

**UNIVERSITE DE LIEGE**

**Faculté des Sciences – Département de Chimie**

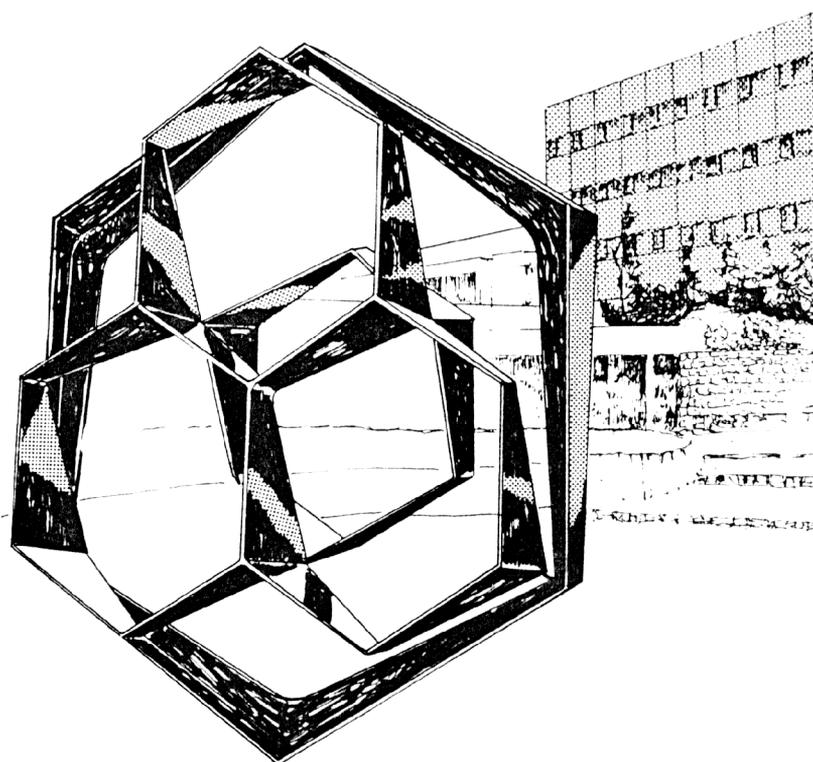
---

**Laboratoire de Spectrométrie de Masse**

**Professeur E. De Pauw**

---

**Caractérisation et Dissociation du Complexe  
Hydrosoluble C<sub>60</sub> : ( $\gamma$ -cyclodextrine)<sub>2</sub> par  
Spectrométrie de Masse**



---

Mémoire présenté par

**Sam Kyritsoglou** pour

l'obtention du grade de

Licencié en Sciences Chimiques

Année Académique 2004-2005

---

***Je tiens à remercier les personnes qui m'ont permis de réaliser ce mémoire :***

***Tout d'abord Jean-François Greisch qui m'a encadré pendant ce travail et m'a montré comment réaliser des miracles en une journée***

***A Thomas Delforge, qui est un exemple de soin et d'organisation dans son travail***

***Aux membres du laboratoire, qui ont rendu ce séjour agréable et fructueux***

***A M. De Pauw, pour la proposition du sujet de mémoire, la mise à disponibilité du spectromètre de masse, ainsi que ses remarques pertinentes et enthousiastes***

## ***Abréviations***

Ci-dessous, la liste des abréviations utilisées dans le cadre de ce présent travail :

$\Delta H$	variation d'enthalpie
$\Delta S$	Variation d'entropie
ADN	acide désoxyribonucléique
amu	unité de masse atomique; $1 \text{ amu} = 1,6605402 \cdot 10^{-27} \text{ kg}$
CDX	cyclodextrine
CID	Collision-Induced Dissociation; dissociation induite par collision
DMF	DiMéthylFormamide
ESI	ElectroSpray Ionisation; ionisation par électronébulisation capillaire
FAB	Fast Atom Bombardment; bombardement d'atomes rapides
m/z	Rapport masse sur charge
MADLI	Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization; désorption ionisation laser assistée par matrice
MCP	MicroChannel Plate; plans à microcanaux (détecteur)
MS	Spectrométrie de masse
MSMS	Spectrométrie de masse en tandem
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
SIDA	Syndrome de l'ImmunoDéficiency Acquis
u.a.	unité arbitraire

# I.Introduction

## 1. Généralités

Le buckminster fullerène ou fullerène[60], aussi appelé buckyball (figure 1), appartient à la troisième forme allotropique du carbone, les deux premières étant le graphite et le diamant. Il existe plusieurs composés similaires au  $C_{60}$  comme le  $C_{70}$ , le  $C_{76}$  et le  $C_{84}$ . Ces quatre fullerènes sont disponibles commercialement à des prix allant de 0,13 € à 195,7 € par mg pour une pureté de 98%.

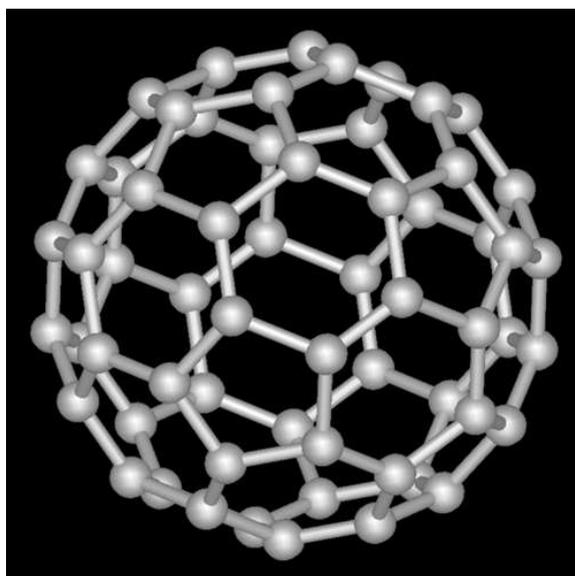


Figure 1 : le fullerène[60]  
(<http://en.wikipedia.org/wiki/Image:Fullerene-C60.png>)

Les événements ayant conduit à l'étude et au développement d'applications basées sur les fullerènes débutent en 1970 avec la suggestion par Kagaku E. Osawa, lors d'une discussion sur l'aromaticité, de l'existence d'une molécule symétrique constituée exclusivement d'atomes de carbone, assemblés comme un ballon de football. Suivent, en 1973 et en 1980, deux publications sur le calcul des niveaux d'énergie du  $C_{60}$  par la méthode de Hückel<sup>ii,iii</sup>.

Expérimentalement le  $C_{60}$  fut mis en évidence pour la première fois en 1985 à la Rice University, Houston (USA) au sein du service du professeur Robert Curl sur base d'une idée du professeur Harry Kroto de l'University of Sussex, Brighton (United Kingdom). Ce dernier était à l'époque intéressé par la formation de chaînes de carbone dont l'étude faisait l'objet d'une collaboration avec l'équipe du professeur Curl. L'expérience ayant conduit à la mise en évidence du  $C_{60}$  fut réalisée par Jim Heath et Sean O'Brien sur une machine développée par Richard Smalley.

L'expérience consistait en la vaporisation de carbone graphite au moyen d'un laser pulsé et ce, à l'intérieur d'un cône supersonique d'hélium<sup>iv</sup>. Dans ces conditions, les atomes de carbone peuvent former des chaînes linéaires, des cycles, des clusters et, ainsi que découvert, des fullerènes. La technique d'analyse initiale était la spectrométrie de masse à temps de vol. La découverte du  $C_{60}$  valu à Robert Curl, Harry Kroto et Richard Smalley le prix Nobel de Chimie<sup>v</sup> en 1996.

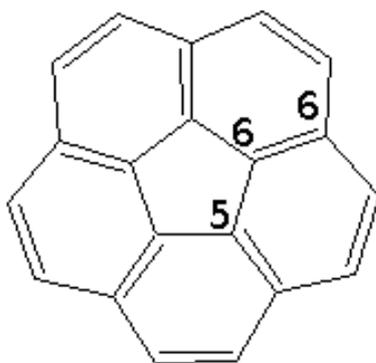
Ce n'est toutefois qu'après le développement en 1990 par Krätschmer et al.<sup>vi</sup> d'une technique permettant la production de quantités macroscopiques de  $C_{60}$  que l'étude de celui-ci et des fullerènes prit son essor. La technique développée par Krätschmer est toujours actuellement la source principale de fullerènes et consiste à induire un arc électrique entre deux électrodes de carbone en présence d'un gaz inerte. Les fullerènes sont alors extraits par séparation chromatographique de la suie ainsi produite.

C'est l'architecte Buckminster Fuller qui, suite à la réalisation du dôme géodésique de l'exposition universelle de Montréal en 1967, a donné son nom à cette famille de composés chimiques.

Le  $C_{60}$  est constitué d'un assemblage de 20 hexagones et de 12 pentagones, agencés de telle sorte que ces derniers ne soient pas adjacents. Les atomes constituants sont tous équivalents avec comme conséquence que le groupe de

symétrie est  $I_h$  (groupe de l'icosaèdre, polyèdre régulier à 20 faces). Enfin, contrairement à d'autres fullerènes, le  $C_{60}$  ne comporte qu'un seul isomère.

Une conséquence de l'agencement des hexagones et pentagones est la non aromaticité du  $C_{60}$ . Les électrons  $\pi$  sont localisés sur les liaisons 6,6 sans possibilité de délocalisation sur l'ensemble de la molécule (figure 2). Ceci résulte de la présence des pentagones. En conséquence, les liaisons entre les hexagones et dans les pentagones ne sont pas de même longueur et leurs hybridations sont différentes<sup>vii</sup>.



*Figure 2 : un pentagone entouré des cinq hexagones; il n'est pas possible de placer de doubles liaisons sur le pentagone. Les liaisons partagées par deux hexagones sont appelées 6-6 et celles des pentagones 5-6.*

## 2. Mise en solution du fullerène[C<sub>60</sub>]

La solubilité est régie par deux grandeurs thermodynamiques<sup>viii</sup> : la variation d'enthalpie ( $\Delta H$ ) et la variation d'entropie ( $\Delta S$ ). La variation d'entropie, grâce à l'entropie de mélange, est toujours<sup>1</sup> positive et favorise ainsi la solubilisation. Par contre, la variation d'enthalpie dépend de la nature des interactions entre le soluté et le solvant. Des interactions conduisant à un  $\Delta H$  négatif favorisent la solubilisation

Dans le cas de la solubilisation du C<sub>60</sub> dans l'eau, le  $\Delta H$  est positif et donc la solubilisation est défavorable enthalpiquement. En effet, la somme de la contribution des interactions entre le C<sub>60</sub> et une molécule d'eau est nettement inférieure à la moitié de la somme des contributions des interactions entre deux molécules d'eau et entre deux molécules de C<sub>60</sub>. Le  $\Delta H$  étant suffisamment positif, le gain entropique lié à la solubilisation est négligeable : ceci explique l'hydrophobicité du C<sub>60</sub>.

Le C<sub>60</sub>, de par sa symétrie conduisant à la compensation de tous les moments dipolaires, est une molécule apolaire. L'absence d'atomes d'hydrogène limite, de plus, la formation de liaisons hydrogène avec l'eau.

Sur base de mesure de solubilité du C<sub>60</sub> dans des alcools linéaires, la solubilité du C<sub>60</sub> dans l'eau à 25°C a été estimée égale à  $10^{-24}$  mol par litre. Cette valeur est le résultat de l'extrapolation de la solubilité du C<sub>60</sub> dans un alcool présentant un nombre d'atomes de carbone nul. Autant dire que fullerène[60] est absolument insoluble dans l'eau. Par contre, il est largement soluble dans les solvants peu polaires comme le toluène ou l'*ortho*-dichlorobenzène. Pour ces solvants, la solubilité<sup>ix</sup> est respectivement de  $(3,6 \pm 0,5) 10^{-3}$  et  $(3,4 \pm 0,2) 10^{-2}$  mol par litre à 25°C.

---

1 Dans la cas où le soluté adopte un agencement régulier avec le solvant, l'entropie de mélange peut être très faible.

### **3. Intérêt de la solubilisation du fullerène [C<sub>60</sub>]**

Le C<sub>60</sub> présente nombre de caractéristiques physico-chimiques, biologiques, ... intéressantes. Il a ainsi été mis en évidence le caractère inhibiteur du C<sub>60</sub> pour certaines réactions enzymatiques. Tokuyama et al. ont par exemple montré que l'activité de la trypsine est inhibée en présence de certains dérivés du C<sub>60</sub>. Sous l'effet d'une irradiation lumineuse, certains dérivés du C<sub>60</sub> induisent un clivage sélectif de l'ADN<sup>x</sup>. Le C<sub>60</sub> présente encore des propriétés intéressantes pour la lutte contre certains virus. Une étude de Friedman et al.<sup>xi</sup> a montré la correspondance entre la taille de la cavité apolaire du site actif enzymatique du virus HIV-1 et celle du C<sub>60</sub> et, comme le confirme des résultats expérimentaux, le C<sub>60</sub> apparaît comme prometteur dans la lutte contre le virus du SIDA<sup>xi</sup>.

Bien sûr, les applications des fullerènes ne sont possibles que pour les fullerènes rendus solubles en solution aqueuse.

### **4. Techniques utilisées pour solubiliser le fullerène [C<sub>60</sub>]**

Diverses approches peuvent être utilisées pour solubiliser du C<sub>60</sub> dans l'eau. Parmi celles-ci, les deux principales sont la modification chimique par ajout de groupements hydrophiles et la complexation par des molécules polaires.

## La fonctionnalisation

La réactivité du  $C_{60}$  s'explique dans une large mesure par son affinité électronique de  $2,7 \pm 0,1 \text{ eV}^{\text{xii}}$ . Ceci explique l'aisance du  $C_{60}$  à capturer des électrons<sup>xiii,2</sup> et à interagir avec des radicaux ou des groupes nucléophiles. Les réactions radicalaires sont toutefois peu sélectives et difficiles à limiter. En effet, les espèces radicalaires sont très réactives, rendant impossible le contrôle du nombre d'additions et leur éventuel positionnement. Les radicaux peuvent, de plus, facilement réagir entre eux. Enfin, le milieu réactionnel nécessite une absence totale d'oxygène et d'eau.

Dès lors, l'une des approches synthétiques les plus utilisées pour fonctionnaliser le  $C_{60}$  est le recours à des réactions nucléophiles. Le fullerène [60] étant un accepteur d'électrons, sa réactivité vis-à-vis de groupements nucléophiles, riches en électrons, est importante. Le contrôle des réactions d'additions nucléophiles est plus aisé et les conditions expérimentales ne doivent pas être aussi strictes que celles des réactions radicalaires.

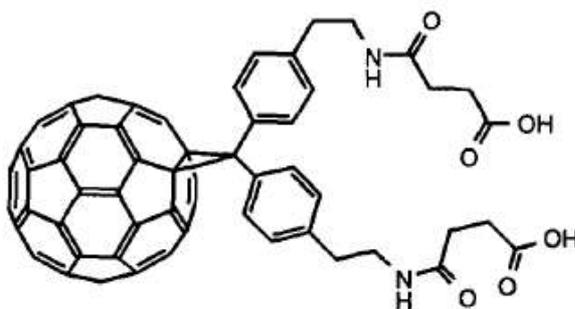


Figure 3 :  $C_{60}$  fonctionnalisé<sup>xi</sup>

Divers groupes fonctionnels sont utilisés pour la solubilisation du  $C_{60}$ . La figure 3 illustre le cas d'une chaîne carbonylée portant des groupes hydrophiles dont des acides carboxyliques. Ce composé est suffisamment soluble pour être utilisé

2 L'observation de l'anion monochargé, est ainsi relativement aisée en spectrométrie de masse.

médicalement. Il a aussi donné des résultats intéressants dans la lutte contre le virus du SIDA<sup>xi</sup>. Dans d'autres cas, ce sont des hydroxyles ou des amidures qui sont utilisés pour la solubilisation.

## ***La complexation***

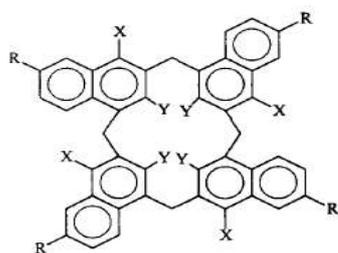
L'autre approche permettant de solubiliser le C<sub>60</sub> est sa complexation par un ou plusieurs composés polaires. Les complexes peuvent être classés essentiellement en deux catégories : les complexes non-covalents et les complexes ioniques.

- Les complexes non-covalents : la cohésion du système est assurée par les forces de Van de Waals et les liaisons hydrogènes. Les interactions entre les molécules étant faibles, les propriétés physico-chimiques du C<sub>60</sub> ne sont que partiellement modifiées. W.-Y. Tseng et al.<sup>xiv</sup> ont montré, au moyen de la RMN en phase solide, que les interactions principales entre les deux entités du complexe C<sub>60</sub> : (γ-CDX)<sub>2</sub> sont les forces de Van De Waals.
- Les complexes ioniques : un transfert de charge entre les deux entités stabilise l'ensemble. Les principales forces en action sont les interactions de Coulomb.

Afin de solubiliser le C<sub>60</sub>, il est impératif que la surface de contact entre ce dernier et la solution aqueuse soit minimale. Cet objectif peut-être atteint au moyen de complexants présentant une couronne ou une cavité apolaire suffisamment grande pour accueillir le C<sub>60</sub> en son sein. La solubilité du complexe est alors dictée par les groupes fonctionnels présents à la surface du complexe comme, les groupes hydroxyles ou ioniques dans le cas où la solubilité dans l'eau est requise.

Plusieurs laboratoires<sup>xv</sup> ont rapporté la formation d'un complexe d'inclusion à partir de diverses molécules hôtes dont la γ-cyclodextrine (figure 7), les calix [3,5,6,8]arènes (figure 9), le calix[4]naphtalène<sup>xvi</sup> (figure 4), le

cyclotrивeratrylène<sup>xvii</sup> (figure 5) et des complexes de porphyrin-metal<sup>xviii</sup> (figure 6). Les caractéristiques de certains de ces complexants sont reprises ci-après.



- 1: R = Y = H; X = OH
- 2: R = X = H; Y = OH
- 3: R = Bu<sup>t</sup>; X = H; Y = OH

Figure 4 : le calix[4]naphthalène

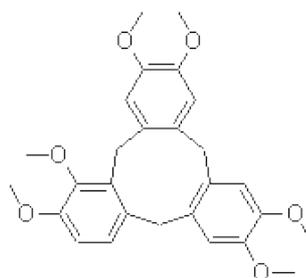


Figure 5: le cyclotrивeratrylène

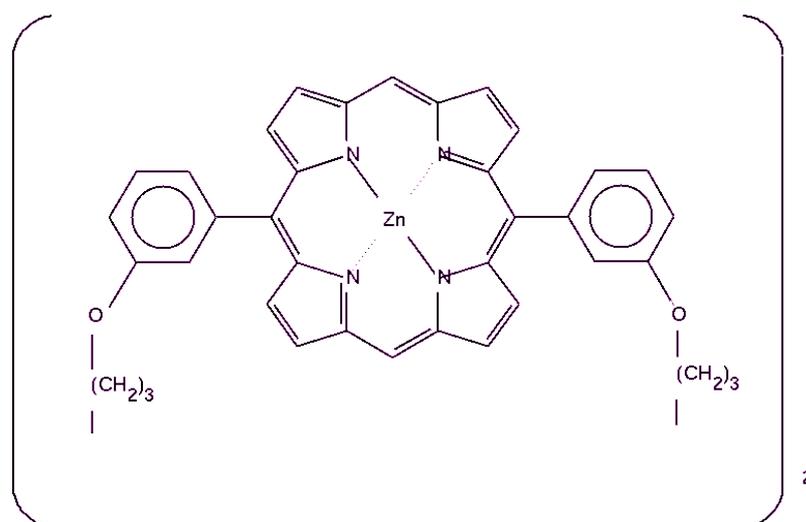


Figure 6 : un complexe métalloporphyrine

### a) Les cyclodextrines

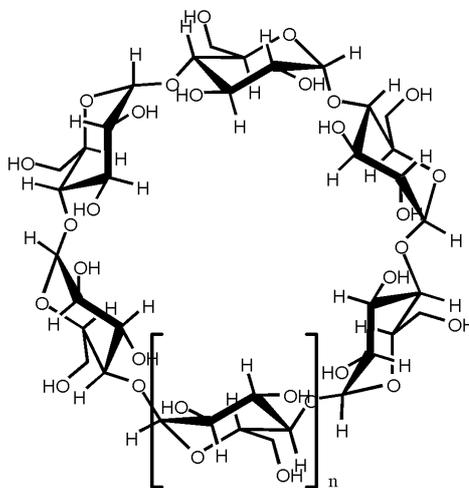


Figure 7 : la cyclodextrine.

Les cyclodextrines<sup>xix</sup> sont des oligosaccharides cycliques constitués d'unités glucopyranose. Les plus courantes sont les  $\alpha$ - ,  $\beta$ - et  $\gamma$ -cyclodextrines, comprenant respectivement 6, 7 et 8 unités monomériques. Le tableau 1 reprend certaines de leurs propriétés physico-chimiques. Les cyclodextrines présentent une toxicité négligeable lorsqu'elles sont administrées oralement mais seule la  $\gamma$ -cyclodextrine peut être utilisée lors d'une injection parentérale<sup>3</sup>.

Le champ d'application des cyclodextrines est assez large : depuis l'augmentation de solubilité de certains composés à l'utilisation comme phase stationnaire chirale en chromatographie liquide ou gazeuse, en passant par le masquage d'odeurs<sup>xx</sup>.

Les cyclodextrines forment facilement des complexes d'inclusion avec

3 Parentéral : introduction dans l'organisme d'une substance par une autre voie que la voie digestive

différents composés organiques<sup>xxi,xxii,xxiii,xxiv,xxv</sup>. Ces derniers viennent se placer dans la cavité apolaire. La stoechiométrie de ces complexes est souvent 1/1 pour les petites molécules. Par contre, si la taille de la molécule complexée augmente suffisamment, le nombre de cyclodextrines passe à 2 : ce qui est le cas avec le C<sub>60</sub>.

Un paramètre important dans la formation du complexe d'inclusion est la correspondance entre la taille de la cavité interne et les dimensions de la molécule complexée. Sur cette base, seule la  $\gamma$ -cyclodextrine est susceptible de former le complexe d'inclusion avec le fullerène[60]. En effet, celui-ci à un diamètre de 7 Å<sup>xxvi</sup> et la taille des cavités apolaires, au niveau de la grande ouverture, des  $\beta$ - et  $\gamma$ -cyclodextrines sont respectivement de 6,5 et 8,3 Å.

<b>Propriétés</b>	$\alpha$ -cyclodextrines	$\beta$ -cyclodextrines	$\gamma$ -cyclodextrines
Nombre d'unités monomériques	6	7	8
Masse moléculaire (g/mol)	972	1135	1297
Solubilité dans l'eau à 25°C (% w/w)	14,5	1,85	23,2
Diamètre externe (Å)	14,6	15,4	17,5
Diamètre de la cavité interne (Å)	4,7 – 5,4	6,0 – 6,5	7,5 – 8,3
Hauteur du tore (Å)	7,9	7,9	7,9
Volume de la cavité ( Å <sup>3</sup> )	174	262	427

Tableau 1 : données relatives aux cyclodextrines

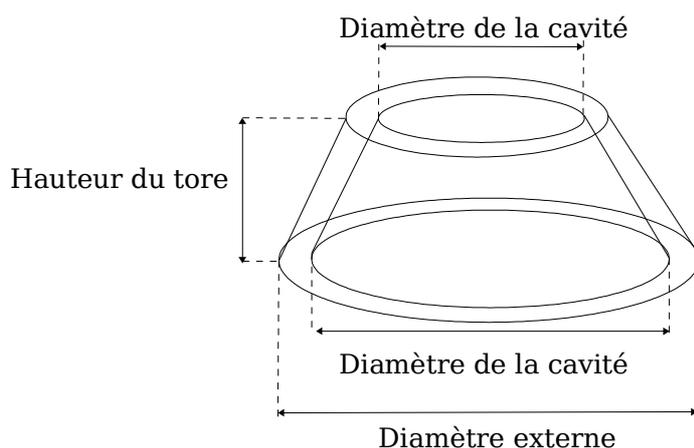


Figure 8 : Schéma d'une cyclodextrine

## b) Les calixarènes

Les calixarènes sont des polyphénols cycliques. Les unités monomériques sont reliées, en *ortho* du groupe hydroxyl, par un méthylène ( $\text{CH}_2$ ). Le nombre de phénols est indiqué dans le nom du composé (exemple : calix[6]arène).

Une des premières utilisations de la complexation du  $\text{C}_{60}$  fut l'extraction sélective<sup>xxvii</sup> de ce dernier par des calix[8]arènes d'un mélange de synthèse renfermant des fullerènes dispersés dans de la suie<sup>4</sup>. Le complexant utilisé était le *para*-terbutylcalix[8]arène (figure 9).

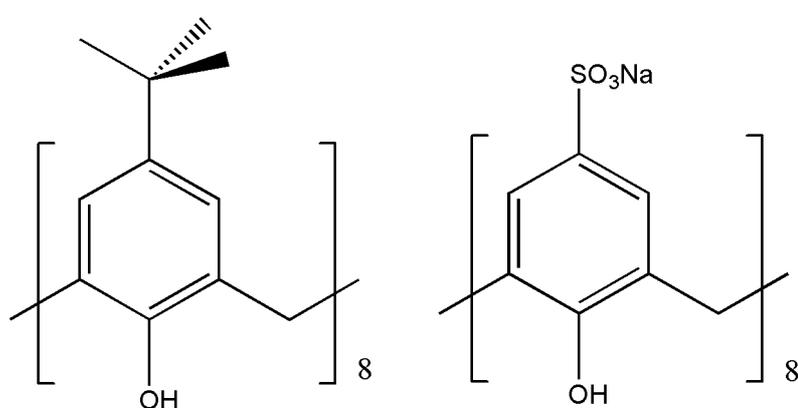


Figure 9 : *para*-terbutylcalix[8]arène et sulfocalix[8]arène. Les deux molécules complexent le  $\text{C}_{60}$  mais seule celle de droite est soluble dans l'eau.

A des fins de solubilisation du  $\text{C}_{60}$  dans l'eau par complexation, le *para*-terbutylcalix[8]arène insoluble est remplacé par son homologue, le *para*-sulfocalix[8]arène (figure 9).

4 Suie : composée de carbone amorphe ainsi que de chaînes linéaires, de cycles et de clusters de carbones.

## 5. Technique utilisée

Dans le cadre de ce travail, nous avons étudié le comportement en spectrométrie de masse du complexe d'inclusion fullerène[60] : cyclodextrines.

La formation du complexe  $\gamma$ -cyclodextrine :  $C_{60}$  a été rapportée dans plusieurs publications<sup>xxviii,xxix,xxx,xxxi</sup>, la caractérisation du complexe y étant réalisée par spectroscopie UV-visible, dichroïsme circulaire, RMN et par spectrométrie de masse à ionisation par bombardement d'atomes rapides<sup>xxxii</sup> (FAB). L'approche synthétique de la complexation mise en oeuvre dans le présent mémoire est le résultat d'une adaptation des modes opératoires disponibles.

Notre premier objectif est l'étude du complexe par spectrométrie de masse par électroébulisisation capillaire. Cette technique permet de confirmer la stoechiométrie du complexe, ainsi que de sonder les interactions entre les entités formant le complexe. Pour ce faire, nous avons procédé à des expériences de dissociation induite par collision (CID). La spectrométrie de masse permet également de déterminer où est et, dans certains cas, où va la charge. Nous discuterons ainsi d'un possible transfert de charge entre le  $C_{60}$  et son hôte. Il faut remarquer que le composé se trouve en phase gazeuse lors de ces expériences et que son comportement est nécessairement différent de celui en solution.

Un certain nombre de publications rapportent également la formation du complexe  $C_{60}$  :  $\beta$ -cyclodextrine. Toutefois, les preuves expérimentales de l'existence d'un tel complexe rapportées par ces articles sont essentiellement le résultat de mesures par spectroscopie UV-visible, souvent dans du diméthylformamide. Si la spectroscopie UV-visible peut apporter la preuve d'interactions, elle ne peut toutefois, à elle seule établir, l'existence d'un complexe stable.

Le recouvrement du  $C_{60}$  par les  $\beta$ -cyclodextrine étant partiel, le contact entre les deux cyclodextrines n'est pas possible et ces dernières ne peuvent donc pas former de liaisons hydrogène stabilisantes, ce qui pourrait être à l'origine de la non observation de ce complexe en solution aqueuse par spectrométrie de masse par électro-ébulisaison.

## II.Objectifs du mémoire

Le présent mémoire a, premièrement, pour objectif de former le complexe d'inclusion  $C_{60}$  : ( $\gamma$ -cyclodextrine)<sub>x</sub> avec  $x = 1$  ou  $2$ . Il sera procédé, dans un deuxième temps, à sa caractérisation par spectrométrie de masse à ionisation par électronébulisation capillaire.

Troisièmement, les conditions d'observation du complexe, au départ d'une solution aqueuse, seront optimisées en agissant sur les propriétés de la solution, comme la force ionique, la tension de surface. Ceci sera réalisé par ajout d'acétate d'ammonium, de méthanol, ...

Quatrièmement, une fois les conditions optimales d'observation du complexe  $C_{60}$  : ( $\gamma$ -cyclodextrine)<sub>x</sub> établies, il sera procédé à son activation collisionnelle et à la détermination des énergies de collision (en unité arbitraire) caractéristiques de la dissociation – à savoir les énergies correspondant à l'apparition des fragments et l'énergie de collision correspondant à un taux de survie de 50 pour cent.

Cinquièmement, par comparaison des énergies obtenues avec celles de complexes similaires comme le dimère de  $\gamma$ -cyclodextrine, il sera procédé à la discussion des interactions stabilisantes en phase gazeuse, comme les forces de Van de Waals et les interactions ioniques..

Dans un sixième temps, seront détaillés les différents mécanismes observés comme les transferts de charges entre les espèces composant le complexe. Nous procéderons également à la discussion des implications éventuelles.

Enfin septièmement, il sera procédé à la solubilisation du  $C_{60}$  ou de dérivés par complexation avec d'autres composés comme la  $\beta$ -cyclodextrine, des calixarènes modifiés, ...

# III. Matériel et méthodes

## 1. Technique

La spectrométrie de masse est une technique d'analyse des ions selon leur rapport masse sur charge. Brièvement, elle permet la détection, la caractérisation et la quantification d'analytes. Le principe général est le même pour tous les spectromètres de masse : l'analyte, initialement en phase liquide, solide ou gazeuse, est ionisé suite à une éventuelle nébulisation ou désorption. Les ions produits acquièrent après ionisation une même quantité d'énergie cinétique (dans le cas du spectromètre à temps de vol) ou quantité de mouvement (pour les appareils à secteur(s) ) qui conditionne leur trajectoire temporelle ou spatiale. Le trajet étant fonction du rapport masse sur charge, il induit la séparation des ions et régite l'information contenue dans le spectre de masse. Les spectres de masse renseignent sur les espèces ioniques présentes ainsi que sur leur éventuelle abondance.

Le spectromètre de masse utilisé dans le cadre de ce mémoire est un hybride quadripôle - temps de vol couplé à une source à électronébulisation capillaire (Electrospray Ionization – ESI)<sup>5</sup>. Les espèces ionisées observées sont le résultat d'une électronébulisation induite par l'application d'une différence de potentiel entre le capillaire - au départ duquel la solution est émise à un débit de quelques microlitres par minutes - et la contre-électrode.

---

5 Q-Tof Ultima, de Micromass UK Limited. Sources disponibles : électronébulisation capillaire, électronébulisation nanocapillaire, MALDI. L'isolation des ions en MSMS est opérée au moyen d'un quadripôle.

## 2. La source ESI

L'électronébulisation capillaire ou électrospray est l'une des techniques d'ionisation - avec la désorption ionisation laser assistée par matrice (MALDI) - conduisant à un gain minimal d'énergie interne par les ions émis. L'attrait de cette technique d'ionisation est donc qu'elle permet d'observer des composés fragiles comme des complexes non covalents ou des composés à faible énergie de seuil de fragmentation ou de dissociation. Une variante est l'électronébulisation nano capillaire. Les deux techniques fonctionnent selon le même principe, mais avec trois différences importantes :

- les débits d'injection sont de l'ordre de quelques nanolitres par minute en électronébulisation nano capillaire contre quelques microlitres par minute pour l'électronébulisation standard et ce, à concentration inchangée.
- dans le cas de l'électronébulisation nano capillaire, l'ionisation par capture d'électrons peut être non négligeable.
- l'absence de gaz assistant la nébulisation.

Nous avons utilisé exclusivement l'ionisation capillaire dans ce travail. Les composés observés sont le résultat d'une ou plusieurs déprotonations. Il n'a pas été mis en évidence d'ionisation par capture d'électron.

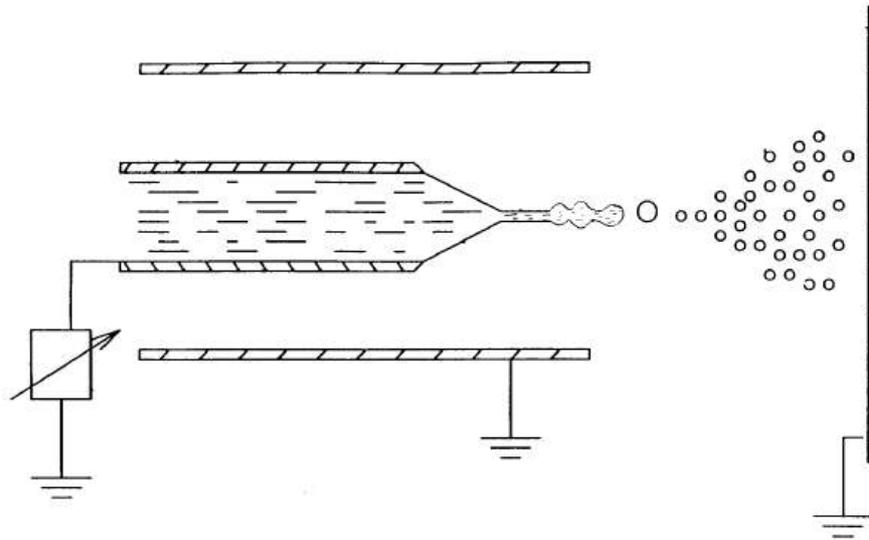


Figure 10 : La cône de Taylor à l'extrémité du capillaire métallique  
(adapter de la référence xxxiii)

Procédons à une brève description de l'ionisation<sup>xxxiii</sup>. L'échantillon est pompé dans un capillaire métallique auquel est appliqué un potentiel de 1.9 kV inférieur à celui de l'orifice d'entrée du spectromètre. Le champ électrique, induit par la différence de potentiel appliquée, provoque une séparation des charges et l'accumulation de celles d'une polarité donnée à la surface du liquide. Cette accumulation induit la formation d'une extension de liquide à la pointe du capillaire, appelée cône de Taylor (figure 10). Ce cône est le résultat d'un équilibre dynamique entre la force électrostatique exercée par le champ électrique sur les charges accumulées à la surface du liquide et la tension superficielle de celui-ci. Quand la force exercée par le champ dépasse la tension superficielle, l'équilibre est rétabli par le départ d'une ou de plusieurs gouttelettes chargées.

Ces gouttelettes, lors de leur trajet à pression atmosphérique et dans le premier étage du bloc source, s'évaporent ou fissionnent conduisant à terme à la formation en phase gazeuse d'espèces chargées. L'ajout d'un gaz coaxial facilite l'émission continue de gouttelettes chargées et assure la stabilité du courant d'ions et donc du signal enregistré par le spectromètre de masse.

Lors de l'électronébulisation de solutions aqueuses, le mécanisme d'ionisation dominant est, pour les anions, la déprotonation résultant de la formation d'anions hydroxyl lors de la réduction de l'eau au contact du capillaire métallique de la source.

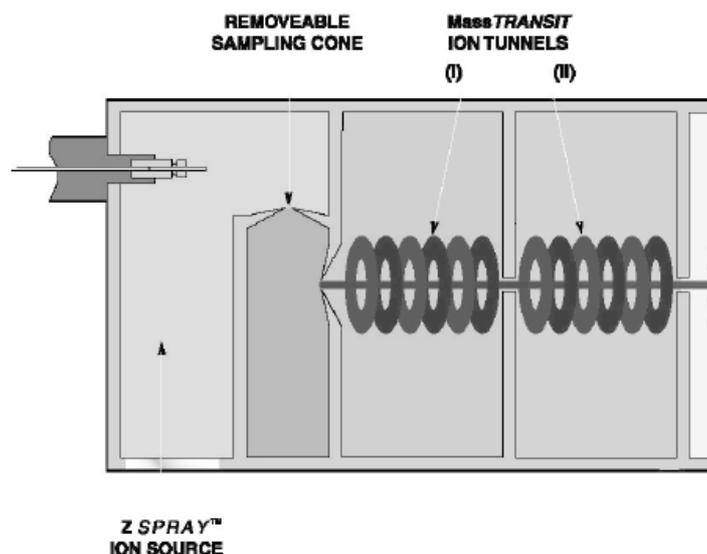


Figure 11 : Z spray; cette géométrie biorthogonale permet la séparation des molécules neutres des ions.

L'entrée du spectromètre utilisé dans le cadre de ce mémoire présente une géométrie à extraction biorthogonale (figure 11). Le capillaire ne se trouve pas dans l'axe du cône d'extraction (la contre-électrode) mais à angle droit de celui-ci. Le cône d'extraction et le cône d'entrée de l'appareil sont également à angle droit, obligeant les ions à décrire une trajectoire en Z avant d'entrer dans l'instrument. Cette géométrie particulière permet de limiter l'entrée de l'analyseur aux seules particules chargées et de réduire de la sorte la contamination de l'instrument.

### 3. Le spectromètre à temps de vol (TOF)

La séparation des ions dans un spectromètre de masse à temps de vol dépend, pour une énergie cinétique donnée, de leur différence de vitesse. Pratiquement (figure 12), les ions dérivent, après avoir été dotés d'une certaine énergie cinétique, dans un tube vide libre de champ. Le temps de vol, qui est le temps de traversée de cette région libre de champs, est proportionnel au rapport masse sur charge :  $m/z$ . Le spectromètre à temps de vol se comporte dès lors, de manière simplifiée, comme un chronomètre du trajet des ions.

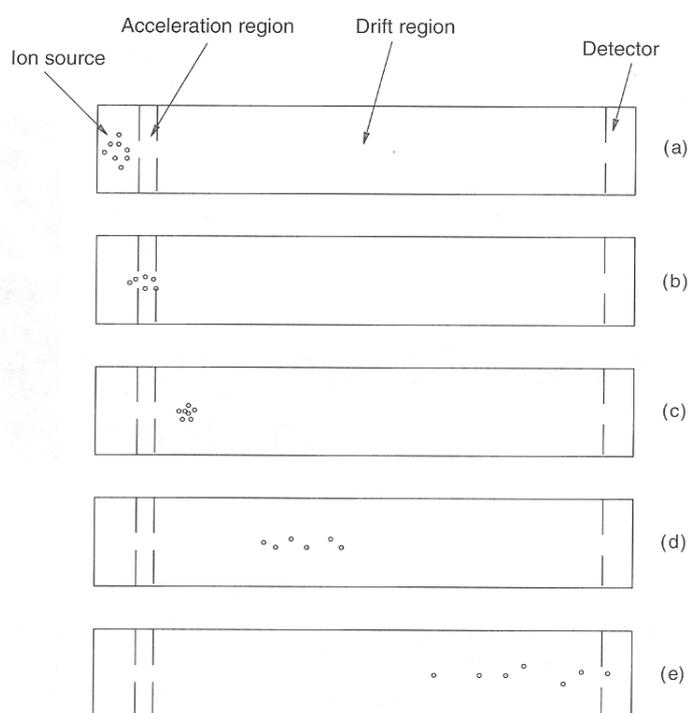


Figure 12 : Représentation schématique du spectromètre à temps de vol. Dans un premier temps, un pulse d'ion est formé (a) puis ces ions sont accélérés (b). Possédant la même énergie cinétique mais des vitesses différentes, les ions dérivent (c) et se séparent selon leur rapport  $m/z$ . Enfin, ils arrivent au détecteur (e).

Les relations suivantes permettent, en première approximation, de comprendre sur quelle base la séparation des ions est réalisée dans un instrument à temps de vol. Ces relations sont rigoureuses pour les spectromètres à temps de vol linéaire.

L'énergie potentielle des ions est convertie lors de l'extraction en énergie cinétique.

$$V_s e z = E_k = \frac{1}{2} m v^2 \quad (2)$$

De cette expression, il est possible de déduire la vitesse des ions.

$$v = \sqrt{2 z e \frac{V_s}{m}} \quad (3)$$

Connaissant la vitesse des ions et la longueur de la région libre de champs, le temps de parcours proportionnel au rapport masse sur charge  $m/z$  est donné par la relation suivante :

$$t = \frac{l_d}{v} = \frac{l_d}{(2 z e V_s / m)^{1/2}} = l_d \frac{(m/z)^{1/2}}{(2 e V_s)^{1/2}} = (m/z)^{1/2} * C \quad (4)$$

où  $V_s$  est le potentiel d'accélération

$m$  est la masse de l'ion

$Z$  est la charge de l'ion

$e$  est la charge de l'électron

$l_d$  est la longueur de la région libre de champs

La constante  $C$  rassemble des constantes liées à l'appareillage ( $V_s$  et  $l_d$ ), ainsi qu'une constante universelle : la charge de l'électron,  $e$ .

Pour que la mesure de temps de vol soit applicable à la détermination de rapports masse sur charge, il est nécessaire que tous les ions amorcent leur trajet simultanément avec la même énergie cinétique. L'étalement de la distribution d'énergie cinétique, les imperfections de l'optique ionique ainsi que le délai entre la détection de deux ions par l'analyseur sont autant de facteurs limitant la résolution d'un spectromètre de masse à temps de vol. Ainsi que nous le discuterons au vu des spectres de masse de nos complexes

multichargés, la résolution est un facteur important dans la détermination de l'état de charge des composés observés.

## 4. Réflectron

L'un des moyens utilisés pour corriger la dispersion d'énergie cinétique consiste à utiliser un miroir à ions (ou réflectron). Il s'agit d'une succession d'électrodes circulaires sur lesquelles un gradient de potentiel est appliqué (l'électrode d'entrée ayant le potentiel le plus faible).

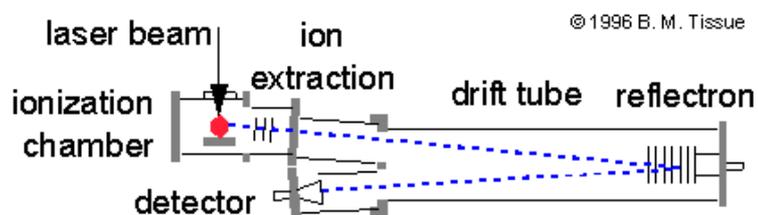


Figure 13 : le réflectron ( *The Chemistry Hypermedia Project* <http://www.chem.vt.edu/chem-ed/index.html> )

Les ions arrivent au niveau du réflectron avec une certaine énergie cinétique. Au fur et à mesure de leur pénétration dans le réflectron, l'énergie cinétique se transforme en énergie potentielle, jusqu'au moment où leur énergie cinétique est nulle. A ce moment, les ions ont une vitesse nulle et une énergie potentielle maximale, avant de repartir dans la direction d'où ils sont venus. Au final, toute l'énergie potentielle est reconvertie en énergie cinétique et la vitesse des ions est identique à celle à l'entrée du réflectron.

Le réflectron corrige l'excès ou le défaut d'énergie cinétique des ions en allongeant ou en diminuant la distance parcourue. Il induit un gain de résolution relativement important. Typiquement, l'emploi d'un réflectron accroît la résolution de près de 1000 à environ 10 000 pour une mesure à mi-hauteur. Bien sûr, ceci ne se passe pas sans inconvénients. L'emploi d'un réflectron induit en effet une diminution de la sensibilité due à l'écrémage du

faisceau d'ions lors du passage au travers des différents éléments constituant l'optique ionique.

## **5. Détecteur**

La détection des ions est une étape importante dans le processus d'obtention d'un spectre de masse. Le détecteur doit présenter :

- une sensibilité suffisante sur toute la gamme de masse de fonctionnement
- une réponse idéalement identique quelle que soit la masse de l'ion
- un délai minimal entre la détection de deux ions pour éviter que la détection ne soit affectée par l'abondance des ions d'une espèce donnée. En effet, un délai de détection important peut induire une masse apparente distincte de la masse réelle ainsi qu'un biais de l'intensité mesurée pour un ion donné.

Des « détecteurs plans à microcanaux » ou MCP sont utilisés pour la détection des ions dans les instruments à temps de vol (figure 14). Ils convertissent l'impact d'un ion sur leur parois en électrons, multipliant le nombre d'électrons lorsque ceux-ci, à leur tour, entrent en collision avec la paroi dont ils sont issus. L'amplification du signal ainsi obtenue est de l'ordre de  $10^3$  à  $10^6$ . A la sortie du microcanal, les électrons frappent une anode et induisent un signal qui est enregistré.

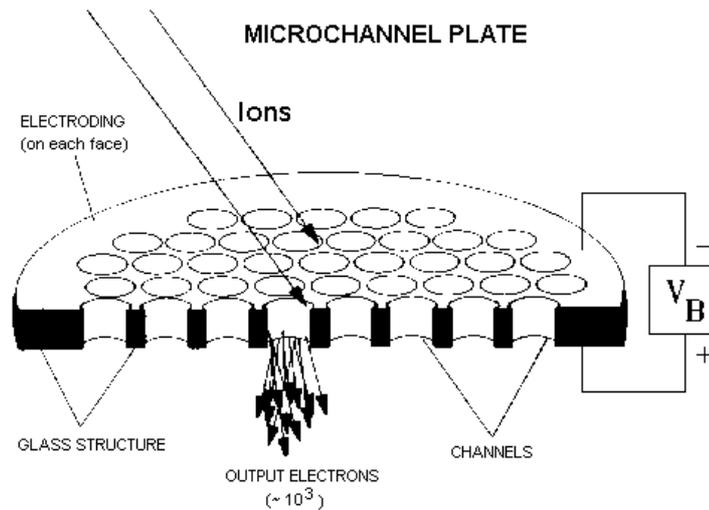


Figure 14 : Le détecteur MCP (adapté de *The High Resolution Camera (HRC) on the Chandra X-ray Observatory (CXO); Microchannel Plate Principles of Operation*

<http://hea-www.harvard.edu/HRC/mcp/mcp.html> )

## 6. Les quadripôles et hexapôles

Les quadripôles sont constitués de quatre barres métalliques, agencées en carré. Le même potentiel est appliqué sur les barres qui se trouvent sur la même diagonal mais il est de signe opposé pour les barres se situant sur le même côté (figure 15).

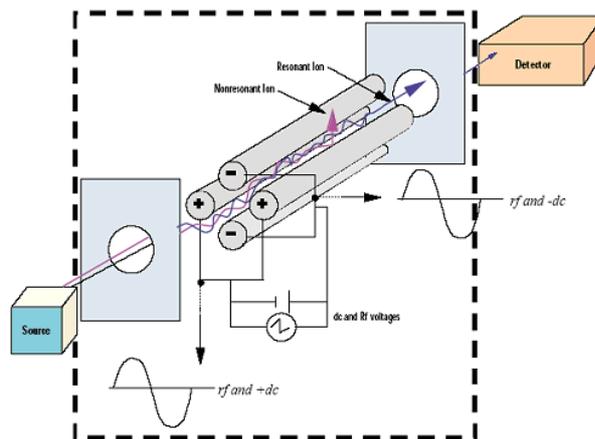


Figure 15 : Le quadripôle. Les quatre barres agencées en carré. Le potentiel des 2 barres se situant sur la même diagonale est identique et opposé à celui des barres sur l'autre diagonale. (Waters Corporation <http://www.waters.com/>)

Le potentiel appliqué est constitué d'une partie continue et d'une partie alternative et peut être écrit sous la forme  $U+V\cos(\omega t)$  . La composante alternative induit un mouvement oscillant des ions lors de la traversée du quadripôle.

Dans le cas où le potentiel alternatif est nul, tous les ions, ou presque, traversent le quadripôle. C'est dans ce mode que le quadripôle est opéré pour la MS simple, ainsi que nous le discuterons ultérieurement.

Par contre, lorsque où le potentiel alternatif est appliqué, seuls les ions dont la trajectoire est stable sont transmis. La région de stabilité dépend de la valeur du potentiel alternatif, V, du potentiel, U, et de la fréquence d'oscillation.

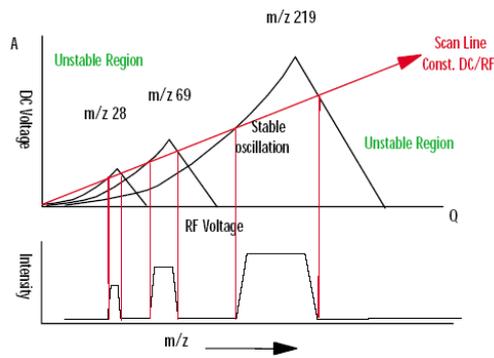


Figure 16 : Diagramme de Mathieu; représente les zones de stabilité de différents ions. La variable  $Q$  est proportionnelle au potentiel contenu et  $A$  au potentiel alternatif (Waters Corporation <http://www.waters.com/> )

Le principe de fonctionnement de l'hexapôle est similaire, avec la différence qu'il est constitué de 6 barres agencées en hexagone.

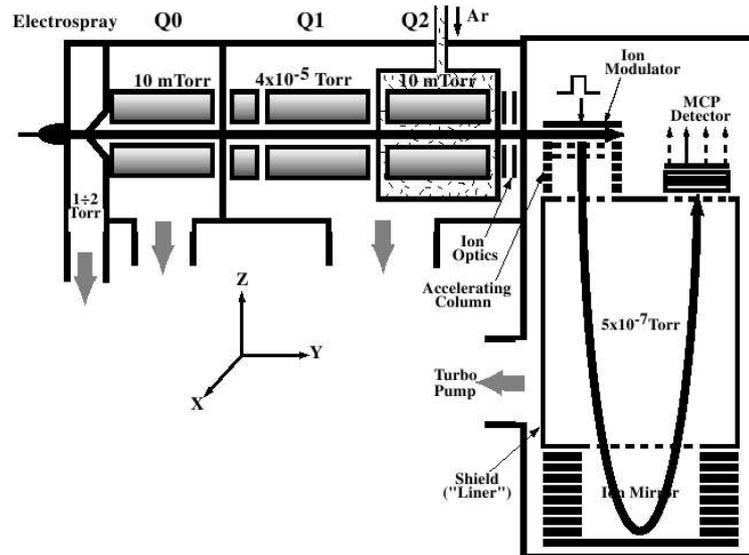


Figure 17 : Schéma de spectromètre de masse hybride quadripôle - temps de vol. Les valeurs des pressions sont des valeurs typiques. Les sections  $Q0$ ,  $Q2$  et  $Q1$  sont, respectivement les deux hexapôles et le quadripôle. La section libre de champ, ainsi que le réflectron (Ion Mirror) sont représentés à droite.

## **7.Obtention d'un spectre de masse en MS simple**

Une fois les ions émis, ils traversent, avant d'entrer dans la région libre de champ, deux hexapôles et un quadripôle. En MS simple, le premier hexapôle focalise les ions à leur sortie de la source, le quadripôle transmet simplement les ions, l'hexapôle contenu dans la cellule de collision assure leur focalisation lors de la traversée de cette dernière, comme représenté à la figure 17.

A la sortie de la cellule de collision, le faisceau d'ions est envoyé par l'intermédiaire d'une série de lentilles dans la partie spectromètre à temps de vol qui sépare les ions selon leur rapport  $m/z$ . La détection des ions est réalisée par un MCP.

## **8.Obtention d'un spectre de masse en MS-MS**

Les ions séparés temporellement selon leur rapport masse sur charge dans la région libre de champ sont le résultat d'une séparation préalable selon ce même rapport masse sur charge.

Avant leur entrée dans l'analyseur, ils transitent, tout comme en MS simple, ainsi par deux hexapôles et un quadripôle. Le premier hexapôle focalise le faisceau d'ions à la sortie de la source. Le quadripôle sélectionne l'ion parent dont il est possible d'isoler toute la distribution isotopique ou seulement l'un des isotopes. Le dernier hexapôle contenu dans la cellule de collision assure la focalisation des ions lors de la traversée de cette dernière.

A l'intérieur de la cellule de collision, les ions entrent en collision avec de l'argon. La pression de ce gaz est un paramètre important car elle conditionne le nombre de collisions<sup>xxxiv</sup> et donc la quantité d'énergie transférée.

L'énergie interne des ions suite à l'activation peut provoquer la fragmentation

ou la dissociation de l'ion parent. Ce type d'expérience est appelé la dissociation induite par collision (CID).

Le contrôle de l'énergie transférée se déroule en modifiant le potentiel d'accélération à l'entrée de l'hexapôle. Pour déterminer le maximum d'énergie transférable à la molécule, il est nécessaire de passer du repère du laboratoire à celui du centre de masse.

$$E_{\text{k du centre de masse}} = \left( \frac{m_{\text{gaz}}}{m_{M_1^+} + m_{\text{gaz}}} \right) E_{\text{k dans le repère du laboratoire}} \quad (5)$$

Dans la présentation de résultats de dissociation induite par collision, nous utiliserons une énergie définie arbitrairement; cette unité correspondant à un potentiel d'accélération exprimé en volt.

## IV. Partie expérimentale

### 1. Complexe fullerène[60] : $\gamma$ -cyclodextrines

Nous relatons dans cette partie du travail les différentes étapes ayant conduit à la formation et à l'observation d'un complexe d'inclusion fullerène[60] :  $\gamma$ -cyclodextrines.

Les  $\gamma$ -cyclodextrines sont solubles dans l'eau (voir tableau 1 page 12) alors qu'elles sont insolubles dans le toluène. Pour le fullerène[C<sub>60</sub>], c'est l'inverse. Les approches mises en oeuvre reflètent les différences de solubilité des deux composés.

Les différentes approches de préparation du complexe d'inclusion sont les suivantes:

- Dans le cas de l'emploi de deux solvants non miscibles, pour que la réaction de complexation – qui consiste à encapsuler un C<sub>60</sub> par deux  $\gamma$ -cyclodextrines – puisse se dérouler, il faut que les deux réactifs soient en contact. Le contact entre les deux composés n'est possible qu'à l'interface des deux solvants. Afin d'optimiser la région interfaciale et d'amener le C<sub>60</sub> en contact avec la cavité hydrophobe des cyclodextrines, il a été procédé à une agitation vigoureuse sous reflux.
- Une autre approche consiste à utiliser deux solvants miscibles, parmi ceux-ci il est fait référence dans la littérature<sup>xv</sup> au diméthylformamide (DMF) et au toluène. Les  $\gamma$ -cyclodextrines sont solubles dans le DMF et le fullerène[60] l'est dans le toluène. Les deux solvants étant miscibles, le C<sub>60</sub> et les cyclodextrines sont présents dans une même phase et le complexe peut se former sous simple agitation.
- Une troisième approche consiste à déposer un film de fullerène[60] sur les parois d'un ballon, d'ajouter une solution aqueuse contenant les  $\gamma$ -cyclodextrines et d'agiter le tout. La surface de contact entre le C<sub>60</sub> et

la solution aqueuse de cyclodextrines est alors maximale.

Sur base de la quantité et de la couleur du solide obtenu, la première technique décrite semble donner les meilleurs résultats. Toutefois, aucune mesure de rendement n'a été réalisée. Le solide obtenu par la première approche est mauve vif, alors que par les deux autres approches, il était de couleur brun-noir. On peut donc supposer que dans le premier cas, les C<sub>60</sub> sont « dispersés » grâce aux cyclodextrines alors que, dans le second cas, ils sont en contact présentant ainsi les caractéristiques du C<sub>60</sub> solide. Une évaluation précise du rendement requerrait des mesures spectroscopiques. De telles mesures n'ont pas été réalisées dans la cadre du présent travail en raison de la difficulté de solubilisation des différents composés dans une même phase. Ainsi que démontré au sein du laboratoire, une solution de C<sub>60</sub> dans un mélange de toluène diméthylformamide voit ses propriétés optiques (couleur) s'altérer dans le temps et ce mécanisme pourrait être à l'origine de certains résultats expérimentaux controversés obtenus par spectroscopie UV-visible. Pour cette raison, seule la première technique sera décrite en détails.

### ***Utilisation de 2 phases non miscibles***

Une solution aqueuse de  $\gamma$ -cyclodextrines ( $c = 5.17$  mM) et une solution de fullerène[C<sub>60</sub>] ( $c = 2,77$  mM) dans du toluène ont été préparées. Comme ces deux solvants ne sont pas miscibles, nous avons cherché à optimiser la région de contact entre ceux-ci.

Deux volumes de 20 mL de chacune des solutions ont été ajoutés dans un Erlenmeyer de 100 mL équipé d'un barreau magnétique et le mélange réactionnel ainsi obtenu a été agité vigoureusement pendant 3 jours à une température de 80°C<sup>6</sup>, ceci conduisant à la formation d'une émulsion<sup>7</sup>.

---

6 Si la température du milieu réactionnel est trop importante, un dépôt noir de fullerène-[C<sub>60</sub>] se forme sur les bords du ballon, juste au-dessus du niveau du toluène.

7 Émulsion : mélange hétérogène de deux solvants non miscibles dont l'un forme des gouttelettes en suspension dans l'autre.

Après refroidissement de la solution, les deux solvants ont été séparés par décantation, le complexe formé étant contenu dans la phase aqueuse. Afin de récupérer le complexe sous forme solide, il a été procédé à l'évaporation de la solution aqueuse sous vide. Le solide obtenu contient le complexe, ainsi que les cyclodextrines n'ayant pas réagi.

Nous avons procédé à une tentative de purification du complexe en nous basant sur la différence de solubilité entre le complexe et la cyclodextrine, celle-ci étant la plus soluble dans l'eau. Pratiquement, on solubilise le solide obtenu dans un volume minimal d'eau chaude, de sorte que la concentration en complexe soit juste en dessous de la limite de sa solubilité. Après refroidissement de la solution à température ambiante, la limite de solubilité du complexe étant dépassée, celui-ci précipite, les cyclodextrines restant solubles. Après sédimentation de la solution, le retrait de la solution de surnageant contenant les cyclodextrines permet une purification, tout au moins partielle.

Les échantillons lors de l'analyse par spectrométrie de masse, sont dissous dans une solution aqueuse 15% en méthanol et 20 mM en acétate d'ammonium.

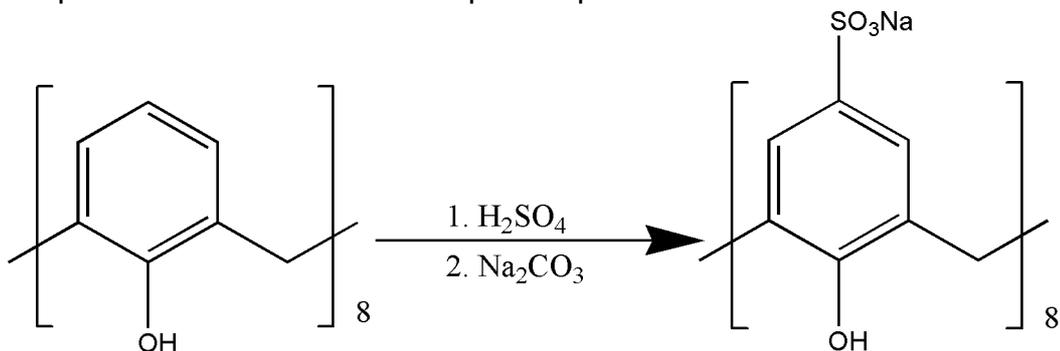
## **2.Complexe fullerène[60] : 8-sulfoxicalix[8]arène**

Cette partie de ce travail concerne la tentative de formation et l'observation d'un complexe d'inclusion  $C_{60}$  : 8-sulfoxicalix[8]arène.

La première étape, décrite ci-dessous, consiste en la fonctionnalisation du calix [8]arène.

## Synthèse du 8-sulfoxicalix[8]arène

Le mode opératoire utilisé est celui publié par Shinkai<sup>xxxv</sup>.



La réaction poursuivie est une substitution électrophile sur aromatique d'un hydrogène par un groupement sulfonyle<sup>xxxvi</sup>. Le fonction hydroxyl est un groupement électrodonneur et oriente la substitution en *para* et en *ortho*. Comme cette dernière position est déjà occupée par les chaînes alcanes, la position *para* devrait être majoritairement fonctionnalisée.

L'ion sulfonium est le résultat d'une autodéshydratation de l'acide sulfurique : il est nécessaire que celui-ci soit le plus concentré possible. Une masse de 0,39 g de calix[8]arène est donc ajoutée à 10 mL d'acide sulfurique concentré (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Le tout est chauffé à 60°C pendant 6 heures. L'état d'avancement de la réaction est contrôlé par un test de solubilité dans l'eau (le calix[8]arène est peu soluble dans l'eau tandis le 8-sulfoxicalix[8]arène est totalement soluble).

Le mélange est filtré sur Büchner et le précipité redissout dans l'eau. Le filtrat n'est pas conservé. La solution est alors neutralisée par l'ajout de carbonate de barium solide, ce qui permet d'éliminer les ions sulfate par précipitation du sulfate de barium ( $K_{ps_{BaSO_4}} = 10^{-9,97}$  <sup>xxxvii</sup>). Le précipité de BaSO<sub>4</sub>, ainsi que l'excès de BaCO<sub>3</sub> ( $K_{ps_{BaCO_3}} = 10^{-8,31}$  <sup>xxxviii</sup>) sont éliminés par une nouvelle étape de filtration.

Le filtrat obtenu est évaporé à sec sous vide, le solide repris par 15 mL d'eau et le pH ajusté à 8 par ajout de carbonate de sodium solide. Les impuretés

insolubles et l'excès de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  sont éliminés par filtration. Le 8-sulfoxicalix[8] arène est récupéré par précipitation suite à l'ajout de méthanol.

### 3.Produits et solutions

La partie suivante contient la liste des produits et solutions utilisés dans le cadre de la réalisation de ce travail. Aucune purification n'a été effectuée avant leurs utilisations.

$\text{C}_{60}$  – Buckminsterfullerene, 99,5 %  
Aldrich  
C.A.S. : 99685-96-8  
 $\text{C}_{60}$  MM : 720,67 g/mol  
Lot : 11401DB

$\beta$ -cyclodextrine : Beta Cyclodextrin hydrate 99%  
Acros Organics  
C.A.S. : 7585-39-9  
 $\text{C}_{42}\text{H}_{72}\text{O}_{36} \cdot x\text{H}_2\text{O}$  MM : 1135,01 g/mol  
Lot : A005730501

$\beta$ -cyclodextrine : Beta Cyclodextrin hydrate 99%  
Aldrich  
C.A.S. : 7585-39-9  
 $\text{C}_{42}\text{H}_{72}\text{O}_{36} \cdot x\text{H}_2\text{O}$  MM : 1137,01 g/mol  
Lot : S20642-324

$\gamma$ -cyclodextrine : Gamma Cyclodextrin hydrate 99%  
Acros Organics  
CAS : 91464--903  
 $\text{C}_{48}\text{H}_{80}\text{O}_{40} \cdot x\text{H}_2\text{O}$  MM : 1297,12 g/mol  
Lot : A004115701

Toluène, HPLC  
Biosolve LTD  
C.A.S. : 108-88-3

Méthanol absolute HPLC  
Biosolve LTD  
C.A.S. : 67-56-1  
CH<sub>3</sub>OH

Ammonium acetate solution  
Fluka Biochemical  
C.A.S. : 631-61-8  
C<sub>2</sub>H<sub>7</sub>N0<sub>2</sub> MM : 77,08 g/mol  
Concentration approximative : 5 M

eau mQ  
Produite par Milli-Q Synthesis de Millipore

Calix[8]arène, 97%  
Acros Organics  
C.A.S. : 82452-93-5  
C<sub>56</sub>H<sub>48</sub>O<sub>8</sub> MM : 848,98 g/mol  
Lot : A014154401

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 96%  
Mobi – lab et labotec  
C.A.S. : 7664-93-9

BaCO<sub>3</sub>  
C.A.S. : 513-77-9  
Pas d'information supplémentaire

# V.Résultats

Toutes les mesures ont été réalisées, dans les mêmes conditions d'ionisation, sur le Q-Tof Ultima Global<sup>8</sup>, avec comme paramètres principaux :

- Polarité : négative
- Cône : 35 u.a.
- Voltage du capillaire : 1,9 kV
- RF Lens 1: 90 u.a.
- Température de source : 80°C
- Température de désolvatation : 120°C

## **1.Formation du complexe $\gamma$ -cyclodextrine : fullerène C<sub>60</sub>**

Ainsi que discuté dans la partie expérimentale, le solide obtenu par la méthode utilisant deux phases non-miscibles est de couleur mauve alors que les solides produits par les deux autres méthodes, c'est-à-dire l'utilisation de deux solvants miscibles et la mise en présence d'un film de C<sub>60</sub> adsorbé sur support avec une solution aqueuse de cyclodextrines, sont brun-noir. Les trois approches ont conduit à l'observation du complexe par spectrométrie de masse à électronébulisation capillaire. La quantité de complexe produite par la première méthode étant apparemment supérieure à celle obtenue par les deux autres, comme tendrait à le démontrer la coloration du solide obtenu ainsi que discuté dans la partie expérimentale, cette méthode a été privilégiée pour la formation du complexe.

---

8 Le programme utilisé par le pilotage du spectromètre de masse est MassLynk™ 4.0 SP1

## 2. Caractérisation du complexe fullerène C<sub>60</sub> : γ-cyclodextrine

Le premier isotope du multiplet attribué au complexe C<sub>60</sub> : (γ-cyclodextrine)<sub>2</sub> est observé en spectrométrie de masse (voir figure 18) à un rapport m/z de 1655,41<sup>9</sup> soit une masse de 3310,82 Dalton. Ceci correspond bien à un complexe de stoechiométrie 1:2 fullerène[60]:γ-cyclodextrine déprotoné deux fois ainsi qu'il est possible de le vérifier au départ de la masse molaire du premier isotope<sup>10</sup> de la γ-cyclodextrine neutre, de 1296,42 amu, et du fullerène C<sub>60</sub>, de 720,00 amu:

$$\frac{2 \times 1296,42 + 720,00 - 2 \times 1,01}{2} = 1655,41 \text{ m/z} \quad (6)$$

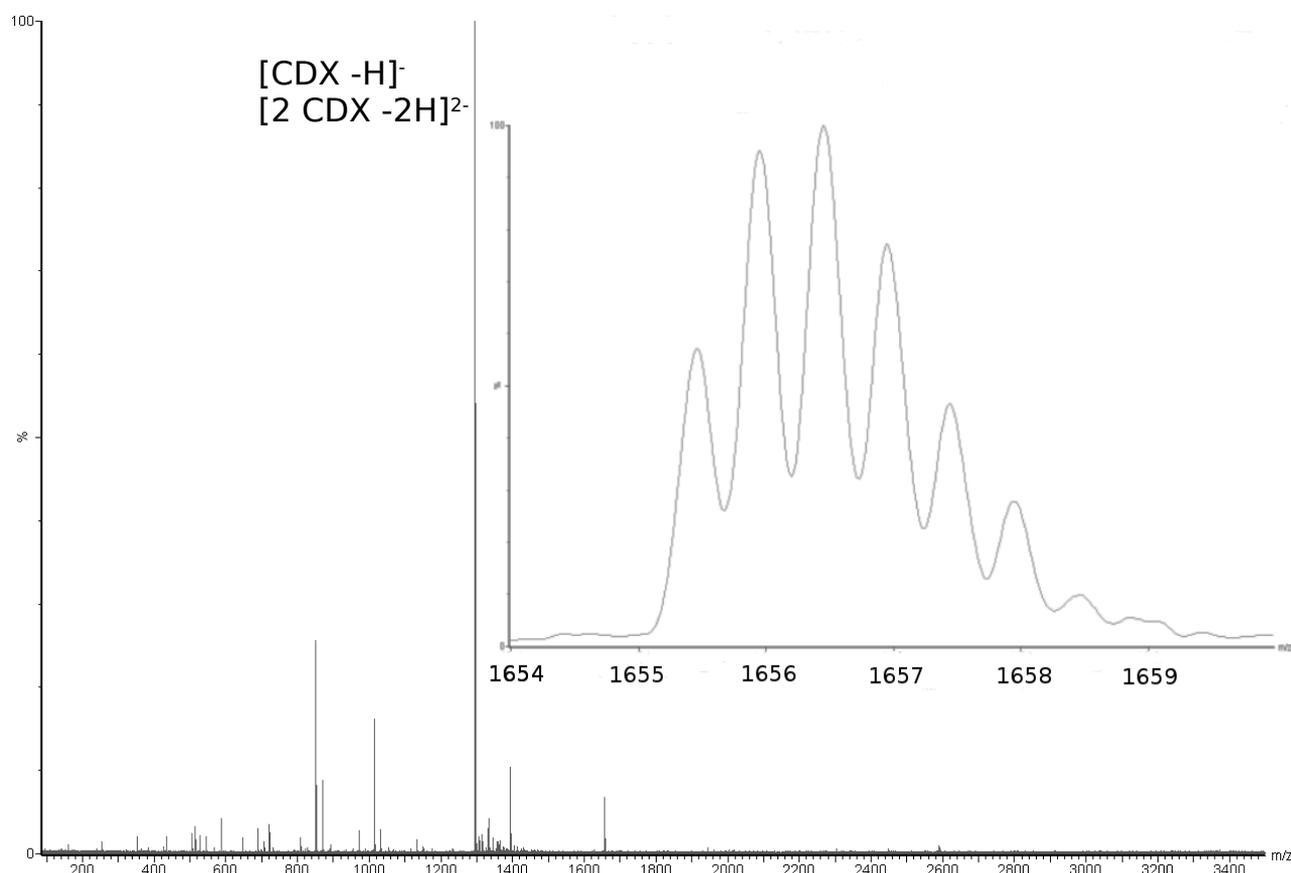


Figure 18 : spectre du masse en MS simple de la solution de complexe après purification. Le signal correspondant à l'astérisque est celui du complexe dont un agrandissement de la distribution isotopique est contenu dans l'encart.

<sup>9</sup> La masse des isotopes est calculée sur base de la référence xxxviii.

<sup>10</sup> Premier isotope : contenant uniquement les isotopes <sup>12</sup>C, <sup>1</sup>H, <sup>16</sup>O

Le composé majoritaire du spectre MS est la  $\gamma$ -cyclodextrine dont la distribution isotopique débutant à un rapport  $m/z$  de 1295,4 est la superposition du monomère monochargé et du dimère dichargé. Ce point sera discuté ultérieurement.

Le nombre de carbones entrant dans la composition du complexe est de 156. Du fait de l'abondance isotopique du  $^{13}\text{C}$ , qui est de 1,07%<sup>xxxviii</sup>, la distribution isotopique du complexe s'étale sur plusieurs unités de  $m/z$  comme observé sur les spectres théorique et expérimental ci-après.

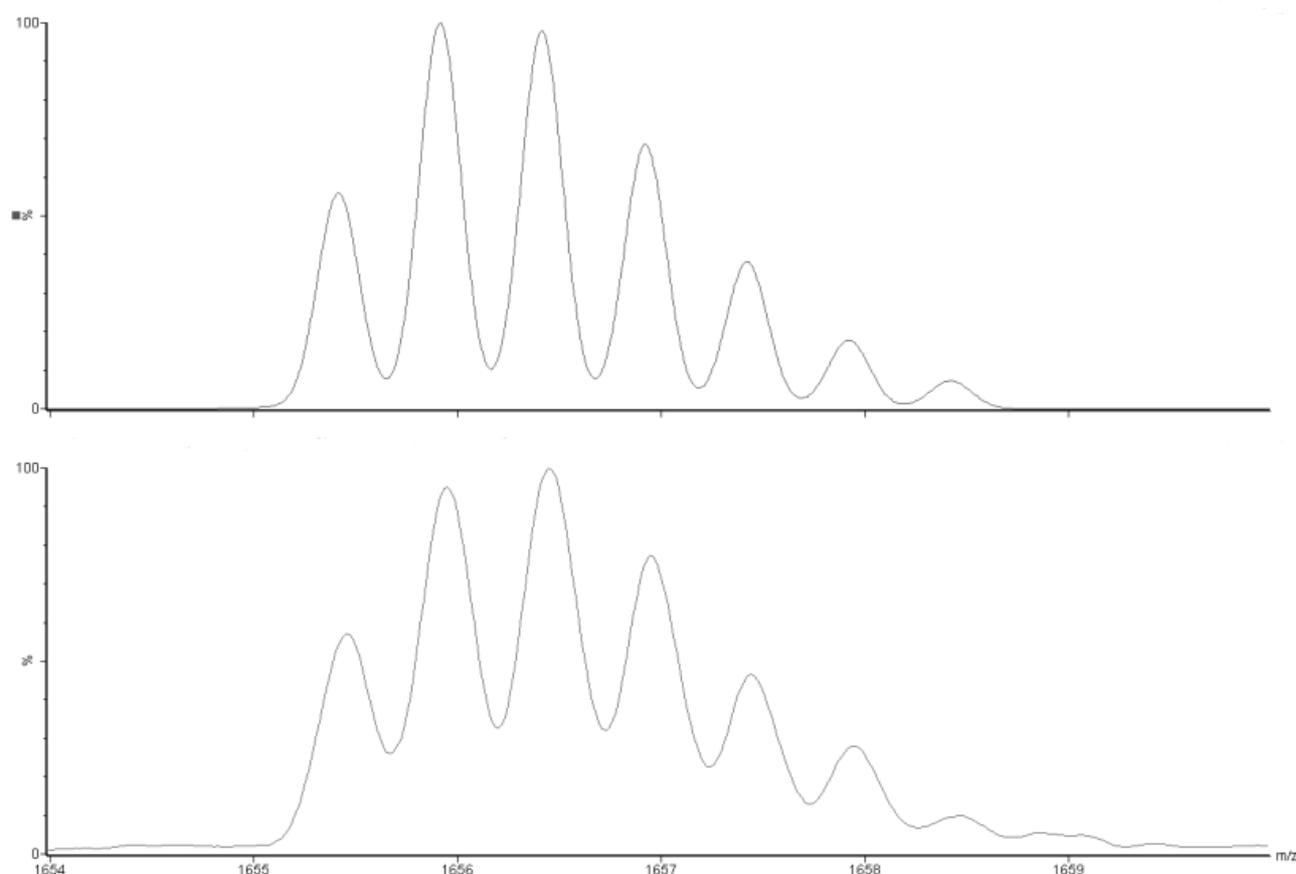


Figure 19 : simulation de la distribution isotopique (a) et spectre expérimental (b) du complexe  $\text{C}_{60}$  : ( $\gamma$ -cyclodextrine)<sub>2</sub> déprotoné deux fois.

Ainsi qu'observé sur les spectres ci-dessus (figure 19), la séparation entre deux isotopes consécutifs résulte directement de l'état de charge. En effet, elle correspond à la différence de masse entre les isotopes divisée par la charge de l'ion considéré. Dès lors, si la résolution du spectre est suffisante pour

distinguer les deux isotopes, il est aisé de déterminer l'état de charge qui est de deux pour les spectres repris ci-dessus. La séparation entre deux isotopes consécutifs revêt également une grande importance lors de l'intégration de la surface des pics. Un recouvrement partiel des pics d'un multiplet ne peut être pris en compte rigoureusement qu'en recourant à l'ajustement aux pics du multiplet de fonctions comme des Gaussiennes ou des Lorentziennes. La combinaison de ces fonctions devant décrire au mieux la forme du pic multiplet.

Dans le présent mémoire il n'a pas été procédé de la sorte par manque de temps. L'intégration a consisté à déterminer les maxima et minima du pic multiplet et à procéder à l'intégration des régions situées entre deux minima. Le résultat de l'intégration étant alors attribué dans son entièreté au maximum inclus dans la dite région. Cette manière de procéder n'induit pas d'erreur significative<sup>11</sup> dans la détermination des courbes de survies discutées ultérieurement, les aires correspondant aux sous unités du multiplet étant additionnées pour constituer le signal de l'ion parent dans son entièreté (l'aire de la distribution isotopique considérée dans son entièreté).

### ***Confirmation de la nature du complexe par dissociation induite par collision***

Afin de caractériser les espèces observées en spectrométrie de masse, on procède à l'isolation en masse des ions d'une espèce donnée et à leur activation collisionnelle. Cette activation collisionnelle induit un gain d'énergie interne et incidemment la fragmentation ou la dissociation des ions isolés. Le spectre de masse nous renseigne alors sur leur composition par l'intermédiaire des fragments observés. Ce type d'expérience est habituellement repris sous l'appellation MSMS de l'espèce considérée.

La dissociation du complexe  $C_{60}$  : ( $\gamma$ -cyclodextrine)<sub>2</sub> dans une expérience de MSMS à une énergie de collision de 50 u.a. a permis de confirmer sa

---

<sup>11</sup> Sont considérées arbitrairement comme erreurs significatives les erreurs supérieures à 5%

composition : les ions observés sont le complexe, la  $\gamma$ -cyclodextrine déprotonée, le  $C_{60}$ , ainsi que le  $C_{60}$  hydrogéné  $C_{60}H$  chargés négativement. Le signal de ce dernier est beaucoup plus intense que celui du  $C_{60}^-$  et sera discuté dans la partie consacrée au transfert de charge.

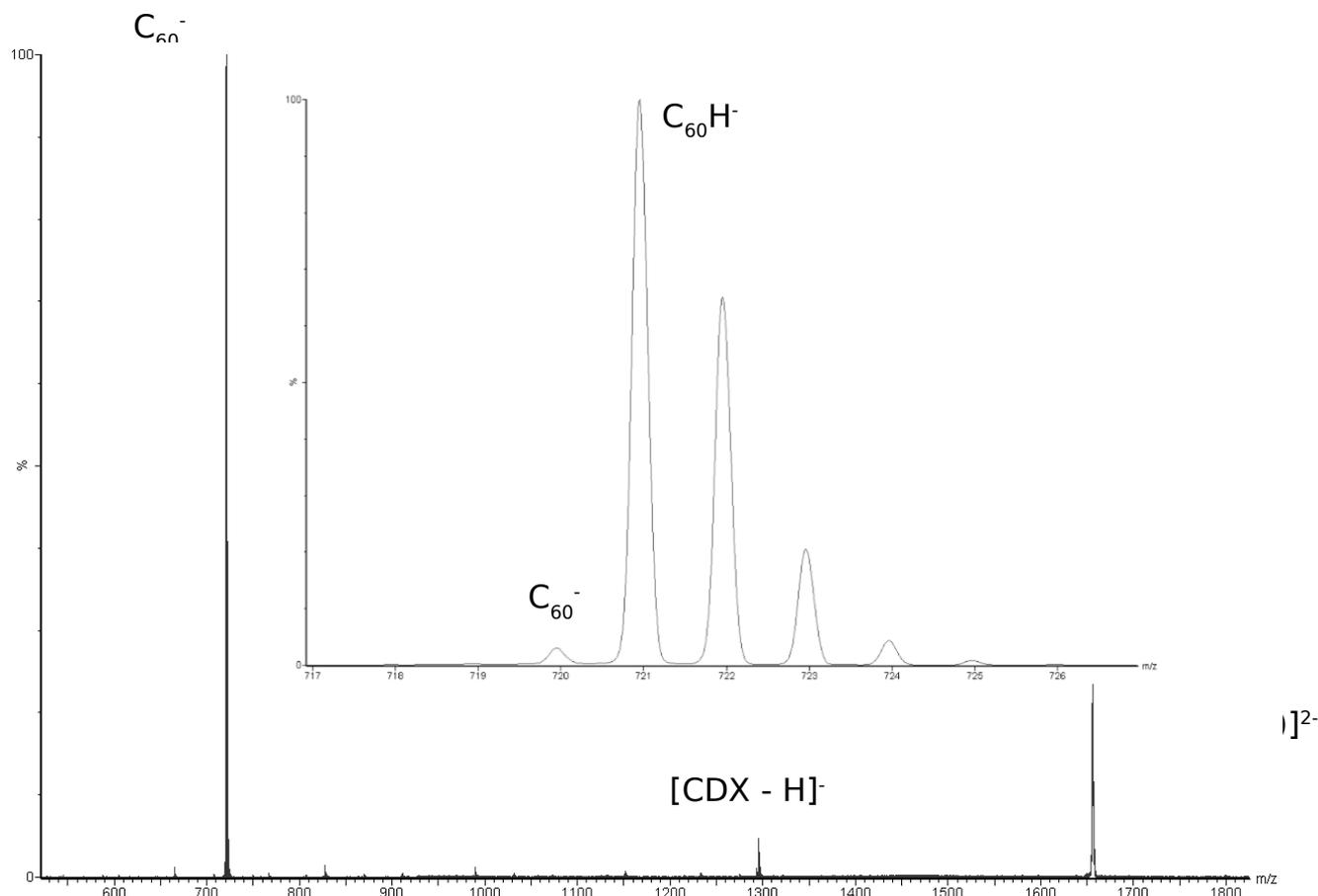


Figure 20 : spectre de masse correspondant à la dissociation du complexe par collision (dans ce cas l'énergie de collision vaut 50 u.a.)

Remarquons également qu'aucune stoechiométrie autre que la 1:2 du complexe  $C_{60}$  : ( $\gamma$ -cyclodextrine) n'a été observée. Il est toutefois vraisemblable que le complexe 1:1 existe, tout au moins pendant la formation du complexe. Plusieurs hypothèses peuvent expliquer sa non observation lors de l'électronébulisation capillaire d'une solution aqueuse : (a) l'équilibre entre les deux stoechiométries est complètement déplacé vers le complexe 1:2 en solution aqueuse ou lors du transfert en phase gazeuse; (b) la concentration du complexe 1:1 est en dessous du seuil de détection du spectromètre pour les temps d'accumulation mis en oeuvre (allant jusqu'à 60 minutes); (c) le complexe 1:1 est trop peu soluble dans l'eau pour être observé au départ d'une

solution aqueuse (d) le complexe 1:1 est instable en phase gazeuse. Pour un état de charge  $\geq 2$ , la répulsion entre les charges négatives pourrait être à l'origine de sa dissociation. Viendrait en appui de ce dernier point la présence de  $C_{60}H^-$  dans le spectre MS simple alors que ce dernier est insoluble dans l'eau. Pour rappel, la solubilité du  $C_{60}$  dans l'eau est obtenue par extrapolation au départ d'alcools linéaires et est de  $10^{-24}$  M.

Enfin, la spectrométrie de masse, contrairement à la résonance magnétique nucléaire, ne renseigne pas directement sur la structure spatiale des espèces étudiées et ne permet, dès lors pas de déterminer l'agencement des deux cyclodextrines par rapport au  $C_{60}$ . Toutefois l'existence d'une cavité hydrophobe permet de supposer que le  $C_{60}$  est encapsulé par les  $\gamma$ -cyclodextrines et donc que sa géométrie est comparable à la forme déterminé par Bonnet P. au moyen de calculs empiriques (champ de force amber)<sup>xxxix</sup> et représentée à la figure 21.

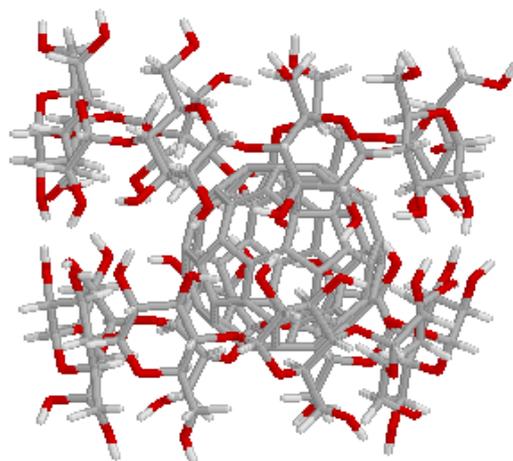


Figure 21 : représentation du complexe d'inclusion  $C_{60}$  :  $\gamma$ -cyclodextrine (modélisation par calcul empiriques réalisée par P. Bonnet au moyen du champ de force amber)  
<http://people.man.ac.uk/~mbpsspb3/index.html>

### 3.Optimisation des conditions d'observation du complexe $\gamma$ -cyclodextrine : fullerène C60

Afin d'optimiser le signal correspondant au complexe  $C_{60} : (\gamma\text{-cyclodextrine})_2$  en spectrométrie de masse par électro-ébulisaison capillaire, il a été procédé à l'ajout d'acétate d'ammonium – pour augmenter la force ionique de la solution et stabiliser le complexe lors de sa désorption – ainsi qu'à la variation du pourcentage de méthanol – pour faciliter l'émission en phase gazeuse au départ des gouttelettes émises par le capillaire – dans la solution d'injection. Ceci a conduit, lors de la prise des spectres en MS simple, à l'observation des composés suivants en différentes proportions : le monomère de  $\gamma$ -cyclodextrine mono- et dichargé, le dimère de  $\gamma$ -cyclodextrine mono- et dichargé, ainsi que divers autres complexes de  $\gamma$ -cyclodextrines, le  $C_{60}^-$ , le  $C_{60}H^+$ , le complexe  $C_{60} : (\gamma\text{-CDX})_2^{2-}$ , le complexe  $C_{60} : (\gamma\text{-CDX})_2(\text{AcOH})_2^{2-}$  et d'autres espèces. Seules les espèces soulignées ont retenu notre attention dans le cadre du présent travail.

La carte illustrée à la figure 23 représente l'intensité absolue du complexe en fonction de la concentration en acétate d'ammonium et de la proportion en méthanol.

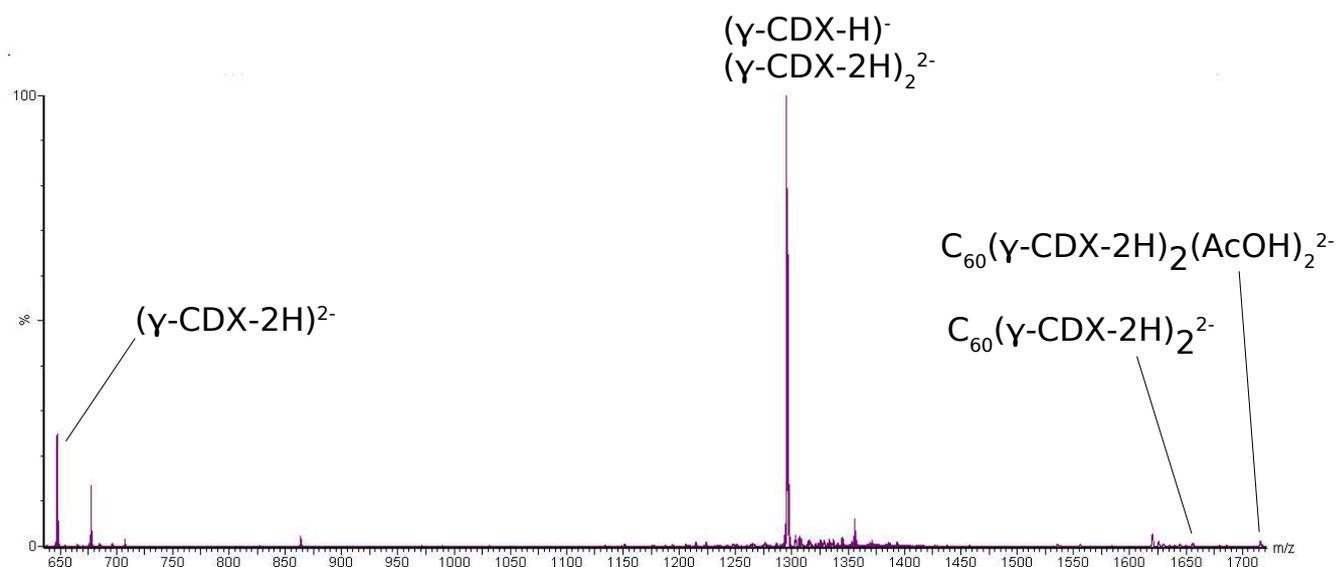


Figure 22 : spectre de masse du complexe  $C_{60} : (\gamma\text{-CDX})_2$ ,  $C_{60} : (\gamma\text{-CDX})_2(\text{AcOH})_2$ , du monomère de  $\gamma$ -cyclodextrine mono- et dichargé ainsi que du dimère dichargé de  $\gamma$ -cyclodextrine.

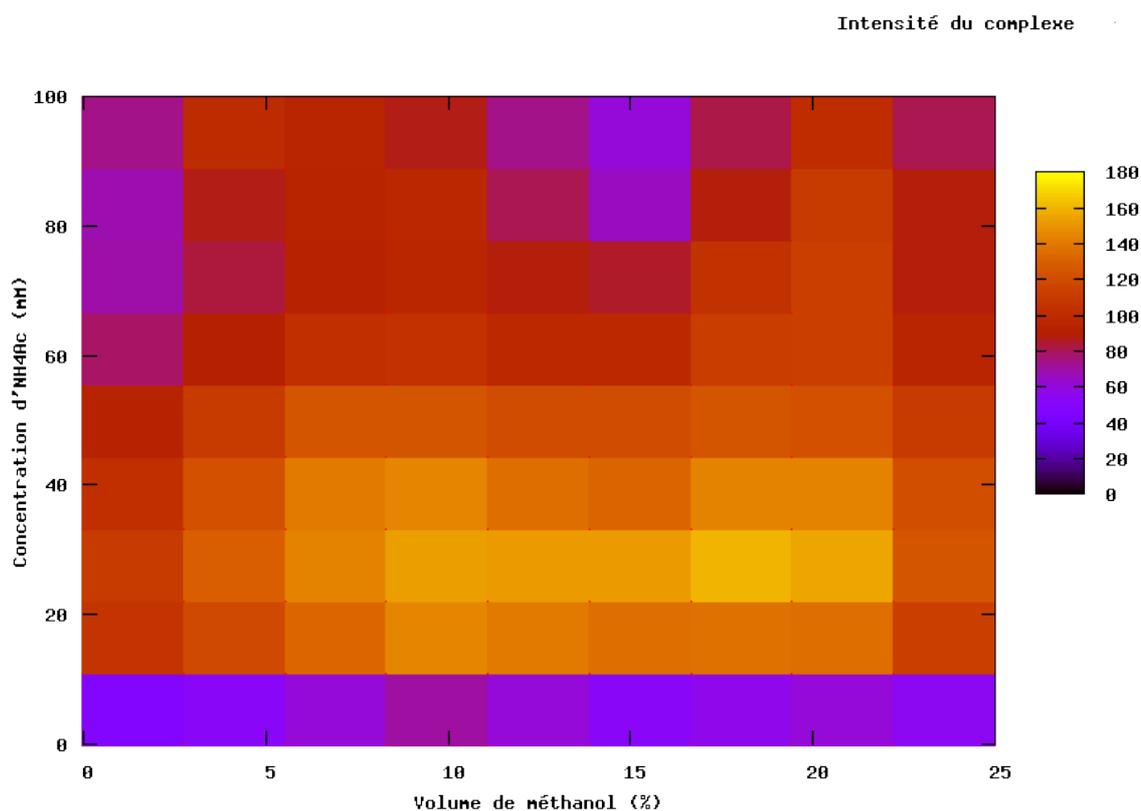


Figure 23 : carte à deux dimensions représentant l'intensité du complexe en fonction du pourcentage volumique de méthanol et de la concentration d'acétate d'ammonium. On remarque un optimum pour une concentration de 20-30 mM en acétate d'ammonium et pour une proportion de méthanol comprise entre 15 et 20%.

Le signal correspondant au complexe présente un maximum en intensité absolue pour une concentration en acétate d'ammonium entre 20 et 30 mM tandis que la proportion de méthanol optimale est comprise entre 15 et 20%. Afin de limiter les adduits d'acide acétique et de se rapprocher le plus possible des conditions d'une solution aqueuse, nous avons utilisé une concentration de 20 mM en acétate d'ammonium et une proportion de 15 % en méthanol.

## 4. Dissociation du complexe fullerène C<sub>60</sub> : ( $\gamma$ -cyclodextrine)<sub>2</sub>

Afin de sonder les interactions impliquées dans le complexe d'inclusion C<sub>60</sub> : ( $\gamma$ -cyclodextrine)<sub>2</sub>, nous avons mesuré des courbes de taux de survie pour l'activation collisionnelle du complexe, ainsi que pour le dimère et le monomère monochargés et dichargés de cyclodextrine.

Les courbes de taux de survie sont obtenues de la façon suivante : le taux de survie exprimé en pour cent, rapport entre l'intensité de l'ion parent et la somme, éventuellement pondérée, des intensités de l'ion parent et de tous les fragments, est porté en fonction de l'énergie de collision en unités arbitraires. Du fait de l'étude de la dissociation d'ions dichargés, l'intensité des ions fragments monochargés doit être divisée par deux dans le cas où les deux espèces sont observées et contribuent au signal enregistré. Dans le cas où seule l'une des espèces est observée, par exemple en raison d'une masse inférieure au seuil de détection de l'instrument<sup>12</sup> pour le deuxième ion, le signal de l'ion observé se voit attribuer une pondération unitaire lors de la sommation des intensités des fragments intervenant dans l'expression du taux de survie.

Les intensités intervenant dans le calcul des taux de survie ont été calculées de deux manières différentes : en prenant le maximum des pics ou en les intégrant. Des différences de l'ordre de 1 à 2% ont été observées entre ces méthodes, nous les considérons comme étant négligeables. Aux taux de survie obtenus ont été ajustées des sigmoïdes dont ont été déduites les énergies de collision correspondant à un taux de survie de 50%.

La fonction logique (7) permet de rendre compte d'un grand nombre de phénomènes biologiques, économiques ou statistiques. Sa forme générale est la suivante :

$$P(t) = a \frac{1 + m e^{-t/\tau}}{1 + n e^{-t/\tau}} \quad (7)$$

---

<sup>12</sup> Ce seuil est de 90 m/z

Un cas particulier de cette fonction obtenue pour une valeur nulle de  $m$  et des valeurs unitaires pour  $a$ ,  $n$  et  $\tau$ , est la fonction sigmoïde (8). Cette fonction rend bien compte de la variation du taux de survie en fonction de l'énergie de collision, raison pour laquelle nous l'avons employée dans le présent travail.

$$P(t) = \frac{1}{1 + e^{-t}} \quad (8)$$

La forme utilisée pour l'ajustement de la courbe aux points expérimentaux est la suivante :

$$f(x) = \frac{100}{1 + e^{-\frac{(x-a)}{b}}} \quad (9)$$

$a$  = position du point d'inflexion

$b$  = pente

Le programme utilisé pour le traitement numérique est Gnuplot<sup>13</sup> sur base de l'algorithme de Levenberg-Marquardt<sup>14</sup>.

### **Complexe $C_{60}$ : ( $\gamma$ -CDX)<sub>2</sub>**

Ainsi qu'illustré par les spectres de la figure 24, lors de l'activation collisionnelle on observe un début de dissociation pour une énergie de collision de 30 u.a. ainsi que l'apparition d'un signal correspondant essentiellement au  $C_{60}H^-$ . A une énergie de 60 u.a., la disparition du complexe est totale mais est apparu un signal correspondant à un monomère de  $\gamma$ -cyclodextrine déprotoné. Est également observé un faible signal correspondant au  $C_{60}^-$ . Nous noterons enfin de façon plutôt anecdotique que dans la région d'énergie de collision allant de 30 u.a. à 50 u.a. est observé un très faible signal (inférieur à 1% du signal total) correspondant au dimère de cyclodextrine monochargé moins deux hydrogènes et un proton. Ce composé pourrait être un intermédiaire de réaction intéressant pouvant expliquer l'observation à plus hautes énergies du signal correspondant à la cyclodextrine déprotonée. Il viendrait également en

<sup>13</sup> Gnuplot v4.0 sous GNU/Linux <http://www.gnuplot.info/>

<sup>14</sup> L'algorithme de Levenberg-Marquardt apporte une solution numérique pour minimisation de sommes de fonction non-linéaire.

[http://en.wikipedia.org/wiki/Levenberg-Marquardt\\_algorithm](http://en.wikipedia.org/wiki/Levenberg-Marquardt_algorithm) (consulté le 14 juin 2005)

Intensité relative

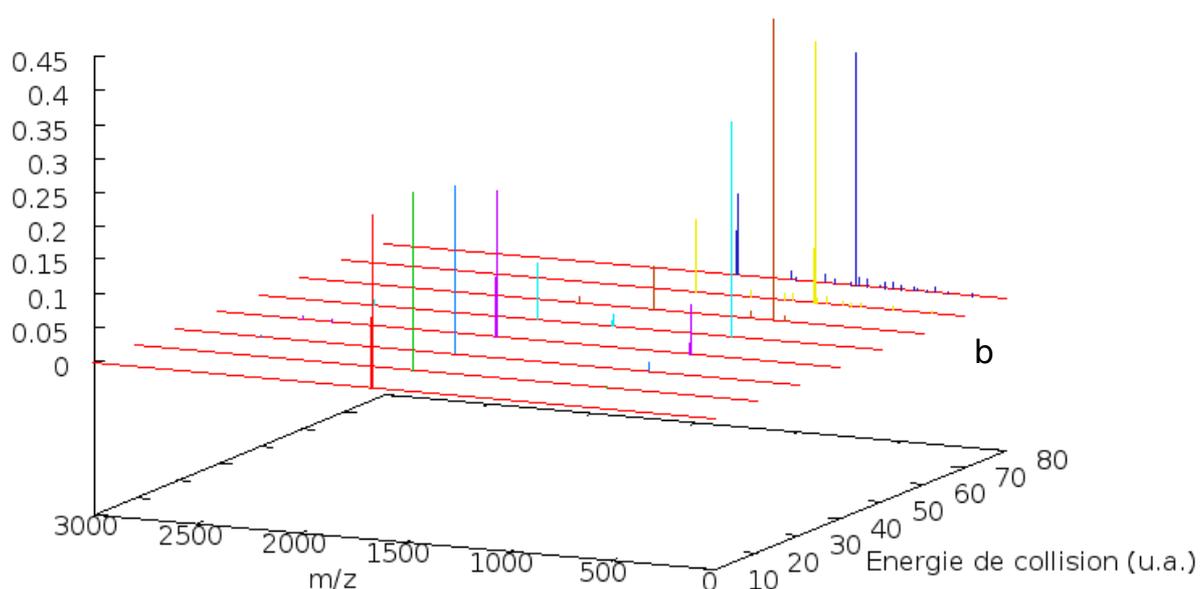
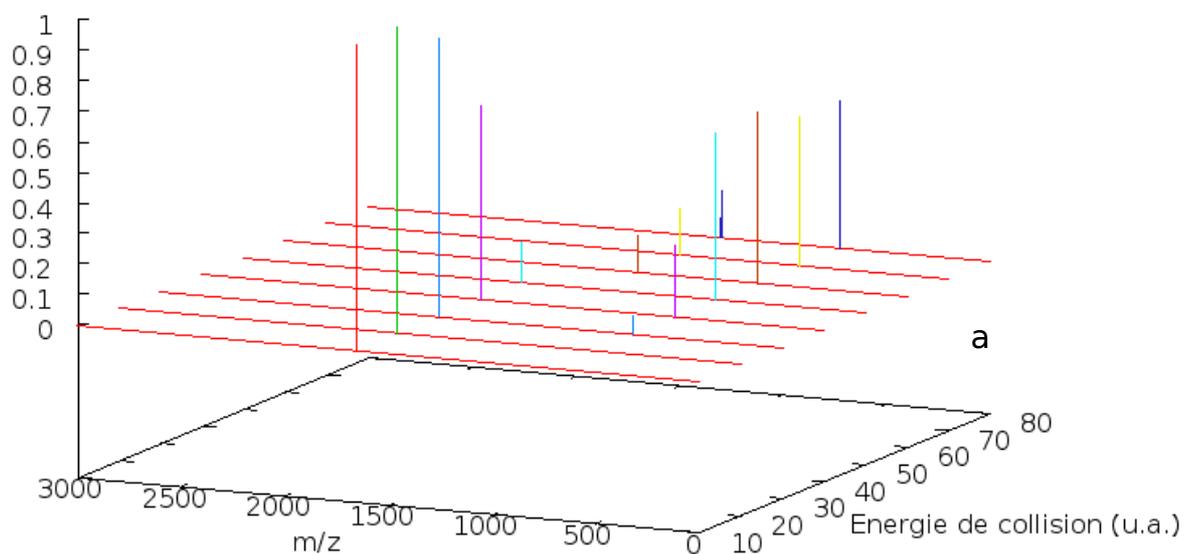


Figure 24 : les figures (a) et (b) représentent les spectres complets obtenus lors de la fragmentation induite par collision, après la sélection en masse du deuxième isotope (a) ou de la distribution isotopique complète (b) du complexe. L'intensité, calculée sur base de l'intégration des pics, est normalisée à la somme de toutes les intensités.

appui de l'affirmation qu'à de plus hautes énergies, le fragment neutre observé est composé d'une cyclodextrine moins deux hydrogènes. L'énergie correspondant à un taux de survie du complexe de 50% est obtenue au départ de la sigmoïde ajustée aux points expérimentaux, et est égale à  $41,5 \pm 0,5$  u.a. lorsque déterminée au départ des résultats obtenus pour le deuxième isotope de la distribution isotopique et égale à  $46,4 \pm 0,4$  u.a lorsque la totalité de la distribution est considérée. La considération de la distribution isotopique totale entraîne une erreur importante sur les intensités des formes isotopiques les plus lourdes, ainsi que l'augmentation du rapport signal sur bruit pour les isotopes les plus intenses. Qui plus est, l'isolation de la totalité de la distribution isotopique est impossible pour certaines espèces, celles-ci se superposant aux isotopes d'autres ions. La comparaison des énergies de collision n'est donc réalisable que pour des isotopes extraits des distributions. Les taux de survie, du complexe ainsi que les sigmoïdes ajustées, sont représentés à la figure 25.

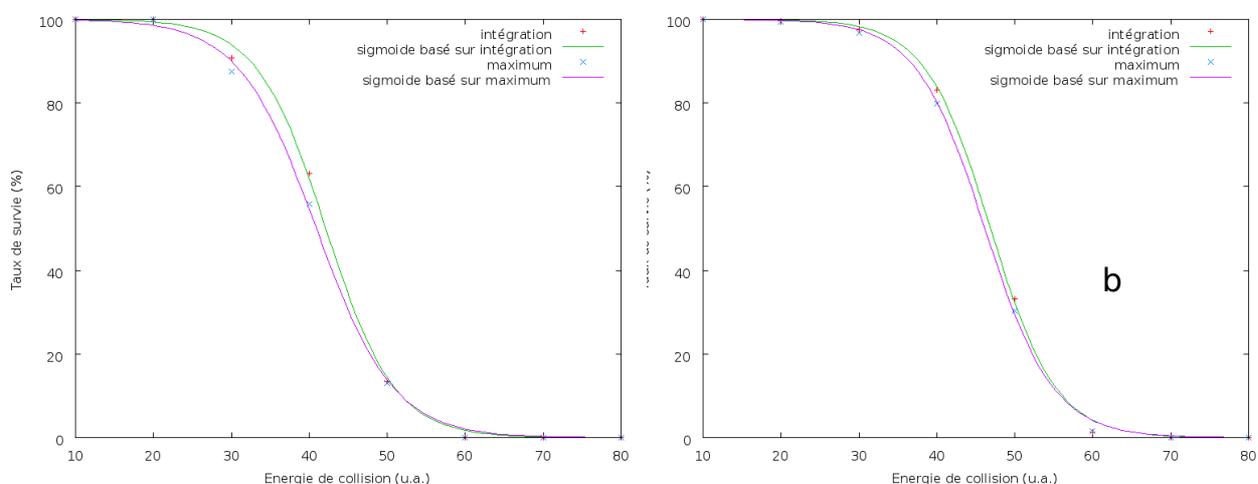


Figure 25 : courbes de survies d'un isotope (a) et de la distribution isotopique complète (b) du complexe  $C_{60} : (\gamma\text{-CDX} - 2H)_2^{2-}$

## ***Dimère de $\gamma$ -CDX deux fois déprotoné***

L'isolation en masse de la seule distribution isotopique du dimère doublement déprotoné de  $\gamma$ -cyclodextrine est impossible en raison de la superposition de la distribution isotopique du monomère une fois déprotoné. Par contre, les isotopes du dimère contenant un nombre impair de  $^{13}\text{C}$  ne se superposant pas aux isotopes du monomère, il est possible d'étudier la dissociation du complexe sans interférence de ses unités constituantes non complexées, par sélection d'un de ces isotopes. Nous avons opéré la sélection en masse du deuxième isotope, ce dernier étant le plus intense.

On observe un début de dissociation pour une énergie de collision de 40 u.a. et comme principal fragment observé le monomère de cyclodextrine une fois déprotoné. A une énergie de collision de 60 u.a., le signal du dimère a complètement disparu et les fragments de cyclodextrines contribuent de façon non négligeable au courant ionique total. Le spectre complet de la dissociation est représenté à la figure 26a. L'énergie correspondant à un taux de survie du complexe de 50% obtenue au départ de collision de la sigmoïde ajustée aux points expérimentaux est égale à  $43,5 \pm 0,1$  u.a. comme le montre la figure 26b.

Intensité relative

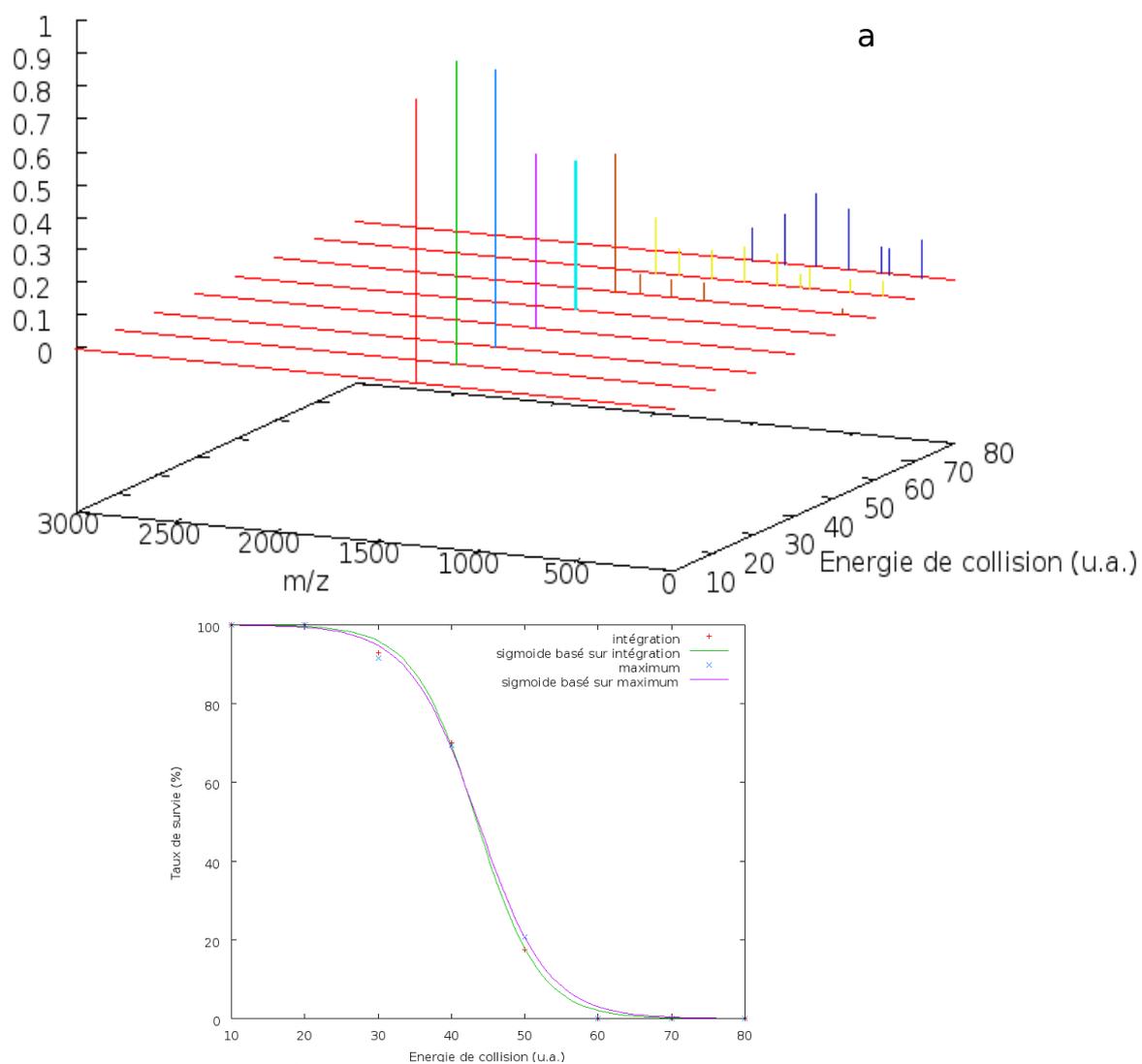


Figure 26 : la figure (a) représente les spectres complets obtenus lors de la fragmentation induite par collision, après la sélection en masses du deuxième isotope du dimère de  $\gamma$ -cyclodextrine. L'intensité, calculée sur base de l'intégration des pics, est normalisée à la somme de toutes les intensités. Sont représentées à la figure (b) les courbes de taux de survie de l'isotope isolé du dimère de  $\gamma$ -cyclodextrine.

## Monomère de $\gamma$ -CDX une fois déprotoné

L'isolation en masse du seul monomère de cyclodextrine pose problème en raison de la superposition des pics du dimère doublement déprotoné. Afin de minimiser la présence de dimère, la solution d'analyse a été diluée afin de déplacer l'équilibre vers la forme non complexée et nous avons sélectionné en masse le troisième isotope du monomère – ce qui correspond au cinquième isotope du dimère déprotoné deux fois, dont l'intensité du pic est faible (figure ).

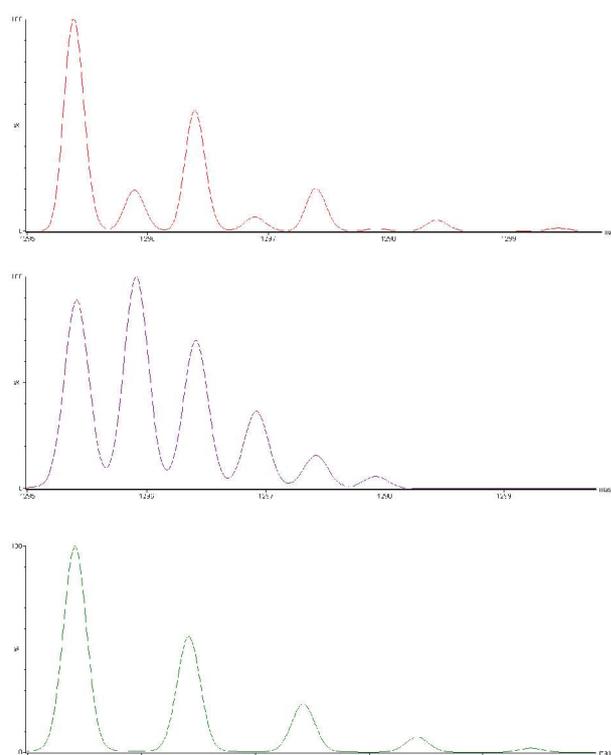


Figure 27 : spectre de masse expérimental du monomère monochargé et dimère dichargé de cyclodextrines (a), distribution isotopique théorique du monomère monochargé (b) et dimère dichargé (c) de cyclodextrines.

La fragmentation du monomère commence à une énergie de collision de 60 u.a. et le composé est complètement fragmenté à une énergie de 80 u.a.

(figure 28a). Le taux de survie de 50 % est obtenu pour une énergie de collision de  $58,7 \pm 0,5$  u.a. (figure 28b).

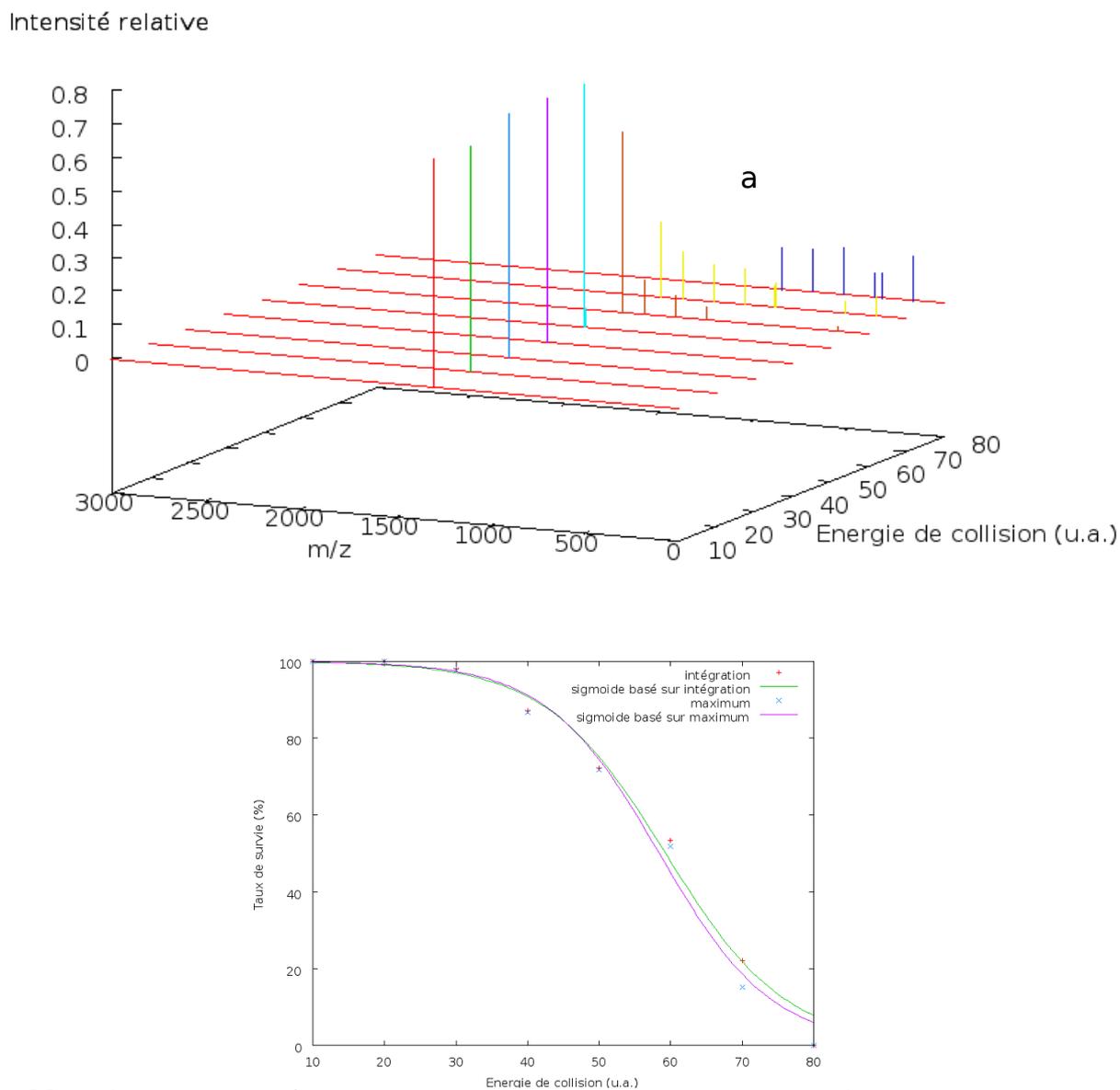


Figure 28 :la figure (a) représente le spectre complet obtenu lors de la fragmentation induite par collision, après la sélection en masse d'un isotope du monomère de cyclodextrine. L'intensité, calculée sur base de l'intégration des pics, est normalisée à la somme de toutes les intensités. Sur la figure (b) sont représentées les courbes de survie d'un isotope du monomère de cyclodextrine.

## Monomère de $\gamma$ -CDX deux fois déprotoné

La fragmentation induite par collision du monomère commence déjà à une énergie de collision de 10 u.a. (figures 30 et 31) et est complète pour une énergie de collision de 40 u.a.. Les ions obtenus sont des fragments de cyclodextrine. L'énergie correspondant à un taux de survie du complexe de 50% et obtenue au départ de la sigmoïde ajustée aux points expérimentaux est égale à  $25,1 \pm 0,4$  u.a. (figure 29a) ainsi que déterminé au départ des résultats obtenus pour le deuxième isotope de la distribution isotopique et à  $25,5 \pm 0,3$  u.a. lorsque la totalité de la distribution est considérée (figure 29a).

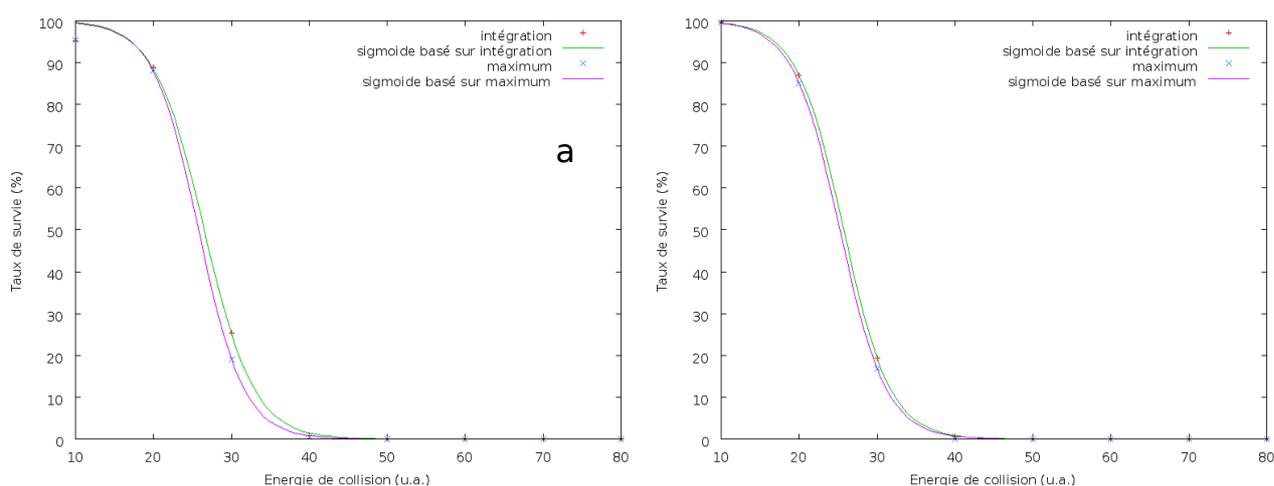


Figure 29 : les figures (a) et (b) sont les courbes de survie d'un isotope (a) ou de la distribution isotopique complète (b) du monomère de cyclodextrine dichargé.

La fragmentation du monomère de  $\gamma$ -cyclodextrine doublement chargé produit essentiellement des ions monochargés ainsi que quelques ions dichargés. Parmi ces monochargés sont présentes les unités monomériques constituant la cyclodextrine, augmentées ou non de la masse d'un oxygène.

Intensité relative

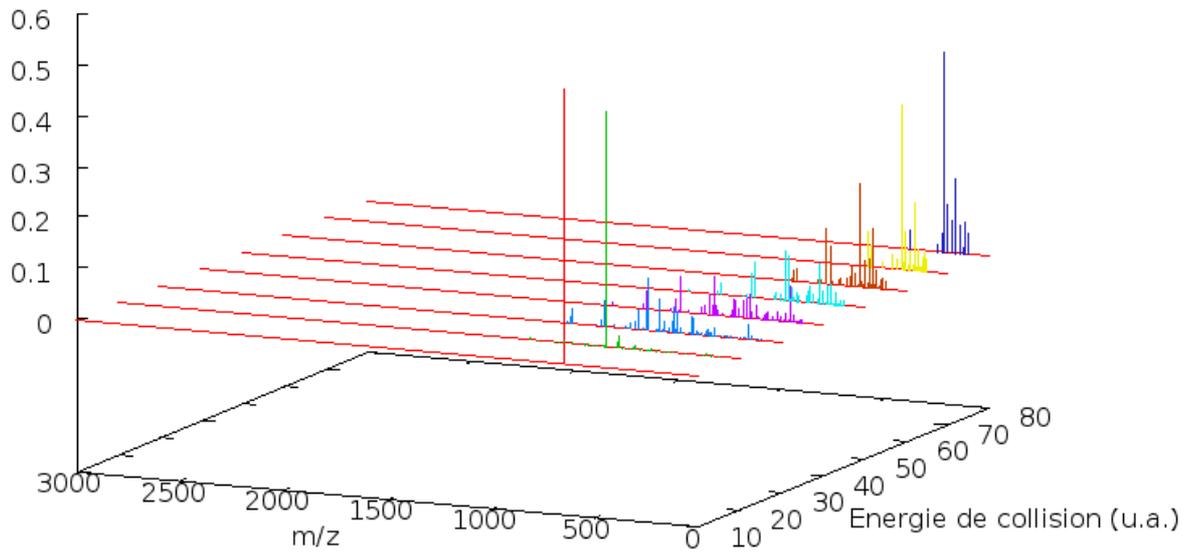


Figure 30 : la figure représente les spectres complets obtenus lors de la fragmentation induite par collision, après sélection en masse de la distribution isotopique complète du monomère de cyclodextrine deux fois déprotoné. L'intensité, calculée sur base de l'intégration des pics, est normalisée à la somme de toutes les intensités.

Intensité relative

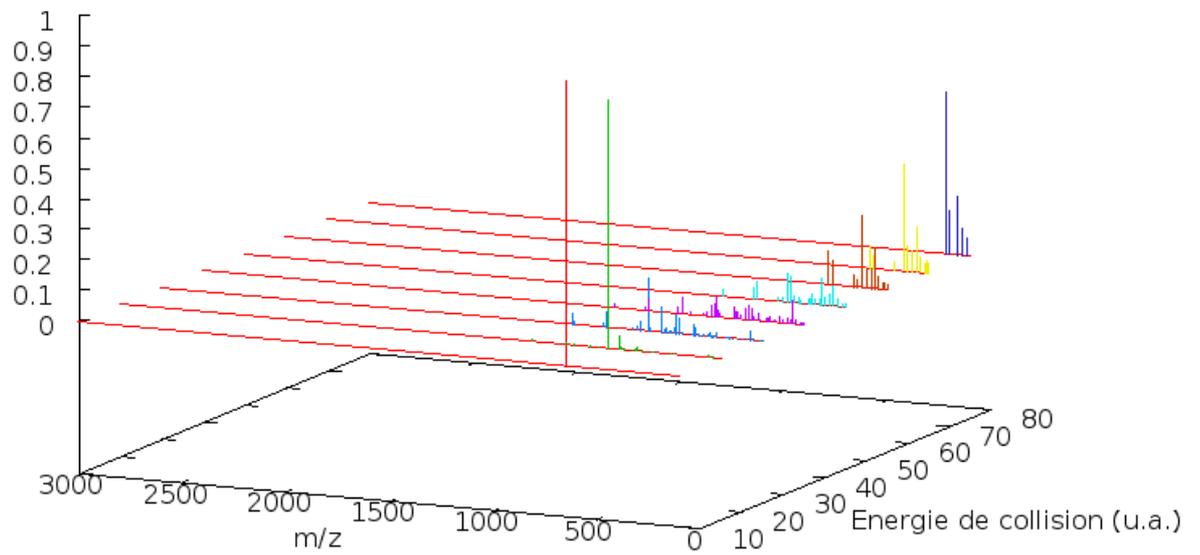


Figure 31 : la figure représente les spectres complets obtenus lors de la fragmentation induite par collision, après sélection en masse d'un isotope du monomère de cyclodextrine dichargé. L'intensité, calculée sur base de l'intégration des pics, est normalisée sur base de la somme de toutes les intensités.

Sont repris dans le tableau suivant les différentes énergies correspondant à un taux de survie de 50%.

<b>Précurseur</b>	<b>Énergie correspondant à un taux de survie de 50% (u.a.)</b>	
	<b>Un seul isotope</b>	<b>Distribution isotopique complète</b>
$C_{60} : (\gamma\text{-CDX} - 2H)_2^{2-}$	$41,5 \pm 0,5$	$46,4 \pm 0,4$
$(\gamma\text{-CDX} - 2H)_2^{2-}$	$43,5 \pm 0,1$	/
$(\gamma\text{-CDX} - H)^-$	$58,7 \pm 0,5$	/
$(\gamma\text{-CDX} - 2H)^{2-}$	$25,1 \pm 0,4$	$25,5 \pm 0,3$

Tableau 2 : résumé des différentes valeurs de l'énergie correspondant à un taux de survie de 50%. Chaque valeur est la moyenne des deux méthodes de calcul de l'intensité. L'activation collisionnelle n'a pas été effectuée pour les distributions isotopiques complètes du dimère doublement déprotoné et du monomère simplement déprotoné de cyclodextrine, en raison de leur superposition.

Pour rendre les données du tableau 2 comparables, il est nécessaire de transformer l'énergie cinétique dans le repère du laboratoire en celle dans le repère du centre de masse. Le tableau suivant contient les énergies de collision transformées au moyen de l'utilisation de la formule (5) et tiennent compte de l'énergie cinétique double des ions doublement chargés.

Le différence de l'énergie collision correspondant à un taux de survie de 50% pour le complexe d'inclusion  $C_{60} : (\gamma\text{-CDX} - 2H)_2$  est principalement due à un artefact lié à la méthode d'intégration vis-à-vis du bruit de fond. En effet, un seuil de bruit de fond trop important néglige la présence de fragment et donc le parent apparaît plus solide.

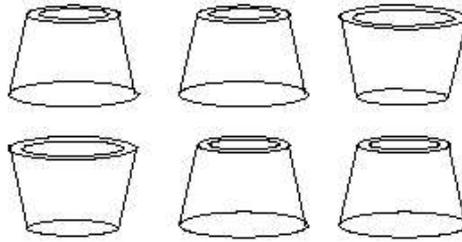
<b>Précurseur</b>	<b>Énergie dans le repère du centre de masse correspondant à un taux de survie de 50% (u.a.)</b>	
	<b>Un seul isotope</b>	<b>Distribution isotopique complète</b>
$C_{60} : (\gamma\text{-CDX} - 2H)_2^{2-}$	$0,99 \pm 0,01$	$1,10 \pm 0,01$
$(\gamma\text{-CDX} - 2H)_2^{2-}$	$1,322 \pm 0,003$	/
$(\gamma\text{-CDX} - H)^-$	$1,757 \pm 0,01$	/
$(\gamma\text{-CDX} - 2H)^{2-}$	$1,50 \pm 0,02$	$1,52 \pm 0,02$

Tableau 3 : les énergies de collision correspondant à un taux de survie de 50%, transposées dans le repère du centre de masse. L'activation collisionnelle n'a pas été effectuée pour la distribution isotopique complète du dimère doublement déprotoné et du monomère simplement déprotoné de cyclodextrine, en raison de leur superposition.

## 5. Discussion des interactions stabilisantes

Plusieurs paramètres interviennent lors de la conversion de l'énergie cinétique en énergie interne. Parmi ceux-ci, le nombre de collisions avec le ou les gaz de collision, le maximum d'énergie transférable et le taux d'énergie transférée à chaque collision.

Le nombre de collisions dépend de la section efficace du parent et celle-ci dépend de la géométrie de la molécule. Bonnet P.<sup>xxix</sup> a montré, au moyen de calculs empiriques, que l'agencement du dimère de cyclodextrine est tête-à-tête, la tête correspond à la grande ouverture de la cavité de la cyclodextrine (figure 32). L'agencement des cyclodextrines composant les complexes est aussi tête-à-tête, en accord avec les résultats de Bonnet et des résultats d'analyse RMN<sup>xxix</sup> réalisés par Andersson et al. Dès lors, la géométrie étant approximativement la même, les sections efficaces de collision du complexe et du dimère sont identiques en première approximation.



*Figure 32 : représentation des différents agencements du dimère de cyclodextrine. La petite ouverture, où se situent les groupements -CH<sub>2</sub>OH, est appelé bêche, alors que la grande ouverture est appelée tête. De gauche à droite, les conformations sont représentées : tête-tête, tête-bêche, bêche-bêche (référence xxxix)*

A chaque collision, seule une fraction de l'énergie cinétique de l'ion est convertie en énergie interne. Cette proportion dépend de la nature des collisions, élastiques ou inélastiques. Dans le cas présent, les cyclodextrines sont très « souples » et leur collision donc probablement plus élastiques que celles du complexe d'inclusion C<sub>60</sub> : (γ-cdx)<sub>2</sub>. Le C<sub>60</sub> est en effet très rigide, sa présence à l'intérieur de la cavité modifie dès lors la rigidité du système. En conséquence, les taux de conversion de l'énergie cinétique en énergie interne sont probablement sensiblement différents et la méconnaissance de ce paramètre ne permet pas une comparaison rigoureuse des données, le gain d'énergie interne étant indéterminé.

La comparaison des données correspondant aux énergies transférables maximales converties du repère du laboratoire au repère du centre de masse du tableau 3 indique une stabilité, en phase gazeuse, moindre pour le complexe C<sub>60</sub> : (γ-cyclodextrines)<sub>2</sub> que pour le dimère (γ-cyclodextrine)<sub>2</sub>, tous deux étant deux fois déprotonés. La présence du C<sub>60</sub> à l'intérieur de la cavité n'induit pas d'effet stabilisant alors que l'on aurait pu s'attendre à une augmentation de la stabilité du fait de l'augmentation du nombre de degrés de

liberté du système. Au vu des résultats, il semble que l'énergie interne acquise par collision n'est pas redistribuée sur les degrés des libertés du C<sub>60</sub>. Cette non participation pouvant être une conséquence de l'encapsulation et du manque d'interactions fortes entre le C<sub>60</sub> et les  $\gamma$ -cyclodextrines. Certains modèles<sup>xxix</sup> montrent que la cavité hydrophobe est plus grande que le C<sub>60</sub>. De plus, le C<sub>60</sub> ne possédant pas l'opération de symétrie D<sub>8</sub> de la  $\gamma$ -cyclodextrine, il ne possède pas d'orientation préférentielle ce qui a pour conséquence de permettre sa libre rotation, qui favorise l'absence d'interactions.

Le formation du complexe d'inclusion se justifie par le fait qu'elle permet de minimiser les interactions défavorables, fullerène – eau, tout en permettant les interactions favorables, cyclodextrine – cyclodextrine au moyen de liaison hydrogène. Les interactions de Debye entre la cyclodextrine et le C<sub>60</sub> ne contribuent, selon toute vraisemblance, que faiblement à la formation du complexe.

## **6. Transfert de charge entre le C<sub>60</sub> et les cyclodextrines**

La figure 33 illustre la proportion des principaux ions observés lors de la dissociation induite par collision du complexe C<sub>60</sub> : ( $\gamma$ -CDX – 2H)<sub>2</sub><sup>2-</sup> (spectre MSMS). Le complexe amorce sa dissociation à une énergie de 20 u.a. et, simultanément, apparaît l'anion C<sub>60</sub> hydrogéné. Ceci signifie que la dissociation à basse énergie conduit à la formation préférentielle de C<sub>60</sub>H<sup>-</sup>.

L'affinité électronique du C<sub>60</sub> est très élevée :  $2,7 \pm 0,1$  eV. Ce qui explique la facilité avec laquelle le C<sub>60</sub> peut capturer un électron. La seconde affinité électronique du C<sub>60</sub> est quant à elle positive, il lui est donc difficile de capturer un second électron pour former une espèce à couche fermée, ce qui explique la capture d'un radical hydrogène en provenance d'une des  $\gamma$ -cyclodextrines. La charge étant initialement localisée sur les cyclodextrines du fait de la

déprotonation de ces dernières, un transfert de charge s'est opéré entre celles-ci et le  $C_{60}$ .

L'absence d'un deuxième fragment monochargé assurant la conservation de la charge complique toutefois passablement la suggestion d'un mécanisme pouvant expliquer la formation de l'espèce  $C_{60}H^+$ . En effet, les deux charges du complexe devraient conduire à la formation soit d'un fragment doublement chargé, soit de deux fragments monochargés. Il est dès lors vraisemblable qu'un fragment chargé de rapport masse sur charge inférieure au seuil de détection (qui est de 90 m/z) du spectromètre de masse soit formé. Il est possible que ce fragment soit l'ion  $OH^+$ .

Si un signal très faible est observé pour le dimère monochargé de  $\gamma$ -cyclodextrine entre une énergie de collision de 30 u.a. et de 50 u.a., il faut attendre 50 u.a. avant de voir apparaître le signal des monomères de  $\gamma$ -cyclodextrine déprotonés, toujours en présence du signal dominant du fullerène hydrogéné.

Voici un mécanisme pouvant expliquer les différentes observations. Les deux charges correspondant à la déprotonation se trouvent sur les couronnes extérieures des deux cyclodextrines, où elles sont en contact avec le solvant. Ces deux groupes alcoolates ne sont donc pas dans le voisinage du fullerène. Une fois en phase gazeuse, grâce à la grande affinité électronique du  $C_{60}$ , un électron d'un groupement alcool proche du  $C_{60}$  lui est transféré, formant un radical anion,  $C_{60}^{\cdot-}$  et un oxygène radicalaire sur la cyclodextrine considérée, il en résulte donc deux espèces à couche ouverte. A basse énergie de collision, l'oxygène ayant transféré un électron est stabilisé grâce à la présence d'un ou plusieurs groupes alcools dans son voisinage immédiat. A cause de sa couche ouverte, le radical anion fullerène capture lors de l'activation un radical hydrogène pour former  $C_{60}H^+$ , un anion à couche fermée et provoque l'élimination d'un groupe chargé négativement, de masse inférieure à notre limite de 90 dalton ainsi que le départ des deux cyclodextrines neutres dont une est oxydée. A plus haute énergie de collision, l'énergie interne du système

est suffisamment importante pour que la rupture des liaisons hydrogènes soit suffisamment rapide pour que l'élimination de  $X^-$  n'ait pas lieu, l'élimination de la cyclodextrine chargée négativement l'emporte. Une observation en faveur d'un mécanisme radicalaire est la présence, en faible abondance, à basse énergie de collision, du dimère de cyclodextrine monochargé, avec perte de trois hydrogènes (les deux protons de départ et un radical hydrogène).

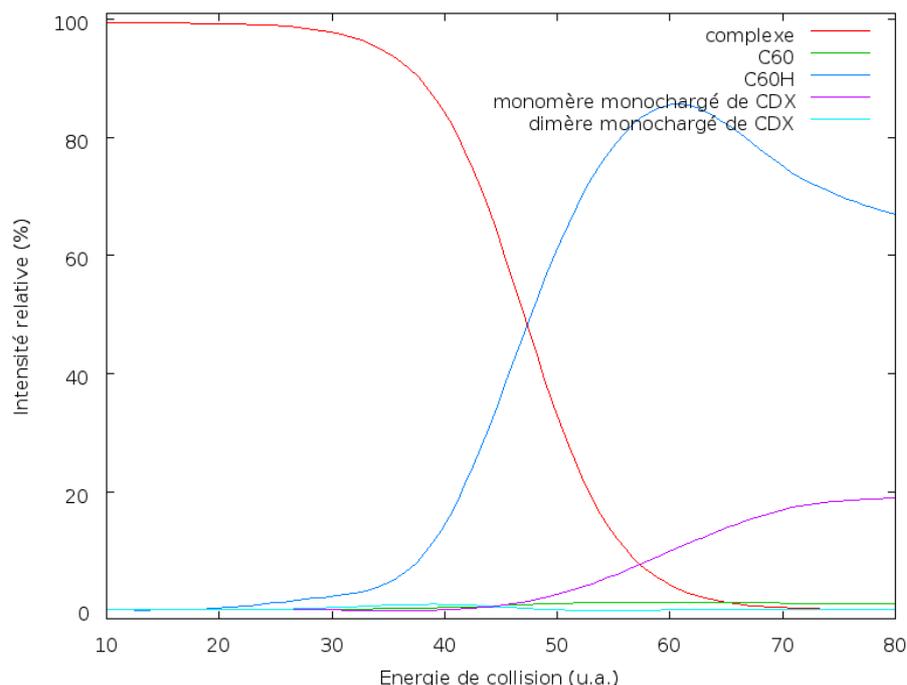


Figure 33 : représentation de la proportion des différents ions observés en fonction de l'énergie de collision. On constate que le  $C_{60}^-$  et le  $C_{60}H^-$ , ainsi que le dimère de cyclodextrine monochargé avec la perte de deux hydrogènes, apparaissent bien avant le monomère de cyclodextrine une fois déprotoné.

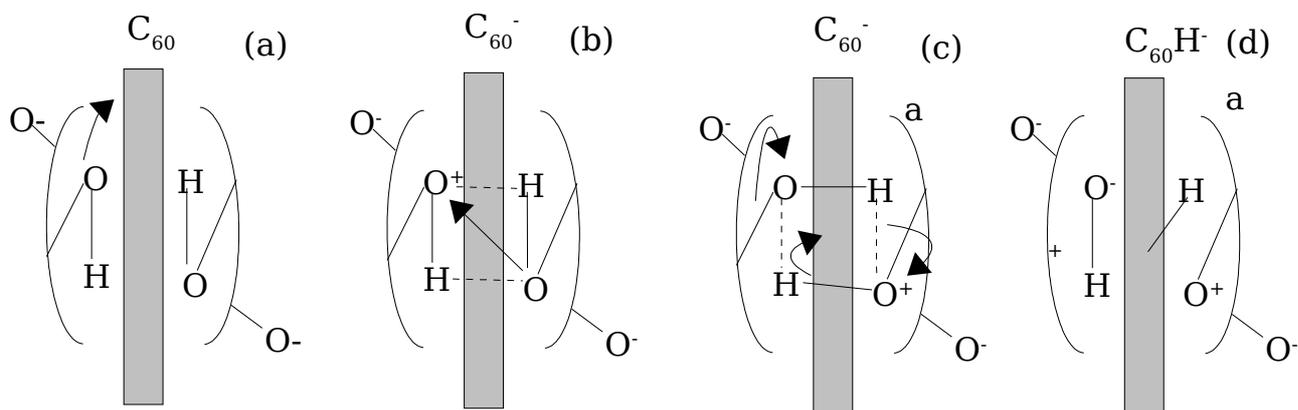


Figure 34 : mécanisme du transfert d'un électron d'une des cyclodextrines vers le C<sub>60</sub> : (a) transfert d'un électron vers le fullerène, (b) stabilisation de la charge grâce aux paires libres des oxygènes voisins, (c) transfert d'un radical hydrogène vers le fullerène et élimination d'un ion OH<sup>-</sup>, (d) obtention de deux cyclodextrines globalement neutres, qui peuvent se réorganiser.

## 7. Formation et caractérisation du complexe fullerène[60] : (γ-cyclodextrine)<sub>2</sub> avec la présence d'adduits d'acétate

Le complexe fullerène[60] : (γ-cyclodextrine)<sub>2</sub> a la capacité de capturer une ou deux molécules d'acide acétique comme on peut le constater à la figure 35.

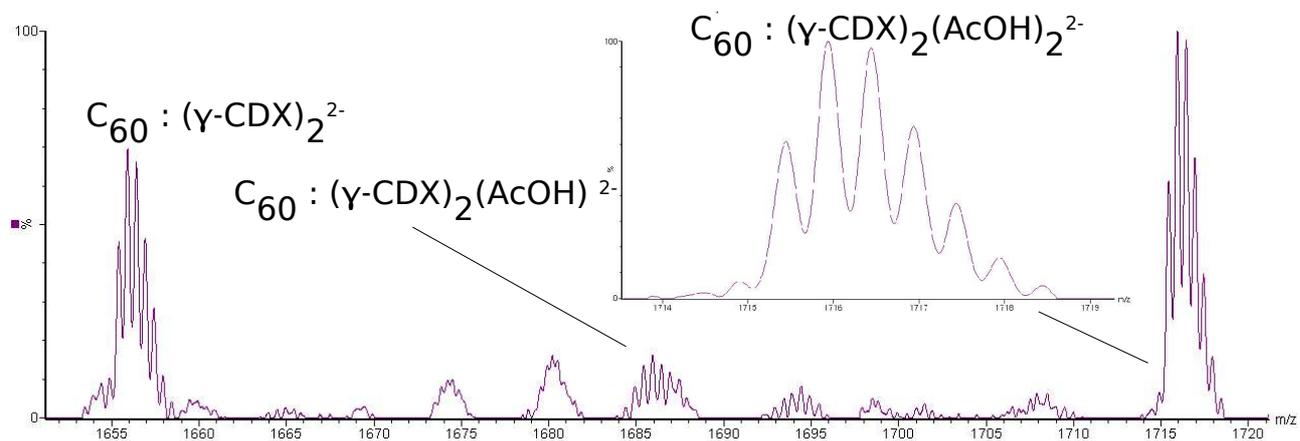


Figure 35 : spectre de masse du complexe C<sub>60</sub> : (γ-CDX)<sub>2</sub> avec un et deux adduits d'acide acétique. Un agrandissement du complexe C<sub>60</sub> : (γ-CDX)<sub>2</sub>(AcOH)<sup>2-</sup> est placé dans l'encart.

La limite de deux adduits au maximum indique que les molécules d'acide acétique se coordonnent au niveau des petites ouvertures de la cavité de la cyclodextrine. Le mécanisme d'ionisation semble impliquer la présence d'acétate car, en absence de celui-ci, le nombre d'ions, complexes et cyclodextrines, observé diminue drastiquement. L'acétate pourrait capturer un proton lors de l'électronébulisation et ainsi faciliter l'ionisation de la cyclodextrine et du complexe.

Il ne nous a pas été possible de procéder à l'activation collisionnelle de ce complexe. En effet une solution trop concentrée en acétate d'ammonium diminue la solubilité du complexe d'inclusion  $C_{60} : (\gamma\text{-cyclodextrine})_2$  et rend impossible une longue accumulation en spectrométrie de masse.

## **8. Formation et caractérisation du complexe fullerène[60] : $\beta$ -cyclodextrine**

Le solide obtenu après évaporation de la solution de complexation était beige alors que le complexe de  $C_{60} : (\gamma\text{-cyclodextrine})_2$  est de couleur mauve. Qui plus est, l'analyse par spectrométrie de masse ne nous a permis d'observer le complexe  $C_{60} : \beta\text{-cyclodextrine}$  et ce pour aucune stoechiométrie.

Le complexe d'inclusion  $C_{60} : (\beta\text{-cyclodextrine})_x$  avec  $x = 1$  ou  $2$  pourrait exister en solution et se dissocier lors de l'électronébulisation capillaire.

Au vu de la discussion sur les interactions du complexe  $C_{60} : (\gamma\text{-cyclodextrine})_2$ , il apparaît également que la présence de liaisons hydrogènes entre les deux cyclodextrines est le ciment du complexe. Dans le cas de la  $\beta$ -cyclodextrine, il n'est pas possible aux deux cyclodextrines composant éventuellement le complexe d'inclusion de le stabiliser par des liaisons hydrogènes. En effet, la cavité de la  $\beta$ -cyclodextrine est trop petite (ouvertures de 6,0 et 6,5 Å). Le  $C_{60}$  serait donc en contact direct avec le solvant.

## 9. Synthèse de sulfoxicalix[8]arène

Nous avons analysé par spectrométrie de masse le sulfoxicalix[8]arène que nous avons synthétisé au départ du calix[8]arène. Cette analyse ne nous a pas permis de conclure à la réussite de la synthèse car si le spectre de masse comporte une série de pics, aucun ne correspond au produit désiré ni à des possibles adduits.

Trois hypothèses peuvent expliquer ces observations : soit le produit n'a pas été formé, soit il s'est décomposé, soit le seuil de fragmentation du composé est trop faible pour qu'il puisse être observé en spectrométrie de masse à électronébulisation capillaire.

Nous avons, tout de même, tenté de former le complexe avec le sulfoxicalix[8]arène, sans toutefois avoir pu mettre en évidence de pics autres que ceux obtenus pour le sulfoxicalix[8]arène synthétisé.

Par manque de temps, il ne nous pas été possible de recommencer la fonctionnalisation du calix[8]arène.

## VI. Conclusion

L'objet du présent mémoire a été de caractériser par spectrométrie de masse par électronébulisation capillaire le complexe d'inclusion hydrosoluble  $C_{60}$  :  $(\gamma\text{-cyclodextrine})_2$ . Nous avons démontré de facto, sans recours à des mesures indirectes comme la spectroscopie UV-visible, l'existence du complexe en solution. Les résultats obtenus confirment la formation du complexe, son pouvoir comme agent de la solubilisation du  $C_{60}$ , et sa stoechiométrie; et viennent ainsi en appui des résultats RMN en solution dans l'eau lourde.

Le second objectif était de procéder à l'optimisation des conditions d'observation du complexe par spectrométrie de masse. Pour ce faire, il a été procédé à l'ajout d'acétate d'ammonium afin de modifier la force ionique de la solution ainsi qu'à l'ajout de méthanol pour faciliter l'émission de gouttelettes et d'espèces chargées. Nous avons conclu que les conditions optimales étaient de 20 mM en acétate d'ammonium et une proportion de 15 % de méthanol.

Une fois les conditions optimales déterminées, nous avons obtenu les courbes de taux de survie en fonction de l'énergie de collision pour le complexe  $C_{60}$  :  $(\gamma\text{-cyclodextrine})_2$ , le monomère de cyclodextrine monochargé et dichargé, ainsi que le dimère de cyclodextrine deux fois déprotoné. De ces courbes, nous avons extrait les énergies de collisions correspondant à un taux de survie de 50%. Ces énergies de collisions déterminées dans le repère du laboratoire ont été converties dans le repère du centre de masse.

Ces données nous ont permis de conclure que la présence du  $C_{60}$  dans le dimère de cyclodextrines n'induit pas une augmentation significative de la stabilité du complexe. Les interactions hydrogènes entre les deux cyclodextrines sont donc à la base de la formation du complexe, la répulsion hydrophobe et les forces de Van der Waals favorisant la formation du complexe d'inclusion en solution.

La fragmentation du complexe  $C_{60}$  :  $(\gamma\text{-cyclodextrine})_2$  nous a permis de mettre

en évidence le transfert d'un électron et d'un radical hydrogène à partir des  $\gamma$ -cyclodextrine vers le fullerène; la force motrice de cette réaction étant la très grande affinité électronique du  $C_{60}$ . Nous avons aussi mis en évidence deux régimes de fragmentation, à basse énergie de collision et à haute énergie de collision. Une hypothèse de mécanisme a été avancée afin d'expliquer ces observations.

Le complexe  $C_{60} : (\beta\text{-cyclodextrine})_x$  où  $x = 1$  ou  $2$  n'a pas été observé par spectrométrie de masse à ionisation par électronébulisation capillaire. Ce résultat est en accord avec les précédentes publications et conforte l'importance de la formation de liaisons hydrogènes entre les cyclodextrines.

La réaction de complexation du  $C_{60}$  par le sulfoxicalix[8]arène n'a pas été réalisée étant donné la mauvaise synthèse du sulfoxicalix[8]arène à partir du calix[8]arène. Dès lors aucune observation n'a été effectuée sur ce complexe.

Il apparaît donc clairement que la spectrométrie de masse à ionisation par électronébulisation capillaire peut, contrairement à l'hypothèse généralement admise, analyser des complexes non-covalents de type hydrophobe. La stabilité du complexe doit cependant être assurée par des liaisons plus fortes (liaisons hydrogènes en l'occurrence). La fragmentation par activation collisionnelle a permis la mise en évidence d'un mode de fragmentation original avec réaction intramoléculaire, dont l'étude sera poursuivie.

# VII. Table des matières

<b>I. Introduction.....</b>	<b>3</b>
<b>1. Généralités.....</b>	<b>3</b>
<b>2. Mise en solution du fullerène[C60].....</b>	<b>6</b>
<b>3. Intérêt de la solubilisation du fullerène[C60].....</b>	<b>7</b>
<b>4. Techniques utilisées pour solubiliser le fullerène[C60].....</b>	<b>7</b>
La fonctionnalisation .....	8
La complexation.....	9
a) Les cyclodextrines.....	11
b) Les calixarènes.....	13
<b>5. Technique utilisée.....</b>	<b>14</b>
<b>II. Objectifs du mémoire.....</b>	<b>16</b>
<b>III. Matériel et méthodes.....</b>	<b>17</b>
<b>1. Technique.....</b>	<b>17</b>
<b>2. La source ESI.....</b>	<b>18</b>
<b>3. Le spectromètre à temps de vol (TOF).....</b>	<b>21</b>
<b>4. Réflectron.....</b>	<b>23</b>
<b>5. Détecteur.....</b>	<b>24</b>
<b>6. Les quadripôles et hexapôles.....</b>	<b>25</b>
<b>7. Obtention d'un spectre de masse en MS simple.....</b>	<b>28</b>
<b>8. Obtention d'un spectre de masse en MS-MS.....</b>	<b>28</b>
<b>IV. Partie expérimentale.....</b>	<b>30</b>
<b>1. Complexe fullerène[60] : <math>\gamma</math>-cyclodextrines.....</b>	<b>30</b>
Utilisation de 2 phases non miscibles.....	31
<b>2. Complexe fullerène[60] : 8-sulfoxicalix[8]arène.....</b>	<b>32</b>
Synthèse du 8-sulfoxicalix[8]arène .....	33
<b>3. Produits et solutions.....</b>	<b>34</b>
<b>V. Résultats.....</b>	<b>36</b>
<b>1. Formation du complexe <math>\gamma</math>-cyclodextrine : fullerène C60.....</b>	<b>36</b>
<b>2. Caractérisation du complexe fullerène C60 : <math>\gamma</math>-cyclodextrine.....</b>	<b>37</b>
Confirmation de la nature du complexe par dissociation induite par collision.....	39

<b>3.Optimisation des conditions d'observation du complexe <math>\gamma</math>-cyclodextrine : fullerène C60.....</b>	<b>42</b>
<b>4.Dissociation du complexe fullerène C60 : (<math>\gamma</math>-cyclodextrine)<sub>2</sub>.....</b>	<b>44</b>
Complexe C60 : ( $\gamma$ -CDX) <sub>2</sub> .....	45
Dimère de $\gamma$ -CDX deux fois déprotoné.....	48
Monomère de $\gamma$ -CDX une fois déprotoné.....	50
Monomère de $\gamma$ -CDX deux fois déprotoné.....	52
<b>5.Discussion des interactions stabilisantes.....</b>	<b>56</b>
<b>6.Transfert de charge entre le C60 et les cyclodextrines.....</b>	<b>58</b>
<b>7.Formation et caractérisation du complexe fullerène[60] : (<math>\gamma</math>-cyclodextrine)<sub>2</sub> avec la présence d' adduits d'acétate.....</b>	<b>61</b>
<b>8.Formation et caractérisation du complexe fullerène[60] : <math>\beta</math>-cyclodextrine.....</b>	<b>62</b>
<b>9. Synthèse de sulfoxicalix[8]arène.....</b>	<b>63</b>
<b>VI.Conclusion.....</b>	<b>64</b>

- i Sigma-Aldrich, Advance Science : catalogue 2005 – 2006, Belgique
- ii Bochvar D., Gal'pern E., *Dokl. Akad. Nauk SSSR*, 1973, 209, 610-6012  
*Proc. Acad. Sci. USSR*, 1973, 209, 239-241 (English Translation)  
Stankevich I., Nikerov M., Bochvar D., *Russ. Chem. Rev.*, 1984, 53(7), 640-655
- iii Davidson R., *Theor. Chim. Acta*, 1981, 58, 193-195
- iv Smalley R., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1997, 36, 1594-1601
- v Prix Nobels de chimies en 1996, The Nobel Fondation, 14 avril 2005,  
<http://nobelprize.org/chemistry/laureates/1996/index.html>, accédé le 2 juin 2005
- vi Krätschmer W., Fostiropoulos K., Huffman D., *Chem. Phys. Lett.*, 1990, 170, 167
- vii Yu X., Cao Z., Han R., *Chemical Physics*, 1997, 215,1-6
- viii Delwiche J., *Cours de Chimie général II*, deuxième candidature en sciences chimiques, Université de Liège, Liège, 2002-2003
- ix Heymann D., *Carbon*, 1996, 34, 627-631
- x Tokuyama H., Yamago S., Nakamura E., Shiraki, T., Sugiura Y., *J. Am. Chem. Soc.*, 1993, 115, 7918
- xi Jensen A., Wilson S., Schuster D., *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 1996, 4(6), 767-779
- xii NIST Chemistry WebBook, NIST, National Institute of Standards and Technology, juin 2005, <http://webbook.nist.gov/chemistry/>, accédé le 6 juin 2005.
- xiii Cammarata V., Guo T., Illies A., Li L., Shevlin P., *J. Phys. Chem. A*, 2005, 109, 2765-2767
- xiv Tseng W.-Y., Chen Y.-H., Khairullin I., Cheng S., Hwang L.P., *Solid State Nuclear Magnetic Resonance*, 1997, 8, 219-229
- xv Murthy C., Geckeler K., *Full., Nanotubes, & Carb. Nanostructures*, 2002, 10(2), 91-98
- xvi Georghiou P., Mizyed S., Chowdhury S., *Tetrahedron Letters*, 1999, 40, 611-614
- xvii Mastubara H., Hasegawa A., Shiwaku K., Asano K., Uno M., Takahashi S., Koji Yamamoto K., *Chem. Lett.*, 1998, 9, 923-924
- xviii Tashiro K., Aida T., Zheng J.-Y., Kinbara K., Saigo K., Sakamoto S., Yamaguchi K., *J. Am. Chem. Soc.*, 1999, 121, 9477-9478

- xix Del Valle E.M., *Process Biochemistry*, 2004, 39, 1033–1046
- xx Markó I., *Le Ligueur*, n°19 du 11 mai 2005, 4
- xxi Cescutti P., Garozzo D., Rizzo R., *Carbohydrate Research*, 1996, 290, 105-115
- xxii Gardia B., Ramirez J., Wong S., Lebrilla C., *Inter. J. Mass Spectrom.*, 2001, 210-211, 215-222
- xxiii Cunniff J., Vouros P., *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, 1995, 6, 437-447
- xxiv Dotsikas Y., Loukas Y., *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, 2003, 14, 1123-1129
- xxv Gabelica V., Galic N., De Pauw E., *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, 2002, 13, 946 –953
- xxvi Kroto H., Allaf A., Balm S., *Chem. Rev.*, 1991, 91, 1213-1235
- xxvii Atwood J., Koutsantonis G., Raston C., *Nature*, 1994, 368 (17), 229-231
- xxviii Yoshida Z.-I., Takekuma H., Takekuma S.-I., Matsubara Y., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1994, 33, 1597-1599
- xxix Andersson T., Westman G., Wennerström O., Sundahl M., *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 1994, 1097-1101
- xxx Priyadadarsini K., Mohan H., Tyagi A., Mittal J., *J. Phys. Chem.*, 1994, 98, 4756-4759
- xxxi Komatsu K., Fujiwara K., Murata Y., Braun T., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1999, 2963-2966
- xxxii Giesa S., Gross J., Gleiter R., Krätschmer W., *Eur. Mass Spectrom.*, 1998, 4, 189-196
- xxxiii Fenn J., *Journal of Biomolecular Techniques*, 2002, 13, 101-118
- xxxiv Leyh, B., *Chimie physique : partim : dynamique des réactions chimiques : approches expérimentales*, deuxième licence en sciences chimiques, Université de Liège, Liège, 2004-2005
- xxxv Shinka N., Araki K., Tsubaki T., Arimura T., Manabe O., *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, 1987, 2297-2299
- xxxvi Demonceau, A., *Cours de chimie organique II*, deuxième candidature en sciences chimiques, Université de Liège, Liège, 2002-2003

- xxxvii Jacques Tonneau, *Tables de chimies, un mémento pour le laboratoire*, 2e édition, 2000, De Boeck Université, Bruxelles, Belgique, page 41
- xxxviii NIST: Atomic Weights and Isotopic Compositions Elements, Coursey J., Schwab D., Dragoset R., *NIST, Physics Laboratory, Office of Electronic Commerce in Scientific and Engineering Data*, dernière date de mise à jour : février 2005, consulté le 13 juin 2005, <http://physics.nist.gov/PhysRefData/Compositions/>
- xxxix Bonnet P., Jaime C., Morin-Allory L., *J. Org. Chem.*, 2001, 66, 689-692