)	$T_1^{\text{ref}}$ (s)	$T_2^{\text{ref}}$ (s)	$I_{D,T1/T2}$ (u. a.)	Ecart (%)
1	0,412	0,263	0,96	0,84	0,412	<b>+0,0</b>
2	0,417	0,261	0,95	0,83	0,411	<b>-1,4</b>
3	0,872	0,816	9,65	5,10	0,854	<b>-2,1</b>
4	1,199	0,678	0,75	0,56	1,205	<b>+0,5</b>
5	0,413	0,348	3,05	1,90	0,401	<b>-2,7</b>
6	2,089	1,830	3,25	2,47	2,089	<b>+0,0</b>

Le Tableau 20 montre que les données PGSE/DOSY peuvent être renormalisées pour obtenir des données quantitatives à  $\pm 3 \%$ . A ce stade, dans un objectif de gain de temps, il serait intéressant de vérifier s'il est possible de mesurer directement les temps de relaxation  $T_1$  et  $T_2$  au cours des expériences PGSE/DOSY, c'est-à-dire sans avoir recours aux méthodes de référence IR et CPMG.

### 2.1.2. Mesure des temps de relaxation au cours des expériences PGSE

La stratégie de mesure des temps de relaxation au cours des expériences PGSE consiste à enregistrer plusieurs expériences PGSE/DOSY en faisant varier  $\tau_1$  ou  $\tau_2$ , l'équation 74 permettant ensuite de déterminer  $T_1$  ou  $T_2$  après avoir mesuré les intégrales des différents signaux.

#### 2.1.2.a. Mesure de $T_1$

La stratégie la plus simple pour mesurer le temps de relaxation longitudinale est d'enregistrer plusieurs expériences en faisant varier le temps de diffusion  $\Delta$ . Une série de spectres  $^1\text{H}$  filtrés en diffusion a été enregistrée pour des valeurs de  $\Delta$  variant de 100 à 1300 ms. Les intégrales des différents signaux ont été mesurées et leur logarithmes reportés en fonction de  $\Delta$  (Figure 35).



On observe Figure 35 que le logarithme de l'intégrale de chaque signal varie linéairement avec le temps de diffusion. De plus, l'équation 73 peut être réécrite selon :

$$\ln(I) = -\frac{\tau_1}{T_1} - \frac{\tau_2}{T_2} - D(\gamma\delta g)^2 \left( \Delta - \frac{\delta}{4} - \frac{\tau}{2} \right) + k \quad \text{Eq. 74}$$

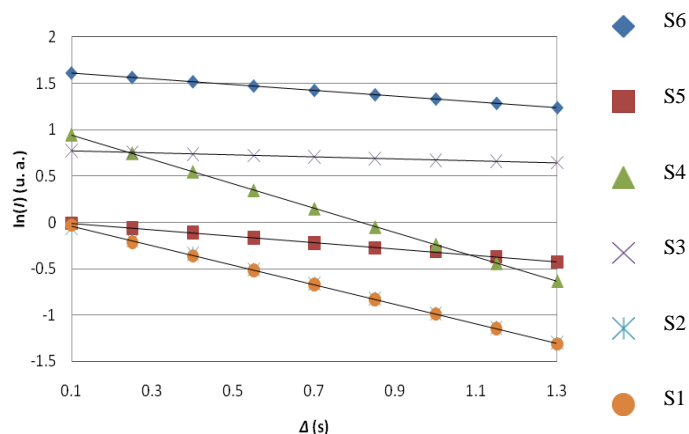
où  $k$  est une constante. Pour la séquence utilisée,  $\tau_1$  est égal à :

$$\tau_1 = \Delta - 2\delta - p_2 - 2p_1 + LED \quad \text{Eq. 75}$$

où  $p_1$  et  $p_2$  sont respectivement les durées des impulsions RF à 90 et 180°. On peut alors mettre en facteur commun le délai variable  $\Delta$  pour obtenir l'équation des droites tracées Figure 35.

$$\ln(I) = -\Delta \left( \frac{1}{T_1} + D(\gamma\delta g)^2 \right) + k' \quad \text{Eq. 76}$$

où  $k'$  est une constante. Le coefficient directeur de la droite permet donc de calculer le temps de relaxation longitudinale, connaissant les paramètres de diffusion  $D$ ,  $\delta$  et  $g$ . Les mesures de  $T_1$  ainsi obtenues sont comparées aux valeurs de référence (Tableau 21).



**Figure 35** : Logarithme de l'intégrale des signaux mesurée sur les spectres  $^1\text{H}$  filtrés en diffusion en fonction de  $\Delta$

**Tableau 21** : Comparaison des valeurs de  $T_1$  mesurées à partir des spectres filtrés en diffusion avec les valeurs de référence mesurées par IR

#	Coefficient directeur ( $\text{s}^{-1}$ )	$T_1^{\text{ref}}$ ( $\text{s}$ ) <sup>a</sup>	$T_1^{\text{PGSE}}$ ( $\text{s}$ )	Ecart (%)	$T_1^{\text{PGSE}}$ ( $\text{s}$ ) <sup>b</sup>	Ecart (%)
1	-1,055	0,96	0,95	<b>-0,6</b>	0,94	<b>-2,1</b>
2	-1,041	0,95	0,96	<b>+1,6</b>	0,97	<b>2,5</b>

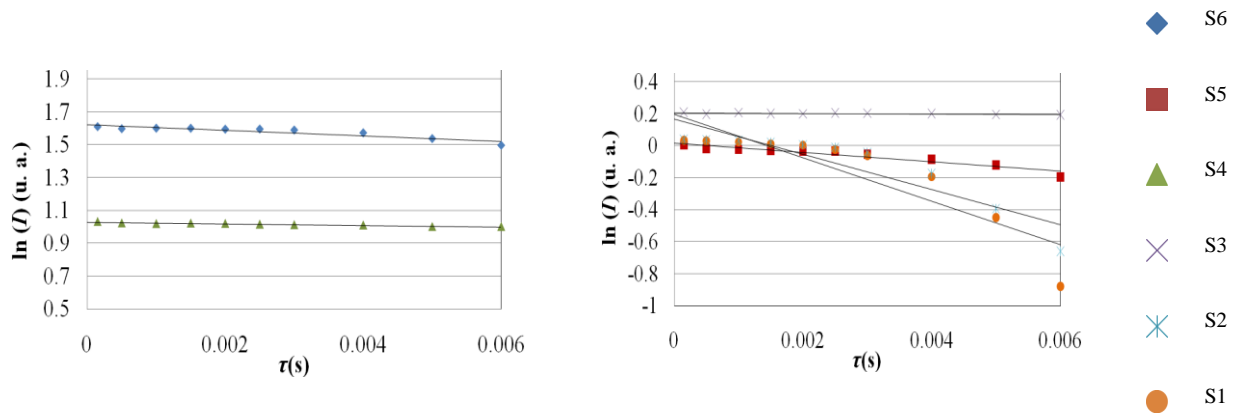
3	-0,108	9,65	9,72	<b>+0,7</b>	9,31	<b>-3,5</b>
4	-1,316	0,75	0,76	<b>+1,4</b>	0,76	<b>1,3</b>
5	-0,346	3,05	2,91	<b>-4,6</b>	2,87	<b>-5,8</b>
6	-0,311	3,25	3,24	<b>-0,4</b>	3,21	<b>-1,2</b>

<sup>a</sup> Mesuré à partir des neuf valeurs de  $\Delta$  présentées Figure 35. <sup>b</sup> mesuré à partir des deux valeurs extrêmes de  $\Delta$

Le Tableau 21 met en évidence que le temps de relaxation longitudinale peut être mesuré avec une justesse de  $\pm 5\%$  lors d'expériences PGSE en faisant varier le délai de diffusion. De plus, les données présentant une bonne linéarité sur une large gamme de temps de diffusion (Figure 35), dans un objectif de gain de temps, la mesure de  $T_1$  peut être envisagée avec seulement 2 points.

### 2.1.2.b. Mesure de $T_2$

Une approche similaire peut être envisagée pour la mesure du temps de relaxation transversale en faisant varier  $\tau_2$  tout en gardant  $\delta$  constant, ce qui revient à faire varier le délai  $\tau$  de récupération après les impulsions de gradient. Une série de spectres filtrés en diffusion a alors été enregistrée. De la même manière que pour  $T_1$ , les intégrales des signaux peuvent être mesurées et leur logarithme reporté en fonction de  $\tau$  (Figure 36).



**Figure 36** : Logarithme de l'intégrale des signaux mesurée sur les spectres  $^1\text{H}$  filtrés en diffusion en fonction de  $\tau$

La Figure 36 met en évidence que la variation du logarithme de l'intensité du signal n'est pas toujours linéaire, en particulier pour les signaux couplés S1 et S2. Ce comportement peut s'expliquer par des phénomènes de modulation  $J$  durant le délai  $\tau_2$ .

L'équation 75 peut être réécrite selon :

$$I = \frac{I_0}{2} e^{-\frac{\Delta - \delta - 2\tau + k}{T_1} - \frac{2\delta + 4\tau}{T_2}} e^{-D(\gamma\delta g)^2 \left(\Delta - \frac{\delta}{4} - \frac{\tau}{2}\right)} \quad \text{Eq. 77}$$

où  $k$  est une constante. Ceci permet de donner l'équation décrivant la variation du logarithme du signal en fonction de  $\tau$ .

$$\ln(I) = \left( \frac{2}{T_1} - \frac{4}{T_2} + D(\gamma\delta g)^2 \frac{1}{2} \right) \tau + k' \quad \text{Eq. 78}$$

où  $k'$  est une constante. Cette dernière équation permet d'estimer les temps de relaxation  $T_2$  de tous les signaux, connaissant  $T_1$  et  $D$ , et de les comparer aux valeurs de référence mesurées par CPMG (Tableau 22).

**Tableau 22 :** Comparaison des mesures de  $T_2$  mesurées avec les spectres filtrés en diffusion avec les valeurs de référence mesurées par CPMG

#	Coefficient directeur (s <sup>-1</sup> )	$T_2^{\text{ref}}$ (s)	$T_2^{\text{PGSE}}$ (s)	<b>Ecart</b> (%)
1	-26,27	0,84	0,14	<b>-83,3</b>
2	-12,04	0,83	0,28	<b>-66,3</b>
3	-1,04	5,10	3,19	<b>-37,4</b>
4	-5,02	0,56	0,52	<b>-6,4</b>
5	-3,23	1,90	1,04	<b>-82,7</b>
6	-16,98	2,47	0,23	<b>-90,8</b>

On peut remarquer Tableau 22 que, comme l'on pouvait s'y attendre compte tenu des courbes données Figure 36, la stratégie utilisée ne permet pas d'estimer les temps de relaxation  $T_2$ , notamment pour les signaux couplés qui sont modulés par le couplage scalaire.

### 2.1.3. Influence de la justesse des valeurs de temps de relaxation sur la renormalisation des signaux

La section précédente a montré que les expériences PGSE/DOSY peuvent être enregistrées de manière à mesurer  $T_1$  avec une justesse de l'ordre de  $\pm 5\%$ . Elles ne permettent en revanche de n'obtenir qu'une estimation très grossière de  $T_2$ . Par conséquent, il apparaît important d'évaluer l'impact de la justesse des valeurs de  $T_2$  ainsi obtenues sur la qualité de la renormalisation des données PGSE/DOSY. Ainsi, l'équation 73 peut être réécrite selon :

$$I = K \exp \frac{\tau_2 - \tau_1}{T_2 - T_1} \quad \text{Eq. 79}$$

où  $K$  correspond à l'atténuation du signal liée à la diffusion. L'erreur commise sur  $I$  lors de la renormalisation peut donc s'écrire selon :

$$\Delta I = K \left\{ \frac{\tau_2}{T_2^2} \exp \frac{\tau_2}{T_2} \frac{\tau_1}{T_1} \right\} \Delta T_2 + K \left\{ \frac{\tau_1}{T_1^2} \exp \frac{\tau_2}{T_2} \frac{\tau_1}{T_1} \right\} \Delta T_1 \quad \text{Eq. 80}$$

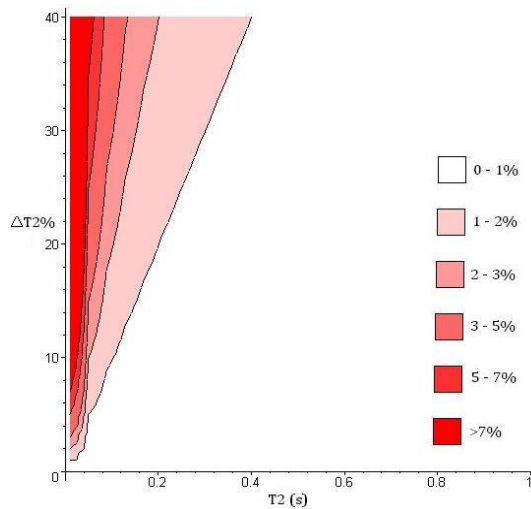
On peut alors mettre en facteur l'intensité  $I$  du signal :

$$\Delta I = I \left\{ \frac{\tau_2}{T_2^2} \Delta T_2 + \frac{\tau_1}{T_1^2} \Delta T_1 \right\} \quad \text{Eq. 81}$$

et en déduire la justesse relative de la renormalisation ( $\Delta I$  %) en fonction de la justesse des temps de relaxation ( $\Delta T_1$  % et  $\Delta T_2$  %) :

$$\Delta I \% = \left\{ \frac{\tau_2}{T_2} \Delta T_2 \% + \frac{\tau_1}{T_1} \Delta T_1 \% \right\} \quad \text{Eq. 82}$$

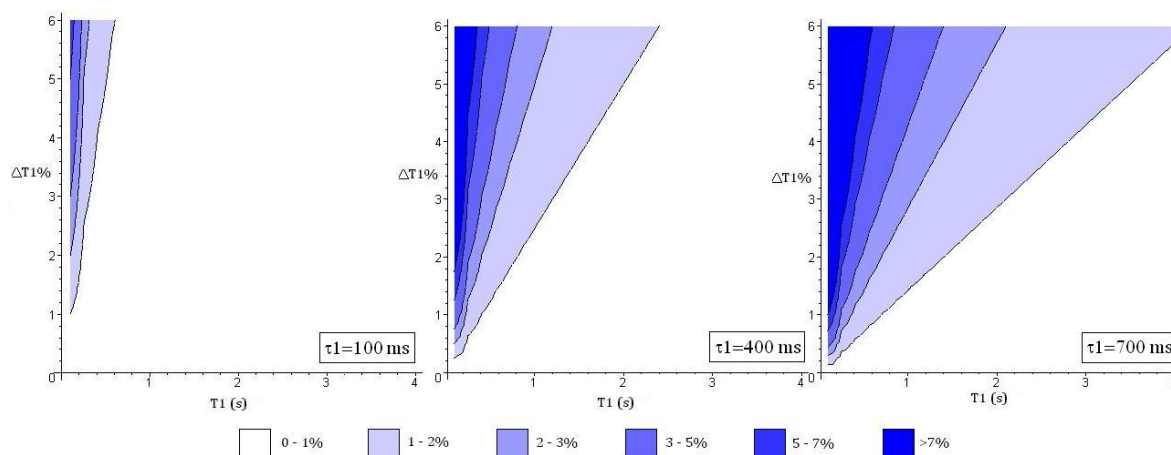
L'équation 82 permet donc d'étudier séparément l'influence de la justesse des différents temps de relaxation ( $T_1$  et  $T_2$ ) sur la qualité de la renormalisation obtenue en fonction des paramètres expérimentaux choisis. La Figure 37 illustre le cas du temps de relaxation  $T_2$ .



**Figure 37** : Erreur de la renormalisation issue de la justesse de la mesure du temps de relaxation transversale pour une valeur de  $\tau_2$  de 10 ms

La Figure 37 montre que, tant que  $T_2$  est supérieur à 0,1 s, une erreur de 40 % sur la mesure de  $T_2$  n'induit qu'une erreur maximale de 5% sur la renormalisation, confirmant le peu d'influence de la relaxation transversale.

De la même manière, l'erreur sur la renormalisation issue de la justesse de la mesure du temps de relaxation longitudinale peut être représentée sous forme de carte en fonction de la justesse de  $T_1$  et du temps de relaxation lui-même, pour différentes valeurs de délai de diffusion (Figure 38).



**Figure 38** : Erreur de la renormalisation issue de la justesse de la mesure du temps de relaxation longitudinale pour différentes valeurs de  $\tau_1$  égales à 100, 400 et 700 ms

La Figure 38 met en évidence que lorsque  $\tau_1$  augmente la justesse de la mesure du temps de relaxation longitudinale devient un facteur de plus en plus important, au risque de conduire à des erreurs non négligeables pour les signaux ayant un  $T_1 < 0,6$  s.

En d'autres termes, compte tenu des valeurs de  $T_2$  des signaux du mélange *MMI* (Tableau 20), il semble qu'il soit malgré tout possible d'utiliser les estimations obtenues précédemment (Tableaux 21 et 22) pour renormaliser les intégrales du spectre filtré en diffusion.

### 2.1.4. Renormalisation des signaux

A ce stade, les temps de relaxation des différents noyaux du mélange *MMI* étant connus, il est normalement possible de renormaliser les intégrales du spectre  $^1\text{H}$  filtré en diffusion correspondant (Tableau 23).

**Tableau 23** : Comparaison des intégrales des signaux mesurées sur un spectre  $^1\text{H}$  quantitatif  $I_Q$  avec les intégrales de ces mêmes signaux mesurées sur un spectre filtré en diffusion  $I_D$  et renormalisées à l'aide de  $D$  et  $T_1$  ( $I_{D,T_1}$ ), et de  $D$ ,  $T_1$  et  $T_2$  ( $I_{D,T_1/T_2}$ ). Le spectre filtré en diffusion a été enregistré avec les paramètres suivants :  $g = 2 \text{ G cm}^{-1}$ ,  $\Delta = 400 \text{ ms}$ ,  $\delta = 3,5 \text{ ms}$

#	$I_D$	$I_{D,T_1}$	Ecart	$I_{D,T_1/T_2}$	Ecart
---	-------	-------------	-------	-----------------	-------

	(u. a.)	(u. a.)	(%)	(u. a.)	(%)
1	0,263	0,409	<b>-0,4</b>	0,432	<b>1,7</b>
2	0,261	0,404	<b>-2,8</b>	0,415	<b>-3,4</b>
3	0,816	0,852	<b>-2,0</b>	0,854	<b>-5,0</b>
4	0,678	1,180	<b>-1,4</b>	1,197	<b>-3,2</b>
5	0,348	0,403	<b>-2,2</b>	0,405	<b>-4,7</b>
6	1,830	2,084	<b>+0,0</b>	2,089	<b>0,0</b>

Le Tableau 23 montre que l'on peut obtenir une justesse de  $\pm 5\%$  en renormalisant les signaux à l'aide des temps de relaxation mesurés par RMN PGSE malgré l'importante erreur commise sur la mesure de  $T_2$ .

## 2.2. CAS II : EXPERIENCE PGSE/DOSY

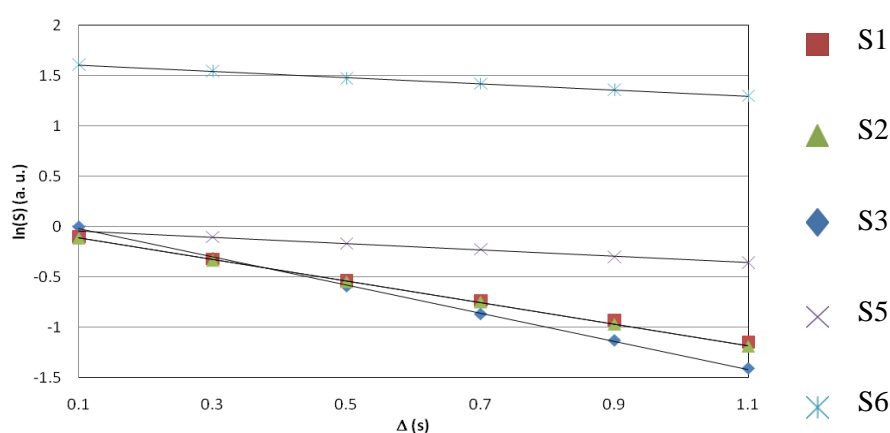
La section précédente a montré qu'il était possible de renormaliser les données d'une analyse PGSE/DOSY pour obtenir des résultats quantitatifs dans le cas spécifique d'un spectre filtré en diffusion enregistré sur un mélange modèle ne présentant pas de recouvrement spectral. A terme, le but est de vérifier si l'expérience PGSE/DOSY complète (c'est-à-dire enregistrée avec  $N$  amplitudes de gradient distinctes) peut atteindre ce même résultat sur un mélange présentant des recouvrements spectraux. Dans ce cas, comme indiqué à la section 1.2, il est nécessaire d'utiliser un algorithme permettant de séparer les signaux en fonction de leur coefficient de diffusion. Puisque la seule stratégie de quantification en mélange développée à ce jour est fondée sur l'utilisation de l'algorithme DECRA, il apparaît ici judicieux d'utiliser également cet algorithme dans le but de pouvoir comparer les deux stratégies. De plus, DECRA est implémenté dans la version 2.1 de Topspin, le logiciel fourni par la société Bruker pour piloter les instruments RMN et traiter les données expérimentales, ce qui facilitera la mise en place de la méthodologie.

Néanmoins, avant de considérer le cas d'un mélange avec recouvrement spectral, il convient de s'assurer que le traitement DECRA n'introduit aucun artefact dans le processus de quantification. Pour ce faire, nous avons choisi de suivre la même démarche en appliquant dans un premier temps DECRA à un mélange modèle analogue à celui précédemment utilisé.

### 2.2.1. Mesure de $T_1$

La stratégie utilisée pour déterminer le temps de relaxation longitudinale consiste à faire varier le délai de diffusion. Cependant, dans le but de pouvoir séparer les spectres  $^1\text{H}$  de composés en mélange avec l'algorithme DECRA, les expériences PGSE/DOSY sont ici enregistrées avec 16 amplitudes de

gradient. Les données sont ensuite traitées avec l'algorithme DECRA qui permet d'obtenir les spectres  $^1\text{H}$  des composés séparés, extrapolés à diffusion nulle. Les intégrales des différents signaux peuvent alors être mesurées sur chaque spectre et leur logarithme tracé en fonction de  $\Delta$  dans le but de mesurer  $T_1$ . Pour valider cette démarche, nous avons utilisé un mélange légèrement différent de *MM1* en supprimant le méthanol qui nécessitait des temps d'acquisition trop longs du fait de son temps de relaxation longitudinale élevé ( $T_1 \sim 9,5$  s). Ainsi, le mélange *MM2* est composé de Poly(Ethylene Glycol) ( $M_w=42700$  g mol $^{-1}$ ,  $2,42 \cdot 10^{-5}$  mol L $^{-1}$ ) et L-Phénylalanine ( $3,34 \cdot 10^{-2}$  mol L $^{-1}$ ) dans  $\text{D}_2\text{O}$ . Plusieurs expériences PGSE/DOSY ont été enregistrées sur ce mélange avec différentes valeurs de  $\Delta$ , et le logarithme des intégrales mesurées a été tracé en fonction de  $\Delta$  (Figure 39).



**Figure 39 :** Evolution du logarithme des intégrales des signaux mesurés sur les spectres  $^1\text{H}$  extraits des expériences PGSE/DOSY analysées avec l'algorithme DECRA en fonction de  $\Delta$  pour le mélange *MM2*. Par convention, les signaux de la L-Phénylalanine et du PEG ont la même numérotation que pour le mélange *MM1*

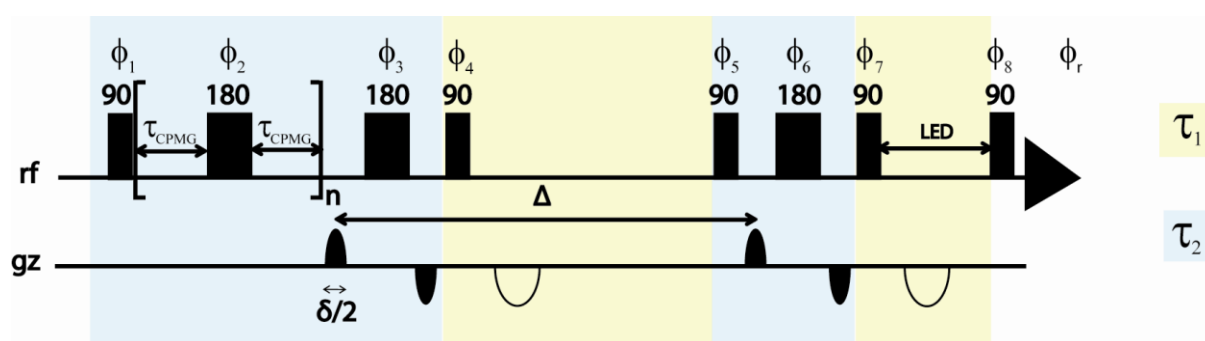
Les mesures de  $T_1$  réalisées avec deux points de mesures (100 et 1100 ms) à partir de ces expériences sont données Tableau 24.

**Tableau 24 :** Comparaison des valeurs de  $T_1$  obtenues à l'aide des spectres extraits d'expériences PGSE ( $\Delta = 100, 1100$  ms) avec les valeurs de référence mesurées par IR

#	$T_1^{\text{ref}}$ (s)	$T_1^{\text{PGSE}}$ (s)	Ecart (%)
1	0,99	0,96	<b>-3,0</b>
2	0,97	0,93	<b>-4,3</b>
4	0,73	0,71	<b>-3,1</b>
5	3,13	3,28	<b>+4,6</b>
6	3,34	3,21	<b>-3,7</b>

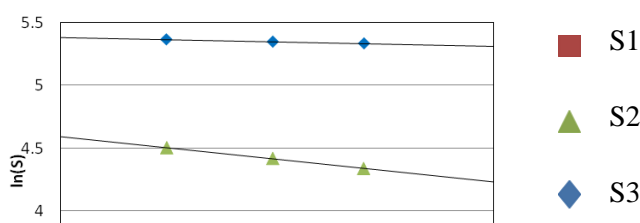
### 2.2.2. Mesure de $T_2$

Puisque les phénomènes de modulation  $J$  perturbent la mesure de  $T_2$ , une nouvelle stratégie de mesure de  $T_2$  au cours des expériences PGSE/DOSY été développée, basée sur l'utilisation d'une séquence d'impulsions qui incorpore, après la première impulsions RF  $90^\circ$ , un train d'impulsions de type CPMG (Schéma 34). L'objectif recherché est de pouvoir faire varier  $\tau_2$  en minimisant le plus possible les effets indésirables liés au couplage scalaire. Cette stratégie a déjà été utilisée dans le cadre d'expériences PGSE/DOSY pour supprimer les signaux RMN de noyaux caractérisés par des temps de relaxation  $T_2$  courts.<sup>133,134</sup>



**Schéma 34 :** Séquence d'impulsion utilisée pour les expériences PGSE. Le cyclage de phase en 16 étapes utilisé est le suivant  $\phi_1 (0)_{16}$  ;  $\phi_2 (2)_{16}$  ;  $\phi_3 (0)_{16}$  ;  $\phi_4 (0022)_4$  ;  $\phi_5 (0_4 2_4 1_4 3_4)$  ;  $\phi_6 (0)_{16}$  ;  $\phi_7 (0202 2020 1313 3131)$  ;  $\phi_8 (0_4 2_4 1_4 3_4)$  ;  $\phi_r (0220 2002 3113 1331)$ .  $\tau_1$  et  $\tau_2$  représentent respectivement les temps pendant lesquels l'aimantation est longitudinale et transversale, et LED le délai permettant de minimiser les effets des courants de Foucault

Les mesures de  $T_2$  sont réalisées en enregistrant plusieurs expériences PGSE/DOSY en faisant varier le nombre d'échos de spin ( $n$ ) pour un délai d'évolution ( $\tau_{\text{CPMG}}$ ) égal à 0,7 ms. Comme précédemment, les données PGSE/DOSY ont été traitées avec l'algorithme DECRA. Les intégrales des signaux mesurées sur chaque spectre  $^1\text{H}$  des composés séparés ont ensuite été mesurées et leur logarithme tracé en fonction de  $\tau_2$  (Figure 40).



<sup>133</sup> Becker, B. A.; Morris, K. F.; Larive, C. K., An improved method for suppressing protein background in PFG NMR experiments to determine ligand diffusion coefficients in the presence of receptor. *Journal of Magnetic Resonance* **2006**, 181, (2), 327-330.

<sup>134</sup> Chin, J. A.; Chen, A. D.; Shapiro, M. J., SPEEDY: Spin-echo enhanced diffusion filtered spectroscopy. A new tool for high resolution MAS NMR. *Journal of Combinatorial Chemistry* **2000**, 2, (3), 293-296.



× S5

✱ S6

**Figure 40 :** Evolution du logarithme des intégrales des signaux mesurées sur les spectres  $^1\text{H}$  extraits des expériences PGSE/DOSY analysées avec l'algorithme DECRA en fonction de  $\Delta$  pour le mélange *MM2*. Par convention, les signaux de la L-Phénylalanine et du PEG ont la même numérotation que pour le mélange *MM1*

**Tableau 25 :** Comparaison des mesures de  $T_2$  obtenues à l'aide des spectres extraits des expériences PGSE ( $\tau_{\text{CPMG}} = 0.7$  ms,  $n = 35, 100$ ) avec les valeurs de référence mesurées par CPMG

#	$T_2^{\text{ref}}$ (s)	$T_2^{\text{PGSE}}$ (s)	<b>Ecart</b> (%)
1	0,87	0,66	<b>-24,5</b>
2	0,87	0,47	<b>-45,8</b>
4	0,59	0,56	<b>-5,5</b>
5	2,02	0,62	<b>-69,4</b>
6	2,59	2,82	<b>+8,9</b>

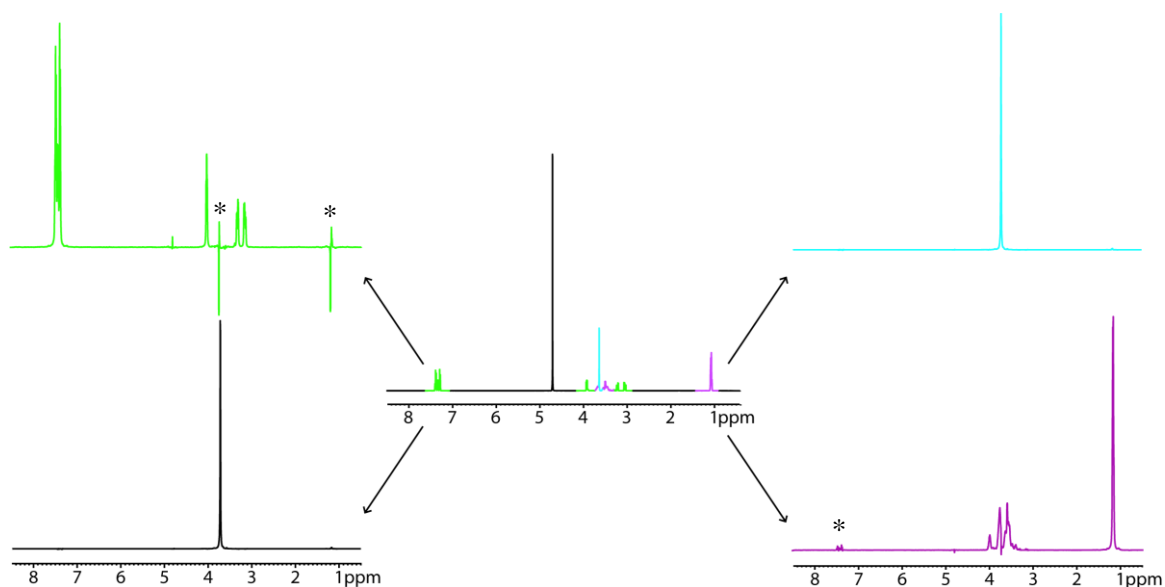
La linéarité des courbes reportées Figure 40 suggère que la séquence d'impulsions reportée Schéma 34 permet effectivement de diminuer l'influence de la modulation  $J$  sur la mesure du temps de relaxation transversale. Les valeurs de  $T_2$  peuvent donc être estimées à partir de deux points de mesures extrêmes, comme le montre le Tableau 25. On obtient ainsi avec une assez bonne précision les temps de relaxation  $T_2$  des noyaux associés aux signaux **4** et **6**, qui sont respectivement non couplé et faiblement couplé. Des erreurs importantes sont cependant observées pour les signaux : **1**, **2** et **5**, qui sont plus fortement couplés. Il est toutefois important de noter que les mesures de  $T_2$  de référence pour ces signaux (obtenus par CPMG) sont globalement de mauvaise qualité, du fait également de phénomènes de modulation  $J$ . Enfin, la justesse des temps de relaxation  $T_1$  obtenus avec la séquence illustrée Schéma 34 (utilisée avec deux valeurs de  $\Delta$  distinctes et  $n = 2$ ) est équivalente à celle exprimée à la section 2.2.1, ce qui au total valide l'utilisation de cette séquence pour la stratégie de quantification proposée dans ce manuscrit.

En conclusion, l'utilisation de l'algorithme DECRA pour traiter les données PGSE/DOSY n'influe pas sur la qualité des mesures de temps de relaxation. Cette stratégie peut donc être utilisée pour l'analyse de mélanges présentant des recouvrements spectraux.

### 3. NOUVELLE STRATEGIE DE QUANTIFICATION DES DONNEES PGSE/DOSY (PRESENCE DE RECOUVREMENTS SPECTRAUX)

#### 3.1. MELANGE ETUDIE

Dans le but de tester la méthodologie développée précédemment dans le cas d'un mélange présentant des recouvrements spectraux, un nouveau mélange modèle (noté *MM3*) a été préparé : L-phénylalanine ( $3,03 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ ), Poly(Propylène Glycol) ( $M_w=790 \text{ g mol}^{-1}$ ,  $5,19 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ) et PEG ( $M_w=10000 \text{ g mol}^{-1}$ ,  $7,85 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) dans  $D_2O$ . Le spectre  $^1H$  quantitatif du mélange ainsi que les spectres des composés séparés obtenus après traitement DECRA d'une expérience PGSE/DOSY sont donnés Figure 41.



**Figure 41 :** Spectre  $^1H$  quantitatif du mélange *MM3* et spectres des composés séparés obtenus après traitement DECRA d'une expérience PGSE. Les signaux verts, bleus, noirs et violets correspondent respectivement à la L-Phénylalanine, au PEG, à HOD et au PPG.\*artefacts

Bien que le mélange analysé présente d'importants recouvrements spectraux, notamment dans la zone 3 à 4 ppm, la Figure 41 montre que l'algorithme DECRA donne de bons résultats pour la séparation des spectres des composés. La stratégie développée précédemment peut donc être utilisée pour mesurer les temps de relaxation  $T_1$  et  $T_2$ .

### 3.2. DETERMINATION DES TEMPS DE RELAXATION MAGNETIQUE

De la même façon que précédemment, trois expériences PGSE ont été enregistrées à l'aide de la séquence illustrée Schéma 34, en faisant varier  $\Delta$  et  $n$ , dans le but de mesurer les temps de relaxation  $T_1$  et  $T_2$ . Les données sont ensuite traitées à l'aide de l'algorithme DECRA pour obtenir les spectres  $^1\text{H}$  des composés séparés. La mesure des intégrales sur chaque spectre permet ensuite de déterminer les temps de relaxation. Le Tableau 26 compare les valeurs ainsi obtenues aux mesures faites par IR et CPMG.

**Tableau 26 :** Mesures de  $T_1$  et  $T_2$  réalisées à l'aide de quatre expériences PGSE ( $\Delta = 400$  and  $500$  ms,  $n=1$ ) and ( $\Delta = 500$  ms,  $n=100$  et  $300$ ). Ces mesures sont comparées aux mesures de références réalisées par IR et CPMG

Signal ( $\delta$ ppm)	$T_1^{\text{ref}}$ (s)	$T_1^{\text{PGSE}}$ (s)	<b>Ecart</b> (%)	$T_2^{\text{ref}}$ (s)	$T_2^{\text{PGSE}}$ (s)	<b>Ecart</b> (%)
PPG(1.1)	0,72	0,75	<b>+4,3</b>	0,53	0,58	<b>+9,4</b>
L-Phe(3.2)	1,00	0,99	<b>-0,3</b>	0,93	1,02	<b>+10,0</b>
L-Phe(3.3)	0,98	0,97	<b>-0,4</b>	0,93	1,05	<b>+12,8</b>
PPG(3.3)	0,67	0,67	<b>+1,0</b>	0,42	0,47	<b>+12,9</b>
PEG(3.7)	0,76	0,79	<b>+4,1</b>	0,60	0,57	<b>-5,8</b>
L-Phe(4.1)	3,24	3,01	<b>-7,0</b>	2,14	2,62	<b>+22,5</b>
L-Phe(7.4)	3,36	3,68	<b>+9,4</b>	2,72	2,65	<b>-2,8</b>

Les valeurs du Tableau 26 peuvent être utilisées pour renormaliser les données d'une expérience PGSE/DOSY dans le but d'obtenir des intégrales quantitatives (Tableau 27). Dans ce cas précis, le spectre  $^1\text{H}$  filtré en diffusion et l'expérience PGSE/DOSY ont été enregistrés avec les mêmes paramètres d'acquisition (même gain de détecteur notamment). De cette manière, il est possible de comparer les intégrales des signaux d'un même spectre (intégrales relatives), mais également les intégrales d'un même signal d'une expérience à l'autre (intégrales absolues).

**Tableau 27 :** Comparaison des valeurs des intégrales mesurées sur les spectres des composés séparés extrait par l'algorithme DECRA d'une expérience PGSE ( $\Delta = 400$  ms,  $\delta = 2,3$  ms), avant ( $I_D$ ) et après ( $I_{D,T1/T2}$ ) renormalisation avec les temps de relaxations

Signal ( $\delta$ ppm)	$I_Q$ (u. a.)	$I_D$ (u. a.)	$I_{D,T1/T2}$ (u. a.)	<b>Ecart</b> <b>relatif</b> (%)	<b>Ecart</b> <b>absolu</b> (%)
PPG(1.1)	58,4	27,5	48,7	<b>+0,4</b>	<b>-16,5</b>

L-Phe(3.2)	9,9	5,3	8,1	<b>+1,3</b>	<b>-18,0</b>
L-Phe(3.3)	9,9*	5,3	8,2	<b>-0,8</b>	<b>-17,5</b>
PPG(3.3)	58,4*	25,1	47,7	<b>-1,8</b>	<b>-18,4</b>
PEG(3.7)	21,4*	10,2	17,6	<b>-1,3</b>	<b>-17,9</b>
L-Phe(4.1)	9,9*	7,3	8,4	<b>+2,0</b>	<b>-15,2</b>
L-Phe(7.4)	50,0	37,0	41,6	<b>+0,0</b>	<b>-16,9</b>

\* A cause des recouvrements spectraux, ces valeurs d'intégrales sont estimées en utilisant les signaux non recouverts.

Les données du Tableau 27 montrent ainsi que la justesse des intégrales relatives est excellente (de l'ordre de  $\pm 2\%$ ) En revanche, l'estimation est beaucoup moins bonne dans le cas des intégrales absolues, avec une sous-estimation globale moyenne d'environ 17 %. A première vue, cette sous-estimation pourrait provenir soit d'un problème de traitement des données (liée à l'algorithme DECRA) ou bien à une perte d'intensité réelle du signal RMN au cours de la séquence d'impulsions.

Pour tenter de comprendre ce phénomène, plusieurs expériences PGSE/DOSY ont été enregistrées sur différents mélanges contenant des polymères et des petites molécules. Les résultats ont montré que la perte de signal observée est systématique, de l'ordre de  $(17 \pm 2) \%$ , et ne provient pas de l'utilisation de la méthode DECRA. Ceci semble donc indiquer que la perte de signal observée est réelle et pourrait donc provenir de la séquence d'impulsions. En effet, celle-ci utilise des impulsions RF  $180^\circ$  qui, comme l'indique Johnson dans sa revue de 1999,<sup>47</sup> pourraient conduire à une perte de signal du fait des inhomogénéités de champ magnétique  $B_1$  (le champ magnétique d'excitation). Des expériences complémentaires sont néanmoins nécessaires pour mieux déterminer l'origine de la perte de signal observée. Ce phénomène n'est cependant pas problématique pour la renormalisation des données puisqu'il est systématique, il suffit donc d'en tenir compte lorsque l'on souhaite comparer des mesures d'intégrales absolues.

Il apparaît intéressant de comparer les résultats obtenus avec la stratégie de renormalisation développée au cours de ce chapitre à ceux obtenus avec la méthode de référence qDECRA. Une série d'expériences PGSE/DOSY a donc été enregistrée en faisant varier simultanément les paramètres  $\Delta$  et  $\tau$ , en maintenant le rapport  $\tau_1/\tau_2$  constant. Les expériences ont ensuite été traitées avec l'algorithme DECRA et le logarithme de chaque signal tracé en fonction de  $\tau_1$ , ce qui permet d'extrapoler l'intensité du signal sans relaxation (pour  $\tau_1=0$ ) à l'aide de l'ordonnée à l'origine de la droite (voir section 1.4.2). Les intégrales obtenues sont comparées à celle obtenues précédemment (Tableau 28). Il est à noter que la correction de 17 % de l'intensité des signaux mesurées sur le spectre  $^1\text{H}$  quantitatif a été effectuée pour comparer les données.

**Tableau 28** : Comparaison des valeurs des intégrales d'une expérience PGSE/DOSY ( $\Delta = 400$  ms,  $\delta = 2,3$  ms), après renormalisation avec les temps de relaxation ( $I_{D,T1/T2}$ ) et traité par qDECRA ( $I_{qDECRA}$ ) avec les intégrales issues d'un spectre  $^1\text{H}$  quantitatif ( $I_Q$ )

Signal	$I_Q$	$I_{D,T1/T2}$	<b>Ecart</b>	$I_{qDECRA}$	<b>Ecart</b>
--------	-------	---------------	--------------	--------------	--------------

( $\delta$ ppm)	(u. a.)	(u. a.)	absolu (%)	(u. a.)	absolu (%)
PPG(1.1)	48,5	48,7	+0,6	47,2	-2,6
L-Phe(3.2)	8,2	8,1	-1,2	8,2	-0,1
L-Phe(3.3)	8,2*	8,2	-0,6	8,7	+0,4
PPG(3.3)	48,5*	47,7	-1,0	48,4	+6,1
PEG(3.7)	17,8*	17,6	-1,1	17,1	-3,7
L-Phe(4.1)	8,2*	8,4	+2,2	8,2	+0,3
L-Phe(7.4)	41,5	41,6	+0,2	41,9	+0,9

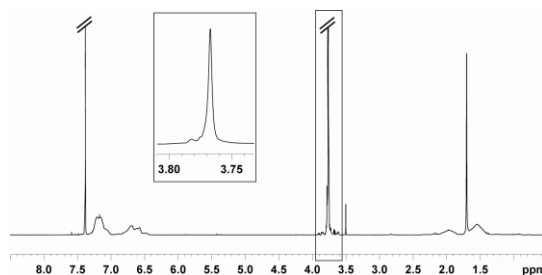
\* A cause des recouvrements spectraux, ces valeurs d'intégrales sont estimées en utilisant les signaux non recouverts.

Les données du Tableau 28 montrent que, dans l'ensemble, la justesse des intégrales obtenues par la méthode qDECRA est inférieure à celle obtenue avec la stratégie de quantification proposée dans le cadre de ces travaux de thèse. En effet, si l'on calcule la somme des écarts pris en valeur absolue pour les intégrales des différents signaux du mélange *MM3*, on obtient une valeur de 14,1 % pour la méthode qDECRA contre 6,9 % avec notre méthode, alors que le temps d'acquisition total a été réduit d'un facteur 1,6. La stratégie proposée est donc plus rapide et plus fiable que la méthode qDECRA (du moins dans le cas de ce mélange spécifique). Il semble donc à ce stade intéressant de tester son potentiel pour l'analyse d'échantillons « réels », en considérant par exemple un copolymère à blocs issu d'une synthèse par NMP.

## 4. Application à la quantification des impuretés d'un copolymère à blocs POE-*b*-PS

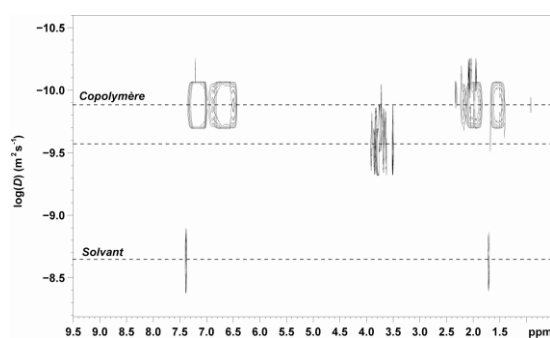
### 4.1. MÉLANGE ETUDIÉ

Dans le but de vérifier que la méthodologie développée précédemment peut être appliquée à la quantification des impuretés de synthèse d'un copolymère à blocs POE-*b*-PS, un mélange modèle *MM4* a été préparé en mélangeant dans du chloroforme deutérié un copolymère POE-*b*-PS ( $M_n^{\text{POE}}=2\ 000\ \text{g mol}^{-1}$ ,  $M_n^{\text{PS}}=17\ 000\ \text{g mol}^{-1}$ ,  $9,87\ 10^{-8}\ \text{mol L}^{-1}$ ), noté A3 au *Chapitre 2*, avec l'homopolymère POE ( $M_n^{\text{POE}}=2\ 000\ \text{g mol}^{-1}$ ,  $5,32\ 10^{-7}\ \text{mol L}^{-1}$ ) utilisé lors de la synthèse du copolymère, respectivement à des concentrations de 1,9 et 1,0 mg mL<sup>-1</sup>. Le spectre <sup>1</sup>H quantitatif du mélange est donné Figure 42.



**Figure 42 :** Spectre  $^1\text{H}$  quantitatif du mélange *MM4*

La Figure 42 permet d'observer les quatre principaux massifs du bloc PS du copolymère POE-*b*-PS A3 à : 7,2, 6,7, 2,0 et 1,6 ppm. Le signal du bloc POE est quant à lui complètement recouvert avec le signal de l'homopolymère résiduel de la synthèse à 3,7 ppm. On peut néanmoins détecter la présence de ces deux espèces en enregistrant une expérience PGSE/DOSY sur cet échantillon (Figure 43).

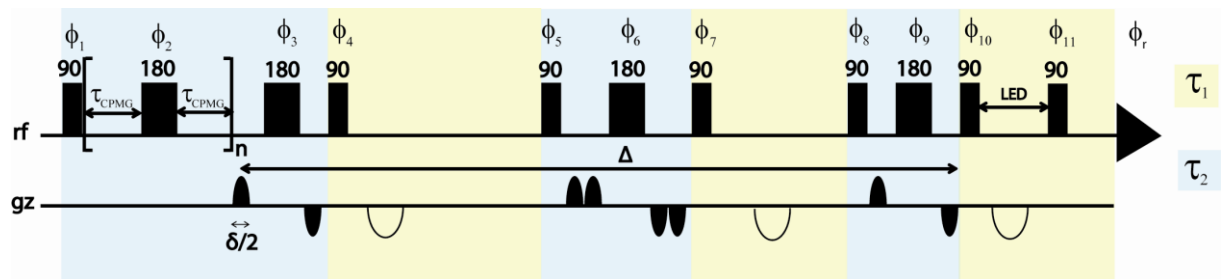


**Figure 43 :** Spectre  $^1\text{H}$  DOSY du *MM4*

La carte DOSY de la Figure 43 met en évidence que la tache de corrélation des signaux du POE à 3,7 ppm est caractérisée par une valeur de coefficient de diffusion supérieure à celle du copolymère. Comme décrit dans la littérature,<sup>47</sup> les signaux présentant des recouvrements spectraux ne donnent lieu qu'à une seule tache de corrélation sur la carte DOSY lorsque celle-ci est obtenue par un simple ajustement mono-exponentiel. Dans le cas présent, le fait que la tache associée au signal POE ne soit pas sur la même horizontale que celle des taches associées aux signaux PS traduit la présence de l'homopolymère POE résiduel (de taille inférieure). L'objectif ici est de quantifier l'homopolymère résiduel, la méthode développée précédemment a donc été appliquée à ce mélange.

## 4.2. MESURE DES TEMPS DE RELAXATION

Le mélange étudié ici est dissous dans le chloroforme qui est un solvant peu visqueux. De ce fait, une séquence anti-convection a dû être utilisée (Schéma 35). Cette séquence est basée sur celle proposée par Jerschow et Müller, et utilise un double écho stimulé dans le but de compenser les phénomènes de transport cohérent dus à la convection à l'intérieur du tube RMN.<sup>58</sup> Comme précédemment, un train d'impulsions RF 180° de type CPMG a été ajouté au début de la séquence pour permettre d'estimer  $T_2$  en minimisant la modulation  $J$ .

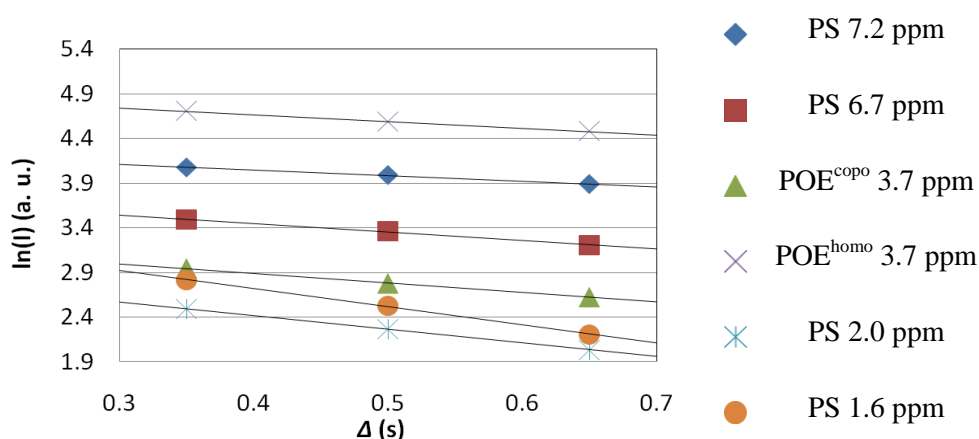


**Schéma 35** : Séquence d'impulsion anti-convection utilisée pour les expériences PGSE. Le cyclage de phase en 16 étapes utilisé est le suivant  $\phi_1$  (0011 2233)<sub>4</sub> ;  $\phi_2$  (1122 3300)<sub>4</sub> ;  $\phi_3$  (1223 3001)<sub>4</sub> ;  $\phi_4$  (0)<sub>32</sub> ;  $\phi_5$  (2233)<sub>8</sub> ;  $\phi_6$  (3300 3300 0011 0011)<sub>2</sub> ;  $\phi_7$  (2)<sub>32</sub> ;  $\phi_8$  (0)<sub>32</sub> ;  $\phi_9$  (0<sub>16</sub>2<sub>16</sub>) ;  $\phi_{10}$  (0)<sub>32</sub> ;  $\phi_{11}$  (1122 3300)<sub>8</sub> ;  $\phi_r$  (0202 2020 2020 0202)<sub>2</sub>.  $\tau_1$  et  $\tau_2$  représentent respectivement les temps pendant lesquels l'aimantation est longitudinale et transversale, et LED le délai permettant de minimiser les effets des courants de Foucault

Pour cette séquence d'impulsions, l'intensité du signal RMN s'écrit :

$$I = \frac{I_0}{2} e^{-\frac{\tau_1}{T_1} - \frac{\tau_2}{T_2}} e^{-D(\gamma\delta g)^2 \left(\Delta - \frac{\delta}{4} - \tau\right)} \quad \text{Eq. 83}$$

Les temps de relaxation  $T_1$  et  $T_2$  ont ensuite été mesurés en faisant varier  $\Delta$  et  $n$ . Pour s'assurer de la linéarité des données avec cette nouvelle séquence, plusieurs expériences ont été enregistrées en faisant varier  $\Delta$  de 350 à 650 ms. Les spectres des composés séparés ont été obtenus à l'aide de l'algorithme DECRA, et le logarithme de l'intensité des signaux a été reporté en fonction de  $\Delta$  (Figure 44).



**Figure 44 :** Logarithme des intégrales des signaux mesurées sur les spectres  $^1\text{H}$  extraits des expériences PGSE/DOSY analysées avec l'algorithme DECRA en fonction de  $\Delta$

La Figure 44 montre que le logarithme des intégrales mesurées sur les spectres  $^1\text{H}$  extraits des expériences PGSE enregistrées avec la séquence anti-convection présentent une bonne linéarité. On peut donc estimer  $T_1$  en utilisant deux points de mesure (Tableau 29).

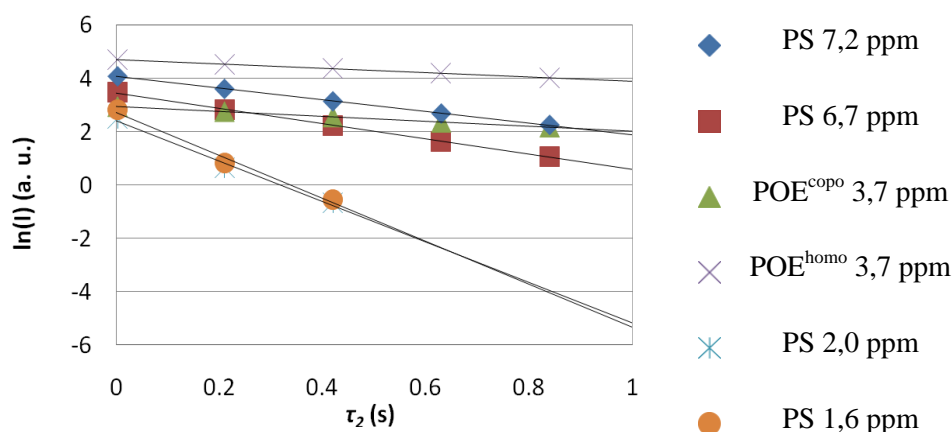
**Tableau 29 :** Mesures de  $T_1$  des signaux du mélange *MM4* (obtenues avec un délai  $\Delta$  de 350 et 650 ms)

#	$T_1^{\text{PGSE}}$ (s)
PS 7,2 ppm	1,59
PS 6,7 ppm	1,06
POE <sup>copo</sup> 3,7 ppm	0,94
POE <sup>homo</sup> 3,7 ppm	1,32
PS 2,0 ppm	0,66
PS 1,6 ppm	0,49

De la même manière, plusieurs expériences ont été enregistrées en faisant varier  $n$  de 2 à 600 (pour un délai  $\tau_{\text{CPMG}}$  de 0,7 ms). Les spectres des composés séparés ont été obtenus à l'aide de l'algorithme DECRA, et le logarithme de l'intensité des signaux a été reporté en fonction de  $\tau_2$  (Figure 45).

La Figure 45 montre que le logarithme des intégrales mesurées sur les spectres  $^1\text{H}$  extraits des expériences PGSE enregistrées avec la séquence anti-convection présentent une bonne linéarité. On peut donc également estimer  $T_2$  en utilisant deux points de mesure (Tableau 30).





**Figure 45** : Logarithme de l'intégrale des signaux mesurés sur les spectres  $^1\text{H}$  extrait par l'algorithme DECRA des expériences PGSE en fonction de  $\tau_2$

**Tableau 30** : Mesures de  $T_2$  des signaux du mélange *MM4*

#	$T_2^{\text{PGSE}}$ (s)
PS 7,2 ppm	0,46
PS 6,7 ppm	0,35
POE <sup>copo</sup> 3,7 ppm	1,09
POE <sup>homo</sup> 3,7 ppm	1,24
PS 2,0 ppm	0,13
PS 1,6 ppm	0,12

On peut noter que les valeurs des temps de relaxation des signaux du groupe PS sont assez faibles : on ne peut donc pas négliger la relaxation transversale lors de la renormalisation des signaux.

Finalement, les intégrales des signaux du mélange *MM4* mesurés sur les spectres  $^1\text{H}$  extrait par DECRA d'une expérience PGSE/DOSY ont été renormalisés à l'aide des temps de relaxation mesurés précédemment. Les intégrales sont ensuite comparées aux valeurs d'un spectre  $^1\text{H}$  quantitatif (Tableau 31).

**Tableau 31** : Renormalisation des intégrales des signaux du mélange *MM4*. Le signal à 7,2 ppm du PS est utilisé comme référence pour comparer les intégrales

#	$I_Q$ (u. a.)	$I_D$ (u. a.)	$I_{D,T1/T2}$ (u. a.)	<b>Ecart Absolu (%)</b>
PS 7,2 ppm	79,8	58,9	79,8	<b>+0,0</b>
PS 6,7 ppm	52,4	32,7	50,8	<b>-3,0</b>
POE <sup>copo</sup> 3,7 ppm	174,6*	19,0	28,9	<b>+2,0*</b>
POE <sup>homo</sup> 3,7 ppm		110,0	149,1	
PS 2,0 ppm	25,7	12,0	27,0	<b>+4,9</b>
PS 1,6 ppm	50,4	16,7	48,9	<b>-3,0</b>

\* Les signaux POE de l'homopolymère et du copolymère sont confondus sur le spectre proton quantitatif, l'erreur est donc calculée en comparant l'intégrale quantitative à la somme des deux signaux POE renormalisés.

Le Tableau 31 met en évidence que la stratégie développée précédemment permet d'obtenir des intégrales quantitatives avec une erreur de  $\pm 5\%$  pour l'ensemble des signaux du bloc PS. La somme des intégrales des deux signaux de POE est également quantitative mais ne permet pas d'affirmer que l'intégrale de chaque signal POE est bien proportionnelle à la quantité de polymère en mélange. Pour vérifier cela le rapport d'intégrale entre ces deux signaux peut être calculé (Eq. 84).

$$\frac{I^{POE^{hom o}}}{I^{POE^{copo}}} = 5,16 \quad \text{Eq. 84}$$

Etant donné que l'homopolymère POE utilisé pour préparer le mélange *MM4* est le précurseur du copolymère à blocs POE-*b*-PS, le bloc POE du copolymère comporte exactement le même nombre d'unités. Le rapport d'intégrales (Eq. 85) est alors égal au rapport entre les concentrations molaires des deux polymères. Connaissant les concentrations molaires de ces deux composés, il est possible de calculer le rapport des concentrations théorique, égal à :

$$\frac{C^{POE^{hom o}}}{C^{POE^{copo}}} = 5,39 \quad \text{Eq. 85}$$

Soit une sous estimation d'environ 4% du rapport des concentrations. Ainsi, malgré le recouvrement total des signaux des deux polymères analysés, la stratégie que nous avons développée permet de quantifier précisément les impuretés résiduelles de synthèse dans l'échantillon de copolymère à blocs analysé.

## 5. CONCLUSION

Une nouvelle méthode de quantification des données PGSE/DOSY a été proposée. Celle-ci se base sur la renormalisation des intégrales d'une expérience PGSE/DOSY analysée avec DECRA, grâce aux temps de relaxation  $T_1$  et  $T_2$  des différents noyaux estimés en enregistrant trois expériences distinctes avec une séquence d'impulsions spécifique. Cette séquence étant moins sensible au phénomène de modulation  $J$ , la justesse des intégrales obtenues avec cette nouvelle stratégie est meilleure que celle typiquement obtenue avec la méthode qDECRA. Par ailleurs, il a été mis en évidence que la relaxation transversale influe peu sur l'intensité des signaux pour la séquence d'impulsions utilisée, ce qui permet de la négliger lorsque le mélange ne comporte que des composés de taille moyenne, réduisant ainsi le nombre d'expériences nécessaires pour la quantification. L'estimation de  $T_2$  reste cependant nécessaire pour les molécules de plus grande taille comme les

polymères. L'application de cette méthodologie a été validée en analysant une solution modèle de copolymère à bloc non purifiée (présence du macroinitiateur). L'ensemble de ces travaux fait actuellement l'objet d'une publication en cours de rédaction ainsi que de communications scientifiques (*Annexe 5*).

Ce chapitre a par ailleurs mis en évidence la difficulté de mesurer avec précision les temps de relaxation  $T_2$  pour des systèmes de spins nucléaires couplés. Le chapitre suivant se focalise donc plus spécifiquement sur ce problème, en proposant une solution originale dans le cas des systèmes à deux spins.

---

***Chapitre 6 : Mesure de  $T_2$  dans les systèmes de deux spins  
couplés***

---

Le Chapitre 5 a montré que la mesure du temps de relaxation transversale  $T_2$  pouvait présenter des difficultés lorsque les noyaux analysés étaient magnétiquement couplés (couplage scalaire  $J$ ). En effet, dans ce cas, l'évolution de l'intensité du signal RMN mesuré dans une séquence d'impulsions d'écho de spin devient une fonction complexe combinant une décroissance exponentielle avec une oscillation. Ce phénomène est communément désigné dans la littérature par le terme de modulation  $J$ . Ce chapitre a pour objectif de présenter une méthodologie visant à éliminer cette modulation, en s'intéressant dans un premier temps au cas spécifique des systèmes à deux spins couplés. Ainsi, la première partie de ce chapitre présentera très succinctement les méthodes actuellement disponibles pour contrer cette difficulté et la seconde décrira la méthodologie proposée en abordant successivement les aspects théorique et expérimental.

## 1. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Comme indiqué au chapitre précédent, la séquence d'impulsions généralement utilisée pour mesurer le temps de relaxation transversale  $T_2$  est la CPMG. Initialement introduite par Carr et Purcell dès 1954,<sup>1</sup> puis modifiée par Meiboom et Gill en 1958,<sup>2</sup> la CPMG consiste à répéter un grand nombre d'échos de spin successifs selon la séquence d'impulsions :  $90^\circ - [\tau_{\text{CPMG}} - 180^\circ - \tau_{\text{CPMG}}]_{2n} - \text{ACQ}$ , où ACQ fait référence à l'étape de détection du signal RMN (voir Schéma 33b, p 141). La CPMG se distingue ainsi du simple écho de Hahn,<sup>3</sup> dont la séquence est de type :  $90^\circ - \tau - 180^\circ - \tau - \text{ACQ}$ .

Pour les systèmes de spins non couplés, la séquence CPMG présente l'avantage par rapport à l'écho de Hahn d'aboutir à des mesures de temps de relaxation  $T_2$  qui sont moins sensibles aux effets de la diffusion moléculaire. En effet, lorsque le champ magnétique statique  $B_0$  n'est pas parfaitement homogène, il existe au niveau de l'échantillon analysé un gradient de champ magnétique  $\Delta B_0$  qui peut conduire à une perte d'intensité du signal mesuré à l'écho du fait de la mobilité moléculaire translationnelle. Cette atténuation supplémentaire du signal peut ainsi fausser les mesures de  $T_2$ . Dans

---

<sup>1</sup> Carr, H. Y.; Purcell, E. M., Effects of Diffusion on Free Precession in Nuclear Magnetic Resonance Experiments. *Physical Review* **1954**, 94, (3), 630-638.

<sup>2</sup> Meiboom, S.; Gill, D., Modified Spin-Echo Method for Measuring Nuclear Relaxation Times. *Review of Scientific Instruments* **1958**, 29, (8), 688-691.

<sup>3</sup> Hahn, E. L., Spin echoes. *Physical Review* **1950**, 80, (4), 580-594.

la CPMG, compte tenu du fait que  $\tau_{\text{CPMG}} \ll \tau$ , cet effet est beaucoup moins marqué voire même négligeable, notamment pour des valeurs de  $n$  élevées.<sup>1</sup>

Pour les systèmes de spins couplés, il a été montré que la modulation  $J$  peut être supprimée lorsque le taux de répétition des impulsions RF  $180^\circ$  (défini selon :  $\nu_{\text{rep}} \cong 1 / [ 2 \times \tau_{\text{CPMG}} ]$ ) est très supérieur à la différence de fréquence entre les noyaux couplés.<sup>2</sup> Cependant, cette condition n'est pas toujours aisée à mettre en œuvre expérimentalement. Par ailleurs, il apparaît nécessaire de rappeler la distinction entre le couplage scalaire faible et le couplage scalaire fort pour un système à deux spins. Le couplage scalaire faible s'observe lorsque la différence entre les déplacements chimiques des deux noyaux couplés (exprimée en Hz) est beaucoup plus grande que leur constante de couplage scalaire  $J$ . On parle alors d'un système de spins AX (autrement dit :  $|\nu_A - \nu_X| \gg J_{\text{AX}}$ ). Au contraire, lorsque la différence de fréquence est de l'ordre de la constante de couplage, le couplage scalaire observé est fort et on parle alors d'un système de spins AB (autrement dit :  $|\nu_A - \nu_B| \approx J_{\text{AB}}$ ). La constante de couplage  $J$  dépend de plusieurs paramètres mais elle est totalement indépendante du champ magnétique statique  $B_0$ . Au contraire, les fréquences de Larmor sont directement proportionnelles à  $B_0$ . Cela signifie qu'un même système de spins peut apparaître en situation de couplage fort ou faible selon la valeur du champ dans lequel le spectre RMN est enregistré. Avec le développement d'aimants supraconducteurs de plus en plus intenses, les noyaux se retrouvent de plus en plus souvent en situation de couplage faible, notamment pour les molécules enrichies en carbone  $^{13}\text{C}$  ou azote  $^{15}\text{N}$ . Néanmoins, le couplage fort reste significatif en RMN  $^1\text{H}$  et doit donc généralement être envisagé.

Pour s'affranchir des complications liées à la modulation  $J$ , l'une des possibilités consiste à enregistrer des spectres en condition de découplage homonucléaire. Cela signifie que seuls les déplacements chimiques sont observables dans le spectre RMN  $^1\text{H}$  (la multiplicité des signaux liée au couplage scalaire a disparu). Plusieurs méthodologies sont disponibles pour atteindre cet objectif,<sup>3</sup> notamment celle proposée par l'équipe du Pr. Canet.<sup>4</sup> Néanmoins, bien qu'il ait été montré que cette stratégie donne d'excellents résultats pour les mesures de temps de relaxation  $T_1$ , elle ne permet pas d'obtenir de mesures fiables de  $T_2$ , du fait notamment des imperfections des impulsions et des constantes de couplage à longue distance.

---

<sup>1</sup> Zheng, G.; Price, W. S., Suppression of background gradients in (B-0 gradient-based) NMR diffusion experiments. *Concepts in Magnetic Resonance Part A* **2007**, 30A, (5), 261-277.

<sup>2</sup> .Baishya, B.; Segawa, T. F.; Bodenhausen, G., Apparent Transverse Relaxation Rates in Systems with Scalar-Coupled Protons. *Journal of the American Chemical Society* **2009**, 131, (48), 17538-17539.

<sup>3</sup> .Pell, A. J.; Edden, R. A. E.; Keeler, J., Broadband proton-decoupled proton spectra. *Magnetic Resonance in Chemistry* **2007**, 45, (4), 296-316.

<sup>4</sup> Guenneau, F.; Mutzenhardt, P.; Grandclaude, D.; Canet, D., Measurement of longitudinal and rotating frame relaxation times through fully J-decoupled homonuclear spectra. *Journal of Magnetic Resonance* **1999**, 140, (1), 250-258.

Plus récemment, une nouvelle méthodologie basée sur l'utilisation de la séquence CPMG a été proposée par l'équipe du Pr. Bodenhausen. Cette stratégie consiste à optimiser les paramètres d'acquisition d'une expérience CPMG pour trouver des conditions d'échantillonnage du délai d'évolution ( $\tau_{\text{CPMG}}$ ) pour lesquelles le système de spins analysé se trouve en situation de découplage. De manière plus spécifique, la méthode consiste à placer l'un des noyaux du système de spins considéré en résonance puis d'optimiser l'échantillonnage des valeurs de  $\tau_{\text{CPMG}}$  en utilisant des impulsions RF  $180^\circ$  de faible puissance. Cette méthode a ainsi été appliquée à de nombreux systèmes.<sup>1,2,3,4</sup> Cependant, son optimisation demeure relativement complexe et est directement fonction du système de spins analysé. Cela signifie qu'une expérience donnée ne permet de mesurer le temps de relaxation  $T_2$  que d'un seul noyau à la fois. De plus, l'impact du couplage scalaire fort ne semble pas avoir été véritablement traité.

L'objectif de la section suivante est donc de proposer une méthode alternative qui permette de mesurer en une seule expérience les temps de relaxation  $T_2$  de l'ensemble des noyaux d'une molécule. Cette section se focalise sur un système à deux spins couplés en envisageant successivement le cas d'un couplage faible puis d'un couplage fort.

## 2. MESURE DU TEMPS DE RELAXATION TRANSVERSALE DE SYSTEMES A DEUX SPINS COUPLES

L'approche adoptée pour mesurer précisément le temps de relaxation transversale  $T_2$  dans les systèmes couplés repose sur l'utilisation d'une séquence d'impulsions spécifique décrite dans la section suivante.

---

<sup>1</sup> Segawa, T. F.; Aeby, N.; Bodenhausen, G., Apparent transverse relaxation rates in systems with coupled carbon-13 spins. *Physical Chemistry Chemical Physics* **12**, **2010** (33), 9772-9776.

<sup>2</sup> Dittmer, J.; Bodenhausen, G., Quenching echo modulations in NMR spectroscopy. *Chemphyschem* **2006**, **7**, (4), 831-836.

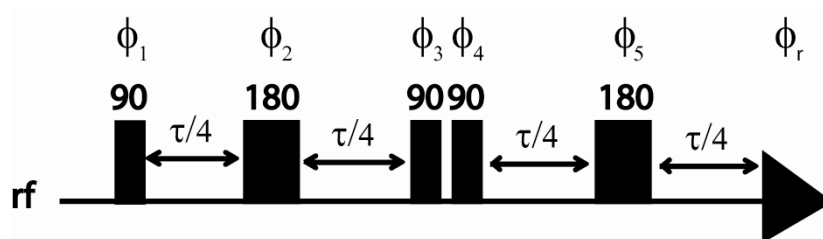
<sup>3</sup> Aeby, N.; Bodenhausen, G., Determination of transverse relaxation rates of individual spins while quenching echo modulations due to homonuclear scalar couplings. *Chemical Physics Letters* **2008**, **463**, (4-6), 418-421.

<sup>4</sup> Segawa, T. F.; Baishya, B.; Bodenhausen, G., Transverse Relaxation of Scalar-Coupled Protons. *Chemphyschem* **2010**, **11**, (15), 3343-3354.

## 2.1. THEORIE

Dans le cas d'un système de deux spins couplés, l'ensemble des populations de spin peut se répartir sur seize états d'aimantations, au gré des impulsions et des délais d'évolution appliqués au système en fonction des interactions magnétiques considérées (déplacement chimique et/ou couplage scalaire). Les séquences d'impulsions en RMN sont construites de manière à extraire des informations précises sur le système de spins étudié, en sélectionnant notamment des chemins particuliers entre ces cohérences au fil de la séquence. Les principales méthodes pour sélectionner ces chemins de cohérences consistent à modifier la phase des impulsions ou à utiliser des gradients de champ magnétique.

La séquence d'impulsions proposée pour éliminer la modulation  $J$  lors des mesures de  $T_2$  est une séquence multi-quanta filtrée reportée Schéma 36.



**Schéma 36 :** Séquence d'impulsions multi-quanta filtrée utilisée pour les mesures de  $T_2$  dans les systèmes à deux spins couplés

Cette séquence consiste en une impulsion RF  $90^\circ$  initiale suivie de deux échos de spins distincts, séparés par deux impulsions RF  $90^\circ$ . Chaque écho de spin est constitué de deux périodes d'évolution successives (d'une durée  $\tau/4$ ) séparées par une impulsion RF  $180^\circ$ . La durée totale d'évolution est donc égale à  $\tau$ . Les deux impulsions RF  $90^\circ$  centrales permettent de filtrer alternativement les cohérences à zéro quantum (ZQ) et à deux quanta (DQ), à l'aide d'un cyclage de phase multiplex.<sup>1</sup> Ce cyclage de phase en quatre étapes est donné Tableau 32.

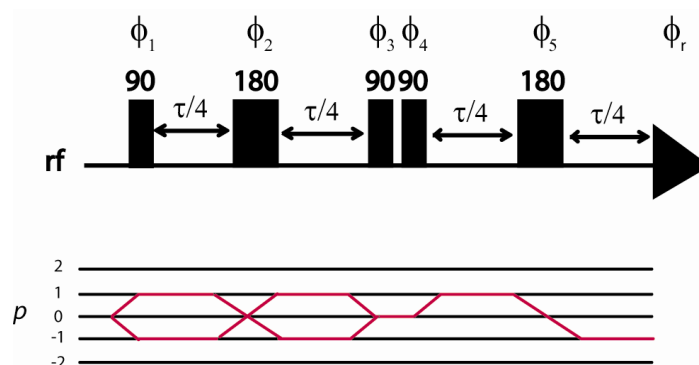
<sup>1</sup> Bodenhausen, G.; Kogler, H.; Ernst, R. R., Selection of Coherence-Transfer Pathways in Nmr Pulse Experiments. *Journal of Magnetic Resonance* **1984**, 58, (3), 370-388.



**Tableau 32 :** Cyclages de phase de la séquence multi-quanta filtrée. La phase du récepteur est notée respectivement  $\phi_{rDQ}$  et  $\phi_{rZQ}$  pour l'enregistrement du signal filtré à double quanta et à zéro quantum. Les phases à  $0^\circ$ ,  $90^\circ$ ,  $180^\circ$  et  $270^\circ$  sont notées par convention 0, 1, 2 et 3

$\phi_1$	1
$\phi_2$	0
$\phi_3$	1
$\phi_4$	0123
$\phi_5$	0
$\phi_{rZQ}$	0321
$\phi_{rDQ}$	0123

Le cyclage de phase proposé Tableau 32 consiste uniquement à faire varier la phase de la quatrième impulsion ( $\phi_4$ ). En effet, si on s'intéresse au diagramme de cohérence associé à cette séquence pour le filtre des cohérences à zéro-quantum (Schéma 37), la quatrième impulsion ne doit laisser passer que les variations de cohérence  $\Delta p = p_2 - p_1 = +1$ , où  $p_2$  et  $p_1$  sont respectivement les ordres de cohérence avant et après l'impulsion de phase  $\phi_4$ .



**Schéma 37 :** Diagramme de cohérence de la séquence présentée Schéma 36 pour le filtre des cohérences à zéro-quantum

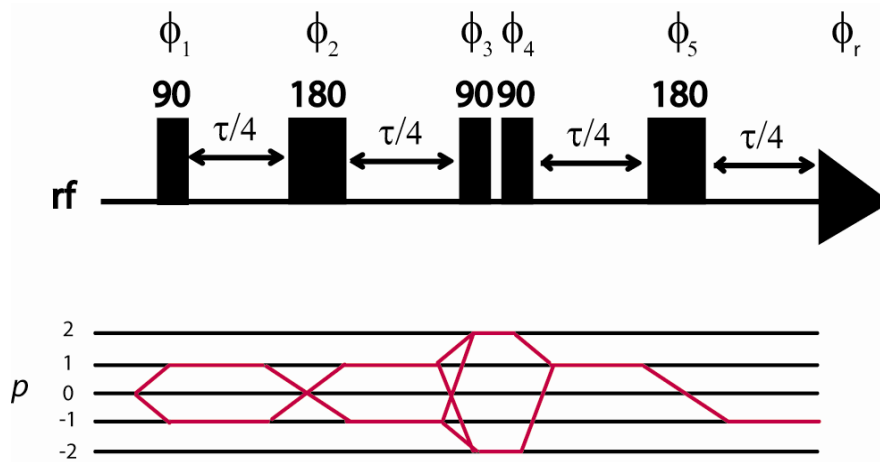
Le calcul de la phase du récepteur permettant de sélectionner le chemin de cohérence présenté Schéma 37 peut s'effectuer suivant la méthode proposée par Keeler dans son ouvrage.<sup>1</sup> Une impulsion qui produit une variation d'ordre de cohérence  $\Delta p$  dont la phase est cyclée suivant  $\Delta\phi$  engendre un déphasage de  $-\Delta p \Delta\phi$  de cette même cohérence. Sélectionner ce chemin de cohérence revient alors à faire varier la phase du récepteur suivant ce déphasage. Ainsi, le détail du calcul de la phase du récepteur utilisée pour filtrer les cohérences à zéro-quantum lorsque l'on cycle la quatrième impulsion en quatre étapes est donné Tableau 33.

<sup>1</sup>.Keeler, J., *Understanding NMR Spectroscopy*. Wiley: Chippenham, 2005;

**Tableau 33** : Calcul de la phase du récepteur  $\phi_{rZQ}$  utilisée pour filtrer les cohérences à zéro-quantum. Les phases à  $0^\circ$ ,  $90^\circ$ ,  $180^\circ$  et  $270^\circ$  sont notées par convention 0, 1, 2 et 3

$\phi_4$	$-\Delta p$	$\Delta\phi$	$\phi_{rZQ}$
0	0	0	0
1	-1	3	
2	-2	2	
3	-3	1	

De la même façon, le diagramme de cohérence associé à cette séquence pour le filtre des cohérences à deux-quanta (Schéma 38) indique que la quatrième impulsion ne doit laisser passer que les variations de cohérence  $\Delta p = -1$  ou  $+3$ .



**Schéma 38** : Diagramme de cohérence de la séquence présentée Schéma 36 pour le filtre des cohérences à deux-quanta

Le détail du calcul de la phase du récepteur utilisée pour filtrer les cohérences à deux-quanta lorsque l'on cycle la quatrième impulsion en quatre étapes est donné Tableau 34.

**Tableau 34** : Calcul de la phase du récepteur  $\phi_{rDQ}$  utilisée pour filtrer les cohérences à deux-quanta. Les phases à  $0^\circ$ ,  $90^\circ$ ,  $180^\circ$  et  $270^\circ$  sont notées par convention 0, 1, 2 et 3

$\phi_4$	$-\Delta p$	$\Delta\phi$	$\phi_{rDQ}$
0	0	0	0
1	1	1	
2	2	2	
3	3	3	

Le cyclage de phase proposé peut également être amélioré en ajoutant un cyclage de phase des impulsions RF  $180^\circ$  de type EXORCYCLE,<sup>147</sup> en quatre étapes, pour obtenir le cyclage de phase en soixante quatre étapes utilisé (Tableau 35).

**Tableau 35** : Cyclage de phase de la séquence multi-quanta filtrée en soixante quatre étapes utilisé. La phase du récepteur est notée respectivement  $\phi_{rDQ}$  et  $\phi_{rZQ}$  pour l'enregistrement du signal filtré à double quanta et à zéro quantum. Les phases à  $0^\circ$ ,  $90^\circ$ ,  $180^\circ$  et  $270^\circ$  sont notées par convention 0, 1, 2 et 3

$\phi_1$	1
$\phi_2$	0123
$\phi_3$	1
$\phi_4$	$0_4 1_4 2_4 3_4$
$\phi_5$	$0_{16} 1_{16} 2_{16} 3_{16}$
$\phi_{rZQ}$	(0202 3131 2020 1313 2020 1313 0202 3131) <sub>2</sub>
$\phi_{rDQ}$	(0202 1313 2020 3131 2020 3131 0202 1313) <sub>2</sub>

L'analyse de la séquence par la théorie des opérateurs produit permet de déterminer l'équation qui régit le signal RMN. Deux cas peuvent alors se présenter, selon que le couplage scalaire est faible ou fort.

### 2.1.1. Cas du couplage scalaire faible

Dans le cas d'un système de deux noyaux couplés AX (pour lequel :  $|v_A - v_X| \gg J_{AX}$ ), l'expression des signaux RMN  $S_{ZQ}(\tau)$  et  $S_{DQ}(\tau)$ , issus de la séquence précédente avec un cyclage de phase filtrant respectivement les cohérences zéro-quantum ou double-quanta, peut s'écrire selon :

$$S_{ZQ}(\tau) = \cos^2\left(\pi J_{AX} \frac{\tau}{2}\right) e^{-\tau/T_2^{ZQ}} \quad \text{Eq. 86}$$

$$S_{DQ}(\tau) = \sin^2\left(\pi J_{AX} \frac{\tau}{2}\right) e^{-\tau/T_2^{DQ}} \quad \text{Eq. 87}$$

où  $T_2^{ZQ}$  et  $T_2^{DQ}$  sont les temps de relaxation transversale respectivement des signaux filtrés ZQ et DQ. Dans le cas où  $T_2^{ZQ}$  et  $T_2^{DQ}$  sont égaux, on peut alors combiner avantageusement ces deux expressions selon :

$$S_{DQ} + S_{ZQ}(\tau) = e^{-\tau/T_2} \quad \text{Eq. 88}$$

ce qui élimine la modulation  $J$  et ne laisse que l'atténuation du signal liée à la relaxation  $T_2$ .

Pour s'assurer que les temps de relaxation magnétique transversale sont identiques pour les expériences filtrées ZQ et DQ, des simulations numériques ont été mises en œuvre pour analyser l'évolution des spins nucléaires au cours de l'expérience. Cette évolution se fait sous l'influence d'interactions cohérentes, c'est-à-dire identiques pour tous les spins, et incohérentes. L'influence

simultanée de ces différentes interactions peut être étudiée à l'aide de l'équation de Liouville-Von Neumann :

$$\frac{d}{dt}\rho = -i[H_{coh}, \rho] + \hat{\Gamma}\rho \quad \text{Eq. 89}$$

où  $\rho$  est l'opérateur densité de spin,  $H_{coh}$  l'opérateur Hamiltonien qui représente les interactions cohérentes (impulsions, déplacement chimique et couplage scalaire) et  $\hat{\Gamma}$  le superopérateur de relaxation. L'équation Eq 89 est valide tant que l'intensité des interactions incohérentes (phénomènes de relaxation) est suffisamment faible devant l'inverse de leur temps de corrélation (limite de Redfield). Les mécanismes de relaxation transversale peuvent alors être modélisés selon le modèle des champs aléatoires fluctuants pour deux spins couplés.<sup>1</sup> Le superopérateur de relaxation utilisé s'exprime selon :

$$\hat{\Gamma} = \hat{\Gamma}^A + \hat{\Gamma}^X + \hat{\Gamma}^{AX} \quad \text{Eq. 90}$$

où  $\hat{\Gamma}^A$  et  $\hat{\Gamma}^X$  représentent respectivement la relaxation des noyaux A et X, selon :

$$\hat{\Gamma}^{x=A,X} = -(\gamma_H \sigma_x)^2 \tau_c \hat{T}_{10}^x \hat{T}_{10}^x \quad \text{Eq. 91}$$

où  $\gamma_H$  est le rapport gyromagnétique du proton,  $\sigma_x$  le champ magnétique aléatoire généré par le spin  $x$ ,  $\tau_c$  le temps de corrélation et  $\hat{T}_{\lambda\mu}^x$  l'opérateur tenseur sphérique de rang  $\lambda$  et de composante  $\mu$ . Le terme de corrélation croisée  $\hat{\Gamma}^{AX}$  s'exprime quant à lui selon :

$$\hat{\Gamma}^{AX} = -\gamma_H^2 \sigma_A \sigma_X \chi_{AX} \tau_c \left( \hat{T}_{10}^A \hat{T}_{10}^X + \hat{T}_{10}^X \hat{T}_{10}^A \right) \quad \text{Eq. 92}$$

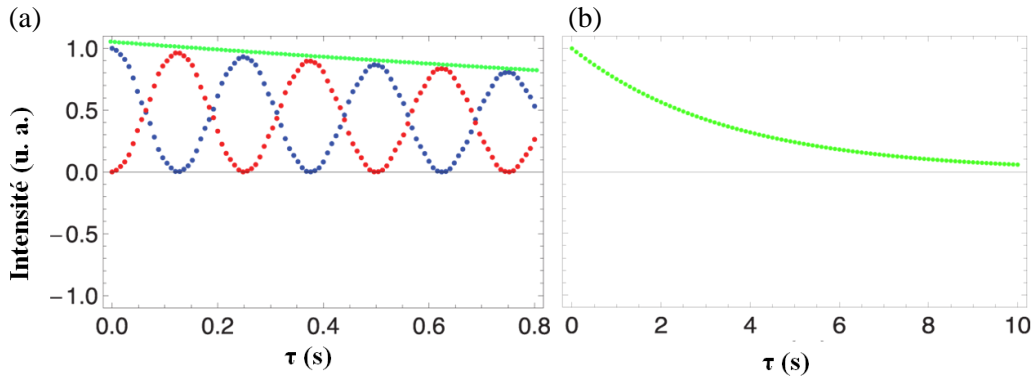
où  $\chi_{AX}$  représente le coefficient de corrélation croisée des champ magnétiques aléatoires des noyaux A et X. Les simulations ont été réalisées pour un système à deux spins typique, dont les caractéristiques sont données Tableau 36, à l'aide du logiciel Mathematica 7.0 et des routines mPackages développées par le Pr. Levitt.<sup>2</sup> L'évolution des signaux  $S_{ZQ}(\tau)$  et  $S_{DQ}(\tau)$  en fonction du temps  $\tau$  ainsi obtenue est donnée Figure 46.

1 Abragam, A., *The Principles of Nuclear Magnetism*. Oxford University Press: 1961;

2 <http://www.spindynamica.soton.ac.uk>

**Tableau 36** : Paramètres utilisés pour les simulations numériques du signal RMN en présence de relaxation magnétique

Paramètres		Valeur
$\delta_A^{\text{iso}}, \delta_X^{\text{iso}}$	Déplacements chimiques isotropes	-0,5 ppm, +0,5 ppm
$J_{AX}$	Constante de couplage isotrope	8 Hz
$B_0$	Champ magnétique statique	9,4 T
$\tau_c$	Temps de corrélation	100 ps
$\sigma_A, \sigma_X$	Champs magnétique aléatoire	$2 \cdot 10^{-4}$ T, $2 \cdot 10^{-4}$ T
$\chi_{AX}$	Coefficient de corrélation croisée	0,5



**Figure 46** : (a) Evolutions en fonction de  $\tau$  des signaux  $S_{ZQ}(\tau)$  et  $S_{DQ}(\tau)$ , respectivement en bleu et rouge, obtenues par simulation numérique en utilisant le logiciel Mathematica avec les routines mPackages. La somme de ces deux courbes, correspondant au signal  $S_{ZQ}(\tau) + S_{DQ}(\tau)$ , est représentée par la courbe verte. (b) L'évolution du signal  $S_{ZQ}(\tau) + S_{DQ}(\tau)$  est décrite sur une plus grande gamme de valeurs de  $\tau$

La Figure 46 montre que la somme des signaux  $S_{ZQ}(\tau)$  et  $S_{DQ}(\tau)$ , représentée par la courbe verte, est une mono-exponentielle décroissante. L'équation 88 est donc bien vérifiée, ce qui prouve que les paramètres de relaxation  $T_2^{\text{ZQ}}$  et  $T_2^{\text{DQ}}$  sont bien égaux. La séquence d'impulsions présentée Schéma 36 peut donc être utilisée pour déterminer le temps de relaxation transversale dans le cas d'un système de deux spins faiblement couplés. On peut maintenant s'intéresser au cas plus complexe du couplage fort.

### 2.1.2. Cas du couplage scalaire fort

Comme précédemment, l'expression de la somme des signaux  $S_{ZQ}$  et  $S_{DQ}$  peut être développée. Dans le cas d'un système de spins fortement couplé AB, elle s'exprime selon :

$$S_{ZQ} + S_{DQ}(\tau) = 1 - \frac{6\xi^2}{\Delta^2} + \frac{2\xi^2}{\Delta^2} \left\{ 4 \cos\left(\frac{\tau}{4} \sqrt{\Delta}\right) - \cos\left(\frac{\tau}{2} \sqrt{\Delta}\right) \right\} e^{-\tau/T_2} \quad \text{Eq. 93}$$

avec :

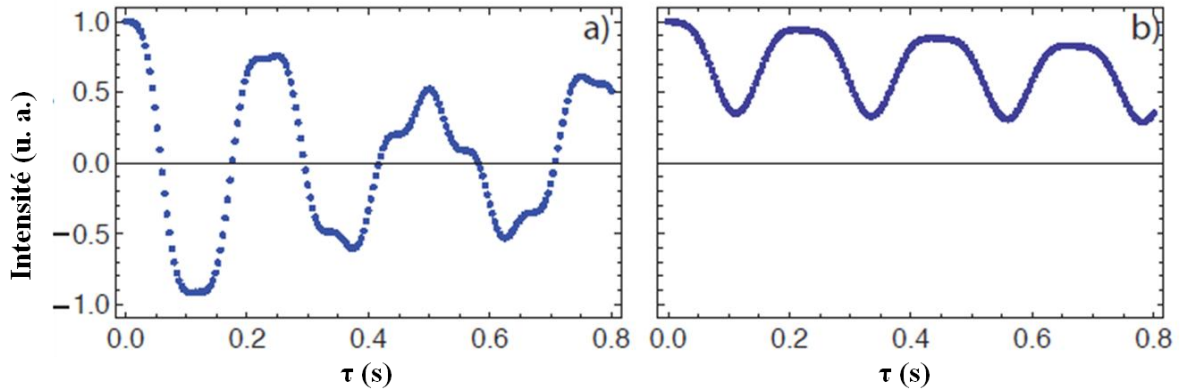
$$\xi = \pi J_{AB} (\omega_A - \omega_B) \quad \text{Eq. 94}$$

$$\Delta = 4\pi^2 J_{AB}^2 + (\omega_A - \omega_B)^2 \quad \text{Eq. 95}$$

Dans un premier temps, on peut se rendre compte d'après l'équation 95 que, dans ce cas, la somme des signaux n'est pas seulement fonction du temps de relaxation transversale. On peut cependant tracer le signal total issu d'une simulation numérique, dont les paramètres sont donnés Tableau 37, en fonction du temps d'évolution  $\tau$ , et le comparer au signal que l'on obtiendrait pour un simple écho de spin (Figure 47).

**Tableau 37** : Paramètres utilisés pour les simulations numériques du signal RMN en présence de relaxation magnétique pour un système AB

	Paramètres	Valeur
$\delta_A^{\text{iso}}, \delta_X^{\text{iso}}$	Déplacements chimiques isotropes	-0,025 ppm, +0,025 ppm
$J_{AX}$	Constante de couplage isotrope	8 Hz
$B_0$	Champ magnétique statique	9,4 T
$\tau_c$	Temps de corrélation	100 ps
$\sigma_A, \sigma_X$	Champs magnétique aléatoire	$2 \cdot 10^{-4}$ T, $2 \cdot 10^{-4}$ T
$\chi_{AX}$	Coefficient de corrélation croisée	0,5



**Figure 47** : Evolution en fonction de  $\tau$  obtenue pour (a) un écho de Hahn et (b) la somme des signaux  $S_{ZQ}(\tau)$  et  $S_{DQ}(\tau)$

Contrairement au cas des noyaux faiblement couplés, la Figure 47 met en évidence que la somme des signaux  $S_{ZQ}(\tau)$  et  $S_{DQ}(\tau)$  n'élimine pas complètement la modulation  $J$  dans le cas d'un couplage fort. Cette modulation s'avère néanmoins refocalisée périodiquement lorsque la valeur du délai d'évolution  $\tau$  est égale à :

$$\tau = \frac{8k\pi}{\sqrt{4\pi^2 J_{AB}^2 + (\omega_A - \omega_B)^2}} \quad \text{Eq. 96}$$

Cette méthodologie permet donc *a priori* de déterminer le temps de relaxation transversale dans le cas d'un système de deux spins fortement couplés, à condition de respecter la condition d'échantillonnage des valeurs de  $\tau$  donnée par l'équation 96.

## 2.2. APPLICATION DE LA METHODE

### 2.2.1. Cas de deux spins faiblement couplés : les protons de l'uracile

La méthode décrite dans la section précédente a dans un premier temps été utilisée pour déterminer les temps de relaxation  $T_2$  des protons éthyléniques de la molécule d'uracile (Schéma 39).

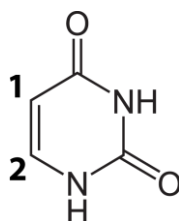
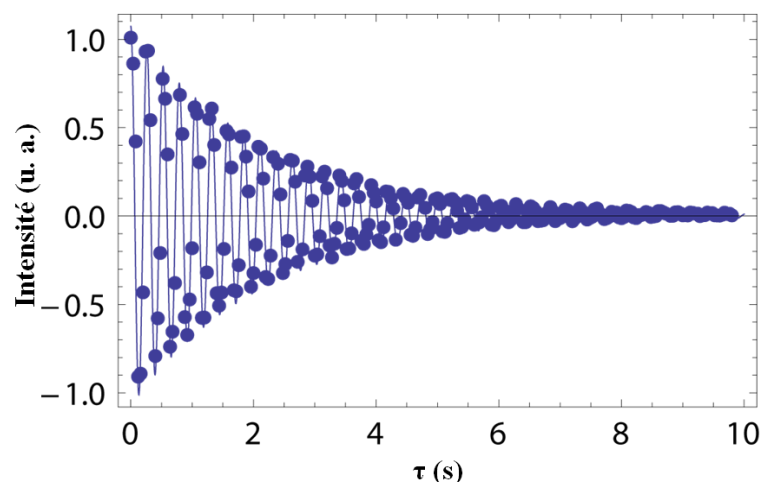


Schéma 39 : Structure de la molécule d'uracile

Pour ce faire, un échantillon a été préparé en solubilisant environ 10 mg d'uracile dans 600  $\mu\text{L}$  d'un mélange de  $\text{DMSO-}d_6/\text{D}_2\text{O}$  ( $\sim 80/20$ , v/v). Dans ce solvant, les protons **H-1** et **H-2** forment un système de spins AX avec une constante de couplage de 7.7 Hz. A noter en effet que les protons labiles de l'uracile (NH) n'apparaissent pas sur le spectre RMN  $^1\text{H}$  du fait de l'échange chimique avec le solvant ( $\text{D}_2\text{O}$ ).

Dans un premier temps, différentes expériences d'écho de Hahn (séquence :  $90^\circ - \tau - 180^\circ - \tau - \text{ACQ}$ ) ont été enregistrées en faisant varier  $\tau$  entre 0 et 10 s. La courbe d'évolution du signal **H-1** en fonction de  $\tau$  est reportée Figure 48.

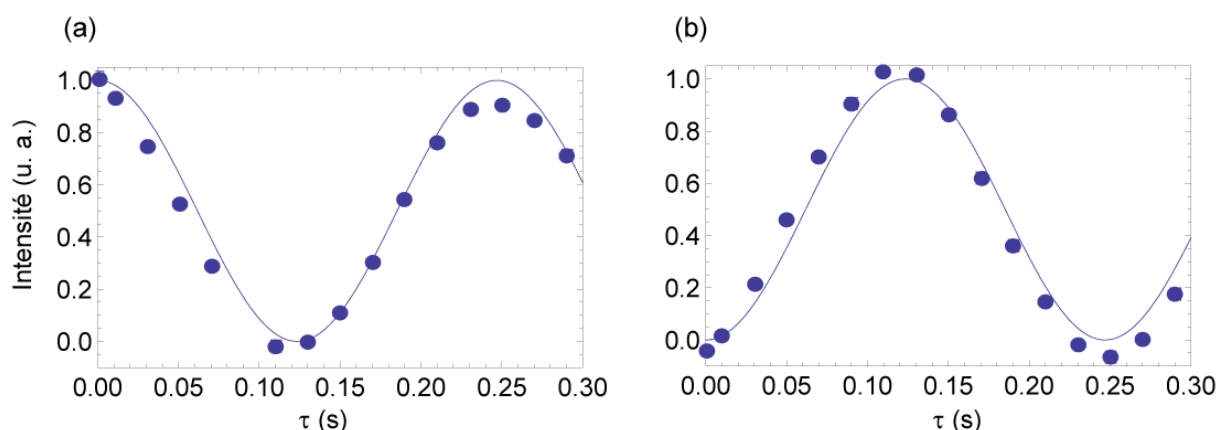


**Figure 48** : Evolution en fonction de  $\tau$  du signal **H-1** pour une expérience d'écho de Hahn. Une courbe similaire est obtenue pour le proton **H-2** (non reportée)

Bien que les courbes obtenues pour les signaux des protons **H-1** et **H-2** soient fortement modulées du fait du couplage scalaire (Figure 48), l'ajustement des données expérimentales avec une exponentielle décroissante multipliée par une fonction de type  $\cos(\pi J_{12}\tau)$ , permet néanmoins, connaissant  $J_{12}$  (7.7 Hz), de déterminer la valeur des temps de relaxation  $T_2^{\text{H-1}}$  et  $T_2^{\text{H-2}}$ . A la manière des travaux de Bodenhausen *et al.*, ces valeurs seront donc utilisées comme références pour comparer ensuite les résultats obtenus avec la CPMG et notre méthodologie. Notons en effet que, sur les spectromètres modernes, le gradient lié à l'inhomogénéité du champ magnétique  $B_0$  est faible. La perte de signal due à la diffusion moléculaire dans l'expérience d'écho de Hahn peut donc être négligée. Par exemple, dans le cas de l'uracile dans ce solvant, on obtient une perte de signal inférieur à 1 % pour un délai d'évolution de 10 s (calculée pour un gradient estimé  $g_0 \approx 2 \cdot 10^{-2} \text{ G cm}^{-1}$  et un coefficient d'autodiffusion  $D \approx 3 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ ).

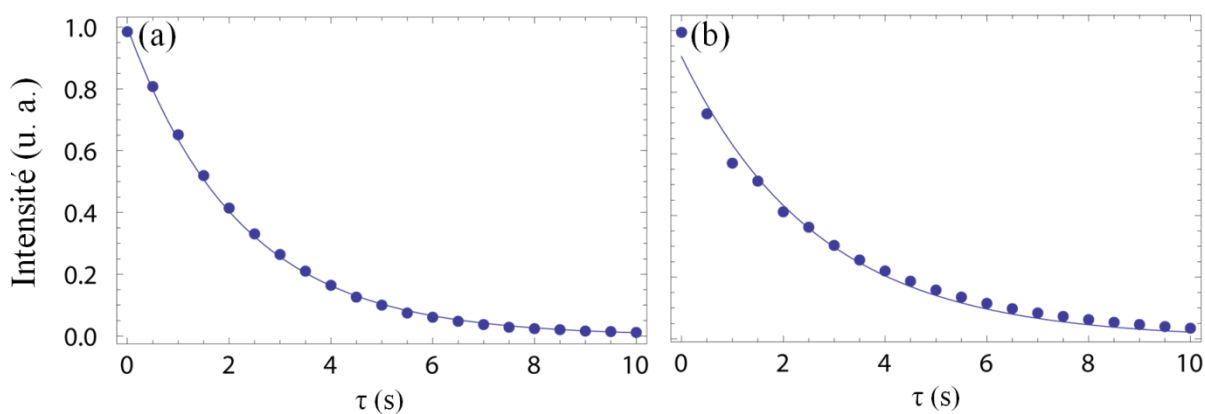
Dans un second temps, deux expériences filtrées ZQ et DQ ont été enregistrées avec la séquence décrite Schéma 36 pour les mêmes valeurs de  $\tau$  comprises entre 0 et 10 s. Les signaux des expériences filtrées ZQ et DQ sont donnés Figure 49.





**Figure 49 :** Evolution en fonction de  $\tau$  du signal **H-1** pour une expérience (a) filtrée ZQ et (b) filtrée DQ. Les courbes continues correspondent respectivement à (a)  $\cos^2(\pi J \tau / 2)$  et (b)  $\sin^2(\pi J \tau / 2)$ . Une courbe similaire est obtenue pour le proton **H-2** (non reportée)

Les temps de relaxation transversale obtenus d'après l'ajustement des données de la Figure 49 sont respectivement  $T_2^{\text{ZQ}} = T_2^{\text{DQ}} = 2,20$  s pour le proton **H-1**. Comme attendu, les signaux des deux composantes filtrées ZQ et DQ peuvent être additionnés pour mesurer le temps de relaxation transversale. Le signal total  $S_{\text{ZQ}}(\tau) + S_{\text{DQ}}(\tau)$  est alors comparé au résultat d'une expérience CPMG dans le cas du proton **H-1** (Figure 50).



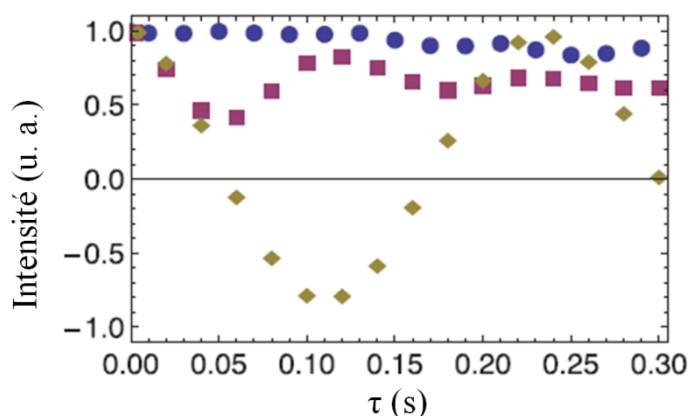
**Figure 50 :** Mesure du temps de relaxation du proton **H-1** de la molécule d'uracile par (a) la somme des signaux  $S_{\text{ZQ}}(\tau) + S_{\text{DQ}}(\tau)$  et (b) CPMG avec un demi-écho de 1 ms. Des courbes similaires sont obtenues pour le proton **H-2** (non reportées)

Les valeurs de temps de relaxation  $T_2^{\text{H-1}}$  et  $T_2^{\text{H-2}}$  obtenues après ajustement exponentiel des données de la Figure 50 peuvent être comparées aux temps de relaxation de référence déterminés précédemment à l'aide des expériences d'écho de spin, ainsi qu'aux valeurs obtenues par CPMG (Tableau 38). A titre indicatif, les temps de relaxation longitudinale  $T_1^{\text{H-1}}$  et  $T_1^{\text{H-2}}$  obtenus avec la séquence d'inversion-récupération sont également reportés.

**Tableau 38** : Comparaison des temps de relaxation transversale obtenus avec : l'écho de Hahn (référence), la méthode ZQ+DQ, et la CPMG

#	$T_{1,ref}$ (s)	$T_{2,ref}$ (s)	$T_{2,ZQ+DQ}$ (s)	Erreur (%)	$T_{2,CPMG}$ (s)	Erreur (%)
1	3,5	2,22	<b>2,20</b>	-1,0	2,67	+20,0
2	2,9	2,28	<b>2,19</b>	-4,0	2,76	+21,0

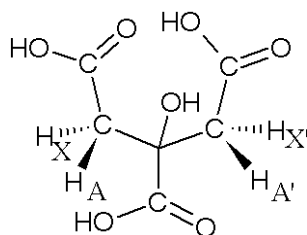
Le Tableau 38 met en évidence que la stratégie développée permet une mesure précise du temps de relaxation transversale dans le cas d'un système AX, alors que les valeurs obtenues par CPMG présentent un écart d'environ 20 %. Puisque l'impact de la diffusion moléculaire semble négligeable, la différence observée doit probablement être liée au fait que la CPMG n'élimine pas la modulation  $J$ . C'est ce qu'illustre la Figure 51 qui compare l'évolution du signal obtenu pour de faibles valeurs de  $\tau$  pour le proton **H-1** avec notre méthode et avec la CPMG (pour deux valeurs différentes de demi-écho  $\tau_{CPMG}$ ).


**Figure 51** : Evolutions en fonction de  $\tau$  obtenues pour le signal  $S_{ZQ}(\tau) + S_{DQ}(\tau)$  (●) et pour la CPMG avec un temps de demi-écho de 1 ms (■) et 2 ms (◆)

En effet, comme le montre la Figure 51, des oscillations nettes restent observables avec la CPMG, alors qu'elles sont fortement réduites avec notre méthode.

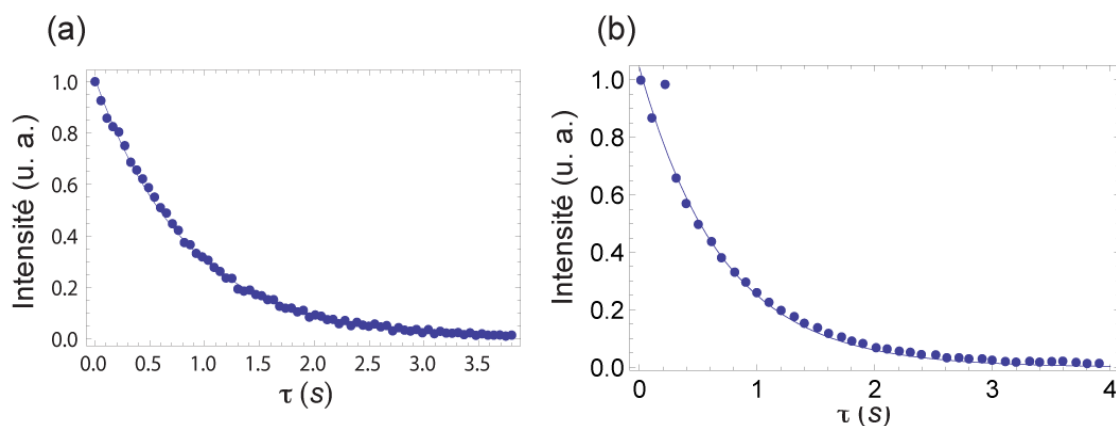
### 2.2.1. Cas de deux spins fortement couplés : les protons de l'acide citrique

La stratégie décrite pour les systèmes de deux spins fortement couplés a été utilisée pour déterminer les temps de relaxation  $T_2$  des protons  $\text{CH}_2$  de la molécule d'acide citrique (Schéma 40).


**Schéma 40** : Molécule d'acide citrique

Rigoureusement, le système de spins formé par les quatre protons diastéréotopiques des deux  $\text{CH}_2$  est un système  $\text{AA}'\text{XX}'$  ( $J_{\text{AX}} = J_{\text{A}'\text{X}'} = 15,7$  Hz). Cependant, puisque la constante  $J_{\text{AX}'} = J_{\text{A}'\text{X}} \approx 0$ , le spectre RMN correspondant apparaît comme un spectre AB (approximation). L'échantillon a été préparé en solubilisant environ 10 mg d'acide citrique dans 600  $\mu\text{L}$  de  $\text{D}_2\text{O}$ . A noter en effet que les protons labiles des fonctions acides ( $\text{COOH}$ ) n'apparaissent pas sur le spectre RMN  $^1\text{H}$  du fait de l'échange chimique avec le solvant ( $\text{D}_2\text{O}$ ).

De la même manière que précédemment, deux expériences filtrées ZQ et DQ ont été enregistrées avec la séquence décrite Schéma 36 pour des valeurs de  $\tau$  comprises entre 0 et 4 s. Le signal total  $S_{\text{ZQ}}(\tau) + S_{\text{DQ}}(\tau)$  est alors comparé au résultat d'une expérience CPMG dans le cas du proton **H-A** (Figure 52).



**Figure 52** : Mesure du temps de relaxation du proton **H-A** de la molécule d'acide citrique par (a) la somme des signaux  $S_{\text{ZQ}}(\tau) + S_{\text{DQ}}(\tau)$  et (b) CPMG avec un demi-écho de 1 ms. Des courbes similaires sont obtenues pour le proton **H-B** (non reportées)

Les valeurs de temps de relaxation  $T_2^{\text{H-A}}$  et  $T_2^{\text{H-B}}$  obtenues après ajustement exponentiel des données de la Figure 52 peuvent être comparées aux valeurs obtenues par CPMG (Tableau 39). A titre indicatif, les temps de relaxation longitudinale  $T_1^{\text{H-A}}$  et  $T_1^{\text{H-B}}$  obtenus avec la séquence d'inversion-récupération sont également reportés.

**Tableau 39** : Comparaison des temps de relaxation transversale des protons de la molécule d'acide citrique obtenus avec la méthode ZQ+DQ et CPMG

#	$T_1$ (s)	$T_{2,ZQ+DQ}$ (s)	$T_{2,CPMG}$ (s)
A	<b>0,74</b>	<b>0,86</b>	0,70
B	<b>0,73</b>	<b>0,85</b>	0,70

On peut remarquer que les valeurs de  $T_2$  obtenues par la méthode ZQ+DQ sont supérieures aux valeurs de  $T_1$ , ce qui témoigne d'une probable surestimation qui est actuellement en cours d'étude.

### 3. CONCLUSION

Une nouvelle stratégie de mesure des temps de relaxation transversale dans les systèmes couplés a été développée. Elle permet de mesurer très précisément  $T_2$  dans le cas de systèmes AX, indépendamment de la valeur de la constante de couplage scalaire et sans aucune optimisation particulière. Cette méthodologie fonctionne également dans le cas du couplage fort mais elle nécessite cette fois-ci d'échantillonner les valeurs du délai d'évolution  $\tau$  pour refocaliser l'évolution du couplage scalaire. Des travaux complémentaires seront néanmoins nécessaires pour vérifier si cette méthodologie peut être adaptée à l'analyse des systèmes à trois spins. Ces travaux font l'objet d'une publication dans la revue *Chemical Communications* ainsi que de communications scientifiques (*Annexe 5*).<sup>1154</sup>

<sup>154</sup> Barrère, C.; Thureau, P.; Thévand, A.; Viel, S., A convenient method for the measurements of accurate transverse relaxation rates in homonuclear scalar coupled spin systems. *Chemical Communication* **2011**, DOI: 10.1039/C1CC13042K.

## ***Conclusion générale***

Dans ces travaux de thèse, la RMN et la spectrométrie de masse ont été utilisées pour l'étude de macromolécules à architecture complexe. Les aspects de caractérisation structurale et de quantification en mélange ont été traités.

Une première partie des travaux s'est consacrée à la caractérisation structurale de copolymères à blocs POE-*b*-PS synthétisés par NMP. Une approche originale a été développée pour la détermination des masses moléculaires moyennes en masse de ces polymères amphiphiles, difficiles à analyser en MALDI-MS. La caractérisation indirecte des copolymères a permis le développement d'une stratégie basée sur la RMN PGSE, qui s'est déjà illustrée comme une méthode rapide et robuste pour la détermination de la masse moyenne en masse d'homopolymères. Il a été mis en évidence que le comportement diffusionnel des copolymères est différent de celui des homopolymères constitutifs, empêchant l'utilisation directe de leurs courbes d'étalonnage. Un modèle hydrodynamique particulier a donc dû être employé pour décrire correctement la diffusion de ces macromolécules et permettre la détermination de leur masse moyenne en masse.

La problématique des groupements terminaux labiles des polymères issus du processus NMP a ensuite été abordée pour répondre à la nécessité de contrôle du caractère « vivant » de l'intermédiaire de synthèse de ces copolymères. En effet, la labilité du groupement SG1 est un inconvénient majeur pour l'analyse de ces polymères par MALDI car le groupement terminal est éliminé lors du processus d'ionisation. Une large gamme de cations divalents a été testée dans le but de trouver des conditions expérimentales permettant de prévenir la rupture indésirable. Il a cependant été mis en évidence que, quel que soit le mode de préparation de l'échantillon, les cations divalents sont réduits dans la source MALDI. Une différence de comportement des agents de cationisation a par ailleurs été observée et a motivé l'étude de la fragmentation d'un POE terminé SG1 en présence de ces divers cations divalents par ESI-MS/MS. Trois comportements distincts de fragmentation ont été mis en évidence en présence d'alcalino-terreux, de métaux de transition et de fer. La complexité du système n'a cependant pas permis d'expliquer ces différences par des calculs de chimie théorique.

Une stratégie de dérivation du groupement terminal a finalement été développée dans le but d'obtenir des adduits de polymères terminés SG1 intacts en MALDI. Un prétraitement de l'échantillon au TFA a permis de remplacer le groupement tBu porté par l'atome d'azote du nitroxyde par un atome

d'hydrogène. Cette stratégie s'est révélée fructueuse pour l'analyse de polymères intacts. Des calculs théoriques ont par ailleurs mis en évidence une augmentation de l'énergie de dissociation de la liaison fragile, confirmant les résultats MALDI. Cette augmentation a pu être principalement attribuée à la diminution de l'encombrement stérique du groupement après traitement au TFA.

Une deuxième partie de ces travaux s'est principalement focalisée sur la quantification des composés en mélange par RMN PGSE. Une approche alternative à la méthode qDECRA a été proposée et consiste en l'évaluation des temps de relaxation magnétique des signaux au cours de l'expérience PGSE afin de renormaliser leurs intégrales. Cette approche s'est révélée favorable et a permis d'obtenir une justesse de  $\pm 5\%$  pour la quantification de mélanges modèles présentant des recouvrements spectraux. De plus, cette alternative s'avère plus rapide et intrinsèquement moins sensible à la modulation  $J$  que la méthode conventionnelle. Le développement de cette stratégie a par ailleurs soulevé la difficulté de la mesure du temps de relaxation transversale des systèmes de spins couplés, qui est un problème bien connu en RMN. Une nouvelle méthodologie de mesure de  $T_2$  reposant sur l'utilisation de filtre multiquanta a donc été proposée pour s'affranchir de la modulation  $J$ . Il a été mis en évidence par des simulations numériques et des expériences que le signal RMN d'expériences dont les cohérences à zéro quantum et à deux quanta ont été filtrées, peut être avantageusement combiné pour supprimer cette modulation. Dans le cas d'un système de deux spins faiblement couplés, cette stratégie a permis de mesurer précisément et simultanément le temps de relaxation transversale des protons de la molécule d'uracile. Dans le cas plus complexe des systèmes fortement couplés, la suppression de la modulation nécessite un échantillonnage particulier du temps d'évolution, ce qui implique d'analyser les systèmes de spins séparément.

Ces travaux de thèse ont finalement permis de mettre en évidence la complémentarité des techniques de RMN et de spectrométrie de masse pour la caractérisation de polymères synthétiques. Ils permettent par ailleurs de dégager un certain nombre de perspectives de travail pour la suite.

Ainsi, concernant la détermination de la masse moléculaire moyenne en masse des copolymères par RMN PGSE, il serait intéressant d'étendre la gamme de masse analysable pour les copolymères POE-*b*-PS. Par ailleurs, l'étude exploratoire des copolymères statistiques AMA/MAM peut être poursuivie.

Un développement méthodologique peut également être envisagé en chimie théorique pour essayer d'expliquer les différents mécanismes de fragmentation observés en ESI-MS/MS.

Par ailleurs, la modulation  $J$  reste un problème pour une approche quantitative en RMN PGSE. L'utilisation de la séquence développée au chapitre 6 semble une voie intéressante pour s'affranchir de ces phénomènes indésirables, et améliorer ainsi la qualité des résultats obtenus avec la méthodologie de quantification décrite au Chapitre 5.

De plus la stratégie ZQ+DQ a montré un potentiel intéressant pour la détermination des temps de relaxation transversale pour les systèmes de deux spins couplés. Cette méthode doit maintenant être généralisée pour l'analyse de systèmes plus complexes, en étudiant notamment le cas des systèmes à trois spins couplés.

## ***Partie Expérimentale***

- ***Spectromètre RMN à 500 MHz*** : Ce spectromètre Bruker AVANCE présente une fréquence de Larmor de 500 MHz pour le proton. Il est équipé d'une crysonde 5-mm triple résonance inverse optimisée pour la détection du proton, et d'une bobine de gradient permettant de générer des gradients selon l'axe z de l'échantillon. La bobine de gradient est calibrée en mesurant le coefficient de diffusion des protons résiduels de D<sub>2</sub>O, la valeur maximale générée est de 55 G cm<sup>-1</sup>. La température est contrôlée par un flux d'air de 545 L h<sup>-1</sup> pour éviter les fluctuations de température dues aux impulsions gradient.
  
- ***Spectromètre de masse MALDI-TOF*** : Les expériences MALDI-TOF-MS ont été réalisées avec un Autoflex commercialisé par Bruker Daltonics (Leipzig, Allemagne). L'instrument est équipé d'un laser à azote émettant à 337 nm (d'une durée de pulse d'environ 5 ns), d'une source à extraction retardée et de détecteurs MCP (« Micro-Channel Plate »). La fréquence des tirs et la puissance laser sont modulables et l'analyseur TOF peut opérer en mode linéaire ou réflectron. La tension d'accélération et le délai d'extraction sont ajustables en fonction de la gamme de masses des polymères étudiés. Le logiciel FlexControl version 2.2 (Bruker Daltonics) a été utilisé pour piloter l'instrument et acquérir les données.
  
- ***Spectromètre de masse ESI-q-TOF*** : Le spectromètre de masse QSTAR Elite (Applied Biosystems SCIEX, Concord, ON, Canada) est équipé d'une source d'ionisation electrospray (ESI) opérant en mode positif. La tension appliquée sur le capillaire est de +5500 V et la tension d'orifice (OR) est ajustée selon les expériences. L'air est utilisé comme gaz de nébulisation (10 psi) et l'azote comme gaz rideau dans l'interface du spectromètre de masse (20 psi). Cet instrument hybride possède deux quadripôles et un analyseur à temps de vol à accélération orthogonale. En mode MS: les ions sont transmis par les deux quadripôles (« RF only ») et mesurés dans l'analyseur TOF. En mode MS/MS: l'ion précurseur est sélectionné dans le premier quadripôle, se fragmentent dans la cellule de collision (deuxième quadripôle rempli d'azote) et les ions fragments sont mesurés dans l'analyseur à temps de vol à accélération orthogonale. Ce type d'appareil hybride permet donc de réaliser des mesures de masse exacte en MS et en MS/MS grâce à la haute résolution de l'analyseur TOF.



- **Spectromètre RMN à 400 MHz :** Ce spectromètre Bruker AVANCEIII présente une fréquence de Larmor de 400 MHz pour le proton. Il est équipé d'une sonde BBI 5-mm double résonance inverse optimisée pour la détection du proton, et d'une bobine de gradient permettant de générer des gradients selon l'axe z de l'échantillon. La bobine de gradient est calibrée en mesurant le coefficient de diffusion des protons résiduels de D<sub>2</sub>O, la valeur maximale générée est de 55 G cm<sup>-1</sup>. La température est contrôlée par un flux d'air de 400 L h<sup>-1</sup> pour éviter les fluctuations de température dues aux impulsions gradient.

## ***Annexe 1 : Protocole de synthèse des copolymères POE-*b*-PS***

Le protocole de synthèse d'un copolymère à blocs POE-*b*-PS, basé sur la polymérisation du styrène amorcée par un POE-MAMA-SG1 (Schéma 9), est le même quelle que soit la taille des blocs souhaitée. Un POE-acrylate (**P'<sub>n</sub>**) est tout d'abord obtenu par estérification d'un poly(oxyde d'éthylène)  $\alpha$ -méthoxylé POE-Me (10.0 g, 28.6 mmol) avec un chlorure d'acryloyle (9.7 mL, 114.3 mmol) dans le dichlorométhane (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) à 5°C. Un des protons vinyliques du groupement acrylate dans le POE-acrylate peut être observé par <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) à  $\delta = 6.40-6.45$  ppm. Le rendement de réaction de cette première étape (95-97 %) a été déterminé en comparant l'intégrale de ce signal <sup>1</sup>H avec celles des signaux correspondants au groupement  $\alpha$ -CH<sub>3</sub> ( $\delta = 3.38$  ppm). Dans une seconde étape, l'addition d'une alcoxyamine MAMA-SG1 (1.2 g), gracieusement fournie par Arkema, sur (**P'<sub>n</sub>**) (0.5 g), dans le THF, se produit via une homolyse thermique de la liaison C-ON menant à la formation de deux radicaux : le radical alkyl MAMA<sup>•</sup> et le nitroxyde stable SG1<sup>•</sup>. De par la grande constante de dissociation de l'alcoxyamine MAMA-SG1, une forte concentration de SG1<sup>•</sup> est produite au début de la réaction. L'effet radical persistant est alors fortement prononcé et ni l'oligomérisation, ni la dimérisation n'est attendue. La présence de l'oléfine activée (**P'<sub>n</sub>**) mène à une addition radicalaire 1,2 intermoléculaire. Le spectre RMN <sup>1</sup>H de la macroalcoxyamine POE-MAMA-SG1 obtenue (**P<sub>n</sub>**) montre que les signaux propres aux protons vinyliques du groupement acrylate (attendus dans la zone  $\delta = 5.75-6.45$  ppm) ont disparu, indiquant un rendement de 100% pour cette réaction d'addition. La macroalcoxyamine POE-MAMA-SG1 est ensuite utilisée pour initier la polymérisation du styrène à 105°C sous atmosphère inerte. La concentration respective styrène/POE-MAMA-SG1 est établie en fonction de la masse molaire à obtenir pour 100 % de conversion, ici 40 000 g mol<sup>-1</sup>. La polymérisation est stoppée en plongeant le ballon réactionnel dans un bain de glace. Le copolymère POE-*b*-PS-SG1 (**POE<sub>n</sub>-*b*-PS<sub>m</sub>-SG1**) est précipité dans du *n*-hexane froid, rincé avec du diéthyléther et séché sous vide à température ambiante. Le spectre RMN <sup>1</sup>H du copolymère dans le CDCl<sub>3</sub> présente de nouveaux signaux (dans la zone  $\delta = 6.5-7.2$  ppm et 1,4-2,1) correspondant aux cinq protons aromatiques et trois protons méthyliques du bloc PS. La composition finale du copolymère est alors déterminée en comparant l'intégrale <sup>1</sup>H du groupement terminal X à celle des unités aromatiques du bloc PS. Rappelons que conformément à la notation introduite précédemment, les groupements terminaux X et Y de ce copolymère sont respectivement CH<sub>3</sub> et SG1.

## ***Annexe 2 : Principe de fonctionnement des sources d'ionisation et analyseur de masse utilisés***

### **➤ *L'ionisation electrospray***

L'ionisation electrospray a été introduite en spectrométrie de masse par Yamashita et Fenn en 1984 (John Bennett Fenn a obtenu en 2002 le prix Nobel). Cette technique a pour objectif de produire, à partir de molécules non volatiles en solution, des ions en phase gazeuse analysables en spectrométrie de masse. Les mécanismes de la formation de l'aérosol sous l'effet d'un fort champ électrique ont été décrits par Bailey. L'état des connaissances sur ce mécanisme d'émission des ions en phase gazeuse a été établi par Kebarle.

Le processus d'ionisation-désorption electrospray par lequel les ions analytes sont produits en phase gazeuse à partir de molécules en solution se déroule à pression atmosphérique et peut être scindé en trois étapes majeures.

#### ***(i) Production d'un courant de gouttelettes chargées***

La solution contenant l'électrolyte étudié est amenée dans la source electrospray par l'intermédiaire d'un capillaire. L'application d'un champ électrique très intense (de l'ordre de  $10^6$  V/m) à la pointe du capillaire provoque la polarisation du liquide, induit la dissociation de l'électrolyte puis la séparation des charges positives et négatives. Cette séparation des ions présents en solution est décrite comme un phénomène électrophorétique. En mode d'ionisation positif, l'application d'une haute tension positive confère au capillaire le rôle d'une anode à la surface de laquelle les anions sont oxydés. L'élimination de ces anions induit la création d'un excès de charges positives qui, repoussées par l'anode, migrent vers la surface du liquide. Ce phénomène se produisant en continu, la surface du liquide émergeant au bout du capillaire va progressivement s'enrichir en cations. Néanmoins, lorsque les forces de répulsion qui s'exercent entre les charges positives à la surface du liquide deviennent supérieures aux forces de cohésion du liquide (mesurées par la tension de surface), la surface du liquide est déstabilisée et se modifie pour former un cône, appelé cône de Taylor. Le bout du cône de Taylor est le point le plus instable et va s'allonger en un filament de liquide. Ce filament va ensuite se fractionner et émettre un courant continu de fines gouttelettes individuelles chargées positivement. La source est ainsi assimilée à une cellule électrolytique.

Ce phénomène n'apparaît que si le champ électrique  $E_0$  vaut:

$$E_0 = \left( \frac{2\gamma \cos\theta_0}{\varepsilon_0 r_{ci}} \right)^{1/2} \quad (1)$$

avec,  $\gamma$  la tension de surface du liquide,  $\varepsilon_0$  la permittivité électrique du vide,  $\theta_0$  le demi-angle du liquide formant le cône de Taylor au bout du capillaire et  $r_{ci}$  : le rayon interne du capillaire.

Ainsi, les paramètres qui conditionnent la formation de l'aérosol chargé en electrospray incluent les propriétés de la solution, telles que la tension de surface, la constante diélectrique, la viscosité et la conductivité, mais aussi des paramètres instrumentaux comme la tension électrique appliquée, le débit de la solution et le diamètre du capillaire. De plus, les paramètres instrumentaux et les facteurs liés à la composition de la solution électronébulisée sont interdépendants.

### ***(ii) Evaporation/fission des gouttelettes chargées***

Après leur formation, les gouttelettes chargées se déplacent en direction de l'interface du spectromètre de masse, sous l'effet conjoint d'une différence de potentiel et d'un éventuel gaz assistant la nébulisation. Ce déplacement des gouttelettes dans l'enceinte à pression atmosphérique que constitue la source d'ionisation favorise l'évaporation du solvant : le rayon des gouttelettes diminue mais la charge de chaque gouttelette reste constante pendant l'évaporation. D'après la théorie énoncée par Rayleigh, la rupture d'une gouttelette de charge  $Q$  se produit lorsque les forces de répulsion coulombienne deviennent supérieures aux forces de cohésion du liquide. Ce phénomène apparaît lorsque le rayon de la gouttelette atteint le rayon limite de Rayleigh,  $R_R$ , défini selon :

$$Q = 8\pi(\varepsilon_0\gamma R_R^3)^{1/2} \quad (2)$$

Lorsque ce rayon limite est atteint, l'explosion coulombienne de la gouttelette se produit. La fission de la gouttelette ne génère pas deux gouttelettes identiques mais stimule l'émission d'un courant de petites gouttelettes de masse équivalente à 0,1 % de la masse de la gouttelette parent et de charge égale à 1% de celle de la gouttelette mère.

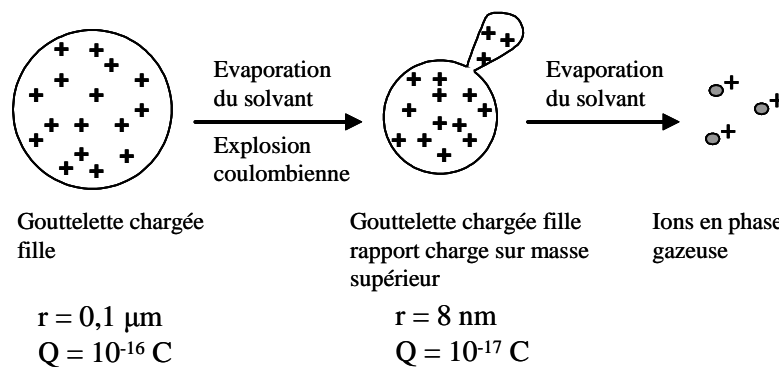
Ce type de fission asymétrique est le seul moyen d'envisager la production rapide (quelques millisecondes) de gouttelettes filles dont la densité de charge très élevée permet l'émission d'ions en phase gazeuse. Le temps nécessaire à la gouttelette mère pour engendrer des gouttelettes filles détermine la sensibilité de la technique. La vitesse de déroulement de cette étape évaporation/fission des gouttelettes chargées est régie par des paramètres qui incluent des propriétés de la solution mais aussi des paramètres instrumentaux. En effet, d'après l'équation, le rayon limite de Rayleigh  $R_R$  est

inversement proportionnel à la tension de surface du liquide  $\gamma$ . Ainsi, pour une quantité de charge  $Q$  donnée, l'explosion de la gouttelette se produira plus tôt si la tension de surface du liquide est faible. Par ailleurs, la vitesse d'évaporation du solvant est conditionnée par la tension de vapeur du solvant et par la température du gaz de nébulisation.

**(iii) Emission des ions en phase gazeuse**

Deux théories différentes ont été proposées pour expliquer l'émission des ions en phase gazeuse à partir des gouttelettes filles. Cependant, le modèle de la charge résiduelle (Charged Residue Model, CRM) initialement proposé par Dole tend à être remplacé par le modèle de l'évaporation d'ions (Ion Evaporation Model, IEM) avancé par Iribarne et Thomson, plus communément admis.

Dans le modèle de l'évaporation d'ions, les séquences évaporation/fission des gouttelettes chargées conduiraient à la formation de gouttelettes filles de plus en plus petites jusqu'à atteindre des caractéristiques ( $r = 8 \text{ nm}$  et  $Q = 10^{-17} \text{ C}$ ) qui permettraient une émission directe d'ions dans la phase gazeuse. La charge requise en surface de la gouttelette pour provoquer l'évaporation des ions est alors plus faible que celle nécessaire à l'explosion coulombienne. La production des ions en phase gazeuse aurait lieu par évaporation des ions depuis la surface de la gouttelette chargée et non plus après évaporation totale du solvant.



**Figure A :** Emission des ions en phase gazeuse selon le modèle d'Iribarne et Thomson

La vitesse d'émission des ions à partir des gouttelettes dépendrait du rayon  $r$  et de la charge  $Q$  de la gouttelette, mais aussi des propriétés physiques et chimiques des ions.

## ➤ *L'ionisation MALDI*

Le dispositif-clé de la technique MALDI introduite par Karas et Hillenkamp en 1988 repose sur un processus d'ionisation douce dans lequel l'énergie dispensée par l'irradiation laser d'un échantillon est dispersée au sein d'une matrice absorbant dans l'ultraviolet ou l'infrarouge selon la longueur d'onde du laser utilisé. Ainsi, l'énergie laser permet la volatilisation des molécules de matrice plutôt que la dégradation du polymère d'intérêt. La préparation d'un mélange matrice/polymère/sel dans un ratio molaire approprié est un des facteurs limitants pour prétendre à une application universelle du MALDI aux polymères synthétiques. Cependant, Tanaka a obtenu en 2002 le prix nobel pour le développement du MALDI aux macromolécules biologiques.

### *(i) Préparation des échantillons MALDI*

Une production efficace d'ions par MALDI dépend d'une préparation adéquate du dépôt solide obtenu à partir du mélange de la matrice, du polymère et éventuellement d'un sel ; ce dépôt est en fait composé de molécules de matrice en très grand excès vis à vis des molécules de polymère présentes. Originellement proposée par Karas, la méthode la plus communément utilisée pour obtenir ce type de dépôts consiste à préparer un mélange liquide des trois composants (matrice, polymère et sel) à partir de solutions individuelles. Un aliquote de ce mélange est ensuite déposé sur le porte-échantillon et séché à l'air libre. Les méthodes de préparation des échantillons MALDI décrites dans la littérature sont nombreuses et variées. Néanmoins, aucune « recette miracle » ne peut être donnée et, loin d'être universelles, les conditions de préparation restent de fait empiriques.

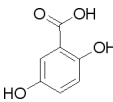
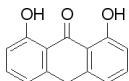
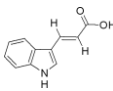
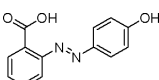
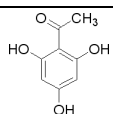
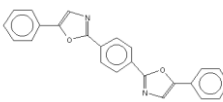
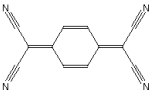
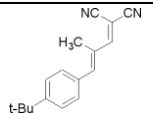
L'une des étape-clés en MALDI repose sur un choix judicieux de la matrice qui doit, dans l'absolu, former des cristaux incluant à la fois le polymère et le sel. Comme proposé par Montaudo *et al.*, ce choix s'effectue en deux étapes. Dans un premier temps, seul le squelette du polymère est considéré, les groupements terminaux et la masse moléculaire moyenne n'intervenant pas dans le choix de la matrice. La littérature est alors consultée pour rechercher un jeu de 3 ou 4 matrices optimales pour l'analyse MALDI de ce type de squelette polymérique, notamment au travers de répertoires de matrices<sup>150</sup> ou de recettes de préparation d'échantillons pré-établies, comme le propose le National Institute of Standards and Technology (NIST) pour l'analyse de divers types de polymères. Il s'en suit que l'expérimentateur enregistre des spectres MALDI en utilisant toutes les matrices sélectionnées, le spectre de meilleure qualité permettant d'identifier la matrice la plus efficace.

La qualité des données spectrales dépend de facteurs tels que la co-cristallisation et l'homogénéité du mélange matrice/polymère, le choix et la nature de la matrice et/ou du solvant, le pH des solutions... Bien entendu, deux exigences restent incontournables, à savoir le choix d'une matrice qui

absorbe à la longueur d'onde du laser employé et une durée de vie du dépôt solide dans le vide suffisamment longue pour permettre l'acquisition de spectres, éliminant ainsi tout composé à taux de sublimation trop important. De plus, il est admis qu'il est préférable que la polarité de la matrice soit comparable à celle du polymère, de sorte que ces deux constituants soient solubilisés dans un même solvant. Il en résulte généralement une meilleure co-précipitation des trois protagonistes (matrice, polymère et sel) d'où une meilleure homogénéité. La solubilité de la matrice et du polymère dans un même solvant est critique pour l'analyse du polymère.

Le Tableau suivant donne un aperçu de quelques matrices courantes utilisées pour l'analyse MALDI de polymères synthétiques.

**Tableau A :** Quelques matrices courantes pour l'analyse UV-MALDI de polymères synthétiques

Abréviation	Nom	Structure	Polymères	
			polaires	apolaires
<b>DHB</b>	Acide 2-5-dihydroxybenzoïque		X	
<b>Dith</b>	1,8,9-Anthracènetriol		X	X
<b>IAA</b>	Acide <i>trans</i> -3-indoleacrylique		X	X
<b>HABA</b>	Acide 2-(4'-hydroxyphénylazo)benzoïque		X	X
<b>THAP</b>	2',4',6'-Trihydroxyacétophénone monohydratée		X	
<b>POPOP</b>	2,2'-(1,4-phénylène)bis(5-phényl)oxazole			X
<b>TCNQ</b>	7,7,8,8-Tétracyanoquinodiméthane			X
<b>DCTB</b>	<i>trans</i> -2-[3-(4- <i>tert</i> -butylphényl)-2-méthyl-2-propénylidène]malononitrile			X

Contrairement aux biopolymères, un polymère synthétique s'ionise préférentiellement par cationisation, à moins qu'il ne possède un groupement électro-donneur susceptible d'être protoné

comme pour les polyamines, ou un proton labile capable d'être arraché comme dans le cas des poly(acide acrylique)s (PAA) pour être détecté en mode négatif. A cette fin, l'ionisation d'un polymère synthétique requiert l'ajout d'un sel au mélange matrice/polymère dans le but de permettre l'adduction de cations au polymère. Pour des polymères polaires, l'utilisation de cations alcalins tels que  $\text{Na}^+$  ou  $\text{K}^+$  est généralement privilégiée, d'autant qu'ils sont souvent déjà présents en tant qu'impuretés dans la verrerie, les solvants ou la matrice. En revanche, dans le cas de polymères non polaires tels que les polystyrènes ou les polydiènes, dans lesquels les insaturations constituent des sites d'attachement favorables durant le processus de désorption/ionisation, les cations métalliques de transition comme  $\text{Ag}^+$  ou  $\text{Cu}^{2+}$  sont plus communément utilisés. Dans certains cas, la sélection de l'électrolyte peut s'avérer beaucoup plus critique que le choix de la matrice elle-même. Il est aussi à noter que les concentrations de sel utilisées dans les préparations d'échantillons MALDI doivent être suffisamment faibles pour éviter la formation d'agrégats résultant de l'interaction entre le cation, le sel et/ou la matrice, entraînant une suppression des signaux d'intérêt.

### ***(ii) Formation et extraction des ions en MALDI***

La source MALDI génère des ions par irradiation d'un mélange solide d'un polymère dissous dans une matrice appropriée à l'aide d'un faisceau laser pulsé. Comme le nom MALDI l'indique, le laser pulsé désorbe et ionise indirectement les molécules d'analyte. Un laser UV à impulsions courtes (de l'ordre de quelques nanosecondes) est typiquement utilisé pour la désorption. Les différentes étapes de désorption et d'ionisation MALDI sont résumées ci-dessous :

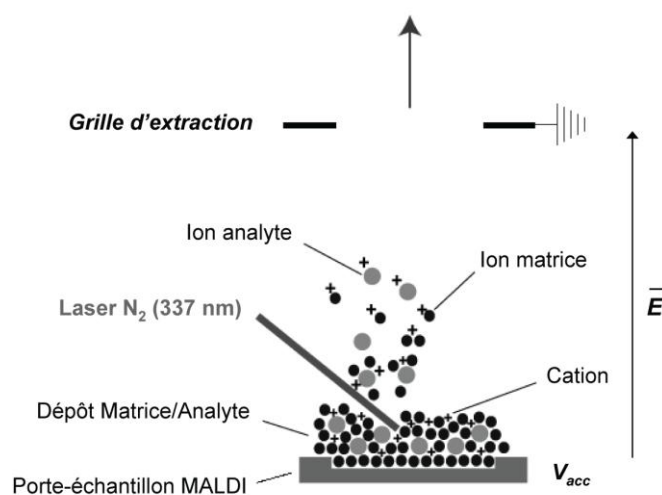
- Absorption par la matrice de l'énergie fournie par le laser UV
- Ionisation de la matrice
- Dissociation de la matrice
- Sublimation
- Expansion de la matrice en un jet supersonique
- Entraînement de l'analyte dans le plasma d'expansion généré par la matrice
- Transfert de charges vers les molécules d'analyte

Le principe du MALDI repose sur l'ablation des molécules de polymère dispersées au sein des molécules de matrice. Pour ce faire, un faisceau laser pulsé travaillant dans l'UV est focalisé sur le dépôt cristallin. La source laser la plus communément utilisée est un laser à azote ( $\text{N}_2$ ) qui émet à une longueur d'onde de 337 nm avec une durée d'impulsion comprise entre 3 et 7 ns. L'énergie du faisceau laser incident est alors principalement absorbée par la matrice, minimisant ainsi d'éventuelles dégradations du polymère. L'apport énergétique provoque alors une excitation des molécules de matrice, causant ainsi leur vaporisation et leur décomposition. Cette expansion de la matrice en phase



gazeuse en un jet supersonique entraîne les molécules de polymère. Il en résulte la formation d'un plasma gazeux, communément appelé « plume », où se côtoient les molécules de matrice, de polymère et de sel. A ce stade, deux hypothèses entrent en jeu pour expliquer l'étape d'ionisation des molécules de polymère. Une première hypothèse fait état de la préformation des ions dans la phase condensée lors de la préparation de l'échantillon MALDI. Une hypothèse alternative fait appel à des réactions chimiques entre les ions, les espèces excitées et les charges en présence (électrons et sels). De manière générale, un transfert de charge vers les molécules de polymère se produit, et seules des espèces polymériques simplement chargées sont produites en phase gazeuse. Une fois ces ions formés, ils peuvent être accélérés vers l'analyseur par application d'un champ électrostatique.

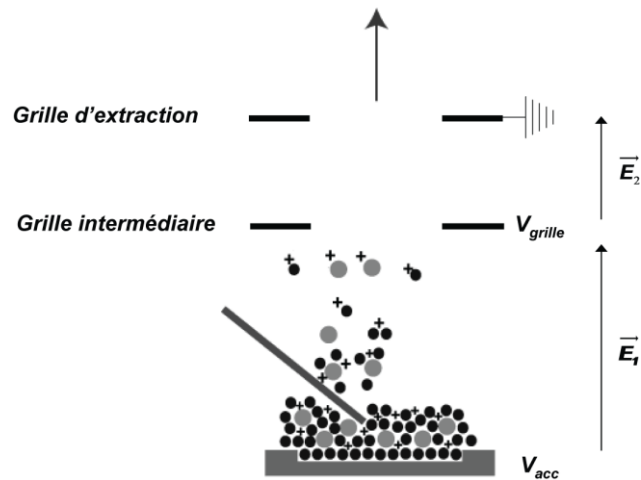
Dans la source MALDI, les ions sont accélérés dans un champ électrique  $\vec{E}$  par une même force et sur une même distance  $d$  entre le dépôt et la grille d'extraction afin qu'ils acquièrent tous la même énergie cinétique. Une population d'ions d'énergie cinétique commune, avec une distribution de masse donnée, possède une distribution de vitesse définie.



**Figure B :** Zone d'accélération dans la source MALDI

Cependant, une dispersion de l'énergie cinétique initiale et de la localisation de ces ions dans la source peut avoir pour effet de diminuer la résolution spectrale. De nouvelles sources d'ionisation à extraction retardée ont donc été développées pour pallier ce problème. Dans cette nouvelle configuration, une seconde grille est placée à quelques millimètres du porte-échantillon MALDI. Une tension  $V_{grille}$  très brève lui est appliquée pour piéger un court instant la plume gazeuse après l'irradiation laser (de quelques nanosecondes à plusieurs centaines de nanosecondes selon les masses moléculaires étudiées). Cette tension est ensuite soudainement basculée à 0 V : les ions proches du porte-échantillon MALDI ressentiront le maximum de différence de potentiels et vont acquérir une plus grande vitesse. A l'inverse, les ions proches de l'entrée de l'analyseur situé après la grille

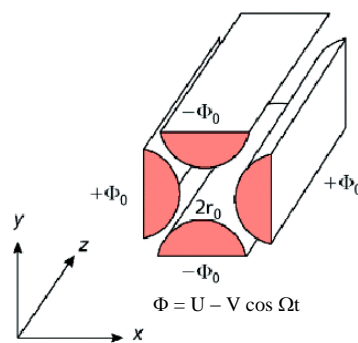
d'extraction ne ressentiront qu'une faible différence de potentiels et auront donc une vitesse plus faible. De cette façon, la dispersion des vitesses peut être partiellement réduite.



**Figure C :** Zone d'accélération dans la source MALDI à extraction retardée

➤ **Les analyseurs de type quadripolaire**

Le principe de ces analyseurs est d'utiliser la stabilité des trajectoires des ions dans le quadripôle en fonction des tensions qui y sont appliquées pour les séparer selon leur rapport  $m/z$ . Un analyseur quadripolaire, ou quadripôle, est constitué de 4 barres de section hyperbolique. Les barres sont connectées électriquement et les barres opposées, distantes de  $2r_0$ , sont de même polarité. A chaque paire de barres, on applique un courant continu,  $U$ , et une radio-fréquence,  $V\cos(\Omega t)$ , où  $V$  est l'amplitude maximale et  $\Omega$  la fréquence angulaire de la radio-fréquence.



**Figure D :** Représentation d'un analyseur quadripolaire

Les ions sont extraits de la source d'ionisation et propulsés dans l'analyseur par application d'une tension d'accélération. Les ions cheminant suivant l'axe  $z$  sont soumis à l'influence d'un champ électrique total  $\Phi_0$  constitué d'un champ alternatif quadripolaire superposé à un champ constant résultant de l'application sur les barres des potentiels :

$$\Phi_0 = \pm(U \pm V \cos \Omega t) \quad (3)$$

Les ions accélérés suivant l'axe  $z$  pénètrent entre les barres du quadripôle et conservent leur vitesse suivant cet axe. Mais ils sont soumis suivant  $x$  et  $y$  aux accélérations résultantes des forces dues aux champs électriques suivantes :

$$F_x = ma = m \frac{d^2x}{dt^2} = -ze \frac{\delta \Phi}{dx} \quad \text{et} \quad F_y = ma = m \frac{d^2y}{dt^2} = -ze \frac{\delta \Phi}{dy} \quad (4)$$

où  $m$  est la masse de l'ion,  $ze$  sa charge et  $a$  l'accélération.

Par un changement de variable,

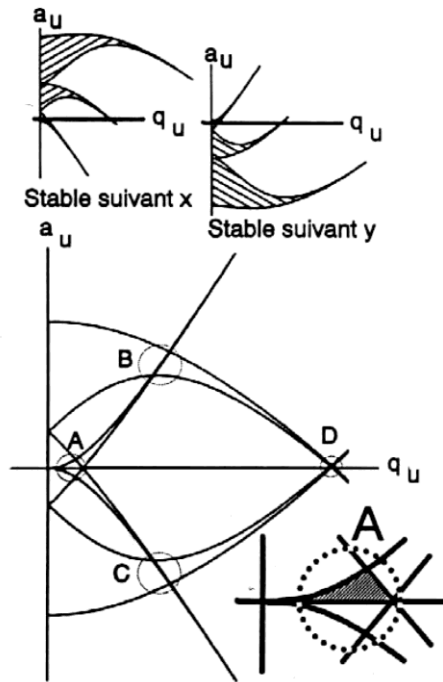
$$\begin{aligned} \bullet \quad u = x \text{ ou } y & \quad \bullet \quad \xi = \frac{\Omega t}{2} & \quad \bullet \quad a_u = \frac{8zeU}{mr_0^2 \Omega^2} & \quad \bullet \quad q_u = \frac{4zeV}{mr_0^2 \Omega^2} \end{aligned}$$

on obtient des équations différentielles connues sous le nom d'équations de Mathieu:

$$\frac{d^2u}{d\xi^2} + (a_u - 2q_u \cdot \cos 2\xi) \cdot u = 0 \quad (5)$$

Les équations de Mathieu décrivent le mouvement des ions car elles établissent une relation entre les coordonnées d'un ion et le temps. Tant que simultanément  $x$  et  $y$ , qui mesurent la distance de l'ion par rapport au centre des barres, restent inférieurs à  $r_0$ , l'ion pourra traverser le quadripôle sans toucher les barres. Sinon, il s'y décharge et ne sera pas détecté.

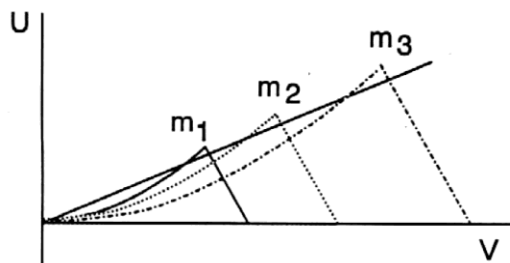
Dans un diagramme de coordonnées  $(a_u, q_u)$ , on peut représenter pour un ion de rapport  $m/z$  donné les zones de valeurs de  $U$  et  $V$  telles que  $x$  et  $y$  n'atteignent pas, au cours du temps, des valeurs supérieures ou égales à  $r_0$ . C'est le diagramme de stabilité d'un ion  $m/z$ .



**Figure E :** Zones de stabilité dans un analyseur quadripolaire selon  $x$  ou  $y$

La partie de la zone A où  $U$  (i.e.  $a_u$ ) est positive est la zone de stabilité exploitée dans les spectromètres de masse.

En examinant les équations qui définissent les paramètres  $a_u$  et  $q_u$ , on remarque que passer d'une masse  $m$  à une autre revient à diviser proportionnellement  $a_u$  et  $q_u$ , ce qui revient à changer les proportions du dessin. Donc, la partie de la zone A utilisée, qui est une sorte de triangle, évoluera d'une masse à l'autre, comme des triangles semblables. La Figure précédente montre ces zones de stabilité, tracées dans un repère  $(U, V)$ .



**Figure F :** Droite de fonctionnement d'un analyseur quadripolaire

D'après la Figure F, on voit qu'en changeant linéairement  $U$  en fonction de  $V$ , on obtient une droite d'opération qui permet d'observer séparément les ions. Cela signifie que si on modifie les valeurs de  $U$  et  $V$  tout en maintenant le rapport  $U/V$  constant, on amène séquentiellement des ions de différentes masses dans leur zone de stabilité. Par conséquent, ce balayage  $U/V$  permet la séparation des ions selon leur masse.

En utilisant cette droite de fonctionnement  $U/V = \text{constante}$ , il apparaît que les ions de masse  $m_1$  auront une trajectoire stable dans des conditions où les trajectoires des ions de masse  $m_2$  et  $m_3$  ne seront pas stables. Les ions de masse  $m_1$  seront résolus de leurs voisins.

Si la pente de la droite d'opération diminue, la droite coupe des sections plus grandes des domaines de stabilité et par conséquent, le nombre d'ions qui peuvent atteindre le détecteur augmente : la sensibilité est meilleure. Mais les ions de masse  $m_1$  seront amenés dans leur zone de stabilité dans des conditions où la trajectoire des ions  $m_2$  pourra être stable également. On appauvrit la résolution puisque des ions  $m_1$  et des ions  $m_2$  arriveront en même temps au détecteur sans être séparés. L'amélioration de la transmission, et donc de la sensibilité, dans un quadripôle se fait toujours au détriment de la résolution. La meilleure résolution sera atteinte avec une droite d'opération de forte pente qui coupe la région de stabilité de chaque ion à son sommet. Dans ce cas, les conditions de transmission des ions sont sévères et résultent en une faible sensibilité. A l'inverse, si on maintient la valeur de  $U$  nulle, la résolution sera nulle mais tous les ions seront transmis dès lors qu'une tension  $V$  est appliquée. C'est le mode « RF only » (radio-fréquence pure), très utilisé dans le cadre de couplage de plusieurs analyseurs où le rôle d'un des quadripôles est la transmission totale des ions.

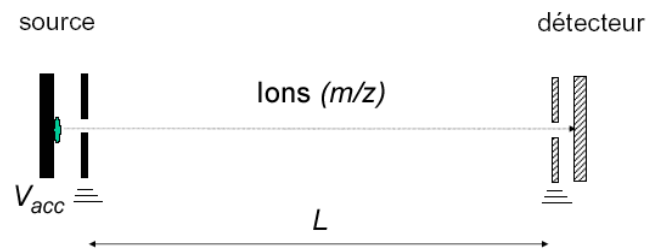
Par ailleurs, c'est un faisceau d'ions qui sort de la source, donc la position initiale de chaque ion qui entre dans le quadripôle est différente (dispersion géographique). De plus, des ions de différentes masses vont acquérir des vitesses différentes lorsqu'ils sont accélérés : les ions les plus gros sont les plus lents (dispersion des vitesses). Tout cela impose des limites pratiques à la résolution et on considère l'analyseur quadripolaire comme un analyseur à basse résolution (résolution unitaire).

L'analyseur de type quadripolaire est peu coûteux, robuste et sa faible taille (de quelques cm à quelques dizaines de cm) permet la fabrication d'instruments de paillasse. Il possède une haute transmission, donc une bonne sensibilité, et permet de grandes vitesses de balayage, avantages très appréciables en couplage avec la chromatographie en phase gazeuse ou liquide. En revanche, ses performances résolutive, en mesure de masse exactes (100 ppm) et en gamme de masse analysable ( $m/z < 3000$ ) sont plus limitées.

➤ **Les analyseurs de type temps de vol (TOF)**

Dans l'analyseur TOF, les ions sont séparés en fonction de leur vitesse lorsqu'ils se déplacent sous vide dans un tube de vol. La séparation dans un analyseur à temps de vol repose sur le fait que des ions de masse différente, accélérés à une énergie cinétique uniforme, ont des vitesses différentes, et donc un temps de vol différent pour parcourir une distance donnée.

Les ions sont expulsés de la source par paquets. Ils sont accélérés sous une différence de potentiels  $V_{acc}$  et parcourent une distance  $L$  pour arriver au détecteur.



**Figure G :** Principe du temps de vol (TOF) en mode linéaire

En sortie de source, un ion de masse  $m$  et de charge totale  $q=ze$  soumis à  $V_{acc}$  aura une énergie cinétique égale à :

$$\frac{1}{2}mv^2 = q V_{acc} \quad (6)$$

La vitesse moyenne de chaque ion est ainsi inversement proportionnelle à la racine carrée du rapport  $m/z$  de l'ion considéré :

$$v = \sqrt{\frac{2 V_{acc}}{m / ze}} \quad (7)$$

L'ion parcourt la distance  $L$  dans le tube de vol en un temps  $t$  tel que :

$$t^2 = \frac{m}{ze} \frac{L^2}{2V_{acc}} \quad (8)$$

où  $t$  représente le temps de vol de l'ion et  $V_{acc}$  la tension d'accélération fournie.

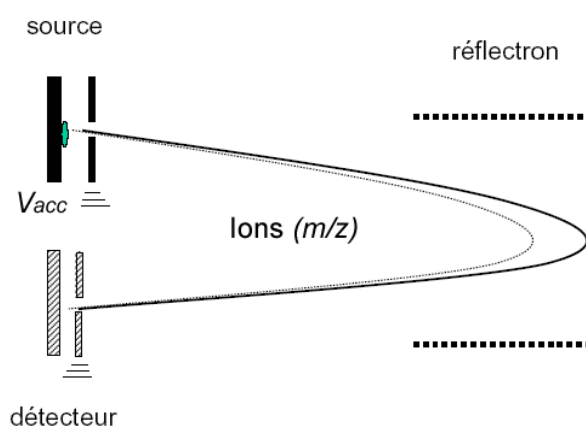
La mesure de  $t^2$  permet d'accéder au rapport  $m/z$ , les autres termes de l'équation étant connus. Les ions de rapport  $m/z$  les plus petits arriveront donc les premiers au détecteur. Le spectre est obtenu en mesurant le signal enregistré par le détecteur comme une fonction intensité =  $f$  (temps) pour chaque paquet d'ions émis. Comme tous les ions sont détectés, les analyseurs TOF utilisés en mode linéaire ont une très haute sensibilité.

**(i) Mode linéaire vs mode réflectron**

Les ions d'un même rapport  $m/z$  vont atteindre le détecteur avec une distribution des temps d'arrivée, due à de multiples effets :

- une dispersion temporelle caractérisée par une incertitude sur l'instant de formation des ions,
- une dispersion géographique induite par une distribution de positions des ions dans le champ d'extraction,
- une dispersion des vitesses issue d'énergies cinétiques initiales différentes (malgré l'utilisation de l'extraction retardée).

Tous ces effets vont altérer le pouvoir résolutif de l'analyseur. Pour compenser la dispersion initiale en énergie cinétique des ions (qui engendre l'effet le plus important), la méthode de focalisation la plus efficace est basée sur l'utilisation d'un réflectron qui est un miroir électrostatique formé d'une série d'anneaux ou de grilles de potentiels croissants à l'extrémité du tube de vol, et qui impose un champ électrique s'opposant à la progression des ions.



**Figure H :** Principe du temps de vol (TOF) en mode réflectron

Ce champ électrostatique opposé au mouvement des ions reflète les ions dans un deuxième tube de vol vers un deuxième détecteur. Les ions qui ont le même rapport  $m/z$  mais des énergies cinétiques plus élevées vont pénétrer plus profondément dans le réflectron, ce qui retarde leur arrivée au deuxième détecteur : ils parcourent un trajet plus long. A l'inverse, les ions de plus faible énergie cinétique vont faire « demi-tour » plus tôt : leur retard est compensé par un trajet plus court à effectuer. Il y a ainsi focalisation du faisceau d'ions et tous les ions de même rapport  $m/z$  arriveront finalement au détecteur dans un laps de temps  $\Delta t$  plus court, d'où une meilleure résolution.

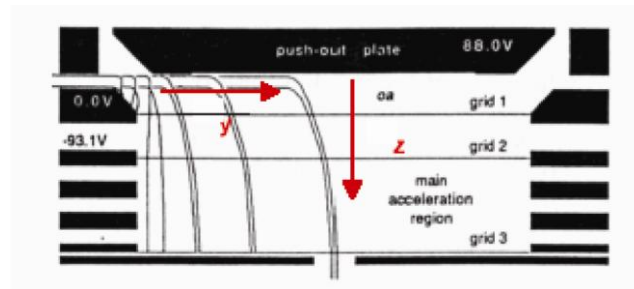
La focalisation de tous les ions de même rapport  $m/z$  permet aussi d'observer les ions métastables issus de la dissociation dans le tube de vol de certains ions ayant accumulé suffisamment d'énergie interne pour se fragmenter. Ces ions métastables ne peuvent être observés en mode linéaire puisqu'ils sont générés dans le tube de vol et gardent la même vitesse que l'ion précurseur. En revanche, le mode réflectron permet leur distinction car il implique leur focalisation énergétique. Cette dégradation en vol appelée dégradation post-source (PSD pour « Post-Source Decay ») permet ainsi d'observer et d'identifier les ions fragments issus de la dégradation des molécules de polymère ionisées dans la source et donne accès à des informations structurales complémentaires.

### ***(ii) L'injection orthogonale***

Les analyseurs de type temps de vol sont préférentiellement adaptés aux méthodes d'ionisation pulsées comme le MALDI, le tir laser donnera alors le temps de départ pour la mesure du temps. L'injection orthogonale des ions dans un tube de vol a été développée pour transférer efficacement des ions depuis un faisceau continu, comme typiquement produit dans des sources electrospray, vers un analyseur de masse qui opère en mode pulsé.<sup>152, 153</sup> En effet, le faisceau d'ions produit en electrospray présente une large distribution de position dans la direction de propagation des ions. Une forte accélération de ces ions, perpendiculairement à leur direction de propagation initiale, fait disparaître les effets de cette distribution.

L'injection se déroule alors selon deux processus, l'un continu, l'autre pulsé dans un « modulateur ».





**Figure I :** Système d'injection orthogonale

La source délivre de façon continue des ions de faible énergie cinétique (quelques dizaines d'eV) dans la direction  $y$ . Les ions sont ensuite accélérés à l'intérieur du modulateur jusqu'à un niveau d'énergie donné. Puis, l'application d'une tension pendant un bref instant sur la plaque du modulateur, entraîne l'éjection d'un paquet d'ions vers l'analyseur dans la direction  $z$ , donnant le départ de la mesure du temps de vol. Les impulsions sont généralement délivrées à une fréquence de quelques kHz (ce qui laisse un temps de vol maximum de plusieurs centaines de  $\mu\text{s}$  entre deux impulsions).

La distribution en vitesse des ions issus de la source dans la direction  $y$  est à l'origine de pertes d'ions par défaut de focalisation avant leur entrée dans le modulateur et de dispersion en énergie et en position du paquet d'ions pulsé (qui est fonction du rapport  $m/z$ ). Pour limiter ces effets et obtenir un faisceau d'ions aussi fin que possible, un quadripôle fonctionnant en mode radio-fréquence et contenant un gaz à une pression de l'ordre de 1 Pa de manière à ralentir plus ou moins les ions par collisions multiples est généralement interposé entre la source et le modulateur. Cette focalisation spatiale et en vitesse des ions suivant  $y$  et  $z$ , par refroidissement collisionnel, permet de conserver une résolution élevée.

Cependant, lorsque des ions d'états de charge différents sont produits simultanément dans la source d'ionisation, ils sont accélérés à des énergies différentes à leur entrée dans le modulateur puisque cette énergie cinétique dépend de la charge de l'ion ( $E_c = zV$ , avec  $V$  la tension d'accélération). Ainsi, bien que ces ions soient tous soumis au refroidissement collisionnel, des molécules multichargées présentent une composante de vitesse selon  $y$  très grande devant les composantes de vitesse dans d'autres directions (composantes désordonnées) et sont donc focalisés dans un faisceau beaucoup plus fin que celui des molécules simplement chargées. La justesse des mesures de masse exactes d'un ion donné requiert par conséquent l'utilisation d'ions de référence en étalonnage interne de même état de charge que l'ion analyte.

### ***Annexe 3 : Description de l'algorithme DECRA***

Le spectre d'un mélange peut être considéré comme une combinaison linéaire des spectres des composés purs constituant le mélange, pondérés par la concentration respective de chacun. Les données RMN PGSE/DOSY peuvent alors s'écrire sous forme matricielle telles que :

$$\mathbf{D} = \mathbf{C}\mathbf{P}^T$$

où  $\mathbf{D}$  est une matrice de taille  $nm$  contenant  $n$  spectres de  $m$  points chacun,  $\mathbf{C}$  est une matrice de taille  $nr$  contenant les profils de concentration des  $r$  composés purs et  $\mathbf{P}$  une matrice de taille  $mr$  contenant les spectres des  $r$  composés purs. L'exposant  $\mathbf{T}$  indique la matrice transposée. Chaque ligne de  $\mathbf{D}$  correspond donc à un spectre et chaque colonne à l'intensité du signal pour chaque valeur de fréquence de résonance. De la même façon chaque ligne de la matrice  $\mathbf{P}^T$  correspond au spectre d'un composé pur, et celles de la matrice  $\mathbf{C}$  aux  $r$  profils de concentration des  $n$  spectres.

Cette équation matricielle possède une solution triviale dans le cas où les spectres des composés purs sont connus. Dans le cas des expériences PGSE/DOSY où la matrice  $\mathbf{P}$  n'est pas connue, il existe une infinité de solutions. L'utilisation de contraintes telles que la positivité des concentrations peut être envisagée pour résoudre le problème, mais restent toutefois limitée. Kubista a montré qu'il est possible d'obtenir une solution unique à cette équation dans le cas où l'on dispose de deux jeux de données proportionnelles telles que :

$$\mathbf{A} = \mathbf{C}\mathbf{P}^T$$

$$\mathbf{B} = \mathbf{C}\beta\mathbf{P}^T$$

où  $\beta$  est une matrice diagonale de taille  $rr$  qui définit le facteur de proportionnalité entre les deux jeux de données  $\mathbf{A}$  et  $\mathbf{B}$ . Booksh et Kowalski ont montré par la suite que la méthode de Kubista peut s'exprimer de manière à être résolue analytiquement par la méthode GRAM (Generalized Rank Annihilation Method). Winding et Antalek ont proposé une façon originale d'obtenir les deux jeux de données nécessaires au cours d'une expérience PGSE/DOSY pour laquelle l'échantillonnage des  $N$  valeurs de gradients de champs magnétique  $g$  est quadratique (incrément constant de  $g^2$ ). L'intensité du signal variant de manière exponentielle avec le gradient au carré, deux jeux de données proportionnelles peuvent être obtenus en utilisant les spectres 1 à  $N-1$  puis 2 à  $N$  de l'expérience PGSE/DOSY, donnant naissance à l'algorithme DECRA. Cette approche permet de ne pas augmenter le temps d'acquisition des données et de réduire le risque de distorsion spectrale puisque toutes les données viennent de la même expérience.

## ***Annexe 4 : Analyse de la séquence de mesure de $T_2$ à l'aide des opérateurs produits***

Si l'on considère le cas de deux spins faiblement couplés A et X, le signal RMN peut être décrit à l'aide de la théorie des opérateurs produits. L'Hamiltonien des deux spins A et X s'écrit :

$$\hat{H}_{AX} = \omega_A \hat{I}_{Az} + \omega_X \hat{I}_{Xz} + \pi J 2 \hat{I}_{Az} \hat{I}_{Xz}$$

où  $\omega_A$  et  $\omega_X$  sont les fréquences de résonance des noyaux A et X,  $J$  la constante de couplage scalaire. Si l'on considère les cohérences à  $\pm 1$  quantum avant la première période d'évolution libre  $\tau/2$ , l'opérateur densité initial s'écrit :

$$\hat{\rho}_0 = \hat{I}_{Ax} + \hat{I}_{Xx}$$

Avant toute chose, on remarque que nous sommes en présence d'un écho de spin, pour lequel l'impulsion RF  $180^\circ$  refocalise l'évolution du déplacement chimique. Par conséquent, seule l'évolution liée au couplage scalaire doit être prise en compte. Ainsi, durant le premier délai d'évolution  $\tau/2$ , les cohérences à  $\pm 1$  quantum évoluent selon l'influence du couplage scalaire et, à la fin de cette période, l'opérateur densité peut donc s'écrire :

$$\hat{\rho}_0 \xrightarrow{2\pi J \frac{\tau}{2} \hat{I}_{Az} \hat{I}_{Xz}} \cos\left(\pi J \frac{\tau}{2}\right) (\hat{I}_{Ax} + \hat{I}_{Xx}) + \sin\left(\pi J \frac{\tau}{2}\right) (2\hat{I}_{Ay} \hat{I}_{Xz} + 2\hat{I}_{Xy} \hat{I}_{Az})$$

La première des deux impulsions à  $90^\circ$  centrales génère des termes ZQ et DQ tel que :

$$-\cos\left(\pi J \frac{\tau}{2}\right) (\hat{I}_{Az} + \hat{I}_{Xz}) + \sin\left(\pi J \frac{\tau}{2}\right) (2\hat{I}_{Ay} \hat{I}_{Xx} + 2\hat{I}_{Ax} \hat{I}_{Xy})$$

où le terme en cosinus est une cohérence purement ZQ et le terme en sinus purement DQ. Un cyclage de phase approprié au niveau de la seconde impulsion RF  $90^\circ$  permet de sélectionner soit le terme ZQ soit le terme DQ. Après conversion en aimantation détectable durant le second délai d'évolution  $\tau/2$ , on obtient :

$$S_{ZQ}(\tau) = \cos^2\left(\pi J \frac{\tau}{2}\right) \quad S_{DQ}(\tau) = \sin^2\left(\pi J \frac{\tau}{2}\right)$$

# ***Annexe 5 : Productions scientifiques associées à ces travaux de thèse***

## **1. Articles dans des revues internationales à comité de lecture :**

[1] *Solid State Nuclear Magnetic Resonance as a Tool to Explore Solvent-Free MALDI Samples*  
H. Pizzala, C. Barrère, M. Mazarin, F. Ziarelli, L. Charles, Journal of American Society for Mass Spectrometry **2009**, 20, 10, 1906-1911.

[2] *Molecular Weight Determination of Block Copolymers by Pulsed Gradient Spin Echo NMR*  
C. Barrère, M. Mazarin, R. Giordanengo, T. N. T. Phan, A. Thévand, S. Viel, L. Charles, Analytical Chemistry **2009**, 81,19, 8054–8060.

[3] *A convenient method for the measurements of accurate transverse relaxation rates in homonuclear scalar coupled spin systems*  
C. Barrère, P. Thureau, A. Thévand, S. Viel, Chemical Communication, 2011, DOI: 10.1039/C1CC13042K

## **2. Communications scientifiques**

### **2.1 Congrès Internationaux**

#### **2.1.1 Communications orales**

{1} *Molecular weight determination of block copolymers using Diffusion Ordered Spectroscopy*  
C. Barrère, S. Viel, A. Thévand, T. N. T. Phan, L. Charles  
5<sup>th</sup> International Symposium on the Separation and Characterization of Natural and Synthetic Macromolecules – Amsterdam, Pays-Bas – 26-28/01/2011

{2} *MALDI Mass Spectrometry of synthetic polymers with fragile end-groups*  
V. Monnier, C. Chendo, C. Barrère, T. Trimaille, T. N. T. Phan, D. Gimes, S. Viel, L. Charles  
5<sup>th</sup> International Symposium on the Separation and Characterization of Natural and Synthetic Macromolecules – Amsterdam, Pays-Bas – 26-28/01/2011

#### **2.1.2 Communications par affiche**

(1) *Solid State Nuclear Magnetic Resonance as a Tool to Explore MALDI Samples*  
C. Barrère, H. Pizzala, M. Mazarin, F. Ziarelli, L. Charles  
58<sup>th</sup> ASMS Conference on Mass Spectrometry – Salt Lake City, Utah – 23-27/05/2010

(2) *Quantitative Aspects of PGSE Experiments*  
C. Barrère, P. Thureau, S. Viel  
World Wide Magnetic Resonance 2010 – Florence, Italie – 4-9/07/2010

(3) *Applications of diffusion ordered NMR spectroscopy for the investigation of polymers*  
C. Barrère, R. Giordanengo, P. Thureau, S. Viel, A. Thévand, L. Charles

5<sup>th</sup> International Symposium on the Separation and Characterization of Natural and Synthetic Macromolecules – Amsterdam, Pays-Bas – 26-28/01/2011

(4) *Global analytical strategy for achieving quantitative Pulsed Gradient Spin Echo data*

C. Barrère, P. Thureau, S. Viel

52<sup>nd</sup> Experimental Nuclear Magnetic Resonance Conference (ENC) – Pacific Grove, Californie – 10-15/04/2011

(5) *Towards J-Modulation Suppression in Transverse Relaxation Time Measurements*

C. Barrère, P. Thureau, S. Viel

52<sup>nd</sup> Experimental Nuclear Magnetic Resonance Conference (ENC) – Pacific Grove, Californie – 10-15/04/2011

(6) MALDI mass spectrometry of poly(ethylene oxide) homopolymers functionalized with labile nitroxide end-group

C. Barrère, V. Monnier, C. Chendo, T. Trimaille, T. Phan, D. Gignes, S. Viel, S. Humbel, L. Charles

59<sup>th</sup> ASMS Conference on Mass Spectrometry – Denver, Colorado – 05-09/05/2010

## 2.2 Congrès nationaux

### 2.2.1 Communications orales

{3} *Molecular weight Determination of block copolymers by Pulsed Gradient Spin Echo NMR*

C. Barrère, M. Mazarin, R. Giordanengo, T. N. T. Phan, A. Thévand, S. Viel, L. Charles

Journée RMN du Grand Sud-Est – Marseille, France – 16/10/2009

### 2.2.2 Communications par affiche

(7) *Détermination de la masse de polymères synthétiques par RMN et Spectrométrie de Masse*

C. Barrère, M. Mazarin, S. Viel, A. Thévand, L. Charles

21<sup>ème</sup> Journée de la Chimie SFC PACA – Marseille, France – 16/04/2009

(8) *Résonance Magnétique Nucléaire à l'état solide, un outil pour l'exploration des dépôts MALDI*

H. Pizzala, C. Barrère, M. Mazarin, F. Ziarelli, L. Charles

26<sup>èmes</sup> Journées Françaises de Spectrométries de Masse et Analyse Protéomique (SMAP) – Dijon, France – 13-17/09/2009

(9) *Role of divalent cations in the fragmentation of SG1 terminated Poly(Ethylene Oxyde)*

C. Barrère, S. Humbel, L. Charles

27<sup>èmes</sup> Journées Françaises de Spectrométries de Masse – Clermont-Ferrand, France – 13-16/09/2010

(10) *MALDI-MS of synthetic polymers with labile end-groups: a new approach*

V. Monnier, C. Chendo, T. Trimaille, C. Barrère, S. Viel, D. Gignes, L. Charles

27<sup>èmes</sup> Journées Françaises de Spectrométries de Masse – Clermont-Ferrand, France – 13-16/09/2010

## ***Bibliographie***

1. Stevens, M. P., *Polymer Chemistry an introduction*. 3 ed.; Oxford University Press: New York, 1999;
2. *Polymer Characterization*. AMERICAN CHEMICAL SOCIETY: 1983;
3. *Polymer Characterization*. Springer: 1992;
4. Provder, T., *Chromatography of Polymers (ACS Symposium Series, #521): Characterization by SEC and FFF* An American Chemical Society Publication: 1993;
5. Mirau, P. A., *A practical guide to understanding the NMR of polymer materials*. John Wiley & Sons: New Jersey, 2005;
6. Montaudo, G.; Lattimer, R. P., *Mass Spectrometry of Polymers*. CRC PRESS: 2002;
7. Odian, G., *Principles of Polymerization*. 4 ed.; John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, New Jersey, 2004;
8. Thang, S. H.; Chong, Y. K.; Mayadunne, R. T. A.; Moad, G.; Rizzardo, E., A novel synthesis of functional dithioesters, dithiocarbamates, xanthates and trithiocarbonates. *Tetrahedron Letters* **1999**, 40, (12), 2435-2438.
9. Patten, T. E.; Xia, J. H.; Abernathy, T.; Matyjaszewski, K., Polymers with very low polydispersities from atom transfer radical polymerization. *Science* **1996**, 272, (5263), 866-868.
10. Solomon, D. H.; Rizzardo, E.; Cacioli, P. European patent application EP19840304756 19840711, 135, 280, 1985.
11. Grimaldi, S.; Le Moigne, F.; Finet, J. P.; Tordo, P. . PCT International Patent Application, CA19962185164 19960202, 1996.
12. Singh, M.; Odusanya, O.; Wilmes, G. M.; Eitouni, H. B.; Gomez, E. D.; Patel, A. J.; Chen, V. L.; Park, M. J.; Fragouli, P.; Iatrou, H.; Hadjichristidis, N.; Cookson, D.; Balsara, N. P., Effect of Molecular Weight on the Mechanical and Electrical Properties of Block Copolymer Electrolytes. *Macromolecules* **2007**, 40, (13), 4578-4585.
13. Girod, M.; Phan, T. N. T.; Charles, L., Microstructural study of a nitroxide-mediated poly(ethylene oxide)/polystyrene block copolymer (PEO-b-PS) by electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **2008**, 19, (8), 1163-1175.
14. Rempp, P.; Merrill, E. W., *Polymer Synthesis*. 2nd ed: Hüthig-Wepf, Basel: 1991;
15. Wesdemiotis, C.; Solak, N.; Polce, M. J.; Dabney, D. E.; Chaicharoen, K.; Katzenmeyer, B. C., Fragmentation pathways of polymer ions. *Mass Spectrometry Reviews*, 2011, 30, 523– 559.
16. S. Braun, H. O. K., S. Berger, *150 and More Basic NMR Experiments*. Wiley-VCH: Weinheim, 1998;

17. Rinaldi, P. L., Three-dimensional solution NMR spectroscopy of complex structures and mixtures. *Analyst* **2004**, 129, (8), 687-699.
18. Sato, H.; Ichieda, N.; Tao, H.; Ohtani, H., Data processing method for the determination of accurate molecular weight distribution of polymers by SEC/MALDI-MS. *Analytical Sciences* **2004**, 20, (9), 1289-1294.
19. Tonelli, A. E., *NMR Spectroscopy and Polymer Microstructure: The Conformational Connection*. Wiley-VCH: New York 1989;
20. Bozanko, A.; Carswell, W. D.; Hutchings, L. R.; Richards, R. W., Synthesis of [alpha],[omega]-macrozwitterionic polymers. End group analysis by SEC. *Polymer* **2000**, 41, (23), 8175-8182.
21. Vanthoff, J. H., The Role of Osmotic-Pressure in the Analogy between Solutions and Gases (Reprinted from *Zeitschrift Fur Physikalische Chemie*, Vol 1, Pg 481, 1887). *Journal of Membrane Science* **1995**, 100, (1), 39-44.
22. McMillan, J. W. G.; Mayer, J. E., The Statistical Thermodynamics of Multicomponent Systems. *The Journal of Chemical Physics* **1945**, 13, (7), 276-305.
23. Lapienis, G.; Penczek, S., Reaction of oligoalcohol with diepoxides: An easy, one-pot way to star-shaped, multibranching polymers. II. Poly(ethylene oxide) Stars - Synthesis and analysis by size exclusion chromatography triple-detection method. *Journal of Polymer Science Part A-Polymer Chemistry* **2004**, 42, (7), 1576-1598.
24. Gotz, H.; Maschke, U.; Wagner, T.; Rosenauer, C.; Martin, K.; Ritz, S.; Ewen, B., Comparison of different methods for the determination of the molar mass and molar mass distribution of poly(ethylmethylsiloxane). *Macromolecular Chemistry and Physics* **2000**, 201, (12), 1311-1316.
25. Svedberg, T.; Pedersen, K. O., *The Ultracentrifuge*. Oxford University Press: London, U.K., 1940;
26. Michels, J. J.; O'Connell, M. J.; Taylor, P. N.; Wilson, J. S.; Cacialli, F.; Anderson, H. L., Synthesis of conjugated polyrotaxanes. *Chemistry-a European Journal* **2003**, 9, (24), 6167-6176.
27. Schärfl, W., *Light scattering from polymer solutions & nanoparticle dispersions*. 1st ed.; Springer: 2007;
28. Zimm, B. H., The Scattering of Light and the Radial Distribution Function of High Polymer Solutions. *The Journal of Chemical Physics* **1948**, 16, (12), 1093-1099.
29. Guttman, C. M.; Wetzel, S. J.; Blair, W. R.; Fanconi, B. M.; Girard, J. E.; Goldschmidt, R. J.; Wallace, W. E.; VanderHart, D. L., NIST-sponsored interlaboratory comparison of polystyrene molecular mass distribution obtained by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry: Statistical analysis. *Analytical Chemistry* **2001**, 73, (6), 1252-1262.
30. Ji, H. N.; Sato, N.; Nakamura, Y.; Wan, Y. N.; Howell, A.; Thomas, Q. A.; Storey, R. F.; Nonidez, W. K.; Mays, J. W., Characterization of polyisobutylene by matrix-assisted laser Desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Macromolecules* **2002**, 35, (4), 1196-1199.
31. Xie, T.; Penelle, J.; Verraver, M., Experimental investigation on the reliability of routine SEC-MALLS for the determination of absolute molecular weights in the oligomeric range. *Polymer* **2002**, 43, (14), 3973-3977.
32. Trathnigg, B., *Size-Exclusion Chromatography of Polymers in Encyclopedia of Analytical Chemistry*. R.A. Meyers ed.; John Wiley & Sons Ltd: Chichester, 2000;

- 33.Thijs, H. M. L.; Meier, M. A. R.; Schubert, U. S., Application possibilities of preparative size exclusion chromatography to analytical problems in polymer science. *e-Polymers* **2007**, 46, 1-7.
- 34.Lepoittevin, B.; Dourges, M. A.; Masure, M.; Hemery, P.; Baran, K.; Cramail, H., Synthesis and Characterization of Ring-Shaped Polystyrenes. *Macromolecules* **2000**, 33, (22), 8218-8224.
- 35.Arikan, B.; Stadler, F. J.; Kaschta, J.; Munstedt, H.; Kaminsky, W., Synthesis and characterization of novel ethene-graft-ethene/propene copolymers. *Macromolecular Rapid Communications* **2007**, 28, (14), 1472-1478.
- 36.Bender, J. T.; Knauss, D. M., Synthesis of low polydispersity polybutadiene and polyethylene stars by convergent living anionic polymerization. *Journal of Polymer Science Part a-Polymer Chemistry* **2006**, 44, (2), 828-836.
- 37.Bootz, A.; Russ, T.; Gores, F.; Karas, M.; Kreuter, J., Molecular weights of poly(butyl cyanoacrylate) nanoparticles determined by mass spectrometry and size exclusion chromatography. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **2005**, 60, (3), 391-399.
- 38.Rader, H. J.; Spickermann, J.; Kreyenschmidt, M.; Mullen, K., MALDI-TOF mass spectrometry in polymer analytics .2. Molecular weight analysis of rigid-rod polymers. *Macromolecular Chemistry and Physics* **1996**, 197, (10), 3285-3296.
- 39.Wu, K. J.; Odom, R. W., Characterizing synthetic polymers by MALDI MS. *Analytical Chemistry* **1998**, 70, (13), 456A-461A.
- 40.Choi, J.; Kim, I. K.; Kwak, S. Y., Synthesis and characterization of a series of star-branched poly(epsilon-caprolactone)s with the variation in arm numbers and lengths. *Polymer* **2005**, 46, (23), 9725-9735.
- 41.Katasonova, O. N.; Fedotov, P. S., Methods for continuous flow fractionation of microparticles: Outlooks and fields of application. *Journal of Analytical Chemistry* **2009**, 64, (3), 212-225.
- 42.Gunderson, J. J.; Giddings, J. C., Chemical composition and molecular-size factors in polymer analysis by thermal field-flow fractionation and size exclusion chromatography. *Macromolecules* **1986**, 19, (10), 2618-2621.
- 43.Kulicke, W.-M.; Clasen, C., *Viscosimetry of Polymers and Polyelectrolytes*. Springer: Germany, 2004;
- 44.Kurata, M.; Tsunashima, Y., *Polymer Handbook*. in J. Brandrup and E. H. Immergut, 3rd ed.; Wiley-Interscience: New York, 1989;
- 45.Callaghan, P. T., *Principles of Nuclear Magnetic Resonance Microscopy*. Oxford University Press ed.; New York, 1991;
- 46.Canet, D., Radiofrequency field gradient experiments. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy* **1997**, 30, (1-2), 101-135.
- 47.Johnson, C. S., Diffusion ordered nuclear magnetic resonance spectroscopy: principles and applications. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy* **1999**, 34, (3-4), 203-256.
- 48.Stilbs, P., Fourier transform pulsed-gradient spin-echo studies of molecular diffusion. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy* **1987**, 19, (1), 1-45.
- 49.Price, W. S., *NMR Studies of Translational Motion, Principles and Applications*. Cambridge, 2009;



50. Stejskal, E. O.; Tanner, J. E., Spin Diffusion Measurements: Spin Echoes in the Presence of a Time-Dependent Field Gradient. *The Journal of Chemical Physics* **1965**, 42, (1), 288-292.
51. Groves, P.; Rasmussen, M. O.; Molero, M. D.; Samain, E.; Canada, F. J.; Driguez, H.; Jimenez-Barbero, J., Diffusion ordered spectroscopy as a complement to size exclusion chromatography in oligosaccharide analysis. *Glycobiology* **2004**, 14, (5), 451-456.
52. Chen, A.; Wu, D.; Johnson, C. S., Jr., Determination of molecular weight distributions for polymers by diffusion ordered NMR. *Journal of the American Chemical Society* **1995**, 117, 7965-7970.
53. Bovey, F. A., *Chain Structure and Conformation of Macromolecules* Academic Press: New York, 1982;
54. Hakansson, B.; Nyden, M.; Soderman, O., The influence of polymer molecular-weight distributions on pulsed field gradient nuclear magnetic resonance self-diffusion experiments. *Colloid and Polymer Science* **2000**, 278, (5), 399-405.
55. Kerssebaum, R., (*NMR Application Lab*) *Users Guide: DOSY and Diffusion by NMR* Bruker Biospin GmbH, Rheinstetten, Germany, 2002;
56. Tanner, J. E.; Liu, K.-J.; Anderson, J. E., Proton Magnetic Resonance Self-Diffusion Studies of Poly(ethylene oxide) and Polydimethylsiloxane Solutions. *Macromolecules* **1971**, 4, (5), 586-588.
57. Esturau, N.; Sanchez-Ferrando, F.; Gavin, J. A.; Roumestand, C.; Delsuc, M. A.; Parella, T., The use of sample rotation for minimizing convection effects in self-diffusion NMR measurements. *Journal of Magnetic Resonance* **2001**, 153, (1), 48-55.
58. Jerschow, A.; Müller, N., Suppression of Convection Artifacts in Stimulated-Echo Diffusion Experiments. Double-Stimulated-Echo Experiments. *Journal of Magnetic Resonance* **1997**, 125, (2), 372-375.
59. Jerschow, A.; Müller, N., Convection Compensation in Gradient Enhanced Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *Journal of Magnetic Resonance* **1998**, 132, (1), 13-18.
60. Hayamizu, K.; Price, W. S., A new type of sample tube for reducing convection effects in PGSE-NMR measurements of self-diffusion coefficients of liquid samples. *Journal of Magnetic Resonance* **2004**, 167, (2), 328-333.
61. Doi, M.; Edwards, S. F., *The Theory of Polymer Dynamics*. Oxford University Press: New York, 1986;
62. Mazarin, M.; Viel, S.; Allard-Breton, B.; Thevand, A.; Charles, L., Use of pulsed gradient spin-echo NMR as a tool in MALDI method development for polymer molecular weight determination. *Analytical Chemistry* **2006**, 78, (8), 2758-2764.
63. Nuwaysir, L. M. W., C. L.; Simonsick, W. J., Analysis of Copolymers by Laser Desorption Fourier-Transform Mass-Spectrometry. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **1990**, 1, (1), 66-71.
64. Montaudo, G. M., M. S.; Scamporrino, E.; Vitalini, D., Mechanism of Exchange in Polyesters - Composition and Microstructure of Copolymers Formed in the Melt Mixing Process of Poly(Ethylene-Terephthalate) and Poly(Ethylene Adipate). *Macromolecules* **1992**, 25, (19), 5099-5107.

65. Montaudo, M. S. M., G., Further-Studies on the Composition and Microstructure of Copolymers by Statistical Modeling of Their Mass-Spectra. *Macromolecules* **1992**, 25, (17), 4264-4280.
66. Fandrich, N.; Falkenhagen, J.; Weidner, S. M.; Pfeifer, D.; Staal, B.; Thunemann, A. F.; Laschewsky, A., Characterization of New Amphiphilic Block Copolymers of N-Vinyl Pyrrolidone and Vinyl Acetate, 1-Analysis of Copolymer Composition, End Groups, Molar Masses and Molar Mass Distributions. *Macromolecular Chemistry and Physics* **2010** 211, (8), 869-878.
67. Grubisic, Z.; Rempp, P.; Benoit, H., A universal calibration for gel permeation chromatography (Reprinted from Polymer Letters, vol 5, pg 753-759, 1967). *Journal of Polymer Science Part B-Polymer Physics* **1996**, 34, (10), 1707-1713.
68. Sebastian, J. M.; Register, R. A., Block copolymer molecular weight determination via gel permeation chromatography: Choosing a combining rule. *Journal of Applied Polymer Science* **2001**, 82, (8), 2056-2069.
69. Lee, D.; Teraoka, I.; Fujiwara, T.; Kimura, Y., Composition analysis of poly(ethylene glycol)-poly(L-lactide) diblock copolymer studied by two-dimensional column chromatography. *Journal of Chromatography A* **2002**, 966, (1-2), 41-51.
70. Berek, D., Separation of Parent Homopolymers from Diblock Copolymers by Liquid Chromatography under Limiting Conditions of Desorption, 2-Optimization of Experimental Arrangement. *Macromolecular Chemistry and Physics* **2008**, 209, (21), 2213-2222.
71. Hiller, W.; Hehn, M.; Hofe, T.; Oleschko, K., Online Size Exclusion Chromatography-NMR for the Determination of Molar Mass Distributions of Copolymers. *Analytical Chemistry* **2010**, 82, (19), 8244-8250.
72. Hiller, W.; Pasch, H.; Sinha, P.; Wagner, T.; Thiel, J.; Wagner, M.; Mullen, K., Coupling of NMR and Liquid Chromatography at Critical Conditions: A New Tool for the Block Length and Microstructure Analysis of Block Copolymers. *Macromolecules* **2010**, 43, (11), 4853-4863.
73. Girod, M.; Phan, T. N. T.; Charles, L., On-line coupling of liquid chromatography at critical conditions with electrospray ionization tandem mass spectrometry for the characterization of a nitroxide-mediated poly(ethylene oxide)/polystyrene block copolymer. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2008**, 22, (23), 3767-3775.
74. Gruending, T.; Weidner, S.; Falkenhagen, J.; Barner-Kowollik, C., Mass spectrometry in polymer chemistry: a state-of-the-art up-date. *Polymer Chemistry* **2010**, 1, (5), 599-617.
75. Crecelius, A. C.; Baumgaertel, A.; Schubert, U. S., Tandem mass spectrometry of synthetic polymers. *Journal of Mass Spectrometry* **2009**, 44, (9), 1277-1286.
76. Lim, H.; Lee, Y.; Han, S. H.; Yoo, Y.; Kim, K. J., Investigation of polystyrene, polyisoprene, and poly(2-vinylpyridine) using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Bulletin of the Korean Chemical Society* **1999**, 20, (7), 853-856.
77. Scrivens, J. H.; Jackson, A. T.; Yates, H. T.; Green, M. R.; Critchley, G.; Brown, J.; Bateman, R. H.; Bowers, M. T.; Gidden, J., The effect of the variation of cation in the matrix-assisted laser desorption/ionisation collision induced dissociation (MALDI-CID) spectra of oligomeric systems. *International Journal of Mass Spectrometry* **1997**, 165, 363-375.
78. Giordanengo, R.; Viel, S.; Hidalgo, M.; Allard-Breton, B.; Thevand, A.; Charles, L., Analytical Strategy for the Molecular Weight Determination of Random Copolymers of Poly(Methyl

Methacrylate) and Poly(Methacrylic Acid). *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **2010**, 21, (6), 1075-1085.

79.Girod, M.; Mazarin, M.; Phan, T. N. T.; Gimes, D.; Charles, L., Determination of Block Size in Poly(ethylene oxide)-b-polystyrene Block Copolymers by Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Journal of Polymer Science Part a-Polymer Chemistry* **2009**, 47, (13), 3380-3390.

80.Mazarin, M. L'ionsation MALDI de polymères synthétiques en Spectrométrie de Masse. Thèse de doctorat, Université de Provence, Marseille, 2008.

81.Brandrup, J.; Immergut, E. H., *Polymer Handbook*. Wiley: New York, 1989;

82.Von Meerwall, E. D., Self-Diffusion in Polymer Systems, Measured with Field-Gradient Spin-Echo NMR Methods. *Advances in Polymer Science* **1984**, 54, 1-29.

83.Hadjichristidis, N. P., S. ; Floudas, G. A., *Block copolymers synthetic strategies, Physical Properties and Applications*. Wiley-Interscience: New York, 2003;

84.Prud'homme, J.; Bywaters, S., Light-Scattering Studies on Polystyrene-Polyisoprene Block Copolymers. *Macromolecules* **1971**, 4, (543-548).

85.Ionescu, L.; Picot, C.; Duplessix, R.; Duval, M.; Benoit, H.; Lingelser, J. P.; Gallot, Y., Polystyrene-Polyisoprene block co-polymers in dilute-solutions - characterization of the conformation by Small-Angle Neutron-Scattering *Journal of Polymer Science Part B-Polymer Physics* **1981**, 19, (7), 1033-1046.

86.Han, C. C.; Mozer, B., Conformation of PS-PMMA Diblock Copolymer in Toluene by Small Angle Neutron Scattering. *Macromolecules* **1977**, 10, (1), 44-51.

87.Tanaka, T.; Omoto, M.; Inagaki, H., Conformation of Block Copolymers in Dilute Solution. 3. Determination of the Center-to-Center Distance between the Two Blocks by Light Scattering. *Macromolecules* **1979**, 12, (1), 146-152.

88.Matsushita, Y.; Shimizu, K.; Node, I.; Chang, T.; Han, C. C., Chain conformation of block copolymers in dilute solutions measured by small-angle neutron scattering. *Polymer* **1992**, 33, (11), 2412-21415.

89.Macchioni, A.; Ciancaleoni, G.; Zuccaccia, C.; Zuccaccia, D., Determining accurate molecular sizes in solution through NMR diffusion spectroscopy. *Chemical Society Reviews* **2008**, 37, 479-489.

90.Perrin, F., Mouvement Brownien d'un ellipsoïde (II). Rotation libre et dépolarisation des fluorescences. Translation et diffusion de molécules ellipsoïdales. *Le journal de physique et le radium* **1936**, VII, (VII), 1-11.

91.Barrere, C.; Mazarin, M.; Giordanengo, R.; Phan, T. N. T.; Thevand, A.; Viel, S.; Charles, L., Molecular Weight Determination of Block Copolymers by Pulsed Gradient Spin Echo NMR. *Analytical Chemistry* **2009**, 81, (19), 8054-8060.

92.Gotzamanis, G.; Tsitsilianis, C., Stimuli-responsive A-b-(B-co-C) diblock terpolymers bearing polyampholyte sequences. *Macromolecular Rapid Communications* **2006**, 27, (20), 1757-1763.

93.Zielinski, J. M.; Spontak, R. J., Thermodynamic Considerations of Triblock Copolymers with a Random Middle Block. *Macromolecules* **1992**, 25, (22), 5957-5964.

- 94.D'Agosto, F.; Hughes, R.; Charreyre, M. T.; Pichot, C.; Gilbert, R. G., Molecular weight and functional end group control by RAFT polymerization of a bisubstituted acrylamide derivative. *Macromolecules* **2003**, 36, (3), 621-629.
- 95.Jiang, X. L.; Schoenmakers, P. J.; van Dongen, J. L. J.; Lou, X. W.; Lima, V.; Brokken-Zijp, J., Mass spectrometric characterization of functional poly(methyl methacrylate) in combination with critical liquid chromatography. *Analytical Chemistry* **2003**, 75, (20), 5517-5524.
- 96.Schilli, C.; Lanzendorfer, M. G.; Muller, A. H. E., Benzyl and cumyl dithiocarbamates as chain transfer agent in the RAFT polymerization of N-isopropylacrylamide. In situ FT-NIR and MALDI-TOF MS investigation. *Macromolecules* **2002**, 35, (18), 6819-6827.
- 97.Ladaviere, C., Lacroix-Desmazes, P., Delolme, F., First Systematic MALDI/ESI Mass Spectrometry Comparison to Characterize Polystyrene Synthesized by Different Controlled Radical Polymerizations. *Macromolecules* **2009**, 42, (1), 70-84.
- 98.Gruending, T.; Hart-Smith, G.; Davis, T. P.; Stenzel, M. H.; Barner-Kowollik, C., Enhanced ionization in electrospray ionization mass spectrometry of labile end-group-containing polystyrenes using silver(I) tetrafluoroborate as doping salt. *Macromolecules* **2008**, 41, (6), 1966-1971.
- 99.Berger-Nicoletti, E.; Wurm, F.; Kilbinger, A. F. M.; Frey, H., Pencil lead as a matrix for MALDI-ToF mass spectrometry of sensitive functional polymers. *Macromolecules* **2007**, 40, (3), 746-751.
- 100.Belu, A. M.; DeSimone, J. M.; Linton, R. W.; Lange, G. W.; Friedman, R. M., Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry for polymer characterization. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **1996**, 7, (1), 11-24.
- 101.Deery, M. J.; Jennings, K. R.; Jasieczek, C. B.; Haddleton, D. M.; Jackson, A. T.; Yates, H. T.; Scrivens, J. H., A study of cation attachment to polystyrene by means of matrix-assisted laser desorption/ionization and electrospray ionization-mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **1997**, 11, (1), 57-62.
- 102.Mazarin, M.; Trang, T. N. T.; Charles, L., Using solvent-free sample preparation to promote protonation of poly(ethylene oxide)s with labile end-groups in matrix-assisted laser desorption/ionisation. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2008**, 22, 3776-3782.
- 103.Mazarin, M.; Girod, M.; Viel, S.; Phan, T. N. T.; Marque, S. R. A.; Humbel, S.; Charles, L., Role of the Adducted Cation in the Release of Nitroxide End Group of Controlled Polymer in Mass Spectrometry. *Macromolecules* **2009**, 42, (6), 1849-1859.
- 104.Poehlein, S. K.; Dormady, S. J.; McMillin, D. R.; Regnier, F. E., Metallocenes as cationizing agents in the characterization of polystyrenes and polyethylene glycols by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **1999**, 13, (14), 1349-1353.
- 105.Zhang, J.; Frankevich, V.; Knochenmuss, R.; Friess, S. D.; Zenobi, R., Reduction of Cu(II) in matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **2003**, 14, (1), 42-50.
- 106.Llenes, C. F.; O'Malley, R. M.; Cotter, R. J., Cation attachment in the analysis of polystyrene and polyethylene glycol by laser-desorption time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **1992**, 6, (9), 564-570.
- 107.Knochenmuss, R.; Stortelder, A.; Breuker, K.; Zenobi, R., Secondary ion-molecule reactions in matrix-assisted laser desorption/ionization. *Journal of Mass Spectrometry* **2000**, 35, (11), 1237-1245.

108. Gignès, D.; Gaudel-Siri, A.; Marque, S. R. A.; Bertin, D.; Tordo, P.; Astolfi, P.; Greci, L.; Rizzoli, C., Alkoxyamines of stable aromatic nitroxides: N-O vs. C-O bond homolysis. *Helvetica Chimica Acta* **2006**, 89, (10), 2312-2326.
109. Bertin, D.; Gignès, D.; Marque, S. R. A.; Tordo, P., Polar, steric, and stabilization effects in alkoxyamines C-ON bond homolysis: A multiparameter analysis. *Macromolecules* **2005**, 38, (7), 2638-2650.
110. Fischer, H.; Kramer, A.; Marque, S. R. A.; Nesvadba, P., Steric and polar effects of the cyclic nitroxyl fragment on the C-ON bond homolysis rate constant. *Macromolecules* **2005**, 38, (24), 9974-9984.
111. Hodgson, J. L.; Roskop, L. B.; Gordon, M. S.; Lin, C. Y.; Coote, M. L., Side Reactions of Nitroxide-Mediated Polymerization: N-O versus O-C Cleavage of Alkoxyamines. *Journal of Physical Chemistry A* **2010**, 114, (38), 10458-10466.
112. Braida, B.; Hiberty, P. C.; Savin, A., A systematic failing of current density functionals: Overestimation of two-center three-electron bonding energies. *Journal of Physical Chemistry A* **1998**, 102, (40), 7872-7877.
113. Humbel, S.; Sieber, S.; Morokuma, K., The IMOMO method: Integration of different levels of molecular orbital approximations for geometry optimization of large systems: Test for n-butane conformation and S(N)2 reaction: RCl+Cl. *Journal of Chemical Physics* **1996**, 105, (5), 1959-1967.
114. Derat, E.; Bouquant, J.; Humbel, S., On the link atom distance in the ONIOM scheme. An harmonic approximation analysis. *Journal of Molecular Structure-Theochem* **2003**, 632, 61-69.
115. Pfeifer, S.; Lutz, J. F., Tailor-Made Soluble Polymer Supports: Synthesis of a Series of ATRP Initiators Containing Labile Wang Linkers. *Macromolecular Chemistry and Physics* **211**, (8), 940-947.
116. Stilbs, P., Molecular Self-Diffusion Coefficients in Fourier-Transform Nuclear Magnetic-Resonance Spectrometric Analysis of Complex-Mixtures. *Analytical Chemistry* **1981**, 53, (13), 2135-2137.
117. Morris, K. F.; Johnson, C. S., Diffusion-Ordered 2-Dimensional Nuclear-Magnetic-Resonance Spectroscopy. *Journal of the American Chemical Society* **1992**, 114, (8), 3139-3141.
118. Antalek, B., Using pulsed gradient spin echo NMR for chemical mixture analysis: how to obtain optimum results. *Concepts in Magnetic Resonance* **2002**, 14, (4), 225-258.
119. Cobas, J. C.; Groves, P.; Martin-Pastor, M.; De Capua, A., New applications, processing methods and pulse sequences using diffusion NMR. *Current Analytical Chemistry* **2005**, 1, (3), 289-305.
120. Barjat, H.; Morris, G. A.; Smart, S.; Swanson, A. G.; Williams, S. C. R., High-Resolution Diffusion-Ordered 2d Spectroscopy (Hr-Dosy) - a New Tool for the Analysis of Complex-Mixtures. *Journal of Magnetic Resonance Series B* **1995**, 108, (2), 170-172.
121. Nilsson, M.; Morris, G. A., Pure shift proton DOSY: diffusion-ordered H-1 spectra without multiplet structure. *Chemical Communications* **2007**, (9), 933-935.
122. Stilbs, P.; Paulsen, K.; Griffiths, P. C., Global least-squares analysis of large, correlated spectral data sets: Application to component-resolved FT-PGSE NMR spectroscopy. *Journal of Physical Chemistry* **1996**, 100, (20), 8180-8189.

- 123.Nilsson, M.; Morris, G. A., Speedy component resolution: An improved tool for processing diffusion-ordered spectroscopy data. *Analytical Chemistry* **2008**, 80, (10), 3777-3782.
- 124.Antalek, B.; Windig, W., Generalized rank annihilation method applied to a single multicomponent pulsed gradient spin echo NMR data set. *Journal of the American Chemical Society* **1996**, 118, (42), 10331-10332.
- 125.Delsuc M.-A., Malliavin T. E., Maximum Entropy Processing of DOSY NMR Spectra. *Anal. Chem.* **1998**, 70, 2146-2148.
- 126.Van Gorkom, L. C. M.; Hancewicz, T. M., Analysis of DOSY and GPC-NMR experiments on polymers by multivariate curve resolution. *Journal of Magnetic Resonance* **1998**, 130, (1), 125-130.
- 127.Huo, R.; Geurts, C.; Brands, J.; Wehrens, R.; Buydens, L. M. C., Real-life applications of the MULVADO software package for processing DOSY NMR data. *Magnetic Resonance in Chemistry* **2006**, 44, (2), 110-117.
- 128.Armstrong, G. S.; Loening, N. M.; Curtis, J. E.; Shaka, A. J.; Mandelshtam, V. A., Processing DOSY spectra using the regularized resolvent transform. *Journal of Magnetic Resonance* **2003**, 163, (1), 139-148.
- 129.Mouro, C.; Mutzenhardt, P.; Diter, B.; Canet, D., HR-DOSY experiments with radiofrequency field gradients (RFG) and their processing according to the HD method. *Magnetic Resonance in Chemistry* **2002**, 40, S133-S138.
- 130.Antalek, B.; Hewitt, J. M.; Windig, W.; Yacobucci, P. D.; Mourey, T.; Le, K., The use of PGSE NMR and DECRA for determining polymer composition. *Magnetic Resonance in Chemistry* **2002**, 40, S60-S71.
- 131.Booksh, K. S.; Kowalski, B. R., Comments on the Data-Analysis (Datan) Algorithm and Rank Annihilation Factor-Analysis for the Analysis of Correlated Spectral Data. *Journal of Chemometrics* **1994**, 8, (4), 287-292.
- 132.Antalek, B., Using PGSE NMR for chemical mixture analysis: Quantitative aspects. *Concepts in Magnetic Resonance Part A* **2007**, 30A, (5), 219-235.
- 133.Becker, B. A.; Morris, K. F.; Larive, C. K., An improved method for suppressing protein background in PFG NMR experiments to determine ligand diffusion coefficients in the presence of receptor. *Journal of Magnetic Resonance* **2006**, 181, (2), 327-330.
- 134.Chin, J. A.; Chen, A. D.; Shapiro, M. J., SPEEDY: Spin-echo enhanced diffusion filtered spectroscopy. A new tool for high resolution MAS NMR. *Journal of Combinatorial Chemistry* **2000**, 2, (3), 293-296.
- 135.Carr, H. Y.; Purcell, E. M., Effects of Diffusion on Free Precession in Nuclear Magnetic Resonance Experiments. *Physical Review* **1954**, 94, (3), 630-638.
- 136.Meiboom, S.; Gill, D., Modified Spin-Echo Method for Measuring Nuclear Relaxation Times. *Review of Scientific Instruments* **1958**, 29, (8), 688-691.
- 137.Hahn, E. L., Spin echoes. *Physical Review* **1950**, 80, (4), 580-594.
- 138.Zheng, G.; Price, W. S., Suppression of background gradients in (B-0 gradient-based) NMR diffusion experiments. *Concepts in Magnetic Resonance Part A* **2007**, 30A, (5), 261-277.

139. Baishya, B.; Segawa, T. F.; Bodenhausen, G., Apparent Transverse Relaxation Rates in Systems with Scalar-Coupled Protons. *Journal of the American Chemical Society* **2009**, 131, (48), 17538-17539.
140. Pell, A. J.; Edden, R. A. E.; Keeler, J., Broadband proton-decoupled proton spectra. *Magnetic Resonance in Chemistry* **2007**, 45, (4), 296-316.
141. Guenneau, F.; Mutzenhardt, P.; Grandclaude, D.; Canet, D., Measurement of longitudinal and rotating frame relaxation times through fully J-decoupled homonuclear spectra. *Journal of Magnetic Resonance* **1999**, 140, (1), 250-258.
142. Segawa, T. F.; Aeby, N.; Bodenhausen, G., Apparent transverse relaxation rates in systems with coupled carbon-13 spins. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2010**, 12, (33), 9772-9776.
143. Dittmer, J.; Bodenhausen, G., Quenching echo modulations in NMR spectroscopy. *Chemphyschem* **2006**, 7, (4), 831-836.
144. Aeby, N.; Bodenhausen, G., Determination of transverse relaxation rates of individual spins while quenching echo modulations due to homonuclear scalar couplings. *Chemical Physics Letters* **2008**, 463, (4-6), 418-421.
145. Segawa, T. F.; Baishya, B.; Bodenhausen, G., Transverse Relaxation of Scalar-Coupled Protons. *Chemphyschem* **2010**, 11, (15), 3343-3354.
146. Bodenhausen, G.; Kogler, H.; Ernst, R. R., Selection of Coherence-Transfer Pathways in Nmr Pulse Experiments. *Journal of Magnetic Resonance* **1984**, 58, (3), 370-388.
147. Keeler, J., *Understanding NMR Spectroscopy*. Wiley: Chippenham, 2005;
148. Abragam, A., *The Principles of Nuclear Magnetism*. Oxford University Press: 1961;
149. Schmelzeisenreder, G.; Butfering, L.; Rollgen, F. W., Desolvation of Ions and Molecules in Thermospray Mass-Spectrometry. *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes* **1989**, 90, (2), 139-150.
150. Nielen, M. W. F., Maldi time-of-flight mass spectrometry of synthetic polymers. *Mass Spectrometry Reviews* **1999**, 18, (5), 309-344.
151. Vestal, M. L.; Juhasz, P.; Martin, S. A., Delayed Extraction Matrix-Assisted Laser-Desorption Time-of-Flight Mass-Spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **1995**, 9, (11), 1044-1050.
152. Bristow, A. W. T.; Webb, K. S., Intercomparison study on accurate mass measurement of small molecules in mass spectrometry. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **2003**, 14, (10), 1086-1098.
153. Chernushevich, I. V.; Ens, W.; Standing, K. G., Orthogonal-injection TOFMS for analyzing biomolecules. *Analytical Chemistry* **1999**, 71, (13), 452A-461A.
154. Barrère, C.; Thureau, P.; Thévand, A.; Viel, S., A convenient method for the measurements of accurate transverse relaxation rates in homonuclear scalar coupled spin systems. *Chemical Communication* **2011**, DOI: 10.1039/C1CC13042K.





## Résumé

Ces travaux de thèse sont consacrés à l'étude, par RMN et spectrométrie de masse, de la caractérisation structurale et la quantification en mélange, de polymères synthétiques à architectures complexes. La caractérisation structurale de copolymères à blocs amphiphiles POE-*b*-PS a été abordée dans un premier temps par la mise au point d'une nouvelle stratégie, rapide et sans prétraitement, pour la détermination de la masse moyenne en masse par RMN PGSE. La problématique des groupements terminaux fragiles en MALDI-MS, particulièrement cruciale dans le cas de polymères fonctionnalisés par des nitroxydes, a également été traitée. Une approche multidisciplinaire impliquant la RMN, la spectrométrie de masse et la chimie théorique a conduit au développement d'une stratégie de dérivation du groupement terminal labile qui permet la production d'adduits moléculaires intacts MALDI. Par ailleurs, la nécessité de quantifier les impuretés issues de la synthèse de ces macromolécules a conduit au développement d'une stratégie originale, rapide et efficace, basée sur la RMN PGSE. Cette stratégie, qui s'appuie sur la détermination des temps de relaxation magnétique des signaux au cours des expériences, suivie de la renormalisation des intégrales, a notamment soulevé la difficulté de mesurer le temps de relaxation transversale dans le cas de systèmes de spins magnétiquement couplés. Une nouvelle séquence d'impulsions a donc été proposée pour permettre une mesure précise de ce temps de relaxation dans un système de deux spins couplés.

**Mots clefs :** Résonance Magnétique Nucléaire, Spectrométrie de Masse, Polymère, copolymères à blocs POE-*b*-PS, Pulsed Gradient Spin Echo, Diffusion Ordered Spectroscopy, masses moléculaires, groupements terminaux labiles, dérivation, quantification en mélange, temps de relaxation magnétiques, modulation-*J*

## Abstract

This thesis work deals with two main analytical aspects of PEO-*b*-PS amphiphilic block copolymers, their structural characterization and their quantitation in mixture, using NMR and mass spectrometry. In a first part, a novel approach was developed for the determination of copolymer weight average molecular weight by PGSE NMR. The issue of MALDI mass analysis of PEO homopolymers functionalized with a labile nitroxide end-group for the purpose of nitroxide mediated polymerization of the PS block was also addressed. A multidisciplinary approach involving NMR, mass spectrometry and theoretical calculation gave rise to an efficient derivatization strategy aimed at allowing intact PEO adducts to be generated by MALDI. In addition, requirement for impurity quantitation in polymer samples led to the development of a rapid and accurate method using PGSE NMR. This approach, based on the measurement of magnetic relaxation times during PGSE experiments to enable signal intensity renormalization, evidenced the issue of transverse relaxation time estimation in the case of coupled spin systems. A novel NMR pulse sequence was hence proposed and successfully applied for accurate measurement of transverse relaxation times in a model case of a two-spin coupled system.

**Key words:** Nuclear Magnetic Resonance, Mass Spectrometry, Polymer, block copolymers POE-*b*-PS, Pulsed Gradient Spin Echo, Diffusion Ordered Spectroscopy, molecular mass, labile end-groups, derivatization, components quantification in mixtures, accurate relaxation time measurements, *J*- modulation