



HAL
open science

Systèmes moléculaires et matériaux structurés pour la conduction ionique et le transport d'eau

Alina Cristian

► **To cite this version:**

Alina Cristian. Systèmes moléculaires et matériaux structurés pour la conduction ionique et le transport d'eau. Matériaux. Université Montpellier, 2015. Français. NNT: 2015MONTTS114. tel-01871067

HAL Id: tel-01871067

<https://theses.hal.science/tel-01871067>

Submitted on 10 Sep 2018

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

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

THÈSE

Pour obtenir le grade de
Docteur

Délivré par l'**Université de Montpellier**

Préparée au sein de l'école doctorale **ED459**
Et de l'unité de recherche **UMR5635**

Spécialité : Chimie et Physico-Chimie des Matériaux

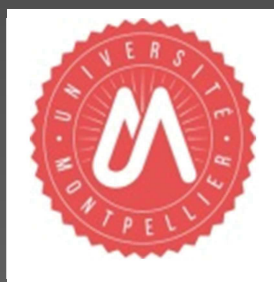
Présentée par **Alina CRISTIAN**

**Systemes moléculaires et matériaux
structurés pour la conduction ionique
et le transport d'eau**

Sous la direction de : Dr. Mihail Bărboiu

Soutenue le 22 septembre 2015 devant le jury composé de

M. Mihai Barboiu	DR, Université de Montpellier	Directeur de thèse
Mme. Sophie Cerneaux	MCF, Ecole Nationale Supérieure de Chimie	Co-encadrante de thèse
M. Laurent Bouteiller	Pr, Université Pierre et Marie Curie, Paris VI	Rapporteur
M. Ion Grosu	Pr, Université Babes Bolyai, Cluj-Napoca	Rapporteur
M. Anthony Szymczyk	Pr, Université de Rennes 1	Examineur
M. Bruno Améduri	DR, Ecole Nationale Supérieure de Chimie	Examineur



« L'université n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans cette thèse. Ces opinions doivent être considérées comme propres à leur auteur. »

Remerciements

Les recherches qui font l'objet de ce mémoire de thèse ont été réalisées dans l'équipe Nanosystèmes Supramoléculaires Adaptatifs, dirigée par le Docteur Mihai Bărboiu au sein de l'Institut Européen des Membranes de Montpellier.

Je remercie tout d'abord monsieur le professeur Philippe Miele, directeur de l'Institut Européen des Membranes, pour m'avoir accueillie dans son laboratoire et permis de réaliser ces travaux de thèse dans les meilleures conditions.

J'ai eu l'honneur de soumettre mon travail au jugement de quatre chercheurs pour lesquels j'ai une grande admiration : Monsieur le Professeur Laurent Bouteiller de l'Université Pierre et Marie Curie de Paris et Monsieur le Professeur Ion Grosu de l'Université Babes Bolyai de Cluj-Napoca, qui ont accepté d'en être les rapporteurs ainsi que Monsieur le Professeur Anthony Szymczyk de l'Université de Rennes 1 et Monsieur le Directeur de Recherche Bruno Améduri en tant qu'examineurs.

Je voudrais exprimer toute ma gratitude à mon mentor et encadrant de thèse, Dr. Mihai Bărboiu, avec lequel j'ai eu l'honneur de travailler pendant mes trois ans de thèse. Un grand merci pour tout son soutien et sa confiance durant ce temps, pour l'infinie gentillesse, pour sa disponibilité et surtout pour m'avoir fait partager ses vastes connaissances scientifiques. Je souhaiterais remercier ma co-encadrante, Dr. Sophie Cerneaux pour sa montagne de patience, pour son aide précieuse dans les manipulations de filtration et dans la correction de ce manuscrit.

Merci au Dr. Yves-Marie Legrand, pour la qualité de ses observations et pour son aide dans la réalisation des analyses et des résolutions de structures sur monocristal. Un grand merci au Dr. Arnaud Gilles pour tout le temps sacrifié pour les corrections, pour les discussions que nous avons eues sur l'interprétation des données de transport. Mon travail de recherche n'aurait pas pu être possible sans ses connaissances, ni sans ses remarques.

Je remercie également mon ami et ex-colocataire de bureau, le Dr. Zhanhu Sun pour son aide précieuse depuis mars 2014 au laboratoire, pendant le déroulement de cette thèse et jusqu'à son départ récent. Nos nombreuses discussions furent intéressantes et les échanges scientifiques très pertinents. Je lui adresse mon amitié la plus sincère. J'ai été chanceuse d'avoir travaillé avec le Dr. Yan Zhang, merci pour sa participation et pour tous les bons

moments que nous avons passés ensemble. Je remercie le Dr. Florina Dumitru pour son humour subtil, ses conseils et son aide pour la synthèse et les essais de cristallisation.

Un grand merci au Dr. Arie Van Der Lee pour la réalisation des analyses de diffractométrie de rayons X et pour notre collaboration pour l'organisation de la Fête de la Science. Je remercie avec beaucoup d'admiration l'ingénieur d'étude Eddy Petit pour sa disponibilité, son incroyable compétence ainsi que son remarquable dévouement et engagement pour la science. Merci pour la réalisation des spectrogrammes de masse, pour la formation en RMN et Infrarouge.

Un merci tout particulier à l'ingénieur Didier Cot pour la qualité de son travail sur les appareils de microscopie (MEB) et pour m'avoir fait apprécier la beauté des images au travers de ses extraordinaires clichés. Merci pour sa gentillesse, son talent scientifique et artistique et aussi pour les nombreuses discussions rythmées par des mélodies de radio FIP. Merci à l'ingénieur d'étude Abdeslam El Mansouri pour m'avoir initiée dans les mesures de porosité, pour sa gentillesse et sa constante bonne humeur. Merci à Nathalie Masquelez pour l'ensemble des mesures thermiques et pour l'excellence de son travail.

Je renouvelle mes remerciements au Dr. Alexandru Rotaru pour ses superbes clichés d'AFM et au Dr. Philippe Gaveau pour les mesures en RMN du solide et pour m'avoir secourue avec les dernières analyses. Je suis profondément reconnaissante au Dr. Géraud Dubois (IBM, Almaden Research Center, USA) de nous avoir supporté dans les tests de filtration membranaire. Je remercie également le Dr. Christophe Charmette, pour m'avoir aidée dans l'installation du module de filtration, pour l'assistance technique et les suggestions.

Je tiens aussi à remercier mes collègues de travail de l'institut : Dr. George-Bogdan Rusu, Dr. Zineb Mouline, Dr. Valérie Gence, Dr. Dan Dumitrescu, Dr. Erol Licsandru, aux futurs docteurs Romina Catana, Lidia Pop, Mohamed Yahia, Istvan Kocsis, et aux stagiaires Vinh et Alice qui sont non seulement des collaborateurs exceptionnels mais également des amis extraordinaires. Finalement, je remercie Pr. Dr. Isabelle Lefebvre-Tournier pour son soutien jusqu'à la fin de la thèse et pour m'avoir encouragée dans les débuts de l'activité pédagogique lors de mon monitorat à l'Université de Montpellier.

Je remercie mon doux et cher Jean-Luc, qui m'a témoigné son amour, sa patience et son soutien indéfectible. Je lui dédie toute ma réussite, basée sur son bel exemple de persévérance, d'organisation, et de fort esprit critique.

Abréviations

AC	Angle de contact
AcOEt	Acétate d'éthyle
AmB	Amphotéricine B
ANTS	8-aminonaphtalène-1,3,6-trisulfonate
Aqp1	Aquaporine 1
AqpZ	Aquaporine Z (isoforme bactérienne <i>E. coli</i>)
ATG	Analyse ThermoGravimétrique
BLM	Black lipid membranes
BTC	1,3,5 Benzène Trialdéhyde
CF	Ciprofloxacine
CHH	Chelidamic hydrazide
DLS	Diffusion dynamique de la lumière
DMA	N,N-Diméthylacétamide
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DPC	Dipyridine carbonyl chloride
DPX	p-xylene-bispyridinium bromide
DRX	Diffraction de rayons X
EC50	Concentration efficace médiane
EYPC	Egg Yolk Phosphatidylcholine
FT-IR	Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier
G4	Guanine quadruplex
gA	Gramicidine A
gB	Gramicidine B
gC	Gramicidine C
GUV	Giant Unilamellar Vesicles
His	Histamine
HPTS	8-hydroxypyrene-1,3,6-trisulfonate
I4	Imidazol quartet
IPA	Alcool isopropylique
kDa	Kilo Daltons
LMH	Litres per mètre carré per heure (L/m ² *h)
LS	Light Scattering
LUVs	Large Unilamellar Vesicles
LMVs	Large Multilamellar Vesicles
MCCM	Matériaux composites à couche mince (TFC – Thin film composites)
MDS	Molecular Dynamics Simulations (Simulations de Dynamique Moléculaire)
MEB	Microscopie Electronique à Balayage
MeOH	Méthanol
MF	Membrane fibreuse
MPD	Métaphénylène diamine
n	coefficient de Hill
NF	Nanofiltration
NPA	Signature du motif asparagine (N) – proline (P) – alanine (A)
OI	Osmose inverse (RO – Reverse osmosis)

pa	Pression atmosphérique
PBS	Phosphate Buffer Solution
PDMS	Poly(diméthylsiloxane)
PEG	Poly(éthylène glycol)
PES	Poly(éthersulfone)
PI	Polymérisation interfaciale
polyTHF	Bis (3-aminopropyl) poly(tétrahydrofurane) de $M_n \sim 1100 \text{ g.mol}^{-1}$
PSf	Poly(sulfone)
RMN	Résonance magnétique nucléaire
RS	Rejet de sels
SUV	Small Unilamellar Vesicles
TEA	Triéthyl amine
TFA	Acide Trifluoroacétique
THF	Tétrahydrofurane
TMC	Trimésylchloride
TNTs	Titanate Nanotubes
Trp	Tryptophane
XPS	X-ray photoelectronspectroscopy
Y	Activité fractionnelle
Δosm	Différence en osmolarité

Note : quelques anglicismes ont été utilisés dans le cadre de ce manuscrit (notamment des noms de techniques d'analyse, mécanismes de transport ou morphologie de membranes) :

All or none

Feed

Photo-graphing

Ridge and valley

Spin coating

Stopped flow

Tape casting

Track-etching

Voltage clamp

Sommaire

INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
----------------------------	---

<i>PARTIE 1 : TRANSPORT D'IONS ET DE MOLÉCULES D'EAU À TRAVERS LES BICOUCHES LIPIDIQUES PAR DES ARCHITECTURES SUPRAMOLÉCULAIRES.....</i>	5
---	----------

Introduction : Généralités sur le transport membranaire biologique.....	7
--	----------

1.1 Canaux naturels ioniques et de molécules d'eau.....	10
1.2 Membranes bio-assistées.....	19
1.3 Membranes artificielles et canaux synthétiques.....	21

Chapitre 2 : Méthodes vésiculaires utilisées pour l'étude du transport à travers les membranes.....	35
--	-----------

2.1 Méthodes vésiculaires utilisant la spectroscopie de fluorescence.....	37
2.1.1 Principe de la méthode de fluorescence pour l'analyse du transport.....	37
2.1.2 Paramètres pour décrire l'activité des canaux synthétiques.....	41
2.2 Principe des méthodes vésiculaires utilisant la diffusion de la lumière pour le transport des molécules d'eau.....	47

Chapitre 3 : Approche synthétique et protocole expérimental.....	51
---	-----------

3.1 La fonction urée : motif structural d'organisation supramoléculaire.....	53
3.2 Chimiothèque des composés amphiphiles synthétisés.....	55
3.3 Caractérisation de l'auto-assemblage par diffraction de rayons X sur monocristal.....	59

Chapitre 4 : Résultats relatifs à l'étude du transport ionique par la spectroscopie de fluorescence.....	65
---	-----------

4.1 Influence de la concentration du composé sur le transport de cations.....	66
4.2 Influence de la nature du composé sur le transport de cations.....	69
4.3 Sélectivité des composés pour différents cations.....	73
4.4 Influence de la nature du composé sur le transport de protons et d'anions chlorure.....	77

Chapitre 5 : Etude du transport des molécules d'eau par diffusion de la lumière.....	80
---	-----------

Conclusions et perspectives.....	85
---	-----------

***PARTIE 2 : MATERIAUX STRUCTURÉS OBTENUS PAR POLIMÉRISATION
INTERFACIALE ET PAR SOL-GEL POUR LA FILTRATION DE L'EAU 87***

Introduction : « A l'eau la terre ? » - Problématique de l'eau potable au quotidien et technologies de dessalement 89

Chapitre 2 : Classification des membranes pour le traitement de l'eau 95

- 2.1 Classification selon la structure physique 95
- 2.2 Classification selon la composition chimique des matériaux 100
- 2.3 Améliorations de la technique de fabrication des membranes 106
- 2.4 Paramètres physiques et phénomènes de transport à travers les membranes 111

Chapitre 3 : Synthèse d'hydrazides et d'amides réticulés comme précurseurs moléculaires pour la polymérisation interfaciale 113

Chapitre 4 : Synthèse et caractérisation des polymères autosupportés obtenus par polymérisation interfaciale 118

- 4.1 Synthèse des polymères 118
- 4.2 Caractérisation des polymères 121
 - 4.2.1 RMN du solide 121
 - 4.2.2 Spectroscopie infrarouge 126
 - 4.2.3 La diffraction de rayons X sur poudre 130
 - 4.2.4 L'analyse thermogravimétrique 133
 - 4.2.5 La microscopie électronique à balayage 135

Chapitre 5 : Fabrication, caractérisation et évaluation des performances des membranes supportées 137

- 5.1 Fabrication des membranes pour l'osmose inverse 137
- 5.2 Première série des membranes 140
 - 5.2.1 Fabrication et caractérisation des membranes 140
 - 5.2.2 Test des performances membranaires 147
- 5.3 Deuxième série des membranes 156
 - 5.3.1 Les méthodes de caractérisation statique des membranes : MEB, AFM, AC 158
 - 5.3.2 Evaluation des performances membranaires 163

Chapitre 6 : Membranes hybrides organiques-inorganiques.....	169
6.1 La chimie sol-gel.....	172
6.2 Elaboration des membranes hybrides autosupportées et sur support	176
6.3 Caractérisation et test de filtration.....	183
Conclusions et perspectives.....	185
CONCLUSION GÉNÉRALE	187
Annexes	191

INTRODUCTION GÉNÉRALE

L'eau est un élément qui joue un rôle crucial pour l'existence de la vie car elle participe aux mécanismes biologiques au niveau moléculaire. Dans tous ses états d'agrégation, l'eau est fondamentale dans le développement des organismes vivants grâce à ses nombreuses fonctions. Une grande partie de ces fonctions sont dues au comportement dynamique de l'eau au niveau supramoléculaire¹. L'eau représente également un élément essentiel dans le cadre des transferts d'ions et des molécules entre la cellule et le milieu extracellulaire, échanges qui régissent les processus physiologiques². Tous ces transferts se font à travers une barrière sélective, la **membrane cellulaire** (lat. *membrana* «membrane, peau, parchemin», littéralement «peau qui recouvre les membres», dérivé de *membrum* «membre»). Il s'agit donc d'une frontière sélective qui sépare la cellule du ... reste du monde.

Le transport à travers les membranes et son étude nécessitent une connaissance approfondie de la structure supramoléculaire des systèmes de transport et également de la dynamique du processus de transport. Afin de mieux comprendre ces mécanismes de transport, de nombreux efforts de recherche ont été dirigés vers la création de canaux ioniques et de canaux d'eau artificiels. A ce jour, il existe une riche diversité de motifs structurels utilisés comme unités fonctionnelles pour la création des canaux de transport. Les fonctions les plus importantes recherchées sont la **sélectivité ionique** et la **reconnaissance moléculaire**. D'autres principes supramoléculaires comme la **pré-organisation** et la **complémentarité** entre le transporteur et la particule transportée sont également impliqués. Toutes les interactions multivalentes représentent des variantes de la reconnaissance spécifique, qui, au travers de connexions réversibles, peuvent générer des réseaux adaptatifs, d'un haut degré de complexité.³

Pour atteindre ces objectifs, un intérêt grandissant est porté à la variété des processus qui lient les molécules transportées et le transporteur, à la structuration de ces molécules à l'intérieur du canal et aux phénomènes de diffusion dans des milieux confinés. Par exemple, une multitude d'interactions s'établissent entre les molécules d'eau et les constituants des

¹ Ball, P., *Chem. Rev.*, **2008**,108, 74.

² Zhong, D., Pal, S.K., Zewail, A.H., *Chem. Phys. Lett.*, **2011**, 503, 1.

³ Barboiu, M., *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2015**, 1112.

milieux biologiques, des **interactions de faibles énergies** (comme les liaisons hydrogène ou les interactions de van der Waals) pour permettre une réversibilité des processus. C'est dans ce contexte que les principes de la chimie combinatoire dynamique sont d'une importance incontestable lorsqu'il s'agit de la synthèse de supramolécules imitant non seulement la structure, mais également les fonctions des systèmes de transport sélectif et directionnel. C'est parce que les fonctions d'un transporteur sont intimement liées à sa structure que la conception de mimes synthétiques constitue un défi. La structure formée doit être contrôlée au niveau supramoléculaire, en solution comme à l'état solide.

Par ailleurs, les liaisons faibles jouent un rôle important dans la formation des **polymères supramoléculaires**, car elles combinent la force de liaison et une excellente réversibilité.⁴ De plus, ces caractéristiques peuvent être contrôlées avec précision par le design d'un réseau de liaisons hydrogène dans la structure d'un polymère multifonctionnel.⁵

Un **premier objectif** de ces travaux de thèse concerne l'étude des assemblages biomimétiques dynamiques de molécules fonctionnelles. Dans ce but nous avons développé **de nouveaux composés organiques susceptibles de s'auto-organiser pour former des canaux moléculaires**. Par auto-assemblage, ces composés peuvent créer des chemins directionnels pour le transport sélectif d'ions et de molécules d'eau. La démarche expérimentale part du design des « **briques** » moléculaires synthétiques qui vont **s'auto-assembler** à l'intérieur des bicouches lipidiques pour former des supramolécules de type canal avec des **fonctions** hautement sélectives. Par un schéma, la **Figure 1** présente une analogie simplifiée de cette démarche :

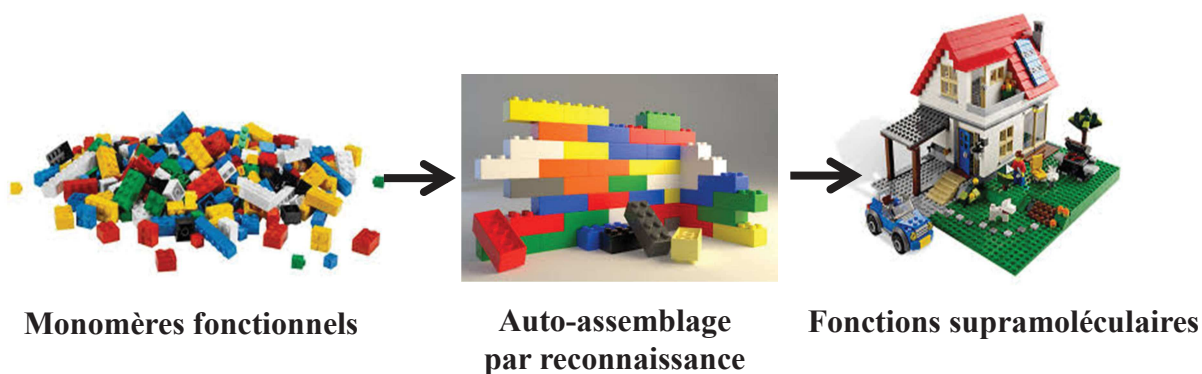


Figure 1 : Illustration des principes de la chimie supramoléculaire (complémentarité et sélectivité) pour obtenir des structures et des fonctions supramoléculaires

⁴ Park, T., Zimmerman, S.C., *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, 128, 13986.

⁵ Beijer, F.H., Sijbesma, R.P., Kooijman, H., Spek, A.L., Meijer, E.W., *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, 120, 6761.

Un deuxième objectif est la synthèse de polymères afin de répondre à la nécessité de création de systèmes dynamiques qui peuvent être utilisés pour la conception de membranes de filtration d'eau. **Pour cela, la démarche expérimentale mise en œuvre est basée sur la fabrication des membranes à travers la technique de polymérisation interfaciale et l'évaluation des performances en termes de perméabilité et de rejet de chlorure de sodium.**

Dans ce travail, **les axes de recherche** sont développés autour du thème du transport de molécules d'eau et du transport ionique, au travers **de canaux insérés dans des bicouches lipidiques**, de la synthèse de polymères et de la fabrication de membranes pour le traitement de l'eau par osmose inverse.

Ce manuscrit de thèse s'articule donc en deux grandes parties, se recouvrant partiellement, dont le «fil conducteur» est la préparation de **nouveaux systèmes de transport et de filtration** en utilisant les propriétés structurales et fonctionnelles de précurseurs organiques (les molécules amphiphiles) et de précurseurs inorganiques (polysilsesquioxanes). Les deux projets de la thèse seront détaillés dans les pages suivantes et nous permettront d'explorer la palette des différentes interactions dynamiques. Chaque partie débutera par un état de l'art, suivi d'une description des méthodes d'analyse utilisées. Les résultats et leur interprétation seront ensuite présentés.

La première partie présente dans une partie introductive l'état de l'art sur les principaux mécanismes de transport membranaires naturels et les systèmes synthétiques bioinspirés qui forment des canaux ioniques. Après cette présentation des systèmes fonctionnels naturels et artificiels, nous nous sommes intéressés plus particulièrement à la synthèse de molécules amphiphiles et à leurs différents types d'auto-organisation, par des interactions faibles de nature non-covalente, dont certaines en canaux à fonctions bioinspirées. L'information structurale et fonctionnelle obtenue par des molécules amphiphiles a été utilisée pour la constitution dynamique de canaux ioniques et transporteurs des molécules d'eau à travers des bicouches lipidiques. La détermination de ces structures est effectuée par différentes méthodes d'analyse (spectroscopie de fluorescence et « stopped flow », décrites par la suite) qui nous renseignent sur la nature des interactions entre les architectures supramoléculaires obtenues et sur l'organisation de l'eau et des ions au sein de ces structures. Le transport d'ions et des molécules d'eau, à travers ces différents canaux supramoléculaires

insérés dans des bicouches lipidiques⁶ sera étudié. L'étude des systèmes supramoléculaires multifonctionnels et leur réponse à des changements de stimuli externes seront ensuite décrites et interprétées.

La seconde partie concerne la conception et l'élaboration de matériaux hybrides organiques-inorganiques de type polysiloxanes auto-organisés, conservant à l'état solide toute ou partie de l'organisation structurale des précurseurs initialement obtenue en voie liquide. Nous ferons le point sur les principes de l'élaboration de matériaux de type sol-gel et leurs dérivés par des rappels bibliographiques. Cette partie est consacrée également à la préparation de matériaux membranaires autosupportés ou déposés sur des supports de polysulfone, obtenus par polymérisation interfaciale, dans le but de les utiliser dans des tests de dessalement d'eau. En effet, dans le contexte actuel d'une pénurie d'eau, les recherches se sont dirigées vers de nouvelles voies d'obtention d'eau potable. Le dessalement de l'eau de mer par osmose inverse constitue une technique courante et le développement de membranes pour cette technique est en plein essor. Nous avons réalisé de nouveaux matériaux membranaires qui, déposés sur un support de nanofiltration (NF), ont montré de bonnes capacités de rejet de sel (NaCl) et de perméabilité comparables à celles rapportées dans la littérature. Ces systèmes membranaires combinent avec succès à la fois la structure et la fonction supramoléculaires. De plus, ils ont une large variété d'applications dans les domaines de la chimie de matériaux ou les disciplines médicales.⁷

En définitive, ce travail, à travers ces deux axes de recherche, contribue à une meilleure connaissance et à l'ingénierie des systèmes de transport et de filtration membranaire. Premièrement, le travail sur les canaux ioniques complète la littérature en montrant qu'on peut obtenir les fonctions recherchées au niveau supramoléculaire grâce à un contrôle des fonctions des monomères au niveau moléculaire. Deuxièmement, les études sur les films composites obtenus à travers la polymérisation interfaciale suggèrent qu'il est possible d'obtenir de résultats intéressants concernant le dessalement d'eau à travers cette démarche. Dans la conclusion de cette thèse, nous soulignerons les limites de ces travaux et émettrons des pistes pour des analyses complémentaires ou des projets de recherche futurs.

⁶ Cheruzel, L.E., Pometun, M.S., Cecil, M.R., Mashuta, M.S., Wittebort, R.J., Buchanan, R.M., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2003**, *44*, 5452.

⁷ Gokel, G.W., Negin, S., *Acc. Chem. Res.*, **2013**, *46*, 2824.

***PARTIE 1 : TRANSPORT D'IONS ET DE
MOLÉCULES D'EAU À TRAVERS LES
BICOUCHES LIPIDIQUES PAR DES
ARCHITECTURES SUPRAMOLÉCULAIRES***

*« Va prendre tes leçons dans la nature,
C'est là qu'est notre futur »
Léonard de Vinci*



Introduction : Généralités sur le transport membranaire biologique

Les processus physiologiques des organismes vivants dépendent, pour la plupart, des échanges sélectifs d'ions ou des molécules entre la cellule (considérée comme unité structurale et fonctionnelle de l'être vivant) et son environnement. Ces échanges se réalisent au niveau de la membrane cellulaire qui entoure les cellules. L'importance fondamentale de la membrane plasmique réside dans sa capacité à constituer une barrière sélective et à gouverner ces échanges avec le milieu extracellulaire (**Figure 2**). Dans les plus complexes formes de vie cellulaire, les cellules eucaryotes, il existe un niveau hiérarchique d'organisation : les organites cellulaires qui se trouvent dans le cytosol, caractérisées elles aussi, par une membrane qui leur est propre.

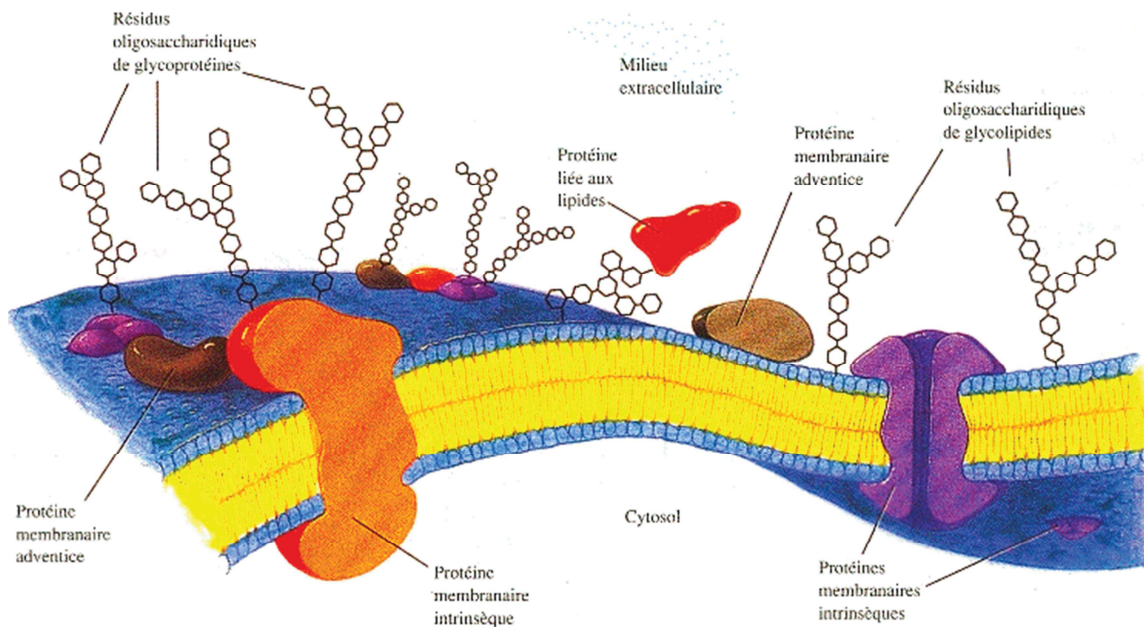


Figure 2 : Structure de la membrane cellulaire,⁸ on retrouve des protéines membranaires intégrales ou périphériques des sucres ou des lipides

La membrane plasmique est constituée d'une bicouche de phospholipides,⁹ molécules qui contiennent une partie lipophile et une partie hydrophile. La membrane se présente comme un « sandwich » de phospholipides, avec un intérieur hydrophobe et les deux faces hydrophiles, conférant à cette membrane le nom de **bicouche phospholipidique** (environ 40Å d'épaisseur). On parle du modèle de la « mosaïque fluide », du fait d'une composition très hétérogène et parce que les phospholipides et les protéines membranaires ont une grande

⁸ Horton, H.R., Moran, L.A., Ochs, R.S., Rawn, J.D., Scrimgeour, K.G., *Principes de Biochimie*, 1994, Ed. De Boeck Université.

⁹ Singer, S.J., Nicolson, G.L., *Science*, 1972, 175, 720.

mobilité dans l'espace membranaire. Pour pouvoir passer à l'intérieur de la cellule, un composé doit franchir cette barrière sélective. Les « portes de passage » sont des protéines transmembranaires intégrales caractérisées par un haut degré de sélectivité et complémentarité, appelées transporteurs ioniques.

Ces **transporteurs ioniques** ont une fonction vitale dans le fonctionnement de la cellule. Ils peuvent être considérés comme des catalyseurs de la translocation, car ils facilitent la diffusion ionique à travers la membrane, sans pouvoir être « consommés » au cours du processus. Le rôle d'un transporteur ionique est de remplacer les interactions entre l'ion et les molécules d'eau de solvation par des interactions alternatives qui peuvent stabiliser la molécule chargée à l'intérieur du transporteur.¹⁰ Structurellement, ils doivent présenter une structure amphiphile pour pouvoir s'insérer dans la membrane lipophile et, en même temps, laisser passer des molécules polaires. Ils illustrent donc bien l'étymologie du terme amphiphile (du grec $\alpha\mu\phi\iota\varsigma$, (amphis)-deux et $\phi\iota\lambda\iota\alpha$, (filia)-amitié, donc celui qui « aime » deux entités). Les molécules amphiphiles peuvent s'organiser en plusieurs structures comme indiqué à la **Figure 3** :

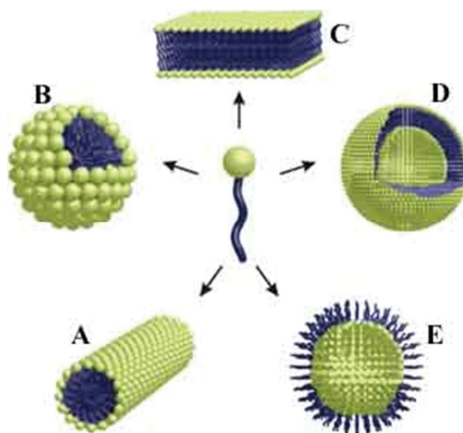


Figure 3 : Modalités d'organisation des molécules amphiphiles (molécule centrale) : **A**-micelle cylindrique, **B**-micelle, **C**-bicouche lipidique, **D**-liposome ou **E**-micelle inverse, en fonction des paramètres tels la concentration, la température ou la géométrie de l'amphiphile

Les transporteurs ioniques sont très importants dans la nature car ils participent au fonctionnement des processus biologiques. Leurs dysfonctionnements portent le nom de **canalopathies**, et se manifestent par le blocage du passage des ions monovalents comme le sodium, le potassium ou des ions divalents.¹¹

¹⁰ Fyles, T.M., *Chem. Soc. Rev.*, **2007**, 36, 335.

¹¹ Kasianowicz, J.J., *Chem. Rev.*, **2012**, 112, 6215.

Le caractère amphiphile est la force motrice de l'auto-organisation. Les molécules qui contiennent simultanément des fonctions polaires et apolaires vont avoir tendance à minimiser les interactions non-favorables avec l'environnement aqueux. L'auto-organisation va se faire à travers un processus d'agrégation, en fonction des conditions opératoires pour conduire à différents types de géométrie (**Figure 3**).

A travers ce processus d'agrégation, la membrane cellulaire fait une barrière entre le milieu extérieur et le cytosol, où les concentrations ioniques sont différentes des deux côtés. Malgré cette contrainte, le système cellulaire a la capacité de conserver son équilibre de fonctionnement, il maintient donc une **homéostasie ionique**. L'homéostasie est due à une bonne régulation entre les concentrations ioniques intra- et extracellulaire, avec un parfait équilibre osmotique. Dans le **Tableau 1** sont présentées les valeurs des concentrations ioniques typiques de la plupart des cellules de mammifères :

Tableau 1 : Concentrations intra- et extracellulaires des ions

Ion	Concentration intracellulaire	Concentration extracellulaire
K ⁺	139 mM	4 mM
Na ⁺	12 mM	145 mM
Cl ⁻	4 mM	116 mM

Dans les développements suivants, nous présenterons successivement les systèmes naturels à travers lesquels la nature assure cet équilibre et les systèmes bio-assistés et artificiels qui ont émergé de la compréhension de ce phénomène. L'intérêt de cette revue bibliographique dans le processus de réflexion est de définir le cadre théorique dans lequel se situe notre travail de recherche.

1.1 Canaux naturels ioniques et de molécules d'eau

Résumé : Dans cette sous-section, nous allons présenter brièvement quelques systèmes protéiques naturels responsables du transport des espèces chargées et de molécules d'eau à travers les membranes. Tout d'abord, nous allons décrire la relation structure–fonction des **canaux naturels ioniques** comme la Valinomycine, la Gramicidine, l'Amphotéricine B, la protéine M2 du virus influenza A et le canal potassique KcsA. Ensuite, nous allons présenter le mode de fonctionnement de l'**aquaporine**, protéine sélective pour le transport des molécules d'eau. L'analyse de la structure et la compréhension du mode de fonctionnement de ces systèmes naturels sont importants pour le design des nouveaux systèmes synthétiques de transport.

Les molécules peuvent circuler d'un côté et de l'autre de la membrane en empruntant diverses voies. A part l'endocytose et l'exocytose¹² qui ne seront pas traités dans cette thèse, le transport actif (à l'aide de transporteurs actifs ou de pompes) et le transport passif (à travers des pores ou des canaux ioniques) sont souvent rencontrés. La **Figure 4** illustre la description de ces types de transport :



Transport actif à l'aide des transporteurs



Transport passif à travers les pores



Transport passif à travers les canaux ioniques

Figure 4 : Illustration de différents types de transport à travers les membranes : actif à l'aide de transporteurs ou pompes qui fournissent l'énergie, passif à travers les pores (d'une façon non sélective) et passif à travers les canaux ioniques (passage sélectif, bloqué ou initié)

Un canal ionique peut assurer la translocation seulement des particules chargées, inorganiques, tandis qu'un pore peut permettre également le passage de molécules à travers les membranes bicouches lipidiques. Le transport d'ions le long des canaux qui traversent les membranes s'effectue dans des larges cavités remplies d'eau. Ces canaux protéiques, les **transporteurs ioniques**, assurent le passage des molécules polaires ou chargées (sucres, aminoacides, ions) indispensables pour le bon fonctionnement de la cellule. De surcroît, le transport de l'eau à travers les membranes a une importance cruciale pour la régulation de la pression osmotique cellulaire.

¹² Miaczynska, M., Stenmark, H., *J. Cell Biol.*, **2008**, 180, 7.

Quand un ion doit traverser la membrane, il doit se défaire de sa sphère d'hydratation et les molécules d'eau qui l'entourent seront remplacées. Énergétiquement, ce phénomène demande quelques centaines de kJ/mol. C'est la structure spécifique et bien définie de la protéine qui aide à franchir la haute barrière énergétique de translocation des ions à travers le filtre sélectif. Alors, le but d'un transporteur ionique est de faciliter le passage de l'ion de l'autre côté de la membrane. Ce passage a lieu par le remplacement des interactions entre l'ion et les molécules d'eau par des interactions intermoléculaires entre l'ion et le transporteur. Dans la **Figure 5** sont schématisés les principaux types de transporteurs (actifs ou passifs), généralement rapportés dans la littérature :

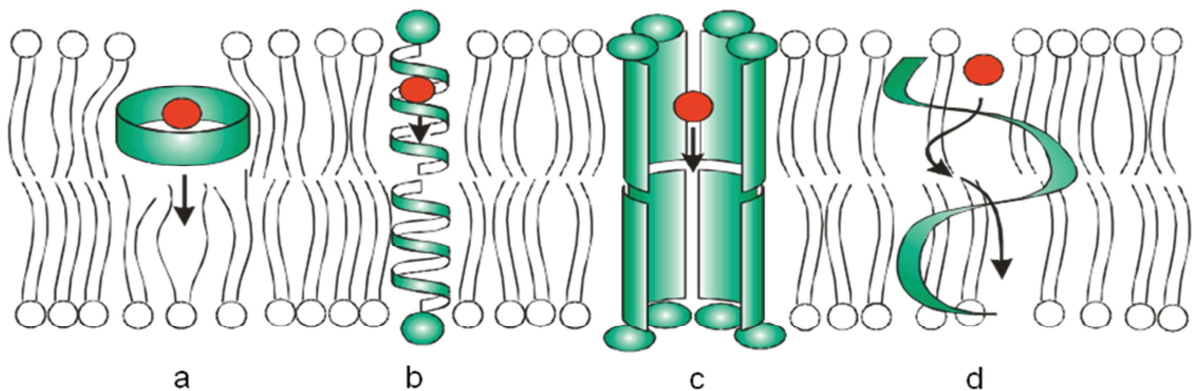


Figure 5 : Mécanismes naturels rencontrés dans les systèmes de transport : (a) Valinomycine ou Lasalocide (transport passif), (b) Gramicidine (transport passif), (c) Amphotéricine B (transport passif à travers des canaux) et (d) Melittine (agents destructifs)

La Valinomycine (**Figure 6**) est une petite molécule cyclique (dodécadepsipeptide) qui agit comme un transporteur passif et qui entraîne la perméabilisation des membranes biologiques à l'ion potassium. C'est un ionophore neutre dont la structure consiste en une alternance d'énantiomères D et L de la Valine, D-acide hydroxyvalérique et L-acide lactique. La coordination avec les ions potassium se fait par l'intermédiaire des atomes d'oxygène des fonctions ester. Le modèle structural de la valinomycine est semblable aux éthers couronne qui encapsulent les ions avec une grande sélectivité. L'extérieur hydrophobe du complexe permet la traversée des membranes cellulaires. La sélectivité à l'ion potassium et la vitesse de transport (10^8 ions/s)¹³ ont été intensivement étudiées et certaines analyses de transport utilisent des vésicules avec de la Valinomycine pour étudier le transport de protons à travers des canaux synthétiques. Le **Lasalocide A**, un antibiotique polyéther carboxylique, est aussi une protéine de transport qui est capable de former des complexes neutres avec des cations

¹³ Stark, G., Ketterer, B., Benz, R., Lauger P., *Biophys. J.*, **1971**, 11, 981.

monovalents ou divalents encapsulés et de les transporter à travers le domaine apolaire de la membrane.

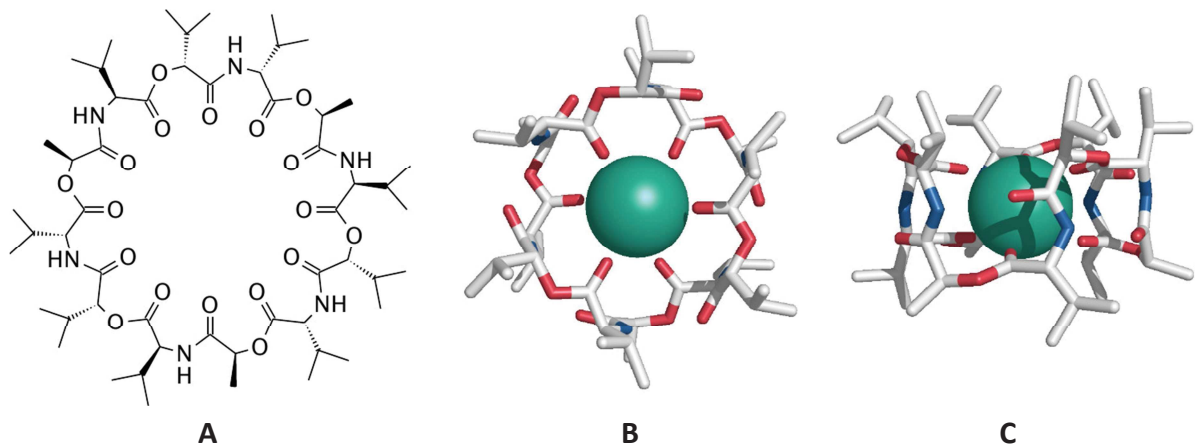


Figure 6 : La molécule circulaire de la Valinomycine contenant des liaisons ester et amide et des chaînes latérales hydrophobes (A), la Valinomycine, enveloppe étanche autour d'un ion potassium, vue d'en haut (B), et vue latérale (C)

Un autre type de canal rencontré dans les systèmes naturels, la **Gramicidine**,^{14,15} représente une source d'inspiration particulièrement intéressante. La Gramicidine est un transporteur passif et le plus simple canal ionique naturel connu. Son activité, en termes de conduction ionique, a pu être améliorée en modifiant chimiquement sa structure. Récemment, un système totalement artificiel simple, reproduisant ses fonctions, a été réalisé. Il s'agit d'un pentadécapeptide présent souvent sous forme de dimères dans la membrane cellulaire (**Figure 5, b**). Les Gramicidines sont, en effet, un mélange peptidique isolé du *Bacillus brevis* contenant trois peptides individuels Gramicidine A, B et C dans un rapport de 80:5:15,4, respectivement. L'alternance des acides aminés D et L forme une structure qui peut être écrite comme OHCNH-L-Val-Gly-L-Ala-D-Leu-L-Ala-D-Val-L-Val-D-Val-L-Trp-D-Leu-L-XXX-D-Leu-L-Trp-D-Leu-L-Trp-CONH-CH₂CH₂OH, où la partie **XXX** est le Trp en Gramicidine A (gA), la Phe en gB et la Tyr en gC. Ce peptide dimérise de façon N-terminal-N-terminal ou « tail-to-tail » attaché par des liaisons hydrogène, pour former une β -hélice d'approximativement 4Å de diamètre intérieur, de même longueur que l'épaisseur de la membrane qu'elle franchit (**Figure 7**). Ce dimère constitue, en fait, **le pore de passage ionique**, rempli de molécules d'eau. L'intérieur de l'hélice est hydrophile, afin de permettre la compatibilité avec les ions et l'extérieur est hydrophobe, formé par les chaînes latérales des acides-aminés, afin de pouvoir s'insérer dans la membrane lipophile.

¹⁴ Kelkar, D.A., Chattopadhyay A., *Bioch. Bioph. Acta – Membranes*, **2007**, 2011 (Review).

¹⁵ Woolley, G.A., Wallace, B.A., *J. Membr. Biol.*, **1992**, 129, 109.

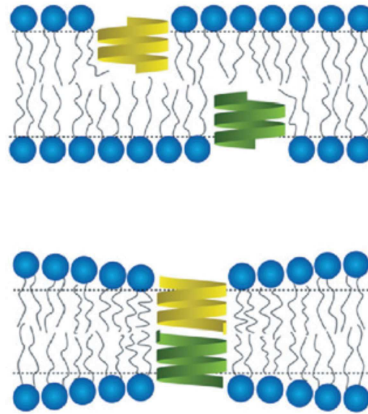


Figure 7 : Structure du canal de la Gramicidine A et les deux états possibles au sein de la membrane plasmique¹⁰

La Gramicidine A a un mode de fonctionnement différent de celui d'autres protéines contenant des hélices, à l'intérieur desquelles l'ion ne peut pas passer, du fait d'une constriction stérique (comme dans le cas du canal potassique KcsA par exemple).

Au contraire, les caractéristiques structurales et fonctionnelles, qui font de la Gramicidine A un modèle très intéressant à étudier, sont sa capacité à franchir la membrane en mono-hélice (une petite partie peut former une double hélice), sa préférence pour la conduction des ions monovalents et le fait qu'elle bloque les ions divalents. Les capacités enregistrées pour le transport de Na⁺ et de K⁺ sont de l'ordre de 10⁷ ions/s. Les vitesses de transport sont aussi remarquables, de 9,3x10⁻⁵ cm/s pour les molécules d'eau et 3x10⁻⁵ cm/s pour les protons.¹⁶

Un autre type de transporteur monomoléculaire est l'**Amphotéricine B (AmB)**. Il s'agit d'une molécule naturelle qui peut former des canaux ioniques dans les membranes des organismes eucaryotes, utilisée pour cette raison comme un antibiotique antifongique. Elle fait partie de la famille des polyènes macrolides et, à nouveau, sa structure détermine ses fonctions. Elle a la capacité d'augmenter la perméabilité des membranes lipidiques aux ions, molécules d'eau et non-électrolytes, après l'attachement au cholestérol ou autres stérols (**Figure 8**).¹⁷ Il a été prouvé que l'AmB, tout comme la Nystatine (son homologue lipidique) peut former des pores d'eau avec un diamètre d'approximativement 4Å dans les membranes.

¹⁶ Greisen, Jr., P., Lum, K., Ashrafuzzaman, Md., Greathouse, D.V., Andersen, O.S., Lundbaek, J. A., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **2011**, 108, 12717.

¹⁷ Gray, K.C., Palacios, D.S., Dailey, I., Endo, M.M., Uno, B.E., Wilcock, B.C., Burke, M.D., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **2012**, 109, 2234.

Cette activité peut être analysée par des techniques de conductance.¹⁸ Structuellement, l'AmB est une molécule amphiphile : elle contient une fonction mycosamine polaire et une queue hydrophobe en contact avec la région hydrophobe de la membrane. L'agrégation de quelques monomères est dictée par les fonctions HO⁻ (**Figure 5**, c). L'intérieur du canal est assez grand pour permettre le passage des ions hydratés, contrairement à la Gramicidine, où les ions doivent d'abord se libérer de leur sphère d'hydratation avant de traverser le canal.

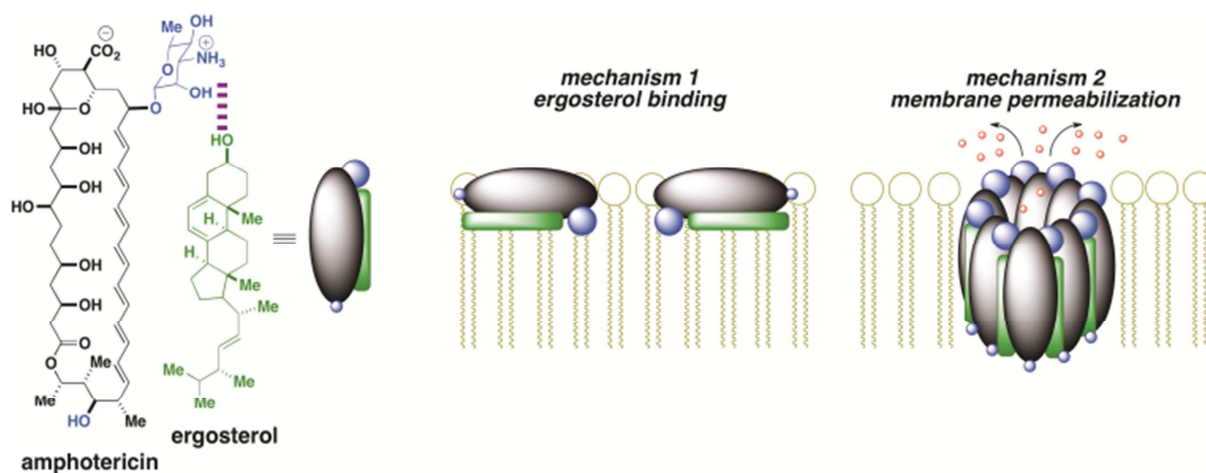


Figure 8 : Mécanisme de la perméabilisation de la membrane cellulaire par l'Amphotéricine B après attachement à l'ergostérol

Une protéine canal qui présente une porte sélective pour le passage des protons est la **protéine M2 du virus de l'Influenza A**¹⁹ (**Figure 9**). Cette macromolécule à l'activité pH-dépendante a la propriété de traverser intégralement l'enveloppe virale. Il s'agit d'un homotétramère (formé d'une unité C-terminale, de quatre domaines transmembranaires et d'une unité N-terminale), dans lequel les unités sont des hélices stabilisées par le biais des ponts de type disulfure. La protéine M2 est activée par la diminution du pH et la conduction du proton qu'elle assure est essentielle pour la réplication virale. Ce sont les domaines transmembranaires qui jouent le rôle de canal à proton. Le mécanisme est gouverné par une unité clé d'histidine (His37) qui reçoit un proton d'un ion hydronium à travers une liaison hydrogène pour le céder ensuite à une molécule d'eau toujours via une liaison hydrogène.²⁰ Les tryptophanes (Trp41) jouent le rôle de bloqueurs pH-dépendants.²¹ Quand le pH baisse,

¹⁸ Ermishkin, L.M., Kasumov, K., Potzeluyev, M., *Nature*, **1976**, 698.

¹⁹ Pinto, L.H., Dieckmann, G.R., Gandhi, C.S., Papworth, C.G., Braman, J., Shaughnessy, G.A., Lear, J.D., Lamb, R.A., DeGrado, W.F., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **1997**, 94, 11301.

²⁰ Phongphanphane, S., Rungrotmongkol, T., Yoshida, N., Hirata, F., *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, 132, 9782.

²¹ Schnell, J.R., Chou, J.J., *Nature*, **2008**, 451, 591.

les groupements indole des tryptophanes subissent une rotation, l'histidine se protone et le canal permet le passage des protons.

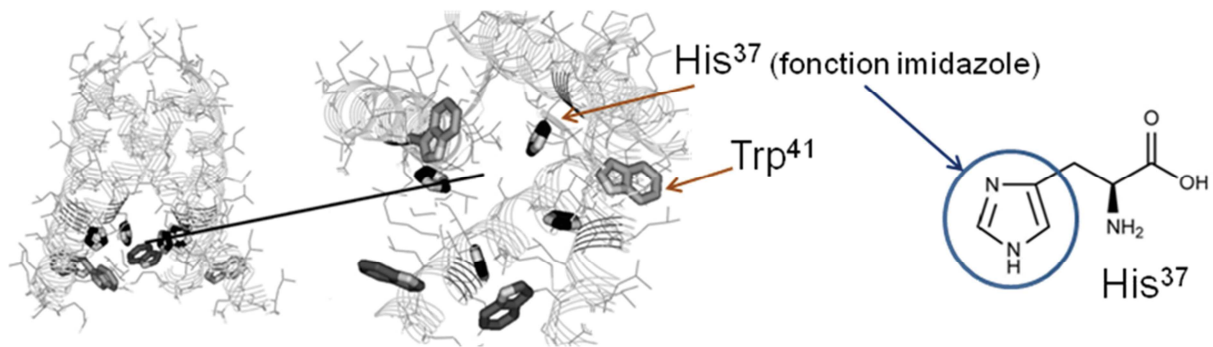


Figure 9 : Représentation cristallographique de la protéine M2 du virus de l'influenza A. On observe le quartet d'imidazoles de l'acide aminé His³⁷, qui constitue le passage sélectif pour les protons¹⁹

Les canaux potassiques jouent un rôle primordial dans la régulation du potentiel de membrane et la transduction du signal. Roderick MacKinnon (prix Nobel, 2003) a déterminé par Diffraction de Rayons X (DRX) la structure 3D du **canal potassique KcsA**, une protéine activée électriquement et responsable de la transmission des signaux électriques dans les membranes cellulaires.^{22,23} La résolution de la structure a permis d'expliquer pourquoi cette protéine transporte l'ion potassium à une vitesse proche de sa limite de diffusion (10⁸ ions potassium par seconde), alors que l'ion sodium, qui pourtant est plus petit, n'est pas transporté. Cette affinité pour l'ion potassium est très impressionnante et de nombreuses études ont tâché de déchiffrer le fonctionnement de cette interaction. Les techniques structurales, électro-physiologiques et de dynamique moléculaire mobilisées ont permis de « visualiser » les changements de conformation de la protéine.

En fait, cette protéine, isolée du *Streptomyces lividans*, a une structure formée de quatre sous-unités identiques, chacune contenant deux hélices alpha, connectées par une boucle d'approximativement 30 acides aminés (**Figure 10**). Le pore n'a pas le même diamètre tout au long du canal. En partant de l'intérieur de la cellule, on trouve tout d'abord un pore intérieur, puis une cavité plus large et ensuite le filtre sélectif qui sépare la cavité de la solution extracellulaire. Le pore intérieur et la cavité sont hydrophobes. Par contre, le filtre sélectif contient principalement des chaînes polaires, qui font partie de la « séquence de signature », responsable de la haute sélectivité pour le potassium. Lorsque les ions du milieu

²² Doyle, D.A., Cabral, J.M., Pfuetzner, R.A., Kuo, A., Gulbis, J.M., Cohen, S.L., Chait, B.T., MacKinnon, R., *Science*, **1998**, 280, 69.

²³ MacKinnon, R., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2004**, 43, 4265.

extracellulaire passent dans le filtre sélectif, les groupements carbonyles du filtre complexent les ions K^+ , qui perdent alors leur sphère d'hydratation. L'ion sodium ou les ions divalents ne sont pas bien stabilisés et ne peuvent pas traverser le canal à cause d'une incompatibilité stérique et énergétique.²⁴



Figure 10 : Structure tétramère du canal potassique *KcsA*. Les cations K^+ sont représentés en jaune

Les canaux d'eau naturels existant dans nombre de cellules vivantes sont constitués par une classe de protéines particulières. Les **aquaporines** (Peter Agre, Prix Nobel, 2003) sont des protéines tétramères, qui peuvent accomplir le rôle de transport sélectif des molécules d'eau, inhibant le transfert de protons vers le milieu intracellulaire.²⁵ Les aquaporines sont des canaux d'eau efficaces et très sélectifs. La sélectivité est une propriété importante, car le transport des autres solutés dans la cellule peut modifier le pH interne et la concentration en sels. Ce blocage du passage des protons et des ions est essentiel pour maintenir le gradient électrochimique à travers les membranes cellulaires. Structurellement, c'est l'orientation opposée des dipôles d'eau à l'intérieur de la protéine qui bloque le passage des protons.

Plusieurs groupes de recherche ont mené des expériences de simulations moléculaires dynamiques pour étudier le mécanisme simultané de transport de l'eau et de l'exclusion du proton. Pour obtenir plus de renseignements, le groupe de **K. Schulten** a réalisé une simulation de 12 nanosecondes, qui définit la probabilité de distribution spatiale et temporelle et l'orientation d'un fil unimoléculaire de sept à neuf molécules d'eau dans le canal. L'explication a été de l'ordre structural car différentes régions sont responsables de la haute sélectivité. L'observation a été que deux asparagines de l'aquaporine forcent une molécule

²⁴ Egwolf, B., Roux, B., *J. Mol. Biol.*, **2010**, 401, 831.

²⁵ Agre, P., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2004**, 43, 4278.

d'eau centrale à servir uniquement en tant que donneur de liaisons hydrogène aux acides aminés, ce qui change l'orientation dipolaire dans le canal et interdit un transport de protons.²⁶

En même temps, **de Groot et Grubmüller**²⁷ ont étudié le mécanisme de l'exclusion du proton dans l'aquaporine 1 (Aqp1) en utilisant des simulations de dynamique moléculaire (MDS). Ils ont ainsi déterminé le profil d'énergie libre correspondant au mouvement du proton à travers le canal. La conclusion a été que la barrière principale n'était pas causée par l'interruption de la chaîne de l'eau liée par des liaisons hydrogène, mais par un champ électrostatique centré autour du motif Asn-Pro-Ala (NPA) (**Figure 11**). L'interruption de la liaison hydrogène ne constitue en fait qu'une barrière secondaire. La valeur d'énergie calculée de 25-30 kJ mol⁻¹ est la même que l'énergie nécessaire pour le passage des protons à travers les bicouches lipidiques, donc suffisante pour permettre le passage des protons à travers les aquaporines. Pourtant, chaque sous-unité du tétramère contient un pore aqueux individuel qui permet le passage des molécules d'eau de façon unimoléculaire, à une vitesse de 3x10⁹ molécules/s, mais qui interrompt l'association des liaisons hydrogène nécessaire au passage des protons.

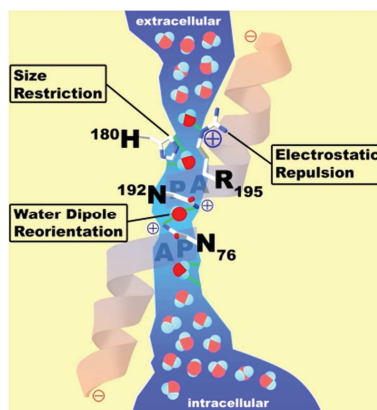


Figure 11 : Passage de l'eau à travers Aqp1 en fil unimoléculaire comportant trois fonctions importantes : la restriction stérique, la répulsion électrostatique et la réorientation du dipôle des molécules d'eau²³

²⁶ Tajkhorshid, E., Nollert, P., Jensen, M.Ø., Miercke, L.J., O'Connell, J., Stroud, R.M., Schulten, K., *Science*, **2002**, 296, 525.

²⁷ De Groot, B.L., Grubmüller, H., *Science*, **2001**, 294, 2353.

Ces exemples de quelques canaux ioniques naturels ne sont qu'une sélection permettant d'illustrer la diversité de ce type de systèmes de transport dans le monde biologique. Au-delà de leur complexité, ce qui les caractérise c'est leur haute sélectivité, à l'image des gardiens des cités antiques qui ne laissent passer à travers les portes que les commerçants ou les amis, et interdisent le passage des étrangers. Le **Tableau 2** récapitule les canaux ioniques les plus représentatifs, que nous avons présentés :

Tableau 2 : Récapitulatif des canaux ioniques décrits

Canal ionique	Sélectivité	Caractéristiques structurales
Valinomycine	K^+	Dodécadepsipeptide cyclique
Gramicidine A	Ions monovalents (Na^+ , K^+), eau, protons, bloque les ions divalents	Pentadécapeptide, dimère
Amphotéricine B	K^+ , Na^+ , H^+ , Cl^-	Polyénemacrolyde, amphiphile
Protéine M de l'Influenza A	H^+ , H_2O	Homotétramère
Canal potassique KcsA	K^+ , bloque l'ion sodium	Tétramère
Aquaporine	H_2O , bloque les protons	Tétramère

Les recherches ont été d'abord menées dans le but de comprendre ces mécanismes d'une grande complexité. Une fois que ces systèmes ont dévoilé leur secret, les chercheurs ont essayé de les imiter. Bien sûr, l'imitation ne va jamais égaler la valeur du modèle, mais ce n'est pas parce qu'un peintre ne peut pas reproduire à l'identique la nature qu'il va cesser de la représenter. Le biomimétisme est un domaine en plein essor aujourd'hui, d'autant plus que les exemples que la nature offre sont très variés et ont montré leur infailibilité. C'est dans cette dynamique que se situe notre premier axe de recherche de ce travail. Avant d'aborder les protocoles expérimentaux et nos résultats, nous présenterons quelques apports de la recherche sur le biomimétisme membranaire et la fabrication de canaux artificiels sur lesquels nous avons fondé la recherche.

1.2 Membranes bio-assistées

Résumé : Le sujet de cette sous-section se situe à la frontière du biologique et du synthétique : il résume quelques exploits scientifiques « **hybrides** » où les systèmes naturels de transport (comme les aquaporines) sont insérés dans des matrices synthétiques (des vésicules polymères ou des membranes utilisées pour la filtration de l'eau) pour tirer profit de la combinaison entre la grande perméabilité à l'eau des Aqp et le rejet de certains sels. Cette approche pourrait être utilisée également pour l'étude du transport de diverses molécules à travers des protéines transmembranaires.

Lorsque la communauté scientifique a réalisé le grand rôle que les systèmes biologiques de transport peuvent jouer dans la communication entre les deux milieux qu'une membrane sépare, les chimistes ont essayé d'incorporer ces espèces dans des membranes artificielles. L'utilisation de peptides ou de protéines dans des membranes polymères, modifiées à travers des techniques de bio-ingénierie a alors pris un grand essor.²⁸

Kumar et al.²⁹ ont étudié les caractéristiques de perméabilité et de transport de vésicules de polymères amphiphiles contenant la protéine transmembranaire **Aquaporine Z** (AqpZ). Il est apparu que ces vésicules polymères qui incorporent AqpZ ont conduit à un phénomène accru de transport par rapport aux membranes polymères classiques. Les vésicules ont été composées à partir d'un polymère block contenant trois unités répétitives symétriques : poly-(2-méthylloxazoline)-poly-(diméthylsiloxane)-poly-(2-méthylloxazoline). La perméabilité à l'eau des vésicules ainsi obtenues a été augmentée d'un ordre de grandeur par rapport aux membranes classiques.

Les expériences de diffusion dynamique de la lumière (DLS) réalisées sur les vésicules de polymère sans aquaporine ont montré que celles-ci sont complètement imperméables aux molécules d'eau. Quand l'AqpZ a été incorporée, une augmentation de la production d'eau (perméabilité par unité de force motrice) jusqu'à 800 fois plus importante a été mesurée. L'énergie d'activation nécessaire au transport d'eau dans les vésicules de protéine – polymère (3,4 kcal/mol) correspond à celle rapportée dans le cas du transport à travers les canaux d'eau dans les membranes lipidiques. Ces membranes synthétiques ont prouvé également leur rôle dans le rejet total du glucose, glycérol, sels et urée.

Quelques membranes plasmiques ont une perméabilité et une sélectivité pour l'eau qui dépassent largement celles des membranes commerciales utilisées pour le dessalement, grâce à la présence des aquaporines. Néanmoins, le transport très sélectif à travers ces protéines est

²⁸ Tang, C.Y., Zhao, Y., Wang, R., Hélix-Nielsen, C., Fane, A.G., *Desalination*, **2013**, 308, 34.

²⁹ Kumar, M., Grzelakowski, M., Zilles, J., Clark, M., Meier, W., *PNAS*, **2007**, 104, 20719.

causé par la pression osmotique, et non pas par une pression mécanique, ce qui n'est pas attractif du point de vue de conception industrielle. Une alternative serait de concevoir des membranes biomimétiques qui puissent permettre une filtration biomembranaire, afin d'accroître l'efficacité (au niveau industriel) en termes de grande production.

Le groupe de **Kaufman**³⁰ a montré pour la première fois qu'il est possible de moduler les interactions moléculaires des couches phospholipidiques supportées pour obtenir une conductivité hydraulique comparable aux perméabilités osmotiques typiques des bicouches continues. La bicouche phospholipidique supportée sur des substrats perméables peut être utilisée comme plateforme pour la filtration biomimétique. Ils ont utilisé une membrane de nanofiltration (NF) comme support d'une bicouche lipidique biomimétique, pour pouvoir offrir une stabilité mécanique à la pression appliquée.

Les canaux bio-hybrides semi-synthétiques qui modifient les canaux ioniques biologiques ont été créés soit pour comprendre le fonctionnement des canaux dans la nature (à travers des mutations), soit pour y greffer des fonctions organiques nouvelles. Un exemple de ce type de molécules « hybrides », sont les bio-canaux qui modifient la gramicidine. Comme nous l'avons vu auparavant, la gramicidine présente un haut degré de sélectivité, malgré sa structure simple. De nombreux chercheurs ont essayé de modifier cet oligopeptide avec des unités synthétiques afin d'améliorer la sélectivité, avec un éther couronne,³¹ par exemple (**Figure 12**). Pourtant, même si ce type de canal modifié a montré une faible conductance, des sélectivités différentes de celles de la gramicidine naturelle ont été obtenues.

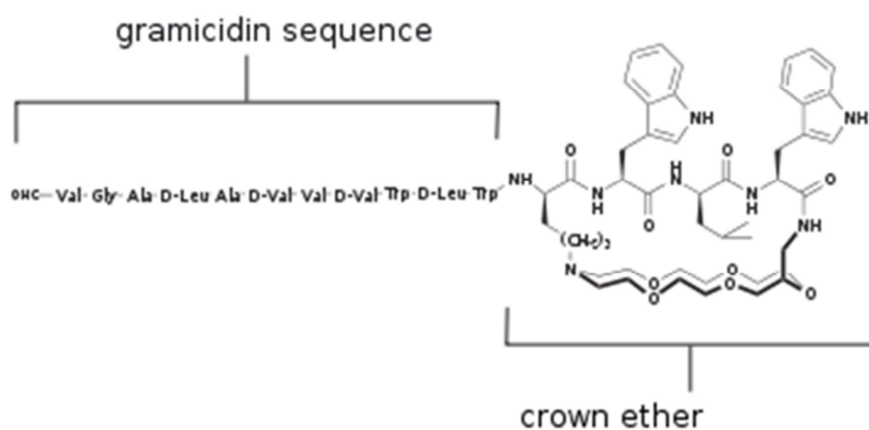


Figure 12 : Gramicidine modifiée avec un éther couronne

³⁰ Kaufman, Y., Berman, A., Freger, V., *Langmuir*, **2010**, 26, 7388.

³¹ Pfeifer, J.R., Reiß, P., Koert, U., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2006**, 45, 501.

1.3 Membranes artificielles et canaux synthétiques

Résumé : Après avoir vu quelques modèles structurels naturels, nous allons illustrer dans cette sous-section comment les chimistes ont essayé de s'en inspirer et de définir des critères de design de molécules pour synthétiser de nouvelles unités fonctionnelles. Tout d'abord, nous décrivons les types de transport rencontrés et les transporteurs ioniques associés. Ensuite, nous présenterons quelques molécules d'intérêt pour la conception très élégante des **canaux ioniques synthétiques** (Matile, Gokel, Barboiu). Enfin, nous décrivons, de façon chronologique, trois approches qui ont conduit au développement des canaux d'eau synthétiques à base de dendrimères di-peptidiques, de quartets d'imidazole et d'hydrazides pillar[5]arènes. Enfin, nous justifions pourquoi nous nous sommes focalisés sur l'imidazole dans le cadre de cette recherche.

Après la fabrication des membranes bio-assistées, les chimistes et les ingénieurs biochimistes ont essayé de comprendre et d'imiter la structure et le fonctionnement des systèmes complexes d'échanges présents dans le monde du vivant. Les systèmes de transport synthétiques ont été intensivement étudiés afin d'obtenir des propriétés de conduction ionique à travers les membranes, semblables aux performances des systèmes naturels. Quelques revues scientifiques compilent les résultats les plus significatifs dans ce champ d'étude.^{32,33,34,35,36}

Les systèmes de transport synthétiques, à l'instar des systèmes biologiques, sont très variés structurellement et fonctionnellement. Ils peuvent être classifiés selon plusieurs critères. Selon le mécanisme de transport, on trouve par exemple les **transporteurs passifs et les transporteurs actifs**. Les transporteurs passifs (les canaux ioniques et les pores) fonctionnent dans le sens du gradient de concentration ou du gradient électrochimique (par symport ou par antiport, **Figure 13**). Les transporteurs actifs fonctionnent quant à eux contre le gradient de concentration et peuvent se déplacer d'un côté à l'autre de la membrane pendant le transport (ex. : les pompes ATP-dépendantes).

³² Gokel, G.W., Mukhopadhyay, A., *Chem. Soc. Rev.*, **2001**, 30, 274.

³³ Fyles, T.M., *Chem. Soc. Rev.*, **2007**, 36, 335.

³⁴ Matile, S., Som, A., Sordé, N, *Tetrahedron*, **2004**, 60, 6405

³⁵ Sisson, A.L., Shah, M.R., Bhosale, S., Matile, S., *Chem. Soc. Rev.*, **2006**, 35, 1269.

³⁶ Matile, S., Jentzsch, A.V., Montenegro, J., Fin, A., *Chem. Soc. Rev.*, **2011**, 40, 2453.

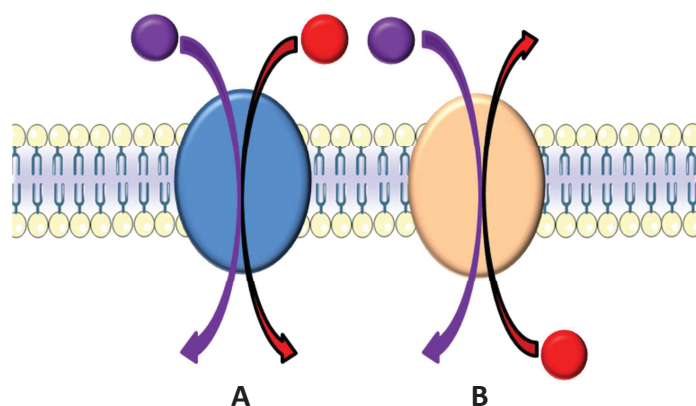


Figure 13 : Transport passif à travers les membranes par symport (A) ou antiport (B) dans le cas des pores et des canaux ioniques

Avant de passer à la synthèse des systèmes synthétiques de transport, il faut construire **un modèle** défini selon quelques critères. Tout d'abord, du point de vue de la structure, le design des systèmes synthétiques de transport doit répondre à quelques contraintes :

- Longueur d'approximativement 4 nm, pour permettre aux supramolécules de traverser les deux couches de la membrane cellulaire ;
- Diamètre interne assez grand pour accueillir les ions ;
- Poids moléculaire de la supramolécule de l'ordre de 3-4 kDa (beaucoup plus grand que celui des molécules organiques simples) ;
- Forme tubulaire ou agrégats, avec un intérieur hydrophile et une partie extérieure hydrophobe : il faut donc penser à des molécules amphiphiles ;
- Formation des liaisons de stabilisation entre les unités monomères qui forment la supramolécule, mais également entre le système de transport et les particules transportées (interactions de nature électrostatique, liaisons hydrogène) : il faut donc envisager dans la conception de la molécule qu'elle contienne des groupements donneurs et/ou accepteurs ;
- Existence de groupements apolaires qui peuvent interagir à travers des contacts hydrophobes avec les parties hydrocarbonées de la membrane.

Ce modèle peut être ensuite adapté, en fonction des aspects spécifiques recherchés. Il doit répondre aux **principes de la chimie supramoléculaire** : la pré-organisation, la complémentarité, la sélectivité et la reconnaissance moléculaire vis-à-vis de la particule transportée. La reconnaissance moléculaire des ions dans le filtre sélectif est basée sur les interactions faibles entre les ions de type donneur-accepteur de protons. De plus, le contrôle

du site actif en termes de dimension de passage et topologie, permet la discrimination stérique entre les ions. Les charges apportent un contrôle électrostatique supplémentaire.

L'auto-assemblage supramoléculaire des canaux ioniques permet la création de matériaux membranaires. Un nombre important de systèmes artificiels a été conçu pour le transport transmembranaire des ions et des solutés organiques. Pourtant, le champ de recherche portant sur le transport des molécules d'eau à travers des supramolécules synthétiques est assez récent.

Cette section présente quelques exemples de **systèmes membranaires de transport** ionique et des molécules d'eau. Due à la grande diversité de structures et de fonctions que la pléthore de canaux ioniques synthétiques comporte, une description exhaustive serait impossible. Pourtant, en simplifiant, on peut considérer que les canaux peuvent être divisés en deux grandes catégories selon leur structure :

1. Structures unimoléculaires tubulaires ;³⁷
2. Structures multimoléculaires sous forme d'agrégats ;³⁸ l'auto-assemblage est contrôlé par des molécules pré-organisées qui forment le canal synthétique.

Contrairement aux structures tubulaires constituées d'une seule molécule, l'utilisation des canaux sous forme d'agrégats est plus facile, car la synthèse est plus simple et la fonctionnalisation peut se faire en fonction des supra-structures à obtenir.

Fonctionnellement, il y a une grande complexité de molécules, mais on peut énumérer ici quelques classes :

- **Peptides** – structures de type tonneau (baguettes rigides) ;
- **Macrocycles** (amides, cyclodextrines, calixarènes, éthers-couronnes, uréido-éthers-couronnes et aza-éthers couronnes ;
- **Peptides décorés avec des éthers couronnes**^{39,40} ;

³⁷ Muraoka, T., Shima, T., Hamada, T., Morita, M., Takagi, M., Tabata, K.V., Noji, H., Kinbara, K., *J. Am. Chem. Soc.*, **2012**, *134*, 19788.

³⁸ Fyles, T.M., Tong, C., *New J. Chem.*, **2007**, *31*, 655.

³⁹ Ghadiri, M.R., Granja, J.R., Buehler, L.K., *Nature*, **1994**, *369*, 301.

⁴⁰ Vandenburg, Y.R., Smith, B.D., Biron, E., *ChemComm*, **2002**, 1694.

Le tout premier canal ionique synthétique a été rapporté en 1982, par Tabushi, qui a utilisé une β -cyclodextrine, inspirée du mode de fonctionnement de la gramicidine.⁴¹

Depuis, en même temps que l'explication du fonctionnement et le dévoilement de la structure des protéines de transport, la palette des systèmes synthétiques s'est développée à grands pas. Dans les paragraphes qui suivent nous en donnons quelques exemples.

Le groupe de **S. Matile** (Université de Genève, Suisse) a développé une classe de composés supramoléculaires peptidiques (baguettes rigides – « rigid rods β -barrels »).⁴² Ce sont des pores cylindriques octapeptidiques, qui ont un squelette interne de p-octaphényle. Cet axe a une longueur de 4 nm, similaire à l'épaisseur de la membrane qu'il doit traverser (**Figure 14**). Les peptides s'auto-assemblent en feuillet de type β , et c'est l'angle de torsion entre deux cycles aromatiques qui donne la forme cylindrique aux pores. L'axe de p-octaphényle peut être décoré par des acides aminés différents, dans différentes positions. Egalement, l'axe peut avoir des longueurs variables, selon le nombre de groupements phényle incorporés.

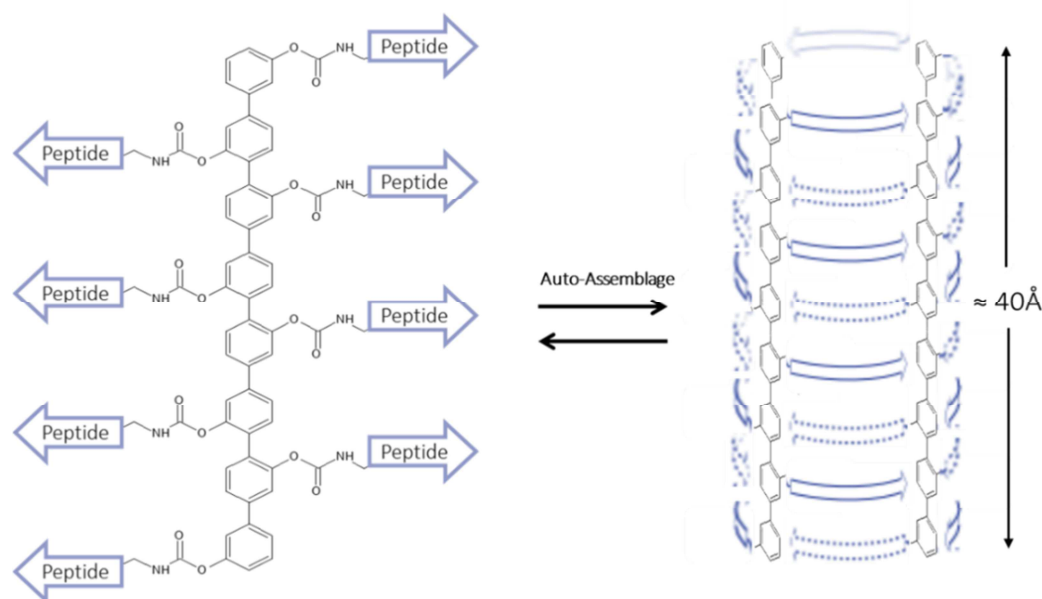


Figure 14 : Représentation schématique de l'auto-assemblage des baguettes rigides, décorées par des peptides

⁴¹ Tabushi, I., Kuroda, Y., Yokota, K., *Tetrahedron Letters*, **1982**, 23, 4601.

⁴² Sakai, N., Mareda, J., Matile, S., *Acc. Chem. Res.*, **2005**, 38, 79.

G.W. Gokel (Université de Missouri, Saint Louis) et son groupe de recherche ont élaboré une classe de canaux ioniques synthétiques, les **hydraphiles**.⁴³ Ils ont utilisé des macrocycles diaza-éther18-couronne-6 comme groupements pour assurer la conduction ionique. Les chaînes de l'espaceur hydrophobe connectent les groupes d'éther couronne et donnent à la molécule hydraphile une longueur suffisante pour traverser la membrane. Un troisième macrocycle central a le rôle de « passeur » de l'ion, comme dans une course de relais, et permet la stabilisation des cations transportés (**Figure 15**). Ces composés fonctionnent comme canaux ioniques, mais non seulement : ils sont utilisés en complément des antibiotiques comme la rifampicine, en augmentant jusqu'à 16 fois son efficacité.^{44,45} De plus, les relations structure-activité, l'évaluation de la cinétique et de la sélectivité ont été réalisées.⁴⁶

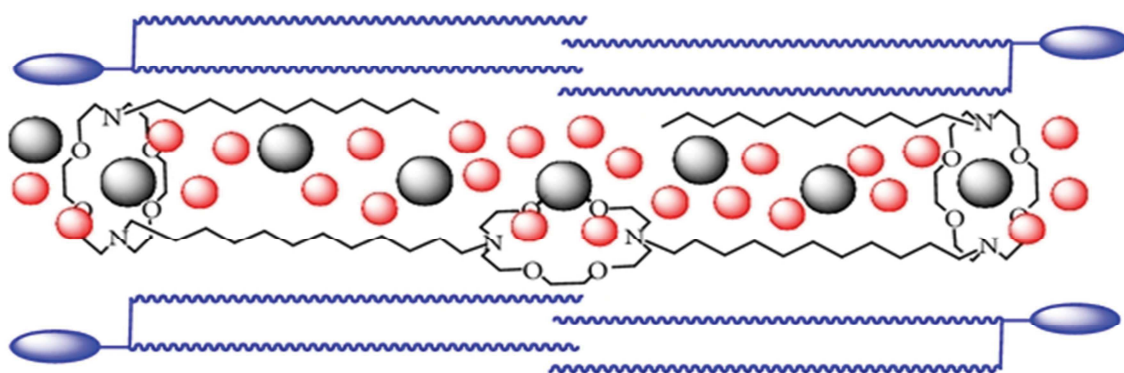


Figure 15 : Canal hydraphile dans la bicouche lipidique. Le substituant alkyle terminal de la tête polaire peut être de nature différente⁴⁷

⁴³ Gokel, G.W., Ferdani, R., Liu, J., Pajewski, R., Shabany, H., Uetrecht, P., *Chem.-Eur. J.*, **2001**, 7, 33.

⁴⁴ Gokel, G.W., Negin, S., *Advanced drug delivery reviews*, **2012**, 64, 784.

⁴⁵ Negin, S., Smith, B.A., Unger, A., Leevy, W.M., Gokel, G.W., *Int. J. Biomed.Imag.*, **2013**, Hindawi Publishing Corporation.

⁴⁶ Leevy, W.M., Gammon, S.T., Levchenko, T., Daranciang, D.D., Murillo, O., Torchilin, V., Piwnica-Worms, D., Huettner, J.E., Gokel, G.W., *Org. Biomol.Chem.*, **2005**, 3, 3544.

⁴⁷ Gokel, G.W., Mukhopadhyay, A., *Chem. Soc. Rev.*, **2007**, 36, 378.

Les travaux de recherche d'**Adinela Cazacu** (Montpellier), se sont concentrés sur le développement de nouveaux dérivés d'éthers couronnes⁴⁸ qui s'auto-assemblent grâce à des groupements urée. Ces composés forment des agrégats en solution et à l'état solide, où une conformation anti-parallèle est privilégiée, montrée par des analyses de DRX.

Au sein de bicouches lipidiques planaires se forment de canaux ioniques fonctionnels. L'auto-assemblage est dirigé par des liaisons hydrogène entre les groupements urée et produit des canaux en colonne, où les éthers-couronnes qui peuvent transporter des cations sont empilés (**Figure 16**).



Figure 16 : Auto-assemblage des composés uréido éthers-couronnes

Contrairement au transport ionique décrit, dans le cas du transport de molécules d'eau en fil unimoléculaire, les interactions entre le canal et l'eau polarisée sont plus complexes. Ces interactions s'établissent à travers des liaisons faibles, réversibles, de type liaison hydrogène, interactions dipolaires ou coordinatives.

Tout d'abord, la création de **nanotubes de carbone hydrophobes** (**Figure 17**) à travers lesquels les molécules d'eau passent en fil unimoléculaire permet d'atteindre une vitesse de transport de 99 cm/s, beaucoup plus grande que celle calculée par l'équation de Hagen-Poiseuille (qui décrit l'écoulement laminaire d'un liquide dans une conduite cylindrique). Ceci est dû au mouvement coopératif du réseau de liaisons hydrogène.⁴⁹ D'autres passages facilités de composés à travers des voies unimoléculaires ont été réalisés à l'aide des nanotubes de carbone insérés dans des matrices polymères.⁵⁰ Le flux obtenu a été de 5 molécules d'eau/ns à travers les membranes sous l'action d'un gradient osmotique similaire à celui existant dans les systèmes biologiques.

⁴⁸ Cazacu, A., Tong, C., van der Lee, A., Fyles, T.M., Barboiu, M., *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, 128, 9541.

⁴⁹ Hummer, G., Rasaiah, J.C., Noworyta, J.P., *Nature*, **2001**, 414, 188.

⁵⁰ Hinds, B.J., Chopra, N., Rantell, T., Andrews, R., Galavas, V., Bachas, L.G., *Science*, **2004**, 303, 62.

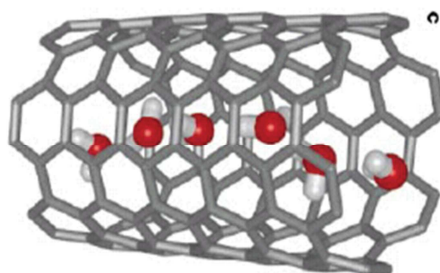


Figure 17 : Nanotube de carbone hydrophobe qui permet le passage de l'eau en fil unimoléculaire

Pour la première fois, la diffusion des molécules d'eau et le transport facilité et sélectif des protons à travers des membranes ont été mentionnés par **Percec et al.** Ils ont synthétisé des pores formés à l'aide de dipeptides dendritiques (**Figure 18**), capables de s'auto-organiser en assemblages stables grâce à des interactions π - π aromatiques. Ces interactions sont gouvernées par des processus de reconnaissance et d'auto-assemblage efficaces pour permettre le transport du proton et des molécules d'eau.

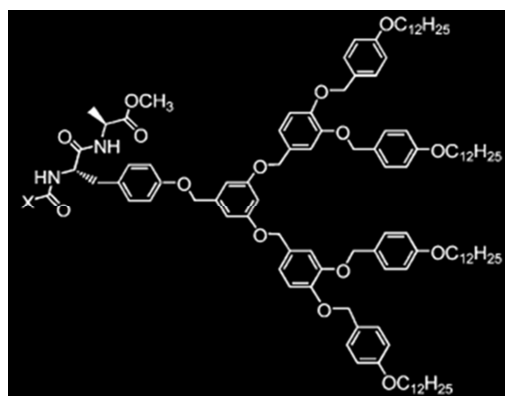


Figure 18 : Dipeptide dendritique utilisé pour la création de pores hélicoïdaux par auto-assemblage⁵¹

En 2011, **LeDuc et al.** ont proposé de nouvelles structures contenant le groupement imidazole, qui a un rôle très important dans le transport des espèces chargées à travers la membrane lipophile.⁵² Les quatre unités imidazole participent à la formation d'un système appelé quartet imidazole (I4). L'orientation des dipôles d'eau est d'une grande importance pour la régulation du transport sélectif des espèces chargées à travers la membrane.⁵³ En même temps, le potentiel dipolaire électrochimique est conservé à travers le canal.

⁵¹ Percec, V., Dulcey, A.E., Peterca, M., Ilies, M., Sienkowska, M.J., Heiney, P.A., *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 17902.

⁵² Le Duc, Y., Michau, M., Gilles, A., Gence, V., Legrand, Y.M., van der Lee, A., Tingry, S., Barboiu, M., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2011**, *50*, 11366.

⁵³ Barboiu, M., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2012**, *51*, 11674.

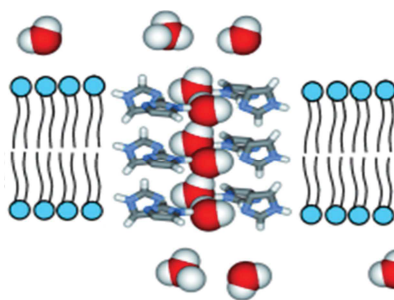


Figure 19 : Représentation schématique du passage des molécules d'eau à travers le canal formé par I4⁵²

Les unités d'imidazole ont une conformation asymétrique chirale de façon à s'adapter au fil d'eau polarisée emprisonnée. Les molécules d'eau à l'intérieur du canal sont stabilisées à travers des liaisons hydrogène qui s'établissent avec chacun des quatre groupements imidazole formant le quartet I4 (de la même façon que les quadruplexes de guanine (G4) sont stabilisés par l'accueil d'un cation) et avec une molécule d'eau voisine. Grâce à ces interactions, les groupements imidazole forment un canal tubulaire où la chiralité supramoléculaire du quartet et la polarisation imposée aux molécules d'eau sont étroitement liées. L'eau va présenter un dipôle permanent. Si le passage des ions est exclu, c'est à cause des effets stériques.

Le fonctionnement de ce système artificiel est similaire au fonctionnement de la protéine M2 du virus de l'Influenza A (M2A). Lorsque le quartet I4 se trouve en forme « off », le passage des protons est empêché, tout comme l'état inactif de M2A. Par contre, les protons diffusent quand la conformation de I4 est changée, toujours grâce aux molécules d'eau intra-canal.

Un autre système synthétique qui peut imiter un modèle naturel, le « canal-T »,⁵⁴ est constitué, cette fois-ci, par des unités triazole (TCT est l'abréviation de Triazole-C₆-Triazole, où C₆ est la chaîne alkyle de six atomes de carbone dans la molécule, **Figure 20 A**) et l'ensemble supramoléculaire peut être considéré comme un modèle primitif de la Gramicidine A. L'alignement du dipôle des molécules d'eau le long de la surface interne de ces pores influence la conduction des protons et des ions qui diffusent le long des voies hydrophiles dipolaires.

⁵⁴ Barboiu, M., Le Duc, Y., Gilles, A., Cazade, P.-A., Michau, M., Legrand, Y.M., van der Lee, A., Coasne, B., Parvizi, P., Post, J., Fyles, T., *Nature Comm.*, **2014**, 4142.

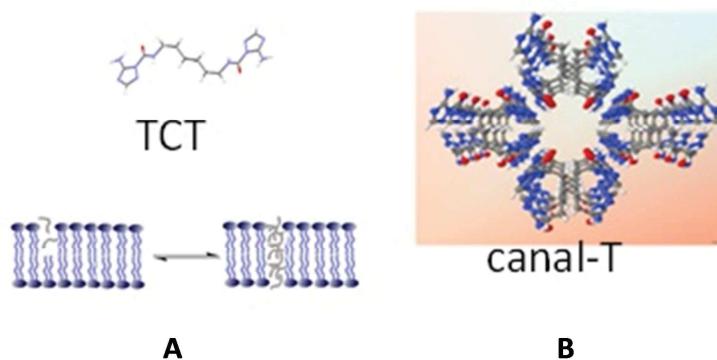


Figure 20 : Le canal-T. Structure cristallographique et insertion dans la membrane vésiculaire (A), le canal formé à l'état solide par la structure supramoléculaire (B)⁵⁴

Les similarités entre la gA et le canal-T regroupent une conduction efficace de protons et d'eau, une sélectivité cation vs. anion et l'état de canal ouvert à grande conductance. Les canaux-T qui associent la chiralité à l'ordre supramoléculaire et l'alignement dipolaire de l'eau peuvent constituer un homologue primitif synthétique de la Gramicidine A.

Récemment, **Hu et al.**⁵⁵ ont proposé un système très intéressant de structure amphiphile qui transporte exclusivement l'eau à travers les membranes, et qui bloque les protons. Cette structure a été réalisée à l'aide de la synthèse de dérivés de « **pillar[5]arène** » fonctionnalisés par des hydrazides. Ces molécules adoptent des conformations tubulaires (comme démontré par des études de DRX et de RMN¹H) construites grâce aux interactions hydrogène existantes entre les briques moléculaires de polyhydrazides. Les molécules ont été insérées dans les membranes lipidiques des vésicules afin de transporter l'eau à travers des canaux. Ce suivi a été réalisé par des études de diffusion dynamique de la lumière (DLS) et de cryo-microscopie à balayage (cryo-SEM). Cependant, le mécanisme de transport de l'eau dépend de la longueur de la super-molécule tubulaire. Par exemple, le tetraesterpillar[5]aryl, qui est le plus court membre de la série, permet la formation d'un fil d'eau à travers lequel les protons sont également transportés.⁵⁶

C'est l'introduction du groupement poly-hydrazide qui a permis l'alternance des domaines hydrophiles / hydrophobes dans le canal bloquant le passage du proton, tout comme dans les canaux d'eau biologiques (les aquaporines). Contrairement aux aquaporines, décrites auparavant, qui contrôlent le passage des molécules d'eau exclusivement grâce à l'orientation dipolaire opposée dans le canal, les pillar[5]arènes doivent leur sélectivité à une interruption du fil d'eau dans le canal. Effectivement, les études de diffraction de rayons X montrent des

⁵⁵ Hu, X.-B., Chen, Z., Tang, G., Hou, J.-L., Li, Z.-T., *J. Am. Chem. Soc.*, **2012**, *134*, 8384.

⁵⁶ Si, W., Chen, L., Hu, X.-B., Tang, G., Chen, Z., Hou, J.-L., Li, Z.-T., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2011**, *50*, 12564.

dimères d'eau dans la zone hydrophile de la colonne synthétique (« pillar »). Le plus long membre de la série (4,5 nm) s'insère parfaitement dans l'épaisseur de la membrane (**Figure 21**, structure 3) et permet un transport des molécules d'eau à une vitesse de $3,6 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$. Cette activité est dépendante du rapport entre la supramolécule active et les lipides membranaires.

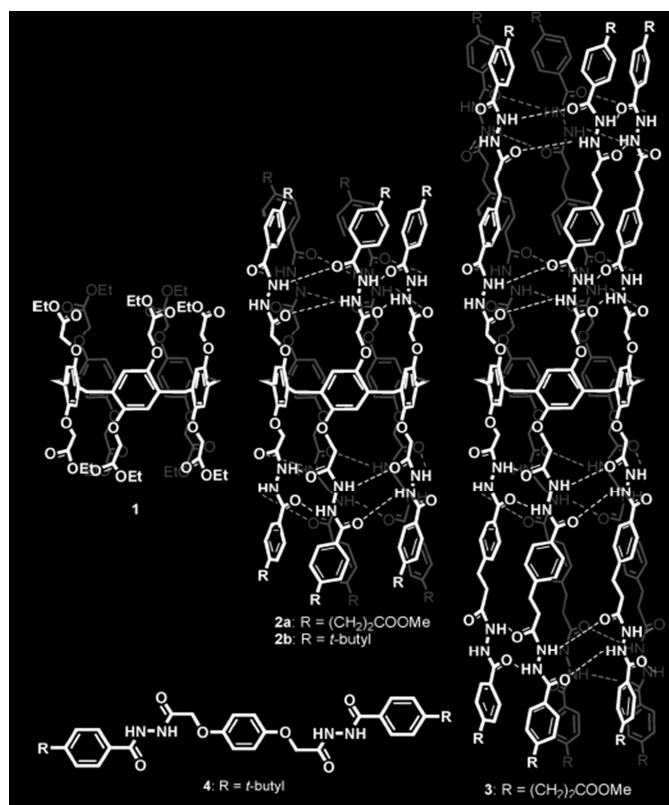


Figure 21 : Unité synthétique (4) et auto-assemblage (3) pour former des cylindres pentamères grâce aux liaisons hydrogène inter-moléculaires qui induisent la formation des structures tubulaires⁵⁵

Récemment, toujours à l'aide des **pillars[5]arènes modifiés** par des peptides contenant de l'arginine chargée positivement, un groupe de recherche de Shanghai a réussi à obtenir des canaux synthétiques dont l'activité de transport peut être contrôlée grâce au voltage appliqué.⁵⁷ De surcroît, ces composés ont montré une activité antimicrobienne ($IC_{50}=10 \mu\text{M}$) vis-à-vis de *Bacillus subtilis*, activité similaire au peptide naturel alaméthicine.

⁵⁷ Si, W., Li, Z.-T., Hou, J.-L., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2014**, 53, 4578.

En 2014, en utilisant des « aquafoldamères », Zeng et al. de Singapour, ont réussi à obtenir un transport de molécules d'eau en fil unimoléculaire.⁵⁸ Les « aquafoldamères » sont des supramolécules en spirale formées à partir d'unités qui contiennent des fragments pyridine et des amides, afin de former des liaisons hydrogène et de forcer les unités à se « replier » pour avoir un diamètre interne de $\sim 2,8\text{\AA}$ (comparable à celui des aquaporines), à travers lesquelles les molécules d'eau mais également les protons peuvent être transportés. Le transport de molécules d'eau est, dans ce cas, induit par un gradient de protons.

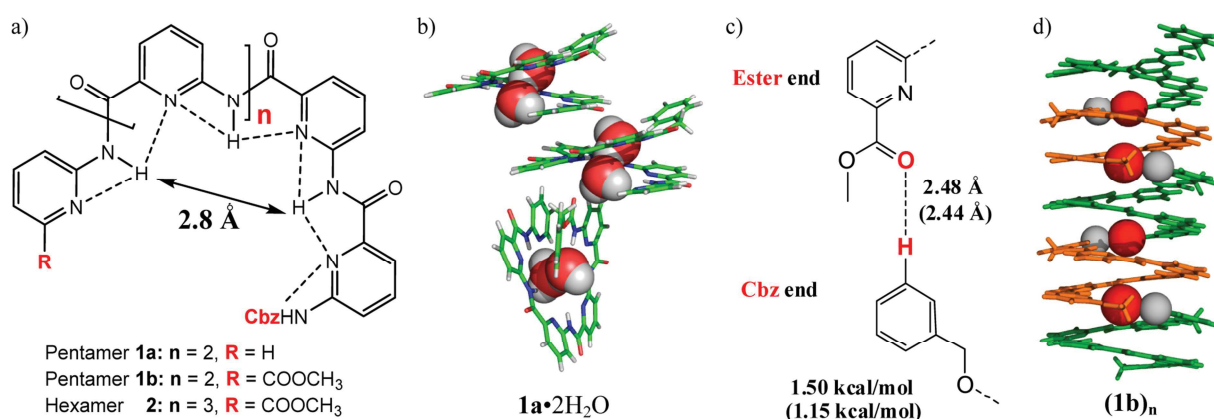


Figure 22 : Représentation des aquafoldamères : a) structure des aquafoldamères avec une cavité intérieure de $\sim 2,8\text{\AA}$, définie par les protons du groupement amide ; b) assemblage intermoléculaire du composé **1a** ; c) groupements fonctionnels complémentaires (ester et Cbz) de **1b** ; d) les atomes complémentaires d'oxygène et d'hydrogène sont représentés en rouge et gris, respectivement

⁵⁸ Zhao, H., Sheng, S., Hong, Y., Zeng, H., *J. Am. Chem. Soc.*, **2014**, 136, 14270.

Les transporteurs synthétiques d'anions ont également été étudiés. **Imidazoles, benzimidazoles, sels d'imidazolium**⁵⁹ et **cathecols**⁶⁰ ont été proposés comme structures pour le transport des anions. Quelques revues intéressantes ont également été publiées.^{61,62} En Inde, **Talukdar** et al. proposent un système moléculaire de type rosette qui peut transporter exclusivement les anions chlorure.⁶³ Les unités moléculaires amphiphiles de cette supra-structure interagissent à travers des liaisons hydrogène et permettent le passage des anions chlorure en fil unimoléculaire.

Comme nous l'avons vu, les fondements de l'interaction entre un canal ionique et la particule transportée sont de **nature supramoléculaire (Figure 23)**. Les interactions supramoléculaires peuvent avoir lieu entre les ions ou entre les ions et les récepteurs. Les interactions entre les ions et les récepteurs sont de nature dynamique, donc elles doivent être suffisamment fortes pour permettre le passage de l'ion, mais suffisamment labiles pour permettre le relargage des ions en fin du processus de transport.

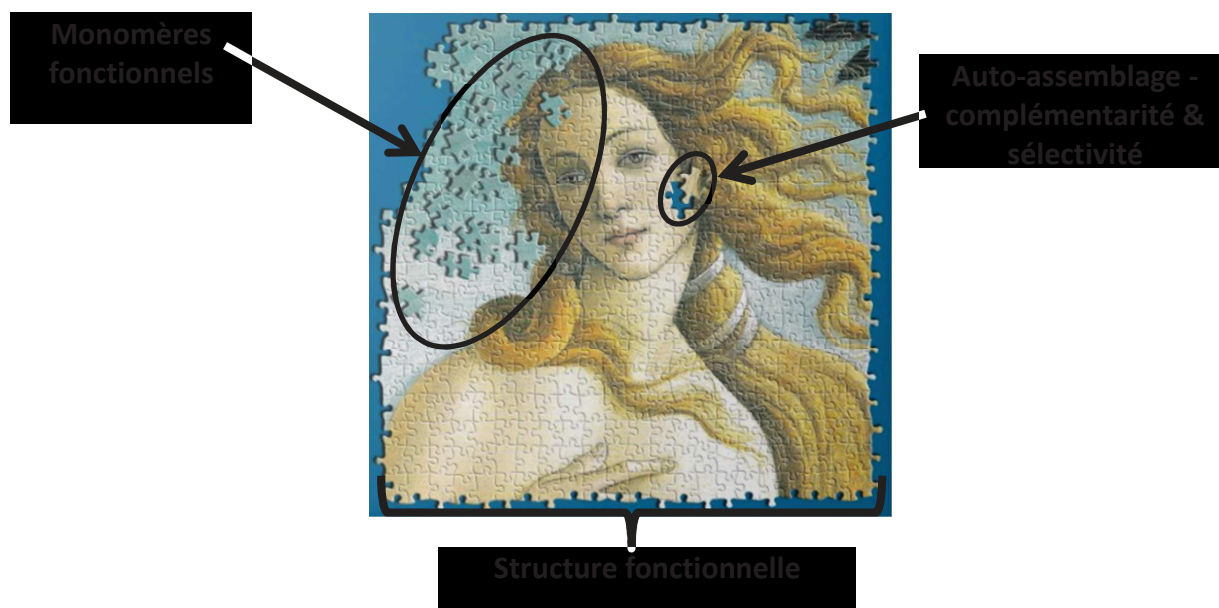


Figure 23 : Illustration des principes de la chimie supramoléculaire appliqués aux interactions faibles entre les monomères d'un canal synthétique : l'ensemble est fonctionnel, stable, pouvant être défait à la fin du transport (processus réversible)

⁵⁹ Schmitzer, A., Vidal, M., *Chem. Eur. J.*, **2014**, 20, 9998.

⁶⁰ Berezin, S.K., Davis, J.T., *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, 131, 2458.

⁶¹ Davis, A.P., Sheppard, D.N., Smith, B.D., *Chem. Soc. Rev.*, **2007**, 36, 348.

⁶² Gokel, G.W., Barkey, N., *New. J. Chem.*, **2009**, 33, 947.

⁶³ Saha, T., Dasari, S., Tewari, D., Prathap, A., Sureshan, K.M., Bera, A.K., Mukherjee, A., Talukdar, P., *J. Am. Chem. Soc.*, **2014**, 136, 14128.

Les études partent d'abord de l'étude de l'organisation supramoléculaire à l'état solide (par DRX sur monocristal), suivies des études cinétiques. Par exemple, les techniques vésiculaires représentent une méthode qui permet d'étudier le transport ionique à travers les membranes lipidiques. Le transport de l'eau peut être évalué à l'aide de la microscopie optique ou à l'aide de la diffusion de la lumière (LS). Après un chapitre descriptif de ces méthodes (Chapitre 2) et sur le fondement théorique des travaux antérieurs, nous avons proposé l'utilisation de nouvelles molécules contenant la fonction imidazole, qui sont présentées par la suite.

Au regard de la diversité des molécules synthétiques utilisées pour le transport ionique et des molécules d'eau, nous avons choisi d'explorer les composés qui contiennent le groupement imidazole. Cette fonctionnalité organique qui fait partie intégrante du site actif transporteur de la protéine M2 du virus Influenza A assure également un transport protonique.

Chapitre 2 : Méthodes vésiculaires utilisées pour l'étude du transport à travers les membranes

Les canaux ioniques, tout comme les transporteurs, ont une activité qui peut être mesurable. Généralement, les méthodes utilisées pour l'étude du transport ionique à travers les membranes sont de méthodes simples qui utilisent des membranes synthétiques. Il y a plusieurs types de techniques utilisées pour l'étude de l'activité dans le cas de systèmes de transport synthétiques. Nous allons décrire brièvement les techniques qui utilisent les membranes en U (« bulk »), la conductance des bicouches planes et la résonance magnétique nucléaire du sodium, avant de présenter d'une manière plus détaillée les méthodes vésiculaires.

La partition eau/octanol est souvent utilisée pour déterminer le degré d'hydrophobicité des composés (logP). Les **tubes en forme de U** peuvent être utilisés également pour étudier la partition entre deux phases immiscibles (eau/chloroforme). A travers cette méthode, on peut analyser la capacité de molécules synthétiques à transporter des particules hydrophiles à travers une barrière hydrophobe.⁶⁴ Pourtant, ce système est adapté pour l'étude des transporteurs mais incompatible avec les expériences pour l'évaluation de l'activité des canaux ioniques.

Une autre méthode d'expérimentation utilisée dans les travaux de recherche est le **Bilayer Voltage Clamp**, qui mesure la **conductance au travers de bicouches planes** (dénommées également BLM – « black lipid membranes »). Dans ce cas, on applique un potentiel transmembranaire et ce sont les changements d'intensité du courant induit par ce potentiel qui sont mesurés.⁶⁵ C'est un type d'expérience qui peut évaluer l'activité d'un seul canal.

La RMN du sodium est une technique souvent utilisée pour l'observation directe du transport de sodium à travers les membranes. La vitesse de transport est mesurée à l'aide d'un agent de relaxation (situé à l'extérieur ou à l'intérieur de la vésicule) qui engendre une différence de déplacement chimique. Pourtant, c'est une technique qui ne permet pas la description des tous les paramètres de transport.

⁶⁴ Takeuchi, T., Bagnacani, V., Sansone, F., Matile, S., *ChemBioChem*, **2009**, *10*, 2793.

⁶⁵ Hille, B., *Ion Channels of Excitable Membranes*, 3rd edn, Sinauer Associates, Sunderland, MA, **2001**.

Dans notre cas, afin de savoir si les molécules synthétisées peuvent former des canaux ioniques ou d'eau au sein de vésicules bicouches lipidiques et peuvent participer au transport des ions et de molécules d'eau, deux techniques vésiculaires ont été utilisées : l'analyse par spectroscopie de fluorescence et la technique « Stopped flow », avec détection par diffusion de la lumière (LS – Light Scattering).

Les vésicules utilisées sont des vésicules unilamellaires larges (LUVs). Leur diamètre est compris entre 100 et 200 nm. Il existe aussi des vésicules unilamellaires petites (SUVs), avec un diamètre compris entre 30 et 50 nm et des vésicules « géantes » (GUVs), qui ont un diamètre supérieur à 300 nm. Dans le cadre de nos tests, nous avons utilisé des LUVs, préparées selon une technique décrite dans la partie expérimentale. Ces vésicules, préparées à travers des techniques d'extrusion, sont très utiles dans l'étude des **principales caractéristiques fonctionnelles** des canaux ioniques : la sélectivité ionique, l'activité fractionnelle, le blocage ou le passage des ions.

Tableau 3 : Techniques d'analyse du transport ionique à travers les membranes

Méthode	Paramètre mesuré	Exemples
RMN du Na	L'aire du signal ^{23}Na	Molécules hydrophiles ⁶⁶
Fluorescence	Flux de protons	Oligoesters ⁶⁷
pH-métrie	pH	Tubes de type éther-couronne ⁶⁸
Electrodes ion-sélectifs	Flux d'anions chlorure [Cl ⁻]	Transporteurs synthétiques membranaires d'anions chlorure ⁶⁹
Patch Clamp BLM (bicouches planes)	Intensité du courant électrique dû au transport	Nanotubes peptidiques ⁷⁰

⁶⁶ a) Abel, E., Maguire, G.E.M., Meadows, E.S., Murillo, O., Jin, T., Gokel, G.W., *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, *119*, 9061; b) Murray, C.L., *Chem. Comm.*, **1998**, 2477.

⁶⁷ a) Fyles, T.M., *Org. Biomol. Chem.*, **2010**, *8*, 5139; b) Sakai, N., Matile, S., *J. Phys. Org. Chem.*, **2006**, *19*, 452.

⁶⁸ Fyles, T.M., *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, *115*, 12315.

⁶⁹ Schlesinger, P.H., Ferdani, R., Liu, J., Pajewska, J., Pajewski, R., Saito, M., Shabany, H., Gokel, G.W., *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, *124*, 1848.

⁷⁰ Ghadiri, R.M., Granja, J.R., Buehler, L.K., *Nature*, **1994**, *369*, 301.

2.1 Méthodes vésiculaires utilisant la spectroscopie de fluorescence

Résumé : Le but de cette sous-section est de présenter le principe des méthodes vésiculaires pour l'étude des phénomènes de transport à travers les membranes. Dans un premier temps, nous montrerons pourquoi il est nécessaire d'utiliser une **sonde fluorescente interne**. Ensuite nous décrirons les paramètres les plus importants qui peuvent être calculés pour décrire l'activité d'un canal synthétique : l'**activité fractionnelle (Y)**, le **coefficient de Hill (n)** et la **concentration efficace médiane (EC50)**. Les différents types de cinétique peuvent être déduits de l'allure de la courbe intensité relative en fonction du temps.

2.1.1 Principe de la méthode de fluorescence pour l'analyse du transport

Les canaux d'ions accélèrent le passage des espèces ioniques à travers un processus de **diffusion facilitée**. L'activité de ce type de transport sera quantifiée par une méthode cinétique, en mesurant la vitesse de transport à travers la barrière membranaire. Comme les volumes intravésiculaires sont faibles (de l'ordre du femtolitre), dès que les molécules seront transportées, la concentration va subir une grande variation, et sera alors mesurable. En effet, lorsqu'un transport a lieu, les cations alcalins entrent dans la vésicule et une quantité égale de protons sort de la vésicule. C'est pour cette raison que la quantification va se faire au niveau intravésiculaire, à l'aide d'une **sonde fluorescente** capable de détecter tout changement de pH. Parmi les fluorophores insérés, on trouve des molécules aromatiques comme la pyranine (HPTS), le 8-aminonaphtalène-1,3,6-trisulfonate (ANTS), la ciprofloxacine, la lucigenine (sensible au transport des halogènes⁷¹), la calcéïne ou le DPX (**Figure 24**).

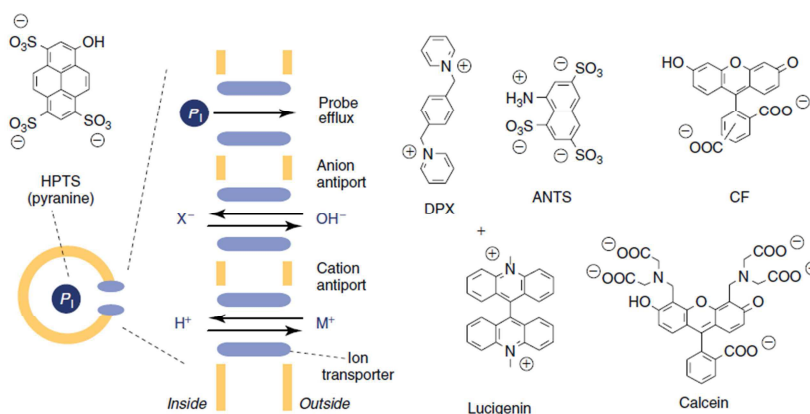


Figure 24 : Structure et fonctionnement de l'HPTS inséré dans la vésicule (à gauche) et structures des différentes sondes fluorescentes⁷²

⁷¹ McNally, B.A., O'Neil, E.J., Nguyen, A., Smith, B.D., *ChemComm*, **2005**, 1087.

⁷² Matile, S., Sakai, N., Hennig, A., *Supramolecular Chemistry: From Molecules to Nanomaterials*, **2012**, John Wiley & Sons, Ltd.

Les vésicules présentent l'intérêt de constituer des mimes de la membrane cellulaire, qui constitue un barrage sélectif entre le milieu intra-membranaire (ou intravésiculaire, dans notre cas) et le milieu externe. A l'instar de la membrane cellulaire, les vésicules aussi peuvent contenir diverses espèces chimiques, comme des sels ou des sondes fluorescentes (**Figure 25**).

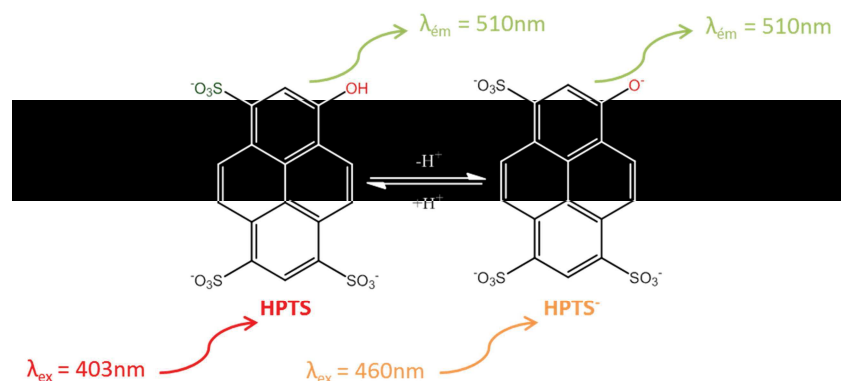


Figure 25 : Le HPTS et sa base conjuguée avec les longueurs d'onde d'excitation et d'émission respectives

L'utilisation du HPTS est recommandée pour caractériser les systèmes de transport synthétiques, car le test qui l'utilise est hautement sélectif.⁷³ L'HPTS est une molécule aromatique sensible au changement de pH, avec un pKa de 7,3. Ce qui permet l'utilisation de cette molécule à l'intérieur des vésicules pour décrire le transport des espèces chargées, c'est le fait que HPTS présente un spectre d'excitation avec deux valeurs maximales : à 403 nm pour l'acide (forme protonée) et à 460 nm pour sa base conjuguée. L'émission du HPTS à 510 nm est suivie à deux longueurs d'onde d'excitation simultanément, à 403 nm et à 460 nm (**Figure 25**) qui sont les deux valeurs d'excitation des formes acide et basique, respectivement. La courbe de transport sera obtenue en rapportant les deux signaux.

L'utilisation d'une méthode indirecte a pour but de permettre la détection tout d'abord des changements de pH lors des mesures de fluorescence et ensuite de pouvoir les corrélés avec un antiport de cation. En effet, lors de l'augmentation du pH dans le milieu extravésiculaire, un proton (cédé par le HPTS) sort de la vésicule et simultanément un cation rentre, afin d'équilibrer la différence de charge entre les deux milieux (intra- et extravésiculaire). La méthode ratiométrique utilise l'équilibre qui existe entre la forme acide et la forme basique de la pyranine. Ce composé est présent dans sa forme acide à une valeur de pH de 6,4.

⁷³ Kano, K., Fendler, J.H., *Biochim. Biophys. Acta*, **1978**, 509, 289.

L'ajout de la base (NaOH) est accompagné d'une augmentation du pH d'une unité dans le milieu extravésiculaire (passage à une valeur de pH de 7,4), ce qui détermine la formation de l'espèce basique de la pyranine, HPTS⁻. Si le transport de cations métalliques a lieu à travers les systèmes supramoléculaires, une modification quantifiable du rapport d'intensité aura lieu. Cette modification sera proportionnelle à l'activité des canaux donc à leur capacité à transporter des ions. Par conséquent, on peut corréler directement le changement du rapport entre les deux formes de l'HPTS et le passage des cations vers l'intérieur de la vésicule. Lorsqu'en fin d'expérience on rajoute le détergent (Triton X100), le changement de rapport d'émission maximal possible a lieu. La courbe obtenue (**Figure 26, B**) correspond donc au rapport des deux mesures, ce qui permet d'illustrer une variation relative d'intensité :

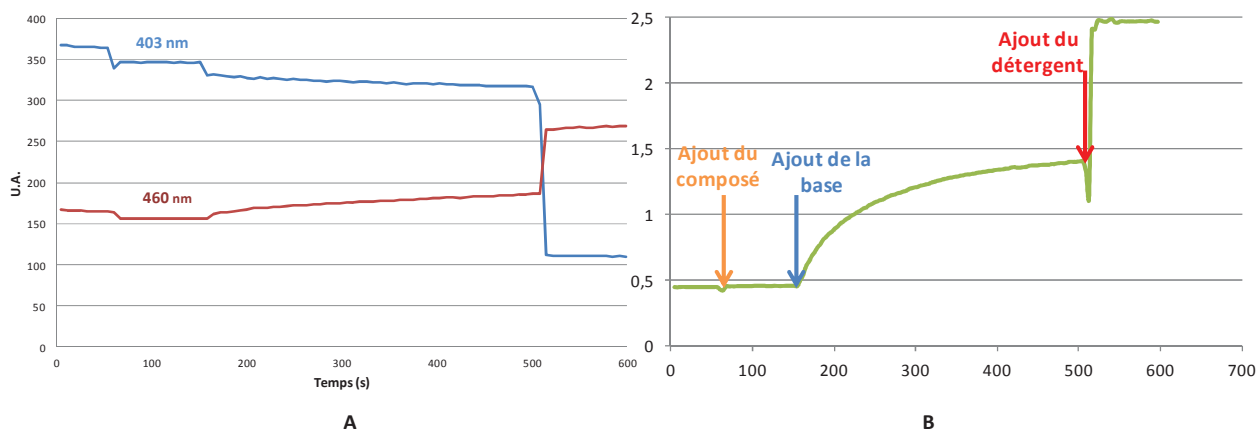


Figure 26 : Représentation des courbes correspondant aux intensités des longueurs d'onde d'émission pour les longueurs d'onde d'excitation à 460 nm et à 403 nm (A) et courbe obtenue par méthode ratiométrique (B)

Chaque courbe de la **Figure 26A** illustre la dépendance de l'intensité relative fluorescente en fonction du temps pour les deux longueurs d'onde d'excitation de l'HPTS. De surcroît, plus le transport sera facilité, plus le changement de pH sera rapide.⁷⁴

⁷⁴ Weiss, L.A., Sakai, N., Ghebremariam, B., Ni, C., Matile, S., *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, *119*, 12142.

Pour résumer, une fois le composé à étudier ajouté à la solution des vésicules, il s'insère dans la membrane lipidique, où il forme des structures organisées (système transporteur fonctionnel). Cette organisation au niveau supramoléculaire constitue la part active du canal. Lors de l'injection du monomère, on ne peut pas voir le transport, car, d'un côté et de l'autre de la membrane vésiculaire il y a un équilibre de pH. Lors du changement de pH, intervient le rôle de la sonde intravésiculaire utilisée (la pyranine). Si le transport a lieu, un proton va sortir de la vésicule en même temps que le canal va permettre l'entrée d'un cation (antiport (M^+/H^+)), afin d'équilibrer ce gradient (**Figure 27**) :

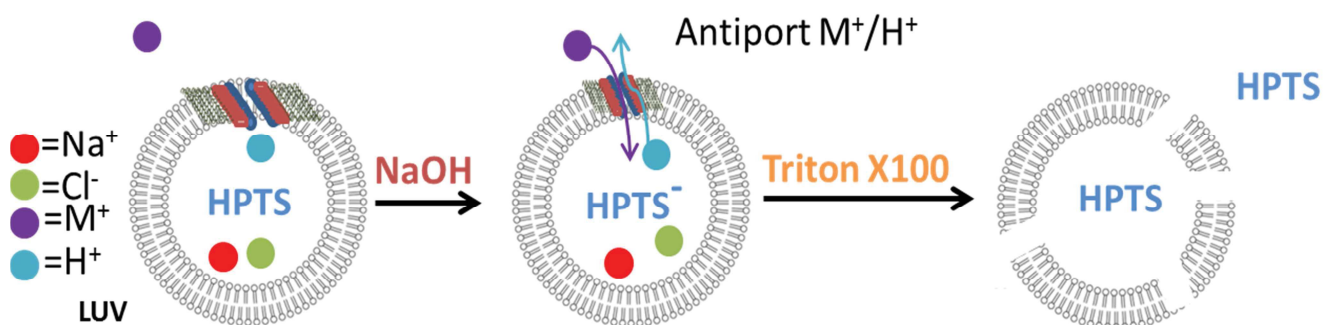


Figure 27 : Trois étapes dans l'expérience de fluorescence : ajout de la molécule amphiphile ; transport déclenché par ajout de NaOH (traduit par l'antiport H^+/M^+) et lyse des vésicules à l'aide de Triton X100

On considère que le transport est neutre du point de vue électrique : la translocation de charges positives ou négatives à travers la membrane vésiculaire est compensée par l'antiport additionnel des ions de même charge, mais dans le sens opposé (H^+/M^+ ou OH^-/X^- dans le cadre de l'étude du transport d'anions).

2.1.2 Paramètres pour décrire l'activité des canaux synthétiques

Pour calculer les **constantes de vitesse de premier ordre (k')**, on considère la pente de la courbe :

$$\ln([H^+_{in}] - [H^+_{out}]) = f(t) \quad \text{Equation 1}$$

Dans l'*équation 1*, $[H^+_{in}]$ et $[H^+_{out}]$ représentent les concentrations en protons intra et extra-vésiculaire, respectivement et t représente le temps de l'analyse. La concentration protonique extra-vésiculaire $[H^+_{out}]$ est constante et la concentration en protons intra-vésiculaire $[H^+_{in}]$ est calculée à partir de l'intensité des longueurs d'onde d'émission d'après l'*équation 2* :

$$\text{pH} = 1,1684 * \log(I_0/I_1) + 6,9807 \quad \text{Equation 2}$$

où I_0 et I_1 sont les intensités d'émission correspondantes aux deux longueurs d'onde d'excitation à 460 nm et 403 nm, respectivement.

Pour décrire le type de transport en présence, nous avons fait appel à l'équation de Hill. Cette relation aide à une meilleure compréhension de la nature de l'activité ionique du transporteur, qui est, d'ailleurs, d'une complexité difficile à expliquer dans sa totalité. L'analyse prend en considération trois paramètres : **le nombre de Hill (n)**, **l'activité fractionnelle (Y)** et **la concentration efficace médiane (EC50)** (la concentration à laquelle 50% du transport a lieu). Dans ce cas particulier, EC50 représente la concentration du monomère à laquelle la moitié du nombre total d'ions est transporté à travers la membrane.

L'activité d'un transporteur est dictée par beaucoup de paramètres, comme la nature du tampon utilisé, la composition ou la polarisation de la membrane ou encore le stress osmotique... C'est pour cela qu'on ne peut pas comparer l'activité intrinsèque de différents transporteurs. Ce qui nous intéresse c'est la réponse du système à certains stimuli extérieurs, comme les changements de la composition membranaire, le potentiel membranaire, le pH, les anions, les cations ou la reconnaissance moléculaire.

La technique de spectroscopie de fluorescence permet l'évaluation quantitative de l'activité d'un système supramoléculaire. En effet, une intensité initiale de la fluorescence, notée I_0 est tout d'abord enregistrée. Lors de l'ajout de différentes concentrations du composé transporteur, on peut déterminer un changement dans la fluorescence. C'est en fin d'analyse

qu'on ajoute un détergent (Triton X-100) afin de visualiser l'émission du fluorophore libre I_{∞} . L'utilisation du Triton X-100 a pour rôle de conduire à la lyse des vésicules du fait de la lyse efficace des membranes situées au-dessus de la concentration micellaire critique (cmc~100 μ M). Un autre détergent peut être utilisé, le Span 80, qui est un fait un mélange de sorbitols et glucosides alkylés et cholate.

Les courbes de l'intensité I_t (l'intensité totale) sont normalisées par soustraction de la valeur de I_0 et division par $(I_{\infty}-I_0)$ pour que le changement de fluorescence normalisé prenne des valeurs comprises entre 0 et 1. On peut également considérer l'intervalle d'intensité entre I_{\max} et I_{\min} . I_{\max} représente la valeur maximale de la fluorescence pour la plus grande concentration de transporteur utilisée, valeur calculée juste avant la lyse des vésicules et I_{\min} représente la valeur minimale de la fluorescence en absence de transporteur (la ligne de base). A ces valeurs, on attribue des valeurs comprises entre 0 et 1, et cet intervalle constitue l'**activité fractionnelle** Y du système synthétique utilisé (**Figure 28**).

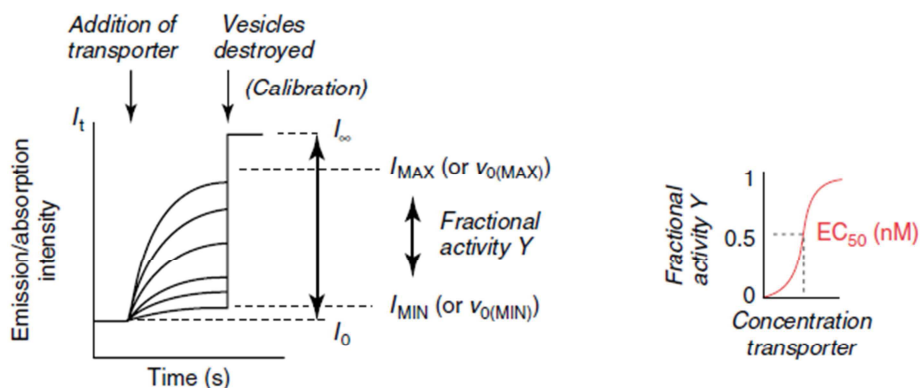


Figure 28 : Schématisation des différents événements dans l'analyse du transport par fluorescence. A droite, le calcul de l'EC50

Lorsqu'on représente l'activité fractionnelle Y en fonction de la concentration en transporteur, on peut déterminer la valeur de **EC₅₀** ainsi que le **facteur de Hill (n)**. L'application de l'équation de Hill est la technique la plus pertinente pour l'analyse des systèmes de transport.⁷⁵ Ce qu'on mesure c'est la dépendance de l'activité fractionnelle (Y) en fonction de la concentration molaire du monomère qui peut s'auto-assembler dans des systèmes supramoléculaires de transport. La courbe (appelée également profil de concentration) est analysée ensuite à travers une relation de régression non-linéaire en appliquant l'**équation de Hill (équation 3)**:

⁷⁵ Chen, W.H., Shao, X.B., Regen, S.L., *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, 127, 12727.

$$Y = Y_{\infty} + (Y_0 - Y_{\infty}) / [1 + \left(\frac{c_M}{EC_{50}}\right)^n] \quad \text{Equation 3}$$

où Y_0 est l'activité minimale enregistrée, sans transporteur et Y_{∞} est l'activité maximale, lors de la saturation en transporteur. L'analyse de Hill permet la détermination de la valeur d' EC_{50} ainsi que du facteur de Hill (n).

D'une part, EC_{50} représente la concentration effective de monomère nécessaire pour obtenir 50% de l'activité totale du composé. Donc plus elle aura une valeur faible, plus le système transporteur sera efficace en termes d'activité de transport. L' EC_{50} est une valeur empirique qui permet la comparaison de l'activité des différents transporteurs et dépend d'une multitude de paramètres, comme la partition dans la membrane vésiculaire, l'auto-assemblage en solution, à l'interface ou dans la membrane, le transfert inter-vésiculaire ou l'efficacité de l'insertion dans la membrane. Nous avons utilisé la dépendance $Y=f(c)$, par interpolation à mi-activité. Le coefficient de Hill a été calculé à partir de la dépendance graphique $\log Y=f(\log[c])$, où il représente la pente de cette courbe.

D'autre part, le **coefficient de Hill (n)** nous fournit des informations sur la coopérativité du processus de transport.⁷⁶ Les graphiques de Hill qui ont un $n=1$ sont linéaires, ceux qui ont un $n<1$ ont une allure décroissante et les représentations pour lesquelles $n>1$ ont une allure croissante. Pour ces dernières, le coefficient de Hill correspond au nombre de monomères qui sont impliqués dans la formation de la supramolécule active. Pourtant, cette structure n'est pas stable et elle se forme seulement quand la concentration de monomère utilisée (c_M) est beaucoup plus grande que la concentration nécessaire pour former la supra-structure, qui contient seulement une fraction du monomère initial. Dans ce cas, le canal se forme à travers un processus d'auto-assemblage **endergonique** ($\Delta G > 0$) et appartient à la **classe I de supramolécules instables**.

Dans le cas où le coefficient de Hill est subunitaire ($n < 1$), les systèmes sont unimoléculaires, d'une stoechiométrie inconnue, mais compatibles avec les études de transport (la RMN ou la spectrométrie). Ce coefficient traduit également un processus **exergonique** ($\Delta G < 0$) et les systèmes supramoléculaires appartiennent à la **classe II de supramolécules stables**. L'interprétation de l'équation de Hill fournit donc des renseignements sur le type de canal qui peut se former (de type I ou de type II).

⁷⁶ Mora, F., Tran, D.-H., Oudry, N., Hopfgartner, G., Jeannerat, D., Sakai, N., Matile, S., *Chem. Eur. J.*, **2008**, *14*, 1947.

Pour finir, un autre paramètre qui décrit l'activité d'un transporteur est la constante de vitesse k' . La valeur de la constante de vitesse est déduite de la pente de la courbe de fluorescence pour chaque composé, à une concentration donnée. La cinétique de transport à travers un canal peut être continue ou de type « tout ou rien ». Une **cinétique continue** est décrite par une courbe de fluorescence qui, lorsque l'on ajoute l'agent transporteur, augmente progressivement dans le temps jusqu'à l'ajout de détergent. Ce type de comportement a lieu quand on utilise des transporteurs hydrophiles capables de se distribuer réversiblement dans la membrane vésiculaire et qui peuvent se transférer entre les vésicules.

Une **cinétique du type « tout ou rien »** se traduit par une allure de la courbe qui augmente rapidement lors de l'ajout du transporteur, mais qui atteint un plateau de stabilisation avant l'ajout du détergent. Ce type de comportement a lieu lorsque des systèmes transporteurs trop hydrophobes se distribuent juste dans la membrane de quelques vésicules et ne peuvent pas être transférés à d'autres vésicules. La distribution est alors irréversible. Les systèmes moléculaires utilisés dans ce travail présentent les deux types de transport.

Les supramolécules actives transportent les molécules chargées comme les cations ou les anions selon une sélectivité spécifique. La sélectivité pour les anions ou pour les cations décrit la préférence des canaux ioniques pour ces molécules chargées.⁷⁷ Les rapports de perméabilité sont calculés à l'aide de l'équation de Goldman-Hodkin-Katz (GHK) ou approximés à partir du flux ionique dans les vésicules. Puis, à partir des rapports de perméabilité et de conductance, on peut déduire les séquences de sélectivité qui décrivent la capacité des ions à traverser les membranes à travers les canaux.

Dans notre cas, la séquence de la sélectivité pour chaque molécule a été déterminée à travers les études de transport par spectroscopie de fluorescence, toujours en utilisant des vésicules contenant le HPTS. Pratiquement, nous avons changé le cation alcalin qui se trouve dans le milieu extravésiculaire. Les courbes enregistrées ont été superposées (même molécule analysée, transport de différents cations). Les paramètres cinétiques ont été calculés et les résultats ont été comparés pour différentes molécules, afin d'établir la séquence de sélectivité.

⁷⁷ Matile, S., Sakai, N., *J. Phys. Org. Chem.*, **2006**, *19*, 452.

Eisenman (1961) a développé une théorie de l'équilibre de la sélectivité ionique, dans laquelle la sélectivité pour les cations d'un site qui a une affinité de reconnaissance est exprimée en termes de la différence de l'énergie libre des ions.⁷⁸ Il y a 11 séquences (topologies) d'Eisenman pour les cations alcalins et 7 pour les anions halogénures. Concernant les cations, la moins intéressante est la séquence I, qui correspond à la déshydratation de l'ion (appelée également la séquence d'Hofmeister). La majorité des canaux ioniques synthétiques suivent une séquence d'Eisenman I ($\text{Cs}^+ > \text{Rb}^+ > \text{K}^+ > \text{Na}^+ \gg \text{Li}^+$) dans leur sélectivité pour les cations alcalins. Cette séquence indique qu'à l'origine de la sélectivité se trouve la différence en énergie nécessaire pour déshydrater une molécule chargée. Pourtant, quelques canaux synthétiques montrent d'autres séquences de sélectivité, comme dans le cas de la gramicidine modifiée.¹⁹ La séquence d'Eisenman XI ($\text{Cs}^+ < \text{Rb}^+ < \text{K}^+ < \text{Na}^+ \ll \text{Li}^+$) a été rapportée une seule fois⁷⁹ dans le cas d'un canal ionique synthétique basé sur des polyèdres organo-métalliques.

Nous avons donc étudié par fluorimétrie en milieu vésiculaire les différents types de molécules amphiphiles obtenues pour déterminer leurs capacités de transport. Pour cela, différentes concentrations, la spécificité cationique et la nature des têtes polaires intégrées ont été modifiées et étudiées.

⁷⁸ Eisenman, G., **1961**. *On the elementary origin of equilibrium ion specificity*. In *Symposium on Membrane Transport and Metabolism*. A. Kleinzeller, A. Kotyk, editors. Academic Press, New York. 163.

⁷⁹ Jung, M., Kim, H., Baek, K., Kim, K., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2008**, 47, 5755.

2.2 Principe des méthodes vésiculaires utilisant la diffusion de la lumière pour le transport des molécules d'eau

La deuxième méthode utilisée dans le cadre de ce travail est la diffusion de la lumière couplée à la technique de « Stopped Flow ». Cette méthode est intensivement utilisée pour la détermination de la taille des particules et de la perméabilité des membranes lipidiques.⁸⁰ Le principe est basé sur le gonflement / rétrécissement de vésicules induit en changeant les conditions osmotiques. La diffusion de la lumière des vésicules en suspension dépend de la dimension des particules et de la viscosité de l'environnement. Le défi est donc de mesurer le changement du volume initial provoqué par un changement rapide de l'osmolarité.

Normalement, dans la méthode de type « flow », les réactifs sont mélangés dans une enceinte. La réaction se poursuit quand les solutions mélangées sortent du tube et l'observation de la composition dans différentes positions dans le tube est équivalente à l'observation du mélange réactionnel à différents temps après le mélange. Néanmoins, l'inconvénient majeur est que cette technique nécessite un grand volume de solution de réactif. C'est donc une méthode incompatible avec les réactions rapides, car pour développer la réaction dans la longueur du tube, le flux doit être très rapide.

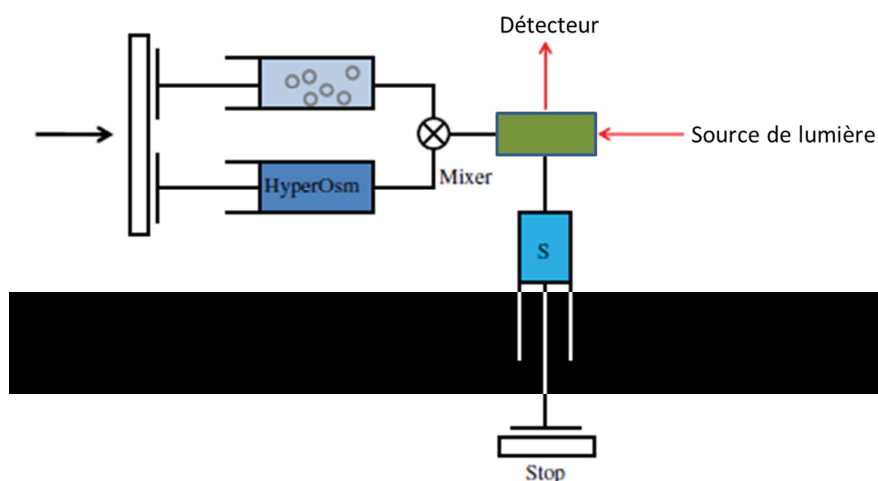


Figure 29 : Principe de la LS couplée au « Stopped Flow »

Au contraire, la technique de « stopped flow », dont le montage expérimental est représenté à la **Figure 29**, permet de contourner cet inconvénient. Ici, les composés sont mélangés instantanément, le flux est arrêté à l'aide d'une seringue d'arrêt, juste après le mélange des deux solutions. C'est une méthode adaptée pour l'étude de transport dans des

⁸⁰ Mathai, J.C., Tristram-Nagle, S., Nagle, J.F., Zeidel, M.L., *J. Gen. Physiol.*, **2008**, 131, 8.

volumes faibles des réactions biochimiques. Cette technique est très utilisée pour l'étude de la cinétique des réactions enzymatiques mais également pour l'étude d'autres cinétiques rapides. Le transport de molécules d'eau à travers les aquaporines incorporées dans des LUVs est étudié à travers la même technique.⁸¹

Dans notre cas, la technique de « Stopped Flow » est associée à une méthode spectrométrique qui enregistre la variation du signal, la diffusion dynamique de la lumière (DLS). La DLS est représentée en fonction du temps et le paramètre calculé est la **perméabilité osmotique (P_f)**, mesurée en cm³/s.

$$Pf = \frac{k}{\frac{S}{V_0} * V_w * \Delta osm} \quad \text{Equation 4}$$

Dans l'équation 4, Pf est la perméabilité du système, k est la constante de vitesse, S/V_0 est le rapport entre la surface et le volume initial de la vésicule, V_w est le volume molaire partiel de l'eau (18 cm³/mole) et Δosm est la différence d'osmolarité entre les solutions aqueuses intravésiculaire et extravésiculaire. La perméabilité de l'eau de l'AqpZ est estimée entre 2 et 10×10^{-14} cm³/s.⁸²

En définitive, ce sont des mesures cinétiques, qui se font à l'état d'équilibre d'un système. La réponse analytique sera donnée comme la dépendance de la diffusion dynamique de la lumière, en fonction du temps. La résolution de l'analyse est de l'ordre de la milliseconde et permet, d'analyser le transport en temps réel. La **Figure 30** représente les deux phénomènes qui peuvent avoir lieu lors de l'application d'un choc osmotique à la suspension de vésicules, le rétrécissement et le gonflement, avec les effets sur le signal mesuré.

⁸¹ Zeidel, L., Ambudkar, S.V., Smith, B.L., Agre, P., *Biochemistry*, **1992**, 31, 7436.

⁸² Hovijitra, N.T., Wu, J.J., Peaker, B., Swartz, J.R., *Biotechnol. Bioeng.*, **2009**, 104, 10.

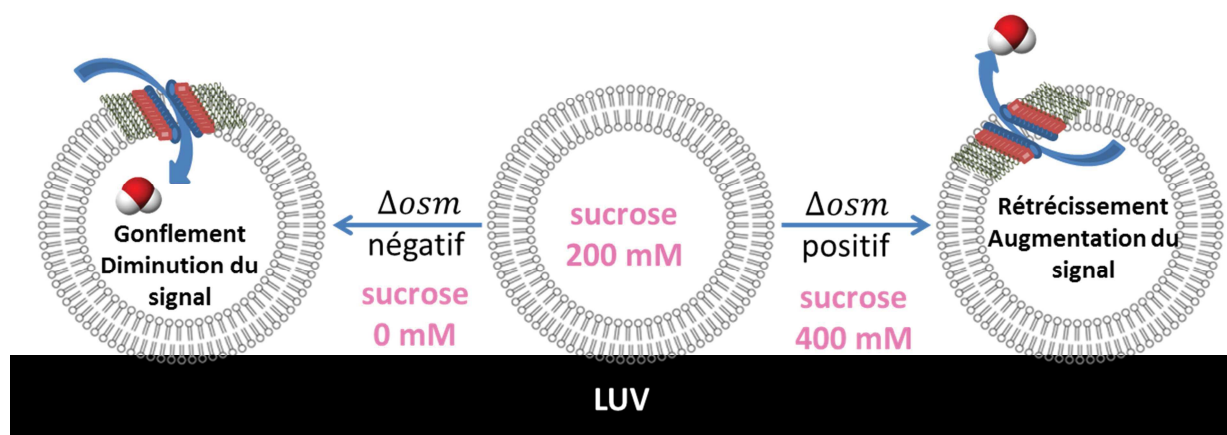


Figure 30 : Phénomènes de gonflement et de rétrécissement de la vésicule dans l'analyse de « Stopped Flow », lors de l'application d'un choc osmotique positif ou négatif

Nous avons réalisé deux types d'analyse en conditions osmotiques (où le choc osmotique appliqué est positif ou négatif). Le transport de molécules d'eau est étudié dans les deux cas, sauf que la direction de passage est différente. En conditions osmotiques et choque osmotique positif, la concentration en sucrose extravésiculaire sera plus grande (400 mM par rapport à 200 mM à l'intérieur). Dans ce cas, les molécules d'eau qui sont à l'intérieur de la vésicule sortent, pour équilibrer le gradient de concentration.

Dans le cas opposé (choque osmotique négatif), il n'y a pas de sucrose à l'extérieur de la vésicule. L'application de ce choc osmotique négatif détermine l'entrée des molécules d'eau dans la vésicule où la concentration en sucrose est toujours de 200 mM. Le résultat sera une diminution du signal et une faible diffusion dynamique de la lumière. L'utilisation du sucrose est expliquée par le fait que cette macromolécule crée un gradient de concentration, du à sa grande taille, elle ne peut pas traverser la membrane vésiculaire par diffusion simple, ni par diffusion facilitée.

Normalement, dans notre cas, il n'y a pas de différence entre les deux perméabilités. On étudie pourtant le passage des molécules d'eau à travers les canaux dans les deux sens, car une différence serait remarquée au cas où il existait une asymétrie du canal.

Les deux techniques ainsi présentées sont des méthodes vésiculaires qui peuvent fournir des informations qualitatives et quantitatives sur les phénomènes de transport. Les résultats obtenus et leur interprétation seront présentés dans le chapitre suivant.

Chapitre 3 : Approche synthétique et protocole expérimental

Résumé : Dans ce chapitre on décrira l'obtention de composés à motifs urée, obtenus suite à la réaction entre une amine aromatique et un isocyanate aliphatique. Avant de décrire la réaction de synthèse de ces composés amphiphiles (3.2), on soulignera dans une première section (3.1) l'importance du groupement urée comme agent fonctionnel structurant des molécules simples comme des polymères. Une dernière section (3.3) présentera les arrangements supramoléculaires cristallins.

Comme nous l'avons précisé, le design des molécules organiques destinées à la formation des canaux par auto-assemblage doit prendre en compte plusieurs paramètres. Parmi ces paramètres, on note leur nature amphiphile. La partie hydrocarbonée leur permettra une insertion dans la partie hydrophobe de la membrane. C'est la tête polaire qui facilitera le transport des espèces ioniques ou des molécules d'eau selon les règles d'un transport dirigé. Généralement, les terminaisons hydrophiles influent sur la solubilité de la structure macromoléculaire dans l'eau et sur son orientation à l'état solide

Nous appellerons *molécules bolaformes (ou bolaamphiphiles)*⁸³ les molécules synthétiques qui ont la capacité de former des canaux à travers la membrane cellulaire en s'associant par leurs têtes polaires et avec un groupement lipophile qui s'insère dans la membrane. Ce sont des molécules qui ont deux terminaisons hydrophiles. Contrairement aux molécules avec une seule terminaison polaire, les bolaamphiphiles ont une plus grande solubilité dans l'eau, une concentration critique micellaire plus élevée et un nombre d'agrégation plus faible.

Ces molécules se structurent grâce à des interactions supramoléculaires, pour fournir différentes architectures dont certaines en canaux ioniques ou en canaux d'eau. Plusieurs séries de composés possédant des têtes polaires et des espaceurs différents ont déjà montré ces capacités.

Il faut donc que les modèles synthétiques de transport présentent un caractère amphiphile mais il faut aussi que leur structuration dans le milieu hydrophobe de la

⁸³ Fuhrhop, J.-H., Wang, T., *Chem. Rev.*, **2004**, *104*, 2901.

membrane soit le plus compact possible sous forme de canaux tubulaires, délimitant un intérieur hydrophile qui traverse la bicouche lipidique.

Voici de manière plus précise quelques éléments de la structuration d'une molécule amphiphile (**Figure 31**) :

- **tête polaire** – qui interagit avec les composés transportés. C'est une fonction très importante car c'est à travers les interactions spécifiques qu'elle établit avec la particule chargée que le transport est assuré ; la molécule peut avoir une ou deux têtes polaires (bolaamphiphile) ;
- **fonction urée** – qui, à travers des liaisons hydrogène de faible énergie permet l'auto-assemblage⁸⁴ et gouverne la structuration supramoléculaire dynamique et stable dans le canal. L'urée est donc un **agent d'auto-organisation**. En revanche, la supramolécule formée a un caractère dynamique (à l'intérieur de la bicouche et elle pourra être déstabilisée) ;
- **espaceur hydrophobe** – qui interagit avec le milieu hydrophobe de la membrane. Il faut trouver le bon compromis concernant la longueur de l'espaceur : un espaceur trop court (qui contient moins de six atomes de carbone dans la chaîne alkyle) ne pourra pas former de canaux. En revanche, une chaîne trop longue diminuera la solubilité du composé dans le milieu aqueux dans lequel les expériences sont réalisées.

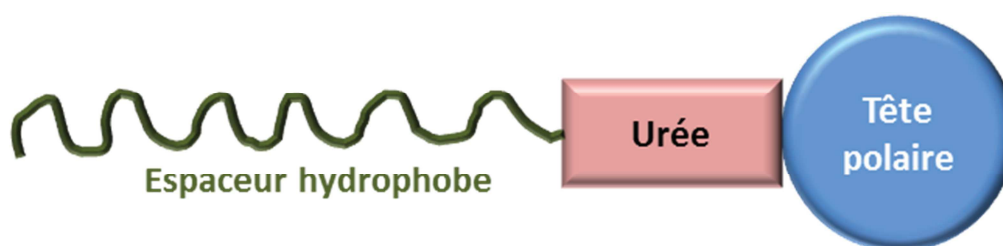


Figure 31 : Structuration fonctionnelle d'une molécule amphiphile utilisée dans ce projet

⁸⁴ Etter, M.C., Urbanczyk-Lipkowska, Z., Zia-Ebrahimi, M., Panunto, T.W., *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, *112*, 8415.

3.1 La fonction urée : motif structural d'organisation supramoléculaire

La synthèse de l'urée fût réalisée par F. Wöhler en 1828. Pour la première fois une molécule organique avait été obtenue *ex-vivo*, à l'aide uniquement de composés minéraux. Ceci réfuta alors le quasi-dogme de la « force vitale » qui supposait qu'un organisme vivant était indispensable à la formation de composés organiques. C'est ainsi que le 28 février 1828 Wöhler écrivit à son ami suédois, Berzelius « je peux faire l'urée sans avoir besoin d'un rein, ou somme de tout animal, qu'il soit homme ou chien ».

Depuis, le progrès de la synthèse supramoléculaire a prouvé que l'urée, en tant que groupement fonctionnel, sert comme agent pilotant de l'auto-assemblage des molécules (**Figure 32**). Par ailleurs, cette fonction est intensivement utilisée pour structurer, par reconnaissance, l'architecture des **polymères supramoléculaires**⁸⁵ à travers les liaisons hydrogène. Ces liaisons sont plus fortes que les liaisons hydrogène des uréthanes ou des amides.

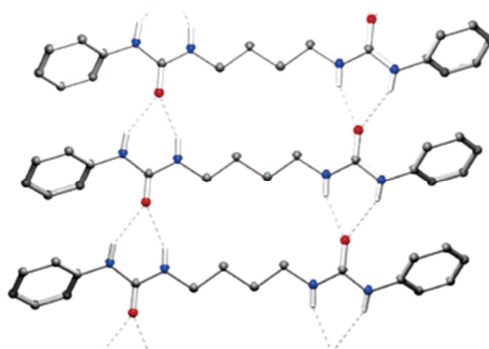


Figure 32 : Structure cristalline d'un composé bis-urée associé par des liaisons hydrogène intermoléculaires⁸⁵

Le groupe de recherche du Professeur Bouteiller utilise ces groupements pour moduler les propriétés supramoléculaires de polymères. Les unités de reconnaissance bis-urée peuvent diriger l'auto-assemblage des élastomères thermoplastiques, pour former des matériaux fonctionnels.⁸⁶ La forte association entre les composés de faible masse molaire qui contiennent des groupements bis-urée peuvent être utilisés pour obtenir des organo-gels.⁸⁷ Les assemblages auto-organisés sont, généralement, désorganisés par les solvants organiques polaires à cause des liaisons hydrogène compétitives. Pourtant, des chercheurs ont réussi à

⁸⁵ Koevoets, R.A., Versteegen, R.M., Kooijman, H., Spek, A.L., Sijbesma, R.P., Meijer, E.W., *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, 127, 2999.

⁸⁶ Simic, V., Bouteiller, L., Jalabert, M., *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125, 13148.

⁸⁷ Lortie, F., Boileau, S., Bouteiller, L., Chassenieux, C., Deme, B., Ducouret, G., Jalabert, M., Laupretre, F., Terech, P., *Langmuir*, **2002**, 18, 7218.

préparer des polymères fortement associés dans des solvants comme le THF. La forte association entre les monomères (**Figure 33**) est transcrite au niveau macroscopique par la formation de solutions hautement visqueuses dans des solvants modérément polaires.

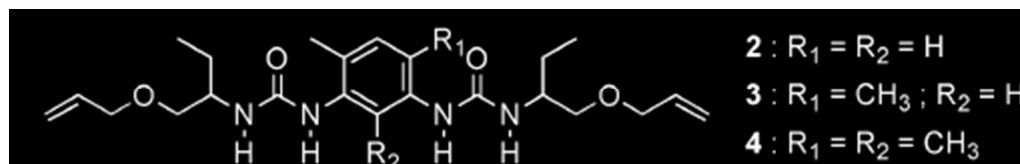


Figure 33 : Monomère bis-urée avec des substituants méthyle et un espaceur aromatique⁹⁰

Généralement, quand une liaison hydrogène s'établit entre les groupements urée, les briques moléculaires se trouvent à une distance de 2Å. Cette auto-association devrait créer de rubans ou des hélices,⁸⁸ des systèmes dynamiques en solution. Enfin, toujours le groupement urée peut dicter **deux types de conformations**, en solution ou à l'état solide : parallèle, anti-parallèle,⁸⁹ ou symétrique pour les composés di-substitués avec le même groupement (**Figure 34**). Le processus réversible d'assemblage-désassemblage est dans un équilibre dont la constante dépend de la compétition entre l'énergie thermique et l'énergie des liaisons hydrogène.⁹⁰

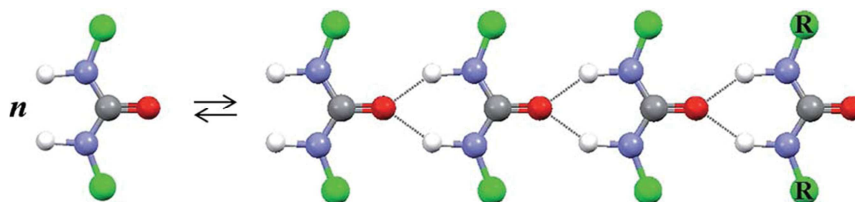


Figure 34 : Schéma de l'équilibre entre la chaîne polymère formée par auto-assemblage et les monomères libres

La section suivante décrira la synthèse des molécules contenant le groupement urée (ou bis-urée). La synthèse n'est pas difficile et est, définitivement, plus simple que la fabrication d'un assemblage similaire lié par des liaisons covalentes. Le plus important c'est la conception initiale des composants qui doivent présenter les critères structurels évoqués : « la chimie est une science dont le but n'est pas seulement la découverte, mais aussi, [...] la création. Elle participe ainsi à cette activité prométhéenne de l'homme (créateur) ».⁹¹

⁸⁸ De Loos, M., van Esch, J., Kellog, R.M., Feringa, B.L., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2001**, *40*, 613.

⁸⁹ Barboiu, M., Cerneaux, S., Vaughan, G., van der Lee, A., *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, *126*, 3545.

⁹⁰ Swiergiel, J., Bouteiller, L., Jadzyn, J., *Soft Matter*, **2014**, *10*, 8457.

⁹¹ Lehn, J.M., *231e conférence de l'Université de tous les savoirs*, **18 août 2000**.

3.2 Chimiothèque des composés amphiphiles synthétisés

En nous fondant sur les caractéristiques ainsi énoncées pour le design des molécules, une nouvelle série de composés a été synthétisée (*Tableau 4*).

Comme on peut l'observer, les molécules ont des structures similaires, avec une terminaison polaire (pour constituer la voie hydrophile du canal) et une queue hydrophobe (pour la formation de la matrice extérieure lipophile du canal à travers la membrane). La variation se fait au niveau de la tête polaire constituée par une fonction aminée.

Pour former le segment lipophile, nous avons utilisé deux types d'isocyanates aliphatiques : l'hexylisocyanate et le 1,6-diisocyanatohexane, avec pour but de synthétiser des molécules mono- et difonctionnelles, respectivement. Le schéma réactionnel général est présenté dans la *Figure 35* :

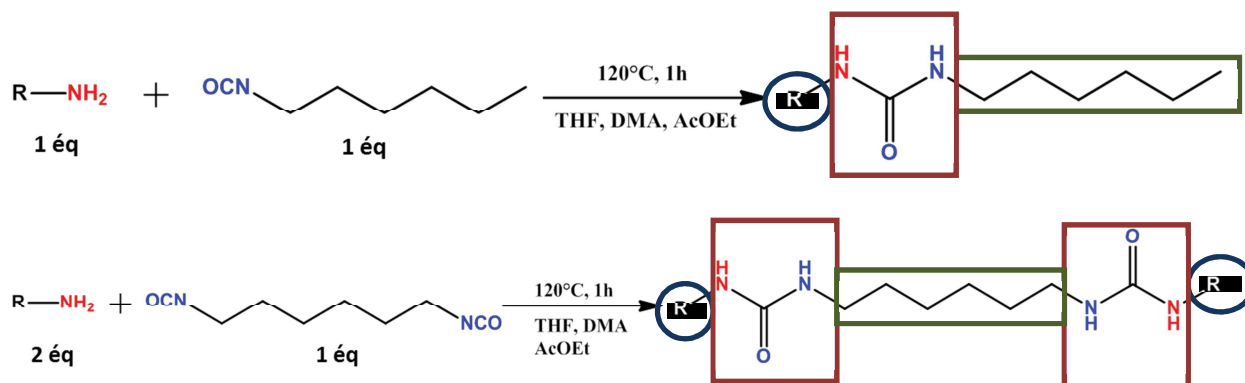


Figure 35 : Schéma général des réactions pour les composés mono- (en haut) et difonctionnels (en bas). Les trois segments fonctionnels de la molécule (la tête polaire, la fonction urée et l'espaceur hydrophobe) sont entourés

La réaction est réalisée à reflux, pendant une heure, dans un mélange de solvants : tétrahydrofurane (THF), N,N-diméthylacétamide (DMA) et acétate d'éthyle (AcOEt).

Un isocyanate aliphatique R-NCO sera moins réactif qu'un isocyanate aromatique ArNCO, car R est un groupement donneur d'électrons, qui affaiblit la réactivité du groupement NCO. Dans le cas du Ar, le doublet électronique de l'azote sera délocalisé, et, par conséquent, le carbone aura une charge positive augmentée. Au cours des synthèses, une réaction secondaire peut se produire, car si l'isocyanate réagira avec l'eau, cela conduira à la formation de l'acide carbamique :



Tableau 4 : Série de molécules amphiphiles synthétisées

Réactifs →	1,6-Diisocyanatohexane	Hexylisocyanate
AmineR-NH ₂ ↓	Produits obtenus	
	U1	U2 (cristaux)
	U3	U4 (cristaux)
	U5 (pas actif)	U6
	U7 (non synthétisé)	U8 (cristaux)

Chaque synthèse a été réalisée plusieurs fois en utilisant différents solvants de réaction, afin d'obtenir la précipitation du composé final. Les produits de réaction ont été caractérisés par RMN ^1H , RMN ^{13}C , spectrométrie de masse (SM) et par diffraction de rayons X (DRX) sur monocristal pour les composés que nous avons réussi à faire cristalliser : U2, U4 et U8.

Les composés représentés dans le **Tableau 4** ont été obtenus par une réaction en une seule étape entre un dérivé d'aminotriazole ou aminobenzimidazole et un isocyanate / diisocyanate aliphatique. L'isocyanate contient six atomes de carbone dans la chaîne aliphatique (notés par la suite $\text{C}_6\text{-NCO}$ ou $\text{OCN-C}_6\text{-NCO}$, respectivement). Concrètement, une solution d'amine R-NH_2 (2 mmol/L) et de 1,6-diisocyanatohexane (1 mmol/L) dans 10 mL de tétrahydrofurane, 5 mL d'acétate d'éthyle et 10 mL de N,N-diméthylacétamide est chauffée à 120°C pendant 15 minutes. Le mélange des solvants utilisé représente la composition optimale pour obtenir un milieu réactionnel homogène. Pendant le chauffage, l'acétonitrile est ajouté jusqu'à un début de précipitation et la solution est maintenue à 120°C pendant 1 heure, puis on laisse la solution revenir lentement à température ambiante. La solution est ensuite filtrée et lavée avec du méthanol. Un précipité blanc est obtenu avec un rendement de 94% (10,2143 mg, 30,40 mmol/L). Pour les dérivés de l'amino-1,2,4-triazole (U3, U4, U5 et U6), l'amine secondaire hétérocyclique est une fonction plus nucléophile que l'amine primaire, qui par des effets électroniques est désactivée.

Par la suite, nous avons fait varier la nature du cycle aromatique dans le cadre de cette série tout en maintenant l'espaceur hydrocarboné identique : nous avons ainsi remplacé le cycle triazole par un cycle benzimidazole ou un cycle méthylthiotriazole. Ces variations dans la structure de la tête polaire devraient également induire des modes d'auto-assemblage et d'interaction avec les particules chargées transportées différents. Le groupement urée oriente ces organisations, tout comme les groupements donneurs / accepteurs du segment hydrophile. Les liaisons hydrogène de faible énergie constituent le liant de l'assemblage de ces briques moléculaires.

De nombreuses études se sont concentrées sur l'analyse de la variation des performances de transport en fonction de la structure du monomère fonctionnel, avec des critères de comparaison comme la longueur de la molécule et la variation de la chaîne

alkyle^{92,93}, la polarité, le diamètre du cycle (pour les éthers). Dans ce projet, nous nous sommes proposés d'explorer la relation entre la structure des molécules amphiphiles simples et la réponse qu'elles manifestent lors du transport des ions ou des molécules d'eau.

En conclusion, les molécules synthétisées dans ce travail sont supposées former des structures hydrophiles contenant de l'eau au sein d'une matrice tubulaire, ou formant des voies de transport. Les canaux tubulaires sont constitués grâce aux liaisons faibles de type hydrogène établies entre les groupements urée (-NHCONH-) des oligomères. Leurs arrangements à l'état cristallin seront présentés dans la section suivante.

⁹² Liu, T., Bao, C., Wang, H., Fei, L., Yang, R., Long, Y., Zhu, L., *New J. Chem.*, **2014**, *38*, 3507.

⁹³ Otis, F., Racine-Berthiaume, C., Voyer, N., *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, *133*, 6481.

3.3 Caractérisation de l'auto-assemblage par diffraction de rayons X sur monocristal

Pour déterminer les structurations possibles des molécules synthétisées, différentes techniques de caractérisation peuvent être utilisées. L'une d'elles est la résonance magnétique nucléaire du proton, RMN¹H, qui est un outil très performant pour déterminer les interactions supramoléculaires qui ont lieu en solution. Une deuxième technique est la diffraction de Rayons X sur monocristal pour obtenir les arrangements 3D des supramolécules cristallisées.

La diffraction de rayons X sur monocristal permet une meilleure compréhension de l'architecture supramoléculaire dans laquelle les « briques » moléculaires s'auto-assemblent. Les cristaux présentés dans cette section ont été obtenus dans du méthanol ou dans du THF, grâce à une méthode de sursaturation : une solution sursaturée du composé a été chauffée jusqu'à la dissolution complète du solide et laissée revenir doucement à la température ambiante. L'obtention du monocristal peut prendre plusieurs semaines ou peut ne pas aboutir (par exemple, si les cristaux formés sont trop fins, aciculaires, leur analyse sera alors impossible).

Les structures mono cristallines ont été obtenues pour trois composés uniquement : U2 (**Figure 36**), U4 (**Figure 37**) et U8 (**Figure 38**). Les structures des composés selon les différents axes cristallographiques sont illustrées dans les figures suivantes. Pour chacun des 3 composés, U2, U4 et U8, deux types d'arrangements cristallins sont montrés :

1. Le cristal d'une seule molécule ;
2. L'assemblage moléculaire selon les axes cristallographiques a, b et c.

En fonction de la structure du monomère cristallisé, on remarque l'obtention de plusieurs formes d'auto-assemblage. Les différentes morphologies se distinguent par le positionnement différent des groupements générateurs de liaisons hydrogène. La construction supramoléculaire est entièrement basée sur le « liant », que sont les liaisons hydrogène. Comme nous l'avons déjà mentionné, le motif urée (-NHCONH-), joue un rôle essentiel dans la génération d'une structure ordonnée, puisque c'est grâce à l'atome d'oxygène central (accepteur dans une liaison de type hydrogène) et à l'atome d'azote (donneur d'hydrogène) que des liaisons faibles intermoléculaires se forment. D'autre part, la structuration est régie également par les liaisons intramoléculaires, formées par l'azote du cycle hétéro-aromatique (benzimidazole ou triazole).

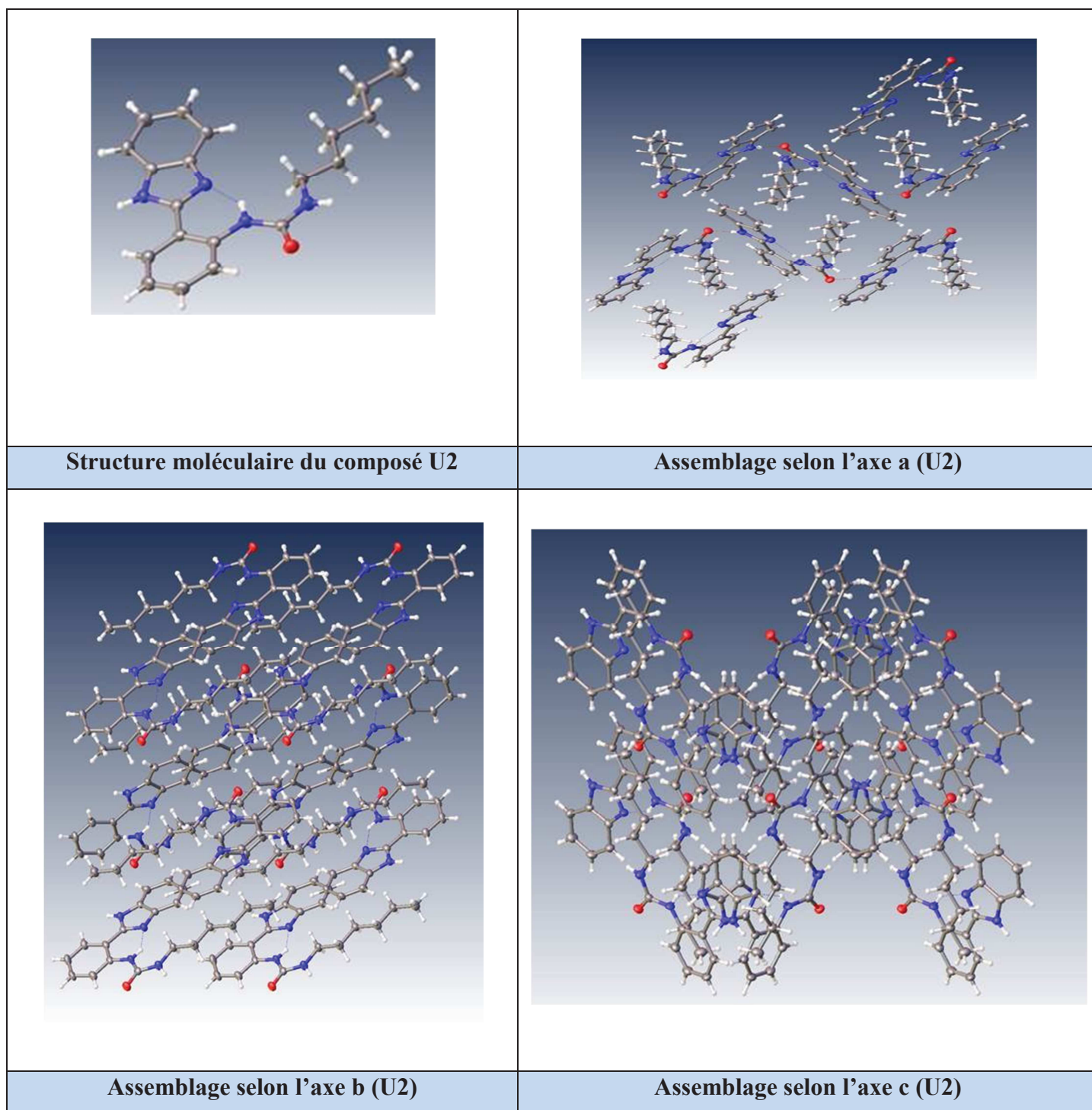


Figure 36 : Arrangements cristallins du composé U2 (monocristal obtenu dans le THF)

Dans le cas du composé U2, on peut remarquer un motif d'assemblage en zigzag (selon l'axe a), dicté d'un côté, par la formation d'une liaison hydrogène intramoléculaire entre l'azote du cycle benzimidazole (accepteur) et le –NH– du groupement urée (donneur) et de l'autre côté par la formation d'une liaison hydrogène intermoléculaire entre l'atome d'oxygène (accepteur) et le –NH– du cycle benzimidazole.

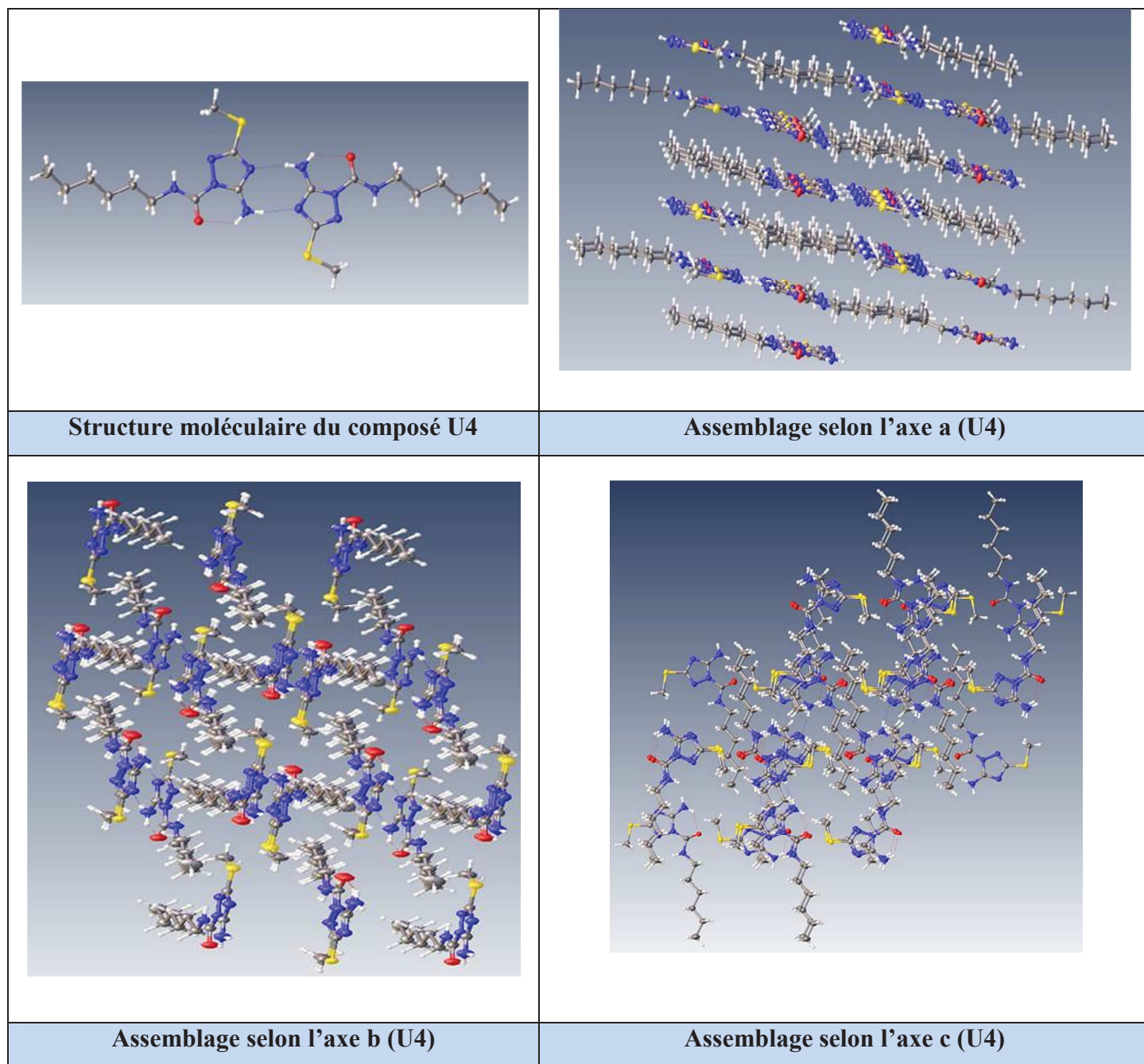
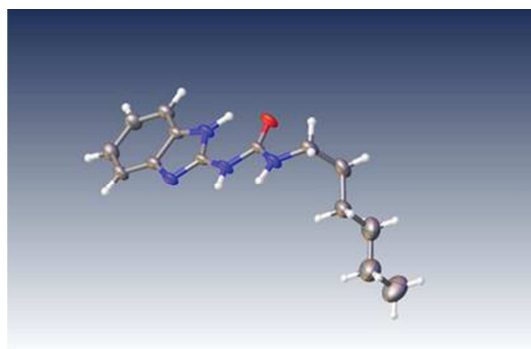
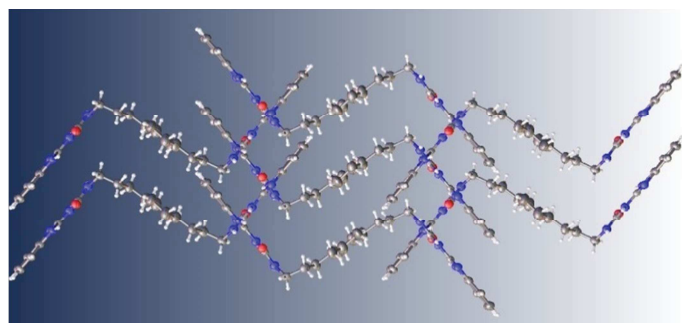


Figure 37 : Arrangements cristallins du composé U4 (monocristal obtenu dans le MeOH)

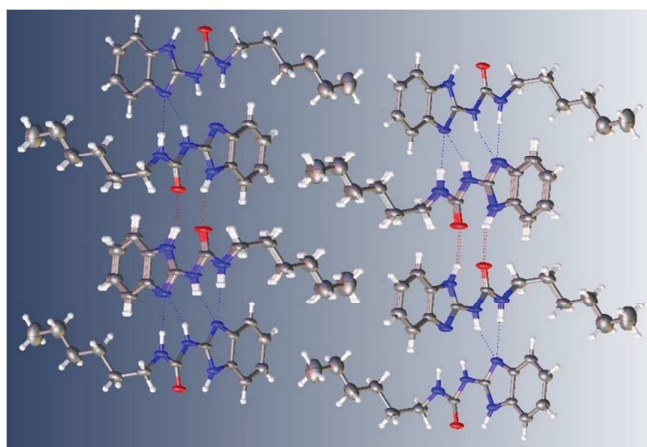
Concernant le composé U4, celui-ci participe aux interactions mettant en jeu deux molécules (formation d'un dimère), qui s'attachent au niveau de leurs têtes hydrophiles. Cette fois-ci, l'atome d'oxygène uréique participe à la formation d'une liaison hydrogène intramoléculaire avec l'amine, qui met son deuxième atome d'hydrogène au profit d'une liaison intermoléculaire avec l'azote du cycle triazole d'une deuxième molécule de U4. L'organisation supramoléculaire selon l'axe a est particulièrement intéressante, car cette molécule forme des lamelles orientées. Selon l'axe c, on observe un empilement très compact.



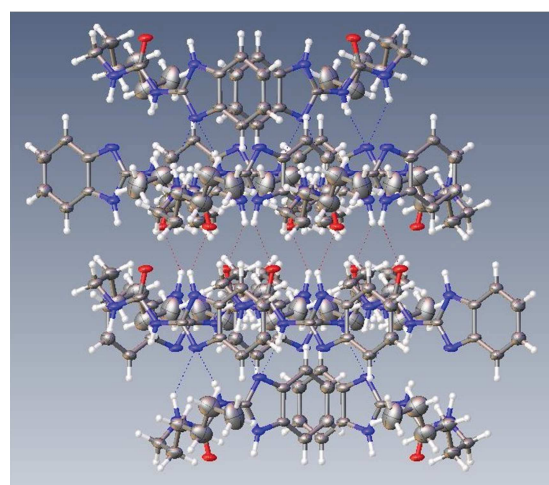
Structure moléculaire du composé U8



Assemblage selon l'axe a (U8)



Assemblage selon l'axe b (U8)



Assemblage selon l'axe c (U8)

Figure 38 : Arrangements cristallins du composé U8 (monocristal obtenu dans le THF)

U8 présente un type d'assemblage différent. Pour ce composé on observe la formation d'une organisation de type « tête à queue ». Il y a deux 'types' de liaisons hydrogène qui se forment entre les molécules : une entre l'oxygène uréique et l'hydrogène de l'azote cyclique et une autre liaison entre les deux groupements –NH– uréiques (donneurs) et l'atome d'azote du benzimidazole (accepteur). Sur l'axe a, on remarque un empilement formé par les chaînes hydrophobes qui se succèdent de façon ascendante/descendante étant donné que le sens des molécules change alternativement dans chaque ruban et est conditionné par ces liaisons faibles (axe b).

Généralement, l'utilisation des structures cristallines est utile pour donner une relation entre la structure du composé et sa capacité à former des voies de transport en s'auto-assemblant, avant même de réaliser les expériences de transport par les méthodes analytiques. L'orientation spatiale de ces unités monomères est dirigée par la formation de liaisons hydrogène inter- et intramoléculaires.

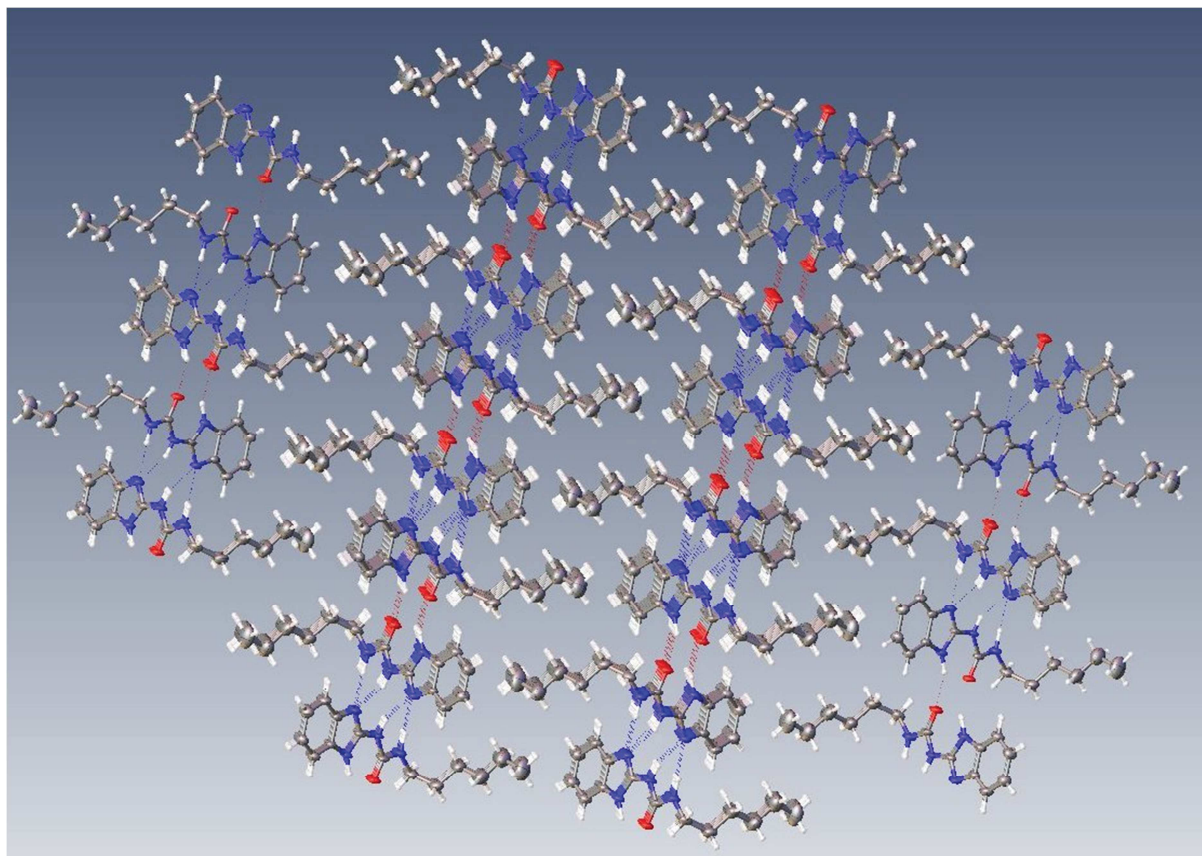


Figure 39 : Assemblage de plusieurs mailles du composé U8 selon l'axe b

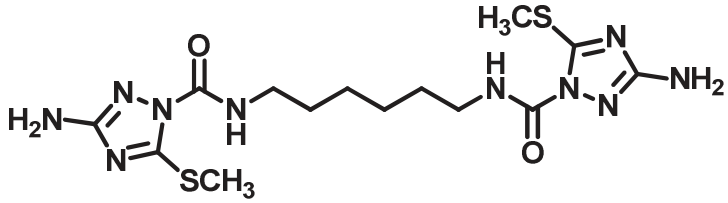
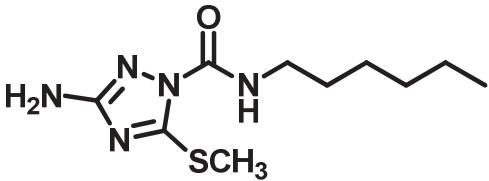
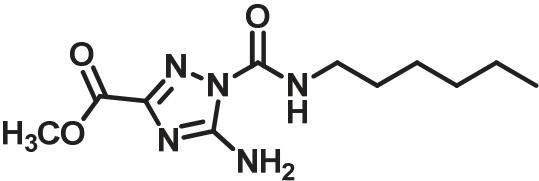
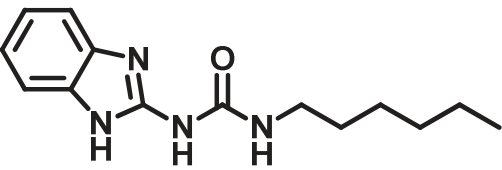
L'empilement « à l'infini » du composé U8 (**Figure 39**) montre la formation d'une structure ordonnée à l'intérieur de laquelle les molécules sont empilées. C'est un exemple d'orientation antiparallèle dictée par les groupements urée. A chaque fois, l'atome accepteur d'oxygène de la fonction urée établit des liaisons hydrogène avec l'atome donneur d'azote de la fonction urée d'une autre unité monomère. Les queues alkyl interagissent à travers des liaisons hydrophobes. Malheureusement, nous n'avons pas réussi l'obtention d'un monocristal d'un composé difonctionnel, afin d'exploiter théoriquement les modes d'auto-assemblage des molécules bola-amphiphiles de ce projet.

Précisons que l'étude de fluorescence réalisée sur les **composés U1 et U2** montre que ces deux molécules, présentant des noyaux benzimidazole (comme U8), facilitent le transport

ionique. Pourtant, avant même l'ajout de la base pour induire le choc de pH, il y a une augmentation de l'intensité (en l'occurrence, du pH). Ceci est dû à la fluorescence intrinsèque du composé, qui a un haut degré d'aromaticité. Nous avons continué la série des tests pour tous les cations avec ces deux molécules, mais le traitement des données cinétiques et de l'activité aurait pu être faussé, justement à cause de cette « pseudo-activité » due au composé lui-même. Les réponses en fluorescence de ces deux composés sont présentées dans les annexes, section « Transport ionique ».

Le **Tableau 5** regroupe les structures des molécules qui ont montré une bonne activité de transport ionique par analyse de fluorescence et qui ont été, par la suite, choisies pour la comparaison des différentes caractéristiques des performances de transport (activité fractionnelle, coefficient de Hill ou concentration efficace médiane EC50). U3 et U4 se différencient de par la nature de la molécule amphiphile : U3 est bolaforme (difonctionnelle), tandis qu'U4 est monofonctionnelle. Les molécules U4, U6 et U8 se distinguent par la nature de la terminaison polaire. U4 a sur le cycle triazole un groupement amine et un autre de thiométhyle, U6 contient une amine et un méthylester et U8 possède une fonction benzimidazole.

Tableau 5 : Molécules choisies pour la comparaison des activités dans le cadre du transport ionique et des molécules d'eau

	
U3	U4
	
U6	U8

Des tests de conduction ionique par fluorescence et Stopped Flow (pour étudier la capacité de transport d'eau) ont été réalisés. Nous présentons dans le chapitre suivant, les réponses obtenues pour le transport de cations, de protons et d'anions pour **les quatre composés ici présentés**. Nous procédons également à une comparaison selon plusieurs critères cinétiques et d'activité.

Chapitre 4 : Résultats relatifs à l'étude du transport ionique par la spectroscopie de fluorescence

Résumé : Nous avons vu dans la section introductive que des molécules simples organiques peuvent former des super-structures fonctionnelles grâce à leurs motifs structuraux. C'est dans ce contexte que la stratégie synthétique suivie tient compte des critères de structure déjà présentés. Ensuite, nous avons présenté la série de molécules synthétisées dans ce travail et, pour quelques-unes, leur organisation cristalline à l'état solide. Dans ce chapitre, nous décrivons les résultats obtenus pour l'analyse de l'activité de transport ionique et des molécules d'eau des composés synthétisés, par la technique de la spectroscopie de fluorescence. Tous les résultats de fluorescence sont regroupés dans la partie Annexes, à la fin de ce manuscrit.

Nous avons testé une série de composés dont les caractéristiques structurales sont variables : la longueur de la chaîne hydrocarbonée reste toujours la même (6 atomes de carbone, C₆), mais les composés peuvent être monofonctionnels (avec une seule terminaison hydrophile) ou difonctionnels (avec deux têtes hydrophiles). Egalement, la nature de cette tête hydrophile a été modifiée afin de varier la nature de l'assemblage supramoléculaire.

Rappelons que nous avons choisi **une série de 4 composés**, testés pour le transport de 5 cations alcalins différents, le transport de protons et des anions chlorure. Bien que les molécules n'aient pas montré la formation de canaux structurels à l'état cristallin, elles présentent toutefois des superstructures fonctionnelles insérées dans les vésicules.

Dans les sections suivantes on va se focaliser tout d'abord sur l'influence de la concentration du composé sur le transport de cations (section 4.1). Ensuite nous allons opposer les réponses des quatre composés uréiques, groupés selon les critères structuraux énoncés.

Ainsi, trois principales études ont été menées sur :

- La nature du composé sur le transport de cations (section 4.2) ;
- La sélectivité pour différents cations (section 4.3) ;
- Le transport de protons et d'anions chlorure (section 4.4).

4.1 Influence de la concentration du composé sur le transport de cations

Le but de cette section est de présenter la réponse en fonction de la concentration de composé et la modalité de calcul des paramètres cinétiques d'activité.

Afin d'étudier l'influence de la concentration du composé dans la membrane, nous avons préparé différentes solutions du même composé à des concentrations différentes, dans du DMSO. La gamme de concentration varie entre 0 et 40 mM dans la solution mère, mais de 0 à 2 mM dans la cellule fluorimétrique (prélèvement de 20 μL de la solution initiale et dilution dans un volume total de 2 mL de la cellule fluorimétrique). Le signal normalisé (I/I_0) est comparé à chaque fois au signal du blanc (DMSO seul), pour chaque batch de vésicules, car il peut varier entre les séries. Pour cette étude, nous avons pris comme exemple le transport de Rb^+ par le composé **U6**.

L'augmentation du signal a lieu jusqu'à ce que l'on atteigne un plateau, dû à la saturation. Si on considère donc le cas du transport de rubidium (Rb^+) par le composé **U6**, on peut observer le changement dans l'allure des courbes (de linéaires à sigmoïdales) au fur et à mesure que l'on augmente la concentration en composé (**Figure 40**). Pourtant, à partir de 0,5 mM de U6, l'activité fractionnelle est la même (les courbes s'arrêtent à la même valeur de l'intensité avant l'ajout de Triton X100), à un temps de 500s.

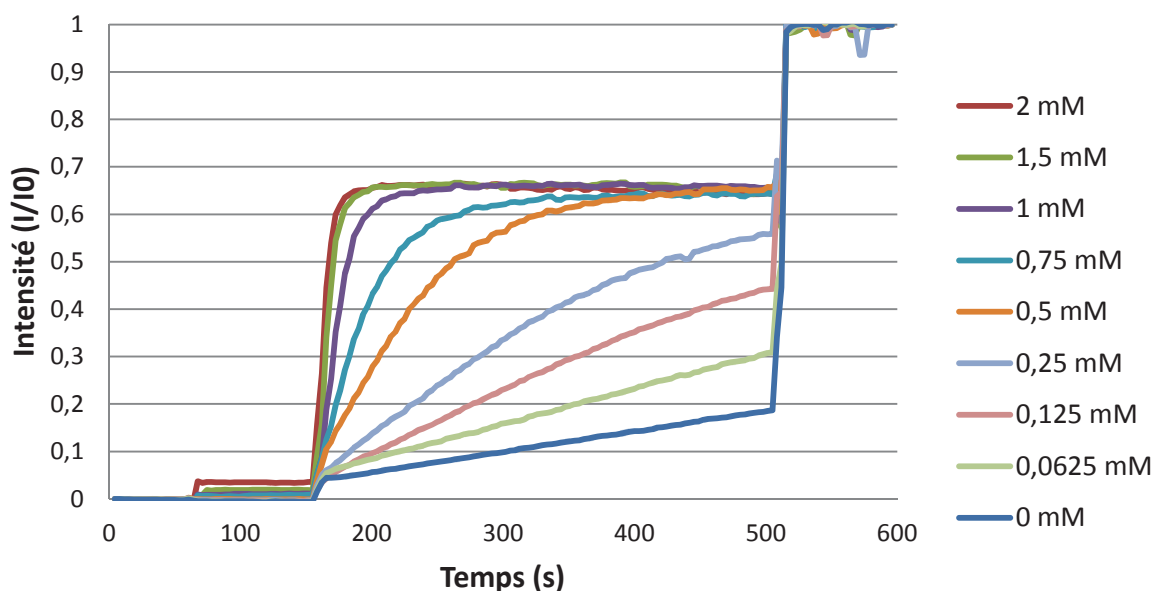


Figure 40 : Courbes de fluorescence pour illustrer l'influence de la concentration du composé U6 sur le transport du cation Rb^+

Malgré le fait qu'après 0,5 mM l'activité n'augmente plus, jusqu'à une concentration de 1,5 mM les constantes de vitesse (k') du transport continuent d'augmenter d'une façon linéaire jusqu'à 2mM (**Figure 41, a**). Nous rappelons que les constantes de vitesse ont été calculées à partir de la pente des courbes de fluorescence, pour chaque valeur de concentration, au début du transport (50s après l'ajout du composé à étudier). Il s'agit de la vitesse de transport initiale.

Cette augmentation peut être expliquée par une plus rapide insertion du composé dans la bicouche lipidique, et une plus rapide dynamique de transport en lien avec l'augmentation de la concentration. Il est important de mentionner également que la cinétique de transport passe d'un type continu (jusqu'à 0,5 mM) à un type « tout ou rien ». À la **Figure 41, b** nous avons représenté l'activité fractionnelle Y en fonction de la concentration du composé U6. On observe qu'au-delà de 1 mM, le système a atteint son maximum de transport et malgré l'ajout de composé, l'insertion dans la bicouche lipidique n'a plus lieu.

Ces considérations sont très importantes car, pour pouvoir ensuite calculer la concentration efficace médiane (EC50), on considère le point d'activité maximale avant la saturation (dans le cas du U6 pour le transport du Rb^+ on prendra la valeur de l'activité maximale (Y_{max}) correspondant à la concentration de 0,5 mM).

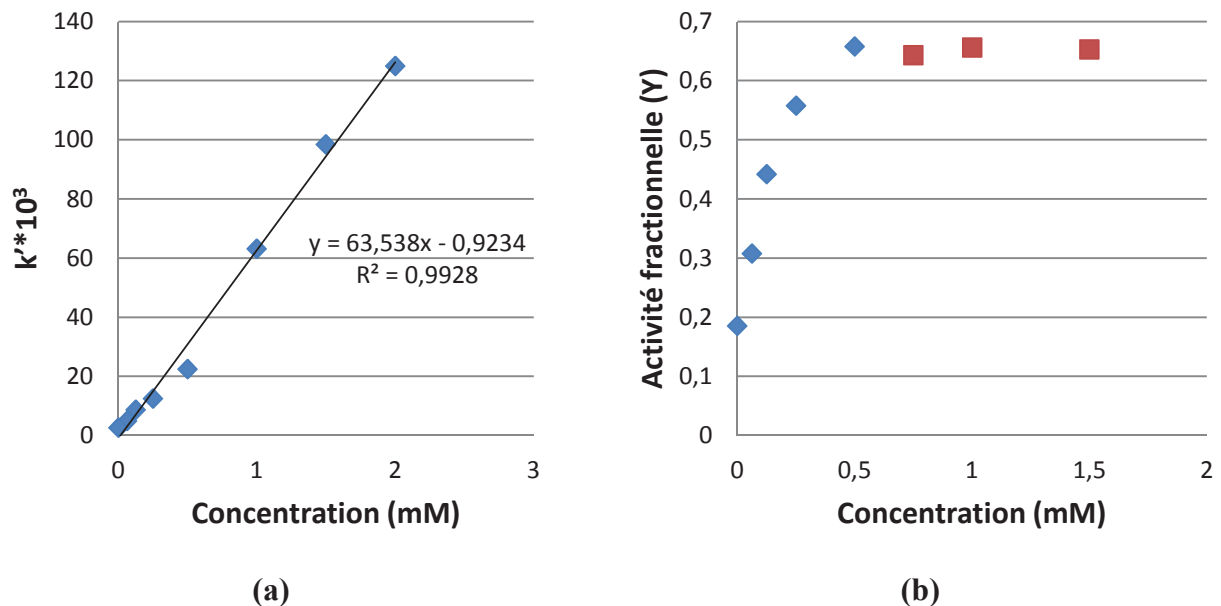


Figure 41 : Linéarisation de la constante de vitesse en fonction de la concentration (a) et influence de l'activité fractionnelle en fonction de la concentration (b) pour U6 (Rb^+) (le plateau de saturation est représenté par carrés rouges)

Après avoir déterminée les activités fractionnelles (Y) associées à des différentes concentrations testées, l'étape suivante est le calcul du coefficient de Hill. La **Figure 42** illustre la dépendance logarithmique de l'activité fractionnelle en fonction de la concentration. C'est à partir de cette relation qu'on peut déterminer le coefficient de Hill, en calculant la pente. En ce qui concerne le transport de l'ion rubidium par **U6**, le coefficient de Hill atteint une valeur de 0,36. La linéarité de cette courbe est valable seulement si la concentration a des valeurs très faibles, beaucoup plus faibles que l'EC50.

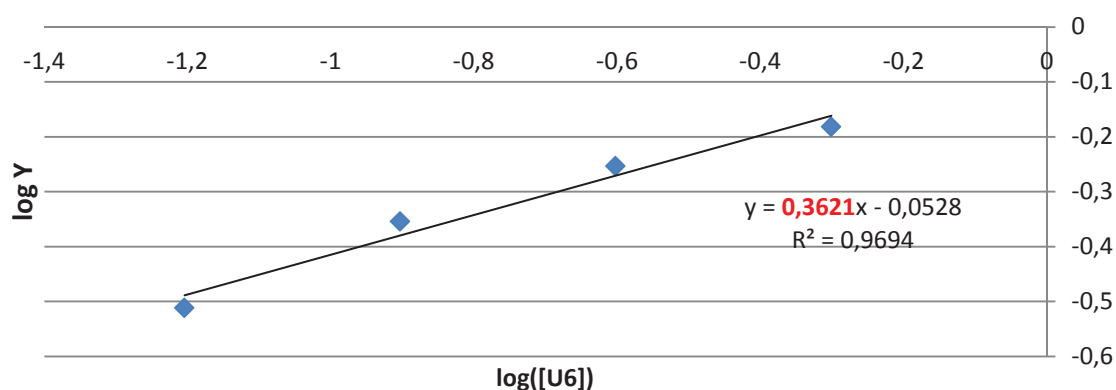


Figure 42 : Détermination du coefficient de Hill à partir de la pente de la droite obtenue en reportant le logarithmique $\log(Y)$ en fonction du $\log[U6]$

En fonction de la nature chimique du composé à étudier, donc de son organisation dans les bicouches lipidiques, les réponses en fluorescence peuvent être différentes. La Gramicidine, dont le mécanisme de transport est décrit dans la partie théorique, conduit à une augmentation rapide du signal.

4.2 Influence de la nature du composé sur le transport de cations

Dans le cadre de la série de composés synthétisés, on peut établir deux critères de classification structurale : **composés mono- et difonctionnels** de même terminaison polaire, et composés monofonctionnels avec **terminaisons polaires différentes**.

Pour réaliser cette étude, nous avons remplacé la solution de tampon extravésiculaire par différentes solutions de chlorure alcalin, au même pH de 6,4 et nous avons quantifié les protons qui sortent dans le milieu extravésiculaire. Ce transfert sera facilité dans la mesure où les cations alcalins vont rentrer dans le milieu intravésiculaire, toujours pour compenser la charge du proton transféré. Lorsque l'on change la nature du cation, on peut déterminer si le transport qui a lieu est facilité et pour quel cation le transport est optimal. Cette étude a été réalisée pour la série des 4 composés mentionnés, avec 5 sels alcalins différents. Les sels alcalins utilisés ont été : LiCl, NaCl, KCl, RbCl et CsCl.

Lorsque l'on compare le transport de l'ion sodium dans le cas des deux composés **U3 (difonctionnel)** et **U4 (monofonctionnel)**, on remarque un comportement cinétique différent. De là, on peut déduire qu'un changement structurel a des répercussions sur le type du transport. Comme on peut l'observer à la **Figure 43**, dans le cas du composé difonctionnel U3, la cinétique est continue et on n'atteint pas de stabilisation du signal en deçà d'une concentration de 1 mM. Par contre, dans le cas du composé monofonctionnel U4, à partir de 0,5 mM les courbes changent d'allure et conduisent à une saturation du signal.

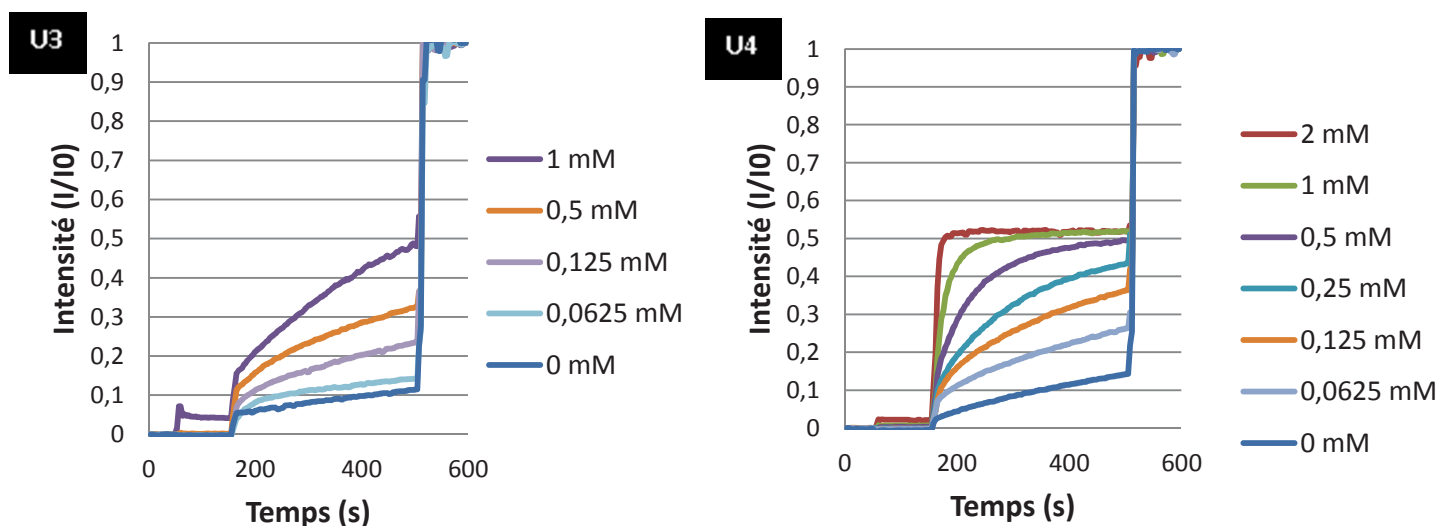


Figure 43 : Transport de l'ion sodium par **U3** (à gauche) présentant une cinétique continue et **U4** (à droite), avec une cinétique de type « tout ou rien »

Ce type de comportement cinétique est reflété dans la valeur de la constante de vitesse du transport de sodium. A la **Figure 44(a)**, la constante de vitesse pour le composé U3 ($k' \cdot 10^3$) est exprimée en fonction de la concentration. Pour les concentrations faibles, il y a une augmentation rapide, qui ralentit vers les concentrations plus élevées. Egalement, l'activité fractionnelle de U3 a été exprimée en fonction de la concentration (**Figure 44(b)**). L'augmentation est linéaire, avec un maximum à 0,48 pour une concentration de 1 mM.

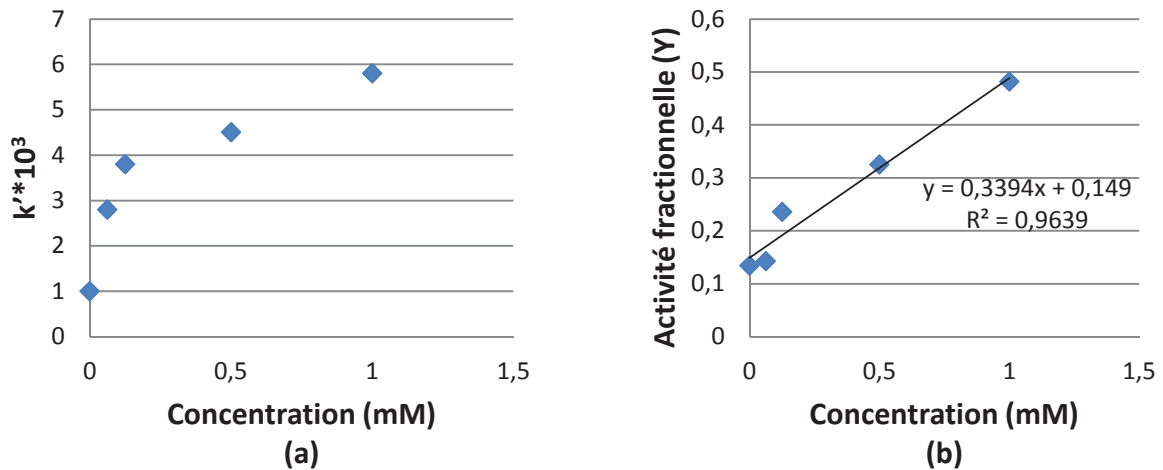


Figure 44 : Linéarisation de la constante de vitesse k' en fonction de la concentration de U3 (a) et influence de l'activité fractionnelle Y en fonction de la concentration (b) de U3 dans le cas du transport de Na^+

Contrairement au composé U3, comme on peut le remarquer à la **Figure 45**, pour le composé monofonctionnel U4, la vitesse de transport augmente de façon linéaire avec la concentration jusqu'à une concentration de 2 mM.

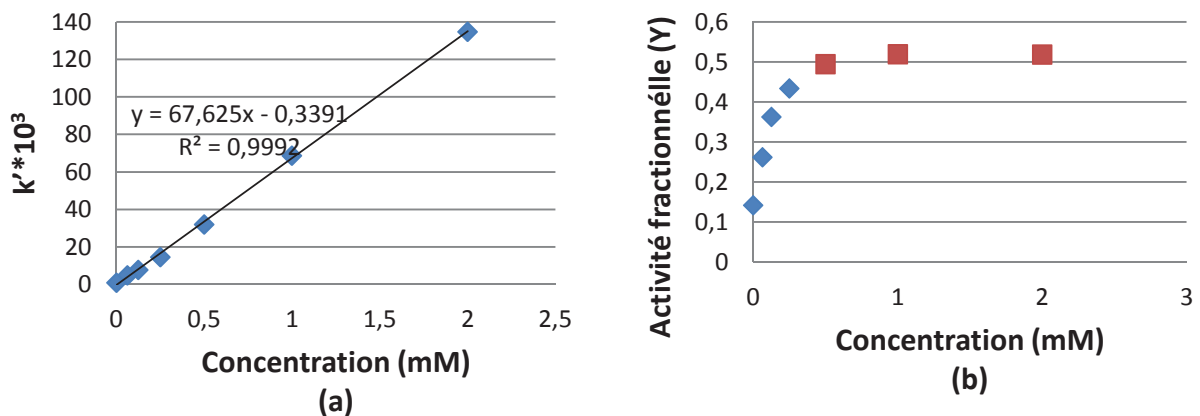


Figure 45 : Linéarisation de la constante de vitesse k' en fonction de la concentration de U4 (a) et influence de l'activité fractionnelle Y en fonction de la concentration (b) de U4 dans le cas du transport de Na^+ (le plateau de saturation est représenté par carrés rouges)

Si pour le même composé on compare la capacité de transport de différents cations, on observe des variations pour les composés mono- et difonctionnel. Si on se réfère au **composé U3** à 0,5 mM (**Figure 46**), on peut remarquer qu'il a une grande sélectivité pour le Li^+ , suivi par le K^+ puis le Na^+ lors du transport de ces différents sels alcalins. Les ions de césium et de rubidium sont moins bien transportés (valeurs de l'activité fractionnelle de 0,31 et 0,21, respectivement).

Au contraire, le **composé U4** présente une activité plus élevée pour tous les cations (allant jusqu'à 0,58 pour le Rb^+ , pour lequel l'activité fractionnelle est la plus élevée). C'est pour le transport de Li^+ que la constante de vitesse k' est la plus élevée (il y a une augmentation rapide du signal). On peut énoncer donc que le composé monofonctionnel forme des voies de transport plus rapides et facilite mieux le passage des cations que le composé difonctionnel.

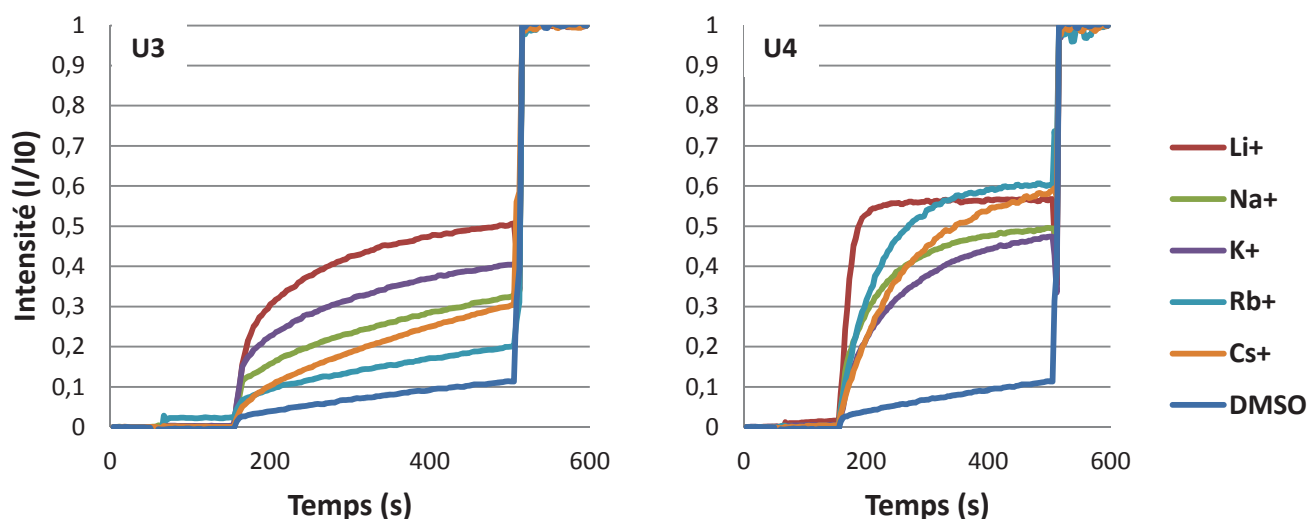


Figure 46 : Réponses dans le temps en fluorescence des différents ions lors de leur transport à travers l'auto-assemblage d'U3 (à gauche) et U4 (à droite) à 0,5 mM

Pour résumer ce type de courbes, dans les quatre graphiques 3D représentés à la **Figure 47**, nous avons illustré l'influence de l'activité fractionnelle (Y) pour chaque composé et chaque type de cation alcalin transporté. **Tous les composés transportent mieux le Na^+ que le K^+** (exception faite du composé U3 à 0,5 mM). Enfin, lorsque l'on compare les deux composés de type triazole, U6 présente des valeurs plus élevées de l'activité fractionnelle (pour les cations Li^+ , Na^+ , Rb^+ et Cs^+) que le composé U4. On peut supposer que les groupements ester qui décorent le noyau imidazole ont un rôle plus important dans la

formation de la supramolécule (et, par conséquent, des voies de transport) que les groupements thiométhyle.

Nous avons remarqué que les variations des terminaisons polaires déterminent le type et l'efficacité du transport, elles génèrent des architectures supramoléculaires d'organisations différentes. L'organisation au niveau supramoléculaire va dicter ensuite la **sélectivité** vis-à-vis de certains ions, en fonction de leur taille et de leur énergie de déshydratation.

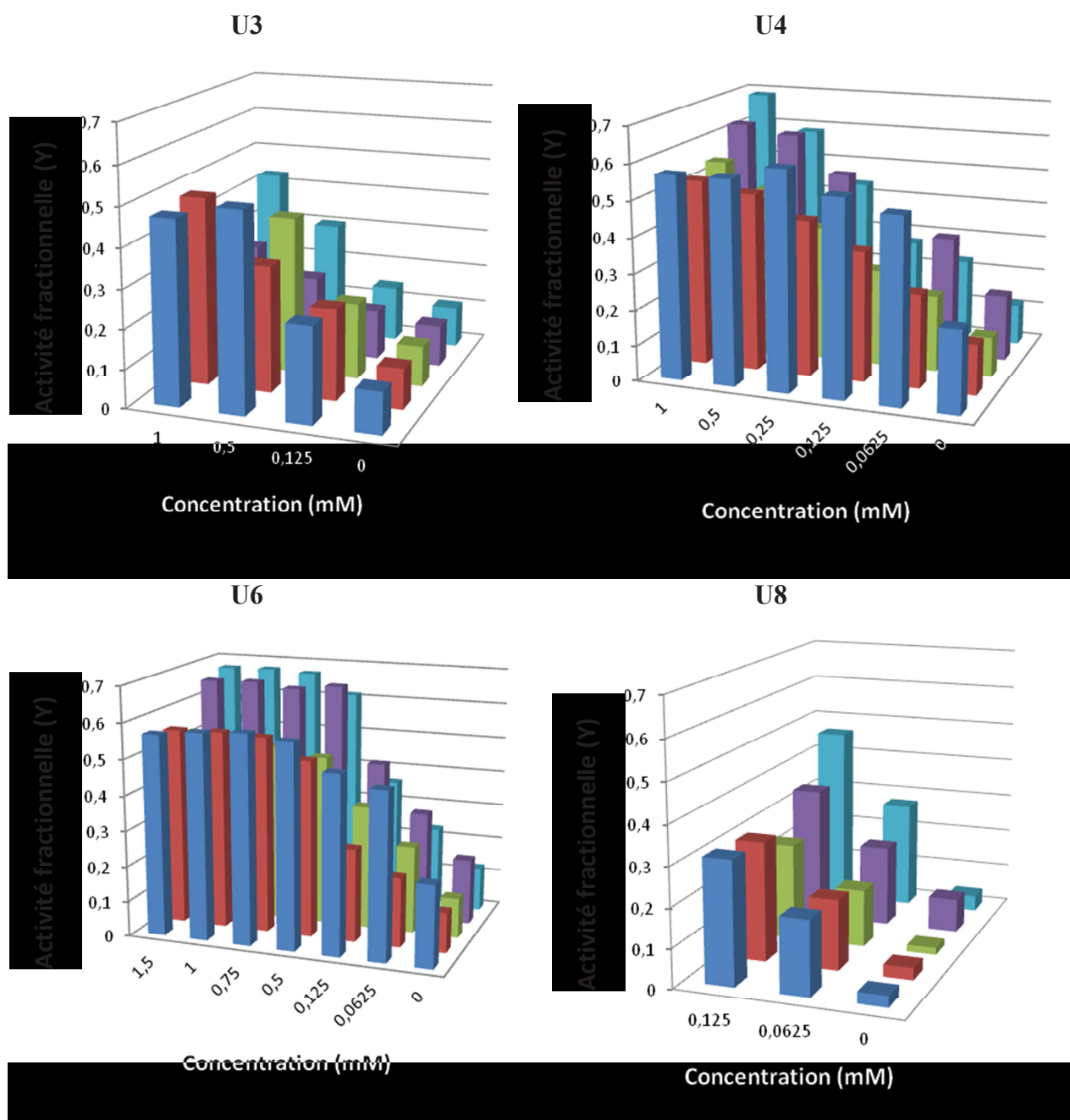


Figure 47 : Représentations de l'activité fractionnelle (Y), en fonction de la concentration pour illustrer l'influence de la nature du composé sur le transport de cations : Li⁺ (bleu), Na⁺ (rouge), K⁺ (vert), Rb⁺ (violet) et Cs⁺ (bleu clair).

4.3 Sélectivité des composés pour différents cations

Dans cette section, nous avons comparé le transport du **même cation par plusieurs composés** afin de mettre en évidence le composé le plus efficace pour le transport d'une certaine particule chargée.

Ces superpositions (même cation, différents composés à la même concentration de 1 mM) ont été faites pour **tous les cations étudiés**. Le bilan des résultats est présenté sous la forme d'un graphique comparatif qui est montré à la **Figure 48**, où les composés sont testés à une concentration de 1 mM (sauf le **U8**, pour lequel la concentration a été de 0,375 mM).

Si l'on considère tout d'abord le transport de Na^+ , on observe qu'il est le plus efficace pour le composé **U6**, suivi du composé **U4**, les deux étant des composés monofonctionnels. **U3**, composé difonctionnel, transporte de Na^+ de façon moins efficace. **U8** permet, comme les autres composés testés (**U3**, **U4**, et **U6**) un passage facilité de l'ion sodium se traduisant par une augmentation de l'activité fractionnelle. Le calcul des constantes de vitesse du premier ordre reflète ces résultats.

U8 est présent dans cette comparaison à une concentration de 0,375 mM, car à une concentration plus élevée il précipite avant de s'insérer dans les vésicules. Dans la **Figure 48**, on remarque que l'**U3** est un transporteur moins efficace que les trois autres composés.

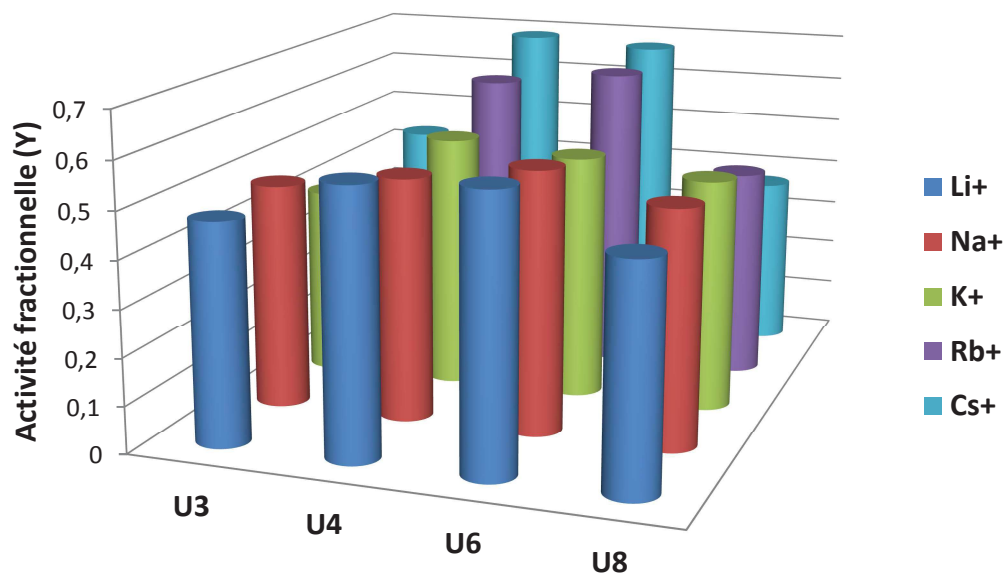


Figure 48 : Comparaison des activités fractionnelles pour **U3**, **U4** et **U6** à 1 mM et **U8** à 0,375 mM permettant d'illustrer la sélectivité vis-à-vis des différents cations étudiés

Les constantes de vitesse du premier ordre ont été calculées et comparées aux valeurs d'enthalpie, entropie et rayon ionique des cations considérés (**Tableau 6**). Comme expliqué dans la partie théorique, le cation se défait de sa sphère d'hydratation pour pouvoir passer le canal hydrophile. Les effets stériques diminuent ses interactions avec les parois du canal, ce qui permet d'améliorer la vitesse de passage. Par exemple, **la sélectivité du composé U6 (0,5 mM) correspond à la séquence I d'Eisenman ($\text{Cs}^+ > \text{Rb}^+ > \text{K}^+ > \text{Na}^+ > \text{Li}^+$)**. Cet ordre est dépendant de l'énergie d'hydratation et de l'effet kosmotrope qui organise les molécules d'eau à l'intérieur du canal.⁹⁴ Les autres composés ne respectent pas cette séquence (**Figure 49**).

Tableau 6 : Valeurs de la constante de vitesse $k' \cdot 10^3$ du composé U6 à 0,5 mM, de l'enthalpie d'hydratation ΔH_{hyd} , de l'enthalpie libre ΔG et du rayon ionique pour les charges transportées

Cation	$k' \cdot 10^3$	ΔH_{hyd} (kJ/mol)	ΔG (kJ/mol)	Rayon ionique (nm)
Li^+	3,8	-520	-410	0,060
Na^+	8,9	-406	-300	0,095
K^+	10,2	-322	-230	0,133
Rb^+	22,5	-297	-210	0,148
Cs^+	48	-276	-200	0,168

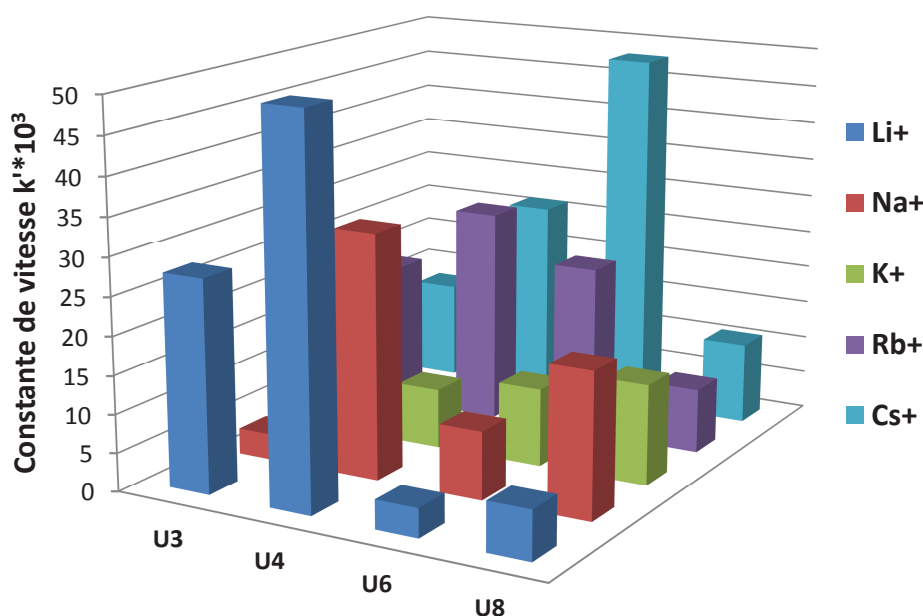
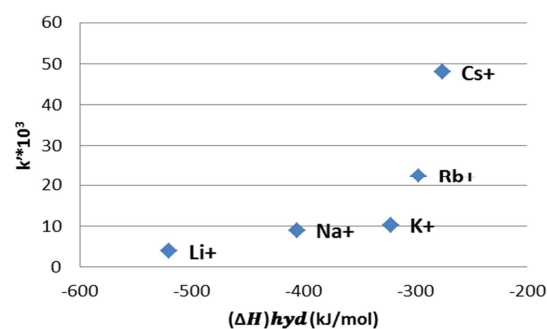


Figure 49 : Constantes de vitesse k' obtenues pour le transport de différents cations pour les composés U3, U4 et U6 à 0,5 mM. U8 est illustré à 0,375 mM sur cette comparaison

⁹⁴ Moelbert, S., Normand, B., De Los Rios, P., *Biophys. Chem.*, **2004**, 12, 45.

Lorsque l'on compare le coefficient de Hill pour les quatre composés testés lors du transport des cinq ions alcalins (**Figure 50**), on remarque qu'aucun composé ne présente un facteur de Hill >1 .

Le coefficient de Hill le plus faible est obtenu pour les composés U4 et U6 lors du transport de Li^+ . Le coefficient de Hill le plus élevé est obtenu pour le composé U3, bolaamphiphile, lors du transport de Cs^+ , avec toutefois un coefficient de Hill supérieur pour U8 lors du transport de tous les autres types de cations. Dans tous les cas, le coefficient de Hill est <1 , donc tous les composés forment des canaux stables, appartenant à la classe II de supramolécules (processus exergonique). Pourtant, les canaux instables ($n>1$) sont préférables, pour éviter la précipitation des canaux pré-organisés hydrophobes, avant l'insertion dans la vésicule

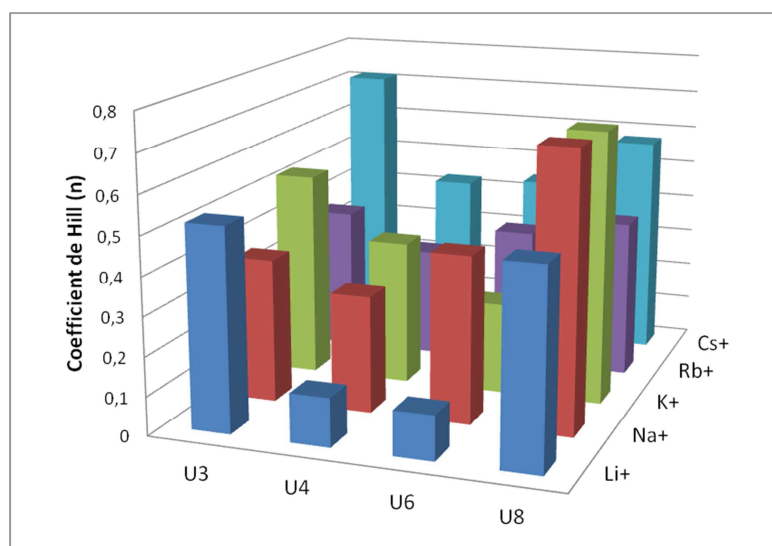


Figure 50 : Représentation tridimensionnelle montrant les valeurs du coefficient de Hill pour les différentes molécules et différents cations alcalins transportés

La **Figure 51** illustre la comparaison de l'EC50 obtenue expérimentalement pour différentes molécules (de U3 à U8) pour différents ions transportés. Cette représentation permet la comparaison relative entre les transporteurs analysés. Toutes les valeurs d'EC50 faibles indiquent une grande activité du composé respectif. Ce qu'on peut en déduire c'est que le composé U8 est le plus actif dans le transport de tous les cations, principalement pour l'ion sodium, car il présente les concentrations efficaces médianes les plus faibles. Il facilite donc leur passage à travers le canal synthétique. L'ion lithium est le cation pour lequel toutes les quatre molécules présentent une bonne valeur d'EC50.

La partie hydrophile du benzimidazole assure probablement de meilleures interactions avec les ions transportés, en synergie avec la queue hydrophobe C_6 qui assure une bonne partition dans la membrane vésiculaire. De plus, l'auto-organisation en solution ou dans la membrane lipidique joue un rôle important. Finalement, nous avons remarqué des structures très intéressantes (avec les groupements **urée alignés par des liaisons hydrogène**) en diffraction de rayons X.

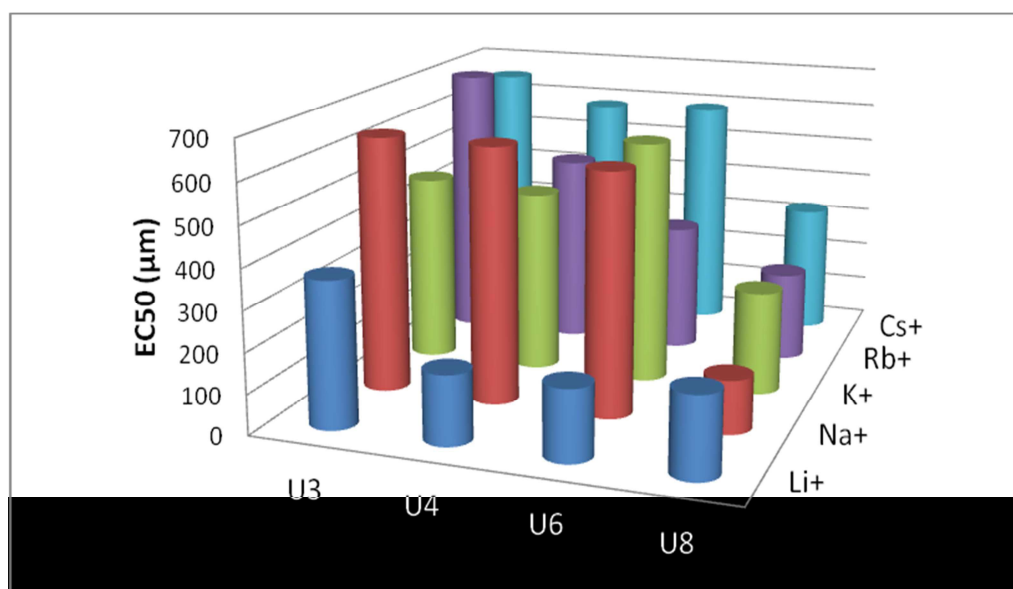


Figure 51 : Représentation tridimensionnelle montrant les valeurs d'EC50 observées pour différentes molécules et différents cations alcalins transportés

En même temps, il semble que toutes les quatre molécules présentent une bonne activité en termes d'EC50 pour le Li^+ . Ce fait est cohérent si on tient compte de la petite taille de ce cation. U6 a également une bonne valeur de l'EC50 dans le transport de Rb^+ .

Tous les résultats décrits dans cette section montrent qu'il existe un **équilibre dynamique des interactions multivalentes** mises en jeu entre les monomères, la structure supramoléculaire et les cations ou la membrane lipidique, avant et pendant le processus de transport. Cet équilibre dynamique est certainement influencé par la structure moléculaire amphiphile des composés synthétisés.

Pour le composé U3, la faible activité de transport peut être attribuée à un phénomène de compétition lié à la précipitation. En moyenne, ce composé présente les plus grandes valeurs d'EC50 (**Figure 51**), une autre indication quantitative de sa faible activité.

4.4 Influence de la nature du composé sur le transport de protons et d'anions chlorure

Le transport de protons à l'intérieur des canaux ioniques orientés a lieu selon un mécanisme de Grotthuss.⁹⁵ Il s'agit d'un mécanisme à travers lequel les protons se transmettent à travers des liaisons hydrogène formées entre les molécules d'eau, du fait de l'apparition ou de la rupture des liaisons covalentes.

Puisque le HPTS est un fluorophore pH-dépendant, il s'avère que l'utilisation des vésicules qui contiennent cette sonde, dans le cadre de l'étude du transport de protons, est très appropriée. Pour les études du transport du proton, nous avons utilisé les conditions osmotiques : les vésicules avec l'HPTS et du chlorure de sodium ont été mises en suspension dans de l'eau ultra-pure (18 M Ω). Du fait de l'absence d'un choc de pH (l'ajout de base ne se fait plus) et des conditions osmotiques, les courbes ont une allure différente de celles obtenues pour l'étude du transport de cations. Lorsqu'on lyse toutes les vésicules, l'intensité maximale est obtenue pour une valeur négative cette fois (-100 pour le pH normalisé). Les réponses des composés pour le transport de protons sont regroupées dans la partie Annexes.

Une dernière étude de transport a été réalisée par la spectroscopie de fluorescence concernant **le transport des anions chlorure**. Les conditions opératoires ont été changées : le tampon phosphate utilisé a cette fois-ci un pH de 5,9 et il contient du Na₂SO₄ à 75 mM

Le changement de pH n'est plus dû dans ce cas à un transfert de proton pour équilibrer les charges de part et d'autre de la membrane vésiculaire, mais à la différence de concentration en anion chlorure entre les milieux extra- et intravésiculaire. L'anion chlorure qui est présent dans le milieu intravésiculaire peut sortir si et seulement si le potentiel est équilibré : chaque fois qu'un anion chlorure sort, un anion hydroxyle rentre dans la vésicule. De plus, plus on augmente la concentration en anion chlorure, plus la capacité de transport augmente. Il serait possible également d'observer un symport Cl⁻/H⁺, mais ce type de transfert n'est pas favorisé osmotiquement car il se traduirait par une augmentation du pH intravésiculaire.

La **Figure 52** illustre l'activité fractionnelle obtenue lors du transport des protons et d'anions chlorure pour les composés U3, U4, U6 et U8. Parmi tous les composés, celui qui a démontré la meilleure activité fractionnelle pour le transport d'anions chlorure à 0,25 mM est

⁹⁵ Cao, Z., Peng, Y., Yan, T., Li, S., Li, A., Voth, G.A., *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, *132*, 11395.

le composé **U6**. De plus, il s'avère être le meilleur transporteur de protons. Par contre, **U3** présente la plus faible activité fractionnelle à cette valeur de concentration, pour le transport d'anions chlorure et de protons.

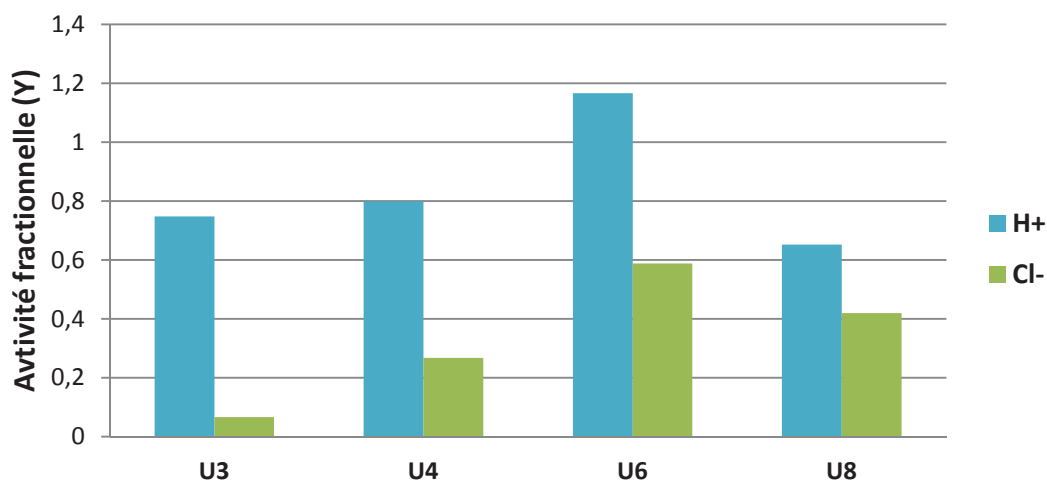


Figure 52 : Comparaison des activités fractionnelles obtenues lors du transport de proton (à 1mM) et de l'anion chlorure (à 0,25 mM) par les différentes molécules

Pour le composé **U3**, les quantités d'ions chlorure échangées varient peu avec la concentration du composé et ces échanges sont assez faibles si on les compare aux quantités de cations transportées comme observé précédemment pour ce même composé. D'ailleurs, l'allure de ces courbes est différente de celles obtenues dans le cas des composés **U4** et **U6**. On peut proposer comme explication que du fait de leurs structures différentes (**U3** est une molécule bola-amphiphile), de la supra-structuration et de l'interaction avec la bicouche lipidique, ces molécules suivent d'autres règles de transport.

Lorsque l'on compare les coefficients de Hill obtenus pour les quatre composés dans le cadre du transport d'anions chlorure et des protons (**Figure 53**), le constat est que cette fois-ci, les valeurs sont supérieures à 1 pour n : transport du proton par **U3** et transport de Cl⁻ par **U3**, **U4** et **U6**. En raison de cela, on peut supposer un type de mécanisme endergonique : les assemblages supramoléculaires formés pour transporter ce type d'ions appartiennent à la classe I des canaux ioniques.

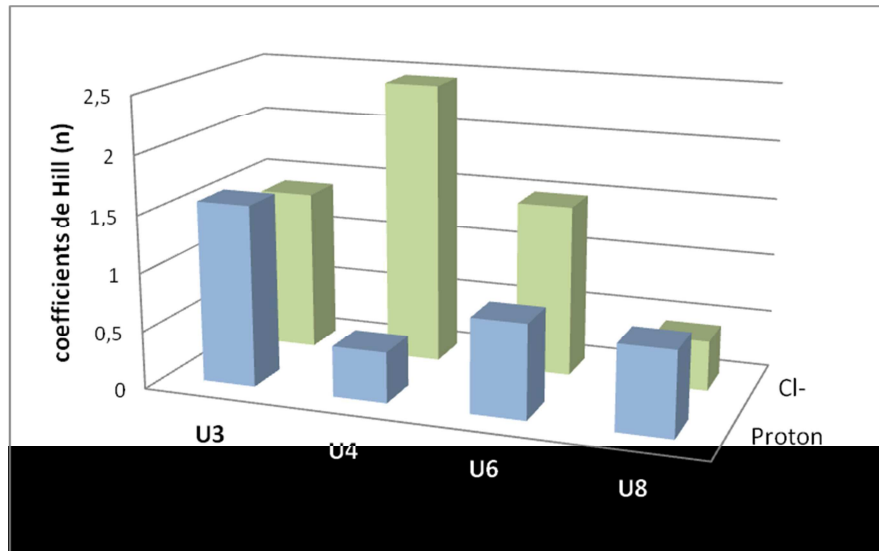


Figure 53 : Comparaison du coefficient de Hill calculé dans le cas du transport des protons et de Cl^- pour différents composés

La **Figure 54** présente les valeurs de la concentration efficace médiane (EC50) dans le cas du transport de protons et des anions chlorure. C'est le composé U8 qui a la meilleure activité pour le transport des protons, tout comme pour le transport des anions chlorure ($EC_{50} < 100 \mu M$). Cette molécule permet donc un transfert de cations et d'anions chlorure. Le composé U4 est le moins actif en tenant compte du transport des protons (valeur d'EC50 de presque $800 \mu M$). Le transport des anions chlorure pour les quatre composés est plus efficace que celui des protons (valeurs d'EC50 plus faibles).

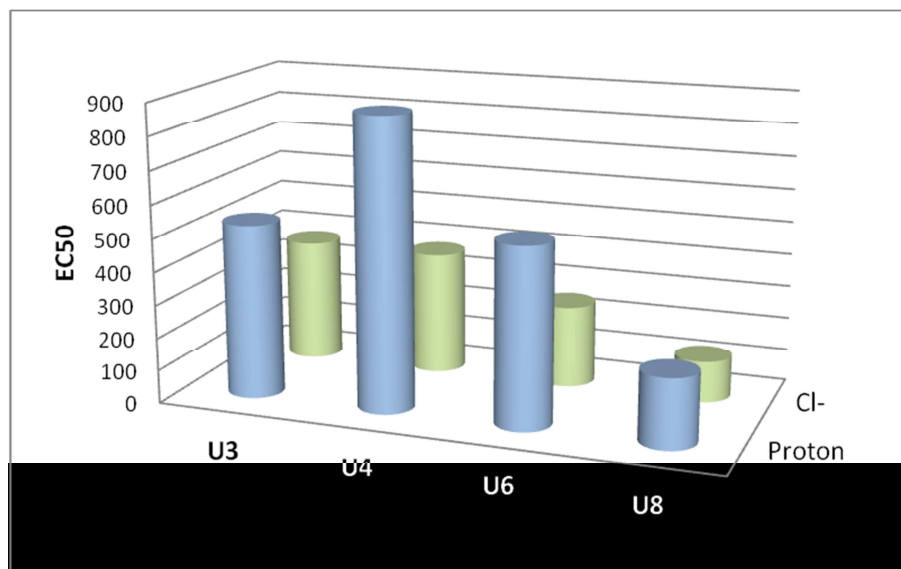


Figure 54 : Comparaison des valeurs d'EC50 dans le cas du transport des protons et de Cl^- pour différents composés

Chapitre 5 : Etude du transport des molécules d'eau par diffusion de la lumière

Ce chapitre présente les résultats préliminaires obtenus dans le cadre de l'étude de la perméabilité à l'eau des systèmes vésiculaires contenant les composés étudiés. Le principe de la méthode utilisée pour déterminer le transport de molécules d'eau est décrit dans la section 2.2 de cette partie.

Pour étudier le transport des molécules d'eau, nous avons induit un choc osmotique (positif ou négatif) en mélangeant deux solutions d'osmolarité différente. Le signal est enregistré jusqu'à ce que le système arrive à un état d'équilibre. Pour donner un exemple, nous avons illustré le cas du composé U4 (**Figure 55**). Il s'agit d'une représentation de l'intensité de la lumière diffusée en fonction du temps d'analyse (en secondes), dans les deux cas.

Les mesures ont été réalisées en mélangeant rapidement deux volumes égaux des deux solutions. C'est à ce moment-là que le choc osmotique est induit. L'analyse dure 4s, temps suffisant pour que le système puisse atteindre l'état d'équilibre et pour que le signal redevienne linéaire.

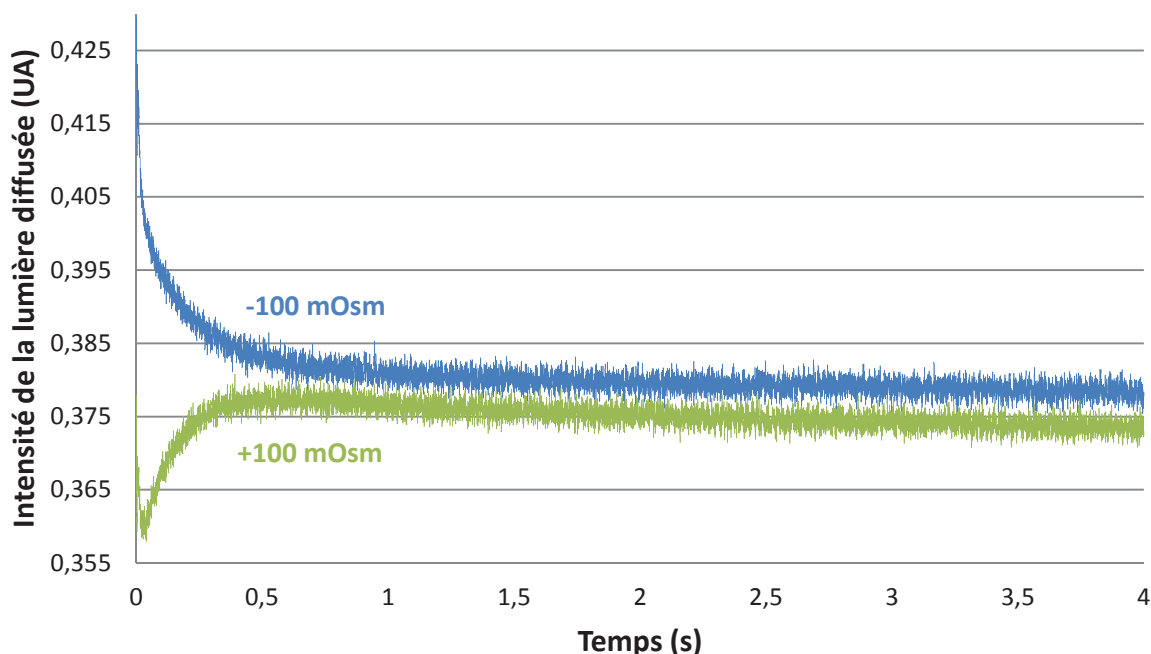


Figure 55 : Réponse analytique de la diffusion de la lumière pour le composé U4. Les deux courbes, bleue et verte, correspondent à la réponse en DLS des deux solutions d'osmolarité différente

En analysant la morphologie des deux courbes, on peut supposer que si la décroissance est abrupte, le transport est rapide. La courbe d'en haut (bleue) correspond à l'analyse de la solution d'osmolarité négative, tandis que la courbe d'en bas (verte) correspond à la réponse de la solution d'osmolarité positive. Le transport de molécules d'eau est étudié dans les deux cas car la direction du passage des molécules d'eau est différente selon le cas étudié. Pour les conditions où la différence en osmolarité est de +100 mOsm, la concentration extravésiculaire est de 400 mM et la concentration intravésiculaire en sucrose est de 200 mM ; ainsi, les molécules d'eau qui se trouvent à l'intérieur de la vésicule vont sortir, pour équilibrer le gradient de concentration établi. Ce phénomène aura pour conséquence un rétrécissement de la vésicule, accompagné par une augmentation de la diffusion de la lumière. Dans le cas de la solution d'osmolarité négative (de -100 mOsm) et donc du choc osmotique négatif, la solution à l'extérieur des vésicules ne contient pas de sucrose. La concentration de sucrose dans la vésicule, toujours de 200mM, sera équilibrée par l'entrée des molécules d'eau. Si le composé testé forme des canaux favorables au transport des molécules d'eau, il se produira un transfert vers l'intérieur de la vésicule afin d'équilibrer la concentration en sucrose des deux côtés de la membrane ce qui induira un phénomène de gonflement de la vésicule. Ce phénomène se traduit par une faible diffusion de la lumière et donc une diminution du signal.

Nous utilisons les deux cas de figure décrits ci-dessus pour l'analyse de nos systèmes, afin de mettre en évidence des différences de direction de transport des molécules d'eau à travers les canaux. On peut supposer qu'une différence notable sera observée lorsque l'association des molécules va former une architecture supramoléculaire chirale dans le canal. Une disposition différente, donc une asymétrie du canal, va déterminer les molécules d'eau à traverser le passage d'une façon spécifique. Dans notre cas, nous avons obtenu des valeurs de perméabilité à l'eau plus élevées dans le cas d'une osmolarité positive.

Chaque valeur de la constante de vitesse est issue d'une courbe qui est une moyenne de 10 à 12 courbes de transport, comme celles présentées à la **Figure 55**. Un tableau rassemblant les constantes de vitesse (k) est présenté (**Tableau 7**). A l'aide de ces valeurs, on peut calculer la perméabilité à l'eau des systèmes vésiculaires, données présentées pour les deux conditions osmotiques étudiées. On remarque, d'une part, que le composé U8 présente les valeurs de constante de vitesse les plus élevées, dans les deux conditions osmotiques. D'autre part, les vitesses en mode « gonflement », à -100 mOsm sont moins élevées. Pourtant, toutes ces valeurs doivent être considérées par rapport aux blancs respectifs.

Tableau 7 : Constantes de vitesse du transport des molécules d'eau à travers les bicouches lipidiques contenant les composés U1, U3, U4, U6 et U8

Composés insérés	k (+100 mOsm)	k (-100 mOsm)
U1	4,17	3,08
U3	3,84	2,66
U4	4,55	3,22
U6	4,44	3,36
U8	4,77	4,70

Suite à l'analyse du transport de molécules d'eau par la technique de « Stopped Flow », deux composés ont montré une perméabilité significative, pourtant modeste par rapport aux valeurs enregistrées pour les canaux d'eau naturels. Les expériences présentées ici ont été réalisées en modes « rétrécissement » et « gonflement » (*Figure 56* et *Figure 57*, respectivement).

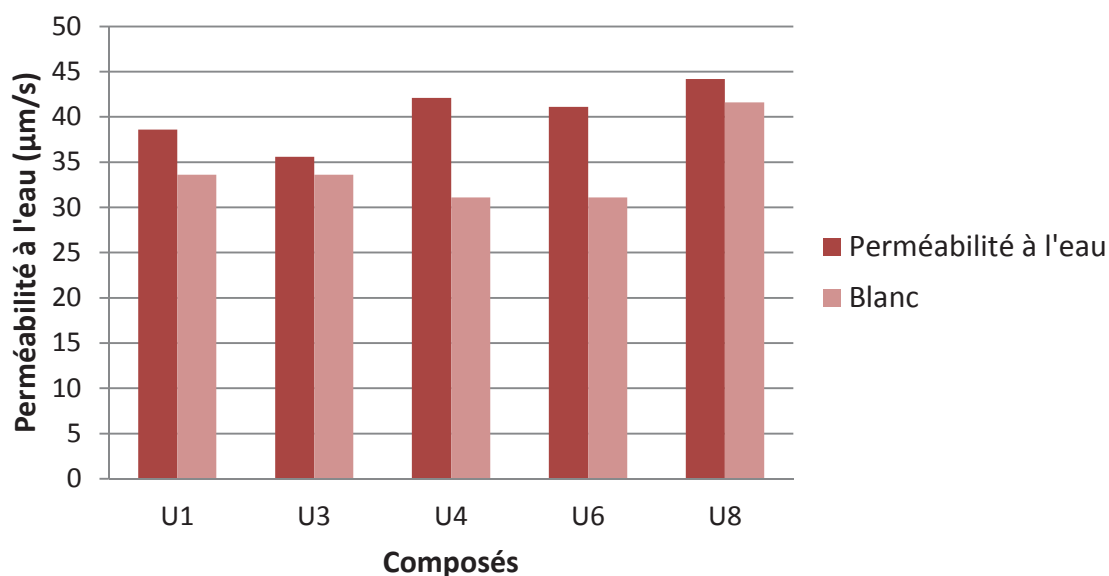


Figure 56 : Perméabilité à l'eau dans des conditions à +100 mOsm (mode « rétrécissement ») pour les composés étudiés insérés dans la bicouche lipidique comparée à la perméabilité à l'eau pour les bicouches lipidiques sans composé (blanc)

Tout d'abord, en mode rétrécissement on remarque une bonne activité pour les composés U4 et U6. La valeur de la perméabilité pour le composé U8 est également élevée mais celle-ci doit être considérée par rapport à la valeur de perméabilité du blanc qui, elle aussi, est grande (*Figure 56*).

Ensuite, lorsque l'on teste l'activité de transport des molécules d'eau de l'extérieur de la vésicule vers l'intérieur (pour diluer les 200 mM de sucrose intravésiculaire) on remarque les mêmes valeurs d'activité, U4 et U6 présentant une différence plus importante par rapport au blanc (**Figure 57**). Dans le cas des expériences à -100 mOsm le transport de l'eau présente des valeurs de perméabilité très réduites pour les composés U8 et U3 comme d'ailleurs observé pour les expériences menées à +100 mOsm. L'augmentation de la perméabilité n'est donc peu significative du fait de l'absence de canaux dans la membrane.

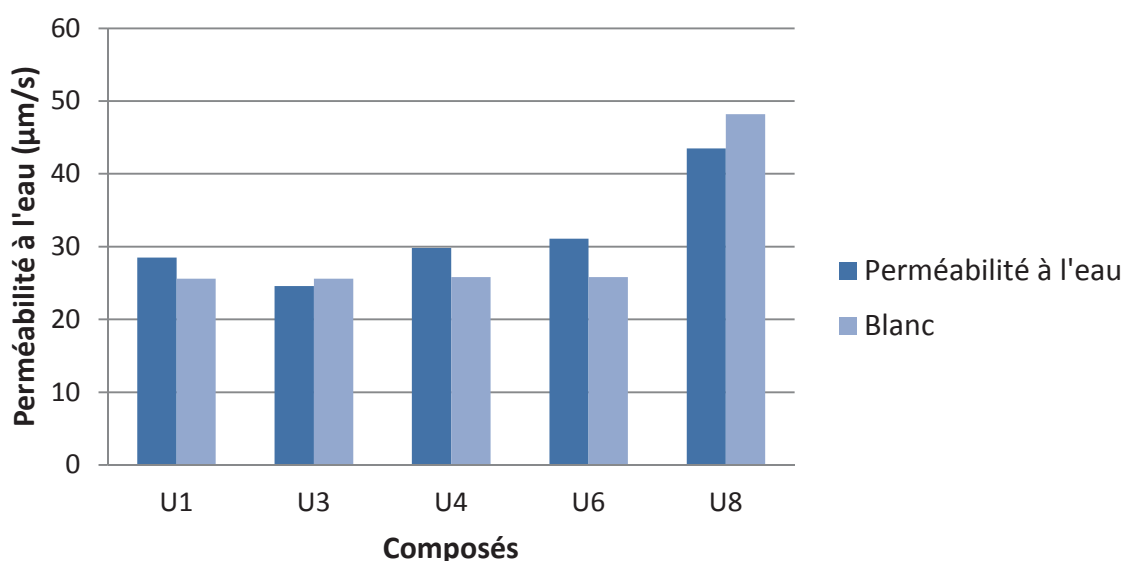


Figure 57 : Perméabilités à l'eau à -100 mOsm (mode « gonflement ») pour les composés étudiés insérés dans la bicouche lipidique comparée à la perméabilité à l'eau pour les bicouches lipidiques sans composé (blanc)

Dans tous les cas, le résultat de perméabilité à l'eau a été comparé à une valeur témoin (du test de perméabilité à l'eau pour les bicouches lipidiques sans composé). Les représentations graphiques n'ont pas la même valeur de perméabilité pour le témoin (blanc), car les tests n'ont pas été tous réalisés sur le même échantillon de vésicules. Vu la nature dynamique des systèmes vésiculaires, il en résulte des différences entre les perméabilités de la bicouche lipidique, et nous allons comparer l'activité des composés par rapport au blanc testé dans les mêmes conditions. Cette valeur du blanc dépend des conditions expérimentales, de la préparation de l'échantillon des vésicules et des paramètres opérationnels de la mesure. C'est pour cela que dans la **Figure 58** nous avons représenté le pourcentage (%Pf) de l'augmentation des valeurs de la perméabilité d'eau Pf par rapport à celle du blanc correspondant (Pblanc) à +100 mOsm et à -100 mOsm, pour les composés étudiés. Le lien

quantitatif qui permet de relier les données présentées à la **Figure 58** aux représentations précédentes est décrit par l'**équation 5**.

$$\%Pf = \left(\frac{Pf - P_{blanc}}{Pf} \right) * 100 \quad \text{Equation 5}$$

Par rapport au blanc, nous avons obtenu 26% de variation de la constante de vitesse (donc de la perméabilité) pour U4 et 24% de variation pour U6 (**Figure 58**). On peut dire que le composé U4, parmi les autres testés, possède des propriétés de transport de molécules d'eau supérieures, même si sa valeur de la perméabilité à l'eau n'est pas exceptionnelle. Les valeurs négatives de ce rapport sont dues au fait que les valeurs de perméabilité à l'eau dans les cas du test du blanc sont plus élevées que lorsque l'on insère le composé dans les vésicules. Ainsi, on peut formuler que le composé inséré peut **stabiliser le dynamisme de la vésicule** et, quand on mesure la perméabilité à l'eau de l'assemblage vésiculaire, les valeurs obtenues sont plus faibles.

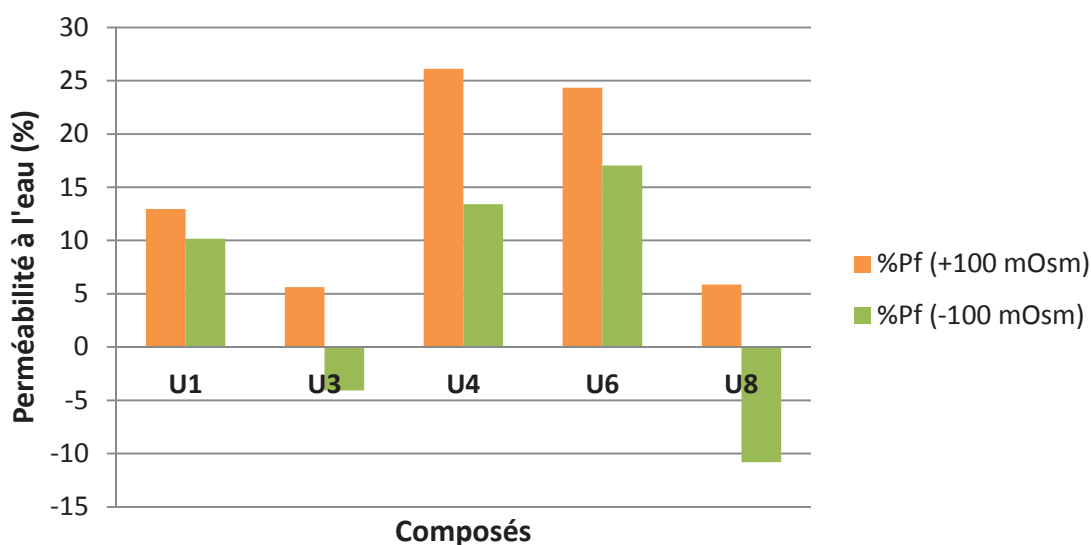


Figure 58 : Comparaison des différences de perméabilité à l'eau (en pourcentage) par rapport au blanc à +100 mOsm (orange) et à -100 mOsm (verte)

En conclusion, dans le cadre de l'étude du transport de l'eau par « Stopped Flow » couplé à la diffusion de la lumière, nous avons obtenu de bons résultats pour les composés monofonctionnels, U4 (26% d'augmentation de la différence de perméabilité à l'eau par rapport au témoin) et U6 (24%) dans les deux conditions osmotiques, et des valeurs plus faibles pour les composés U3 et U8. Ces deux monomères ne forment pas de canaux qui auraient pu faciliter le transport de l'eau. Ainsi, l'activité des composés de cette série reste à être améliorée.

Conclusions et perspectives

La quête de nouveaux canaux mimes des systèmes transporteurs biologiques a comme résultat le design et la synthèse de nouvelles molécules agissant comme transporteurs d'ions. Les modèles synthétiques prennent en compte les aspects d'hydrophilicité / hydrophobicité à l'intérieur du canal et les fonctions responsables de l'interaction ou la morphologie de la structure fonctionnelle issue de l'agrégation des unités monomères. Après la modélisation et la synthèse des systèmes transporteurs synthétiques, un autre défi est la caractérisation statique et dynamique de ces derniers. Généralement, des techniques comme la diffraction des rayons X sur monocristal ou la RMN sont mises en œuvre pour décrire le mode d'assemblage au niveau supramoléculaire à l'état solide ou à l'état liquide, respectivement. Cependant, une difficulté peut venir du fait que les supramolécules peuvent s'organiser différemment dans la bicouche lipidique.

Les techniques de caractérisation dynamique comme la fluorescence ou le patch-clamp peuvent amener des informations complémentaires précieuses concernant les données quantitatives qui décrivent l'activité de la supramolécule. Ainsi, ces méthodes permettent d'établir une corrélation entre les informations obtenues à l'état solide et les renseignements sur l'activité du canal inséré dans la bicouche lipidique, à l'état liquide.

Pour répondre à ces défis, nous avons synthétisé une série de molécules amphiphiles pour étudier les capacités de transport des ions et des molécules d'eau à travers des membranes de type bicouche lipidique (LUVs).

Le transport ionique (cations, protons et anions chlorure) a été étudié à l'aide d'une méthode vésiculaire utilisant la détection du signal par fluorescence. Les résultats obtenus sont en accord avec l'objectif proposé. Nous avons évalué les performances de transport de quatre molécules, **U3**, **U4**, **U6** et **U8**, parmi les 12 synthétisées, à plusieurs concentrations dans les cas des transports de cations (ions alcalins et protons) et de molécules d'eau. Le traitement des données comprend le calcul des principaux paramètres cinétiques et d'activité : l'activité fractionnelle (Y), la constante de vitesse (k'), le coefficient de Hill (n) et l' EC_{50} . Ensuite, selon les valeurs obtenues pour ces paramètres et tenant compte des critères structuraux, nous avons comparé les composés testés en termes de sélectivité ionique et activité et nous avons proposé des relations structure-activité. De ces tests, il résulte que le

composé le plus actif est le benzimidazole U8, qui a manifesté un bon transport pour le sodium et un EC50 faible.

En règle générale, nous pouvons conclure que **les composés monofonctionnels améliorent le transfert ionique** à travers la membrane lipidique par rapport aux composés difonctionnels. Ce fait est probablement dû à une incorporation plus facile dans le milieu lipophile membranaire et la possibilité de former des structures fonctionnelles plus dynamiques qui facilitent le transport.

Nous en avons conclu aussi qu'un bon équilibre entre les interactions supramoléculaires et la solubilité dans l'eau peut favoriser l'amélioration de l'activité de transport des canaux synthétiques. Le canal qui a montré la structure la plus favorable pour nos études contient une seule terminaison polaire, de type benzimidazole (U8).

Par ailleurs, deux composés, U6 et U8 se sont montrés actifs pour le transport de molécules d'eau.

En perspective, nous envisageons tout d'abord la confirmation des capacités de transport de ces molécules par une technique analytique supplémentaire. Des études complémentaires peuvent être faites à l'aide des expériences de conductance dans des membranes planaires par la technique de Patch Clamp.

On peut proposer également le test de ces composés dans des applications pratiques dans lesquelles les canaux ioniques peuvent jouer un rôle important. Ces applications font rapport à des champs d'étude de la chimie médicinale, comme le transport des médicaments et des agents antibiotiques, la catalyse ou les biocapteurs. Généralement, les transporteurs synthétiques, tout comme les molécules naturelles, peuvent trouver des applications dans la transduction de l'impulsion nerveuse et la signalisation cellulaire. De surcroît, le développement de systèmes synthétiques permettant le transport d'eau a permis la génération de nouveaux matériaux médicaux et environnementaux, par exemple, pour la purification de l'eau.

***PARTIE 2 : MATERIAUX STRUCTURÉS
OBTENUS PAR POLIMÉRISATION
INTERFACIALE ET PAR SOL-GEL POUR LA
FILTRATION DE L'EAU***

*« Ce que l'on connaît est une goutte d'eau,
ce que l'on ne connaît pas, un océan »
Sir Isaac Newton*

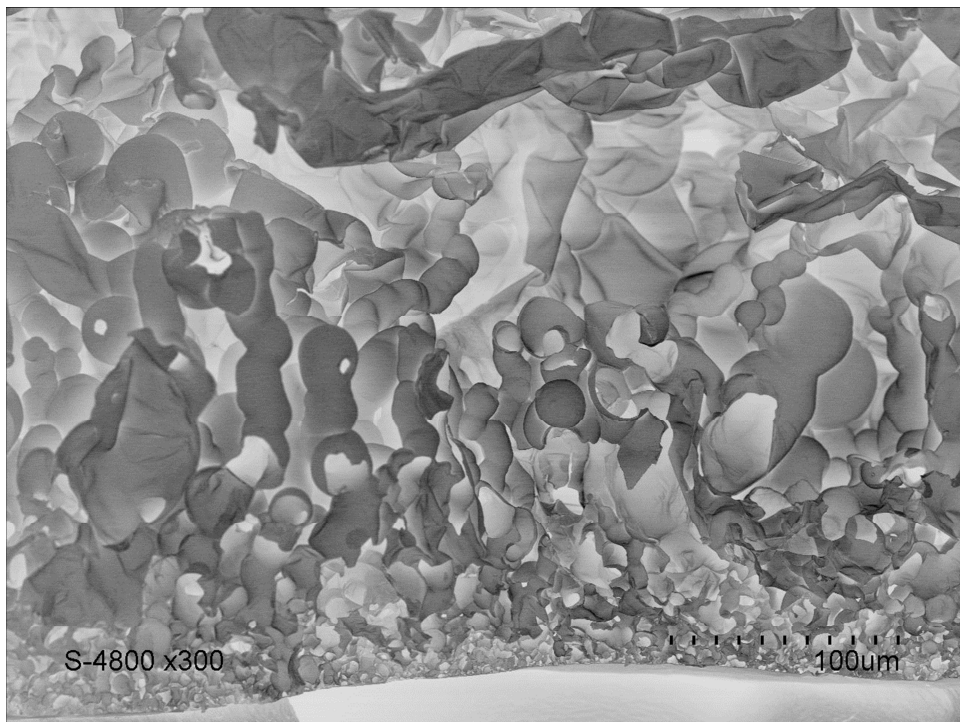


Image MEB de la membrane autosupportée HITMC

Introduction : « A l'eau la terre ? » - Problématique de l'eau potable au quotidien et technologies de dessalement

Résumé : Après la présentation sommaire de la problématique de l'eau potable au quotidien, cette partie introductive décrira des **méthodes** de filtration membranaire, avec un accent mis sur la technique d'osmose inverse. Finalement, nous ferons un rappel des **objectifs de la recherche** et nous décrirons la **démarche expérimentale** suivie.

L'eau est la colonne vertébrale de l'économie mondiale, car sa qualité joue un rôle indéniable dans des domaines comme l'agriculture, l'industrie, la production d'énergie ou pour la consommation courante. C'est pour cela qu'aujourd'hui, la production d'eau d'un haut degré de qualité constitue un défi pour la protection de l'environnement.⁹⁶ Dès les années '60, avec le développement des membranes synthétiques de haute performance, les technologies membranaires sont devenues des méthodes utilisées intensivement dans le traitement de l'eau. De plus, l'implémentation des membranes dans des configurations variées a progressé grâce à la découverte de nouveaux matériaux.

Le processus de traitement de l'eau utilise une gamme variée de membranes associées à différentes techniques de filtration (**Figure 59**). Les membranes sont classifiées selon la dimension de particules qui peuvent être rejetées (et, implicitement selon la dimension des pores de la membrane utilisée). Ainsi, il existe des membranes de **microfiltration (MF)**, d'**ultrafiltration (UF)**, de **nanofiltration (NF)**, et d'**osmose inverse (OI)**.

Les membranes de microfiltration sont caractérisées par la plus grande dimension de taille de pores et sont utilisées généralement pour l'élimination de grandes particules en suspension et de divers microorganismes. Les membranes d'ultrafiltration possèdent de pores de dimension plus faible que les membranes de microfiltration et peuvent retenir des bactéries et macromolécules solubles, comme les protéines. Les membranes de nanofiltration ont fait leur apparition plus récemment sur la scène de la filtration membranaire, ce sont des membranes poreuses avec une dimension de pores de l'ordre de 10Å et présentent des performances situés à la frontière entre les membranes d'osmose inverse et celles

⁹⁶ Shannon, M.A., Bohn, P.W., Elimelech, M., Georgiadis J.G., Mariñas, Mayes A.M., *Nature Reviews*, **2008**, 452, 301.

d'ultrafiltration. Ce sont des membranes avec une bonne perméabilité, qui sont utilisées dans le dessalement des eaux de rivières.⁹⁷

Finalement, les **membranes d'osmose inverse** sont pratiquement non-poreuses (denses) donc elles sont utilisées non seulement pour l'exclusion des particules mais aussi pour la rétention des espèces de faible masse molaire comme les ions et les molécules organiques.

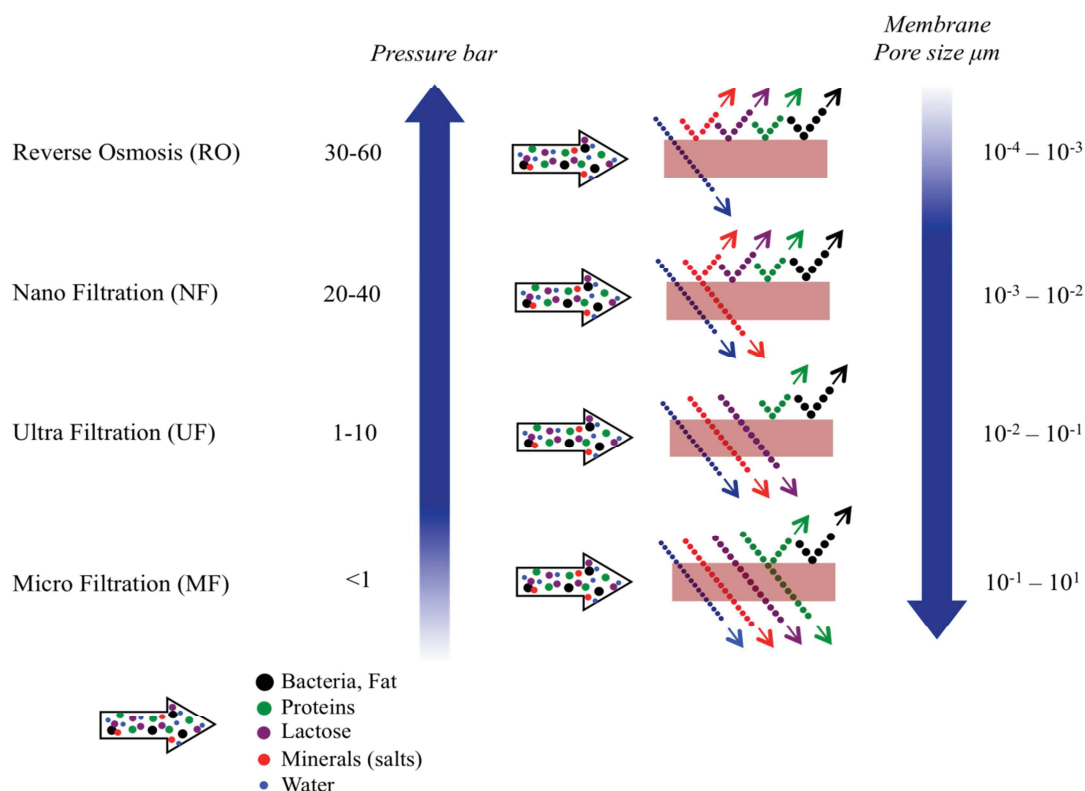


Figure 59 : Classification des techniques membranaires en fonction de la pression transmembranaire et de la nature des espèces filtrées

L'**osmose** représente le passage d'un liquide à travers une membrane semi-perméable, sous l'effet du gradient de concentration. Elle se traduit par un flux d'eau qui passe du compartiment dilué vers une solution plus concentrée, à travers une membrane, afin de diminuer le gradient de concentration. L'**osmose inverse** (OI) est le processus contraire. Si on applique une pression plus grande que la pression osmotique dans le compartiment de solution plus concentrée, l'eau va passer dans le compartiment opposé. Le résultat sera l'obtention

⁹⁷ El-Dessouky, H.T., Ettouney, H.M., Reverse Osmosis, in *Fundamentals of Salt Water Desalination*, 2002, Elsevier Science B.V., Amsterdam, 409.

d'une eau dépourvue de sels à travers un processus de dessalement gouverné par un mécanisme de « solution-diffusion ».^{98,99}

L'OI est une technologie membranaire utilisée dans le dessalement de l'eau de mer et le recyclage des eaux usées.¹⁰⁰

Le principe de ces deux techniques est illustré dans la **Figure 60**.

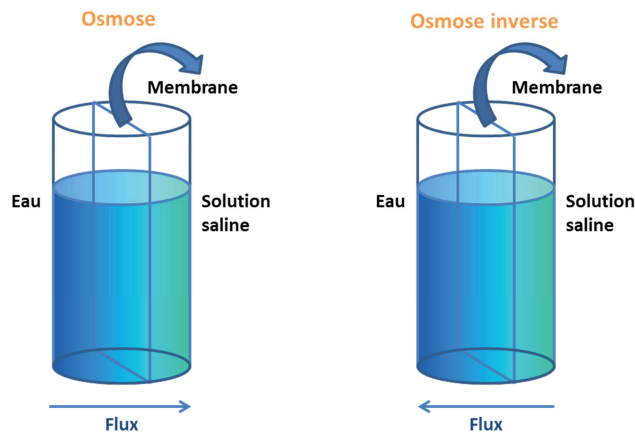


Figure 60 : Principes de l'osmose et de l'osmose inverse à travers une membrane semi-perméable

Dans les dernières décennies, le développement des méthodes de séparation membranaires a suscité un intérêt grandissant, car ces processus sont peu énergivores et moins coûteux que les procédés classiques.¹⁰¹

Une autre raison favorisant le développement des technologies de dessalement de l'eau (à partir des années '70) demeure le contexte actuel de la déficience en eau potable. Cette situation a conduit les chercheurs à se diriger plutôt vers l'utilisation des océans (qui contiennent 96,5% du volume total d'eau existant sur terre, **Figure 61**), pour produire de l'eau pure. Ces nouvelles techniques ont prouvé leur efficacité par rapport aux méthodes utilisées auparavant, comme les méthodes basées sur les techniques de l'évaporation.¹⁰² De plus, les réglementations liées à la production d'eau potable et surtout à son niveau de qualité (pureté) sont devenues drastiques. Toutefois, ce défi détermine la fabrication de membranes qui présentent des bonnes caractéristiques de filtration.

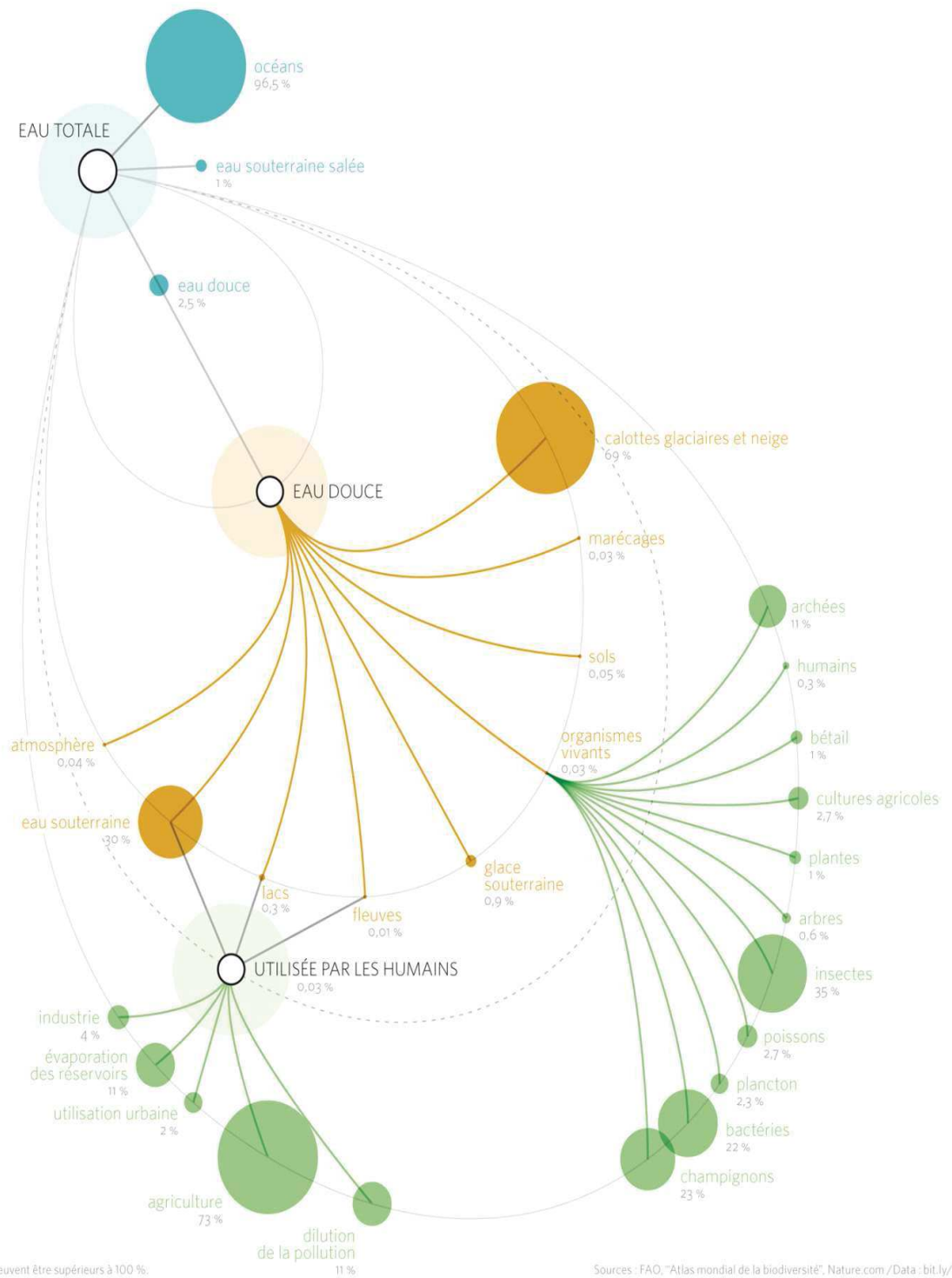
⁹⁸ Baker, R.W., *Membrane Technology and Applications*, 2004, 2nd Ed., John Wiley & Sons.

⁹⁹ Geise, G.M., Paul, D.R., Freeman, B.D., *Progress in Polymer Science*, 2014, 39, 1.

¹⁰⁰ Slater, C.S., Ahlert, R.C., Uchirin, C.G., *AIChE*, 1983, 2, 251.

¹⁰¹ Shao, P., Huang, R.Y.M., *J. Membr. Sci.*, 2007, 287, 162.

¹⁰² Khawaji, A.D., Kutubkhanah, I.K., Wie, J.-M., *Desalination*, 2008, 221, 47.



chiffres étant arrondis, les totaux peuvent être supérieurs à 100 %.

Sources : FAO, "Atlas mondial de la biodiversité", Nature.com / Data : bit.ly/KIB_WaterWorld

Figure 61 : Distribution de l'eau sur terre (extrait du Courrier International no 1258 11-17 décembre 2014) – David Mc Candless (pionnier du journalisme de données, Datavision 2)

Les objectifs qu'on se propose d'atteindre à la fin de ce projet sont :

1. La production de nouveaux matériaux membranaires composites sous forme de couches minces (MCCM) avec une structuration organisée ;
2. L'obtention, avec ces matériaux, de bonnes performances en filtration de sels (chlorure de sodium notamment) par une technique de filtration frontale ;
3. La synthèse, la caractérisation et le test de filtration de matériaux polymères hybrides.

Afin de répondre à ces questions de recherche, la **démarche expérimentale** suit trois étapes :

1. **Synthèse** des monomères (précurseurs organiques) et des polymères en utilisant la technique de polymérisation interfaciale (PI) ;
2. **Fabrication des membranes** et leur caractérisation statique ;
3. **Test des performances** membranaires (caractérisation dynamique), plus particulièrement l'évaluation de la perméabilité et du taux de rétention des espèces.

Les cinq chapitres suivants décrivent, dans un premier temps, la fabrication des membranes composites sous forme de couches minces pour permettre le dessalement de l'eau et, dans un deuxième temps, la synthèse et la mise en forme des membranes polymères hybrides. Notre intérêt se concentre sur des membranes fonctionnelles où les propriétés d'auto-assemblage, reconnaissance et transport peuvent être dictées notamment par la présence des fonctions spécifiques, que cela soit au sein d'un polymère organique obtenu par polymérisation interfaciale (PI) ou au sein d'une matrice hybride dense. L'intérêt réside dans la capacité de tels systèmes membranaires à présenter des bonnes propriétés de filtration.

Chapitre 2 : Classification des membranes pour le traitement de l'eau

Résumé : Les membranes utilisées dans le traitement de l'eau sont très diverses. Dans les deux sections suivantes nous proposons une classification de ces membranes basée sur deux critères : la **structure physique** et la **composition chimique** des matériaux constituants. Ensuite, quelques généralités sur les **améliorations** de la technique de PI au fil des années (puisque'il a été montré que les conditions de polymérisation affectent les performances membranaires) seront présentées (section 2.3). Enfin le calcul des **paramètres de filtration** (perméabilité, rétention de sels) sera décrit (section 2.4).

2.1 Classification selon la structure physique

Selon leur morphologie, les membranes utilisées dans le traitement de l'eau sont groupées en deux catégories : **membranes planes et fibres creuses**.¹⁰³ Dans cette deuxième partie de la thèse nous allons nous focaliser sur les membranes planes. Généralement, en fonction de leur structure physique, les membranes planes sont classées en **membranes isotropes et membranes anisotropes**. Les membranes isotropes sont d'une composition et nature physique homogènes tout le long de la section transversale de la membrane. Les membranes anisotropes ne sont pas homogènes le long de la section transversale et consistent, typiquement, en une succession couches qui peuvent être d'une structure ou d'une composition chimique différentes les unes des autres.

Les membranes isotropes peuvent être divisées, à leur tour, en plusieurs catégories. **Les membranes microporeuses**, souvent fabriquées à partir de matériaux polymères rigides, avec des pores interconnectés, en sont un exemple. Les membranes microporeuses le plus connues sont les membranes préparées par **inversion de phase**. Celles-ci sont fabriquées à la suite du coulage d'un film provenant d'une solution de polymère dans un non-solvant de ce polymère. La plupart des polymères utilisés dans ce type d'application sont hydrophobes, en l'occurrence, l'eau est le non-solvant le plus utilisé. En contact avec l'eau, le polymère précipite et forme alors une membrane.

On trouve dans la littérature un autre type de membrane microporeuse qui sont les **membranes « track-etched »**, produites par « track-etching », technologie qui consiste en

¹⁰³ Sagle, A., Freeman, B, *Fundamentals of Membranes for Water Treatment*

l'irradiation d'un film de polymère à l'aide de particules chargées (ions lourds énergétiques), qui attaquent les chaînes polymères et conduisent à la formation de traces latentes linéaires caractérisées par une dégradation locale de ce polymère. Ces traces sont alors révélées par le passage du film à travers une solution (attaque chimique sélective), quand les molécules dégradées se dissolvent et permettent l'apparition de pores cylindriques, la plupart étant perpendiculaires à la surface plane de la membrane.

Finalement, les **membranes expansées** : ce sont des membranes constituées de polymères cristallins, avec des voies créées grâce à un processus d'extrusion. Tout d'abord, le matériel est extrudé à une température proche de son point de fusion, puis refroidi, recuit et étiré jusqu'à 300% de sa longueur initiale. Cette expansion crée des pores en forme de fente, ayant une dimension comprise entre 200 et 2500 Å.

Les membranes anisotropes sont divisées en deux grandes catégories : les membranes obtenues par inversion de phase et les membranes composites en couches minces (MCCM ou TFC – « Thin Film Composite »).

Les **membranes anisotropes d'inversion de phase** (découvertes par Loeb et Sourirajan dans les années '60)¹⁰⁴ sont des membranes d'une composition chimique homogène (l'acétate de cellulose, **Figure 62**), mais d'une structure différente le long de la section transversale (la taille des pores et la porosité sont différentes dans l'épaisseur du film). Les membranes Loeb-Sourirajan sont constituées d'une couche dense de polymère en surface, dont la porosité augmente en profondeur. Elles sont fabriquées par un processus d'inversion de phase. Pourtant, ce type de membranes montre quelques inconvénients comme une gamme étroite du pH opérationnel (entre 4,5 et 7,5) et une susceptibilité aux attaques biologiques.¹⁰⁵

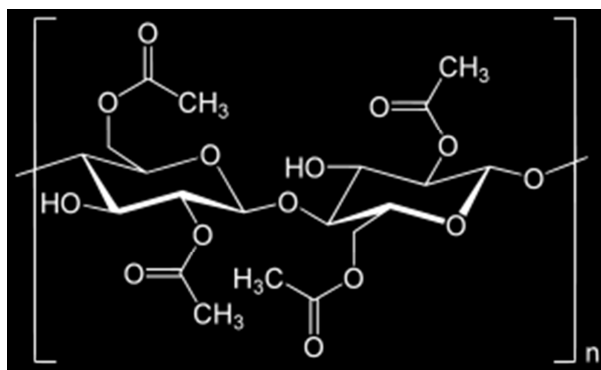


Figure 62 : Unité monomère de la membrane asymétrique créée par Loeb et Sourirajan

¹⁰⁴ Loeb, S., Sourirajan, S., *US Patent 3*, **1964**, 133, 132.

¹⁰⁵ El-Saied, H., Basta, A.H., Barsoum, B.N., Elberry, M.M., *Desalination*, **2003**, 159, 171.

En dernier, les **membranes composites à couche mince** (MCCM), introduites par Cadotte et al.¹⁰⁶ sont des membranes de composition chimique et de structure hétérogènes, composées d'une couche polymère mince déposée directement sur un substrat poreux. A son tour, le support poreux (souvent en polysulfone, PSf) est déposé sur un support en polyester (PE), qui lui confère une bonne stabilité mécanique. Contrairement aux membranes entièrement asymétriques (en acétate de cellulose), les membranes MCCM sont hétérogènes structurellement et dans leur composition chimique (**Figure 63**). On peut les obtenir à travers différentes techniques, comme le dépôt d'une solution, polymérisation plasma, traitement de surface ou par polymérisation interfaciale.

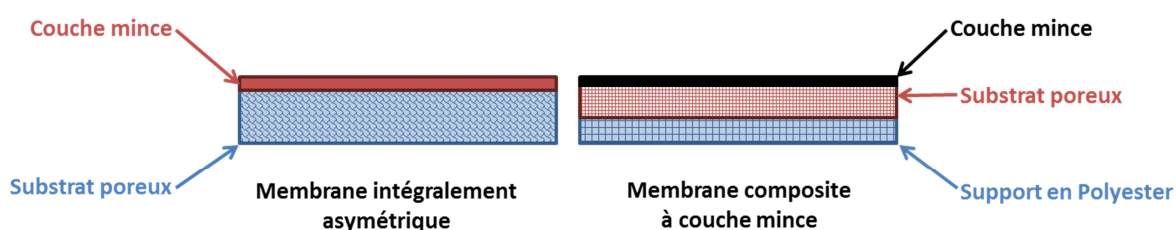


Figure 63 : Deux configurations membranaires dans le cas des membranes intégralement asymétriques et des membranes composites à couche mince

La **réaction de polymérisation interfaciale (PI)** a été développée par Morgan et al. en 1965¹⁰⁷. Ce type de synthèse est utilisé pour produire des couches minces comme les couches de polyamides. Le processus est basé sur la réaction entre deux monomères qui se trouvent dans un système biphasique. La polymérisation se produit alors à l'interface de ces deux phases immiscibles, l'une étant une phase aqueuse et l'autre une phase organique hydrocarbonée comme de l'hexane, du cyclohexane ou de l'isoparaffine.¹⁰⁸

Quand les deux solutions sont mises en contact, les deux réactifs peuvent diffuser jusqu'à l'interface et interagir par polycondensation pour conduire à l'obtention d'un réseau polymère solide qui va séparer les deux phases liquides. Apparemment, la réaction de polymérisation a lieu en phase organique, du fait d'une faible solubilité de l'amine et d'un coefficient de partition non-favorable du chlorure acide dans la phase aqueuse.¹⁰⁹ La morphologie du film polymère formé sera donc influencée par la diffusivité et la réactivité des monomères. La perméabilité hydraulique du film est en étroite relation avec l'inverse de l'épaisseur, de la concentration des monomères et de leur réactivité.

¹⁰⁶ Cadotte, J.E., Petersen, R.J., Larson, R.E., Erickson, E.E., *Desalination*, **1980**, 32, 25.

¹⁰⁷ Morgan, P.W., Kwolek, S.L., *J. Polym. Sci.*, **1959**, 40, 299.

¹⁰⁸ Verissimo, S., Peinemann, K.V., Bordado, J., *J. Membr. Sci.*, **2005**, 264, 48.

¹⁰⁹ Freger, V., *Langmuir*, **2005**, 21, 1884.

C'est pour cette raison que l'utilisation d'un large excès de monomère aminé en phase aqueuse est indiquée pour augmenter la réactivité et la perméabilité du film. Cet écart de concentration va faciliter la diffusion du monomère aminé et, par conséquent, la formation du film membranaire. Au fur et à mesure que les monomères interagissent, le film formé s'épaissit et empêche le contact des deux composés, ce qui conduit à l'arrêt de la réaction de polymérisation interfaciale. (*Figure 64*).

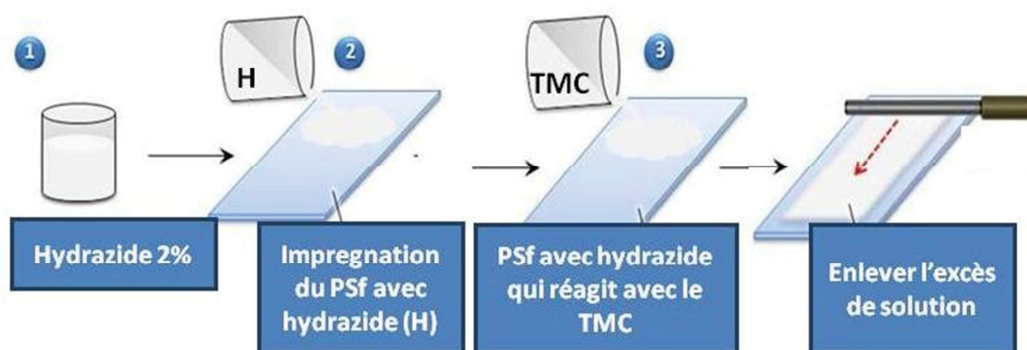


Figure 64 : Illustration de la technique de la polymérisation interfaciale sur support

Cependant, Morgan n'avait pas réussi à développer son invention en application industrielle, jusqu'à ce que Cadotte ait découvert qu'à travers l'optimisation des paramètres opérationnels, les performances des membranes pouvaient être grandement améliorées. Ce fut alors la naissance des MCCM. Il avait synthétisé une membrane polymère par réticulation entre la pipérazine et un mélange de TMC et de chlorure d'isophtaloyle.

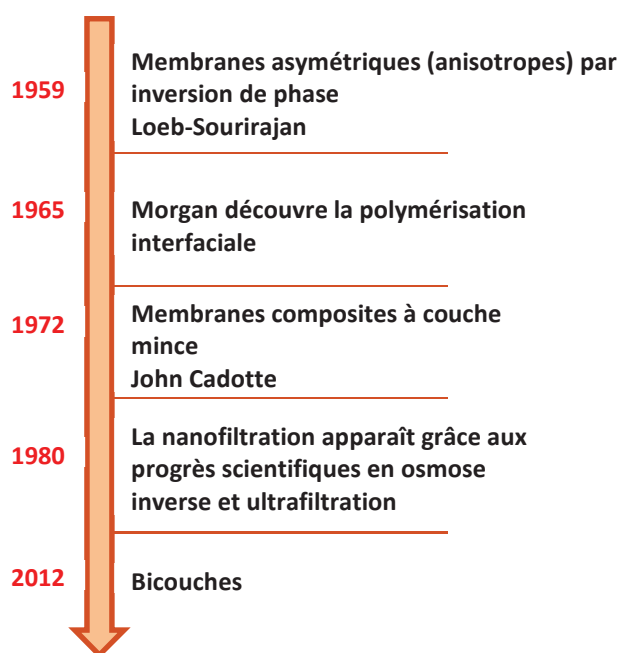


Figure 65 : Chronologie synthétique pour illustrer les moments clé dans l'évolution de la fabrication des membranes planes d'osmose inverse pour le traitement de l'eau

Plus tard, les progrès scientifiques en ultrafiltration et en osmose inverse ont fait apparaître une autre branche de la filtration membranaire, la nanofiltration. A ce jour, les améliorations continues des processus de fabrication des membranes composites sont en quête de résultats de plus en plus performants (*Figure 65*).

Egalement, de nombreuses études « *in silico* », de **simulations de dynamique moléculaire** (MDS) ont été menées pour investiguer les propriétés structurales et dynamiques des molécules d'eau emprisonnées dans le réseau hautement réticulé du polyamide. La structure hétérogène de la membrane a été caractérisée à travers la densité locale de l'eau et les distributions des dimensions des cavités (le volume libre à l'intérieur de la membrane).¹¹⁰

Dans une étude plus récente, les MDS ont été mises en œuvre pour sonder les propriétés structurales et du transport du chlorure de sodium (*Figure 66*) à travers la couche de polyamide.¹¹¹ Les propriétés de transport ont été caractérisées par le calcul de la perméabilité de l'eau et de la rétention de sel. La structure locale a été analysée et décrite par le nombre d'hydratation, de liaisons hydrogène ou les fonctions de distribution radiale.

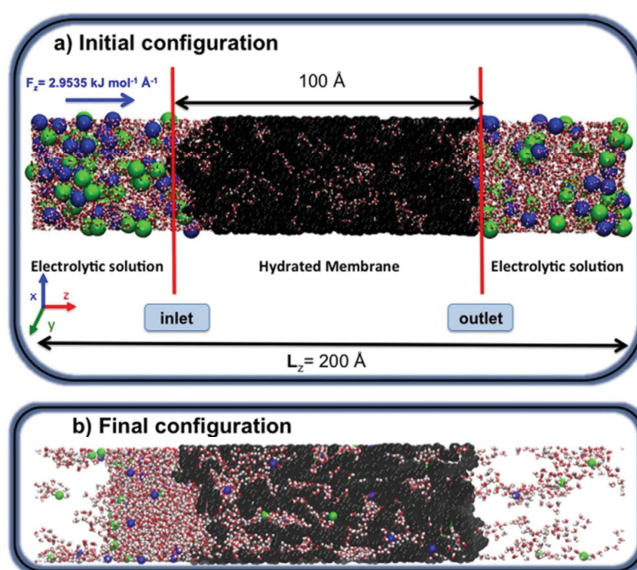


Figure 66 : Simulation des configurations initiale (haut) et finale (bas) de la couche de PA hydratée entre deux compartiments d'eau¹¹¹

Ce type de réaction de polymérisation interfaciale est utilisé pour l'obtention des membranes de filtration et sera décrite plus en détails dans la section suivante.

¹¹⁰ Ding, M., Szymczyk, A., Goujon, F., Soldara, A., Ghoufi, A., *J. Membr. Sci.*, **2014**, 458, 236.

¹¹¹ Ding, M., Szymczyk, A., Ghoufi, A., *Desalination*, **2015**, 368, 76.

2.2 Classification selon la composition chimique des matériaux

Puisque les performances membranaires sont principalement déterminées par la **structure du film** (en termes de dimension de pores, épaisseur, rugosité, hydrophilicité) et ses **propriétés chimiques** (réticulation groupements fonctionnels et liaisons), la compréhension des effets des différents monomères sur les performances des membranes composites est indispensable pour le design de la structure souhaitée et pour obtenir de bonnes caractéristiques de filtration.

Vouloir tracer une liste exhaustive de matériaux utilisés dans la fabrication des membranes pour le traitement de l'eau serait impossible, vu leur diversité. Cependant, la plupart des membranes de MF, UF, RO et NF sont des **polymères organiques synthétiques**.¹¹²

Les membranes de MF et d'UF sont souvent composées des mêmes matériaux, mais préparées différemment en fonction de la taille des pores envisagée. Parmi ces matériaux, on peut énumérer le poly(fluorure de vinylidène) ou PVDF, le polysulfone (PSf), le poly(acrylonitrile) ou les copolymères poly(acrylonitrile)-polychlorure de vinyle (PVC). Le poly(éther sulfone) ou PES est un autre exemple de polymère constituant les membranes d'UF. Les membranes de MF utilisent plutôt des mélanges d'acétate de cellulose et de nitrate de cellulose, des nylons, et du poly(tétrafluoroéthylène) (PTFE). Les membranes d'osmose inverse sont communément constituées d'une feuille de PSf sur laquelle une couche dense de polyamide est déposée. Finalement, les membranes de NF sont constituées d'acétate de cellulose ou de composites de polyamides (à l'image des membranes d'OI) ou peuvent être des formes modifiées des membranes d'ultrafiltration (PSf sulfonée).

Egalement, les membranes peuvent être préparées à partir des matières inorganiques, comme les céramiques ou les métaux. Les membranes céramiques sont microporeuses ou macroporeuses, thermiquement stables, et résistantes face aux agents chimiques, souvent utilisées pour la filtration. Pourtant, elles restent moins développées dans l'industrie par rapport aux membranes polymères du fait de leur coût élevé. Les membranes métalliques sont constituées d'acier inoxydable, avec des pores très fins. La séparation de gaz est l'application principale, mais elles peuvent être également utilisées dans la filtration de l'eau ou comme support membranaire.

¹¹² Wang, H., Li, D., *J. Mater. Chem*, **2010**, 20, 4551.

Avec l'introduction de la membrane **FT-30** préparée par PI entre la 1,3-métaphénylène diamine (MPD) et le chlorure de trimésyle (TMC), d'autres types de membranes ont été créés¹¹³. C'est ce film mince qui est responsable des propriétés de haute sélectivité, rétention de sel et flux d'eau, et les travaux de recherche actuels sont orientés vers la création d'une couche homogène, sans défauts qui a une forte adhérence avec le substrat microporeux sur lequel celle-ci est formée et qui a de bonnes propriétés de perméabilité et de sélectivité à l'eau.

Les membranes synthétisées sont constituées d'une couche support microporeuse, fabriquée en polysulfone déposée sur polyester et d'une couche réticulée qui est directement polymérisée in situ sur ce support. Des nombreuses couches polymères actives pour les MCCM ont été rapportées :

1. Polyamides aliphatiques et aromatiques (les plus fréquemment rencontrés) ;
2. Poly(éther-amide) ;¹¹⁴
3. Poly(amide-urée) ;¹¹⁵
4. Poly(amide-uréthane).¹¹⁶

Le **polyamide** est le matériau classique utilisé pour créer des membranes de filtration. Une membrane typique de polyamide est constituée de deux couches :

1. Le substrat poreux (le plus souvent en Polysulfone, car ce substrat a une résistance chimique élevée, une bonne hydrophilicité et une gamme large du pH opérationnel¹¹⁷) ;
2. La couche mince sélective, formé sur le substrat après polycondensation interfaciale entre une amine et un chlorure d'acide.

Premièrement, les caractéristiques des membranes en polyamide peuvent être modifiées en variant les conditions de la réaction de PI (la concentration des monomères, le solvant organique utilisé, les conditions de réaction et de traitement thermique).¹¹⁸ La perméabilité à l'eau est en étroite relation avec l'**épaisseur** et la morphologie du film de polyamide et la rétention de sel dépend du **degré de réticulation**. Dans ce cas, l'optimisation

¹¹³ Petersen, R.J., *J. Membr. Sci.*, **1993**, 83, 81.

¹¹⁴ Riley, R.L., Fox, R.L., Lyons, C.R., Milstead, C.E., Serov, M.W., Tagami, M., *Desalination*, **1976**, 19, 113.

¹¹⁵ Liu, L.F., Yu, S.C., Zhou, Y., Gao, C.J., *J. Membr. Sci.*, **2006**, 281, 88.

¹¹⁶ Liu, M.H., Yu, S.C., Tao, J., Gao, C.J., *J. Membr. Sci.*, **2008**, 325, 947.

¹¹⁷ Kim, E.S., Kim, Y.J., Deng, B.L., *J. Membr. Sci.*, **2009**, 344, 71.

¹¹⁸ Ghosh, A.K., Jeong, B.H., Huang, X.F., Hoek, E.M.V., *J. Membr. Sci.*, **2008**, 311, 34.

devrait se faire dans le sens d'obtention de membranes plus fines et plus réticulées, afin d'avoir une bonne réponse de perméabilité et de rétention de sel. Cependant, il faut trouver un bon équilibre entre ces paramètres, car si une membrane est trop réticulée, elle aura un réseau tridimensionnel qui va bloquer le passage des ions et de fait, la perméabilité en sera drastiquement diminuée.

En définitive, la fabrication de membranes de haute performance devrait tenir compte des critères suivants¹¹⁹ :

1. Utilisation de **solvants** avec une grande tension de surface et de viscosité faible ;
2. Contrôle de la **protonation** du MPD et de l'hydrolyse du TMC pendant la PI ;
3. Optimisation de la **température** et du temps de traitement, basé sur la volatilité du solvant organique.

Deuxièmement, la structure moléculaire des monomères joue un rôle important dans les propriétés de filtration. Plusieurs combinaisons ont été testées jusqu'à ce jour. Si la membrane classique MPD/TMC présente une bonne valeur de rétention de sel, elle est pourtant moins perméable que les membranes obtenues avec d'autres amines en phase aqueuse (pipérazine or 1,2-phénylènediamine).¹²⁰ En phase organique c'est le TMC qui est le plus souvent utilisé pour la fabrication de la couche polymère, car cette molécule peut former un réseau réticulé tridimensionnel et peut également augmenter l'hydrophilicité de la surface. Si la concentration en chlorure d'acide est augmentée, le film obtenu sera alors plus épais et la perméabilité plus faible.¹²¹

Le **Tableau 8** contient les structures chimiques des monomères communément utilisés dans la fabrication des membranes à couche mince.¹²²

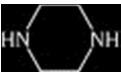
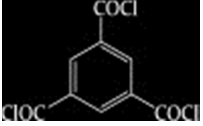
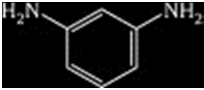
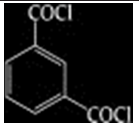
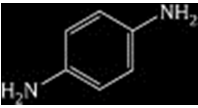
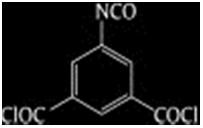
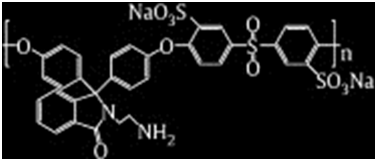

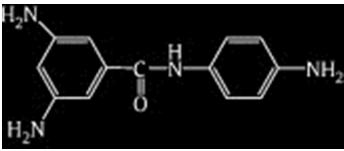
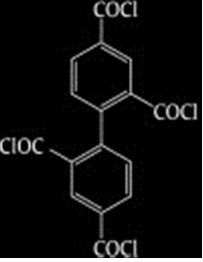
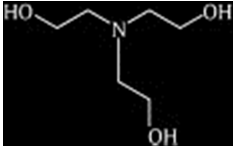
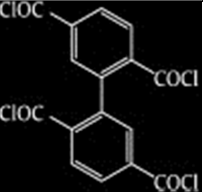

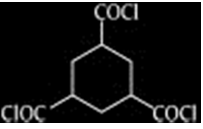

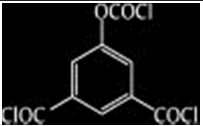
¹¹⁹ Jin, Y., Su, Z., *J. Membr. Sci.*, **2009**, 330, 175.

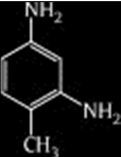
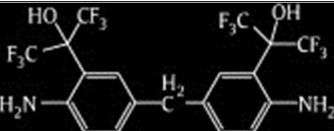
¹²⁰ Saha, N.K., Joshi, S.V., *J. Membr. Sci.*, **2009**, 342, 60.

¹²¹ Roh, I.J., Greenberg, A.R., Khare, V.P., *Desalination*, **2006**, 191, 279.

¹²² Lau, W.J., Ismail, A.F., Misdan, N., Kassim, M.A., *Desalination*, **2012**, 287, 190.

Tableau 8 : Structures chimiques et abréviation des monomères communément et de nouveaux monomères utilisés dans la fabrication des membranes à couche mince

Monomère aminé (abréviation)	Structure chimique	Monomère chlorure d'acyle (abréviation)	Structure chimique
Pipérazine (PIP)		Chlorure de trimésyle (TMC)	
m-Phénylènediamine (MPD)		Chlorure d'isophthaloyle (IPC)	
p-Phénylènediamine (PPD)		Chlorure de 5-isocyanatoisophthaloyle (ICIC)	
Cardo poly(aryléthersulfone)sulfonée (SPES-NH ₂)		Chlorure de mm-Biphényltétraacyle (mm-BTEC)	
3,5-diamino-N-(4-aminophényle) benzamide (DABA)		Chlorure de om-biphényletétraacyle (om-BTEC)	
Triéthanolamine (TEOA)		Chlorure de op-biphényletétraacyle (op-BTEC)	
Méthyle-diéthanolamine (MDEOA)		Chlorure de cyclohexane-1,3,5-tricarbonyle (HTC)	
1,3-cyclohexanebis(méthylamine) (CHMA)		Chlorure de 5-chloroformyloxyisophthaloyl	

4-méthyle-m-phénylènediamine (MMPD)			
Hexafluoroalcool-m-Phénylènediamine (HFA-MPD)			

Quelques équipes de recherche ont proposé **l'ajout d'autres amines** dans la phase aqueuse pendant le processus de polymérisation. Par exemple, l'ajout de cardopoly(arylène éther sulfones) sulfonées permet d'obtenir une meilleure valeur de la perméabilité,¹²³ grâce à un degré de réticulation plus élevé.

Une autre stratégie a été envisagée pour modifier la composition chimique des membranes. Il s'agit de remplacer le chlorure de trimésyle par d'autres chlorures d'acides, comme le chlorure de 3,4',5-biphényl triacyle, le chlorure de 3,3',5,5'-biphényl tétraacyle, le chlorure de 2,2',4,4'-biphényl tétraacyle or le chlorure de 2,2',5,5'-biphényl tétraacyle.¹²⁴ L'utilisation du chlorure de 2,2',4,4'-biphényl tétraacyle et du chlorure de 2,2',5,5'-biphényl tétraacyle a donné des valeurs de flux d'eau de 50,0 LMH et de 54,2 LMH respectivement ; valeurs bien meilleures que celle obtenue pour la membrane classique MPD/TMC. Cependant, le taux de rétention de sel a été plus faible (97,5%).

Le **groupement fonctionnel urée** (-NH-CO-NH-), dont la propriété d'auto-organisation par interactions hydrogène a été mentionnée dans la première partie de cette thèse, est également utilisé pour améliorer le degré de réticulation dans le polymère de polyamide (pour former des polymères du type poly-amide urées, **Figure 67** (A)). Les membranes étaient fabriquées avec du chlorure de 5-isocyanato-isophthaloyle, polymérisé avec le MPD.¹¹⁵

D'autre part, les fonctions clé des films contenant du **polyamide-uréthane**, -NH-COO-, **Figure 67**, (B) ont été obtenues en utilisant des chlorures acides de haloformyle substitués (par exemple chlorure de 5-chloroformyl-isophthaloyle).¹²⁵ Les membranes ainsi optimisées ont présenté un flux assez faible de 20 LMH mais une bonne valeur de rétention de sel de 98,5%.

¹²³ Chen, G., Li, S.H., Zhang, X.S., Zhang, S.B., *J. Membr. Sci.*, **2008**, 310, 102.

¹²⁴ Li, L., Zhang, S.D., Zhang, X.S., Zheng, G.D., *J. Membr. Sci.*, **2008**, 315, 20.

¹²⁵ Zhou, Y., Yu, S.C., Liu, M.H., Gao, C.J., *Desalination*, **2005**, 180, 189.

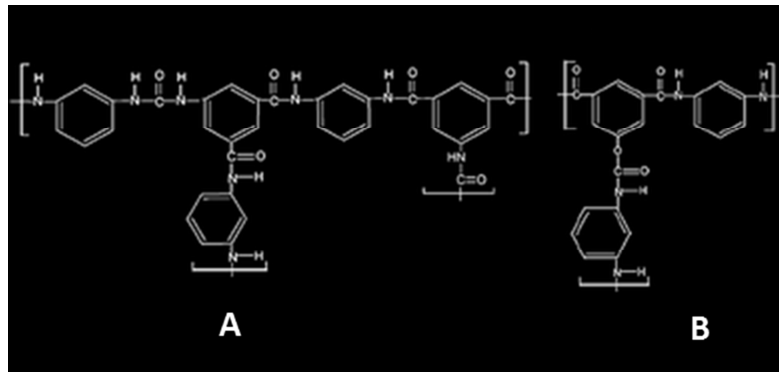


Figure 67 : Structure des chaînes polymères de polyamide-urée (A) et de polyamide-uréthane (B)

Pourtant, il est apparu que la performance de ces membranes de polyamide-uréthane dans le cadre du dessalement de l'eau peut être améliorée par l'ajout dans la phase organique d'un chlorure de diacyle comme le chlorure d'isophthaloyle ou le chlorure de téréphthaloyle, en présence d'heptane ou d'isopar ou en modifiant le processus de traitement thermique des membranes.

2.3 Améliorations de la technique de fabrication des membranes

Les 40 dernières années les processus de filtration à travers les membranes composites sous forme de couches minces ont été continuellement améliorés, afin de pouvoir obtenir de meilleures performances en termes de perméabilité, sélectivité, rétention de sels, stabilité et résistance au colmatage. L'amélioration de toutes ces caractéristiques, nécessite une bonne compréhension des processus et mécanismes qui gouvernent la formation du film sélectif.

Ainsi, des groupes de recherche se sont orientés vers l'application des **concepts de la nanotechnologie** dans la filtration membranaire. Ainsi, nous pouvons mentionner des membranes dont la fabrication implique des **nanotubes de carbone**¹²⁶ ou des **zéolithes**.¹²⁷ Ces membranes hybrides, appelées des membranes nanocomposites, ont démontré une bonne stabilité mécanique, chimique et thermique ainsi que des capacités de séparation améliorées.¹²⁸

Outre la composition chimique des matériaux pour la synthèse des MCCM, c'est la technique classique de fabrication des membranes par polymérisation interfaciale qui a été mise au point. Ainsi, de nombreux auteurs proposent l'utilisation d'**additifs** dans la phase aqueuse ou dans la phase organique, supposés améliorer les conditions de réaction et d'obtention de couches actives plus efficaces. Ces additifs peuvent faciliter le transfert de masse de monomères vers la zone de formation du film membranaire. De surcroît, les additifs peuvent probablement augmenter la réactivité des monomères.

Généralement l'utilisation des additifs en phase aqueuse est plus souvent rencontrée ; à titre d'exemple, des films polymères de polyamide avec de bonnes performances de flux d'eau ont été obtenus en ajoutant dans la phase aqueuse des alcools, éthers ou des composés soufrés.¹²⁹ L'augmentation de la perméabilité a été corrélée à l'augmentation de la rugosité de la surface, comme résultat d'une diminution de la tension superficielle.¹³⁰

D'un autre côté, les caractéristiques des **solvants organiques** sont également des facteurs importants qui peuvent gouverner la formation d'un film sélectif. Les solvants organiques peuvent avoir des densités, polarités ou viscosités différentes, propriétés qui

¹²⁶ Sholl, D.S., Johnson, J.K., *Science*, **2006**, 312, 1003.

¹²⁷ Jeong, B.H., Hoek, E.M.V., Yan, Y., Subramani, A., Huang, X., Hurwitz, G., Ghosh, A.K., Jawor, A., *J. Membr. Sci.*, **2007**, 294, 1.

¹²⁸ Koros, W.J., *AIChE J.*, **2004**, 50, 2326.

¹²⁹ Hirose, M., Ito, H., Maeda, M., Tanaka, K., **1997**, *U.S. Patent 5,614,099*.

¹³⁰ Kim, S.H., Kwak, S.Y., Suzuki, T., *Environ. Sci. Technol.*, **2005**, 39, 1764.

peuvent influencer sur la réactivité, la diffusivité ou la solubilité des monomères et, implicitement, sur la formation du film. Les solvants peuvent affecter aussi les réactions secondaires, comme l'hydrolyse du chlorure d'acide et le degré de réticulation.¹³¹

Ainsi, le groupe japonais de T. Tsuru a proposé une nouvelle stratégie appelée la PI « **co-solvant assistée** ». Cette technique consiste en l'ajout d'acétone en tant que solvant synergique dans la phase organique d'hexane, afin de contrôler la réaction de polymérisation et de modifier le réseau final de la structure membranaire,¹⁴⁰ les couches obtenues étant alors plus lisses et plus fines (allant jusqu'à 8 nm d'épaisseur). L'acétone a la capacité de réduire le gap d'immiscibilité entre l'eau et l'hexane, de diminuer les tensions interfaciales et donc d'augmenter la vitesse de diffusion des monomères en phase organique.

L'ajout de bases, d'acides organiques ou des agents tensioactifs peut avoir une influence sur le processus de PI, modifiant ainsi les performances membranaires obtenues. Pendant la réaction de polymérisation, le pH de la solution diminue, du fait de la consommation de l'amine et de la formation de l'acide chlorhydrique libéré à la suite de la réaction amine-chlorure d'acide. Afin d'éliminer l'acide résultant, quelques **bases** ont été utilisées,¹³² comme l'hydroxyde de sodium, le carbonate de sodium, le phosphate de sodium, ou encore la triéthylamine. Par conséquent, la structure du film polymère, sa porosité ou son degré de réticulation s'en trouvent également modifiés.

Les modifications des propriétés de la couche sélective ont été obtenues à l'issue de la variation de différents paramètres opérationnels utilisés lors de leur fabrication, comme **la concentration des monomères** ou **la température de traitement post-polymérisation**. D'une part, plus la concentration de la solution de dépôt initiale est élevée, plus la rétention de sel sera importante, entraînant pourtant une diminution de la perméabilité.¹³³ D'autre part, le traitement thermique à haute température (100-120°C) pendant 40-60 minutes permet d'augmenter la capacité de rétention de sel des membranes.¹⁴⁴ La modification de la couche de polyamide peut affecter significativement les performances de la membrane composite. Les propriétés membranaires dépendent principalement du processus de fabrication de la couche active et des propriétés intrinsèques des monomères utilisés dans la réaction de PI.

¹³¹ Ghosh, A.K., Jeong, B.H., Huang, X., Hoek, E.M.V., *J. Membr. Sci.*, **2008**, 311, 34.

¹³² Yang, F.J., Zhang, S.H., Yang, D.L., Jian, X.G., *J. Membr. Sci.*, **2007**, 301, 85.

¹³³ Shawky, H.A., *J. Membr. Sci.*, **2009**, 339, 209.

Un nouveau concept pour l'amélioration des performances membranaires est la fabrication de **membranes à matrices mixtes (MMM)**, qui incorporent dans la couche polymère des nanoparticules inorganiques (zéolithes ou nanotubes).

Un exemple récent est l'incorporation de nanotubes de titane (TNT) après aminofonctionnalisation (avec [1-(2-amino-ethyl)-3-aminopropyl] triméthoxysilane) dans la couche de PA pour fabriquer des membranes d'osmose inverse (**Figure 68**). Ces membranes ont présenté une grande amélioration du flux d'eau et montré de bonnes propriétés anti-colmatage.¹³⁴

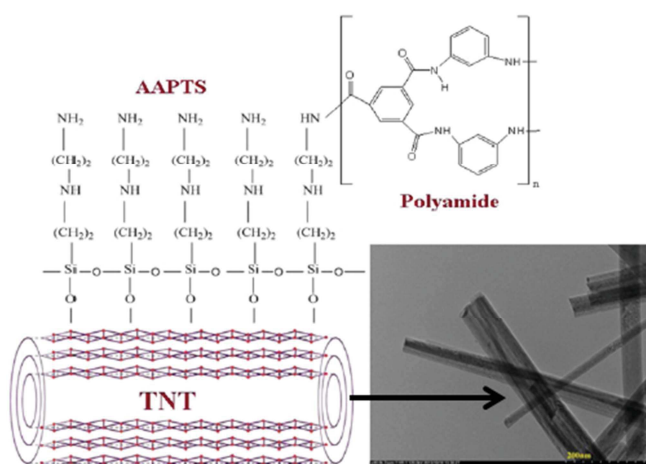


Figure 68 : Incorporation des TNTs dans les membranes d'osmose inverse

Finalement, les tensio-actifs comme le dodecyle sulfate de sodium (SDS) ou des acides organiques comme l'acide camphro sulfonique (ACS) peuvent être ajoutés dans la solution aqueuse de diamine pour améliorer l'absorption dans les pores du support car ils diminuent les tensions de surface et augmentent la hydrophilie (0,1% SDS ou 0,15% SLS).

Quelques autres monomères, polymères ou macromolécules ont également été ajoutés pendant ou après la polymérisation.¹³⁵ Cependant, un effet négatif peut être observé, à cause du fait de la pénétration de ces grandes molécules dans les substrats, à cause des changements d'hydrophobicité ou de propriétés de surface des couches minces engendrés.

D'autres paramètres qui peuvent être modifiés sont :

¹³⁴ Emadzadeh, D., Lau, W.J., Rahbari-Sisakht, M., Daneshfar, A., Ghanbari, M., Mayahi, A., Matsuura, T., Ismail, A.F., *Desalination*, **2015**, 368, 106.

¹³⁵ Chen, S.H., Chang, D.J., Liou, R.M., Hsu, C.S., Lin, S.S., *J. Appl. Polym. Sci.*, **2002**, 83, 1112.

- Différents **temps de repos** de la membrane entre les deux immersions ;
- Augmentation de la **concentration du TMC** ;
- Augmentation du **temps de polymérisation** ;
- Fabrication des **membranes bio-assistées**, avec l'incorporation de l'aquaporines.¹³⁶

Une nouvelle méthode mentionnée et apparentée à la polymérisation interfaciale est la **polymérisation interfaciale séquentielle** (SIP).¹³⁷ Cette méthode consiste à replonger une nouvelle fois le support dans une phase aqueuse contenant une amine différente, après la création du premier type de polymère dense, pour permettre une meilleure réaction des groupements acides qui restent à la surface du matériau et synthèse d'une deuxième couche, plus hydrophobe et moins perméable que la première. La couche sélective n'est pas plus épaisse que celle obtenue par la voie de polymérisation interfaciale classique, mais elle présente de meilleures capacités de rétention de sel (50% de diminution) et juste une faible diminution du flux d'eau (avec 8%).

Dans la même optique se situe également la méthode de **contamination croisée avec MPD** de la deuxième couche de polymère dans le cadre de la polymérisation interfaciale séquentielle¹³⁸ ;

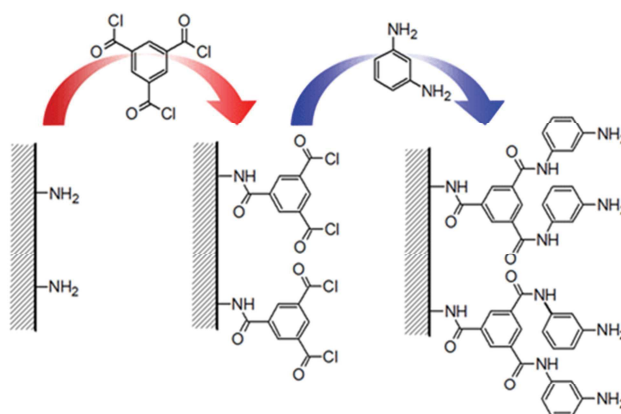


Figure 69 : Principe de la polymérisation interfaciale séquentielle

¹³⁶ Tang, C., Wang, Z., Petričić, I., Fane, A.G., Hélix-Nielsen, C., *Desalination*, **2015**, 368, 89

¹³⁷ La, Y.-H., Diep, J., Al-Rasheed, R., Miller, D., Krupp, L., Geise, G.M., Vora, A., Davis, B., Nassar, M., Freeman, B.D., McNeil, M., Dubois, G., *J. Membr. Sci.*, **2013**, 437, 33.

¹³⁸ La, Y.-H., Diep, J., Al-Rasheed, R., Nassar, M., Mouhoumed, E.I., Szymczyk, A., Dubois, G., *J. Membr. Sci.*, **2014**, 466, 348.

Tableau 9 : Etude de la variation des paramètres expérimentaux dans la fabrication des membranes par polymérisation interfaciale, de l'impact de ces modifications sur la morphologie ou sur les fonctions organiques présentes en surface et répercussion sur les performances membranaires

Paramètre expérimental modifié	Effet	Performance obtenue
Ajout de DMSO (1% vol.) en phase aqueuse ¹³⁹	Obtention d'une surface spécifique plus importante	Augmentation du flux d'eau
Ajout d'acétone en phase aqueuse ¹⁴⁰	Réduction du gap d'immiscibilité entre les phases	Facilitation de la formation de la couche sélective
Ajout de tensio-actif en phase aqueuse (ACS, SDS)	Surface plus hydrophile	Augmentation du flux d'eau
Greffage chimique de PEG ¹⁴¹	Surface plus hydrophile	Résistance au chlorure (désinfectants)
Polymérisation interfaciale séquentielle (PIS) ¹⁴²	Groupements amine en surface, couche plus lisse	Colmatage réduit
Introduction de nanotubes de titanate ¹³⁴	Surface plus hydrophile	Colmatage réduit
Lavage au bicarbonate de sodium	Réaction des groupements acides hydrolysés en surface	Réduction des réactions secondaires
Augmentation des concentrations des monomères	Réaction de polymérisation, couche active plus épaisse	Rétention plus importante

Le **Tableau 9** synthétise les principaux résultats obtenus dans la fabrication et le test des membranes. Les conditions de polymérisation peuvent influencer sur les performances membranaires. Donc, en jouant sur la solubilité, la diffusivité des monomères dans les deux phases ainsi que sur la réactivité des monomères, on peut obtenir des « symphonies » de différentes morphologies, épaisseurs ou structurations du réseau membranaire.

¹³⁹ Kim, S.G., Kwak, S.Y., Suzuki, T., *Environ. Sci. Technol.*, **2005**, 39, 1764.

¹⁴⁰ Kong, C., Shintani, T., Kamada, T., Freger, V., Tsuru, T., *J. Membr. Sci.*, **2011**, 384, 10.

¹⁴¹ Kang, G.D., Liu, M., Lin, B., Cao, Y.M., *Polymers*, **2007**, 48, 1165.

¹⁴² Zou, H., Jin, Y., Yang, J., Dai, H., Yu, X., Xu, J., *J. Membr. Sci.*, ¹⁴³ Bird, R.B., Stewart, W.E., Lightfoot, E.N., *Transport Phenomena*, 2nd édition; John Wiley & Sons, Inc., New York, **2012**.

2.4 Paramètres physiques et phénomènes de transport à travers les membranes

Puisqu'une membrane d'OI est non-poreuse, le transport d'une molécule à travers la membrane est **contrôlé par des phénomènes de diffusion**. Les molécules d'eau sont adsorbées sur la face de la membrane en contact avec l'eau, diffusent à travers la membrane sous l'effet d'un gradient de potentiel chimique et sont désorbées de l'autre côté de la membrane. La diffusion à travers la membrane est l'étape cinétique déterminante dans le transport d'eau. Ce mécanisme de transport de masse à travers les membranes est connu sous le nom du modèle de « **solution-diffusion** ». ¹⁴³ Si l'on considère que le transport de masse est déterminé principalement par le gradient de potentiel chimique (plus que par le gradient de concentration), l'équation du transport dans le cas de l'OI peut s'écrire :

$$N_{Aw} = L(\Delta p - \Delta \pi) \quad \text{Equation 6}$$

où N_{Aw} est le flux d'eau à travers la membrane, Δp est la différence de pression transmembranaire, $\Delta \pi$ est la différence de pression osmotique entre la solution source et le perméat et L est une constante qui décrit les caractéristiques intrinsèques de la membrane. Dans le modèle de « solution-diffusion » utilisé pour décrire le transport à travers les films denses, L est donné par :

$$L = \frac{DSV}{RTl} \quad \text{Equation 7}$$

où D représente la diffusivité de l'eau dans la membrane, S la solubilité de l'eau dans la membrane, V le volume molaire d'eau, R la constante universelle des gaz parfaits, T la température ambiante et l l'épaisseur de la membrane.

Il est important de noter que dans la séparation, la pression osmotique des solutions des solutions source et de perméat joue un rôle considérable dans la séparation. En effet, la pression osmotique est la pression nécessaire pour faire passer un solvant (eau) de la solution d'alimentation (qui peut être l'eau de mer) vers le perméat, à travers la membrane. Pour une solution idéale, où les ions sont complètement dissociés, la pression osmotique peut être définie par l'**Equation 8** :

$$\pi = CRT \quad \text{Equation 8}$$

¹⁴³ Bird, R.B., Stewart, W.E., Lightfoot, E.N., *Transport Phenomena*, 2nd édition; John Wiley & Sons, Inc., New York, 2012.

où π est la pression osmotique, C est la concentration en ions, R est la constante universelle des gaz parfaits et T est la température de la solution. La concentration C est donnée par le nombre d'ions en solution par gramme d'eau, divisé par le volume spécifique d'eau. Par exemple, pour une solution de chlorure de sodium de 2000 de ppm (mg/L), la pression osmotique est de 23 psi (1,59 bars). S'agissant de l'osmose inverse, le transport de sel à travers une membrane est tout aussi important que le transport de l'eau. Cependant, contrairement au flux d'eau, qui est régi non seulement par la pression transmembranaire appliquée mais aussi par la pression osmotique, le flux de sel est seulement une fonction de la concentration en sel. Pour calculer la rétention de sels (RS), nous avons appliqué l'équation suivante:

$$RS = 100 - \frac{C_p}{C_f} * 100 \quad \text{Equation 9}$$

où RS est le taux de rétention de sels (en %), C_p est la conductivité du perméat et C_f est la conductivité de la solution source.

Le phénomène de **colmatage** d'une membrane est une barrière à franchir qui est souvent rencontrée dans le cas des membranes composites **non-poreuses**. Il se traduit par une accumulation d'espèces solides et la formation de couches de gel à la surface de la membrane, qui entraînent une diminution du flux accompagnée d'une augmentation de la pression. Le colmatage a lieu lorsque les solutés dans la solution source sont présents en grande concentration à la surface de la membrane. Un autre phénomène qui peut apparaître est la **polarisation de concentration**. La polarisation, qui apparaît en osmose inverse, est un phénomène réversible car elle disparaît quand le gradient de concentration s'annule. Elle se manifeste par une accumulation à la surface de la membrane des espèces ioniques, qui ont une concentration plus grande que dans le volume de la solution. L'effet de cette polarisation se traduit par une augmentation de la pression osmotique et une diminution de la pression efficace, accompagnée d'une diminution du flux de perméat.

A ce jour, peu de recherches se sont concentrées sur la fabrication des membranes en **polyamide autosupportées** ou sur l'utilisation d'**hydrazides** comme composés pouvant participer à la réaction de la polymérisation.¹⁴⁴ C'est pour cela que nous nous sommes tournés vers cette voie afin d'obtenir de nouveaux matériaux susceptibles de présenter des performances similaires aux membranes commerciales.

¹⁴⁴ Al-Dossary, A.O.H., Mohamed, N.A., *Eur. Polym.J.*, **2003**, 39, 1653.

Chapitre 3 : Synthèse d'hydrazides et d'amides réticulés comme précurseurs moléculaires pour la polymérisation interfaciale

L'idée innovante réside dans le remplacement des amines aromatiques utilisées comme précurseurs dans la technique de polymérisation interfaciale par des hydrazides, composés qui peuvent donner des architectures intéressantes avec des degrés de réticulation variables. Cette réticulation est générée par la formation de liaisons hydrogène établies au niveau intermoléculaire, qui permettent la création de mailles plus ou moins serrées sélectives au sein du matériau membranaire. Le schéma de réaction est décrit dans la **Figure 70** :

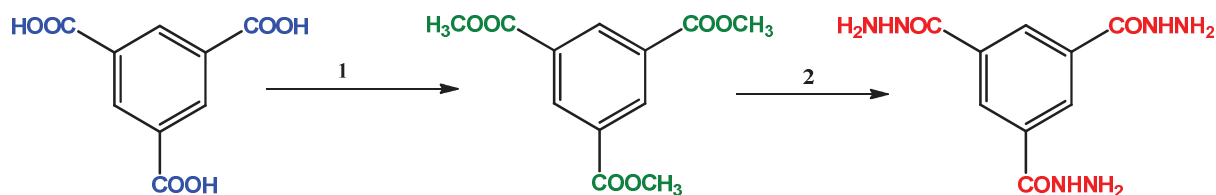


Figure 70 : Deux étapes dans la synthèse d'hydrazides : 1-estérification et 2-réaction avec l'hydrazine (H₂N-NH₂), intervenant dans la formation du composé H2

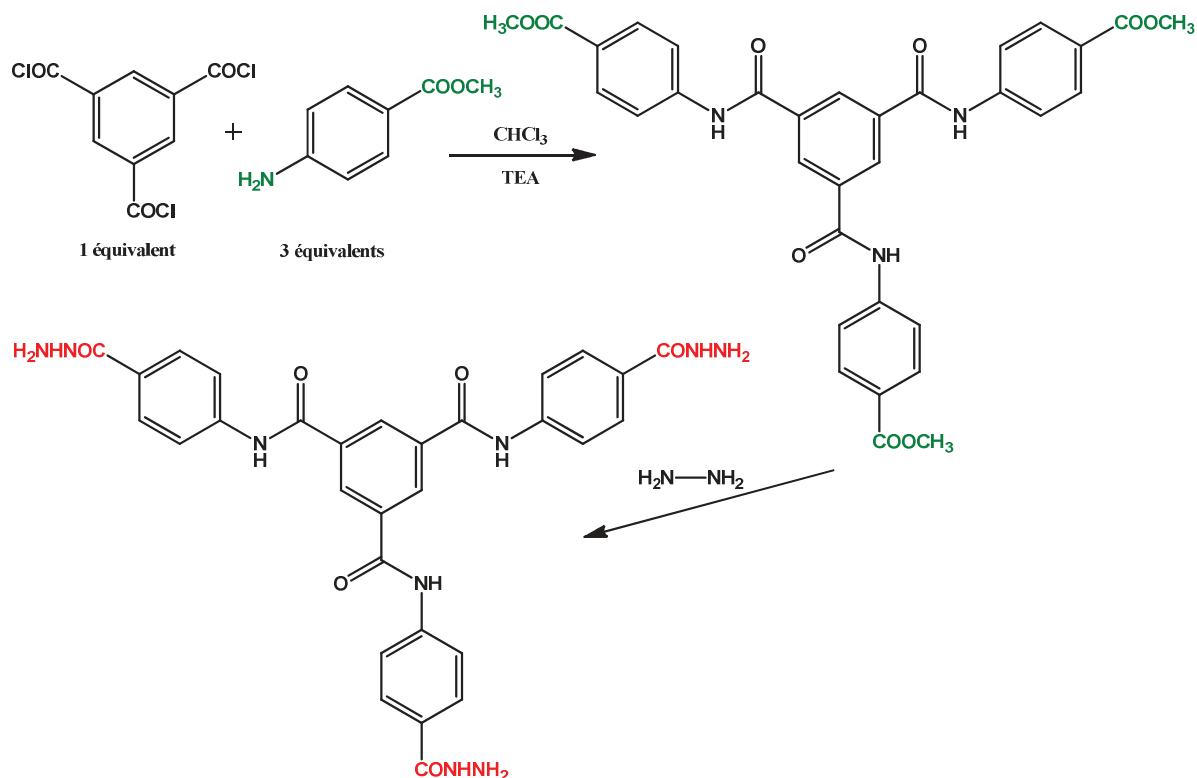
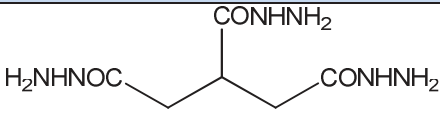
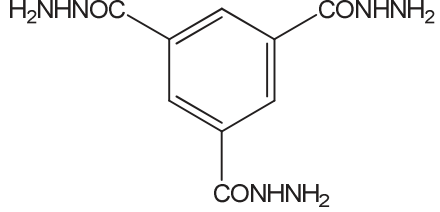
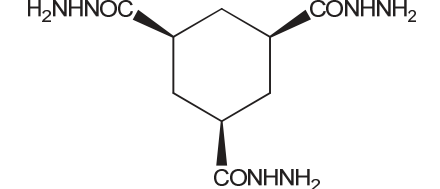
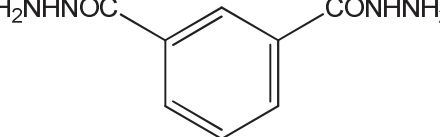
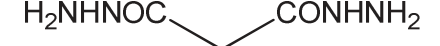
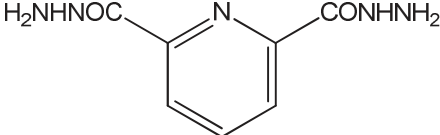
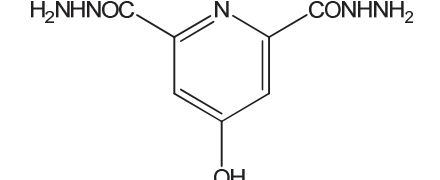


Figure 71 : Schéma de réaction en deux étapes pour l'obtention de A1

La **Figure 71** présente le schéma de synthèse de l'amide A1. Ce type de réaction a été également réalisé pour les autres composés de type amide présentés dans le **Tableau 11**.

Tableau 10 : Hydrazides utilisées comme précurseurs moléculaires pour la fabrication des membranes par polymérisation interfaciale

Code	Structure	Nom
H1		Propane-1,2,3-tricarbohydrazide
H2		Benzène-1,3,5-tricarbohydrazide
H3		(1s,3s,5s)-Cyclohexane-1,3,5-tricarbohydrazide
H4		Isophthalohydrazide
H5		Malonohydrazide
H6		Pyridine-2,6-dicarbohydrazide
H7		4-Hydroxypyridine-2,6-dicarbohydrazide

Dans le **Tableau 10** sont illustrés les sept composés de type hydrazide synthétisés. Le **Tableau 11** compile les composés de type benzène-1,3,5-tricarboxamide pour exploiter de nouveaux types d'assemblages supramoléculaires :

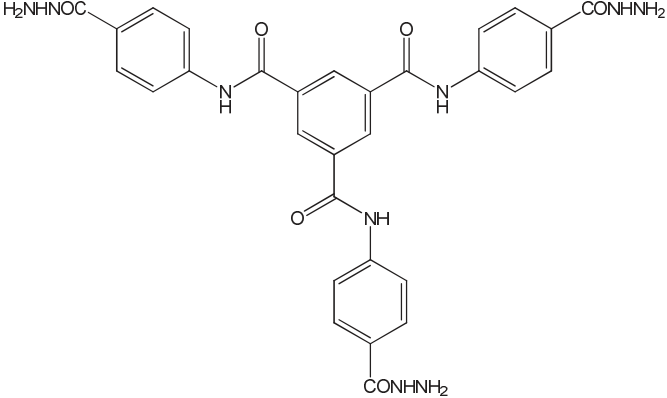
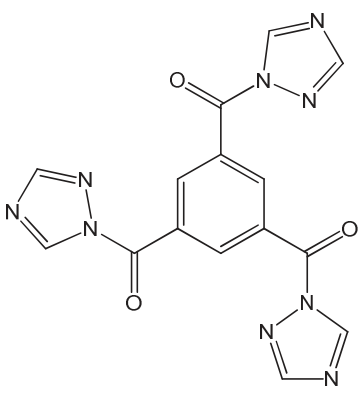
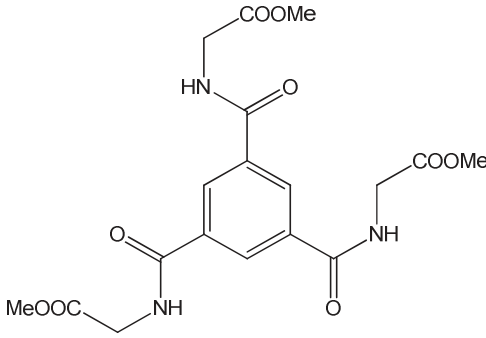
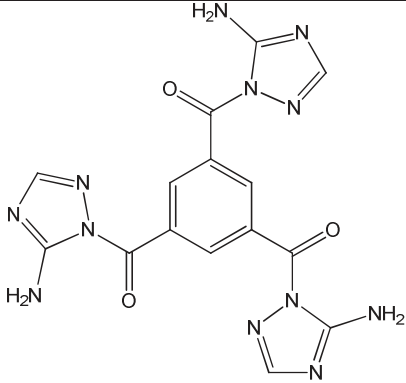
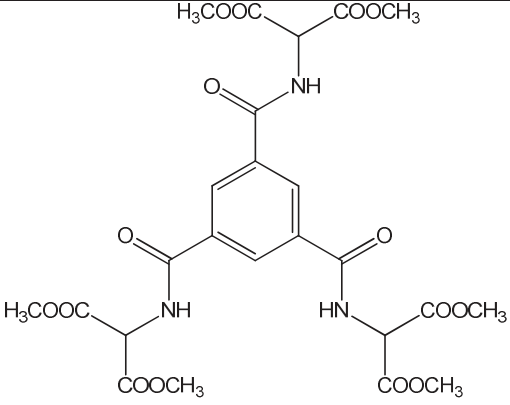
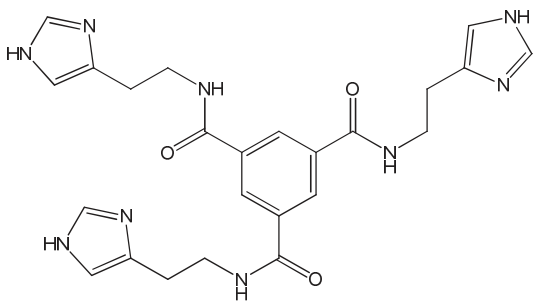
A1		A4	
A2		A5	
A3		A6	

Tableau 11: Série de benzène tricarboxamides synthétisées (A1-A6)

Nous avons synthétisé cette série de 6 amides ramifiées car des études antérieures ont montré que quelques monomères du type **benzène-1,3,5-tricarboxamide (BTC)**, dérivés des L (α) amino-esters, peuvent s'auto-assembler sous forme de longues tiges à des concentrations millimolaires, avec un grand effet d'amplification chirale (**Figure 72**). Le groupe de Meijer et al. a montré que lorsqu'on change une chaîne du trioctyle BTC par une chaîne ester (fonction amide dérivée de l'ester (L)-octyl-phénylalanine) on peut déterminer la formation de longs assemblages dans le méthylcyclohexane.¹⁴⁵

¹⁴⁵ Veld, M.A.J., Haveman, D., Palmans, A.R.A., Meijer, E.W., *Soft Matter*, **2011**, 7, 524.

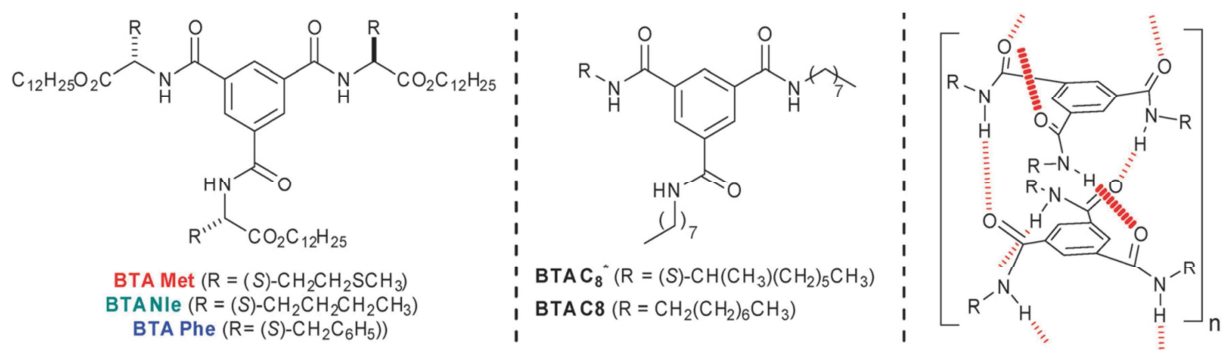


Figure 72 : Esters de BTC (à gauche), BTC alkylé de référence (au centre) et structure des empilements formés par les BTCs alkylés dans les alcanes¹⁴⁶

L'acide aminé choisi peut dicter la formation de ces tiges supramoléculaires et peut contrôler également les effets d'amplification chirale. Dans notre cas, les composés de la série n'ont pas de substituants optiquement actifs, mais on pourrait envisager des auto-assemblages dictés par des liaisons hydrogène, des groupements amides et par les interactions π - π des cycles aromatiques.

Cependant, cette partie du projet de thèse reste encore au stade initial car seulement les monomères ont été synthétisés. En perspective on envisage des études d'assemblage, de cristallisation et d'effets d'amplification chirale des différents substituants du BTC.

¹⁴⁶ Desmarchelier, A., Raynal, M., Brocorens, P., Vanthuyne, N., Bouteiller, L., *Chem. Comm.*, **2015**, 51, 7397.

Dans cette partie du travail de recherche seul le monocrystal du composé E (composé ramifié de type cétone) a été obtenu (**Figure 73**). Comme dans sa structure il ne présente pas de groupements amide, l'empilement de plusieurs molécules ne sera pas dicté par des liaisons hydrogène ou l'atome d'azote sera donneur.

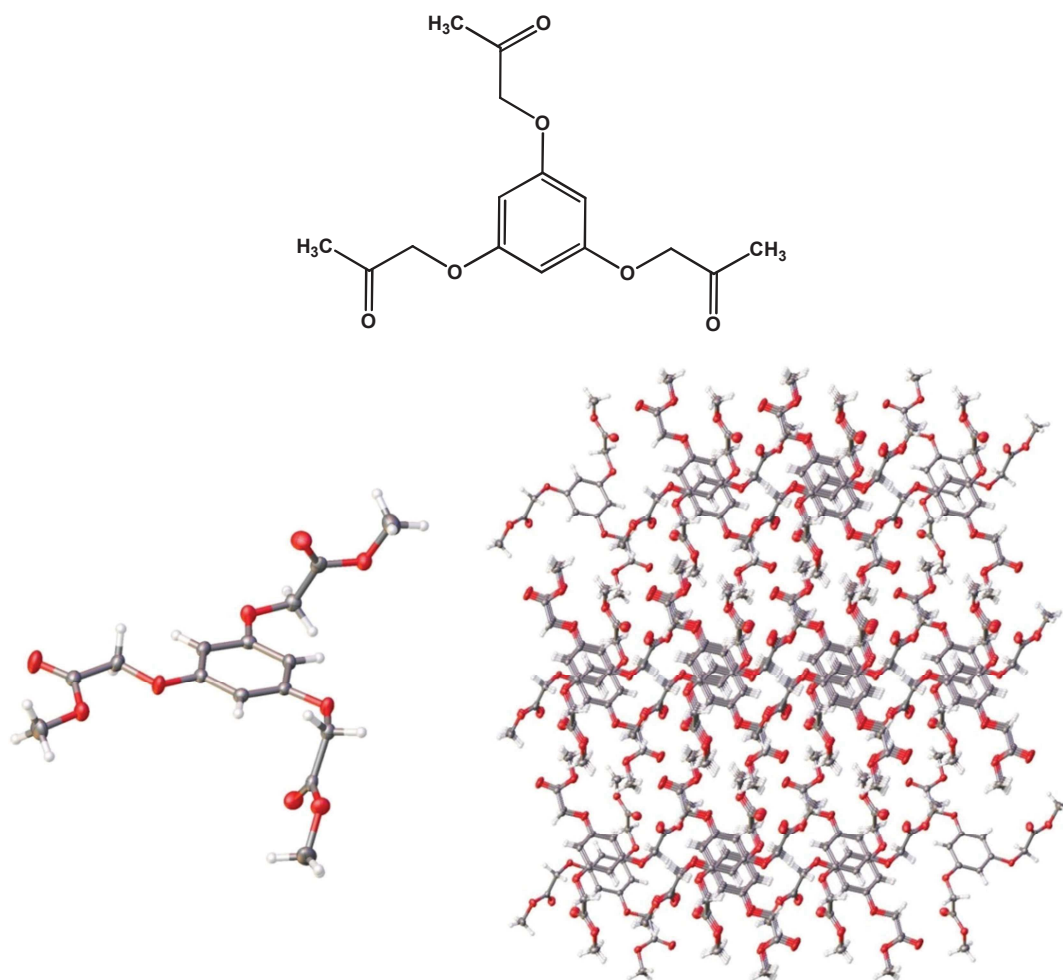


Figure 73 : Organisation cristalline du composé E (structure moléculaire en haut) : monocrystal (à gauche) et empilement (à droite)

Chapitre 4 : Synthèse et caractérisation des polymères autosupportés obtenus par polymérisation interfaciale

Résumé : Cette partie expérimentale est une étape primordiale pour déterminer si les monomères mis en contact peuvent former un film à l'interface des solutions immiscibles. Cette série d'expériences permet aussi d'obtenir les matériaux sous forme de poudre ou de film et ensuite de les caractériser à travers plusieurs méthodes. Le but de ce chapitre est donc **la synthèse et la caractérisation** des polymères réticulés en amont de la fabrication des membranes.

4.1 Synthèse des polymères

Ces matériaux polymères ont été obtenus à travers de réactions de polymérisation interfaciale. Il s'agit d'une réaction qui a lieu à l'interface de deux solvants immiscibles (eau/hexane ou eau/toluène) contenant les deux monomères : le métaphénylène diamine (MPD) dans la phase aqueuse et le chlorure d'acide (TMC) dans la phase organique (**Figure 74**). Si le mélange est laissé au repos pendant plusieurs jours, le polymère formé à l'interface est stable et peut être retiré du tube et analysé.¹⁴⁷

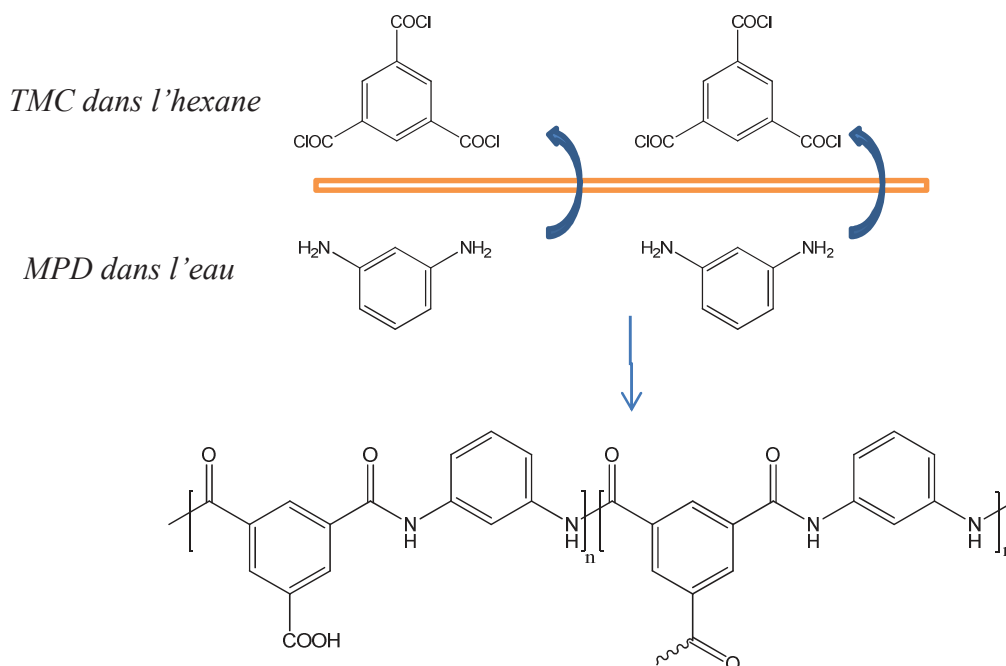


Figure 74 : Principe de la polymérisation interfaciale

¹⁴⁷ Lee, J., Hill, A., Kentish, S., *Sep. Purif. Technol.*, **2013**, 104, 276.

La contribution de cette approche est très importante dans le domaine des techniques membranaires car cette technique de dépôt permet l'obtention des membranes avec une bonne combinaison des performances relatives à la perméabilité et à la rétention de sels. La membrane composite aromatique réticulée issue de la réaction entre le chlorure de trimésyle (TMC) et le 1,3-métaphénylène diamine est le matériau commercial (FT-30) qui a eu le plus grand succès. Un film mince (d'environ 200 nm) est formé par polycondensation « *in situ* » sur un substrat d'ultrafiltration, qui a pour rôle d'assurer une bonne stabilité mécanique à la membrane. Chaque couche peut être modifiée indépendamment et optimisée pour pouvoir obtenir de bonnes perméabilité et sélectivité. Il existe, bien sûr, d'autres techniques de dépôt (photografting, irradiations avec un faisceau d'électrons, polymérisation initiée par plasma), mais la PI est particulièrement intéressante pour déposer une couche sélective ultra-mince sur un support.

Jusqu'à maintenant, les efforts de recherche ont été **plutôt dirigés sur l'étude de la couche sélective plutôt que sur support d'ultrafiltration**, car celui-ci n'est pas responsable de la sélectivité ou de la réduction du colmatage. Il est très important de comprendre les mécanismes à travers lesquels la couche sélective se forme et les interactions qui existent entre cette couche ayant des propriétés structurales différentes et le support.

De plus, à la place du chlorure d'acide (TMC), nous avons utilisé pour la polymérisation le 1,3,5-benzène tricarboxaldéhyde (BTC, Manchester Organics) susceptible de former des liaisons **covalentes de type imine**, connues pour leur caractère dynamique.¹⁴⁸

Pratiquement, le TMC a été dissous dans l'hexane et le 1,3,5-benzène-tricarboxaldéhyde dans le toluène. Dans la phase aqueuse, nous avons solubilisé l'hydrazide ou l'histamine (en ajoutant l'équivalent de 0,1M d'acide chlorhydrique pour augmenter la solubilité des hydrazides aromatiques peu solubles dans l'eau). Ensuite, la phase aqueuse et la phase organique - hexane pour le TMC ou toluène pour le BTC - contenant les monomères ont été mélangées dans un tube en verre de 30 mL : tout d'abord on introduit la phase aqueuse puis on coule doucement la phase organique en prenant soin de ne pas créer des agitations mécaniques. Le polymère est d'abord obtenu à la surface de contact entre les deux phases dans un intervalle de quelques minutes, puis en secouant le tube une masse plus importante est (car on augmente la surface de contact entre les deux phases) qui après filtration et lavage à l'eau est mise à sécher pendant la nuit sous vide, à 40°C.

¹⁴⁸ Ono, T., Nobori, T., Lehn, J.M., *Chem. Comm.*, **2005**, 1522.

Les fragments des structures envisagées sont maintenues par des liaisons hydrogène qui s'établissent entre les groupements fonctionnels comme illustré dans la **Figure 75** :

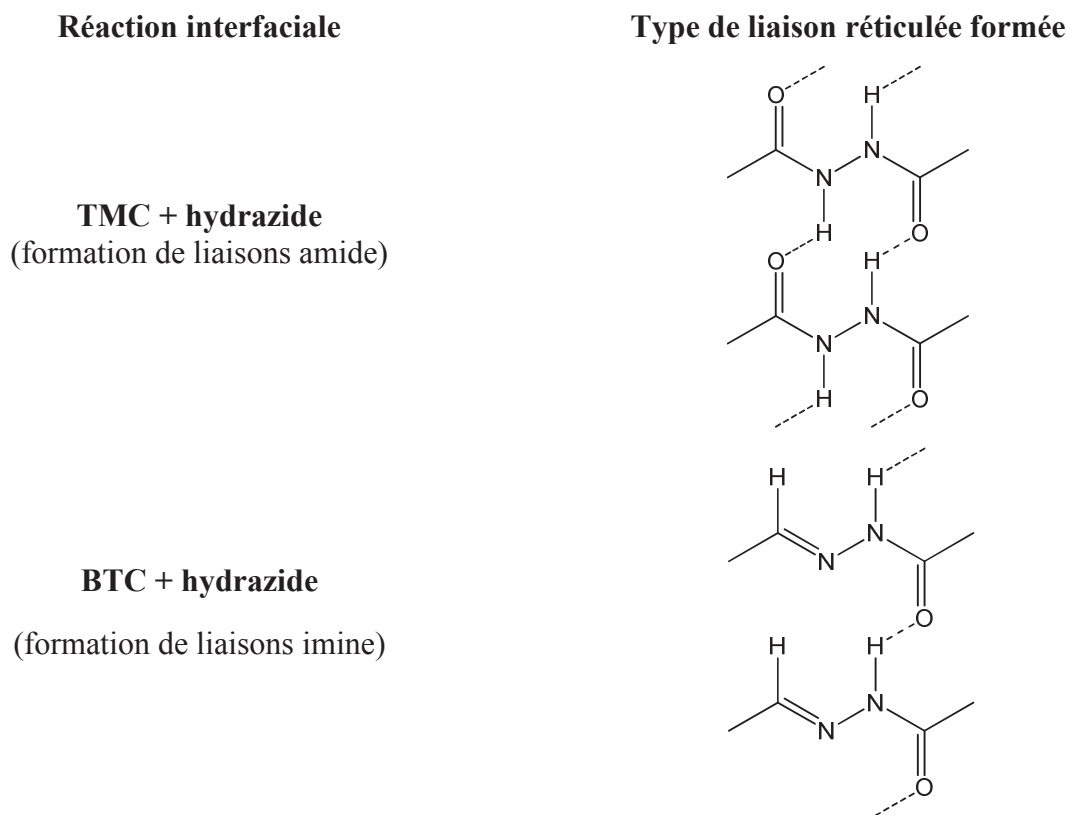


Figure 75 : Types de liaisons réticulées formées dans le cas des deux réactions interfaciales

Les liaisons hydrogène, qui combinent la réversibilité avec la force participative (plusieurs liaisons, faibles indépendamment, peuvent être très difficilement défaites, tout comme un velcro) sont, dans ce cas aussi, les interactions non-covalentes idéales pour maintenir les chaînes polymères assemblées dans une structure supramoléculaire. Par la suite, ces polymères autosupportés seront caractérisés par les méthodes de RMN du solide, spectroscopie infrarouge, diffraction de rayons X, analyse thermogravimétrique et microscopie électronique à balayage, présentées dans la section suivante.

4.2 Caractérisation des polymères

Après la synthèse, les polymères décrits ci-dessus ont été **caractérisés** par résonance magnétique nucléaire du solide (RMN du solide), spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR), diffraction de rayons X (DRX), analyses thermogravimétriques (ATG) et par microscopie électronique à balayage (MEB). Les résultats obtenus confirment la formation de liaisons entre les monomères mis en contact et donnent plus de renseignements sur la manière dont la réticulation est formée au sein du matériau.

4.2.1 RMN du solide

La **résonance magnétique nucléaire à l'état solide** (RMN du solide) est une technique qui permet de sonder la présence des **interactions anisotropes**. Ces interactions modifient les niveaux d'énergie du spin nucléaire des sites d'une molécule, ce qui se traduit par un élargissement du signal. Cet effet peut être interprété structurellement car il peut donner des informations relatives à **l'orientation** dans la molécule étudiée. La RMN du solide est une technique intéressante qui permet également l'étude de la **dynamique et des effets cinétiques** dans une grande variété de systèmes. Les matériaux cristallins ou amorphes, les matériaux composites ou les systèmes hétérogènes peuvent être décrits par le biais de cette méthode.

Nous avons résumé ci-dessous l'apport de la RMN du solide pour l'étude des polymères.

Cette technique permet :

- une bonne connaissance de la **microstructure** tridimensionnelle des polymères (tacticité du squelette, extrémités de chaîne, anomalie structurale, stéréorégularités...);
- une bonne compréhension des **mécanismes réactionnels** (polycondensation, polymérisation, dégradation...) qui peuvent gouverner la polymérisation, d'une part, et, d'autre part, permettre l'établissement de relations fiables microstructures/propriétés physiques et mécaniques, compte tenu de la grande sensibilité de détection et de la grande résolution spectrale des spectromètres à haut champ.

Depuis quelques années se développe, pour les polymères, la RMN solide du ^{13}C haute résolution (rotation à angle magique et polarisation croisée CP/MAS). La RMN du ^{13}C haute

résolution dans les liquides permet de faire correspondre à chaque carbone d'une molécule en solution, un pic du spectre. Cette technique constitue une source d'informations prodigieuse. Cependant, l'obtention du même résultat s'agissant d'un composé en phase solide n'est pas aussi immédiate. Toutefois, cette technique s'est révélée intéressante pour :

- la détermination de structures de polymères tridimensionnels insolubles ;
- l'étude de l'organisation en phase solide dans les polymères. En particulier il est possible d'étudier :
 1. les conformations et configurations du squelette carboné de la chaîne,
 2. la structure cristalline montrant le **polymorphisme**, les zones amorphes et cristallines et des zones intermédiaires dans les polymères semi-cristallins,
 3. la compatibilité des mélanges de polymères.

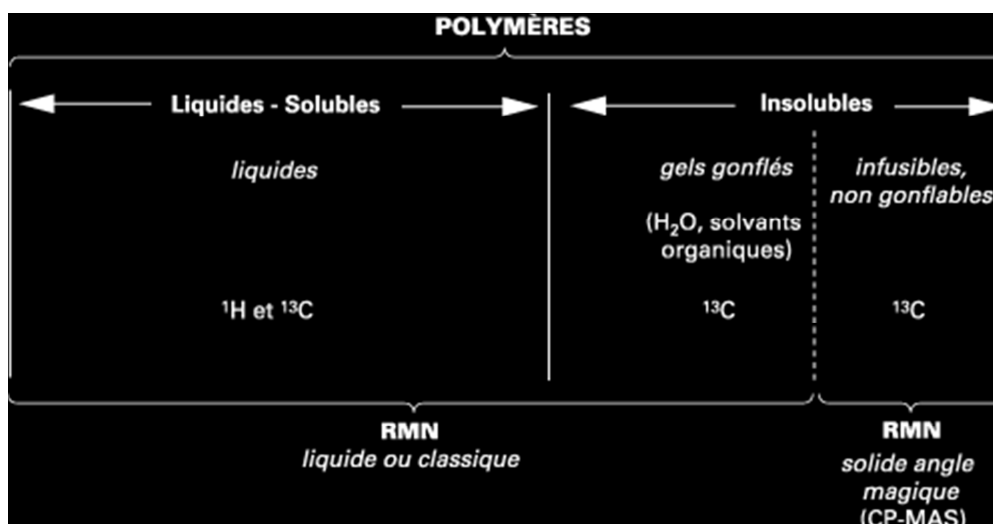


Figure 76 : Comparaison entre les techniques RMN utilisées dans l'étude des polymères

Dans le cas des polymères en solution, elle permet d'accéder facilement à des informations structurales essentielles (microstructure, tacticité, distribution des motifs). Cependant, l'utilisation de la RMN en phase liquide semble être limitée aux polymères liquides ou solubles. En fait, un grand nombre de polymères insolubles sont « gonflables » dans des solvants adéquats et peuvent être étudiés par cette technique. Seuls les polymères infusibles et « non gonflables » nécessitent l'utilisation de la RMN en phase solide à angle magique (**Figure 76**).

Après avoir rappelé quelques **généralités** nécessaires pour l'obtention d'un spectre et le choix de la technique, nous examinerons, sur quelques exemples, l'application de la RMN haute résolution du proton ^1H et du carbone ^{13}C (en phases liquide et solide) dans le domaine des polymères. Nous avons utilisé cette méthode de RMN du ^{13}C du solide pour analyser la formation de tous les polymères, insolubles dans DMSO. En règle générale, en comparant les valeurs obtenues par analyse RMN ^{13}C (liquide) pour les monomères seuls, on observe des différences dans le déplacement chimique des signaux enregistrés pour les polymères.

Les spectres enregistrés pour les polymères obtenus avec les hydrazides et le TMC sont illustrés à la **Figure 77**.

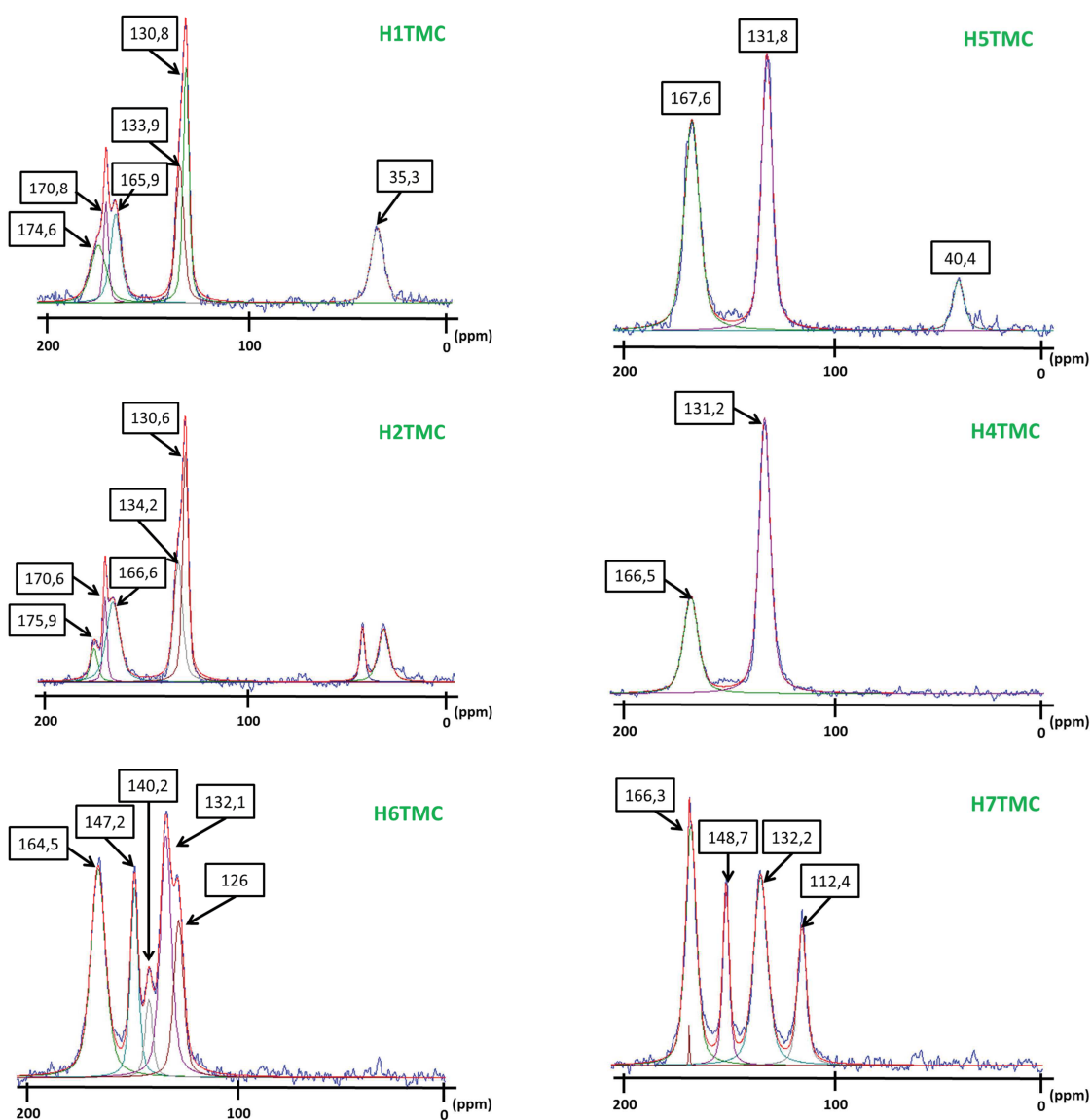


Figure 77 A: Spectres de RMN solide du ^{13}C CP-MAS des polymères formés avec le TMC

Par exemple, si on considère le spectre RMN solide obtenu pour **H1TMC**, on observe la présence des pics qui ont un déplacement chimique à 35,3 ppm (atomes de carbone tertiaire et secondaire de H1) et puis à 130,8 ppm et à 133,9 ppm (atomes de carbone aromatiques du TMC), ce qui confirme la présence de ces deux espèces. La formation du groupement amide au sein du polymère est démontrée par l'apparition de la raie à 165,9 ppm. Les deux raies qui avec un déplacement chimique plus élevé, à 170,8 ppm et à 174,6 correspondent à l'atome de carbone du groupement chlorure acide et au carbone hydrazidique, respectivement.

Contrairement au H1TMC, pour H5TMC on remarque une seule raie correspondante aux atomes carbone impliqués dans les liaisons amide, à 167,6 ppm. Les signaux des carbones aromatiques du TMC et aliphatiques secondaires du H5 sont aussi présents sur le spectre, à 131,8 ppm et à 40,4 ppm respectivement, les deux étant plus déblindés par rapport aux signaux des monomères.

Concernant les polymères contenant des hydrazides aromatiques, H2TMC, H4TMC, H6TMC et H7TMC, la raie caractéristique du carbone de la liaison amide est présente dans tous les cas, à 166,6 ppm, 166,5 ppm, 164,5 ppm et 166,3 ppm respectivement.

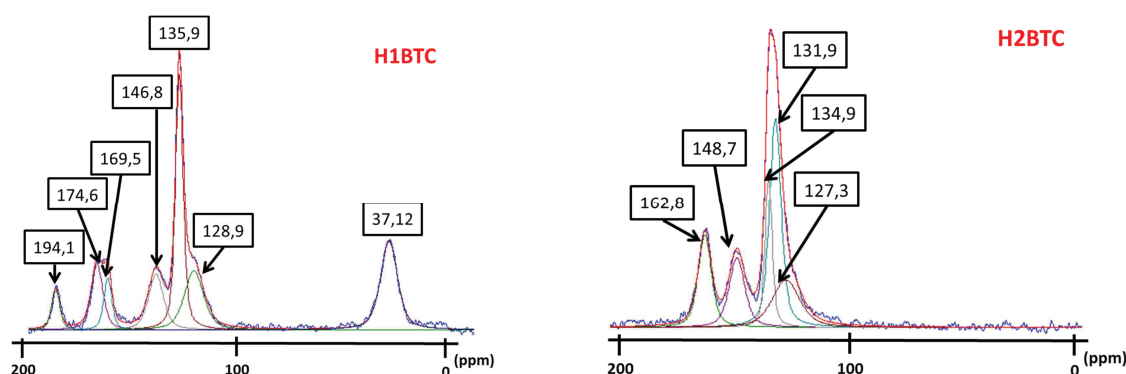


Figure 78 B: Spectres de RMN solide du ¹³C CP-MAS des polymères formés avec le BTC

Dans le cas du polymère H1BTC, on observe toujours la présence des pics du monomère (du fait que les groupements fonctionnels n'ont pas réagi intégralement) : à 194,1 ppm pour le carbone de l'aldéhyde du BTC et à 169,5 ppm, pour le carbone du chlorure acide du TMC attaché au carbone tertiaire. Le signal correspondant au carbone participant à la nouvelle liaison imine formée se trouve à un déplacement chimique de 146,8 ppm (**Figure 78 B**).

Enfin, dans le cas du H2BTC, la confirmation de la formation du nouveau polymère est apportée par l'apparition du pic à 148,7 ppm, correspondant au carbone impliqué dans la

formation de la liaison imine (signal qui n'est pas présent dans les spectres carbone des monomères seuls). Egalement, on retrouve les carbones aromatiques entre 127,3 ppm et 134,9 et le carbone impliqué dans la liaison amide à 162,8 ppm. Le signal correspondant au carbone du groupement aldéhyde du monomère a complètement disparu.

Tableau 12 : Déplacements chimiques (ppm) des atomes de carbone présents dans les monomères étudiés

Monomère	Déplacement chimique ^{13}C (ppm)
TMC	133,8 ; 139,4 ; 167,9.
BTC	135,6 ; 137,9 ; 191.
H1	36,9 ; 42,6 ; 174,6 ; 176,6.
H2	128,5 ; 134,3 ; 166,5.
H4	126,5 ; 128,9 ; 129,8 ; 134,0 ; 166,9.
H5	46,3 ; 170,3.
H6	124,2 ; 139,8 ; 148,9 ; 162,4.
H7	109,7 ; 151,0 ; 162,2 ; 168,2.

Le **Tableau 12** reprend les valeurs des déplacements chimiques des signaux du ^{13}C des molécules de monomères, pour permettre les comparaisons avec les nouveaux signaux obtenus pour les atomes de carbone des polymères, détaillées ci-haut.

Ces changements dans la structure du nouveau polymère sont corroborés par les informations structurales obtenues grâce aux autres techniques, comme la spectroscopie infrarouge, et seront discutées plus en détail dans la sous-section suivante.

4.2.2 Spectroscopie infrarouge

La **spectroscopie infrarouge** traite de la région infrarouge du spectre électromagnétique. Elle recouvre une large gamme de techniques, la plus connue étant la spectroscopie d'absorption.

La spectroscopie **FT-IR** (Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier) exploite le fait que les liaisons des molécules possèdent des **fréquences spécifiques** pour lesquelles elles tournent ou vibrent en correspondance avec des niveaux d'énergie discrets (les modes vibratoires). Le spectre IR d'un échantillon est établi en faisant passer un faisceau de lumière du domaine infrarouge à travers cet échantillon. L'examen de la lumière transmise indique la quantité d'énergie absorbée à chaque longueur d'onde. L'analyse de ces caractéristiques indique des détails de la structure moléculaire de l'échantillon.

Le principe est de faire subir au faisceau optique plusieurs réflexions à l'interface entre l'échantillon et un cristal transparent en infrarouge, mais d'indice de réfraction (n_2) élevé (diamant) et dans la plupart des cas supérieur à celui de l'échantillon (n_1). En première approximation, le faisceau infrarouge initial traverse le cristal et subit une réflexion totale à l'interface cristal-échantillon, puis est dirigé vers le détecteur. Ce phénomène est perturbé par l'existence d'une onde progressive dite *évanescence*. Celle-ci pénètre de quelques micromètres dans l'échantillon se trouvant en contact direct avec le cristal et peut être absorbée : une partie de l'énergie est retenue et la réflexion totale est atténuée, on obtient alors un **spectre d'absorption**.

Nous avons utilisé la méthode de « spectroscopie par réflexion interne » ou « réflexion totale atténuée » (ATR) sur les membranes autosupportées.

La spectroscopie FT-IR a été utilisée dans le cadre de l'analyse des polymères autosupportés afin d'investiguer la **structure fonctionnelle** des chaînes polymères et de vérifier si, véritablement, les liaisons hydrogène sont impliquées dans la formation des assemblages polymères. L'analyse des spectres montre la formation d'un polymère, un matériau différent structurellement des monomères de départ. La réaction entre les monomères de type hydrazide et TMC ou hydrazide et DPC est suivie par FT-IR. On remarque que les bandes caractéristiques des monomères disparaissent au profit de nouvelles bandes de vibration caractéristiques du polymère formé.

Ainsi, pour le polymère **H1TMC** (**Figure 79**), dans la zone de vibrations d'élongation N-H (entre 3000-3500 cm^{-1}) on observe une bande large centrée à 3200 cm^{-1} , qui peut être attribuée aux fonctions N-H liées par des liaisons hydrogène. Cette bande n'est pas observée dans le spectre du monomère de départ (H1), ni dans le spectre du TMC. Ensuite, la bande à 1653 cm^{-1} correspond à l'élongation de la liaison C=O de l'amide primaire et la bande de 1507 à la déformation de la liaison N-H.

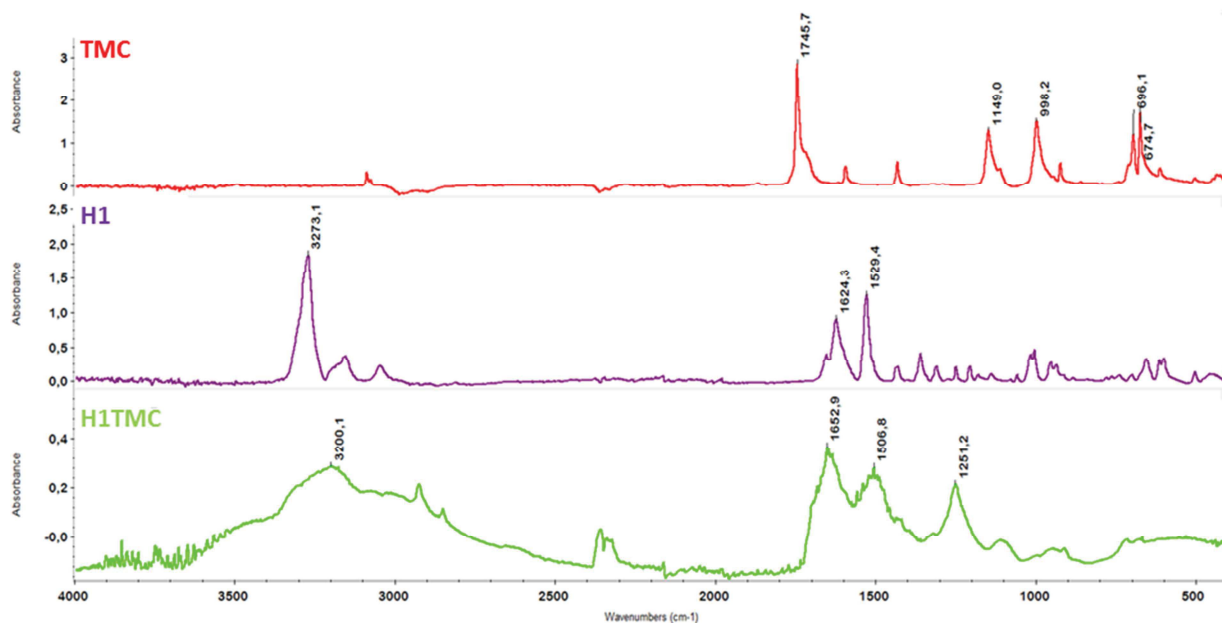


Figure 79 : Spectres infrarouge de TMC, H1 et H1TMC

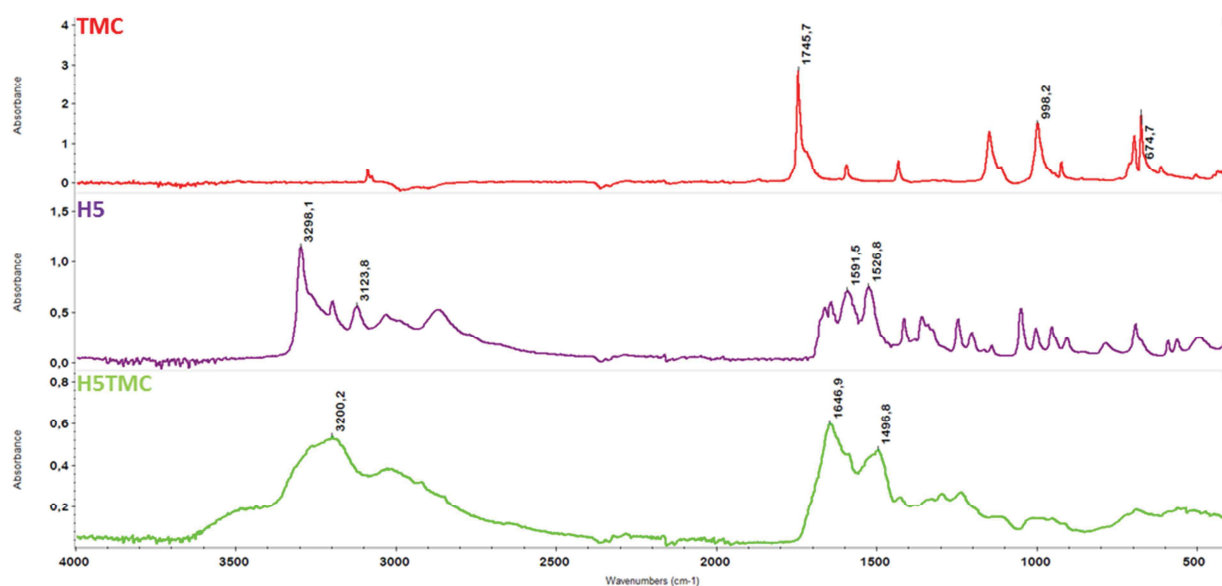


Figure 80 : Spectres infrarouge de TMC, H5 et H5TMC

On observe la même réponse pour le polymère **H5TMC** de la **Figure 80** : la bande large de 3200 cm^{-1} correspond à la formation de liaisons hydrogène entre les fonctions NH. Ensuite, la bande à 1647 cm^{-1} qui correspond à la vibration $\nu_{\text{NHC=O}}$ de l'amide I primaire et la bande à 1497 cm^{-1} due à la déformation de la liaison N-H confirment la formation d'un nouveau matériau.

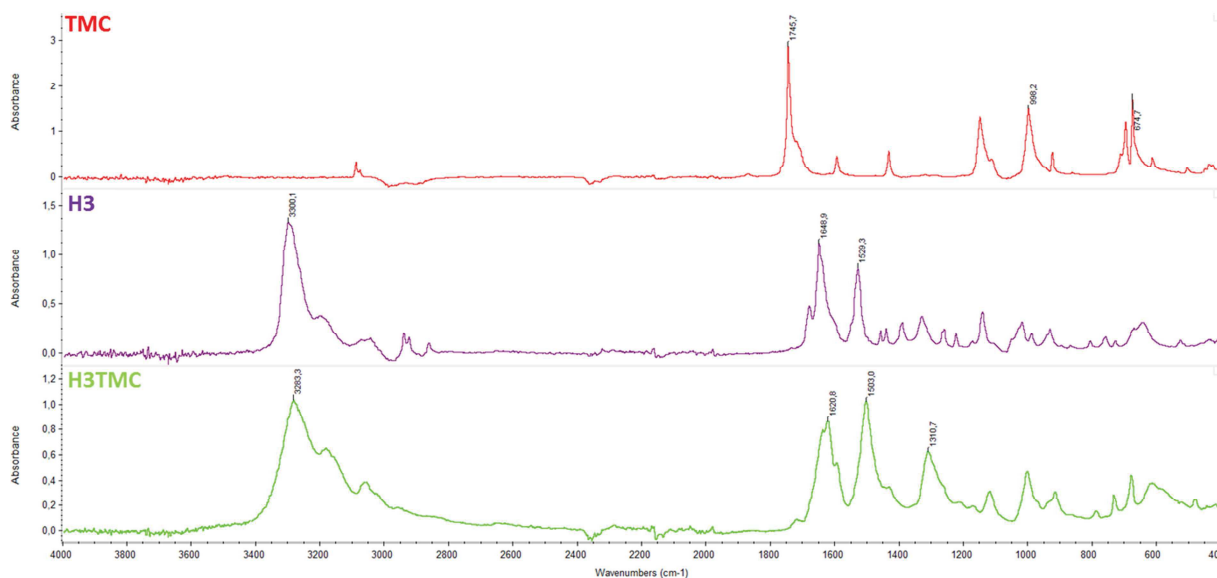


Figure 81 : Spectres infrarouge de TMC, H3 et H3TMC

Pour **H3TMC**, la bande attribuée initialement à la fonction chlorure acide du TMC (à 1745 cm^{-1}) disparaît du fait de la formation de la nouvelle fonction amide (3283 cm^{-1}). Puis, la bande à 1620 cm^{-1} qui correspond à la vibration $\nu_{\text{NHC=O}}$ de l'amide I primaire et la bande de 1503 cm^{-1} due à la déformation de la liaison N-H confirment la formation de ce polymère (**Figure 81**).

En conclusion, pour les polymères formés avec les hydrazides aliphatiques (H1TMC, H5TMC et H3TMC), la bande de vibration large et centrée à $\sim 3200\text{ cm}^{-1}$ est due aux liaisons hydrogène établies entre les groupements amide au sein du polymère et confirmant ainsi la formation de ce dernier.

Nous avons également analysé la formation des polymères contenant les hydrazides aromatiques (H2TMC, H4TMC et H6TMC, **Figure 82**, et H7TMC, **Figure 83**). En règle générale, on observe la disparition du pic correspondant au groupement chlorure acide (à 1745 cm^{-1}) et l'apparition de la bande large à 3200 cm^{-1} due aux interactions par des liaisons hydrogène.

Pour l'analyse des couches de polymère, la valeur de l'absorbance est directement proportionnelle avec la quantité totale du polyamide (PA) formé. Si l'intensité diminue, cela signifie une diminution de la quantité de PA formé (**Figure 82**, pour H6TMC).

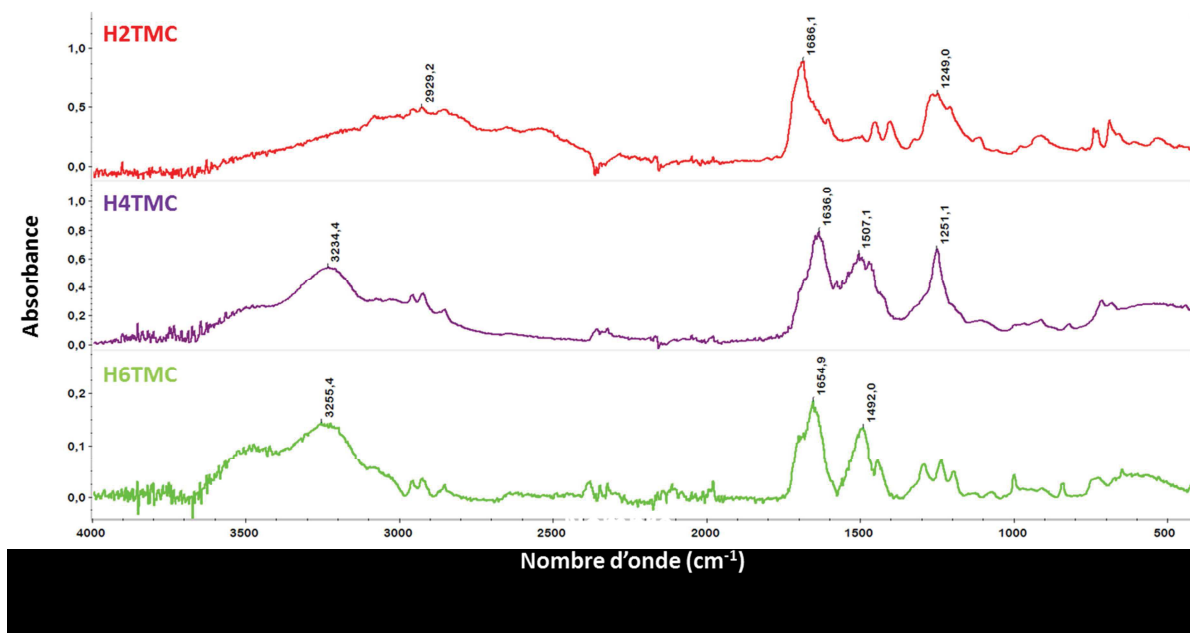


Figure 82 : Comparaison des spectres IR des trois polymères formés entre une hydrazide aromatique et TMC

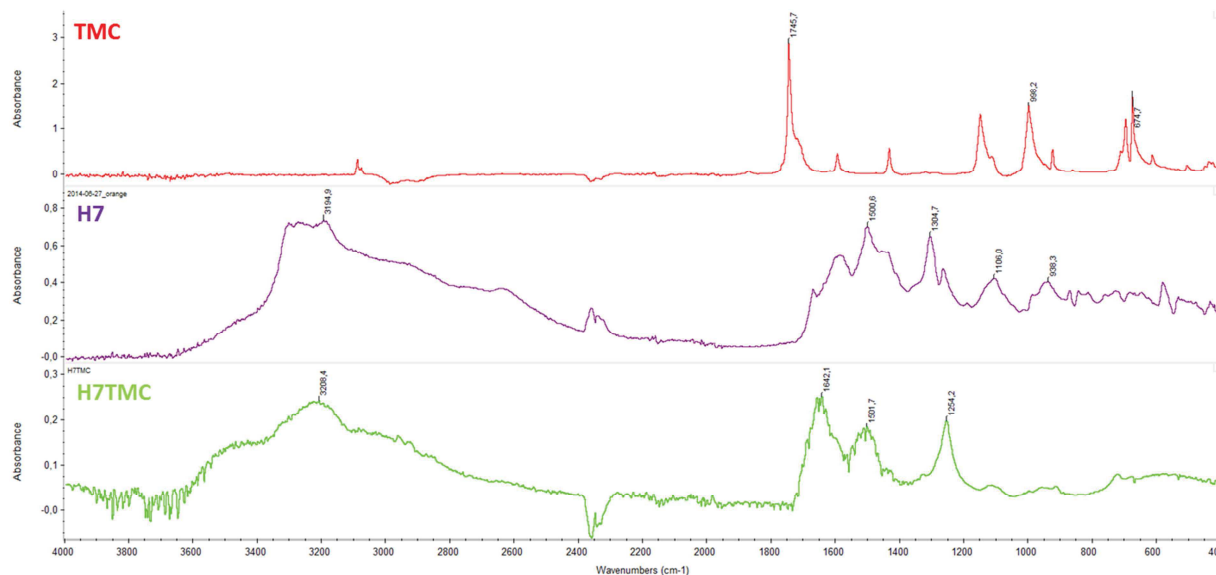
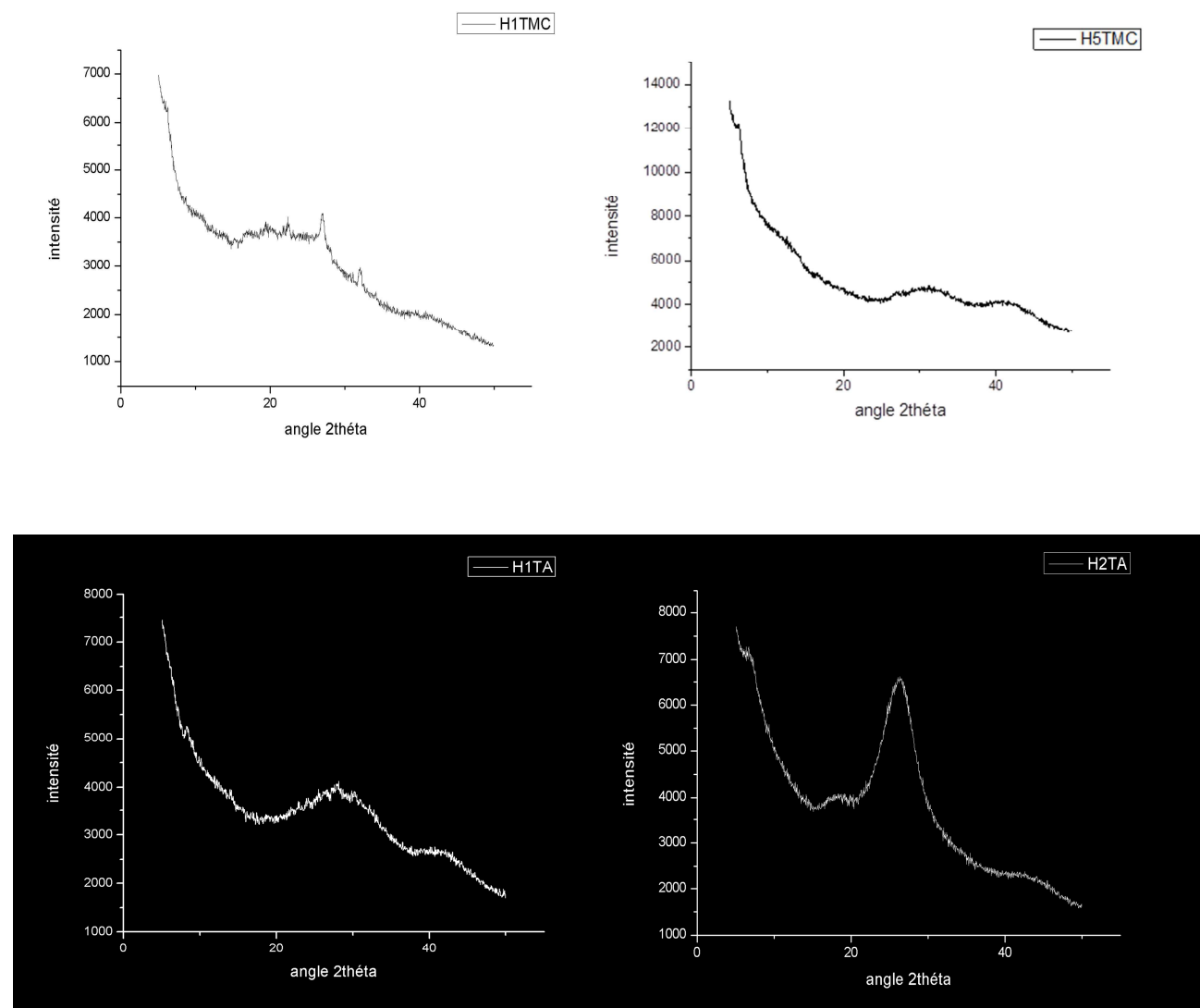


Figure 83 : Spectre infrarouge de TMC, H7 et H7TMC

En conclusion, la spectroscopie IR est un outil puissant pour caractériser les fonctions organiques présentes dans la structure des matériaux polymères synthésés. Les informations qualitatives apportées peuvent être corrélées avec les résultats obtenus à l'aide d'autres types d'analyses, comme la diffraction de rayons X, discutée dans la sous-section suivante, pour mieux cerner la composition des matériaux.

4.2.3 La diffraction de rayons X sur poudre

L'étude de diffraction de rayons X s'est effectuée sur les poudres obtenues par PI, après agitation vigoureuse du tube, filtration de la poudre et séchage du polymère (60°C, 2h). Les diffractogrammes obtenus pour 7 polymères (H1TMC, H5TMC, H2TMC, H1TA et H2TA, H3TMC, H4TMC et H5TMC) sont représentées dans la **Figure 84** (le TA est le 1,3,5-benzène tricarboxaldéhyde).



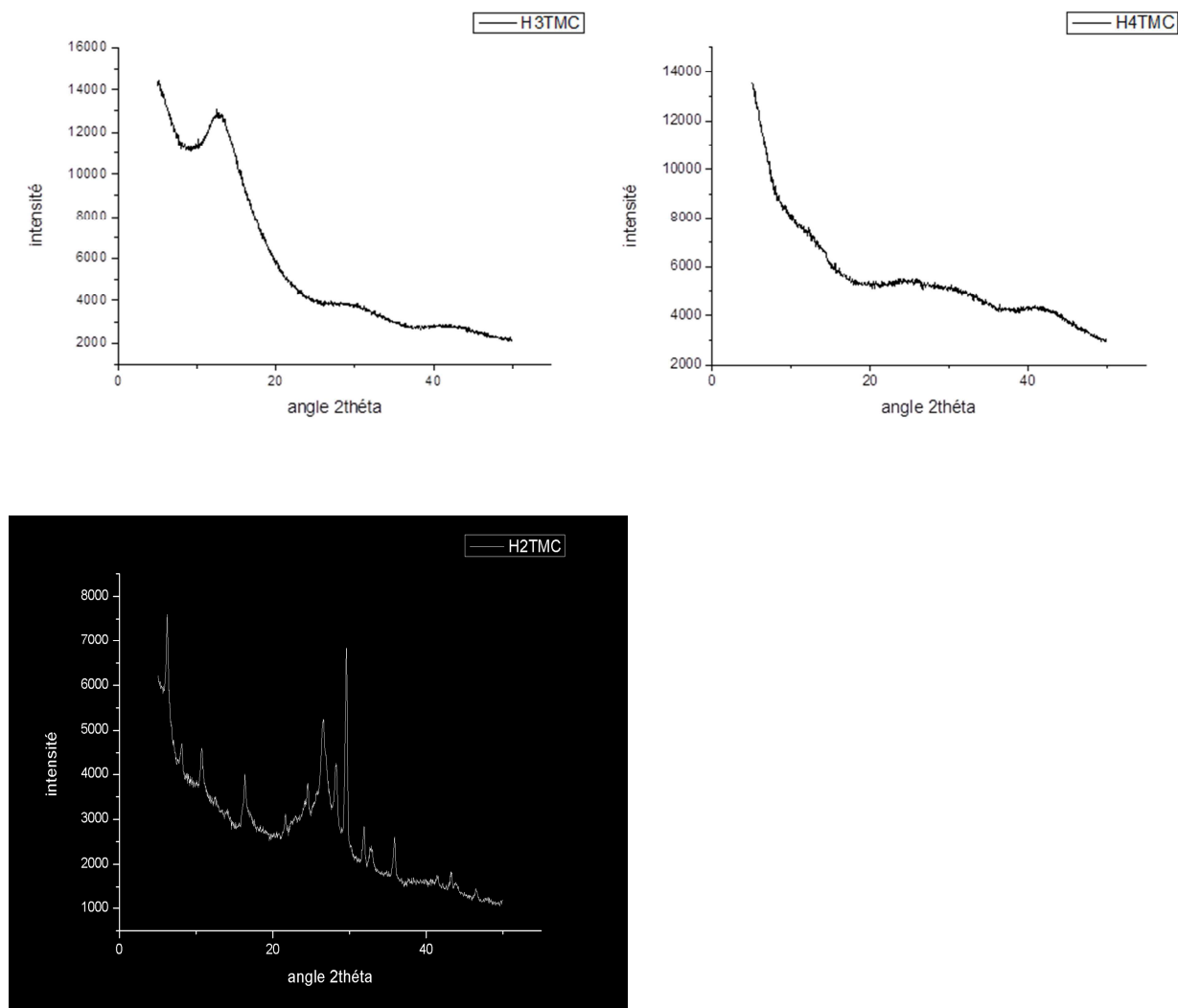


Figure 84 : Diffractogrammes des polymères H1TMC, H5TMC, H1TA et H2TA, H3TMC, H4TMC, H2TMC

Comme on peut le remarquer à la **Figure 84**, les polymères H3TMC, H1TA et H2TA sont caractérisés par des signaux plus étalés à grands angles 2θ , (12° pour H3TMC, 27° et 41° pour H1TA et 26° pour H2TA). Cette réponse peut être due à une organisation à longue distance. Pour H5TMC et H4TMC, on n'observe plus l'apparition des pics de diffraction étalés. Ces deux matériaux sont plutôt amorphes ou possèdent moins de domaines de cristallinité que les autres composés étudiés. H1TMC présente pourtant quelques pics fins de diffraction, de faible intensité (à $26,8^\circ$ et à $31,8^\circ$) ce qui laisse présager d'un ordre à courte distance ou de la présence de petits domaines de cristallinité non homogènes dans le polymère.

Très surprenant, par rapport aux autres polymères, seul le H2TMC présente des pics fins de diffraction. Le diffractogramme obtenu pour H2TMC a été comparé aux

diffractogrammes des substances initiales (H2 et TMC), afin de s'assurer que la cristallinité n'était pas due aux traces des monomères de départ. La structure de l'hydrazide trisubstitué associée à cette structure est proposée. Nous pouvons, à partir de ces signaux, calculer des distances interréticulaires correspondantes à chaque pic de diffraction (**Figure 85**), entre les plans des molécules, en s'appuyant sur la loi de Bragg : $2d \cdot \sin\theta = n \cdot \lambda$, où d est la distance inter-réticulaire, c'est-à-dire la distance entre deux plans cristallographiques, θ est l'angle de Bragg, donc le demi-angle de déviation (moitié de l'angle entre le faisceau incident et la direction du détecteur), n est l'ordre de diffraction (qui est un nombre entier, dans notre cas 1) et λ est la longueur d'onde de la raie $K\alpha$ du cuivre (1,541 Å).

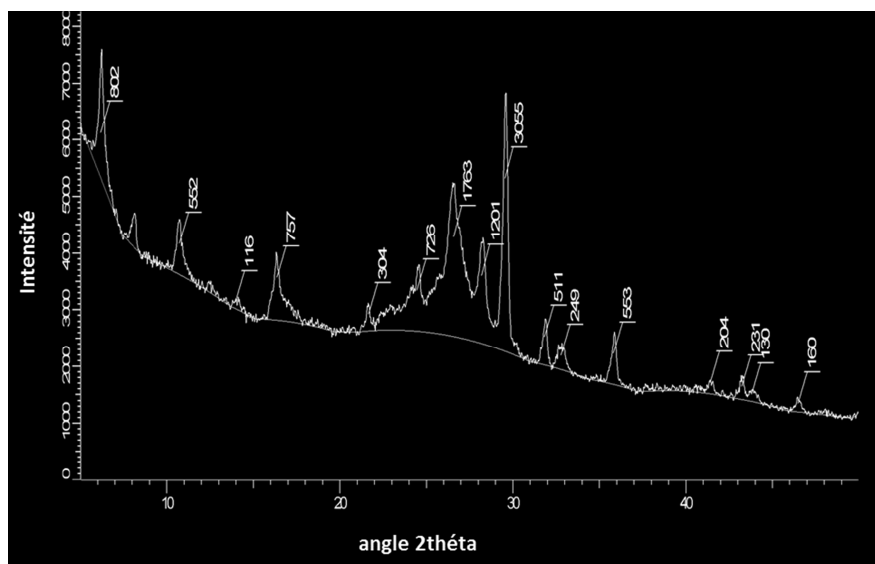


Figure 85 : Diffractogramme de H2TMC avec les distances inter-réticulaires

Le haut degré de cristallinité de ce polymère, peut être attribué à une réticulation organisée des monomères : les noyaux aromatiques « rigidifient » la structure et l'ordre inter- et intramoléculaire est gouverné par des liaisons hydrogène. De plus, des interactions du type π -stacking peuvent aussi être responsables de l'organisation au sein du matériau.

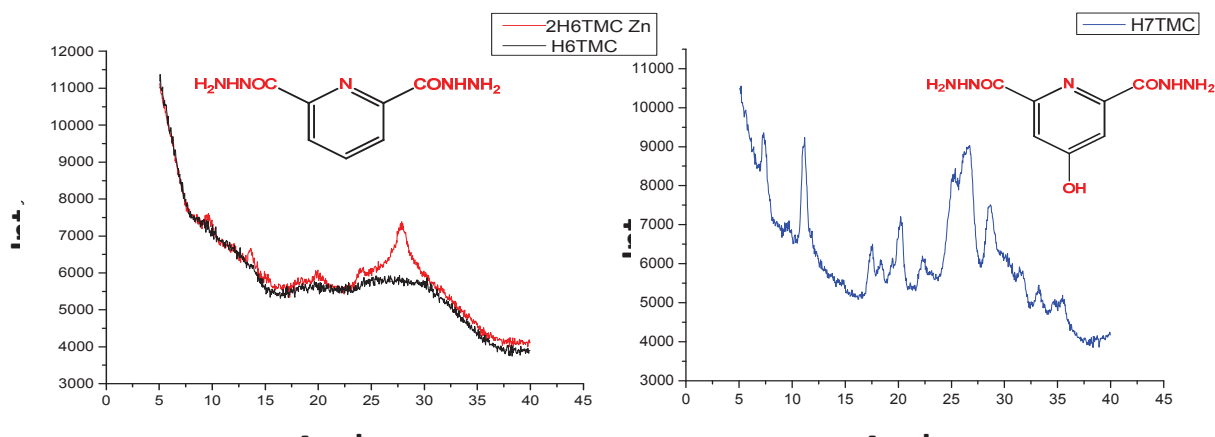


Figure 86 : Diffractogrammes obtenus pour les poudres de polymères H6TMC et 2H6TMC/Zn et H7TMC

La **Figure 86** présente les diffractogrammes obtenus pour les poudres des polymères H6TMC comparés avec 2H6TMC/Zn²⁺ et H7TMC. En ce qui concerne les deux polymères contenant H6TMC on peut mentionner que le fait d'ajouter un équivalent de Zn²⁺ à deux équivalents de H6 permet d'avoir une meilleure organisation au sein du polymère (apparition des pics de diffraction définis, courbe rouge). Cependant, le polymère H6TMC seul présente sur le diffractogramme une large bande vers 27° (en 2θ) due certainement aux interactions à courte distance existantes entre les groupements phényle. Le fait d'ajouter un métal de transition pourrait conduire à un plus grand degré d'organisation au sein du polymère. 2H6TMC/Zn²⁺ peut être particulièrement intéressant en tant que polymère pour le dessalement de l'eau car le Zn²⁺ peut coordiner aussi des anions chlorure.

Par rapport au diffractogramme de H7TMC on peut mentionner que ce composé a, tout comme le H2TMC, un haut degré de cristallinité avec plusieurs pics de diffraction pouvant être observés.

4.2.4 L'analyse thermogravimétrique

L'analyse thermogravimétrique (TGA – ThermoGravimetricAnalysis) est une technique utilisée pour connaître la stabilité thermique des polymères. Le résultat de l'analyse est exprimé comme une dépendance du pourcentage de poids en fonction de la température. Un composé solide est supposé perdre du poids lorsqu'il est sous température, du fait d'un processus de thermo-dégradation. Les polymères synthétisés ont été également caractérisés à l'aide de cette méthode. L'analyse a été réalisée sous atmosphère d'azote. Comme on peut le remarquer dans la **Figure 87**, le polymère le plus stable est le H2TMC, car on observe une perte de masse (1,5%) seulement à partir d'une température de 290°C. De plus, même s'il est

stable jusqu'à cette température, c'est aussi le matériau qui perd le plus en masse jusqu'à la température maximale de 1000°C. Le polymère H1BTC est le moins stable, car il présente une chute rapide en masse de 27% dès la température de 161°C. Le H3TMC a une thermostabilité intermédiaire car à 235°C, il perd 3% de sa masse totale.

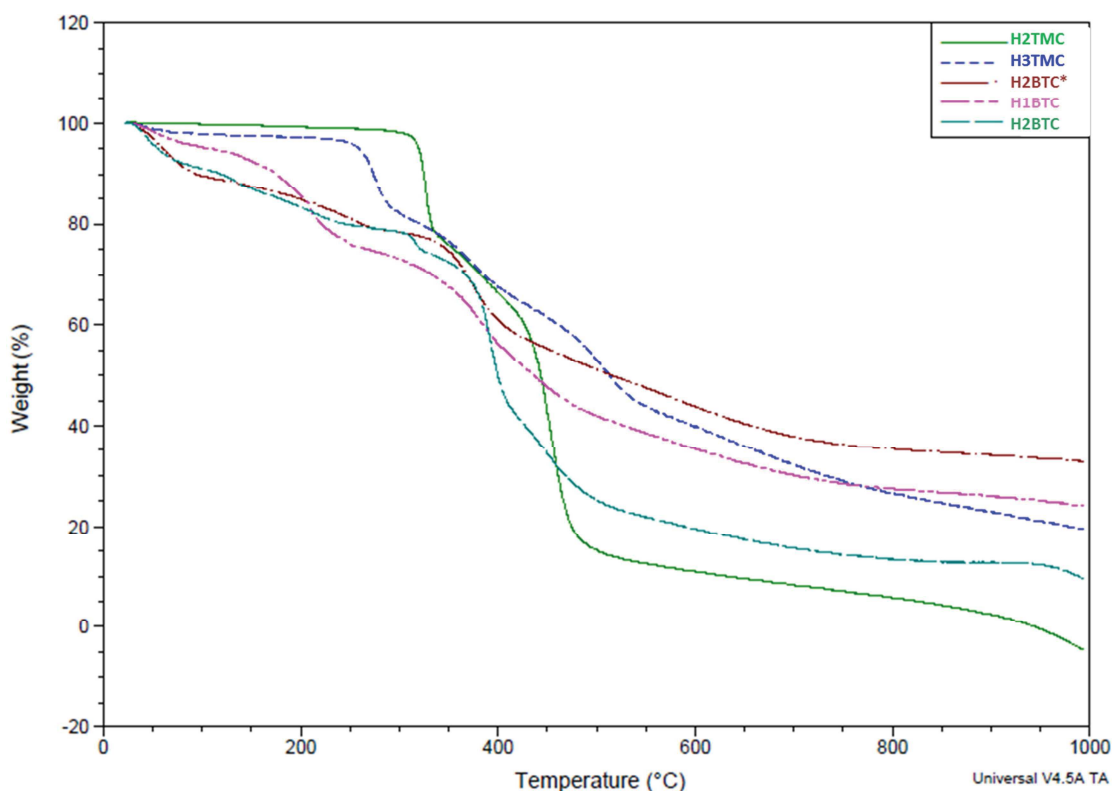


Figure 87 : Superposition des profils de dégradation pour différents polymères obtenus par PI

Le comportement thermique de H2BTC est très remarquable : une perte progressive de de masse de 68% est observée suivie d'une stabilisation entre 600°C et 1000°C. A cette haute température, il reste toujours 32% de sa masse initiale, ce qui nous mène à penser à un mécanisme de réarrangement moléculaire. La différence entre H2BTC* et H2BTC est dans le traitement post-filtration : H2BTC* a été soumis à un passage de 2h sous 60°C après filtration, tandis que H2BTC a été séché sous vide à température ambiante. Comme on peut l'observer, le polymère qui subit le traitement thermique (H2BTC*, courbe marron) est plus stable que H2BTC (courbe turquoise) qui perd plus en masse, déjà à partir de 320°C.

Par la suite, des expériences de déposition sur gamma-alumine de ce polymère seront réalisées. En perspective, les disques de **gamma-alumine** modifiés peuvent être chauffés à haute température et utilisées dans des expériences de filtration.

4.2.5 La microscopie électronique à balayage

La microscopie électronique à balayage (MEB) est une technique à l'aide de laquelle on peut étudier la morphologie des films membranaires synthétisés. Ce type d'analyse microscopique est d'un grand intérêt, car des caractéristiques de surface peuvent être étudiées (comme la rugosité, la porosité ou même les défauts de fabrication). Aussi, cette technique peut fournir des renseignements sur l'épaisseur des membranes (**Figure 88**).

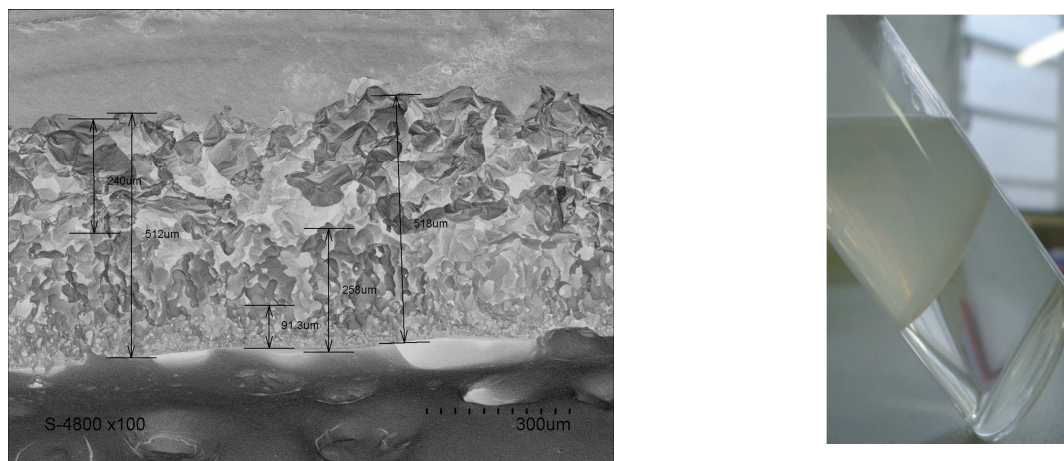


Figure 88 : Polymérisation interfaciale dans un tube. Le polymère se forme à l'interface toluène – eau, dû à une faible solubilité de l'hydrazide dans le toluène. Cas du HITMC, épaisseur 518 µm

La réaction de l'hydrazide avec le chlorure d'acide détermine la morphologie et la structure réticulée de la membrane. La **Figure 89** présente deux images MEB obtenues pour le film polymère obtenu.

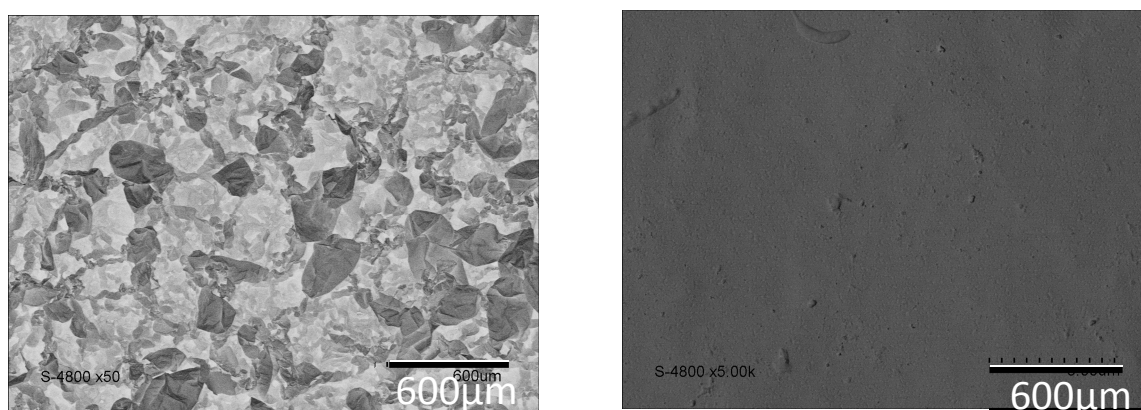


Figure 89 : Clichés MEB de surface avec vue du côté en contact avec la phase organique (à gauche) et phase aqueuse (à droite)

Dans la **Figure 90** est présenté le polymère formé suite à la réaction entre l'hydrazide chélidamique (CHH ou H7) et le TMC. On obtient un film autosupporté qui présente une bonne stabilité mécanique mais qui est très perméable à l'eau pure. Cependant, ses capacités de rétention sont faibles, même lorsqu'il est déposé sur le support microporeux de PSf.

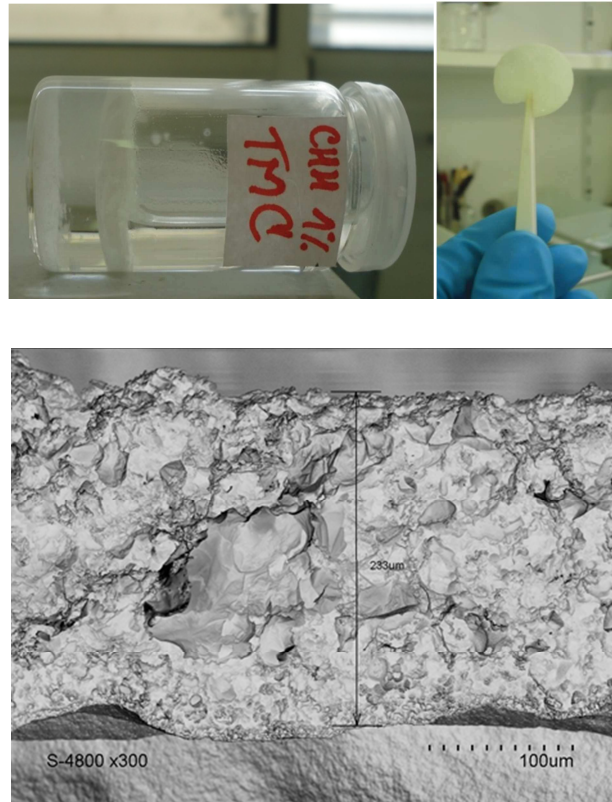


Figure 90 : Polymère autosupporté formé par PI entre le CHH (H7) et TMC, d'une épaisseur de 233 μm

Chapitre 5 : Fabrication, caractérisation et évaluation des performances des membranes supportées

Résumé : Une fois la synthèse des monomères décrite et la formation de polymères à l'interface testée, nous nous intéressons aux membranes supportées. Cette section décrit, dans un premier temps, la création d'une première série de membranes afin de mettre au point la méthode de fabrication et de définir les paramètres opérationnels. Ensuite, nous présentons les méthodes de caractérisation statique (par MEB, AFM et angle de contact à l'eau), qui seront utilisées dans la caractérisation d'une deuxième série de membranes. Finalement, les performances membranaires (perméabilité et rétention de sel) seront illustrées.

5.1 Fabrication des membranes pour l'osmose inverse

Pour fabriquer les séries de membranes présentées dans ce chapitre, nous avons utilisé un support de nanofiltration donné à titre gracieux par IBM Almaden Research Center (San José, CA, USA). Ce support asymétrique (**Figure 91**) est constitué d'une partie en polyester (PE, qui offre une bonne stabilité mécanique) d'environ 135 μm et d'une couche supérieure de polysulfone (PSf) poreuse, d'une épaisseur de 40 μm . La **Figure 91** montre des images de la surface et de la section de ce type de support. On remarque la présence de pores d'une dimension de 35 nm en moyenne à la surface du PSf.

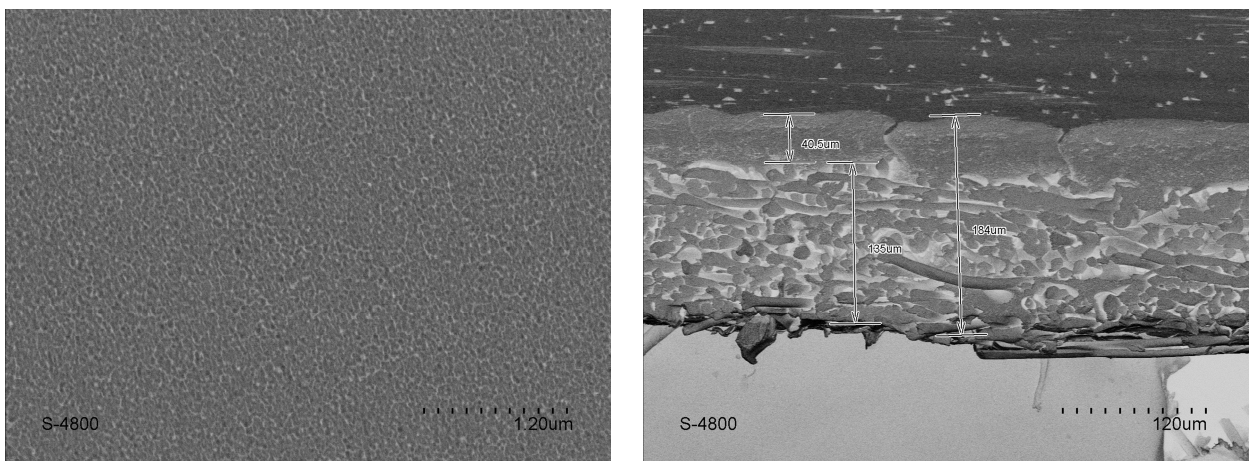


Figure 91 : Clichés MEB du support PSf sur PE (surface à gauche et section à droite)

Nous avons rencontré une difficulté expérimentale dans la fabrication des membranes du fait de la faible solubilité des hydrazides aromatiques (H2, H4, H6) dans l'eau. Pour les rendre solubles, un volume équivalent d'acide chlorhydrique a été ajouté. Ainsi, l'amine terminale étant sous forme de sel de chlorure d'ammonium devient soluble dans l'eau mais en même temps moins réactive avec le chlorure d'acide de la phase organique. Lors de l'utilisation des acides plus forts comme l'acide trifluoroacétique (TFA), ajoutés dans la solution d'immersion, le support même de PSf est malheureusement attaqué.

Les membranes utilisées dans le cadre de cette étude ont été obtenues en utilisant l'approche de la polymérisation interfaciale sur support. Afin d'obtenir la couche polymère sur la face Polysulfone du support uniquement, celui-ci a été immobilisé sur une plaque en téflon (**Figure 92**) et collé sur les bords à l'aide d'une bande adhésive.

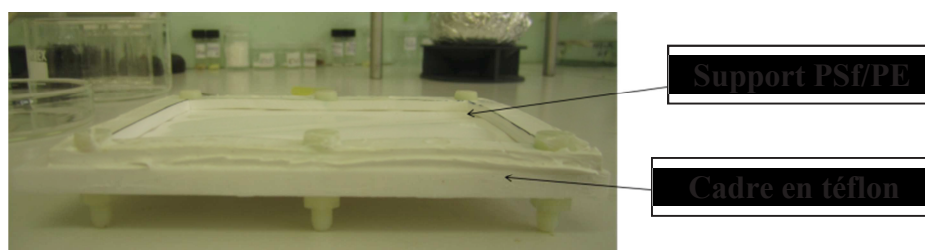


Figure 92 : Dispositif pour la fabrication des polymères par polymérisation interfaciale sur support PSf/PE, fixé sur un montage en téflon

Ensuite, le support de polysulfone sur polyester a été successivement immergé dans une solution aqueuse d'hydrazide contenue dans une boîte rectangulaire en plastique, pendant deux minutes. Lorsque le support poreux est imprégné, il est sorti de la solution et laissé quelques minutes verticalement, afin d'avoir une couche homogène de solution. L'excès de solvant est éliminé à l'aide d'un rouleau en caoutchouc. Ensuite, le support est immergé dans une deuxième boîte rectangulaire contenant la phase organique et laissé pendant une minute, ce qui correspond au temps de la réaction de polymérisation.

La réaction de la formation de la couche polymère sur le support de polysulfone est rapide et au bout d'une minute le support est enlevé, la membrane de polysulfone avec le polymère est découpée et enlevée du cadre en téflon, rincée avec une solution de Na_2CO_3 (0,2%, w/v) et mise à sécher pendant une heure à 60°C . Le rinçage avec la solution de carbonate de sodium, qui est une base faible, sert à faire réagir les groupements carboxyle restés en surface (après l'immersion dans le TMC). Le traitement thermique en fin de fabrication est également très important, car il permet la terminaison de la réaction de

polymérisation. Jusqu'à l'analyse, les membranes sont gardées dans une solution de bisulfite de sodium (NaHSO_3 , 1%, w/v), afin d'éviter la contamination biologique, dans le réfrigérateur.

Néanmoins, la variation des paramètres opérationnels (comme le temps d'immersion dans la phase aqueuse et/ou la phase organique, le type et la concentration des monomères, le temps et le programme de séchage) peut changer les caractéristiques de la membrane.

Actuellement les groupes de recherche sont en quête d'amélioration des performances des membranes utilisées dans les technologies de la filtration de l'eau en jouant sur divers paramètres opérationnels.

Les membranes fabriquées avec des polyamides aromatiques ont une plus grande stabilité thermique et au pH. C'est pour cela que de nombreux groupes de recherche ont choisi les composés appartenant à la classe de polyamides pour fabriquer des membranes pour l'osmose inverse dans le traitement de l'eau.

Pour la synthèse, en règle générale, la concentration de l'hydrazide dans la phase aqueuse (**2% m/v**) doit être supérieure à la concentration du TMC dans l'hexane (**0,1% m/v**). La réaction de référence est la réaction entre le métaphénylène-diamine (MPD) et le TMC (réaction utilisée dans la fabrication de la membrane commerciale FT-40).

Avant l'opération d'immersion dans les deux solutions de monomères, le support de PSf/PE a été prétraité, étape importante réalisée dans le but d'enlever la couche protectrice qui couvre la partie supérieure de polysulfone et donc de rendre le support plus hydrophile.

Le prétraitement d'hydrophilisation comporte deux étapes :

- 30 minutes dans de l'alcool isopropylique (IPA) et rinçage à l'eau distillée ;
- 2h dans de l'eau distillée, rinçage et séchage avant l'utilisation.

Après le prétraitement, la réaction de polymérisation a été réalisée. Deux grandes séries de membranes ont été fabriquées, cumulant un total de **plus de 90 essais**.

Dans le cas où une membrane présente de bonnes performances de rétention (plus de 90%) lorsqu'on utilise une solution de cette concentration, on peut la tester avec des solutions saumâtres allant de 4000 à 47000 ppm, sachant que l'eau océanique a une salinité moyenne de 35000 ppm (3,5 ‰). La régulation WHO impose que l'eau potable doit avoir une concentration en sel **inférieure à 250 ppm**.

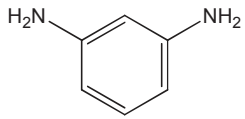
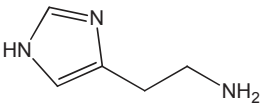
5.2 Première série des membranes

5.2.1 Fabrication et caractérisation des membranes

Une première série de membranes fabriquées en appliquant différents paramètres opérationnels (concentration des monomères, temps d'immersion) sera présentée dans cette section. Dans la première classe de membranes (**Tableau 13**), le paramètre expérimental modifié a été le rapport de concentration massique entre le MPD et l'histamine, en phase aqueuse. Ensuite, dans la deuxième classe de membranes de la première série (**Tableau 14**), nous avons fait varier la concentration d'amine totale en phase aqueuse, la concentration de chlorure acide et le temps total d'immersion. Pour créer cette deuxième classe de quatre membranes, nous avons utilisé un rapport de 1:1 MPD:histamine (paramètre constant). Après l'analyse par **MEB** et après le test des performances en **perméabilité à l'eau pure**, cette première série de membranes nous a permis d'optimiser la méthode de fabrication des membranes à partir de nos polymères et de figer les paramètres expérimentaux qui seront gardés constants par la suite.

Cette étape est la plus délicate car la complexité de paramètres expérimentaux a un effet important sur la reproductibilité de la méthode de fabrication.

Tableau 13 : Noms et différents rapports de MPD et d'histamine utilisés dans la phase aqueuse pour la réaction avec le TMC dans l'hexane dans le cas des membranes de première série, première classe

	Pourcentage de MPD	Pourcentage d'histamine
Nom de la membrane		
MPD/TMC Membrane classique	100	0
MH 99-1	99	1
MH 97-3	97	3
MH 95-5	95	5
MH 90-10	90	10
MH 50-50 Membrane de référence	50	50
MH 30-70	30	70
MH 25-75	25	75
MH 15-85	15	85

L'idée originale de ce travail a été de remplacer de faibles pourcentages de MPD par l'histamine. L'histamine contient dans sa structure le groupement imidazole, déjà connu pour ses propriétés d'engrener et de faciliter le transport de molécules d'eau par sa participation dans des superstructures du type canal d'eau, propriété décrite dans la première partie de ce manuscrit.

Tout d'abord, pour la stratégie de mélange de monomères en phase aqueuse, nous avons comparé à la membrane classique (MPD/TMC) une classe de membranes obtenues en ajoutant progressivement de l'histamine en phase aqueuse. Ces membranes contiennent différents pourcentages massiques de MPD et d'histamine, présentés dans le **Tableau 13**. La concentration totale massique d'amine utilisée a été de 2% m/v dans un volume total de 120mL d'eau distillée.

Concrètement, dans une première étape, le support PSf a été immergé dans la solution aqueuse contenant un des mélanges d'amines énoncés, pour un temps de 2 minutes. Dans une seconde étape, le cadre en téflon avec le support PSf imprégné d'amine a été immergé dans la solution de TMC (à 0,15%) dans 120 mL d'hexane pour un temps de réaction d'une minute.

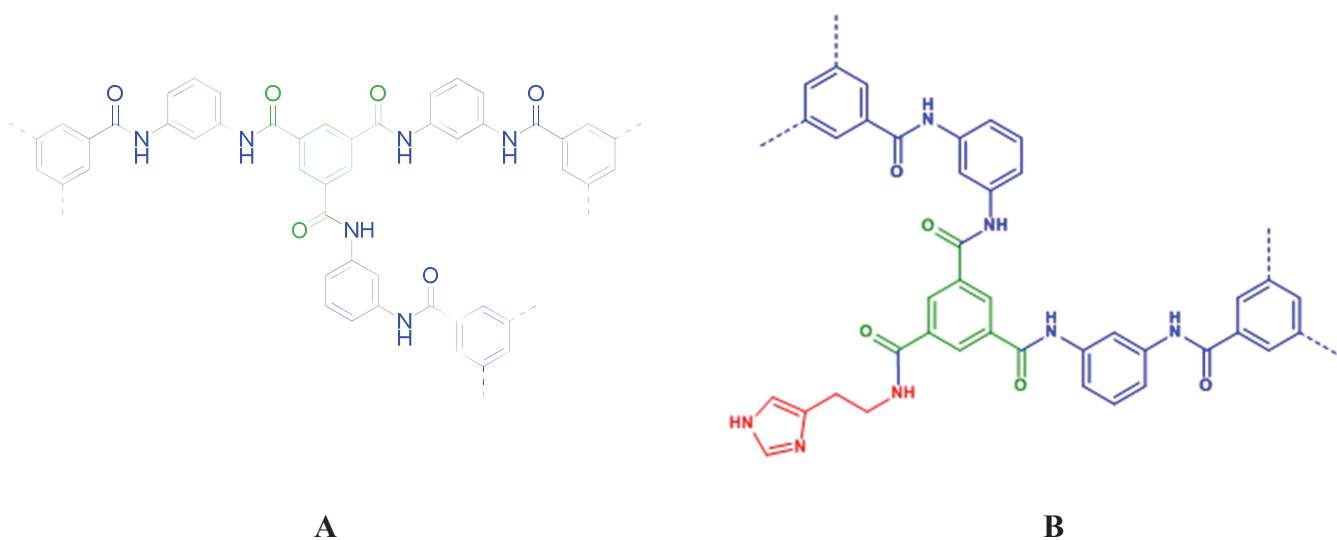


Figure 93 : Deux des structures envisagées pour l'unité fonctionnelle du polymère obtenu suite à la réaction du TMC avec une solution MPD:His : substitution (3:0) **A** et substitution (2:1) **B**

A la fin de la réaction de polymérisation, on suppose la « cohabitation » dans la structure du polymère de plusieurs types de substitution du TMC (**Figure 93**). Pour la structure on peut proposer quatre cas de figure :

- TMC trisubstitué avec MPD ;
- TMC disubstitué avec MPD et mono substitué avec histamine ;
- TMC monosubstitué avec MPD et disubstitué avec histamine ;
- TMC trisubstitué avec histamine.

Pour la caractérisation des surfaces, nous avons fait appel à la technique de microscopie à balayage électronique (MEB), déjà utilisée pour la caractérisation de la morphologie de surface et de l'épaisseur de polymères autosupportés.

Cette technique démontre sa fiabilité et sa robustesse également pour déterminer avec précision les caractéristiques morphologiques des polymères formés en surface du support de PSf, l'homogénéité de la couche, l'absence de défauts, mais aussi l'épaisseur de la membrane composite à couche mince (de l'ordre de quelques centaines de nanomètres).

Nous avons choisi de présenter ci-dessous (*Figure 94*) les images MEB obtenues pour la membrane MH 50-50, choisie comme membrane de référence pour la variation des paramètres expérimentaux :

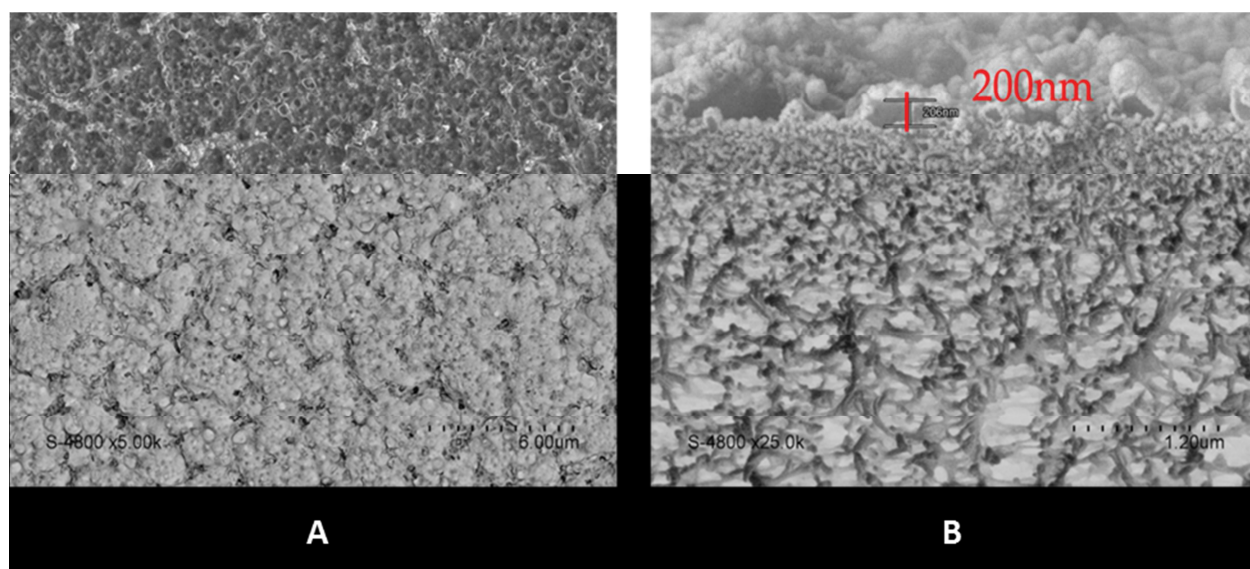


Figure 94 : Clichés MEB de la membrane MH50-50, surface (A) et section (B)

Les membranes présentant ce type de morphologie ont en surface une structure de type globulaire avec des striations (appelée dans la littérature « ridge and valley »), avec un haut degré de rugosité. On peut prévoir pour ce type de couches, grâce à une augmentation de la surface spécifique, une augmentation conséquente du flux d'eau. L'épaisseur du film formé est de 200 nm. Plus on augmente le pourcentage d'histamine en phase aqueuse, plus la surface

de la couche devient lisse, mais avec une diminution simultanée de l'épaisseur de la couche active (jusqu'à une valeur de 36,6 nm, **Figure 95**).

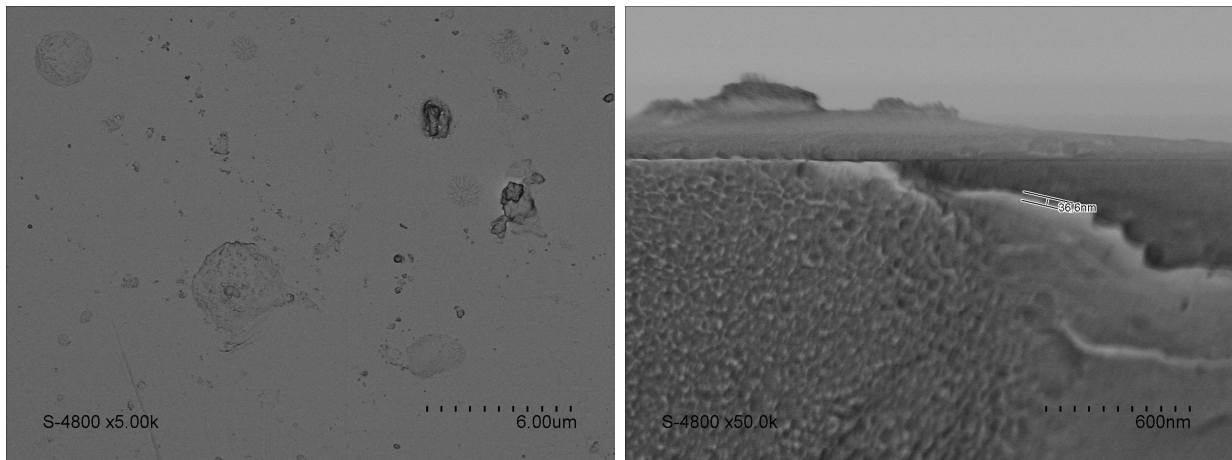


Figure 95 : Clichés MEB de la membrane MH 15-85, surface (à gauche) et section (à droite)

Un autre critère de différenciation des membranes a été la **concentration différente d'amine**. Nous avons donc fabriqué une membrane pour laquelle on a utilisé une concentration de 3% m/v de MPD dans 120 mL d'eau (50%MPD:50%His) et qu'on a appelé **membrane A**.

Dans un autre temps, pour comparer avec une concentration différente de TMC, on a utilisé une concentration plus importante, de **15% de TMC** en gardant constant le mélange d'amine utilisé Histamine + MPD = 1:1 (**membrane B**).

Pour les membranes C et D, nous avons fait varier le temps d'immersion dans les solutions de monomères (2% m/v dans 120mL d'eau, histamine vs MPD en rapport de 1:1 et TMC en phase organique). Nous avons donc obtenu les **membranes C** (temps double d'immersion, en l'occurrence 4 minutes d'imprégnation avec l'amine en phase aqueuse et 2 minutes de réaction de polymérisation avec le TMC) et **D** (en multipliant par 4 le temps d'imprégnation avec l'amine en phase aqueuse de polymérisation avec le TMC). Les paramètres expérimentaux retenus pour chaque membrane de A à D sont récapitulés dans le **Tableau 14**.

Tableau 14 : Paramètres expérimentaux modifiés dans le cadre de la deuxième classe de membranes de la première série

Nom de la membrane	Paramètre opérationnel	Modification par rapport à la membrane de référence MH 50-50
A	Concentration de l'amine	Augmentation de 2% à 3%
B	Concentration du TMC	Augmentation de 0,15% à 15%
C	Temps d'immersion dans les phases de monomères	Augmentation de deux fois plus (4min en phase aqueuse et 2min en phase organique)
D		Augmentation de quatre fois plus (8min en phase aqueuse et 4min en phase organique)

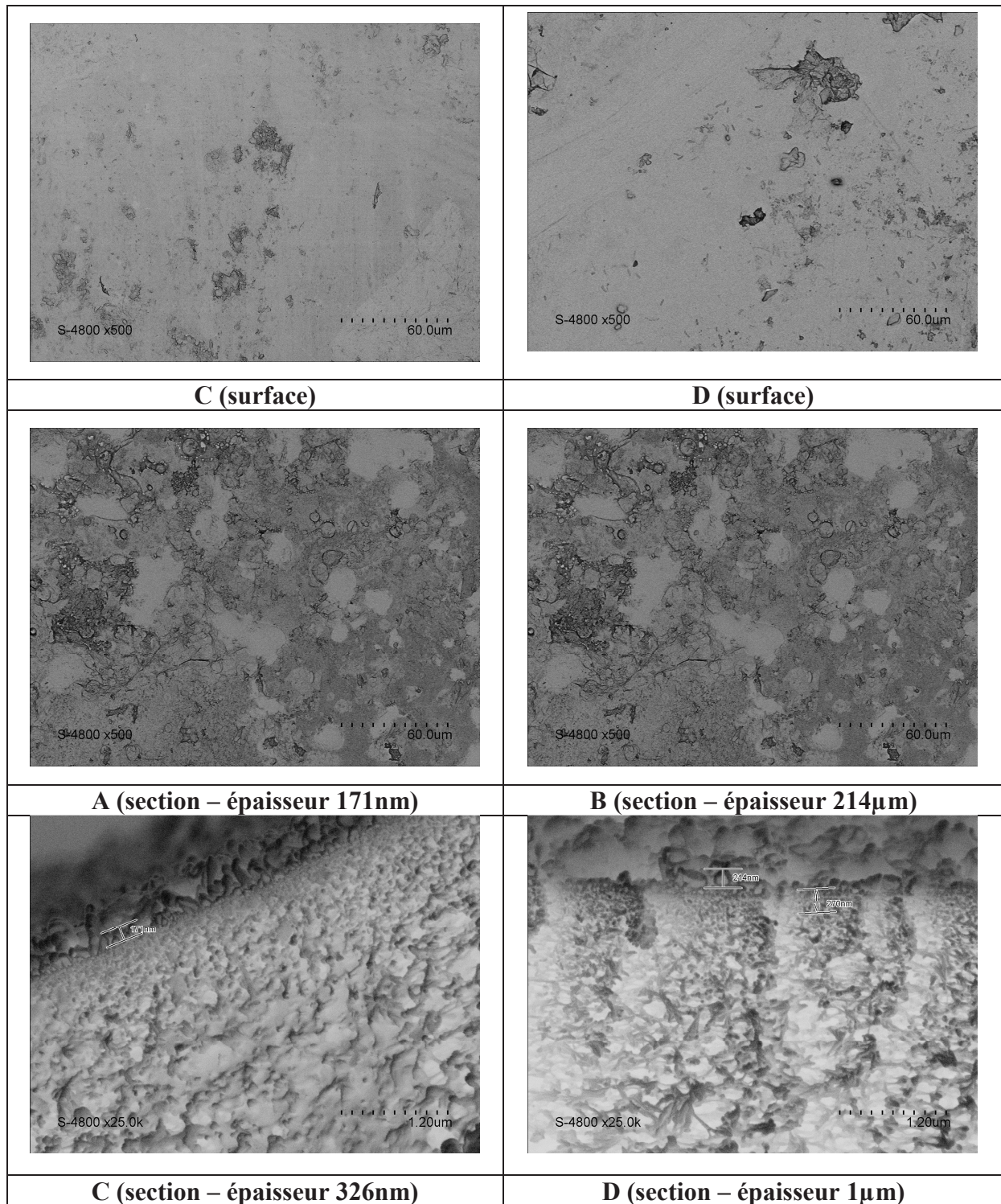
En analysant les images obtenues par MEB des membranes A à D (

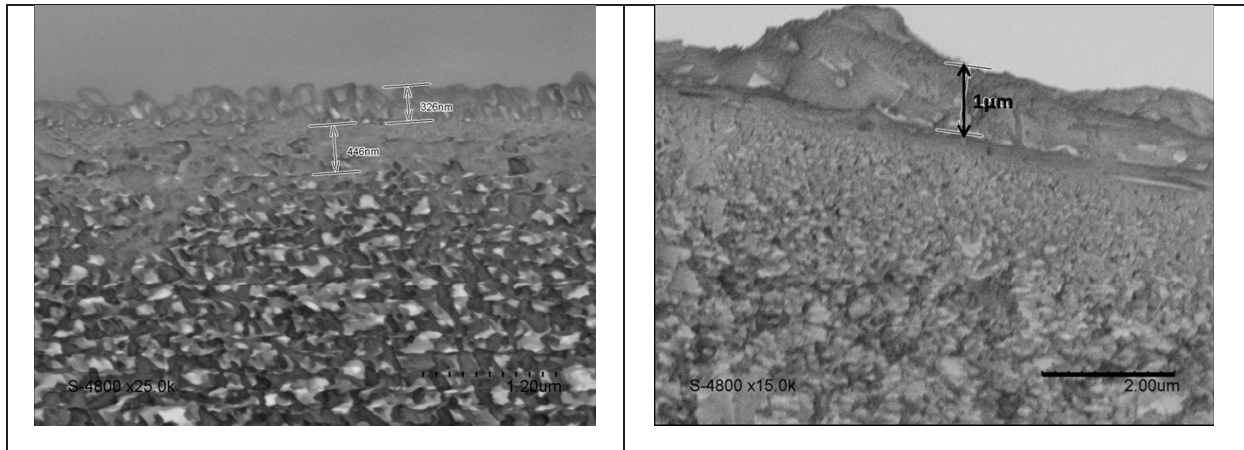
Tableau 15), on remarque une surface homogène, sans défauts, où le polymère couvre toute la surface du support de polysulfone (si on compare avec la morphologie de surface du support vierge, (

Figure 91). Le polymère déposé sur la membrane de Polysulfone est quasi-dense, très peu poreux et laisse présager de propriétés de rejet de sel dans la mesure où les ions, entourés de leur sphère d'hydratation en solution aqueuse ne pourront pas traverser cette barrière sélective.

Tableau 15 : Clichés MEB des membranes de la première série, deuxième classe

A (surface)	B (surface)
-------------	-------------





Pour les membranes C et D, où le critère de comparaison est le temps de polymérisation, on remarque que pour un temps quadruple d'immersion, l'épaisseur de la couche est beaucoup plus importante avec des dépôts de presque $1\mu\text{m}$, non homogènes sur toute la surface de la membrane. Cette couche épaisse entraîne également une augmentation substantielle de la résistance à la pression et une diminution de la perméabilité de la membrane à l'eau.

5.2.2 Test des performances membranaires

Le **test de performance** des membranes consiste en l'évaluation de deux propriétés importantes : la **perméabilité des membranes** et le taux de **rétenion de particules**.

La perméabilité est définie comme la « quantité de vapeur d'eau qui traverse 1 m²/h avec un gradient de pression de 1 mm Hg ». Elle représente le rapport entre le coefficient de perméabilité et l'épaisseur du matériau. La perméabilité se calcule à partir d'une courbe de flux d'eau exprimée en fonction de la pression appliquée (qui peut aller de 0 à 15 bars) et traduit le volume de perméat écoulé dans une heure, qui traverse une surface membranaire donnée (en m²) donc **le flux**, sous une certaine pression (unité de mesure LMH/bar ou g/m²h mm Hg). Il s'agit d'une dépendance linéaire : plus on augmente la pression appliquée, plus le flux d'eau est important. La perméabilité de la membrane est obtenue par la pente de cette courbe. Dans le cas des membranes d'OI constituées de MCCM, les valeurs de perméabilité se situent autour de 30 LMH/bar, mais souvent les performances sont diminuées à cause d'une résistance intrinsèque de la membrane.

La deuxième propriété étudiée est la **rétenion de particules**. Celles-ci peuvent être des sels (comme le chlorure de sodium, le chlorure de magnésium ou le sulfate de magnésium), du PEG200, du mannose ou du bore (sous forme de H₃BO₃). Dans le cadre de nos tests, la méthode utilisée pour la détermination de la rétenion de sels a été la conductivité. Un autre phénomène important auquel une membrane performante doit résister est le phénomène de colmatage, décrit dans la partie introductive. Dans ce cas, on utilise dans l'expérience des acides humiques.

Dans le cadre de cette série d'expériences on a utilisé une membrane plane, placée dans un module de pilote de filtration. Nous avons utilisé deux configurations de l'installation de filtration : un montage de filtration en circuit fermé et continu avec recirculation (**Figure 96**) pour la première série de membranes et un montage de filtration (cellule Sterlitech™) où l'alimentation n'est pas re-circulée (**Figure 98**) pour la deuxième série des membranes. La filtration a été réalisée tout d'abord à pression atmosphérique et jusqu'à 6 bars avec le premier pilote et, dans une deuxième étape, en appliquant une pression allant de 1 à 15 bars avec la cellule Sterlitech™. Dans les deux cas, la force motrice de transfert est la pression appliquée sur la membrane.

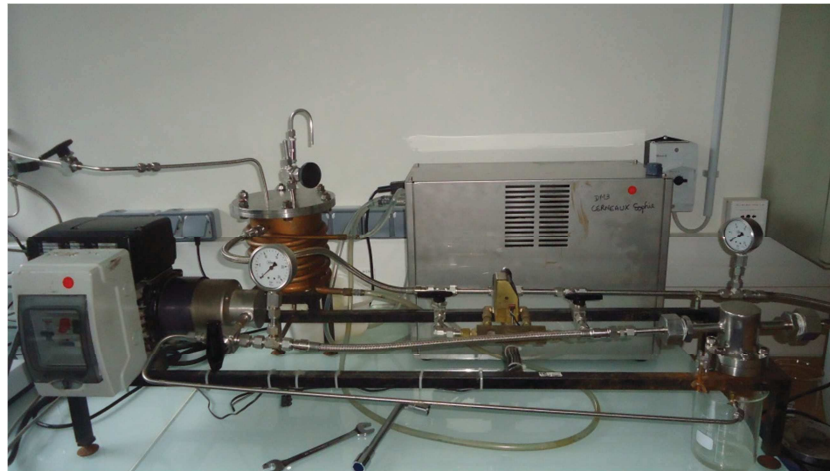


Figure 96 : Pilote de filtration frontale en continu avec recirculation



Figure 97 : Intérieur du module avec la membrane avant d'être fixée dans la composante de filtration du pilote de filtration en continu



Figure 98 : Cellule Sterlitech™ HP4750 avec agitation pour filtration frontale

La rétention des sels (NaCl) a été déterminée en utilisant une méthode indirecte, à travers de mesures de conductimétrie. Préalablement, une droite de calibration de conductivité (exprimée en μS) en fonction de la concentration (exprimée en mol/L) a été tracée (**Figure**

99). Cette droite sera utilisée afin de déterminer la concentration en sel de la solution de perméat en mesurant sa conductivité tout au long de l'expérience de transport.

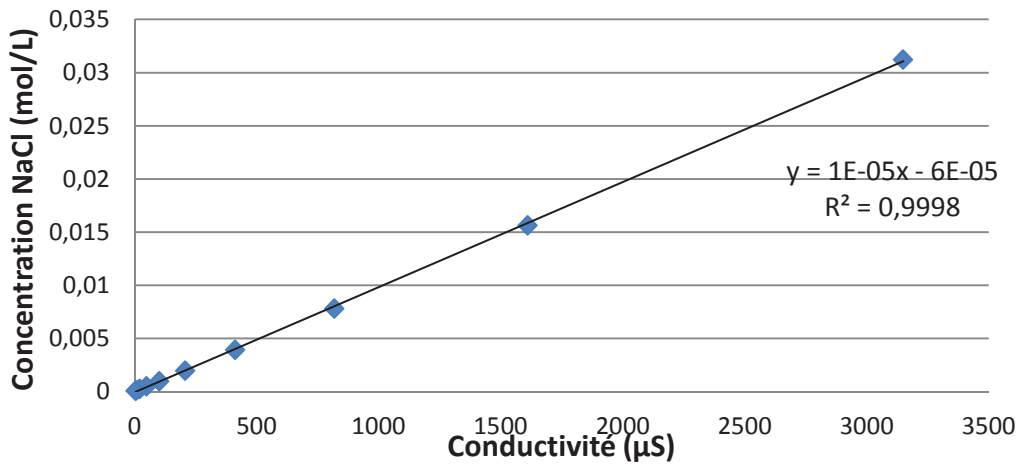


Figure 99 : Droite de calibration de la concentration (mol/L) en fonction de la conductivité de la solution (µS) pour la détermination de la concentration en sel dans le perméat

Tout d'abord, nous avons réalisé un test de filtration sur la membrane vierge de PSf, afin de déterminer sa perméabilité à l'eau pure. La valeur de perméabilité obtenue a été de 20 LMH/bar, déterminée à partir de la pente de la dépendance du flux en fonction de la pression appliquée (**Figure 100**). Ensuite, nous avons testé les membranes fabriquées en termes de perméabilité. Les valeurs obtenues sont regroupées dans le **Tableau 16**. Pour corrélérer les perméabilités membranaires avec les valeurs de l'épaisseur de la couche déposée, nous avons également introduit les informations obtenues par microscopie (les images MEB de la morphologie des membranes sont rassemblées dans les annexes). Le graphique présenté sous le tableau 14 illustre, pour permettre la comparaison des films membranaires, les valeurs de la perméabilité pour chaque membrane de la première série.

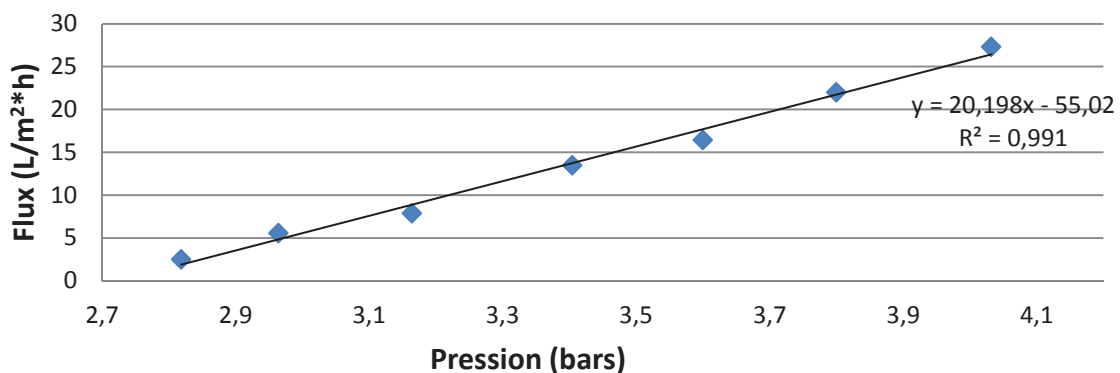
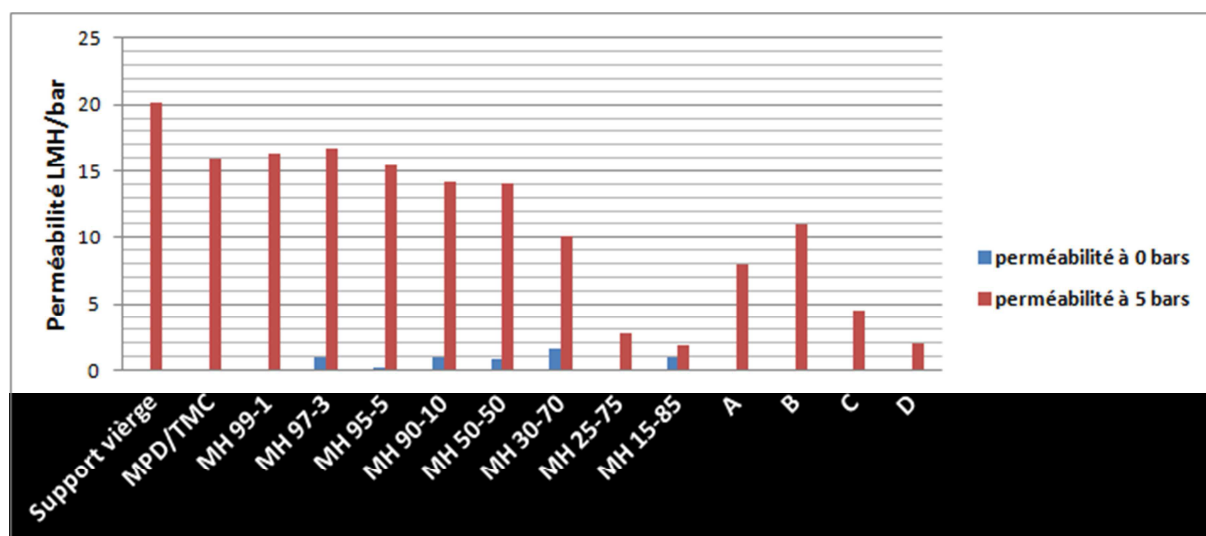


Figure 100 : Etude de perméabilité de la membrane vierge (PSf / PE)

Tableau 16 : Récapitulatif des performances des 12 membranes de la première série, en terme de perméabilité et rejet de sel, à 5 bars

Membrane	Perméabilité à 5 bars (LMH/bar)	Epaisseur de la couche polymère (nm)	Rejet de sel (%)
Support vierge	20,2	0	5%
MPD/TMC	16	150-170	98%
MH 99-1	16,3	350	93%
MH 97-3	16,7	325-525	72,5%
MH 95-5	15,4	230	71%
MH 90-10	14,2	112	38,6%
MH 50-50	14	200	83%
MH 30-70	10,1	51,7	24%
MH 25-75	2,8	<50	28,5%
MH 15-85	1,9	36,6	14%
A	8	171	
B	11	214	
C	4,5	326	
D	2	1000	



Nous avons testé, tout d'abord, les membranes à pression atmosphérique (pa) pour nous assurer que le passage de l'eau à travers les membranes n'avait pas lieu à défaut d'application d'une pression, conformément au principe de la filtration par osmose inverse (la filtration doit se faire, effectivement, sous grandes pressions, allant jusqu'à 16 bars). En effet, les valeurs obtenues à la pression atmosphérique sont pour la plupart proches de zéro. Ceci

démontre l'existence d'une couche continue quasi-dense sans défauts. Par la suite, pour chaque mesure de perméabilité, nous nous sommes assurés, donc, que la perméabilité est égale à zéro dans le cas où on n'applique pas de pression sur la solution d'alimentation.

Il faut noter ensuite, que la perméabilité pour le support a été calculée à partir de la pente de la droite de la **Figure 100**, tandis que pour les membranes fabriquées, cette perméabilité a été calculée ponctuellement à 5 bars.

En analysant les résultats de perméabilité des membranes de la première série, sous une pression de 5 bars, on observe que toutes les membranes présentent une diminution de la perméabilité par rapport au support seul. Ce qui est explicable, car la couche polymère formée introduit une résistance supplémentaire au passage de l'eau.

Ensuite, pour la classe de membranes contenant l'histamine, on n'observe pas une dépendance importante avec les pourcentages d'histamine introduits en phase aqueuse. Le flux augmente faiblement jusqu'à un rapport de 97:3 MPD:His, avant de chuter drastiquement (1,9 LMH/bar) pour les membranes contenant le plus grand pourcentage d'histamine (85%). Cependant, la membrane est également moins épaisse. L'explication de cette diminution peut être cherchée dans la **nature des interactions au sein du polymère**. Une coopération de liaisons hydrogène introduites par l'histamine peut densifier le réseau polymère, plutôt que créer des voies sélectives pour le passage de l'eau.

Pour la deuxième classe, lorsqu'on augmente le pourcentage d'amine en phase aqueuse (de 2 à 3%), on obtient aussi une diminution du flux d'eau (de 14 à 8 LMH/bar, pour la membrane A). Ce résultat peut s'expliquer par la création d'un réseau polymère plus dense à cause d'une concentration plus élevée. Cette diminution est moins grande pour une concentration dix fois supérieure en TMC. Concernant le paramètre temps de polymérisation, le flux diminue avec l'augmentation du temps de mise en contact avec la phase organique. Ce résultat est cohérent avec une couche plus épaisse, confirmée par les analyses MEB (pour les membranes B, C et D).

Vraisemblablement, dans le cadre de cette deuxième classe (membranes de A à D), non seulement la nature de la couche polymère mais également son épaisseur, joue un rôle déterminant sur les valeurs de la perméabilité : plus la couche polymère formée est épaisse, moins la perméabilité est importante (**Figure 101**). Cependant, cette affirmation doit être émise avec beaucoup de précaution, car ce n'est pas seulement l'épaisseur de la couche

polymère qui détermine le flux, mais aussi la nature des interactions s'établissant au sein du matériau :

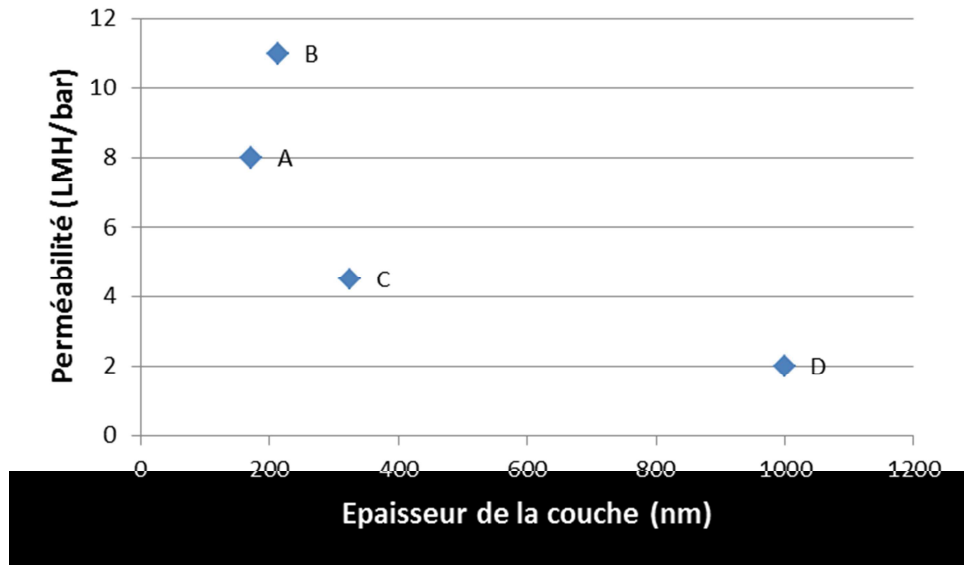


Figure 101 : Dépendance graphique épaisseur de la couche – perméabilité pour la deuxième classe des membranes

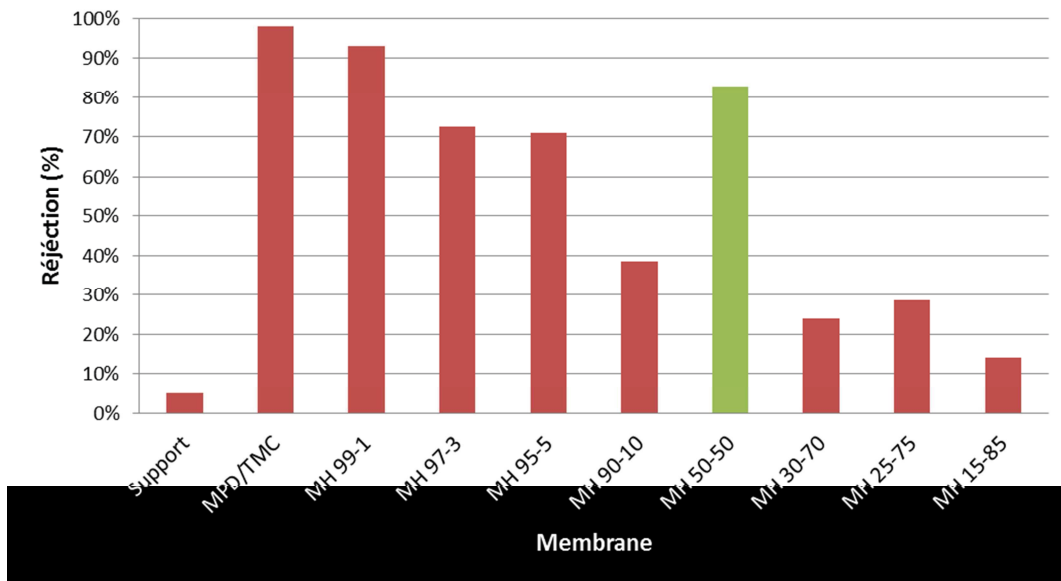


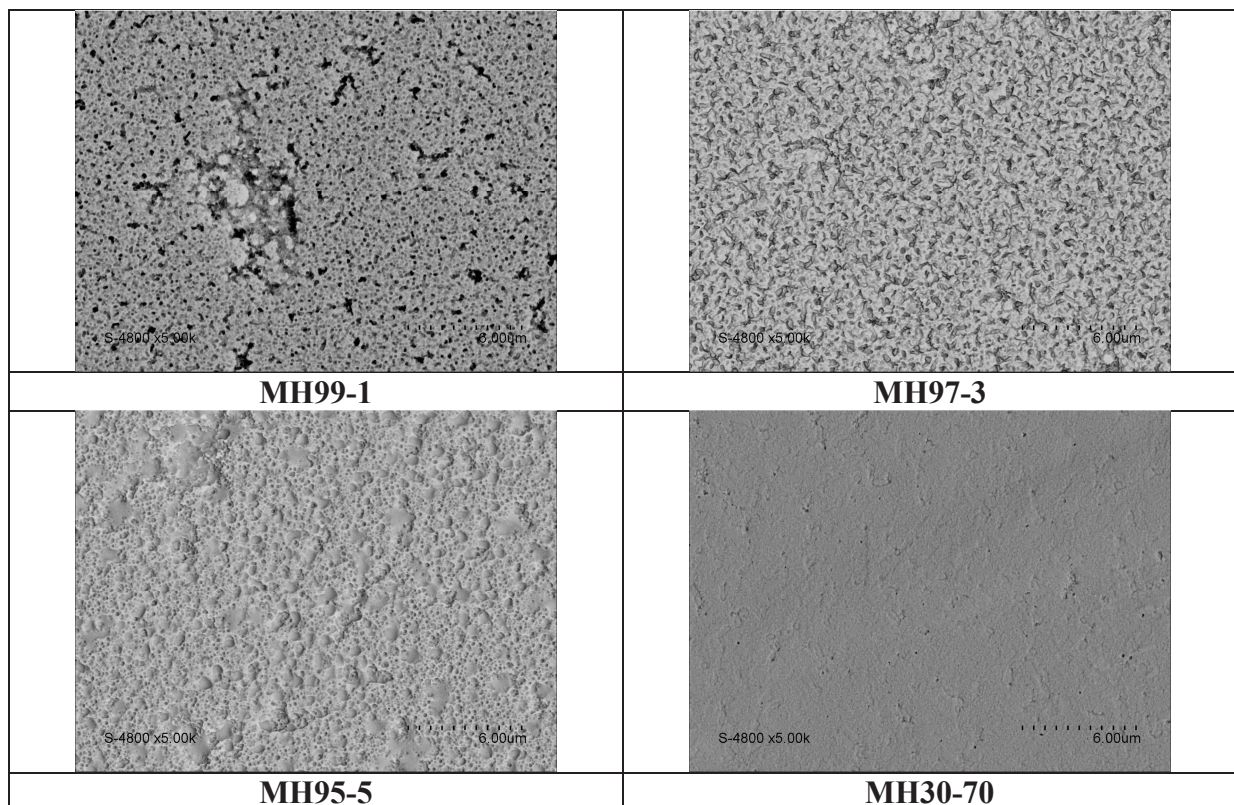
Figure 102 : Valeurs de la réjection de sel (%) pour les membranes de la première série

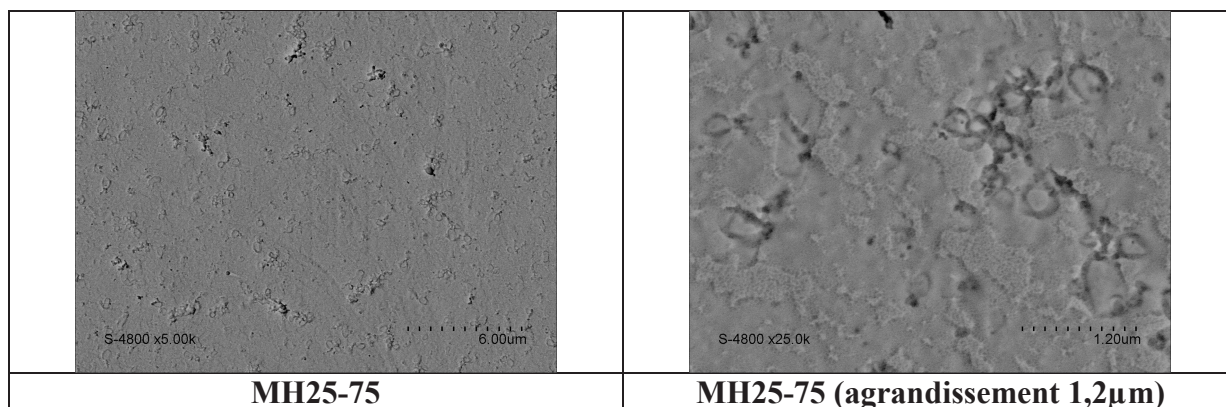
La Figure 102 compile les données obtenues pour le rejet de sel des membranes préparées dans le cadre de cette étude. On remarque que la légère augmentation de la perméabilité pour les membranes contenant une teneur croissante en histamine est associée à un taux de rejet en sel décroissant. Par exemple, la membrane MH90-10, contenant 10% d'histamine, montre une réjection de sel de 39%, par rapport à la membrane MH99-1 qui contient uniquement 1% en histamine et atteint un taux de rejet supérieur à 90%. Si on ne

considère pas la membrane MH50-50, il semble que le taux de rejet soit relié directement à la teneur en histamine dans les membranes. Cependant, on remarque un comportement particulier de la membrane MH50-50 qui conduit à un taux de rejet de 83% pour une perméabilité à l'eau de 14 LMH/bar. Les meilleures performances de la membrane MH50-50 pourraient être attribuées à une meilleure structuration interne au sein du polymère. On peut supposer que celle-ci est due à une réaction équivalente entre les fonctions réactives du TMC, l'histamine et la MPD (c'est-à-dire l'histamine, avec une fonction amine et la MPD avec deux fonctions amine, réagissant sur les trois sites chlorure acide du TMC).

Afin de confirmer cette hypothèse, nous avons mené des analyses complémentaires comme des études MEB (*Tableau 17*) qui nous renseignent sur l'épaisseur et la morphologie de la couche polymère formée. La surface des membranes contenant un grand pourcentage d'histamine n'est pas homogène, car le polymère formé n'a pas une structure continue. Cette observation peut être corrélée avec une réactivité plus grande du groupement amine de l'histamine que de la MPD aromatique : avec l'augmentation du pourcentage massique d'histamine en phase aqueuse, celle-ci a plus tendance à réagir sur les sites du chlorure acide, mais la réaction de polymérisation est arrêtée sur ces sites.

Tableau 17 : Clichés MEB (6µm) de surface des membranes de type MH, de la première série





Il reste cependant à analyser de façon plus approfondie la structure du polymère formé par des études de RMN solide, DRX et analyses élémentaires afin de pouvoir relier la structure du polymère aux propriétés de filtration de sel de la membrane correspondante. Nous allons réaliser d'autres tests de réjection de sel pour les membranes de A à D, afin de mettre en évidence une quelconque influence de la variation des paramètres « concentration des monomères » et « temps de polymérisation » qui pourraient induire un changement de performance par rapport à la membrane de référence MH 50-50, la plus performante en terme de rejet de sels.

En conclusion, après avoir testé les membranes de la première série, nous avons pu établir les paramètres expérimentaux qui ont été gardés constants pour la fabrication de la deuxième série de membranes, contenant des hydrazides en phase aqueuse. Dans la **Figure 103** nous faisons le rappel des principaux paramètres expérimentaux qui jouent un rôle important dans la fabrication des membranes. Dans notre cas, après le test des performances d'une première série de membranes, nous avons fait les conclusions suivantes :

- Les meilleurs résultats de perméabilité ont été obtenus pour la membrane MH 97-3 (16,7 LMH/bar, à 5 bar) ;
- Les meilleurs résultats de réjection de sels ont été obtenus pour la membrane classique MPD/TMC (98%), avec une diminution progressive avec le pourcentage d'histamine ajouté, mais une bonne valeur de réjection (83%) pour la membrane MH50-50 ;
- **La concentration** des monomères sera de 2% (m/v) d'amine en solution aqueuse et 0,15% (m/v) TMC dans l'hexane, car c'est pour ces valeurs que la perméabilité à l'eau a été optimale ;

- Le **temps d'immersion** du support de polysulfone sera de 2 minutes en phase aqueuse (contenant le monomère hydrazide) afin de permettre l'imprégnation des pores avec le premier réactif. Cette étape sera suivie de la réaction avec le TMC, réalisée par l'immersion successive du support en phase organique ; après avoir réalisé la réaction de polymérisation interfaciale sur support, nous avons soumis la membrane à un **traitement thermique** (2h dans l'étuve, à 60°C) afin de finir la réaction de polymérisation et de former la couche active finale ;
- Finalement, nous avons testé aussi des membranes fabriquées avec des solutions de monomères contenant des **additifs** (acétone et surfactant SDS). Le rôle des additifs dans l'augmentation des performances membranaires a été mentionné dans la partie de littérature.

A la fin des premières expériences, nous avons pu nous assurer que le protocole était cohérent avec la finalité de la recherche. Aussi, nous avons réussi à améliorer la technique de fabrication des membranes, étape très importante dans la conception des membranes.

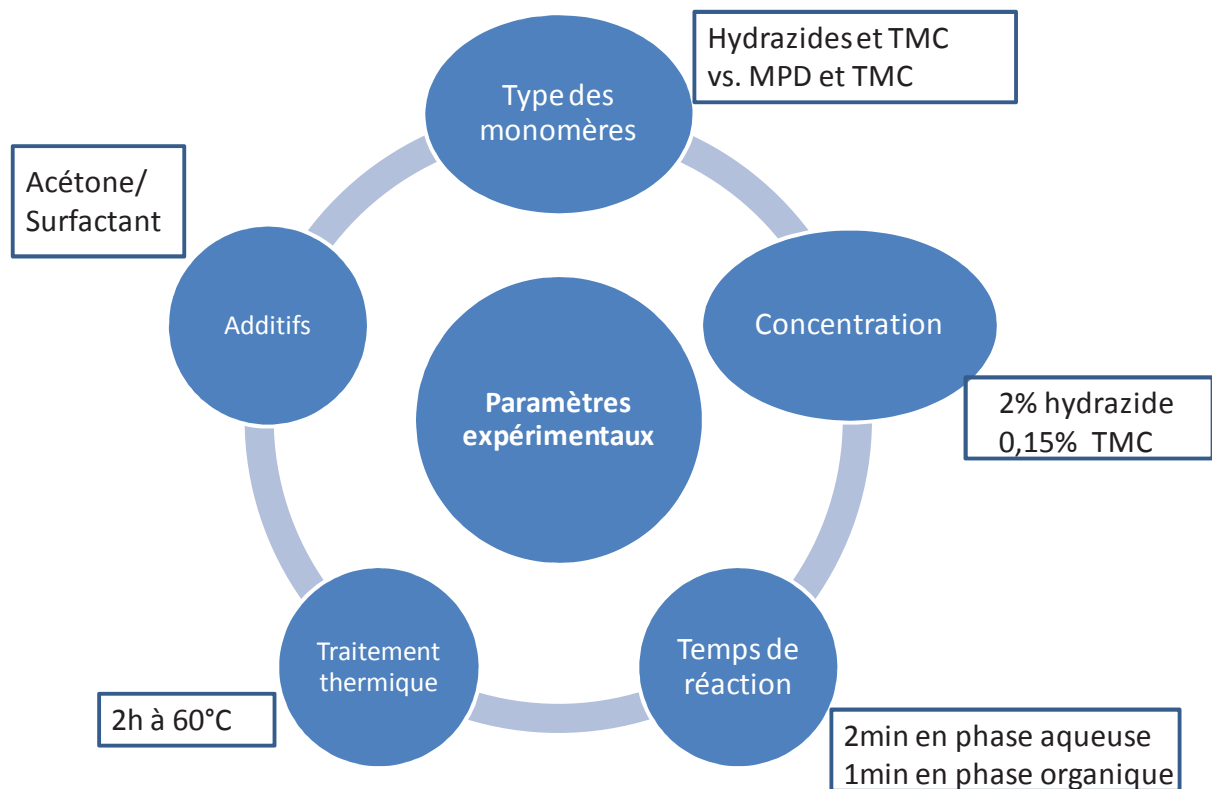
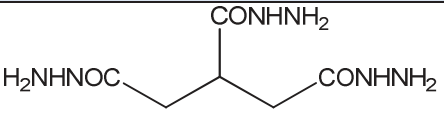

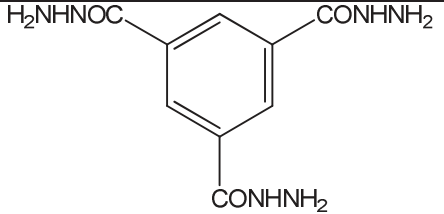
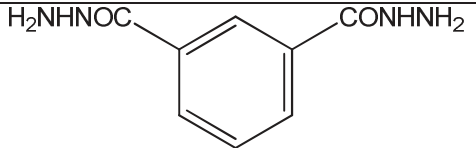
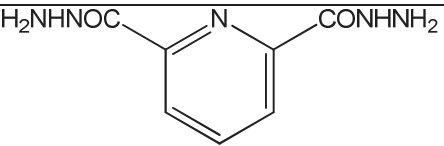
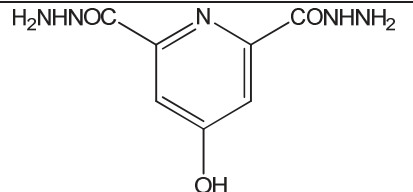


Figure 103 : Paramètres expérimentaux pour la fabrication des membranes

5.3 Deuxième série des membranes

Une fois les paramètres expérimentaux fixés, la suite des expériences a porté sur l'utilisation de **mélanges d'hydrazides** avec pour objectif d'améliorer les performances des membranes composites. Nous avons fabriqué une deuxième série de membranes, pour lesquelles c'est la nature de l'hydrazide qui a été modifiée. On dispose de deux classes d'hydrazides : **aliphatiques** et **aromatiques**. La fabrication, la caractérisation et les performances de ces membranes seront présentées dans cette section. L'établissement de la nomenclature de ces membranes s'est fait en choisissant les acronymes des deux monomères impliqués dans la réaction de polymérisation. Les concentrations utilisées ont été de 2% d'hydrazide en phase aqueuse et de 0,15% de TMC dans l'hexane (**Tableau 18**) :

Tableau 18 : Série de membranes aliphatiques et aromatiques synthétisées

Type	Nom	Structure du monomère hydrazide
Aliphatiques	H1TMC	
	H5TMC	
Aromatiques	H2TMC	
	H4TMC	
	H6TMC	
	H7TMC	

Dans la recherche d'une meilleure organisation interne de la couche polymère de la membrane, plusieurs combinaisons d'hydrazides ont été réalisées, en ayant toujours un pourcentage massique total de 2% en phase aqueuse. L'idée est fondée sur le fait que différentes types de structurations au sein du matériau peuvent avoir une répercussion importante sur les performances membranaires de flux d'eau et de rétention de sels. Nous avons fabriqué, ainsi, trois autres groupes de membranes :

1. Un groupe de trois membranes contenant exclusivement une combinaison de deux hydrazides aliphatiques (H1H3, H1H5 et H3H5) ;
2. Un groupe de trois membranes contenant exclusivement une combinaison de deux hydrazides aromatiques (H2H4, H4H6 et H2H6) ;
3. Un groupe de neuf membranes contenant un mélange binaire d'une hydrazide aromatique avec une hydrazide aliphatique (*Tableau 19*) :

Tableau 19 : Différents mélanges d'hydrazides utilisés dans la phase aqueuse (concentration massique totale de 2%) pour les membranes diamminées

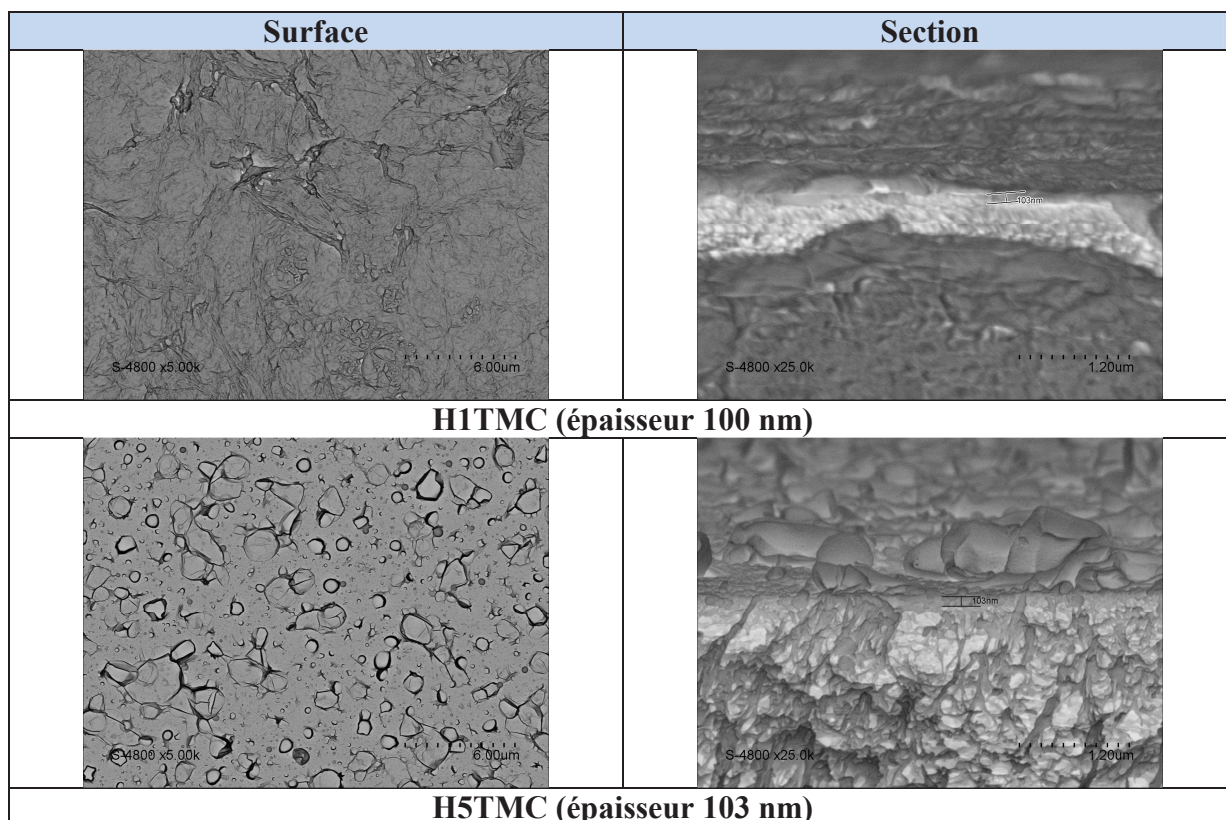
Type*	Membrane		
Aliph-Aliph	H1H3	H1H5	H3H5
Arom-Arom	H2H4	H4H6	H2H6
Aliph-Arom	H1H2	H1H4	H1H6
	H3H2	H3H4	H3H6
	H5H2	H5H4	H5H6

*Aliph – aliphatique
Arom – aromatique

5.3.1 Les méthodes de caractérisation statique des membranes : MEB, AFM, AC

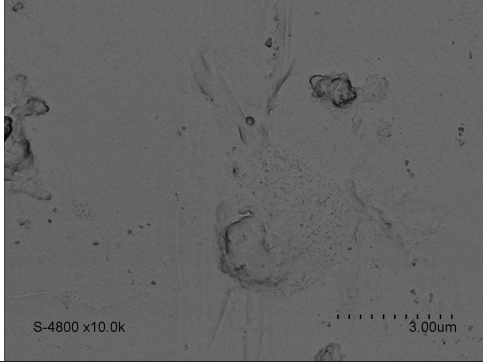
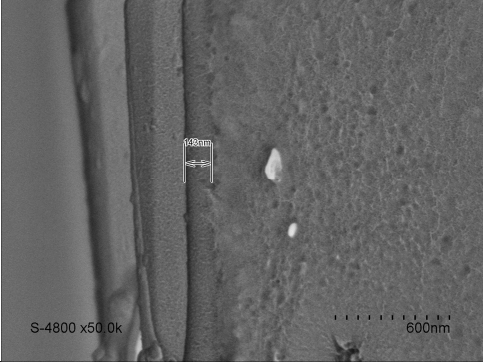
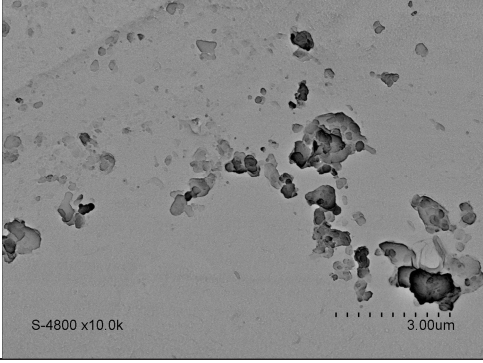

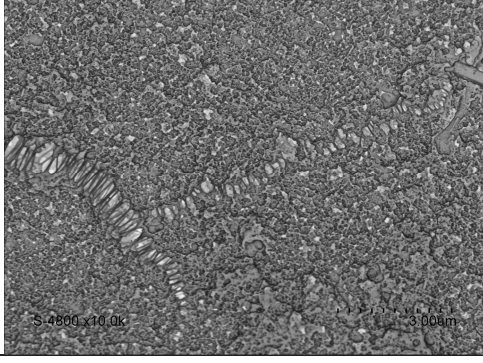

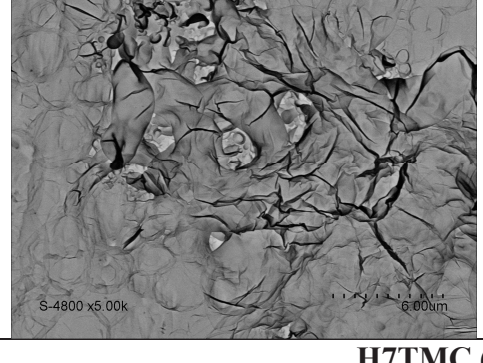
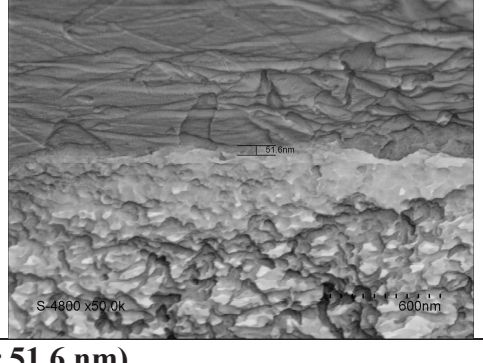
Les méthodes de caractérisation statique des membranes fabriquées ont été les techniques de microscopie (la **microscopie à balayage électronique – MEB** et la **microscopie à force atomique – AFM**) et le calcul de l'**angle de contact à l'eau**.

Tableau 20 : Clichés MEB (surface et section) des membranes aliphatiques HITMC et H5TMC



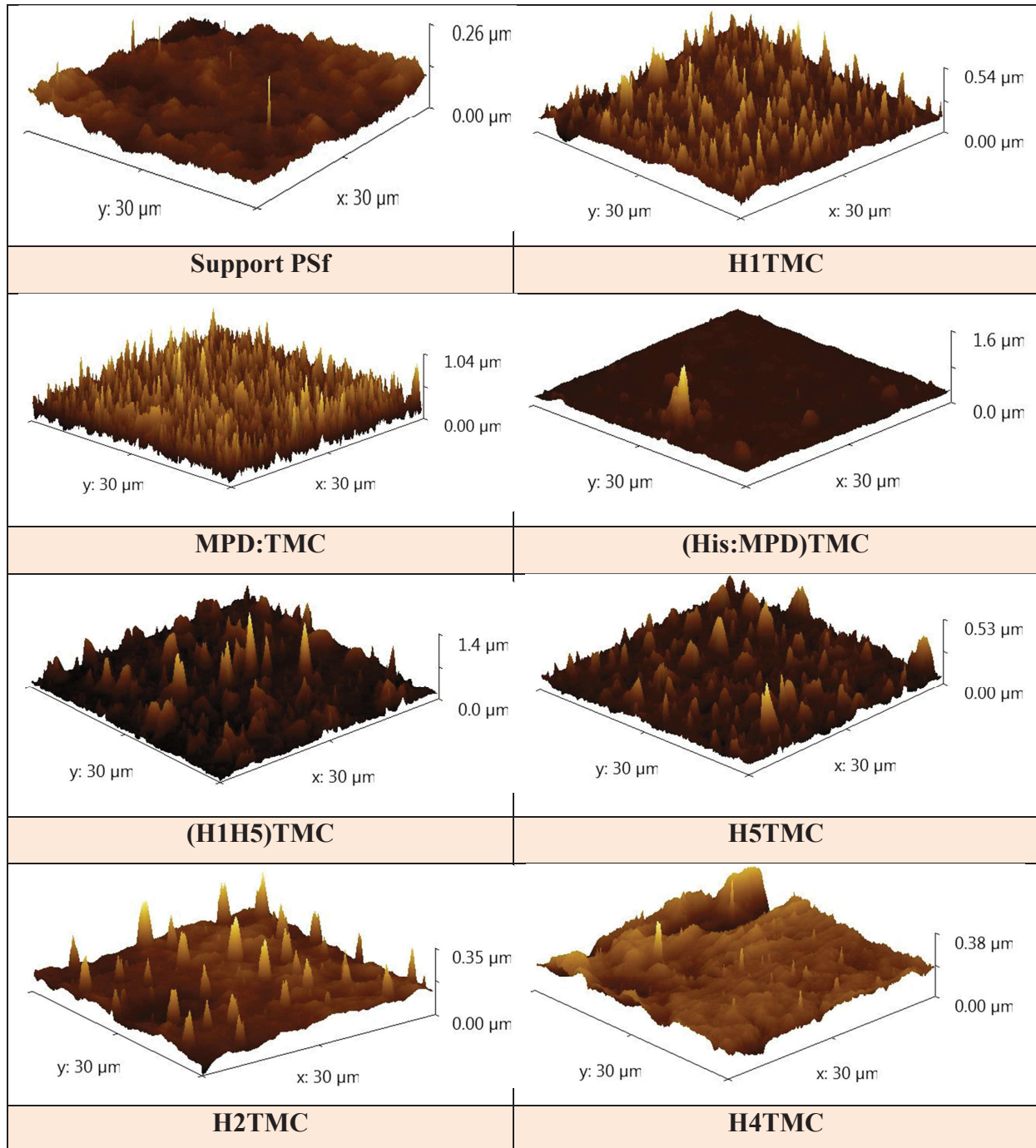
Comme on peut le remarquer dans le **Tableau 20**, la membrane HITMC présente une surface plus lisse que les membranes du type (MPD:His)TMC (**Figure 94**). Ce type de morphologie lisse peut être très favorable pour les membranes avec une haute efficacité anti-colmatage. De plus, la couche est deux fois plus fine (100 nm), pour les mêmes paramètres expérimentaux (concentration des monomères, temps d'immersion et traitement thermique). Elle présente la même épaisseur sur toute la surface de la membrane. Pour le polymère H5TMC déposé nous obtenons la même épaisseur (100 nm), mais le relief est différent. En surface, la morphologie de la membrane est plus vallonnée, présentant de bulles. La couche la plus fine est obtenue pour H7TMC (environ 50 nm). Le **Tableau 21** présente également les clichés MEB pour des membranes aromatiques H2TMC, H4TMC et H6TMC, avec les valeurs correspondantes d'épaisseur :

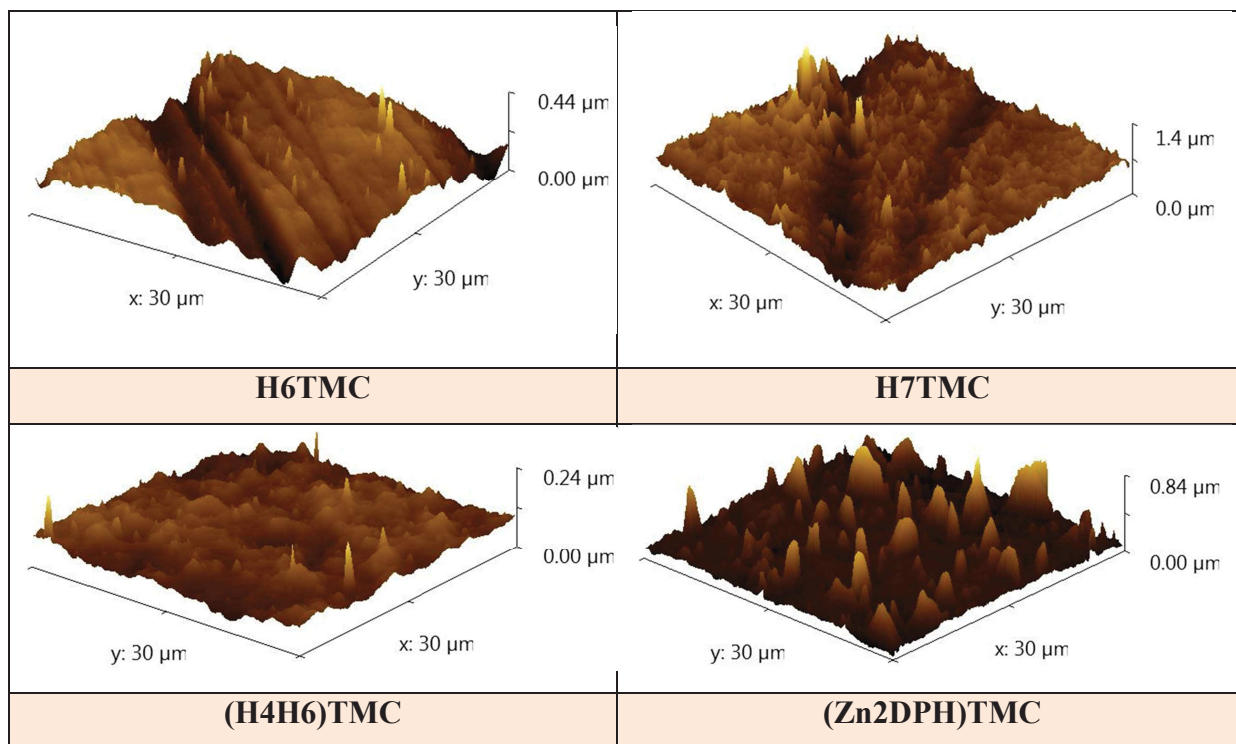
Tableau 21 : Images MEB des membranes aromatiques H2TMC, H4TMC, H6TMC et H7TMC

Surface	Section
	
H2TMC (épaisseur 143 nm)	
	
H4TMC (épaisseur 252 nm)	
	
H6TMC (épaisseur 127 nm)	
	
H7TMC (épaisseur 51,6 nm)	

La microscopie à force atomique permet de visualiser la topographie de surface d'un échantillon ainsi que les variations de surface engendrées par les changements de composition des membranes. Ce type de technique microscopique est basé sur l'analyse d'une surface point par point, en balayant la zone à analyser avec une sonde.

Tableau 22 : Clichés AFM de 11 membranes fabriquées par rapport au support vierge de PSf





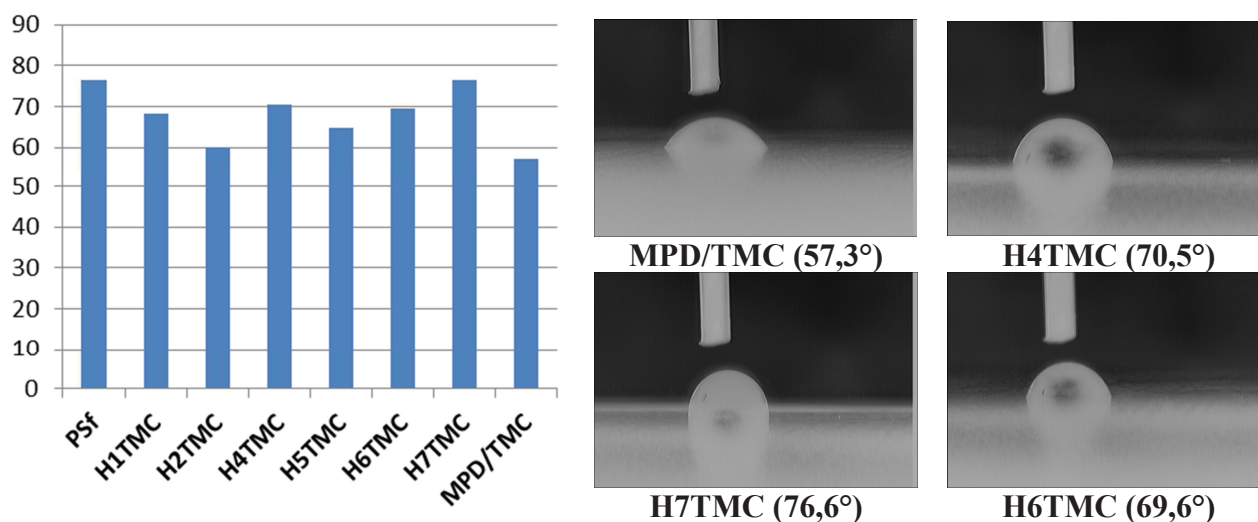
Nous avons comparé les clichés de plusieurs films membranaires par rapport au support seul. Les images présentées dans le **Tableau 22** récapitulent l'état de surface des membranes aliphatiques de la membrane classique (MPD:TMC) et de la membrane (His:MPD)TMC. On remarque une surface homogène pour H1TMC et pour la membrane classique MPD: TMC, sous la forme de pics larges de quelques centaines de nanomètres, allant jusqu'à un micromètre pour MPD:TMC. Pourtant, pour (H1H5)TMC et H5TMC, la topographie de la membrane est plus fluctuante et les « îlots » sont plus rares.

Dans le cas des membranes aromatiques, on peut observer la couche déposée, mais l'augmentation en épaisseur n'est pas substantielle. Ces données sont corrélées avec les données d'épaisseur obtenues en MEB. On peut noter aussi une différence de la rugosité des dépôts, qui sont plus lisses que dans le cas des membranes contenant les hydrazides aliphatiques.

A l'aide de cette technique on peut également calculer les rugosités moyennes de chaque échantillon.

L'angle de contact (AC) est une technique qui permet d'évaluer le degré d'hydrophobicité et/ou d'hydrophilicité d'une surface plane à travers la mesure de l'angle qu'une goutte d'eau ou de glycérol fait au contact de cette surface. Plus la valeur de l'angle de contact est importante, plus la surface analysée est hydrophobe. Nous rappelons que les membranes en couche mince obtenues par polymérisation interfaciale sur support de polysulfone sont des couches à surface compacte, très peu poreuse. Cette caractéristique de la morphologie de surface a été mise en évidence par les analyses de microscopie à balayage décrites dans la section antérieure. Nous avons réalisé les mesures d'angle de contact à l'eau sur toutes les membranes aminées fabriquées, et les valeurs affichées sont le résultat de la moyenne de cinq mesures. Pour chaque mesure, le cliché a été pris trois secondes après la tombée de la goutte d'eau sur la surface de la membrane.

Tableau 23 : Comparaison des angles de contact des membranes évaluées



Dans le **Tableau 23** sont représentés quatre clichés de gouttes d'eau au contact des différentes membranes. Par rapport au support de PSf/PE (qui a un angle de contact de 76,4°) les matériaux obtenus peuvent être plus hydrophiles ou moins hydrophiles. La membrane la plus hydrophile est la membrane classique MPD/TMC (avec un angle de 57,3°) et la moins hydrophile est la membrane H7TMC (76,6°). Pour ce type de membrane moins hydrophile, on peut anticiper une faible valeur de la perméabilité à l'eau pure. Les autres membranes ont des valeurs d'angle de contact intermédiaires.

5.3.2 Evaluation des performances membranaires

Lorsque l'on compare les valeurs de perméabilité à l'eau pure des membranes monofonctionnelles, on obtient la plus grande valeur pour la membrane classique, MPD/TMC (2,6 LMH/bar), suivie par la membrane aliphatique H1TMC (1,3 LMH/bar). La membrane la moins perméable est H7TMC. Les films membranaires obtenus avec des hydrazides aromatiques ont des perméabilités à l'eau plus faibles que celles contenant les hydrazides aliphatiques (**Figure 104**). Les membranes aliphatiques (H1TMC et H5TMC) ont, en moyenne, des perméabilités plus élevées que les membranes issues des hydrazides aromatiques (H2TMC, H4TMC et H7TMC)

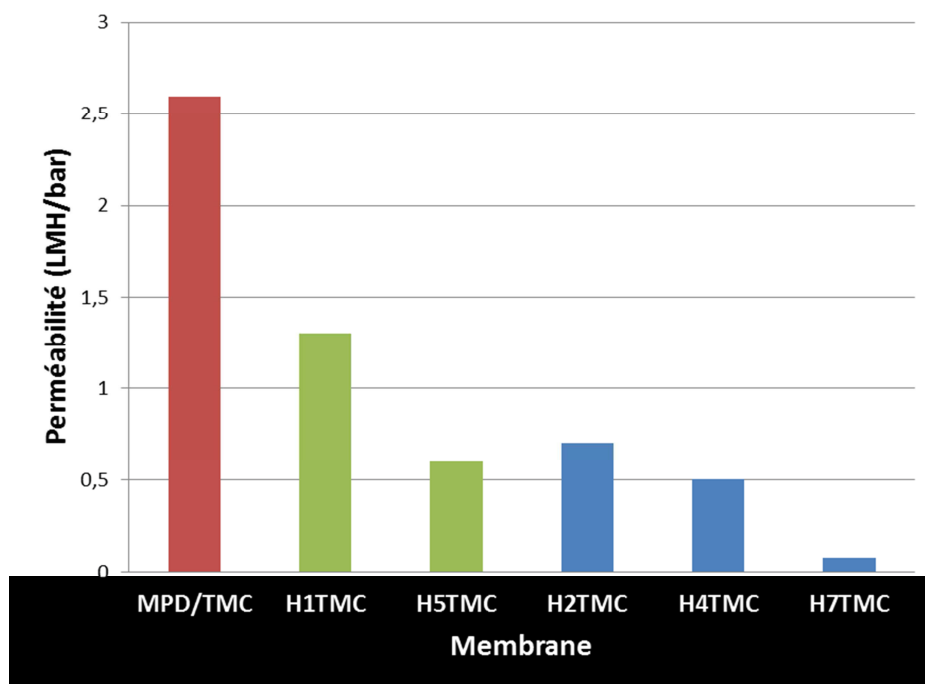


Figure 104 : Comparaison de la perméabilité à l'eau des membranes aliphatiques et aromatiques monofonctionnelles

Pour expliquer ces données de perméabilité, nous les avons corrélées avec deux caractéristiques intrinsèques du film polymère : le degré d'hydrophilicité et l'épaisseur de la couche membranaire. La **Figure 105** illustre la dépendance de la perméabilité avec l'angle de contact de la membrane polymère. On peut remarquer que la perméabilité des membranes est plus élevée pour les membranes plus hydrophiles (MPD/TMC, H2TMC, H5TMC et H1TMC) que pour les membranes moins hydrophiles (H4TMC et H7TMC). Cependant, lorsque l'on étudie l'influence de l'épaisseur de la couche polymère sur la perméabilité membranaire (**Figure 106**), on remarque qu'il n'y a pas une corrélation directe entre ces paramètres : les couches fines sont moins perméables, comme dans le cas du H7TMC ou des membranes

aliphatiques. Malgré une épaisseur importante (200nm), la membrane classique MPD/TMC est la plus perméable des membranes comparées.

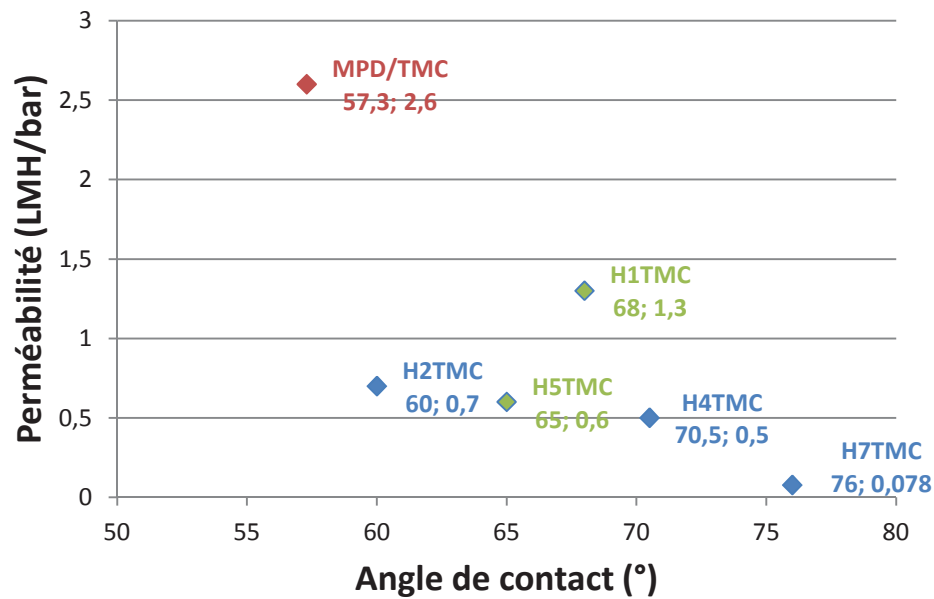


Figure 105 : Influence du degré d'hydrophilicité (angle de contact) sur la perméabilité membranaire

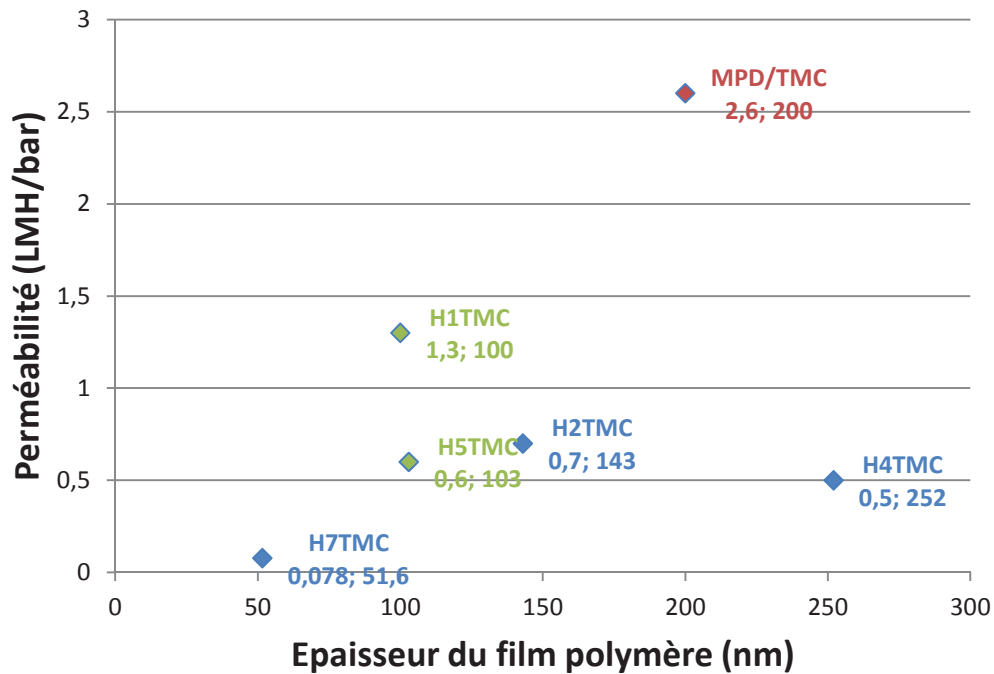


Figure 106 : Influence de l'épaisseur du film polymère sur la perméabilité membranaire

Afin de tester la capacité de rétention de sel, une solution d'alimentation à une concentration de 2000ppm a été passée à travers la membrane et la conductivité de la solution

de perméat a été mesurée au cours du temps. A chaque fois, pour calculer le taux de rejet, nous avons appliqué l'équation 8.

Pour ce qui est de la rétention de NaCl à travers les membranes monofonctionnelles, il s'avère qu'une pression de 10 bars conduit à des performances des membranes plus importantes qu'à une pression de 15 bars. Généralement, les membranes aliphatiques (H1TMC et H5TMC) retiennent davantage les sels que les membranes fabriquées à partir d'hydrazides aromatiques. La membrane qui présente la valeur la plus élevée de la rétention de sel (98%) est H1TMC, avec une performance semblable à la membrane commerciale MPD/TMC. Cependant, pour toutes les membranes testées, lorsque l'on augmente la pression de passage de l'eau salée, la rétention de sel diminue dramatiquement et irréversiblement. On peut conclure que la membrane la plus efficace est H1TMC : elle présente une valeur de la rétention de sel importante, malgré le fait que la perméabilité est moyenne (1,25 LMH/bar).

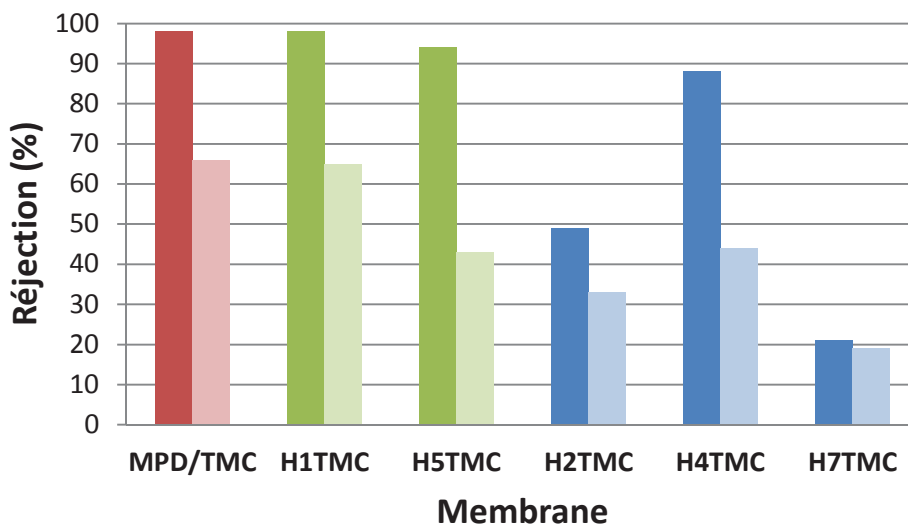


Figure 107 : Comparaison de la rétention de sel des membranes aliphatiques et aromatiques monofonctionnelles, calculée à 10 (barres foncées) et à 15 bar (barres claires)

Le meilleur taux de rejet de NaCl a été obtenu dans le cas de la membrane H1TMC avec une valeur de 98% à 10 bars (**Figure 107**). Cette valeur de rejet de sel est similaire à la performance de la membrane classiquement utilisée dans le commerce (MPD/TMC). Cependant, pour toutes les membranes, la capacité de rétention de NaCl diminue irréversiblement une fois la pression augmentée de 10 à 15 bars à cause du phénomène de **polarisation de la surface membranaire**. Même si après on redescend en pression, la rétention de sel reste tout aussi faible (barres claires **Figure 107**).

Nous avons comparé les performances membranaires des films obtenus en mélangeant en phase aqueuse deux hydrazides différentes ou une hydrazide (aromatique ou aliphatique) et MPD. Dans la **Figure 108** sont présentés quatre types de membranes (axe z), toutes obtenues par la méthode d'immersion décrite précédemment, en réaction avec le TMC, pour deux minutes de temps de polymérisation. Les quatre types de mélanges binaires en phase aqueuse sont :

1. **Aromatique-aromatique** : membrane H2H4 ;
2. **Aliphatique-aromatique** : membrane H1H2 ;
3. **Aliphatique-MPD** : H1MPD ;
4. **Aromatique-MPD** : H2MPD.

Sur l'abscisse sont représentés les pourcentages massiques de chaque monomère contenu en phase aqueuse. Par exemple, pour la fabrication de la membrane H2MPD 25-75, nous avons utilisé une solution aqueuse contenant 25% H2 et 75% MPD dans laquelle le support de polysulfone a été immergé. La polymérisation a été réalisée ultérieurement par réaction avec le TMC (solution 0,15%).

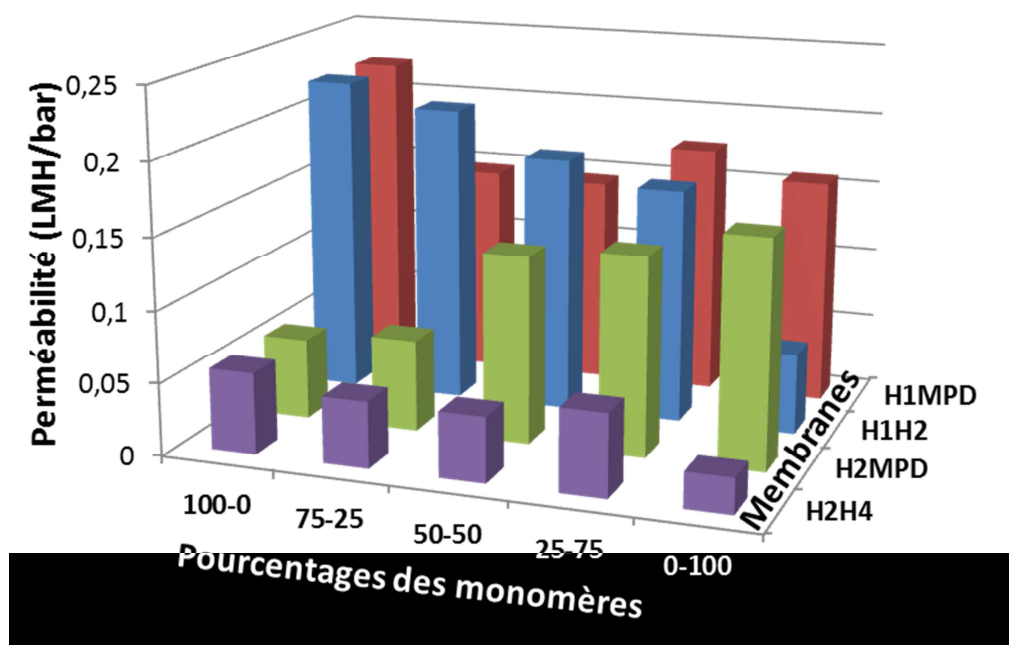


Figure 108 : Comparaison des différentes membranes difonctionnelles (axe z) contenant des pourcentages différents des deux monomères (axe x) en terme de perméabilité à l'eau

Lorsque l'on compare les 12 membranes diamminées et les 4 membranes monoaminées, on observe des différences importantes de perméabilité. La combinaison d'hydrazides qui

donne les valeurs les plus faibles de perméabilité est H2H4. Egalement, ces hydrazides aromatiques, en mélange avec le MPD ou avec H1 réduisent la perméabilité du film à l'eau. Ce fait peut être dû à la création d'un degré de réticulation plus important au sein du film membranaire. La valeur de perméabilité la plus importante pour les membranes monoaminées est obtenue pour H1TMC et pour H1H2 dans le cas des membranes diaminées.

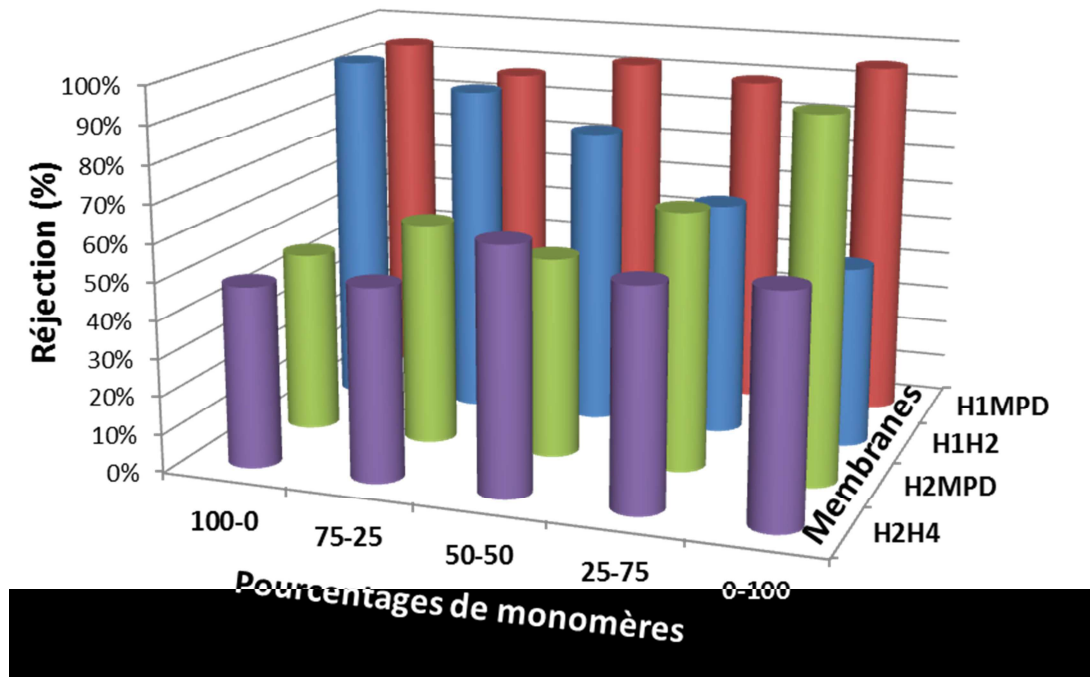


Figure 109 : Influence des pourcentages des deux monomères (axe x) contenus dans les différentes membranes testées (axe z) sur le taux de rejet en sel (axe y)

La **Figure 109** illustre les résultats de rejet de sels obtenus suite aux tests réalisés avec les membranes issues des mélanges de monomères de façon à comparer leur comportement par rapport aux membranes monoaminées. Des performances remarquables du rejet sont obtenues pour toutes les membranes contenant le mélange mixte hydrazide aliphatique (H1) – amine (MPD). Les polymères obtenus avec ces deux monomères présentent une couche fine active de 200nm, responsable des propriétés sélectives. Les valeurs de réjection diminuent un peu pour les membranes issues des mélanges de H1MPD en comparaison avec les membranes H1TMC et MPD/TMC, on peut supposer qu'il n'existe pas un phénomène coopératif entre deux monomères, pour améliorer les performances.

Cependant, on observe une diminution progressive du taux de rejet de sel, avec l'augmentation du pourcentage d'hydrazide aromatique (H2) en phase aqueuse : barres bleues, pour le mélange H1H2. En même temps, plus on augmente le pourcentage de MPD

dans la phase aqueuse (membrane H2MPD), plus on observe une augmentation de la capacité du rejet de sel (barres vertes). On peut supposer des mailles plus serrées dans la structure de ce film générées par la présence de plusieurs liaisons de type amide et, par conséquent, un rejet amélioré du fait d'une meilleure exclusion stérique. Enfin, les films membranaires formés à partir des monomères hydrazide aromatiques uniquement (H2H4) ne montrent pas de bonnes valeurs de rejet (courbes violettes, **Figure 109**).

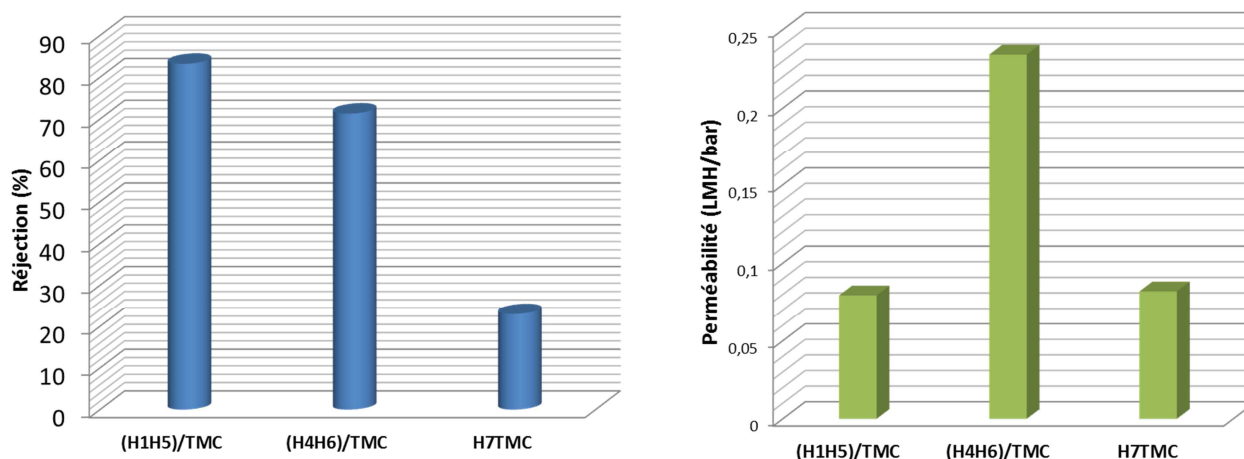


Figure 110 : Comparaison des mélanges (aliph-aliph)TMC ou (arom-arom)TMC par rapport à H7TMC en termes de rétention et de perméabilité à l'eau

Nous avons réalisé la fabrication d'un tout dernier set de membranes, contenant cette fois-ci, un mélange d'hydrazides uniquement aliphatiques, (H1H5)/TMC, aromatique/hétéroaromatique (H4H6)/TMC, pour les comparer à la performance de la membrane H7/TMC (**Figure 110**).

Lors du test des membranes monoaminées (H1TMC et H5TMC), ces membranes « aliphatiques » avaient déjà montré de bonnes valeurs de rejet de sel. C'est pour cela qu'on pourrait supposer une coopérativité de ces deux monomères lorsqu'ils sont introduits dans des mélanges avec les hydrazides aromatiques. En effet, on obtient avec ce type de membrane une bonne valeur du rejet de sel, de 81%. Cette membrane, contenant le mélange aliphatique d'hydrazides (H1H5/TMC) est plus performante que la membrane qui contient le mélange aromatique (H4H6/TMC, réjection de 69%).

La membrane H7TMC ne présente pas une valeur remarquable de la rétention de NaCl. Cependant, la membrane H4H6/TMC est plus perméable à l'eau que H1H5/TMC ou H7TMC. Globalement, les perméabilités ont des valeurs très faibles dues à une perméabilité plus faible du support en polysulfone utilisé.

Chapitre 6 : Membranes hybrides organiques-inorganiques

Résumé : Les **matériaux supramoléculaires hybrides**, dynamiques par leur nature, sont définis comme matériaux dont les composantes moléculaires sont articulées à travers de connexions réversibles. Dans certaines conditions, la réversibilité des liaisons donne à ces systèmes la capacité de participer à des processus d'assemblage / désassemblage. Sur la base de la nature dynamique et réversible des interactions non-covalentes (liaisons hydrogène, interactions hydrophobes) les polymères supramoléculaires ont la caractéristique d'adaptabilité. Dans cette section nous allons présenter la synthèse, la caractérisation et les propriétés de filtration (à travers un transport facilité et sélectif) des matériaux hybrides obtenus.

Les matériaux supramoléculaires sont d'une grande importance dans le relativement nouveau champ des nanosciences.¹⁴⁹ La synthèse supramoléculaire constitue un outil puissant pour la formation des architectures supramoléculaires.¹⁵⁰

Par ailleurs, les polymères supramoléculaires sont définis comme des matériaux au sein desquels les briques moléculaires sont connectées à l'aide des connexions réversibles non-covalentes ou dynamiques covalentes.¹⁵¹ Les matériaux polymères supramoléculaires sont le sujet d'une multitude de recherches et de revues de littérature.¹⁵² Une grande variété d'interactions non covalentes peut être utilisée pour « assembler » les unités fonctionnelles afin d'obtenir une structuration à l'ordre supramoléculaire : liaisons hydrogène multiples, interactions hydrophobes, empilement π , liaisons van der Waals ou liaisons de coordination métal-ion.

Les polymères supramoléculaires peuvent être divisés en deux grandes classes :

- Polymères formés par association spontanée d'un grand nombre de monomères dans des architectures supramoléculaires à travers des interactions non-covalentes ou covalentes réversibles ;
- Polymères supramoléculaires formés suite à l'auto-organisation de composantes moléculaires, pendant un processus de polymérisation des unités qui ont des groupements fonctionnels qui peuvent s'auto-assembler.

¹⁴⁹ Lehn, J.-M., *Supramolecular Chemistry-Concepts and Perspectives*, VCH, Weinheim, **1995**.

¹⁵⁰ Lehn, J.-M., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2002**, *99*, 4763.

¹⁵¹ Rowan, S.J., Meador, M.A., Wojtecki, R.J., *Nat. Mater.*, **2011**, *10*, 14.

¹⁵² Yan, X., Wang, F., Zheng, B., Huang, F., *Chem. Soc. Rev.*, **2012**, *41*, 6042.

L'élaboration des matériaux membranaires hybrides peut se réaliser à partir de précurseurs de type **silsesquioxane** pour lesquels le réseau fonctionnel organique (supramoléculaire) et le réseau inorganique siloxane sont interconnectés par des liaisons covalentes. Ces interactions sont extensivement utilisées pour la formation contrôlée de matériaux organisés. Par exemple, des matériaux rigides aromatiques¹⁵³ développés par Corriu et al. ou encore des structures contenant des groupements urées connectés par des liaisons hydrogène décrites par le groupe de recherche du professeur Moreau sont utilisés pour transcrire l'auto-organisation au sein d'une matrice siloxane par le biais d'un processus sol-gel.

Dans notre groupe à l'IEM, de nombreuses recherches ont déjà été menées sur des superstructures hydrophiles directionnelles, où les **motifs urée** sont utilisés pour transcrire l'auto-organisation orientée en solution au sein d'une matrice hybride, par l'intermédiaire d'un processus sol-gel¹⁵⁴. Le but est de développer des matériaux fonctionnels qui peuvent former des dispositifs de transport sélectifs.

Les siloxanes ont été utilisés en tant que précurseurs hybrides, car ils contiennent à la fois des propriétés d'auto-assemblage dynamique, des fonctions polymérisables et une information moléculaire spécifique ce qui permet de générer à l'état solide des architectures de type « canal moléculaire ». La compatibilité entre les composés de type silsesquioxane est contrôlée structurellement par la présence de groupements triéthoxysilylpropylurée, ce qui est traduit par une augmentation de la corrélation entre les deux domaines : hydrophile et hydrophobe.

Les structures déjà obtenues sont fonctionnalisées avec différents groupements (éthers couronnes, sulfonates, dérivés d'acides aminés aromatiques) qui représentent au sein d'une matrice inorganique de silice des espaces fonctionnels susceptibles d'assurer un transport ionique au travers de voies de transport privilégiées.

Dans le cadre de cet axe de recherche, nous nous sommes proposé d'obtenir un type de matériau hybride dont la structuration envisagée est illustrée dans la **Figure 111**.

¹⁵³ Corriu, R.J.P., *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2001**, 5, 1109.

¹⁵⁴ Michau, M., Barboiu, M., *J. Mater. Chem.*, **2009**, 19, 6124.

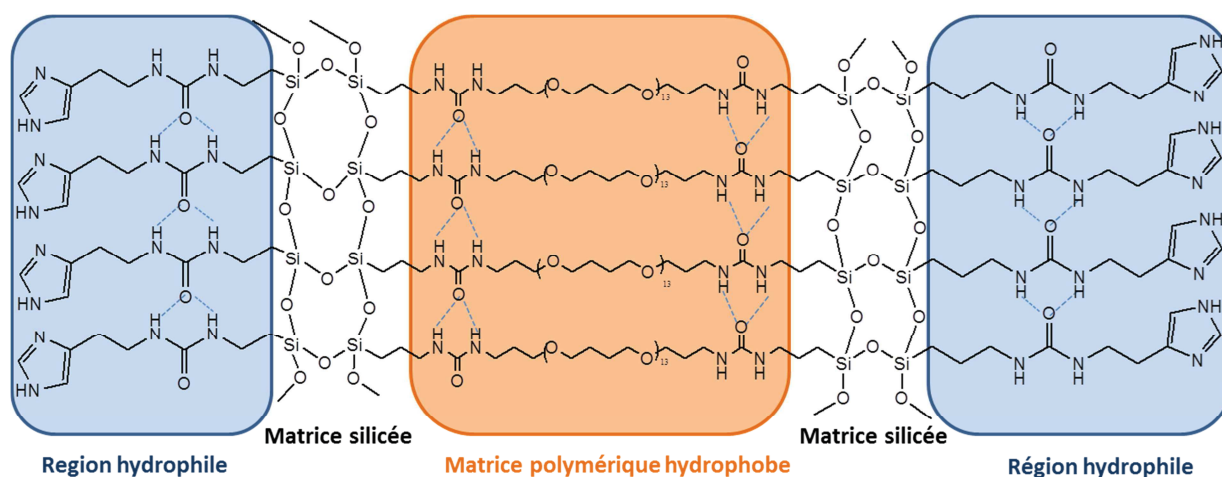


Figure 111 : Modèle de structuration envisagée dans le cas d'un matériau en majorité organisé (pics de diffraction) et linéairement condensé (taux de réticulation moyen)

Ces matériaux portent le nom de « hybrides » car ils contiennent dans leur structure une combinaison de motifs organiques et inorganiques. De plus, la caractéristique hybride possède une nature fonctionnelle : ces matériaux sont intermédiaires entre les monomères transporteurs et les structures qui forment des canaux, décrites dans la première partie de ce travail de recherche.

Dans ce cas, la fonction de type urée, à l'intérieur de l'assemblage moléculaire, dirige la structuration intrinsèque du matériau. La chaîne polymère de polyTHF, nommée **plastifiant**, apporte la flexibilité au polymère. Le réseau de silice confère au système un squelette minéral et le groupement histamine représente la fonctionnalité qui permettrait de former des voies dirigées de conduction ionique ou de molécules d'eau.

Cette structure de base contient trois caractéristiques structurelles :

1. Une structure fonctionnelle imidazole (région hydrophile), qui permet le contrôle de la quantité d'eau transportée à travers la matrice polymère ;
2. Une région fonctionnelle de type urée qui au travers des associations tête-à-queue de liaisons hydrogène permettrait l'alignement des molécules d'eau le long du squelette hybride ;
3. Les groupements triéthoxysilyle, connectés par liaisons covalentes à l'urée de l'histamine, qui assurera la formation du réseau tridimensionnel inorganique par voie sol-gel, conduisant ainsi à des super-structures auto-organisées conservées de l'état liquide jusqu'à l'état solide dans un matériau hybride final.

6.1 La chimie sol-gel

La chimie douce dite aussi chimie par voie sol-gel est un processus de synthèse de matériaux inorganiques, de verres ou de céramiques mais aussi de matériaux hybrides variés. Elle permet de pouvoir retranscrire une organisation particulière acquise en voie liquide dans le matériau à l'état solide. De plus, il est possible de jouer sur la chimie de précurseurs utilisés, à l'échelle moléculaire, afin de conférer des propriétés spécifiques au matériau solide final. Dans notre cas, l'utilisation de précurseurs siloxanes qui contiennent des propriétés d'auto-assemblage dynamique, des fonctions polymérisables et une information moléculaire, va nous permettre de générer des architectures d'ordre supramoléculaire maintenues à l'état solide.

Nous avons utilisé ce procédé afin d'obtenir les polymères hybrides qui pourraient s'organiser en solution et à l'état solide selon trois principes essentiels¹⁵⁵ :

1. La reconnaissance moléculaire ;
2. Les interactions supramoléculaires contrôlées par liaisons hydrogène ;
3. La création de liaisons covalentes entre les groupements triéthoxysilane, polymérisables.

Dans ce cas, le procédé sol-gel permet de figer les systèmes dynamiques (créés grâce aux liaisons entre les groupements urée) dans une matrice polymère hybride. La transcription sol-gel a été également utilisée pour la formation des agrégats de précurseurs de nucléobases alcoxysilanes d'adénine et uracile par liaisons hydrogène.¹⁵⁶

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

1. **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 ;
2. **la voie polymère** : consiste à incorporer des métaux le long de chaînes de polymères organiques dans une solution de 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

¹⁵⁵ Michau, M., Arnal-Herault, C., Cazacu, A., Caraballo, R., Barboiu, M., **Matériaux 2006**, 13-17 novembre 2006, Dijon, France.

¹⁵⁶ Arnal-Hérault, C., Barboiu, M., Pasc, A., Michau, M., Perriat, P., van der Lee, A., *Chem. Eur. J.*, **2007**, *13*, 6792.

conséquence de favoriser la formation du réseau d'oxydes lors du traitement thermique ;

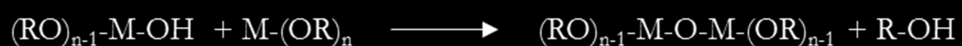
3. **la voie « alcoxyde »** : fait intervenir des alcoxydes métalliques de formule $M-(OR)_n$ où, M désigne un métal de valence n, OR un groupement alcoxy possédant une chaîne alkyl R. Ces derniers sont dispersés dans une solution organique. Cette méthode de synthèse permet l'obtention soit de polymères inorganiques soit de colloïdes. 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 condensation entre les espèces hydrolysées.¹⁵⁷ Ces étapes s'effectuent à des températures proches de l'ambiante et permettent ainsi la formation du réseau d'oxydes¹⁵⁸.

Un sol est une suspension colloïdale qui est composée de particules solides dispersés dans un solvant. La taille 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, du fait de la présence de charges de surface.

Un gel chimique est défini comme un réseau tridimensionnel d'oxyde gonflé par le solvant. Des liaisons chimiques covalentes assurent la cohésion mécanique du réseau tridimensionnel.

La formation du gel se fait au fur et à mesure de l'avancement des réactions de condensation qui s'apparentent à une réaction de propagation au cours de laquelle le réseau polymère inorganique se forme soit par :

- oxolation qui consiste à former un pont oxygène entre deux atomes métalliques avec pour intermédiaires des espèces hydroxylées avec l'élimination d'eau ;
- alcoxolation qui consiste également à former un pont oxygène entre deux atomes métalliques avec dans ce cas, 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 dont la viscosité augmente au cours du temps

¹⁵⁷ Kabir, A., Furton, K.G., Malik, A., *Trends in Analytical Chemistry*, **2013**, 45, 197.

¹⁵⁸ Kumar, A., Malik, A.K., Tewary, D.K., Singh, B., *Analytica Chimica Acta*, **2008**, 610.

jusqu'à atteindre une valeur critique, appelé temps ou point de gel, caractérisant la transition sol-gel.

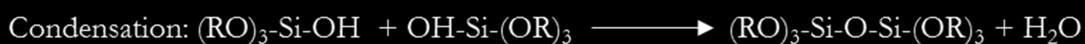
Les réactions impliquées lors de la gélification ne s'arrêtent pas au point de gel. Elles se poursuivent en modifiant les propriétés physico-chimiques de ce dernier. L'évolution du gel au cours du temps est appelé vieillissement, au cours duquel trois processus peuvent se produire :

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

L'obtention du matériau, à partir du gel, nécessite une étape de séchage qui consiste à éliminer le solvant du réseau polymère. 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 :

1. en conditions atmosphériques: séchage par évaporation normale entraînant une réduction de volume allant de 5 à 10%. Le matériau obtenu est un xérogel.
2. 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.

Les précurseurs commerciaux de formule $\text{Si}(\text{OR})_4$ les plus répandus sont le tétraméthoxyxilane (TMOS, $\text{Si}(\text{OCH}_3)_4$) et le tétraéthoxyxilane (TEOS, $\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$). Le TEOS est privilégié au TMOS lors des études car ce dernier libère, au cours de sa condensation, du méthanol plus nocif que l'éthanol. 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 :



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

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 matériau. Les classes principales sont les suivantes :

- **Classe I** : elle 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** : elle correspond aux systèmes hybrides dans lesquels la phase organique et la phase minérale sont liées par des liaisons covalentes.

Le procédé sol-gel permet la synthèse de nombreux matériaux hybrides, tels que les matériaux nanocomposites ou les matériaux mésoporeux.

6.2 Elaboration des membranes hybrides autosupportées et sur support

Comme nous l'avons vu, un **matériau hybride** est un système dans lequel coexistent à la fois des espèces organiques et inorganiques. Les polymères hybrides synthétisés contiennent deux parties structurelles importantes : un plastifiant (obtenu suite à la réaction entre le polyTHF-polytétrahydrofuranyle et le triéthoxysilyl propane) et un précurseur fonctionnel (dans notre cas, l'histamine). Les nanomatériaux hybrides organiques-inorganiques issus d'un **procédé sol-gel** et utilisés pour le transport facilité et sélectif de sels ont déjà été rapportés dans la littérature. L'apparition de chemins de transport préférentiels est guidée par l'auto-organisation au sein du matériau hybride. Le procédé sol-gel a été utilisé pour la création de ce type de structures, où l'information est retranscrite du niveau moléculaire à une échelle de taille micrométrique. La synthèse des membranes hybrides implique deux étapes : la synthèse du **plastifiant** (par réaction entre le PolyTHF diaminé et le triéthoxysilylpropane) et l'ajout du **précurseur fonctionnel** (*Figure 112*) issu de la réaction entre l'histamine et le triéthoxysilylpropane). L'histamine, comme précurseur fonctionnel, peut mieux s'auto-organiser dans l'environnement hydrophobe du *linker* macro-monomère de polyTHF.

La maximisation de la ségrégation de phase nanométrique et le transport de molécules d'eau le long des domaines hydrophiles auto-organisés est semblable à la structure de la membrane Nafion 117.

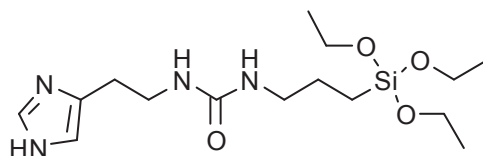
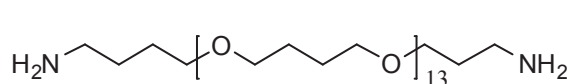
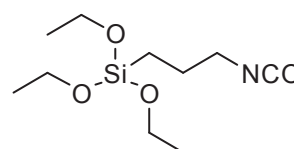


Figure 112 : Structure du précurseur fonctionnel issu de la réaction entre l'histamine et le triéthoxysilylpropane

Dans la *Figure 113* sont illustrées les structures des réactifs utilisés pour synthèse du plastifiant.



PolyTHF diaminé



Isocyanate de triethoxy propylsilane

Figure 113 : Précurseurs moléculaires pour la synthèse du plastifiant

Dans la première étape de la réaction, nous avons utilisé quatre équivalents d'isocyanate, pour que les deux équivalents supplémentaires puissent réagir, in situ, avec l'histamine, rajoutée dans une deuxième étape de la réaction. Les fonctions urée obtenues, sont utilisées dans les précurseurs comme des agents d'assemblage et de structuration par des liaisons hydrogène. Cette organisation pourrait être, également, assistée par des empilements des cycles aromatiques par recouvrement des électrons π .

Après une explication du procédé sol-gel utilisé, nous allons décrire l'élaboration des membranes hybrides autosupportées (**Figure 114**), supportées et des polymères hydrophiles.

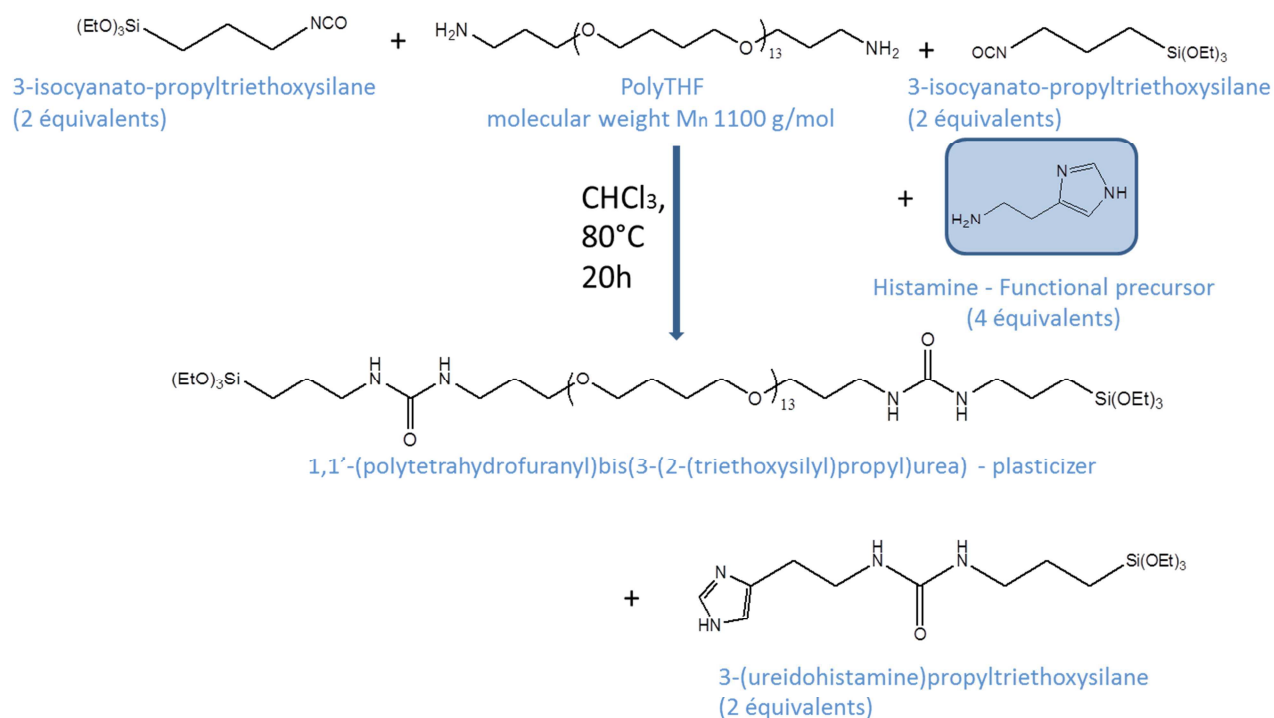


Figure 114 : Schéma de réaction pour l'obtention des polymères hybrides PolyTHF-urée-Histamine

Une fois les oligomères supramoléculaires générés par auto-assemblage dynamique des monomères, la polymérisation sol-gel conduit à l'obtention de solides. Après la réaction, nous avons utilisé une catalyse basique par ajout de la benzylamine, afin d'hydrolyser le polymère issu de la réaction sol-gel.

Le polymère hydrolysé a été coulé dans des plaques de téflon et séché selon un programme de température défini. Le rôle du traitement thermique est de densifier le matériau et de compléter les réactions de condensation. Chaque membrane a été séchée pendant 24h à température ambiante, puis à 40°C pendant 5 heures et à 60°C pour 5 heures de plus, pour finir avec un séchage à 90°C pendant une heure. A la fin du traitement thermique nous avons obtenu des membranes autosupportées, transparentes et flexibles (**Figure 115**). Afin de mettre en évidence une éventuelle organisation structurale au sein des membranes auto-supportées, nous avons réalisé des analyses DRX puis par spectroscopie infrarouge, nous avons déterminé les fonctionnalités organiques formées. Finalement, l'analyse MEB nous a permis de visualiser la morphologie et l'aspect de surface des films obtenus.

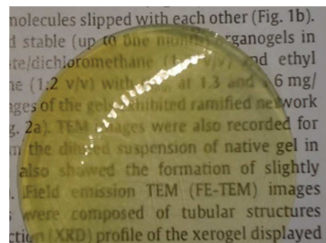


Figure 115 : Polymère hybride autosupporté obtenu après traitement thermique

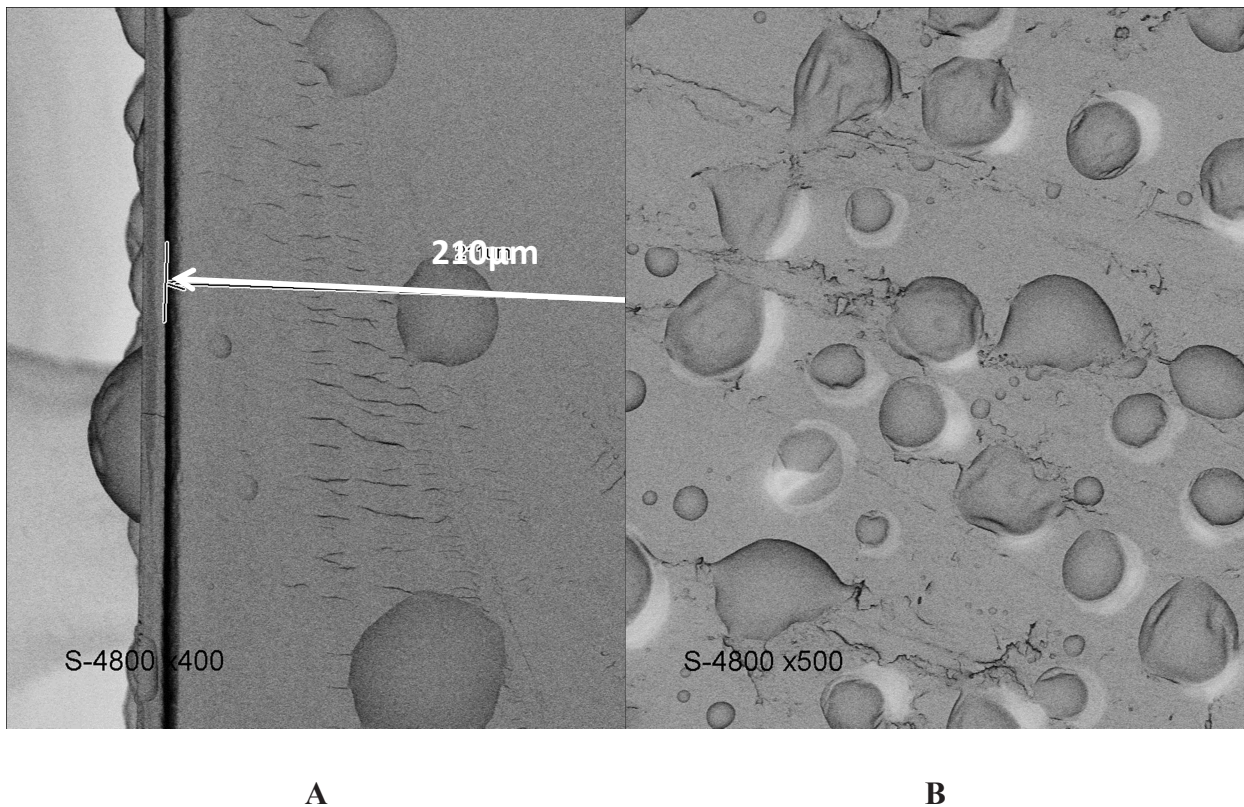


Figure 116 : Clichés MEB du polymère hybride : section (A) et surface (B)

Concernant les membranes supportées, deux procédés de mise en forme ont été utilisés, le « **tape casting** » et le « **spin coating** », qui seront décrits dans les paragraphes suivants :

Avant tout dépôt de polymère sur un support, une procédure de lavage du support de Polyéthersulfone (PES) a été suivie : le coupon de support est ultrasoniqué dans de l'éthanol pendant 5 minutes, puis gardé dans l'étuve à 60°C pendant 10 minutes. Pour mettre en forme les membranes hybrides sous forme de couches minces nous avons utilisé la **technique classique du « tape casting »** (*Figure 117*). L'appareil est constitué d'une tige métallique, striée et calibrée pour une épaisseur de film humide donnée, qui permet l'étalement du mélange visqueux issu de la réaction sol-gel. La tige effectue un mouvement de translation avec une vitesse de balayage contrôlable (niveau 2, avancement de 2mm/s). Cette vitesse est très faible de manière à minimiser les forces de cisaillement qui nuiraient à la qualité du dépôt et à la texture de la membrane (surface plane ou bulles de solvant).

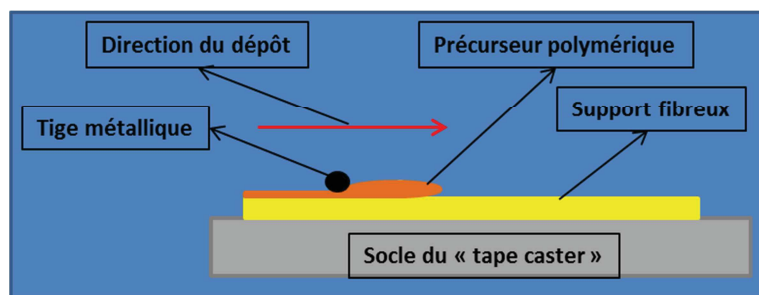


Figure 117 : Appareillage et principe du dépôt en couches minces par tape-casting

Le point important lors de cette opération concerne le sol et la détection d'un degré optimal d'avancement des réactions de polymérisation : si le dépôt est prématuré, le mélange, trop fluide, peut infiltrer le support, ce qui ne correspond pas à nos objectifs. Au contraire, si la viscosité du sol devient trop importante et que le dépôt est tardif, ou trop lent, il est difficile de l'étaler correctement et d'obtenir une couche mince homogène. Un protocole simple peut être adapté dès l'instant où l'on dispose de solutions avec des viscosités légèrement différentes. Pour cela il est nécessaire de disposer un volume de sol devant la tige et d'attendre le moment adapté (temps t en s), où une quantité adéquate de solvant sera évaporée, ce qui conduira à une viscosité optimale.

Après l'étalement de la solution, le solvant s'évapore très rapidement (du fait de la faible épaisseur du film) puis la membrane est séchée. Cette technique de dépôt est

relativement simple et reproductible, ce qui permet la réalisation d'un grand nombre de membranes. Les systèmes membranaires ainsi conçus présentent toutes les caractéristiques désirées en dimensions, épaisseur, texture, et un bon ancrage du polymère.

L'état de surface, l'absence de défauts, la texture et l'épaisseur ont été systématiquement contrôlées par l'utilisation de la microscopie électronique à balayage. L'observation et la caractérisation relativement aisée du système a été à chaque fois effectué à de nombreux points sur la surface et dans la tranche. En fonction de la viscosité et du temps d'attente (t) précédant l'étalement, on peut modifier à souhait la quantité de matière déposée et obtenir de nombreuses épaisseurs pour les membranes hybrides.

En revanche, dans le cadre de la technique de « spin-coating », quelques gouttes de polymère ont été déposées sur la plaque rotative du « spin-coater » et la membrane a été tournée pendant 5 secondes pour une répartition homogène du polymère sur toute la surface du support. Les membranes ainsi obtenues ont été soumises à un protocole de séchage, étape très importante dans la conception des membranes. La répartition du polymère et l'épaisseur de la couche ont été analysées par **microscopie électronique à balayage (MEB)** et comparées à celles obtenues par « tape-casting ».

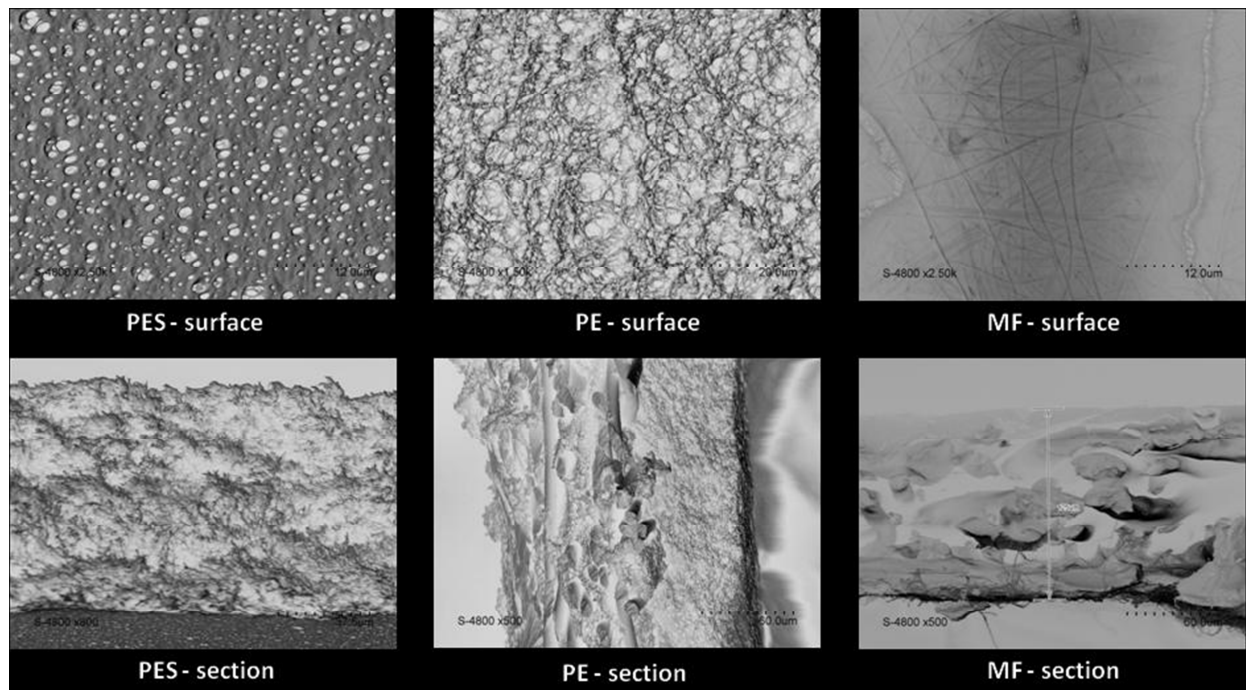


Figure 118 : Images MEB des supports utilisés pour le dépôt des polymères hybrides : à PES, Polyester et Membrane Fibreuse (MF, données à titre gracieux par B.S. Hsiao).

Les clichés obtenus pour les polymères déposés à l'aide des deux techniques sur les trois types de support sont illustrés dans le **Tableau 24**.

On observe de variations de l'épaisseur de la couche de polymère obtenue par le biais de ces deux méthodes. Sur les trois types de support, en utilisant la méthode de dépôt « spin coating », on obtient des surfaces plus épaisses.

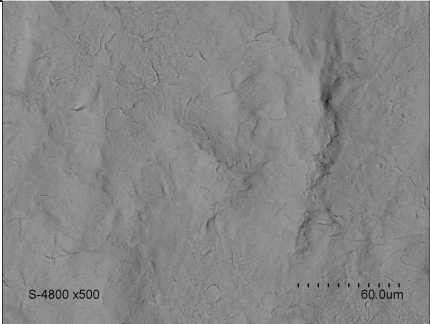
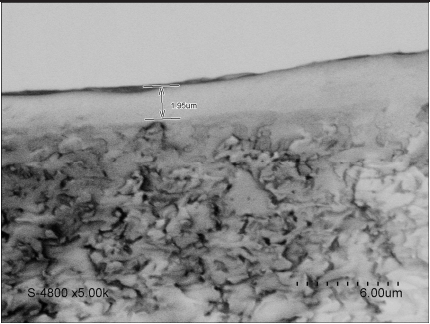
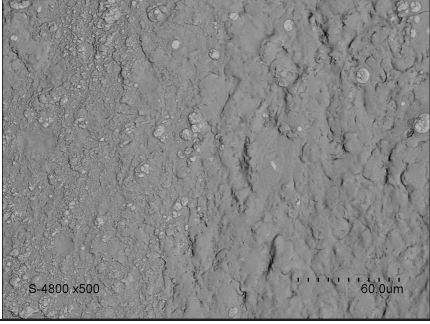
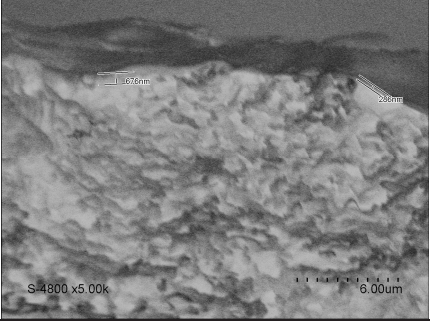
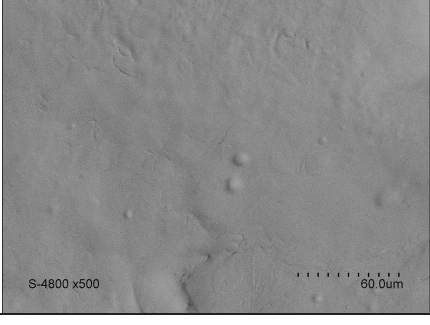
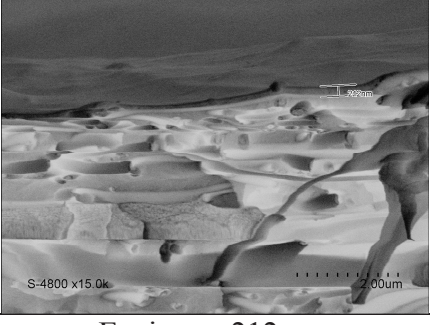
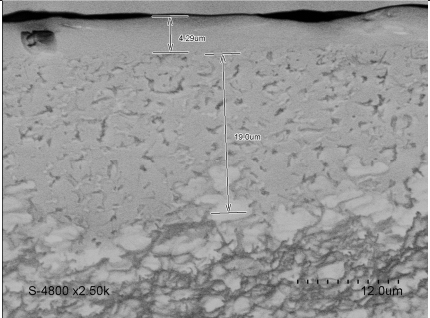
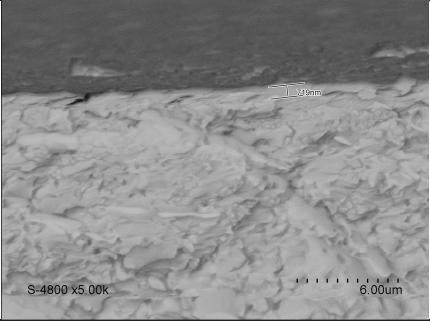
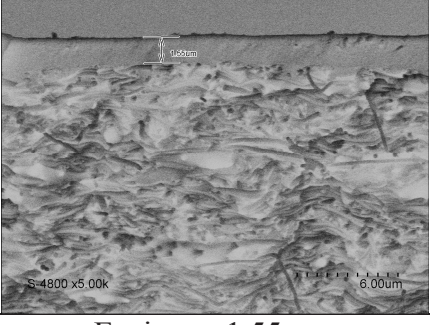
		Tape-casting	
		Surface	Section
PES			
		Epaisseur 1,95 µm	
PE			
		Epaisseur 676 nm	
MF			
		Epaisseur 212 nm	

Tableau
24

		Spin coating	
		Section	
PES			
		Epaisseur 4,29 µm	
PE			
		Epaisseur 719 nm	
MF			
		Epaisseur 1,55 µm	

6.3 Caractérisation et test de filtration

Afin de caractériser l'ordre à courte distance et le contenu en fonctions organiques, deux techniques d'analyse ont été utilisées : la diffraction de rayons X (DRX) et la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR).

Comme on peut le remarquer dans le diffractogramme représenté dans la **Figure 119**, on observe un degré de cristallinité faible, confirmant la perte **partielle d'ordre** pendant les réactions d'hydrolyse-condensation du processus sol-gel. Ce type de réponse a été obtenu pour tous les matériaux hybrides obtenus (contenant plusieurs équivalents d'histamine).

Nous avons donc obtenu des matériaux hybrides organisés sur une courte distance de 10 à 100 nm, distance au-delà de laquelle les hybrides présentent un polymorphisme.

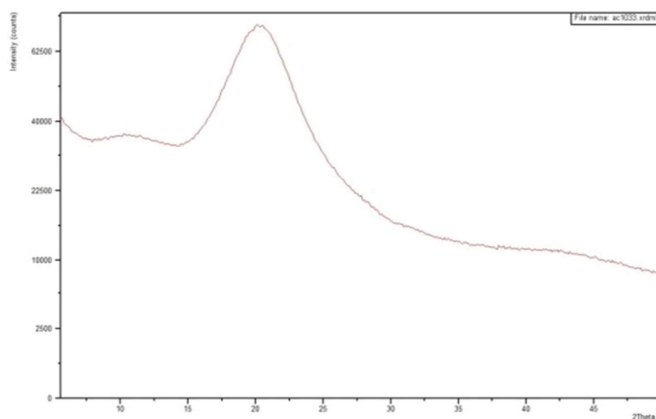


Figure 119 : Diffractogramme aux grands angles du polymère montrant le degré de cristallinité à courte distance

La « bosse » présente à l'angle $2\theta=20^\circ$ est caractéristique de la silice amorphe. Les briques moléculaires ne sont pas ordonnées sur de longues distances. Dans ce cas, les liaisons hydrogène ne participent pas à l'appariement de molécules et ne définissent pas des motifs de répétition.

Dans la **Figure 120** est représenté le spectre infrarouge obtenu pour le polymère autosupporté synthétisé. On trouve cinq grandes zones rassemblant les principales bandes caractéristiques des fonctions chimiques qui composent ces films hybrides.

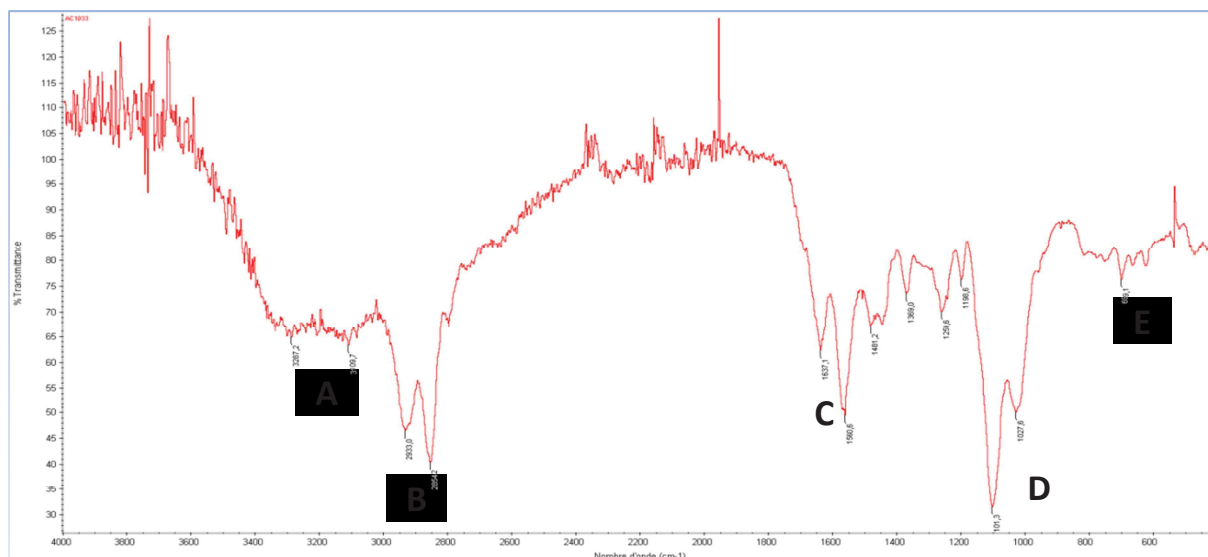


Figure 120 : Spectre FT-IR en transmittance du polymère autosupporté obtenu

Une bande large entre **3000 et 3500 cm^{-1}** (A) est due aux liaisons hydrogène existantes dans la supramolécule. Cette zone correspond aux vibrations d'élongation des fonctions amines introduites par les groupements urée (ν_{NH}) et aussi à la présence des groupements de silanols au sein du réseau hybride ($\nu_{\text{Si-OH}}$), à cause d'une condensation incomplète.

La zone **B** correspond à une bande double vers 2900 cm^{-1} , qui traduit les vibrations des chaînes carbonées (ν_{CH_2} et ν_{CH_3}) et également celles des cycles aromatiques (ν_{CH}). Une troisième région (C), entre **1450 et 1700 cm^{-1}** correspond également à plusieurs bandes caractéristiques des cycles aromatiques ($\nu_{\text{C=C}}$), des fonctions amines (ν_{NH} et ν_{CN}) et des fonctions carbonyles ($\nu_{\text{C=O}}$) des groupements urées.

A une région d'un nombre d'onde compris entre **900 et 1200 cm^{-1}** sont présents les pics correspondants au réseau inorganique de silice $\nu_{\text{Si-O-Si}}$ ($1000\text{-}1200 \text{ cm}^{-1}$) et les vibrations caractéristiques des ponts éther ($\nu_{\text{C-O-C}}$), du plastifiant hybride ($950\text{-}1000 \text{ cm}^{-1}$) (D).

Enfin, une dernière zone (E), centrée autour de 700 cm^{-1} correspond aux vibrations de déformation de chaînes carbonées (δ_{CH_2}).

Conclusions et perspectives

Les techniques de dessalement à l'aide des membranes ont connu un grand essor dans les cinquante dernières années. Parmi les techniques de séparation membranaire permettant le dessalement de l'eau de mer, l'osmose inverse joue un rôle primordial. Depuis la première membrane d'osmose inverse en acétate de cellulose conçue par Loeb et Sourirajan dans les années '60, les recherches se sont dirigées vers la création de nouveaux matériaux avec des meilleures performances de séparation. Concernant les membranes composites, la couche active en polyamide dense contrôle les propriétés sélectives de la membrane. Actuellement, les couches actives apportant la sélectivité au transport sont constituées de polyamide réticulé, créé par l'intermédiaire d'une réaction interfaciale entre la métaphénylène diamine (MPD) et le chlorure de trimésyle (TMC), accompagnés souvent avec d'additifs pour améliorer les performances de séparation. Un progrès important a été réalisé dans le champ de l'amélioration des performances de perméabilité et de séparation membranaire, la tolérance au chlore ou la résistance au colmatage. Dans la continuité des travaux antérieurs, nous avons proposé dans le cadre de cette recherche de nouveaux matériaux polymères dans la fabrication des membranes. Les performances de séparation obtenues sont comparables aux données rapportées dans la littérature.

Le but de cette étude a été la fabrication et la caractérisation de nouvelles membranes composites sous forme de couches minces qui permettraient d'avoir une bonne corrélation entre le flux d'eau (**au moins 30 LMH**) et la rétention de sel (**NaCl, au moins 95%**).

Dans ce contexte, la synthèse d'une série d'hydrazides en tant que précurseurs moléculaires a été réalisée pour remplacer le MPD. Une synthèse intermédiaire de polymères autosupportés a été effectuée pour caractériser ces matériaux « en aval » du dépôt sur support de polysulfone. Nous avons utilisé de nouvelles stratégies de synthèse et de fabrication de membranes composites à couche mince (MCCM). Afin d'augmenter la structuration du réseau polymère, l'ajout dans la phase aqueuse d'histamine à différents pourcentages a été proposé dans la fabrication des membranes. Ainsi, nous avons obtenu de nouveaux polymères, caractérisés à travers de méthodes statiques (spectroscopie infrarouge, analyses thermogravimétriques et diffraction de rayons X). Ensuite, nous avons obtenu une couche très sélective, d'approximativement 50 nm d'épaisseur à la surface d'un support de PSf. Le principe de la séparation repose sur la création d'une organisation interne maintenue par des liaisons hydrogène au sein d'une couche mince dense supportée sur un substrat de

Polysulfone. Les membranes composites ont été caractérisées par microscopie électronique à balayage, mesures d'angle de contact puis testées en filtration frontale d'eau et de solutions salines sous différentes pressions allant jusqu'à 16 bars.

Les résultats obtenus confirment la formation de couches minces autosupportées par réaction de polymérisation entre deux monomères. Les tests préliminaires de filtration ont conduit à de performances remarquables, en cohérence avec les objectifs proposés. Nous avons réussi à obtenir une bonne combinaison entre la perméabilité à l'eau et la rétention de sels pour des mélanges d'hydrazides aliphatiques en phase aqueuse. Cependant, la capacité de rétention de sels reste à être améliorée. Les paramètres opérationnels optimaux (temps de polymérisation, concentration et rapport massique des monomères de la série d'hydrazides) restent à être définis afin d'améliorer les performances des membranes fabriquées.

En conclusion, nous avons réalisé la synthèse de précurseurs moléculaires pour la polymérisation interfaciale afin de les utiliser dans la fabrication des membranes pour le dessalement de l'eau.

Afin de démontrer la formation de voies hydrophiles au sein de ces systèmes hybrides, nous avons réalisé également des expériences de transport. Pourtant, contrairement aux hypothèses formulées en début de ce projet, les films autosupportés obtenus, tout comme les polymères supportés à travers les deux techniques de dépôt, n'ont pas montré une bonne perméabilité à l'eau, même si la rétention de chlorure de sodium a été importante (95%). La faible perméabilité peut être due à une couche trop épaisse de polymère (200 μm) ou à un manque de structuration interne (comme anticipé d'après les études de DRX).

CONCLUSION GÉNÉRALE

Dans le cadre de ce travail de thèse nous avons considéré les systèmes supramoléculaires auto-organisés qui forment des canaux de transport membranaire au sein des bicouches lipidiques vésiculaires ou des matériaux membranaires en couche mince. Grâce aux propriétés d'auto-assemblage à travers des interactions faibles non-covalentes, les différents composés synthétisés dans ce travail peuvent être capables de s'organiser ou de complexer des cations ou des molécules d'eau. Ainsi, ces systèmes peuvent être utilisés pour la construction de nouveaux dispositifs membranaires, pour la sélection et le transport des espèces ioniques ou moléculaires, ou pour le dessalement de l'eau de mer.

Les matériaux élaborés ont été caractérisés au niveau structural et morphologique par différentes techniques d'analyse: la RMN du proton et du carbone, la diffraction des rayons X, la diffusion dynamique de la lumière, la spectroscopie infrarouge, la microscopie électronique à balayage, la mesure d'angle de contact.

Dans la première partie de la thèse nous avons étudié la formation de canaux ioniques membranaires obtenus par auto-association de molécules bolaformes. Ces assemblages biomimétiques de molécules fonctionnelles nous ont permis ensuite, d'étudier leur comportement comme canaux ioniques et de molécules d'eau dans les bicouches lipidiques.

En premier lieu nous avons synthétisé une librairie de molécules amphiphiles que nous avons caractérisées en solution (par RMN liquide de proton) et à l'état solide (DRX). Nous avons ainsi déterminé qu'elles forment des structures enchevêtrées.

Nous avons ensuite effectué des tests de transport ionique à travers des bicouches lipidiques suivis par spectroscopie de fluorescence dans le but de confirmer la structuration interne des matériaux permettant ainsi le passage de l'eau et des cations dans des membranes bicouches lipidiques. Puis nous avons défini les paramètres optimaux permettant l'utilisation de nos molécules en tant que canaux membranaires pour déterminer un transport spécifique d'eau au sein d'une membrane. Cette étude a été réalisée afin de mettre en évidence le transport ionique pour des assemblages supramoléculaires synthétiques. Les composés monofonctionnels améliorent le transfert ionique, du probablement à une meilleure insertion dans la bicouche lipidique et à une auto-organisation plus favorable au transport.

Le transport ionique (cations, protons et anions chlorure) a été étudié à l'aide d'une méthode vésiculaire utilisant la détection du signal par fluorescence. Les résultats obtenus sont en accord avec l'objectif proposé. Nous avons évalué les performances de transport de quatre molécules, **U3**, **U4**, **U6** et **U8**, parmi les 12 synthétisées, à plusieurs concentrations dans les cas des transports de cations (ions alcalins et protons) et de molécules d'eau. Le traitement des données comprend le calcul des principaux paramètres cinétiques et d'activité : **l'activité fractionnelle (Y), la constante de vitesse (k'), le coefficient de Hill (n) et l'EC50**. Ensuite, selon les valeurs obtenues pour ces paramètres et tenant compte des critères structuraux, nous avons comparé les composés testés en termes de sélectivité ionique et activité et nous avons proposé des relations structure-activité. De ces tests, il résulte que le composé le plus actif est le benzimidazole **U8**, qui a manifesté un bon transport pour le sodium et un EC50 faible pour tous les cations monovalents comparés.

Lorsque l'on compare les coefficients de Hill obtenus pour les quatre composés dans le cadre du transport d'anions chlorure et des protons, le constat est que cette fois-ci, les valeurs sont supérieures à 1 pour n : transport du proton par **U3** et transport de Cl⁻ par **U3**, **U4** et **U6**. En raison de cela, on peut supposer un type de mécanisme endergonique : les assemblages supramoléculaires formés pour transporter ce type d'ions appartiennent à la classe I des canaux ioniques.

Par rapport au blanc, nous avons obtenu 26% de variation de la constante de vitesse (donc de la perméabilité) pour **U4** et 24% de variation pour **U6**. On peut dire que le composé **U4**, parmi les autres testés, possède des propriétés de transport de molécules d'eau supérieures, même si sa valeur de la perméabilité à l'eau n'est pas exceptionnelle. La capacité de transport de molécules d'eau reste donc à être améliorée.

La deuxième partie de ce manuscrit a été consacrée à l'étude des mécanismes de formation de la barrière active dans les membranes composites à couche mince. Les différents types de matériaux ont été créés par polymérisation interfaciale directement sur un support de poly (éther sulfone). Les résultats reportés dans ce manuscrit ont une grande importance pour améliorer les performances des membranes composites en vue d'une application en purification de l'eau par la technique membranaire d'osmose inverse.

Cette deuxième partie décrit aussi l'élaboration de nouvelles membranes organo-minérales dans la démarche de recherche de matériaux hautement structurés. La synthèse

chimique de nouveaux monomères organiques-inorganiques et l'utilisation des concepts de la chimie supramoléculaire comme l'auto-organisation nous ont permis grâce au procédé Sol-Gel, d'accéder à des matériaux membranaires hybrides présentant une organisation structurale. La synthèse devrait être améliorée pour leur utilisation en tant que systèmes efficaces pour un transfert ionique.

Par cette approche nous avons voulu créer des environnements proches de ceux présents au sein de la membrane biologique. Ainsi en exploitant les caractéristiques de structuration des matériaux inorganiques obtenus par procédé sol-gel, ou par polymérisation interfaciale, nous avons étudié la capacité de transport en utilisant le test de filtration frontale. Nous avons ainsi réussi à obtenir plusieurs matériaux avec des propriétés de transport.

Dans ce contexte, la synthèse d'une série d'hydrazides en tant que précurseurs moléculaires a été réalisée pour remplacer le MPD. Une synthèse intermédiaire de polymères autosupportés a été effectuée pour caractériser ces matériaux « en aval » du dépôt sur support de polysulfone. Nous avons utilisé de nouvelles stratégies de synthèse et de fabrication de membranes composites à couche mince (MCCM). Afin d'augmenter la structuration du réseau polymère, l'ajout dans la phase aqueuse d'histamine à différents pourcentages a été proposé dans la fabrication des membranes. Ainsi, nous avons obtenu de nouveaux polymères, caractérisés à travers de méthodes statiques (spectroscopie infrarouge, analyses thermogravimétriques et diffraction de rayons X). Ensuite, nous avons obtenu une couche très sélective, d'approximativement 50 nm d'épaisseur à la surface d'un support de PSf. Les films autosupportés obtenus, tout comme les polymères supportés à travers les deux techniques de dépôt, n'ont pas montré une bonne perméabilité à l'eau, même si la rétention de chlorure de sodium a été importante (95%). La faible perméabilité peut être due à une couche trop épaisse de polymère (200 μm) ou à un manque de structuration interne (comme anticipé d'après les études de DRX).

Nous avons ainsi décrit et caractérisé tout au long de ce mémoire différents systèmes, dont la construction est essentiellement basée sur des **interactions supramoléculaires multivalentes**. En perspective, ces nouvelles techniques permettront de créer d'autres matériaux membranaires de compositions différentes, qui pourraient être utilisés dans une pléthore d'applications de séparation et de filtration, en mettant en œuvre des nouveaux concepts de la chimie combinatoire dynamique.

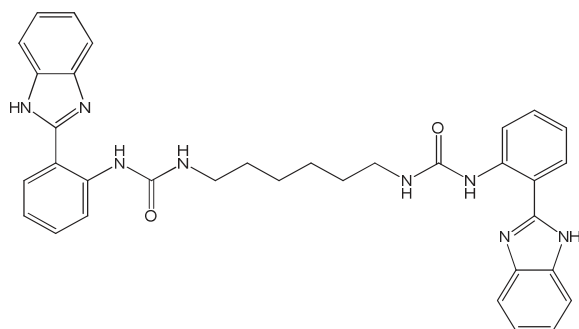
Annexes

Techniques utilisées (appareils et paramètres)

- Les chromatographies sur couche mince (CCM) ont été réalisées sur plaques de silice aluminium Aldrich (Z193291-1PAK) ;
- Les produits ont été révélés à la lumière UV 254 nm ;
- Les purifications sur chromatographie sur gel de silice ont été réalisées avec de la silice 60 ACC 70-200 μ m (SDS) ;
- Les spectres RMN du proton ont été enregistrés à température ambiante ou à 60°C sur un appareil Avance 300 Bruker. Les déplacements chimiques sont exprimés en ppm par rapport au signal CDCl₃ (fixé à 7,24 ppm) ou DMSO-d₆ (fixé à 2,5 ppm). La multiplicité des signaux est indiquée par une ou plusieurs lettre(s) minuscule(s) : s (singlet), d (doublet), dd (doublet dédoublé), m (massif ou multiplet) ;
- Les spectres RMN du carbone ont été enregistrés à température ambiante sur un appareil Avance 300 Bruker ;
- Les spectres de masse ont été enregistrés par un appareil quadripolaire Waters micromass plateforme (electrospray) ;
- Les spectres IR ont été réalisés sur un appareil NicoletNexus FT-IR équipé d'un accessoire ATR Diamant Golden Gate ;
- Les diffractogrammes ont été enregistrés par un appareil de diffraction de rayons X Philips X'Pert en mode θ/θ ;
- Les images de microscopie électronique à balayage à effet de champ ont été obtenues grâce à un appareil Hitachi S-4500 ;
- Les analyses AFM ont été effectuées à l'air, directement sur l'échantillon, en mode sémi-contact. La pointe de scan a été NSG-10, en silice, avec un rayon de courbe de 10 nm. L'appareil a été NTegraSpectra de NT-MDT (Russie) et les images ont été traitées avec le programme Gwiddion ;
- Toutes les structures cristallographiques ont été obtenues avec un appareil Xcalibur-I Diffractometer (Oxford Diffraction) avec un graphite monochrome Mo- α K/
- Les tests de fluorescence ont été effectués sur un spectromètre de fluorescence Perkin Elmer. L'extrusion de vésicules a été effectuée sur de membranes de polycarbonate (dimension de pores de 0,1 μ m) de Whatman (cat no. 800319).

Caractérisation des composés

U1 : 1,1'-(hexane-1,6-diyl)bis(3-(2-(1H-benzo[d]imidazole-2-yl)phényl)urée)



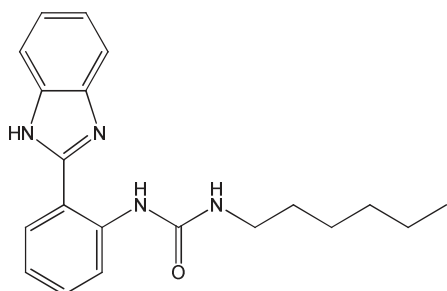
RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 1,39 (m, 4H, CH_2) ; 1,55 (quin, 4H, CH_2) ; 3,16-3,20 (q, 4H, CH_2) ; 7,05-7,10 (t, 2H, ArH, $J=9\text{Hz}$) ; 7,15-7,17 (m, 2H, ArH) ;

7,26 (t, 4H, ArH) ; 7,36-7,40 (t, 2H, ArH, $J=9\text{Hz}$) ; 7,55-7,57 (d, 2H, ArH, $J=6\text{Hz}$) ; 7,75-7,77 (d, 2H, ArH, $J=6\text{Hz}$) ; 7,99-8,01 (d, 2H, ArH, $J=6\text{Hz}$) ; 8,48-8,51 (d, 2H, ArH, $J=9\text{Hz}$) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 26,0 ; 29,5 ; 40,2 ; 114,4 ; 115,2 ; 116,0 ; 123,0 ; 124,8 ; 124,9 ; 128,9 ; 136,4 ; 141,7 ; 154,3 ; 154,9 ; ES-MS : m/z (%) : 587,7 (30V) $[\text{M}+\text{H}]^+$; $\text{C}_{34}\text{H}_{34}\text{N}_8\text{O}_2$.

Dans un ballon à fond rond monocol de 50mL, 431,4 mg de 2-(2-aminophényl)-1H-benzimidazole (97%, 2 mmol) ont été dissous dans un mélange de solvants constitué de 10mL de THF, 5mL d'AcOEt et 10mL de DMA. Un volume de 0,164 mL de diisocyanatohexane (1 mmol, 168,19 mg, 1,045 g/mL, 98%) a été ajouté à la solution d'amine. Le ballon a été monté dans une installation à reflux et la solution chauffée jusqu'à 120°C. Pendant le chauffage, 8 mL d'acétonitrile (ACN) ont été ajoutés jusqu'à un début de précipitation (solution trouble). La réaction a été maintenue à 120°C pendant une heure puis laissée revenir lentement à température ambiante. Un précipité blanc rosé est obtenu (rendement 94%).

U2 : 1-(2-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)phényl)-3-hexylurée

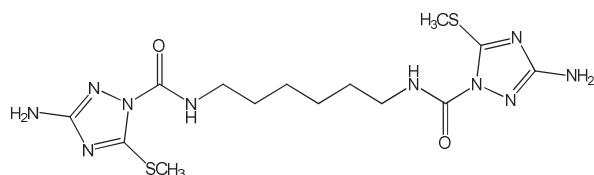


RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 0,84-0,88 (t, 3H, CH_3 , $J=6\text{Hz}$) ; 1,25-1,36 (m, 6H, CH_2) ; 1,47-1,54 (quin, 2H, CH_2 , $J=9\text{Hz}$) ; 3,14-3,19 (q, 2H, CH_2 , $J=6\text{Hz}$) ; 7,05-7,10 (t, 1H, ArH, $J=6\text{Hz}$) ; 7,13-7,17

(m, 2H, ArH) ; 7,36-7,41 (t, 1H, ArH, $J=9\text{Hz}$) ; 7,55-7,58 (d, 1H, ArH, $J=9\text{Hz}$) ; 7,75-7,77 (d, 1H, ArH, $J=6\text{Hz}$) ; 7,99-8,01 (d, 1H, ArH, $J=6\text{Hz}$) ; 8,47-8,50 (d, 1H, ArH, $J=9\text{Hz}$) ; RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 14,1 ; 22,7 ; 26,0 ; 29,5 ; 31,5 ; 40,2 ; 114,4 ; 115,2 ; 116,0 ; 123,0 ; 124,8 ; 124,9 ; 128,9 ; 136,4 ; 141,7 ; 154,3 ; 154,9 ; ES-MS : m/z (%) : 337,5 (30V) $[\text{M}+\text{H}]^+$; $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}$.

Dans un ballon à fond rond monocol de 25mL, 215,72 mg de 2-(2-aminophényle)-1H-benzimidazole (97%, 1 mmole) ont été dissous dans un mélange de solvants constitué de 2mL THF, 1mL AcOEt et 2mL DMA. La solution a été agitée sous agitation magnétique jusqu'à dissolution complète du solide. Un volume de 150,5 μ L d'isocyanatohexane (1 mmole, 128,18 mg, 0,878 g/mL, 97%) a été ajouté à la solution d'amine. Le ballon a été monté dans une installation à reflux et la solution chauffée jusqu'à 120°C. Pendant le chauffage, 8 mL d'acétonitrile (ACN) ont été ajoutés, sans qu'un précipité se forme. La réaction a été maintenue à 120°C pendant une heure puis laissée revenir lentement à température ambiante. Refroidie, la solution jaune claire a été re-précipitée dans l'eau. Le composé obtenu se présente comme un solide blanc (rendement 85%). La solution est filtrée et le précipité lavé avec du méthanol, puis séché sous vide. Pureté vérifiée par RMN. Solvant de recristallisation : THF.

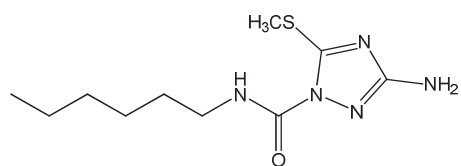
U3 : *N,N'*-(hexane-1,6-diyl)bis(3-amino-5-(méthylthio)-1H-1,2,4-triazole-1-carboxamide)



RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 1,28 (m, 4H, CH₂) ; 1,50 (quin, 4H, CH₂) ; 2,49 (s, 6H, CH₃) ; 3,13-3,20 (q, 4H, CH₂,

J=6Hz); 7,27 (s, 4H, NH₂) ; 8,00-8,04 (t, 2H, NH, J=6Hz) ; RMN ¹³C (75 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 14,1 ; 26,0 ; 29,5 ; 42,1 ; 151,6 ; 152,8 ; 162,3 ; ES-MS : m/z (%) : 429,2 (30V) [M+H]⁺ ; C₁₄H₂₄N₁₀O₂S₂.

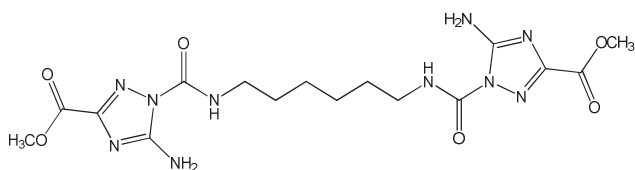
Dans un ballon à fond rond monocol de 10mL, 265,7 mg de 3-amino-5-méthylthio-1H-1,2,4-triazole (98%, 2 mmoles) ont été dissous dans un mélange de solvants constitué de 2mL THF, 1mL AcOEt et 2mL DMA. La solution a été agitée sous agitation magnétique jusqu'à dissolution complète du solide. Un volume de 0,164 mL de diisocyanatohexane (1 mmole, 168,19 mg, 1,045 g/mL, 98%) a été ajouté à la solution d'amine. Le ballon a été monté dans une installation à reflux et la solution chauffée jusqu'à 120°C. Pendant le chauffage, 4 mL d'acétonitrile (ACN) ont été ajoutés sans qu'un précipité se forme. La réaction a été maintenue à 120°C pendant trois heures puis laissée revenir lentement à température ambiante, toujours sous agitation pendant la nuit. Le composé a été obtenu par re-précipitation dans l'eau (rendement 91%), lavé à l'eau et au méthanol et séché sous vide.

U4 : 3-amino-N-5-(méthylthio)-1H-1,2,4-triazole-1-carboxamide

RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 0,84-0,88 (t, 3H, CH₃, J=6Hz) ; 1,26 (m, 6H, CH₂); 1,45-1,54 (quin, 2H, CH₂, J=9Hz) ; 2,49 (s, 6H, CH₃) ; 3,13-3,19 (q,

2H, CH₂, J=6Hz) ; 7,27 (s, 2H, NH₂) ; 8,00-8,03 (t, 1H, NH, J=3Hz) ;
¹³C (75 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 14,1 ; 22,7 ; 26,0 ; 29,5 ; 31,5 ; 42,1 ; 151,6 ; 152,8 ; 162,3 ; ES-MS : m/z (%) : 258,2 (30V) [M+H]⁺ ; C₁₀H₁₉N₅OS.

Dans un ballon à fond rond monocol de 10mL, 132,8 mg de 3-amino-5-méthylthio-1H-1,2,4-triazole (98%, 1 mmole) ont été dissous sous agitation magnétique dans un mélange de solvants constitué de 2mL THF, 1mL AcOEt et 2mL DMA. Un volume de 150,5 μL d'isocyanatohexane (1 mmole, 128,18 mg, 0,878 g/mL, 97%) a été ajouté à la solution d'amine. Le ballon a été monté dans une installation à reflux et la solution chauffée jusqu'à 120°C. Pendant le chauffage, 4 mL d'acétonitrile (ACN) ont été ajoutés, sans qu'un précipité se forme. La réaction a été maintenue à 120°C pendant trois heures puis laissée revenir lentement à température ambiante. Refroidie, la solution claire a été évaporée à l'évaporateur rotatif, pour enlever l'excès de solvant et une huile jaunâtre a été obtenue. Le composé a été re-précipité dans l'eau. Le composé obtenu se présente comme un solide blanc jaunâtre (rendement 99%). La solution est filtrée et le précipité lavé avec du méthanol, puis séché sous vide. Pureté vérifiée par RMN. Solvant de recristallisation : MeOH.

U5 : N,N'-(hexane-1,6-diyl)bis(3-acétyl-5-amino-1H-1,2,4-triazole-1-carboxamide)

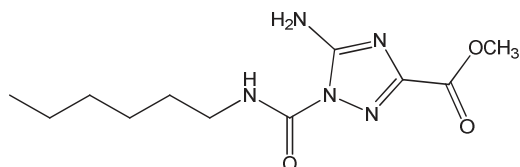
RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 1,29 (m, 4H, CH₂) ; 1,52 (quin, 4H, CH₂) ; 3,16-3,23 (q, 4H, CH₂, J=6Hz) ; 3,83 (s,

6H, CH₃) ; 7,37 (s, 4H, NH₂) ; 8,39-8,43 (t, 2H, NH, J=6Hz) ; RMN ¹³C (75 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 26,0 ; 29,5 ; 42,1 ; 51,5 ; 152,8 ; 154,6 ; 157,2 ; 161,2 ; ES-MS : m/z (%) : 453,5 (30V) [M+H]⁺ ; C₁₆H₂₄N₁₀O₆.

Dans un ballon à fond rond monocol de 10mL, 296,1 mg de 5-amino-1H-[1,2,4]-triazole-3-carboxylic méthyl esteracide (2 mmoles, 96%) ont été dissous dans 5mL DMSO (car le réactif n'est pas soluble dans le mélange de trois solvants THF/AcOEt/DMA). Un volume de 0,164 mL de diisocyanatohexane (1 mmole, 168,19 mg, 1,045 g/mL, 98%) a été ajouté à la solution d'amine. Le ballon a été monté dans une installation à reflux et la solution

chauffée jusqu'à 120°C. La réaction a été maintenue à 120°C pendant trois heures puis laissée revenir lentement à température ambiante, toujours sous agitation pendant la nuit. Le composé a été obtenu par re-précipitation dans l'eau (rendement 72%), lavé à l'eau et au méthanol et séché sous vide.

U6 : Méthyl 5-amino-1-(hexylcarbamoyl)-1H-1,2,4-triazole-3-carboxylate



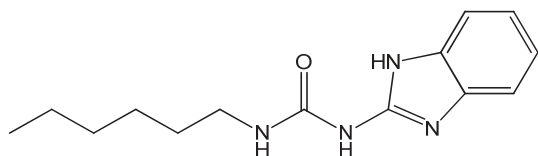
RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 0,84-0,88 (t, 3H, CH₃, J=6Hz) ; 1,26 (m, 6H, CH₂) ; 1,46-1,54 (quin, 2H, CH₂, J=6Hz) ; 3,15-3,22 (q, 2H, CH₂, J=6Hz) ;

3,83 (s, 3H, CH₃) ; 7,38 (s, 2H, NH₂) ; 8,41-8,45 (t, 1H, NH, J=6Hz) ; RMN ¹³C (75 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 14,1 ; 22,7 ; 26,0 ; 29,5 ; 42,1 ; 51,5 ; 152,8 ; 161,2 ; 154,6 ; 157,2 ;

ES-MS : m/z (%) : 270,3 (30V) [M+H]⁺ ; C₁₁H₁₉N₅O₃.

Dans un ballon à fond rond monocol de 25mL, 148 mg de 5-amino-1H-[1,2,4]-triazole-3-carboxylic méthyl esteracide (1 mmole, 96%) ont été dissous dans 5mL DMSO. Un volume de 150,5 μ L d'isocyanatohexane (1 mmole, 128,18 mg, 0,878 g/mL, 97%) a été ajouté à la solution d'amine. Le ballon a été monté dans une installation à reflux et la solution chauffée jusqu'à 120°C. Pendant le chauffage, 4 mL d'acétonitrile (ACN) ont été ajoutés, sans qu'un précipité se forme. La réaction a été maintenue à 120°C pendant trois heures puis laissée revenir lentement à température ambiante. Refroidie, la solution claire a été évaporée à l'évaporateur rotatif, pour enlever l'excès de solvant et une huile incolore a été obtenue. Le composé a été re-précipité dans l'eau. Le composé obtenu se présente comme un solide blanc (rendement 95%). La solution est filtrée et le précipité lavé avec du méthanol, puis séché sous vide.

U8 : 1-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)-3-hexylurée

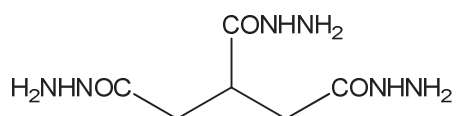


RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 0,84-0,88 (t, 3H, CH₃, J=6Hz) ; 1,26 (m, 6H, CH₂) ; 1,46-1,54 (quin, 2H, CH₂, J=6Hz) ; 3,15-3,22 (q, 2H, CH₂, J=6Hz) ;

7,00-7,03 (m, 2H, ArH) ; 7,34-7,37 (m, 2H, ArH) ; 9,78 (s, 1H, NH urea) ; 11,46 (s, 1H, NH-Im) ; RMN ¹³C (75 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 14,1 ; 22,7 ; 26,0 ; 29,5 ; 31,5 ; 40,2 ; 115,2 ; 123,0 ; 136,6 ; 147,9 ; 154,3 ; ES-MS : m/z (%) : 261,3 (30V) [M+H]⁺ ; C₁₄H₂₀N₄O.

Dans un ballon à fond rond monocol de 25mL, 148 mg de 2-aminobenzimidazole (1mmole, 97%) ont été dissous dans un mélange de solvants constitué de 2mL THF, 1mL AcOEt et 2mL DMA. Un volume de 150,5 μ L d'isocyanatohexane (1 mmole, 128,18 mg, 0,878 g/mL, 97%) a été ajouté à la solution d'amine. Le ballon a été monté dans une installation à reflux et la solution chauffée jusqu'à 120°C. Pendant le chauffage, 4 mL d'acétonitrile (ACN) ont été ajoutés. La réaction a été maintenue à 120°C pendant trois heures puis laissée revenir lentement à température ambiante. Refroidie, la solution claire a été évaporée à l'évaporateur rotatif. Le composé a été re-précipité dans l'eau. Le composé obtenu se présente comme un solide blanc ivoire (rendement 92%). La solution est filtrée et le précipité lavé avec du méthanol, puis séché sous vide. Le monocristal a été obtenu dans du THF.

H1 : Propane-1,2,3-tricarbohydrazide

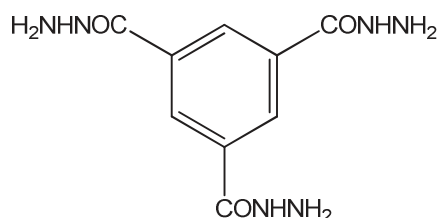


RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 2,03-2,10 (q, 2H, CH_2 , $J=7,5\text{Hz}$); 2,22-2,29 (q, 2H, CH_2 , $J=7,5\text{Hz}$); 2,93-3,03

(quin, 1H, CH, $J=7,5\text{Hz}$); 4,12 (s, 6H, NH_2); 8,93-8,96 (d, 3H, NH, $J=9,3\text{Hz}$); RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 36,9; 42,6; 174,6; 176,6; ES-MS : m/z (%) : 219,1 (30V) MH^+ ; $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}_6\text{O}_3$.

2,1842 mL triméthyl propane-1,2,3-tricarboxylate(11,5 mmoles, 1,18 g/L) ont été mélangés avec une solution d'hydrazine en solution aqueuse en excès ($\text{N}_2\text{H}_4 \times 1,5 \text{H}_2\text{O}$, 10 mL) dans un ballon à fond rond monocol de 25mL. Le mélange a été laissé réagir à température ambiante, pendant deux heures. Au bout d'une heure, un solide blanc se forme. Le précipité est filtré et lavé avec de l'éthanol et de l'éther, puis séché. La purification a été faite par recristallisation dans un mélange éthanol/eau (80%/20%). Rendement 98,4%.

H2 : Benzene-1,3,5,-tricarbohydrazide

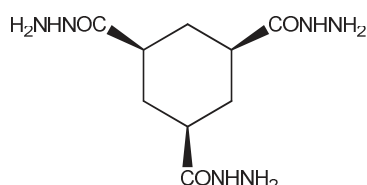


RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 4,56 (s, 6H, NH_2); 8,32 (s, 3H, ArH); 9,84

(s, 3H, NH); RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 128,5; 134,3; 166,5; ES-MS : m/z (%) : 253,1 (30V) MH^+ ; $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{N}_6\text{O}_3$.

Dans un ballon à fond rond monocol de 25mL, 514,8mg de triméthyl 1,3,5-benzenetricarboxylate (2mmoles, 98%) ont été pesés et 10mL d'hydrazine en solution aqueuse ($N_2H_4 \times 1,5 H_2O$, 10 mL) ont été ajoutés. Après avoir ajouté encore 1mL de MeOH le mélange a été laissé sous agitation à température ambiante, pendant la nuit. Le lendemain, le solide blanc qui s'est formé est filtré, lavé au méthanol et séché sous vide. Le H2 a été obtenu pur (rendement 97,5%), confirmé par RMN.

H3 : (1s,3s,5s)-Cyclohexane-1,3,5-tricarbohydrazide

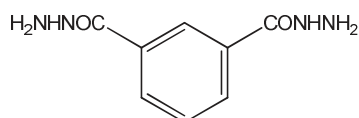


3H, NH) ; RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6):
 δ (ppm) = 32,8 ; 40,7 ; 178,2 ; ES-MS : m/z
 (%) : 259,1 (30V) MH^+ ; $C_9H_{18}N_6O_3$.

RMN 1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) =
 1,40-1,61 (m, 6H, CH_2) ; 2,08-2,15 (t, 3H,
 CH, $J=9,6Hz$) ; 4,17 (s, 6H, NH_2) ; 8,95 (s,

Dans un ballon à fond rond monocol de 250mL, 1,0204g de Cis-1,3,5-Cyclohexanetricarboxylic Acid(4,625 mmoles, >98%) ont été dissous dans 50mL MeOH et 1mL H_2SO_4 a été ajouté. Puis la réaction a été laissée sous agitation, pendant la nuit, à température ambiante. Le lendemain, la solution a été concentrée « *in vacuo* » et diluée avec 50mL de dichlorométhane (DCM). Ensuite, le mélange réactionnel a été lavé avec du bicarbonate ($NaHCO_3$) aqueux, eau distillée et saumure ($NaCl$ saturé) et extrait trois fois (3*15mL) avec du DCM. Les trois phases organiques recueillies ont été séchées sur Na_2SO_4 et le méthylester brut obtenu concentré sous vide (rendement 78,8%). Ensuite 1,5 mL (22,5 mmoles) d'hydrate d'hydrazine ont été rajoutés ; la réaction est laissée sous agitation magnétique pendant la nuit, à température ambiante. Le solide blanc obtenu a été filtré, lavé au méthanol et séché sous vide (rendement 87%).

H4 : Isophthalohydrazide



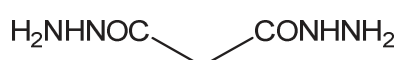
RMN 1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) =
 4,53 (s, 4H, NH_2) ; 7,50-7,55 (t, 1H, ArH,
 $J=7,8Hz$) ; 7,90-7,93 (dd, 2H, ArH,

$J=9,6Hz$) ; 8,26 (s, 2H, ArH) ; 9,81 (s, 2H,
 NH) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) =
 126,5 ; 128,9 ; 129,8 ; 134,0 ; 166,9 ;
 ES-MS : m/z (%) : 234,1 (30V) MH^+ ;
 $C_6H_{15}N_7O_3$.

Dans un ballon à fond rond monocol de 25mL, 1,9615g d'acide isophtalique (10 mmoles, 99%) ont été mélangés avec 10 mL de solution aqueuse d'hydrazine (50-60%, 1,019 g/mL). 5mL de MeOH ont été rajoutés. Le mélange réactionnel a été laissé réagir sous agitation, pendant la nuit, à température ambiante. Le lendemain, le précipité blanc formé a été lavé, filtré sur double papier filtre (car très fin) et séché sous vide (rendement 89,3%). Pas de purification avant l'utilisation du précurseur, car l'hydrazide a été obtenue avec un haut degré de pureté.

H5 : Malonohydrazide

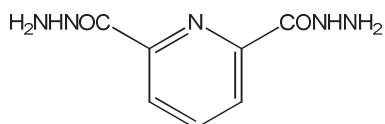


RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 2,90 (s, 2H, CH₂) ; 4,23 (s, 4H, NH₂) ; 9,05 (s, 2H, NH) ;

RMN ¹³C (75 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 46,3 ; 170,3 ;
ES-MS : m/z (%) : 133,1 (30V) MH⁺ ;
C₃H₈N₄O₂.

Dans un ballon à fond rond monocol de 25mL, 1,5609g d'acide malonique (15 mmoles) ont été dissous dans 25 mL de méthanol. 1mL de H₂SO₄ a été ajouté ; le mélange a été laissé réagir pendant la nuit. L'ester brut obtenu a été lavé trois fois avec une solution saturée de bicarbonate (NaHCO₃), extrait dans CHCl₃ et les phases organiques réunies séchées sur Na₂SO₄. Après l'évaporation du solvant à l'évaporateur rotatif, le rendement obtenu pour l'ester est de 73,1%. Ensuite, 10 mL de solution aqueuse d'hydrazine ont été ajoutés et le mélange laissé réagir pendant la nuit, sous agitation magnétique à température ambiante. Le lendemain, la solution est toujours claire, sans formation de précipité. Le ballon est gardé pour 30min au congélateur. Puis, lorsque la solution est réchauffée, la formation du précipité est instantanée. Celui-ci est filtré, lavé et séché sous vide (rendement 95%).

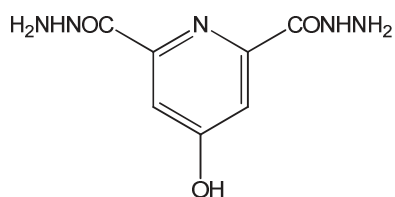
H6 : Pyridine-2,6-dicarbohydrazide



RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 4,65 (s, 4H, NH₂) ; 8,13 (s, 3H, ArH) ; 10,63 (s, 2H, NH) ;
RMN ¹³C (75 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 124,2 ; 139,8 ; 148,9 ; 162,4 ;
ES-MS : m/z (%) : 196,1 (30V) MH⁺ ;
C₇H₉N₅O₂.

1,9714 g de 2,6-pyridinedicarboxylate de diméthyle ont été pesés dans un ballon à fond rond monocol de 25mL et 10 mL d'hydrazine en solution aqueuse (50-60%, 1,019 g/mL) ont été ajoutés, ainsi que 5mL de MeOH. Un solide rose pâle précipite instantanément. Après encore une heure de réaction, le précipité est filtré, lavé au MeOH, et séché sous vide (rendement 96,7%).

H7 : 5-Hydroxyisoptalohydrazide (chelidamic hydrazide)

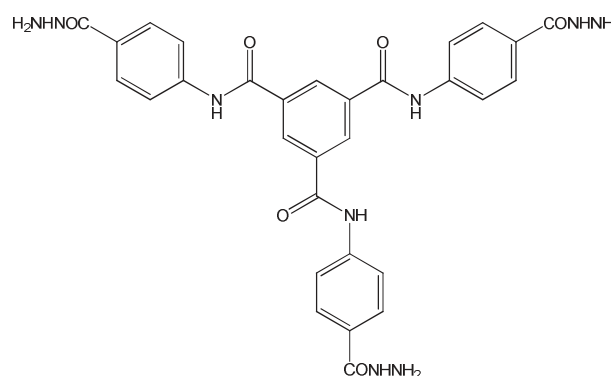


RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 4,48 (s, 4H, NH_2) ; 7,60 (s, 2H, ArH) ; 10,61 (s, 2H, NH) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 109,7 ; 151,0 ; 162,2 ; 168,2 ;

ES-MS : m/z (%) : 211,2 (30V) MH^+ ; $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_3$.

Dans un ballon à fond rond monocol de 50mL, 2g d'acide chélidamique monohydraté (10 mmoles, 98%) ont été dissous dans 25mL MeOH et 1 mL de H_2SO_4 a été rajouté. La réaction d'estérification a été laissée pendant la nuit sous agitation et sous reflux. Le lendemain, la solution a été concentrée « *in vacuo* » et diluée avec 50mL de dichlorométhane (DCM). Ensuite, le mélange réactionnel a été lavé avec du bicarbonate (NaHCO_3) aqueux, eau distillée et saumure (NaCl saturé) et extrait trois fois ($3 \times 15\text{mL}$) avec du DCM. Les trois phases organiques recueillies ont été séchées sur Na_2SO_4 et le méthylester brut obtenu concentré sous vide. Ensuite 1,5 mL (22,5 mmoles) d'hydrate d'hydrazine ont été rajoutés ; la réaction est laissée sous agitation magnétique pendant la nuit, à température ambiante. Le solide blanc obtenu a été filtré, lavé au méthanol et séché sous vide (rendement 86%). Le composé H7 a été utilisé sans purification préalable.

A1 : N^1, N^3, N^5 -tris(4-(hydrazinecarbonyl)phenyl)benzene-1,3,5-tricarboxamide

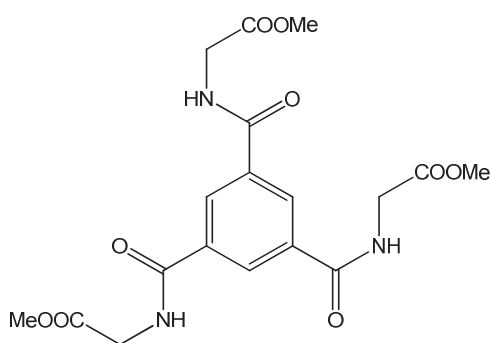
RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm)
 = 4,53 (s, 9H, NH_3^+) ; 7,85-7,98 (dd, 12H,
 ArH, $J=8,7$) ; 8,80 (s, 3H, ArH) ; 9,71 (s,
 3H, NH) ; 10,96 (s, 3H, NH) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm)
 = 121,7 ; 127,6 ; 129,6 ; 134,4 ; 141,3 ;
 164,7 ; 167,2 ;

ES-MS : m/z (%) : 610,6 (30V) MH^+ ;
 $\text{C}_{30}\text{H}_{27}\text{N}_9\text{O}_6$.

Dans un ballon à fond rond, monocol, de 50mL, 555,3 mg (3,6 mmoles, 98%) de méthyl 4-amino benzoate ont été dissous dans 7,2 mL dichlorométhane (DCM) pour une concentration de 0,5 M. Ensuite, 634 μL (4,5 mmoles, 459,95 mg, $d=0,7255\text{g/mole}$, 99%) de triéthylamine ont été rajoutés et la solution agitée sur bain de glace. Enfin, une solution de 270,9 mg de chlorure de trimesoyle (1 mmole, 182,2 μL , 98%), préalablement dissout dans 2 mL DCM (pour une concentration de 0,5 M) a été ajoutée doucement, goutte-à-goutte. Pendant l'ajout du TMC, la solution devient légèrement jaune. Lorsque l'ajout est fini, le mélange est laissé revenir à température ambiante et laissé réagir pendant la nuit, sous agitation. Le lendemain, le mélange est évaporé « *in vacuo* » et le brut dissout avec du CHCl_3 jusqu'à une concentration de 0,1 M. Plusieurs séries de lavages sont réalisées successivement : HCl (1 M), eau, NaOH (0,5 M, solution aqueuse), eau et, finalement, saumure (NaCl saturé). Les phases organiques réunies sont séchées sur MgSO_4 , l'excès de solvant est enlevé sous vide et l'intermédiaire purifié par chromatographie sur colonne ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}=99/1$).

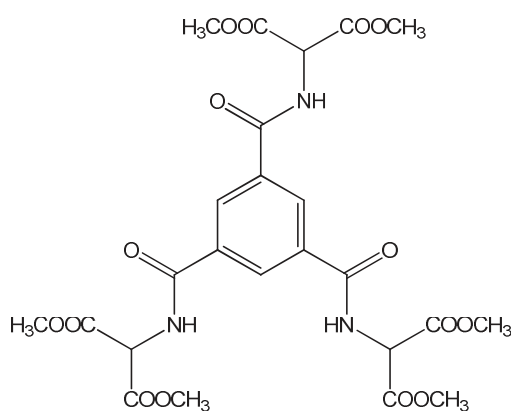
L'intermédiaire purifié (0,5 mmoles, 306,2 mg) est ensuite introduit en réaction avec une solution d'hydrazine (10mL), et la réaction laissée pendant la nuit, à 80°C. Un précipité blanc se forme au refroidissement de la solution.

A2 : Triméthyl 2,2',2''-(benzènetricarbonyltris(azanediy))triacétate

RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 3,67 (s, 9H, CH₃) ; 4,06-4,08 (d, 6H, CH₂, J=6Hz) ; 8,51 (s, 3H, ArH) ; 9,23-9,27 (t, 3H, NH, J=6Hz) ;

RMN ¹³C (75 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 40,9 ; 51,6 ; 128,4 ; 134,4 ; 167,8 ; 169,5 ;
ES-MS : m/z (%) : 424,4 (30V) MH⁺ ;
C₁₈H₂₁N₃O₉.

Dans un ballon à fond rond, monocol, de 50mL, 456,5 mg (3,6 mmoles, 99%) de glycineméthyle ester ont été dissous dans du DCM pour une concentration de 0,5 M. Ensuite, 634μL (4,5 mmoles, 459,95 mg, d=0,7255g/mole, 99%) de triéthylamine ont été rajoutés et la solution agitée sur bain de glace. Enfin, une solution de 270,9 mg de chlorure de trimesoyle (1 mmole, 182,2 μL, d=1,487g/mole, 98%), préalablement dissout dans du DCM a été ajoutée doucement, goutte-à-goutte. Lorsque l'ajout est fini, le mélange est laissé revenir à température ambiante et laissé réagir pendant la nuit, sous agitation. Le lendemain, le mélange est évaporé « *in vacuo* » et le brut dissout avec du CHCl₃ jusqu'à une concentration de 0,1 M. Plusieurs séries de lavages sont réalisées successivement : HCl (1 M), eau, NaOH (0,5 M, solution aqueuse), eau et, finalement, saumure (NaCl saturé). Les phases organiques réunies sont séchées sur MgSO₄ et l'excès de solvant est enlevé sous vide. Le produit est obtenu sous la forme d'une huile jaune (rendement 72%).

A3 : Hexaméthyl 2,2',2''-(benzènetricarbonyltris(azanediy))trimalonate

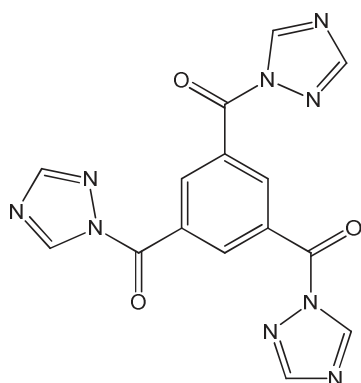
RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 3,68 (s, 21H, CH₃) ; 5,07 (s, 3H, CH) ; 8,56 (s, 3H, ArH) ; 9,68 (s, 3H, NH) ;

RMN ¹³C (75 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 51,6 ; 59,9 ; 128,8 ; 134,4 ; 165,9 ; 168,9 ;
ES-MS : m/z (%) : 598,5 (30V) MH⁺ ;
C₂₄H₂₇N₃O₁₅.

Dans un ballon à fond rond, monocol, de 50mL, 681,4 mg (3,6 mmoles, 97%) de diméthyle 2-aminomalonate ont été dissous dans du DCM pour une concentration de 0,5 M.

Ensuite, 634 μ L (4,5 mmole, 459,95 mg, $d=0,7255\text{g/mole}$, 99%) de triéthylamine ont été rajoutés et la solution agitée sur bain de glace. Enfin, une solution de 270,9 mg de chlorure de trimesoyle (1 mmole, 182,2 μ L, $d=1,487\text{g/mole}$, 98%), préalablement dissous dans du DCM a été ajoutée doucement, goutte-à-goutte. Lorsque l'ajout est fini, le mélange est laissé revenir à température ambiante et laissé réagir pendant la nuit, sous agitation. Le lendemain, le mélange est évaporé « *in vacuo* » et le brut dissout avec du CHCl_3 jusqu'à une concentration de 0,1 M. Plusieurs séries de lavages sont réalisées successivement : HCl (1 M), eau, NaOH (0,5 M, solution aqueuse), eau et, finalement, saumure (NaCl saturé). Les phases organiques réunies sont séchées sur MgSO_4 et l'excès de solvant est enlevé sous vide. Le produit est obtenu sous la forme d'une huile incolore (rendement 65%).

A4 : Benzène-1,3,5-triyltris((1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)méthanone



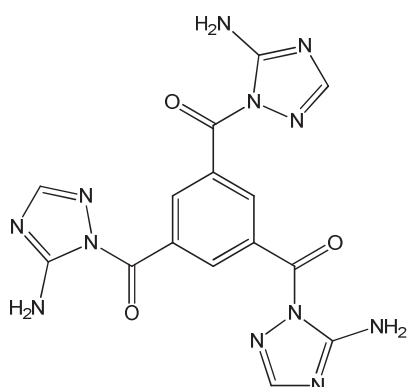
RMN ^1H (300 MHz, DMSO-d_6): δ (ppm) = 7,98 (s, 3H, ArH) ; 8,30 (s, 3H, CH) ; 8,68 (s, 3H, CH) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-d_6): δ (ppm) = 131,5 ; 135,6 ; 147,7 ; 152,8 ; 165,0;

ES-MS : m/z (%) : 364,3 (30V) MH^+ ;

$\text{C}_{15}\text{H}_9\text{N}_9\text{O}_3$.

Dans un ballon à fond rond, monocol, de 50mL, 253,7mg (3,6 mmole, 98%) de 1,2,4-triazole ont été dissous dans du DCM pour une concentration de 0,5 M. Ensuite, 634 μ L (4,5 mmole, 459,95 mg) de triéthylamine ont été rajoutés et la solution agitée sur bain de glace. Enfin, une solution de 270,9mg de TMC (1mmole, 98%), préalablement dissous dans du DCM a été ajoutée doucement, goutte-à-goutte. Lorsque l'ajout est fini, le mélange est laissé revenir à température ambiante et laissé réagir pendant la nuit, sous agitation. Le lendemain, le mélange est évaporé « *in vacuo* » et le brut dissout avec du CHCl_3 jusqu'à une concentration de 0,1 M. Plusieurs séries de lavages sont réalisées successivement : HCl (1 M), eau, NaOH (0,5 M, solution aqueuse), eau et, finalement, saumure (NaCl saturé). Les phases organiques réunies sont séchées sur MgSO_4 et l'excès de solvant est enlevé sous vide.

A5 : Benzène-1,3,5-triyltris((5-amino-1H-1,2,4-triazol-1-yl)méthanone

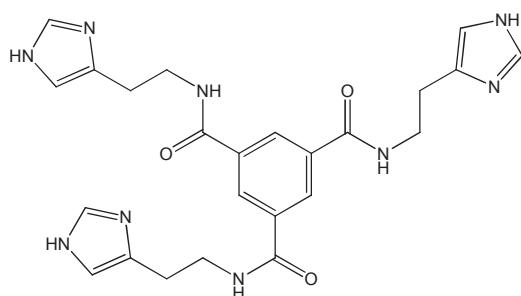
RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 6,99 (s, 6H, NH $_2$) ; 7,98 (s, 3H, ArH) ; 8,47 (s, 3H, CH) ;

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 131,5 ; 135,6 ; 157,2 ; 160,1 ; 165,0 ;

ES-MS : m/z (%) : 409,3 (30V) MH $^+$;

C $_{15}$ H $_{12}$ N $_{12}$ O $_3$.

Dans un ballon à fond rond, monocol, de 50mL, 318,6 mg (3,6 mmoles, 98%) de 3-amino-1,2,4-triazole ont été dissous dans du DCM pour une concentration de 0,5 M. Ensuite, 634 μ L (4,5 mmoles, 459,95 mg, $d=0,7255\text{g/mole}$, 99%) de triéthylamine ont été rajoutés et la solution agitée sur bain de glace. Enfin, une solution de 270,9 mg de chlorure de trimesoyle (1 mmole, 182,2 μ L, $d=1,487\text{g/mole}$, 98%), préalablement dissous dans du DCM a été ajoutée doucement, goutte-à-goutte. Lorsque l'ajout est fini, le mélange est laissé revenir à température ambiante et laissé réagir pendant la nuit, sous agitation. Le lendemain, le mélange est évaporé « *in vacuo* » et le brut dissout avec du CHCl $_3$ jusqu'à une concentration de 0,1 M. Plusieurs séries de lavages sont réalisées successivement : HCl (1 M), eau, NaOH (0,5 M, solution aqueuse), eau et, finalement, saumure (NaCl saturé). Les phases organiques réunies sont séchées sur MgSO $_4$ et l'excès de solvant est enlevé sous vide. Un précipité marron foncé est obtenu.

A6: N^1, N^3, N^5 -tris(2-(1H-imidazol-4-yl)ethyl)benzène-1,3,5-tricarboxamide

RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 2,82-2,87 (t, 6H, CH $_2$, J=6Hz) ; 3,51-3,57 (q, 6H, CH $_2$, J=6Hz) ; 6,98 (s, 3H, CH) ; 7,83 (s,

3H, CH) ; 8,50 (s, 3H, NH) ; 8,97 (s, 3H, im-NH) ;

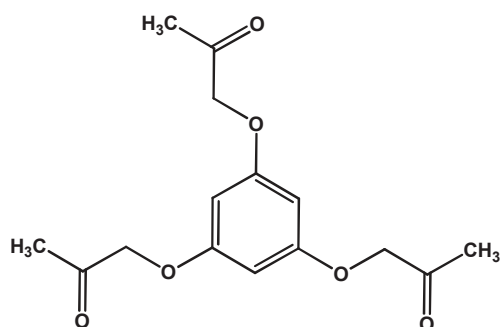
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 26,9 ; 40,8 ; 117,1 ; 128,9 ; 134,3 ; 135,0 ; 135,4 ; 167,5 ;

ES-MS : m/z (%) : 490,5 (30V) MH $^+$;

C $_{24}$ H $_{27}$ N $_9$ O $_3$.

Dans un ballon à fond rond monocol de 25mL, 166,7mg d'histamine (1,5 mmoles, 3 équivalents) ont été dissous dans 1 ml H₂O ; 5mL de THF ont été rajoutés à cette solution et sous agitation vigoureuse sur un bain de glace salée, une solution de 132,8mg de chlorure de trimesoyle (TMC, 0,5mmoles, 1 équivalent) dans 5mL de THF a été ajoutée. Ensuite, une solution d'hydroxyde de potassium (KOH, 3 équivalents, 89,6 mg, 0,32 mol/L) dans 5mL d'eau a été rajoutée. La réaction a été laissée pendant 10heures réagir à température ambiante. Le lendemain, un solide blanc est obtenu. Celui-ci est filtré et lavé (rendement 97%).

E :1,1',1''-(benzène-1,3,5 triyltris(oxy))tris(propan-2-one)



RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 3,70 (s, 9H, CH₃) ; 4,76 (s, 6H, CH₂) ; 6,14 (s, 3H, ArH) ;

RMN ¹³C (75 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 25,9 ; 82,9 ; 92,7 ; 158,3 ; 203,5 ;

ES-MS : m/z (%) : 295,3 (30V) MH⁺ ;

C₁₅H₁₈O₆.

Dans un ballon à fond rond, monocol, de 100mL, 126,1mg de phoroglucionol (1mmole, 1 équivalent) ont été pesés et dissous dans 30mL acétone. La solution a été agitée à l'aide d'un barreau aimanté jusqu'à la solubilisation complète. Puis, 0,293mL (3mmoles, 3 équivalents) de bromoacétate de méthyle ont été ajoutés. Enfin, 1,2435g (9 mmoles, 9 équivalents) de K₂CO₃ ont été également rajoutés à la réaction. La température a été montée jusqu'à 60°C et le mélange a été laissé réagir à reflux pendant 76h. Le composé pur est obtenu avec un rendement de 92%, sous la forme d'un solide blanc.

Protocoles

Préparation de vésicules

Pour pouvoir passer des phospholipides unilamellaires à des vésicules contenant l'HPTS, la L' α -phosphatidylcholine (EYPC) a été soumise, successivement, à des opérations d'hydratation, des cycles de congélation-décongélation, une étape d'extrusion afin d'avoir une distribution de taille homogène (100 nm) et un passage à travers une colonne d'exclusion stérique.

L' α -phosphatidylcholine dans un mélange chloroforme/méthanol est gardée une nuit sous vide pour éliminer les traces de solvant, le film formé est hydraté avec 400 μ L d'une solution tampon de phosphate (10 mM à pH 6,4, qui contient 100 mM chlorure de sodium et 10 μ M HPTS) et soumis à 6 cycles de congélation/décongélation (azote liquide / eau), jusqu'à la formation d'une suspension laiteuse de liposomes multi-lamellaires larges (LMV). Ensuite, la suspension est extrudée à travers une membrane de polycarbonate de dimension de pores de 100 nm pour homogénéiser la taille des vésicules. On obtient une suspension plus claire, bleutée, qui est séparée du HPTS extra-vésiculaire par chromatographie d'exclusion de taille (Size Exclusion Chromatography, SEC, phase stationnaire Dextran réticulé Sephadex® G-50, 50-150 μ m, phase mobile : tampon phosphate contenant 100 mM NaCl). Dans la **Figure 12** est illustrée la séparation des vésicules du HPTS extra-vésiculaire. Celui-ci (partie fluorescente, verte, en haut de la colonne), va migrer plus lentement que les vésicules (partie bleutée, en bas).

Ensuite, la suspension est diluée avec le tampon phosphate / NaCl jusqu'à un volume final de 2,5 mL afin d'avoir une concentration lipidique de 11 mM puis gardée au réfrigérateur pendant une durée de maximum deux semaines.

Test de fluorescence

Dans une cellule fluorimétrique en quartz on dissout 100 μ L de suspension de vésicules préalablement préparée, dans 1,9 mL de tampon phosphate (pH 6,4, qui contient 100 mM NaCl). Une mesure dure un temps total de 600 secondes et la méthode ratiométrique suit l'ordre et les temps d'ajout suivants : après 50s de stabilisation, on ajoute 20 μ L de solution du composé à étudier (noté de U1 à U6) dans du DMSO, à différentes concentrations.

Après 150s, on ajoute 30 μ L de NaOH de concentration 0,5 M (dans l'eau). La mesure finit 100s après l'ajout de 40 μ L de Triton X100 (5% massiques dans l'eau) à 500s pour lyser tous les liposomes. L'expérience est arrêtée à un temps t de 600s. La cellule fluorimétrique est lavée à l'eau et à l'éthanol puis séchée avant chaque nouvelle analyse.

Transport de proton : 100 μ L de vésicules avec HPTS ont été solubilisés dans 1,9 mL d'eau ultra-pure (18 M Ω) et placés dans une cellule fluorimétrique. L'émission du HPTS à 510 nm a été enregistrée aux longueurs d'onde de 403 et 460 nm, simultanément. A 50s, 20 μ L d'une solution du composé à étudier dans du DMSO a été ajoutée. A 500s du début de l'analyse, les vésicules ont été lysées avec 40 μ L d'une solution aqueuse de Triton X100.

Transport d'anion : 100 μ L de suspension de vésicules ont été dilués dans 1,9 mL de tampon phosphate et l'émission du HPTS (à 510 nm) est suivie aux longueurs d'onde de 403 et 410 nm. A 57 secondes après le début de l'analyse, on ajoute 20 μ L du composé à étudier et à 500 secondes on ajoute de Triton X100 (5% massiques).



Figure 121 : Séparation du HPTS extra-vésiculaire par chromatographie d'exclusion stérique



Les représentations suivantes sont les courbes de fluorescence

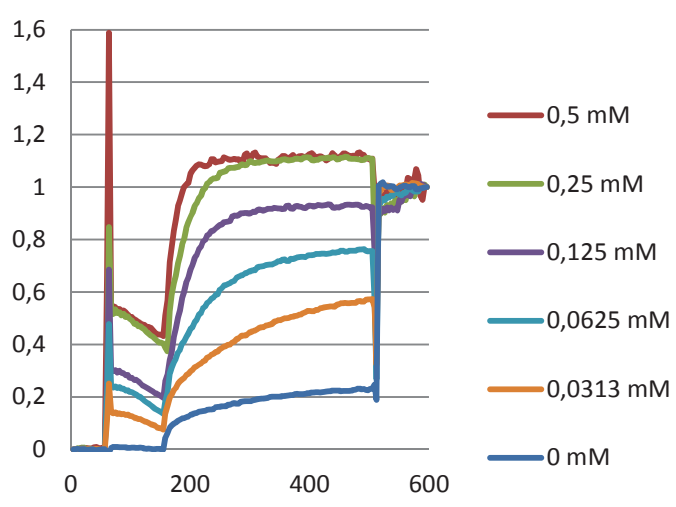
(Intensité en fonction du temps : I/I₀ sur l'ordonnée et le temps(s) sur l'abscisse),

obtenues pour l'analyse de six composés (U1, U2, U3, U4, U6, U8)

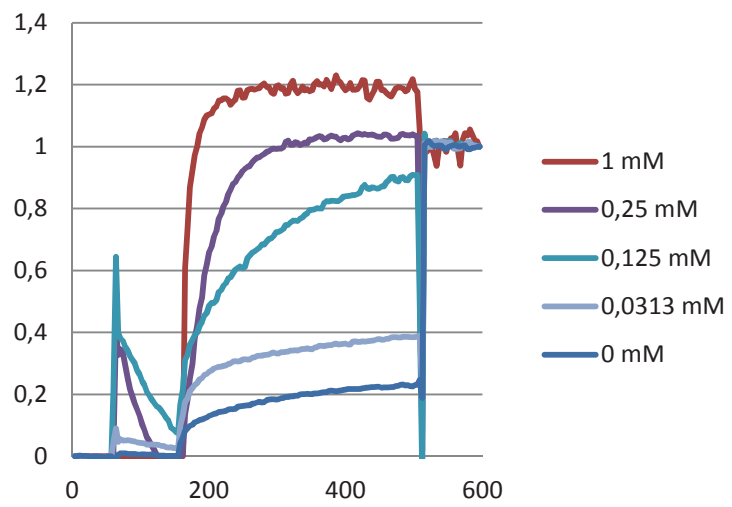
dans le cas du transport de 7 particules (Li⁺, Na⁺, K⁺, Rb⁺, Cs⁺, H⁺, Cl⁻).

Li⁺

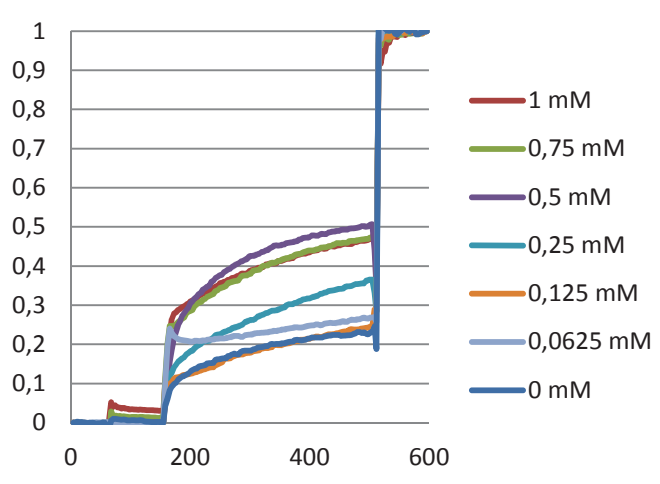
U1



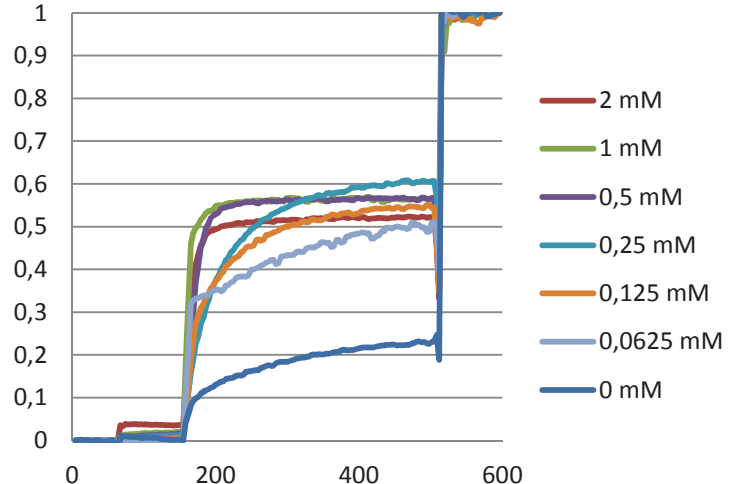
U2



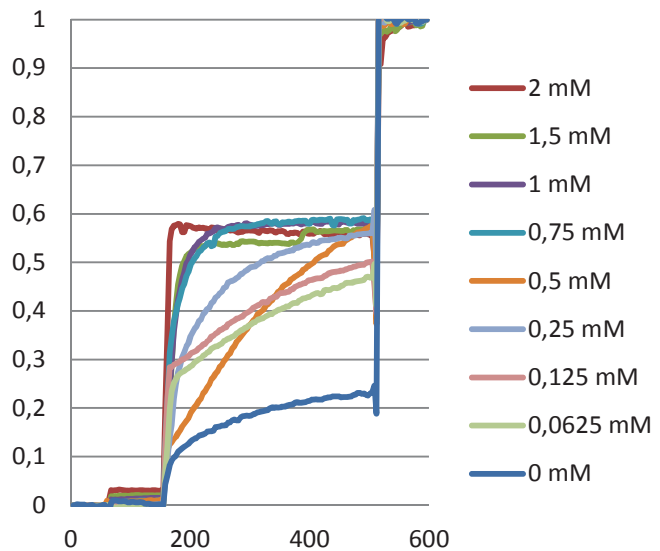
U3



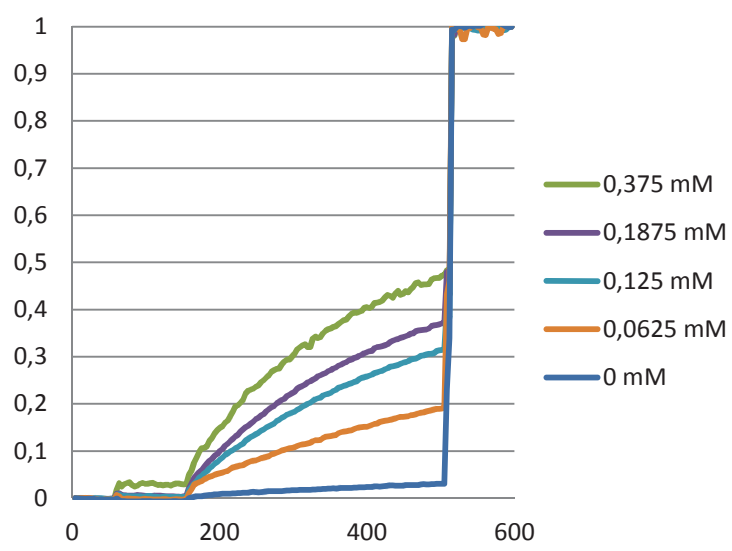
U4



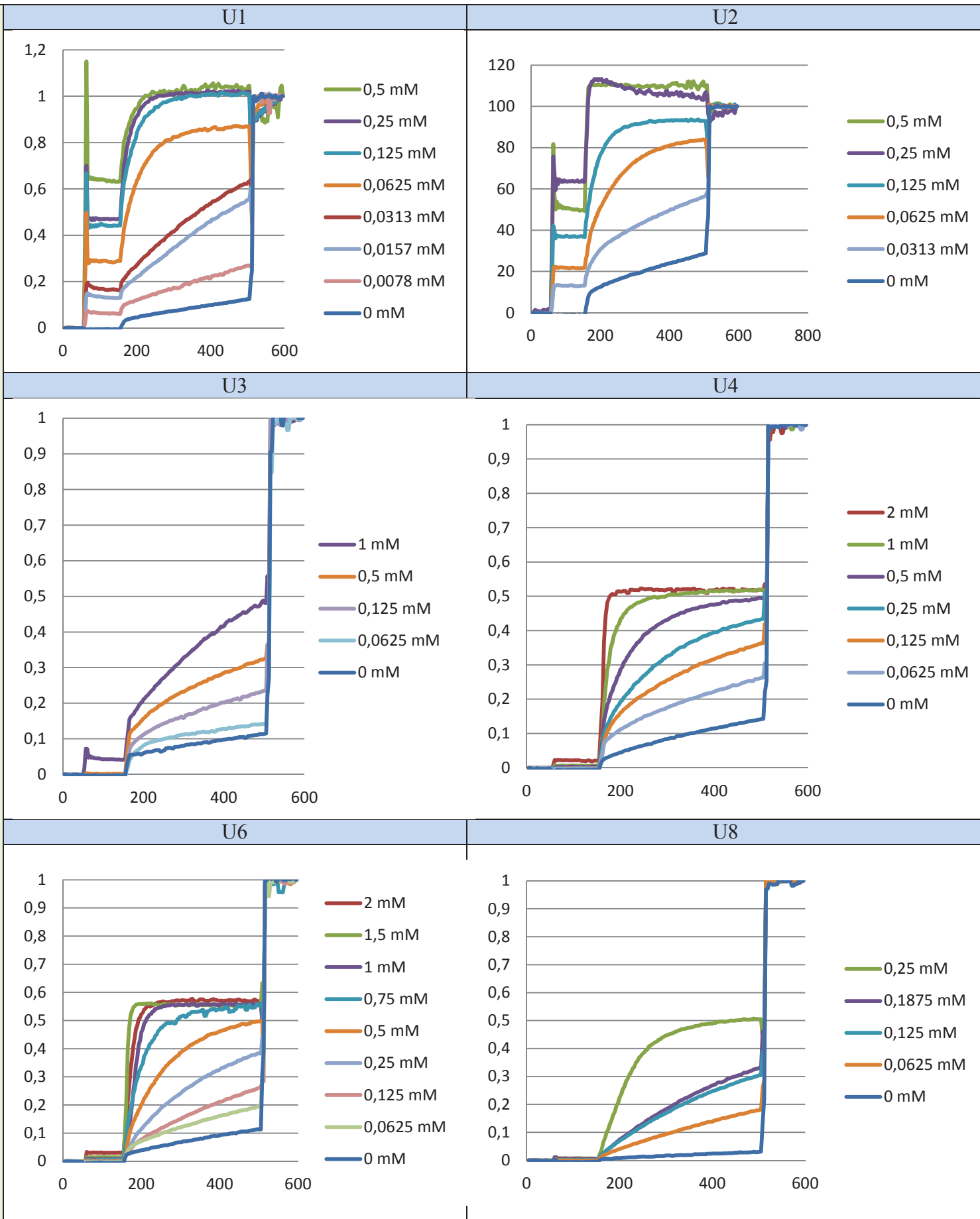
U6



U8

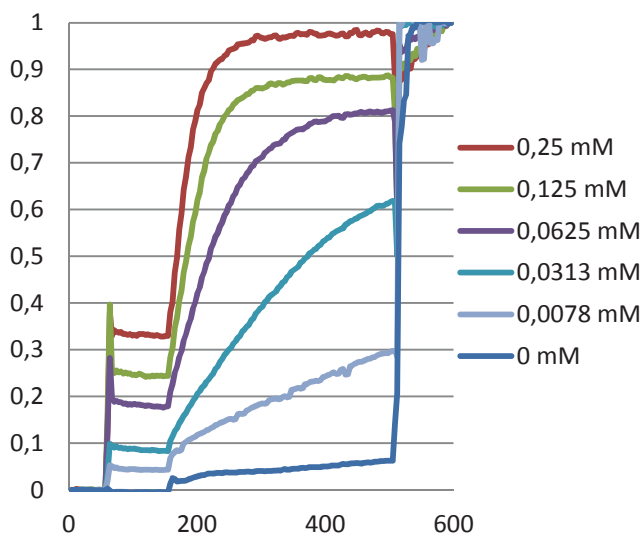


Na⁺

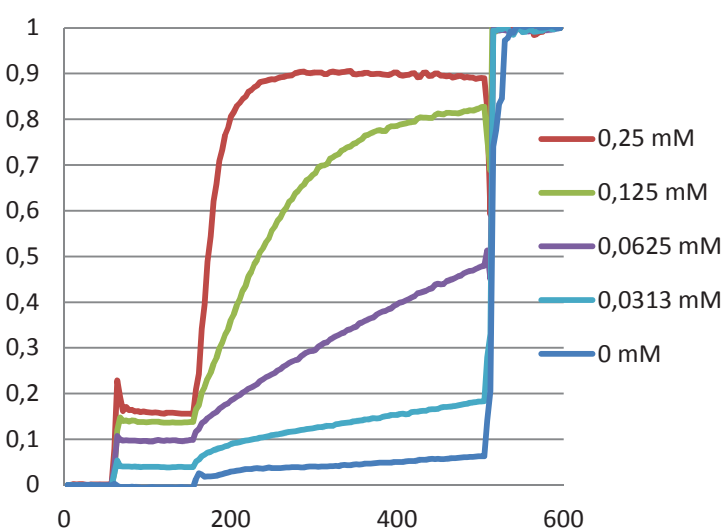


K⁺

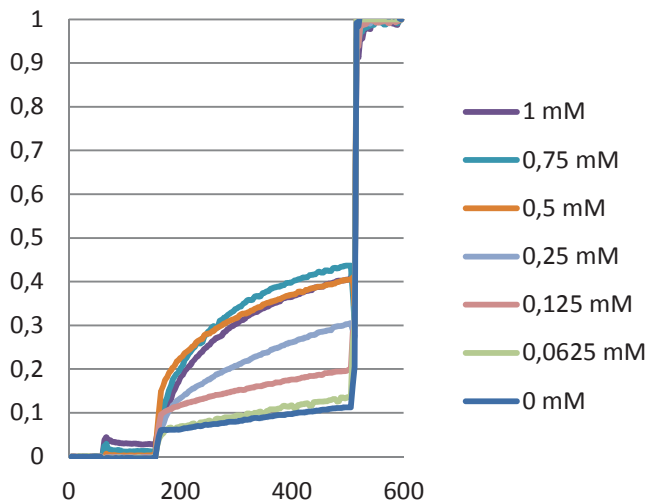
U1



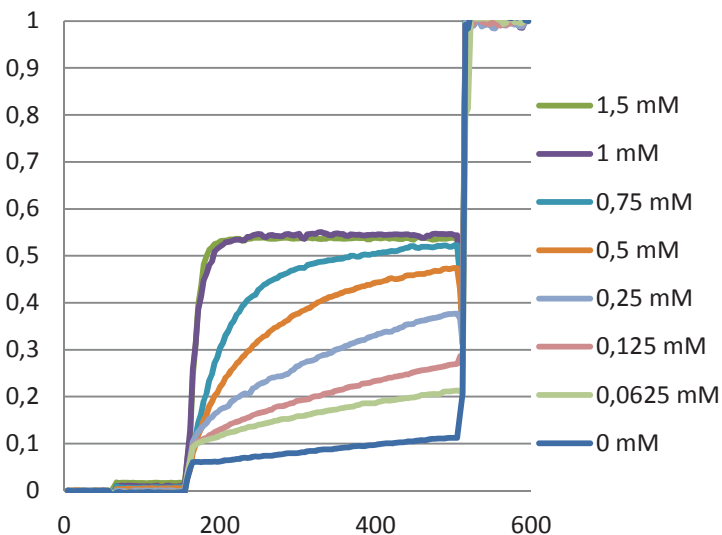
U2



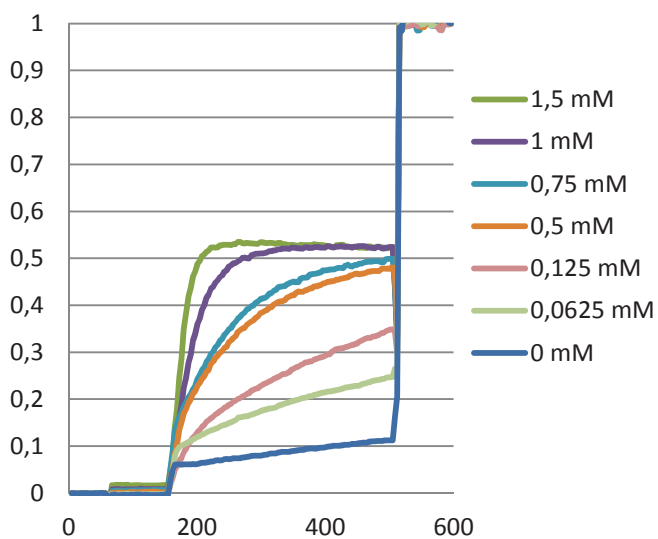
U3



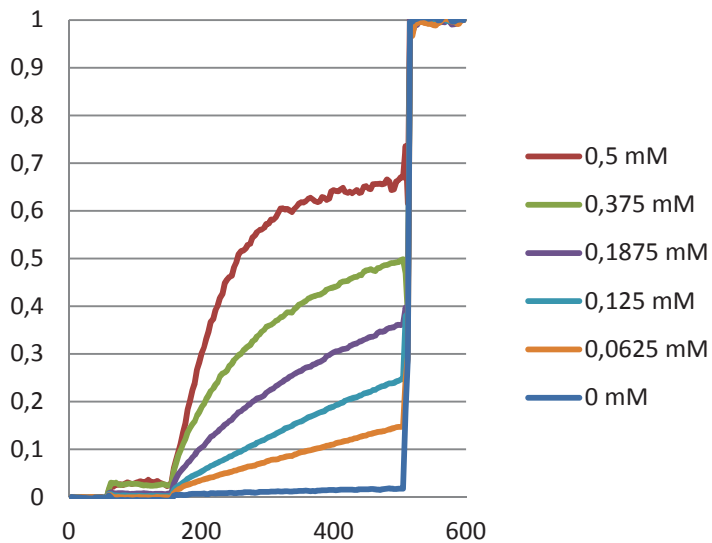
U4

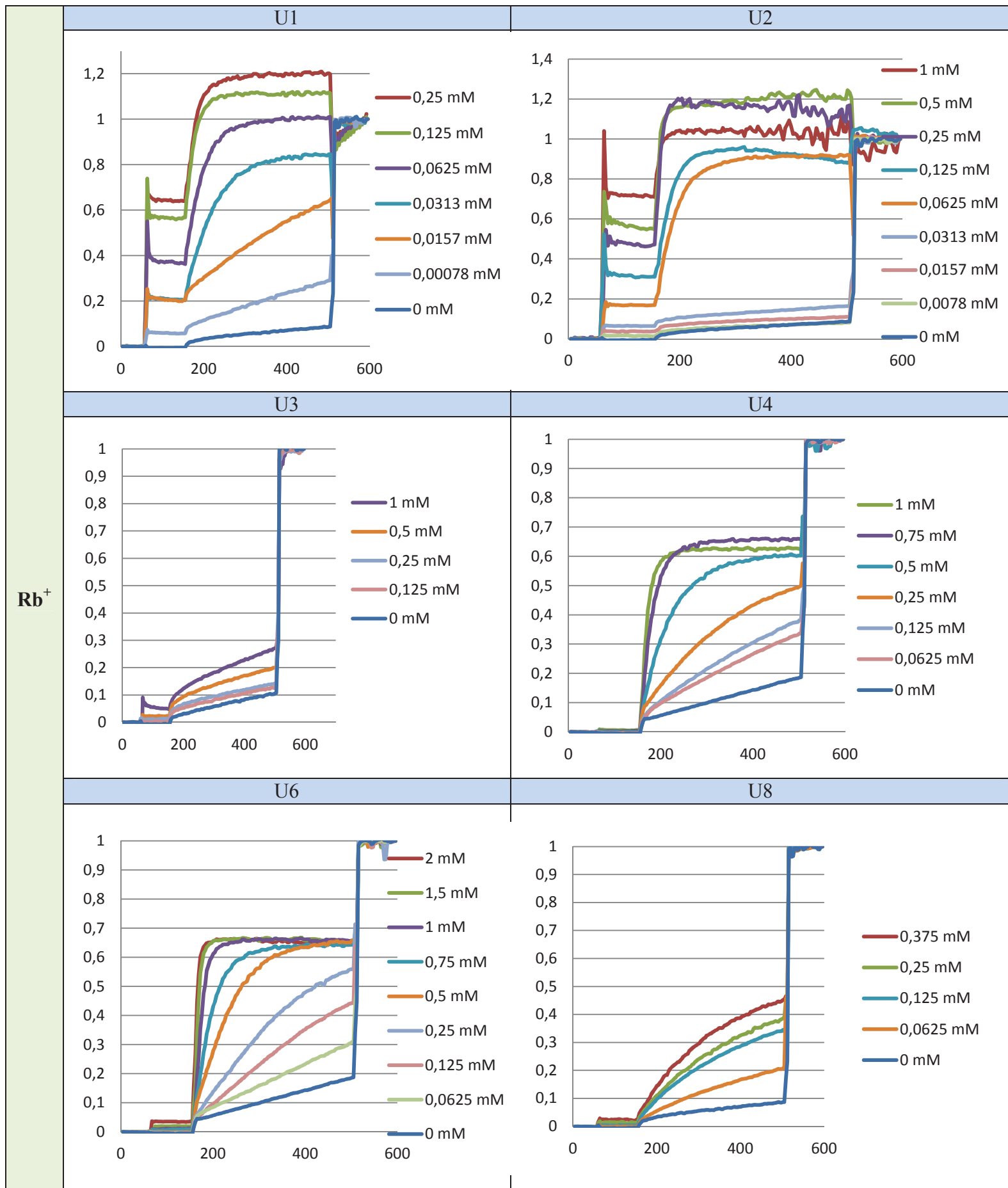


U6

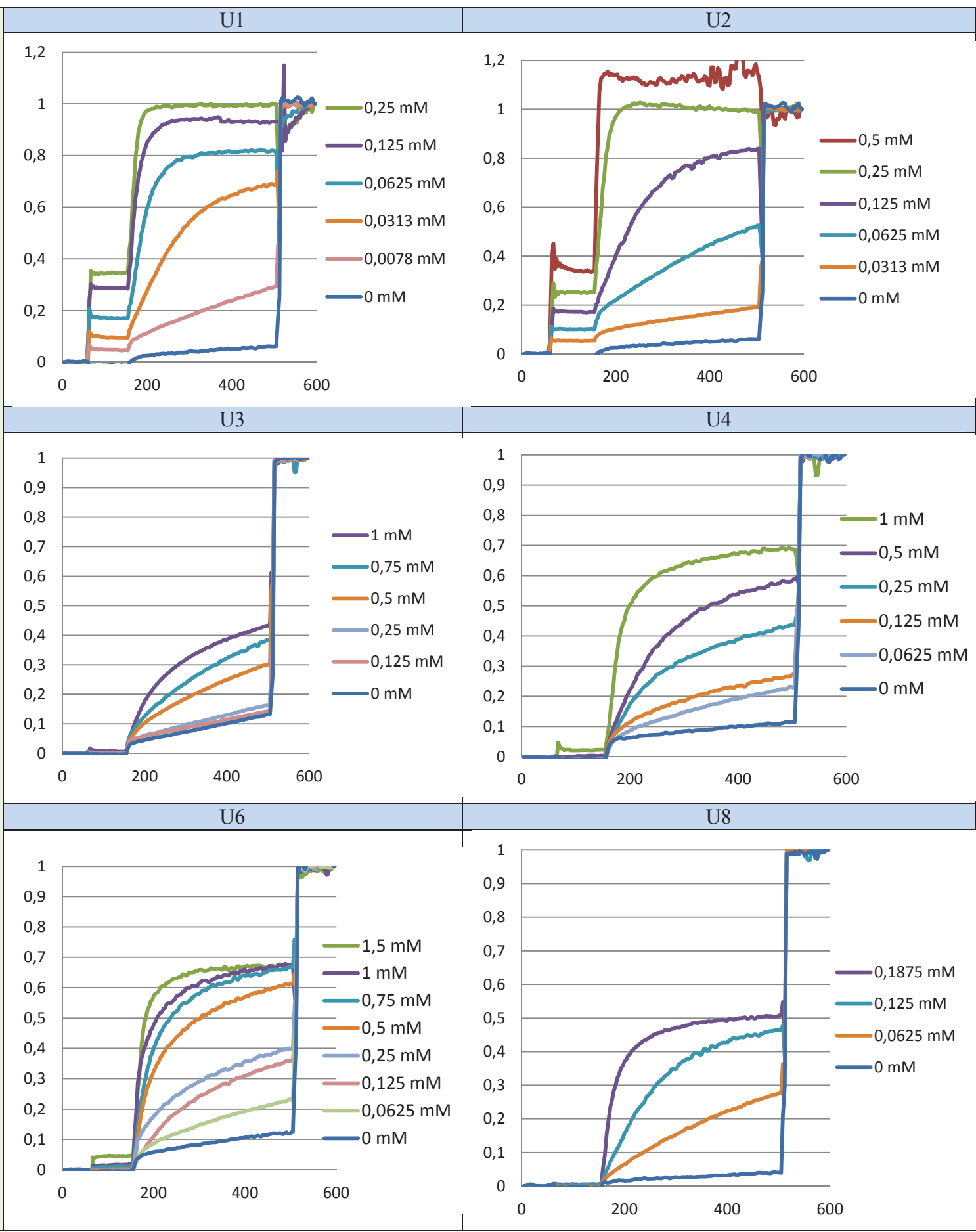


U8



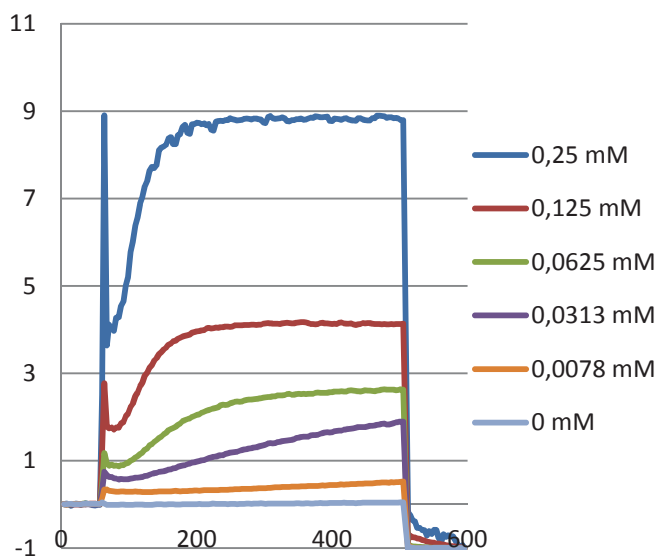


Cs⁺

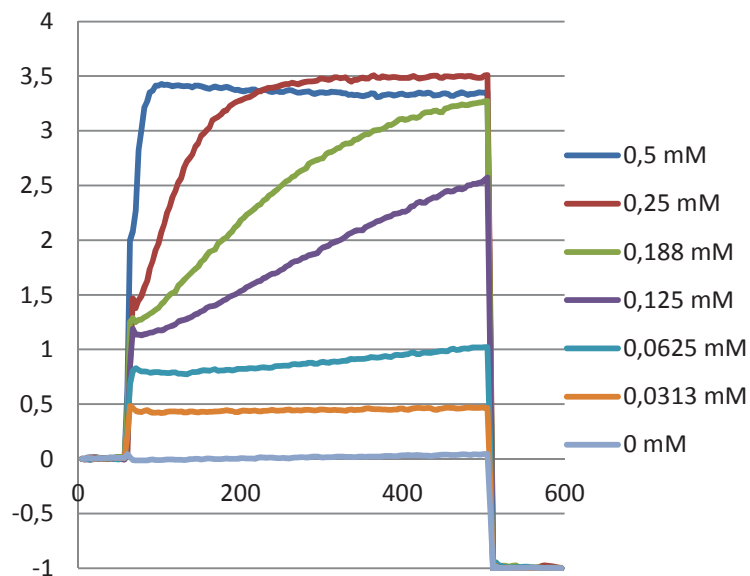


H⁺

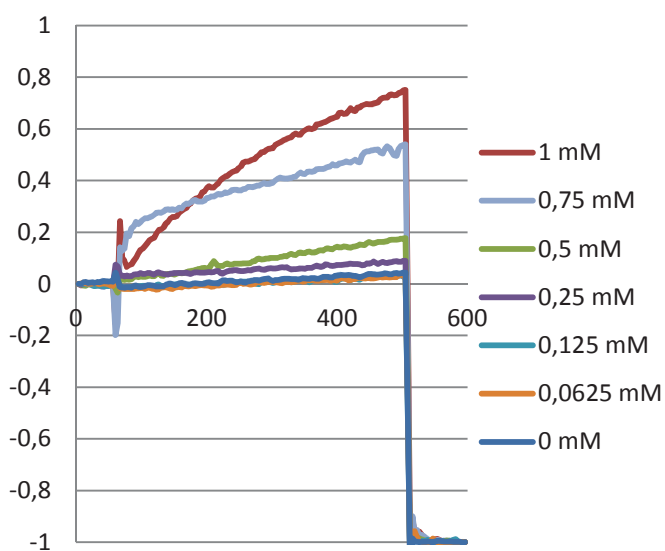
U1



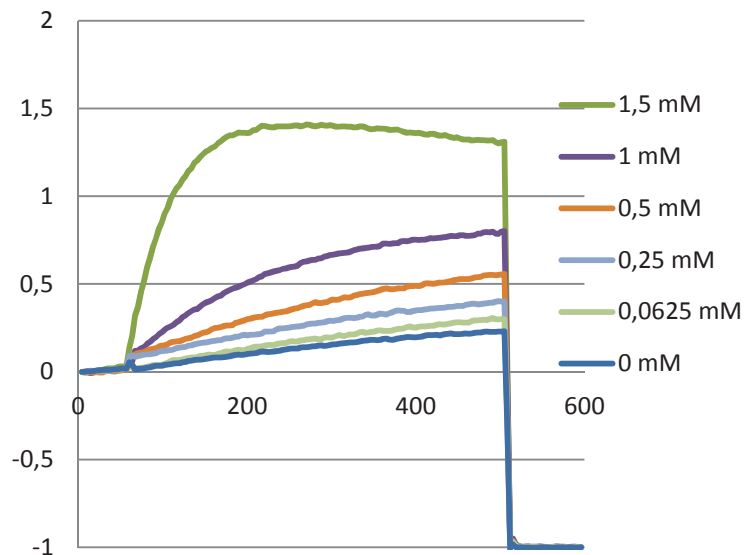
U2



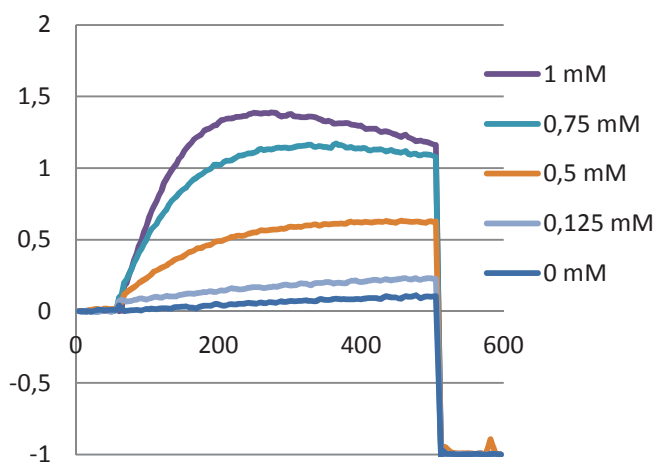
U3



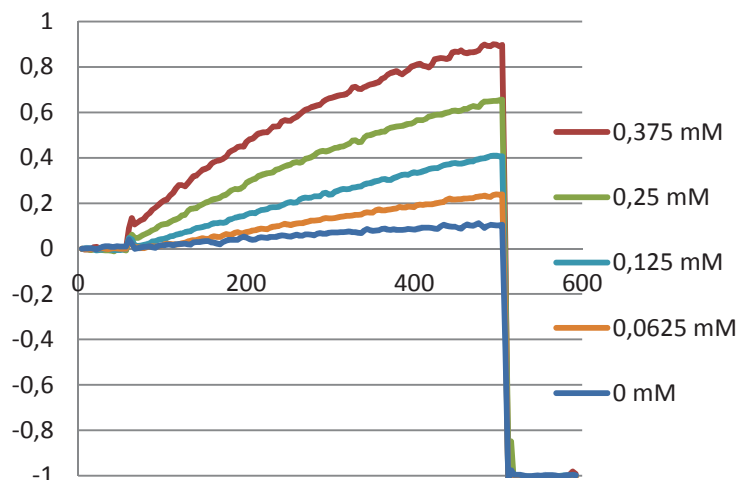
U4



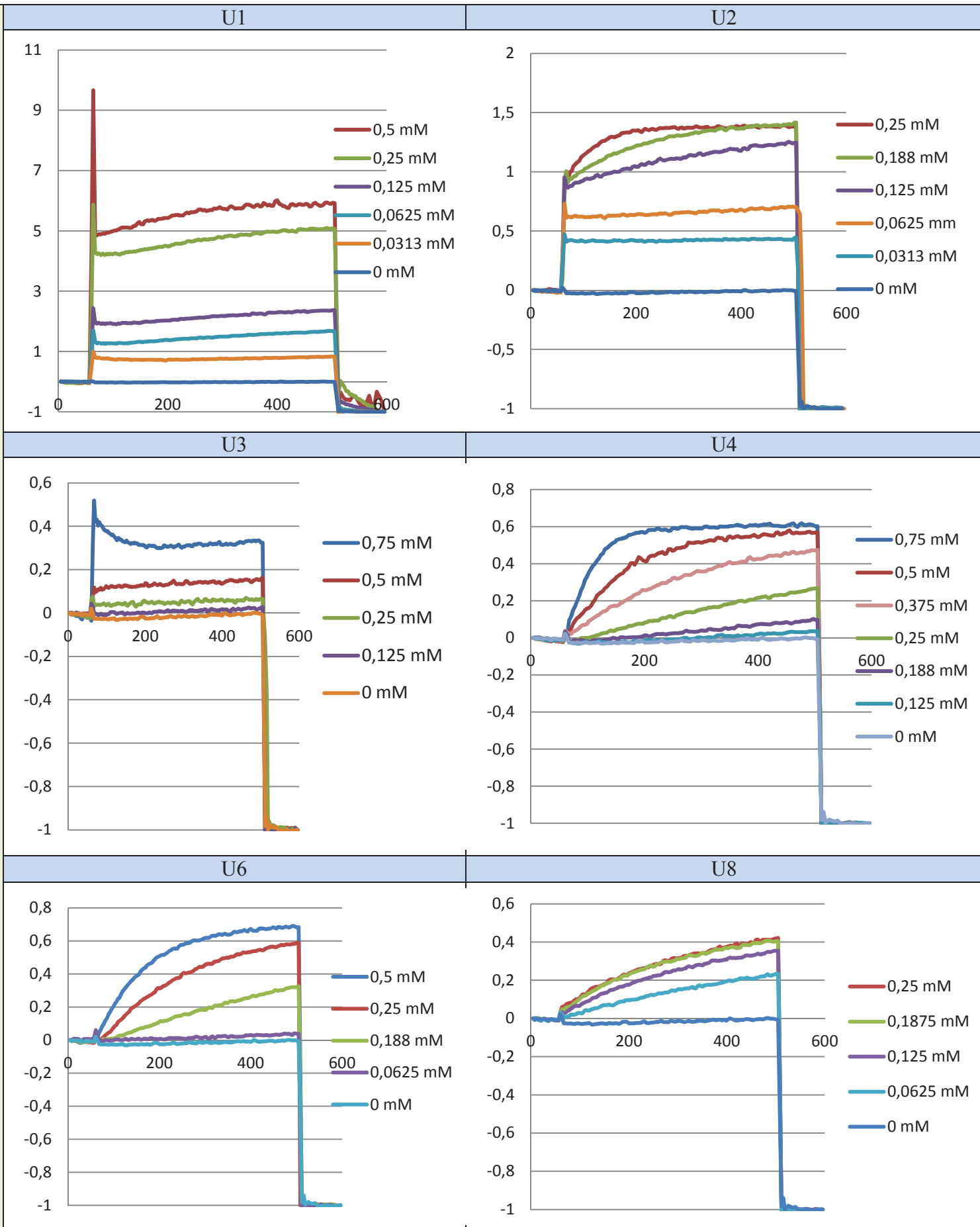
U6



U8



Cl⁻



Protocole de la technique de « Stopped-flow » pour l'étude du transport de l'eau

Pour l'étude du transport d'eau à l'aide des expériences de « Stopped Flow », nous avons tout d'abord préparé les vésicules en utilisant un mélange de L- α -phosphatidylcholine (24,2 mmoles dans CHCl_3), L- α -phosphatidylsérine (6,04 mmoles, 18,6 mg dans CHCl_3) et cholestérol (3 β -Hydroxy-5-cholestène, 5-Cholestène-3 β -ol, 30,3 mmoles, 5 mg) en rapport molaire de 4:1:5. Les trois composantes ont été solubilisées dans un mélange de $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 1:1 (dans un volume total de 5 mL). La solution a été évaporée sous pression réduite et le film obtenu a été séché sous vide poussé pendant 2h. Le film lipidique obtenu a été ensuite hydraté dans 1mL de tampon phosphate (10 mM Na_3PO_4 à un pH de 6,4, **contenant 200 mM sucrose**) pendant 40 min. Après l'hydratation, la solution a été soumise à 5 cycles de congélation/décongélation (azote liquide/eau à température ambiante). La suspension de vésicules multilamellaires larges (LMVs) obtenue (1 mL) a été extrudée à grande pression à température ambiante (21 extrusions à travers une membrane de polycarbonate de 0,1 μm de diamètre de pores), afin d'obtenir des vésicules unilamellaires larges (LUV, ou vésicules monodisperses) de 100 nm de diamètre. La suspension obtenue a été diluée jusqu'à 7 mL dans le tampon phosphate, pour donner une solution stock d'une concentration vésiculaire de 8,61 mM (en supposant que 100% des lipides ont été incorporés dans les liposomes).

Les tests de perméabilité à l'eau ont été réalisés sur un instrument de stopped-flow (SFM3000 + MOS450, Bio-Logic SAS, Claix, France). L'exposition des vésicules à un osmolyte hypertonique ou hypotonique (contenant, respectivement, 400 et 0 mM sucrose dans une solution de PBS de 10 mM à pH 6,4) détermine le rétrécissement ou le gonflement des vésicules, initiés par la **différence du gradient osmotique**. Les changements dans la dispersion de la lumière ont été enregistrés à une longueur d'onde de 345 nm.

Pratiquement, 100 μL de la solution de vésicules préparée ont été dilués dans 1,88 μL d'une solution isotonique de tampon phosphate (10 mM, pH 6,4) contenant une concentration connue de sucrose (100 mM ou 200 mM). Un aliquot de 20 μL du composé actif aux différentes concentrations a été injecté. L'échantillon est laissé pendant 30 min, pour permettre aux canaux de se former (incubation). Ensuite, l'échantillon contenant les vésicules et les canaux préformés est chargé dans un des réservoirs de l'instrument. Une solution du même tampon mais d'une osmolarité différente (+ ou -100 mOsm) est chargée dans un autre réservoir de l'instrument.

Liste des figures

<i>Figure 1 : Illustration des principes de la chimie supramoléculaire (complémentarité et sélectivité) pour obtenir des structures et des fonctions supramoléculaires</i>	2
<i>Figure 2 : Structure de la membrane cellulaire, on retrouve des protéines membranaires intégrales ou périphériques des sucres ou des lipides</i>	7
<i>Figure 3 : Modalités d'organisation des molécules amphiphiles (molécule centrale) : A-micelle cylindrique, B-micelle, C-bicouche lipidique, D-liposome ou E-micelle inverse, en fonction des paramètres tels la concentration, la température ou la géométrie de l'amphiphile</i>	8
<i>Figure 4 : Illustration de différents types de transport à travers les membranes : actif à l'aide de transporteurs ou pompes qui fournissent l'énergie, passif à travers les pores (d'une façon non sélective) et passif à travers les canaux ioniques (passage sélectif, bloqué ou initié)</i>	10
<i>Figure 5 : Mécanismes naturels rencontrés dans les systèmes de transport : (a) Valinomycine ou Lasalocide (transport passif), (b) Gramicidine (transport passif), (c) Amphotéricine B (transport passif à travers des canaux) et (d) Melittine (agents destructifs)</i>	11
<i>Figure 6 : La molécule circulaire de la Valinomycine contenant des liaisons ester et amide et des chaînes latérales hydrophobes (A), la Valinomycine, enveloppe étanche autour d'un ion potassium, vue d'en haut (B), et vue latérale (C)</i>	12
<i>Figure 7 : Structure du canal de la Gramicidine A et les deux états possibles au sein de la membrane plasmique¹⁰</i>	13
<i>Figure 8 : Mécanisme de la perméabilisation de la membrane cellulaire par l'Amphotéricine B après attachement à l'ergostérol</i>	14
<i>Figure 9 : Représentation cristallographique de la protéine M2 du virus de l'influenza A. On observe le quartet d'imidazoles de l'acide aminé His³⁷, qui constitue le passage sélectif pour les protons¹⁹</i>	15
<i>Figure 10 : Structure tétramère de l'ion potassium KcsA. Les cations K⁺ sont représentés en jaune.</i>	16
<i>Figure 11 : Passage de l'eau à travers Aqp1 en fil unimoléculaire comportant trois fonctions importantes : la restriction stérique, la répulsion électrostatique et la réorientation du dipôle des molécules d'eau²³</i>	17
<i>Figure 12 : Gramicidine modifiée avec un éther couronne</i>	20
<i>Figure 13 : Transport passif à travers les membranes par symport (A) ou antiport (B) dans le cas des pores et des canaux ioniques</i>	22
<i>Figure 14 : Représentation schématique de l'auto-assemblage des baguettes rigides, décorées par des peptides</i>	24
<i>Figure 15 : Canal hydrophile dans la bicouche lipidique. Le substituant alkyle terminal de la tête polaire peut être de nature différente</i>	25
<i>Figure 16 : Auto-assemblage des composés uréido éthers-couronnes</i>	26
<i>Figure 17 : Nanotube de carbone hydrophobe qui permet le passage de l'eau en fil unimoléculaire</i> .	27
<i>Figure 18 : Dipeptide dendritique utilisé pour la création de pores hélicoïdaux par auto-assemblage</i>	27
<i>Figure 19 : Représentation schématique du passage des molécules d'eau à travers le canal formé par I4⁵²</i>	28
<i>Figure 20 : Le canal-T. Structure cristallographique et insertion dans la membrane vésiculaire (A), le canal formé à l'état solide par la structure supramoléculaire (B)⁵⁴</i>	29
<i>Figure 21 : Unité synthétique (4) et auto-assemblage (3) pour former des cylindres pentamères grâce aux liaisons hydrogène inter-moléculaires qui induisent la formation des structures tubulaires⁵⁵</i>	30
<i>Figure 22 : Représentation des aquafoldamères : a) structure des aquafoldamères avec une cavité intérieure de ~2,8Å, définie par les protons du groupement amide ; b) assemblage intermoléculaire du</i>	

<i>composé 1a ; c) groupements fonctionnels complémentaires (ester et Cbz) de 1b ; d) les atomes complémentaires d'oxygène et d'hydrogène sont représentés en rouge et gris, respectivement</i>	31
<i>Figure 23 : Illustration des principes de la chimie supramoléculaire appliqués aux interactions faibles entre les monomères d'un canal synthétique : l'ensemble est fonctionnel, stable, pouvant être défait à la fin du transport (processus réversible)</i>	32
<i>Figure 24 : Structure et fonctionnement de l'HPTS inséré dans la vésicule (à gauche) et structures des différentes sondes fluorescentes</i>	37
<i>Figure 25 : Le HPTS et sa base conjuguée avec les longueurs d'onde d'excitation et d'émission respectives</i>	38
<i>Figure 26 : Représentation des courbes correspondant aux intensités des longueurs d'onde d'émission pour les longueurs d'onde d'excitation à 460 nm et à 403 nm (A) et courbe obtenue par méthode ratiométrique (B)</i>	39
<i>Figure 27 : Trois étapes dans l'expérience de fluorescence : ajout de la molécule amphiphile ; transport déclenché par ajout de NaOH (traduit par l'antiport H^+/M^+) et lyse des vésicules à l'aide de Triton X100</i>	40
<i>Figure 28 : Schématisation des différents événements dans l'analyse du transport par fluorescence. A droite, le calcul de l'EC50</i>	42
<i>Figure 29 : Principe de la LS couplée au « Stopped Flow »</i>	47
<i>Figure 30 : Phénomènes de gonflement et de rétrécissement de la vésicule dans l'analyse de « Stopped Flow », lors de l'application d'un choc osmotique positif ou négatif</i>	49
<i>Figure 31 : Structuration fonctionnelle d'une molécule amphiphile utilisée dans ce projet</i>	52
<i>Figure 32 : Structure cristalline d'un composé bis-urée associé par des liaisons hydrogène intermoléculaires⁸⁵</i>	53
<i>Figure 33 : Monomère bis-urée avec des substituants méthyle et un espaceur aromatique⁹⁰</i>	54
<i>Figure 34 : Schéma de l'équilibre entre la chaîne polymère formé par auto-assemblage et les monomères libres</i>	54
<i>Figure 35 : Schéma général des réactions pour les composés mono- (en haut) et difonctionnels (en bas). Les trois segments fonctionnels de la molécule (la tête polaire, la fonction urée et l'espaceur hydrophobe) sont entourés</i>	55
<i>Figure 36 : Arrangements cristallins du composé U2 (monocristal obtenu dans le THF)</i>	60
<i>Figure 37 : Arrangements cristallins du composé U4 (monocristal obtenu dans le MeOH)</i>	61
<i>Figure 38 : Arrangements cristallins du composé U8 (monocristal obtenu dans le THF)</i>	62
<i>Figure 39 : Assemblage de plusieurs mailles du composé U8 selon l'axe b</i>	63
<i>Figure 40 : Courbes de fluorescence pour illustrer l'influence de la concentration du composé U6 sur le transport du cation Rb^+</i>	66
<i>Figure 41 : Linéarisation de la constante de vitesse en fonction de la concentration (a) et influence de l'activité fractionnelle en fonction de la concentration (b) pour U6 (Rb^+) (le plateau de saturation est représenté par carrés rouges)</i>	67
<i>Figure 42 : Détermination du coefficient de Hill à partir de la pente de la droite obtenue en reportant le logarithmique $\log(Y)$ en fonction du $\log[U6]$</i>	68
<i>Figure 43 : Transport de l'ion sodium par U3 (à gauche) présentant une cinétique continue et U4 (à droite), avec une cinétique de type « tout ou rien »</i>	69
<i>Figure 44 : Linéarisation de la constante de vitesse k' en fonction de la concentration de U3 (a) et influence de l'activité fractionnelle Y en fonction de la concentration (b) de U3 dans le cas du transport de Na^+</i>	70

Figure 45 : Linéarisation de la constante de vitesse k' en fonction de la concentration de U4 (a) et influence de l'activité fractionnelle Y en fonction de la concentration (b) de U4 dans le cas du transport de Na^+ (le plateau de saturation est représenté par carrés rouges)	70
Figure 46 : Réponses dans le temps en fluorescence des différents ions lors de leur transport à travers l'auto-assemblage d'U3 (à gauche) et U4 (à droite) à 0,5 mM.....	71
Figure 47 : Représentations de l'activité fractionnelle (Y), en fonction de la concentration pour illustrer l'influence de la nature du composé sur le transport de cations : Li^+ (bleu), Na^+ (rouge), K^+ (vert), Rb^+ (violet) et Cs^+ (bleu clair).....	72
Figure 48 : Comparaison des activités fractionnelles pour U3, U4 et U6 à 1 mM et U8 à 0,375 mM permettant d'illustrer la sélectivité vis-à-vis des différents cations étudiés.....	73
Figure 49 : Constantes de vitesse k' obtenues pour le transport de différents cations pour les composés U3, U4 et U6 à 0,5 mM. U8 est illustré à 0,375 mM sur cette comparaison.....	74
Figure 50 : Représentation tridimensionnelle montrant les valeurs du coefficient de Hill pour les différentes molécules et différents cations alcalins transportés.....	75
Figure 51 : Représentation tridimensionnelle montrant les valeurs d' EC_{50} observées pour différentes molécules et différents cations alcalins transportés.....	76
Figure 52 : Comparaison des activités fractionnelles obtenues lors du transport de proton (à 1mM) et de l'anion chlorure (à 0,25 mM) par les différentes molécules	78
Figure 53 : Comparaison du coefficient de Hill calculé dans le cas du transport des protons et de Cl^- pour différents composés.....	79
Figure 54 : Comparaison des valeurs d' EC_{50} dans le cas du transport des protons et de Cl^- pour différents composés	79
Figure 55 : Réponse analytique de la diffusion de la lumière pour le composé U4. Les deux courbes, bleue et verte, correspondent à la réponse en DLS des deux solutions d'osmolarité différente.....	80
Figure 56 : Perméabilité à l'eau dans des conditions à +100 mOsm (mode « rétrécissement ») pour les composés étudiés insérés dans la bicouche lipidique comparée à la perméabilité à l'eau pour les bicouches lipidiques sans composé (blanc).....	82
Figure 57 : Perméabilités à l'eau à -100 mOsm (mode « gonflement ») pour les composés étudiés insérés dans la bicouche lipidique comparée à la perméabilité à l'eau pour les bicouches lipidiques sans composé (blanc)	83
Figure 58 : Comparaison des différences de perméabilité à l'eau (en pourcentage) par rapport au blanc à +100 mOsm (orange) et à -100 mOsm (verte)	84
Figure 59 : Classification des techniques membranaires en fonction de la pression transmembranaire et de la nature des espèces filtrées	90
Figure 60 : Principes de l'osmose et de l'osmose inverse à travers une membrane semi-perméable..	91
Figure 61 : Distribution de l'eau sur terre (extrait du Courrier International no 1258 11-17 décembre 2014) – David Mc Candless (pionnier du journalisme de données, Datavision 2).....	92
Figure 62 : Unité monomère de la membrane asymétrique créée par Loeb et Sourirajan.....	96
Figure 63 : Deux configurations membranaires dans le cas des membranes intégralement asymétriques et des membranes composites à couche mince.....	97
Figure 64 : Illustration de la technique de la polymérisation interfaciale sur support	98
Figure 65 : Chronologie synthétique pour illustrer les moments clé dans l'évolution de la fabrication des membranes planes d'osmose inverse pour le traitement de l'eau	98
Figure 66 : Simulation des configurations initiale (haut) et finale (bas) de la couche de PA hydratée entre deux compartiments d'eau ¹¹¹	99
Figure 67 : Structure des chaînes polymères de polyamide-urée (A) et de polyamide-uréthane (B) .	105

<i>Figure 68 : Incorporation des TNTs dans les membranes d'osmose inverse</i>	108
<i>Figure 69 : Principe de la polymérisation interfaciale séquentielle</i>	109
<i>Figure 70 : Deux étapes dans la synthèse d'hydrazides : 1-estérification et 2-réaction avec l'hydrazine (H₂N-NH₂), intervenant dans la formation du composé H2</i>	113
<i>Figure 71 : Schéma de réaction en deux étapes pour l'obtention de A1</i>	113
<i>Figure 72 : Esters de BTC (à gauche), BTC alkylé de référence (au centre) et structure des empilements formés par les BTCs alkylés dans les alcanes</i>	116
<i>Figure 73 : Organisation cristalline du composé E (structure moléculaire en haut) : monocristal (à gauche) et empilement (à droite)</i>	117
<i>Figure 74 : Principe de la polymérisation interfaciale</i>	118
<i>Figure 75 : Types de liaisons réticulées formées dans le cas des deux réactions interfaciales</i>	120
<i>Figure 76 : Comparaison entre les techniques RMN utilisées dans l'étude des polymères</i>	122
<i>Figure 77 A: Spectres de RMN solide du ¹³C CP-MAS des polymères formés avec le TMC</i>	123
<i>Figure 78 B: Spectres de RMN solide du ¹³C CP-MAS des polymères formés avec le BTC</i>	124
<i>Figure 79 : Spectres infrarouge de TMC, H1 et HITMC</i>	127
<i>Figure 80 : Spectres infrarouge de TMC, H5 et H5TMC</i>	127
<i>Figure 81 : Spectres infrarouge de TMC, H3 et H3TMC</i>	128
<i>Figure 82 : Comparaison des spectres IR des trois polymères formés entre une hydrazide aromatique et TMC</i>	129
<i>Figure 83 : Spectre infrarouge de TMC, H7 et H7TMC</i>	129
<i>Figure 84 : Diffractogrammes des polymères HITMC, H5TMC, HITA et H2TA, H3TMC, H4TMC, H2TMC</i>	131
<i>Figure 85 : Diffractogramme de H2TMC avec les distances inter-réticulaires</i>	132
<i>Figure 86 : Diffractogrammes obtenus pour les poudres de polymères H6TMC et 2H6TMC/Zn et H7TMC</i>	133
<i>Figure 87 : Superposition des profils de dégradation pour différents polymères obtenus par PI</i>	134
<i>Figure 88 : Polymérisation interfaciale dans un tube. Le polymère se forme à l'interface toluène – eau, dû à une faible solubilité de l'hydrazide dans le toluène. Cas du HITMC, épaisseur 518 µm</i> ...	135
<i>Figure 89 : Clichés MEB de surface avec vue du côté en contact avec la phase organique (à gauche) et phase aqueuse (à droite)</i>	135
<i>Figure 90 : Polymère autosupporté formé par PI entre le CHH (H7) et TMC, d'une épaisseur de 233 µm</i>	136
<i>Figure 91 : Clichés MEB du support PSf sur PE (surface à gauche et section à droite)</i>	137
<i>Figure 92 : Dispositif pour la fabrication des polymères par polymérisation interfaciale sur support PSf/PE, fixé sur un montage en téflon</i>	138
<i>Figure 93 : Deux des structures envisagées pour l'unité fonctionnelle du polymère obtenu suite à la réaction du TMC avec une solution MPD:His : substitution (3:0) A et substitution (2:1) B</i>	141
<i>Figure 94 : Clichés MEB de la membrane MH50-50, surface (A) et section (B)</i>	142
<i>Figure 95 : Clichés MEB de la membrane MH 15-85, surface (à gauche) et section (à droite)</i>	143
<i>Figure 96 : Pilote de filtration frontale en continu avec recirculation</i>	148
<i>Figure 97 : Intérieur du module avec la membrane avant d'être fixée dans la composante de filtration du pilote de filtration en continu</i>	148
<i>Figure 98 : Cellule Sterlitech™ HP4750 avec agitation pour filtration frontale</i>	148
<i>Figure 99 : Droite de calibration de la concentration (mol/L) en fonction de la conductivité de la solution (µS) pour la détermination de la concentration en sel dans le perméat</i>	149
<i>Figure 100 : Etude de perméabilité de la membrane vierge (PSf / PE)</i>	149

<i>Figure 101 : Dépendance graphique épaisseur de la couche – perméabilité pour la deuxième classe des membranes</i>	152
<i>Figure 102 : Valeurs de la réjection de sel (%) pour les membranes de la première série</i>	152
<i>Figure 103 : Paramètres expérimentaux pour la fabrication des membranes</i>	155
<i>Figure 104 : Comparaison de la perméabilité à l'eau des membranes aliphatiques et aromatiques monofonctionnelles</i>	163
<i>Figure 105 : Influence du degré d'hydrophilicité (angle de contact) sur la perméabilité membranaire</i>	164
<i>Figure 106 : Influence de l'épaisseur du film polymère sur la perméabilité membranaire</i>	164
<i>Figure 107 : Comparaison de la rétention de sel des membranes aliphatiques et aromatiques monofonctionnelles, calculée à 10 (barres foncées) et à 15 bar (barres claires)</i>	165
<i>Figure 108 : Comparaison des différentes membranes difonctionnelles (axe z) contenant des pourcentages différents des deux monomères (axe x) en terme de perméabilité à l'eau</i>	166
<i>Figure 109 : Influence des pourcentages des deux monomères (axe x) contenus dans les différentes membranes testées (axe z) sur le taux de rejet en sel (axe y)</i>	167
<i>Figure 110 : Comparaison des mélanges (aliph-aliph)TMC ou (arom-arom)TMC par rapport à H7TMC en termes de rétention et de perméabilité à l'eau</i>	168
<i>Figure 111 : Modèle de structuration envisagée dans le cas d'un matériau en majorité organisé (pics de diffraction) et linéairement condensé (taux de réticulation moyen)</i>	171
<i>Figure 112 : Structure du précurseur fonctionnel issu de la réaction entre l'histamine et le triéthoxysilylpropane</i>	176
<i>Figure 113 : Précurseurs moléculaires pour la synthèse du plastifiant</i>	176
<i>Figure 114 : Schéma de réaction pour l'obtention des polymères hybrides PolyTHF-urée-Histamine</i>	177
<i>Figure 115 : Polymère hybride autosupporté obtenu après traitement thermique</i>	178
<i>Figure 116 : Clichés MEB du polymère hybride : section (A) et surface (B)</i>	178
<i>Figure 117 : Appareillage et principe du dépôt en couches minces par tape-casting</i>	179
<i>Figure 118 : Images MEB des supports utilisés pour le dépôt des polymères hybrides : à PES, Polyester et Membrane Fibreuse (MF, données à titre gracieux par B.S. Hsiao).</i>	180
<i>Figure 119 : Diffractogramme aux grands angles du polymère montrant le degré de cristallinité à courte distance</i>	183
<i>Figure 120 : Spectre FT-IR en transmittance du polymère autosupporté obtenu</i>	184
<i>Figure 121 : Séparation du HPTS extra-vésiculaire par chromatographie d'exclusion stérique</i>	206

Liste des tableaux

Tableau 1 : Concentrations intra- et extracellulaires des ions	9
Tableau 2 : Récapitulatif des canaux ioniques décrits	18
Tableau 3 : Techniques d'analyse du transport ionique à travers les membranes	36
Tableau 4 : Série de molécules amphiphiles synthétisées	56
Tableau 5 : Molécules choisies pour la comparaison des activités dans le cadre du transport ionique et des molécules d'eau	64
Tableau 6 : Valeurs de la constante de vitesse $k' \cdot 10^3$ du composé U6 à 0,5 mM, de l'enthalpie d'hydratation ΔH_{hyd} , de l'enthalpie libre ΔG et du rayon ionique pour les charges transportées	74
Tableau 7 : Constantes de vitesse du transport des molécules d'eau à travers les bicouches lipidiques contenant les composés U1, U3, U4, U6 et U8	82
Tableau 8 : Structures chimiques et abréviation des monomères communément et de nouveaux monomères utilisés dans la fabrication des membranes à couche mince	103
Tableau 9 : Etude de la variation des paramètres expérimentaux dans la fabrication des membranes par polymérisation interfaciale, de l'impact de ces modifications sur la morphologie ou sur les fonctions organiques présentes en surface et répercussion sur les performances membranaires	110
Tableau 10 : Hydrazides utilisées comme précurseurs moléculaires pour la fabrication des membranes par polymérisation interfaciale	114
Tableau 11 : Série de benzène tricarboxamides synthétisées (A1-A6)	115
Tableau 12 : Déplacements chimiques (ppm) des atomes de carbone présents dans les monomères étudiés	125
Tableau 13 : Noms et différents rapports de MPD et d'histamine utilisés dans la phase aqueuse pour la réaction avec le TMC dans l'hexane dans le cas des membranes de première série, première classe	140
Tableau 14 : Paramètres expérimentaux modifiés dans le cadre de la deuxième classe de membranes de la première série	144
Tableau 15 : Clichés MEB des membranes de la première série, deuxième classe	144
Tableau 16 : Récapitulatif des performances des 12 membranes de la première série, en terme de perméabilité et rejet de sel, à 5 bars	150
Tableau 17 : Clichés MEB (6 μ m) de surface des membranes de type MH, de la première série	153
Tableau 18 : Série de membranes aliphatiques et aromatiques synthétisées	156
Tableau 19 : Différents mélanges d'hydrazides utilisés dans la phase aqueuse (concentration massique totale de 2%) pour les membranes diaminées	157
Tableau 20 : Clichés MEB (surface et section) des membranes aliphatiques H1TMC et H5TMC	158
Tableau 21 : Images MEB des membranes aromatiques H2TMC, H4TMC, H6TMC et H7TMC	159
Tableau 22 : Clichés AFM de 11 membranes fabriquées par rapport au support vierge de PSf	160
Tableau 23 : Comparaison des angles de contact des membranes évaluées	162
Tableau 24	182