

THÈSE

Pour obtenir le grade de
Docteur

Délivré par **UNIVERSITE MONTPELLIER 2**

Préparée au sein de l'école doctorale
Sciences Chimiques et Physiques ED 459
Et de l'Unité de Recherche UMR-5635

Spécialité : **Chimie des matériaux**

Présentée par **Valérie GENCE**

Auto-assemblage dynamique de nano-objets pour de nouvelles voies de transport membranaire dirigé

Soutenue le 16/12/2013 devant le jury composé de

Dr. Andreea PASC, Maître de conférences, Université de Lorraine
Dr. Narcis AVARVARI, Directeur de recherches, Université d'Angers
Dr. Carole ARNAL-HERAULT, Maître de conférences, Université de Lorraine
Pr. André AYRAL, Professeur, Université Montpellier II
Dr. Mihai BARBOIU, Directeur de recherches, Montpellier II

Rapporteur
Rapporteur
Examinateur
Examinateur
Directeur de thèse

Délivré par **UNIVERSITE MONTPELLIER 2**

Préparée au sein de l'école doctorale
Sciences Chimiques et Physiques ED 459
Et de l'Unité de Recherche UMR-5635

Spécialité : **Chimie des matériaux**

Présentée par **Valérie GENCE**

Auto-assemblage dynamique de nano-objets pour de nouvelles voies de transport membranaire dirigé

Soutenue le 16/12/2013 devant le jury composé de

Dr. Andreea PASC, Maître de conférences, Université de Lorraine
Dr. Narcis AVARVARI, Directeur de recherches, Université d'Angers
Dr. Carole ARNAL-HERAULT, Maître de conférences, Université de Lorraine
Pr. André AYRAL, Professeur, Université Montpellier II
Dr. Mihai BARBOIU, Directeur de recherches, Montpellier II

Rapporteur
Rapporteur
Examineur

Examineur
Directeur de thèse

Remerciements

Les recherches qui font l'objet de ce mémoire ont été réalisées dans l'équipe Nanosystèmes Supramoléculaires Adaptatifs, dirigée par le Docteur Mihai BARBOIU que je remercie pour m'avoir acceptée au sein de son équipe.

Je remercie Philippe Miele, Professeur et directeur de l'Institut Européen des Membranes, pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire et permis de réaliser ces travaux de thèse dans les meilleures conditions.

Je remercie Andreea Pasc (Maître de conférences à l'Université de Lorraine) et Narcis Avarvari (Directeur de recherches à l'Université d'Angers) pour avoir accepté d'expertiser ce travail en tant que rapporteurs.

Je tiens également à remercier les examinateurs, Carole Arnal-Hérault (Maître de conférences à l'Université de Lorraine) et André Ayrat (Professeur à l'Université de Montpellier II).

Je tiens à remercier les ingénieurs Eddy Petit et Didier Cot pour leur disponibilité et leur gentillesse.

Je remercie également l'ingénieur Abdeslam El Mansouri pour toutes les analyses « passées en priorité » en absorption-désorption d'azote. Un grand merci pour ton écoute, ton soutien et ta joie de vivre.

Je remercie très sincèrement Philippe Sifat, Gérard Pourcelly pour leur grand soutien. Et un grand merci tout particulier à toi Philippe pour avoir toujours été là.

Mes remerciements s'adressent également à mes collègues qui m'ont permis de passer d'agréables moments. Zineb (ma coloc de bureau), Yves-Marie, Arnaud, Youssef (mon petit stagiaire préféré), Alina (un cœur aussi gros que l'univers tout entier), Anna (ma petite allemande adorée), mon Jorginou, Joëlle, Christelle, Claudia, je vous souhaite très sincèrement de très belles choses.

Enfin, je tiens à remercier tous mes proches pour leur amour, leur confiance et leur soutien. Un grand merci donc, à ma mère (ma mamoune de mon cœur), mon père (mon Papounet d'amour), mon ti père Jacques et ma petite sœur jumelle (la plus belle du monde entier Vivi). Merci à vous d'avoir toujours cru en moi. Et bien évidemment, je remercie du fond du cœur ma seconde famille : mes FFEF, (Ninou, Lili, Codine), mes coconuts (Bibi, Antho), et mon Teddynours. Merci à vous d'avoir été là durant toutes ces années et de m'apporter autant d'amour. Merci pour tout mes loulous !

Sans oublier, ma boop (Chloé), ma petite puce (Emi), ti Jim, mon poulet (Mika), et Stumpi (Ezra).

Je vous remercie également de votre présence et de votre soutien.

Et enfin un grand merci à mon Lou (Jérémy) et à mon petit monstre (bébé Roros), merci d'embellir mon quotidien...

Sommaire

Préambule	9
Partie I : Introduction Générale.....	11
I.1. La chimie supramoléculaire	13
I.2. L'auto-assemblage.....	15
I.3. Les nanomatériaux.....	21
I.4. Les membranes.....	23
I.4.A. Les membranes synthétiques	23
I.4.B. La membrane cellulaire.....	25
I.5. Conclusion	27
Partie II : Canaux Ioniques Synthétiques.....	29
II.1. Synthèse bibliographique.....	31
II.1.A. Le transport membranaire au sein des cellules.....	31
II.1.A.1. Le transport passif	31
II.1.A.2. Le transport actif.....	37
II.1.B. Canaux ioniques naturels	40
II.1.B.1. La Gramicidine A.....	40
II.1.B.2. La protéine M2 du virus de la grippe A	42
II.1.B.3. Le canal potassique KcsA	43
II.1.C. Canaux ioniques supramoléculaires biomimétiques	45
II.1.D. Les vésicules utilisées comme membranes modèles	49
II.1.D.1. Généralités	50
II.1.D.2. Préparation des LUVs.....	51

II.1.E. Etude de Transport ionique par la spectroscopie de fluorescence.....	52
II.2. Etude de la capacité de transport des canaux ioniques biomimétiques formés par auto- assemblage de systèmes bola-amphiphiles	54
II.2.A. Les molécules bola-amphiphiles	55
II.2.A.1. Synthèse des molécules bola-amphiphiles.....	55
II.2.A.2. Caractérisation de l'auto-assemblage par Diffractométrie des rayons X-DRX sur des monocristaux de composés TrypC ₆ et T-Ph-T	58
II.2.B. Etudes de transport au travers des canaux ioniques formés par auto-assemblage de Tryp-C ₆	62
II.2.B.1. Etude du transport de cations	62
II.2.B.2. Etude du transport de protons.....	68
II.2.C. Etudes de transport au travers des canaux ioniques formés par auto-assemblage de T- Ph-T.....	74
II.2.C.1. Etude du transport des cations	75
II.2.C.2. Etude du transport de protons.....	78
II.2.D. Discussions et perspectives.....	83
II.2.E. Etude du transport d'eau à travers la bicouche lipidique.....	84
II.2.E.1. Mise en place de l'étude.....	84
II.2.E.2. Etude du transport d'eau en présence de Tryp-C ₆ et de Tryp-C ₆ -Tryp	85
II.2.E.3. Etude de l'influence des associations H-C ₆ /Tryp-C ₆ et H-C ₆ -H/Tryp-C ₆ -Tryp sur le transport d'eau	87
II.2.B.4. Etude du transport d'eau en présence de T-Ph-T	89
II.3. Conclusion.....	91
Partie III : Elaboration de matériaux membranaires fonctionnalisés pour le transport sélectif d'espèces chimiques	93
III.1. Synthèse Bibliographique	96
III.1.A La chimie sol-gel.....	96

III.1.A.1. Généralités.....	97
III.1.A.2. La voie alcoxyde	98
III.1.A.3. Chimie sol-gel et matériaux hybrides.....	101
III.1.B. Les matériaux mésoporeux organisés à base de silice	102
III.2. Résultats et discussions	104
III.2.A. Etude de la fonctionnalisation de MCM-41	105
III.2.A.1. Création de l'environnement lipophile.....	105
III.2.A.2. Confinement des composés bola-amphiphiles	109
III.2.A.3. Conclusion.....	120
III.2.B. Elaboration des membranes	121
II.2.B.1. Synthèse de la solution « précurseur ».....	121
II.2.B.2. Imprégnation des pores de la membrane.....	122
II.2.B.3. Elimination du surfactant.....	124
III.2.B.4. Création du milieu hydrophobe et fonctionnalisation de la membrane.	125
III.3. Conclusion	126
Partie IV : Matériaux membranaires pour le transport dirigé d'eau.....	128
IV.1. Synthèse bibliographique	130
IV.1.A. Les Aquaporines.....	130
IV.1.B. Présentation générale de la filtration membranaire	133
IV.2.B.1. La filtration tangentielle	134
IV.2.B.2. La filtration frontale.....	135
IV.2. Résultats et discussions	135
IV.2.A. Elaboration des matériaux membranaires	135
IV.2.A.1. Les précurseurs	135
IV.2.A.2. Mise en forme des matériaux	146
IV.2.B. Etude de la filtration d'eau pure	147

IV.2.B.a. Dispositif et protocole.....	147
IV.2.B.b. Résultats	148
IV.2.C. Etude de sélectivité	149
IV.2.C.a. Dispositif et protocole.....	149
IV.2.C.b. Détermination des différents paramètres du processus de transport	151
IV.3. Conclusion	159
Partie V : Conclusion Générale	160
Partie IV : Partie Expérimentale	163
VI.1. Partie expérimentale : Elaboration de matériaux membranaires fonctionnalisés pour le transport sélectif d'espèces chimiques	164
VI.2. Partie expérimentale : Elaboration de matériaux membranaires fonctionnalisés pour le transport sélectif d'espèces chimiques	172
VI.3. Partie expérimentale : Matériaux membranaires pour le transport dirigé d'eau	175

Préambule

Le sujet principal de ces travaux de thèse concerne la synthèse et la caractérisation de nouveaux matériaux membranaires bioinspirés dont la fonction première est le transport dirigé d'espèces chimiques. La réalisation de ces systèmes est basée sur l'auto-assemblage de briques élémentaires (moléculaires, polymériques) dont les propriétés vont induire la création de chemins de transport directionnels au sein des nouveaux matériaux.

Dans ce travail, trois axes de recherche sont développés autour d'interactions supramoléculaires de types liaisons hydrogènes et interactions de van der Waals :

- la constitution dynamique de canaux ioniques, de canaux protoniques et de canaux d'eau, par auto-assemblage en solution de nouveaux composés fonctionnels ;
- la conception de matériaux membranaires hybrides fonctionnalisés dont l'élaboration repose sur le confinement de composés moléculaires *via* des interactions hydrophobes;
- l'élaboration de matériaux membranaires polymériques dont l'insertion de précurseurs moléculaires mimant les canaux d'eau naturels a pour but de diriger le transport de l'eau.

Ce manuscrit de thèse s'articule donc en trois parties principales dont le « fil conducteur » est la préparation de nouveaux systèmes de transport dirigé en utilisant les propriétés structurales d'auto-assemblage et fonctionnelles de précurseurs organiques (moléculaires et polymères) et hybrides (matériaux mésostructurés lipophiles).

Mais avant de détailler les différents travaux effectués, il est nécessaire de définir certaines notions pour une meilleure compréhension de l'étude. Ainsi, dans une partie préliminaire, les concepts de base qui ont amené à la réalisation de ces travaux de thèse seront présentés. Les notions concernant la chimie supramoléculaire, l'auto-assemblage et les membranes y sont décrites.

La seconde partie porte sur l'étude de canaux ioniques synthétiques biomimétiques. Ces derniers, formés par l'auto-assemblage de composés moléculaires bola-amphiphiles, ont été étudiés pour leur capacité à transporter des espèces chimiques au travers de membranes modèles.

Afin de comprendre l'intérêt de cette étude, le transport membranaire cellulaire ainsi qu'un état de l'art des recherches portant sur les systèmes synthétiques biomimétiques sont présentés au cours d'une synthèse bibliographique. Les résultats obtenus lors de l'étude des canaux ioniques et/ou d'eau sont ensuite développés dans un second chapitre.

La troisième partie est quant à elle consacrée à la description de l'élaboration de matériaux membranaires mésostructurés pour un transport sélectif. La réalisation de ces matériaux hybrides repose sur les interactions faibles qui permettent le confinement de composés au sein d'une matrice siliciée hydrophobe, dans le but de former des canaux ioniques à une échelle mésoscopique. Dans un premier chapitre les notions de base concernant le procédé sol-gel et les matériaux mésostructurés permettant la synthèse de nos matériaux sont présentés. Les différentes étapes menant à l'élaboration des matériaux membranaires mésostructurés sont ensuite décrites dans un second chapitre.

La quatrième partie porte sur la préparation de matériaux membranaires à matrice polymérique permettant le transport dirigé d'eau. Cette étude est basée sur l'insertion de composés mimant les canaux d'eau naturels. Ainsi, dans un premier chapitre, les notions de base concernant les Aquaporines sont présentées. Puis, la synthèse des matériaux ainsi que les résultats obtenus lors de tests de transport en filtration seront développés.

-Partie I-

Introduction Générale

Par sa méthode, la chimie est la science des transformations, des interactions et des modèles. Par son objet, c'est à dire la molécule et le matériau, la chimie exprime sa créativité. La synthèse chimique permet la création de molécules et de matériaux dotés de propriétés nouvelles¹.

En 1828, Friedrich Wöhler réalise la synthèse de l'urée. Il s'agit d'une étape importante dans l'histoire de la chimie, car pour la première fois, un composé présent dans les organismes vivants est obtenu à partir d'un composé inerte². C'est à ce moment-là que naît la chimie moléculaire dont l'objectif est la compréhension de la chimie du vivant au niveau de la molécule. Dès lors, elle n'a cessé de se développer dans le but de toujours mieux appréhender les liaisons covalentes entre les atomes et ainsi pouvoir les manipuler de plus en plus aisément, ce qui a permis l'élaboration de nombreuses procédures afin de créer des molécules et des matériaux de plus en plus complexes³.

Cependant, malgré son objectif premier, la chimie moléculaire ne peut expliquer de nombreux phénomènes biologiques fondamentaux qui reposent sur les interactions intermoléculaires non covalentes (reconnaitances anticorps/antigène, substrat/récepteur, ARN/ADN, etc...). Au-delà de la chimie moléculaire, fondée sur la liaison covalente, la chimie supramoléculaire vise à expliquer, à maîtriser et à développer des systèmes chimiques complexes interagissant via les interactions intermoléculaires⁴.

¹ J.-M. Lehn, *Chimie Supramoléculaire : Concepts and perspectives*, De Boeck & Larcier, **1997**

² J. Batchelor, E. Carpenter, G.N. Holder, C.T. Eagle, *Recreation of Wöhler's Synthesis of Urea : an undergraduate organic laboratory exercise*. The Chemical Educator, **1998**, 3(6), 1-7

³ J. Clayden, N. Greeves, S. Warren, P. Wothers, *Organic Chemistry*, Oxford University Press, **2001**

⁴ J.-M. Lehn, *Toward complex matter: Supramolecular chemistry and self-organization*. Proceedings of the National Academy of Sciences, **2002**, 99(8), 4763-4768

I.1. La chimie supramoléculaire

C'est à la fin du 19^{ème} siècle que remontent les origines de la chimie supramoléculaire et trois noms peuvent y être rattachés : Alfred Werner, Emil Fischer et Paul Ehrlich. En 1893, Alfred Werner, dont les travaux s'axent sur les complexes de type cation métallique-amine, introduit le concept de coordination visant à expliquer la formation et les propriétés de ces structures.

En 1894, Emil Fischer introduit quant à lui le concept de sélectivité, illustré par le modèle « serrure et clé », après avoir étudié la stéréochimie sélective des enzymes avec certains sucres⁵. Enfin, en 1897, grâce à ses études sur le sérum antidiphtérique contenant l'antitoxine de la maladie, Paul Ehrlich met en évidence le fait que les molécules ne peuvent agir si elles ne se fixent pas. Le concept de fixation est introduit. Ainsi, au début du 20^{ème} siècle, les trois concepts (coordination, sélectivité et fixation) de ce qui allait devenir la chimie supramoléculaire sont posés^{1,6}. Mais ce n'est qu'à partir des années 1970 que la chimie supramoléculaire connaît son véritable essor, grâce aux travaux de Charles Pedersen (synthèse d'éthers couronne), de Donald James Cram (synthèse de sphérands) et de Jean-Marie Lehn (synthèse de cryptates et de cryptands) (Figure I.1). Ce sont, d'ailleurs, ces études qui leurs vaudront, en 1987, le prix Nobel de chimie.

⁵ E.F. Meyer, *Emil Fischer: Then and now*. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, **1995**, 69(1919), 177–183

⁶ J.-M. Lehn, B. Dietrich, *La chimie supramoléculaire*, Le jaune et le rouge, **2002**, 572

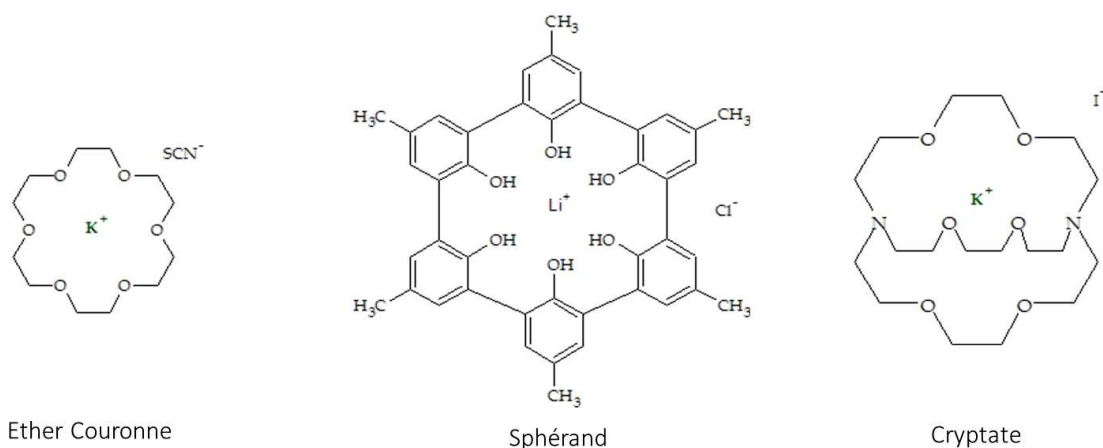


Figure I.1 : Exemples de molécules « hôtes » (Représentation plane)².

Ces molécules ont immédiatement fasciné le monde de la chimie de par le mimétisme des processus rencontrés avec ceux de la nature. En effet, elles possèdent la capacité de se lier de façon sélective aux ions et à de petites molécules organiques par interactions non covalentes. Ce sont ces mêmes interactions qui font la spécificité du monde biologique⁷.

Les molécules y interagissent les unes avec les autres de façon sélective en effectuant une reconnaissance moléculaire. Cette reconnaissance est permise grâce à l'information moléculaire : « tout système moléculaire qui présente une sélectivité d'interaction et de reconnaissance fait intervenir de l'information ». Cette information peut être géométrique, de complémentarité interactionnelle ou de complémentarité de forme (modèle « serrure et clé »)⁸.

La chimie supramoléculaire s'efforce ainsi, d'étudier les interactions intermoléculaires impliquées dans la reconnaissance moléculaire, dans le but de les comprendre et ainsi de pouvoir réaliser des architectures supramoléculaires complexes via les interactions locales et spécifiques entre briques moléculaires. L'édification de tels systèmes est permise grâce aux processus d'auto-assemblage⁴.

⁷ D. Reinhoudt, M. Crego-Calama, *Synthesis beyond the molecule*, Science, **2002**, 295(5564), 2403–2407

⁸ J.-M. Lehn, *Par-delà la synthèse : l'auto-organisation*, Comptes Rendus Chimie, **2011**, 14(4), 348–361

I.2. L'auto-assemblage

L'étude des processus d'auto-assemblage représente une étape majeure dans le développement de la chimie supramoléculaire car il s'agit de maîtriser l'édification spontanée mais contrôlée d'une architecture supramoléculaire. L'élaboration de ces structures repose sur la base des phénomènes de reconnaissance moléculaire mises en œuvre avec, d'une part, des briques moléculaires, et d'autre part des interactions de diverses natures entre ces briques⁸.

Les processus d'auto-assemblage suscitent un vif intérêt car ils sont nombreux dans la nature. L'exemple du virus de la mosaïque du tabac en est certainement l'une des meilleures illustrations.

En 1955, Heinz Fraenkel-Conrat et Robley. Williams ont démontré que ce virus, après dissociation de ses composants, peut être reconstitué de façon intacte, *in vitro*^{9,10}. (Figure I.2). En effet, il constitue un système supramoléculaire bâti à partir de 2130 briques moléculaires (ici les capsomères) qui s'assemblent de façon adéquate par reconnaissance de surface et s'enroulent autour du brin d'ARN pour former une tour hélicoïdale dans laquelle est contenu le génome du virus⁸.

⁹ V.G. Machado, P.N.W. Baxter, J-M. Lehn, *Self-Assembly in Self-Organized Inorganic Systems : A View of Programmed Metallosupramolecular Architectures*, J. Braz. Chem. Soc, **2001**, 12(4), 431-462

¹⁰ A. Creager, K. Scholthof, *Tobacco mosaic virus: pioneering research for a century*, The Plant Cell, **1995**, 45(10), 1757-1765

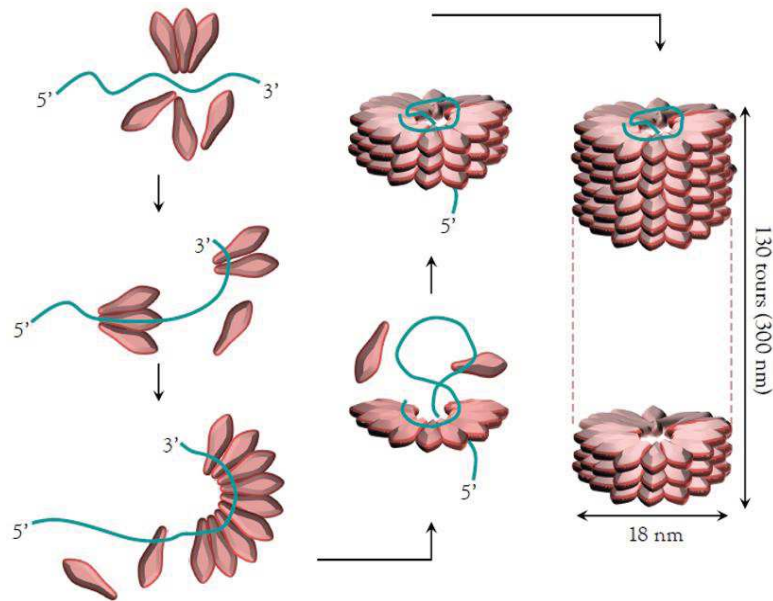


Figure I.2 : Représentation schématique de la reconstitution du virus de la mosaïque du tabac in vitro⁹.

Les processus d'auto-assemblage présentent trois étapes¹¹ :

- la reconnaissance entre les composants qui conduit à leur sélection et à leur association spécifique ;
- la croissance qui se fait par addition progressive de nouveaux composants ;
- la terminaison de la croissance.

Les interactions impliquées dans ces processus sont très souvent des interactions faibles non-covalentes telles que : les interactions de Van der Waals, les interactions hydrophobes ou les interactions hydrogène.¹²

- Les interactions ou forces de Van der Waals^{13,14}

¹¹ J.-M. Lehn, *Chimie des interactions moléculaires, Processus d'auto-assemblage supramoléculaire-Principes*, **2001**, 231–237

¹² G.M. Whitesides, B. Grzybowski, *Self-assembly at all scales*, *Science*, **2002**, 295(5564), 2418-2421

¹³ V.A. Parsegian, *Van Der Waal Forces*, Cambridge University Press, **2006**

¹⁴ D. Voet, J.G. Voet, *Biochemistry, Third Edition*, John Wiley & Sons, **2004**

Les associations non covalentes entre molécules neutres se créent à partir d'interactions électrostatiques entre dipôle permanent et/ou induit. Il existe trois types de forces de Van der Waals (Figure I.3) :

- *Les forces dipolaires de Keesom* : concernent les molécules qui possèdent un moment dipolaire permanent. Il s'agit d'interactions électrostatiques de types dipôle permanent-dipôle permanent.
- *Les forces de polarisation de Debye* : correspondent à des interactions de types dipôle permanent-dipôle induit. Une molécule apolaire est polarisée au voisinage d'une molécule polaire car celle-ci crée un champ local autour d'elle.
- *Les forces de dispersion de London* : correspondent à une coordination des nuages électroniques de deux molécules voisines. Il s'agit d'interactions de type dipôle instantané-dipôle induit. Le nuage électronique d'une molécule A ne cessant, selon une description classique, de fluctuer, il peut apparaître un déplacement temporaire du barycentre électronique, créant un moment dipolaire instantané qui induit un moment dipolaire dans la molécule B voisine. Il en résulte une force attractive.

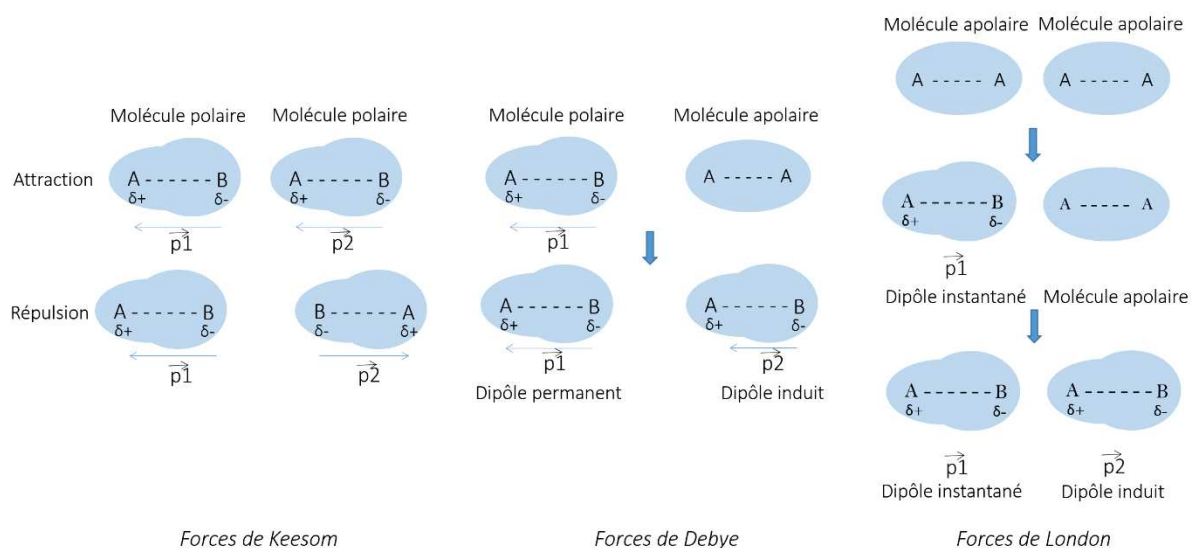


Figure I.3 : Représentation des différentes interactions de Van Der Walls¹⁴.

L'énergie d'association des interactions de Van Der Walls est comprise entre -5 et -10 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ et diminue rapidement avec la distance (inversement proportionnelle à la puissance 6 de la distance).

Dans le monde vivant, les forces de Van der Waals participent à l'adhésion de nombreuses espèces sur les surfaces. C'est le cas, notamment, de certaines espèces de geckos. En effet, Keller Autumn et ses collaborateurs ont démontré, que l'adhérence des geckos ne peut être expliquée que par la présence de liaisons de Van Der Waals entre les lamelles adhésives et la surface^{15,16}. En observant de plus près ces lamelles, on y observe de minuscules poils, les setæ qui sont composés de kératine. Ces derniers se scindent en une centaine de poils plus fins appelés spatulæ qui interagissent avec la surface via les interactions de Van Der Waals (Figure I.4).

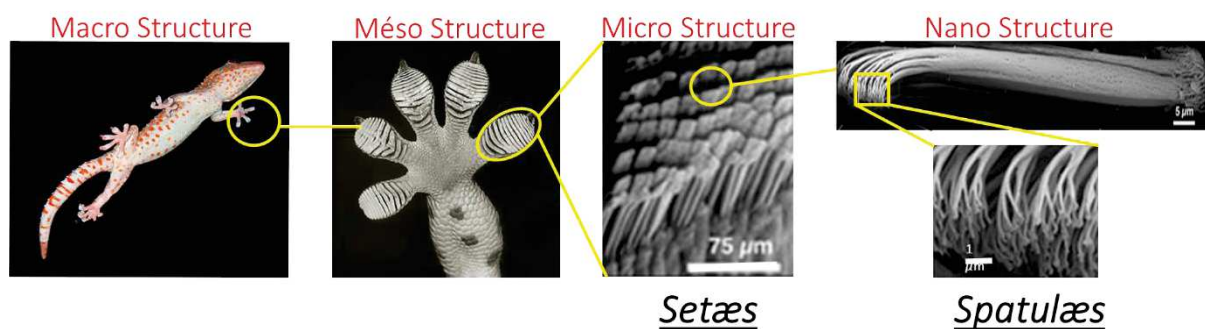


Figure I.4 : Système adhésif du gecko qui interagit avec les surfaces par l'intermédiaire des forces de Van Der Waals¹⁶.

Depuis sa découverte en 2000, de nombreux chercheurs s'en inspirent pour le développement de nouveaux matériaux.

- Les interactions hydrophobes¹⁴

Elles correspondent à l'ensemble des facteurs qui permettent aux substances non polaires de minimiser leur contact avec des solvants polaires et des molécules amphiphiles.

¹⁵ K. Autumn, Y.A. Liang, S. Tonia Hsieh, W. Zesch, W. Pang Chan, T.W. Kenny, R. Fearing, R.J. Full, *Adhesive force of a single gecko foot-hair*, Nature, **2000**, 405, 681-685

¹⁶ K. Autumn, M. Sitti, Y.A. Liang, A.M. Peattie, W.R. Hansen, S. Sponberg, T.W. Kenny, R. Fearing, J.N. Israelachvil, R.J. Full, *Evidence for van der Waals adhesion in gecko setae*, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, **2002**, 99(19), 12252–12256.

Dans la nature, les interactions hydrophobes interviennent, par exemple, dans le repliement des chaînes d'acides aminés qui constituent les protéines. Les acides aminés dont les radicaux sont hydrophobes ont plus d'affinité entre eux qu'avec les molécules d'eau qui entourent la protéine. La chaîne a donc tendance à se replier de façon à les regrouper entre eux au centre de la molécule, sans contact direct avec l'eau. Inversement, les acides aminés hydrophiles ont tendance à se disposer à la périphérie de façon à être en contact avec l'eau (Figure I.5).

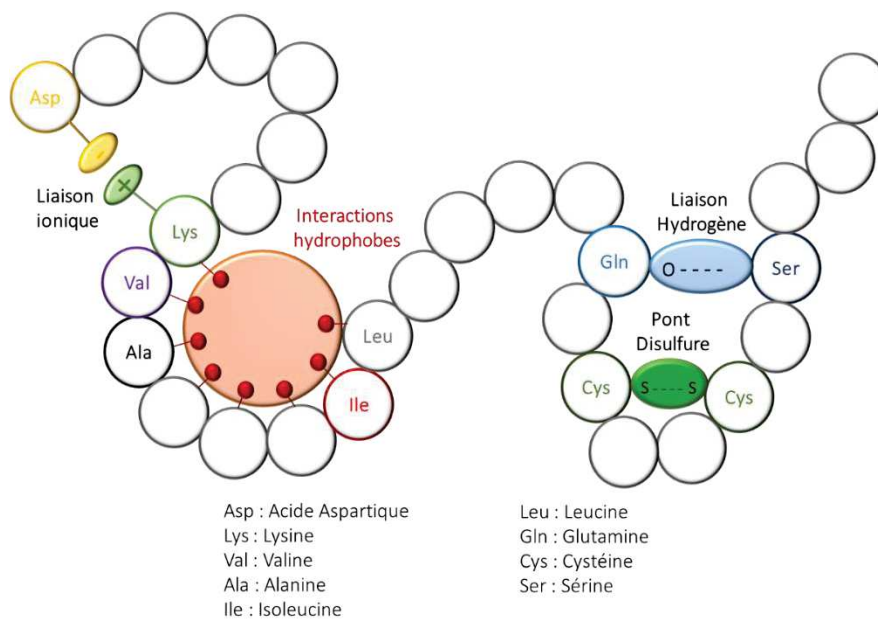


Figure I.5 : Représentation schématique des différentes liaisons et interactions intervenant dans le repliement d'une chaîne polypeptidique¹⁴.

- Les liaisons hydrogène¹⁷

Elles s'établissent entre un atome d'hydrogène d'une molécule A, lié de façon covalente à un atome électronégatif, et un atome d'une molécule B qui est accepteur de la liaison hydrogène (Figure I.6).

Les liaisons hydrogènes possèdent une énergie d'association comprise entre -2 et -40 kJ.mol⁻¹.

¹⁷ R.H. Garrett, C.M. Grisham, *Biochemistry, Second Edition*, Saunders College Publishing, 1999

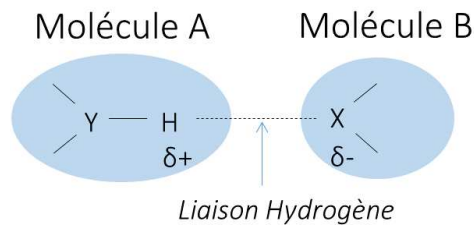


Figure I.6 : Représentation de la liaison hydrogène entre deux molécules¹⁷.

Ces liaisons sont essentielles dans le monde vivant car elles assurent la stabilité de nombreuses structures telles que celle de l'ADN. En effet, la structure en double hélice de l'ADN est assurée grâce à l'appariement de paires de bases qui se fait par l'intermédiaire de liaisons hydrogène (Adénine-Thymine, Guanine-Cytosine). Tout comme les interactions hydrophobes, elles interviennent dans le repliement de la chaîne polypeptidique pour former la structure secondaire des protéines. Les deux types de structure secondaire, les hélices α et les feuillets β , résultent de la formation de liaisons hydrogène entre les groupements C=O et N-H du squelette peptidique.

Toutes ces interactions sont par nature réversibles, ce qui constitue une des caractéristiques primordiales des architectures supramoléculaires.

Une autre caractéristique importante de ces systèmes est leur stabilité thermodynamique. En effet, étant constitués de façon spontanée, c'est-à-dire sans l'aide d'aucune intervention extérieure, le processus d'auto-assemblage tend à former le système le plus stable. Généralement, il s'agit du système dont l'énergie est inférieure à celles des composants individuels.

De plus, de par leur caractère réversible et sélectif, et notamment grâce aux liaisons non covalentes qui les constituent, les architectures supramoléculaires sont des systèmes qui possèdent très peu de défauts. Par conséquent, tout au long du processus d'auto-assemblage, les erreurs peuvent être corrigées via les liaisons non covalentes. Ces dernières permettent également au système d'évoluer afin qu'il puisse s'adapter au mieux à son environnement.

C'est, entre autres, pour ces raisons que l'auto-association est devenue une des stratégies les plus utilisées dans le domaine des nanomatériaux. Ce processus permet l'élaboration de nouveaux matériaux organisés et stables en passant au niveau nanométrique (briques moléculaires) à un niveau macroscopique (auto-assemblage des briques moléculaires).

I.3. Les nanomatériaux

Les nano-objets constituent les briques élémentaires des matériaux du futur. Ils sont synthétisés spécifiquement pour une propriété bien définie (électrique, optique, chimique, etc...) et doivent comporter les fonctions chimiques nécessaires à l'élaboration du nanomatériau qui peut être réalisé selon deux approches¹⁸ (Figure I.7):

- L'approche « **top-down** » : concerne essentiellement le domaine de la physique car elle privilégie la miniaturisation d'éléments déjà existants dans les dispositifs électroniques, optiques ou magnétiques¹⁹. Elle repose sur des techniques puissantes et efficaces de structuration de la matière. Cependant, il s'agit d'une approche de plus en plus coûteuse et qui est limitée par les propriétés physiques intrinsèques propres à la miniaturisation des matériaux.
- L'approche « **bottom-up**²⁰ » : contrairement à l'approche top-down, l'approche bottom-up part de l'atome ou de la molécule, dans le but de construire des nanomatériaux fonctionnels. Cette approche est née de l'idée de tirer parti des processus d'auto-assemblage rencontrés dans la nature. C'est pourquoi l'auto-assemblage est une des stratégies bottom-up les plus étudiées ces dernières décennies. Située à l'interface de la biologie, de la physique et de la chimie, elle s'appuie sur les capacités de la matière à s'organiser via les forces de Van der Waals, ou les liaisons hydrogène, comme vu précédemment. Ces procédés ont pour avantage une reconnaissance moléculaire qui permet de contrôler l'édification de nanomatériaux, tels que les nanoparticules, les nanotubes, et ce sans intervention externe. Pour la synthèse de telles structures, il est essentiel de considérer que la formation des architectures supramoléculaires varient en fonction des conditions externes tels que la température, la concentration, le solvant et qu'elle est régie par les facteurs énumérés ci-dessous :

¹⁸ R. Corriu, N.T. Anh, *Chimie moléculaire, sol-gel et nanomatériaux*, Editions de l'école Polytechnique, **2008**

¹⁹ G. Chaboussant, *Nanostructures magnétiques*. Techniques de l'Ingénieur, **2005**, 1–12

²⁰ F. Severac, C. Rossi, A. Bancaud, A. Esteve, *Auto-assemblage dirigé de nanoparticules par ADN : application pour le stockage d'énergie*, Techniques de l'Ingénieur, **2012**, 1–18

- la nature des connectivités : la charge, les caractéristiques énergétiques et structurales des liaisons hydrogène ;
- les caractéristiques structurales des unités élémentaires : la géométrie de coordination des ions métalliques impliqués et/ou le nombre et la disposition des sites de reconnaissance, des espaceurs entre les sites de fixation etc... ;
- les effets stériques et conformationnels des diverses espèces assemblées ;
- le principe d'occupation maximale des sites : le système évolue vers là où les espèce(s) présentent l'occupation la plus complète des sites de fixation disponibles (coopérativité positive), le facteur entropique favorisant l'état du système où le nombre d'espèces est maximal (l'hydratation, la solvation).

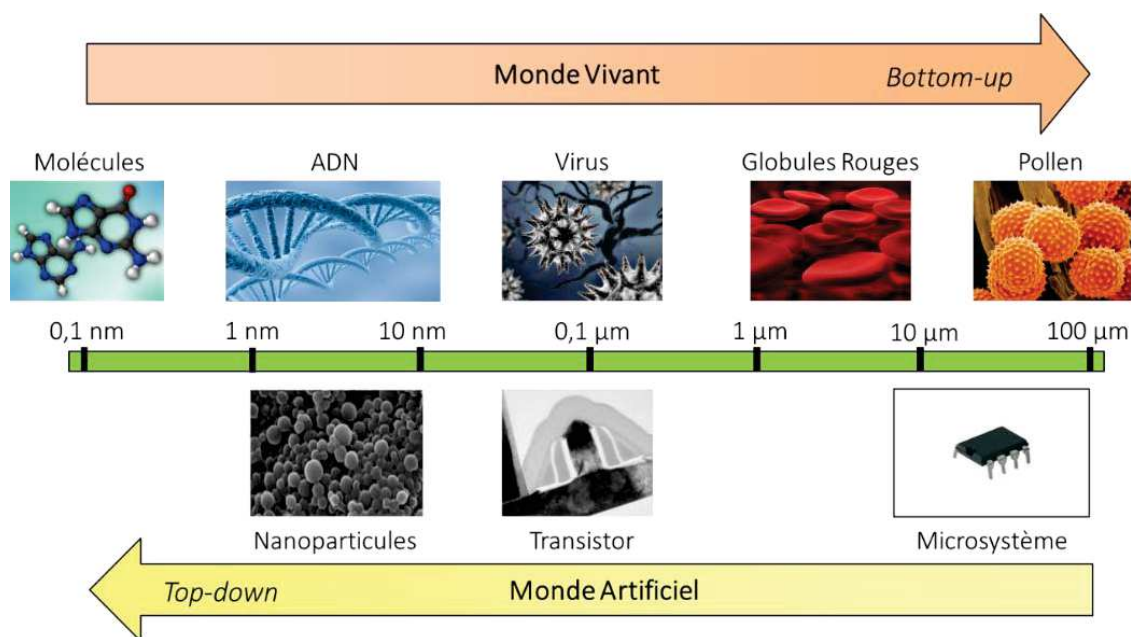


Figure I.7 : Représentation des approches Top-down et Bottom-up à l'échelle du monde artificiel et du monde vivant²⁰.

La chimie supramoléculaire ouvre ainsi de nouvelles perspectives dans la science des matériaux et notamment dans le domaine des matériaux membranaires.

I.4. Les membranes

Une membrane peut être définie comme une barrière physique qui permet une sélectivité de matière lors du transfert entre deux compartiments. Le transfert au travers de la membrane peut avoir lieu par diffusion ou par convection. Il peut être induit par un gradient de pression, de concentration, de température ou de potentiel électrique²¹.

Il existe deux grandes familles de membranes : les membranes biologiques issues du monde vivant et les membranes synthétiques élaborées, notamment grâce à la chimie et aux sciences des matériaux.

I.4.A. Les membranes synthétiques

C'est au 18^{ème} siècle que les premières expériences relatives aux membranes sont répertoriées. En 1748, Jean Antoine Nollet introduit pour la première fois le terme d'osmose. Il met en évidence le passage de l'eau à travers une vessie de porc recouvrant un bocal rempli d'éthanol. Quatre-vingt ans plus tard, Adolf Fick formule les différentes lois de la diffusion et Thomas Graham énonce celles concernant la diffusion des gaz. En 1886, Jacobus Henricus Van 't Hoff établit une formule permettant le calcul de la pression osmotique et introduit le terme de « semi perméable » pour décrire les membranes²². Ses travaux lui permettront d'obtenir quelques années plus tard le prix Nobel de chimie. Grâce à ces différentes découvertes, de nombreuses études s'ensuivent.

Cependant, tout au long du 19^{ème} siècle, et jusqu'au début du 20^{ème} siècle, les membranes ne sont étudiées qu'au sein des laboratoires et ne possèdent aucune application industrielle.

Ce n'est qu'à partir des années 1960, que le développement technologique des membranes synthétiques est permis grâce à la synthèse de nouvelles membranes. Sidney Loeb et ses collaborateurs mettent au point une membrane à base d'acétate de cellulose capable de rejeter le

²¹ A.K. Pabby, S.S.H. Rizvi, A.M. Sastre, *Handbook of membrane separations*, CRC Press Taylor & Francis Group, **2009**

²² L.K. Wang, J.P. Chen, Y-T. Hung, N.K. Shammass, *Membranes and desalination technologies*, Humana Press, **2010**

sel contenu dans l'eau de mer à des débits et des pressions modérés²³. La découverte de la membrane Nafion[®], par la société Du Pont de Nemours[®], a également contribué au développement des membranes synthétiques, dans ces mêmes années. Sa structure ainsi que sa capacité à transporter sélectivement les protons ont inspiré de nombreuses recherches, tout particulièrement dans le domaine des piles à combustible²⁴. Depuis, de nombreuses études ont été menées et ont permis d'importants progrès dans les procédés permettant l'élaboration des membranes synthétiques. Elles connaissent, de ce fait, de plus en plus d'applications dans divers domaines tels que l'industrie agro-alimentaire, l'industrie chimique, l'industrie pharmaceutique ou la filtration d'eau.

Les membranes synthétiques peuvent être classées selon la nature du matériau utilisé, la morphologie, la taille des pores, la technique d'élaboration, etc. Elles peuvent être, organiques (polymère) ou inorganiques (céramique/métal), solides ou liquides, poreuses ou denses, homogènes ou hétérogènes, symétriques ou asymétriques²². Elles sont principalement utilisées dans les procédés de séparation membranaire. Ces procédés servent à séparer ou à concentrer des molécules et des espèces ioniques en solution, ou à séparer des particules ou des microorganismes en suspension dans un liquide.

Il existe plusieurs types de procédés de séparation membranaires (Figure I.8) qui peuvent être classés selon la nature de la force motrice appliquée²² :

- Gradient de pression : l'osmose inverse (OI), la microfiltration (MF), l'ultrafiltration (UF), la nano-filtration (NF), la pervaporation ;
- Gradient de concentration : l'osmose, la dialyse ;
- Gradient de température : la distillation ;
- Gradient de potentiel électrique : l'électrodialyse.

Ces procédés sont en général appréciés pour leur faible consommation énergétique et leur bonne sélectivité. Les conditions particulièrement douces de fonctionnement et l'absence de changement d'état font partie de leurs avantages. Les principales utilisations industrielles des

²³ C.J.M. van Rijn, *Nano an micro engineered membrane technology*, Elsevier, **2004**,

²⁴ P.T. Cardew, M.S. Le, *Membrane processes : a technology guide*, Cambridge Royal Society of Chemistry, **1998**

membranes concernent les procédés qui mettent en jeu un gradient de pression (MF, UF, NF et l'OI). Suivent les procédés électromembranaires utilisant des membranes échangeuses d'ions (électrodialyse, électrolyse à membranes, dialyse).

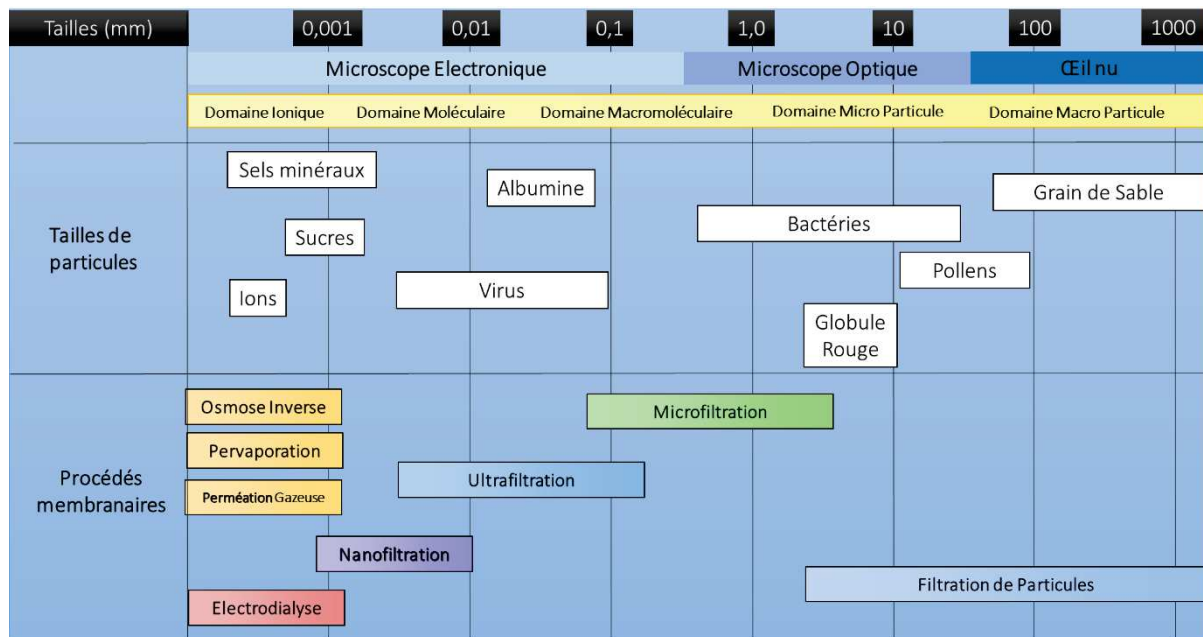


Figure 1.8 : Représentation des différents procédés de séparation membranaires en fonction de la taille des particules retenues²⁴.

I.4.B. La membrane cellulaire

Pour survivre, une cellule doit maintenir isolé le milieu intracellulaire, qui lui est propre, du milieu extracellulaire qui l'entoure²⁵. Cette séparation est assurée par la membrane cellulaire. En plus de son rôle de barrière physique, elle joue un rôle indispensable dans de nombreux processus cellulaires, qui sont notamment permis grâce à sa structure²⁶.

Il est donc nécessaire de comprendre cette structure pour expliquer les différents phénomènes cellulaires.

²⁵ L. Sherwood, *Fundamentals of physiology, Third Edition*, Thomson Brooks/Cole, 2006

²⁶ G. Karp, *Cell and Molecular Biology. Concepts and experiments, fifth Edition*, John Wiley & Sons, 2008

En 1972, Jonathan Singer et Gareth Nicolson proposent un modèle de structure membranaire, qui est aujourd'hui unanimement admis. Il s'agit du modèle de la mosaïque fluide²⁷ (Figure I.9). D'après celui-ci, la membrane est une structure dynamique²⁶. Plus précisément, la membrane n'est pas une structure rigide mais un milieu fluide composé de phospholipides et de protéines. Les phospholipides amphipatiques forment la bicouche lipidique. Chaque couche est composée d'une partie hydrophile et d'une partie hydrophobe. La partie hydrophile, dirigée vers l'extérieur, est formée par les têtes polaires des phospholipides. La partie hydrophobe, orientée vers l'intérieur, est quant à elle constituée par les queues apolaires²⁸.

La fluidité de la membrane est essentiellement due au fait que les phospholipides ne sont pas liés de façon covalente. Ces derniers sont donc capables de mouvement, ce qui permet, en outre, aux cellules, telles que les globules rouges, de modifier leur forme dans le but de s'adapter à leur environnement. La bicouche lipidique, qui constitue la structure primaire de la membrane²⁹, est associée à des protéines périphériques et à des protéines intégrales³⁰.

Les protéines périphériques concernent les protéines qui ne pénètrent pas dans la membrane. Elles sont liées à la bicouche lipidique via des interactions de Van der Waals ou des liaisons hydrogène. Les protéines intégrales sont, tout comme les phospholipides de la bicouche, amphipatiques³¹.

Leur partie apolaire s'insère dans le cœur hydrophobe de la bicouche lipidique via les interactions hydrophobes³². Les protéines intégrales suscitent un grand intérêt, car certaines d'entre elles sont

²⁷ G.M. Cooper, *The cell : a molecular approach*, Sinauer Associates, **1997**

²⁸ P.R. Wheater, B. Young, J.W. Heath, *Weather's functional histology. A text and color atlas, Fourth Edition*, Harcourt Publishers, **2000**

²⁹ R. Eckert, D. Randall, W. Burggren, K. French, *Animal Physiology : Mechanisms and Adaptation, Third Edition*, W.H. Freeman and Company, **1997**

³⁰ J.P. Borel, R. Randoux, F.X. Maquart, P. Gillery, C. Le Peuch, G. Bellon, J.C. Monboisse, *Biochimie dynamique*, De Boeck & Larcier, **1997**

³¹ J.P. Harley, D.A. Klein, L.M. Prescott, L.M. Sherwood, J.M. Willey, C.J. Woolverton, *Microbiologie, 3^{ème} Edition*, De Boeck, **2010**

³² R.H. Garrett, C.M. Grisham, *Biochemistry, Second Edition*, Saunders College Publishing, **1999**

responsables du transport membranaire qui représente un processus nécessaire à la survie de la cellule.

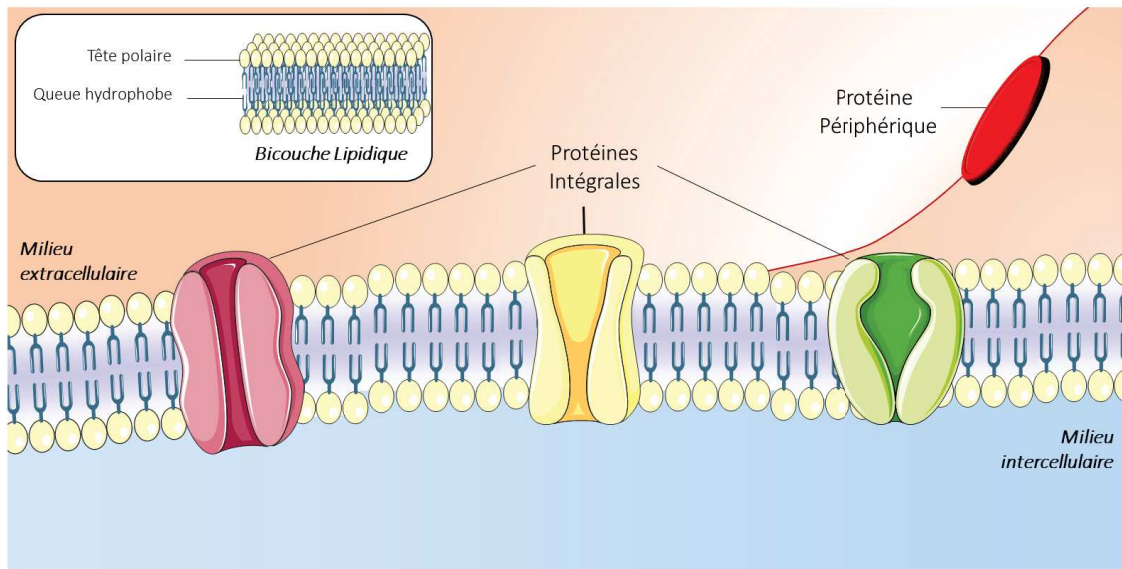


Figure 9 : Représentation schématique de la membrane cellulaire d'après le modèle de la mosaïque fluide³⁰.

I.5. Conclusion

Les études effectuées au cours de cette thèse ont pour objectif l'élaboration de divers systèmes membranaires. La conception de ces systèmes bioinspirés repose sur l'auto-assemblage de nano-objets. En effet, les processus d'auto-assemblage jouent un rôle primordial dans de nombreux phénomènes du monde vivant. Ils permettent l'édification de structures complexes, qui sont basées sur la reconnaissance moléculaire mettant en jeu les interactions intermoléculaires telles que les interactions de Van der Waals et les liaisons hydrogène. Le monde de la chimie s'inspire de ces systèmes biologiques dans le but de concevoir de nouveaux matériaux. Il est donc nécessaire d'étudier ces processus afin de maîtriser au mieux la conception de telles structures. Ceci est permis grâce à la chimie supramoléculaire. Cette nouvelle discipline de la chimie, définie par Jean-Marie Lehn, repose sur trois concepts, qui sont : la coordination, la sélectivité et la fixation. Elle s'efforce d'étudier les interactions intermoléculaires impliquées dans la

reconnaissance moléculaire, dans le but de les comprendre et ainsi de pouvoir réaliser des architectures supramoléculaires complexes basées sur l'auto-assemblage de briques élémentaires. Elle a permis le développement de nouveaux matériaux dans de nombreux domaines et notamment dans celui des membranes.

Les différents systèmes membranaires élaborés au cours de ces travaux de thèse sont ainsi basés sur les concepts définis dans cette introduction générale. De plus, ces systèmes sont conçus dans le but de diriger le transport d'espèces chimiques, tout en s'inspirant des processus de transport biologiques à travers la membrane cellulaire. Il est donc nécessaire de définir les différents modes de transport membranaire. Ces notions feront ainsi l'objet du prochain chapitre.

-Partie II-

Canaux Ioniques Synthétiques

Cette seconde partie présente la synthèse de molécules bola-amphiphiles effectuée dans le cadre d'une étude portant sur leur capacité à former des canaux ioniques au sein d'une bicouche lipidique. Cette étude a notamment été réalisée par spectroscopie de fluorescence. De plus, elle a pour origine et pour base de travail les nombreuses études internationales effectuées sur le transport d'espèces au travers de membranes cellulaires naturelles ou de systèmes synthétiques mimétiques, dont certains exemples seront présentés plus loin.

Des précédents travaux, s'inspirant de ces études, réalisés au sein de notre équipe de recherche ont mis en évidence la capacité de certaines molécules à former des canaux ioniques synthétiques, par auto-assemblage, au sein des bicouches lipidiques et dans des matériaux hybrides auto-organisés^{33,34}. Ceci constitue ainsi notre point de départ.

Ces études s'inspirant du transport au sein du monde vivant, les notions de bases concernant le mode et les mécanismes de transport au travers de la membrane cellulaire naturelle seront décrites dans un premier chapitre qui constitue la synthèse bibliographique. Dans ce même chapitre, quelques exemples de canaux ioniques naturels et synthétiques seront énumérés. Le principe de la spectroscopie sera ensuite expliqué pour une meilleure compréhension de l'étude. Enfin, dans un second chapitre, les résultats obtenus seront présentés et discutés.

³³ A. Cazacu, C. Tong, A. van der Lee, T.M. Fyles, M. Barboiu, *Columnar self-assembled ureido crown ethers : an example of ion-channel organization in lipid bilayers*, *Journal of the american chemical society*, **2006**, 128(29), 9541-9548

³⁴ Y-M. Legrand, M. Barboiu, *Self-assembled supramolecular channels : toward biomimetic materials for directional translocation*, *The chemical record*, **2013**, sous presse

II.1. Synthèse bibliographique

II.1.A. Le transport membranaire au sein des cellules

La membrane cellulaire est l'un des éléments les plus importants des systèmes biologiques³⁵. Elle n'a pas uniquement pour fonction de former une barrière physique entre le milieu intracellulaire et le milieu extracellulaire. Elle a également pour rôle de permettre la communication entre les cellules et leur milieu environnant. Cette communication est primordiale car, sans elle, la vie des cellules, et donc de l'organisme, est impossible³⁶. Pour survivre, une cellule doit être capable d'importer les éléments nutritifs dont elle a besoin, et de rejeter les substances toxiques ainsi que les déchets. Ceci est notamment permis grâce au transport membranaire des métabolites qui peuvent être transportés selon deux mécanismes de transport³⁷ :

- **le transport passif** : le transport s'effectue dans le sens des forces de diffusion, selon le gradient de potentiel chimique, il ne nécessite aucun apport d'énergie ;
- **le transport actif** : le transport s'effectue dans le sens contraire des forces de diffusion et du gradient de potentiel chimique, il nécessite un couplage énergétique.

II.1.A.1. Le transport passif

La diffusion passive et la diffusion facilitée correspondent aux deux modes de transport passif.

II.1.A.1.a. La diffusion passive

³⁵ Y.-R. Kim, S. Jung, H. Ryu, Y.-E. Yoo, S.M. Kim, T.-J. Jeon, *Synthetic biomimetic membranes and their sensor applications*, *Sensors*, **2012**, 12(7), 9530–9550

³⁶ A.J. Baertschi, *Transport Membranaire*, **2005**, 1–41

³⁷ D. Robert, B. Vian, *Éléments de biologie cellulaire*, 3^{ème} édition, Doin, **2004**

La diffusion passive est le mode de transport le plus simple. Au cours de ce processus, l'espèce transportée possède un déplacement thermodynamique favorable ($\Delta G < 0$) qui se produit sans apport d'énergie³⁸. Le mouvement de cette espèce se fait du compartiment où sa concentration est la plus élevée vers le compartiment où elle la plus faible. La différence de concentration de part et d'autre de la membrane génère une différence de potentiel chimique qui s'exprime selon la relation suivante³⁹ :

$$\Delta G = G_{int} - G_{ext} = RT \ln \frac{C_{int}}{C_{ext}} \quad (\text{II.1})$$

où ΔG est le potentiel chimique, R est la constante des gaz parfaits ($8,31 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$), T est la température ($^{\circ}\text{K}$), C_{int} ($\text{mol}\cdot\text{m}^{-3}$) est la concentration de la substance transportée à l'intérieur de la cellule et C_{ext} ($\text{mol}\cdot\text{m}^{-3}$) est la concentration de la substance transportée à l'extérieur de la cellule. D'après cette relation, si la concentration à l'extérieur de la membrane est plus élevée que la concentration à l'intérieur, ΔG est négatif. Le transport est donc spontané et se fait de l'extérieur vers l'intérieur. Au contraire, si la concentration à l'intérieur est plus importante que celle à l'extérieur, ΔG est positif. Or, le transport vers l'intérieur ne peut se produire que si ΔG est négatif. Pour ce faire le transport doit être activé, donc couplé à un processus exergonique tel que l'hydrolyse de l'ATP (chapitre II.1.B)^{39,40}.

Cette relation concerne uniquement les espèces non chargées. Pour celles portant une charge électrique, le transport dépend du potentiel électrochimique⁴ :

$$\Delta G = G_{int} - G_{ext} = RT \ln \frac{C_{int}}{C_{ext}} + ZF\Delta\Psi \quad (\text{II.2})$$

où ΔG est le potentiel électrochimique, Z est la charge de l'espèce transportée, F est la constante de Faraday (la charge sur une mole d'électron = $96,485 \text{ C}\cdot\text{mol}^{-1}$), et $\Delta\Psi$ est la différence de potentiel électrique à travers la membrane.

³⁸ R.H. Garrett, C.M. Grisham, *Biochemistry, Second Edition*, Saunders College Publishing, 1999

³⁹ D. Voet, J.G. Voet, *Biochemistry, Third Edition*, John Wiley & Sons, 2004

⁴⁰ R. Eckert, D. Randall, W. Burggren, K. French, *Animal Physiology : Mechanisms and Adaptation, Third Edition*, W.H. Freeman and Company, 1997

Le potentiel électrochimique correspond donc à la force d'entraînement qui permet le transport par diffusion passive d'une substance A. Ce potentiel peut s'exprimer selon l'équation de Nernst-Planck³⁷ :

$$J_A = \frac{dn}{dt} = -C_A U_A \frac{dG_A}{dx} \quad (\text{II.3})$$

où J_A est le flux ($\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) de la substance qui correspond à la quantité de matière diffuse par unité de temps. C_A est la concentration (mol.L^{-1}) de la substance A, U_A est sa mobilité ($\text{m}^2.\text{V}^{-1}.\text{s}^{-1}$), $\frac{dG_A}{dx}$ est son gradient de potentiel électrochimique et x (m) est l'épaisseur de la membrane. En supposant que la substance A ne soit pas chargée, la relation de Nernst-Planck devient³⁷ :

$$J_A = -D_A \frac{dC_A}{dx} \quad (\text{II.4})$$

où D_A est le coefficient de diffusion ($D_A = RTU_A$ et s'exprime en $\text{m}^2.\text{s}^{-1}$) de la substance A. Cette relation correspond à la première loi de diffusion de Fick établie en 1855 par Adolph Fick.

Pour une membrane d'épaisseur x , la relation (1.4) devient³⁷ :

$$J_A = \frac{D_A}{x} (C_{A\text{ext}} - C_{A\text{int}}) = P_A (C_{A\text{ext}} - C_{A\text{int}}) \quad (\text{II.5})$$

où P_A est le coefficient de perméabilité de la membrane pour A ($\text{m}.\text{s}^{-1}$). Il correspond à la vitesse à laquelle une substance traverse la membrane. Il reflète en générale la solubilité des substances dans les lipides⁴¹.

La diffusion passive d'une espèce est donc proportionnelle à son degré d'hydrophobie⁴². Ainsi, la membrane étant essentiellement lipidique, elle est perméable aux petites molécules hydrophobes (dérivés d'acide gras, stéroïdes), aux gaz (O_2 , CO_2) et aux petites molécules non chargées (Figure II.1).

⁴¹ G. William, *Introduction to plant physiology, Second Edition*, John Wiley & Sons, 1999

⁴² H. Lodish, D. Baltimore, A. Berk, S.L. Zipursky, P. Matsudaira, J. Darnell, *Molecular cell biology, Third Edition*, Freeman and Company, 1995

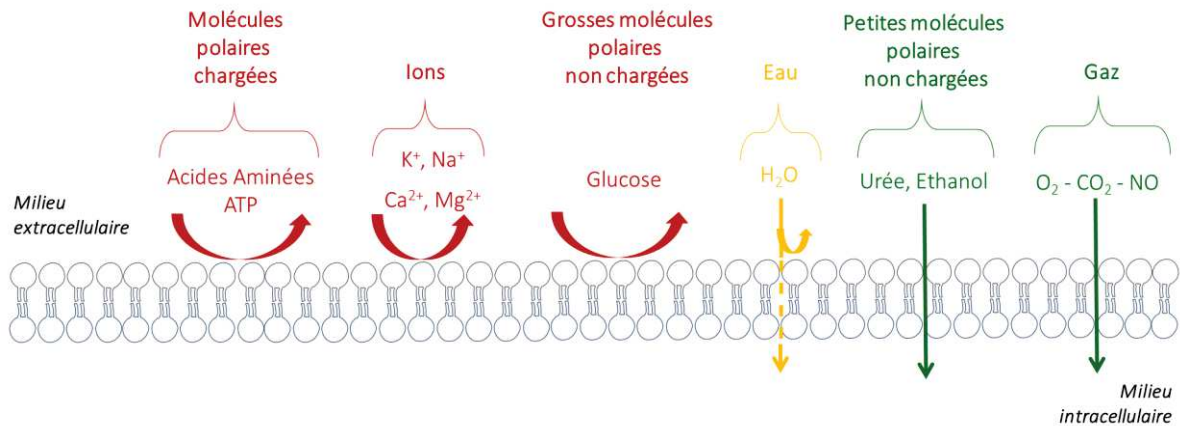


Figure II.1 : Représentation schématique de la perméabilité de la bicouche lipidique⁴².

Cependant, la vitesse de transport observée pour certaines molécules et certains ions, à travers la membrane plasmique, est plus élevée que celle attendue lors de la diffusion passive³⁸. C'est le cas, par exemple, pour le transport de l'eau et du glucose. Cette différence est due à la présence de protéines porteuses au sein des membranes. Elles jouent le rôle de transporteurs transmembranaires et facilitent, ainsi, le transport de certaines substances⁴². Ce processus correspond à la diffusion facilitée.

II.1.A.1.b. La diffusion facilitée

II.1.A.1.b.1. Définition

Tout comme la diffusion passive, la diffusion facilitée est un processus spontané qui s'effectue sans apport d'énergie.

Cependant, elle diffère de la diffusion passive par le fait que pour être transportées, les espèces ne se dissolvant pas dans la membrane, doivent être prises en charges par des transporteurs.

Ces derniers font traverser les substances à travers la bicouche lipidique en les maintenant protégé du cœur hydrophobe. De plus, contrairement à la diffusion passive, la diffusion facilitée

est caractérisé par la saturation du transporteur à des concentrations élevées de substances à transporter⁴³.

Grâce à la diffusion facilitée, le transport de molécules polaires et chargées (sucres, acides aminés, ions, etc.) est permis. Il existe deux types de protéines porteuses sélectives qui permettent une diffusion facilitée. Il s'agit des protéines porteuses ou perméases et des protéines de canal ou conductines⁴⁴.

II.1.A.1.b.2. Les protéines porteuses (perméases)

Les protéines porteuses (perméases) fixent sélectivement les molécules à transporter. La liaison de la molécule sur la perméase entraîne un changement de conformation qui permet la libération de la molécule de l'autre côté de la membrane. Ce mécanisme, qui est souvent représenté schématiquement, par un système de type « ping-pong », est réversible. Il peut en effet se produire aussi bien de l'extérieur de la cellule vers l'intérieur que de l'intérieur de la cellule vers l'extérieur. Les protéines porteuses sont responsables de la diffusion facilitée des sucres, des acides aminés et des nucléosides⁴⁵.

L'une des perméases les plus étudiées est le « Glucose transporter 1 » (GLUT1). Elle est responsable du transport du glucose qui est la source primordiale d'énergie métabolique pour les cellules. La concentration en glucose étant généralement plus élevée dans le milieu extracellulaire, GLUT1 catalyse donc, le plus souvent, l'entrée de glucose de l'extérieur vers l'intérieur de la cellule. Comme la plupart des perméases, GLUT1 alterne entre deux conformations⁴⁵.

Dans la première conformation, le site de liaison du glucose est tourné vers l'extérieur de la cellule. La fixation d'une molécule de glucose sur ce site fait basculer la GLUT1 dans sa seconde conformation. Le site de liaison est alors tourné vers l'intérieur de la cellule. Après libération du glucose dans le milieu intracellulaire, la GLUT1 reprend sa conformation d'origine³⁹ (Figure II.2).

⁴³ G.M. Cooper, *The cell : a molecular approach*, Sinauer Associates, **1997**

⁴⁴ H.P. Raven, R.F. Evert, S.E. Eichhorn, *Biology of plants*, Sixth Edition, Worth Publishers, **1992**

⁴⁵ H. Lodish, A. Berk, P. Matsudaira, C.A. Kaiser, M. Krieger, M.P. Scott, S.L. Zipursky, J. Darnell, *Molecular cell biology*, Fifth Edition, W.H. Freeman and Company, **2004**

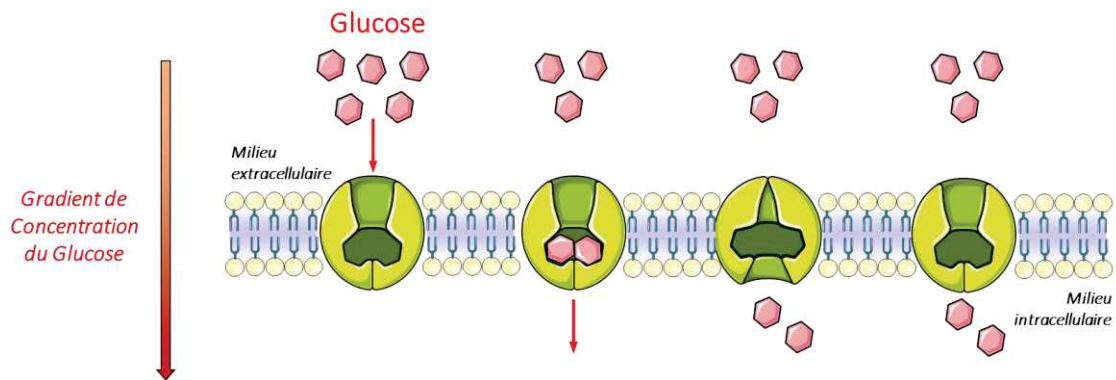


Figure II.2 : Représentation schématique des différentes étapes du transport du glucose via GLUT1³⁹.

II.1.A.1.b.3. Les protéines de canal (conductines ou canaux ioniques)

Les conductines forment des pores à travers la membrane et permettent ainsi la diffusion de molécules de taille et de charge convenables. Les protéines de canal les plus connues sont les porines. Elles laissent passer à travers la membrane les ions et les molécules polaires³⁹.

La diffusion des molécules polaires met notamment en jeu deux protéines intrinsèques majeures (MIP)⁴⁶ :

- les aquaglycéroporines qui facilitent par exemple la diffusion du glycérol ;
- les aquaporines qui sont responsables de la diffusion facilitée de l'eau. Ces dernières seront étudiées plus précisément dans la troisième partie de ce manuscrit.

La diffusion des ions, quant à elle, est permise grâce aux canaux ioniques qui présentent trois propriétés essentielles^{39,40} :

- ils permettent un passage des ions très rapide. 10^6 à 10^8 ions par milliseconde peuvent traverser un canal ionique. Soit mille fois plus qu'avec une perméase ;

⁴⁶ J.P. Harley, D.A. Klein, L.M. Prescott, L.M. Sherwood, J.M. Willey, C.J. Woolverton, *Microbiologie, 3^{ème} Edition*, De Boeck, 2010

- ils sont extrêmement sélectifs de par la taille de leurs pores. En effet, étant très étroits, les canaux ioniques sont perméables uniquement aux ions de taille appropriée (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} ou Cl^-) ;
- ils possèdent des « vannes » qui s'ouvrent de façon intermittente sous l'action de certains stimuli (Figure II.3).

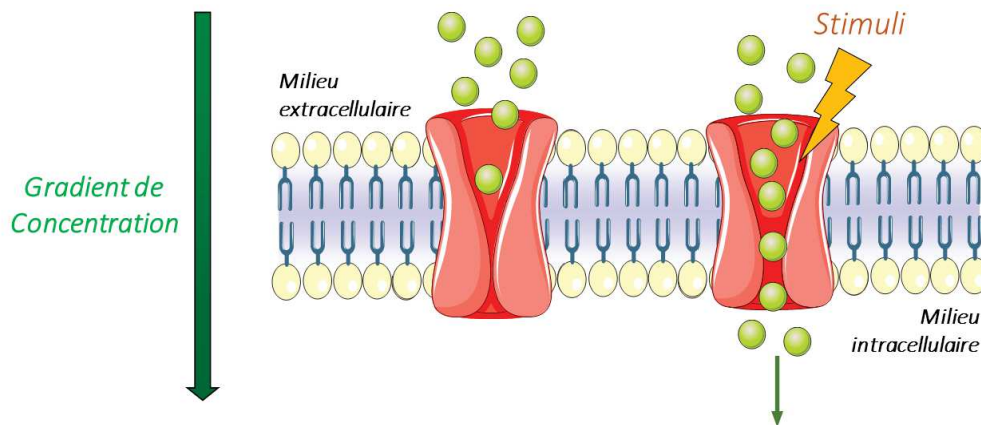


Figure II.3 : Représentation schématique du transport d'ions à travers un canal ionique⁴⁰.

Le transport par diffusion passive ou facilitée permet le passage des substances à travers la membrane suivant leur gradient de concentration ou leur gradient électrochimique. Le transport d'une substance contre ce gradient nécessite un apport d'énergie. Il s'agit dans ce cas d'un transport actif.

II.1.A.2. Le transport actif

II.1.A.2.a. Définition

Le transport actif met également en jeu des perméases. Et tout comme le transport facilité, il est caractérisé par la saturation du transporteur à des concentrations élevées de substances à transporter⁴³.

Cependant, il diffère du transport facilité par son besoin en énergie métabolique et par sa capacité à concentrer les substances⁴⁷. Le transport actif peut être soit primaire ou soit secondaire.

II.1.A.2.b. Le transport actif primaire

Le transport actif primaire résulte d'un couplage direct à un processus exergonique. En général la source d'énergie correspond à l'hydrolyse de l'ATP. Le transport actif primaire met en jeu des complexes protéiques appelés pompes. Il existe un grand nombre de pompes et de différents types, mais la plus connue est la pompe à sodium⁴⁸.

Pour permettre leur bon fonctionnement, les cellules animales concentrent les ions K^+ à l'intérieur de la cellule et expulsent les ions Na^+ . En effet, les ions potassium sont nécessaires à l'activation de nombreux processus, tandis que les ions sodium, à des concentrations élevées, les inhibent. Le maintien des bonnes concentrations intracellulaires de ces ions est permis grâce aux pompes à sodium. Ces dernières dirigent le transport des ions K^+ et Na^+ contre leur gradient de concentration. Ce transport est couplé à l'hydrolyse de l'ATP qui se produit dans le milieu intracellulaire. Au cours de ce processus, trois ions Na^+ sont transportés hors de la cellule, et deux ions K^+ sont transportés vers l'intérieur (Figure II.4).

⁴⁷ L.M. Prescott, J.P. Harley, D.A. Klein, *Microbiology, Fifth Edition*, McGraw-Hill Companies, **2002**

⁴⁸ J.-C. Callen, R. Rerasso, *Biologie cellulaire-Des molécules aux organismes, 2^{ème} Edition*, Dunod, **2005**

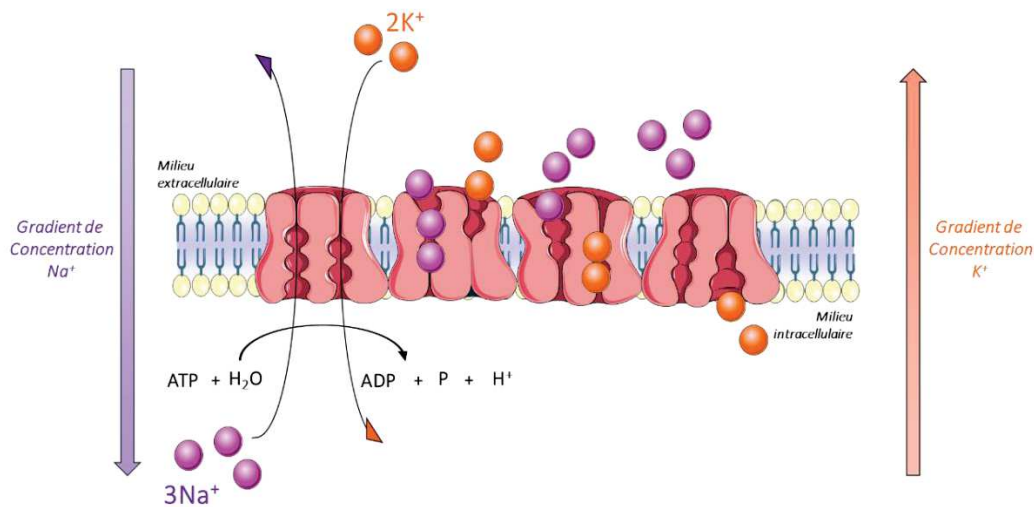


Figure II.4 : Représentation schématique des différentes étapes de la pompe à sodium⁴⁴.

Une charge positive nette est donc déplacée vers l'extérieur de la cellule, créant ainsi un potentiel électrique de part et d'autre de la membrane. La pompe à sodium est ainsi dite électrogénique⁴⁹.

II.1.A.c. Le transport actif secondaire

Le transport actif secondaire permet également de transporter les substances contre leur gradient de concentration. Mais dans ce cas, la source d'énergie est indirecte et elle est apportée par le gradient électrochimique d'une espèce motrice. Le transport est ici couplé à celui d'une autre substance. Il s'agit d'un co-transport. En général, cette substance est un ion moteur qui présente un fort gradient de concentration (Na^+ pour les cellules animales et H^+ pour les végétales et bactériennes). Contrairement à la substance à laquelle il est couplé, l'ion moteur se déplace spontanément dans le sens de son gradient⁴⁴. La substance ne peut être transportée sans l'ion moteur. Sa fixation est facilitée par celle de l'ion et la vitesse de transport dépend de la force du gradient électrochimique. Les deux espèces peuvent être transportées dans le même sens (symport) ou dans le sens inverse (antiport) (Figure II.5).

⁴⁹ C. Moussard, *Biologie moléculaire-Biochimie des communications cellulaires*, De Boeck et Larcier, 2005

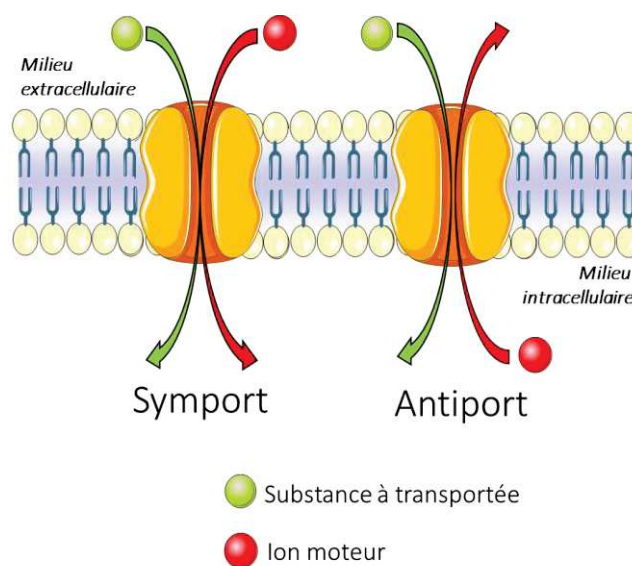


Figure II.5 : Représentation schématique d'un symport et d'un antiport⁴⁷.

Les études réalisées au cours de cette thèse s'axent sur les canaux ioniques. Dans le chapitre qui suit, quelques exemples de canaux ioniques naturels et synthétiques seront présentés.

II.1.B. Canaux ioniques naturels

II.1.B.1. La Gramicidine A

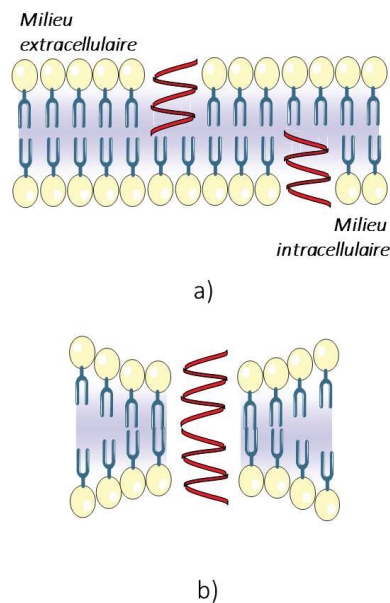
La gramicidine A est un antibiotique composé de 15 acides aminés. Ce polypeptide linéaire a fait l'objet de nombreuses études et est certainement le canal ionique le mieux compris à ce jour⁵⁰. Une molécule de gramicidine A n'est pas suffisamment longue pour s'insérer au sein de la bicouche lipidique. La formation d'un canal nécessite l'association de deux molécules de

⁵⁰ B. Wallace, *Recent Advances in the High Resolution Structures of Bacterial Channels: Gramicidin A*, Journal of structural biology, **1998**, 121(2), 123–141

gramicidine A (Urry et al.)⁵¹ et elle est accompagnée par une déformation locale de la bicouche lipidique (Figure II.6). Ces dernières s'associent au niveau de leur extrémité N-terminale pour constituer le canal ionique⁵². L'hélice dimérique, ainsi formée, possède :

- une longueur du même ordre de grandeur que la partie hydrophobe de la bicouche lipidique ($\approx 26\text{\AA}$) ;
- une taille de pore (diamètre $\approx 4\text{\AA}$) qui permet le passage de cations monovalents.

L'hélice est stabilisée par une quinzaine de liaisons hydrogène intramoléculaires, par six liaisons hydrogène intermoléculaires, et par les noyaux indole des tryptophanes qui composent la gramicidine A⁵³.



⁵¹ D. W. Urry, C. Goodall, D.F. Mayers, *The Gramicidin A Transmembrane Channel: Characteristics of head-to-head dimerized*, Proc. Nat. Acad. Sci, **1971**, 68(8), 1907–1911

⁵² G.V. Miloshevsky, P.C. Jordan, *Gating gramicidin channels in lipid bilayers: reaction coordinates and the mechanism of dissociation*, Biophysical journal, **2004**, 86, 92–104

⁵³ D. Kelkar, A. Chattopadhyay, *The gramicidin ion channel: a model membrane protein*, Biochimica et biophysica acta, 2007, 1768(9), 2011–2025.

Figure II.6 : Représentation schématique de la formation du canal à partir de deux molécules de Gramicidine A .

(a) Le canal dans sa configuration fermé. (b) Ouverture du canal par auto-assemblage de deux molécules de Gramicidine A⁵³.

Un transport sélectif a été observé avec la Gramicidine A et il correspond à la séquence I d' Eisenman ($\text{Cs}^+ > \text{Rb}^+ > \text{K}^+ > \text{Na}^+ > \text{Li}^+$)^{53,54}.

II.1.B.2. La protéine M2 du virus de la grippe A

La protéine M2 du virus de la grippe A est une protéine transmembranaire formant un canal à proton pH dépendant⁵⁵. Ce canal, hautement sélectif, est indispensable au cycle de vie du virus et est la cible d'antibiotiques tels que l'amantadine^{55,56}.

La protéine M2 est un homotétramère. Chacune des quatre sous-unités est composée de trois domaines : une extrémité N-terminale, une région transmembranaire et une extrémité C-terminale. L'extrémité N-terminale est située dans le milieu extracellulaire et comprend 24 acides aminés auxquels s'enchaînent 19 autres résidus aminés formant le domaine transmembranaire. Enfin, l'extrémité C-terminale, se trouvant dans le milieu intracellulaire et composée de 54 acides aminés⁵⁷. Les sous-unités sont assemblées via des interactions intermoléculaires, et elles sont notamment stabilisées par les ponts disulfures de l'extrémité N-terminale⁵⁸. Les quatre domaines

⁵⁴ D. Krauss, B. Eisenberg, D. Gillespie, *Selectivity sequences in a model calcium channel: role of electrostatic field strength*, European biophysics journal, **2011**, 40(6), 775–782

⁵⁵ L.H. Pinto, G.R. Dieckmann, C.S. Gandhi, C.G. Papworth, J. Braman, M.A. Shaughnessy, J.D. Lear, R.A. Lamb, W.F. Degradó, *A functionally defined model for the M2proton channel of influenza A virus suggests a mechanism for its ion selectivity*, Proceedings of the National Academy of Sciences, **1997**, 94, 11301-11306

⁵⁶ K. Wang, S. Xie, B. Sun, *Viral proteins function as ion channels*, Biochimica et Biophysica acta, **2011**, 1808(2), 510–515

⁵⁷ S. Phongphanphanee, T. Rungrotmongkol, N. Yoshida, S. Hannongbua, F. Hirata, *Proton transport through the influenza A M2 channels : three-dimensional reference interaction site model study*, Journal of the American Chemical Society, **2012**, 132, 517-528

⁵⁸ Y. Wu., G. Voth, *Computational studies of proton transport through the M2 channel*, FEBS Letters, **2003**, 552(1), 23–27

transmembranaires forment le canal à proton dans lequel les résidus histidines permettent la détection du pH et les résidus tryptophanes jouent le rôle de vannes⁵⁹. A pH élevé (pH>6), le canal est très étroit et les vannes formées par les résidus tryptophanes sont fermées via les interactions intermoléculaires avec l'acide aspartique. A faible pH (pH<6), les noyaux imidazoles de l'histidine se protonent.

La protonation de l'histidine a pour conséquence l'ouverture du canal ainsi que celle des vannes. L'ouverture de ces dernières se produit grâce à la rotation des noyaux indoles des tryptophanes. Ces deux phénomènes permettent ainsi l'hydratation du canal et le passage des protons⁵⁸ (Figure II.7).

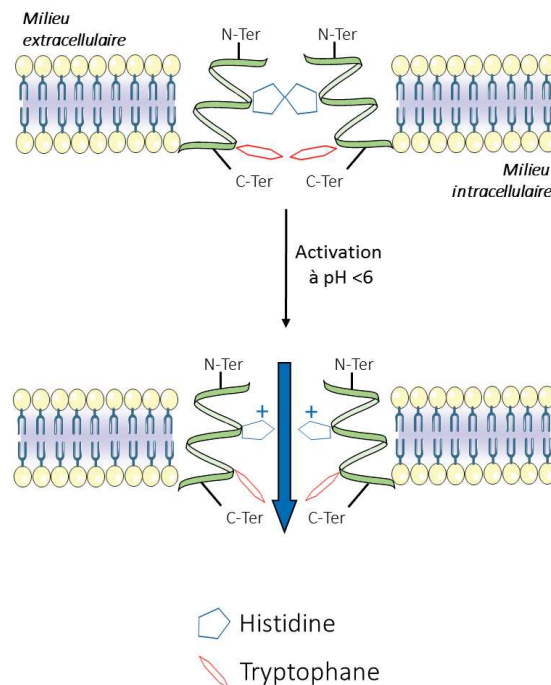


Figure II.7 : Représentation schématique du canal à proton formé par la protéine M2 du virus de la grippe A⁵⁸.

II.1.B.3. Le canal potassique KcsA

Les canaux potassiques appartiennent à un groupe important et diversifié de protéines membranaires qui jouent un rôle crucial dans la régulation du potentiel de membrane, la

⁵⁹ J. R. Schnell, J.J. Chou, *Structure and mechanism of the M2 proton channel of influenza A virus*, Nature, **2008**, 451, 591-565

transduction du signal, et diverses manifestations physiologiques⁶⁰. Ils ont pour fonction principale de faciliter et de réguler la conduction des ions K^+ à travers la membrane cellulaire. La propriété la plus remarquable de ces canaux est qu'ils possèdent une forte sélectivité vis-à-vis des ions K^+ . Ils sont, par exemple, environ 50 à 10000 fois plus sélectifs à cet ion qu'à l'ion Na^+ bien que ces derniers soient de plus petites tailles⁶¹. Un des canaux potassiques les plus étudiés est le canal potassique KcsA. En 1998, Roderick Mackinnon réussit à déterminer la structure tridimensionnelle de ce canal par diffraction des rayons-X⁶². Cette découverte lui valut en 2003 le prix Nobel de chimie. La structure cristalline de ce canal a ainsi permis de mieux comprendre la conduction des ions K^+ au sein des canaux ioniques.

Avant la cristallisation de KcsA, le paradoxe entre la grande conduction et la forte sélectivité était toujours incompris. Comment l'ion sodium, plus petit que l'ion potassium, ne peut passer au travers du canal, alors que l'ion K^+ est transporté à une vitesse proche de sa limite de diffusion ($10^8 K^+.s^{-1}$). La découverte de la structure cristalline de KcsA a ainsi permis de mieux comprendre les mécanismes impliqués lors de ce phénomène. Dans le milieu extracellulaire, les ions doivent passer dans la région du filtre de sélectivité qui est constitué des groupements carbonyles des acides aminés. Ces derniers sont alignés de telle sorte à ce que les ions K^+ soient stabilisés tout au long du canal⁶³. Ce qui n'est pas le cas des ions plus petits comme le Na^+ ou plus gros comme le Ca^{2+} ⁶⁴. En effet, en solution, les ions K^+ sont stabilisés par les molécules d'eau. Dans le filtre de sélectivité, ces derniers se déshydratent. Afin de maintenir leur stabilité, les groupements carbonyles offrent l'espace nécessaire afin de compenser la sphère d'hydratation de l'ion potassium. Le passage des ions K^+ est ainsi permis et ceci sans apport d'énergie

⁶⁰ K. Takeuchi, M. Yokogawa, T. Matsuda, M. Sugai, S. Kawano, T. Kohno, H. Nakamura, H. Takahashi, I. Shimada, *Structural Basis of the KcsA K^+ Channel and Agitoxin2 Pore-Blocking Toxin Interaction by Using the Transferred Cross-Saturation Method*. Structure, **2003**, 11(11), 1381–1392

⁶¹ C. Berrier, E. Honoré, I.A. Lefèvre, N. Husy, *Quand les cristaux font la lumière sur la structure des canaux ioniques*, Médecine/Sciences, **2000**, 16, 823-827

⁶² A. Doyle, J. H. Morais, Cabral, R., A. Pfuetzner, A. Kuo, J. M. Gulbis, S. L. Cohen, B. T. Chait, R. MacKinnon, *The structure of the potassium channel: molecular basis of K^+ conduction and selectivity*, Science, **1998**, 280, 69-77

⁶³ B. Egwolf, B. Roux, *Selectivity of the KcsA Channel: A Perspective from Multi-Ion Free Energy Landscapes*, J. Mol. Biol, **2010**, 401, 831–842

⁶⁴ S.Y. Noskov, W. Im, B. Roux, *Ion permeation through the alpha-hemolysin channel: theoretical studies based on Brownian dynamics and Poisson-Nernst-Planck electrodiffusion theory*, Biophysical Society, **2004**, 87(4), 2299-2309

supplémentaire⁶⁵. Au contraire, l'ion Na⁺ est trop petit et n'est pas bien stabilisé. Les ions divalents sont aussi mal stabilisés n'étant pas optimisés pour passer au travers de ce type de canal.

Ces exemples ne représentent évidemment qu'une infime partie des nombreuses illustrations de canaux ioniques naturels présents dans le monde vivant. Mais tous ont pour point commun leur grande sélectivité et leur complexité. Ainsi, dans le but de mieux les comprendre ces systèmes et de s'en inspirer, les recherches se sont concentrées sur un nouveau domaine, celui du biomimétisme. De nombreuses études menées ont eu pour objectif de reproduire les propriétés de transport d'ions au sein des membranes biologiques. Pour cela, des canaux ioniques artificiels, constitués à partir de molécules, ont été synthétisés afin de miner au mieux les transporteurs naturels. La formation de ces canaux repose sur l'auto-assemblage des composés moléculaires qui le constituent.

II.1.C. Canaux ioniques supramoléculaires biomimétiques

Gokel et al. ont développé une classe de canaux ioniques synthétiques appelés « hydraphiles »⁶⁶. Ces canaux sont constitués de trois macrocycles éther-couronnes (diazacouronne-6) qui sont reliés entre eux par des chaînes alkyles. Les macrocycles situés aux extrémités sont parallèles et jouent le rôle de portes d'entrée et de sortie dans la conduction des ions⁶⁷. L'éther couronne central, perpendiculaire aux deux autres, permet la stabilisation des cations transportés. Enfin, les chaînes alkyles servent d'espaceurs hydrophobe. Leur longueur doit être appropriée pour que « l'hydraphile » puisse s'insérer au sein de la bicouche⁶⁸ (Figure II.8).

⁶⁵ B. Roux, S. Bernèche, B. Egwolf, B. Lev, S.Y. Noskov, C.N. Rowley, H. Yu, *Ion selectivity in channels and transporters*, Journal of General Physiology, **2011**, 137(5), 415-426

⁶⁶ G.W. Gokel, *Indole, the aromatic element of tryptophan, as a pi-donor and amphiphilic headgroup*. International Congress Series, **2007**, 1304, 1-14

⁶⁷ G.W. Gokel, S. Negin, *Synthetic membrane active amphiphiles*, Advanced drug delivery reviews, **2012**, 64(9), 784-796

⁶⁸ S. Negin, B.A. Smith, A. Unger., W.M. Leevy, G.W. Gokel, *Hydraphiles: a rigorously studied class of synthetic channel compounds with in vivo activity*, International journal of biomedical imaging, **2013**, 1-11

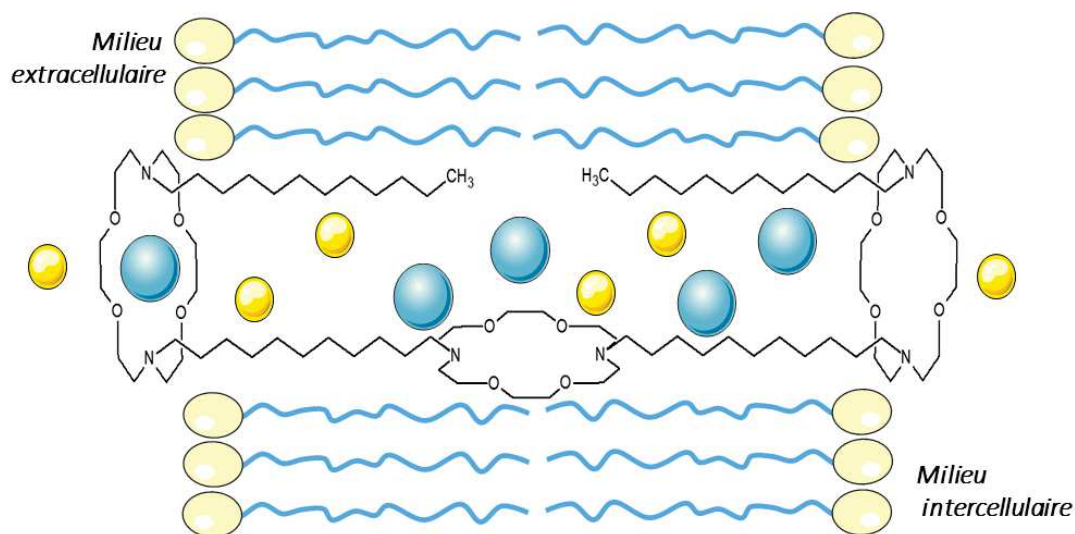
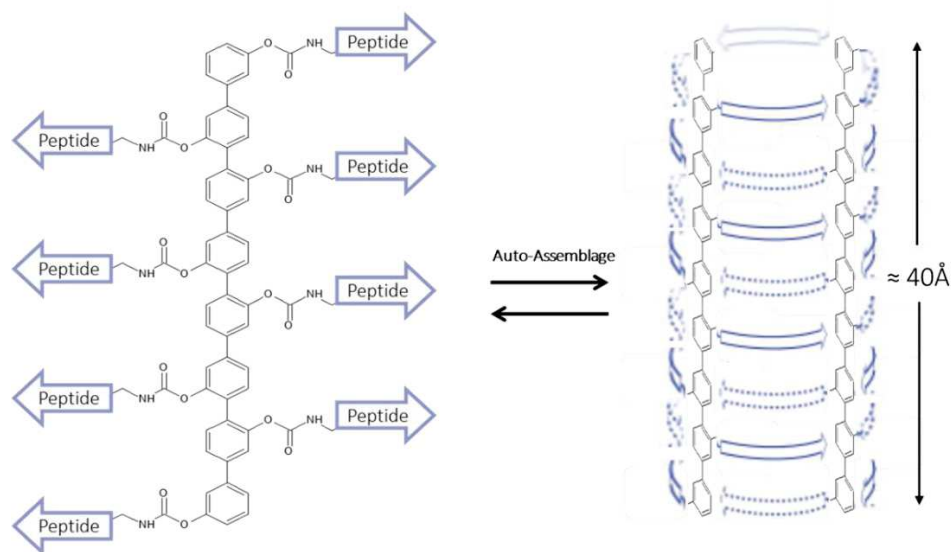


Figure II.8 : Représentation schématique de l'insertion d'un canal hydrophile au sein de la bicouche lipidique³⁷.

Matile et al ont mis au point des pores supramoléculaires appelés baril β à baguette rigide⁶⁹. Ces pores cylindriques sont constitués de huit monomères (peptides) maintenus entre eux par une baguette rigide *p*-octyphényle. Cette dernière possède une longueur similaire à l'épaisseur de la bicouche lipidique (Figure II.9). Les pores sont formés par l'auto-assemblage en feuillet β des peptides. L'angle de torsion entre deux cycles aromatiques est à l'origine de la forme cylindrique des pores. Les propriétés des barils β sont dues au choix des acides aminés utilisés et de leur position. D'autres structures ont été obtenues en faisant varier la longueur de la baguette ainsi que la nature des acides aminés⁷⁰. Des applications diverses, allant du transport membranaire aux capteurs biomimétiques, ont pu être développées à partir de ces systèmes.

⁶⁹ S. Matile; A. Som; N. Sordé, *Recent synthetic ion channels and pores*, Tetrahedron **2004**, 60, 6405-6435

⁷⁰ V. Gorteau, *Regulated transport with synthetic ion channels and pores : anion selectivity, ligand gating and blockage*, Université de Genève, **2007**



*Figure II.9 : Représentation schématique de la formation d'un baril β à baguette rigide à partir de l'auto-assemblage de *p*-octylphényle³⁹.*

Un autre exemple important concerne les travaux de Tom Fyles sur les molécules « bola-amphiphiles ». Ces dernières possèdent la capacité de former des canaux ioniques en s'auto assemblant. Elles sont constituées de deux têtes polaires reliées entre elles par une ou deux chaînes alkyls qui permettent l'insertion de la molécule au sein de la bicouche⁷¹ (Figure II.10).

⁷¹ Y. Yan, T. Lu., J. Huang, *Recent advances in the mixed systems of bolaamphiphiles and oppositely charged conventional surfactants*, Journal of colloid and interface science, **2009**, 337(1), 1–10

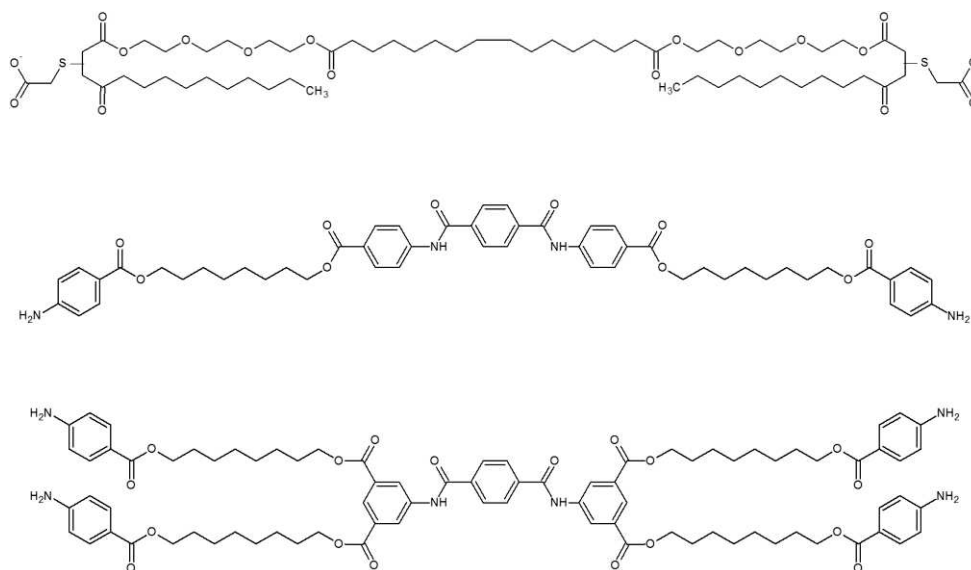


Figure II.10 : Représentation de molécules bola-amphiphiles (Représentation plane)³⁷.

Ces différentes études ont permis le développement de nombreux canaux ioniques biomimétiques. La formation de ces canaux se fait par auto-assemblage de molécules qui présentent toutes une structure similaire. Elles sont constituées d'une ou plusieurs têtes polaires qui sont reliées entre elles par une ou plusieurs chaînes hydrocarbonées. Cette dernière, de nature hydrophobe, permet l'insertion du canal au sein de la bicouche. C'est donc en s'inspirant de ces différents éléments que les composés moléculaires, obtenues lors de travaux réalisées au sein de notre équipe, ont été synthétisées. Ainsi, les travaux d'Adinela Cazacu⁷² se sont basés sur la synthèse de nouveaux dérivés d'éthers-couronnes dont l'auto-assemblage est dirigé par les motifs structuraux urée. Il a été montré que ces composés possèdent la capacité de former des agrégats en solution (dimère et oligomères), des matrices en forme de canaux à l'état solide (configuration anti-parallèle privilégiée), et des canaux ioniques fonctionnels au sein de bicouches planaires. Ces résultats ont ainsi permis de mettre en évidence un système supramoléculaire synthétique simple auto-organisé qui combine avec succès à la fois la structure et la fonction supramoléculaires⁷³.

⁷² A. Cazacu, *Récepteurs macrocycliques fonctionnalisés comme transporteurs membranaires et réactifs analytiques*, Université de Montpellier II, **2007**

⁷³ A. Cazacu, C. Tong, A. van der Lee, T.M. Fyles, M. Barboiu, *Columnar self-assembled ureido crown ethers: an example of ion-channel organization in lipid bilayers*, *Journal of the American Chemical Society*, **2006**, 128(29), 9541–9548

Un autre exemple de travaux réalisés au sein de notre équipe concerne ceux de Yann Le Duc⁷⁴. Ces derniers ont ainsi permis la synthèse de composés bola-amphiphiles, le Triazole-C₆-Triazole (T-C₆-T), l’Histamine-C₆ (H-C₆) et l’Histamine-C₆-Histamine (H-C₆-H) dont l’auto-assemblage permet la formation de canaux ioniques et de canaux d’eau au sein de bicouche lipidique.

Tous ces différents exemples constituent ainsi le point de départ de nos travaux

II.1.D. Les vésicules utilisées comme membranes modèles

L’étude des propriétés de transport des canaux ioniques synthétiques est essentiellement réalisée en utilisant des membranes biomimétiques. Les membranes biologiques présentant une grande complexité, il est plus aisé de travailler à l’aide de membranes modèles pour simplifier au mieux les différentes études.

Il existe de nombreux types de membranes biomimétiques, mais les plus utilisées sont certainement, les bicouches lipidiques et les vésicules⁷⁵.

Les bicouches lipidiques, sont des systèmes qui peuvent être supportés ou autosupportés. L’épaisseur de la bicouche varie entre 4 et 7nm suivant les lipides qui la constituent. Elles sont notamment utilisées pour les différents processus membranaires et ainsi que pour le développement de nouvelles surfaces biofonctionnalisées⁷⁶. Au cours de ces travaux de thèse, ceux ne sont pas les bicouches lipidiques qui ont été utilisées en tant que membranes modèles mais les vésicules.

⁷⁴ Y. Le Duc, *Auto-assemblage supramoléculaire de canaux ioniques vers des matériaux membranaires et des capteurs électrochimiques macro-organisés*, Université de Montpellier II, **2010**

⁷⁵ A. H. Kunding, M. W. Mortensen, S. M. Christensen, D. Stamou, *A fluorescence-based technique to construct size distributions from single-object measurements: application to the extrusion of lipid vesicles*, *Biophysical journal*, **2008**, 95(3), 1176–1188

⁷⁶ F. Harb, *Etude d’un système biomimétique simple : diffusion brownienne et mobilité électrophorétique d’une protéine membranaire modèle insérée dans une bicouche lipidique supportée*, **2012**

II.1.D.1. Généralités

Les vésicules sont des structures supramoléculaires dynamiques possédant une bicouche de phospholipides ou de molécules amphiphiles synthétiques qui isolent le milieu intravésiculaire aqueux du milieu externe aqueux⁷⁷. Les vésicules peuvent être classées suivant leur nombre de bicouches et leur taille⁷⁸ : les vésicules multilamellaires (les MLVs), les vésicules unilamellaires de petite taille (les SUVs, $\phi < 200\text{nm}$), les vésicules unilamellaires de grande taille (les LUVs, $200 < \phi < 1000\text{nm}$) et les vésicules unilamellaires géantes (les GUV, $\phi > \mu\text{m}$). Bangham et al. ont mis au point la méthode la plus simple pour former des vésicules⁷⁹. Cette méthode consiste à évaporer le solvant dans lequel les phospholipides sont dissouts. Le film lipidique formé est ensuite hydraté dans un solvant aqueux. Les phospholipides s'organisent en bicouche de telle sorte à minimiser le contact entre des chaînes hydrophobes et le milieu aqueux. Cette méthode permet la formation de MLVs qui sont de taille hétérogène. Pour obtenir des vésicules de taille plus homogène et ne possédant qu'une seule bicouche il est nécessaire d'effectuer un traitement physique. Ainsi, les SUVs sont obtenus par sonication d'une solution de MLVs (Lorin et al.) et les LUVs sont quant à elles obtenues en soumettant une solution de MLVs à plusieurs cycles de congélation/décongélation (Pillot et al.). Ceci a pour conséquence, la fragilisation de la membrane et permet ainsi sa reconstruction en LUVs. Les vésicules de trop grandes tailles sont ensuite éliminées par filtration (ϕ de pores de 100nm)³⁹. Au cours de ces travaux de thèse, les vésicules utilisées sont des LUVs.

⁷⁷ O. Roling, C. Wendeln, U. Kauscher, P. Seelheim, H.-J. Galla, B. J. Ravoo, *Layer-by-Layer Deposition of Vesicles Mediated by Supramolecular Interactions*, *Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids*, **2013**, 29(32), 10174–10182

⁷⁸ A. Akbarzadeh, R. Rezaei-Sadabady, S. Davaran, S.W. Joo, N Zarghami, Y. Hanifehpour, M. Samiei, M. Kouhi, K. Nejati-Koshki, *Liposome: classification, preparation, and applications*, *Nanoscale research letters*, **2013**, 8(102), 1-9

⁷⁹ A. Lorin, C. Flore, A. Thomas, R. Brasseur, *Les liposomes: description, fabrication et applications*, *Biotechnology. Agronomy Society. Environment*, 2004, 8(3), 163–176

II.1.D.2. Préparation des LUVs

Les LUVs ont été obtenues selon la méthode de Kano et al⁸⁰. Pour ce mode de préparation, le phospholipide utilisé est la L- α -phosphatidylcholine. Tout d'abord, 0,8 mL (20mg) de solution de L- α phosphatidylcholine à 25mg.mL⁻¹ sont prélevés. Le même volume de méthanol y est ensuite ajouté, dans le but, d'obtenir un mélange chloroforme/méthanol (la L- α -phosphatidylcholine se trouve à l'état initial dissoute dans 0,8 mL de chloroforme). Le mélange est évaporé sous vide de trompe à eau. Le film lipidique, ainsi formé, est placé deux heures sous vide poussé afin d'éliminer les résidus de solvant. Il est ensuite hydraté par 0,4 mL d'une solution de tampon phosphate (PBS à 10mM et à pH=6.4, contenant une solution de chlorure de sodium à 100mM) contenant 10 μ M de sel d'acide 8-hydroxypyrene-1, 3, 6-trisulfonique de sodium (HPTS). Au cours de l'hydratation, la suspension est soumise à un minimum de cinq cycles de congélation/décongélation. Les MLVs résiduels et les LUVs de taille trop importante sont éliminées en procédant à 31 extrusions au travers d'une membrane de polycarbonate de 0,1 μ m de diamètre de pore. Une chromatographie d'exclusion stérique est ensuite effectuée, pour séparer la solution de LUVs du HPTS extravésiculaire. La solution de vésicules est placée au-dessus de la phase stationnaire (Sephadex G-10). La solution de tampon phosphate contenant du chlorure de sodium est utilisée comme phase mobile. La solution de LUVs récupérée possède un volume final égal à 2,8 mL, soit une concentration lipidique de 11 mM (en supposant que la totalité des phospholipides sont incorporés au sein des vésicules). Ces vésicules sont utilisées en tant que membrane modèles lors des études de transport par spectroscopie de fluorescence.

⁸⁰ K. Kano, J.H. Fendler, *Pyranine as a sensitive pH probe for liposome interiors and surfaces. pH gradients across phospholipid vesicles*, Biochim. Biophys. Acta, **1978**, 509, 289-299

II.1.E. Etude de Transport ionique par la spectroscopie de fluorescence⁸¹

Les deux techniques d'analyses essentiellement utilisées pour l'étude de transport d'espèces chimiques au sein de membranes biomimétiques, sont le patch-clamp⁸² et la spectroscopie de fluorescence⁸³. Dans le cas du patch-clamp, la membrane artificielle est une membrane plane. Tandis que pour la spectroscopie de fluorescence, ce sont les LUVs qui servent de membrane modèle. Cette dernière méthode a été employée afin de mettre en évidence les capacités des molécules synthétisées à former ou non des canaux ioniques synthétiques.

Les méthodes de fluorescence se sont avérées particulièrement utiles pour comprendre le comportement et la fonction des canaux ioniques synthétiques, parmi elles, la spectroscopie de fluorescence qui fait appel à l'utilisation de sondes fluorescentes (fluorophores)⁸¹. Ces dernières peuvent se trouver, soit à l'intérieur des vésicules, soit à l'extérieur. Elles peuvent aussi être insérées au sein même de la membrane. Pour l'étude du transport au sein des canaux ioniques synthétiques, ce sont les fluorophores internes qui sont utilisés, le plus courant étant le sel d'acide 8-hydroxypyrene-1, 3, 6-trisulfonique de sodium (HPTS). Il s'agit d'une sonde fluorescente sensible au pH. En effet, sous sa forme acide (à pH=6), le HPTS est excité à une longueur d'onde égale à 410nm. Alors qu'à des pH plus basiques, il est excité à une longueur d'onde de 460 nm (Figure II.11).

⁸¹ S. Matile, N. Sakai, *The characterization of Synthetic Ion Channels and Pores*, Analytical Methods in Supramolecular Chemistry, **2007**, 391-416

⁸² S.K. Berezin, J.T. Davis, *Catechols as membrane anion transporters*, Journal of the american chemical society, **2009**, 131(7), 2458-2459

⁸³ N.A. Campbell, J.B. Reece, L.A. Urry, M.L. Cain, S.A. Wasserman, P.V. Monorsky, R.B. Jackson, *Biology*, 8th Edition, **2008**

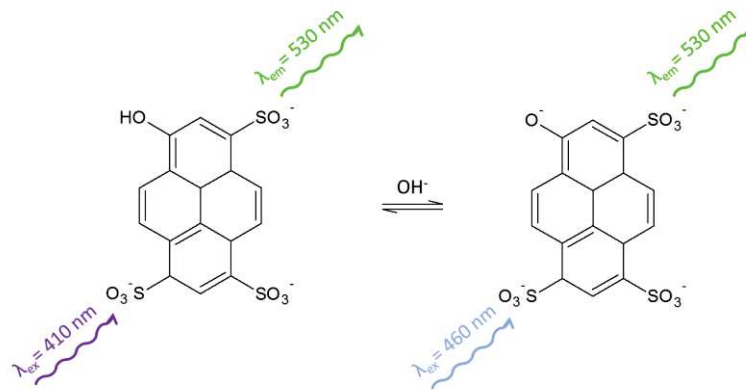


Figure II.10 : Représentation des longueurs d'ondes d'excitation de l'HPTS selon le pH⁸¹.

Ainsi, le pH à l'intérieur des vésicules peut être déterminé grâce au niveau d'excitation du HPTS selon la relation suivante⁸⁴ :

$$pH = 1,1684 * \log \frac{I_0}{I_1} + 6.9807 \quad (II.6)$$

où I_0 est l'intensité d'émission pour une longueur d'onde d'excitation à 460nm et I_1 est l'intensité d'émission pour une longueur d'onde d'excitation à 403nm.

Lors de la formation de canaux ioniques, il peut y avoir, soit, accélération du transport d'ions hydronium vers le milieu intravésiculaire ou soit accélération du transport d'ion hydroxyde vers le milieu extravésiculaire. Le transport d'ions hydronium ou d'ions hydroxyde est accompagné respectivement par le transport de cations et d'anions dans le but de compenser la charge (Figure II.12). Il s'agit d'un transport facilité. Un gradient de pH est ainsi créé, ce qui a pour conséquence le changement de fluorescence du HPTS.

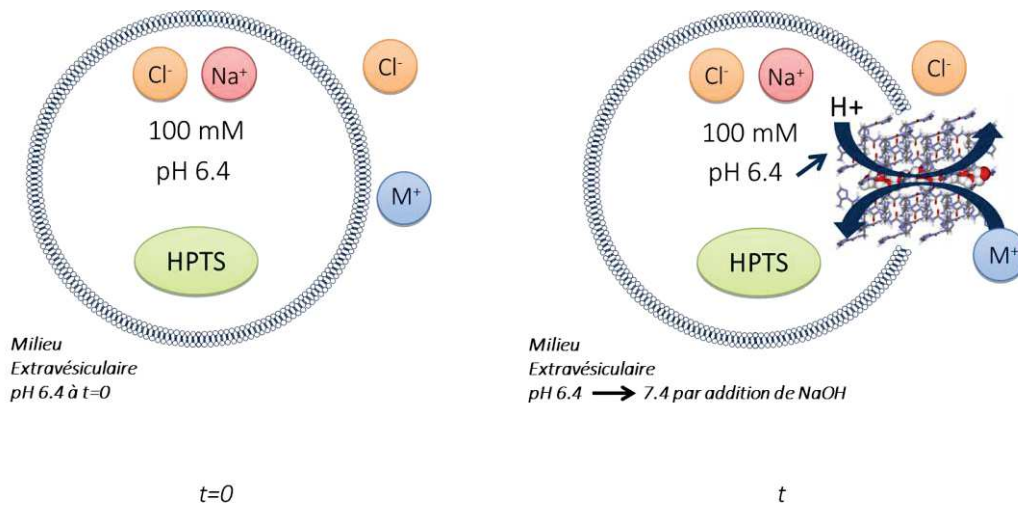


Figure II.11 : Représentation schématique du principe de la spectroscopie de fluorescence.

Ces études se font, généralement, en fonction du temps et à des concentrations différentes de molécules d'intérêt. L'efficacité de cette dernière en tant que canal ionique synthétique est évaluée en comparant l'intensité de la fluorescence obtenue après insertion du canal ionique, à celle obtenue après la lyse de la vésicule, c'est-à-dire lorsque le pH intravésiculaire est égale au pH extravésiculaire.

II.2. Etude de la capacité de transport des canaux ioniques biomimétiques formés par auto-assemblage de systèmes bola-amphiphiles

La formation des canaux ioniques biomimétiques étudiés lors de nos travaux repose sur l'auto-assemblage de systèmes moléculaires bola-amphiphiles. Plusieurs molécules de ce type ont été synthétisées et certaines d'entre elles sont présentées dans ce chapitre

II.2.A. Les molécules bola-amphiphiles

II.2.A.1. Synthèse des molécules bola-amphiphiles

Les molécules bola-amphiphiles que nous voulons obtenir ont une structure bien précise. Elles doivent posséder une tête polaire reliée à une chaîne alkyl qui joue le rôle d'espaceur hydrophobe. La liaison entre la tête hydrophile et l'espaceur hydrophobe se fait grâce au motif structural urée qui peut générer des rubans via des liaisons hydrogène.

La série de molécules ainsi synthétisées comprend, des composés monofonctionnels (Figure 13-a) et difonctionnels (Figure II.13-b). Nous avons joué sur la nature de la tête polaire ainsi que sur la longueur et la nature de l'espaceur hydrophobe.

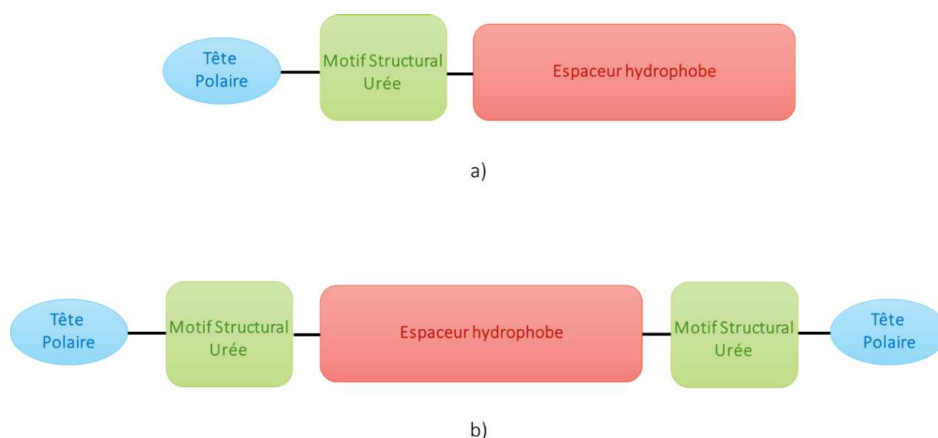
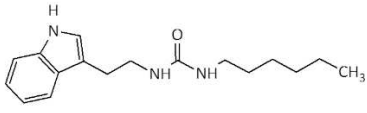
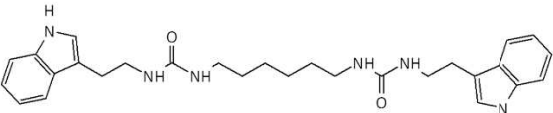
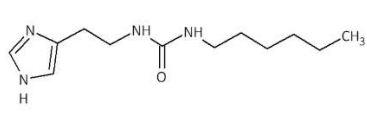
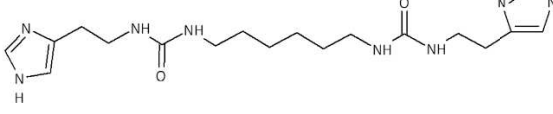
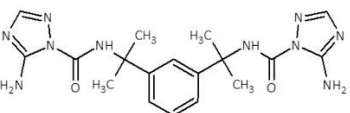


Figure II.12 : Représentation schématique de la structure des composés bola-amphiphiles synthétisés. (a) Composé monofonctionnel. (b) Composé difonctionnel.

Plusieurs molécules ont ainsi été obtenues. Parmi elles, celles qui ont été retenues pour nos études sont les suivantes (Tableau II.1)

Tableau II.1 : Molécules étudiées lors de nos travaux.

	Composé monofonctionnel	Composé difonctionnel
Tête polaire = Noyau Indole	 <i>Tryp-C₆</i>	 <i>Tryp-C₆-Typ</i>
Tête polaire = Noyau Imidazole	 <i>H-C₆</i>	 <i>H-C₆-H</i>
Tête polaire = Noyau Amino Triazole		 <i>T-Ph-T</i>

Les synthèses de la Tryptamine- C_6 (Tryp- C_6) et du Triazole-Phényle-Triazole (T-Ph-T) sont présentées ci-après.

II.2.A.1.a. Synthèse de la Tryptamine- C_6 (Tryp- C_6)

La synthèse de la Tryptamine- C_6 (Tryp- C_6) se fait par réaction entre la tryptamine et l'hexyl isocyanate en léger excès [1.éq : 1.05éq], à une température de 80°C, dans 30 mL d'acétonitrile (Figure II.14). Après un temps de réaction de 5 heures, la solution est concentrée par évaporation. Le précipité obtenu à partir de cette solution est ensuite mis à sécher sous vide. Le rendement de la réaction est de 80%.

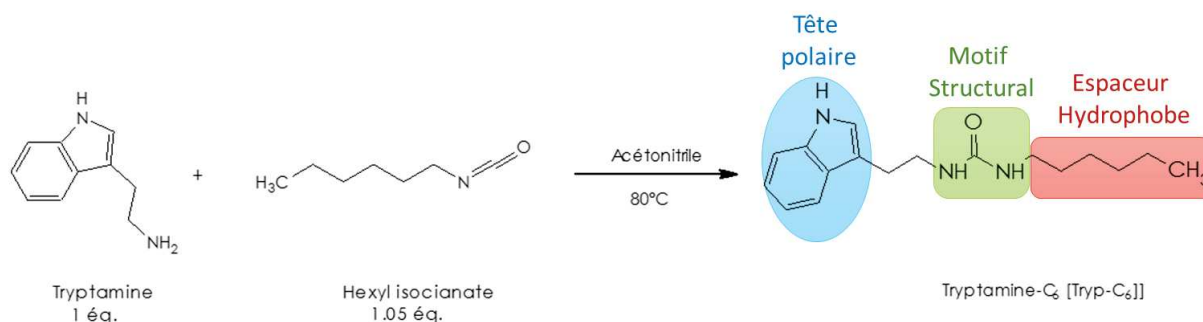


Figure II.13 : Schéma réactionnel de la synthèse de la Tryptamine-C₆.

II.2.A.1.b. Synthèse du Triazole-Phényle-Triazole (T-Ph-T)

La synthèse du Triazole-Phényle-Triazole (T-Ph-T) se fait par réaction entre le 3-amino-1, 2, 4-triazole et le 1, 3-Bis (1-isocyanato-1-propyle) benzène en léger excès [2.éq :2.05éq] à une température de 120°C, dans 10 mL de THF, 10 mL de N, N-diméthylacétamide, 5 mL d'éthylacétate et 5 mL d'acétonitrile (Figure II.15). Après un temps de réaction de 5 heures, la solution est concentrée par évaporation. Le précipité obtenu est mis à sécher sous vide. Le rendement de la réaction est de 75%.

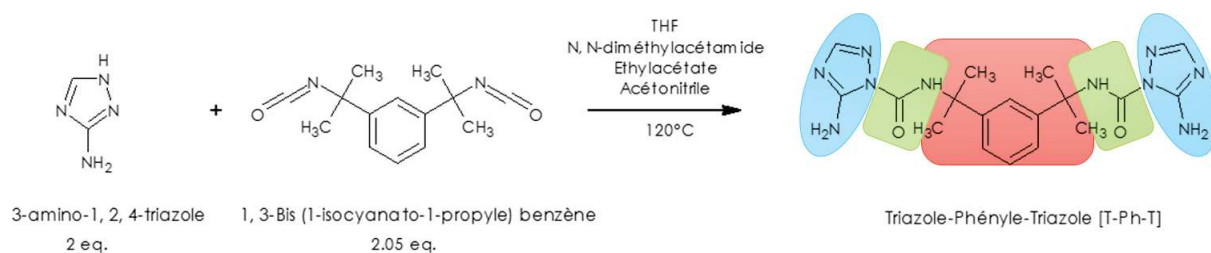


Figure II.15 : Schéma réactionnel de la synthèse du Triazole-Phényle-Triazole.

L'auto-assemblage de ces composés est ensuite étudié par diffraction des rayons X (DRX) sur monocristaux afin d'obtenir les arrangements 3D des états cristallins à l'état solide.

II.2.A.2. Caractérisation de l'auto-assemblage par Diffractométrie des rayons X-DRX sur des monocristaux de composés TrypC₆ et T-Ph-T

L'assemblage moléculaire d'un composé peut être déterminé par DRX. Cette technique consiste à appliquer un faisceau de rayons X sur un monocristal. La diffraction des rayons X permet d'obtenir de manière précise la position des différents atomes dans des cellules élémentaires qui composent le monocristal. Cette technique nécessite donc l'obtention préalable de monocristaux qui a été réalisée selon deux méthodes.

La première méthode utilisée correspond à la cristallisation par refroidissement lent. Elle consiste à préparer une solution saturée en composé à cristalliser dont le solvant est chauffé juste au-dessous de son point d'ébullition. Le chauffage se fait jusqu'à dissolution complète du composé d'intérêt. La formation des monocristaux se produit au fur et à mesure que la solution se refroidit jusqu'à saturation du milieu.

La deuxième méthode correspond quant à elle à la cristallisation par diffusion. Une solution de composé à cristalliser est placée dans un tube de cristallisation, puis un second non-solvant est soigneusement ajouté afin d'éviter tout mélange. Ce dernier est un mauvais solvant du composé d'intérêt qui va diffuser lentement dans le milieu solvant. Les monocristaux vont ainsi se former à son contact.

II.2.A.2.a. Caractérisation de l'auto-assemblage de la Tryp-C₆ par DRX

Les monocristaux de Tryp-C₆ ont été obtenus par refroidissement lent du méthanol. Ils cristallisent sous forme de prismes de couleur jaune (0.2 x 0.3 x 0.6 mm) dans le groupe d'espace *Pccn*.

La maille élémentaire de la Tryp-C₆ est composée de 8 molécules de TrypC₆. L'auto-assemblage des molécules se fait *via* trois liaisons hydrogènes intermoléculaires (Figure II.16) qui forment un réseau parallèle interconnecté *via* les liaisons urées, auquel vient s'ajouter une liaison hydrogène supplémentaire entre l'oxygène du carbonyle de l'urée et la fonction -NH de la tryptamine. Les chaînes alkyles s'enchevêtrent partiellement pour former une zone hydrophobe, au sein de laquelle, les cycles aromatiques de la tryptamine viennent s'insérer.

A l'échelle de plusieurs mailles, nous observons une alternance de zones hydrophiles et hydrophobes qui rappelle la structure d'une bicouche (Figure II.17). Nous pouvons donc, par extrapolation, envisager une organisation similaire au sein d'une bicouche phospholipidique.

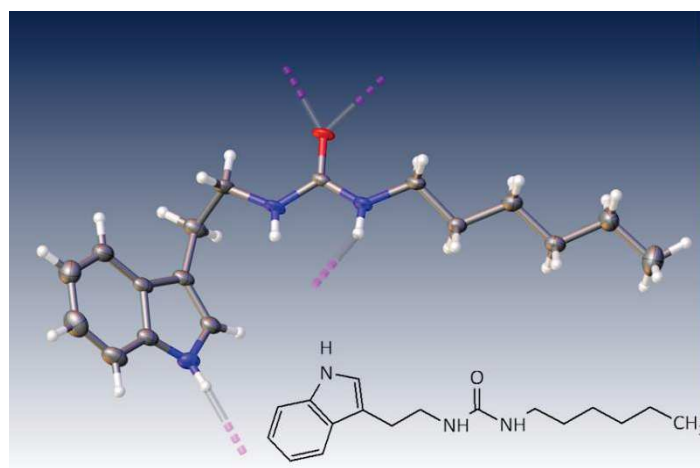


Figure II.16 : Structure cristalline de la Tryp-C₆. (En rouge, l'atome d'oxygène ; en bleu, les atomes d'azote ; en gris les atomes de carbone ; en blanc, les atomes d'hydrogène).

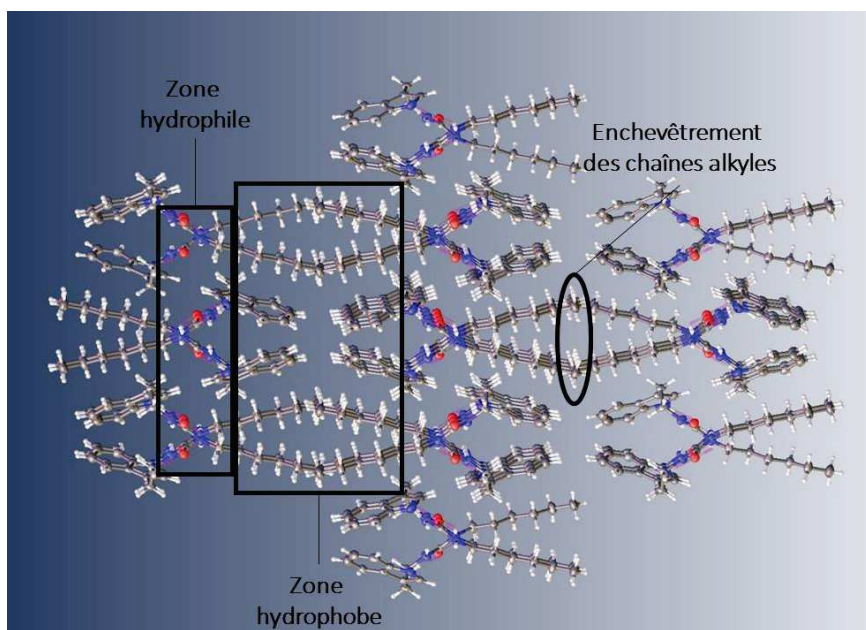


Figure II.17 : Structure cristalline de la Tryp-C₆ suivant l'axe de symétrie c.

II.2.A.2.b. Caractérisation de l'auto-assemblage de la T-Ph-T par DRX

Les monocristaux de T-Ph-T ont été obtenus par diffusion lente de l'éther isopropylique dans l'acétonitrile. Ils cristallisent sous forme d'aiguilles transparentes (0.05 x 0.05 x 0.45 mm) dans le groupe d'espace $P2_1/n$ (système monoclinique).

La maille élémentaire de la T-Ph-T est composée de 8 molécules de T-Ph-T. L'auto-assemblage des molécules se fait *via* quatre liaisons intermoléculaires et deux liaisons intramoléculaires (Figure II.18). Les liaisons intermoléculaires s'effectuent entre les atomes d'azotes du groupement amino-triazole, alternativement donneur ($-NH_2$) et accepteur ($=N(3)-$). Les liaisons hydrogènes intramoléculaires s'effectuent quant à elle entre l'oxygène de la fonction urée et un atome d'hydrogène de l'amine secondaire ($-NH_2$). Chaque molécule est associée à une autre en formant un dimère. Les cycles aromatiques forment des interactions attractives de type Pi-stacking (Figure II.19). Dans cette configuration, aucune molécule de solvant ne s'est incorporée au sein de la structure cristalline.

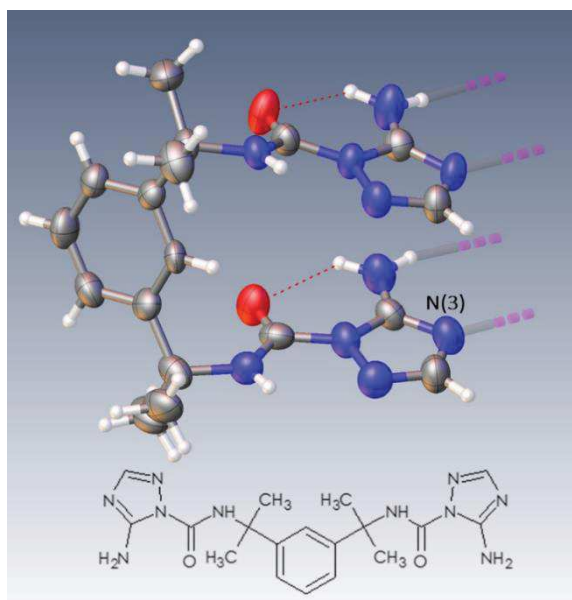


Figure II.18 : Structure cristalline de la T-Ph-T. (En rouge, les atomes d'oxygènes ; en bleu, les atomes d'azotes ; en gris les atomes de carbones ; en blanc, les atomes d'hydrogènes).

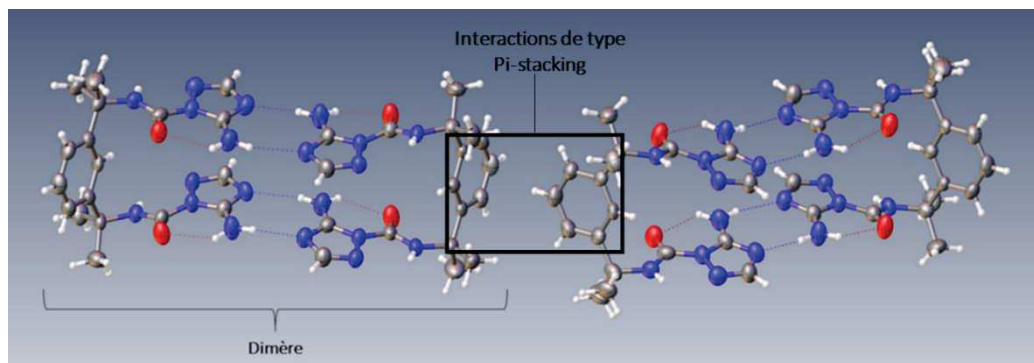


Figure II.19 : Représentation des différentes liaisons hydrogènes qui permettent l'auto-assemblage des molécules de T-Pb-T.

II.2.B. Etudes de transport au travers des canaux ioniques formés par auto-assemblage de Tryp-C₆

Les études que nous avons réalisées ce sont portées sur :

- le transport de cations ;
- le transport de protons.

En ce qui concerne le transport de cations, l'influence de la concentration de la Tryp-C₆ est tout d'abord étudiée dans le but de déterminer la concentration pour un transport optimal. L'influence de la nature des cations est ensuite réalisée à la concentration déterminée dans l'étude précédente.

Le transport protonique est quant à lui effectué dans deux conditions différentes, à savoir en conditions osmotiques et non osmotiques (voir le Chapitre II.2.A.2.b.). De plus, par analogie avec le canal protonique du virus de la grippe A (voir le Chapitre II.1.B.2), nous nous sommes intéressés à l'influence que peut avoir l'association de noyau imidazole avec le noyau indole du composé Tryp-C₆ sur le transport de protons.

Les résultats obtenus lors de ces différentes études sont présentées dans ce chapitre.

II.2.B.1. Etude du transport de cations

II.2.B.1.a. Mise en place de l'étude

Le protocole réalisé pour cette étude est le suivant : 100 μ l d'une solution de LUVs (II.1.D.2) sont dilués dans 1,9 ml de solution tampon phosphate (PBS, chlorure alcalin, pH= 6.4) qui constitue le milieu extravésiculaire. La solution obtenue est ensuite placée dans une cellule fluorimétrique et est mise sous agitation. Après 50 secondes de stabilisation, 20 μ L d'une solution à différentes concentrations de TrypC₆ dissout dans du DMSO sont additionnés. 100 secondes

plus tard, 28 μL d'hydroxyde de sodium à 0,5 M sont ajoutés. Cet ajout correspond à une augmentation d'une unité de pH dans le milieu extravésiculaire. Le changement de rapport d'émission maximale possible à lieu à la fin de chaque expérience lorsque la lyse des vésicules est effectuée à l'aide d'un détergent (40 μL de 5% de Triton X-100) (Figure II.20).

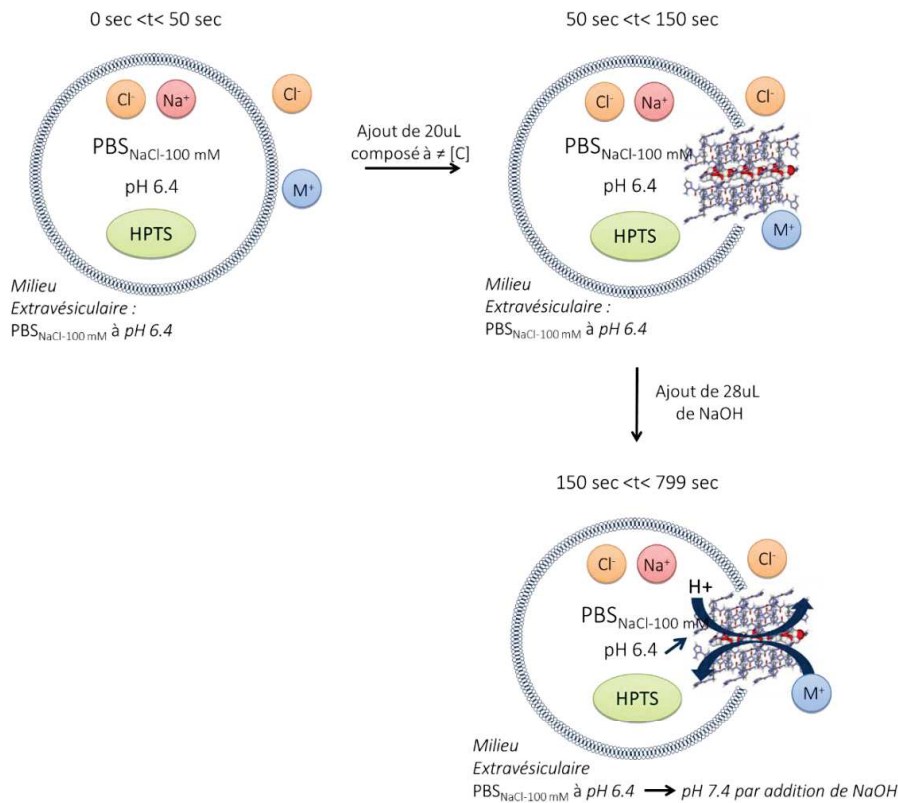
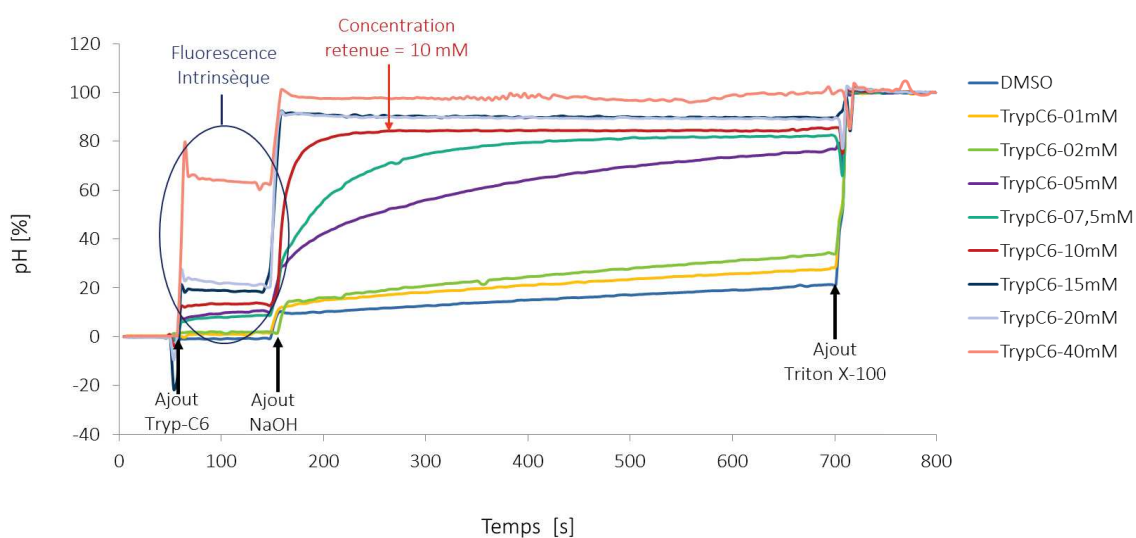


Figure II.20 : Représentation schématique des différentes étapes lors de l'étude du transport de cation en spectroscopie de fluorescence.

Lors de l'analyse, l'émission du HPTS à 510 nm est suivie simultanément aux longueurs d'onde d'excitation à 403 et 460 nm. Le rapport des intensités des longueurs d'onde d'émission pour les longueurs d'onde d'excitation à 403 nm et à 460 nm est tracé. Le changement de pH est ensuite normalisé en pourcentage. La variation de pH sera plus rapide pour un co-transport, c'est-à-dire lorsque la sortie d'un proton du milieu intravésiculaire est compensée par l'entrée d'un cation du milieu extravésiculaire. Si le transport de cation est facilité, le changement de pH s'effectue de façon plus rapide.

II.2.B.1.b. Influence de la concentration de la Tryp-C6 sur le transport

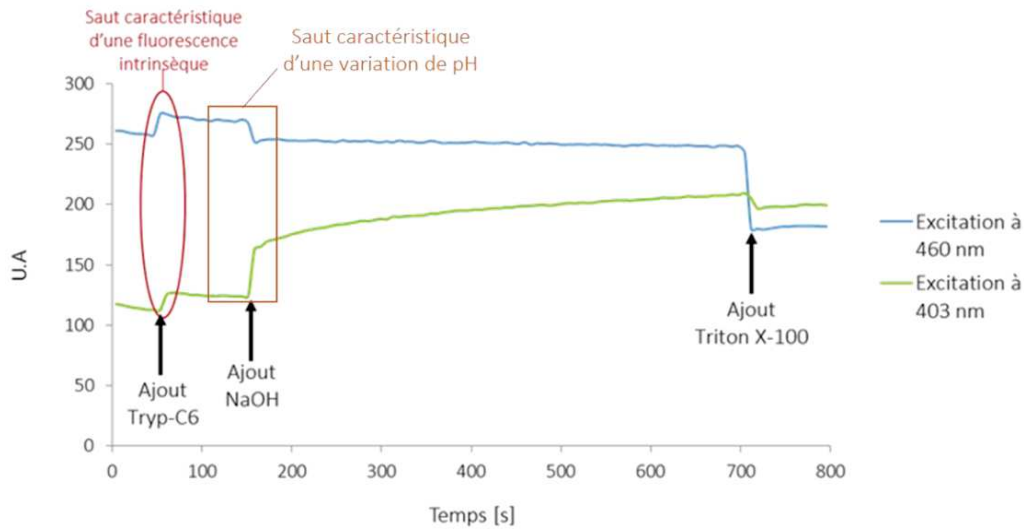
Des solutions de Tryp-C₆ dont les concentrations varient de 0 mM à 40 mM ont été préparées pour être étudiées en spectroscopie de fluorescence. Pour la concentration égale à 0 mM, 20 μ L de DMSO sont ajoutés. Le milieu extravésiculaire comportant du chlorure de sodium, l'étude concerne dans un premier temps, le transport des ions Na⁺ à travers la bicouche lipidique.



Graphie II.1 : Représentation des courbes $pH=f(\text{temps})$ obtenues lors de l'étude concernant l'influence de la concentration en Tryp-C₆ sur le transport de l'ion Na⁺.

Une augmentation du pH est observée dès l'ajout de la Tryp-C₆. (Graphie II.1). Les courbes représentant les intensités des longueurs d'onde d'émission pour les longueurs d'onde d'excitation à 403 nm et 460 nm montrent que la variation observée est due à la fluorescence intrinsèque du composé (Graphie II.2).

Ce phénomène étant particulièrement important aux fortes concentrations, nous négligerons ces dernières pour nous concentrer sur celles comprises entre 0 mM et 10 mM.



Graphie II.2 : Représentation des courbes correspondant aux intensités des longueurs d'onde d'émission pour les longueurs d'onde d'excitation à 403 nm et 460 nm. Ces courbes ont été obtenues pour l'étude portant sur l'influence de la concentration en Tryp-C₆ (10mM) sur le transport des ions Na⁺.

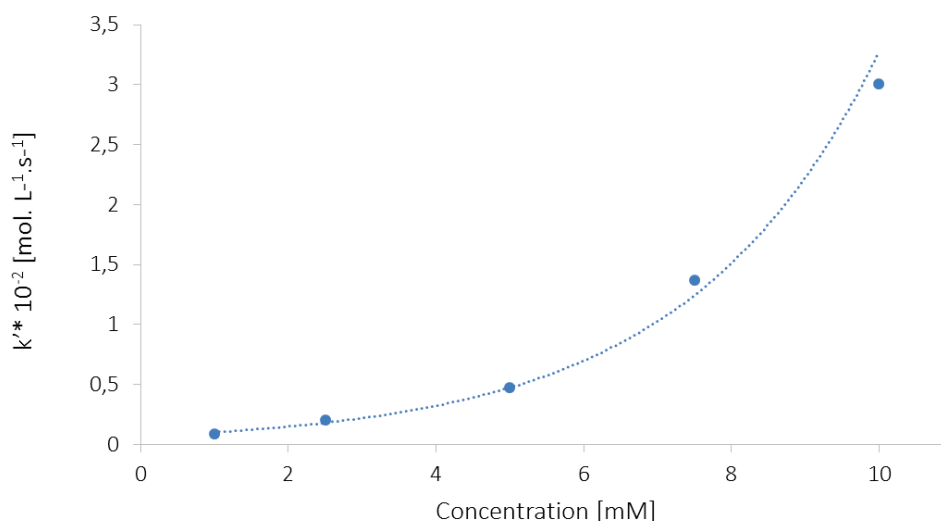
Après ajout de soude, la variation de pH (Graphie II.2) observée montre qu'un transport au sein de la bicouche lipidique a lieu.

Les constantes de premier ordre, k' , sont établies à partir de la pente de la courbe :

$$\ln([H_{in}^+] - [H_{ext}^+]) = f(t) \quad (II.7)$$

où $[H_{in}^+]$ et $[H_{ext}^+]$ sont respectivement les concentrations en protons intravésiculaire et extravésiculaire. $[H_{ext}^+]$ est supposée constante pendant la durée de l'expérience.

Nous pouvons voir que la constante de premier ordre évolue de façon exponentielle avec la concentration et la valeur maximale est atteinte pour une concentration égale à 10 mM (Graphie II.3). Pour la suite des études, c'est donc à cette concentration que nous travaillerons.



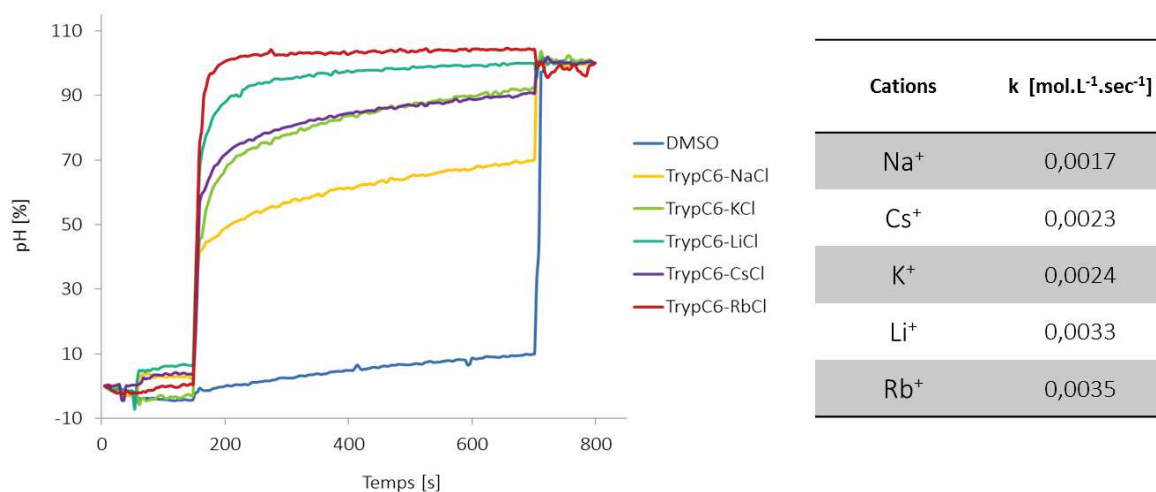
*Graphie II.3 : Représentation de la constante de premier ordre en fonction de la concentration de Tryp-C₆.
($k'=f([C])$).*

Cette étude nous a permis de mettre en évidence que l'auto-assemblage en solution de molécule de Tryp-C₆ permet le transport d'ions sodium à travers la bicouche lipidique. Ce transport est facilité par l'anti-transport des ions hydroniums. Il évolue de façon exponentielle avec la concentration en composé d'intérêt et est plus important pour une concentration en Tryp-C₆ égale à 10 mM.

Nous nous intéressons maintenant à l'influence que peut avoir la nature du cation sur le transport facilité des ions hydroniums.

II.2.B.1.c. Influence de la nature des cations

Cette étude consiste à faire varier la nature du cation présent dans le milieu extravésiculaire, et d'étudier leur influence sur le transport des ions hydroniums. Pour cela, nous effectuons le même test que précédemment. Mais dans ce cas, les ions Na⁺ contenus dans la solution de tampon phosphate sont remplacés successivement par les ions K⁺, Li⁺, Rb⁺ et Cs⁺ (Graphie II.4).



Graph 2.4 : Représentation des courbes $pH=f(\text{temps})$ obtenues lors de l'étude de l'influence de la nature du cation sur le transport. Les valeurs des constantes de vitesses pour le transport des différents cations sont également représentées.

Une sélectivité vis-à-vis des cations est observée et elle correspond à la série suivante : $Rb^+ > Li^+ > K^+ > Cs^+ > Na^+$, mais ne suit aucune des séquences répertoriées dans la littérature (Séquence d'Eisenman, séquence d'Hofmeister). Nous pouvons donc conclure que la sélectivité que nous observons ne dépend ni de l'énergie d'hydratation des ions, ni de l'effet kosmotrope⁸⁴ qui organise les molécules d'eau et ni de la capacité des ions à précipiter. Il existe donc des interactions spécifiques entre les cations, les espèces transportés et les canaux formés.

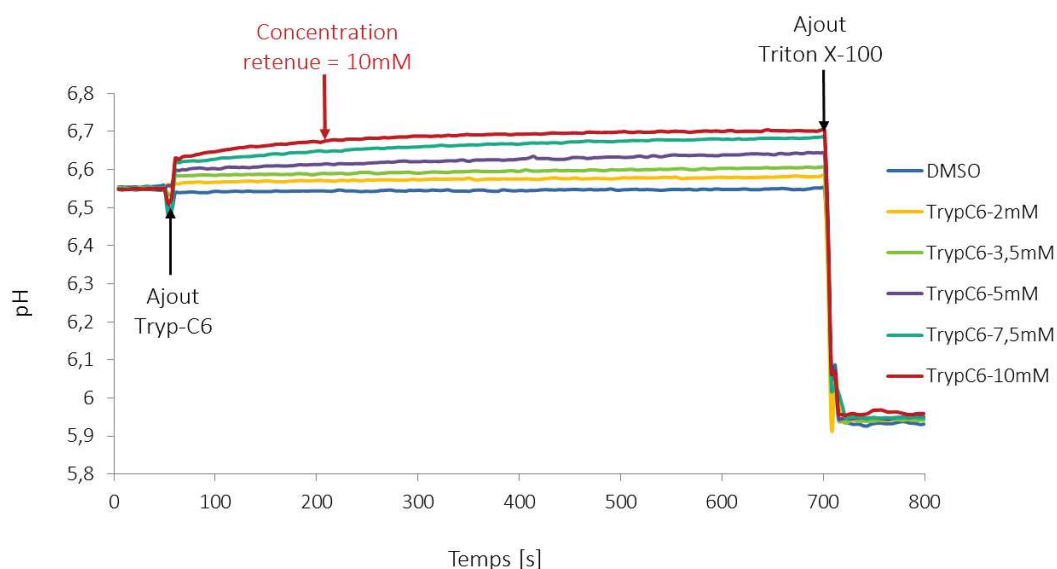
⁸⁴ H. Zhao, *Effect of ions and other compatible solutes on enzyme activity, and its implication for biocatalysis using ionic liquids*, Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 2005, 37(1-6), 16–25

II.2.B.2. Etude du transport de protons

II.2.B.2.a. Etude réalisée en conditions osmotiques

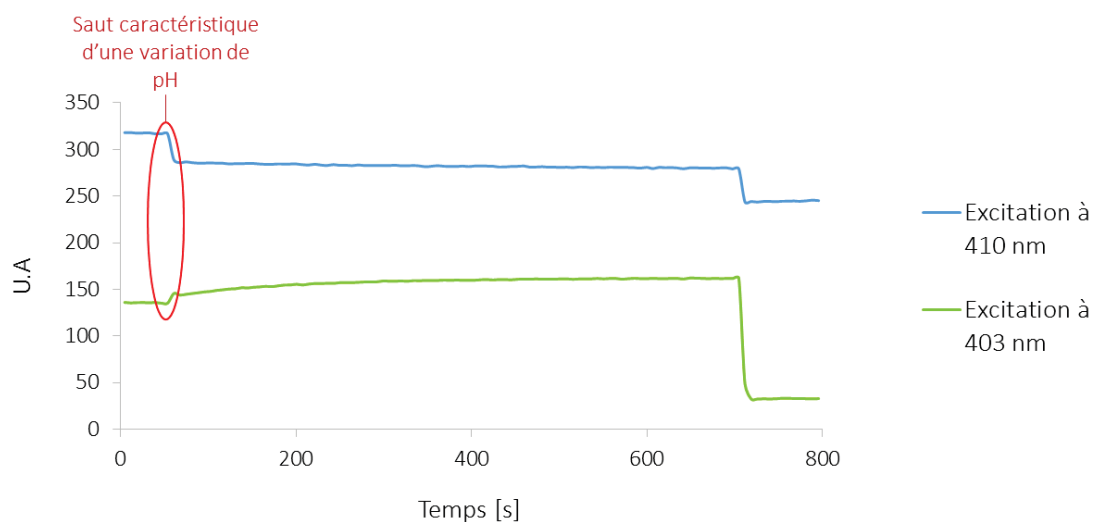
Nous nous sommes également intéressés à l'étude du transport spécifique de protons (Graphe II.5). Cette étude a été réalisée comme décrit ci-après. En conditions osmotiques (l'osmolarité intravésiculaire est supérieure à l'osmolarité extravésiculaire), 100 μL d'une solution de LUVs sont dilués dans 1,9 ml d'eau milli-Q qui constitue le milieu extravésiculaire. La solution obtenue est ensuite placée dans une cellule fluorimétrique et est mise sous agitation. Après 50 secondes de stabilisation, 20 μL d'une solution de Tryp-C₆ à différentes concentrations sont additionnés.⁻¹

Le changement de rapport d'émission maximale possible a lieu à la fin de chaque expérience, lorsque la lyse des vésicules est effectuée à l'aide d'un détergent (40 μL de 5% de Triton X-100).

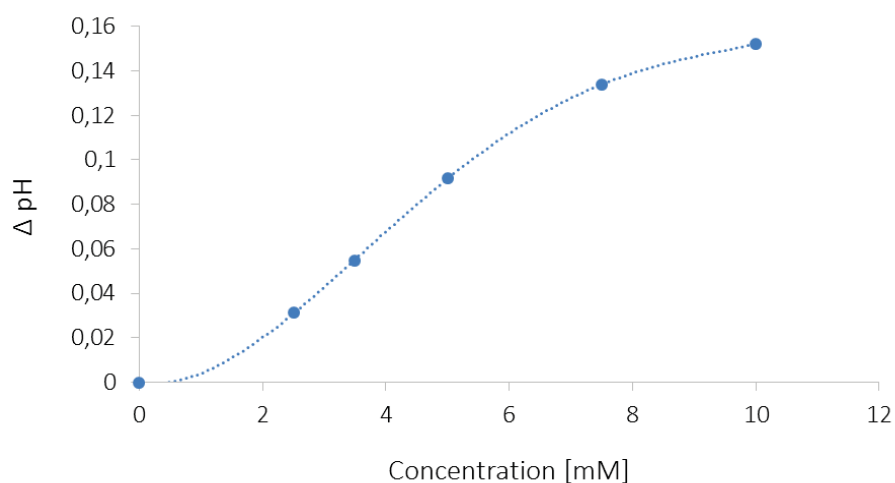


Graphie II.5 : Représentation des courbes $\text{pH}=f(\text{temps})$ obtenues lors de l'étude sur le transport protonique en conditions osmotiques pour le composé Tryp-C₆.

Une augmentation du pH est observée lorsque la Tryp-C₆ est ajouté. Les courbes représentant les intensités des longueurs d'onde d'émission pour les longueurs d'onde d'excitation à 403 nm et 460 nm montrent que la variation observée n'est pas dû à la fluorescence intrinsèque du composé d'intérêt mais à une variation de pH (Graphe II.6). De plus, plus la concentration en composé d'intérêt est importante, plus nous constatons une augmentation de la variation du pH (Graphe II.7).



Graphie II.6 : Représentation des courbes correspondant aux intensités des longueurs d'onde d'émission pour les longueurs d'onde d'excitation à 403 nm et 460 nm. Ces courbes ont été obtenues pour l'étude portant sur le transport de proton en conditions osmotiques pour le composé Tryp-C₆ à 10mM.

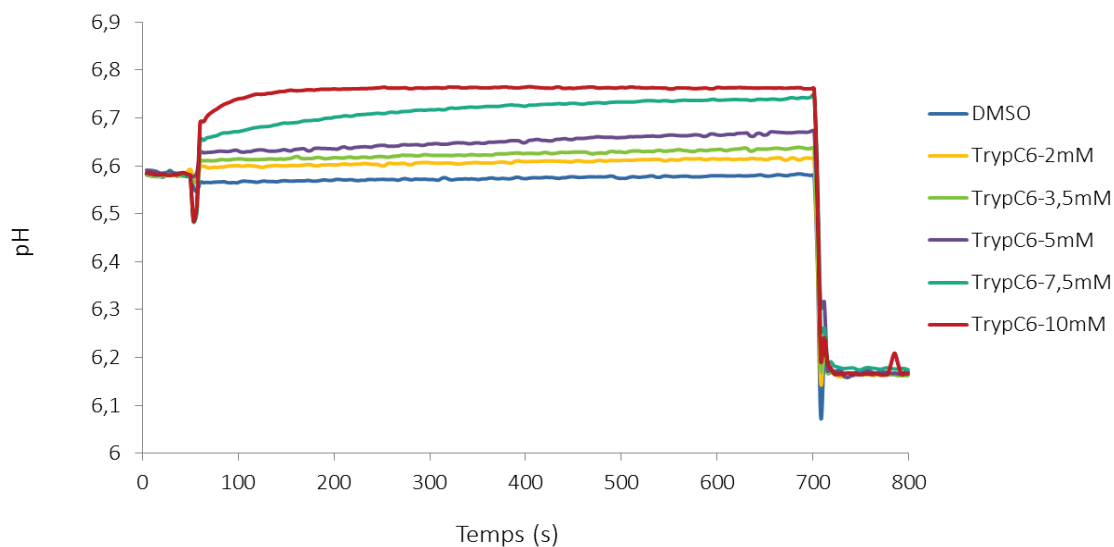


Graphie II.7 : Représentation de la variation du pH en fonction de la concentration en Tryp-C₆. Les différentes valeurs de la variation du pH ont été obtenues en soustrayant la valeur du pH atteinte avant la lyse pour chaque concentration à celle atteinte pour la concentration à 0 mM avant la lyse.

En conditions osmotiques, les canaux formés par auto-assemblage de molécules de Tryp-C₆ permettent donc le transport des protons. Ce transport qui s'effectue vers le milieu extravésiculaire dépend de la concentration du composé.

II.2.B.2.b. Etude réalisée en conditions non- osmotiques

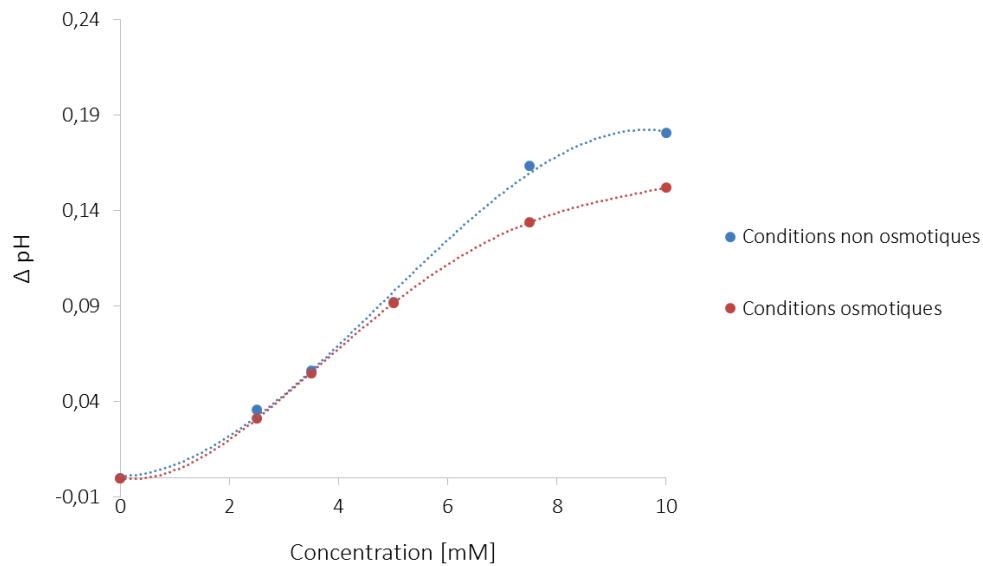
La même étude a également été réalisée en conditions non osmotiques. L'eau milli-Q a ainsi été remplacé par une solution de tampon phosphate à pH égale à 6,4 et qui contient du Na₂SO₄ à 50mM. Comme observer ci-dessous, une augmentation du pH est observé (Graphie II.8).



Gr

Graph II.8 : Représentation des courbes $pH=f(\text{temps})$ obtenues lors de l'étude sur le transport protonique en conditions non osmotiques pour le composé Tryp-C₆ à différentes concentrations.

La variation de pH en fonction de la concentration en Tryp-C₆ évolue de la même façon que celle observée lors de l'étude en conditions osmotiques. Cependant à partir d'une concentration supérieure à 5 mM, cette augmentation devient plus importante lorsque nous opérons en conditions non osmotiques (Graphe II.9).



Graph 2.9 : Représentation de la variation du pH en fonction de la concentration en Tryp-C₆ en conditions osmotiques et non osmotiques. Les différentes valeurs de la variation du pH ont été obtenues en soustrayant la valeur du pH atteinte avant la lyse pour chaque concentration à celle atteinte pour la concentration à 0 mM avant la lyse.

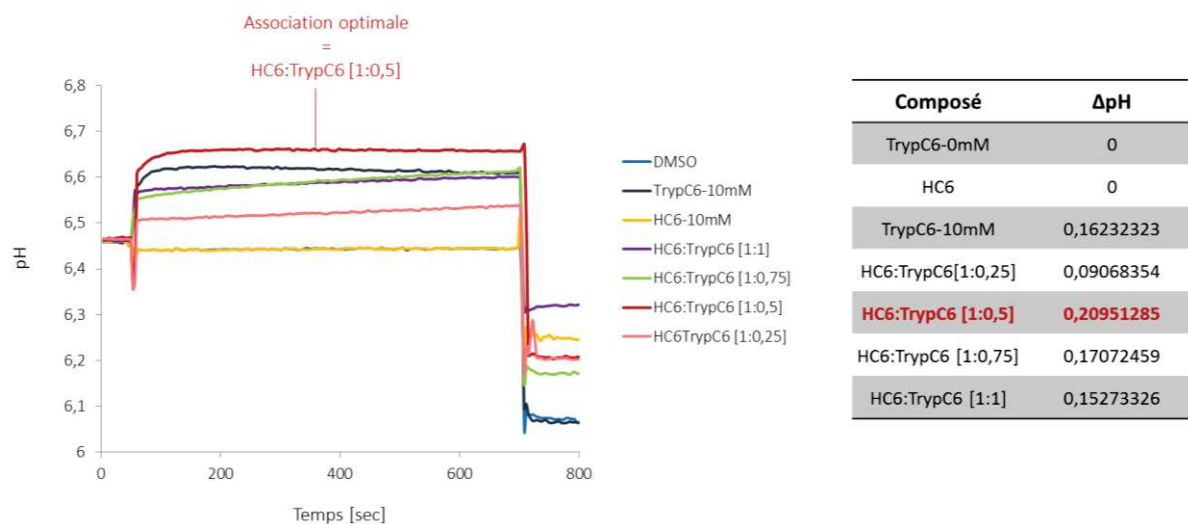
Tout comme le milieu extravésiculaire, le milieu intravésiculaire contient une concentration en ions Na⁺ de 100mM et possède un pH égal à 6,4. La variation de pH ne peut donc être due à l'équilibre du pH ou à celle des concentrations en cations entre les deux milieux. Un transport d'anions chlorure a probablement lieu. En effet, le changement de pH observé est certainement provoqué par la différence de concentration en Cl⁻ entre le milieu intravésiculaire et le milieu extravésiculaire. L'anion chlorure présent dans le milieu intravésiculaire ne peut sortir que si le potentiel intravésiculaire est équilibré. Ainsi, pour chaque ion chlorure qui sortira, un ion hydronium sortira pour équilibrer le potentiel intravésiculaire, ce qui aura pour conséquence l'augmentation du pH intravésiculaire. Nous supposons donc que le transport de proton est accompagné d'un co-transport de l'anion Cl⁻.

Les études ci-dessous montrent qu'un transport protonique du milieu intravésiculaire vers le milieu extravésiculaire a lieu lorsque le système contient le composé Tryp-C₆. De plus, les analyses effectuées en conditions non osmotiques semblent montrer que ce transport est accompagné du co-transport de l'anion Cl⁻.

II.2.B.2.c. Etude de l'influence de l'association de H-C₆ et de la Tryp-C₆ sur le transport protonique

Nous avons vu précédemment (II.1.B.2), que dans le cas du canal à proton du virus de la grippe A, le transport de proton au sein de la bicouche lipidique est notamment permis grâce à la protonation des histidines (noyau imidazole). Ceci a pour conséquence l'ouverture des vannes du canal constituées par les tryptophanes (noyau indole). Le transport de protons peut ainsi avoir lieu. Par analogie, nous avons voulu étudier l'influence que peut avoir l'association d'Histamine-C₆ (H-C₆) (noyau imidazole) et de Tryp-C₆ (noyau indole) sur le transport protonique étudié ci-dessus.

Nous avons déterminé précédemment que la concentration optimale en Tryp-C₆ pour l'étude concernant le transport protonique était égale à 10mM. Nous avons donc travaillé à cette concentration. Les associations ont été effectuées en fixant la quantité d'H-C₆ (10mM, 1équivalent) et en faisant varier la proportion de Tryp-C₆ (10mM, 0 à 1 équivalent). Cette étude a été réalisée dans les mêmes conditions osmotiques que précédemment (Graphe II.10).



Graph II.10 : Représentation des courbes $pH=f(\text{temps})$ obtenues lors de l'étude de l'influence de l'association de molécules de H-C₆ et de Tryp-C₆ sur le transport protonique en conditions osmotiques. Les valeurs de la variation du pH en fonction des composés présents dans le milieu sont également représentées. Elles ont été obtenues en

soustrayant la valeur du pH atteinte avant la lyse dans chacun cas à celle atteinte pour la concentration à 0 mM en Tryp-C₆, avant la lyse.

Un effet synergétique est observé et il se produit lorsque l'association H-C₆ : Tryp-C₆. [1éq : 0,5éq] est réalisée. Une association supramoléculaire à des quantités précises de composés d'intérêt permet donc un meilleur transport des protons au sein de la bicouche lipidique.

Ces différentes études, nous ont permises de mettre en évidence que l'auto-assemblage en solution de la Tryp-C₆ permet la formation de canaux ioniques. Ces derniers possèdent une sélectivité vis-à-vis des cations. Cette sélectivité ne suit aucunes des séquences connues car des interactions complexes doivent exister. Nous avons également pu voir que cet auto-assemblage permet le transport des protons à travers la bicouche lipidique. Ce dernier peut être amélioré lorsque la Tryp-C₆ est associée à l'H-C₆ en proportion adéquate [0,5:1].

Nous allons maintenant nous intéresser au composé T-Ph-T qui a été étudié de la même façon que la Tryp-C₆.

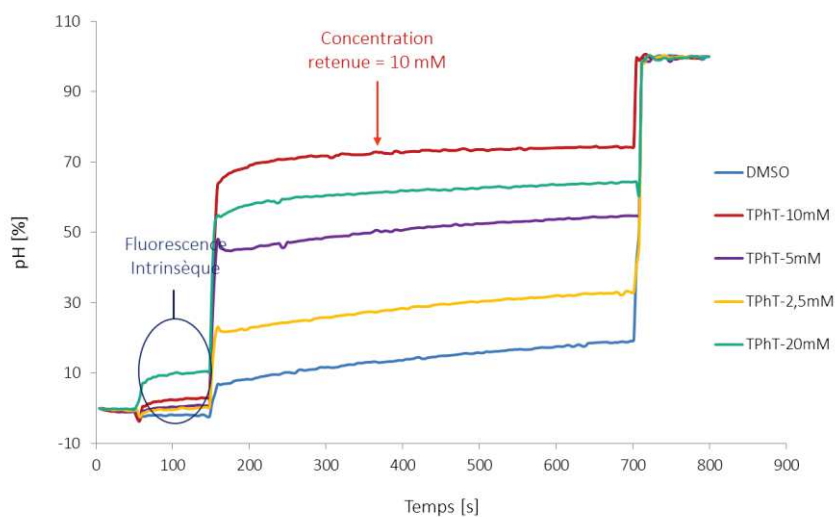
II.2.C. Etudes de transport au travers des canaux ioniques formés par auto-assemblage de T-Ph-T

Tout comme précédemment, nous nous sommes intéressés au transport des cations au travers de la bicouche lipidique. Pour cela, l'influence de la concentration du composé d'intérêt ainsi que celle de la nature des cations ont été étudiées. Nous nous sommes ensuite concentrés sur l'étude du transport des protons. Les différents résultats obtenus font l'objet de ce chapitre.

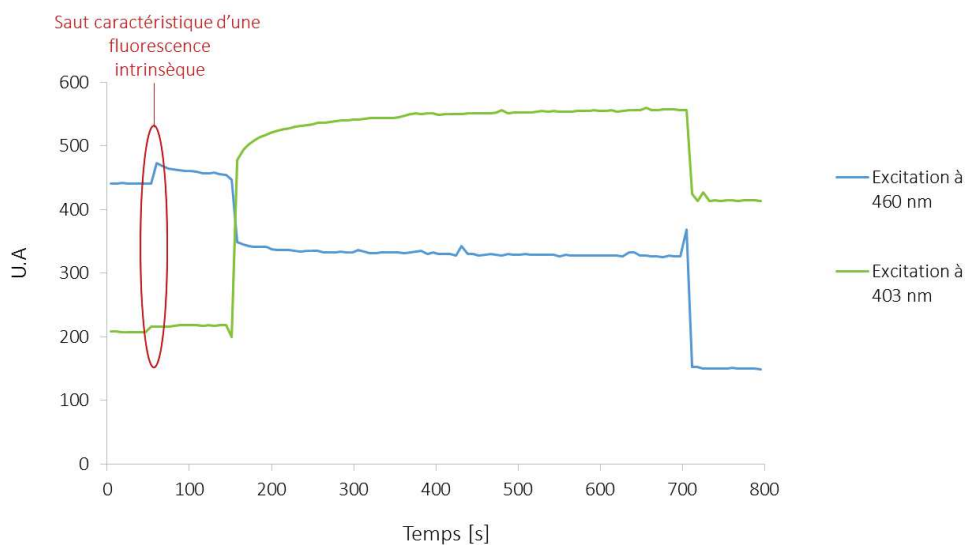
II.2.C.1. Etude du transport des cations

II.2.C.1.a. Influence de la concentration de la T-Ph-T sur le transport

Des solutions de T-Ph-T dont les concentrations varient de 0 mM à 20 mM ont été préparées afin d'être étudiées en spectroscopie de fluorescence (Graphe II.11). Tout comme pour le composé Tryp-C₆, un changement de pH a lieu dès l'ajout du produit. Cette variation correspond également à la fluorescence intrinsèque du composé d'intérêt (Graphe II.12).

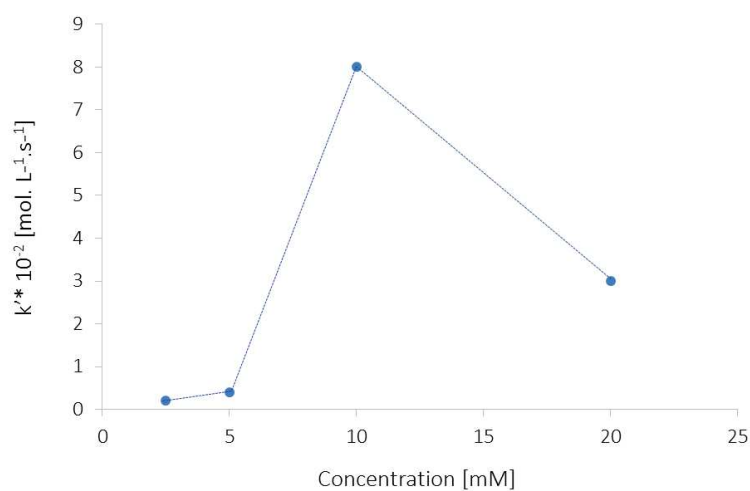


Grappe II.11 : Représentation des courbes $pH=f(\text{temps})$ obtenues lors l'étude concernant l'influence de la concentration en T-Ph-T sur le transport de l'ion Na^+ .



Graphie II.12 : Représentation des courbes correspondant aux intensités des longueurs d'onde d'émission pour les longueurs d'onde d'excitation à 403 nm et 460 nm. Ces courbes ont été obtenues pour l'étude portant sur l'influence de la concentration en T-Pb-T (10mM) sur le transport des ions Na^+ .

Après addition de la soude, le transport de l'ion sodium est observé. Ce transport est optimal pour une concentration égale à 10mM. En effet, à une concentration de 20 mM, nous pouvons voir que la constante de premier ordre est moins importante que celle relevée à 10 mM (Graphie II.13).

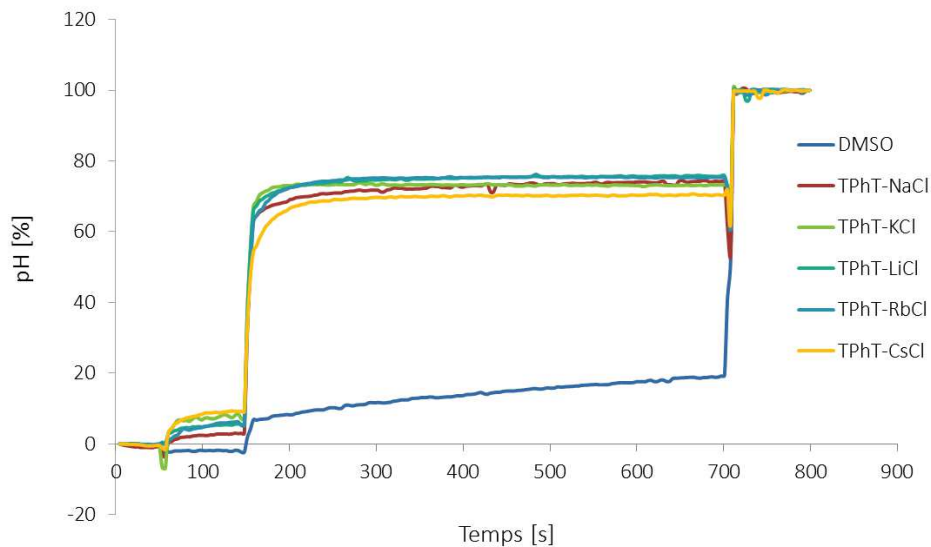


Graphie II.13 : Représentation de la constante de premier ordre en fonction de la concentration de T-Pb-T. ($k' = f([C])$).

Cette étude nous a permis de mettre en évidence que l'auto-assemblage en solution de molécule de T-Ph-T permet le transport d'ions sodium à travers la bicouche lipidique. Ce transport est facilité par l'anti-transport des ions hydroniums. Ce transport n'évolue cependant pas linéairement avec la concentration. Il existe en effet une concentration optimale pour laquelle le transport est plus important.

II.2.C.1.b. Influence de la nature des cations

Cette étude est réalisée à une concentration de 10 mM en T-Ph-T. Les ions Na^+ sont remplacés successivement par les ions K^+ , Li^+ , Rb^+ et Cs^+ (Graphe II.14).

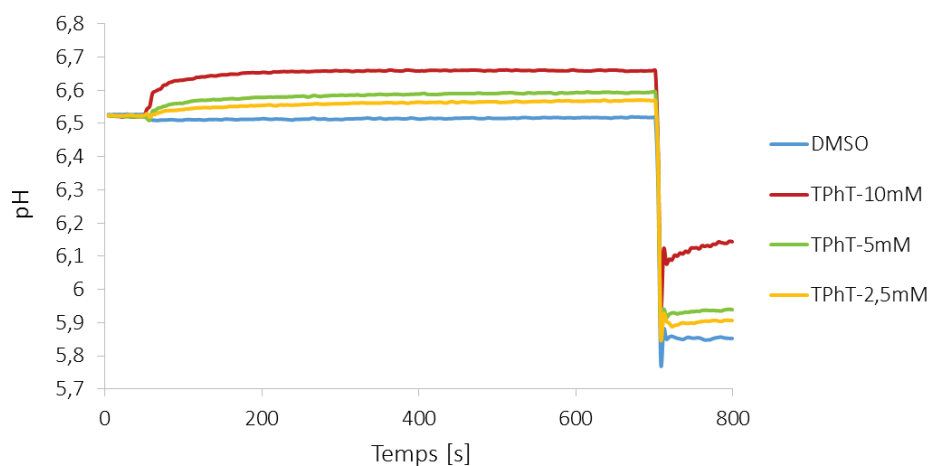


Graphie II.14 : Représentation des courbes $\text{pH}=f(\text{temps})$ obtenues lors de l'étude de l'influence de la nature du cation sur le transport.

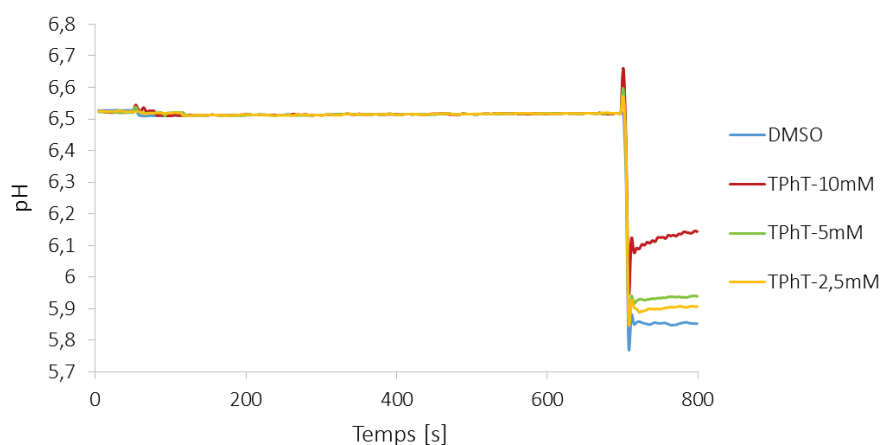
Les canaux ioniques formés par l'auto-assemblage en solution des molécules de T-Ph-T ne présentent à priori aucune sélectivité vis-à-vis des cations.

II.2.C.2. Etude du transport de protons

Les résultats obtenus en conditions osmotiques (Graphe II.15) et non osmotiques (Graphe II.16) sont présentés ci-après.

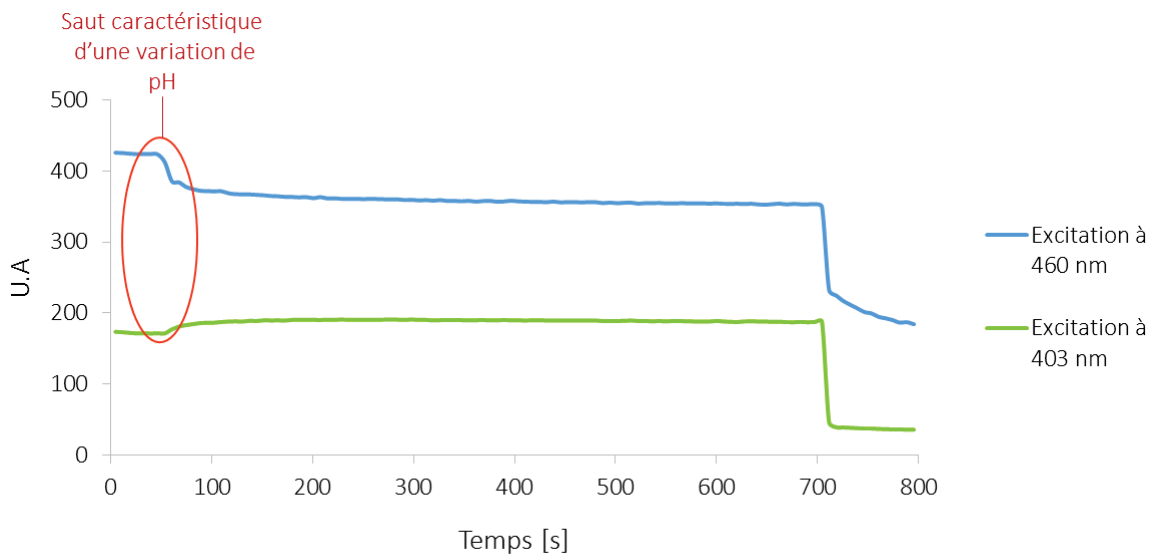


Graphie II.15 : Représentation des courbes $pH=f(\text{temps})$ obtenues lors de l'étude sur le transport protonique en conditions osmotiques pour le composé T-Pb-T.



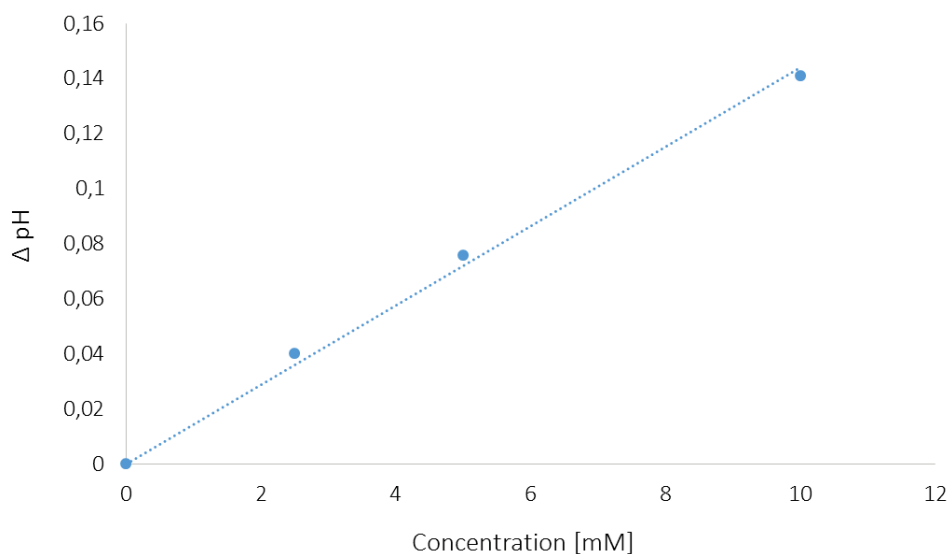
Graphie II.16 : Représentation des courbes $pH=f(\text{temps})$ obtenues lors de l'étude sur le transport protonique en conditions non osmotiques pour le composé T-Pb-T.

Contrairement à l'étude réalisée en conditions non osmotiques, celle effectuée en conditions osmotiques montre un transport dès l'ajout du composé d'intérêt. Les courbes représentant les intensités des longueurs d'onde d'émission pour les longueurs d'onde d'excitation à 403 nm et 460 nm montrent que la variation observée n'est pas dû à la fluorescence intrinsèque du composé d'intérêt mais à une à une variation de pH (Graphe II.17).



Graphe II.17 : Représentation des courbes correspondant aux intensités des longueurs d'onde d'émission pour les longueurs d'onde d'excitation à 403 nm et 460 nm. Ces courbes ont été obtenues pour l'étude portant sur le transport de proton en conditions osmotiques pour le composé T-Ph-T à 10mM.

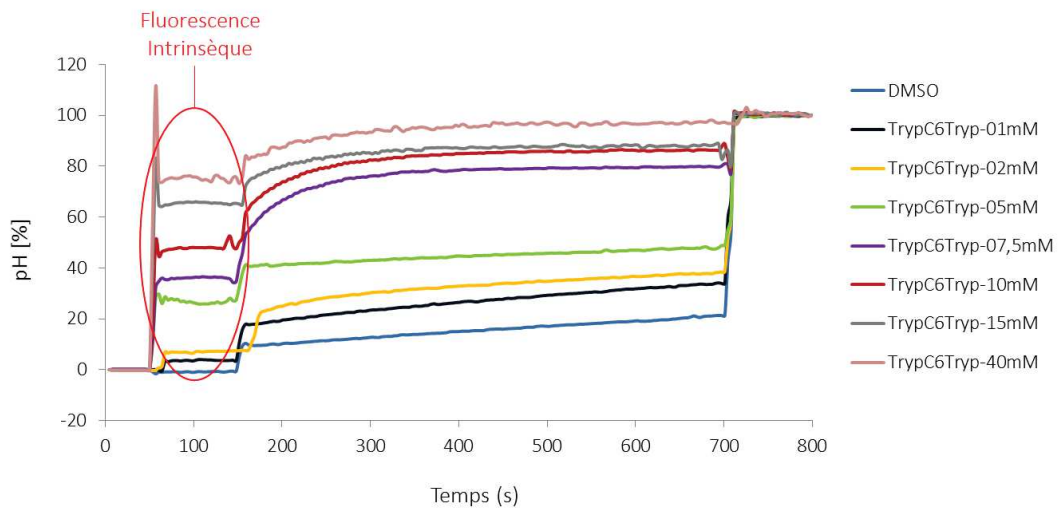
Les canaux formés par auto-assemblage de molécules de T-Ph-T permettent donc le transport des protons à travers la bicouche lipidique en conditions osmotiques. Ce transport varie de façon linéaire avec la concentration (Graphe II.18).



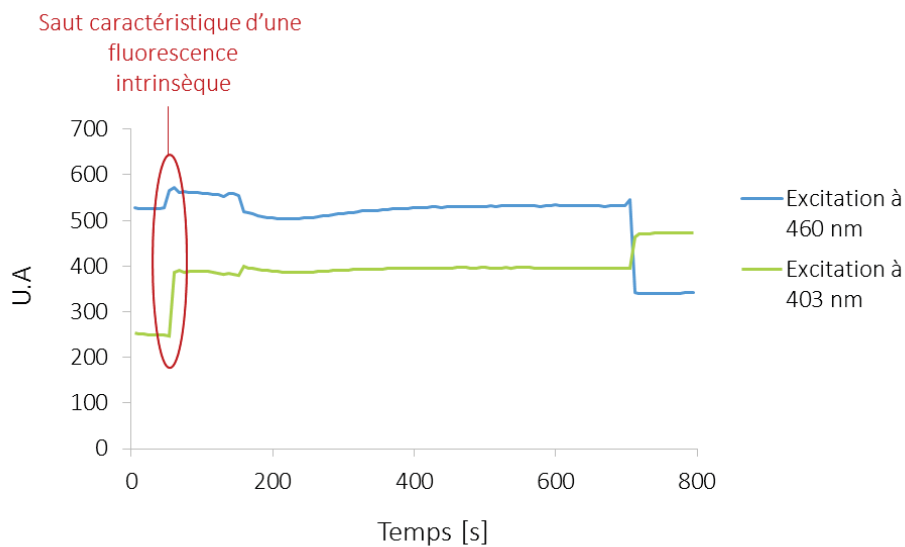
Graphie II.18 : Représentation de la variation du pH en fonction de la concentration en T-Ph-T en conditions osmotiques. Les différentes valeurs de la variation du pH ont été obtenues en soustrayant la valeur du pH atteinte avant la lyse pour chaque concentration à celle atteinte pour la concentration à 0 mM avant la lyse.

Les études portant sur le composé T-Ph-T, nous ont permis de mettre en évidence, que son auto-assemblage en solution permet la formation de canaux ioniques qui ne possèdent toutefois aucune sélectivité vis-à-vis des cations. La formation de canaux protoniques a également été observée lorsque nous opérons en conditions osmotiques.

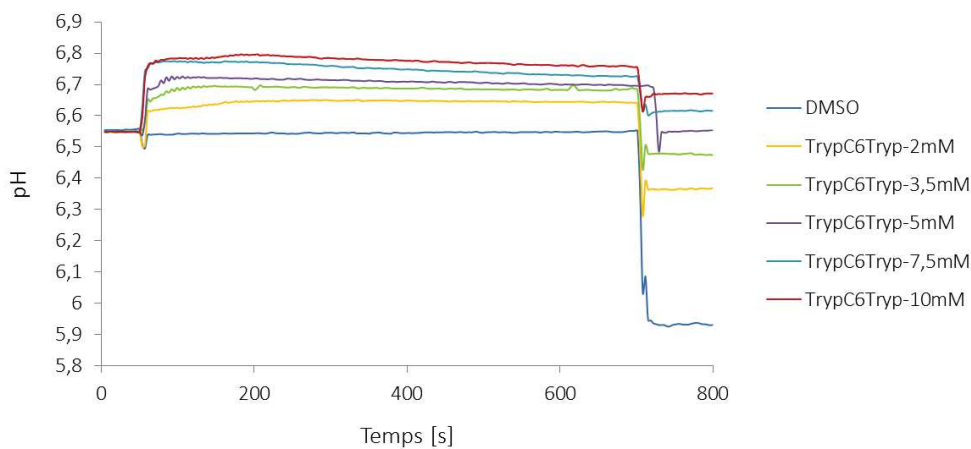
Il est à noter, que les études réalisées précédemment ont également été effectuées pour le composé difonctionnel Tryp-C₆-Tryp. Les résultats obtenus pour l'étude de l'influence de la concentration sur le transport des ions Na⁺, ainsi que ceux concernant le transport protonique en conditions osmotiques, sont présentés ci-dessous à titre indicatif (Graphie II.19 et Graphie II.21). La fluorescence intrinsèque étant bien trop importante (Graphie II.20 et Graphie II.22), il est difficile d'en tirer les bonnes conclusions quant au transport d'espèces chimiques au travers de la bicouche lipidique. Par conséquent, les différents résultats ne seront pas développés car la spectroscopie de fluorescence n'est pas une méthode d'analyse appropriée pour l'étude des capacités de transport que peut avoir l'auto-assemblage du composé Tryp-C₆-Tryp.



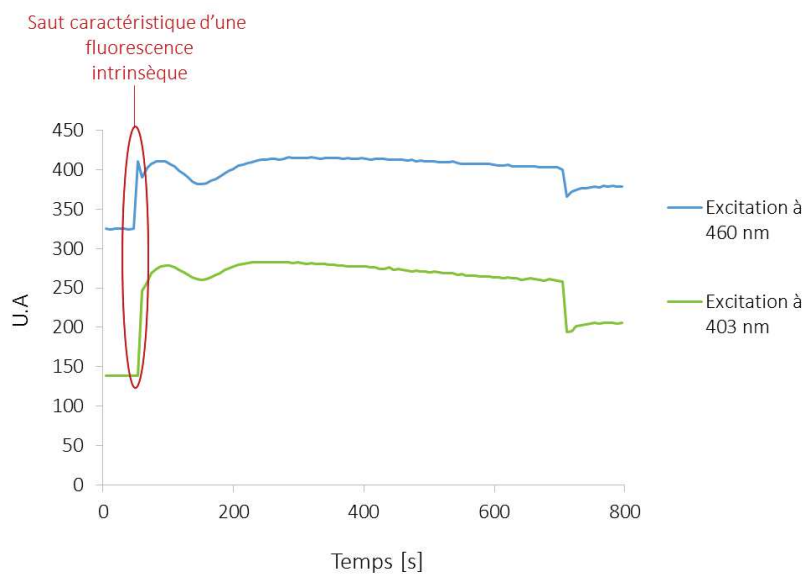
Graphie II.19 : Représentation des courbes $pH=f(\text{temps})$ obtenues lors l'étude concernant l'influence de la concentration en Tryp-C₆-Tryp sur le transport de l'ion Na⁺.



Graphie II.20 : Représentation des courbes correspondant aux intensités des longueurs d'onde d'émission pour les longueurs d'onde d'excitation à 403 nm et 460 nm. Ces courbes ont été obtenues pour l'étude portant sur l'influence de la concentration en Tryp-C₆-Tryp (10mM) sur le transport des ions Na⁺.



Graphie II.21 : Représentation des courbes $pH=f(\text{temps})$ obtenues lors de l'étude sur le transport protonique en conditions osmotiques pour le composé Tryp-C₆-Tryp à différentes concentrations.



Graphie II.22 : Représentation des courbes correspondant aux intensités des longueurs d'onde d'émission pour les longueurs d'onde d'excitation à 403 nm et 460 nm. Ces courbes ont été obtenues pour l'étude portant sur le transport de proton en conditions osmotiques pour le composé Tryp-C₆-Tryp à 10mM.

II.2.D. Discussions et perspectives

La spectroscopie de fluorescence a permis de mettre en évidence les capacités que possèdent nos composés à transporter des espèces chimiques au travers de la bicouche lipidique. Cependant, cette méthode d'analyse présente certaines limitations qui sont notamment dues à la fluorescence intrinsèque des composés étudiés. Par conséquent les résultats que nous obtenons ne sont pas quantitatifs mais qualitatifs. Afin de s'affranchir de ce phénomène, la spectroscopie de fluorescence doit ainsi être couplée à une autre méthode. Ainsi, les composés étudiés précédemment font actuellement l'objet d'étude en patch-clamp. Cette technique nous permettra de confirmer que nous avons bien formation de canaux ioniques et nous apportera des informations complémentaires (taille des canaux, temps d'ouverture). Quelques résultats préliminaires obtenus en patch-clamp sont présentés ci-dessous (Figure II.21).

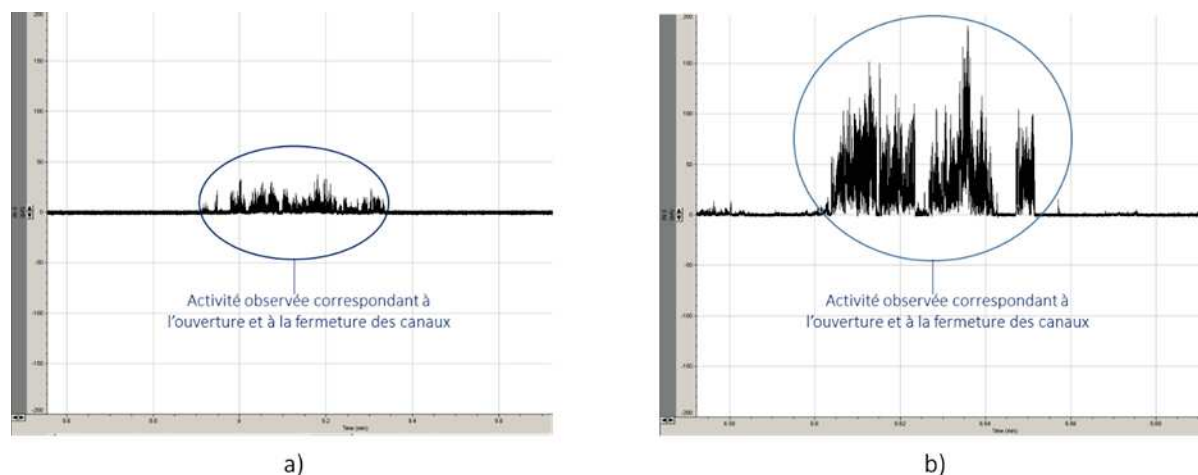


Figure II.21 : Représentation des données obtenues lors de tests effectués en patch-clamp pour le composé Tryp-C₆ (a) et le composé T-Ph-T (b). Ces tests ont été réalisés en présence de CsCl à 1M.

Les composés décrits précédemment ont également été étudiés lors de l'étude portant sur le transport d'eau au travers de la bicouche lipidique. Les résultats obtenus pour cette étude font l'objet du chapitre développé ci-après.

II.2.E. Etude du transport d'eau à travers la bicouche lipidique

Cette étude est réalisée en utilisant un détecteur de diffusion de la lumière (Dynamic Light Scattering, DLS)⁸⁵. Cette technique permet notamment de déterminer le nombre de kilos coups (kcps) d'un échantillon à une position fixe et à un temps donné. Le nombre de kcps étant proportionnel au nombre de vésicules présentes dans l'échantillon, nous pourrions ainsi suivre leur évolution dans le temps. Un transport d'eau au travers de la bicouche lipidique a pour conséquence le gonflement et par la suite l'explosion des vésicules due à la pression osmotique. Ainsi, si l'auto-assemblage des composés testés permet la formation de canaux d'eau, une diminution du nombre de kcps doit être observée.

II.2.E.1. Mise en place de l'étude

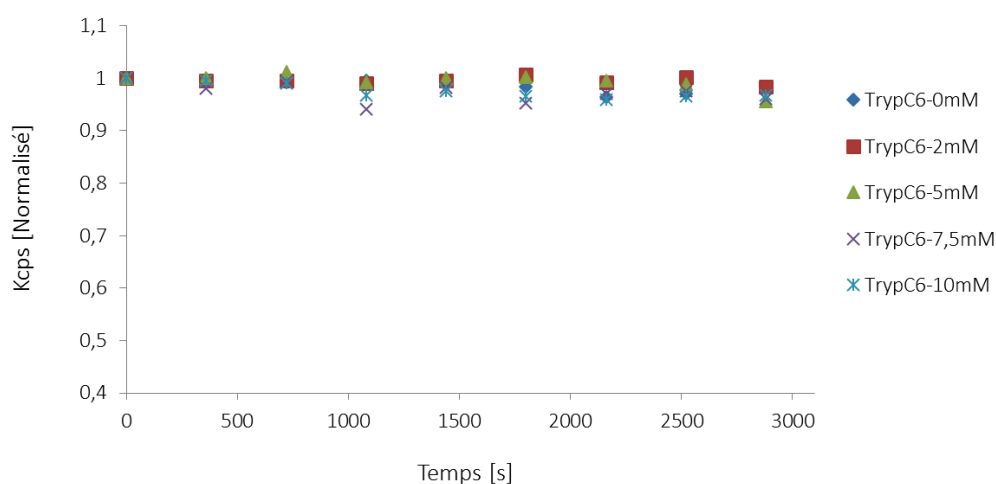
Le protocole réalisé pour cette étude est décrit comme ci-après⁸⁶ : 100 μ l d'une solution de LUVs sont dilués dans 1,9 ml d'eau milli-Q qui constitue le milieu extravésiculaire. La solution obtenue est ensuite placée dans une cellule d'analyse et est mise sous agitation. 20 μ l d'une solution à différentes concentrations de Tryp-C₆, de Tryp-C₆-Tryp ou de T-Ph-T sont ajoutés. Pour toutes les expériences, le nombre de kcps est déterminé à la position de 4,65mm avec une atténuation égale à 6 et à une température de 25°C.

Les données DLS recueillies ont été normalisées pour être comprises entre 0 et 1. Les constantes de vitesse k sont-elles obtenues en déterminant la pente de chaque courbe $\text{kcps} = f(\text{temps})$. Les résultats obtenus pour les différents composés sont présentés ci-dessous.

⁸⁵ Y. Le Duc, M. Michau, A. Gilles, V. Gence, Y-M. Legrand, A. van der Lee, S. Tingry, M. Barboiu, *Imidazole-Quartet Water and Proton Dipolar Channels*, *Angewandte Chemie*, **2011**, 50(48), 11366–11372

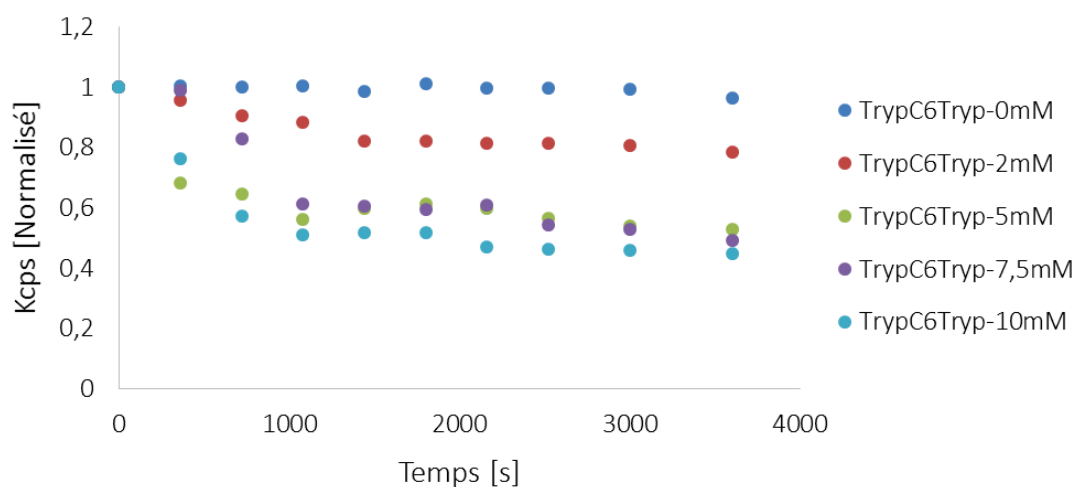
II.2.E.2. Etude du transport d'eau en présence de Tryp-C₆ et de Tryp-C₆-Tryp

Nous pouvons observer qu'aucune diminution significative du nombre des kcps en fonction du temps n'est observée (Graphe II.23). L'auto-assemblage en solution de la Tryp-C₆ ne permet a priori pas la formation de canaux d'eau au sein de la bicouche lipidique.



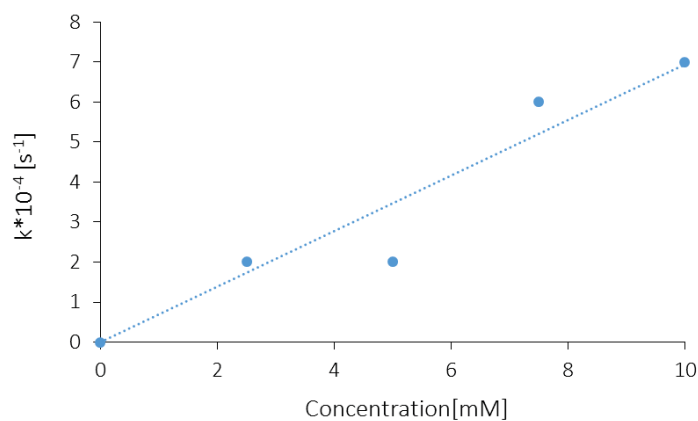
Graph II.23 : Représentation des courbes $kcps=f(\text{temps})$ obtenues lors l'étude du transport d'eau au travers de la bicouche lipidique pour le composé Tryp-C₆ à différentes concentrations.

En ce qui concerne le composé difonctionnel, une diminution rapide du nombre des kcps en fonction du temps est constatée. Elle se produit dès les faibles concentrations (Graphe II.24). Nous pouvons également constaté, qu'à partir de 1000 secondes le nombre de kcps en fonction du temps se stabilise. Des analyses effectuées après plusieurs jours nous ont montré que cette valeur n'évolue plus dans le temps.



Graphie II.24 : Représentation des courbes $k_{cps}=f(\text{temps})$ obtenues lors l'étude du transport d'eau au travers de la bicouche lipidique pour le composé Tryp-C₆-Tryp à différentes concentrations.

Les valeurs des constantes de vitesse de disparition des vésicules augmentent avec la concentration en composé d'intérêt (Graphie II.25). Cependant elles sont à prendre avec un certain recul car la cinétique de disparition des vésicules est particulièrement rapide.



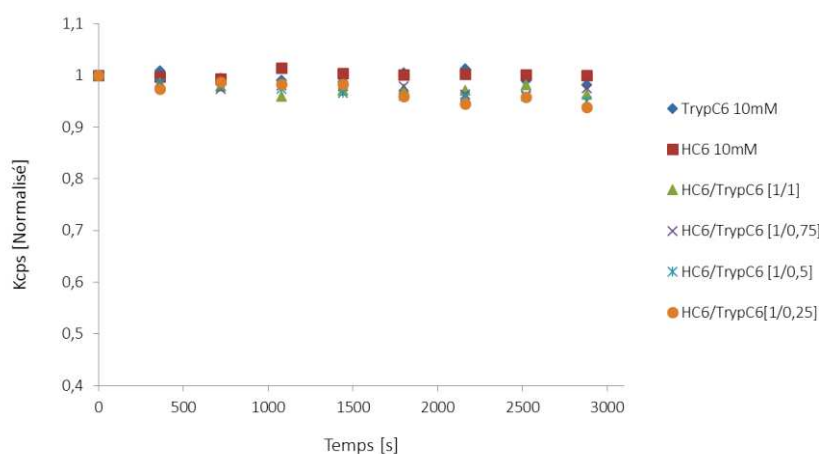
Graphie II.25 : Représentation de la constante de premier ordre en fonction de la concentration de Tryp-C₆-Tryp ($k=f([C])$).

L'auto-assemblage en solution des molécules de Tryp-C₆-Tryp permet donc le transport d'eau au travers de la bicouche lipidique contrairement à celui des molécules de Tryp-C₆.

Nous nous sommes également intéressés à l'influence que peut avoir l'association de l'Histamine-C₆ (H-C₆) avec la Tryp-C₆ et de l'Histamine-C₆-Histamine (H-C₆-H) avec la Tryp-C₆-Tryp, sur le transport d'eau à travers la bicouche lipidique.

II.2.E.3. Etude de l'influence des associations H-C₆/Tryp-C₆ et H-C₆-H/Tryp-C₆-Tryp sur le transport d'eau

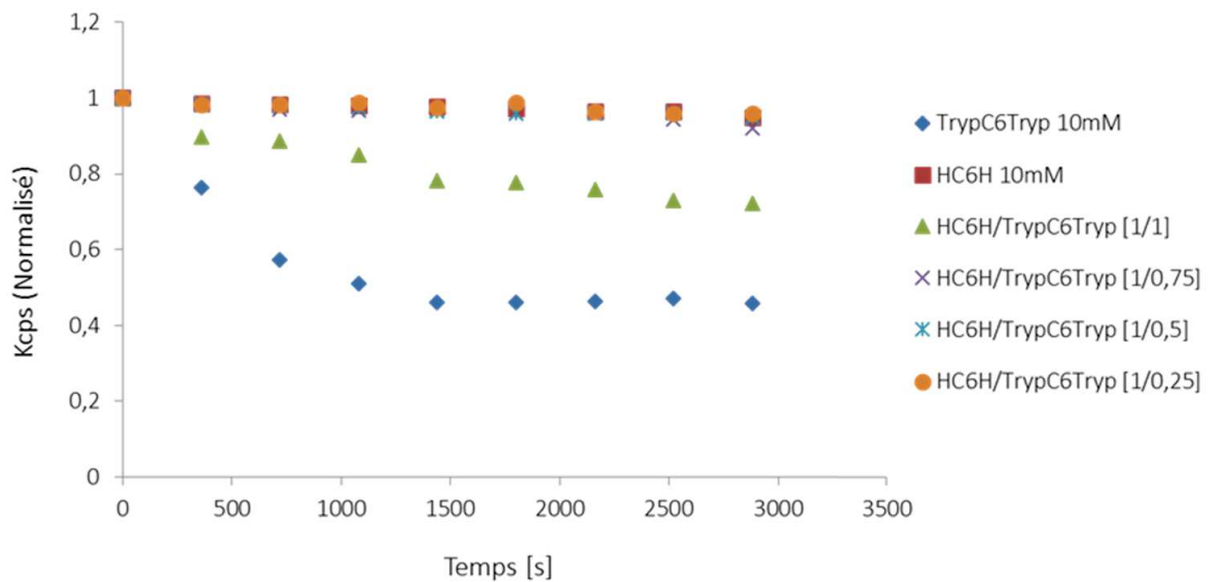
Les concentrations optimales en Tryp-C₆ et en Tryp-C₆-Tryp observées lors des précédentes études de transport étant égale à 10mM, nous travaillons donc à cette concentration. Les associations ont été effectuées en fixant les quantités de matière d'H-C₆ et d'H-C₆-H (10mM, 1équivalent) et en faisant varier les proportions de Tryp-C₆ et de Tryp-C₆-Tryp (10mM, 0 à 1 équivalent). Les résultats obtenus sont présentés ci-après.



Graphe II.26 : Représentation des courbes $K_{cps}=f(\text{temps})$ obtenues lors de l'étude de l'influence de l'association de molécules de H-C₆ et de Tryp-C₆ sur le transport d'eau.

L'association des molécules d'H-C₆ avec celles de Tryp-C₆ n'a apparemment aucun effet sur le transport d'eau au travers de la bicouche lipidique. Tout comme l'étude portant sur le composé Tryp-C₆ seul, aucune variation significative du nombre de kcps en fonction du temps n'est observée lorsqu'on associe au système de l'H-C₆ (Graphe II.26).

En ce qui concerne l'étude portant sur l'association des molécules d'H-C₆-H avec celles de Tryp-C₆-Tryp, nous pouvons voir qu'à proportion égale en composé d'intérêt, (comparaison entre Tryp-C₆-Tryp et H-C₆-H/Tryp-C₆-Tryp [1/1]) la diminution du nombre de kcps en fonction du temps est moindre lorsque l'on associe à la Tryp-C₆-Tryp de l'H-C₆-H (Graphe II.27).



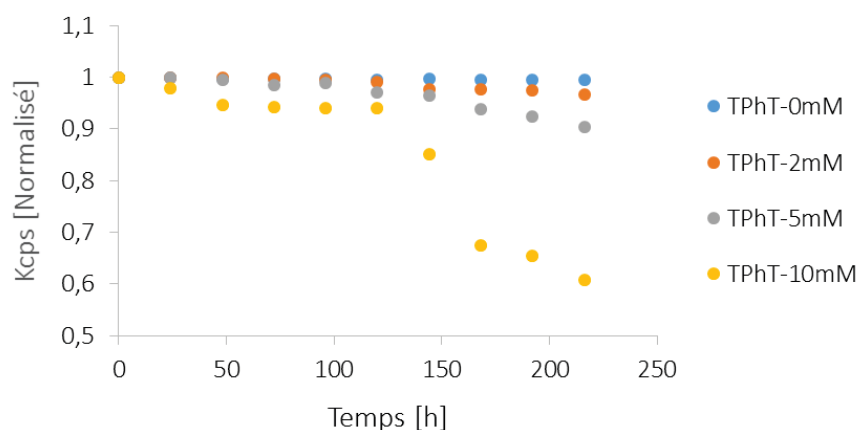
Composé	$k \cdot 10^{-4} [s^{-1}]$
H-C ₆ -H [10 mM]	0
Tryp-C ₆ -Tryp [10 mM]	7
H-C ₆ -H:Tryp-C ₆ -Tryp [1:1]	2
H-C ₆ -H:Tryp-C ₆ -Tryp [1:0,75]	0
H-C ₆ -H:Tryp-C ₆ -Tryp [1:0,5]	0
H-C ₆ -H:Tryp-C ₆ -Tryp [1:0,25]	0

Graph II.27 : Représentation des courbes $Kcps=f(\text{temps})$ obtenues lors de l'étude de l'influence de l'association de molécules de H-C₆-H et de Tryp-C₆-Tryp sur le transport d'eau. Les valeurs des constantes de vitesses dans les différents cas sont également représentées.

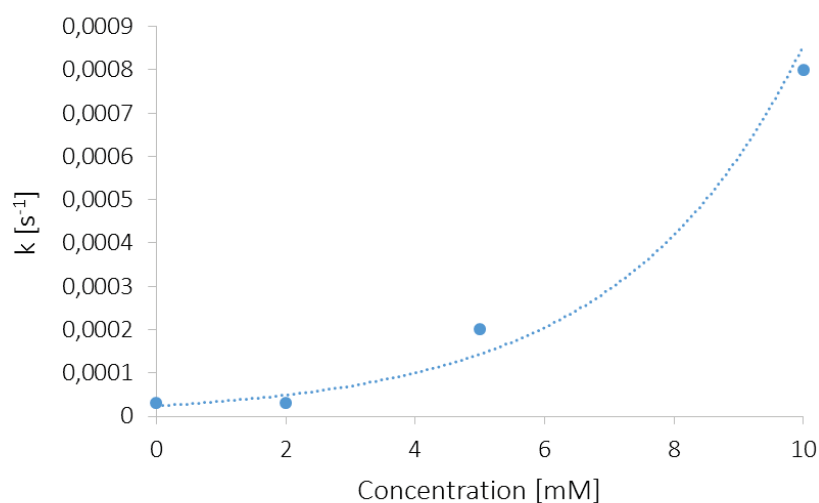
Nous ne pouvons pas conclure quant à l'influence que peut avoir l'association de l'H-C₆-H sur le transport d'eau. Il peut tout simplement s'agir de l'addition d'un composé ne permettant pas la formation de canaux d'eau avec un composé le permettant. Ce qui aurait pour conséquence, une disparition moins importante des vésicules. Des études effectuées au sein de notre groupe peuvent appuyer cette théorie. Ces dernières ont, en effet, montré que l'association de molécules d'H-C₆-H permet la formation de canaux d'eau⁴⁵. Cependant pour une concentration égale à 10 mM ce phénomène n'est pas observé. Nous avons donc au sein de notre système, présence d'un transporteur d'eau, la Tryp-C₆-Tryp, et d'un composé, l'H-C₆-H, qui a une concentration égale à 10 mM ne permet pas la formation de canaux d'eau. Nous avons ainsi voulu augmenter la concentration des deux composés afin de compléter cette étude. Nous avons cependant été limités par la solubilité dans l'eau de la Tryp-C₆-Tryp qui précipite au-delà de 15 mM.

II.2.B.4. Etude du transport d'eau en présence de T-Ph-T

Nous pouvons observer qu'au cours du temps, une diminution du nombre de kcps a lieu et elle varie de façon exponentielle avec la concentration (Graphe II.28 et Graphe II.29).



Graph II.28 : Représentation des courbes $kcps=f(\text{temps})$ obtenues lors l'étude du transport d'eau au travers de la bicouche lipidique pour le composé T-Ph-T à différentes concentrations.



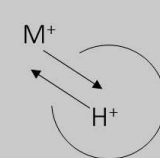
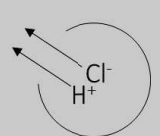
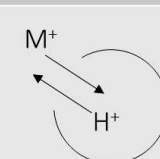
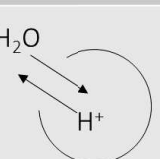
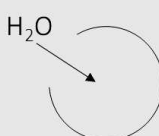
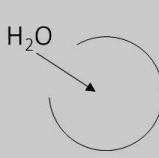
Graphie II.29 : Représentation de la constante de premier ordre en fonction de la concentration de T-Ph-T ($k=f([C])$).

L'auto-assemblage en solution du T-Ph-T semble former des canaux d'eau au sein de la bicouche lipidique. De plus, les résultats obtenus lors de l'étude du transport protonique en conditions osmotiques (II.2.A.3.a.2) couplés à ces derniers résultats, laissent à penser que les canaux d'eau sont probablement impliqués dans le transport des protons vers le milieu extravésiculaire.

II.3. Conclusion

Dans cette seconde partie, de nouvelles molécules bola-amphiphiles ont été présentées. De par leur auto-assemblage en solution, il a été montré qu'elles étaient capables de former des canaux ioniques, des canaux protoniques et des canaux d'eau, permettant ainsi le transport d'espèces

Tableau II.1 : Récapitulatif des résultats obtenus pour les différentes études.

	Canaux ioniques	Canaux protonique	Canaux d'eau
Tryp-C ₆	 Sélectivité vis-à-vis cations : Rb ⁺ >Li ⁺ >K ⁺ >Cs ⁺ >Na ⁺	 Transport amélioré par association de H-C ₆	X
T-Ph-T	 Non sélectif aux cations	 Canaux d'eau probablement Impliqué dans le transport de protons	
Tryp-C ₆ -Tryp	Fluorescence intrinsèque trop importante pour les études en spectroscopie de fluorescence		

Il serait néanmoins judicieux d'étudier de façon plus poussée ces différents composés. En effet, nous avons pu voir que des phénomènes complexes se produisent lors de certains transports d'espèces chimiques. Ceci est, par exemple, observé lors du transport de différents cations pour le composé Tryp-C₆. Les canaux ioniques formés par l'auto-assemblage de cette molécule possèdent une sélectivité vis-à-vis des cations mais celle-ci présente une certaine

complexité. Des tests de recristallisation du composé contenant le cation d'intérêt pourraient apporter plus d'information quant à l'organisation que peut adopter les canaux en présence d'une espèce chimique précise.

Un phénomène intéressant a également été observé lors de l'étude portant sur l'association de molécules d'H-C₆ et de Tryp-C₆. A une certaine proportion, l'auto-assemblage en solution de ces deux composés a pour conséquence l'amélioration du transport de protons au sein de la bicouche lipidique. Des études complémentaires doivent être apportées pour tenter d'expliquer au mieux les mécanismes mis en jeu lors de ce phénomène.

Ces différents résultats ont été obtenus en utilisant les techniques d'analyse de diffraction dynamique de la lumière et de spectroscopie de fluorescence. Mais cette dernière méthode présentant certaines limitations, notamment dues à la fluorescence intrinsèque des composés, des études en patch-clamp sont en cours de réalisation, afin de compléter les résultats que nous avons obtenus tout au long de cette étude.

De par leur capacité à former des canaux ioniques, ces différents composés ont été retenus pour l'étude portant sur la fonctionnalisation dynamique de matériaux hybrides. Nous avons cherché à confiner des molécules présentant des capacités de transport au sein de membranes poreuses composées d'alumine. L'intérêt d'une telle étude est d'apporter une sélectivité à la membrane commerciale. Ceci fera ainsi l'objet de la troisième partie.

-Partie III-

**Elaboration de matériaux membranaires
fonctionnalisés pour le transport sélectif
d'espèces chimiques**

Les membranes à base d'alumine sont des matériaux macroporeux fréquemment utilisés en tant que matrice hôte pour l'obtention de nanocanaux directionnels ordonnés⁸⁶. De plus, il a été montré que lorsque ces matériaux sont combinés à des matériaux mésostructurés à base de silice, le nouveau matériau obtenu présente des propriétés intermédiaires remarquables⁸⁷.

Au sein de notre équipe, des matériaux membranaires s'appuyant sur ces recherches ont été élaborés. Cependant, l'originalité qui a été apportée est l'insertion de composés moléculaires au sein de la matrice mésostructurée. Les propriétés que possèdent ces composés ont pour but d'induire la fonctionnalité de nos matériaux membranaires hybrides. Plusieurs travaux réalisés au sein de notre groupe ont permis de mettre en évidence le confinement de composés tels que :

- des dérivés d'éthers-couronnes⁸⁸ ;
- des dérivés d'alkylguanosine⁸⁹ ;
- des molécules bola-amphiphiles⁹⁰.

Ces études ont montré qu'il était possible d'obtenir des membranes adaptatives dont la structuration induit un dynamisme intérieur et qui à son tour détermine l'organisation de la membrane selon la nature de l'environnement.

L'élaboration de ces matériaux membranaires repose tout d'abord sur la modification d'une membrane commerciale à base d'alumine (AAO). Cette étape, qui se fait grâce au procédé sol-gel, permet de modifier les pores de la matrice hôte en y incorporant un matériau mésostructuré de

⁸⁶ K.C. McCarley, J.D. Way, *Development of a model surface flow membrane by modification of porous γ -alumina with octadecyltrichlorosilane*, Separation and Purification Technology, **2001**, 25, 195-210

⁸⁷ Q. Lu, F. Gao, S. Komarneni, T.E. Mallouk, *Ordered SBA-15 Nanorod Arrays Inside a Porous Alumina Membrane*, J. Am. Chem Soc, **2004**, 126

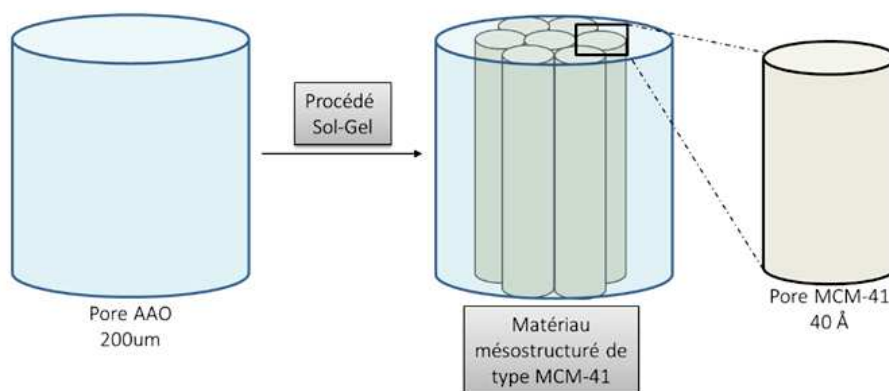
⁸⁸ M. Barboiu, A. Cazacu, S. Mihai, Y-M. Legrand, G. Nasr, Y. Le Duc, E. Petit, A. van der Lee, *Dynamic constitutional hybrid materials-toward adaptive self-organized devices*, Microporous and Mesoporous Materials, **2011**, 140, 51–57

⁸⁹ S. Mihai, J. Dauthier, Y. Le Duc., A. El Mansouri, A. Mehdi, M. Barboiu, *Dynamic Constitutional Hybrid Materials - Confined Guanosine Ribbons within Mesoporous Silica.*, European Journal of Inorganic Chemistry, **2012**, 32, 5299–5304

⁹⁰ Y. Le Duc, *Auto-assemblage supramoléculaire de canaux ioniques vers des matériaux membranaires et des capteurs électrochimiques macro-organisés*, Université de Montpellier II, **2010**

type MCM-41⁹¹. Une fois cette insertion réalisée, les mésopores sont à leur tour modifier par un greffage hydrophobe. Cette modification génère un milieu dimensionnellement et morphologiquement très similaire à la bicouche lipidique. La dernière étape consiste quant à elle à confiner les composés d'intérêt *via* des liaisons de type van der Waals entre les chaînes alkyl précédemment greffées sur la paroi des mésopores (Figure III.1).

1- Modification de la membrane commerciale AAO



2- Modification des mésopores

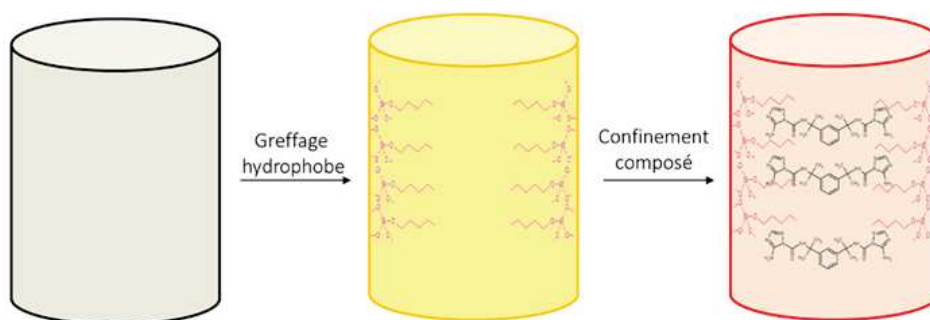


Figure III.1 : Représentation schématique du principe de l'élaboration de nos matériaux membranaires hybrides.

Pour un matériau membranaire hybride destinée au transport sélectif d'espèces chimiques il est intéressant que les composés confinés présentent la propriété de former des canaux ioniques

⁹¹ A. Yamaguchi, F. Uejo, T. Yoda, T. Uchida, Y. Tanamura, T. Yamashita, N. Teramae, *Self-assembly of a silica-surfactant nanocomposite in a porous alumina membrane*, Nat. Matter, **2004**, 3(5), 337-341

et/ou d'eau. Comme nous l'avons vu dans la partie précédente (Voir Partie II), l'auto-assemblage des composés de Tryp-C₆, Tryp-C₆-Tryp ou de T-Ph-T permet la formation de canaux ioniques, de canaux protoniques et de canaux d'eau, au sein d'une bicouche lipidique (Voir chapitre II.2.A et chapitre II.2.B). Nous nous sommes donc intéressés au confinement de ces molécules au sein d'une matrice mésoporeuse hydrophobe mimant la bicouche lipidique.

Dans un premier chapitre qui constitue la synthèse bibliographique, les notions de base concernant le procédé sol-gel et les matériaux mésostructurés seront présentés pour une meilleure compréhension de l'étude. Dans un second chapitre, l'élaboration de nos matériaux sera ensuite développée.

III.1. Synthèse Bibliographique

III.1.A La chimie sol-gel

Le procédé sol-gel, dont l'appellation est une contraction des termes « solution-gélification », a été mis en évidence pour la première fois en 1845 par le chimiste français Jacques-Joseph Ebelmen⁹². Il décrit ainsi « la conversion en verre solide de l'acide silicique exposé à l'air humide »⁹³. Le procédé sol-gel était né. Il a cependant fallu attendre plus d'un siècle pour que ce procédé connaisse un véritable essor. Ceci a notamment été permis grâce à la mise au point d'un procédé industriel basé sur la chimie sol-gel par la firme allemande Schott en 1939⁹⁴. Depuis, les progrès ont été rapides et de nombreuses études ont été réalisées. Les applications que couvrent les matériaux élaborés par ce procédé sont désormais multiples car il offre de nombreux atouts

⁹² P. Innocenzi, Y.L. Zub, V.G. Kessler, *Sol-gel methods for materials processing*, Springer, 2007

⁹³ J.-J. Ebelmen, *Compt. Rend. Acad. Sci*, **1847**, 25, 854

⁹⁴ J. Livage, *The sol gel proces*, Cours donné à l'Université Pierre et Marie Curie, 2000

pour réaliser des matériaux de grande homogénéité à des températures inférieures à celles des synthèses classiques⁹⁵.

III.1.A.1. Généralités

Le procédé sol-gel consiste à former un réseau d'oxydes par polymérisation de précurseurs moléculaire en solution dans des conditions dites de « chimie douce ». Selon la nature du précurseur utilisé, il existe plusieurs voies de synthèse sol-gel⁹⁶ :

- la voie « métallo-organique » : met en jeu des sels métalliques dispersés en solution aqueuse. En raison de son coût élevé cette voie est encore peu utilisée ;
- la voie polymère⁹⁷ : consiste à incorporer des métaux le long de chaînes de polymères organiques dans une solution précurseur. Cette voie de synthèse permet d'obtenir un polymère « chélatant ». La complexation des cations métalliques le long des chaînes polymères permet une homogénéité à l'échelle moléculaire, ce qui a pour conséquence de favoriser la formation du réseau d'oxydes lors du traitement thermique ;
- la voie « alcoxyde » : fait intervenir des alcoxydes métalliques de formule $M-(OR)_n$ où, M désigne un métal de valence n, OR un groupement alcoxy possédant une chaîne alkyl R. Ces derniers sont dispersés dans une solution organique. Cette méthode de synthèse permet l'obtention soit de polymères inorganiques ou soit de colloïdes. Il s'agit de la voie sol-gel la plus étudiée, c'est d'ailleurs celle que nous avons utilisée lors de nos travaux. Nous nous limiterons donc à son étude.

⁹⁵ H. Schmidt, *Consideration about the sol-gel process : from the classical sol-gel route to the advanced chemical nanotechnologies*, J.Sol-gel Sci. Techn, **2006**, 40, 115-130

⁹⁶ M. Henry, J.P. Jolivet, J. Livage, *Ultrastructure processing of advances materials*, John Willey & Sons, **1992**

⁹⁷ C. Viazzi, *Elaboration par le procédé sol-gel de revêtements de zirconie yttrée sur substrats métalliques pour l'application barrière thermique*, Université Toulouse III-Paul Sabatier, **2007**

III.1.A.2. La voie alcoxyde

La polymérisation sol-gel par voie alcoxyde comporte deux étapes principales : la synthèse du sol qui se fait par hydrolyse de l'alcoxyde et la formation du gel qui se produit par le biais de réactions de condensation⁹⁸. Ces étapes s'effectuent à des températures proche de l'ambiante et permettent ainsi la formation du réseau d'oxydes⁹⁹.

III.1.A.2.a. Synthèse du sol : réaction d'hydrolyse

Un sol est une suspension colloïdale qui est composée de particules solides dispersés dans un solvant. La tailles de ces particules est comprise entre 1nm et 1 µm. La stabilité de la dispersion est assurée par des forces à courte distance, telles que les interactions de Van der Waals avec les charges de surface¹⁰⁰.

La synthèse d'un sol est réalisée à température ambiante par ajout d'eau dans une solution organique de précurseurs. Il s'agit de la réaction d'hydrolyse :



Cette réaction correspond à une attaque nucléophile d'une molécule d'eau sur l'atome métallique. Elle permet la formation d'un groupement hydroxyle sur le monomère et l'élimination d'une molécule d'alcool¹⁰¹.

⁹⁸ A. Kabir, K.G. Furton, A. Malik, *Innovations in sol-gel microextraction phases for solvent-free sample preparation in analytical chemistry*, Trends in Analytical Chemistry, **2013**, 45, 197-218

⁹⁹ A. Kumar, Gaurav, A.K. Malik, D.K. Tewary, B. Singh, *A review on development of solid phase microextraction fibers by sol-gel methods and their applications*, Analytica Chimica Acta, **2008**, 610, 1-14

¹⁰⁰ C.J. Brinker, G.W. Scherer, *Sol-gel science : the physics and chemistry of sol-gel processing*, Academic Press, **1990**

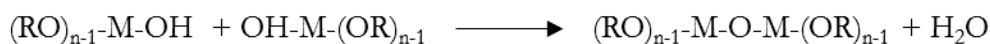
¹⁰¹ J. Livage, M. Henry, C. Sanchez, Sol-gel chemistry of transition metal oxydes, Prog. Solid St. Chem, 1998, 18, 259-341

III.1.A.2.b. Formation du gel : réaction de condensation

Un gel est défini comme un réseau tridimensionnel d'oxyde gonflé par le solvant. Des liaisons chimiques assurent la cohésion mécanique du matériau en lui donnant un caractère rigide non déformable¹⁰².

La formation du gel se fait par réaction de condensation. Cette dernière correspond à une réaction de propagation au cours de laquelle le réseau polymérique inorganique se forme soit par¹⁰³ :

- olation : réaction d'addition nucléophile qui consiste à former un pont oxygène entre deux atomes métalliques. Cette réaction s'accompagne de l'élimination d'une molécule d'eau :



- oxolation : réaction de substitution nucléophile qui consiste également à former un pont oxygène entre deux atomes métalliques. Mais dans ce cas, la réaction est accompagnée de l'élimination d'une molécule d'alcool :



La succession des réactions d'hydrolyse et de condensation conduisent donc à la formation d'un gel constitué de chaînes M-O-M et dont la viscosité augmente au cours du temps jusqu'à atteindre une valeur critique caractérisant la transition sol-gel¹⁰⁴.

III.1.A.2.c. Vieillessement et séchage du gel¹⁰⁵

¹⁰² P. Audebert, F. Miomandre, *Procédé sol-gel de polymérisation*, Dossier Techniques de l'Ingénieur, **2005**, J5820, 1-13

¹⁰³ C. Sanchez, J. Livage, *Sol-gel chemistry from metal oxide alkoxyde precursors*, New J. Chem. **1990**, 14, 513-521

¹⁰⁴ M. Mennig, M. Schmitt, U. Becker, G. Jung und H. Schmidt, *Sol-Gel Optics III*, J. D. Mackenzie, **1994**

¹⁰⁵ J. Phaliopou, L. Kocon, *Elaboration des gels et des aérogels*, Dossier Techniques de l'Ingénieur, 2004, J2230,1-20

Les réactions impliquées lors de la gélification ne s'arrêtent pas au point de gel. Elles se poursuivent en modifiant les propriétés physico-chimiques de ce dernier. L'évolution du gel au cours du temps est appelé vieillissement, au cours duquel trois processus peuvent se produire:

- la polymérisation (augmentation du degré de réticulation par formation de nouveaux ponts siloxanes) ;
- la démixtion de phase ou synérèse (la réticulation conduit au rétrécissement du matériau avec expulsion du solvant) ;
- le mûrissement d'Ostwald (processus de dissolution et de reprecipitation).

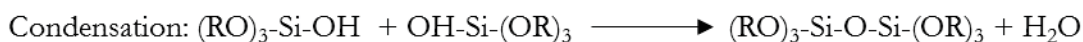
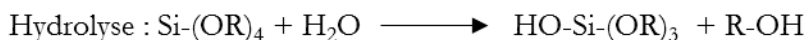
L'obtention du matériau, à partir du gel, nécessite une étape de séchage qui consiste à éliminer le solvant du réseau polymérique. L'élimination du solvant est permise grâce à la structure poreuse du matériau sol-gel. L'étape de séchage peut se faire dans différentes conditions :

- en conditions atmosphériques: séchage par évaporation normale entraînant une réduction de volume allant de 5 à 10%. Le matériau obtenu est un xérogel.
- en conditions supercritiques : séchage s'effectuant dans un autoclave sous pression élevée et n'entraînant pas ou peu de rétrécissement de volume. Le matériau obtenu est un aérogel.

III.1.A.2.d. Cas des alcoxydes de silicium

Les précurseurs commerciaux de formule $\text{Si}-(\text{OR})_4$ les plus répandus sont le tétraméthylsilane (TMOS, $\text{Si}-(\text{OCH}_3)_4$) et le tétraéthoxysilane (TEOS, $\text{Si}-(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$). Le TEOS est privilégié au TMSO lors des études car ce dernier libère, au cours de sa condensation, du méthanol¹⁰⁶. De façon générale, dans une solution alcoolique en présence d'eau et d'un catalyseur approprié, les alcoxydes de silicium subissent les étapes d'hydrolyse et de condensation suivantes :

¹⁰⁶ P.H. Tewari, A.J. Hunt, K.D. Lofftus, *Advances in production of transparent silica aerogels for window glazings, in Aerogels*, Eds. J. Fricke, Springer-verlag, **1986**, 31-37



Ces réactions assurent la croissance de briques tétraédriques autour des atomes de silicium. Ces briques vont ensuite s'agréger, suivant une cinétique contrôlée par les paramètres de synthèse (solvant, dilution, pH, température...), pour former des particules de tailles variables.

III.1.A.3. Chimie sol-gel et matériaux hybrides

La chimie douce mise en jeu lors du procédé sol-gel, le rend compatible avec les synthèses conventionnelles. Ainsi, il devient possible d'associer intimement, au sein d'un même matériau, des espèces minérales et organiques et de former ainsi des matériaux hybrides aux propriétés intermédiaires et aux comportements nouveaux¹⁰⁷.

Un matériau hybride est un système dans lequel coexistent à la fois des espèces organiques et inorganiques.

La classification des matériaux hybrides se fait en considérant la nature et l'importance ou la force de l'interaction entre les phases organique et minérale du matériau¹⁰⁸. Les classes principales sont les suivantes¹⁰⁹ :

- Classe I : comprend les systèmes hybrides dans lesquels la cohésion entre les deux phases s'effectue par des liaisons faibles (Van der Waals, hydrogènes, ou électrostatique). Cette classe est définie par l'incorporation de l'une des deux phases dans l'autre ;
- Classe II : correspond aux systèmes hybrides dans lesquels la phase organique et la phase minérale sont liées par des liaisons covalentes ou iono-covalente. Cette classe est quant à

¹⁰⁷ C. Sanchez, B. Julian, P. Belleville, M. Popall, *Applications of hybrid organic-inorganic nanocomposites*, J. Mater. Chem., 2005, **15**, 3559-3592

¹⁰⁸ C. Sanchez, F. Ribot, « *Design of hybrid organic-inorganic materials synthesized via sol-gel chemistry* », New J. Chem. **1994**, 1007-1047

¹⁰⁹ H. Schmidt, *New type of non-crystalline solids between inorganic and organic materials*, J. Non-Cryst. Solids, **1985**, 73, 681-691

elle définie par deux types de configurations issues soit d'une greffe, ou soit d'une greffe et d'une incorporation d'une phase dans l'autre.

Le procédé sol-gel permet la synthèse de nombreux matériaux hybrides, tels que les matériaux nonacomposites ou les matériaux mésoporeux utilisés au cours de nos travaux.

III.1.B. Les matériaux mésoporeux organisés à base de silice

D'après la définition de l'IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry), il existe trois types de matériaux qui sont classés selon la taille du diamètre des pores¹¹⁰ :

- les matériaux microporeux, dont le diamètre des pores est inférieur à 2 nm.
- les matériaux mésoporeux, dont le diamètre des pores est compris entre 2 et 50 nm.
- les matériaux macroporeux, dont le diamètre des pores est supérieur à 50 nm.

Les mésoporeux organisés à base de silice possèdent de larges pores (2 à 15 nm), un volume poreux important (1 à 2 cm³.g⁻¹) et une surface spécifique élevée de l'ordre de 1000 m².g⁻¹.

La société Mobil Oil a découvert en 1992 une nouvelle famille de matériaux mésostructurés à base de silice¹¹¹. Cette famille appelée M41S regroupe notamment les MCM-48 de structure cubique, les MCM-50 de structure lamellaire et les MCM-41 de structure hexagonale (MCM : Mobil Composition of Matter)¹¹². Ces matériaux sont synthétisés par polymérisation de précurseur d'alcoxyde de silicium, tel que le TEOS ou le TMOS comme vu précédemment. La réaction se fait en présence d'un surfactant cationique. Le réseau de silice se forme par hydrolyse et condensation du précurseur alcoxyde suivant le procédé sol-gel. Cette formation s'effectue

¹¹⁰ K.S.W. Sing, D.H. Everett, R.A.W. Haul, L. Moscou, R.A. Pierotti, J. Rouquerol, T. Siemieniowska, *Reporting physisorption data for gas/solid systems with special reference to the determination of surface area and porosity*, *Pure Appl. Chem.*, **1985**, 57(4), 603–619

¹¹¹ S. Inagaki, A. Koiwai, N. Suzuki, Y. Fukushima, K. Kuroda, *Syntheses of highly ordered mesoporous materials, FMS-16, derived from kanemite*, *Bull. Chem. Soc.*, **1996**, 69, 1449-1457

¹¹² F. Hoffmann, M. Cornelius, J. Morell, M. Froba, *Silica-Based Mesoporous Organic-Inorganic Hybrid Materials (Review)*, *Angewandte Chemie, International Edition*, **2006**, 45, 3216-3251

autour des micelles auto-assemblées du tensioactif qui joue donc le rôle d'agent structurant. Le matériau final est obtenu par élimination du surfactant par calcination¹¹³.

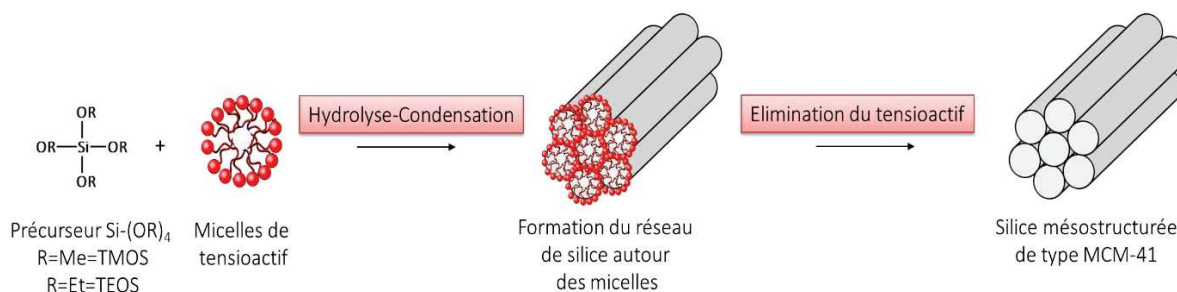


Figure III.2 : Représentation schématique du principe de la synthèse des matériaux mésoporeux, ici du type MCM-41¹¹².

Ces matériaux mésoporeux possèdent des parois amorphes à base de silice. Le diamètre des pores varie de 20 à 100 Å. L'organisation de la mésoporosité se traduit par une distribution de taille de pores bien définie, un volume poreux important et une surface spécifique extrêmement importante. Toutes ces caractéristiques permettent la modification des MCM par insertion d'un groupement organique. Le nouveau matériau hybride ainsi obtenu possède à la fois la réactivité chimique du groupement organique inséré, et les propriétés de la matrice hôte silicatée (stabilité chimique, mésoporosité...).

La modification peut se faire soit par¹¹⁴ :

- imprégnation : repose sur des interactions faibles entre le groupement organique et la matrice hôte. La modification se fait en générale par agitation de la solution à base du gel de silice et du groupement organique;
- greffage one-step : consiste à introduire le groupement organique au cours de la préparation du matériau mésoporeux. La modification est effectuée dans ce cas par co-

¹¹³ C.T. Kresge, M.E. Leonowicz, W.J. Roth, J.C. Vartuli, J.S. Beck, *Ordered mesoporous molecular sieves synthesized by a liquid-crystal template mechanism*, Nature, **1992**, 359, 710-712

¹¹⁴ T. Yasmin, K. Müller, *Synthesis and surface modification of mesoporous MCM-41 silica materials*, Journal of chromatography, **2010**, 1217 (20), 3362-3374

condensation d'un alcoxyde de silicium et d'un organoalkoxysilane porteur de la fonction organique ;

- greffage post-synthèse : repose sur la création d'une liaison covalente entre le groupement organique et la matrice silicatée déjà formée. La création de cette liaison s'effectue par condensation des fonctions Si-OH, présents à la surface de la matrice, avec un organosilane qui est généralement un alcoxyde de silicium. Le greffage post-synthèse permet notamment la modification de l'hydrophobicité du matériau silicaté par insertion de groupement alkyl. L'apport d'hydrophobicité au sein de nos matériaux a été effectué en utilisant ce type de cette voie de modification.

Après avoir présenté les différentes notions qui constituent la base de ces travaux, nous allons maintenant nous concentrer sur l'élaboration de nouveaux matériaux synthétisés dans ce travail.

III.2. Résultats et discussions

Au cours de nos travaux, la matrice hôte utilisée pour la réalisation de nos matériaux hybrides est une membrane macroporeuse symétrique à base d'alumine (AAO). Cette membrane commerciale (Whatman, Anodisc 47) possède un diamètre de pore égal à 200 nm et une épaisseur de 60 μm et est généralement utilisée pour les procédés de séparation ou pour la mise en œuvre de systèmes membranaires.

L'élaboration de nos matériaux hybrides repose sur les trois étapes suivantes :

- l'incorporation du matériau mésostructuré de type MCM-41 au sein des pores de la membrane par procédé sol-gel ;
- la création de l'environnement lipophile par greffage hydrophobe ;
- le confinement des molécules bola-amphiphiles.

Avant la conception de nos matériaux, il est néanmoins nécessaire de définir si l'insertion de nos composés au sein d'un milieu confiné est possible. Pour cela, une étude préliminaire a été menée sur une poudre mésoporeuse commerciale de type MCM-41 (Aldrich, type hexagonal,

($\varnothing_{\text{pore}}=40 \text{ \AA}$) qui joue le rôle de matrice hôte pour les composés moléculaires utilisés. Les étapes se limitent dans ce cas, à la création du milieu lipophile et au confinement des différents composés qui sont la Tryp-C₆, la Tryp-C₆-Tryp et le T-Ph-T.

III.2.A. Etude de la fonctionnalisation de MCM-41

III.2.A.1. Création de l'environnement lipophile

La réalisation de l'environnement hydrophobe se fait par réaction entre un alkyltrichlorosilane et le groupement Si-OH présent sur la surface interne des pores du matériau MCM-41. Une liaison covalente Si-O-Si est ainsi formée. Les alkyltrichlorosilane fortement hydrophobe vont contribuer à la fixation des composés par compatibilité hydrophobe.

Cette étape consiste à insérer le matériau mésostructuré au sein d'une solution d'alkyltrichlorosilane de concentration égale à 5.10^{-2} M . La réaction est réalisée à $60 \text{ }^\circ\text{C}$ pendant 6 heures à reflux, sous agitation dans le toluène. Les alkyltrichlorosilanes utilisés sont soit l'hexyltrichlorosilane (HS) ou soit l'octadécyltrichlorosilane (ODS) (Figure III.3). Les matériaux mésoporeux ainsi modifiés sont récupérés après avoir effectué plusieurs centrifugations. Entre chaque centrifugation un lavage du matériau au toluène est réalisé.

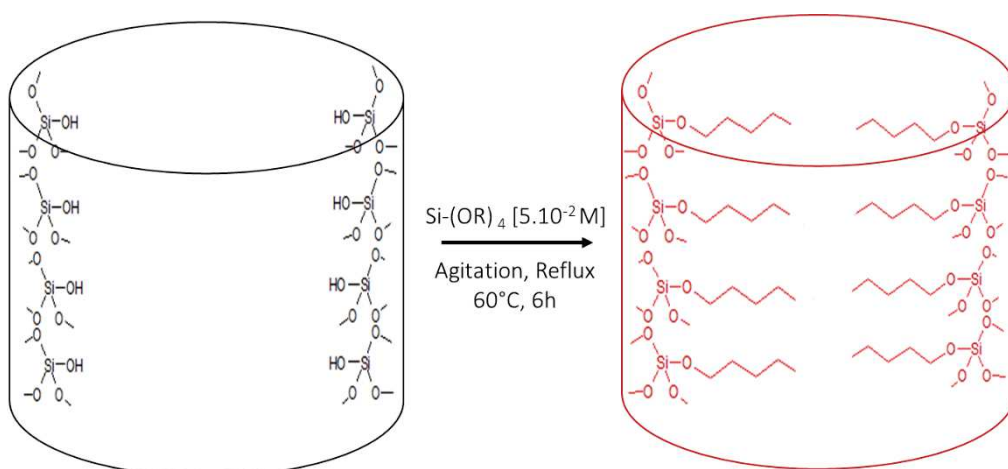


Figure III.3 : Schéma représentatif de la fonctionnalisation lipophile au sein des pores MCM-41.

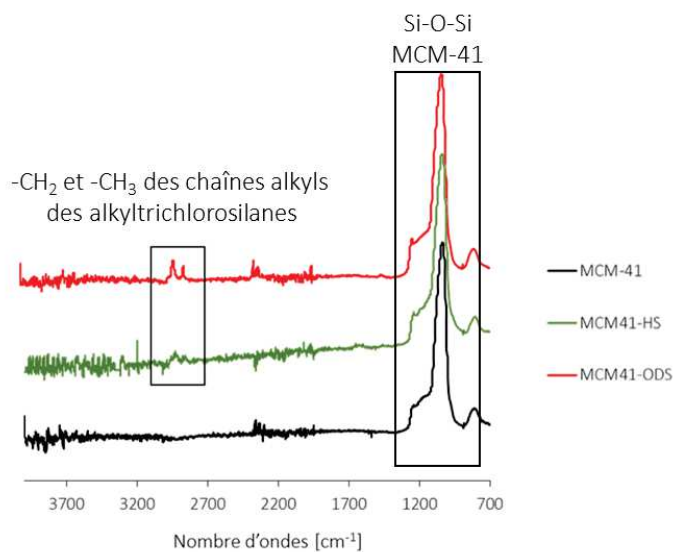
III.2.A.1.a. Caractérisation du matériau mésoporeux après modification hydrophobe

Afin de vérifier si la création de l'environnement hydrophobe a bien été réalisée le matériau modifié est caractérisé par :

- spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier ;
- diffraction des rayons X sur poudre.
- analyse d'absorption-désorption d'azote.

III.2.A.1.a.1. Caractérisation par spectroscopie infrarouge de la fonctionnalisation hydrophobe

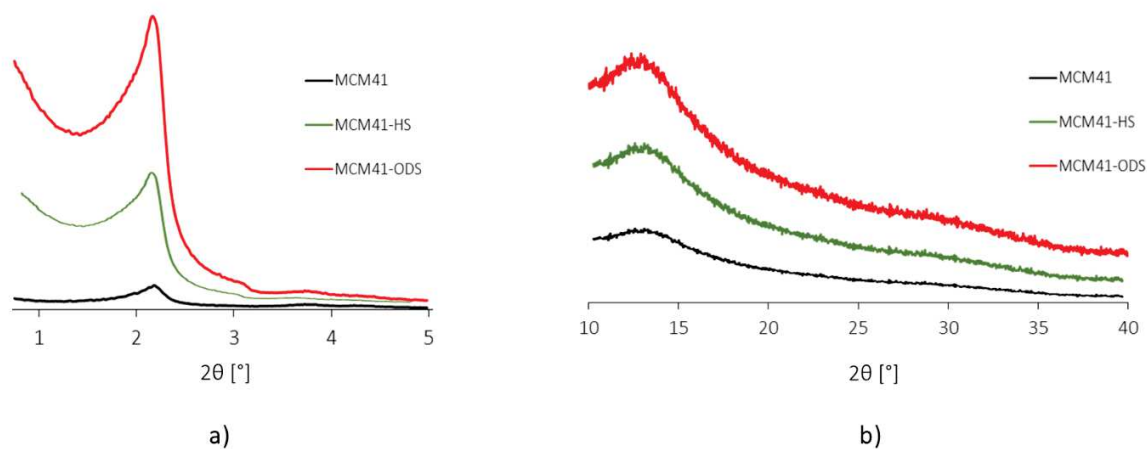
La création du milieu lipophile s'accompagne de l'apparition des bandes de vibration caractéristiques des groupements $-CH_2$ et $-CH_3$ des chaînes hydrocarbonées des alkyltrichlorosilanes (Graphe III.1). Dans le cas de l'octadécyltrichlorosilane (ODS), nous observons l'apparition des bandes vibrationnelles à 2850 cm^{-1} et à 2920 cm^{-1} . Dans le cas de l'hexyltrichlorosilane (HS), elles apparaissent à 2870 cm^{-1} et à 2910 cm^{-1} . Ceci semble signifier que la fonctionnalisation hydrophobe a bien réalisée. ⁴



Graphie III.1 : Superposition des spectres FTIR (Absorbance = $f(\text{Nombre d'ondes})$) du MCM-41 avant et après modification hydrophobe (HS : hexyltrichlorosilane, ODS : octadécyltrichlorosilane).

III.2.A.1.a.2. Caractérisation par diffraction des rayons X de la fonctionnalisation hydrophobe

L'étude aux petits angles, nous donne comme information principale que la création de l'environnement hydrophobe ne semble pas modifier les propriétés structurales du matériau mésoporeux initial. En effet, le pic significatif de la structure hexagonale ($2\theta=2,11^\circ$) du matériau mésoporeux de type MCM-41 n'est pas déplacé (Graphie III.2).



Graph 3.2 : Superposition des diffractogrammes (Intensité = $f(2\theta)$) du MCM-41 avant et après modification hydrophobe aux petits (a) et aux grands angles (b) (HS : hexyltrichlorosilane, ODS : octadécyltrichlorosilane).

III.2.A.1.a.3. Caractérisation par analyse d'absorption-désorption d'azote de la fonctionnalisation hydrophobe

La création de l'environnement lipophile est confirmée par les analyses d'absorption-désorption d'azote qui permettent de déterminer la surface spécifique (S_{BET}) et le volume des pores (V_{BET}) du matériau mésoporeux. Nous observons en effet une diminution de ces valeurs lorsque les alkyltrichlorosilanes sont insérés au sein du matériau (Tableau III.1), ce qui confirme qu'un remplissage des pores a bien lieu. Ce dernier ($\text{Taux}_{\text{Remp}} = 100 - \frac{S_{\text{BET finale}}}{S_{\text{BET initiale}}} \text{ en } \%$) est plus important dans le cas de la modification par l'octadécyltrichlorosilane. Ceci peut s'expliquer par le fait que les chaînes hydrocarbonées de ce composé étant beaucoup plus longues que celles de l'hexyltrichlorosilane, leur organisation au sein des pores occupe une surface et un volume plus importants.

Tableau III.1 : Evolution des valeurs des S_{BET} , des V_{BET} et du taux de remplissages lors de la modification hydrophobe (HS : hexyltrichlorosilane, ODS : octadécyltrichlorosilane).

	S_{BET} [$\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$]	V_{BET} [$\text{cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$]	Taux de remplissage [%]
MCM41	910	0,99	0
MCM41-HS	700	0,78	23
MCM41-ODS	590	0,65	35

Ces différentes caractérisations nous ont permises de confirmer que nous avons bien création d'un milieu hydrophobe au sein du matériau mésoporeux sans modification de la structure hexagonale du MCM-41.

Cette étape validée nous avons procédé au confinement des différents composés. Les résultats obtenus lors de la deuxième étape, à savoir le confinement des différents composés sont présentés dans le chapitre ci-après.

III.2.A.2. Confinement des composés bola-amphiphiles

Le confinement repose sur des interactions de Van-der-Waals entre les chaînes aliphatiques. Pour favoriser ces interactions un solvant polaire doit être utilisé. Ainsi, le matériau modifié précédemment est mis en présence d'une solution du composé à confiner à $2 \cdot 10^{-2}$ M dans un slenck. Afin de faciliter l'insertion des composés au sein des pores, l'air contenu dans le matériau est éliminé en plaçant le milieu réactionnel sous vide. Le confinement est ensuite réalisé à 80 °C à reflux pendant 48 heures sous agitation dans le mélange de solvant chloroforme-méthanol. (Figure III.4). Les matériaux modifiés sont récupérés après avoir effectué plusieurs centrifugations. Entre chaque centrifugation un lavage du matériau est réalisé par le solvant de réaction.

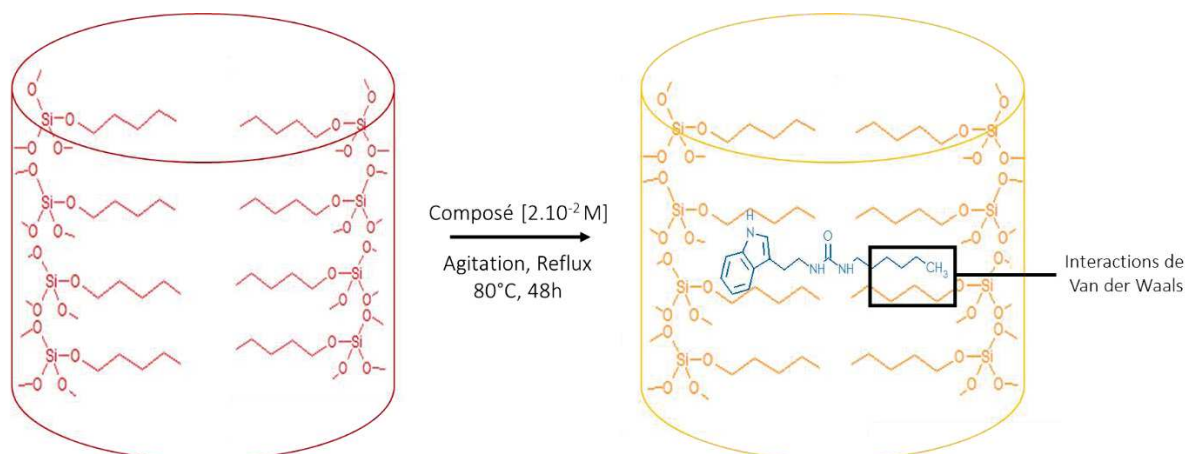
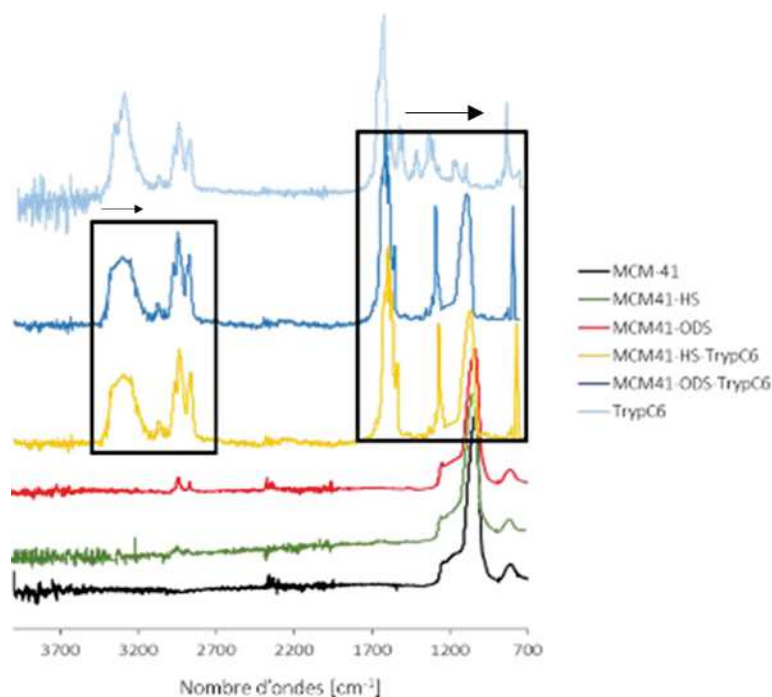


Figure III.4 : Schéma représentatif de l'étape de confinement des composés bola-amphiphiles.

III.2.A.2.a. Caractérisation du matériau mésoporeux après confinement de Tryp-C₆

III.2.A.2.a.1. Caractérisation par spectroscopie infrarouge du confinement de la Tryp-C₆

Nous pouvons observer que le spectre FTIR (en jaune et en bleu) du matériau après confinement présente de nouvelles bandes vibrationnelles qui sont caractéristiques de la Tryp-C₆ dans les zones comprises entre 700 cm⁻¹ à 1700 cm⁻¹ et celles comprises entre 2800 cm⁻¹ à 3300 cm⁻¹ (Graphe III.3). Ceci laisse à penser que le confinement du composé a bien lieu dans les deux types de matrices. Mais il semble mieux se faire au sein de la matrice MCM41-HS. En effet, l'intensité des pics caractéristiques des -CH₂ et des -CH₃ (2842 cm⁻¹ à 2920 cm⁻¹) des chaînes alkyls est plus élevée lorsque les parois du matériau mésoporeux sont modifiées par l'hexyltrichlorosilane. Un taux de remplissage plus important que celui obtenu dans le cas où la matrice utilisée est le MCM41-ODS est donc attendu. De plus, nous pouvons aussi voir, qu'un déplacement des bandes de vibrations vers des fréquences plus faibles a lieu lorsque le composé d'intérêt est inséré. Ceci suppose que de nouvelles interactions s'établissent lorsque le composé Tryp-C₆ est confiné au sein du pore. Ainsi, ce phénomène appuie l'hypothèse que le confinement de ce composé est bien réalisé.

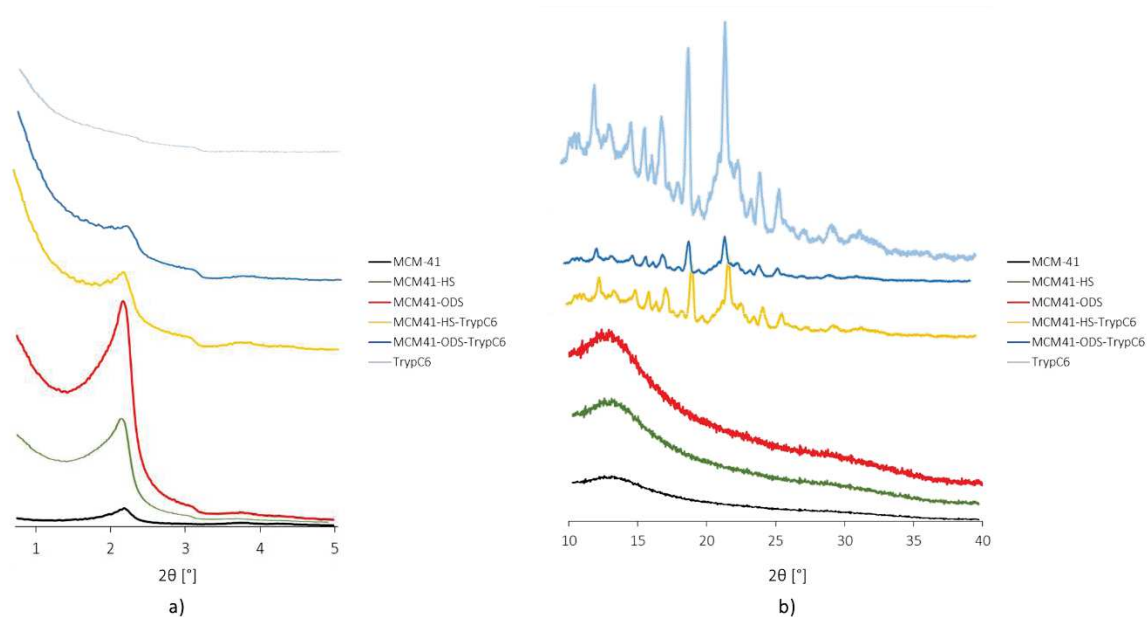


Graphie III.3 : Superposition des spectres FTIR (Absorbance=f(Nombre d'ondes) du MCM-41 avant et après confinement de la Tryp-C₆ (HS : hexyltrichlorosilane, ODS : octadécyltrichlorosilane).

III.2.A.2.a.2. Caractérisation par diffraction des rayons X du confinement de la Tryp-C₆

La diffraction des rayons X aux petits angles, nous permet de voir que le confinement de Tryp-C₆ au sein du matériau ne modifie a priori pas l'organisation hexagonale du MCM-41. En effet, nous n'observons aucune variation de la position du pic significatif d'une structure hexagonale ($2\theta=2,11$) (Graphie III.4.a)). De plus, la diminution de l'intensité qui est observée est significative d'un remplissage plus important du pore par le composé d'intérêt.

L'étude aux grands angles semble confirmer les deux hypothèses émises lors de l'étude effectuée en IR. En effet, nous pouvons voir que le diffractogramme du matériau, après confinement, possède certains pics caractéristiques du composé confiné. Ces derniers sont d'une intensité plus importante lorsque l'hexyltrichlorosilane est utilisé pour la création de l'environnement lipophile (Graphie III.4.b)). Le confinement du composé Tryp-C₆ semble effectivement se faire plus aisément au sein de la matrice hôte MCM41-HS.



Graph 3.4 : Superposition des diffractogrammes ($\text{Intensité} = f(2\theta)$) du MCM-41 avant et après confinement de Tryp-C₆ aux petits (a) et grands angles (b) (HS : hexyltrichlorosilane, ODS : octadécyltrichlorosilane).

III.2.A.2.a.3. Caractérisation par analyse d'absorption-désorption d'azote du confinement de la Tryp-C₆

Le confinement de la Tryp-C₆ est confirmé par les analyses d'absorption-désorption d'azote. Nous observons en effet une diminution de la surface spécifique, du volume des pores et du taux de remplissage (Tableau III.2). Comme attendu, le taux de remplissage dans le cas du MCM41-HS est plus important que pour celui du MCM41-ODS. La longueur des chaînes hydrocarbonées de l'octadécyltrichlorosilane étant plus importante que celle de l'hexyltrichlorosilane, leur organisation au sein des pores du matériau provoque certainement une gêne stérique.

Tableau III.2 : Evolution des valeurs des S_{BET} , des V_{BET} et du taux de remplissages lors du confinement de la Tryp- C_6 (HS : hexyltrichlorosilane, ODS : octadécyltrichlorosilane).

	S_{BET} [$\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$]	V_{BET} [$\text{cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$]	Taux de remplissage [%]
MCM41	910	0,99	0
MCM41-HS	700	0,78	23
MCM41-HS-TrypC_6	399	0,42	56
MCM41-ODS	590	0,65	35
MCM41-ODS-Tryp C_6	480	0,53	47

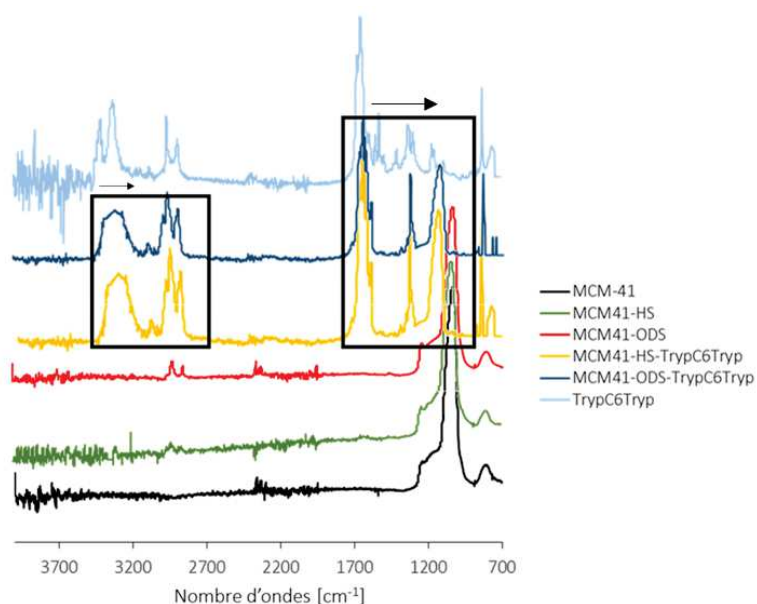
Ces différentes caractérisations nous ont permis de mettre en évidence le confinement de la Tryp- C_6 au sein d'une matrice hôte mésoporeuse. La longueur de la chaîne hydrocarbonée de l'alkyltrichlorosilane semble avoir une influence sur le confinement de ce matériau, qui est plus important pour une longueur de chaîne alkyl courte.

III.2.A.2.b. Caractérisation du matériau mésoporeux après confinement de Tryp- C_6 -Tryp

III.2.A.2.b.1. Caractérisation par spectroscopie infrarouge du confinement de la Tryp- C_6 -Tryp

L'allure des spectres FTIR (en jaune et en bleu) pour le composé Tryp- C_6 -Tryp est la même que pour le composé monofonctionnel. Nous pouvons ici encore observer l'apparition de nouvelles bandes vibrationnelles qui sont caractéristiques de la Tryp- C_6 -Tryp dans les zones comprises entre 700 cm^{-1} à 1700 cm^{-1} et celles comprises entre 2800 cm^{-1} à 3300 cm^{-1} (Graphe III.5). Le confinement du composé semble également avoir lieu pour les deux matériaux modifiés

préalablement par les alkyltrichlorosilane. Mais une intensité légèrement plus importante des pics caractéristiques des $-CH_2$ et $-CH_3$ (2842 cm^{-1} à 2920 cm^{-1}) des chaînes hydrocarbonées des alkyltrichlorosilanes est observée dans le cas où la matrice hôte est le MCM41-HS. Ce résultat laisse envisager un taux de remplissage plus important que pour la matrice MCM41-ODS. Tout comme observer pour la Tryp- C_6 , un déplacement des bandes de vibrations vers des fréquences plus faibles à lieu lorsque le composé d'intérêt est inséré. Ceci suppose que de nouvelles interactions ont à lieu lorsque le composé Tryp- C_6 -Tryp est confiné au sein du pore. Ainsi, ce phénomène appuie l'hypothèse que le confinement de ce composé est bien réalisé.



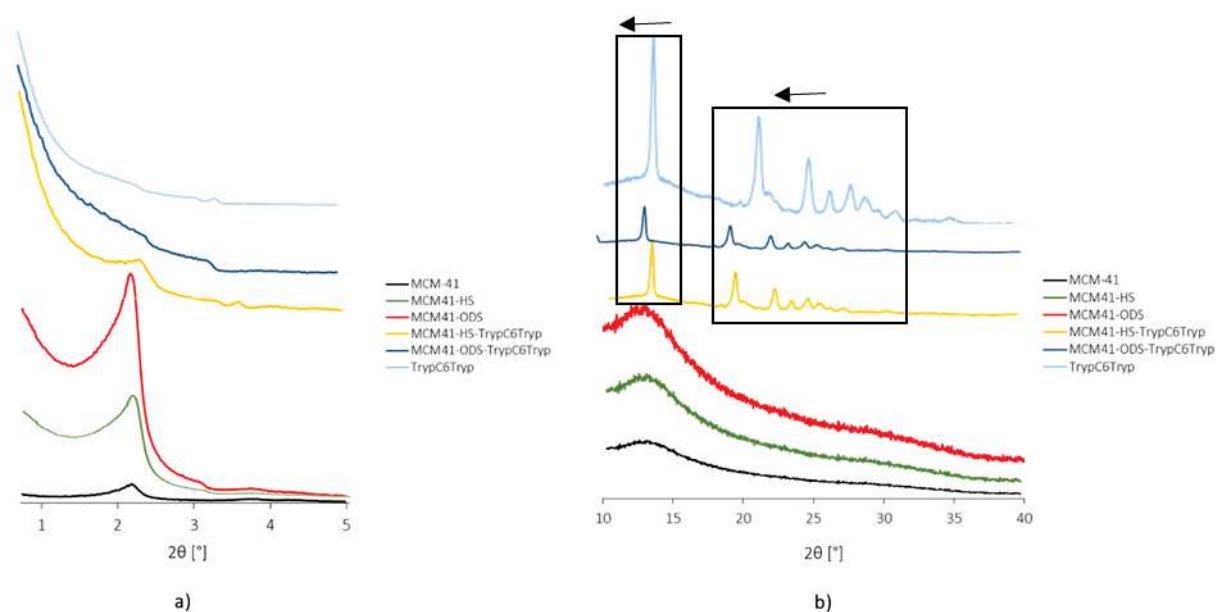
Graphie III.5 : Superposition des spectres FTIR (Absorbance=f(Nombre d'ondes)) du MCM-41 avant et après confinement de la Tryp- C_6 -Tryp (HS : hexyltrichlorosilane, ODS : octadécyltrichlorosilane).

III.2.A.2.b.2. Caractérisation par diffraction des rayons X du confinement de la Tryp- C_6 -Tryp

Nous observons qu'aux petits angles, le confinement du composé difonctionnel ne modifie pas la structure hexagonale de la matrice hôte mésoporeuse. Aucune variation du pic situé à $2\theta=2,11$ n'est en effet observé (Graphie III.6.a)).

L'étude aux grands angles semble confirmer les hypothèses émises lors de l'étude effectuée en IR. Tout d'abord, nous pouvons voir que le diffractogramme du matériau, après confinement, possède certains pics caractéristiques du composé confiné (Graphe III.6.b)). Le confinement du composé semble bien avoir lieu. Nous pouvons également observer que l'intensité des pics est moins importante lorsque l'octadécyltrichlorosilane est utilisé pour la création de l'environnement lipophile. Tout comme l'équivalent monofonctionnel, le confinement du composé Tryp-C₆-Tryp semble effectivement se faire de manière plus aisée au sein de la matrice hôte MCM41-HS.

De plus, un déplacement des pics caractéristiques de la Tryp-C₆-Tryp observé aux grands angles laisse à penser que la structuration du composé au sein des pores de la matrice hôte est différente lorsque ce dernier est confiné.



Graphie III.6 : Superposition des diffractogrammes (Intensité = $f(2\theta)$) du MCM-41 avant et après confinement de Tryp-C₆-Tryp aux petits (a) et grands angles (b) (HS : hexyltrichlorosilane, ODS : octadécyltrichlorosilane).

III.2.A.2.b.3. *Caractérisation par analyse d'absorption-désorption d'azote du confinement de la Tryp-C₆-Tryp*

Le confinement de la Tryp-C₆-Tryp est confirmé par les analyses d'absorption-désorption d'azote. Nous observons en effet une diminution de la surface spécifique, du volume des pores et du taux de remplissage (Tableau III.4). Nous pouvons remarquer que cette diminution est moindre comparé à l'équivalent monofonctionnelle. Mais nous avons toujours un meilleur taux de remplissage pour le matériau modifié par l'hexyltrichlorosilane.

Tableau III.3 : Evolution des valeurs des S_{BET} , des V_{BET} et du taux de remplissages lors du confinement de la Tryp-C₆-Tryp (HS : hexyltrichlorosilane, ODS : octadécyltrichlorosilane).

	S_{BET} [m ² .g ⁻¹]	V_{BET} [cm ³ .g ⁻¹]	Taux de remplissage [%]
MCM41	910	0,99	0
MCM41-HS	700	0,78	23
MCM41-HS- TrypC₆Tryp	530	0,60	41
MCM41-ODS	590	0,65	35
MCM41-ODS- TrypC ₆ Tryp	500	0,54	45

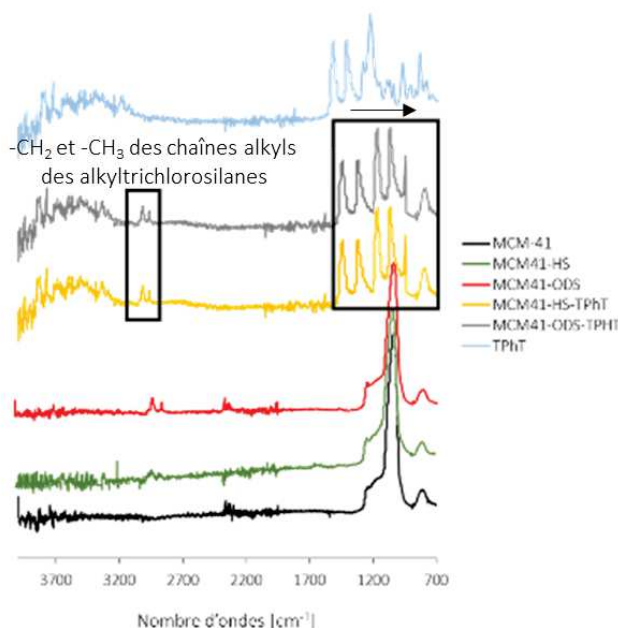
Ces différentes caractérisations nous ont permis de mettre en évidence le confinement de la Tryp-C₆-Tryp au sein du MCM-41 préalablement modifié. Les valeurs obtenues en analyses BET semblent montrer que ce confinement est plus important dans le cas de l'équivalent monofonctionnel (Tryp-C₆). Mais dans les deux cas, il est plus élevé pour une longueur de chaîne alkyl courte. Les analyses effectuées en DRX semblent elles montrer que le composé Tryp-C₆-Tryp possède une structuration différente lorsqu'il est dans un état confiné. De plus, en fonction de la nature de l'alkyltrichlorosilane utilisé

cette structuration n'est pas la même. Le type de modification hydrophobe joue donc un rôle sur le confinement de ce composé.

III.2.A.2.c. Caractérisation du matériau mésoporeux après confinement de T-Ph-T

III.2.A.2.c.1. Caractérisation par spectroscopie infrarouge du confinement de la T-Ph-T

Nous pouvons observer que le spectre FTIR (en jaune et en bleu) du matériau après confinement présente de nouvelles bandes vibrationnelles qui sont caractéristiques de la T-Ph-T, dans les zones comprises entre 700 cm^{-1} à 1700 cm^{-1} . (Graphe III.7). Ceci suppose que le confinement du composé a bien lieu. De plus, nous pouvons voir que ce confinement se fait aussi bien avec le matériau préalablement modifié par l'hexyltrichlorosilane qu'avec celui modifié par l'octadécyltrichlorosilane. Ici, les intensités des pics caractéristiques des $-\text{CH}_2$ et $-\text{CH}_3$ (2842 cm^{-1} à 2920 cm^{-1}) des chaînes alkyles sont les mêmes pour les matériaux MCM41-HS et MCM4-ODS. De plus, nous pouvons observer un déplacement des bandes de vibrations vers des fréquences plus faibles lorsque le T-Ph-T est confiné. Ceci suppose que de nouvelles interactions ont lieu lorsque le composé d'intérêt est inséré sein du pore. Ainsi, ce phénomène appuie l'hypothèse que le confinement de ce composé est bien réalisé.

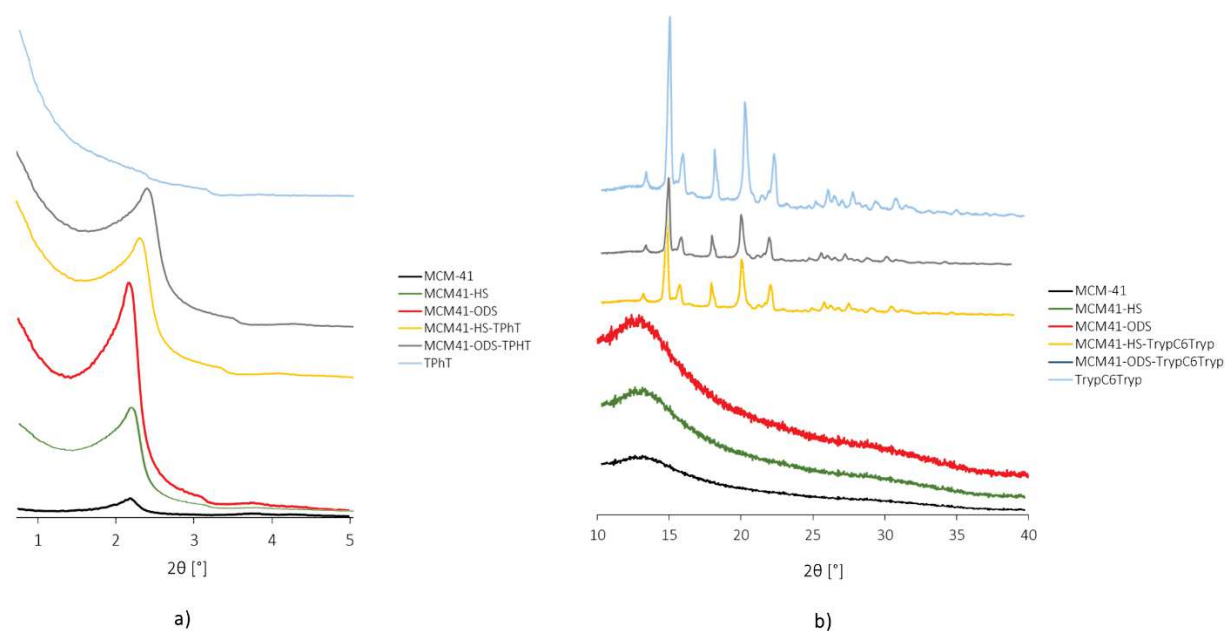


Graph 3.7 : Superposition des spectres FTIR (Absorbance=f(Nombre d'ondes) du MCM-41 avant et après confinement de la T-Pb-T (HS : hexyltrichlorosilane, ODS : octadécyltrichlorosilane).

III.2.A.2.c.2. Caractérisation par diffraction des rayons X du confinement de la T-Pb-T

Nous observons qu'aux petits angles, le confinement du composé ne modifie pas la structure hexagonale de la matrice hôte mésoporeuse. Aucune variation du pic situé à $2\theta=2,11$ n'est en effet observé (Graph 3.8.a)).

L'étude aux grands angles semble confirmer les hypothèses émises lors de l'étude effectuée en IR. Tout d'abord, nous pouvons voir que le diffractogramme du matériau, après confinement, possède certains pics caractéristiques du composé confiné (Graph 3.8.b)). Ce confinement semble être le même pour les deux types de matrices hôtes car l'intensité des pics est la même pour les deux types de modifications.



Graphie III.8 : Superposition des diffractogrammes ($Intensité = f(2\theta)$) du MCM-41 avant et après confinement de T-Pb-T aux petits (a) et grands angles (b) (HS : hexyltrichlorosilane, ODS : octadécyltrichlorosilane).

III.2.A.2.c.3. Caractérisation par analyse d'absorption-désorption d'azote du confinement de la T-Pb-T

Le confinement du T-Ph-T est confirmé par les analyses d'absorption-désorption d'azote. Nous observons en effet une diminution de la surface spécifique, du volume des pores et du taux de remplissage lors de l'étape de confinement (Tableau III.5). La nature de la modification hydrophobe ne semble pas, dans le cas de ce composé, avoir une influence sur son confinement au sein du matériau mésoporeux. En effet, les valeurs du taux de remplissage obtenues avec les deux types de matériaux modifiés sont similaires.

Tableau III.5 : Evolution des valeurs des S_{BET} , des V_{BET} et du taux de remplissages lors du confinement de la T-Ph-T (HS : hexyltrichlorosilane, ODS : octadécyltrichlorosilane).

	S_{BET} [$\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$]	V_{BET} [$\text{cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$]	Taux de remplissage [%]
MCM41	910	0,99	0
MCM41-HS	700	0,78	23
MCM41-HS-TPhT	320	0,35	65
MCM41-ODS	590	0,65	35
MCM41-ODS-TPhT	410	0,44	55

Ces caractérisations nous ont permises de mettre en évidence le confinement de la T-Ph-T au sein du MCM-41 préalablement modifié. La nature de la modification hydrophobe ne semble jouer aucun rôle sur ce confinement. Le confinement de ce composé est plus important que celui observé dans les deux cas précédents (Tryp-C₆ et Tryp-C₆-Tryp).

III.2.A.3. Conclusion

Ces différentes études nous ont permis de confirmer que le confinement de nos composés au sein d'une matrice mésostructurée préalablement modifiée est possible. Dans le cas des composés Tryp-C₆ et Tryp-C₆-Tryp, ce confinement semble être dépendant de la nature de la modification hydrophobe apportée préalablement sur le matériau.

Comme nous l'avons vu dans la partie précédente, les composés que nous venons d'étudier présente la capacité de former des canaux ioniques, des canaux protoniques et des canaux d'eau au sein d'une bicouche lipidique. L'utilisation de ces composés peut donc être envisagée pour la formation de nouveaux matériaux membranaires fonctionnalisés permettant par exemple la sélectivité cationique dans le cas de la Tryp-C₆ ou le transport de proton dans le cas du T-Ph-T (Voir chapitre II.2.A).

III.2.B. Elaboration des membranes

La membrane commerciale, utilisée pour l'élaboration de nos matériaux hybrides, ne possédant pas la porosité voulue (hexagonale, $\varnothing_{\text{pores}}=40\text{\AA}$), il est nécessaire d'introduire au sein de ses pores, le matériau mésostructuré de type MCM-41. Ceci est réalisé en trois étapes :

- synthèse de la solution « précurseur » par procédé sol-gel ;
- imprégnation des pores de la membrane par aspiration modérée sous vide ;
- calcination de la membrane pour éliminer le tensioactif.

II.2.B.1. Synthèse de la solution « précurseur »

Pour la synthèse de la solution « précurseur », l'alcoxyde de silicium utilisé est le TEOS. Le bromure d'hexaméthyléthylammonium (CTAB) est utilisé comme tensioactif. La synthèse sol-gel se fait dans une solution alcoolique à base d'éthanol en milieu acide (catalyse acide). Le mode opératoire suivi est décrit ci-après ¹¹⁵(Figure III.5).

¹¹⁵ A. Yamaguchi, F. Uego, T. Yoda, T. Uchida, Y. Tanamura, T. Yamashita, N. Teramae, *Self-assembly of a silica-surfactant nanocomposite in a porous alumina membrane*, Nature Mat., **2004**, 3, 337-341

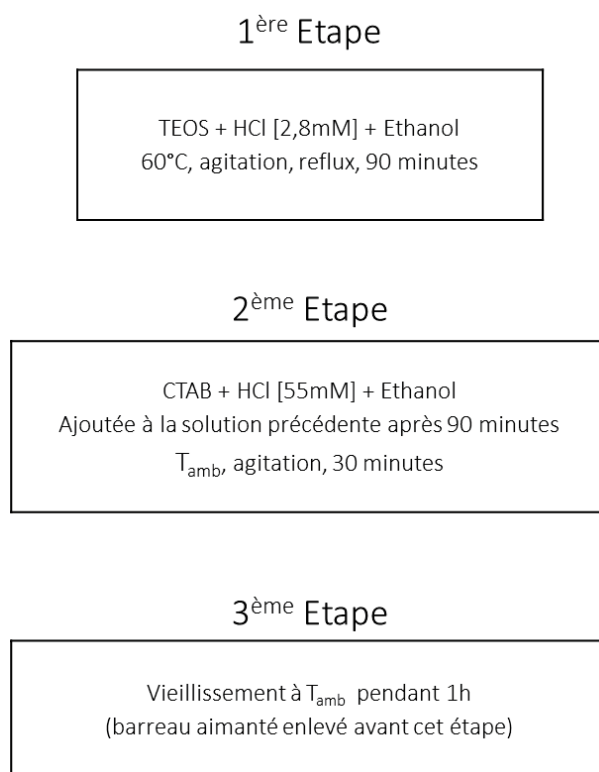


Figure III.5 : Représentation schématique des différentes étapes de la synthèse de la solution précurseur.

II.2.B.2. Imprégnation des pores de la membrane

Dans un bécher, contenant un support métallique, 25 mL de solution précurseur sont introduits. La membrane AAO est y est ensuite ajouté délicatement. Après immersion totale de la membrane, le bécher est placé pendant 15 minutes dans un bain à ultrasons afin de chasser l'air contenu dans les pores de la membrane. Le bécher est enfin mis sous une sorbonne pour permettre l'imprégnation qui s'effectue ainsi par aspiration sous vide modéré pendant 2h. La membrane AAO est ensuite lavée plusieurs fois à l'éthanol pour éliminer les restes de silice. Il est important de veiller à ce que l'évaporation de la solution « précurseur » ne soit pas totale afin d'éviter la formation du gel à la surface de la membrane rendant ainsi son lavage difficile. La membrane est ensuite analysée en microscopie électronique à balayage (MEB). Les clichés obtenus de la membrane avant et après imprégnation confirme que ce dernier a bien lieu car nous observons la présence de nanotubes (Figure III.6). De plus l'imprégnation se fait de façon homogène.

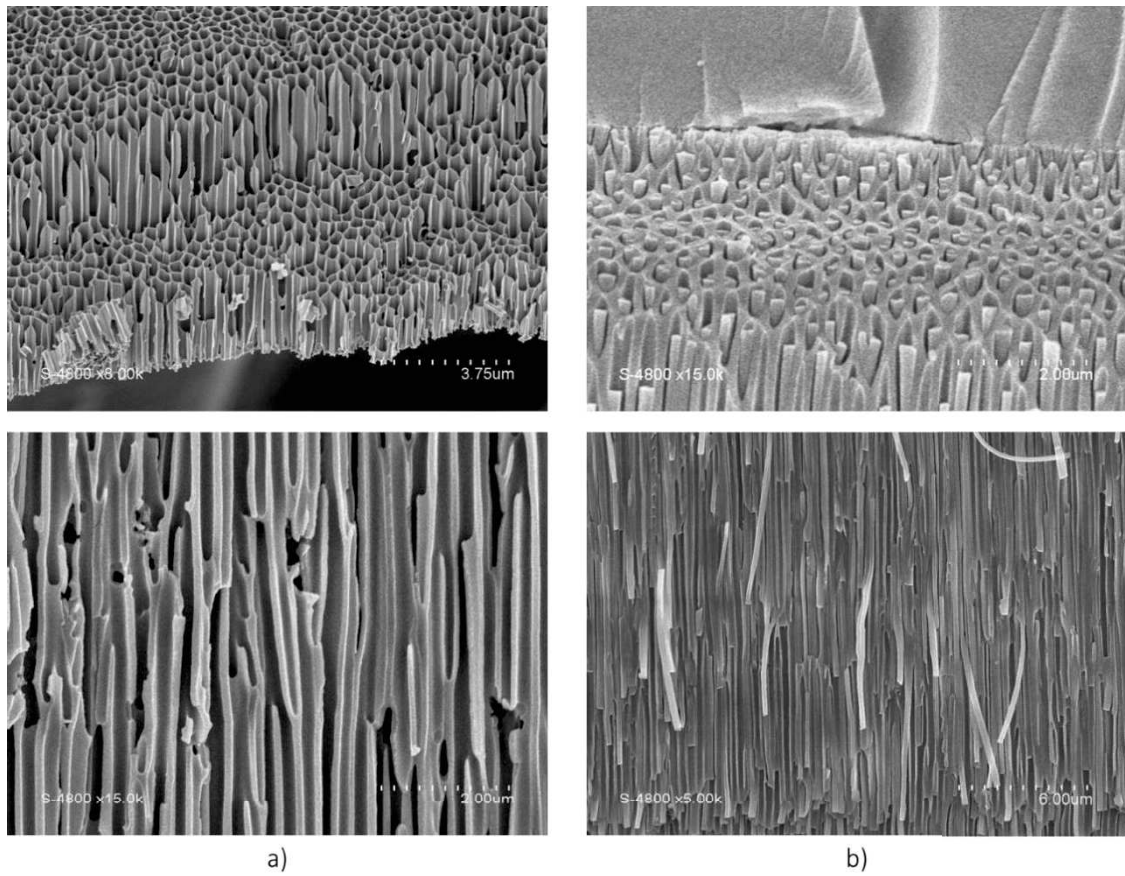


Figure III.6 : Clichés MEB de la surface et de la section de la membrane AAO avant (a) et après imprégnation (b).

II.2.B.3. Elimination du surfactant

L'élimination du tensioactif (CTAB) se fait par calcination thermique en suivant le cycle décrit ci-après. (Figure III. 7).

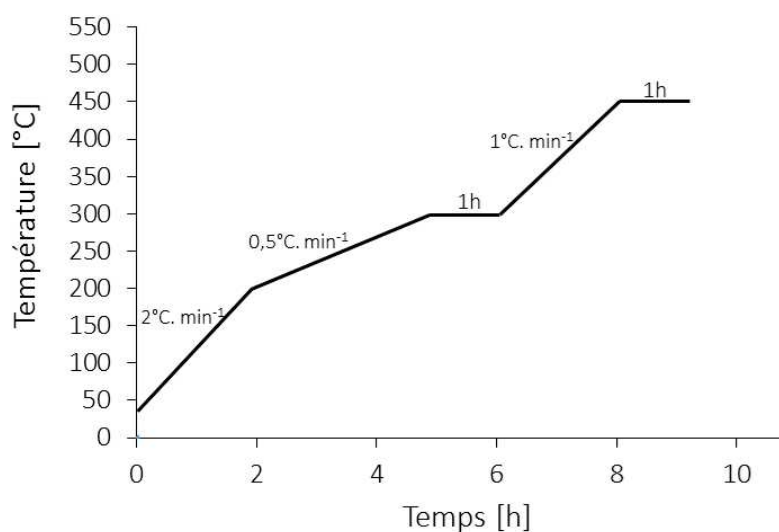
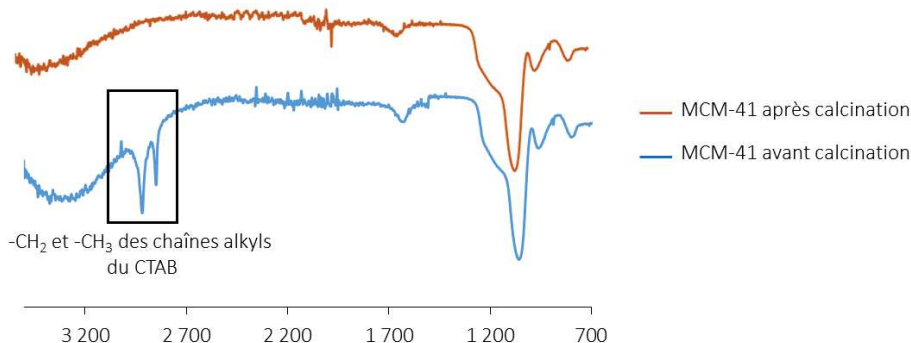


Figure III.7 : Cycle thermique utilisé lors de l'étape de calcination.

L'élimination du tensioactif CTAB est confirmée par des analyses d'un échantillon témoin de poudre de MCM-41 avant et après le traitement thermique. L'échantillon témoin correspond à une poudre de MCM-41 qui a été synthétisée selon la méthode de Vahid et *al.*¹¹⁶.

Avant la calcination du matériau mésostructuré, nous observons la présence des bandes de vibrations caractéristiques des chaînes aliphatiques du CTAB (2800-2900 cm⁻¹) (Graphe III.9). Ces dernières disparaissent après avoir effectué le cycle thermique décrit précédemment. Nous pouvons donc conclure que l'élimination du tensioactif au sein des pores du MCM-41 a bien lieu.

¹¹⁶ M. Teymouri, A. Samadi-Maybodi, A. Vahid, *A rapid method for the synthesis of highly ordered MCM-41*, Int. Nano. Lett, **2011**, 1, 34-37



Graphie III.2 : Superposition des spectres FTIR (Absorbance=f(Nombre d'ondes)) de l'échantillon témoin MCM-41 avant et après calcination.

III.2.B.4. Création du milieu hydrophobe et fonctionnalisation de la membrane.

Ces étapes sont effectuées dans les mêmes conditions employées pour le matériau MCM-41. Mais dans ce cas, le vide appliqué doit être plus important que précédemment pour permettre une insertion satisfaisante des alkyltrichlorosilane et des différents composés.

Pour confirmer le remplissage des pores après chaque étape, nous effectuons des analyses par absorption-désorption d'azote sur des échantillons de membranes préalablement broyées. Ces analyses confirment que la fonctionnalisation hydrophobe ainsi que le confinement des composés ont bien lieu. En effet, après chacune de ces étapes nous pouvons observer une diminution des valeurs de la surface spécifique, du volume des pores et du taux de remplissage (Tableau III.6). Les valeurs présentées concernent les matériaux mésoporeux modifiés par l'hexyltrichlorosilane (HS).

Tableau III.6 : Evolution des valeurs des S_{BET} , des V_{BET} et du taux de remplissages au cours des différentes étapes pour les matériaux membranaires modifiés par l'hexyltrichlorosilane (HS).

	S_{BET} [$\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$]	V_{BET} [$\text{cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$]	Taux de remplissage [%]
AAO	1000	1	0
AAO-MCM41	980	0,97	2
AAO-MCM41-HS	725	0,75	28
AAO-MCM41-HS- Tryp-C ₆	405	0,42	60
AAO-MCM41-HS- Tryp-C ₆ -Tryp	500	0,48	50
AAO-MCM41-HS- T-Ph-T	350	0,36	65

Avec les taux de remplissage obtenus après l'étape de confinement, nous sommes en possession de nanomatériaux membranaires fonctionnalisés qui seront étudiés lors de travaux concernant le transport sélectif d'espèces chimiques.

III.3. Conclusion

Dans cette partie, nous nous sommes intéressés à l'élaboration de nanomatériaux membranaires fonctionnalisés pour le transport sélectif d'espèces chimiques. La préparation de ces matériaux comporte plusieurs étapes, dont celle de la création d'un environnement lipophile et celle du confinement des composés étudiés en spectroscopie de fluorescence (Voir Partie II).

Afin de valider ces deux étapes, des études préalables ont été effectués sur une poudre commerciale mésostructurée de type MCM-41. Pour cela, les différents matériaux ont été caractérisés par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR), par diffraction des Rayons X sur poudre, et par analyses BET.

Les résultats obtenus confirment que le confinement des composés a bien lieu au sein de la matrice hôte. Cependant, il peut être dépendant de l'environnement lipophile greffé au préalable sur les parois des pores du matériau. En effet, dans le cas des composés à base de tryptamine, le confinement est plus important pour des systèmes comportant des chaînes alkyls courtes. De plus, dans le cas du composé difonctionnel, nous avons pu observer une structuration différente lorsque ce dernier est inséré au sein de la matrice hydrophobe.

Les composés ont ensuite été confinés au sein d'une membrane commerciale AAO. La structure des pores de ces membranes n'étant pas celle souhaitée, nous y avons incorporé un matériau mésostructuré, de type MCM-41, par procédé sol-gel. Le matériau obtenu est ensuite modifié par création de l'environnement hydrophobe. Les composés y sont ensuite confinés. Les analyses par absorption-désorption d'azote nous ont permis de confirmer l'obtention de nanomatériaux membranaires fonctionnalisés.

Situés à l'interface entre les membranes liquides et les membranes solides, les matériaux obtenus constituent une nouvelle configuration de matériaux membranaires. Le confinement se faisant par interactions hydrophobes, les composés se trouvent dans un milieu « fluide » rappelant celui de la membrane cellulaire dans le modèle de la mosaïque fluide. Cet état, combiné aux différentes propriétés des composés et notamment à leurs capacités de transport, induisent une dynamique intrinsèque de la membrane. Ainsi, dans de prochaines études, ces systèmes seront testés dans des processus de transport sélectifs d'espèces ioniques.

-Partie IV-

Matériaux membranaires pour le transport dirigé d'eau

Pour répondre aux questions pressantes concernant la raréfaction de l'eau et dans le but de s'affranchir des procédés à fort coût énergétique comme l'osmose inverse, plusieurs technologies telles que la distillation membranaire ou l'osmose directe ont été développées pour la purification et le dessalement de l'eau¹¹⁷. L'insertion de nanoparticules et d'éléments biologiques au sein des membranes est pressentie comme un réel avantage pour améliorer les performances de ces différents procédés¹¹⁸. Au cours de ces dernières décennies, un grand intérêt a notamment été apporté à l'insertion de protéines transmembranaires appelées Aquaporines dans des systèmes membranaires¹¹⁸. Cependant, l'obtention de membranes avec une forte densité de protéines insérées, ainsi que la production aux plus grandes échelles restent des défis importants.

L'objectif de ce travail est l'élaboration de matériaux membranaires à base de systèmes artificiels mimant les Aquaporines naturelles. L'intérêt d'un tel travail est de créer un transport directionnel au sein d'une matrice polymérique fonctionnalisée contenant des pores sélectifs pour le transport de l'eau. Ces matériaux sont constitués de précurseurs à base de polymères qui s'auto-assemblent *via* un motif d'auto-association. Les chaînes hydrocarbonées du polymère possèdent à chacune de leurs extrémités un groupement polaire. Dans cette configuration un transport dirigé est envisagé. En effet, les chaînes alkyls possédant un caractère hydrophobe, le transport d'eau se fera préférentiellement vers les groupements polaires (Figure IV.1). Ceux-ci sont constitués par un composé moléculaire à base d'imidazole qui a été précédemment étudié au sein de notre équipe pour sa capacité à s'auto-assembler en Imidazole-quartets, et dont les canaux d'eau présentent un potentiel transmembranaire au niveau supramoléculaire¹¹⁹.

¹¹⁷ C.Y. Tang, Y. Zhao, R. Wang, C. Hélix-Nielsen, A.G. Fane, *Desalination by biomimetic aquaporin membranes : Review of statut and prospects*, Desalination, **2013**, 308, 34-40

¹¹⁸ Y. Zhao, C. Qiu, Xuesong Li, A. Vararattanavech, W. Shen, J. Torres, Claus. Hélix-Nielsen, R. Wng, W. Hu, A.G. Fane, C.Y. Tang, *Synthesis of robust and high-performance aquaporin-based biomimetic membranes by interfacial polymeization-membrane preparation and RO performance characterization*, Journal of membrane science, **2012**, 423-428

¹¹⁹Y. Le Duc, M. Michau, A. Gilles, V. Gence, Y-M. Legrand, A. van der Lee, S. Tingry, M. Barboiu, *Imidazole-Quartet Water and Proton Dipolar Channels*, Angewandte Chemie, **2011**, 50(48), 11366–11372

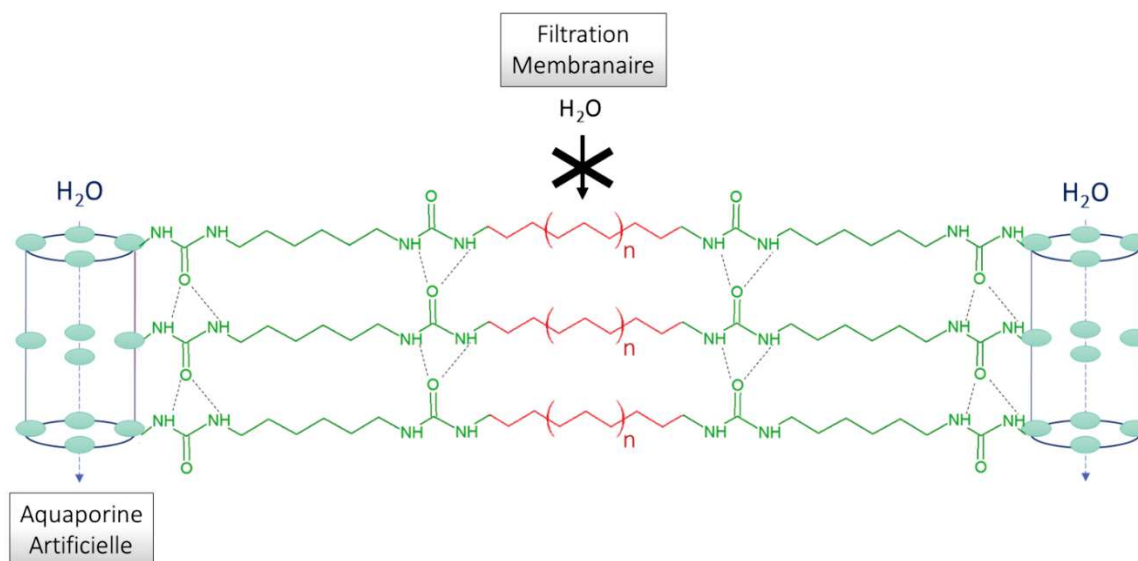


Figure IV.1 : Représentation schématique du principe des matériaux membranaires à Aquaporines artificielles élaborés au cours de nos travaux.

Cette dernière partie se déroulera comme suit. Dans un premier chapitre qui constitue la synthèse bibliographique, les notions de base concernant les Aquaporines et la filtration membranaire seront présentées pour une meilleure compréhension de l'étude. Dans un second chapitre, l'élaboration de nos matériaux ainsi que les différents résultats obtenus seront ensuite développés.

IV.1. Synthèse bibliographique

IV.1.A. Les Aquaporines

L'eau est le constituant majoritaire pour tous les organismes vivants. Chez l'homme, elle représente 80% de la masse corporelle. Tout comme le transport d'ions au travers de la membrane cellulaire, le transport d'eau est indispensable au bon fonctionnement des cellules. Elle est en perpétuel mouvement et se déplace d'une cellule à l'autre¹²⁰. Pendant de nombreuses

¹²⁰ P. Agre, *Aquaporine water channels*, 2004, 43(33), 4278-490

années, il a été supposé que le transport d'eau à travers la membrane cellulaire se faisait uniquement par diffusion passive¹²¹. Cependant, les valeurs élevées de perméabilité hydrique observées pour certaines membranes, suggéraient la présence de pores spécifiques à l'eau. Mais l'existence de tels pores a fait débat durant de nombreuses années¹²². Ces controverses ont pris fin avec la découverte du transporteur de l'eau des globules rouges, l'Aquaporine 1¹²³. Une nouvelle classe de protéine intégrale venait d'être identifiée, les Aquaporines¹²⁴. Ces dernières forment des pores hautement sélectifs perméables aux molécules d'eau dans les membranes biologiques. Elles sont essentielles à l'activité d'organes tel que le rein, et sont impliquées dans de nombreuses fonctions biologiques. Cette découverte a été permise grâce aux travaux de Peter Agre en 1992, et lui value le prix Nobel de chimie en 2003¹²⁵. Depuis, plus de 200 Aquaporines ont été découvertes tous organismes confondus¹²⁶.

La structure des Aquaporines et plus particulièrement celle de l'Aquaporine 1 a fait l'objet de nombreuses études. Toutes possèdent une structure commune, à savoir une structure tétramérique. Chaque monomère délimite un pore individuel¹²⁷. Un monomère se compose d'un polypeptide comportant 6 hélices transmembranaires reliées par cinq boucles extramembranaires (A à E). La boucle B et la boucle E sont suffisamment hydrophobes pour pénétrer au sein de la

¹²¹ J. Cerdà, N.F. Roderick, *Piscine aquaporins : an overview of recent advances*, Journal of experimental zoology, **2010**, 313A, 623-650

¹²² P. Agre, D. Kozono, *Aquaporin water channels: molecular mechanisms for human diseases*, FEBS Letters, 2003, 555(1), 72–78

¹²³ G. Soveral, C. Pristat, T.F. Moura, M.C. Loureiro-Dias, *Yeast water channels : an overview of orthodox aquaporins*, Biol. Cell, **2011**, 34-54

¹²⁴ P. Agre, B.L. Smith, G.M. Preston, *ABH and Colton blood group antigens on aquaporin-1, the human red cell water channel protein*, Transfusion clinique et biologique : journal de la Société française de transfusion sanguine, **1995**, 2(4), 303–8

¹²⁵ P.S. Zhong, T-S. Chung, K. Jeyaseelan, A. Armugam, A, *Aquaporin-embedded biomimetic membranes for nanofiltration*, Journal of Membrane Science, **2012**, 407-408, 27–33

¹²⁶ N. Roudier, *Caractérisation structurale et fonctionnelle de l'aquaglycéroporine AQP3 exprimée dans divers systèmes*, Université de Paris-Sud, **2000**

¹²⁷ C-X. Zhao, H-B. Shao, L-Y. Chu, *Aquaporin structure-function relationships: water flow through plant living cells*, Colloids and surfaces. B, Biointerfaces, 2008, 62(2), 163–72

bicouche lipidique. Elles sont chacune constituées d'un motif NPA (N pour asparagine, P pour proline et A pour alanine)¹²⁸(Figure IV.2).

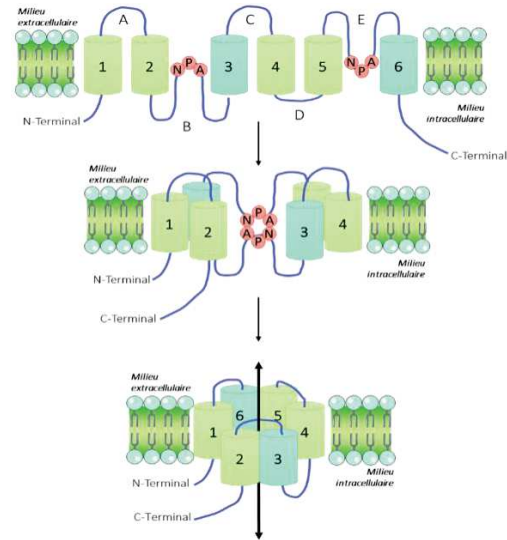


Figure IV.2 : Représentation schématique de la formation d'un canal d'eau formé par les Aquaporines¹²⁸.

Les deux motifs NPA qui forment un "sablier", permettent le passage sélectif des molécules d'eau. Le diamètre du rétrécissement étant de 3,8 Å, les molécules d'eau sont transportées en file unique et toute molécule significativement plus grosse est exclue du canal¹²⁹ (Figure IV.3).

¹²⁸ P. Agre, L.S. King, M. Yasui, W.B. Guggino, O.P. Ottersen, Y. Fujiyoshi, A. Engel, S. Nielsen, *Aquaporin water channels - from atomic structure to clinical medicine*, Journal of physiology, **2004**, 542(1), 3-16

¹²⁹ A.S. Verkman, A.K. Mitra, *Structure and function of aquaporin water channels*, American journal of physiology. Renal physiology, **2000**, 278(1), 13-28

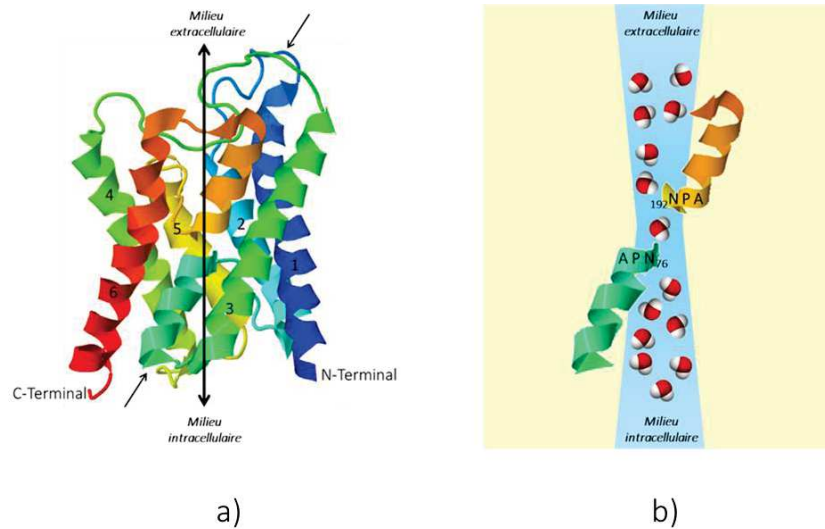


Figure IV.3 : Structure cristalline de l'Aquaporine 1 (a); Représentation schématique du passage de l'eau (b)¹²⁹.

Les représentations moléculaires des Aquaporines permettent de bien appréhender le concept de canal moléculaire qui se traduit par la création de chemins de transport directionnel et préférentiel. Tout comme pour ce système, nos membranes possèdent certaines caractéristiques pour la formation de zones de transport préférentielles au sein d'une matrice polymérique. Ces membranes seront testées par la suite en filtration membranaire.

IV.1.B. Présentation générale de la filtration membranaire¹³⁰

Les techniques de filtration membranaire fonctionnent soit¹³¹ :

- sous l'action d'un gradient de pression de part et d'autre d'une membrane « permsélective » (barrière qui permet ou non certains transferts de matière entre deux milieux qu'elle sépare). On parle alors de filtrations baro-membranaires (Figure IV.4.a) ;

¹³⁰ P. Aimar, P. Bacchin, A. Maurel, *Filtration membranaire (OI, NF, UF, MFT)*, Dossier Techniques de l'ingénieur, 2010, J2789

¹³¹ J.L. Humphrey, G.E. Keller II, *Procédés de séparation-Techniques, sélection, dimensionnement*, Dunod, 2001

- sous l'action d'un gradient de potentiel chimique qui est fonction de la concentration et du type des espèces en solution. Il s'agit de filtrations dites de dialyse (Figure IV.4.b)).

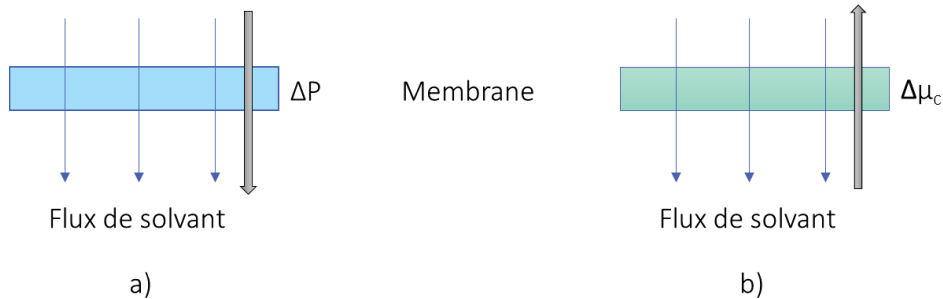


Figure IV.4 : Représentation schématique des procédés de filtrations baro-membranaires (a), et des filtrations de dialyse (b)¹³¹.

Les membranes peuvent être utilisées en filtration selon deux modes de fonctionnements :

- la filtration tangentielle (cross flow) ;
- la filtration frontale (dead end).

Ces modes sont très importants et correspondent à deux technologies et deux approches complètement différentes de la filtration.

IV.2.B.1. La filtration tangentielle

En filtration tangentielle, le fluide circule parallèlement à la surface de la membrane créant ainsi un gradient de cisaillement. Ceci a pour conséquence de limiter l'accumulation de matière (phénomène de colmatage). La filtration tangentielle est souvent utilisée en industrie car elle permet de travailler, une fois que le régime est établi (entre quelques minutes et quelques heures), avec un flux de perméation à peu près constant. Elle implique par contre des coûts importants.

IV.2.B.2. La filtration frontale

La filtration frontale est la plus simple à mettre en œuvre et également la moins onéreuse. Elle a pour principe de filtrer la solution perpendiculairement à la surface de la membrane. L'inconvénient de cette technique est l'accumulation de matière qui est retenue à la surface de la membrane. La filtration frontale est une technique qui nécessite un faible investissement, et des coûts énergétiques de fonctionnement qui sont faibles par rapport à la filtration tangentielle. Cette technique est notamment utilisée en traitement de l'eau pour sa potabilisation. C'est d'ailleurs ce mode de fonctionnement qui a été utilisé au cours de nos travaux.

L'objectif de l'utilisateur d'un procédé membranaire est double : assurer une productivité (perméation) maximale pour minimiser les coûts de fonctionnement tout en ayant une efficacité (sélectivité) répondant aux contraintes fixées. La perméation et la sélectivité du procédé sont donc à la base de l'optimisation des procédés membranaires. Une membrane de filtration peut donc être caractérisée vis-à-vis d'un fluide à traiter par sa perméabilité et sa sélectivité.

IV.2. Résultats et discussions

IV.2.A. Elaboration des matériaux membranaires

L'élaboration des matériaux présentés dans ce chapitre repose sur l'auto-assemblage de précurseurs à base de polymère dont la synthèse est développée ci-après.

IV.2.A.1. Les précurseurs

Les précurseurs qui constituent les briques élémentaires de nos matériaux membranaires sont constitués de trois parties distinctes (Figure IV.5) :

- une partie hydrophobe constituée par un polymère ;
- un motif d'auto-assemblage ;
- une partie hydrophile qui se trouve à chaque extrémité.

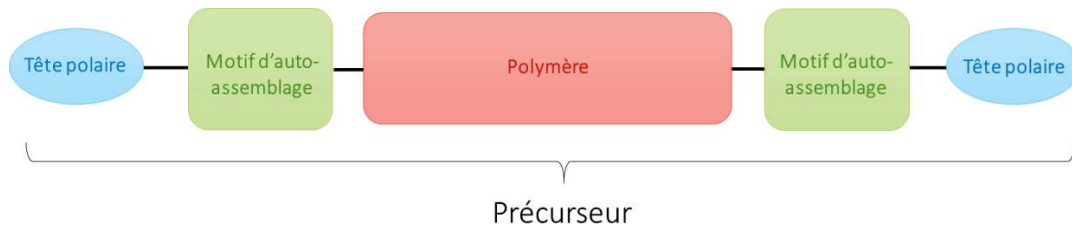


Figure IV.5 : Représentation schématique de la configuration des précurseurs qui constituent le matériau.

Les différents produits servant à la synthèse du précurseur sont choisis selon des critères spécifiques.

NH₂

IV.2.A.1.a. Choix des produits de départ

IV.2.A.1.a.1. Nature du polymère

Les polymères utilisés au cours de ces travaux sont des polymères commerciaux. La longueur des chaînes alkyles qui les composent est responsable de la zone hydrophobe. De plus, ces polymères possèdent à leurs extrémités des fonctions amines (Figure IV.6). Celles-ci vont réagir avec une fonction isocyanate par une réaction de couplage et permettent ainsi la formation de motifs urée. Nous avons choisis un polymère linéaire (Jeffamine[®] D-2000) et un polymère ramifié (Jeffamine[®]T-3000) afin d'étudier l'influence du degré de ramification sur les propriétés physiques de nos matériaux.

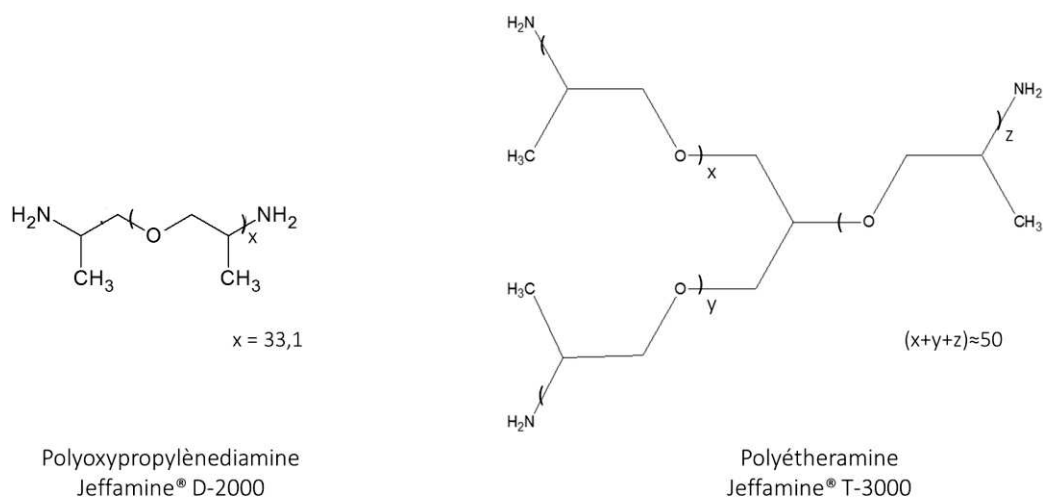


Figure IV.6 : Structures des polymères (Représentation plane).

IV.2.A.1.a.2. Nature du motif d'auto-assemblage

Le motif d'auto-assemblage est composé de la fonction urée -HN-CO-NH-. Ce dernier constitue le groupement d'importance au sein de la structure des homopolymères. Ces motifs présentent certaines propriétés intéressantes pour nos matériaux.

Tout d'abord, il va jouer le rôle d'agent pilotant l'auto-assemblage et dirigeant la structure. Le motif urée est d'ailleurs l'un des plus utilisées pour contrôler la structure d'architectures supramoléculaires et/ou permettre la formation d'organogels. Ces unités vont permettre d'assembler entre eux les précurseurs de base par des liaisons hydrogène. Cette auto-association doit permettre la création d'une organisation à longue distance sous forme de rubans linéaires ou hélicoïdaux^{132,133}. De tels assemblages peuvent alors conduire à la formation d'organogels supramoléculaires en solvants organiques. En effet l'auto-association a pour conséquence directe la formation d'un système dynamique en solution, où chaque unité élémentaire se retrouve en interaction directe avec les composés adjacents et ce d'autant plus que la concentration est élevée.

¹³²J. van Esch, S. De Feyter, R.M. Kellogg, F. De Schryver, B.L. Feringa, *Self-Assembly of Bisurea Compounds in Organic Solvents and on Solid Substrates* *Chemistry, A European Journal*, **1997**, 3(8), 1238-1243

¹³³F. S. Schoonbeek, J.H. van Esch, R. Hulst, R. M. Kellogg, B. L. Feringa, *Geminal Bis-ureas as Gelators for Organic Solvents: Gelation Properties and Structural Studies in Solution and in the Gel State* *Chemistry, A European Journal*, **2000**, 6(14), 2633-2643

Une autre caractéristique structurale importante, dictée par le motif urée, est la possibilité que les précurseurs adoptent en solution ainsi qu'à l'état solide, deux types de conformations de type parallèle ou antiparallèle. En effet dans notre groupe, ces configurations ont été observées à de nombreuses reprises dans des structures cristallographiques^{134,135}.

Une autre propriété apportée par les motifs urée, est le caractère hétéroditopique qu'ils fournissent aux composés complexant simultanément les cations et les anions. Par analyse cristallographique, une telle situation a déjà été mise en évidence au sein de notre groupe avec des transporteurs à base d'ureidoéther-couronnes. Ainsi en présence d'un sel (NaCl) deux éthers couronnes hétéroditopiques complexent simultanément au sein de leurs cavités l'ion sodium, et les motifs urée permettent de complexer le contre-ion chlorure. Il faut également envisager dans une telle situation que les fonctions carbonyle, se retrouvant « dégagées » sont libres du réseau hydrogène, pourraient également, au cours du transport et dans une moindre mesure, participer à la complexation de cations.

IV.2.A.1.a.3. Nature de l'extrémité polaire

Notre choix c'est porté sur le composé histamine. En effet, des études précédentes réalisées au sein de notre équipe ont montré que les cycles imidazoles qui constituent ce composé moléculaire sont capables de s'auto-assembler en quartet (I-Quartet) permettant la formation de canaux d'eau³. En absence d'eau, l'auto-assemblage se fait *via* les liaisons hydrogènes intermoléculaires CH \cdots N et NH \cdots N (Figure IV.7.a)). Le quartet est alors dans une configuration fermé. Dans sa configuration ouverte, c'est-à-dire en présence d'eau, l'auto-assemblage du quartet se fait *via* les interactions CH \cdots N, N \cdots HO, et NH \cdots O-H (Figure IV.7.b)).

¹³⁴M. Barboiu, *Supramolecular Polymeric Macrocyclic Receptors - Hybrid Carrier vs. Channel Transporters in Bulk Liquid Membranes*, J. Incl. Phenom. Mol Rec, **2004**, 49, 133-137

¹³⁵O. Villamo, C. Barboiu, M. Barboiu, W. Yau-Chun-Wan, N. Hovnanian, *Hybrid organic-inorganic membranes containing a fixed thio ether complexing agent for the facilitated transport of silver ions*, J. Memb. Sci., **2002**, 97-110

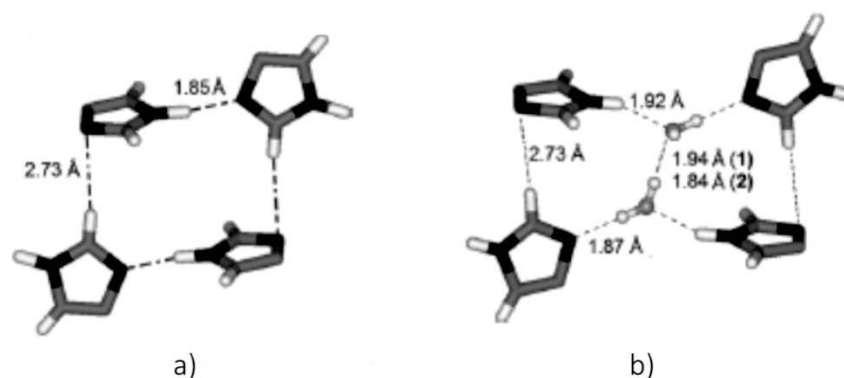


Figure IV.7 : Configuration du quartet en absence d'eau. L'auto-assemblage se fait via les liaisons hydrogènes intermoléculaires $\text{CH}\cdots\text{N}$ et $\text{NH}\cdots\text{N}$ (a) ; Configuration du quartet en présence d'eau. L'auto-assemblage se fait via les interactions $\text{CH}\cdots\text{N}$, $\text{N}\cdots\text{HO}$, et $\text{NH}\cdots\text{O-H}$ (En noir, les atomes d'azotes ; en gris les atomes de carbones, en gris clair, les atomes d'oxygènes et en blanc, les atomes d'hydrogènes).

Il a également été montré¹³⁶ que les canaux ioniques formés par auto-assemblage de ce composé ne permettent pas le transport de cations tels que le Na^+ ou le K^+ . En plus de faciliter le transport d'eau, le fait d'insérer des cycles imidazole peut donc apporter une certaine sélectivité aux nouveaux matériaux membranaires.

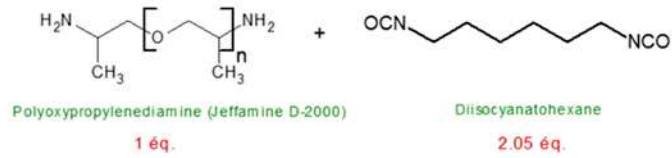
IV.2.A.1.b. Synthèse du précurseur

IV.2.A.1.b.1. Synthèse du précurseur à base de Jeffamine[®] D-2000 (H-Jeffamine[®] 2000-H)

La synthèse du précurseur H-Jeffamine[®] 2000-H se compose de deux étapes (Figure IV.8). La première étape se fait par réaction entre la Jeffamine[®] D-2000 et le diisocyanatohexane (1éq : 2.05éq) dans 30 mL de toluène, à la température de 120°C, sous agitation et à reflux. Après un temps de réaction de 20 heures, 2.05 équivalent d'histamine, solubilisée préalablement dans 10 mL d'acétonitrile à chaud, sont ajoutés au milieu réactionnel goutte à goutte. Après 5 heures de réaction, la solution est concentrée par évaporation. Une huile est obtenue (Figure IV.9).

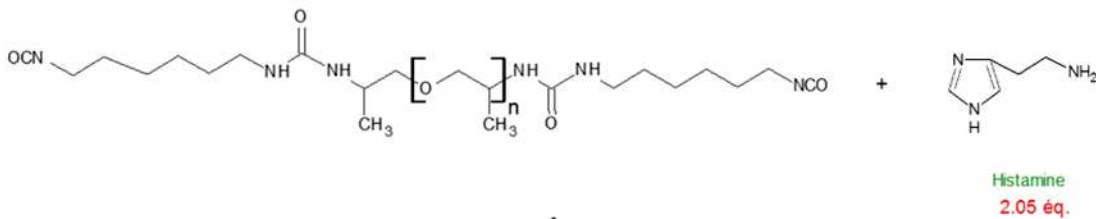
¹³⁶ Y. Le Duc, *Auto-assemblage supramoléculaire de canaux ioniques vers des matériaux membranaires et des capteurs électrochimiques macro-organisés*, Université de Montpellier II, 2010

1^{ère} étape : réaction de couplage entre les amines primaires et le diisocyanatohexane



Toluène
20h, 120°C
sous agitation, à reflux

2^{ème} étape : réaction de couplage entre la fonction isocyanate libre et l'amine primaire



Toluène
20h, 120°C
sous agitation, à reflux

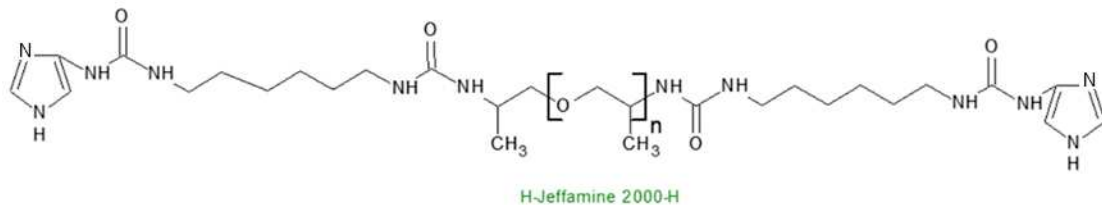


Figure IV.8 : Schéma réactionnel de la synthèse de l'H-Jeffamine[®] 2000-H.

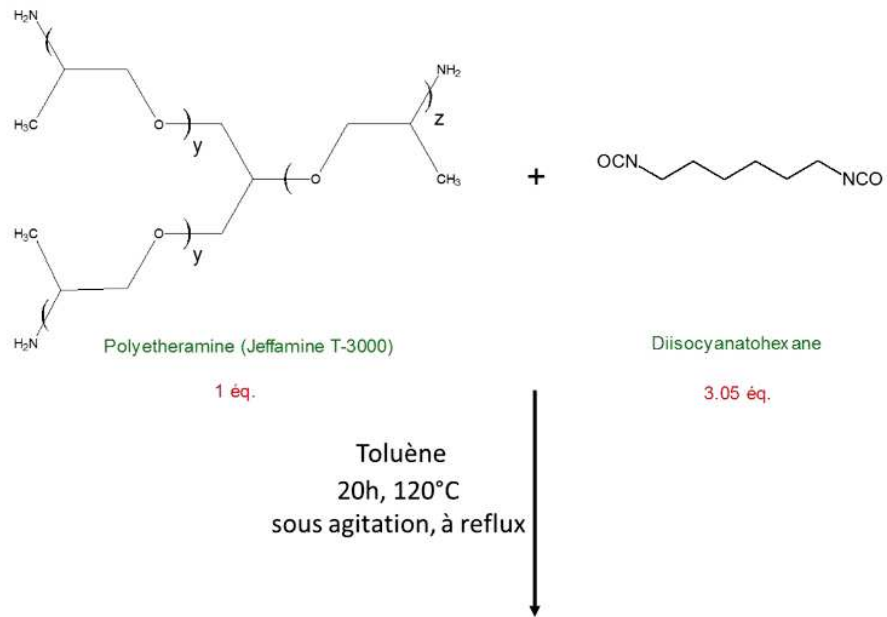


Figure IV.9 : Aspect physique du matériau obtenu à partir du précurseur H-Jeffamine[®] 2000-H.

IV.2.A.1.b.2. Synthèse du précurseur à base de Jeffamine[®] T-2000 (H-Jeffamine[®] 3000-H)

La synthèse du précurseur H-Jeffamine[®] 3000-H se compose également de deux étapes. La première étape se fait par réaction entre la Jeffamine[®] T-2000 et le diisocyanatohexane (1éq : 3.05éq) dans 30 mL de toluène, à la température de 120°C, sous agitation et à reflux. Après un temps de réaction de 20 heures, 3.05 équivalent d'histamine, solubilisée préalablement dans 10 mL d'acétonitrile à chaud, sont ajoutés au milieu réactionnel goutte à goutte (Figure IV.10). Après 5 heures de réaction, la solution est concentrée par évaporation. Une huile est ainsi obtenue (Figure IV.11).

1^{ère} étape : réaction de couplage entre les amines primaires et le diisocyanatohexane



2^{ème} étape : réaction de couplage entre la fonction isocyanate libre et l'amine primaire

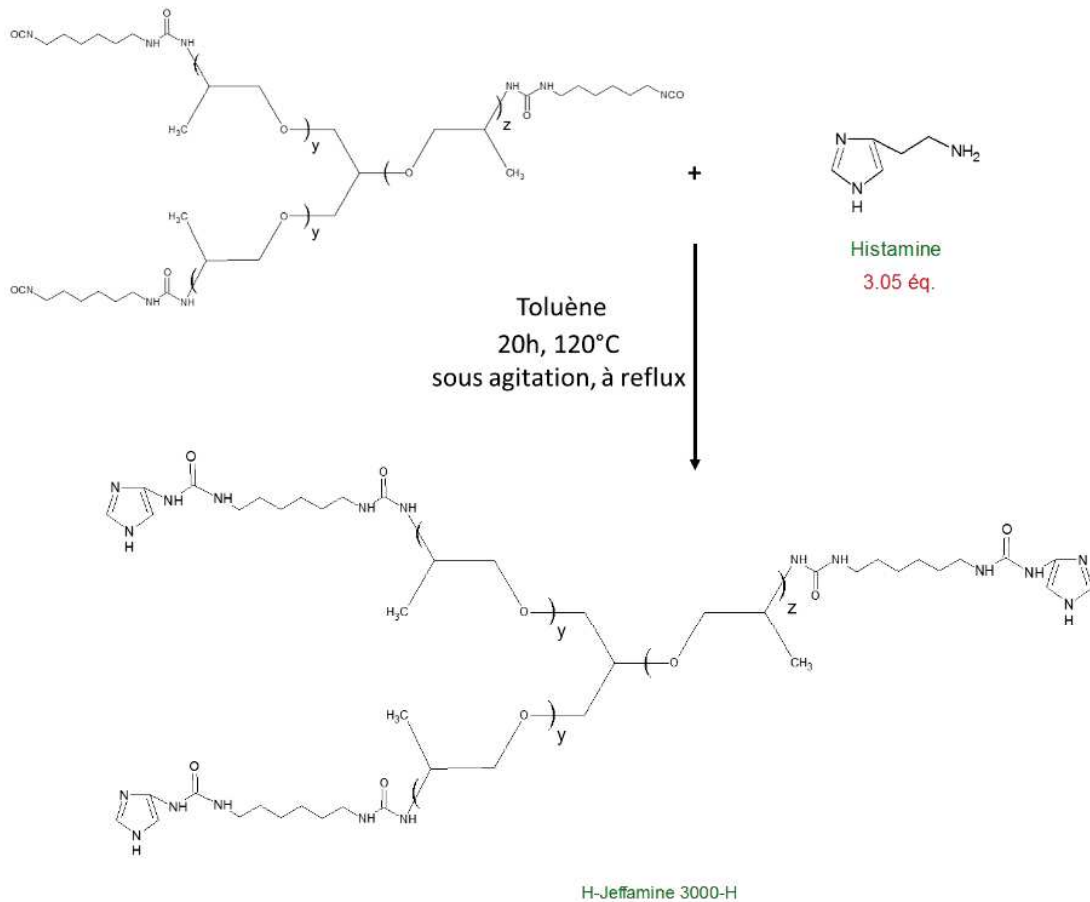


Figure IV.10 : Schéma réactionnel de la synthèse de l'H-Jeffamine[®]-H.

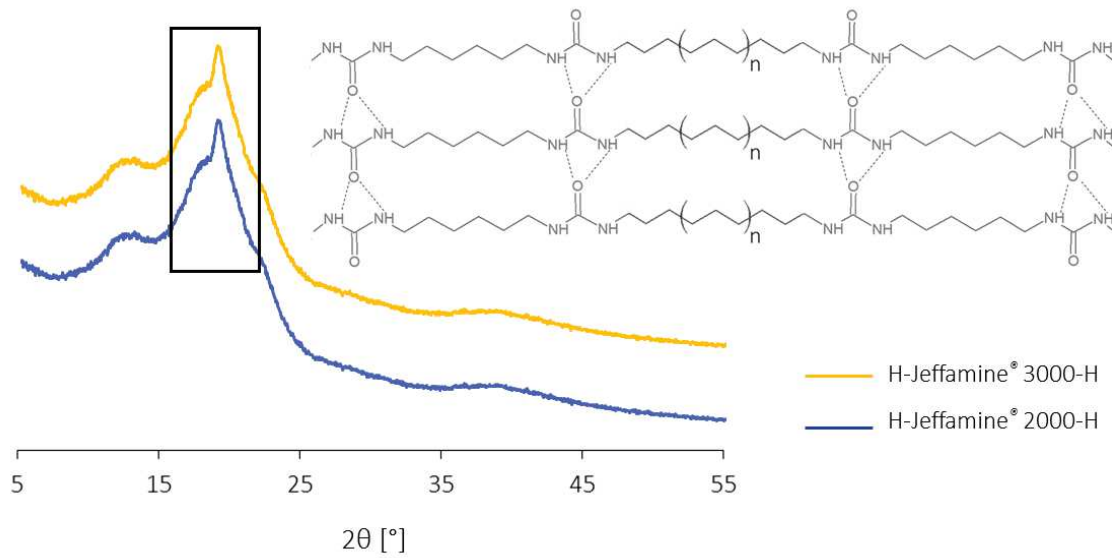


Figure IV.11 : Aspect physique du matériau obtenu à partir du précurseur H-Jeffamine® 3000-H.

IV.2.A.1.c. Caractérisations des précurseurs

IV.2.A.1.c.1. Caractérisation par diffraction des rayons-X

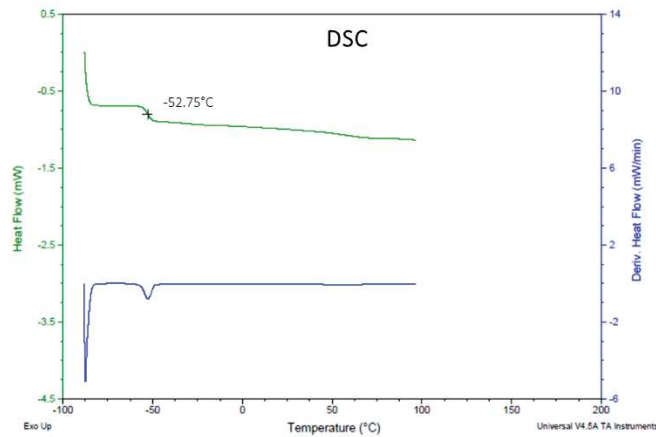
Des aperçus structuraux concernant la morphologie des matériaux obtenus ont été obtenus par diffraction des rayons-X (Graphe IV.1). Nous pouvons observer que dans les deux cas, un large pic de diffraction à $2\theta = 18-22^\circ$. Ce pic est caractéristique de l'empilement parallèle des chaînes de polymères par des liaisons hydrogènes présentant une proximité par contact étroit de van der Waals.



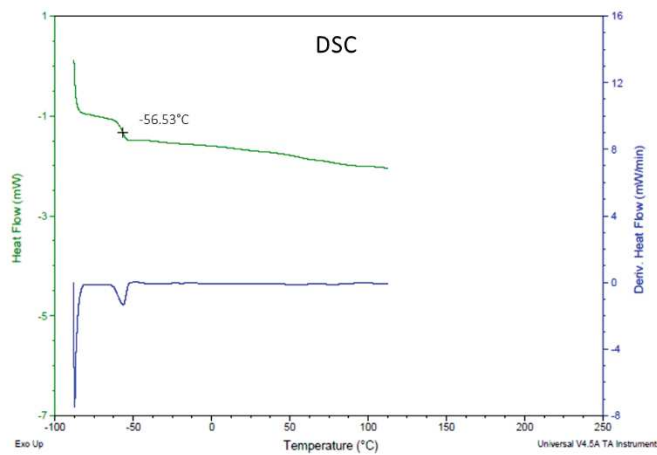
Graphie IV.1 : Superposition des diffractogrammes (Intensité = $f(2\theta)$) des deux précurseurs.

IV.2.A.1.c.2. Caractérisation par analyses thermiques : ATG (Thermogravimetric Analysis)-DSC (Differential Scanning Calorimetry)

Une analyse thermogravimétrique ATG est tout d'abord effectuée afin de déterminer la température de dégradation des différents précurseurs. Une analyse DSC est ensuite réalisée à des températures inférieures à celle de la dégradation du produit afin de déterminer notamment la température de transition vitreuse des matériaux.



a)



b)

Graph IV.2 : Thermogrammes de l'H-Jeffamine[®] 2000-H (a), et de l'H-Jeffamine[®] 3000-H (b).

Les températures de transition vitreuse pour nos deux précurseurs sont négatives (Graphe IV.2). Ceci montre que les chaînes polymériques se trouvent dans un état désordonné qui a également observé par diffraction des rayons X (état amorphe). De plus, les températures de transition vitreuse des deux précurseurs sont très similaires. Le degré de ramification ne semble pas influencer les valeurs de la transition vitreuse.

IV.2.A.2. Mise en forme des matériaux

Les membranes ont été obtenues à partir d'une solution méthanolique à 10 mg.mL^{-1} de chaque précurseur. Cette solution a été étalée sur des supports microporeux en polyfluorure de vinylidène (Millipore[®], $\text{Ø}_{\text{pores}} = 0,25 \text{ }\mu\text{m}$). Pour cela, nous avons utilisé la technique de Tape-casting (Figure IV.12). Cette technique consiste à étaler un mélange plus ou moins visqueux par le biais d'une tige métallique calibrée pour une épaisseur de film donnée. L'étalement s'effectue à une faible vitesse afin de minimiser les forces de cisaillement qui nuiraient à la qualité du dépôt.

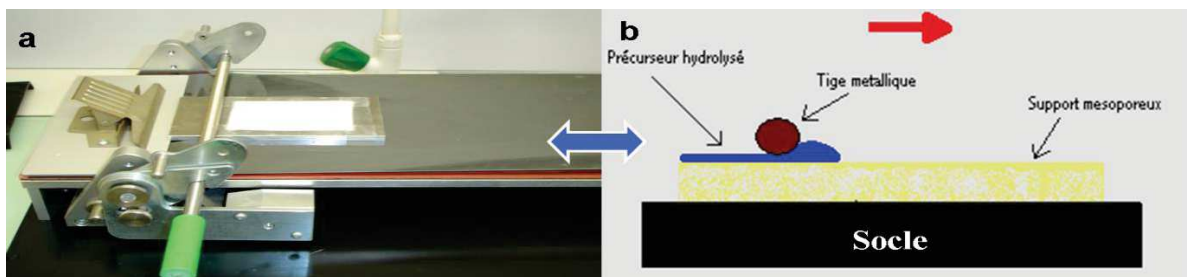


Figure IV.12 : Appareillage (a) et principe du dépôt en couche mince par Tape-casting (b).

Le matériau est ensuite mis à sécher pendant 1h à température ambiante puis 24h dans une étuve à 70°C . Les échantillons sont analysés par microscopie électronique à balayage (MEB) afin de définir la qualité du dépôt ainsi que son épaisseur. Les clichés obtenus en MEB montrent que l'épaisseur du film à base de H-Jeffamine[®] 3000-H possède (Figure IV.13.b)) une épaisseur deux fois plus importante que le film à base de H-Jeffamine[®] 2000-H (Figure IV.13.a)). Ceci peut s'expliquer par le fait que pour une concentration égale, la solution méthanolique à base de H-Jeffamine 3000[®]-H est plus visqueuse, d'où une épaisseur de dépôt plus importante. Nous pouvons aussi voir, que les couches membranaires sont denses et dépourvues de porosité. Les clichés réalisés à la surface des échantillons montrent une bonne homogénéité du dépôt.

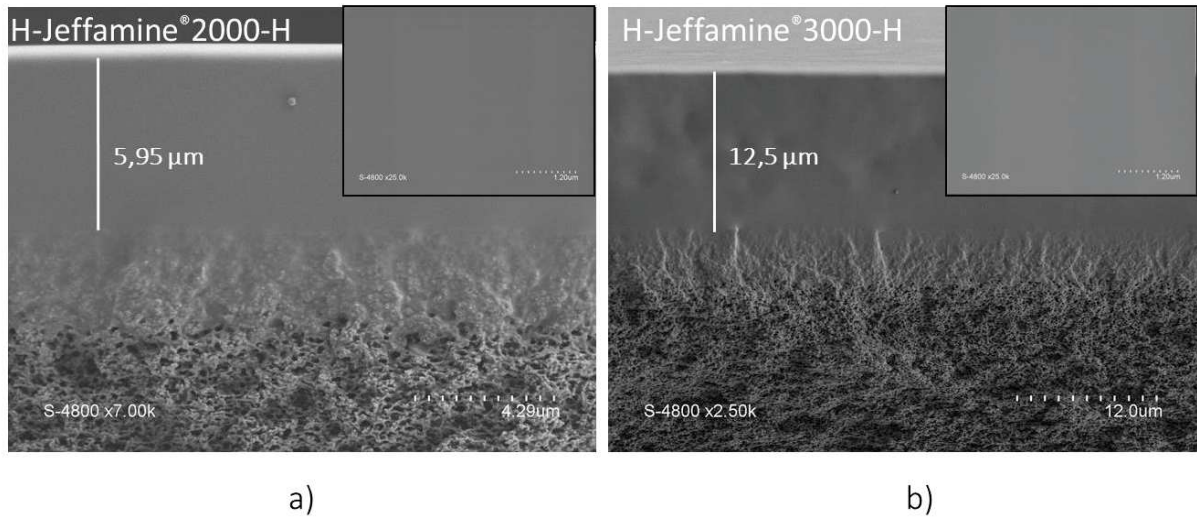


Figure IV.13 : Clichés MEB, de la section et de la surface de la membrane à base d'H-Jeffamine® 2000-H (a); de la section et de la surface des membranes à base d'H-Jeffamine® 3000-H.

IV.2.B. Etude de la filtration d'eau pure

IV.2.B.a. Dispositif et protocole

Cette étude consiste à déterminer le temps nécessaire pour qu'une masse définie d'eau soit filtrée au travers de la membrane à tester.

La filtration d'eau pure à travers les différentes membranes modifiées se fait à l'aide d'un dispositif de filtration appelé cellule Amicon® (Figure IV.14).

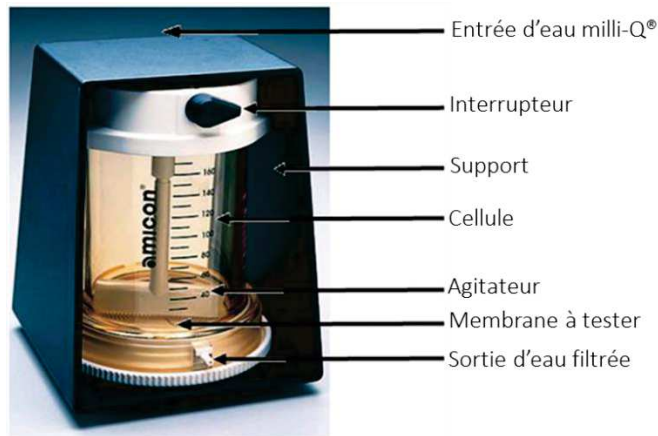


Figure 14 : Cellule de filtration frontale Amicon®.

La filtration de l'eau pure à travers la membrane support est tout d'abord réalisée afin de comparer les résultats avec ceux obtenus après la modification. Les mesures ont été faites après que les membranes aient été conditionnées préalablement 24 heures dans de l'eau milli-Q®. La surface active des membranes testées est de 14,15 cm².

IV.2.B.b. Résultats

Membrane testée	Flux à l'eau pure [cm ³ .cm ⁻² .s ⁻¹]
Blanc	1,3.10 ⁻⁴
H-Jeffamine® 2000-H	1.82.10 ⁻⁴
H-Jeffamine® 3000-H	1,9.10 ⁻⁴

Nous pouvons observer que lorsque le dépôt en couche minces des précurseurs est effectué, le flux à l'eau est légèrement modifié. En effet, nous pouvons voir que pour les membranes à base d'H-Jeffamine® 2000-H et d' d'H-Jeffamine® 3000-H cette valeur est plus importante.

Ceci laisse envisager que nos membranes permettent un transport facilité de l'eau.

IV.2.C. Etude de sélectivité

IV.2.C.a. Dispositif et protocole

Le dispositif utilisé pour les expériences de sélectivité a été conçu au laboratoire et peut être assimilé à un système de « dialyse » élémentaire. Il s'agit d'un montage relativement simple que nous appelons « cellule de diffusion ». La cellule est composée de deux compartiments creux en Téflon (50 mL) qui constituent les réservoirs pour la solution d'alimentation (phase source), et celle du perméat (phase réceptrice). Les compartiments sont séparés par la membrane ($S=5,32 \text{ cm}^2$) à étudier qui est placée entre deux joints afin de garantir son étanchéité de telle sorte à ce que la face contenant le dépôt se retrouve orientée vers le compartiment d'alimentation. Ce dernier contient une solution ionique d'une concentration totale de 0,1 M (NaCl, KCl). Le second compartiment contient quant à lui de l'eau milli-Q® (Figure IV.15).

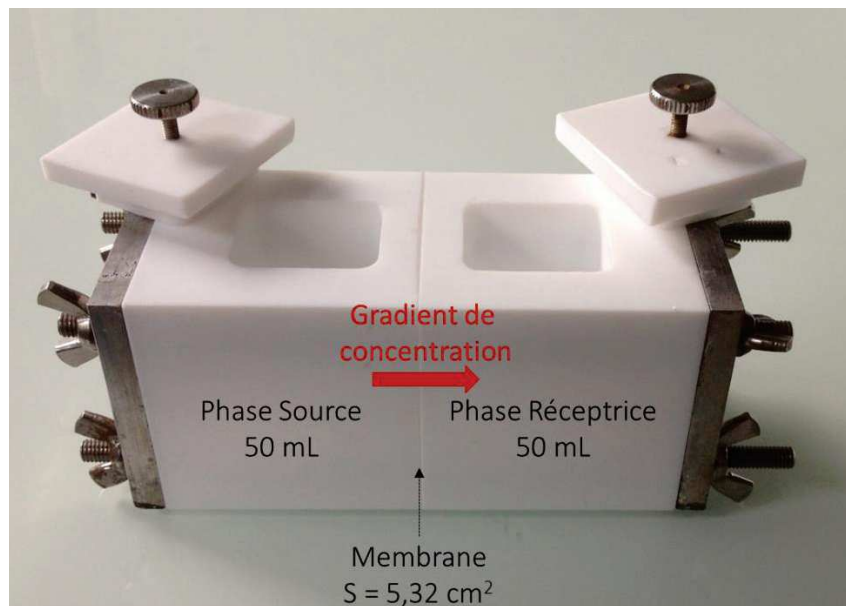


Figure IV.15 : Cellule de dialyse utilisée pour les expériences pour les études de sélectivité.

Le dispositif présente des ouvertures sur la partie supérieure de manière à effectuer des prélèvements de volume réduit (50 μl) et dont l'influence sur la concentration ne sera pas prise en

compte dans la modélisation de transport. Chaque prélèvement a été dilué puis leur concentration en ions a été déterminée en utilisant la chromatographie ionique. Nous pouvons ainsi doser chaque échantillon, remonter pour chaque phase à l'évolution des concentrations ioniques en fonction du temps et tracer les courbes de transport correspondantes.

L'allure générale des courbes de transport caractéristiques obtenues soit dans le cas d'une diffusion simple (comportement linéaire) soit dans le cas d'un transport ou diffusion facilitée (allure courbée) est présenté ci-après (Figure IV.16). Pour un instant donné t , la quantité de matière ayant traversé la membrane pour une diffusion facilitée est supérieure à celle observée lors d'une diffusion simple (facteur de facilitation). Au début de la diffusion facilitée, un temps d'induction est observé (Time-lag). Ce dernier correspond à la durée nécessaire pour que les premiers solutés puissent traverser la membrane. La détermination expérimentale de ce paramètre permet de remonter au coefficient de diffusion d'un soluté dans un milieu membranaire.

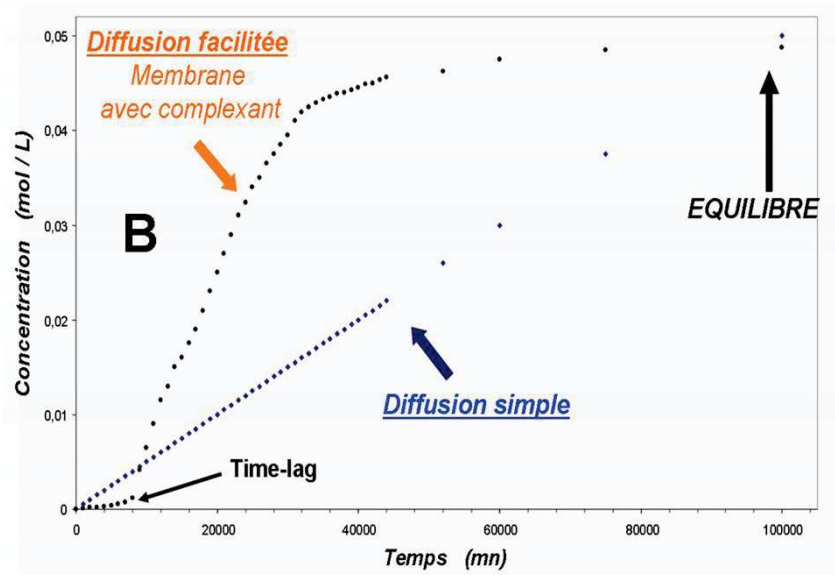


Figure IV.16 : Courbes caractéristiques de l'évolution dans le temps des concentrations en soluté dans la phase réceptrice (perméat) dans le cas d'un transport diffusif facilité ou simple.

IV.2.C.b. Détermination des différents paramètres du processus de transport

Des études de modélisation des profils de vitesse vont nous permettre de définir et d'extraire les paramètres importants comme la perméabilité et les coefficients de partition dans la membrane^{137,138}. Cela a pour objectif d'apporter une meilleure compréhension des mécanismes ainsi que de quantifier les paramètres du transport pour ce genre de membranes. Cette partie s'appuie sur le modèle de solution-diffusion et repose sur des paramètres thermodynamiques du transport.

Si nous nous plaçons du point de vue de la thermodynamique des processus irréversibles les flux d'espèces sont induits par un gradient de potentiel électrochimique. Le potentiel électrochimique généralisé $\tilde{\mu}_k$ d'une espèce k est donné par

$$\tilde{\mu}_k = \mu_k^o + RT \ln a_k + z_k F \Phi + \bar{V}_k P \quad (\text{IV.1})$$

où μ_k^o est le potentiel chimique standard, a_k l'activité de l'espèce, z_k sa valence, Φ le potentiel électrique, \bar{V}_k le volume molaire, P la pression hydrostatique. Nous appelons force motrice X_k le gradient de potentiel électrochimique qui s'écrit comme suit :

$$X_k = \frac{d\mu_k}{dx} \quad (\text{IV.2})$$

Dans les expériences de diffusion que nous avons mises en place il n'y a aucune différence de potentiel, ni de différence de pression imposées entre les deux compartiments séparés par la membrane. Par ailleurs, les activités des solutés peuvent s'écrire $a_k = \gamma_k C_k$, où γ_k est le coefficient d'activité. Ainsi, si nous ne conservons que les termes liés aux concentrations dans le potentiel chimique, celui-ci se simplifie en

¹³⁷ M. Barboiu, C. Guizard, C. Luca, B. Albu, N. Hovnanian, J. Palmeri, *A new alternative to amino acids transport: facilitated transport of L-Phenylalanine by hybrid siloxane membranes containing a fixed site macrocyclic complexant*, J.Membr.Sci. , **1999**, 161-193

¹³⁸ M.Barboiu, C. Guizard, N. Hovnanian, J. Palmeri, C. Reibel, C. Luca, L. Cot, *Facilitated transport of organics of biological interest I. A new alternative for the amino acids separations by fixed-site crown-ether polysiloxane membranes*, J. Membrane Sci., **2000**, 172- 191

$$\tilde{\mu}_k = \mu_k^0 + RT \ln \gamma_k C_k \quad (\text{IV.3})$$

La densité molaire de flux J_k ($\text{mol.s}^{-1}.\text{m}^{-2}$) est proportionnelle à la force motrice selon

$$J_k = -L_k \frac{d\mu_k}{dx} \quad (\text{IV.4})$$

où L_k est un coefficient phénoménologique caractérisant le transport. En développant le gradient de potentiel électrochimique dans les conditions énoncées, il vient

$$J_k = -\frac{RTL_k}{C_k} \frac{dC_k}{dx} \quad (\text{IV.4})$$

Dans cette dernière relation, en identifiant le coefficient de diffusion de l'espèce k , D_k à

$$D_k = \frac{RTL_k}{C_k} \quad (\text{IV.5})$$

Nous retrouvons l'équation de diffusion de Fick.

Nous pouvons considérer que nous avons un profil de concentration dans la membrane quasi-linéaire en conditions stationnaires et on peut alors approcher la valeur du flux par

$$J_k = -D_k \frac{C_{k,a}^m - C_{k,p}^m}{e} \quad (\text{IV.6})$$

où $C_{k,a}^m$ et $C_{k,p}^m$ sont respectivement les concentrations du soluté dans la membrane à l'interface coté solution d'alimentation et coté solution de perméat.

Nous pouvons considérer que le transport à travers la membrane est l'étape limitant la valeur du flux et supposer comme il est classiquement fait que les concentrations de part et d'autres des interfaces sont liées par l'égalité de leur potentiel électrochimique. Dans ce cas, les concentrations sont liées par les relations suivantes (Nikolskii) traduisant le pseudo équilibre local

$$C_{k,a}^m = K_k^a C_{k,a} \text{ coté alimentation et}$$

$$C_{k,p}^m = K_k^p C_{k,p} \text{ coté perméat.}$$

Le flux peut donc être approché par :

$$J_k = \frac{D_k (K_k^a C_k^a - K_k^p C_k^p)}{e} \quad (\text{IV.7})$$

Nous en concluons que la vitesse du transport dépend donc du coefficient de diffusion dans le matériau, de l'épaisseur de la membrane, des constantes de partition aux interfaces, et particulièrement de la composition des solutions, donc de la concentration en soluté. L'équation de transport peut être simplifiée dans le cas d'une membrane homogène, et lorsque la solution d'alimentation et le perméat ont des compositions proches voire voisines :

$$J_k = \frac{-D_i * K_i * (C_i^a - C_i^p)}{e} = \frac{-P_i * (C_i^a - C_i^p)}{e} \quad (IV.8)$$

Cette dernière équation fait apparaître une grandeur caractéristique : la perméabilité P_i qui est le rapport du flux au gradient de concentration de part et d'autre de la membrane d'épaisseur e . Cette perméabilité est le produit d'un facteur cinétique (coefficient de diffusion) et d'un facteur thermodynamique sans dimension (constante de partition aux interfaces). Elle a donc la dimension d'un coefficient de diffusion ($m^2 \cdot s^{-1}$).

Dans le cas des membranes présentées dans ce travail, le traitement mathématique du transport et la modélisation des profils de vitesse suppose que les paramètres du transport ne varient pas dans le temps, c'est-à-dire que les membranes fonctionnent en régime pseudo-stationnaire. En effet, le rapport du volume de la membrane et celui du compartiment accueillant la solution (d'alimentation ou du perméat) est suffisamment petit pour formuler l'hypothèse que l'échelle de temps nécessaire à l'établissement d'un régime stationnaire dans la membrane (τ_m) est beaucoup plus petite que celle de la variation de concentration dans les solutions (τ_c). Cette hypothèse est justifiée par la faible épaisseur des couches étudiées (μm) et en supposant alors la mise en place d'un état quasi-stationnaire dans la membrane entre deux prélèvements successifs :

$$\tau_m = \frac{e^2}{D_m} \quad (IV.9)$$

$$\tau_c = \frac{\frac{V}{A} * e^2}{D_m} \quad (IV.10)$$

$$\frac{\tau_m}{\tau_c} = \frac{e}{\frac{V}{A}} \ll 1$$

D_m : coefficient de diffusion dans la membrane ; e : épaisseur de la membrane et a : longueur des compartiments (V : volume des compartiments = 50 cm³, A : surface active de la membrane = 5,32 cm² ; $\frac{V}{A} = 9,4$ cm).

Pour notre étude, les vitesses de transport sont principalement gouvernées par l'étape de diffusion dans la membrane (régime diffusionnel). La membrane est ainsi considérée comme une barrière semi-perméable qui oppose une certaine résistance au transport d'ions et qui n'emmagasine qu'une faible quantité de soluté si les réactions de complexation-décomplexations sont cinétiquement rapide. En reprenant les équations précédentes le transport en termes de flux à travers chaque interface peut alors s'écrire sous la forme :

$$-J_1 = \frac{V}{A} \frac{dC_i^a}{dt} = \frac{-D_i * [K_i^a * C_i^a - K_i^p * C_i^p]}{e} \quad (\text{IV.11})$$

$$J_2 = \frac{V}{A} \frac{dC_i^p}{dt} = \frac{D_i * [K_i^a * C_i^a - K_i^p * C_i^p]}{e}. \quad (\text{IV.12})$$

La densité de flux au travers de la membrane est alors simplifiée : $J_m \approx J_1 = J_2$ et en définissant les paramètres suivants :

$$\lambda = \frac{D_m * K_i^a}{V * e} \text{ et } \alpha = \frac{K_i^p}{K_i^a} \quad (\text{IV.13})$$

Nous obtenons :

$$\frac{dC_i^a}{dt} = -\frac{dC_i^p}{dt} = \lambda * \alpha * (C_i^p - C_i^a) \quad (\text{IV.14})$$

En résumé, dans notre étude, c'est l'étape de diffusion qui gouverne la vitesse de transport. Nous pouvons considérer que l'accumulation d'espèces à l'intérieur de la membrane est négligeable et que les cinétiques des réactions avec les sites complexant est rapide. Avec ces hypothèses nous pouvons montrer que l'évolution des concentrations dans la phase réceptrice est de la forme :

$$C_2(t) = C_i^p(t) = \frac{C_i^0}{1+\alpha} * [1 - e^{-\lambda(1+\alpha)t}] \quad (\text{IV.15})$$

Nous pouvons noter que :

- si $\alpha \rightarrow 0$, alors $K_i^p \ll K_i^a$ nous avons $C_2(t) \rightarrow C_1^0$
- si $\alpha \gg 1$ alors $K_i^p \gg K_i^a$, nous avons $C_2(t) \rightarrow 0$.

Afin de tenir compte du time-lag correspondant à l'établissement des flux transmembranaires quasi-stationnaires, nous avons rajouté à cette expression un temps caractéristique de décalage t_0 . Par ailleurs, comme cela est visible, un passage non négligeable d'espèces apparaît dans la période de time-lag. Cela pourrait être le signe d'un type de transport supplémentaire prenant place en parallèle du mécanisme principal. Pour en tenir compte, nous avons rajouté une variable d'ajustement correspondant à la concentration en espèces présentes à la fin du time-lag.

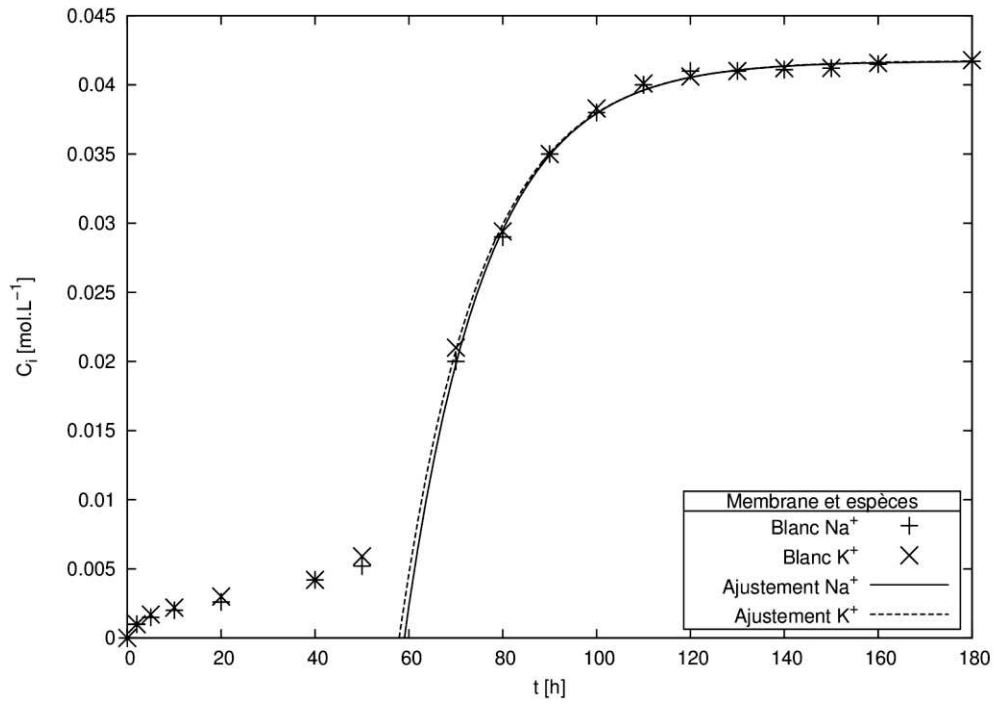
L'équation ainsi modifiée s'écrit

$$C_2(t) = C_i^p(t) = \frac{C_1^0}{1+\alpha} * [1 - e^{-\lambda(1+\alpha)(t-t_0)}] \quad (IV.16)$$

En se basant sur cette dernière équation, nous avons effectué une régression non-linéaire sur les données à l'aide de l'algorithme de Levenberg-Marquardt implémenté sur le logiciel Gnuplot. L'équation réellement ajustée est :

$$C(t) = a (1 - e^{-b(t-t_0)}) \quad (IV.17)$$

Comme nous pouvons le voir sur les courbes (Graphe IV.3, Graphe IV.4, Graphe.IV.5), cette relation rend bien compte du transport après la période transitoire du time-lag. Il reste bien évident que pour les temps inférieure à t_0 cette expression n'a plus de sens.



Graph IV.3 : Courbes expérimentales caractéristiques de l'évolution des concentrations du perméat et modélisation du transport pour la membrane support.

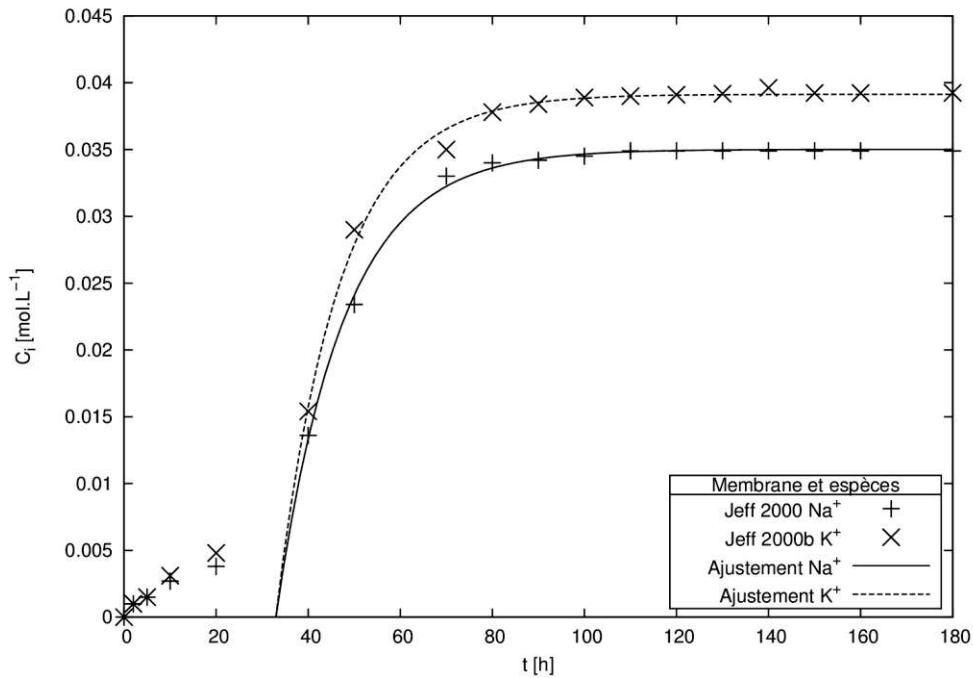


Figure IV.4 : Courbes expérimentales caractéristiques de l'évolution des concentrations du perméat et modélisation du transport pour la membrane à base de d'H-Jeffamine® 2000-H.

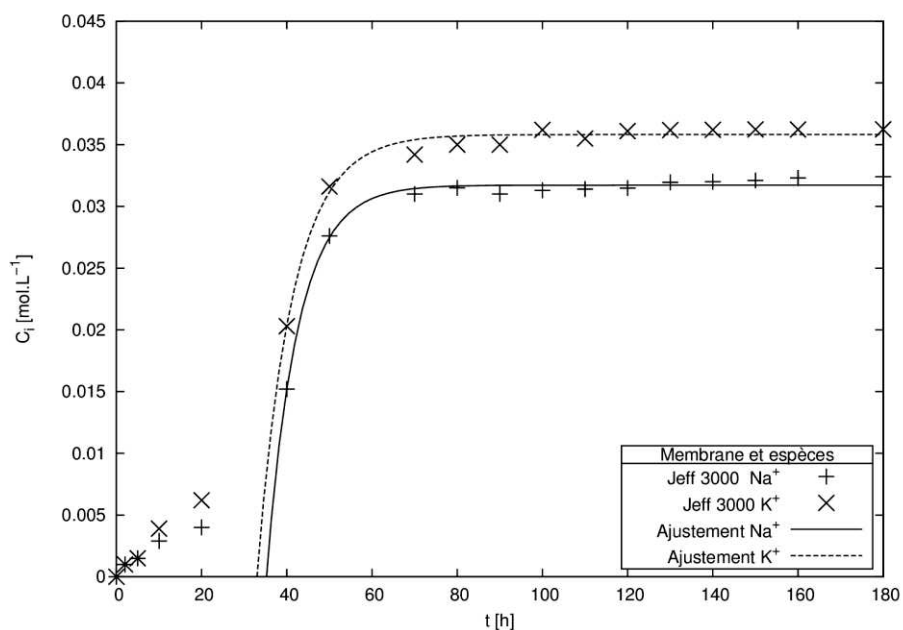


Figure IV.5 : Courbes expérimentales caractéristiques de l'évolution des concentrations du perméat et modélisation du transport pour la membrane à base de d'H-Jeffamine® 3000-H.

Ainsi, à l'aide des coefficients a, b, d et accessoirement t_0 , il est ainsi possible de remonter aux paramètres physico-chimiques du transport membranaire. Nous obtenons ainsi les valeurs présentées ci-après (Tableau IV.1)

Tableau IV.1 : Valeurs des paramètres de transport : flux $J(\text{cm}^3.\text{cm}^2.\text{s}^{-1})$, coefficient de partition α pour les solutés Na^+ et K^+ .

	J_{Na^+}	α_{Na^+}	J_{K^+}	α_{K^+}
Blanc	$2,3.10^{-6}$	1,4	$2,2.10^{-6}$	1,4
H-Jeffamine® 2000-H	$2,4.10^{-5}$	1,6	$1,6.10^{-5}$	1,9
H-Jeffamine® 3000-H	$5,6.10^{-5}$	1,8	$5,2.10^{-5}$	2,2

Nous pouvons observer que la membrane support assure un transport sans aucune sélectivité contrairement aux deux autres matériaux membranaires pour lesquelles nous remarquons des comportements différents au niveau de la sélectivité. En effet, les matériaux

membranaires qui présentent des allures de courbes de concentration similaires semblent assurer un transport facilité possédant une sélectivité vis-à-vis des ions Na^+ et K^+ . Dans les deux cas, nous observons un transport facilité pour le potassium au détriment du sodium. Ce résultat est étonnant, car ayant une taille inférieure à celle du potassium, l'ion sodium devrait mieux diffuser au travers des membranes. Or, dans les données expérimentales enregistrées nous remarquons que les ions $\text{K}(\text{H}_2\text{O})^+$ sont préférentiellement transportés. Ceci pourrait s'expliquer par les phénomènes de déshydratations qui sont mises en jeu lors du transport. En effet, la densité de charge positive est plus élevée pour les ions Na^+ diminuant ainsi sa diffusion dans un milieu hydrophile¹³⁹.

Nous pouvons également observé que pour un temps d'analyse égale, la concentration finale en ions pour nos matériaux membranaires est inférieure à celle de la membrane support. Si nous comparons les deux matériaux nous pouvons aussi remarquer que cette concentration est moins importante dans le cas du matériau élaboré à base de polymère ramifié (H-Jeffamine® 3000-H). Nos membranes retiennent les ions dans la phase d'alimentation. Ceci peut s'expliquer par la complexation des cations par les groupements carbonyles des chaînes alkyls des polymères. Mais nous pouvons aussi supposer que ce phénomène peut être également dû à la sélectivité des groupements imidazoles vis-à-vis des cations.

De plus, les résultats de perméabilité à l'eau pure combinés à ceux obtenus lors des tests de sélectivité laissent à penser que le transport des ions est accompagné d'un transport facilité de l'eau. En effet, les perméabilités aux ions observées deviennent de plus en plus importantes lorsque nous appliquons le dépôt en couche mince. Les groupements imidazoles dirigeant l'eau, les cations accompagnés de leur sphère d'hydratation seraient plus facilement transportés au travers de la membrane.

¹³⁹*Handbook of Chemistry and physics*, 76th Edition, David R. Lide ED, 1995-1996, 5-92

IV.3. Conclusion

L'objectif de cette étude a été l'élaboration de matériaux membranaires à base d'Aquaporines artificielles. Nous avons voulu obtenir un matériau permettant un transport dirigé d'eau au travers de la membrane. Pour cela nous avons synthétisés des précurseurs dont la structuration laisse envisager cette propriété. Ainsi, nos précurseurs possèdent une zone hydrophobe constitué par un polymère et relié à des extrémités polaires par le motif structural urée. Il a été montré par analyse en diffraction des rayons-X, que ce dernier permet l'auto-assemblage parallèle des chaînes alkyls du polymère. Les précurseurs ont ensuite été utilisés pour élaborer le matériau final en procédant à un leur dépôt en couche mince sur une membrane de filtration commerciale. Les clichés MEB nous montrent que les dépôts sont homogènes et que leurs épaisseurs sont de l'ordre du micromètre. Les matériaux membranaires ainsi élaborés et caractérisés ont été testés en filtration d'eau pure et par dialyse afin d'étudier leur sélectivité. Les résultats obtenus nous montrent que nos membranes semblent faciliter le transport de l'eau et qu'elles ne favorisent à priori pas le transport de cations.

Des recherches actuelles réalisées au sein de notre équipe, visent à étudier l'influence de la nature du composé moléculaire pouvant mimer les Aquaporines biologiques ainsi que la nature de l'espaceur hydrophobe.

Ainsi, la structuration que nous avons imposée à nos matériaux permet un dynamisme intérieur qui à son tour détermine l'organisation de la membrane selon la nature de l'environnement. Nos matériaux peuvent être considérés comme un bon exemple de membranes adaptatives vers les membranes biologiques.

-Partie V-

Conclusion Générale

Conclusion générale

L'objectif de ce travail a été l'élaboration de systèmes membranaires hautement structurés permettant un transport dirigé d'espèces chimiques. La réalisation de ces matériaux repose sur les concepts de la chimie supramoléculaire tel que l'auto-assemblage de briques élémentaires (moléculaires, polymériques) *via* des interactions faibles telles que les interactions de van der Waals ou les liaisons hydrogènes. Nous avons ainsi pu obtenir, à partir de l'auto-assemblage de nouveaux composés, différents systèmes membranaires bioinspirés destinés au transport ionique.

La synthèse de nouveaux composés bola-amphiphiles a tout d'abord été présentée. Des études effectuées par spectroscopie de fluorescence et par diffusion dynamique de la lumière ont permis de mettre en évidence leur capacité à former des canaux ioniques, des canaux protoniques et des canaux d'eau au sein d'une bicouche lipidique.

La troisième partie de ce manuscrit a été consacrée à l'élaboration de nanomatériaux membranaires mésoporeux. Ces derniers ont été fonctionnalisés par des groupements hydrophobes afin de permettre le confinement de composés au sein des mésopores *via* des interactions de van der Waals. Cette approche permet d'obtenir une configuration « fluide » proche de celle de la membrane cellulaire dans le modèle de la mosaïque fluide. L'élaboration de ces systèmes membranaires est réalisée en plusieurs étapes. La fonctionnalisation hydrophobe des mésopores ainsi que le confinement des composés moléculaires ont été suivis par spectroscopie infrarouge, par diffraction des rayons-X et par adsorption-désorption d'azote. Nous avons ainsi pu confirmer l'élaboration de nos matériaux, qui selon le composé confiné, présenteront des propriétés de transport différentes.

La quatrième partie à quant à elle été consacrée à l'élaboration de matériaux membranaires à base d'Aquaporines artificielles. Nous avons voulu obtenir un matériau permettant un transport dirigé d'eau au travers de la membrane. Pour cela des précurseurs à base de polymères et

possédant une structuration précise ont été synthétisés. Les matériaux membranaires ainsi élaborés ont été caractérisés et testés en filtration par dialyse afin d'étudier leur sélectivité. Différents études de transport semblent montrées que nos nouveaux matériaux semblent faciliter le transport de l'eau et ne facilitent à priori pas le transport des cations Na^+ et K^+ .

-Partie VI-

Partie Expérimentale

VI.1. Partie expérimentale : Elaboration de matériaux membranaires fonctionnalisés pour le transport sélectif d'espèces chimiques

Les produits utilisés

Les réactifs utilisés sont la tryptamine 98% (Aldrich), l'histamine $\geq 97\%$ (Sigma), le 3-amino-1, 2, 4-triazole $\geq 95\%$ (Sigma), l'hexyl isocyanate 97% (Aldrich), le 1,6 diisocyanatohexane 98% (Aldrich).

Les solvants de réactions utilisés sont l'acétonitrile (Carlo Erba), le N, N-diméthylacétamide (Sigma-Aldrich), l'éthylacétate (Carlo Erba), le tétrahydrofurane (Carlo Erba), le chloroforme (Carlo Erba). Ces solvants ont été utilisés sans purifications préalables.

Les techniques expérimentales

Résonance magnétique nucléaire (RMN)

Les analyses RMN ^1H et ^{13}C des différents produits synthétisés ont été réalisées sur un spectrophotomètre à transformée de Fourier Bruker Advance 300. Chaque signal est caractérisé par son déplacement chimique exprimé en ppm par rapport au signal du tétraméthylsilane (TMS) pris comme référence interne en RMN ^1H . Les solvants deutérés utilisés sont le CDCl_3 , le CD_3CN , et le DMSO-d_6 .

Spectroscopie de fluorescence

Les études de transport de cations et de protons ont été effectuées à l'aide d'un spectromètre de fluorescence Perkin-Elmer Nuclepore.

L'extrusion des vésicules a été réalisée en utilisant des membranes polycarbonate (taille de pore de $0.1\mu\text{m}$) de Whatman (Cat n°.800319).

Diffusion dynamique de la lumière (DLS)

Les études de transport d'eau ont été réalisées à l'aide d'un détecteur de diffusion de lumière Malvern Zetasizer Nano.

Toutes les mesures ont été effectuées à 25°C en utilisant de l'eau MilliQ.

Les modes opératoires détaillés

○ Synthèse de la Tryptamine-C₆ (Tryp-C₆)

L'hexyl isocyanate est pesé dans un ballon monocol de 50mL puis solubilisé dans 40mL d'acétonitrile. La tryptamine, préalablement pesée dans un pilulier (12mL) et dissoute dans 10mL d'acétonitrile, est ajoutée goutte à goutte au milieu réactionnel. Le ballon surmonté d'un réfrigérant à eau, est chauffé à 80°C sous agitation magnétique pendant 5h. En fin de réaction, l'acétonitrile est évaporée sous vide de trompe à eau. La poudre de couleur marron obtenue après évaporation du solvant est mise à sécher sous vide. Le rendement de la réaction est de 80%.

	M [g.mol ⁻¹]	d [g.mL ⁻¹]	V [mL]	m [g]	n [mmol]	Eq.
Tryptamine	160,22	-	-	0,5	3,12	1
C ₆ -NCO	127	0,873	0,432	0,377	3,3	1.05
Acétonitrile	41.05	0,8	50	-	-	

RMN ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz) : δ (ppm) = 0,868 (t, 3H, CH₂CH₃) ; 1,33 (s, 6H, CH₂CH₂CH₂CH₃) ; 2,09 (s, 2H, CH₂CH₂NH) ; 2,77 (t, 2H, NHCH₂) ; 2,96 (t, 2H, CH₂CH₂NH) ; 5,774 (q, 2H, NHCONH) ; 6,97 (t, 1H, CHCHC₆cycle) ; 7,06 (t, 1H, CHCHCHC₆cycle) ; 7,1 (s, 1H, CCHC₆cycle) ; 7,52 (d, 1H, CCHCHCHC₆cycle) ; 7,3 (d, 1H, CCHCNH₂cycle) 10,774 (s, 1H, NH₂cycle).

RX monocristal: cristaux obtenus dans du méthanol.

Crystal structure information:

```
=====
dan102 in Pccn 13-09-27
Formula C17 H25 N3 O1
Crystal Class orthorhombic Space Group P c c n
a 31.5269(16) alpha 90
b 12.4634(7) beta 90
c 8.5255(4) gamma 90
Volume 3349.9(3) Z 8
Radiation type Mo K\alpha Wavelength 0.710730
Dx 1.14 Mr 287.40
Mu 0.072 Temperature (K) 175
Size 0.00x 0.00x 0.00
Colour yellow Shape prism
Cell from 0 Reflections Theta range 0 to 0
Standard Interval 0 Standard Count 0
Diffractometer type psi-scan Scan type OMEGA
Absorption type psi-scan Transmission range 1.00 1.00
Reflections measured 10687 Independent reflections 3969
Rint 0.0009 Theta max 29.13
Hmin, Hmax -41 38
Kmin, Kmax -16 15
Lmin, Lmax -11 7

Refinement on F
R-factor 0.088 Weighted R-factor 0.041
Max shift/su 0.0062
Delta Rho min -0.55 Delta Rho max 0.53
Reflections used 1925 sigma(I) limit 0.00
Number of parameters 190 Goodness of fit 1.020
```

Synthèse de la Tryptamine-C₆-Tryptamine (TrypC₆Tryp).

Le 1, 6 diisocyanatohexane est pesé dans un ballon monocol de 50mL puis solubilisé dans 40mL d'acétonitrile. La tryptamine, préalablement pesée dans un pilulier (12 mL) et dissoute dans 10mL d'acétonitrile, est ajoutée goutte à goutte au milieu réactionnel. Le ballon surmonté d'un réfrigérant à eau, est chauffé à 80°C sous agitation magnétique pendant 5h. En fin de réaction, le précipité blanc formé est filtré puis séché sous vide. Le rendement de la réaction est de 60%.

	M [g.mol ⁻¹]	d [g.mL ⁻¹]	V [mL]	m [g]	n [mmol]	Eq.
Tryptamine	160,22	-	-	0,5	3,12	1.05
OCN-C ₆ -NCO	168,20	1,04	0,241	0,25	2,9	1
Acétonitrile	41.05	0,8	50	-	-	-

RMN ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz) : δ (ppm) = 1,3 (s, 8H, NHCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂NH) ; 2,78 (t, 4H, NHCH₂) ; 2,96 (t, 4H, CH₂CH₂NH) ; 5,8 (d, 4H, NHCONH) ; 6,97 (t, 2H, CHCHC₆H₄) ; 7,06 (t, 2H, CHCHCHC₆H₄) ; 7,12 (s, 2H, CCHC₆H₄) ; 7,32 (d, 2H, CCHCHCHC₆H₄) ; 7,50 (d, 2H, CCHCNH₂) 10,79 (s, 2H, NH₂).

Synthèse du Triazole-Phényle-Triazole (T-Ph-T)

Dans un bêcher de 50mL, 5ml d'éthylacétate, 10ml de N, N-diméthylacétamide et 10ml de tétrahydrofurane sont additionnés et mélangés. Ce mélange de solvants correspond à la composition optimale pour obtenir un milieu réactionnel homogène dans la synthèse du T-Ph-T.

Le 1, 3-Bis (1-isocyanato-1-propyle) benzène est pesé dans un ballon monocol de 50mL puis solubilisé dans 40mL du mélange préalablement préparé. Le 3-amino-1, 2, 4-triazole, pesé dans un pilulier (12 mL) est dissout dans 10 mL de ce même mélange. Cette solution est ensuite ajoutée goutte à goutte au milieu réactionnel. Le ballon surmonté d'un réfrigérant à eau, est chauffé à 120°C sous agitation magnétique. Après 15 minutes de réaction, 5mL d'acétonitrile est ajouté au milieu. Après 24h de réaction, la précipité obtenu est filtré et séché sous vide. Le rendement de la réaction est de 75%.

	M [g.mol ⁻¹]	d [g.mL ⁻¹]	V [mL]	m [g]	n [mmol]	Eq.
3-amino-1, 2, 4-triazole	84	-	-	0,5	5,9	1.05
1, 3-Bis (1-isocyanato-1-propyle) benzène	188,18	1,202	0,877	1,05	5,6	1
Ethylacétate	88,11	0,897	5	-	-	-
N, N-diméthylacétamide	73,09	0,94	10	-	-	-
Tétrahydrofurane	72,11	0,89	10	-	-	-
Acétonitrile	41	0,8	5	-	-	-

RMN ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz) : δ (ppm) =

RX monocristal: cristaux obtenus par diffusion lente de l'éther isopropylique dans l'acétonitrile.

Crystal structure information:

```
=====
val3 in P2/n 13-09-25
Formula C18 H24 N10 O2
Crystal Class monoclinic Space Group P 1 21/n 1
a 6.2967(6) alpha 90
b 38.894(2) beta 95.369(8)
c 17.6232(14) gamma 90
Volume 4297.1(6) Z 8
Radiation type Mo K\alpha Wavelength 0.710730
Dx 1.28 Mr 824.91
Mu 0.090 Temperature (K) 175
Size 0.05x 0.05x 0.45
Colour colourless Shape needle
Cell from 0 Reflections Theta range 0 to 0
Standard Interval 0 Standard Count 0
Diffractometer type multi-scan Scan type OMEGA
Absorption type multi-scan Transmission range 1.00 1.00
Reflections measured 11068 Independent reflections 5424
Rint 0.0009 Theta max 24.28
Hmin, Hmax -7 6
Kmin, Kmax -38 43
Lmin, Lmax -19 20

Refinement on F
R-factor 0.087 Weighted R-factor 0.051
Max shift/su 0.0054
Delta Rho min -0.54 Delta Rho max 0.65
Reflections used 2877 sigma(I) limit 2.00
Number of parameters 542 Goodness of fit 1.082
```

Synthèse de l'Histamine-C₆ (H-C₆)

Dans un bêcher de 50mL, 5ml d'éthylacétate, 10ml de N, N-diméthylacétamide et 10ml de tétrahydrofurane sont additionnés et mélangés. Ce mélange de solvants correspond à la composition optimale pour obtenir un milieu réactionnel homogène dans la synthèse de l'HC₆.

L'hexyl isocyanate est pesé dans un ballon monocol de 50mL puis solubilisé dans 40mL du mélange préalablement préparé. L'histamine, pesée dans un pilulier (12mL) et dissoute dans 10mL de ce même mélange, est ajoutée goutte à goutte au milieu réactionnel. Le ballon surmonté d'un réfrigérant à eau, est chauffé à 120°C sous agitation magnétique.

Après 15 minutes de réaction, 5mL d'acétonitrile est ajouté au milieu. Après 24h de réaction, la précipité obtenu est filtré et séché sous vide. Le rendement de la réaction est de 90%.

	M [g.mol ⁻¹]	d [g.mL ⁻¹]	V [mL]	m [g]	n [mmol]	Eq.
Histamine	111,15	-	-	0,5	4,5	1
C ₆ -NCO	127	0,873	0,623	0,543	4,7	1.05
Ethylacétate	88,11	0,897	5	-	-	-
N, N- diméthylacétamide	73,09	0,94	10	-	-	-
Tétrahydrofurane	72,11	0,89	10	-	-	-
Acétonitrile	41	0,8	5	-	-	-

RMN ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz) : δ (ppm) = 0,860 (t, 3H, 2J=6,0Hz, CH₂CH₃) ; 1,235 (s, 6H, CH₂CH₂CH₂CH₃) ; 1,321 (q, 2H, 2J=6,0Hz, NHCH₂CH₂) ; 2,574 (t, 2H, 2J=7,2Hz, CH₂CH₂NH) ; 2,950 (q, 2H, 2J=6,0Hz, NHCH₂CH₂) ; 3,208 (q, 2J=6,0Hz, 2H, CH₂CH₂NH) ; 5,762 (t, 2J=6,0Hz, 1H, NHCH₂) ; 5,850 (t, 2J=6,0Hz, 1H, CH₂NH) ; 6,754 (s, 1H, NHCHCcycle) ; 7,507 (s, 1H, NCHNHcycle) ; 11,768 (s, 1H, NHcycle)

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 75 MHz) : δ (ppm) = 13,88 ; 22,05 ; 26,03 ; 29,94 ; 31,01 ; 134,49 ; 157,96 ; 206,44

Synthèse de l'Histamine-C₆-Histamine (H-C₆-H)

Dans un bêcher de 50mL, 5ml d'éthylacétate, 10ml de N, N-diméthylacétamide et 10ml de tétrahydrofurane sont additionnés et mélangés. Ce mélange de solvants correspond à la composition optimale pour obtenir un milieu réactionnel homogène dans la synthèse de l'HC₆H.

Le 1, 6 diisocyanatohexane est pesé dans un ballon monocol de 50mL puis solubilisé dans 40mL du mélange préalablement préparé. L'histamine, pesée dans un pilulier (12mL) et dissoute dans 10mL de ce même mélange, est ajoutée goutte à goutte au milieu

réactionnel. Le ballon surmonté d'un réfrigérant à eau, est chauffé à 120°C sous agitation magnétique. Après 15 minutes de réaction, 5mL d'acétonitrile est ajouté au milieu. Après 24h de réaction, la précipité obtenu est filtré et séché sous vide. Le rendement de la réaction est de 90%.

	M [g.mol ⁻¹]	d [g.mL ⁻¹]	V [mL]	m [g]	n [mmol]	Eq.
Histamine	111,15	-	-	0,5	4,5	1.05
OCN-C ₆ -NCO	168,2	1,04	0,346	0,36	4,29	1
Ethylacétate	88,11	0,897	5	-	-	-
N, N- diméthylacétamide	73,09	0,94	10	-	-	-
Tétrahydrofurane	72,11	0,89	10	-	-	-
Acétonitrile	41	0,8	5	-	-	-

RMN ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz) : δ (ppm) = 1,224 (s, 2H, CH₂CH₂CH₂) ; 1,314 (t, 2H, 2J=5,7Hz, NHCH₂CH₂) ; 2,565 (t, 2H, 2J=6,6Hz, CH₂CH₂NH) ; 2,941 (q, 2H, 2J=6,0Hz, NHCH₂CH₂) ; 3,200 (q, 2J=6,0Hz, 2H, CH₂CH₂NH) ; 5,759 (t, 2J=6,0Hz, 1H, NHCH₂) ; 5,854 (t, 2J=6,0Hz, 1H, CH₂NH) ; 6,748 (s, 1H, NHCHCcycle) ; 7,500 (s, 1H, NCHNHcycle) ; 11,800 (s, 1H, NHcycle)

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 75 MHz) : δ (ppm) = 13,88 ; 22,05 ; 26,03 ; 29,94 ; 30,65 ; 31,01 ; 134,49 ; 157,96 ; 206,44

VI.2. Partie expérimentale : Elaboration de matériaux membranaires fonctionnalisés pour le transport sélectif d'espèces chimiques

Les produits utilisés

Les réactifs utilisés sont l'hexyltrichlorosilane 97% (Sigma), et l'octadécyltrichlorosilane $\geq 90\%$ (Aldrich).

Les produits synthétisés lors de la première étude (TrypC₆, TrypC₆Tryp, T-Ph-T) sont également.

Les solvants de réactions utilisés sont l'acétonitrile (Carlo Erba), le méthanol (Aldrich) et le chloroforme (Carlo Erba). Ces solvants ont été utilisés sans purifications préalables.

Les techniques expérimentales

Spectroscopie de infrarouge à transformée de Fourier

Les spectres IR ont été réalisés par un appareil Nicolet Nexus FT-IR équipé d'un accessoire ATR Diamant Golden Gate.

Diffraction de Rayons X (DRX)

Les diffractogrammes ont été enregistrés par un appareil de diffraction des rayons-X Philips X'Pert en mode θ/θ .

Analyse d'absorption-désorption d'azote

Les mesures d'absorption-désorption d'azote ont été effectuées sur un appareil ASAP 2010 Micrometrics.

Clichés MEB

Les clichés de microscopie électronique à balayage à effet de champ ont été obtenus sur un appareil Hitachi S-4500.

Les modes opératoires détaillés

Greffage hydrophobe sur les parois du MCM-41 par l'hexyltrichlorosilane

Dans un ballon de 100 mL, 1 g de poudre de MCM-41 commerciale est mis en présence d'une solution d'hexyltrichlorosilane à 5.10^{-2} M (0,55 g ; $2,5.10^{-3}$ mol) préalablement dissouts dans 50 mL de toluène. Le ballon est ensuite placé à reflux sous agitation à 60°C pendant 6 heures. La poudre est ensuite récupérée après avoir effectué plusieurs centrifugations. Entre chaque centrifugation un lavage du matériau au toluène est réalisé.

Greffage hydrophobe sur les parois du MCM-41 par l'octadécyltrichlorosilane

Dans un ballon de 100 mL, 1 g de poudre de MCM-41 commerciale est mis en présence d'une solution d'octadécyltrichlorosilane à 5.10^{-2} M (0,97 g ; $2,5.10^{-3}$ mol) préalablement dissouts dans 50 mL de toluène. Le ballon est ensuite placé à reflux sous agitation à 60°C pendant 6 heures. La poudre est ensuite récupérée après avoir effectué plusieurs centrifugations. Entre chaque centrifugation un lavage du matériau au toluène est réalisé.

Confinement des composés moléculaires au sein de la poudre MCM-41 modifiée

Dans un dans un slenck de 25 mL, la poudre précédemment modifiée est mise en présence d'une solution de composé d'intérêt à 2.10^{-2} M (10^{-4} mol) préalablement dissout dans le mélange de solvant méthanol : chloroforme (2 : 1). Afin de faciliter l'insertion des composés au sein des pores, l'air contenu dans le matériau est éliminé en plaçant le milieu réactionnel sous vide. Le confinement est ensuite réalisé à 80 °C à reflux pendant 48 heures sous agitation. Les poudres sont récupérées après avoir effectué plusieurs centrifugations. Entre chaque centrifugation un lavage du matériau est réalisé par le solvant de réaction.

Composés moléculaire	m_{MCM41} (mg)	$m_{\text{composé}}$ (mg)
Tryp-C ₆	20	28,72
Tryp-C ₆ -Tryp	20	48,86
T-Ph-T	20	41,25

Synthèse de la solution précurseur

La solution précurseur a été synthétisée suivant le protocole décrit dans la référence [116].

Synthèse de l'échantillon témoin MCM-41 pour la vérification de l'étape de calcination

L'échantillon témoin MCM-41a été synthétisée suivant le protocole décrit dans la référence [117].

VI.3. Partie expérimentale : Matériaux membranaires pour le transport dirigé d'eau

Les produits utilisés

Les réactifs utilisés sont la Jeffamine[®] D-2000 amine (Huntsman), la Jeffamine[®] T-3000 polyétheramine (Huntsman), le 1, 6 diisocyanatohexane 98% (Aldrich), l'histamine $\geq 97\%$ (Sigma).

Les solvants de réaction utilisés sans purifications préalables, sont l'acétonitrile (Carlo Erba) le toluène (Carlo Erba).

Les techniques expérimentales

Résonance magnétique nucléaire (RMN)

Les analyses RMN ¹H, ¹³C, des membranes synthétisés ont été réalisées sur un spectrophotomètre à transformée de Fourier Bruker Advance 300. Le solvant deutéré utilisé est le CDCl₃.

Diffraction de Rayons X (DRX)

Les diffractogrammes ont été enregistrés par un appareil de diffraction des rayons-X Philips X'Pert en mode θ/θ .

Clichés MEB

Les clichés de microscopie électronique à balayage à effet de champ ont été obtenus sur un appareil Hitachi S-4500.

Les modes opératoires détaillés

Synthèse du précurseur à base de Jeffamine[®] D-2000

Etape 1 :

Dans un ballon de 100 mL, la Jeffamine D-2000 (3g ; $1,5 \cdot 10^{-3}$ mol ; 1 éq) est mis en présence du diisocyanatohexane ($3,075 \cdot 10^{-3}$ mol ; 2.05 éq) dans 40 mL de toluène. Le ballon est ensuite placé à reflux sous agitation à 120°C pendant 20 heures.

Etape 2 :

L'histamine ($3,075 \cdot 10^{-3}$ mol ; 2.05 éq) dissouts dans 10 mL d'acétonitrile est ensuite ajouté au milieu réactionnel au goutte à goutte. Après 5 heures de réaction, la solution est concentrée par évaporation. 25 mL de la solution concentrée sont ensuite placés dans un support en Téflon[®]. Après évaporation du solvant, une huile est obtenue.

Synthèse du précurseur à base de Jeffamine[®] T-3000

Etape 1 :

Dans un ballon de 100 mL, la Jeffamine T-3000 (3g ; 10^{-3} mol ; 1 éq) est mis en présence du diisocyanatohexane ($3,05 \cdot 10^{-3}$ mol ; 3.05 éq) dans 40 mL de toluène. Le ballon est ensuite placé à reflux sous agitation à 120°C pendant 20 heures.

Etape 2 :

L'histamine ($3,05 \cdot 10^{-3}$ mol ; 3.05 éq) dissouts dans 10 mL d'acétonitrile est ensuite ajouté au milieu réactionnel au goutte à goutte. Après 5 heures de réaction, la solution est concentrée par évaporation. 25 mL de la solution concentrée sont ensuite placés dans un support en Téflon[®]. Après évaporation du solvant, une huile est obtenue.