

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS  
Departamento de Química Física I



**TESIS DOCTORAL**

**Supramolecular self-assembly of plasmonic gold nanoparticles**

**Auto-ensamblaje supramolecular de nanopartículas plasmónicas de oro**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

**Joao Paulo Coelho**

Directores

**Andrés Guerrero Martínez**  
**Gloria Tardajos Rodríguez**

**Madrid, 2017**

**Universidad Complutense de Madrid  
Facultad de Ciencias Químicas  
Departamento de Química Física I**



***Supramolecular Self-Assembly of  
Plasmonic Gold Nanoparticles***

***Auto-Ensamblaje Supramolecular de  
Nanopartículas Plasmónicas de Oro***

Memoria para optar al grado de Doctor presentada por

**João Paulo Coelho**

**Bajo la dirección de**

**Andrés Guerrero Martínez, Universidad Complutense de Madrid**

**Gloria Tardajos Rodríguez, Universidad Complutense de Madrid**

Madrid 2017



A mi familia y amigos

“I feel sorry for people who do not know anything about chemistry. They are missing an important source of happiness.”

Linus Pauling



**Tesis Doctoral**

**Supramolecular Self-Assembly of Plasmonic Gold Nanoparticles**

**“Auto-Ensamblaje Supramolecular de Nanopartículas Plasmónicas de Oro”**

Directores:

**Andrés Guerrero Martínez**

Investigador Ramón y Cajal

Departamento de Química Física I, Facultad de Ciencias Químicas

Universidad Complutense de Madrid

**Gloria Tardajos Rodríguez**

Profesora Catedrática de Universidad

Departamento de Química Física I, Facultad de Ciencias Químicas

Universidad Complutense de Madrid

Autor:

**João Paulo Coelho**

Departamento de Química Física I, Facultad de Ciencias Químicas

Universidad Complutense de Madrid

Madrid, 2017



## *Agradecimientos*

*A veces uno necesita ver las cosas desde otra perspectiva, vivir experiencias nuevas, escuchar y aprender de otras personas. Dicho esto, me gustaría agradecer de una forma muy especial a mis directores de tesis. A Andrés por incentivar me siempre con los retos propuestos, por su paciencia en los momentos que se me hacían un poco más cuesta arriba y por demostrar que podía contar con su apoyo en todo momento. A Gloria, por ayudarme en lo que fuera necesario y por haber compartido sus conocimientos de forma tan generosa. Me siento afortunado por haberos conocido.*

*Agradezco a todos mis compañeros que hicieron que las horas en el laboratorio fuesen más divertidas y llevaderas, principalmente a Guille, Marina, Annette, Rubén, Helena, María, Vanessa, Pablo, Dani, Cástor y muchos otros. Es muy importante saber y agradecer lo mucho que te pueden ayudar los demás.*

*A lo largo de estos años, he viajado a muchos sitios y he conocido a tantas personas que me es difícil mencionar a todos. Ha sido un placer conocer a Gustavo Fernández en mi primer congreso en Portugal. Desde entonces, hemos estado en contacto y le agradezco el haberme proporcionado una estancia tan agradable en Wuerzburg, donde he aprendido y disfrutado muchísimo. Tuve la suerte de conocer a otros dos grupos en España que también me recibieron muy amablemente. El grupo de Jorge e Isa en Vigo, y el de Juanjo en Córdoba.*

*Me costó dejar mi ciudad, estar lejos de casa tiene su precio. Por eso, no puedo olvidar mis agradecimientos más profundos a mi familia y amigos por su constante presencia en mi vida: sois muy importantes para mí. A mi madre, que siempre me dijo que podría hacer lo que me propusiera. Y la creí. A mi hermana, que tanto me motiva e inspira. Creo que si no la hubiera tenido como hermana me habría pasado toda la vida buscándola para conocerla. A Laura, que aún no ha nacido, pero ya la queremos muchísimo.*

*Por fin, ha llegado el momento de marcharme, Madrid es una ciudad maravillosa a la que no me cansaré de volver nunca. Cómo la voy extrañar...*

*Muito obrigado a todos vocês!*





# Index

<b>Chapter 1: General Introduction</b> .....	<b>13</b>
1.1 Gold Nanoparticles.....	<b>13</b>
1.2 Optical Properties of Gold Nanoparticles.....	<b>17</b>
1.3 Synthesis of Gold Nanoparticles.....	<b>21</b>
1.4 Supramolecular Self-Assembly of Gold Nanoparticles.....	<b>26</b>
<b>Chapter 2: Cooperative Self-Assembly Transfer from Hierarchical Supramolecular Polymers to Gold Nanoparticles</b> .....	<b>35</b>
<b>Chapter 3: Mechanosensitive Gold Colloidal Membranes mediated by Supra-molecular Interfacial Self-Assembly</b> .....	<b>51</b>
<b>Chapter 4: Polyrotaxane-Mediated Self-Assembly of Gold Nanospheres into Fully- Reversible Supercrystal</b> .....	<b>73</b>
<b>Chapter 5: Recent Progress on Colloidal Metal Nanoparticles as Signal Enhancers in Nanosensing</b> .....	<b>85</b>
<b>Appendix 1</b>	
Support Information of Cooperative Self-Assembly Transfer from Hierarchical Supramolecular Polymers to Gold Nanoparticles.....	<b>123</b>
<b>Appendix 2</b>	
Support Information of Mechanosensitive Gold Colloidal Membranes mediated by Supra-molecular Interfacial Self-Assembly.....	<b>151</b>
<b>Appendix 3</b>	
Support Information of Polyrotaxane-Mediated Self-Assembly of Gold Nanospheres into Fully- Reversible Supercrystal.....	<b>181</b>
<b>General conclusions</b> .....	<b>199</b>
<b>Resumen</b> .....	<b>203</b>
<b>List of publications</b> .....	<b>237</b>
<b>English Summary</b> .....	<b>239</b>



## List of Most used Abbreviations

- $\alpha$ -CD:** Alpha-cyclodextrin
- AFM:** Atomic force microscopy
- AgNP:** Silver nanoparticle
- AuCC:** Gold colloidal cluster
- AuCM:** Gold colloidal membrane
- AuNP:** Gold nanoparticle
- AuNS:** Gold nanosphere
- BAM:** Brewster angle microscopy
- CM:** Colloidal membrane
- CD:** Cyclodextrin
- IgeSH:** Thiolated Igepal
- LSPR:** Localized surface plasmon resonance
- NMR:** Nuclear magnetic resonance
- NP:** Nanoparticle
- OAM:** Oleylamine
- OPE:** Oligophenyleneethynylene
- OPESH:** Thiolated oligophenyleneethynylene
- PolyRot:** Polyrotaxane
- SEF:** Surface-enhanced fluorescence
- SEIRA:** Surface-enhanced infrared absorption
- SEM:** Scanning electronic microscopy
- SERS:** Surface-enhanced Raman scattering
- TEM:** Transmission electronic microscopy
- UV-Vis-NIR:** Ultra violet-visible-near infrared region
- XRD:** X-ray diffraction



# Chapter 1: General Introduction

## 1.1 Gold Nanoparticles

**Gold Nanoparticles based on Molecular Concepts.** The science of nanomaterials, known as nanoscience, has been a prolific area of investigation in the last two decades, thereby allowing important advances in the synthesis and manipulation of small objects conducted at the nanoscale ( $1-100 \times 10^{-9}$  nm).<sup>1</sup> At such dimension, nanomaterials present unusual physico-chemical properties which differ significantly to those of the corresponding bulk materials.<sup>2</sup> In essence, such size-dependent behavior can be explained by complex physical phenomena, for instance quantum effects, magnetic or surface electron properties.<sup>3</sup> This relation between nanostructure and function has been elucidated thanks to the development of advanced characterization tools, where the invention of the transmission electronic microscope by Max Knoll and Ernest Ruska in 1931 (Physics Nobel Prize in 1986) occupies a central position.<sup>4</sup>

Analogously, supported by technical advances, the field of molecular biology has reached an unprecedented level of understanding and manipulation of relevant biological structures.<sup>5-7</sup> Biomolecules, such as DNA and proteins, and specially their ensembles, play a key role in fundamental processes of life activities and functions, which are desirable to be transferred to synthetic systems by mimicking approaches.<sup>8</sup> In this respect, many fields of science have relied on designing assembled materials at the nanoscale, inspired by Nature's niche, in order to overcome limitations that hinder the applications of conventional materials. To achieve those requirements in terms of advanced and enhanced capabilities and functionalities, nanomaterials must either enhance and/or possess new unique properties derived from their ensembles.<sup>9,10</sup> To tackle these challenges, chemists have focused on designing synthetic systems based on the self-assembly of hybrid organic-inorganic nanomaterials. As a relevant example, nanoplasmonics has emerged as an important area of nanoscience, where unique optical properties of metal

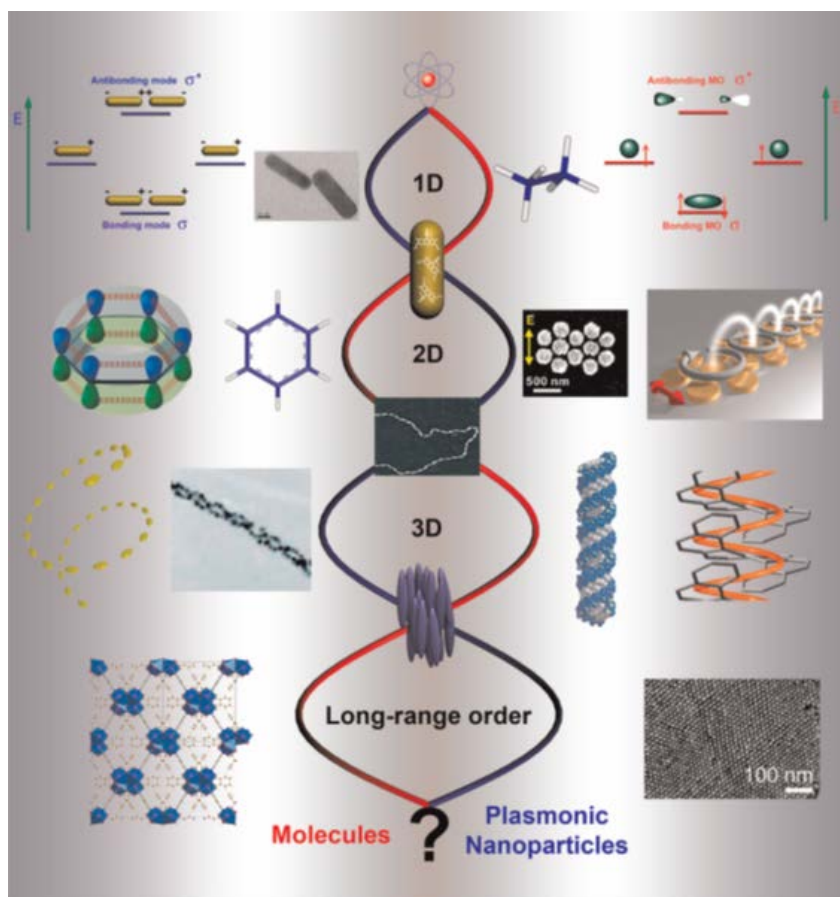
nanostructures can be combined with molecular components to obtain hybrid materials with new vibrant applications (e.g. sensing or medical therapies).<sup>11,12</sup>

The construction of nanomaterials can be divided in two main strategies, top-down or bottom-up methods.<sup>13</sup> The top-down methodology is basically based on the breaking down of a system to get insight into its sub-systems by a reverse engineering way. In contrast, the bottom-up approach is similar to the one used by all living systems, where large and complex structures are formed by individual components (e.g., DNA from nitrogenous bases).<sup>14</sup> This approach comprises the design of novel materials based on the self-assembly of individual units which leads to modulated structures that are smaller in size, and require less consume and consequently less waste.<sup>15</sup> Therefore, this strategy constitutes a relevant approach for the development of plasmonic metallic nanomaterials.

Currently, many investigations have applied gold nanoparticles (AuNPs) in different fields of science, mainly due to the facile synthesis and high control of particle size and shape, rendering them ideal building blocks for nanoarchitectures in all dimensions (Figure 1).<sup>16</sup> For instance, the optical properties of AuNPs are extremely sensitive to their local environment and the interaction between adjacent particles, leading to hybridized optical modes. This hybridization model is analogous to the molecular orbital theory, and can be used to explain optical phenomena which are AuNP distance-dependent (e.g., coupling of the optical properties, changes in the refractive index, and effects of surface enhancement in spectroscopies).<sup>17</sup>

Typically, the distance between neighboring AuNPs is dictated by their molecular coating shells whose interactions, via controlled molecular self-assembly, may result in defined arrangements.<sup>18</sup> Therefore, by considering the very same approaches previously developed for molecules, different strategies have been applied to replicate concepts observed at the molecular level, but not yet unveiled in the field of nanoplasmonics (e.g., plasmonic optical activity and plasmonic antiferromagnetism; see Table 1). Figure 1 depicts several molecular mimetic approaches selected in order to illustrate the assembly of AuNPs into

large structures with tailored optical properties based on directional effects. Several AuNP structures are presented in an increasing order of complexity, in direct analogy with atoms and molecules, followed by polymers and molecular frameworks.



**Figure 1.** Plasmonic nanostructures designed from molecular concepts: The dimensionality increases, ranging from 1D plasmonic atoms and molecules, to plasmonic polymers (1D, 2D and 3D) and finally 3D plasmonic supercrystals. The plasmonic architectures are achieved by the incorporation of molecules into the nanocrystals, which is comprised by the molecular-nanoparticles crossroads: single molecule-nanocrystal units, nanoparticle-nanoparticle polymer, and molecular-plasmonic liquid crystals. The plasmon hybridization model, inspired by the molecular orbital theory, is used to predict the plasmon resonance response in “unimolecular” nanoparticles and their conjugation by “binuclear” and “multinuclear” derivatives. By this model, the concept of aromaticity of benzene rings has been translated to the plasmonic feature. Further, the design of plasmonic polymers has been reached by mimicking biomolecules with control of 3D chiral morphologies. Lastly, and still an open idea, the organization of metal nanoparticles into plasmonic liquid crystal and solid crystals with the aim to design new functional metamaterials. Reproduced from the reference 16.



**Table 1. Meaningful Related Concepts around the Interaction of Light with Molecules and Plasmonic Nanoparticles and their Applications**

Molecular concept	Plasmonic concept	Plasmonic application	ref
Solvatochromism	refractive index change	refractive index sensing	19, 17
electron transfer	hot electron transfer	conductivity, catalysis	20, 21
energy transfer	plasmon energy transfer	SEF, SERS	22-26
luminescence	multiphoton luminescence	light-emitting systems	27
molecular resonance	magnetic plasmon	plasmonic antiferromagnetism	28
chiral extinction coupling	chiral dipole coupling	plasmonic optical activity	29-32

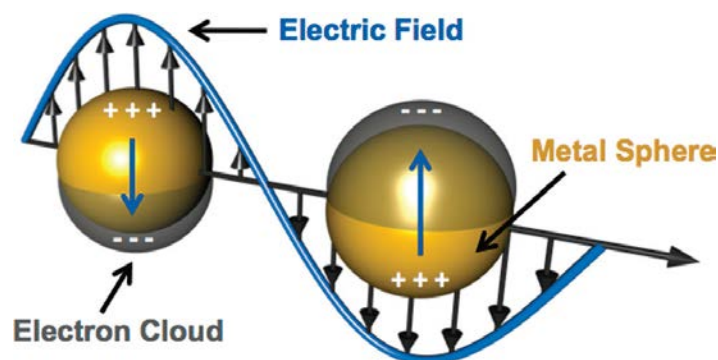
**Gold Nanoparticles as Atoms and Molecules.** The electronic configuration of a gold atom comprises six energy levels fulfilled with electrons, which can be excited to higher levels of energy under specific electromagnetic radiation. These changes of energetic states are known as interband transitions and occur, in this case, by absorbing light in the UV spectral range ( $> 2.5$  eV). Indeed, the gold atom is able to release energy by emission of light or by light scattering. As the gold atoms form agglomerates or clusters with approximately 200 units, their electronic configuration starts to behave completely different, similar to a gas of free-electrons. As a result, electrons in the conduction band oscillate in a collectively way through their interaction with the light, giving rise to the optical effect known as localized surface plasmon resonance (LSPR). At this point, the plasmonic AuNP interacts with the electromagnetic radiation similarly to atoms, though optical phenomena like absorption, emission and scattering are observed in the visible spectral range ( $< 2.6$  eV) rather than UV.<sup>33</sup>

The LSPR responses in AuNPs can be considered as a compelling analogy to the wave-functions in simple atoms and molecules. Notwithstanding, these similarities are not limited by single particles to atoms, but an analogy also exists between AuNP assemblies (oligomers, polymers and crystals) to molecular assemblies (Figure 1). The variation of the LSPR upon clustering of AuNPs can be predicted by using a plasmon hybridization model.<sup>34</sup> Such model has been fundamental for designing plasmon rulers, where the LSPR shifts and the interparticle distances can be correlated by a simple mathematical equation. Furthermore, the origin of the plasmon hybridization model has contributed to

the recent development of magnetic plasmons at optical frequencies. In this context, the structure of the benzene has inspired the plasmonic heptamer, building blocks for the fabrication of cyclic plasmonic aromatic structures, which antiphase coupling brings about to plasmonic antiferromagnetic behavior (Figure 1). This type of arrangements with aromatic-like-architecture can provide new possibilities in integrated optical devices or waveguides by the enhancement of the plasmon propagation.<sup>35</sup>

## 1.2 Optical Properties of Gold Nanoparticles

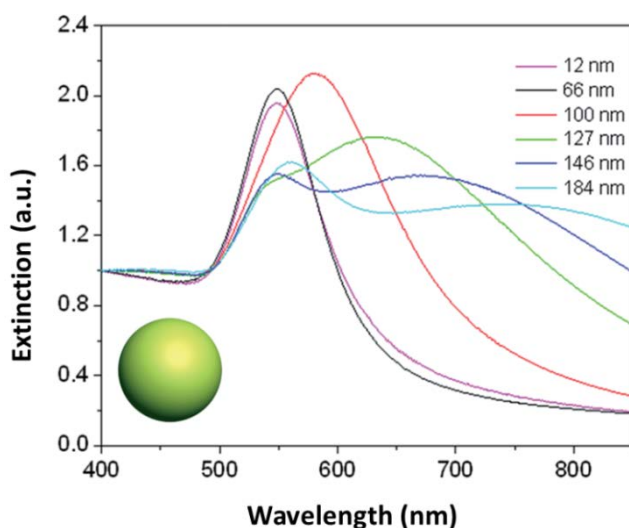
**Interaction between Light and Gold Nanoparticles.** Surface plasmons originate by the collective oscillation of delocalized electrons at the metal-dielectric interface under the effect of electromagnetic radiation.<sup>36,37</sup> The coulombic attraction between positive and negative charges, generated by this coherent oscillation, induces a restoring force which tries to push-back the system to an equilibrium state. When both oscillations are coupled in resonance, a strong extinction band is originated, phenomenon that is known as surface plasmon resonance. However, when a surface plasmon is confined to a particle of a size comparable to the wavelength of light such in AuNPs, the particle's free electrons participate in a collective oscillation, generating the so-called localized surface plasmon resonance (LSPR) (Figure 2).<sup>38</sup>



**Figure 2.** Schematic illustration of a localized surface plasmon resonance (LSPR) induced by an incoming electromagnetic wave, where the resulting LSPR is felt only at the metal nanoparticle boundaries. Reproduced from the reference 40.

This generation of the LSPR response can be divided into two types of interactions: (i) scattering, in which the incoming light is re-radiated at the same wavelength in all directions, and (ii) absorption, where the energy is transferred into vibrations of the lattice (i.e., phonons), typically observed as heat. Together, these processes are referred to as extinction.<sup>39</sup>

The LSPR has two important effects. First, electric fields near the AuNP surface are greatly enhanced, this enhancement being greatest at the surface and rapidly falling off with distance. Second, the optical extinction of AuNPs has a maximum at the plasmon resonance frequency, which usually occurs at visible wavelengths. The specifics of the LSPR response of AuNPs depend on a number of variables, particularly the size, shape and morphology of the nanostructures.<sup>41</sup> Consequently, controlling the morphology of AuNPs is a powerful route to control the LSPR response. Even small changes in aspect ratio or corner sharpness can have a large impact. Figure 3 shows the extinction spectra of gold nanospheres (AuNSs) and the influence of the size, in which a redshift is observed as the AuNS size increases. Indeed, AuNPs with sizes larger than 100 nm present an additional band at higher energies due to the presence of a quadrupole resonance.<sup>42</sup>



**Figure 3.** UV-Vis extinction spectra of gold nanospheres with different sizes. Adapted from the reference 42.

Additionally, the LSPR frequency of AuNPs is extremely sensitive to changes in the refractive index  $n$  of the surrounding environment.<sup>43</sup> When the AuNPs are immersed in a medium with  $n > 1$  the LSPR band is red shifted with respect to the same in vacuum. In diluted colloidal solutions, the solvent is directly related to a specific value of  $n$ , and a slightly change of this value results in a shifting of the LSPR frequency. Nevertheless, this shifting is observed not only in the case in which the dielectric properties are modified, but also when the physical environment of the AuNPs becomes different. For instance, when nanoparticles are deposited on a glass substrate (forming a layer) after the solvent evaporation, or whether some analytes get close enough to the particles, a shift of the LSPR band may be expected. These two situations represent examples in which AuNPs are used for real applications such as plasmonic optical devices, sensing, and monitoring interactions of various biological and chemical analytes.<sup>44</sup>

**Plasmonic Properties of Spherical Gold Nanoparticles.** Matter is composed of discrete electric charges such as electrons and protons. When light is incident on a particle these charges start oscillating and as result emits a secondary radiation known as scattering. However, not all radiation is scattered, part of the incident radiation is absorbed by the particles. The sum of those effects is termed as extinction. The first formulations involving the modelling of particle-light interaction were developed by Gustav Mie in 1908, where an analytical solution employing Maxwell's equations describes the scattering and absorption of light by AuNSs.<sup>45</sup>

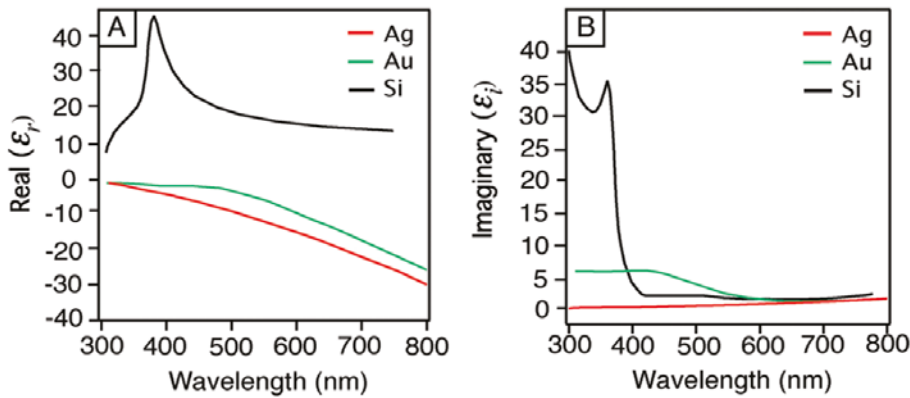
Basically, the LSPR effect observed for metallic nanoparticles is dependent on their dielectric function,  $\epsilon$ , which includes a real part,  $\epsilon_r$ , and an imaginary part,  $\epsilon_i$ , showing both of them a dependence with the excitation wavelength,  $\lambda$ . When the light passes by a cross section containing a metallic colloidal solution, it is observed a decreasing of its intensity proportionally to the concentration of the nanoparticles by a constant denominated extinction cross section,  $C_{ext}$ . In

the case of small particles, where the radius  $R \ll \lambda$ , and only the first dipole term of the Mie solution is significant, the  $C_{ext}$  can be expressed as:

$$C_{ext} = \frac{24\pi^2 R^3 \varepsilon_m^{3/2}}{\lambda} \frac{\varepsilon_i}{(\varepsilon_r + 2\varepsilon_m)^2 + \varepsilon_i^2} \quad (1)$$

where  $\varepsilon_m$  is the relative dielectric constant of the surrounding medium of the nanospheres.

The Equation (1) is key to understand the LSPR of the colloidal colored-solution of AuNPs. This equation shows that the optical response of the nanoparticle increases when the denominator tends to zero. Such requirement is reached when  $\varepsilon_r = -2\varepsilon_m$ , which is known as resonance condition. In contrast, standard dielectrics and non-metals typically have  $\varepsilon_r$  values between 1 and 50 (Figure 4).<sup>46</sup> The Equation (1) also indicates that  $\varepsilon_i$  should be close to zero to support a strong resonance, a condition that can only be satisfied by some of the metals.



**Figure 4.** Plot of the (A) real ( $\varepsilon_r$ ) and (B) imaginary ( $\varepsilon_i$ ) components of the dielectric function of Ag, Au, and Si as a function of wavelength. Reproduced from the reference 47.

Figure 4 plots  $\varepsilon_r$  and  $\varepsilon_i$  for Ag, Au, and Si, showing that Si has large positive values for  $\varepsilon_r$ , similar to other non-metallic materials. Hence, always that  $\lambda$  is founded in the visible region of the spectrum, the solution will be colored. Moreover, the color of such solutions is dramatically influenced by the

value of the dielectric constant of the medium surrounding the nanoparticles,  $\epsilon_m$ . For instance, AuNSs in aqueous solution presents a  $\epsilon_m$  approximately around 1.7, and the expected  $\lambda$  of the LSPR band is located around 520 nm, while for the same size of particles, but made of silver, the LSPR band is shifted to around 420 nm.

### 1.3 Synthesis of Gold Nanoparticles

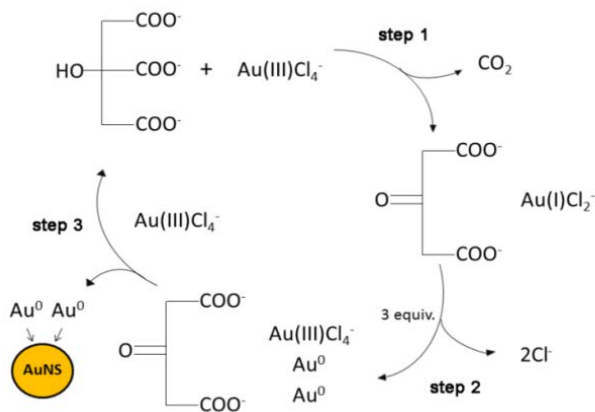
**Aqueous Synthesis of Gold Nanoparticles.** The first chemical synthesis of a colloidal AuNPs solution was described by Michael Faraday in 1857 at the Journal of Philosophical Transactions, entitled "Experimental relations of gold (and other metals) to light".<sup>48</sup> This investigation was based on the formation of a ruby-colored gold solutions via reduction of gold chloroaurate ( $\text{AuCl}_4^-$ ), using white phosphorous in carbon disulfide as a biphasic system. The interpretations of the intense colored solution resulted in a directed relation to the exceedingly small sizes of the synthesized AuNPs. Therefore, Faraday introduced the foundations of our knowledge respect to the optical properties of colloidal AuNPs.

Many methods of colloidal AuNPs preparation have been developed over the years since Faraday's experiments. Until 1950s, various synthetic routes had been reported mostly by using chemical reducing agents (e.g. sodium borohydride, sodium citrate, *L*-ascorbic acid, oxalic acid, carbon monoxide and tannins) to obtain AuNPs.<sup>49</sup> Among them, the most popular was based on the use of sodium citrate, which has a great capability of chemical reduction at high temperatures. This method was established by John Turkevitch and co-workers in 1951 simply using sodium citrate and  $\text{AuCl}_4^-$  as gold precursor in water (Figure 5).<sup>50</sup> Later on, G. Frens published in 1973 a refined of this method which allows obtaining AuNSs with size ranging from 13 to 150 nm by varying the ratios of sodium citrate and the gold precursor.<sup>51</sup> Recently, improvements of this method were reported by V. Puentes and co-workers by obtaining a narrow-size distribution of citrate-stabilized AuNPs with sizes up to 200 nm.<sup>52</sup>

The Turkevitch method is based on the reduction of  $\text{AuCl}_4^-$  ions in aqueous solution by the presence of sodium citrate under reflux, and vigorous stirring. Once the sodium citrate is added in the solution, the ions  $\text{Au}^{3+}$  are immediately reduced to  $\text{Au}^+$  and itself is oxidized to acetone dicarboxylic acid (step 1), as shown in the Scheme 1. This first step is fast and results in a change of the color solution from yellow to colorless (Figure 5). The next step, tridentate complexes of gold are formed by two  $\text{Au}^+$  ions being reduced to  $\text{Au}^0$  (step 2), while at the same time, an  $\text{Au}^+$  ion being oxidized back to  $\text{Au}^{3+}$  ion (step 3). The color of the solution at this moment turns to deep violet (Figure 5). This last step comprises a slow cyclic process that continues until all  $\text{Au}^{3+}$  ions being reduced to  $\text{Au}^0$ . When it is finalized, a remarkable red-colored solution results in the complete formation of AuNSs with average diameter size around 15 nm (Figure 2). The final AuNSs are electrostatic stabilized by the remaining citrate anions which form a complex multilayer around them, preventing from the aggregation by a net negative surface charge.

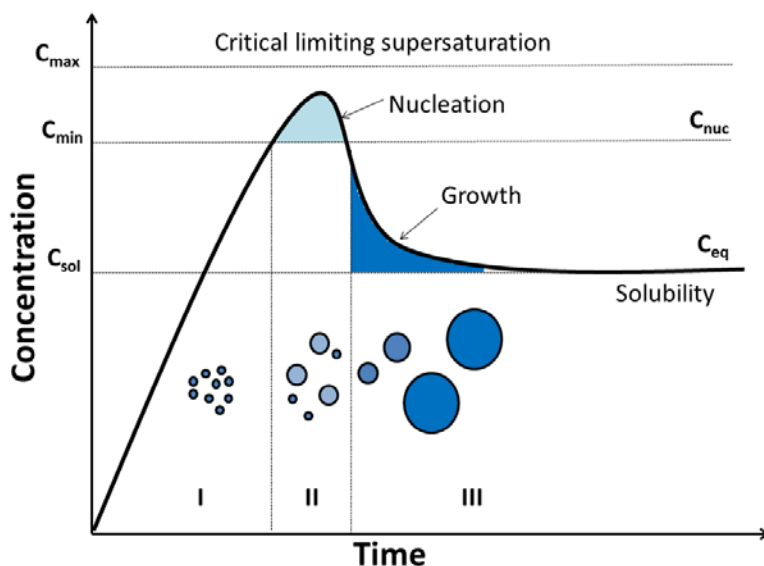


**Figure 5.** Evolution (from left to right) of the formation of AuNSs synthesized by the Turkevitch method.



**Scheme 1.** Cyclic nature of the oxidation and reduction of gold ions to form AuNSs.

The formation of AuNPs via the synthesis developed by Turkevitch corresponds to the nucleation-growth mechanism. The violet-colored solution observed along the reaction course is known as the nucleation step, which is characterized as a new thermodynamic phase or a new structure formed via self-assembly. In general, descriptions of particle growth are attested through the classical nanoparticle growth model elucidated by La Mer in 1952,<sup>53</sup> which is based on the classical nucleation theory developed by Becker and Döring.<sup>54</sup> This model applied to the synthesis of AuNPs suggests a separated nucleation-growth mechanism in time, where a rapidly increases of the concentration of  $\text{Au}^+$ , rising above the saturation for a brief period, bursts the formation of a large number of nuclei in a short space of time (Figure 6). Then, these nuclei start to grow by assembly of all gold atoms which causes a violet hue of the solution, at the same time, the concentration falls below the nucleation level. At this point, the particles are enabled to grow further in size by Van der Waals interactions at a rate determined by the slowest step during the growth process.

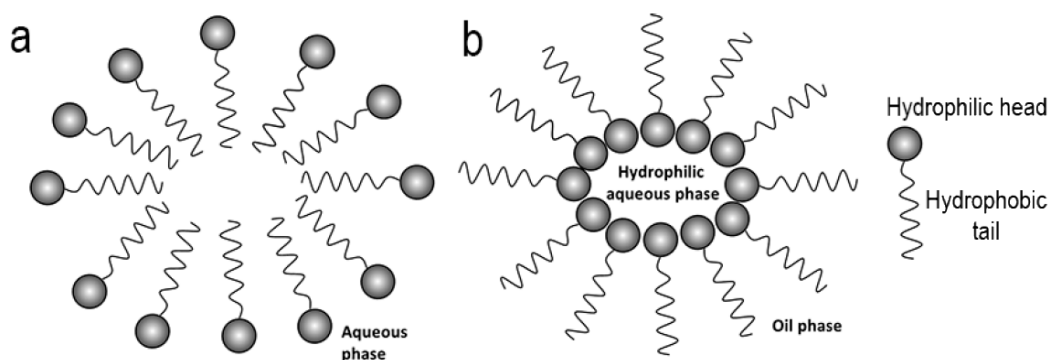


**Figure 6.** LaMer model of dispersed crystalline particle formation ( $C_{\max}$  = maximum concentration,  $C_{\min}$  = minimum concentration for nucleation,  $C_{\text{sol}}$  = concentration for solubility,  $C_{\text{nuc}}$  = concentration for nucleation,  $C_{\text{eq}}$  = Concentration of equilibrium, I = prenucleation, II = nucleation and III = growth). Adapted from the reference 53.



Nowadays, the Turkevitch method stills as the mostly used approach to obtain AuNSs due to its quick protocol, facile chemical modification of the nanoparticle surface, high yield and degree of monodispersity. However, this methodology is limited when other AuNP morphologies or type of solvents are demanded.

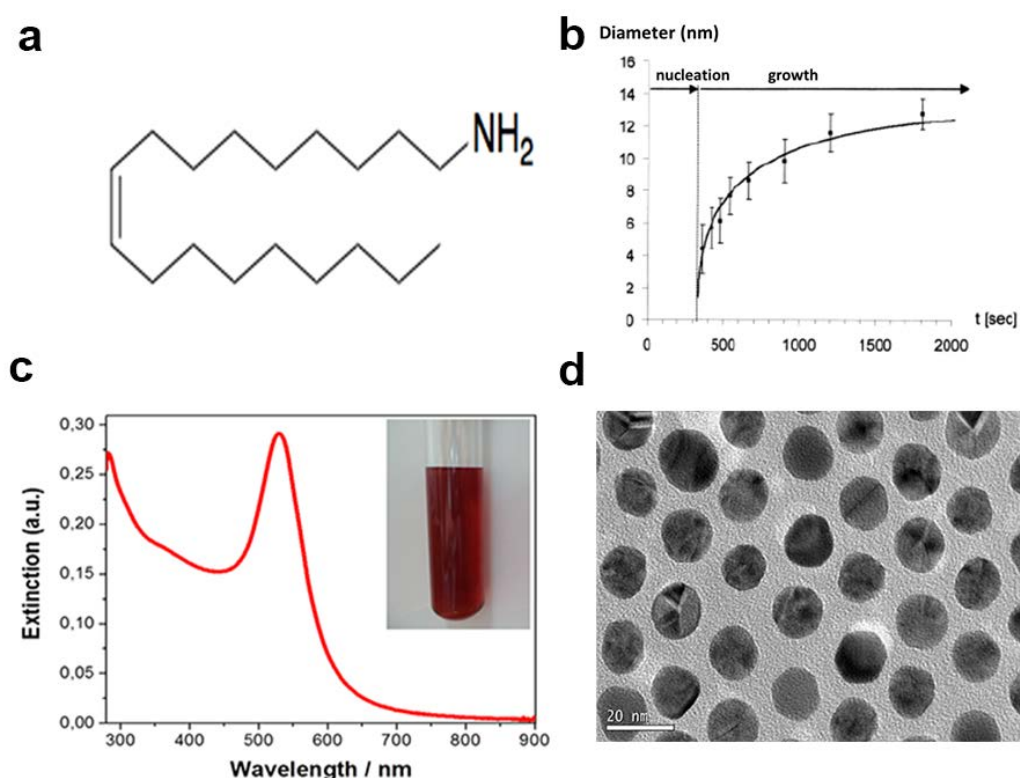
**Organic Synthesis of Gold Nanoparticles.** Apart of using strong reducing agents, the synthesis of AuNPs assisted by surfactants has an immense interest to chemists due to their critical role for controlling the size, shape and stability of the dispersed nanostructures.<sup>55,56</sup> Amphiphilic surfactants have a hydrophilic head and a hydrophobic chain, which owing to self-assemble into a large variety of organized structures in solution, for example, normal and reverse micelles, vesicles, lamellae and microemulsions.<sup>57</sup> Figure 7 depicts the normal and reverse micelles structures formed in two different polar media. A typical conventional micelle in polar solvents is thermodynamically stabilized by arranging the polar heads with surrounding environment, and the hydrophobic tails pointed to the micelle center. While the reverse micelle is formed in nonpolar solvents by pointing the hydrophilic heads to the core of the micelle, and the hydrocarbon chains are extended into the bulk organic phase.



**Figure 7.** (a) Normal and (b) reverse micelles made by a conventional linear surfactant with a polar head group and a nonpolar tail.

In this context, the alkylamines are a class of surfactants widely used as reducing-stabilizing agents to synthesize AuNSs in organic media by reverse

micelle formation. Among them, the oleylamine (OAM, Figure 8a) is a long chain primary alkylamine mostly used for the synthesis of AuNPs through a variety of methods.<sup>58</sup> Hiramatsu and Osterloh reported a facile and versatile protocol to synthesize AuNSs that consists in dissolving the  $\text{AuCl}_4^-$  ions in a mixed of toluene/OAM as solvent in reflux.<sup>59</sup> During the reaction time, the OAM moieties act as electron donor to the electropositive gold complex coordinated by the  $\text{NH}_2$  groups, which can undergo metal-ion-induced oxidation to nitriles.<sup>60</sup> The self-nucleation is observed at the beginning roughly hundreds of seconds after mixing of the reagents, and the growth period proceeds by continuously deposition of gold atoms onto these seeds by a diffusion-driven mechanism (Figure 8b).<sup>61</sup> At the end of the reaction, the AuNSs are separated from the solution by precipitation with methanol or ethanol and subsequently redispersed in organic solvents (Figure 8c).



**Figure 8.** (a) Molecular structure of the oleylamine. (b) Growth dynamics for AuNSs in toluene at  $110^\circ\text{C}$ . Adapted from the reference 61. (c) UV-Vis extinction spectrum of OAM-AuNSs with LSPR band centered at 525 nm. The inset shows the red-colored solution of OAM-AuNSs in toluene. (d) TEM micrograph of OAM-AuNSs (diameter of approximately 12 nm).

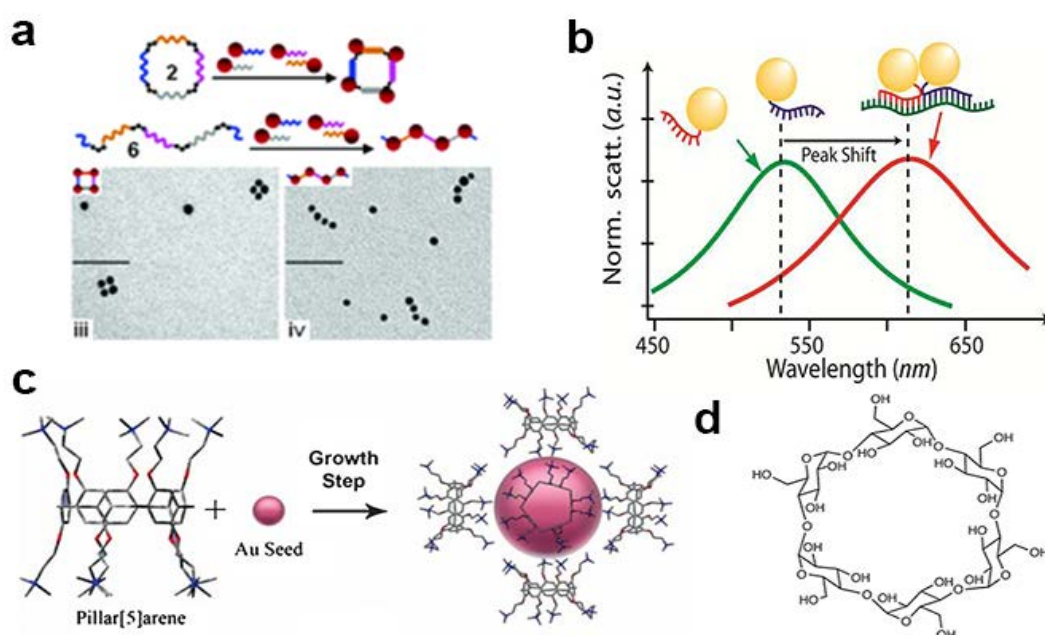
The OAM stabilized-AuNSs can be obtained with a range of sizes at about 2-35 nm in diameter by regulating the initial concentration of the gold precursor, once the concentration of OAM has a little influence on the AuNP size. The advantage of this method is the facile chemical modification of the surface's nanoparticle, once the weak interaction between the OAM moieties with the AuNPs can be readily displaced by thiol-derivatives, which present stronger affinity. Besides, this synthesis is quickly scaled-up with high yield and degree of monodispersity of AuNPs (Figure 8d).

## 1.4 Supramolecular Self-Assembly of Gold Nanoparticles

**Gold Nanoparticle Oligomers and Polymers.** The organization of individual plasmonic AuNPs along one- and two-dimensional directions, built-up by repetition of nanocrystal units, is based on the mimicking of organic macromolecules, carbon-based polymers or even block copolymers (Figure 1).<sup>62</sup> These assembled superstructures have received a lot of attention once they can be used to the development of novel platforms for optical-electronic devices, sensing and hot spot LSPR generation.<sup>63</sup> The bonding process between nanocrystals is normally performed through previous chemical functionalization of the AuNPs surface, mostly by using thiolated molecules due to the high affinity of the thiol groups to the gold metal.<sup>43</sup> Therefore, the interparticle interactions can be carried out supramolecularly, by choosing specific linking groups, giving rise to hydrogen-bonding, metal coordination, hydrophobic and van der Waals forces,  $\pi$ - $\pi$  interactions and electrostatic effects.<sup>64</sup>

The optical properties derived from the plasmonic coupling are critically dependent on the spatial organization of the AuNPs. In this regard, the functionalization of AuNP surface by using nuclei acids offers a unique sequence-specific hybridization approach.<sup>65</sup> Nanocrystals capped with single strand DNA molecules can be direct hybridized by using complementary DNA strands as linkers, which opens a myriad of possibilities in terms of defined

arrangements via supramolecular interactions. Aldaye and Sleiman report a straightforward method to mediate the assembly of discrete structures of AuNPs using single-stranded and cyclic DNA templates with rigid organic vertices (Figure 9a).<sup>66</sup> Furthermore, the control of geometry was demonstrated by the creation of dimers, triangles, squares and linear structures of AuNPs. The optical properties that arise from the combination of plasmonic nanoparticles are greatly useful for sensing applications. Currently, an emergent demand is the development of novel probes for biomedicine. In this respect, the use of AuNPs enables a significant advance due to their strong plasmonic cross-section (10-10000 fold stronger signal than fluorophores and quantum dots). As an example, Irudayaraj and co-workers utilized DNA-modified AuNPs to detect and quantify mRNA splice variants in living cells.<sup>67</sup> This AuNP-probe was able to hybridize with specific mRNA sequences forming supramolecular dimers that exhibit distinct spectral shifts due to plasmonic coupling (Figure 9b).



**Figure 9.** (a) DNA-modified AuNPs forming supramolecular square and linear structures. Adapted from the reference 66. (b) Spectral characteristics of DNA-modified supramolecular AuNPs formed by DNA hybridization for sequence-specific detection. Adapted from the reference 67. (c) Seeded-growth approach based on supramolecular pillar[5]arene. Adapted from the reference 68. (d) Molecular structure of alpha-cyclodextrin.

The direct self-assembly of AuNPs by using macrocyclic molecules offers opportunities in sensing, drug delivery and catalysis (Figure 9c and d). Among a variety of macrocycles, cyclodextrins, calixarens, cucurbiturils and pillararenes have received a lot of attention due to their high yield synthesis and ease of functionalization by adding interactive groups, providing great ability to form host-guest systems. Recently, the group of Pérez-Juste reported the use of the water-soluble pillar[5]arene derivative to synthesize and stabilize AuNPs with sizes up to 120 nm in diameter (Figure 9c).<sup>68</sup> Towards, the macrocycles served also as host of hydrophobic molecules present in water which were detected by using SERS technique through combining both plasmonic and supramolecular approaches. This concept was firstly demonstrated by Kaifer *et al.* by using cyclodextrins (Figure 9d) on the surface of AuNPs, acting as linkers to control the particle assembling in solution via host-guest interactions.<sup>69</sup>

The self-assembly of AuNPs can also be driven electrostatically by minimizing the van der Waals attractions and inducing a dipolar interactions. Zhang and Wang reported an anisotropic character of electrostatic repulsion during the self-assembly of charged AuNPs into chains.<sup>70</sup> Analogously, the changing of pH in solution can promote the protonation and deprotonation of ligands on the surface nanoparticles. The use of mercaptoundecanoic as capping units has been demonstrated efficient to assemble AuNPs driven by hydrogen bonding.<sup>71</sup> In this case, the increasing of the pH suppresses the hydrogen-bonding, while the decreasing of the pH favors the supramolecular AuNPs assembly. The use of carboxylic or amino groups to coordinate ions ( $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  and  $\text{Pb}^{2+}$ ) in solution can be also applied in self-assembling metallic nanoparticles.<sup>72</sup> For instance, AuNPs bearing peptide ligands binding to  $\text{Hg}^{2+}$  ions enable a linear assembly, and the disassembly process could be carried out by using the chelating EDTA which binds preferably to the  $\text{Hg}^{2+}$  ions.

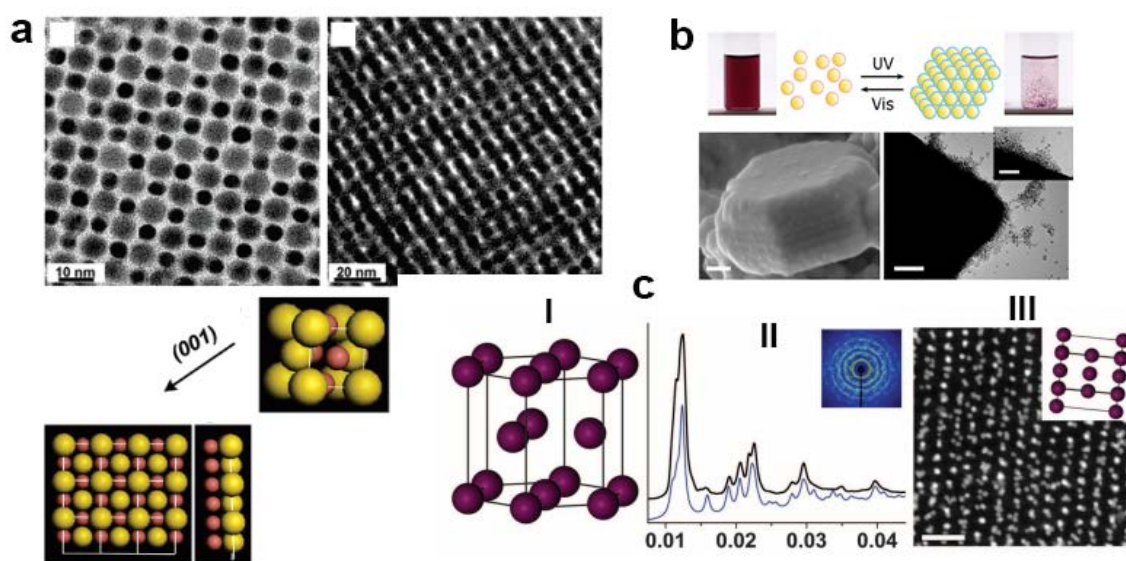
**Gold Nanoparticles Supercrystals.** The condensed matter is a large field of physics but, at the same time, greatly interconnected with chemistry, materials science, engineering and nanotechnology. The most familiar condensed phases

are liquids and solids, whose bonding between atoms and molecules are mainly determined by electromagnetic interactions. In the case of molecular crystals, their properties in the solid state are strongly dependent on the supramolecular organization in the three dimensional space.<sup>73</sup> Considering these concepts, the arrangement of AuNPs into periodic structures, or supercrystals, has demonstrated interesting due to the generation of collective plasmonic responses.<sup>74</sup>

The designing of stoichiometric AuNP assemblies into extended arrays is critical, once it depends on the spatial coordination of the nanostructures and the confinement method. One of the most basic processes for obtaining NP assemblies with long-range ordering is through drop-casting method, where convective flows (e.g., from center to edge due to pinning of the contact line and the solvent evaporation) lead to the spontaneous AuNP organization.<sup>75</sup> An example involving entropy-driven crystallization has been reported by Murray and co-workers in great detail both theoretically and experimentally.<sup>76</sup> In that work, the assembly of NPs of two different materials into a binary nanocrystal superlattice provides a general path to a large variety of materials with precisely controlled morphology, through the contribution of supramolecular interactions such as van der Waals, electrical charges and/or dipolar forces. As a result, binary structures of Au and Cu show face-centered cubic (fcc) close packing obtained via simple evaporation method (Figure 10a). Another competing strategy reported by Schiffrin and co-workers utilizes dithiol molecules to trigger the self-assembly of AuNSs into three dimensional networks in solution.<sup>77</sup> This study emphasizes the strong dependence of the electronic properties of these materials on the particle size and on the interparticle spacing, which can be adjustable with angstrom accuracy by the choice of the dithiol length used as spacer molecules.

The use of external stimuli to induce and control the self-assembly of plasmonic nanoparticles in supercrystal structures has received a lot of attention due to their potential application in optics, sensing and drug-delivery systems. Within, Grzybowski and co-workers reported photoswitchable

systems by light into organized three dimensional superstructures (Figure 10b).<sup>78</sup> This purpose was achieved by coating AuNPs with thiolated azobenzene derivatives that can photoisomerize by using light of different wavelengths. Remarkably, for low surface concentrations of dithiol ligands, the assemblies are fully reversible and can be switched between crystalline and disordered states. In contrast, for higher concentrations, the ligands form permanently cross-linked assemblies, making them either mechanically/thermally robust (crystals) or flexible (spherical aggregates).



**Figure 10.** (a) TEM images of the characteristic projections of the binary superlattices (fcc), self-assembled by using Au and Cu nanoparticles. Adapted from the reference 76. (b) Reversible nanocrystal structure obtained upon UV irradiation of AuNPs having low surface concentration of ligands. These crystals can be light-induced promoting the reversible assembly-disassembly. Adapted from the reference 78. (c) hcp unit cell (I), 1D and 2D x-ray diffraction SAXS patterns (II), and TEM image of AuNP hcp-superlattice engineered by hybridized DNA molecules (III). Adapted from the reference 80.

The designing of a specific crystallographic symmetry for supercrystal structures is a difficult task to be predicted. For this case, the use of programmable interactions between nucleic acids strands can be helpful to understand the dominant forces that are responsible for the AuNPs assembly process. DNA strands can self-assemble in a specific way through

supramolecular interactions, such as  $\pi$ - $\pi$  stacking and hydrogen bonding between their nitrogenous bases.<sup>79</sup> This capability gives nucleic acids a great advantage over other molecules and polymers by providing a rationally designed, facilitating well-defined connectivity between various functional moieties. A representative example, in which the control of the AuNP through varying the length and flexibility of the molecular DNA chains allows designing supercrystal structures with well-defined crystallographic parameters, including (fcc), body-centered cubic (bcc), simple cubic (sc) and hexagonal close-packed (hcp) (Figure 10c).<sup>80</sup>

With this aim, Mirkin and co-workers also reported several rules outlined a strategy to adjust relevant parameters such as particle size, periodicity and interparticle distance in terms of thermodynamic and kinetic control. Summing up, when the ligands ends are self-complementary and all AuNPs can bind to any other particles in solution, the obtained thermodynamic product is always an fcc lattice, while hcp lattices tend to be obtained kinetically. In contrast, when two groups of AuNPs are functionalized with different but complementary linkers, in which the AuNPs can only bind to the opposite type, a bcc lattice is therefore the most stable system. The understanding gained from this methodology may be useful for the fabrication of novel crystallographic arrangements with emergent properties in the field of plasmonic, photonics and potential many others.

## References

1. X. Wang, J. Zhuang, Q. Peng, Y. Li, *Nature* **437**, 121-124 (2005).
2. C. Burda, X. Chen, R. Narayanan, M. A. El-Sayed, *Chem. Rev.* **105**, 1025-1102 (2005).
3. E. Roduner, *Chem. Soc. Rev.* **35**, 583-592 (2006).
4. E. Ruska, The development of the electron microscope and of electron microscopy» (Nobel Lecture, December 8, 1986 ,[http://nobelprizes.org/nobel\\_prizes/laureates/physics/1986](http://nobelprizes.org/nobel_prizes/laureates/physics/1986)).
5. D. J. Müller, Y. F. Dufrêne, *Nat. Nanotech.* **3**, 261-269 (2008).
6. K. H. Hörber, M. J. Miles, *Science*, **302**, 1002-1005 (2003).
7. G. M. Whitesides, *Nat. Biotechnol.* **21**, 1161-1165 (2003).
8. C. S. Mahou, D. A. Fulton, *Nat. Chem.* **6**, 665-672 (2014).
9. S. C. Glotzer, *Science* **306**, 419-420 (2004).
10. F. G. Ronald, *Compos. Struct.* **92**, 2793-2810 (2010).
11. G. M. Whitesides, B. Grzybowski, *Science* **295**, 2418-2421 (2002).
12. R. Shenhar, V. M. Rotello, *Acc. Chem. Res.* **36**, 549-561 (2003).



13. V. Balzani, A. Credi, M. Venturi, *Chem. Eur. J.* **8**, 5524–5532 (2002).
14. J. A. Prescher, C. R. Bertozzi, *Nat. Chem. Bio.* **1**, 13–21 (2005).
15. G. M. Whitesides, *Small* **1**, 172–179 (2005).
16. A. Guerrero-Martínez, M. Grzelczak, L. M. Liz-Marzán, *ACS Nano* **6**, 3655–3662 (2012).
17. H. Chen, T. Ming, T. L. Zhao, F. Wang, L. D. Sun, J. Wang, C. H. Yan, *NanoToday* **5**, 494–505 (2010).
18. X. Liu, M. Liu, H. Kim, M. Marnett, F. Stellacci, *Nat. Commun.* **3**, 1182 (2012).
19. L. M. Liz-Marzán, *Mater. Today* **7**, 26–31 (2004).
20. M. W. Knight, H. Sobhani, P. Nordlander, N. J. Halas, *Science* **332**, 702–704 (2011).
21. P. Christopher, H. Xin, S. Linic, *Nat. Chem.* **3**, 467–472 (2011).
22. J. R. Lakowicz, K. Ray, M. Chowdhury, H. Szmajda, Y. Fu, J. Zhang, K. Nowaczyk, *Analyst.* **133**, 1308–1346 (2008).
23. S. Nie, S. R. Emory, *Science* **275**, 1102–1106 (1997).
24. L. Xu, H. Kuang, L. Wang, C. Xu, *J. Mater. Chem.* **21**, 16759–16782 (2011).
25. A. Lee, G. F. S. Andrade, A. Ahmed, M. L. Souza, N. Coombs, E. Tumarkin, K. Liu, R. Gordon, A. G. Brolo, E. Kumacheva, *J. Am. Chem. Soc.* **133**, 7563–7570 (2011).
26. R. A. Alvarez-Puebla, A. Agarwal, P. Manna, B. P. Khanal, P. Aldeanueva-Potel, E. Carbó-Argibay, N. Pazos-Pérez, L. Vigderman, E. R. Zubarev, N. A. Kotov, L. M. Liz-Marzán, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **108**, 8157–8161 (2011).
27. J. S. Huang, J. Kern, P. Geisler, P. Weinmann, M. Kamp, A. Forchel, P. Biagioni, B. Hecht, *Nano Lett.* **10**, 2105–2110 (2010).
28. N. Liu, S. Mukherjee, K. Bao, L. V. Brown, J. Dorfmueller, P. Nordlander, N. J. Halas, *Nano Lett.* **12**, 364–369 (2011).
29. A. Kuzyk, R. Schreiber, Z. Fan, G. Pardatscher, E. M. Rolle, A. Högele, F. C. Simmel, A. O. Govorov, T. Liedl, *Nature* **483**, 311–314 (2012).
30. A. Guerrero-Martínez, B. Augié, J. L. Alonso-Gómez, Z. Džolić, S. Gómez-Graña, M. Zinić, M. M. Cid, L. M. Liz-Marzán, *Angew. Chem., Int. Ed.* **50**, 5499–5503 (2011).
31. B. Augié, J. L. Alonso-Gómez, A. Guerrero-Martínez, L. M. Liz-Marzán, *J. Phys. Chem. Lett.* **2**, 846–851 (2011).
32. R. Y. Wang, H. Wang, X. Wu, Y. Ji, P. Wang, Y. Qu, T. S. Chung, *Soft Matter* **7**, 8370–8375 (2011).
33. V. V. Klimov, D. Guzatov, *Appl. Phys. A: Mater. Sci. Process.* **89**, 305–314 (2007).
34. E. Prodan, C. Radloff, N. J. Halas, P. A. Nordlander, *Science* **302**, 419–422 (2003).
35. N. Liu, S. Mukherjee, K. Bao, L. V. Brown, J. Dorfmueller, P. Nordlander, N. J. Halas, *Nano Lett.* **12**, 364–369 (2011).
36. R.H. Ritchie, *Phys. Rev.* **106**, 874–882 (1957).
37. A. Polman, *Science* **322**, 868–869 (2008).
38. K. M. Mayer, J. H. Hafner, *Chem. Rev.* **111**, 3828–3857 (2011).
39. C. M. Copley, J. Chen, E. C. Cho, L. V. Wang, Y. Xia, *Chem. Soc. Rev.* **40**, 44–56 (2011).
40. M. R. Langille, M. L. Personick, C. A. Mirkin, *Angew. Chem., Int. Ed.* **52**, 13910–13940 (2013).
41. L. M. Liz-Marzán, *Mat. Today* **7**, 26–31 (2004).
42. S. Link, M. A. El-Sayed, *J. Phys. Chem. B* **103**, 8410–8426 (1999).
43. K. A. Willets, R. P. Van-Duyne, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **58**, 267–297 (2007).
44. J. N. Anker, W. P. Hall, O. Lyandres, N. C. Shah, J. Zhao, R. P. Van-Duyne, *Nat. Mater.* **7**, 442–453 (2008).
45. G. Mie, *Ann. Phys. (Weinheim, Ger.)* **25**, 377 (1908).
46. K. L. Kelly, E. Coronado, L. L. Zhao, G. C. Schatz, *J. Phys. Chem. B* **107**, 668–677 (2002).
47. M. Rycenga, C. M. Copley, J. Zeng, W. Li, C. H. Moran, Q. Zhang, D. Qin, Y. Xia, *Chem. Rev.* **111**, 3669–3712 (2011).
48. M. Faraday, *Phil. Trans. R. Soc. London.* **147**, 145 (1857).
49. M. C. Daniel, D. Astruc, *Chem. Rev.* **104**, 293–346 (2004).
50. J. Turkevitch, P. C. Stevenson, J. Hillier, *Discuss. Faraday Soc.* **11**, 56 (1951).
51. G. Frens, *Nature: Phys. Sci.* **20**, 241 (1973).
52. N. G. Bastús, J. Comenge, V. Puentes, *Langmuir* **27**, 11098–11105 (2011).
53. G. M. Pound, V. K. La Mer, *J. Am. Chem. Soc.* **133**, 7563–7570 (2011).
54. R. Becker, W. Döring, *Ann. Phys.* **24**, 719 (1935).

55. P. Raveendran, J. Fu, S. L. Wallen, *J. Am. Chem. Soc.* **125**, 13940-13941 (2003).
56. J. Gao, C. M. Bender, C. J. Murphy, *Langmuir* **19**, 9065-9070 (2003).
57. J. H. Fendler, John Wiley & Sons Inc (1982).
58. S. Mourdikoudis, L. M. Liz-Marzán, *Chem. Matter.* **25**, 1465-1476 (2013).
59. H. Hiramatsu, F. Osterloh, *Chem. Mater.* **16**, 2509-2511 (2004).
60. P. Capdevielle, A. Lavigne, D. Sparfel, J. Baranne-Lafont, N. K. Cuong, M. Maumy, *Tetrahedron Lett.* **31**, 3305-3308 (1990).
61. T. Sakai, P. Alexandridis, *Langmuir* **20**, 8426-8430 (2004).
62. Z. Nie, A. Petukhova, E. Kumacheva, *Nat. Nanotechnol.* **5**, 15-25 (2010).
63. L. Xu, H. Kuang, L. Wang, C. Xu, *J. Mater. Chem.* **21**, 16759-16782 (2011).
64. J. M. Lehn, *Angew. Chem. Int. Ed.* **27**, 89-112 (1988).
65. T. A. Taton, R. C. Mucic, C. A. Mirkin, R. L. Letsinger, *J. Am. Chem. Soc.* **122**, 6305-6306 (2000).
66. F. A. Aldaye, H. F. Sleiman, *J. Am. Chem. Soc.* **129**, 4130-4131 (2007).
67. K. Lee, Y. Cui, L. P. Lee, J. Irudayaraj, *Nat. Nanotechnol.* **9**, 474-480 (2014).
68. V. Montes-Garcia, J. Pérez-Juste, I. Pastoriza-Santos, L. M. Liz-Marzán, *Chem. Eur. J.* **20**, 10874-10883 (2014).
69. J. Liu, W. Ong, E. Román, M. J. Lynn, A. E. Kaifer, *Langmuir* **16**, 3000-3002 (2000).
70. H. Zhang, D. Wang, *Angew. Chem., Int. Ed.* **47**, 3984-3987 (2008).
71. Z. Sun, W. Ni, Z. Yang, X. Kou, L. Li, J. Wang, *Small* **4**, 1287-1292 (2008).
72. S. Si, A. Kotal, T. K. Mandal, *J. Phys. Chem. C* **111**, 1248-1255 (2007).
73. C. Quigg. Princeton University Press (2013).
74. B. M. Reinhard, M. Siu, H. Agarwal, A. P. Alivisatos, J. Liphardt, *Nano Lett.* **5**, 2246-2252 (2005).
75. W. Cheng, M. J. Campolongo, S. J. Tan, D. Luo, *Nano Today* **4**, 482-493 (2004).
76. E. V. Shevchenko, D. V. Talapin, N. A. Kotov, S. O'Brien, C. B. Murray, *Nature* **439**, 55-59 (2006).
77. M. Brust, D. Bethell, D. J. Schiffrin, C. J. Kiely, *Adv. Mater.* **7**, 795-797 (1995).
78. K. Rafal, K. J. M. Bishop, B. A. Grzybowski, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **104**, 10305-10309 (2007).
79. C. A. Mirkin, R. L. Letsinger, R. C. Mucic, J. J. Storhoff, *Nature* **382**, 607-609 (1996).
80. J. R. Macfarlane, B. Lee, M. R. Jones, N. Harris, G. C. Schatz, C. A. Mirkin, *Science* **334**, 204-208 (2011).



## Chapter 2

### Cooperative Self-Assembly Transfer from Hierarchical Supramolecular Polymers to Gold Nanoparticles

*The transfer of information encoded by molecular subcomponents is a key phenomenon that regulates the biological inheritance in living organisms, yet there is a lack of understanding of related transfer mechanisms at the supramolecular level in artificial multicomponent systems. Our contribution to tackle this challenge has focused on the design of a thiolated  $\pi$ -conjugated linking unit, whose hierarchical, cooperative self-assembly in nonpolar media can be efficiently transferred from the molecular to the nanoscopic level, thereby enabling the reversible self-assembly of gold nanoparticle (AuNP) clusters. The transfer of supramolecular information by the linking  $\pi$ -system can only take place when a cooperative nucleation-elongation mechanism is operative, whereas low-ordered non-cooperative assemblies formed below a critical concentration do not suffice to extend the order to the nanoscopic (AuNP) level. To the best of our knowledge, our approach has allowed for the first time a deep analysis of the hierarchy levels and thermodynamics involved in the self-assembly of AuNPs.*

<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acsnano.5b04841>

15. J. P. Coelho, G. González-Rubio, A. Delices, J. O. Barcina, C. Salgado, D. Ávila, O. Peña-Rodríguez, G. Tardajos, A. Guerrero-Martínez, *Angew. Chem. Int. Ed.* **53**, 12751–12755 (2014).
16. Y.-Y. Ou, M. H. Huang, *J. Phys. Chem. B* **110**, 2031–2036 (2006).
17. J. van Herrikhuyzen, R. A. J. Janssen, E. W. Meijer, S. C. J. Meskers, A. P. H. J. Schenning, *J. Am. Chem. Soc.* **128**, 686–687 (2006).
18. J. van Herrikhuyzen, R. Wilems, S. J. George, C. Flipse, J. C. Gielen, P. C. M. Christianen, A. P. H. J. Schenning, S. C. J. Meskers, *ACS Nano* **4**, 6501–6508 (2011).
19. T. F. A. de Greef, M. M. J. Smulders, M. Wolffs, A. P. H. J. Schenning, R. P. Sijbesma, E. W. Meijer, *Chem. Rev.* **109**, 5687–5754 (2009).
20. C. Rest, R. Kandanelli, G. Fernandez, *Chem. Soc. Rev.* **44**, 2543–2572 (2015).
21. C. Kulkarni, S. Balasubramanian, S. J. George, *ChemPhysChem* **14**, 661–673 (2013).
22. J. W. G. Bloom, S. E. Wheeler, *Angew. Chem. Int. Ed.* **50**, 7847–7849 (2011).
23. Z. Chen, A. Lohr, C. R. Saha-Möller, F. Würthner, *Chem. Soc. Rev.* **38**, 564–584 (2009).
24. U. H. F. Bunz, K. Seehafer, M. Bender, M. Porz, *Chem. Soc. Rev.* **44**, 4322–4336 (2015).
25. U. H. F. Bunz, *Macromol. Rapid Commun.* **30**, 772–805 (2009).
26. Q. Chu, Y. Pang, *Macromolecules* **38**, 517–520 (2005).
27. A. Beeby, K. Findlay, P. J. Low, T. B. Marder, *J. Am. Chem. Soc.* **124**, 8280–8284 (2002).
28. M. Levitus, K. Schmieder, H. Ricks, K. D. Shimizu, U. H. F. Bunz, M. A. García-Garibay, *J. Am. Chem. Soc.* **123**, 4259–4265 (2001).
29. C. E. Halkyard, M. E. Rampey, L. Kloppenburg, S. L. Studer-Martinez, U. H. F. Bunz, *Macromolecules* **25**, 8655–8659 (1998).
30. M. J. Mayoral, C. Rest, J. Schellheimer, V. Stepanenko, G. Fernandez, *Chem. Eur. J.* **18**, 15607–15611 (2012).
31. A. Florian, M. J. Mayoral, V. Stepanenko, G. Fernandez, *Chem. Eur. J.* **18**, 14957–14961 (2012).
32. T. Aida, E. W. Meijer, S. Stupp, *Science* **335**, 813–817 (2012).
33. M. M. J. Smulders, M. M. L. Nieuwenhuizen, T. F. A. de Greef, P. van der Schoot, A. P. H. J. Schenning, E. W. Meijer, *Chem. Eur. J.* **16**, 362–367 (2010).
34. H. M. M. ten Eikelder, A. J. Markwoort, T. F. A. De Greef, P. A. J. Hilbers, *J. Phys. Chem. B* **116**, 5291–5301 (2012).
35. A. J. Maarkvort, H. M. M. Ten Eikelder, P. J. J. Hilbers, T. F. A. De Greef, E. W. Meijer, *Nat. Commun.* **2**, 509–517 (2011).
36. A. Guerrero-Martínez, B. Augié, J. L. Alonso-Gómez, Z. Dzolic, S. Gómez-Graña M. Zinic, M. M. Cid, L. M. Liz-Marzán, *Angew. Chem., Int. Ed.* **50**, 5499–5503 (2011).
37. M. R. Molla, A. Das, S. Ghosh, *Chem. Commun.* **47**, 8934–8936 (2011).
38. R. M. Smith, A. E. Martell. In: *Critical Stability Constants*. Plenum Press: New York, USA 1976, Vol. 4: Inorganic complexes.
39. S. Lin, M. Li, E. Dujardin, C. Girard, S. Mann, S. *Adv. Mater.* **17**, 2553–2559 (2005).

## Chapter 3

### Mechanosensitive Gold Colloidal Membranes Mediated by Supramolecular Interfacial Self-Assembly

*The ability to respond toward mechanical stimuli is a fundamental property of biological organisms at both the macroscopic and cellular levels, yet it has been considerably less observed in artificial supramolecular and colloidal homologues. An archetypal example in this regard is cellular mechanosensation, a process by which mechanical forces applied on the cell membrane are converted into biochemical or electrical signals through nanometer-scale changes in molecular conformations. In this article, we report an artificial gold nanoparticle (AuNP)–discrete  $\pi$ -conjugated molecule hybrid system that mimics the mechanical behavior of biological membranes and is able to self-assemble into colloidal gold nanoclusters or membranes in a controlled and reversible fashion by changing the concentration or the mechanical force (pressure) applied. This has been achieved by rational design of a small  $\pi$ -conjugated thiolated molecule that controls, to a great extent, the hierarchy levels involved in AuNP clustering by enabling reversible, cooperative non-covalent ( $\pi$ – $\pi$ , solvophobic, and hydrogen bonding) interactions. In addition, the AuNP membranes have the ability to entrap and release aromatic guest molecules reversibly ( $K_b = 5.0 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ ) for several cycles when subjected to compression–expansion experiments, in close analogy to the behavior of cellular mechanosensitive channels. Not only does our hybrid system represent the first example of a reversible colloidal membrane, but it also can be controlled by a dynamic mechanical stimulus using a new supramolecular surface-pressure-controlled strategy. This approach holds great potential for the development of multiple colloidal assemblies within different research fields.*

<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jacs.6b09485>

38. T. F. A. de Greef, M. M. J. Smulders, M. Wolffs, A. P. H. J. Schenning, R. P. Sijbesma, E. W. Meijer, *Chem. Rev.* **109**, 5687-5754 (2009).
39. S. K. Albert, H. V. P. Thelu, M. Golla, N. Krishnan, S. Chaudhary, R. Varghese, *Angew. Chem., Int. Ed.* **53**, 8352-8357 (2014).
40. F. Aparicio, B. Nieto-Ortega, F. Nájera, F. J. Ramírez Aguilar, J. T. López Navarrete, J. Casado, L. Sánchez, *Angew. Chem., Int. Ed.* **53**, 1373-1377 (2014).
41. F. Garcia, L. Sanchez, *J. Am. Chem. Soc.* **134**, 734-742 (2012).
42. A. Gopal, M. Hifsudheen, S. Furumi, M. Takeuchi, A. Ajayaghosh, *Angew. Chem., Int. Ed.* **51**, 10505-10509 (2012).
43. A. Gopal, R. Varghese, A. Ajayaghosh, *Chem. - Asian J.* **7**, 2061-2067 (2012).
44. F. Garcia, L. Sanchez, *Chem. - Eur. J.* **16**, 3138-3146 (2010).
45. S. Mahesh, R. Thirumalai, S. Yagai, A. Kitamura, A. Ajayaghosh, *Chem. Commun.* 5984-5986 (2009).
46. S. Yagai, S. Kubota, T. Iwashima, K. Kishikawa, T. Nakanishi, T. Karatsu, A. Kitamura, *Chem. - Eur. J.* **14**, 5246-5257 (2008).
47. S. Yagai, S. Kubota, K. Unoike, T. Karatsu, A. Kitamura, *Chem. Commun.* 4466-4468 (2008).
48. S. Yagai, S. Mahesh, Y. Kikkawa, Y. K. Unoike, T. Karatsu, A. Kitamura, A. Ajayaghosh, *Angew. Chem., Int. Ed.* **47**, 4691-4694 (2008).
49. U. H. F. Bunz, K. Seehafer, M. Bender, M. Porz, *Chem. Soc. Rev.* **44**, 4322-4336 (2015).
50. N. K. Allampally, M. J. Mayoral, S. Chansai, M. C. Lagunas, C. Hardacre, V. Stepanenko, R. Q. Albuquerque, G. Fernández, *G. Chem. - Eur. J.* **22**, 7810-7816 (2016).
51. D. Orsi, L. Cristofolini, G. Baldi, A. Madsen, *Phys. Rev. Lett.* **108**, 105701-105706 (2012).
52. P. R. Van Duyne, *Science* **306**, 985-986 (2004).
53. E. Prodan, C. Radloff, N. J. Halas, P. A. Nordlander, *Science* **302**, 419-422 (2003).
54. F. C. Spano, C. Silva, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **65**, 477-500 (2014).
55. F. C. Spano, *Acc. Chem. Res.* **43**, 429-439 (2010).
56. M. Kasha, H. R. Rawls, M. A. El-Bayoumi, *Pure Appl. Chem.* **11**, 371-392 (1965).
57. M. J. Campolongo, S. J. Tan, D. M. Smilgies, M. Zhao, Y. Chen, I. Xhangolli, W. Cheng, D. Luo, *ACS Nano* **5**, 7978-7985 (2011).
58. E. Guzmán, L. Liggieri, E. Santini, M. Ferrari, F. J. Ravera, *J. Phys. Chem. C* **115**, 21715-21722 (2011).
59. C. Rubia-Payá, G. de Miguel, M. T. Martín-Romero, J. J. Giner-Casares, L. Camacho, *Adv. Colloid Interface Sci.* **225**, 134-145 (2015).
60. A. Rödle, B. Ritschel, C. Mück-Lichtenfeld, V. Stepanenko, G. Fernández, *Chem. - Eur. J.* **22**, 15772-15777 (2016).
61. X. -Q. Li, V. Stepanenko, Z. Chen, P. Prins, L. D. Siebbeles, F. Würthner, *Chem. Commun.* 3871-3873 (2006).
62. A. Treibs, A.F. -H. Kreuzer, *Ann. Chem.* **718**, 208-223 (1968).
63. G. M. Chu, A. Guerrero-Martínez, C. Ramírez de Arellano, I. Fernández, M. A. Sierra, *Inorg. Chem.* **55**, 2737-2747 (2016).
64. G. Beschiaschvili, J. Seelig, *Biochemistry* **29**, 10995-10100 (1990).
65. P. R. Sainz-Rozas, J. R. Isasi, M. Sánchez, G. Tardajos, G. J. González-Gaitano, *J. Phys. Chem. A* **108**, 392-402 (2004).

## Chapter 4

### Polyrotaxane mediated Self-Assembly of Gold Nanospheres into Fully Reversible Supercrystals

*The use of a thiol-functionalized nonionic surfactant to stabilize spherical gold nanoparticles in water induces the spontaneous formation of polyrotaxanes at the nanoparticle surface in the presence of the macrocycle  $\alpha$ -cyclodextrin. Whereas using an excess of surfactant an amorphous gold nanocomposite is obtained, under controlled drying conditions the self-assembly between the surface supramolecules provides large and homogenous supercrystals with hexagonal close packing of nanoparticles. Once formed, the self-assembled supercrystals can be fully redispersable in water. The reversibility of the crystallization process may offer an excellent reusable material to prepare gold nanoparticle inks or optical sensors with the potential to be recovered after use.*

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/anie.201406323/full>



4. a) J.-H. Lee, K.-J. Chen, S.-H. Noh, M. A. Garcia, H. Wang, W.-Y. Lin, H. Jeong, B. J. Kong, D. B. Stout, J. Cheon, H.-R. Tseng, *Angew. Chem. Int. Ed.* **52**, 4384–4388 (2013). b) S. Srivastava, A. Santos, K. Critchley, K.-S. Kim, P. Podsiadlo, K. Sun, J. Lee, C. Xu, G. D. Lilly, S. C. Glotzer, N. A. Kotov, *Science* **327**, 1355–1359 (2010). M.-C. Daniel, D. Astruc, *Chem. Rev.* **104**, 293–346 (2004).
5. M. Grzelczak, J. Vermant, E. M. Furst, L. M. Liz-Marzán, *ACS Nano* **4**, 3591–3605 (2010).
6. a) K. K. Caswell, J. N. Wilson, U. H. F. Bunz, C. J. Murphy, *J. Am. Chem. Soc.* **125**, 13914–13915 (2003). b) Z. Nie, D. Fava, M. Rubinstein, E. Kumacheva, *J. Am. Chem. Soc.* **130**, 3683–3689 (2008). c) M. Oh, C. A. Mirkin, *Nature* **438**, 651–654 (2005). d) N. Goubet, J. Richardi, P.-A. Albouy, M.-P. Pileni, *Adv. Funct. Mater.* **21**, 2693–2704 (2011). e) R. L. Whetten, M. N. Shafiqullin, J. T. Khoury, T. G. Schaaff, I. Vezmar, M. M. Alvarez, A. Wilkinson, *Acc. Chem. Res.* **32**, 397–406 (1999).
7. A. Guerrero-Martínez, M. Grzelczak, L. M. Liz-Marzán, *ACS Nano* **6**, 3655–3662 (2012).
8. Molecular Catenanes, Rotaxanes and Knots (Eds.: J.-P. Sauvage, C. Dietrich-Buchecker), Wiley-VCH, Weinheim (1999).
9. a) A. Harada, M. Kamachi, *Macromolecules* **23**, 2821–2823 (1990). b) A. Harada, Y. Takashima, H. Yamaguchi, *Chem. Soc. Rev.* **38**, 875–882 (2009).
10. K. A. Udachin, L. D. Wilson, J. A. Ripmeester, *J. Am. Chem. Soc.* **122**, 12375–12376 (2000).
11. a) A. Guerrero-Martínez, D. Ávila, F. J. Martínez-Casado, J. A. Ripmeester, G. D. Enright, L. De Cola, G. Tardajos, *J. Chem. Phys. B* **114**, 11489–11495 (2010). b) A. Guerrero-Martínez, T. Montoro, M. Viñas, G. González-Gaitano, G. Tardajos, *J. Phys. Chem. B* **111**, 1368–1376 (2007).
12. T. Li, J. Moon, A. A. Morrone, J. J. Mecholsky, D. R. Talham, J. H. Adair, *Langmuir* **15**, 4328–4334 (1999).
13. K. Toerne, R. Rogers, R. von Wandruszka, *Langmuir* **17**, 6119–6121 (2001).
14. J. Zhao, L. Jensen, J. Sung, S. Zou, G. C. Schatz, R. P. Van Duyne, *J. Am. Chem. Soc.* **129**, 7647–7656 (2007).
15. G. Wenz, B. H. Han, A. Muller, *Chem. Rev.* **106**, 782–817 (2006).
16. a) G. Gómez-Graña, J. Pérez-Juste, R. A. Álvarez-Puebla, A. Guerrero-Martínez, L. M. Liz-Marzán, *Adv. Optical Mater.* **1**, 477–481 (2013). b) T. Ming, X. Kou, H. Chen, T. Wang, H.-L. Tam, K.-W. Cheah, J.-Y. Chen, J. Wang, *Angew. Chem. Int. Ed.* **47**, 9685–9690 (2008).
17. T. A. H. Nguyen, M. A. Hampton, A. V. Nguyen, *J. Phys. Chem. C* **117**, 4707–4716 (2013).
18. C. Hamon, M. Postic, E. Mazari, T. Bizien, C. Dupuis, P. Even-Hernandez, A. Jimenez, L. Courbin, C. Gosse, F. Artzner, V. Marchi-Artzner, *ACS Nano* **6**, 4137–4146 (2012).
19. E. Tekin, P. J. Smith, U. S. Schubert, *Soft Matter* **4**, 703–713 (2008).
20. a) R. Klajn, L. Fang, A. Coskun, M. A. Olson, P. J. Wesson, J. F. Stoddart, B. A. Grzybowski, *J. Am. Chem. Soc.* **131**, 4233–4235 (2009). b) M. R. Jones, K. D. Osberg, R. J. MacFarlane, M. R. Langille, C. A. Mirkin, *Chem. Rev.* **111**, 3736–3827 (2011). c) B. Radha, A. J. Senesi, M. N. O'Brien, M. X. Wang, E. Auyeung, B. Lee, C. A. Mirkin, *Nano Lett.* **14**, 2162–2167 (2014).
21. a) K. Rahme, L. Chen, R. G. Hobbs, M. A. Morris, C. O Driscoll, J. D. Holmes, *RSC Adv.* **3**, 6085–6094 (2013). b) S. D. Perrault, W. C. W. Chan, *J. Am. Chem. Soc.* **131**, 17042–17043 (2009).
22. Y.-L. Wu, J. Li, *Angew. Chem. Int. Ed.* **48**, 3842–3845 (2009); *Angew. Chem. Int. Ed.* **121**, 3900–33903 (2009).



## Chapter 5

### Recent progress on colloidal metal nanoparticles as signal enhancers in nanosensing

*Colloidal metal nanoparticles present very special optical and electromagnetic properties at the nanoscale range. Such plasmonic properties have derived in a huge research field that encompasses the understanding of nanoparticle formation mechanisms for the ultimate goal of developing novel materials for real-life applications. Plasmonic sensing is experiencing a rapid transition by taking advantage of the characteristic properties of colloidal metal nanoparticles. However, a rational design of novel nanoplasmonic substrates, which gathers as much as the required properties for a substrate to be a 'good' sensor is critical through the development of applications that can be effectively transferred as applied technologies. Also, the chosen sensing technique is a key factor when planning the design of a new plasmonic-based sensor. Several factors such as composition, shape, size, particle interactions or stability among others will define the final quality of the nanomaterial as sensing platform. Herein, we review the latest and most promising state-of-the art of nanoplasmonic-based sensors in four differentiated areas regarding the surface-enhanced spectroscopy detection technique being LSPR-, SERS- and SEIRA-, and SEF based platforms.*

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0001868615000755>

122. T. Ozel, S. Nizamoglu, M. A. Sefunc, O. Samarskaya, I. O. Ozel, E. Mutlugun, *et al.* *ACS Nano* **5**, 1328–1334 (2011).
123. R. Aroca, G. J. Kovacs, C. A. Jennings, R. O. Loutfy, P. S. Vincett, *Langmuir* **4**, 518–521 (1988).
124. K. Sugawa, T. Tamura, H. Tahara, D. Yamaguchi, T. Akiyama, J. Otsuki, *et al.* *ACS Nano* **7**, 9997–10010 (2013).
125. H. S. Wang, C. Wang, Y. K. He, F. N. Xiao, W. J. Bao, X. H. Xia, *et al.* *Anal. Chem.* **86**, 3013–3019 (2014).
126. S. Krishnamoorthy, *Curr. Opin. Biotechnol.* **34**, 118–124 (2015).
127. A. B. Moshe, D. Szwarcman, G. Markovich, *ACS Nano* **5**, 9034–9043 (2011).
128. R. Lombardini R, R. Acevedo, N. J. Halas, B. R. Johnson, *J. Phys. Chem. C* **114**, 7390–7400 (2010).



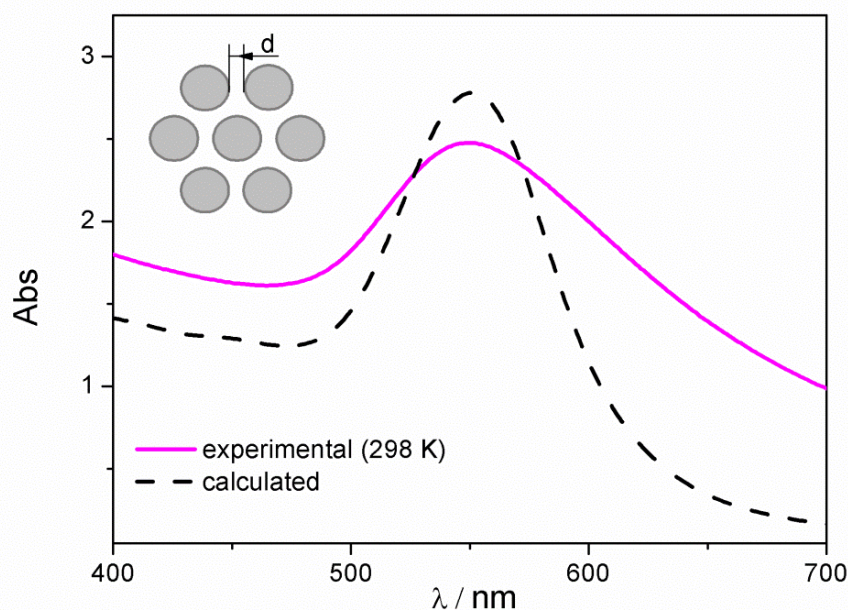
## Appendix 1

### Cooperative Self-Assembly Transfer from Hierarchical Supramolecular Polymers to Gold Nanoparticles

#### Contents

1. *Characterization techniques*
2. *Synthesis and characterization of the thiolated oligophenyleneethynylene derivative (OPESH)*
3. *Synthesis, capping agent replacement and characterization of gold nanoparticles*
4. *UV/Vis characterization of the OPESH and the OPES-AuNPs solutions*
5. *Isodesmic and cooperative mechanism models of supramolecular polymerizations*
6. *AFM, TEM and SEM microscopy characterization*
7. *<sup>1</sup>H-RMN and ROESY studies of OPESH and OPES-AuNPs self-assembly*
8. *Stability of OPES-AuNPs solutions with time*
9. *Capping ligand effect*
10. *Computational simulations*
11. *References*

<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acsnano.5b04841>



**Figure A33.** Simulated optical extinction spectrum (dots) for the gold nanospheres (12 nm in diameter) heptamer with 4 nm distance (d) of inter-particle separation, and the experimental optical extinction spectrum of OPES-AuNPs solution obtained at 298 K (line).

## 11. References

1. A. Florian, M. J. Mayoral, V. Stepanenko, G. Fernández, *Chem. Eur. J.* **18**, 14957-14961 (2012).
2. M. M. Smulders, M. M. L. Nieuwenhuizen, T. F. A. De Greef, P. Van der Schoot, A. P. H. J. Schenning, E. W. Meijer, *Chem. Eur. J.* **16**, 362-367 (2010).
3. a) H. M. M. Ten Eikelder, A. J. Markvoort, T. F. A. De Greef, P. A. J. Hilbers, *J. Phys. Chem. B* **116**, 5291-5301 (2012). b) A. J. Markvoort, H. M. M. Ten Eikelder, P. A. J. Hilbers, T. F. A. De Greef, E. W. Meijer, *Nat. Commun.* **2**, 509-517 (2011).
4. M. M. J. Smulders, A. P. H. J. Schenning, E. W. Meijer, *J. Am. Chem. Soc.* **130**, 606-611 (2008).
5. M. J. S. Dewar, E. G. Zoebisch, E. F. Healy, J. J. P. Stewart, *J. Am. Chem. Soc.* **107**, 3902-3909 (1985).
6. M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A. F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, G. J. L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J. A. Jr. Montgomery, J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J. M. Millam, M. Klene, J. E. Knox, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, V. G. Zakrzewski, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, S. Dapprich, A. D. Daniels, Ö. Farkas, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, J. Cioslowski, D. J. Fox, Gaussian 09, Revision A.1 Gaussian, Inc., Wallingford CT (2009).
7. M. I. Mishchenko, L. D. Travis, A. A. Lacis, In: 1st ed.; Cambridge University Press (2002).
8. D. W. Mackowski, M. I. Mishchenko, *J. Opt. Soc. Am. A* **13**, 2266-2278 (1996).
9. P. B. Johnson, R. W. Christy, *Phys. Rev. B* **6**, 4370-4379 (1972).
10. H. Hövel, S. Fritz, A. Hilger, U. Kreibig, M. Vollmer, *Phys. Rev. B* **48**, 18178 (1993).





## Appendix 2

### Support Information: Mechanosensitive Gold Colloidal Membranes mediated by Supramolecular Interfacial Self-Assembly

#### Contents

1. *Characterization techniques*
2. *Synthesis and characterization of the OPESH derivative*
3. *Synthesis, capping agent replacement and characterization of gold nanoparticles*
4. *TEM microscopy characterization*
5. *Langmuir trough at large values of surface pressure-area*
6. *UV/Vis characterization at the air/water interface*
7. *Brewster angle microscopy (BAM) characterization*
8. *Simulated UV/Vis reflection spectroscopy at the air/water interface*
9. *Molecular mechanics simulations of Langmuir monolayers of OPESH. Study of the rearrangement of the OPESH molecules at the air/water interface*
10. *Oscillator strength of the OPEHS UV/Visible absorption band and comparison with the simulated spectrum*
11. *Extended dipole model for quantitative assessment of OPESH orientation*
12. *Fluorescence microscopy*
13. *Binding constant,  $K_b$ , of BODIPY/Au CMs*
14. *References*

<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jacs.6b09485>

## 14. References

1. A. Dawn, N. Fujita, S. Haraguchi, K. Sada, S. Shinkai, *Chem. Commun.* 2100-2102 (2009).
2. A. Florian, M. J. Mayoral, V. Stepanenko, G. Fernández, G. *Chem. Eur. J.* **18**, 14957-14961 (2012).
3. H. Grüniger, D. Möbius, H. Meyer, *J. Chem. Phys.* **79**, 3701-3710 (1983).
4. C. Rubia-Paya, G. de Miguel, G. M. T. Martín-Romero, J. J. Giner-Casares, *Adv. Colloid and Interface Sci.* **225**, 134-145 (2015).
5. J. D. D. Neto, M. C. Zerner, *Int. J. Quantum Chem.* **81**, 187-201 (2001).
6. M. A. Safarpour, S. Bagheri-Navir, M. Jamali, A. R. Mehdipour, *J. Mol. Struct. :Theochem.* **900**, 19-26 (2009).
7. Hyperchem; 8th ed.; Htpercube, Inc.: Gainesville, FL, 2007.
8. V. Czikkely, H. D. Forsterling, H. Kuhn, *Chem. Phys. Lett.* **6**, 11-14 (1970).
9. V. Czikkely, H. D. Forsterling, H. Kuhn, *Chem. Phys. Lett.* **6**, 207-211 (1970).
10. J. M. Pedrosa, M. T. Martín-Romero, L. Camacho, D. J. Möbius, *J. Phys. Chem. B* **106**, 2583-2591 (2002).
11. J. J. Giner-Casares, G. de Miguel, M. Pérez-Morales, M. T. Martín-Romero, L. Camacho, E. J. Muñoz, *J. Phys. Chem. C* **113**, 5711-5720 (2009)
12. G. de Miguel, M. T. Martín-Romero, J. M. Pedrosa, E. Muñoz, M. Pérez-Morales, T. H. Richardson, L. Camacho, *Phys.Chem.Chem.Phys.* **10**, 1569-1576 (2008).
13. G. Beschiaschvili, J. Seelig, *Biochemistry* **29**, 10995-10100 (1990).



## Appendix 3

### Support Information: Polyrotaxane mediated Self-Assembly of Gold Nanospheres into Fully Reversible Supercrystals

#### Contents

1. *Characterization techniques*
2. *Synthesis and characterization of the new thiol-functionalized Igepal surfactant IgeSH*
3. *Preparation and characterization of the IgeSH:CD polyrotaxanes solid*
4. *Synthesis, capping agent replacement and characterization of gold spherical nanoparticles*
5. *Preparation and characterization of the gold nanoparticle-polyrotaxane nanocomposite*
6. *Fluorescence study of the formation of  $\alpha$ -CD polyrotaxanes with free IgeSH*
7. *Preparation and UV/Vis characterization of the gold supercrystals*
8. *UV-Vis investigation of the reversibility and recovering of the AuNPs deposition*
9. *References*

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/anie.201406323/full>

## 9. References

1. A. Bouzide, G. Sauvé, *Org. Lett.* **4**, 2329–2332 (2002).
2. B. V. Enüstün, J. Turkevich, *J. Am. Chem. Soc.* **85**, 3317–3328 (1963).
3. M. I. Mishchenko, L. D. Travis, A. A. Lacis, *Scattering, Absorption, and Emission of Light by Small Particles*; 1st ed.; Cambridge University Press (2002).
4. D. W. Mackowski, M. I. Mishchenko, *J. Opt. Soc. Am. A* **13**, 2266–2278 (1996).
5. P. B. Johnson, R. W. Christy, *Phys. Rev. B* **6**, 4370–4379 (1972).
6. H. Hövel, S. Fritz, A. Hilger, U. Kreibig, M. Vollmer, *Phys. Rev. B* **48**, 18178 (1993).
7. B. Yan, S. V. Boriskina, B. M. Reinhard, *J. Phys. Chem. C* **115**, 4578–4583 (2011).

## General Conclusions

Even though specific conclusions have been displayed at the end of each chapter, the most relevant, global conclusions of the research reported in this thesis are shorted in what follows.

- We have synthesized and stabilized AuNPs by using a supramolecular  $\pi$ -conjugated polymer (OPESH) in organic medium. The samples were analyzed by temperature-dependent spectroscopic techniques, showing several hierarquichal levels of organization. The OPESH moieties can form micelles (low concentration) and nanotube structures (high concentration) through an isodesmic and cooperative mechanism, respectively. Under specific conditions, the cooperative mechanism presented the supramolecular polymer was efficiently transferred to gold nanospheres (AuNSs), thereby enabling the reversible self-assembly of AuNPs clusters. These assembled structures were fully characterized by TEM, SEM and AFM microscopies. AuNPs clusters were observed at room temperature, which corresponds to the beginning of the nucleation process, and large organic lamellae structures embedded of AuNPs were obtained at lower temperatures. These results, combined with the experimental and thermodynamic data offer, for the first time, a deep analysis of the hierarchy levels and thermodynamic mechanism involved in the self-assembly of gold nanocrystals in a fully reversible manner.

- Next, the self-assembly of AuNPs coated by a supramolecular  $\pi$ -conjugated polymer has been demonstrated carrying out mechanical stimuli at the air/water interface. By using the Langmuir technique, we observed the formation of AuNPs clusters at low values of interfacial pressures. However, the compression of the interface triggers the formation of gold colloidal membranes (AuCMs), with micro-sized disk-shaped. The reversibility of this system was analyzed *in situ* by UV/Vis reflection and BAM spectroscopies. A combination of computer simulations based on molecular dynamics has elucidated the supramolecular arrangement of these systems at the molecular level. Lastly, the reversible mechanosensitive functionality of AuCMs was

tested with a diluted solution of dibenzofuran derivative through compression-expansion cyclic experiments, demonstrating the potential of the membranes as pollutant harvest/release systems. Indeed, the AuCMs were also able to trap hydrophobic molecules placed at air-water interface, presenting a high value of binding constant. This novel methodology to fabricate AuCMs offers a great potential to be exploited to a wide range of nanoparticles providing a self-assembled platform for several applications.

- Moreover, we showed the synthesis and stabilization of the AuNPs by the surfactant IgeSH in aqueous medium. The formation of polyrotaxanes by using  $\alpha$ -CDs as macrocycles on the surface of the nanoparticle has been characterized by UV/Vis, fluorescence and  $^1\text{H}$  spectroscopies. These samples were dried on substrates, in which the presence of the  $\alpha$ -CDs shows a better and uniform deposition compared to the samples in the absence of the macrocycle. Complementary measurements of TEM and SEM microscopies have allowed us to extract a fine description of the organized layers in a hexagonal close packing, showing a supercrystal structure. Furthermore, we could fully recover the sample by dissolving the supercrystals in water, which has maintained their previously plasmonic properties. This study demonstrates the formation of plasmonic supercrystal by using polyrotaxanes in a reversible way, which pave the way for designing excellent reusable materials with plasmonic properties.

- Finally, we reviewed the most relevant examples of nanoplasmonic-based sensors in four differentiated areas, regarding the surface-enhanced spectroscopy detection technique, being LSPR-, SERS-, SEIRA- and SEF based platforms. These studies show different approaches of combining and enhance the compatibility between the analyte and the nanosensor both in solution and on the substrate. First, the effect of the compound, shape, size of the nanoparticles is a critical point. AuNPs and AgNPs are the most used nanocrystals for sensing due to their optimal LSPR properties. Their tunable plasmonic band along the UV/Vis and even at the NIR spectral range is useful depending on the chemical and physical properties of the analyte. Second, the functionalization of the particles influences directly the quality of the target

binding between their surface and the analyte, which is key for the development of highly sensible and specific sensors with practical applications. Regarding to the techniques, the enhancement of signal by SERS has achieved remarkable results in both liquid and substrate, while SEIRA method is mainly applied in thin films. Sensing platforms based on SEF are attractive for analytical sensing, however many parameters in the environment that are not under control may affect simultaneously the fluorescence emission.





# Resumen

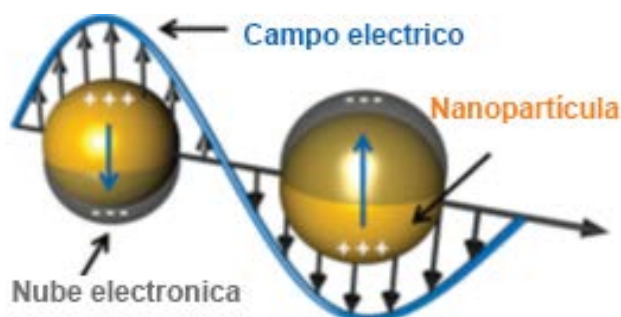
## Introducción

La ciencia de nanomateriales, conocida como nanociencia, ha emergido como un área de investigación muy prolífica en las últimas dos décadas, permitiendo avances importantes en el desarrollo y manipulación de materiales en la nanoescala ( $1\text{--}100 \times 10^{-9}$  nm).<sup>1</sup> En esta escala, los materiales presentan propiedades químico-físicas inusuales que difieren significativamente de sus correspondientes propiedades en la escala micro y macroscópica, como es por ejemplo la excitación de los plasmones de superficie. Esencialmente, este comportamiento dependiente del tamaño puede ser explicado a través de fenómenos físicos complejos entre los cuales caben destacar efectos cuánticos, propiedades magnéticas o electrónicas de superficie.<sup>2</sup> De acuerdo a estas funcionalidades, e inspirados por los fenómenos que transcurren en la naturaleza, los químicos se han enfocado en el diseño de nanomateriales autoensamblados con la idea de mejorar o incluso generar nuevas propiedades (metamateriales). Para lograr tales objetivos, estas investigaciones se han centrado fundamentalmente en diseñar sistemas de síntesis basados en nanomateriales híbridos orgánicos e inorgánicos. Como ejemplo relevante de esta evolución, la nanoplasmonica ha surgido como un área importante de la nanociencia, donde las propiedades ópticas de las nanopartículas plasmónicas metálicas pueden ser combinadas con componentes moleculares, obteniéndose materiales híbridos con nuevas propiedades y una amplia aplicabilidad.<sup>3</sup>

Actualmente, las nanopartículas metálicas más utilizadas son las de oro (AuNPs), principalmente debido a su relativa fácil síntesis que permite un alto grado de control del tamaño y forma de los nanocristales, siendo por tanto unidades discretas ideales para la fabricación de nanoarquitecturas en las tres dimensiones del espacio.<sup>4</sup> De esta estrategia, se benefician sus propiedades ópticas, que son extremadamente sensibles al entorno local y por tanto a la interacción entre partículas adyacentes, dando lugar a nuevos e interesantes

modos ópticos. Considerando un enfoque molecular previamente desarrollado en sistemas químicos, se ha estudiado diferentes metodologías para replicar conceptos observados al nivel de las moléculas, entre los que destaca el auto-ensamblaje a través de la química supramolecular.<sup>5</sup> En los próximos apartados, se expondrá brevemente el origen de las propiedades ópticas de las AuNPs y algunos de sus métodos de síntesis, así como los ejemplos más significativos de estructuras auto-ensambladas de AuNPs a través de interacciones moleculares y supramoleculares.

**Propiedades Ópticas de Nanopartículas de Oro.** Los plasmones superficiales de metales se originan por la oscilación colectiva de los electrones deslocalizados en la interfase metal-dieléctrico, bajo el efecto de la radiación electromagnética. En el caso de que el plasmón de superficie esté confinado en una partícula de tamaño comparable a la longitud de onda de luz, tal como ocurre en las nanopartículas de los metales nobles, los electrones libres de la partícula oscilan colectivamente, generando lo que se conoce como resonancia de plasmón superficial localizado (LSPR) (Figura R-1).<sup>6</sup> En las nanopartículas de oro y plata, dicho efecto genera una banda de extinción muy intensa en la región visible del espectro electromagnético. La frecuencia de resonancia e intensidad de esta banda de extinción del plasmón, dependen del tamaño y de la forma de las nanopartículas.<sup>7</sup>

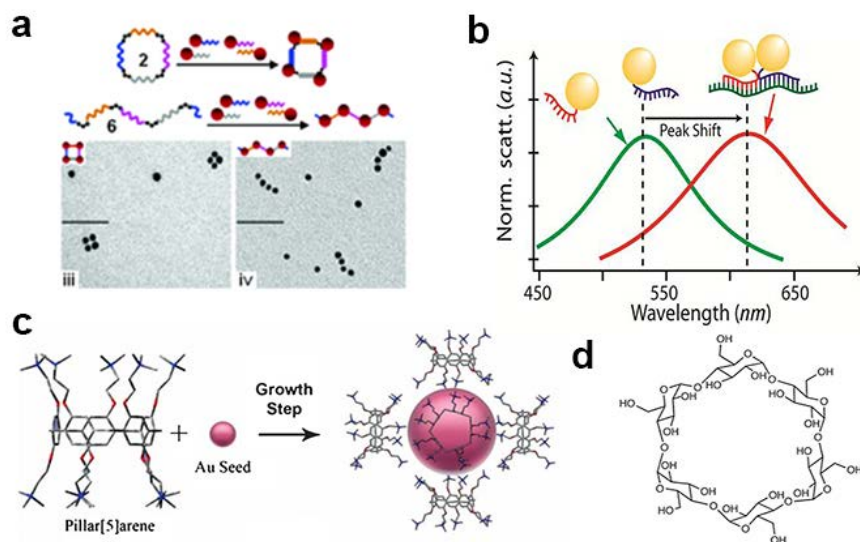


**Figura R-1.** Ilustración esquemática del LSPR inducido por una onda electromagnética, el cual se encuentra localizado en los límites de la superficie de la nanopartícula metálica. Adaptada de la referencia 8.

**Síntesis de Nanopartículas de Oro.** La primera síntesis química de una disolución coloidal de AuNPs fue descrita por Michael Faraday en 1857. Desde entonces, se han desarrollado muchos métodos de preparación de metales coloidales. Entre ellos, uno de los más utilizados debido a su gran versatilidad ha sido el método establecido por John Turkevitch y colaboradores.<sup>9</sup> Mediante este método, se obtienen básicamente AuNPs esféricas, utilizando el citrato de sodio como agente reductor y anión  $\text{AuCl}_4^-$  como precursor de oro, en agua a temperatura de ebullición.

Para la síntesis de AuNPs en disolvente orgánicos, la oleilamina es una de las moléculas más utilizadas como agente reductor y estabilizador.<sup>10</sup> En este procedimiento, la reducción del anión  $\text{AuCl}_4^-$  transcurre en una mezcla de oleilamina/tolueno como disolvente en reflujo. Durante el tiempo de reacción, la formación de las AuNPs se da gracias a la capacidad de la oleilamina para estructurarse en micelas inversas en disolventes orgánicos.

**Oligómeros y Polímeros de Nanopartículas de Oro.** Los auto-ensamblajes unidimensionales y bidimensionales constituidos por AuNPs como unidades de repetición se han basado fundamentalmente en imitar estructuras de polímeros o incluso copolímeros de bloque. Estas estructuras auto-ensambladas han recibido mucha atención pues pueden ser utilizadas para el desarrollo de nuevas plataformas de dispositivos ópticos-electrónicos, detección y generación de acoplamiento del LSPR.<sup>11</sup> El proceso de unión entre las AuNPs se realiza normalmente mediante una funcionalización química de la superficie de los nanocristales a través del uso de moléculas tioladas con funcionalidades concretas (ADN, macrociclos, etc.).<sup>12</sup> De esta forma, las interacciones interpartícula se pueden llevar a cabo supramolecularmente por medio de enlaces de hidrógeno, coordinación metálica, fuerzas hidrofóbicas y de van der Waals, interacciones- $\pi$  y efectos electrostáticos. La figura R-2 muestra algunos ejemplos de estructuras auto-ensambladas de AuNPs utilizando estrategias supramoleculares, principalmente a través del uso de la hibridación entre cadenas de ADN y macrociclos.

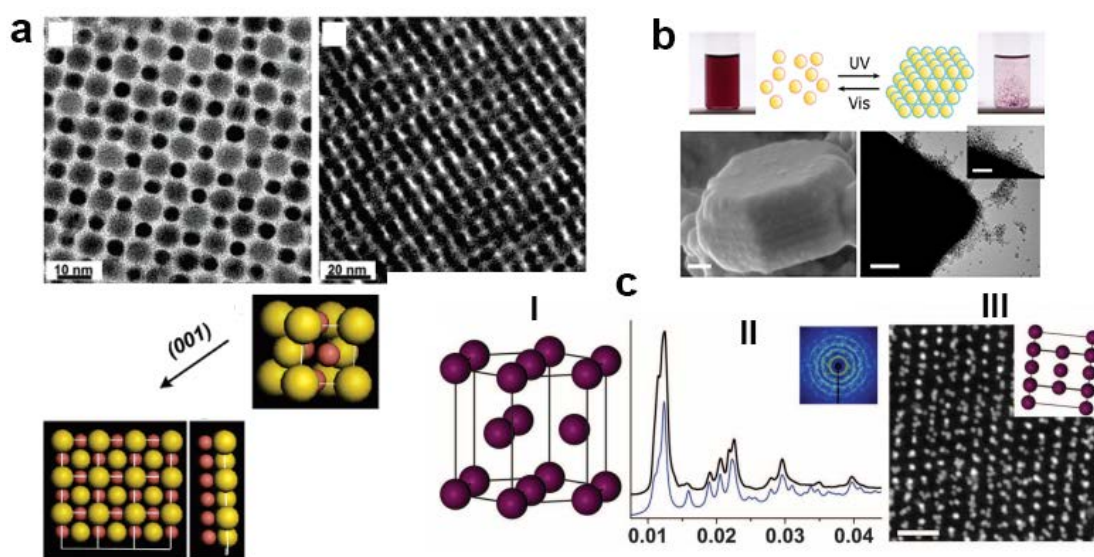


**Figura R-2.** (a) Estructuras cuadradas y lineales obtenidas a través de interacciones supramoleculares de AuNPs funcionalizadas con cadenas de ADN. Adaptada de la referencia 13. (b) Espectros UV-Vis de dímeros de AuNPs a través de la hibridación de las cadenas de ADN. Adaptada de la referencia 14. (c) Método de crecimiento de semillas de oro basado en interacciones supramoleculares del pilarenos. Adaptada de la referencia 15. (d) Estructura química de la alfa-ciclodextrina.

**Supercristales de Nanopartículas de Oro.** El estudio de la materia condensada es un campo muy amplio en el que están involucradas distintas áreas del conocimiento, como la química, la física, la ciencia de los materiales, la ingeniería y la nanotecnología. En este contexto, los cristales moleculares presentan propiedades fuertemente dependientes de la organización molecular en el espacio tridimensional. Teniendo en cuenta este concepto, la disposición de AuNPs en estructuras periódicas o supercristales, ha demostrado ser interesante por sus respuestas plasmónicas colectivas.<sup>16</sup> Para describir los acoplamientos electromagnéticos entre los LSPRs las nanopartículas, la nanoplasmonica hace una analogía directa con las interacciones entre orbitales atómicos y moleculares.<sup>17</sup>

El diseño de estructuras tridimensionales complejas de AuNPs es aún un proceso muy crítico, puesto que depende de la coordinación espacial de las nanoestructuras y del método de confinamiento. Uno de los procesos más básicos para obtener ensamblajes de nanocristales con ordenamiento de largo

alcance es el método de evaporación controlada del disolvente. Por ejemplo, Murray y sus colaboradores han descrito con gran detalle, tanto teórica como experimentalmente, que dicho proceso de cristalización se encuentra dirigido a través de disminuciones de entropía.<sup>18,19</sup> Otras estrategias destacadas son las basadas en interacciones supramoleculares, fundamentalmente el autoensamblaje vía moléculas ditioladas y la hibridación de cadenas de ADN.<sup>20</sup> A través de estos métodos, se han podido diseñar supercristales de AuNPs con parámetros cristalográficos bien definidos, incluyendo estructuras cúbicas centrada en las caras (ccc), cúbica centrada en el cuerpo (bcc), cúbica simple (cs) y hexagonal compacta (hcp) (Figura R-3).



**Figura R-3.** (a) Imágenes de TEM de estructuras ccc de nanopartículas de Au y Cu. Adaptada de la referencia 18. (b) Esquema de una estructura nanocristalina reversible en disolución a través de la irradiación de luz UV-Vis. Adaptada de la referencia 19. (c) Celda de una unidad hcp (I), patrones de dispersión de rayos-X a bajos ángulos (SAXS) 1D y 2D (II), e imagen TEM de una estructura cristalina hcp de AuNPs ordenadas por medio de moléculas de ADN (III). Adaptada de la referencia 20.

## Objetivos

La investigación descrita en esta tesis se centra en el desarrollo de nuevas estrategias para llevar a cabo el auto-ensamblaje de AuNPs, con el fin de que puedan servir para desarrollar dispositivos macroscópicos con aplicaciones ópticas y de detección de analitos de interés. Para ello, se ha utilizado una aproximación basada en la imitación de sistemas supramoleculares ya conocidos, lo que requiere un profundo conocimiento, no sólo del estado cristalino y coloidal de las AuNPs a estudio, sino de las interacciones que se establecen a nivel de los ligandos supramoleculares que las estabilizan. Estas investigaciones se realizaron en el Grupo de Química Supramolecular y Nanoquímica de la UCM, el cual tiene una larga tradición en el estudio de sistemas supramoleculares y coloidales, y que en los últimos años se ha centrado en la investigación de la síntesis, funcionalización y auto-ensamblaje de AuNPs. La caracterización y ensamblaje de las mismas se llevó a cabo fundamentalmente a través de espectroscopias UV-vis-IR y de fluorescencia, y de técnicas de microscopía electrónica de transmisión y de barrido, aunque otras técnicas fueron también empleadas (AFM, XRD, etc).

La tesis se ha estructurado en cinco capítulos. El capítulo 1 recoge una introducción general cuyo objetivo es reflejar el contexto en el que se enmarca la investigación propuesta, así como una nueva visión con la que se pretende correlacionar los últimos desarrollos llevados a cabo en el auto-ensamblaje de AuNPs con aquellos característicos del ámbito molecular, más concretamente el supramolecular. Con esta idea, y en función del nivel de organización en la nanoescala, hemos considerado oportuno estudiar a las AuNPs y sus ensamblajes, como oligómeros y polímeros, y supercristales plasmónicos.

El capítulo 2 hace referencia a la idea de analizar el carácter cooperativo del proceso de auto-ensamblaje de AuNPs. Son muchos los ejemplos en la bibliografía que hacen referencia a dicho proceso desde un punto de vista cualitativo, pero no hay ejemplos que haya analizado la cooperatividad de los ensamblajes desde punto de vista cuantitativo. Por ello, hemos elegido los

polímeros supramoleculares, que presentan un alto grado de jerarquía y cooperatividad en su organización, como elementos de transferencia de dicha propiedad al ensamblaje de AuNPs en disolución. Como resultado, se ha demostrado dicha transferencia jerárquica y se han analizado las propiedades termodinámicas de dicho proceso.

Una vez analizada la transferencia de cooperatividad en disolución, hemos explorado sus posibles aplicaciones en un medio bidimensional como es la interfase aire/agua, como objetivo del capítulo 3. Para ello, se han utilizado polímeros supramoleculares modificados respecto al capítulo 2, que han permitido controlar el auto-ensamblaje supramolecular de AuNPs a través de un estímulo externo, como es la presión superficial. Gracias a un análisis tanto experimental como teórico, se han desarrollado membranas coloidales con un elevado grado de reversibilidad, lo cual tiene importantes implicaciones desde un punto de vista de sus aplicaciones para el control de la liberación y/o atrapamiento de especies moleculares hidrofóbicas en interfases.

Siguiendo una línea de aproximación supramolecular, en el capítulo 4 hemos desarrollado un método nuevo de preparación de supercristales ordenados de AuNPs a partir de la estabilización de las mismas con polirotaxanos de ciclodextrinas, como macrociclos supramoleculares. El control de las interacciones a nivel de dichos ligandos, ha permitido, como objetivo fundamental del estudio, poder obtener supercristales reversibles que nos permitan ser reutilizados tras su uso potencial como tintas plasmónicas o sensores reutilizables.

Finalmente, en el capítulo 5 se ha llevado a cabo una revisión crítica del estado del arte en la preparación de auto-ensamblajes de nanopartículas plasmónicas, dando especial relevancia a los ensamblajes conseguidos a través de una aproximación supramolecular, para su uso como sensores de analitos tanto orgánicos como de naturaleza biológica. Para ello, se han clasificado dichos auto-ensamblajes en función de la técnica espectroscópica utilizada, como es la espectroscopia UV-Vis-IR, y las espectroscopías de superficie aumentada, como son SERS, SEIRA y SEF.



## Resultados

### Transferencia del Auto-ensamblaje Cooperativo y Jerárquico de Polímeros Supramoleculares a Nanopartículas de Oro

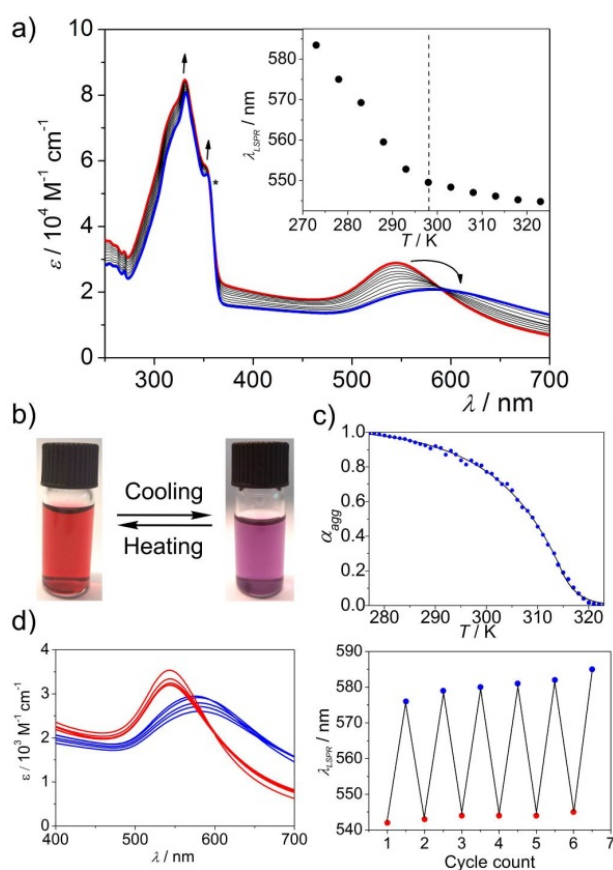
El auto-ensamblaje de nanopartículas coloidales ha surgido como un nuevo concepto para la fabricación de materiales nanoestructurados, convirtiéndose en un punto natural de partida para la obtención, desde una aproximación desde abajo hacia arriba, de dispositivos en nanotecnología.<sup>21</sup> En este contexto, el auto-ensamblaje se refiere a la organización espontánea de las nanopartículas como unidades discretas, dónde las interacciones interpartícula provienen de moléculas situadas en la interfase de las mismas. Aunque existen estudios sobre el auto-ensamblaje de nanopartículas de oro (AuNPs) basado en diferentes tipos de interacciones no covalentes, tales como van der Waals, enlaces de hidrógeno, interacciones electrostáticas y/o de tipo  $\pi$ - $\pi$ , los mecanismos de dichas rutas siguen siendo desconocidos.<sup>22</sup> Sin embargo, tal comprensión podría ayudar como guía para el desarrollo de nuevas nanoestructuras plasmónicas con funcionalidades adaptativas mediante la selección racional de los ligandos moleculares.

Para abordar este tema, se han utilizado ligandos orgánicos con varias funcionalidades como unidades de recubrimiento y ensamblaje entre AuNPs. Esta funcionalidad permite que distintas jerarquías de interacción entre moléculas puedan estar presentes durante el auto-ensamblaje de las AuNPs. La principal ventaja de utilizar ligandos conjugados es que su auto-ensamblaje puede ser fácilmente estudiado por una variedad de técnicas espectroscópicas. En este caso, los derivados oligofenilene-tinilenos (OPE) son ideales para satisfacer los criterios anteriormente establecidos debido a sus excelentes propiedades ópticas, fotofísicas y supramoleculares. Como una prueba de concepto, hemos diseñado un derivado tiolado sustituido asimétricamente (OPESH, ver estructura en el capítulo 2), del que se espera una auto-organización en disolución a través de interacciones cooperativas  $\pi$ - $\pi$ , además de la posible formación de enlaces de hidrógeno.

El estudio sistemático del auto-ensamblaje de OPESH ha sido investigado por espectroscopia UV-Vis. La molécula es soluble en disolventes moderadamente polares, encontrándose que una mezcla de metilciclohexano (MCH)/tetrahidrofurano (THF) (75:25) es óptima tanto en términos de solubilidad como en el grado de agregación supramolecular. Los espectros obtenidos a distintas temperaturas muestran que por debajo de una concentración crítica de  $\sim 1 \times 10^{-4}$  M, la transición de monómero a agregado (micela) se define por una curva sigmoideal, característica de un proceso isodésmico. Por otro lado, se obtienen curvas de enfriamiento no sigmoideales para muestras cuyas concentraciones están por encima de  $1 \times 10^{-4}$  M, produciéndose la formación de agregados nanotubulares. Estas curvas no sigmoideales fueron ajustadas utilizando un modelo jerárquico de nucleación-elongación, desarrollado por Eikelder, Markvoort, Meijer y colaboradores, a partir del cual se ha obtenido datos termodinámicos del proceso de auto-ensamblaje del OPESH.<sup>23</sup> Podemos destacar que para concentraciones por encima de  $1 \times 10^{-4}$  M, los negativos y altos valores de variación de entalpía (de -70,5 a -115,7 KJ mol<sup>-1</sup>) indican que este proceso está dirigido entálpicamente.

Tras investigar este intrigante proceso jerárquico de auto-ensamblaje, se cuestionó si tal mecanismo podría ser transferido a las AuNPs de una manera cooperativa. Inicialmente, nuestra estrategia se basó en recubrir la superficie de AuNPs esféricas ( $12,7 \pm 1,2$  nm de diámetro) con unidades de OPESH a través del enlace Au-S (OPES-AuNPs). Posteriormente, se disolvió una mezcla de OPESH y OPES-AuNPs en THF y se añadió MCH hasta una relación de disolventes MCH/THF (75:25), alcanzando concentraciones finales de  $7 \times 10^{-5}$  M y  $1 \times 10^{-9}$  M para OPESH y OPES-AuNPs, respectivamente. Sin embargo, dichas concentraciones no fueron suficientes para desencadenar el proceso de auto-ensamblaje supramolecular de las OPES-AuNPs en disolución. Sin embargo, el comportamiento del sistema resultó ser completamente diferente cuando la concentración de OPESH se incrementó hasta  $1,4 \times 10^{-4}$  M. La Figura R-1a muestra los espectros UV-Vis en función de la temperatura de una mezcla de OPESH y OPES-AuNPs ( $1 \times 10^{-4}$  M and  $3,5 \times 10^{-9}$  M, respectivamente) en

disolución. Dichos espectros muestran las contribuciones molecular (transiciones a  $\sim 332$  y  $353$  nm) y de las AuNPs (banda LSPR entre  $\sim 500$ - $700$  nm). Al disminuir la temperatura de  $323$  a  $273$  K, las bandas de absorción de OPESH se afilan mientras que la banda LSPR (inicialmente a  $\sim 540$  nm) se ensancha y se desplaza hacia longitudes de onda más altas debido al acoplamiento LSPR (Figura R-4a). A  $323$  K, las disoluciones presentan un color rojo (Figura R-4b) y son perfectamente estables, lo que implica que las AuNPs están aisladas entre sí en disolución. Por debajo de  $298$  K, se constata que las AuNPs se autoensamblan supramolecularmente, como lo confirma el cambio de color de las dispersiones a violeta-púrpura.



**Figura R-4.** (a) Espectros de UV-Vis de la mezcla de OPESH y OPES-AuNPs a distintas temperaturas obtenidos en disolución de MCH/THF (75:25). Las flechas indican cambios espectrales tras el enfriamiento. Interior: desplazamiento de la banda LSPR *vs.* temperatura (la línea discontinua muestra la temperatura de  $298$  K). (b) Cambio de color asociado al proceso de ensamblaje de las AuNPs. (c) Curva de enfriamiento de la mezcla de OPESH y OPES-AuNPs monitorizada a la longitud de onda de  $331$  nm. (d) Espectros de UV-Vis donde se observa la reversibilidad del proceso tras siete ciclos de calentamiento-enfriamiento.

Con el fin de comprobar la reproducibilidad del comportamiento cooperativo de auto-ensamblaje de OPESH en la mezcla, se representó la absorción a 331 nm de varias concentraciones, por encima de  $1 \times 10^{-4}$  M, con respecto a la temperatura (Figuras R-1c,d). Todas las curvas resultantes fueron ajustadas al modelo de nucleación-alargamiento, de dónde se obtuvieron valores relativamente altos del grado de cooperatividad (entre 0,0004 y 0,003). Los agregados obtenidos en esta etapa fueron caracterizados por técnicas de microscopía AFM, TEM, y SEM. Las imágenes de AFM muestran la formación de núcleos de OPES-AuNPs (de entre 3-7 nanopartículas) a una temperatura de 298 K. Las imágenes de TEM y SEM obtenidas a bajas temperaturas muestran la formación de estructuras lamelares extensas (de cientos de nanómetros de largo) compuestas de OPESH, en las cuales aparecen embebidas las AuNPs. En estas estructuras, la distancia mínima entre partículas es de  $\sim 4,0$  nm, que corresponde al doble de la longitud de la región aromática de OPESH. Este resultado sumado a análisis de experimentos de  $^1\text{H}$ -RMN y ROESY a distintas temperaturas indican que las capas moleculares crecen en presencia de AuNPs a través de la formación de enlaces de hidrógeno entre los grupos amida y tioacetato, y de interacciones  $\pi$ - $\pi$  de los fragmentos aromáticos.

En resumen, hemos demostrado que los niveles jerárquicos exhibidos por polímeros supramoleculares cooperativos pueden ser transferidos eficientemente para auto-ensamblar AuNPs de una forma totalmente reversible. Los estudios espectroscópicos y de microscopía han permitido analizar en profundidad la termodinámica y las principales interacciones implicadas en el proceso del auto-ensamblaje cooperativo de las AuNPs. Por ello, nuestros hallazgos abren un camino para un nuevo enfoque en los procesos jerárquicos de auto-ensamblaje de AuNPs, dónde anticipamos el uso de la polimerización supramolecular como una metodología poderosa para la preparación de nuevos tipos de superestructuras para aplicaciones en distintos dispositivos plasmónicos.

## **Membranas Coloidales de Oro con Propiedades Mecanosensibles obtenidas mediante Auto-Ensamblaje Supramolecular Interfacial**

La explotación del auto-ensamblaje de nanopartículas coloidales para producir superestructuras con propiedades aún no definidas, atribuibles a la nueva escala de tamaño es uno de los mayores retos dentro del amplio campo de la química coloidal. Uno de los principales enfoques conceptuales para el desarrollo de nanopartículas ensambladas se han centrado en mimetizar las estructuras organizadas de moléculas anfifílicas, que incluyen desde micelas o vesículas hasta estructuras más complejas como los agregados de nanopartículas, coloidosomas y cristales líquidos.<sup>24</sup> Cabe destacar como superestructuras notables, las membranas coloidales (CM) que consisten en capas de nanopartículas cuyo ensamblaje está dirigido en interfases planas formadas por dos fases inmiscibles. En este caso, las interacciones coloidales entre las nanopartículas conducen a un alto grado de complejidad mesoscópica, caracterizada principalmente por la presencia de defectos estructurales, morfologías definidas y tamaños auto-limitados.<sup>25</sup>

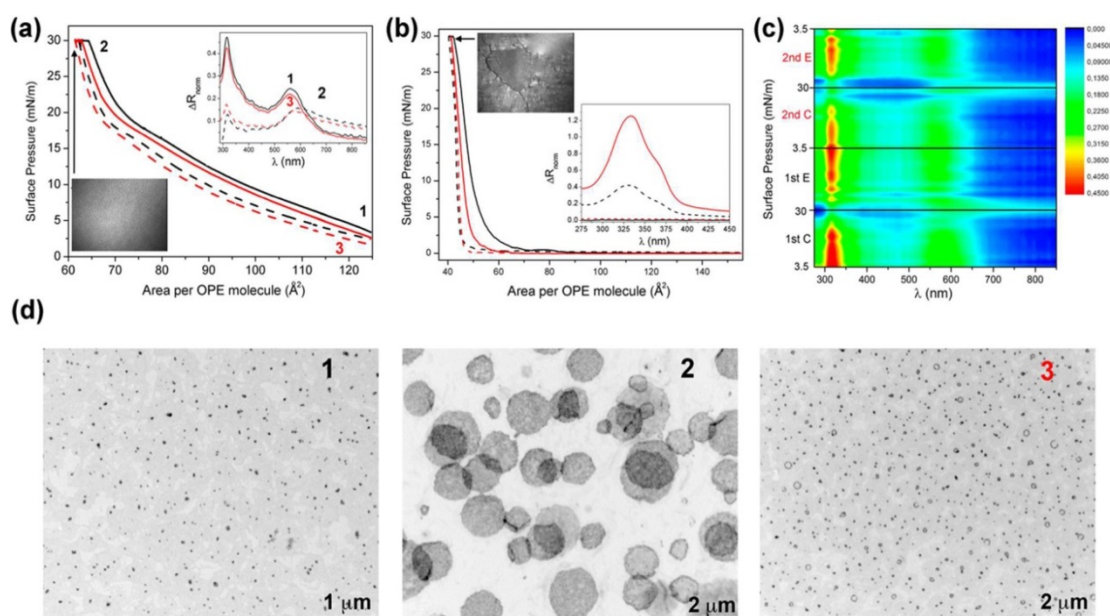
Inspirándonos en estos precedentes, y teniendo en cuenta que la técnica de Langmuir ofrece la posibilidad de disponer polímeros supramoleculares y AuNPs en la interfase aire/líquido, proponemos una estrategia supramolecular sin precedentes controlada por presión superficial, para lograr el auto-ensamblaje reversible de membranas coloidales de oro (AuCMs) mediante presión mecánica. En este estudio, introducimos una interpretación mecanística basada en la disposición de los agregados supramoleculares en presencia de nanocristales, donde las AuNPs actúan como superficies de nucleación supramolecular, promoviendo el atrapamiento de la fase supramolecular y el agrupamiento de las partículas. Para ello, las AuNPs se reorganizan espontáneamente en AuCMs más grandes para minimizar la energía libre cuando la concentración de nanocristales por área aumenta.

La elección y síntesis del ligando tiolado supramolecular (OPESH, ver estructura química en el capítulo 3) utilizado en este estudio está basado en las conocidas propiedades supramoleculares, ópticas y electrónicas de los

derivados oligofenilenetilenos. Este ligando nos permite investigar las propiedades fotofísicas de las AuNPs funcionalizadas mediante diversos métodos espectroscópicos *in situ* en la interfase aire/agua. Las moléculas de OPESH exhiben un comportamiento anfifílico en la interfase aire/agua, donde se observa la formación espontánea de láminas a concentraciones superficiales de  $1,3 \times 10^{-10}$  moles/cm<sup>2</sup>, como evidencian las micrografías de TEM obtenidas en la interfase por inmersión. Esta morfología regular de láminas sugiere la existencia interacciones no covalentes y direccionales intensas entre moléculas de OPESH. Por otro lado, al esparcir el ligando conjuntamente con las AuNPs modificadas (OPES-AuNPs,  $2,9 \times 10^{-14}$  moles/cm<sup>2</sup>) se observa un cambio notable en el patrón del auto-ensamblaje en la interfase, obteniéndose espontáneamente AuCMs. Estas AuCMs están formadas por una fase semicontinua de agregados de OPESH alrededor de pequeños agregados de AuNPs distribuidos homogéneamente (de 5-15 AuNPs) y organizados hexagonalmente. En estas estructuras, la distancia mínima interpartícula es de  $4,4 \pm 0,5$  nm, lo que corresponde aproximadamente a la longitud de la estructura optimizada de geometría de OPESH asumiendo una conformación totalmente extendida de las cadenas alquílicas.

Las propiedades mecánicas de las AuCMs fueron analizadas en una balanza de Langmuir a través de experimentos cíclicos de expansión-compresión en la interfase aire/agua (Figura R-5). La monitorización *in situ* de la disposición del OPESH y OPES-AuNPs durante el proceso de auto-ensamblaje fue acompañada en detalle por primera vez en la literatura utilizando espectroscopia de reflexión UV-Vis. En la Figura R-5a, se muestran las isothermas cíclicas de presión-área ( $\pi$ -A) en la interfase de la mezcla de OPESH y OPES-AuNPs. La película se comprimió a una presión superficial fija por debajo del colapso (30 mN/m), permitiendo un cierto tiempo de estabilización para evitar efectos cinéticos. La isoterma  $\pi$ -A de la película mixta se expandió y se desplazó a áreas moleculares efectivas mayores comparadas con la de OPESH puro, bajo las mismas condiciones de concentración superficial y compresión (Figura R-5b), evidenciando la presencia de OPES-

AuNPs en la interfase. Los espectros de reflexión UV-Vis normalizados registrados durante la compresión de la mezcla muestran un ensanchamiento y un desplazamiento del modo LSPR de las AuNPs hacia el rojo debido al acoplamiento de los LSPRs entre AuNPs (interior en la Figura R-5a). Además, no se observan cambios significativos en la posición de la banda de reflexión de OPESH a 316 nm, en buen acuerdo con la configuración de auto-ensamblaje molecular de tipo H, que las moléculas de OPESH adoptan bajo las condiciones de formación espontánea de las AuCMs.



**Figura R-5.** (a) Isotermas superficiales obtenidas de la monocapa OPESH/OPES-AuNPs. La imagen interior muestra los espectros de reflexión UV-Vis normalizados de agregados de pequeño tamaño (1 y 3) y AuCMs (2), registrados *in situ* en la interfase aire/agua. Se incluye una imagen representativa de BAM (microscopía de ángulo de Brewster) de la monocapa OPESH/OPES-AuNP a 30 mN/m. (b) Isotermas superficiales de la monocapa OPESH. La imagen del interior muestra los espectros de reflexión UV-Vis normalizados no reversibles de los agregados en forma de lámina. Se incluye una imagen BAM representativa de la monocapa de Langmuir de OPESH a 30 mN/m. (c) Diagrama tridimensional de las isotermas superficiales frente a los espectros de reflexión UV-Vis normalizados de la monocapa OPESH/OPES-AuNP, al largo de dos ciclos de compresión-expansión. (d) Micrografías TEM de la transición de pequeños agregados (1 y 3) a AuCMs (2) que muestran la respuesta mecanosensible y reversible del sistema.

Los sucesivos ciclos de compresión-expansión de la mezcla de OPESH y OPES-AuNPs mostraron una histéresis insignificante, lo que demuestra el carácter reversible del proceso de auto-ensamblaje. El diagrama de distribución correspondiente de las intensidades de reflexión normalizadas en ciclos sucesivos muestra la reproducibilidad del proceso de auto-ensamblaje de las AuCMs (Figura R-5c). Al contrario, no se observa dicha reversibilidad para los ciclos análogos de compresión-expansión de OPESH puro (insertado en la Figura R-5b), lo que puede ser atribuido a fuertes interacciones intermoleculares. Las micrografías de TEM de las películas transferidas durante las etapas inicial y final de la primera compresión muestran la transición de pequeños agregados de AuNPs a AuCMs en forma de discos de aproximadamente 1-2  $\mu\text{m}$  de diámetro (Figuras R-5d), bastante similares a las obtenidas de forma espontánea.

En un segundo apartado del estudio, una combinación de simulaciones basadas en dinámica molecular y de dipolo extendido, y medidas experimentales de espectroscopia de reflexión UV-Vis *in situ* fue utilizada para determinar la disposición del OPESH a nivel molecular en las distintas estructuras ensambladas. Inicialmente, se consideró una orientación paralela del OPESH en dos configuraciones: la configuración I, desplazada, en la que las moléculas de OPESH son paralelas entre sí, y la configuración II, alternada, en la que las moléculas de OPESH presentan una configuración antiparalela. El espectro UV-Vis de los agregados en forma de lámina formados por OPESH en ausencia de AuNPs muestra un máximo de absorción a 333 nm, en excelente acuerdo con los datos calculados para una configuración desplazada. El empaquetamiento molecular de las unidades OPESH es significativamente diferente en presencia de AuNPs, donde la banda UV-Vis correspondiente a las moléculas OPESH se localizan a longitudes de 316 nm, independientemente del estado de agregación de AuNPs. En este caso, se requiere un desplazamiento intermolecular nulo en el modelo de dipolo extendido para obtener dicho valor de longitud de onda. Por tanto, la ausencia de desplazamiento intermolecular



sólo puede lograrse en la estructura supramolecular alternada, en la que las cadenas alquílicas apuntan alternativamente a lados opuestos.

Como última parte de este estudio, se exploró la respuesta mecanosensible de las AuCMs como matrices de atrapamiento y liberación de moléculas hidrofóbicas en la interfase aire/agua utilizando la técnica de espectroscopia de fluorescencia. Para ello, se seleccionaron fluoróforos con grupos fenilo para asegurar las interacciones supramoleculares del tipo  $\pi$ . Las AuCMs se prepararon bajo condiciones espontáneas en la interfase de una disolución altamente diluida del fluoróforo hidrófobo tipo BODIPY ( $1 \times 10^{-7}$  M). La emisión de color verde observada en las AuCMs tras excitarlas con luz azul confirma la capacidad de estas superestructuras para atrapar eficientemente las moléculas de BODIPY. Además, a través de estos experimentos se determinó la variación en la concentración de BODIPY en disolución, donde la constante de unión ( $K_b$ ), entre fluoróforo y AuCMs es de  $5,0 \times 10^5$  M<sup>-1</sup>, calculada mediante un modelo isotérmico de Langmuir a 25°C. Esto demuestra una alta afinidad de las AuCMs, comparado con sistemas interfaciales anfifílicos convencionales ( $K_b \approx 1-10 \times 10^3$  M<sup>-1</sup>), lo que pone de manifiesto el carácter supramolecular de las interacciones de unión.

En conclusión, se ha explotado el diseño racional de ligandos conjugados de tipo  $\pi$  para controlar reversiblemente el auto-ensamblaje jerárquico de AuNPs en conjuntos organizados que van desde pequeños agregados coloidales de oro hasta membranas en la interfase aire/agua. La formación de dichas superestructuras se ha conseguido por primera vez a través de un estímulo mecánico dinámico. Este enfoque ofrece una nueva metodología para obtener membranas coloidales mecanosensibles aplicando una presión superficial de aproximadamente 30 mN/m, que es equivalente a la presión de la membrana biológica. Por otra parte, las membranas coloidales obtenidas pueden actuar como depósitos de moléculas altamente hidrofóbicas con constantes de unión relativamente altas de una manera reversible, atrapando y liberando tales moléculas a demanda.

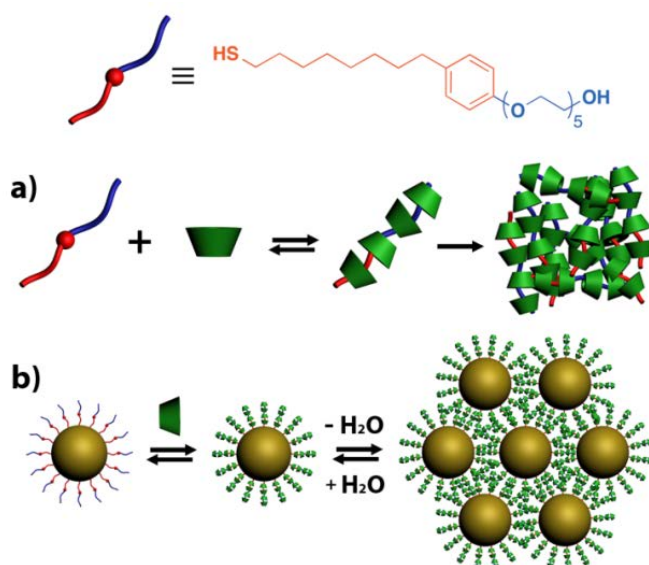
## Auto-ensamblaje de Nanoesferas de Oro en Supercristales Reversibles a través de Polirotaxanos

En los últimos años, la química supramolecular se ha centrado en la organización de sistemas moleculares en el estado sólido y/o en la interfase sólido-líquido, en analogía a las investigaciones realizadas previamente a nivel molecular en disolución, con el fin de desarrollar nuevos materiales funcionales. De forma particular, la organización de supramoléculas en la superficie de nanopartículas inorgánicas ha recibido mucha atención, con el objetivo de producir el auto-ensamblaje de nanoestructuras capaces de realizar funciones que no están presentes en sus componentes individuales.<sup>26</sup> Sin embargo, el control de auto-ensamblaje supramolecular para fabricar matrices de nanopartículas reversibles de gran tamaño, con disposiciones geométricas definidas, sigue siendo una tarea muy compleja.

Una de las familias más atractivas de supramoléculas debido a la sencillez en su síntesis química son los polirotaxanos de ciclodextrina (CD), en los que varios macrociclos de CD se encuentran atrapados directamente por un eje molecular, sin necesidad de grupos terminales voluminosos. Tras el primer estudio descrito sobre la preparación de un complejo sólido basado en un polirotaxano formado por unidades de  $\alpha$ -CD (unidades de seis  $\alpha$ -D-(+)-glucopiranosas, ver estructura química en el apéndice 3) y polietilenglicol, muchas de estas arquitecturas han sido sintetizadas usando diferentes tipos de CDs y polímeros.<sup>27</sup> En todos los casos, tanto las interacciones no covalentes (huésped-anfitrión) como los efectos cooperativos resultantes de una red de enlaces de hidrógeno entre los macrociclos contribuyen a la estabilidad general de los productos resultantes. En este contexto, el surfactante no iónico Igepal ha surgido como un excelente candidato para preparar estructuras sólidas de polirotaxanos auto-ensamblados en presencia de  $\alpha$ -CDs. En el presente estudio, se demuestra el uso de polirotaxanos de  $\alpha$ -CD para crear supercristales de nanopartículas de oro esféricas (AuNPs) estabilizados supramolecularmente, cuya cristalización sea reversible. Las supramoléculas se

prepararon en agua mediante la complejación de  $\alpha$ -CD con un nuevo surfactante Igepal sintetizado y modificado con un grupo tiol (IgeSH) (Esquema R-1). La elección del Igepal como agente de recubrimiento se basa en la alta tendencia que tiene para formar polirotaxanos con las CDs, además de sus excelentes propiedades anfífilas y luminiscentes.

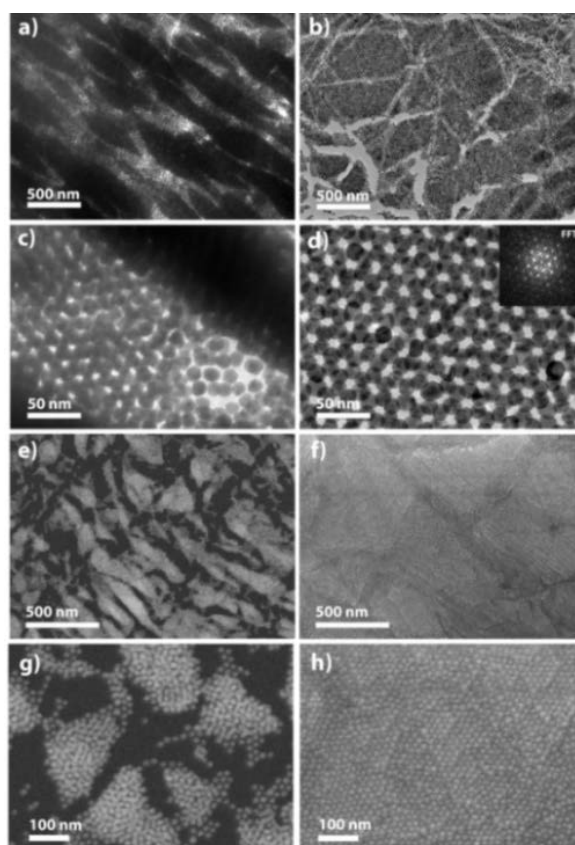
Para probar la capacidad de los polirotaxanos IgeSH:CD para dirigir el auto-ensamblaje de las AuNPs, hemos sintetizado nanoesferas estabilizadas con citrato (cit-AuNPs) de  $16,0 \pm 1,2$  nm de diámetro. Los iones citrato se reemplazaron fácilmente en agua por el IgeSH, debido a la alta afinidad de los grupos tiol por el oro. El espectro de absorción UV-Vis de las nanoesferas estabilizadas con surfactante (IgeS-AuNPs) en disolución acuosa muestra tres bandas con máximos a longitudes de 220 y 278 nm, que corresponden a las bandas de absorción del Igepal, y a la banda LSPR (524 nm), asociada a las AuNPs.



**Esquema R-1.** Estructura química del surfactante no iónico IgeSH (las regiones hidrofóbica e hidrofílica se han representado con color rojo y azul, respectivamente). (a) Preparación de la red sólida amorfa (no reversible) de polirotaxanos con IgeSH y  $\alpha$ -CD (verde) en agua. (b) Preparación de los supercristales reversibles de AuNPs esféricas estabilizadas con polirotaxanos (PoliRot-AuNPs) en agua.

Aunque no se ha observado ensamblaje de PoliRot-AuNPs en disolución, incluso a concentraciones relativamente altas de AuNPs ( $\sim 10^{-6}$  M) y  $\alpha$ -CD

(solubilidad  $\sim 1,5 \times 10^{-1}$  M), si se han obtenido de forma espontánea capas autoensambladas de AuNPs por simple evaporación sobre rejillas de TEM (Figura R-6). En el caso de muestras de IgeS-AuNPs en ausencia de  $\alpha$ -CD (Figuras R-6a,c), se observaron bajos grados de ordenamiento. La figura R-6d muestra una imagen de TEM de una bicapa altamente ordenada de PoliRot-AuNPs, formando un empaquetamiento hexagonal, dónde los huecos octaédricos y tetraédricos del supercristal pueden ser perfectamente distinguidos. La transformada de Fourier (FFT) de la imagen confirma una geometría hexagonal, con una distancia media entre centros vecinos de PoliRot-AuNP de 19.2 nm, y una distancia mínima entre PoliRot-AuNPs de 3.2 nm.



**Figura R-6.** Micrografías TEM de (a) IgeS-AuNPs y (b) PoliRot-AuNPs ( $[NP] = 4 \times 10^{-7}$  M). (c) Micrografía que muestra el empaquetamiento de IgeS-AuNPs. (d) Micrografía que muestra una bicapa empaquetada hexagonalmente de PoliRot-AuNPs y la FFT correspondiente de la imagen (interior). Micrografías de microscopía electrónica de barrido (SEM) de (e) IgeS-AuNPs y (f) PoliRot-AuNPs. (g) Ampliación de (e) que muestra el empaquetamiento del IgeS-AuNPs. (h) Ampliación de (f) que muestra una bicapa empaquetada hexagonalmente.

Considerando las interacciones no covalentes de los procesos supramoleculares, se investigó la reversibilidad de dichas interacciones entre las AuNPs de los supercristales. No se observó reversibilidad de las deposiciones obtenidas con cit-AuNPs coloidales por redispersión en agua. Sin embargo, la redispersión de las superestructuras IgeS-AuNPs y PoliRot-AuNPs condujo a una recuperación parcial y completa de las soluciones coloidales iniciales, respectivamente. La reversibilidad total de las interacciones entre los polirotaxanos de PoliRot-AuNPs se ha confirmado por espectroscopía de absorción UV-Vis. Curiosamente, teniendo en cuenta la naturaleza no iónica tanto del IgeSH como de la  $\alpha$ -CD, se han obtenido valores negativos y relativamente altos del potencial zeta para las disoluciones de IgeS-AuNPs ( $\xi = -17$  mV) y PoliRot-AuNPs ( $\xi = -15$  mV). Estos valores están en buena concordancia con los valores de potencial zeta de nanoesferas de oro recubiertas con polímeros de polietilenglicol de bajo peso molecular. Esto sugiere que la estabilidad de los PoliRot-AuNPs dentro de los supercristales no sólo es impulsada por interacciones repulsivas no iónicas entre polirotaxanos, de acuerdo con el proceso hidrofóbico que implica la encapsulación de CDs, sino también a una sustancial repulsión electrostática entre nanocristales.

En resumen, la síntesis de AuNPs estabilizadas con polirotaxanos de CD abre el nuevo camino para un método de preparación de supercristales plasmónicos reutilizables, con aplicaciones potenciales en nanoplasmónica. Por lo tanto, anticipamos el uso de tales polirotaxanos como poderosos ligandos supramoleculares, donde la separación de los nanocristales dentro de los supercristales puede ser ajustada por la longitud del eje molecular y el número de macrociclos. Otra aplicación particularmente prometedora para esta nueva clase de auto-ensamblaje de AuNPs puede incluir la preparación de nanoestructuras con nanocápsulas orgánicas huecas ensambladas por polimerización de CD alrededor del núcleo metálico.

## Progresos Recientes en Nanopartículas Metálicas Coloidales como Amplificadores de Señal en Nanodetección

Las nanopartículas (NPs) coloidales de metales presentan propiedades ópticas y electromagnéticas muy especiales en la escala nanométrica. Tales propiedades, denominadas plasmónicas, han sido estudio de un campo de investigación que abarca desde la comprensión de los mecanismos de formación y propiedades de NPs hasta el objetivo final de desarrollar nuevos materiales con aplicaciones en la vida real.<sup>28</sup> Entre ellas, el diseño racional de nuevos sustratos nanoplasmónicos, que reúnan las propiedades necesarias para que puedan ser considerados como un sensor eficaz, y que por tanto puedan tener aplicaciones tecnológicas, aún es crítico. Varios factores como la composición, la forma, el tamaño, la interacción entre NPs o la estabilidad definen la calidad final del nanomaterial como una plataforma de detección.<sup>29</sup> En este contexto, revisamos los últimos y más prometedores sistemas de sensores basados en nanoplasmónica en cuatro áreas diferenciadas, basadas en la técnica de detección (espectroscopías de superficie aumentada), como son las plataformas basadas en LSPR, SERS, SEIRA y SEF.

Las espectroscopías aumentadas de Raman (SERS) absorción en el infrarrojo (SEIRA) y de fluorescencia (SEF) son tres de las técnicas analíticas más poderosas para la identificación de especies moleculares a bajas concentraciones, con las que se puede incluso llegar a la detección de una única molécula.<sup>30</sup> El aumento de la señal espectroscópica se consigue principalmente mediante el acoplamiento de los modos vibracionales y electrónicos del analito con el LSPR generado en la superficie de las NPs, mediante excitación con luz de energía apropiada. Además, se ha encontrado que los agregados de NPs metálicas proporcionan un aumento mucho mayor debido al acoplamiento entre los LSPRs de partículas adyacentes, lo que resulta en campos electromagnéticos significativamente más elevados denominados puntos calientes.<sup>31</sup> En conjunto, estas características hacen que los agregados de NPs sean estructuras plasmónicas extremadamente interesantes para la detección de

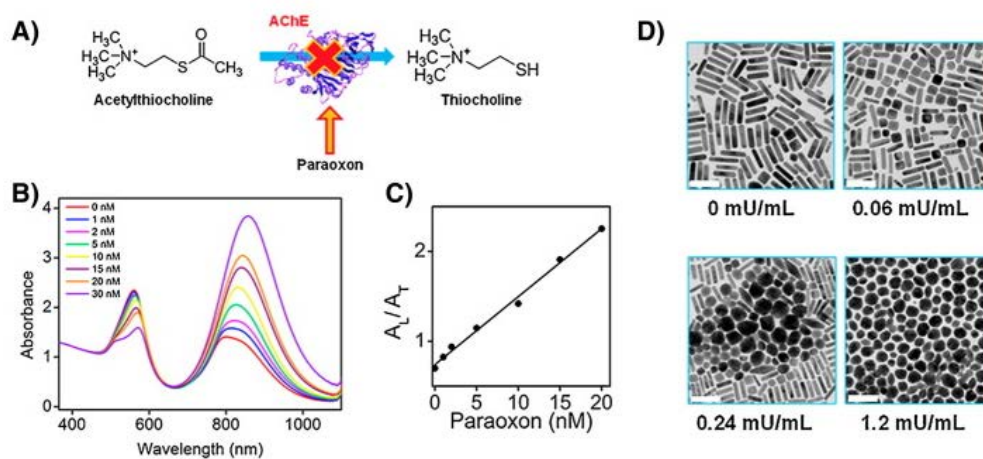
analitos químicos, tales como contaminantes con impactos ambientales y biomédicos.

En la mayoría de los casos, para hacer uso de las NPs en detección aplicada, es esencial el acceso a muestras de NPs coloidales de gran estabilidad en disolución. Mediante una selección cuidadosa de los procesos de funcionalización de la superficie, con sílice, polímeros, y proteínas, se pueden dispersar NPs tanto en medios acuosos cuanto orgánicos.<sup>32</sup> Otros ejemplos tales como la funcionalización de la superficie de NPs con receptores supramoleculares y anticuerpos han abierto la posibilidad de detectar analitos huésped a través de interacciones muy específicas.<sup>33</sup>

**Nanosensores Plasmónicos basados en LSPR.** La posición de la banda LSPR de NPs metálicas es sensible a la constante dieléctrica del medio. Por otra parte, la banda LSPR puede registrar desplazamientos de muy pocos nanómetros en presencia de analitos adsorbidos a bajas concentraciones, siendo este desplazamiento el factor limitante de la sensibilidad de los nanosensores basados en LSPR. Con el fin de superar dicha limitación, varios grupos han demostrado que moléculas cuyas bandas de absorción coinciden con la banda LSPR de AuNPs, en la región roja del espectro visible, muestran mayores desplazamientos plasmónicos. Este efecto de acoplamiento de resonancia ha sido demostrado por Wang y sus colaboradores, los cuáles han fabricado nanoestructuras híbridas de colorantes que absorben en el rojo y AuNPs en forma de varilla a través de interacciones electrostáticas.<sup>34</sup> De esta forma observaron cambios plasmónicos de hasta 100 nm. Es llamativo, que apenas una máximo de 3 nm de distancia entre los colorantes y la superficie de las AuNP provoque cambios tan significativos del LSPR.

Con un enfoque alternativo, los cambios de la forma del LSPR durante una reacción química se han utilizado para determinar la concentración de analitos en disolución. Por ejemplo, Liz-Marzán y sus colaboradores han desarrollado un nuevo ensayo colorimétrico para la detección de concentraciones subnanomolares de inhibidores bioquímicos.<sup>35</sup> En este método, la enzima

acetilcolinesterasa descompone la acetiltiocolina generando un derivado tiolado, que a su vez, controla el crecimiento de AuNPs en forma de varilla. Por lo tanto, en diferentes condiciones experimentales de la reacción enzimática, la disolución final contenía una mezcla de AuNPs con diferentes morfologías (varillas, cubos y esferas) y poblaciones relativas controlables, afectando fuertemente a la respuesta óptica global del sistema. Esto ha permitido, mediante el análisis del LSPR de las AuNPs obtener la concentración de paraoxón (un inhibidor molecular de la acetilcolinesterasa que se utiliza en el gas nervioso) en el régimen nanomolar (Figura R-7).



**Figura R-7.** (A) Esquema que muestra la inhibición de la actividad de la acetilcolinesterasa por paraoxon. (B) Espectro de absorbancia de los productos de crecimiento formados en presencia del acetiltiocolina ( $0,05 \mu\text{M}$ ), de acetilcolinesterasa ( $0,5 \mu\text{U mL}^{-1}$ ) y diferentes concentraciones de paraoxon. (C) Variación de la relación entre los máximos del LSPR en función de la concentración de paraoxon. (D) Imágenes TEM de AuNPs que muestran las morfologías sintonizadas mediante la adición de tiocolina a diferentes concentraciones. Adaptada de la referencia 35.

La investigación para la detección nanoplasmonica en sustratos está enfocada principalmente a nivel de una única partícula, mediante el uso de la microscopia de campo oscuro. En esta técnica, la gran eficiencia de dispersión de la luz por el LSPR proporciona la visualización de una sola NP (de hasta aproximadamente 10 nm en diámetro). En este sentido, Sönnichsen y colaboradores han detectado una única proteína sin necesidad de ser marcada



con una resolución temporal extremadamente alta, lo que permite monitorizar la evolución dinámica de dichos sistemas biológicos.<sup>36</sup> En un diseño avanzado, el mismo grupo ha desarrollado un sensor multiplexado eficiente y rentable para proteínas, en el que la posición LSPR de las AuNPs en forma de varilla responde específicamente a diferentes proteínas. La eficiencia de este método original radica en su sensibilidad nanomolar, la capacidad de reciclado de sensores y el potencial de escalar a cientos de otras especies.

NPs recubiertas con biomoléculas racionalmente seleccionadas se han empleado para construir agregados plasmónicos organizados, mostrando respuestas colectivas ópticas y sensoriales perceptivas basadas en LSPR. Natan y sus colaboradores han preparado multicapas 3D de AuNPs y NPs de plata (AgNPs) que presentan alta sensibilidad bajo inmersión en disolventes con diferentes tipos de analitos, los cuales dependen de la composición, y del número de capas de NPs.<sup>37</sup> De modo similar, Ye y sus colaboradores han fabricado estructuras con multicapas (3D) de AuNPs auto-ensambladas mediante la deposición alternada entre ligandos bifuncionales y NPs, mejorando así la sensibilidad del índice de refracción del sensor LSPR.<sup>38</sup> Las investigaciones en esta línea muestran que el número de ciclos de deposición de AuNP tiene un fuerte efecto sobre la sensibilidad del sensor, y que estructuras obtenidas a partir de cuatro deposiciones de capas de NPs exhiben un máximo de sensibilidad con respecto al índice de refracción del medio alrededor.

**Nanosensores plasmónicos basados en SERS y SEIRA.** Poco después del descubrimiento del SERS (espectroscopia Raman aumentada por superficie) a principios de los años setenta, se desarrolló la técnica SEIRA (espectroscopia de absorción infrarroja aumentada por superficie). En términos generales, es posible atribuir a SEIRA mecanismos similares al SERS, siendo ambas técnicas complementarias.<sup>39</sup> La principal diferencia entre ambos fenómenos es que el SERS ocurre cuando hay un cambio en la polarizabilidad de la molécula cerca de la superficie de la NP, mientras que en SEIRA se produce un cambio en el momento dipolar perpendicular a la superficie del sustrato. En general, los

factores de aumento de señal que teóricamente se pueden alcanzar con SEIRA ( $10^1$ - $10^4$ ) son considerablemente inferiores a los obtenidos por SERS ( $10^8$ - $10^{14}$ ).

Uno de los mayores obstáculos de la detección del SERS en una disolución coloidal es su limitada sensibilidad, que está directamente relacionada con la incapacidad de formar puntos calientes estables y reproducibles. Estrategias como la acumulación óptica mediante el uso de materiales híbridos, ensamblajes de NPs en las interfases líquido-líquido o líquido-aire, o técnicas de microfluídica, han demostrado ser efectivas para resolver dicho problema. La química supramolecular ha probado ser eficaz para la detección de pequeñas moléculas o analitos con baja afinidad por superficies plasmónicas por medio del SERS. Por ejemplo, el grupo de investigación de Baumberg utilizó el macrociclo cucurbit[n]uril para formar espaciadores subnanométricos de forma controlada entre AuNPs.<sup>40</sup> A través de este método, no sólo la cavidad del macrociclo atrapa pequeñas moléculas, sino también que los puntos calientes creados son altamente controlables en términos de distancia interpartícula y reproducibilidad. La creación de puntos calientes por este método abre nuevas posibilidades para los sustratos SERS en líquidos.

En sustratos, el uso de NPs coloidales para la preparación de sensores SERS requiere algunos requisitos metodológicos. Específicamente, el analito de interés debe de tener afinidad por la plataforma de detección plasmónica, y de esta manera la señal Raman será mejorada de manera efectiva. Sin embargo, una amplia gama de grupos funcionales moleculares muestra una baja afinidad hacia las superficies del oro o plata, que son los metales más comúnmente usados en los sustratos SERS. Además, la sensibilidad alcanzada con el SERS puede no ser suficientemente alta para la detección a concentraciones traza de analitos. Aunque las estrategias de atrapamiento por polímeros, la acumulación óptica y la detección basada en microfluídica han evolucionado notablemente en los últimos años, la ingeniería de sensores juega un papel clave en el diseño de sustratos SERS más flexibles, funcionales y ultra-sensibles.

Recientemente, el uso de los supercristales plasmónicos como sustratos SERS es un área de investigación en expansión. Gómez-Graña y colaboradores

han diseñado un sustrato basado en supercristales de AgNPs en forma de varillas ordenados verticalmente.<sup>41</sup> A través del control de las moléculas alrededor de las nanopartículas, se utilizó como un nuevo sustrato SERS ópticamente activo y ultrasensible para la detección de analitos. Dentro del mismo tipo de sustratos, NPs depositadas con diferentes morfologías han sido exploradas con el objetivo de una superficie de mejora homogénea. El control de las propiedades de ensamblaje, distancias interpartícula, composición, tamaño, forma o cobertura de área superficial determina las propiedades finales del sustrato sólido. Específicamente, un trabajo de Hamon y colaboradores presentó un nuevo procedimiento patrón en una sola etapa con el que se alcanzan los aspectos críticos del sustrato mencionados anteriormente.<sup>42</sup> A través de este método, los auto-ensamblajes homogéneos de AuNPs en forma de varilla en el área de escala milimétrica fueron posibles debido al confinamiento de las suspensiones coloidales en cavidades micrométricas tras evaporación controlada del disolvente.

Los sustratos SEIRA se producen principalmente mediante técnicas litográficas.<sup>43</sup> Uno de los primeros informes sobre SEIRA basados en NPs coloidales incluyó una comparación sobre la eficiencia de las películas de oro frente a coloides de oro para la detección de complejos de anticuerpo/antígeno de Salmonella. Los autores desarrollaron un método combinado basado en la filtración de coloides de oro en membranas de polietileno tras la fijación de los anticuerpos específicos. Aunque no haya una extensa bibliografía sobre SEIRA, la mayoría de los trabajos se basan en interacciones proteína-proteína, que generan cambios sutiles en la conformación y la orientación a la superficie y que se traduce en cambios espectrales. En esta línea, Polissiou y colaboradores han utilizado películas de oro coloidal para estudiar los espectros de la proteína A y los cambios tras su conjugación con la inmunoglobulina G. Además, Halas y colaboradores han hecho un notable progreso en el estudio fundamental, desarrollo y detección de sustratos sólidos SEIRA.

**Nanosensores Plasmónicos basados en SEF.** Las técnicas basadas en la fluorescencia, herramienta clave para la clasificación y detección de analitos en química analítica, biotecnología y bioquímica, también han sido aplicadas en nanoplasmónica.<sup>44</sup> En general, la interacción entre fluoróforos y NPs metálicas puede desactivar o aumentar la fluorescencia, pero concretamente, parámetros tales como la distancia entre el fluoróforo y el metal, la naturaleza y geometría del material plasmónico (por ejemplo, tamaño y forma), y la superposición espectral y orientación del fluoróforo, gobiernan las características finales de la respuesta radiativa de los colorantes. Generalmente, el SEF (espectroscopia de fluorescencia aumentada por superficie) puede ocurrir a distancias entre 5 y 30 nm, pero a distancias más cortas la fluorescencia se ve fuertemente desactivada. El aumento de la fluorescencia es más eficaz cuando la emisión del fluoróforo se desplaza hacia el rojo con respecto al espectro de la banda LSPR, y se suele desactivar si hay desplazamiento hacia al azul.

Existen pocos ejemplos de plataformas SEF para el análisis en disolución. Sin embargo, podrían tener amplias aplicaciones en las ciencias de la vida y de la química analítica. El impacto de las mejoras en este campo podría ser notable ya que las sondas fluorescentes son las principales herramientas para la imagen en tiempo real de las células vivas, pudiendo las NPs aumentar su rendimiento cuántico y fotoestabilidad. Para NPs metálicas muy pequeñas, la absorción es mayor que la dispersión de luz, y la desactivación de la emisión del fluoróforo predominará sobre su aumento. Por lo tanto, se prefieren NPs y geometrías más grandes con secciones transversales de mayor dispersión. Dicha prueba de concepto se demostró a través de la interacción entre AgNPs y la estreptavidina marcada con un fluoróforo, observándose aumentos de rendimiento cuántico de aproximadamente 4. Las principales limitaciones de dicho sensor fueron la polidispersidad y la forma no homogénea de las AgNPs, el espesor irregular de la capa de sílice, y la aglomeración no controlada y no reversible de las NPs tras la unión con la estreptavidina. Estos factores producen baja sensibilidad y reproducibilidad.

Las plataformas SEF más avanzadas para la detección de una sola molécula y el diseño de sensores altamente eficientes se han construido fundamentalmente sobre sustratos sólidos. En este caso, vale la pena distinguir entre tres tipos diferentes de sustratos: i) NPs metálicas unidas o depositadas sobre superficies inertes; ii) películas delgadas metálicas con espesor en la nanoescala; y iii) nanoantenas fabricadas litográficamente con la formación controlada de puntos calientes. Los tres tipos de sustratos producen diferentes interacciones entre los fluoróforos y los metales, además todos pueden ser utilizados para la detección. Normalmente, las películas delgadas no modifican dramáticamente la duración y la intensidad de emisión de los fluoróforos. Por el contrario, los sustratos litográficamente preparados pueden desencadenar los mayores factores de mejora, pero no son muy rentables desde un punto de vista económico.<sup>45</sup>

Las películas formadas por AuNPs y AgNPs son las plataformas SEF más ampliamente aplicadas para la detección. La formación de islas de NPs sobre un sustrato dieléctrico concentra campos ópticos debido al LSPR de las mismas y la presencia de puntos calientes que conducen a enormes amplificaciones de campo y fluorescencia (~100 veces), que son más altos que los obtenidos con NPs en disolución. Un ejemplo notable son las micromatrices de proteínas preparadas en películas de AuNPs. En este caso, la configuración de los sensores basados en anticuerpos (Ab) que se unen específicamente a proteínas pequeñas (por ejemplo, citoquinas) y biomarcadores de proteínas más grandes (por ejemplo, 1° humano Ab) son empleados para la detección de defectos en el sistema inmune y diabetes tipo 1, respectivamente. Este enfoque permite una mayor sensibilidad y especificidad que el ensayo ELISA.<sup>46</sup>

Como conclusión, en esta revisión, hemos analizado el potencial de utilizar NPs coloidales de metales como plataformas de detección avanzadas, tanto en disolución como en sustratos sólidos, aplicadas a espectroscopias de superficie aumentada. La investigación en dicho campo ha logrado el diseño de sensores nanoplasmonicos de alta calidad que muestran límites de detección impresionantemente bajos, al tiempo que son reproducibles, fiables, portátiles y

reutilizables. De acuerdo con este último, algunas de las plataformas de detección coloidales descritas en esta revisión podrían traducirse en productos o tecnologías para aplicaciones industriales futuras. Finalmente, sigue siendo difícil unir todas las propiedades mencionadas en la misma plataforma, y normalmente un equilibrio entre sensibilidad y selectividad es muy difícil de conseguir. En nuestra opinión, a pesar de los prometedores trabajos aquí discutidos, el desarrollo de una plataforma universal basada en NPs coloidales de metales seguirá siendo un desafío significativo en los próximos años.

## Conclusiones

Este trabajo se ha centrado en el desarrollo de nuevas estrategias supramoleculares para fabricar estructuras auto-ensambladas de AuNPs en disolución, en interfases y sobre sustratos sólidos. Por primera vez, se ha demostrado de forma cuantitativa el mecanismo de ensamblaje cooperativo de AuNPs en disolución a través del uso de polímeros supramoleculares. Igualmente, se ha desarrollado una nueva aproximación para obtener ensamblajes supramoleculares de AuNPs, a través de la formación de membranas coloidales, en la interfase aire/agua. Estas membranas presentan propiedades ópticas y mecanosensibles que les permiten interactuar con moléculas hidrofóbicas de forma reversible. Por otra parte, se ha propuesto la formación de polirotaxanos de ciclodextrinas en la superficie de AuNPs como una vía para formar estructuras cristalinas con un empaquetamiento hexagonal, una vez depositadas en sustratos. Además, estos supercristales han podido ser redispersados en agua, manteniéndose sus propiedades plasmónicas iniciales. Finalmente, se han revisados diversos ejemplos de sensores plasmónicos basados en el ensamblaje de nanopartículas plasmónicas que se han utilizado en la detección de analitos a través de espectroscopía UV-vis y de espectroscopías de superficie aumentada, como son SERS, SEIRA y SEF.

## Aportaciones Fundamentales de la Tesis Doctoral

El aspecto fundamental de la tesis ha sido el estudio experimental de la síntesis y funcionalización de AuNPs, así como de su auto-ensamblaje mediante el uso de moléculas supramoleculares en medios acuosos y orgánicos, e interfases.

Hemos sintetizado y estabilizado AuNPs mediante el uso de un polímero supramolecular conjugado (OPESH) en medio orgánico. Las muestras fueron analizadas por diversas técnicas espectroscópicas dependientes de la temperatura, dónde se observaron distintos niveles de organización jerárquica. La molécula OPESH puede formar tanto micelas (a baja concentración) como estructuras de nanotubos (a alta concentración) a través de un mecanismo isodésmico y cooperativo, respectivamente. Bajo condiciones específicas, el mecanismo cooperativo presentado por las moléculas de OPESH se transfirió a las AuNPs de forma eficiente, permitiendo así el auto-ensamblaje reversible de dichos nanocristales. Estas estructuras ensambladas fueron caracterizadas por microscopias TEM, SEM y AFM. Se observó que pequeños agregados de AuNPs se formaban a temperatura ambiente, lo que puede ser considerado como un inicio del proceso de nucleación, mientras que a mayores temperaturas se obtuvieron estructuras de láminas supramoleculares en las cuales la AuNPs aparecen embebidas (proceso de elongación). Estos resultados ofrecen, por primera vez, un análisis termodinámico, y por tanto cuantitativo, de los niveles jerárquicos de agregación de AuNPs, dando información del mecanismo cooperativo del auto-ensamblaje.

A continuación, se ha demostrado que el proceso de auto-ensamblaje de AuNPs recubiertas por un polímero conjugado supramolecular, modificado respecto al estudio anterior, puede ser inducido a través de estímulos mecánicos en la interfase aire/agua. Utilizando la técnica de Langmuir, se observó la formación de agregados de AuNPs a bajos valores de presiones interfaciales. Sin embargo, la compresión de la interfase induce la formación de membranas coloidales de oro (AuCMs), en forma de discos y con diámetros de

pocos micrómetros. La reversibilidad de este sistema se analizó *in situ* mediante las técnicas de espectroscopias UV-Vis y BAM. Simulaciones computacionales basadas en dinámica molecular han elucidado la disposición supramolecular de estos sistemas. Finalmente, la funcionalidad mecanosensible de las AuCMs fue probada mediante una disolución diluida de moléculas hidrofóbicas a través de experimentos cíclicos de compresión-expansión. Con ello se demostró el potencial de las membranas como sistemas de atrapamiento/liberación de moléculas contaminantes de forma reversible. Esta nueva metodología para la fabricación de AuCMs tiene un gran potencial para ser explotado con una amplia gama de nanopartículas en distintas plataformas de detección.

Posteriormente, la síntesis y estabilización de las AuNPs con el surfactante no iónico IgeSH fue estudiada en un disolvente acuoso y en sustratos. Para ello, moléculas de  $\alpha$ -CD fueron introducidas con el objetivo de formar polirotaxanos en la superficie de los nanocristales. Estos sistemas, en presencia y ausencia de  $\alpha$ -CD, han sido caracterizados por las técnicas de espectroscopias de UV-Vis, fluorescencia y  $^1\text{H-NMR}$ . Diferentes muestras fueron depositadas en sustratos y preparadas por evaporación del disolvente. Como resultado, los sistemas que contienen  $\alpha$ -CD presentaron una mejor y más uniforme deposición, en comparación con las muestras en ausencia del macrociclo. Medidas complementarias de microscopía TEM y SEM nos han permitido extraer una descripción de las capas de AuNPs depositadas en el sustratos, dónde se observa la formación de estructuras cristalinas organizadas en un empaquetamiento hexagonal. Las muestras depositadas fueron completamente recuperadas por redisolución en agua, manteniéndose sus propiedades plasmónicas iniciales. En este estudio, se ha demostrado la formación de supercristales plasmónicos mediante el uso de polirotaxanos de manera totalmente reversible. Estos sistemas, abren nuevas vías para el diseño de materiales reutilizables con propiedades plasmónicas.

Finalmente, se ha revisado de forma crítica los ejemplos más relevantes de sensores basados en el ensamblaje de AuNPs, en cuatro áreas diferenciadas, referidas a las distintas técnicas de detección por espectroscopia de superficie



mejorada, a saber LSPR, SERS, SEIRA y SEF. Estos estudios muestran diferentes enfoques de combinación y mejora de la compatibilidad entre el analito y las AuNPs, tanto en disolución cuanto en sustratos. En primer lugar, el efecto del material, la forma y el tamaño de las nanopartículas son puntos críticos. Las AuNPs y AgNPs son los nanocristales más utilizados para la detección debido a sus propiedades plasmónicas óptimas. Sus bandas LSPRs son ajustables a lo largo del espectro UV-Vis e incluso en el intervalo espectral NIR. La funcionalización de las partículas influye directamente en la fuerza del enlace entre el analito y la superficie del sensor, lo que es clave para el desarrollo de sensores altamente sensibles y específicos con aplicaciones prácticas. En cuanto a las técnicas, la mejora de la señal por SERS ha logrado resultados sobresalientes, tanto en disolución cuanto en sustrato, mientras que el método SEIRA se aplica principalmente a películas delgadas. Las plataformas de detección basadas en SEF son atractivas para la detección analítica, sin embargo muchos parámetros aún no están bajo control, lo que puede afectar de forma negativa a la emisión de fluorescencia.

## Referencias

1. X. Wang, J. Zhuang, Q. Peng, Y. Li, *Nature* **437**, 121-124 (2005).
2. E. Roduner, *Chem. Soc. Rev.* **35**, 583-592 (2006).
3. G. M. Whitesides, B. Grzybowski, *Science* **295**, 2418-2421 (2002).
4. A. Guerrero-Martínez, M. Grzelczak, L. M. Liz-Marzán, *ACS Nano* **6**, 3655-3662 (2012).
5. J. M. Lehn, *Angew. Chem. Int. Ed.* **27**, 89-112 (1988).
6. K. M. Mayer, J. H. Hafner, *Chem. Rev.* **111**, 3828-3857 (2011).
7. L. M. Liz-Marzán, *Mat. Today* **7**, 26-31 (2004).
8. M. R. Langille, M. L. Personick, C. A. Mirkin, *Angew. Chem., Int. Ed.* **52**, 13910-13940 (2013).
9. J. Turkevitch, P. C. Stevenson, J. Hillier, *Discuss. Faraday Soc.* **11**, 56 (1951).
10. S. Mourdikoudis, L. M. Liz-Marzán, *Chem. Matter.* **25**, 1465-1476 (2013).
11. L. Xu, H. Kuang, L. Wang, C. Xu, *J. Mater. Chem.* **21**, 16759-16782 (2011).
12. T. A. Taton, R. C. Mucic, C. A. Mirkin, R. L. Letsinger, *J. Am. Chem. Soc.* **122**, 6305-6306 (2000).
13. F. A. Aldaye, H. F. Sleiman, *J. Am. Chem. Soc.* **129**, 4130-4131 (2007).
14. K. Lee, Y. Cui, L. P. Lee, J. Irudayaraj, *Nat. Nanotechnol.* **9**, 474-480 (2014).
15. V. Montes-García, J. Pérez-Juste, I. Pastoriza-Santos, L. M. Liz-Marzán, *Chem. Eur. J.* **20**, 10874-10883 (2014).
16. R. A. Alvarez-Puebla, A. Agarwal, P. Manna, B. P. Khanal, P. Aldeanueva-Potel, E. Carbó-Argibay, N. Pazos-Pérez, L. Vigderman, E. R. Zubarev, N. A. Kotov, L. M. Liz-Marzán, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **108**, 8157-8161 (2011).
17. B. M. Reinhard, M. Siu, H. Agarwal, A. P. Alivisatos, J. Liphardt, *Nano Lett.* **5**, 2246-2252 (2005).
18. E. V. Shevchenko, D. V. Talapin, N. A. Kotov, S. O'Brien, C. B. Murray, *Nature* **439**, 55-59 (2006).

19. K. Rafal, K. J. M. Bishop, B. A. Grzybowski, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **104**, 10305-10309 (2007).
20. J. R. Macfarlane, B. Lee, M. R. Jones, N. Harris, G. C. Schatz, C. A. Mirkin, *Science* **334**, 204-208 (2011).
21. S. Srivastava, A. Santos, K. Critchley, K. S. Kim, P. Podsiadlo, K. Sun, J. Lee, C. Xu, G. D. Lilly, S. C. Glotzer, N. A. Kotov, *Science* **327**, 1355-1359 (2010).
22. W. Cheng, M. J. Campolongo, J. J. Cha, S. J. Tan, C. C. Umbach, D. A. Muller, D. Luo, *Nat. Mater.* **8**, 519-525 (2009).
23. A. J. Maarkvort, H. M. M. Ten Eikelder, P. J. J. Hilbers, T. F. A. De Greef, E. W. Meijer, *Nat. Commun.* **2**, 509-517 (2011).
24. J. A. Fan, C. Wu, K. Bao, J. Bao, R. Bardhan, N. J. Halas, V. N. Manoharan, P. Nordlander, G. Shvets, F. Capasso, *Science* **328**, 1135-1138 (2010).
25. E. V. Shevchenko, D. V. Talapin, N. A. Kotov, S. O'Brien, C. B. Murray, *Nature* **439**, 55-59 (2006).
26. S. Srivastava, A. Santos, K. Critchley, K. S. Kim, P. Podsiadlo, K. Sun, J. Lee, C. Xu, G. D. Lilly, S. C. Glotzer, N. A. Kotov, *Science* **327**, 1355-1359 (2010).
27. A. Harada, M. Kamachi, *Macromolecules* **23**, 2821-2823 (1990).
28. R. Álvarez-Puebla, L. M. Liz-Marzán, F. G. García de Abajo, *J. Phys. Chem. Lett.* **1**, 2428-2434 (2010).
29. B. Nikoobakht, M. A. El-Sayed, *Chem. Mater.* **15**, 1957-1962 (2003).
30. R. Aroca, *John Wiley & Sons* (2006).
31. M. Moskovits, *Nature* **469**, 307-308 (2011).
32. M. Chanana, P. Rivera-Gil, M. A. Correa-Duarte, L. M. Liz-Marzán, W. J. Parak, *Angew. Chem., Int. Ed.* **52**, 4179-4183 (2013).
33. S. Abalde-Cela, J. M. Hermida-Ramón, P. Contreras-Carballada, L. De Cola, A. Guerrero-Martínez, R. A. Álvarez-Puebla, *et al. Chem. Phys. Chem.* **12**, 1529-1535 (2011).
34. W. Ni, Z. Yang, H. Chen, L. Li, J. Wang, *J. Am. Chem. Soc.* **130**, 6692-6693 (2008).
35. M. Coronado-Puchau, L. Saa, M. Grzelczak, V. Pavlov, L. M. Liz-Marzán, *Nano Today* **8**, 461-468 (2013).
36. I. Ament, J. Prasad, A. Henkel, S. Schmachtel, C. Sönnichsen, *Nano Lett.* **12**, 1092-1095 (2012).
37. M. D. Musick, C. D. Keating, L. A. Lyon, S. L. Botsko, D. J. Pena, W. D. Holliway, *et al. Chem. Mater.* **12**, 2869-2881 (2000).
38. J. Ye, K. Bonroy, D. Nelis, F. Frederix, J. D'Haen, G. Maes, *et al. Colloids Surf. A* **321**, 313-317 (2008).
39. M. Osawa, *Top. Appl. Phys.* **81**, 163-87 (2001).
40. R. W. Taylor, T. C. Lee, O. A. Scherman, R. Esteban, J. Aizpurua, F. M. Huang *et al. ACS Nano* **5**, 3878-3887 (2011).
41. P. Aldeanueva-Potel, E. Carbó-Argibay, N. Pazos-Pérez, S. Barbosa, I. Pastoriza-Santos, R. A. Álvarez-Puebla, *et al. ChemPhysChem* **13**, 2561-2565 (2012).
42. C. Hamon, S. Novikov, L. Scarabelli, L. Basabe-Desmonts, L. M. Liz-Marzán, *ACS Nano* **8**, 10694-10703 (2014).
43. S. Lal, N. K. Grady, J. Kundu, C. S. Levin, J. B. Lassiter, N. J. Halas, *Chem. Soc. Rev.* **37**, 898-911 (2008).
44. S. M. Marinakos, S. Chen, A. Chilkoti, *Anal. Chem.* **79**, 5278-5283 (2007).
45. B. Zhang, J. Price, G. Hong, S. M. Tabakman, H. Wang, J. A. Jarrell, *et al. Nano Res.* **6**, 113-120 (2013).
46. B. Zhang, R. B. Kumar, H. Dai, B. J. Feldman, *Nat. Med.* **20**, 948-953 (2014).



## List of Publications

1. **J. P. Coelho**, G. González-Rubio, A. Delices, J. O. Barcina, C. Salgado, D. Ávila, O. Peña-Rodríguez, G. Tardajos, A. Guerrero-Martínez, Polyrotaxane-Mediated Self-Assembly of Gold Nanospheres into Fully Reversible Supercrystals, *Angewandte Chemie International Edition*, **53**, 12751-12755 (2014).
2. **J. P. Coelho**, G. Tardajos, V. Stepanenko, A. Roedle, G. Fernández, A. Guerrero-Martínez, Cooperative Self-Assembly Transfer from Hierarchical Supramolecular Polymers to Gold Nanoparticles, *ACS-Nano*, **9**, 11241-11248 (2015).
3. S. Abalde-Cela, S. Carregal-Romero, **J. P. Coelho**, A. Guerrero-Martínez, Recent Progress on Colloidal Metal Nanoparticles as Signal Enhancers in Nanosensing, *Advances in Colloid and Interface Science*, **233**, 255-270 (2015).
4. **J. P. Coelho**, M. J. Mayoral, J. J. Giner-Casares, M. T. Martín-Romero, G. Tardajos, I. López-Montero, E. Sanz, D. Ávila-Brandé, L. Camacho, G. Fernández, A. Guerrero-Martínez, Mechanosensitive Gold Colloidal Membranes mediated by Supra-molecular Interfacial Self-Assembly, *Journal of American Chemical Society*, **139**, 1120-1128 (2017).

## Other Related Publications

5. H. Gavilán, **J. P. Coelho**, G. González-Rubio, A. Guerrero-Martínez, Thiol-Functionalized IGEPAL® Surfactants as Novel Fluorescent Ligands for the Silica Coating of Gold Nanoparticles, *Israel Journal of Chemistry*, **56**, 249-256 (2015).
6. J. Montaña-Priede, **J. P. Coelho**, A. Guerrero-Martínez, O. Peña Rodríguez, U. Pal, Fabrication of Monodispersed Au@SiO Nanoparticles with Highly Stable Silica Layers by Ultrasound Assisted Stöber Method, *The Journal of Physical Chemistry C*, under revision (2017).



## English Summary

Our contribution to tackle the transfer of information encoded by molecular subcomponents has focused on the design of a thiolated  $\pi$ -conjugated linking unit, whose cooperative self-assembly can be efficiently transferred from the molecular to gold nanoparticles (AuNPs). The transfer of supramolecular information by the linking  $\pi$ -system can take place when a cooperative nucleation-elongation mechanism is operative.

We report an artificial AuNP–discrete  $\pi$ -conjugated molecule hybrid system that mimics the mechanical behavior of biological membranes and is able to self-assemble into colloidal gold nanoclusters or membranes in a controlled and reversible fashion by changing the concentration or the mechanical force (pressure) applied. This has been achieved by rational design of a small  $\pi$ -conjugated thiolated molecule that controls, to a great extent, the hierarchy levels involved in AuNP clustering by enabling reversible, cooperative non-covalent ( $\pi$ - $\pi$ , solvophobic, and hydrogen bonding) interactions.

The use of a thiol-functionalized nonionic surfactant to stabilize spherical gold nanoparticles in water induces the spontaneous formation of polyrotaxanes at the nanoparticle surface in the presence of the macrocycle  $\alpha$ -cyclodextrin. Under controlled drying conditions the self-assembly between the surface supramolecules provides large and homogenous supercrystals with hexagonal close packing of nanoparticles. Once formed, the self-assembled supercrystals can be fully redispersable in water.

Colloidal metal nanoparticles present very special optical and electromagnetic properties at the nanoscale range. Plasmonic sensing is experiencing a rapid transition by taking advantage of the characteristic properties of colloidal metal nanoparticles. Herein, we review the latest and most promising state-of-the-art of nanoplasmonic-based sensors in four differentiated areas regarding the surface-enhanced spectroscopy detection technique being LSPR-, SERS- and SEIRA-, and SEF based platforms.

