



Université
de Toulouse

THÈSE

En vue de l'obtention du
DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par *l'Université de Toulouse III - Paul Sabatier*
Discipline ou spécialité : *CHIMIE MACROMOLÉCULAIRE ET SUPRAMOLÉCULAIRE*

Présentée et soutenue par *Kamil RAHME*

Le *13 Novembre 2008*

Titre : « *STABILISATION DE NANOPARTICULES DANS L'EAU PAR
DES COPOLYMÈRES A BLOCS* »

JURY

Mme E. BOURGEAT-LAMI, Directrice de recherche au CNRS, Lyon	Rapporteur
Mr J-F. BERRET, Directeur de recherche au CNRS, Paris 7	Rapporteur
Mme M. MAUZAC, Directrice de recherche au CNRS, Toulouse	Invitée
Mr M. DESTARAC, Professeur à l'Université Paul Sabatier, Toulouse	Examineur
Mme F. GAUFFRE, Directrice de recherche au CNRS, Toulouse	Directrice de thèse

École doctorale : Sciences de la matière
Unité de recherche : Laboratoire des Interactions Moléculaires et Réactivité Chimique
et Photochimique, UMR 5623

Université Paul Sabatier-Bât 2 R1-118 route de Narbonne, 31062 Toulouse cedex 09

Directrice de Thèse : Dr. Fabienne GAUFFRE

À mes parents
Et toute ma famille...

Remerciements

Les travaux présentés dans ce mémoire ont été réalisés au laboratoire des Interactions Moléculaires et Réactivités Chimiques et Photochimiques (IMRCP) de l'université Paul Sabatier à Toulouse, dirigé successivement par Isabelle RICO-LATTES puis par Monique MAUZAC. Je tiens à les remercier toutes les deux de m'avoir accueilli au laboratoire.

Je remercie Christophe MINGOTAUD, Nancy LAUTH-DE-VIGUERIE, Jean-Daniel MARTY et Fabienne GAUFFRE, de m'avoir accueilli au sein de l'équipe. Je remercie Jean-Daniel et Nancy pour leur encadrement surtout pour mes premiers pas dans la recherche au sein du laboratoire pendant mon stage de M2R. Je tiens à remercier chaleureusement ma directrice de thèse, Fabienne GAUFFRE qui m'a fait confiance, et qui m'a offert cette opportunité d'effectuer ma thèse sur son projet ACI jeune chercheurs. Je tiens à les remercier tous pour leur soutien et leurs conseils. Merci pour la patience et les conseils que m'ont accordés Fabienne et Christophe, je sais que parfois c'est trop dur de me supporter. Je vous considère comme ma seule famille en France. Fabienne et Christophe étaient au courant de mes souhaits et mes rêves de participer à une conférence aux Etats-Unis. Merci de m'avoir offert l'opportunité d'y aller. Merci d'être à côté de moi, de m'encourager, de critiquer mes présentations afin de les améliorer, et de m'aider scientifiquement pour arriver à finir cette thèse, merci beaucoup.

Je tiens également à remercier Dr. Elodie BORGEAT-LAMI, directrice de recherche au CNRS « LCCP de l'université de Villeurbanne, Lyon » ainsi que Dr. Jean-Francois BERRET, directeur de recherche CNRS au « MSC de l'Université Denis Diderot Paris 7 », pour m'avoir fait l'honneur de consacrer leur temps précieux à la lecture de ce mémoire, et pour l'avoir jugé en temps que rapporteur. J'adresse ma plus profonde reconnaissance à Mattias DESTARAC, Professeur à l'Université Paul Sabatier à Toulouse, pour avoir accepté de présider ce jury. Merci aussi au Dr. Monique MAUZAC d'avoir accepté de participer dans le jury.

Je tiens à remercier Patricia VICENDO et Lyubov LUKYANOVA, pour m'avoir encadré pour la partie biologie de ce manuscrit, et de l'avoir lu. Merci beaucoup Lyuba pour le soutien pendant les bons moments qu'on a vécu ensemble, malgré la tristesse que j'ai à avoir vu notre histoire se finir, j'espère qu'il reste entre nous de beaux souvenirs.

Mes remerciements à Bruno PAYRE, Dominique GOUDOUNECHE, et Isabelle FOURQUAUX, de service de Centre de Microscopie Électronique Appliquée à la Biologie (CMEAB), de Toulouse pour leurs conseils et pour les coupes de cellules. Pour les expériences de diffusion de neutrons aux petits angles, je tiens à remercier Julien OBERDISE du LCVN, Montpellier. Je remercie Cédric Gaillard (INRA, Nantes) pour les expériences de cryo-MET et de MET après coloration négative. Je remercie aussi Yann MORELL de m'avoir consacré de son temps pour résoudre les problèmes informatiques.

Merci à tous les membres de l'équipe, Florence, Stéphanie, Javier, Gad, Sar, Renée pour leur soutien pendant les moments difficiles que j'ai vécus. Merci à tous mes ami(e)s pour les pauses café... et les Libanais avec qui j'ai partagé des jolis moments en France. Je tiens à exprimer ma reconnaissance à Cosmin PATRASCU et Nelly PERIGNON les anciens thésards de l'équipe avec qui j'ai eu la chance de partager le bureau pendant un certain temps de ces quatre ans. Je les remercie d'avoir répondu à toutes mes questions surtout pendant mon stage de M2R. De même je remercie Michael, Sandrine et Charles-Louis les post-docs qui ont travaillé dans l'équipe. Merci aussi à tous les stagiaires qui ont partagé des moments avec moi Chaker, Wissam, Aurélie, Clara, Laurent, Juliane...

Enfin je tiens à remercier toute ma famille, mes frères, mes sœurs et particulièrement ma mère et mon père, mon grand père et ma tante wadiaa... pour leur soutien et leurs encouragements ainsi que la confiance qu'ils m'ont accordé. C'est triste que vous ne soyez pas autour de moi le jour de ma soutenance, mais vous êtes toujours dans mon esprit et mes pensées. J'espère que vous récupérerez votre santé et que vous serez toujours contents de nous voir obtenir de tels succès dans la vie. Vous êtes les plus chers dans ma vie je vous aime beaucoup.

Kamil.

Sommaire

Introduction 1

Chapitre I : Bibliographie et objectifs de la thèse 5

I. Introduction.....	9
II. Propriétés des nanoparticules.....	9
II-1. Les effets de surface.....	9
II-2. Les effets quantiques de taille.....	10
II-2.1. Modifications des niveaux électroniques.....	10
II-2.2. Exemple du cas des quantum dots.....	11
II-3. Champs d'applications.....	11
II-3.1. Applications physiques.....	11
II-3.2. Applications en catalyse.....	12
II-3.3. Applications en biologie.....	13
III. Pourquoi les nanoparticules en solution ont tendance à s'agréger.....	26
III-1. Description des forces en solution.....	26
III-1.1. Les forces externes.....	26
III-1.2. Les forces inter-particules.....	27
III-2. Théorie thermodynamique de la flocculation.....	28
III-3. La théorie DLVO (Derjaguin, Landau, Verwey, Overbeek).....	29
IV. Stratégies de stabilisation de nanoparticules en solution aqueuse.....	30
IV-1. Stratégies de stabilisation de nanoparticules dans l'eau : état de l'art.....	31
IV-1.1. Composés organiques dérivés d'alcool ou d'amine.....	32
IV-1.2. Stabilisation par des ligands dérivées de thiols.....	33
IV-1.3. Stabilisation par des acides aminés et peptides.....	36
IV-1.4. Stabilisation par des cyclodextrines et leurs dérivées.....	37
IV-1.5. Stabilisation par des molécules amphiphiles.....	38
IV-1.6. Stabilisation par des polymères.....	40

IV-1.7. Stabilisation chimique.....	45
V. Objectifs de la thèse	45
VI. Bibliographie	47

Chapitre II : Stabilisation de nanoparticules dans l'eau par des copolymères à blocs

I. Choix du système et état de l'art	75
I-1. Choix du système particule – stabilisant.....	75
I-1.1. Choix des nanoparticules.....	75
I-1.2. Choix de l'agent stabilisant	76
I-2. Structure et propriétés des Pluronic [®]	76
I-2.1. Les agrégats formés par les Pluronic [®] dans l'eau.....	78
I-2.2. Applications des Pluronic.....	80
I-2.3. Applications à la synthèse et à la stabilisation de nanoparticules dans l'eau	81
I-3. Synthèse des nanoparticules d'or.....	83
I-4. Bande de résonance plasmon des nanoparticules de métaux noble.....	84
I-4.1. Introduction	84
I-4.2. Origine physique de l'absorption plasmon	85
I-4.3. Propriétés spectrales des nanoparticules métalliques.....	86
II. Résultats.....	93
II-1. Synthèse et caractérisation des nanoparticules d'or.....	93
II-1.1. Stabilité de la solution Au-citrate	94
II-1.2. Méthode d'analyse : description de l'agrégation et de la décantation	98
II-2. Stabilisation par les Pluronic.....	100
II-2.1. Effet de la chaîne hydrophile PEO	102
II-2.2. Effet de la chaîne hydrophobe PPO.....	107

II-2.3.	Effet de la longueur totale du polymère	109
II-2.4.	Influence de la concentration en polymère	111
II-2.5.	Effet de la concentration en particules.....	114
II-2.6.	Stabilité en milieu acide	116
II-2.7.	Corrélation entre l'agrégation et la précipitation	117
II-2.8.	Discussion.....	118
II-3.	Cas des polymères amphiphiles diblocs (PEO-PPO).....	119
II-3.1.	Comparaison entre les structures dibloc et tribloc	119
II-3.2.	Détermination des CAC pour EO ₂₇₂ PO ₂₉ et EO ₁₁₃ PO ₁₉	122
II-3.3.	Effet de la concentration en EO ₂₇₂ PO ₂₉ sur la stabilisation des AuNPs....	124
III.	Conclusions.....	128
IV.	Bibliographie	130

Chapitre III : Caractérisation des systèmes polymère/nanoparticules d'or.....139

I.	Introduction.....	142
II.	Lyophilisation et redispersion des solutions colloïdale AuNPs/Polymère	142
II-1.	Lyophilisation.....	142
II-2.	Redispersion des lyophilisats	144
III.	Filtration des hybrides Pluronic/AuNPs sur Nylon.....	150
IV.	Potentiel zêta des particules avec et sans polymère	153
V.	Diffusion dynamique de la lumière (DDL)	154
V-1.	Diffusion de la lumière avec des triblocs	155
V-2.	Diffusion de la lumière avec des diblocs	160
VI.	Diffusion des neutrons aux petits angles.....	162
VII.	Observation des échantillons par MET	164
VII-1.	Systèmes AuNPs/Pluronic.....	165

VII-1.1. MET après coloration négative	165
VII-1.2. Cryo-MET sur AuNPs/Pluronic	168
VII-2. Systèmes AuNPs/EOxPOy	170
VIII. Conclusion	171
IX. Bibliographie.....	172

Chapitre IV : Cytotoxicité des systèmes polymères/nanoparticules d'or....173

I. Introduction.....	176
II. Cytotoxicité des nanoparticules d'or : état de l'art	176
III. Etude de la cytotoxicité.....	178
III-1. Les fibroblastes (CHO) comme modèle de cellules	178
III-2. Cytotoxicité avec les systèmes Pluronic/AuNPs	178
III-2.1. Cas du F127/AuNPs	178
III-2.2. Cas du F108/AuNPs	181
III-2.3. Cas du P123/AuNPs	182
III-3. Cytotoxicité avec le système EO ₂₇₂ PO ₂₉ /AuNPs.....	184
III-4. Cytotoxicité des nanoparticules or-citrate nues.....	185
III-5. Cytotoxicité des Copolymères	186
III-5.1. Cytotoxicité des Pluronic	186
III-5.2. Cytotoxicité de EO ₂₇₂ PO ₂₉	187
IV. Observation par MET des cellules après incubation.....	188
V. Etude de la stabilité des AuNPs dans le mélange RPMI/H ₂ O.....	192
VI. Microbalance à quartz.....	198
VII. Conclusions.....	199
VIII. Bibliographie.....	201

<u>Partie Eepérimentale.....</u>	<u>203</u>
I. Matériels	206
II. Préparation des systèmes	206
II-1. Synthèse des nanoparticules d'or	206
II-2. Echantillons pour les études de la stabilisation	207
III. Techniques d'analyse physicochimique	207
III-1. Spectroscopie UV-visible (UV-vis)	207
III-2. Microscopie Electronique à Transmission (MET)	208
III-3. Cryo Microscopie électronique à Transmission (Cryo-MET).....	209
III-4. Tension de surface	209
III-5. Spectrofluorimétrie	210
III-6. Diffusion Dynamique de la Lumière (DDL).....	211
III-7. Zêtamétrie	212
III-8. Diffusion des neutrons aux petits angles	214
IV. Lyophilisation.....	215
V. Culture cellulaire	215
V-1. Viabilité	216
V-2. MET sur les cellules après fixation	217
<u>Conclusion générale.....</u>	<u>219</u>
<u>Annexes.....</u>	<u>225</u>

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale

Depuis le début des années 1980, associées au préfixe nano, de nouvelles disciplines de recherche ont pris un essor important. Le nanomètre, renvoie à une grandeur qui est voisine de la distance entre deux atomes dans un solide (quelques dixièmes de nanomètre). La fabrication d'objets aussi petits a ouvert un champ très vaste à l'investigation scientifique. Les nanoparticules sont des édifices formés de quelques dizaines à quelques milliers ou dizaines de milliers d'atomes, qui constituent des états intermédiaires de la matière, entre la molécule et le solide massif. Dans ce domaine où la portée des interactions est supérieure ou égale à la taille des objets, caractérisé de plus par un grand rapport surface/volume, les objets présentent des structures atomiques et électroniques originales associées à des propriétés uniques, qui peuvent dépendre de leur taille et à leur forme. Leur champ d'application est par conséquent très vaste : capteurs optiques, nanoélectronique, marqueurs chimiques et biologiques, catalyse... Parallèlement, le développement des nanotechnologies a permis d'observer et d'étudier ces petits objets afin de mieux comprendre leurs propriétés.

Or, les nanoparticules présentent l'inconvénient majeur de s'agréger lorsqu'elles sont en solution, du fait des interactions de types Van der Waals qui existent entre elles. La taille des agrégats n'est plus contrôlée et elles perdent alors leurs propriétés. Pour empêcher l'agglomération des nanoparticules, la présence d'un agent stabilisant localisé à leur surface est nécessaire. De plus, l'utilisation de produits non toxiques, de solvants bénins pour l'environnement, et de matériel recyclable reste à développer. Dans ce contexte, nous cherchons à développer de nouvelles stratégies de stabilisation de nanoparticules dans l'eau, en évitant de former des interactions covalentes entre le stabilisant et la surface des nanoparticules qui risqueraient d'inhiber ses propriétés. Il s'agit d'utiliser des copolymères tensioactifs, capable de s'auto-organiser autour des nanoparticules. Afin de mieux comprendre l'effet de la taille et de la structure des agents stabilisants sur la stabilité, on a procédé de la façon suivante : tout d'abord on a synthétisé les nanoparticules dans l'eau, ensuite le stabilisant a été ajouté.

Le premier chapitre de ce manuscrit, consacré à une mise au point bibliographique sur les nanoparticules et leurs champs d'applications, en plus décrira les méthodes de stabilisation et plus particulièrement en solution aqueuse.

L'étude de la stabilisation de nanoparticules d'or dans l'eau à haute force ionique par des copolymères à blocs neutres sera décrite dans le second chapitre. Il est bien connu dans la littérature que l'incorporation de polyéthyléneglycol (PEG) à la surface des nanomatériaux possède un intérêt particulier pour la biocompatibilité. Deux familles de polymères amphiphiles commerciaux à base de polyoxyéthylène (PEO) et polyoxypropylène (PPO) ont été utilisées : les triblocs PEO-PPO-PEO (Pluronic[®]) et les diblocs PEO-PPO. L'influence de l'architecture moléculaire des triblocs à des concentrations toujours inférieures à la Concentration Micellaire Critique (CMC), sur la stabilité des nanoparticules préalablement formées sera en particulier détaillée. Les nanoparticules d'or, possèdent une bande d'absorption intense dans le visible « la bande de résonance plasmon » qui a permis de suivre leur état d'agrégation et la stabilité.

Dans le troisième chapitre, la caractérisation des systèmes polymères/nanoparticules sera étudiée en détail, ceci par plusieurs techniques physico-chimiques : la diffusion dynamique de la lumière, la diffusion de neutrons aux petits angles, la zétamétrie, et par des techniques de microscopie électronique à transmission (MET et Cryo-MET). Ces études ont permis de montrer que les copolymères s'adsorbent à la surface des nanoparticules en formant de gros agrégats, même en l'absence de micelle en solution ($C < CMC$).

Enfin, dans le quatrième chapitre une étude de toxicité des différents systèmes triblocs/nanoparticules et diblocs/nanoparticule a été effectuée sur un modèle de cellules : les fibroblastes de CHO «chinese hamster ovary». L'internalisation des nanoparticules à l'intérieur des cellules a été observé par MET sur des coupes très fines de cellules.

Ce mémoire se terminera par une conclusion générale résumant les faits marquants de ce travail et développera les perspectives de ces recherches.

Chapitre I

Bibliographie et objectifs de la thèse

Table des matières du Chapitre I

I.	Introduction.....	9
II.	Propriétés des nanoparticules	9
II-1.	Les effets de surface.....	9
II-2.	Les effets quantiques de taille.....	10
II-2.1.	Modifications des niveaux électroniques.....	10
II-2.2.	Exemple du cas des quantum dots.....	11
II-3.	Champs d'applications.....	11
II-3.1.	Applications physiques	11
II-3.2.	Applications en catalyse.....	12
II-3.3.	Applications en biologie	13
III.	Pourquoi les nanoparticules en solution ont tendance à s'agréger.....	26
III-1.	Description des forces en solution	26
III-1.1.	Les forces externes.....	26
III-1.2.	Les forces inter-particules.....	27
III-2.	Théorie thermodynamique de la flocculation.....	28
III-3.	La théorie DLVO (Derjaguin, Landau, Verwey, Overbeek)	29
IV.	Stratégies de stabilisation de nanoparticules en solution aqueuse.....	30
IV-1.	Stratégies de stabilisation de nanoparticules dans l'eau : état de l'art.....	31
IV-1.1.	Composés organiques dérivés d'alcool ou d'amine.....	32
IV-1.2.	Stabilisation par des ligands dérivés de thiols.....	33
IV-1.3.	Stabilisation par des acides aminés et peptides.....	36
IV-1.4.	Stabilisation par des cyclodextrines et leurs dérivées	37
IV-1.5.	Stabilisation par des molécules amphiphiles.....	38
IV-1.6.	Stabilisation par des polymères.....	40
IV-1.7.	Stabilisation chimique.	45

V.	Objectifs de la thèse.....	45
VI.	Bibliographie.....	47

I. Introduction

Dans cette thèse, on va s'intéresser à la dispersion de nanoparticules dans l'eau. Dans ces dispersions, appelées dispersions colloïdales, au contraire des suspensions (particules de taille $> 1\mu\text{m}$), les mouvements Browniens dus à l'agitation thermique ont un effet plus important que la sédimentation provoquée par la gravité.

Tout d'abord, nous allons décrire les propriétés des nanoparticules, et leurs différentes applications surtout en biologie. Ensuite, nous discuterons les différents phénomènes intervenant dans la stabilité colloïdale des dispersions. Enfin, les différentes stratégies de stabilisation de nanoparticules dans l'eau seront développées, ainsi que les différents composés couramment utilisés pour la stabilisation.

A la fin de ce chapitre, nous décrirons brièvement notre propre stratégie de stabilisation, qui se base sur l'adsorption de copolymères à blocs amphiphiles.

II. Propriétés des nanoparticules

L'intérêt des nanoparticules réside dans les propriétés uniques que leur confère leur petite taille. Par exemple, dans le cas des particules métalliques et semi-conductrices,¹ deux types d'effets se manifestent :

- les effets de surface
- les effets quantiques de taille

Dans la suite nous allons présenter ces deux effets et décrire les propriétés originales et les applications qui en découlent.

II-1. Les effets de surface

Pour les nanoparticules le rapport surface/volume est très grand. Ainsi pour une nanoparticule constituée d'environ 1000 atomes diamètre environ 2-3 nm, la moitié des atomes sont en surface. L'addition d'un ou de quelques atomes à la surface d'un si petit agrégat modifie sensiblement la symétrie globale, le nombre de coordination moyen, et en conséquence le potentiel d'ionisation, la stabilité vis-à-vis de la fragmentation etc...²

Dans les systèmes de nanoparticules dispersées, l'aire totale de l'interface devient énorme (de l'ordre de $100\text{ m}^2/\text{g}$ de matière dispersée). Considérons par exemple, des nanoparticules de diamètre $d = 100\text{ nm}$, dispersées dans un volume de solvant $V = 1\text{ L}$, à la fraction volumique $\varphi = 0,1$. L'aire totale de l'interface vaut alors :

$$A = N_{\text{tot}}\pi d^2 = 6V\phi/d = 6000 \text{ m}^2$$

1. 1

soit l'aire approximative d'un terrain de foot. Ceci indique l'importance des effets de surface dans les systèmes colloïdaux.

Dans le cas des nanoparticules de métaux nobles ces effets de surfaces prennent une importance particulière. En effet, il existe une absorbance due au Plasmon de surface (oscillations collectives des électrons) qui est à l'origine de la couleur rouge de la solution colloïdale d'or, cette propriété est utilisée pour suivre la stabilité au cours de cette thèse et sera détaillée dans le chapitre II.

II-2. Les effets quantiques de taille

II-2.1. Modifications des niveaux électroniques

Les effets quantiques de taille sont dus au confinement des électrons et de toutes les excitations élémentaires d'un solide (phonon, plasmon...) dans un volume réduit.³ Par exemple, si une particule métallique ayant les propriétés de l'état massif est réduite à quelques centaines ou quelques dizaines d'atomes, la densité des états dans les bandes de conduction et de valence diminue, et les propriétés électroniques (conductivité, magnétisme, plasmon...) changent radicalement. Le continuum d'états est remplacé par des niveaux quantifiés en fonction de la taille. Les propriétés ne sont plus celle du métal à l'état massif, mais ne sont pas encore celle d'un atome ou d'une petite molécule.⁴ La Figure I. 1 montre les niveaux énergétiques des nanoparticules entre l'atome, la molécule et l'état solide massif.

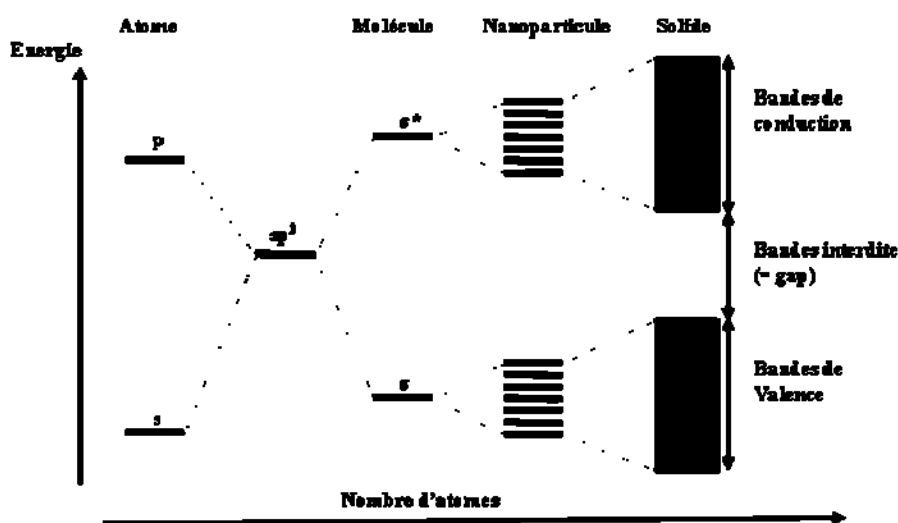


Figure I. 1 : Niveaux d'énergie électroniques montrant les nanoparticules entre la molécule et le solide massif.

II-2.2. Exemple du cas des quantum dots

Les nanoparticules de semi-conducteurs, les quantum dots (QDs), possèdent un band-gap dépendant de leur taille.⁵ Si le nanocrystal est excité optiquement, les transporteurs de charges peuvent passer à un niveau d'énergie supérieur. Le retour à l'état fondamental est responsable de la fluorescence des QDs. Plus petit est le nanocrystal, plus l'espacement entre les niveaux d'énergie est grand, et par conséquent plus la longueur d'onde de la fluorescence est courte. Par exemple, les nanoparticules de CdSe de diamètre $\sim 2,5$ nm possèdent une fluorescence verte, tandis que les nanoparticules de CdSe de diamètre ~ 7 nm sont fluorescentes dans le rouge.^{6,7} Le contrôle de la taille et de la composition au cours de la synthèse permet d'obtenir fondamentalement toutes les couleurs de fluorescence du visible au proche infrarouge.⁸

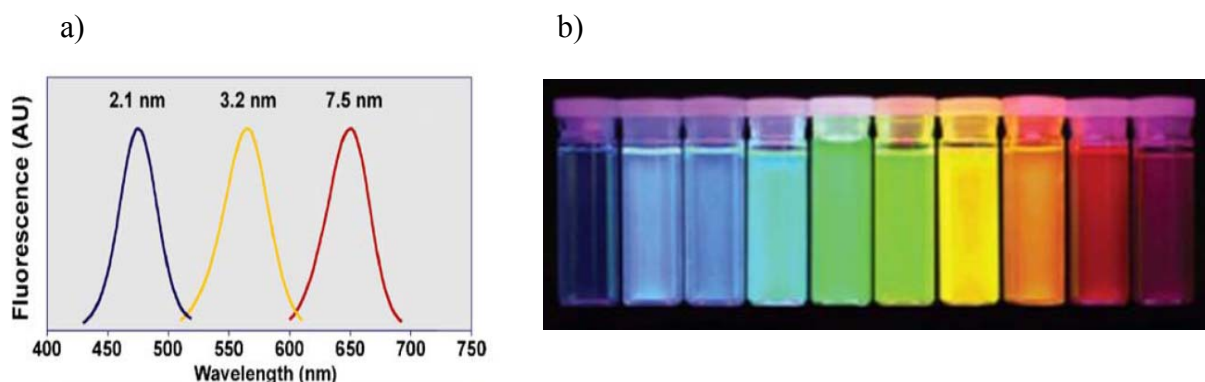


Figure I. 2 : (a) Spectres d'émission de Quantum Dots de CdSe⁹ (b) QDs de CdSe dispersés dans l'hexane et excités par une lampe UV. Les diamètres et les couleurs d'émission vont de 2 nm (bleu) à 8 nm (rouge) de gauche à droite. (blogs.msdn.com)

II-3. Champs d'applications

Ces propriétés particulières des nano-objets sont utilisées dans de vastes domaines tels que la physique, la catalyse ou encore la biologie. Dans la suite nous allons décrire certaines de ces applications.

II-3.1. Applications physiques

Il n'y a pas pour l'instant de produits commercialisés basés sur les propriétés physiques spécifiques des nanoparticules. Mais la recherche est toujours en développement afin d'atteindre ce but. Ici sont donnés quelques exemples d'utilisations des nanoparticules en physique.

Les nanoparticules sont utilisées en électronique, car la réduction des dimensions caractéristiques des composants améliore à la fois la densité d'intégration et la rapidité des circuits.¹⁰ On les trouve par exemple dans les transistors à un électron fondé sur le transfert contrôlable d'électrons entre îlots conducteurs.¹¹⁻¹⁴ Dans les MOSFET (Metal Oxide Semi-conducteur Field Effect Transistor), la réduction en taille grâce aux progrès de la lithographie, fait que dans les circuits intégrés, on peut augmenter fortement le nombre de transistors par circuit.^{15, 16} Sargentis et al ont étudié les caractéristiques électriques des mémoires MOS dans lesquelles ils ont inséré des nanoparticules métalliques de platine. Ils ont montré que le processus d'écriture a lieu à de faibles champs électriques, ce qui peut être prometteur pour la fabrication de mémoires MOSFET de grande vitesse, et à faible consommation d'énergie.¹⁷ Kolliopoulou et al ont rapporté récemment la fabrication de dispositifs de mémoire non volatile programmable et effaçable électriquement en lecture seule EPROM (Erasable Programmable Read Only Memory),¹⁸⁻²¹ dans lesquels sont utilisés des cristaux nanométriques semi-conducteurs ou métalliques comme éléments de stockage de charges.

Enfin, la résonance plasmon de surface des nanomatériaux métalliques leur permet d'être utilisés dans de nombreuses applications, et sera décrite plus en détail plus loin dans ce manuscrit (chapitre 2).

II-3.2. Applications en catalyse

Les nanoparticules (clusters ou colloïdes) sont utilisées comme catalyseur,²² car ils offrent une haute activité et une sélectivité dépendantes de leur taille et de leur forme.^{4, 23, 24} Lorsque l'identité exacte des atomes de surface (métal et ligand) est bien connue, les colloïdes sont nommés « clusters ».²⁵ Parmi les nombreuses réactions catalysées par des nanoparticules—clusters ou colloïdes citons par exemple, l'hydrogénation,²⁶⁻²⁹ l'hydrosilylation,³⁰⁻³³ l'oxydation de CO et du mélange CO/H₂,³⁴ l'acétoxylation oxydative,³⁵ les couplages de Mc Murry,³⁶ Suzuki,³⁷⁻³⁹ et Heck,⁴⁰⁻⁴² la cycloaddition [3+2]^{43, 44} ... Ces réactions ont été catalysées soit par des nanoclusters déposés sur un support hétérogène, soit sous forme dispersée en solution. Dans ce dernier cas, il est important que les nanoparticules puissent être séparées du mélange réactionnel et bien redispersées tout en conservant leurs propriétés catalytiques.³⁷

La recherche se focalise sur le développement de réactions catalytiques dans l'eau, pour des raisons environnementales.^{38, 45} A ce propos il s'agit soit de transférer les nanoparticules à

partir du solvant de synthèse (souvent organique) dans l'eau, soit de synthétiser les nanoparticules directement dans l'eau.

II-3.3. Applications en biologie

L'utilisation des nanoparticules à l'interface avec la biologie est assez importante. En effet, les dimensions des nanoparticules favorisent l'interaction avec les milieux biologiques, qui sont par essence constitués d'unités nanométriques ou d'assemblages de telles unités au sein d'une cellule. Un des rêves des nanotechnologies est certainement de développer des outils et des machines permettant d'observer et de manipuler des structures biologiques à l'échelle nanométrique, dans le but de résoudre les problèmes biologiques et/ou médicaux.⁴⁶⁻⁴⁹ La recherche sur les nanocristaux colloïdaux est passée ces dernières années de la recherche fondamentale aux applications dans la science de vivant.⁵⁰ Ces applications utilisent les propriétés de la nanophotonique,⁵¹ la fluorescence,^{6, 9, 52, 53} ou encore le magnétisme...^{54, 55} Mais comme les processus biologiques sont typiquement situés dans un environnement aqueux, la surface des nanoparticules doit être rendue hydrophile. Le plus souvent les nanoparticules doivent être également conjuguées par des biomolécules.⁵⁶ De plus, elles doivent être stables en présence de tous les constituants du milieu biologique (protéines, sels, pH neutre...).

On va décrire par la suite l'utilisation des propriétés des nanoparticules (semiconductrices, métalliques ou d'oxyde métallique) dans trois vastes domaines de la biologie : le marquage cellulaire pour l'imagerie, la détection de biomolécules, et la thérapie.

II-3.3.a) Marquage cellulaire et imagerie

Le marquage par fluorescence des compartiments spécifiques dans les cellules est une méthode largement répandue en biologie. Elle permet de visualiser les unités structurales, qui en raison d'un manque de contraste ou de résolution, ne peuvent être distinguées par une simple image microscopique. L'idée est d'établir une liaison chimique entre une sonde fluorescente⁵⁷⁻⁵⁹ et des molécules réceptrices (anticorps,⁶⁰ avidine, streptavidine, ADN...), qui se lient spécifiquement et sélectivement au compartiment cellulaire désiré.

Les nanoparticules semi-conductrices, métalliques, ou d'oxydes métalliques magnétiques sont très souvent utilisées pour remplacer les sondes fluorophores organiques comme marqueurs pour l'imagerie en biologie.⁶¹⁻⁶³ Dans ce paragraphe on développera les propriétés et les exemples d'utilisation des nanoparticules de semi-conducteur (Quantum Dots), des

nanoparticules magnétiques (oxyde métallique), et des nanoparticules métalliques, ainsi que la combinaison de leurs propriétés magnétique et optique, pour l'utilisation comme marqueurs et/ou agents de contraste en biologie.

(1) Quantum Dots

Les quantum dots ont de remarquables propriétés de fluorescence, utilisables pour l'imagerie biomédicale. En 1998, deux groupes, l'un dirigé par Alivisatos (UC Berkeley), et un autre conduit par Nie (Université de l'Indiana) ont démontré en même temps que les QDs pouvaient être dispersés dans l'eau, et conjugués avec des molécules biologiques. C'est alors que les premières grandes applications de QDs comme marqueurs en biologie ont été développées. Les deux premiers exemples reportés sont les suivants :

- le marquage multicolore de fibroblastes de souris, où des QDs rouges ont été modifiés pour marquer sélectivement les filaments cytosquellétiques, et des QDs verts fonctionnalisés pour la reconnaissance sélective du noyau de la cellule (Figure I. 3).⁶
- l'internalisation par endocytose de QDs fonctionnalisés avec de la transferrine dans des cellules vivantes.⁶⁴ La transferrine est une protéine qui permet le transport du fer.

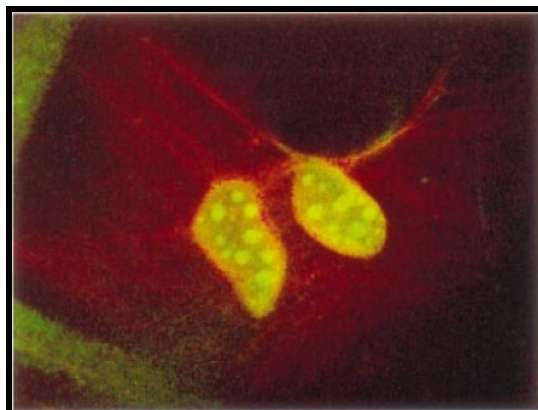


Figure I. 3 : Coupe transversale d'un échantillon de fibroblastes-3T3 de souris incubés avec des QDs rouges et verts fonctionnalisés pour marquer respectivement le cytosquelette et le noyau, examiné avec un microscope confocal à balayage. L'image a été obtenue avec une excitation à 363 nm et une détection simultanée à deux canaux. Largeur de l'image : 84 mm.⁶

Ces nanoparticules, comparées à des sondes organiques fluorescentes,⁶⁵ offrent des rendements quantiques plus élevés, ainsi qu'une meilleure résistance chimique et photochimique (photoblanchiment).^{53, 66} Au contraire des fluorophores organiques standards, elles possèdent une large absorption, et des spectres d'émissions étroits et symétriques. Une

longueur d'onde unique peut donc exciter simultanément des QDs émettant des couleurs différentes. Toutes ces propriétés ont permis un développement rapide des QDs comme marqueurs pour l'imagerie en biologie et en médecine.^{6,67-81} En particulier, les QDs permettent d'effectuer de l'imagerie dans l'environnement cellulaire sur des temps longs grâce à leur photostabilité.^{82, 83} L'imagerie *in vivo* est également réalisable avec des QDs,⁸⁴⁻⁸⁹ qui peuvent émettre dans le proche infrarouge où l'absorption par les tissus est minimale.^{67, 90-92} On citera également l'imagerie profonde en temps réel, dans laquelle des QDs sont détectés dans les vaisseaux capillaires à partir de la peau.^{69, 91, 92}

Lorsque leur structure est allongée (nanobâtonnets, nanofils et nanotubes...), les nanocristaux offrent des propriétés uniques, qui les rendent plus efficaces que les particules sphériques pour certaines applications biologiques.^{7, 93-95} Par exemple, les nanobâtonnets ou quantum rods (QRs) offrent une absorption plus intense, une desexcitation radiative plus rapide, et émettent en fluorescence de la lumière polarisée linéairement.⁹⁶⁻⁹⁸ Ainsi Fu et al ont comparé l'efficacité, pour le marquage cellulaire, des QRs et des QDs CdS/ZnS core/shell, sur des cellules cancéreuses du sein humain (Figure I. 4). Ils ont montré que les QRs offrent une sensibilité et une luminosité plus avantageuses pour la microscopie de fluorescence.⁹⁹

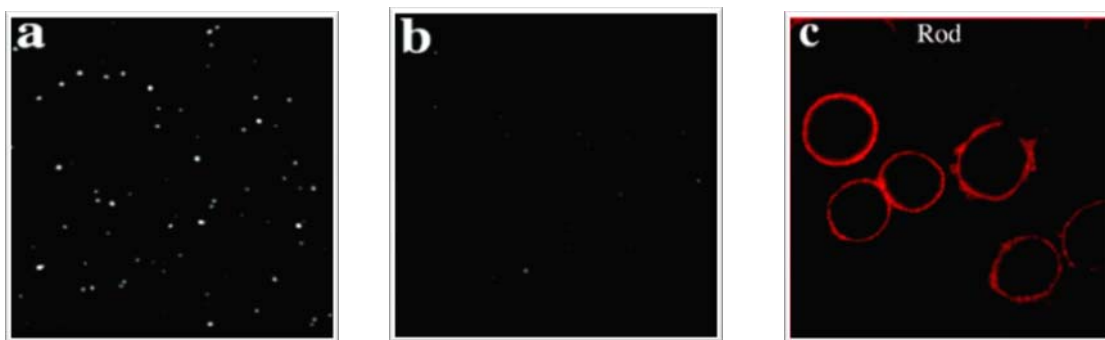


Figure I. 4 : (a) et (b) Images par microscopie de fluorescence de suspensions de QR (a) et QD (b), montrant que les QRs sont plus brillantes que les QDs. c) Immunofluorescence des cellules de cancer du sein marquées avec des QRs.⁹⁹

(2) Nanoparticules magnétiques

Les nanoparticules magnétiques sont très souvent utilisées en biologie.¹⁰⁰ Elles sont de bons candidats pour le marquage^{101, 102} et la séparation de cellules. Les cellules marquées sont

détectées par Imagerie de Résonance Magnétique (IRM).^{103, 104} Dans cette technique les nanoparticules servent d'agent de contraste,¹⁰⁵⁻¹⁰⁷ car elles permettent de modifier les temps de relaxation T_1 et/ou T_2 des protons (T_1 , « temps de relaxation longitudinal », est une propriété du matériau et décrit la restitution de l'énergie à l'environnement ; T_2 , « temps de relaxation transverse », décrit le transfert d'énergie entre les protons adjacents). Les nanoparticules les plus utilisées comme agent de contraste sont les nanoparticules superparamagnétiques d'oxyde de fer.^{104, 108} Ce sont des agents de contraste T_2 , qui donnent des images plus sombres des régions d'intérêt (contraste négatif).¹⁰⁹ Wang et al ont montré que le fait d'utiliser des nanoparticules d'environ 20 nm constituées d'oxyde de fer monocristallin et revêtues d'or permet une amélioration importante du contraste en IRM. Ils ont injecté dans la moelle épinière de rats anesthésiés des cellules souches isolées à partir de la moelle épinière d'un rat adulte et marquées par les particules. Ces cellules ont été suivies par IRM à 1 h, 48 h et 1 mois après l'injection, démontrant que ce type de particules constitue un marqueur efficace pour le suivi de cellules transplantées *in vivo*.¹¹⁰ Très récemment, Na et al ont décrit un nouvel agent de contraste « positif » T_1 pour l'IRM constitué de nanoparticules d'oxyde de manganèse.¹⁰⁷ Ces dernières ont été facilement fonctionnalisées, puis testées comme agent de contraste *in vitro* et *in vivo*. Elles ne présentent pas les artefacts observés en IRM avec les agents de contraste T_2 à base de nanoparticules superparamagnétique d'oxyde de fer.

(3) Nanoparticules métalliques

Les nanoparticules de métaux nobles, surtout or et argent, possèdent une forte bande d'absorption due à la résonance de plasmon de surface (SPR). Elles possèdent également un très haut pouvoir de diffusion de lumière, comme cela a été signalé pour la première fois par Yguerabide et al.^{111, 112} On peut facilement synthétiser des nanoparticules d'or (40-160 nm) qui diffusent de la lumière bleue, verte, jaune, orange ou rouge. Ces nanoparticules peuvent donc être utilisées comme des analogues de fluorescence dans des tests biologiques.¹¹¹⁻¹¹³ Elles offrent certains avantages par rapport au QDs tels que : une section efficace plus large (forte absorption optique), une résistance complète au photoblanchiment, des matériaux constituants non-toxiques, et une fonctionnalisation avec des biomolécules plus facile. Ces propriétés leur confèrent un fort potentiel comme marqueur et/ou agent de contraste optique pour l'imagerie de biomolécules.¹¹⁴⁻¹²³ Par exemple Sokolov et al ont utilisé des nanoparticules d'or (~ 12 nm) fonctionnalisées avec des anticorps monoclonaux anti-EFGR pour l'imagerie du cancer des cellules épithéliales du col de l'utérus, en utilisant un

microscope à balayage confocal de réflectance, avec un laser à 647 nm pour exciter les SPR des nanoparticules. La diffusion par les nanoparticules marquant les cellules est clairement observée en clair sur un fond sombre.¹¹⁴ Une autre technique extrêmement simple et non couteuse, basée sur l'utilisation de nanoparticules d'or (~ 35 nm) comme agent de contraste optique est la microscopie à champ sombre.¹¹⁸ Suite à l'excitation par la lumière blanche, seule la longueur d'onde de la lumière correspondant à la SPR maximale des nanoparticules d'or est diffusée intensément, d'où une image de nanoparticules colorées sur un fond sombre (Figure I. 5).¹¹⁸ Cette technique peut être combinée à la spectrométrie de microabsorption, qui montre une modification du spectre d'absorption lorsque l'environnement diélectrique local des nanoparticules se trouve modifié. Ainsi le spectre d'absorbance est déplacé vers le rouge (~ 9 nm) lorsque les nanoparticules sont adsorbées sur les surfaces des cellules cibles, ce qui permet de les distinguer des nanoparticules isolées. Ces deux techniques ont permis de différencier et de quantifier des cellules cancéreuses parmi des cellules non cancéreuses.¹¹⁸ Le contraste optique peut être amélioré si des nanoparticules hybrides constituées d'un cœur superparamagnétique d'oxyde de fer entouré d'une couche d'or sont utilisées comme agent de contraste.¹²⁴

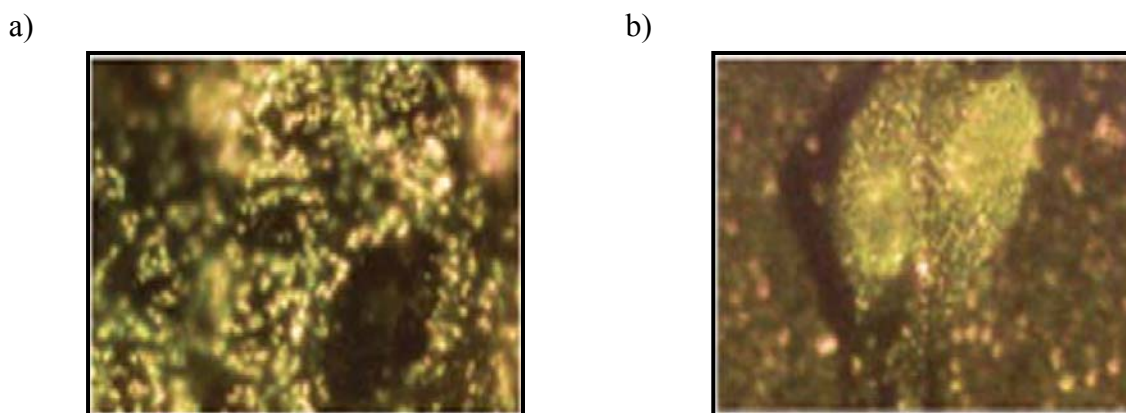


Figure I. 5 : Images de la lumière diffusée par les nanoparticules/anti-EFGR en présence des cellules non cancéreuse (a), et des cellules cancéreuse (b).¹¹⁸

Par ailleurs, la bande d'absorption SPR des nanostructures d'or et d'argent peut être modulée du visible au proche infrarouge en variant leurs paramètres géométriques (taille, forme...), ce qui étend leurs applications en imagerie médicale.¹²⁵⁻¹³² Par exemple, les nanobâtonnets des métaux nobles montrent une deuxième bande d'absorption dans la région du proche infrarouge, qui est une fenêtre transparente pour les tissus biologiques. En outre, les

nanobâtonnets d'or amplifiaient la diffusion Raman de molécules adsorbées à leur surface. Récemment, Oyelere et al¹²⁸ ont montré par microscopie à champ sombre que des nanobâtonnets d'or conjugués à un peptide et incubés avec des cellules épithéliales bénignes et cancéreuses sont situés à la fois dans le cytoplasme et dans le noyau des cellules. En même temps, par spectroscopie Raman, ils ont observé un renforcement du signal induit par les nanobâtonnets d'or, non seulement du peptide fonctionnalisant les nanobâtonnets, mais aussi d'autres molécules du cytoplasme et du noyau. Ce travail représente une étape importante vers l'imagerie et les biocapteurs intracellulaires à base de spectroscopie Raman.

(4) Double modalité

Le développement d'agents de contraste à double modalité pour combiner les imageries IRM et optiques présente un intérêt considérable.¹³³⁻¹³⁵ En effet, l'imagerie par résonance magnétique est performante pour la tomographie et l'imagerie 3-D des nanostructures biologiques et des processus cellulaires *in-vitro* et *in-vivo*,¹³⁶ car elle donne des images à haute résolution spatiale. L'imagerie optique quant à elle, est assez sensible à l'environnement moléculaire autour des nanoparticules.^{61, 137} Souvent, il s'agit d'incorporer des cœurs luminescents et des ions paramagnétiques au sein d'une même particule.¹³⁸ Ainsi Mulder et al ont enrobé des QDs par des lipides paramagnétiques pégylés pour obtenir des nanoparticules à caractère bimodal détectables par fluorescence et IRM.¹³⁹ On peut aussi, à l'inverse, enrober des particules magnétiques de fluorophores organiques. Par exemple, en fonctionnalisant des nanoparticules superparamagnétiques d'oxyde de fer avec l'indocyanine Cy5.5 fluorescente dans le proche infrarouge. Des nanoparticules hybrides d'oxyde de fer enrobées d'or ont permis de combiner à la fois l'imagerie optique, l'IRM, et la thérapie photothermique.¹⁴⁰

II-3.3.b) Utilisation comme détecteurs de biomolécules

Les nanoparticules sont très souvent utilisées en biologie pour le diagnostic, *via* la détection de traces d'analytes,¹⁴¹ de bactéries,⁵⁷ et de biomolécules dans les échantillons biologiques.¹⁴² Plusieurs types de détections peuvent avoir lieu selon la nature des particules. Citons par exemple les détections optique, électrochimique, électrique et magnétique.¹⁴²

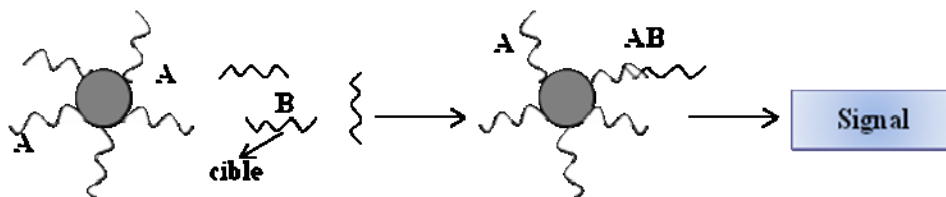


Figure I. 6 : Schéma général de l'utilisation des nanoparticules comme détecteurs de biomolécules (B). La reconnaissance entre A et B est détectée par une modification du signal (optique, électrochimique, ou magnétique) due au changement des propriétés des nanoparticules.

a) Détection optique

Les propriétés de fluorescence particulières des nanoparticules semiconductrices permettent l'élaboration de détecteurs optiques de petites molécules, de protéines,^{60, 143} de l'hybridation de l'ADN.^{144, 145} Elles sont aussi utilisées pour évaluer les complémentarités protéine-ligand, ou encore l'activité de tests immunologiques enzymatiques.¹⁴⁶

Par ailleurs, les QDs peuvent effectuer un transfert d'énergie non radiative vers des molécules acceptrices par FRET (Fluorescent Resonance Energy Transfer).^{143, 147, 148} Ceci permet d'amplifier la fluorescence des fluorophores adsorbés sur les QDs ainsi que de détecter d'éventuelles modifications de leur environnement. Par exemple, si des nanoparticules CdS/ZnS fonctionnalisées avec de l'albumine biotinylée sont mises en présence de streptavidine modifiée par un fluorophore (tetramethylrhodamine), on observe une augmentation du signal de fluorescence.¹⁴⁹

Une autre application est l'encodage optique et la détection multiplexée,¹⁵⁰⁻¹⁵² pour l'analyse à haut débit des gènes, des protéines et des bibliothèques chimiques. Ainsi Han¹⁵² et Rosenthal¹⁵¹ ont décrit l'utilisation de QDs pour l'identification de différentes séquences d'ADN dans un mélange. Il s'agit d'intégrer des QDs CdSe/ZnS hydrophobes de différentes tailles (différentes combinaisons de couleurs et d'intensités) servant comme code d'identification, dans des microbilles de polystyrène conjuguées avec des oligonucléotides de séquence spécifique. Chacune de ces microbilles capture une seule séquence du mélange. Un même fluorophore a été utilisé pour marquer l'ensemble des oligonucléotides cibles, ce qui permet de distinguer les billes de polystyrènes associées à une séquence cible (Figure I. 7). Une seule source de lumière est suffisante pour la lecture de toutes les billes encodées, et du

fluorophore. L'utilisation de six couleurs et 10 niveaux d'intensité peut théoriquement coder un million de séquences de protéines ou d'acides nucléiques (Figure I. 7).¹⁵²

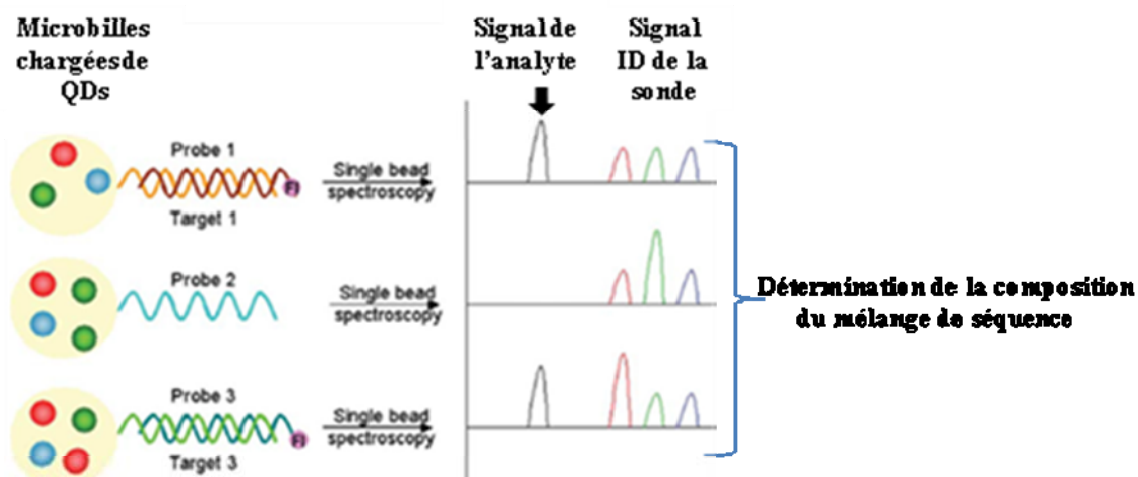


Figure I. 7 : Illustration schématique du principe de détection multiplexée d'un mélange de séquences d'ADN utilisant des perles polymériques intégrant des QDs.¹⁵²

Les propriétés de la bande d'absorbance plasmon des nanoparticules métalliques (or, argent^{153, 154}...) sont également exploitées pour développer des marqueurs et/ou détecteurs colorimétriques.¹⁵⁵⁻¹⁷³ La réponse spectrale est en général sensible au couplage interparticules lorsque la distance entre particules devient faible. Ainsi, lorsque les nanoparticules d'or s'agrègent, les bandes plasmon sont perturbées avec un déplacement du maximum d'absorption vers le rouge, et une modification de l'extinction (voir chapitre 2).¹⁷⁴ Une étape importante est la mise en œuvre 1996 par Mirkin et al des propriétés optiques de l'or dans des applications bioanalytiques.¹⁷⁵ Des nanoparticules d'or de diamètre 13 nm fonctionnalisées par des oligonucléotides s'agrègent suite à des interactions spécifiques avec des oligonucléotides complémentaires. La couleur de la solution des nanoparticules d'or change à cause de l'agrégation, et ce processus est réversible par déshybridation thermique (

Figure I. 8).¹⁶³ En déposant une goutte d'une telle solution sur un guide d'onde optique, on forme un détecteur « spot and read » capable de détecter d'une manière homogène les oligonucléotides cibles jusqu'à des concentrations de l'ordre de la zeptomole (10^{-21} moles).¹⁷⁶

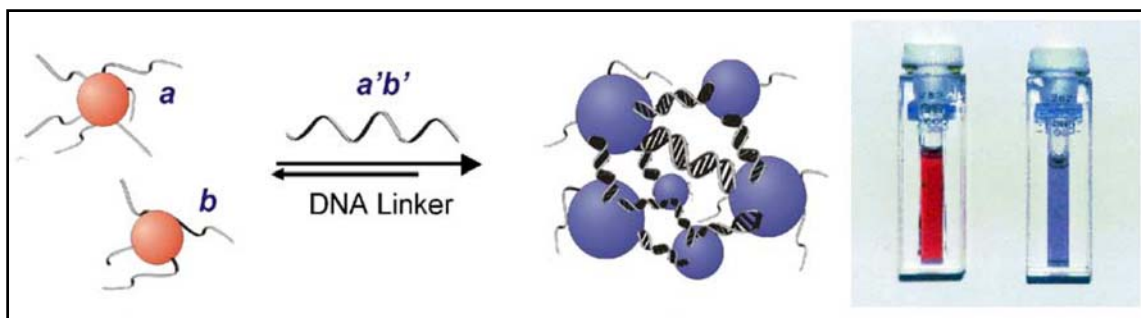


Figure I. 8 : Schéma représentant des AuNPs fonctionnalisées avec deux oligonucléotides *a* et *b*. Quand une séquence d'oligonucléotide complémentaire à *a* et à *b* (*a'b'*) est ajoutée à la solution, les particules s'agrègent, provoquant un déplacement de la bande plasmon. Cuve de gauche : particules non agrégées ; cuve de droite : particules agrégées.¹⁶³

b) Autres méthodes de détection

D'autres techniques de détection peuvent être utilisées avec les nanoparticules. Par exemple les propriétés redox de nanoparticules d'or et de quantum dots sont utilisées pour la détection électrochimique.¹⁷⁷⁻¹⁸¹ Des oligonucléotides sont immobilisés sur une électrode. Puis, suite à leur hybridation avec des oligonucléotides complémentaires greffés sur des nanoparticules d'or (ou or/argent), un signal caractéristique des particules est observé en voltammétrie (Figure I. 9).^{182, 183}

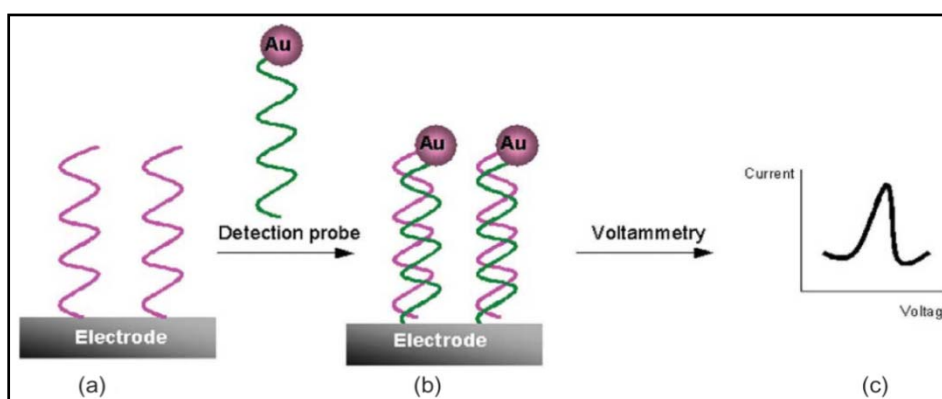


Figure I. 9 : Détection électrochimique de l'hybridation de l'ADN. (a) immobilisation d'un ADN simple brin cible. (b) hybridation avec l'ADN complémentaire, portant la sonde. (c) détection voltammétrique du signal d'oxydoréduction.

Une autre technique employant les nanoparticules d'or est la détection électrique (changement de la conductivité).¹⁸⁴⁻¹⁸⁷ Des nanoparticules d'or (ou or/argent) ont également été utilisées

dans la détection par combinaison avec d'autres technologies telle que : la microscopie électrochimique à balayage,¹⁸⁸ la microbalance à quartz,^{189, 190} la chimiluminescence.¹⁹¹

Les QDs de différentes tailles et de constituants différents possèdent des potentiels chimiques différents, ce qui a conduit à leur utilisation comme des « codes électrochimiques » dans la détection simultanée de cibles multiples (par exemple mélange d'ADN,¹⁹² de protéines^{193, 194}) avec un degré de multiplexage plus important que la méthode optique décrite précédemment par Han (paragraphe détection optique). Cette technique a été également efficacement utilisée pour le codage électrochimique du polymorphisme d'un simple brin de nucléotide.¹⁹⁵

Il existe également des capteurs magnétiques à base de nanoparticules.¹⁹⁶ Grossman et al ont détecté des bactéries dans une suspension en utilisant des nanoparticules superparamagnétiques fonctionnalisées avec des anticorps.¹⁹⁷ Lors de l'application d'un champ magnétique, les nanoparticules développent une magnétisation macroscopique due à l'alignement de leurs dipôles, qui relaxe lorsque le champ est désactivé. La détection est réalisée en différenciant les processus de relaxation : les nanoparticules non liées relaxent rapidement grâce au mouvement Brownien et ne peuvent pas être détectées, tandis que les nanoparticules liées aux bactéries subissent une relaxation lente de type Néel (rotation de leur dipôles interne), donnant un flux magnétique qui peut être détecté.¹⁹⁷

c) Applications à visée thérapeutique

En plus de leurs applications en tant que sondes, les nanoparticules métalliques et semi-conductrices jouent des rôles thérapeutiques assez remarquables (délivrance de médicaments et de gènes).^{49, 198-201} En effet, bon nombre des principes utilisés pour diriger les agents d'imagerie et de diagnostic peuvent aussi être appliqués à la livraison de médicaments. Aujourd'hui, les transporteurs guidés magnétiquement ou les matrices à sensibilité thermique, dans lesquelles la libération du médicament est déclenchée par chauffage sont des exemples efficaces.²⁰²⁻²⁰⁴ Plus récemment, les efforts visant à développer des nano-objets métalliques afin d'être utilisés comme vecteurs d'acides nucléiques pour la vaccination et la transfection ont été multipliés.²⁰⁵⁻²⁰⁸

(1) Délivrance de médicaments et/ou de gènes

La délivrance directe de médicaments et de biomolécules (peptides, protéines, ADN...), à travers le corps est généralement inefficace et souffre de problèmes tels que : la dégradation enzymatique, le manque d'affinité spécifique de la drogue pour un site pathologique, la nécessité d'une forte dose pour atteindre une haute concentration locale, une toxicité non spécifique et des effets secondaires indésirables dus à des doses élevées de médicaments.²⁰⁹

Les nanoparticules inorganiques possèdent généralement des propriétés polyvalentes convenables pour la livraison cellulaire et/ou nucléaire, en particulier une grande disponibilité, la richesse des fonctionnalités, une bonne biocompatibilité, les capacités potentielles de la prestation de services ciblés (par exemple détruire sélectivement les cellules cancéreuses mais épargner les tissus sains), et la possibilité de déclencher la libération de médicaments par réponse magnétique et/ou thermique.^{203, 210-217}

Les nanoparticules d'or sont souvent utilisées dans la délivrance de gènes et/ou médicaments.²¹⁸⁻²²¹ Ainsi, Joshi et al ont fabriqué un vecteur thérapeutique pour le traitement du diabète par greffage de l'insuline et de l'acide aspartique sur des nanoparticules d'or.²²² De multiples travaux de vectorisation intranucléaire ont également été effectués avec des nanoparticules d'or.¹²⁸ Noh et al ont récemment signalé que l'utilisation de nanoparticules d'or chargées positivement et complexées avec de l'ADN plasmidique améliore l'efficacité de la délivrance de gène, après administration intravasculaire, comparé à celle obtenue avec le polymère cationique le plus utilisé : le polyéthylèneimine.²²¹

L'une des applications les plus innovantes consiste en la libération déclenchée photothermiquement en utilisant des nano-« ampoules » métalliques.²¹³ En fait, les nano-ampoules sont des nanoparticules constituées d'un noyau diélectrique de sulfure d'or ou de silice, enrobées d'une couche métallique fine (souvent de l'or). Ces particules sont optiquement actives à cause de la résonance plasmon de surface (voir chapitre 2), et elles absorbent la lumière dans le proche infrarouge qui pénètre profondément les tissus.^{204, 223, 224} Incorporées dans une matrice polymère thermosensible, ces nanoparticules peuvent être chauffées au moyen d'un pulse laser dans le proche infra-rouge, ce qui provoque l'"éclatement" du polymère et la libération des drogues transportées.^{204, 225}

Les nanoparticules magnétiques sont les plus couramment utilisées pour le ciblage magnétique et la libération déclenchée par un champ magnétique externe.^{55, 202, 226-228} Le ciblage actif par guidage magnétique des systèmes de délivrance de médicaments a été proposé il y a près de 30 ans comme une méthode innovante permettant de contrôler la distribution de drogues vers un site cible défini.²²⁹ Depuis, la recherche a été développée afin d'améliorer ces méthodes. Après une pause de dix ans, le ciblage magnétique de médicaments a été proposé à nouveau pour une application clinique, grâce aux efforts d'un groupe allemand dirigé par Lübbe.²³⁰ Ils ont adopté un transporteur magnétique (50-150 nm), consistant en un noyau magnétique d'oxydes et d'hydroxydes de fer, modifiés chimiquement (par exemple avec de l'amidon, silice...). Ce transporteur a été utilisé pour le tri de cellules tumorales et de biomolécules, ainsi que pour le ciblage de médicaments *in-vivo* par un champ magnétique appliqué le plus près possible de la tumeur.²³¹⁻²³³ Par ailleurs il existe une technique similaire pour le transfert de gènes, appelée magnetofection (MF).²⁰² Dans la MF, les nanoparticules magnétiques associées à l'ADN sont vectorisées dans des cellules par l'influence d'un champ magnétique externe. Les particules magnétiques peuvent être enrobées avec un polycation souvent à base de polyéthylèneimine, qui leur permet de s'associer aisément à l'ADN chargé négativement. La MF améliore jusqu'à plusieurs milliers de fois l'efficacité des vecteurs d'ADN viraux ou nonviraux.²³⁴ Une approche intéressante a également été proposée pour le traitement local des maladies du cerveau (maladie d'Alzheimer, maladie de Parkinson, méningite, encéphalite, tumeurs) avec des liposomes incorporant des nanoparticules de magnétite et des médicaments anti-inflammatoires. Ces liposomes sont internalisés sélectivement par des monocytes et neutrophiles circulants, qui deviennent ainsi magnétiques. Ces cellules phagocytaires sont ensuite dirigées vers le cerveau puis maintenues à cet endroit par application d'une aimantation permanente, ce qui fait que la concentration d'anti-inflammatoire est augmentée dans le cerveau.²³⁵ Cette étude a ouvert une approche originale pour franchir la barrière hémato-encéphalique.^{236, 237}

(2) Thérapie photodynamique

La thérapie photodynamique (TPD) a été découverte au début des années 1900 et a été approuvée par la « US Food and Drug Administration » (FDA) en tant que traitement pour un certain nombre de tumeurs malignes. La puissance de la TPD réside dans sa sélectivité, car

elle est basée sur la génération localisée d'oxygène singulet cytotoxique par photoactivation d'un photosensibilisateur non toxique. Le photosensibilisateur absorbe la lumière à une longueur d'onde convenable, et l'énergie absorbée est utilisée pour exciter l'oxygène vers un état singulet. L'oxygène singulet provoque l'oxydation et la dégradation des composants cellulaires.

Les nanoparticules (métalliques, semiconductrices, magnétiques...) peuvent être utilisées dans cette technique.^{238, 239} Par exemple, les QDs sont utilisés en TPD soit comme photosensibilisateurs eux-mêmes, soit pour l'activation d'un autre photosensibilisateur. En plus de leurs propriétés particulières, la fonctionnalisation des QDs permet d'atteindre des cibles précises.²⁴⁰⁻²⁴⁴ Les QDs peuvent être adaptées pour émettre dans le proche infrarouge, et peuvent donc être utilisés pour traiter les tumeurs profondes.

(3) Thermothérapie (hyperthermie, photothermie)

L'hyperthermie par induction magnétique est l'une des thermothérapies pour le traitement du cancer. Elle est basée sur l'exposition des tissus cancéreux à des champs magnétiques alternatifs. Ces derniers ne sont pas absorbés par les tissus vivants, et peuvent donc être appliqués à des régions profondes du corps vivant.²⁴⁵ Lorsque des particules magnétiques localisées autour de la tumeur sont soumises à de tels champs magnétiques oscillants, elles produisent de la chaleur. Les cellules cancéreuses sont détruites à une température supérieure à 43°C, tandis que les cellules normales peuvent survivre à des températures plus élevées.²⁴⁵⁻²⁴⁸

Le chauffage optique pour l'ablation des tumeurs offre une alternative plus douce. En employant des agents à forte absorption, la vitesse et l'efficacité peuvent être grandement améliorées, tout en réduisant les blessures non spécifiques aux tissus sains adjacents. L'absorption de la lumière par des nanoparticules d'or est suivie de la conversion rapide (~1ps) de la lumière absorbée en chaleur^{249, 250} et peut être exploitée de manière sélective pour la thermothérapie des tumeurs^{201, 251-254} et des infections bactériennes.²⁵⁵

III. Pourquoi les nanoparticules en solution ont tendance à s'agréger

Un des aspects importants de l'utilisation des nanoparticules en solution, est l'état des dispersions, qui doit être maintenu. Dans ce chapitre nous allons décrire les lois physiques qui contrôlent la stabilité et l'agrégation des colloïdes, puis décrire les stratégies les plus couramment employées pour l'éviter.

III-1. Description des forces en solution

On va s'intéresser aux différentes forces qui existent entre les particules en solution.

III-1.1. Les forces externes

Même dans une dispersion diluée où les particules sont idéalement isolées et se comportent comme des objets individuels, elles sont soumises à certaines forces.

- a) **Les forces inertielles** des molécules de solvant, donnant lieu aux mouvements Browniens. Cela peut être décrit en termes de coefficient de diffusion (D) des particules par la formule de Stokes-Einstein :

$$D = \frac{kT}{f} \quad 1.2$$

avec $f = 6\pi\eta a$ pour des particules sphériques 1.3

où k est la constante de Boltzman, T est la température absolue, f est le coefficient de frottement de la particule dans le solvant, η est la viscosité du solvant et a le rayon de la particule.

- b) **Les forces gravitationnelles.** Les particules sont soumises au champ gravitationnel terrestre, ainsi qu'à la force d'Archimède. Cependant, pour des particules de petites tailles, le mouvement Brownien va dominer l'effet des forces gravitationnelles. Ces forces seront négligées par la suite.

III-1.2. Les forces inter-particules

a) Force d'attraction de Van der Waals

Les molécules ayant un dipôle permanent s'attirent quand il y a alignement des dipôles. Elles peuvent également induire un dipôle dans un atome ou une molécule neutre adjacente, et provoquer l'attraction. Le mouvement des électrons dans un atome provoque également des dipôles fluctuants. Les dipôles oscillants des atomes adjacents se couplent, car il est plus favorable énergétiquement d'être oscillant à l'unisson. Ceci conduit à ce qu'on appelle les interactions de London. C'est l'interaction qui est responsable du comportement non idéal des gaz inertes.

Dans le cas des nanoparticules, qui sont composées d'un grand nombre d'atomes, le résultat est une interaction à « longue » portée, beaucoup plus grande que l'interaction entre deux atomes isolés. La portée de cette interaction est comparable aux rayons des particules colloïdales. Cette force attractive entre particules est appelée force de Van der Waals.

On peut décrire mathématiquement l'énergie potentielle d'attraction entre deux particules sphériques adjacentes due aux forces de Van der Waals. Le début du calcul est dû à Hamaker et de Boer. La méthode consiste à additionner les interactions d'un atome dans une particule avec chaque atome de l'autre particule. L'interaction est ensuite propagée sur tous les atomes dans la première particule.

L'énergie potentielle d'attraction est directement proportionnelle au rayon de la particule (a) et à une constante dépendante du matériau, appelée la constante de Hamaker (A).

$$V_A = -\frac{A}{12} \left(\frac{1}{x(x+2)} + \frac{1}{(x+1)^2} + 2 \ln \frac{x(x+2)}{(x+1)^2} \right) \quad \text{où } x = \frac{h}{2a} \quad 1.4$$

où « h » est la distance de séparation entre les particules.

Si la séparation entre les particules devient petite devant le rayon des particules ($h \ll a$), l'équation précédente se réduit à :

$$V_A = -\frac{Aa}{12h^3} \quad 1.5$$

Le potentiel est alors inversement proportionnel à la distance de séparation entre les deux particules.

La constante de Hamaker est une fonction de la polarisabilité électronique, et de la densité du matériau. Quand les particules sont immergées dans un milieu (solvant...), l'attraction entre les particules est plus faible que dans le vide. La constante combinée ou composée, peut être estimée comme étant la moyenne géométrique, de celle de la particule ($A_{particule}$) et celle du milieu ($A_{solvant}$), à l'égard de leurs valeurs dans le vide. Ce qui devrait être utilisé dans le calcul du potentiel d'attraction est alors :

$$A = \left(\sqrt{A_{particule}} - \sqrt{A_{solvant}} \right)^2 \quad 1.6$$

b) Forces structurelles

En outre, il y a d'autres forces, qualifiées de forces 'structurelles', entre les particules. Lorsque deux particules s'approchent au contact l'une de l'autre, il y a forcément un chevauchement de leurs régions interfaciales qui subissent des perturbations structurelles (par exemple le déplacement des molécules d'eau de la zone de chevauchement vers l'extérieur). Ce chevauchement sera accompagné, soit d'une augmentation (répulsion) ou une d'une diminution (attraction) de l'énergie libre.

III-2. Théorie thermodynamique de la flocculation

Afin de parvenir à une stabilité à long terme, les dispersions doivent être thermodynamiquement stables. C'est le cas quand la différence d'énergie libre ΔF_{floc} entre la suspension flocculée et la dispersion est positive. ΔF_{floc} est définie selon :

$$\Delta F_{floc} = \Delta U_{floc} - T \Delta S_{floc} \quad 1.7$$

Où ΔU_{floc} et ΔS_{floc} sont l'énergie et l'entropie de flocculation, respectivement. Ces deux valeurs sont négatives. ΔU_{floc} à laquelle correspondent les forces interparticules est lié à l'énergie par paire de contact (u) dans un floc. ΔS_{floc} est relié au nombre de particules. Donc le système floccule lorsque le gain en énergie (ΔU_{floc}) est supérieur à la perte entropique ($T \Delta S_{floc}$). En général, u doit être assez faible pour conserver une dispersion thermodynamiquement stable.

III-3. La théorie DLVO (Derjaguin, Landau, Verwey, Overbeek)

La théorie DLVO est une théorie cinétique et microscopique, qui relie la stabilité colloïdale au potentiel d'interaction entre deux particules en solution.²⁵⁶ Comme nous l'avons vu dans les paragraphes précédents, ces particules sont soumises à des forces antagonistes, attractives et répulsives. Cette théorie suggère que la stabilité d'une particule dans une solution est dépendante de l'énergie d'interaction totale V_T . Elle reconnaît que V_T est l'équilibre de plusieurs contributions antagonistes. L'énergie potentielle résultante peut donc s'écrire :

$$V_T = V_A + V_R \quad 1.8$$

V_A est le potentiel d'attraction de Van der Waals déjà décrit (équation 1.5), et V_R est le potentiel de répulsion. Par exemple, dans le cas d'un potentiel répulsif purement électrostatique :

$$V_R = 2 \pi \varepsilon_0 \varepsilon_r a \xi^2 \exp(-\kappa D) \quad 1.9$$

où a est le rayon de la particule, ε_0 est la permittivité du vide, ε_r est la permittivité du solvant, κ est une fonction de la composition ionique et ξ est le potentiel de surface, appelé potentiel zêta. La superposition linéaire des deux contributions conduit à l'apparition d'un maximum dans la courbe de V_T (Figure I. 10). Cette théorie énonce donc qu'il existe une barrière énergétique limitant les collisions entre particules. Mais si les particules possèdent une énergie suffisante pour passer cette barrière énergétique, la force d'attraction devient dominante et peut les mettre en contact de manière irréversible. Si la barrière énergétique est suffisamment importante, la dispersion résistera à la floculation et le système colloïdal sera stable. Dans certaines situations, par exemple dans des concentrations à forte salinité, il peut y avoir un minimum secondaire créant une adhésion beaucoup plus faible et donc potentiellement réversible. Ces faibles floes sont suffisamment stables pour ne pas être cassés par le mouvement Brownien, mais peuvent se dissocier les uns des autres sous l'application d'une force extérieure comme une agitation vigoureuse.

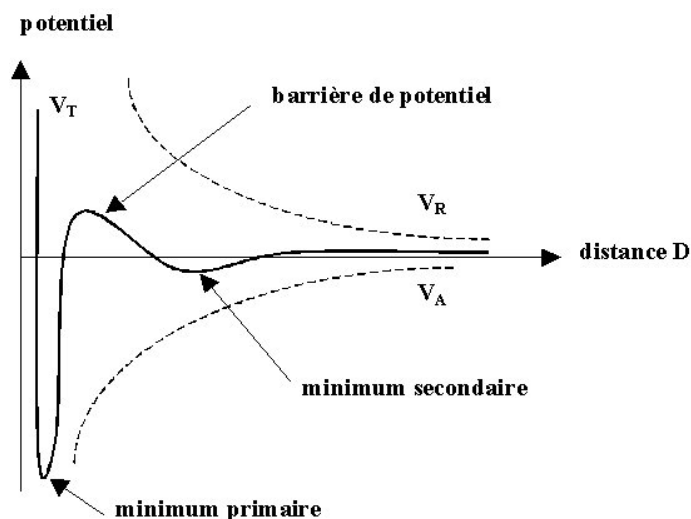


Figure I. 10 : Représentation schématique de la variation de l'énergie potentielle avec la distance interparticules.

Les paramètres qui jouent sur la stabilité sont le potentiel zêta ξ , la longueur de Debye κ^{-1} et la température. L'augmentation des charges en surface se traduit par l'augmentation de ξ , et par conséquent par celle du potentiel répulsif. La longueur de Debye κ^{-1} correspond à une position où la variation d'énergie électrostatique depuis la surface est égale à $k_B T$, et elle varie comme l'inverse de la racine carrée de la concentration en électrolyte. Si elle diminue, le potentiel de répulsion V_R diminue également et les nanoparticules se déstabilisent. Enfin, si l'énergie thermique est élevée, la barrière d'énergie peut être passée et on observe alors la déstabilisation des nanoparticules.²⁵⁷

IV. Stratégies de stabilisation de nanoparticules en solution aqueuse

Afin de stabiliser des solutions colloïdales, on cherche à introduire des forces répulsives entre les particules qui s'opposent aux forces d'attraction de Van der Waals. Ceci se fait généralement par l'ajout d'agents stabilisants. La stabilisation d'une solution colloïdale peut s'effectuer de deux manières qui peuvent être complémentaires : par répulsion électrostatique ou stérique. Dans ce paragraphe, nous allons décrire ces différentes stratégies de stabilisation, et les exemples de stabilisation de nanoparticules dans l'eau qui apparaissent dans la littérature.

Stabilisation électrostatique. La répulsion électrostatique est un phénomène important pour la dispersion des nanoparticules dans l'eau, et plus généralement dans tout solvant polaire. Elle résulte de la répulsion entre deux surfaces de même charge. Cependant, le

potentiel ainsi créé n'est pas un simple potentiel d'interaction Coulombien, car il faut tenir compte de la présence d'ions en solution qui vont limiter la portée de la répulsion à une longueur κ^{-1} appelée longueur de Debye (ou épaisseur de la double couche).

Stabilisation stérique. Le second moyen de protéger les particules de l'agrégation est la répulsion stérique. Il s'agit d'ajouter de grosses molécules encombrantes, typiquement des polymères, qui forment une couche protectrice à la surface des nanoparticules. Cette couche interdit la mise en contact directe des surfaces des particules. Si l'épaisseur de la couche est suffisante, les forces de Van der Waals sont trop faibles pour attirer les particules.

Stabilisation électrostérique. La combinaison des deux stratégies de stabilisation précédentes peut avoir lieu, si les ligands utilisés sont encombrants et portent des charges. On parle alors de stabilisation électrostérique.

IV-1. Stratégies de stabilisation de nanoparticules dans l'eau : état de l'art

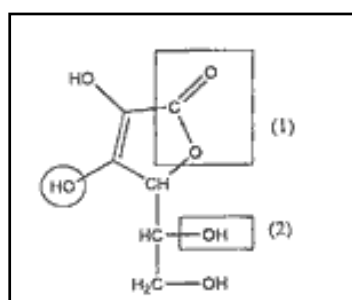
Il existe essentiellement trois stratégies pour préparer des nanoparticules dans l'eau. La première consiste à opérer la réduction des sels précurseurs directement dans l'eau. Dans ce cas on utilise le plus souvent de petites molécules organiques, qui servent à la fois de réducteur et de stabilisant. Une autre voie consiste à préparer les nanoparticules en solvant organique, en présence d'un ligand qui sert à limiter leur croissance, ce qui produit généralement des particules de taille mieux définie. Ensuite, on procède soit par échange de ligands, soit en recouvrant le ligand d'un stabilisant supplémentaire ayant une meilleure affinité pour l'eau. La stratégie de transfert des nanoparticules vers l'eau, par échange de ligands a été proposée par l'équipe de Schmid, et consistait en l'échange d'un ligand phosphine hydrophobe par un analogue hydrophile.²⁵⁸ Cette stratégie a souvent été utilisée dans le cas de nanoparticules d'or synthétisées en solvant organique en présence d'alkanethiolates, puis transférées dans l'eau par échange avec d'autres alkanethiolates fonctionnalisés avec des groupements hydrophiles.

Dans la suite, nous allons présenter les principales classes de molécules utilisées pour la stabilisation de nanoparticules en milieu aqueux. Ces exemples illustreront le cas de la synthèse directe dans l'eau et le cas du transfert dans l'eau.

IV-1.1. Composés organiques dérivés d'alcool ou d'amine

Les nanoparticules métalliques (or, argent, platine...) sont souvent formées par réduction, en utilisant comme réducteur de petites molécules contenant souvent un ou plusieurs groupements acides carboxyliques, et un groupement amine ou alcool. Souvent c'est l'alcool ou l'amine qui s'oxyde, permettant de réduire les précurseurs métalliques, les fonctions carboxyliques permettant l'interaction avec la surface des particules. Ainsi le citrate de sodium $(\text{NaOOC-CH}_2)_2\text{-COH-COONa}$ est très couramment utilisé pour la réduction de sels métalliques dans l'eau. Ces molécules se trouvent adsorbées à la surface des nanoparticules en formation, et empêchent leur agrégation par répulsion électrostatique. D'autres molécules à base d'acide aminé (tel que l'acide glutamique, la tyrosine, l'arginine) peuvent être utilisées pour remplacer le citrate dans la synthèse des nanoparticules métalliques dans l'eau.^{259, 260} Andreescu a également synthétisé des nanoparticules d'or stables dans l'eau par réduction de l'acide tetrachloraurique avec l'acide ascorbique $(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6)$ (Figure I. 11a).²⁶¹ Plus récemment des nanoparticules d'or et d'argent ont été synthétisées en utilisant « l'acide gallique » comme agent réducteur et stabilisant électrostatique à la fois. Cette molécule, biocompatible, est capable de former des liaisons hydrogène avec ses semblables à la surface des nanoparticules, ce qui assure une meilleure stabilité (Figure I. 11b).²⁶²

a)



b)

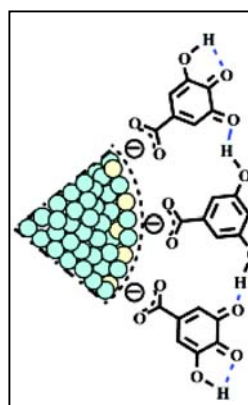


Figure I. 11 : La formule semi-développée de l'acide ascorbique. Les propriétés acido-basiques de cette molécule sont dues à l'hydrogène du groupe caractéristique (ou fonctionnel) entouré par un cercle (énol) (a). Représentation de l'interaction électrostatique du groupement carboxylate de l'acide gallique, et des liaisons hydrogène entre les stabilisant (b).²⁶²

Liu a publié une synthèse « chimie verte » de nanoparticules d'or dans l'eau (pH ~ 7), en utilisant le β-D-glucose comme agent réducteur et stabilisant à la fois. Les particules obtenues ont été étudiées comme catalyseur pour la réduction du 4-nitrophénol.²⁶³

IV-1.2. Stabilisation par des ligands dérivés de thiols

Les dérivés de thiol (R-SH où R est un groupement alkyle) sont des ligands très couramment utilisés pour la stabilisation des nanoparticules (métalliques, oxydes, ou QDs) en solution aqueuse ou organique. Ces composés forment des liaisons iono-covalentes avec la surface des particules (particulièrement avec l'or).

La stabilisation de nanoparticules d'or avec des alkanethiols a été signalée pour la première fois en 1993 par Mulvaney et Giersig.²⁶⁴ Ces auteurs ont utilisé des thiols de différentes longueurs de chaîne comme agent stabilisant dans l'eau, ainsi que dans des solvants organiques. Ensuite, une méthode de synthèse de nanoparticules dans deux phases liquide-liquide a été proposée par Brust et Schiffrin 1994,²⁶⁵ aboutissant à des nanoparticules redispersable dans des solvants organiques. Cette technique s'inspire du système en deux phases de Faraday.²⁶⁶ Il s'agit de transférer le sel d'or (AuCl₄⁻) de l'eau au toluène par le bromure de tetraoctylammonium. Ensuite la réduction a lieu dans le toluène par ajout de NaBH₄ en présence de dodécane-thiol comme agent stabilisant (Schéma 1). Cette technique a permis pour la première fois de former de manière simple des nanoparticules stables à l'air, et de contrôler leur taille et leur polydispersité (entre 1,5 et 5,2 nm). De plus, les nanoparticules formées peuvent être isolées puis redispersées dans un solvant organique sans que leur agrégation ou leur décomposition ne soient observées. Elles peuvent aussi être fonctionnalisées comme de simples composés organiques.

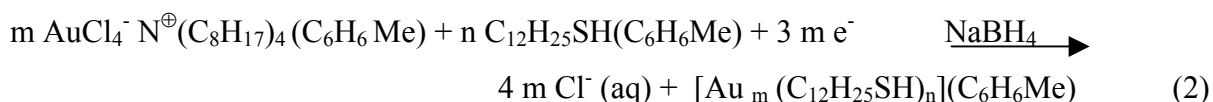


Schéma 1. Equations de formation de nanoparticules d'or par transfert de phase, en présence de dodécane-thiol, selon la méthode de Brust et Schiffrin.

Ensuite, ces auteurs ont adapté cette synthèse en utilisant le p-mercaptophénol qui permet d'éviter l'extraction et d'opérer la réaction dans une seule phase (méthanol).²⁶⁷ Les nanoparticules résultantes sont solubles dans l'alcool et dans l'eau à pH > 13. Ces procédés ont eu un impact considérable sur l'ensemble du domaine, et ont ouvert la voie à la synthèse de AuNPs stabilisées par des ligands fonctionnels à base de thiols, dispersables dans l'eau.

Par la suite, de nombreuses publications sont apparues, utilisant les méthodes de Brust-Schiffrin, généralisées à des thiols modifiés avec une tête hydrophile, et permettant l'obtention de nanoparticules dispersables dans l'eau.²⁶⁸ Parmi les exemples qui ont donné de bons résultats, on trouve les molécules représentées dans la Figure I. 12. De tels ligands sont très souvent utilisés pour stabiliser des nanoparticules d'or, d'argent, ou de platine³⁰⁶ synthétisées soit par la méthode de Brust-Schiffrin, soit directement dans l'eau. Leur groupement carboxylique terminal peut être utilisé pour plus de réactivité pour fonctionnaliser ces nanoparticules avec d'autres molécules.²⁶⁹ Des polymères à base de thiols sont également utilisés.^{270, 271} On trouve par exemple le polyéthylène glycol thiolé,²⁷² tel que le α -methoxy-mercapto-poly(éthylène glycol) (HS-(CH₂-CH₂-O)_n-CH₃),²⁷³ et des R-(CH₂-CH₂-O)_n-SH (avec R un groupement fonctionnel tel que le trifluoroester).²⁷⁴

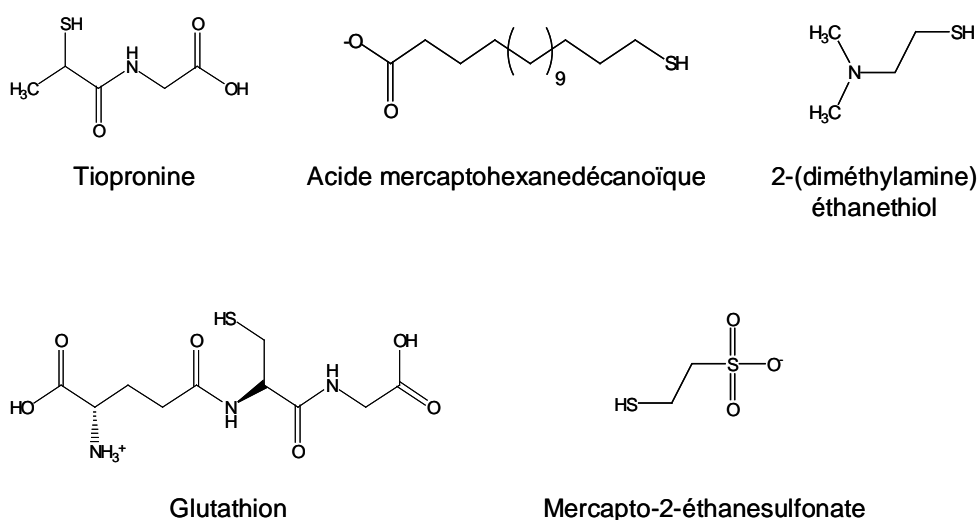


Figure I. 12 : Représentation de quelques ligands à base de thiol décrits comme stabilisants de nanoparticules d'or en milieu aqueux^{275-279 280-284} la Tiopronine,²⁸⁵ et le glutathion,²⁸⁶ sont des composés naturels.

Yonezawa et son équipe²⁸⁷ ont proposé une synthèse de nanoparticules d'or en milieu aqueux par addition simultanée de l'agent réducteur (citrate) et du stabilisant, le 3-mercaptopropionate (MPA). La taille des particules est contrôlée par le rapport MPA/Au (Figure I. 13).

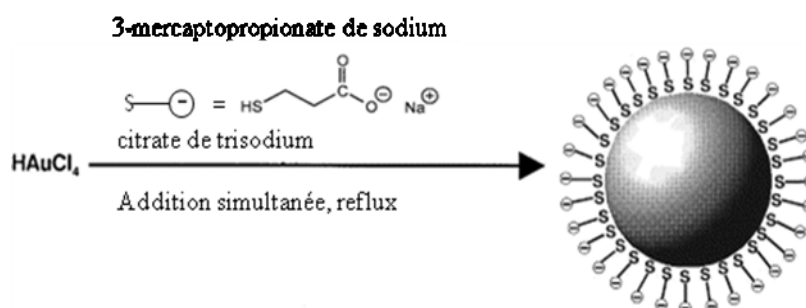


Figure I. 13 : Procédure de préparation de nanoparticules d'or stabilisées par le 3-mercaptopropionate.²⁸⁷

Les QDs peuvent également être synthétisés dans l'eau en utilisant des dérivés de thiols comme agents stabilisants pendant la synthèse.^{288, 289} La première synthèse de nanoparticules de CdTe en milieu aqueux stabilisées avec du mercaptoethanol et thioglycerol (1-mercaptopropane-2,3-diol) est parue en 1996.^{290, 291} Les principaux thiols utilisés sont : l'acide mercaptoacétique ($\text{HOOC}-\text{CH}_2\text{SH}$), des thioalcools $\text{SH}-(\text{CH}_2)_x-\text{OH}$, le chlorure de β -mercaptoethylamine ($\text{SHCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2, \text{HCl}$),²⁹² des dérivés d'acides carboxyliques,²⁹³⁻²⁹⁶ la cystéine,²⁹⁷ le glutathion,^{298, 299} ainsi que des oligonucléotides à extrémité thiol.

Les groupes de Murray et de Rotello ont utilisé un processus similaire à celui proposé par Schmid avec les phosphines, pour effectuer un échange partiel de ligands thiols à la surface de nanoparticules d'or.³⁰⁰⁻³⁰⁴ Gittins et Caruso ont transféré des nanoparticules d'or, d'argent, de platine et de palladium d'un solvant organique dans l'eau par addition de thiols fonctionnalisés par un acide carboxylique, comme l'acide 11-mercaptoundécane.³⁰⁵ Le groupe d'Hutchison a proposé de transférer des nanoparticules d'or du chloroforme dans l'eau en remplaçant les ligands phosphines utilisés au cours de la synthèse, par deux ligands dérivés de thiols cationique $\text{SH}(\text{CH}_2)_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$ et anionique $\text{SH}(\text{CH}_2)_2\text{SO}_3^-$.³⁰⁶ Des thiols pégylés peuvent se substituer aux thiols hydrophobes à la surface des nanoparticules (Figure I. 14) et former des nanoparticules stables en milieux aqueux, dans une grande gamme de pH et en présence de protéine.^{307, 308}

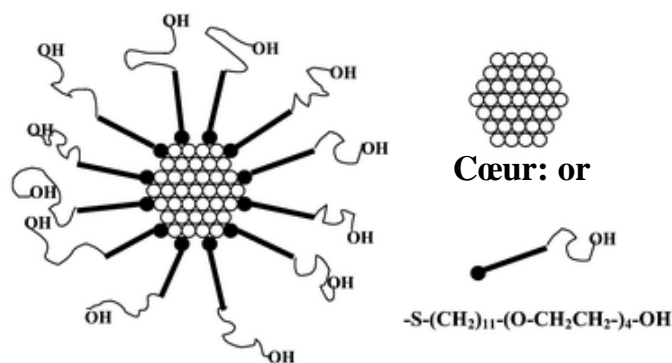


Figure I. 14 : Schéma de nanoparticules d'or stabilisées par une monocouche de monohydroxy(1-mercaptoundecyl) tétraéthylèneglycol. La chaîne alkyle hydrophobe confère une grande stabilité aux clusters d'or, tandis que la partie hydrophile assure la solubilité dans l'eau.³⁰⁸

En ce qui concerne les QDs, des stratégies d'échange de ligands impliquant des thiols ont également été explorées. Ainsi Talapin a transféré des QDs (CdSe, CdTe) initialement formés dans l'hexane, par échange partiel de dodecylamine avec du chlorure de N,N-diméthyl-2-mercaptoéthylammonium.³⁰⁹ Nie a transféré des QDs formés dans du chloroforme vers l'eau, en utilisant l'acide mercaptoacétique. Ensuite ces nanoparticules sont conjuguées par des protéines pour des applications en biologie.⁶⁴ De façon alternative, des dérivées d'acides, et des peptides riches en cystéine (acide aminé portant un soufre qui interagit fortement avec à la surface des nanoparticules)³¹⁰ peuvent être utilisée pour transférer dans l'eau des nanoparticules de QDs initialement recouverts d'oxyde de tryoctylphosphine (TOPO).³¹¹⁻³¹³

IV-1.3. Stabilisation par des acides aminés et peptides

Il existe une grande variété de molécules aminées, notamment de biomolécules comme les acides aminés,³¹⁴⁻³¹⁷ les peptides³¹⁸⁻³²⁰ et les protéines,³²¹ qui peuvent former des liaisons à la surface des nanoobjets, par l'intermédiaire de groupement amine. Gittins a transféré des nanoparticules d'or et de palladium stabilisées par du bromure de tetraoctylammonium du toluène vers l'eau par échange de ligand avec la 4-diméthyl-aminopyridine. Ces dernières restent stables avec aucun signe de dégradation ou d'agrégation après 6 mois.³²² D'autres possibilités sont basées sur l'utilisation de petites molécules d'acides aminés.³²¹

Une première possibilité est de synthétiser les nanoparticules par réduction avec du $NaBH_4$ puis d'ajouter les molécules d'acides aminés.^{323, 324} En effet, ces dernières existent dans l'eau sous formes de zwitterions, qui peuvent être adsorbés aux surfaces des nanoparticules et les

stabiliser électrostatiquement dans l'eau. L'autre possibilité consiste à complexer des ions de métaux nobles avec de petits acides aminés puis d'ajouter le NaBH_4 pour former les nanoparticules.³¹⁸

IV-1.4. Stabilisation par des cyclodextrines et leurs dérivées

Les cyclodextrines sont des oligosaccharides cycliques et hydrosolubles (Figure I. 15) capables former un complexe d'inclusion avec des chaînes aliphatiques disposées à la surface des nanoparticules. Ce mécanisme peut être utilisé pour transférer les nanoparticules du solvant organique dans l'eau.

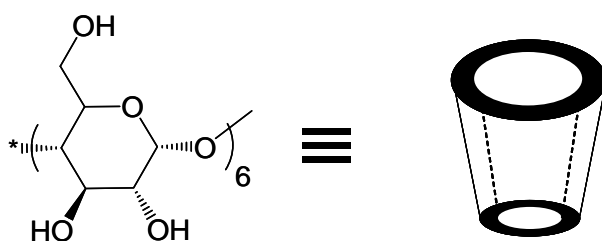


Figure I. 15 : Formule et représentation schématique d'une α -cyclodextrine.

Wang et son équipe ont par exemple transféré, de l'hexane vers l'eau, des nanoparticules de fer ou d'argent stabilisées par l'acide oléique.³²⁵ La solution aqueuse obtenue est très stable, mais reste sensible à un effet de sel. Par ailleurs, le groupe de Giuffrida a très récemment synthétisé en une seule étape des nanoparticules de platine stabilisées par une β -cyclodextrine.³²⁶ Les nanoparticules sont trop grosses (2 nm) pour être encapsulées dans les cavités de la cyclodextrine (0,78 nm), et ce sont les interactions hydrophobe-hydrophobe existant entre les nanoparticules et les cavités qui permettent la stabilisation. On trouve aussi, des nanoparticules de palladium synthétisées dans le diméthylformamide en présence de β -cyclodextrine thiolé comme agent stabilisant, ce qui permet la redispersion dans l'eau.³²⁷⁻³²⁹

IV-1.5. Stabilisation par des molécules amphiphiles

Les molécules amphiphiles (ou tensioactifs) possèdent une partie hydrophobe (chaîne carbonée) et une partie hydrophile (tête polaire). Dans l'eau, elles peuvent former spontanément des assemblages stables : (micelles, membranes bicouches...). Ces objets sont utilisés pour la solubilisation des produits hydrophobes. Certains tensioactifs ont été utilisés comme stabilisants de surface et/ou des gabarits pour la synthèse de nanoparticules. Ces derniers, en se liant avec la surface de nanoparticules, et en diminuant l'énergie de surface, contrôlent la croissance et la forme des particules, tout en agissant comme stabilisateurs contre l'agrégation.³³⁰

Le plus souvent, la surface des nanoparticules est en contact avec la tête polaire des tensioactifs. Les nanoparticules peuvent alors être rendues solubles dans un solvant aqueux par formation d'une bicouche de tensioactif (Figure I. 16). Dans ce cas on utilise soit un excès du même amphiphile,³³¹⁻³³⁵ soit on forme une bicouche interpénétrée en ajoutant une seconde espèce de tensioactifs.^{336, 337}

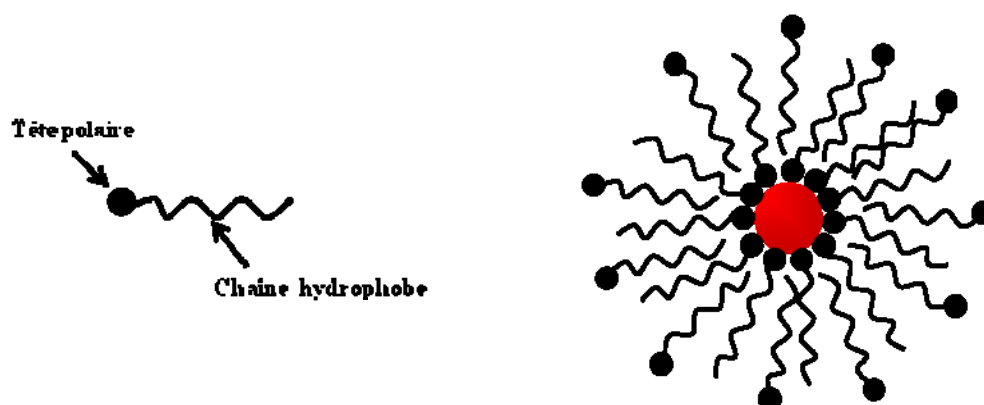


Figure I. 16 : Schéma représentatif d'un tensioactif et du principe de formation de bicouche à la surface des nanoparticules, permettant la solubilisation en milieu aqueux.

Par ce principe, l'équipe de Sastry emploie par exemple des acides gras (acide laurique) pour stabiliser des nanoparticules d'argent en milieu aqueux.³³⁸ Lorsque l'acide laurique est en excès, la formation d'une seconde couche interpénétrée avec la première permet la solubilisation dans l'eau. La formation de la bicouche interpénétrée est facilitée par la haute courbure de la surface des nanoparticules. De même, Shen synthétise des nanoparticules

d'oxydes de fer stabilisées dans l'eau par une bicouche d'acide gras.^{339, 340} Zhang synthétise des nanoparticules d'or dans l'eau, protégées par une bicouche lipidique de bromure de dodécyltriméthylammonium (DDAB), par réduction *in situ* de HAuCl_4 avec du NaBH_4 .³⁴¹

Sur le même principe, notre équipe stabilise des nanoparticules dans l'eau, en utilisant des bolaamphiphiles (molécules tensioactives avec deux têtes polaires aux extrémités, et une chaîne hydrophobe centrale). L'une des têtes polaires interagit avec la surface des nanoparticules, l'autre permet la solubilisation dans l'eau (Figure I. 17).³⁴²

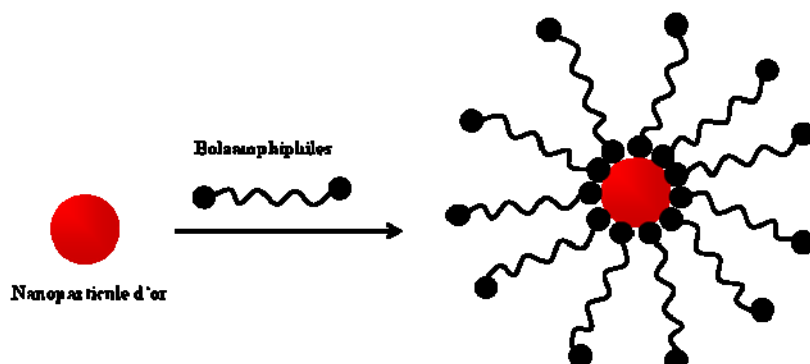
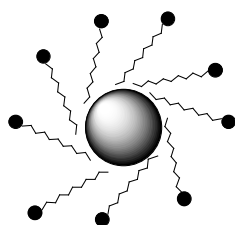


Figure I. 17 : Schéma montrant la stabilisation des nanoparticules d'or par des bolaamphiphiles.

Les tensioactifs permettent également la dispersion de particules hydrophobes,³⁴³ métalliques, et également de matériaux semi-conducteurs comme le CdS, PbS, AgCl et Fe_2O_3 . On peut aussi former les nanoparticules par réduction du précurseur hydrophobe solubilisé au cœur d'une micelle de tensioactif. Ainsi l'équipe de Yonezawa a notamment reporté la stabilisation en milieu aqueux de nanoparticules de platine par des bromures de triméthylammonium et un tensioactif non ionique, le monolaurate de polyéthylène glycol (Figure I. 18).³⁴³

a)



b)

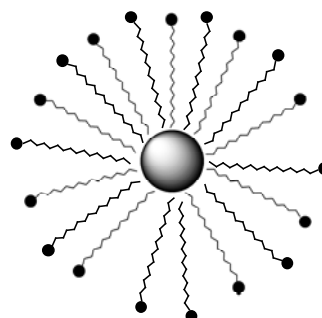


Figure I. 18 : Modèles possibles de nanoparticules de platine stabilisées par des tensio-actifs cationiques. a) tensio-actif à chaîne alkyle courte ; b) tensio-actif à chaîne alkyle longue.

IV-1.6. Stabilisation par des polymères

Les polymères sont très souvent utilisés pour la stabilisation et/ou la synthèse des nanoparticules dans l'eau. Ils peuvent s'adsorber à la surface des nanoparticules et empêcher stériquement et/ou électrostatiquement leur agrégation. On note que dans le cas des polymères, plusieurs situations peuvent avoir lieu : le polymère peut simplement complexer le précurseur métallique, ou jouer le rôle d'un complexant et d'un agent réducteur à la fois ou encore s'adsorber sur des nanoparticules pré-synthétisées. On va discuter les exemples de stabilisation et/ou synthèse des nanoparticules dans l'eau, par les polymères/copolymères linéaires, hyperbranchés, et amphiphiles.

IV-1.6.a) Stabilisation avec des polymères linéaires

Le polyacrylamide et l'acide polyacrylique sont utilisés comme agent stabilisant pour des nanoparticules d'or³⁴⁴ ou de dioxyde de titane (TiO₂)³⁴⁵ pré-synthétisées dans l'eau. Certains polymères comme le poly (éthylène glycol) (PEG), et poly(vinyl alcool),³⁴⁶ le polyacrylamide, le poly(vinyl-pyrrolidone) (PVP), le dextran... peuvent être utilisés à la fois comme agent réducteur et stabilisant pour la synthèse de différents types de nanoparticules dans l'eau.³⁴⁷⁻³⁵¹

Différents polymères à blocs ont été également utilisés. Ainsi, le « polyoxyéthylène-polyéthylène imine » (PEO-b-PEI) forme des agrégats de type micelles dans l'eau s'il est complexés avec des sels métalliques d'or, de platine ou de palladium. Ensuite, la réduction des sels métalliques permet d'obtenir des nanoparticules stables dans l'eau. Dans le cas de l'or, les nanoparticules se forment spontanément sans ajout d'agent réducteur (Figure I. 19).³⁵² La même stratégie peut être utilisée avec le poly (vinyl pyridinium)-poly(oxyéthylène).³⁵³

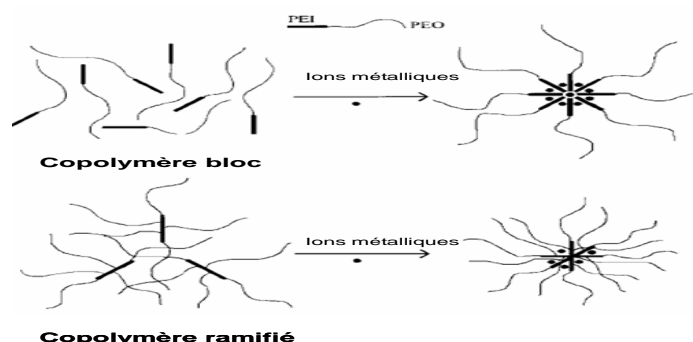


Figure I. 19 : Schéma de formation de « micelles » de copolymères diblocs PEO-b-PEI en présence d'ions métalliques.

nanoparticules est également une possibilité intéressante, puisqu'ils sont solubles dans l'eau et peuvent de plus réduire les ions métalliques.³⁶⁰⁻³⁶⁴

Les nanoparticules formées en présence de polyélectrolytes sont cependant souvent assez grosses et polydisperses, et les derniers travaux sur ce sujet visent à pallier à ces inconvénients. La polyaniline (PANI),³⁶⁵ le polyterthiophène, le polydithiafulvène ou encore le poly(diallyldiméthylammonium) (PDDA),^{366, 367} poly(allylamine chloré),³⁶⁷ poly(styrène sulfonate),³⁶⁸ le polyphosphate... sont souvent utilisés. Les équipes de Chen³⁶⁶ et Li³⁶⁵ sont par exemple parvenues récemment à obtenir des nanoparticules de dispersité et de taille raisonnables suivant une méthode simple en une seule étape dans laquelle le polymère (PDDA) protège les nanoparticules d'or et joue également le rôle du réducteur. Le PDDA est le premier polyélectrolyte d'ammonium quaternaire à être utilisé dans ce but, ce qui suppose que cette méthode peut être étendue aux polyélectrolytes de la même famille.

IV-1.6.b) Stabilisation par des polymères hyperbranchés

Les macromolécules hyperbranchées peuvent être mises à profit pour la formation de nanomatériaux. En effet, en utilisant leurs nombreuses fonctions accessibles pour complexer les ions, elles permettent de créer de fortes concentrations locales propices à la formation de nanoparticules. De plus, le choix adapté des fonctions périphériques permet le contrôle des interactions avec le milieu extérieur. Quelques exemples de l'utilisation des dendrimères et des polymères hyperbranchés, c'est-à-dire dont la ramification n'est pas contrôlée mais statistique, dans la formation et la stabilisation des nanoparticules dans l'eau, seront donnés dans la suite.

Dans le cas des dendrimères, la formation des nanoparticules s'effectue souvent en deux étapes : complexation des ions métalliques avec les fonctions du dendrimère puis réduction par un réducteur tel que le borohydrure de sodium.³⁶⁹ Le dendrimère se comporte comme une matrice où sont localisées les ions avant réduction, il permet de contrôler la taille et la forme des nanoparticules, et joue également le rôle d'un stabilisant nanoporeux qui empêche l'agglomération des particules formées (Figure I. 21).^{370, 371}

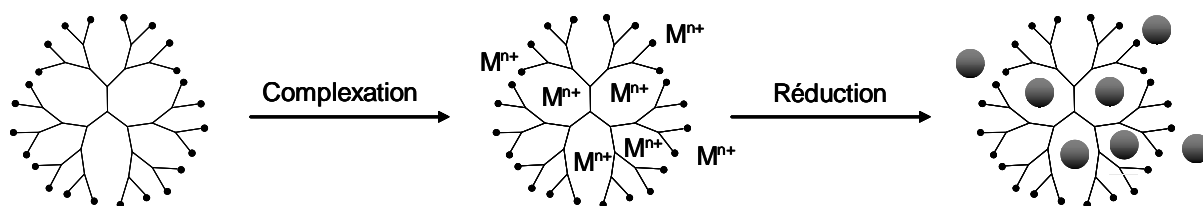


Figure I. 21 : Schéma de la formation de nanoparticules métalliques en présence d'un dendrimère.

L'étude de la stabilisation de nanoparticules de cuivre, de platine, d'or, de palladium, mais aussi semiconductrices et bimétalliques synthétisées *in situ* en présence des dendrimères polyamidoamine (PAMAM) et/ou poly(propylèneimine) (PPI) a fait l'objet de nombreuses publications.^{369, 371-373} La fonctionnalisation ou la modification des fonctions amines terminales a conduit à de nouvelles classes de stabilisants (tels que PAMAM-COOH, PAMAM-sucre...). Les particules stabilisées par des dendrimères sont aussi utilisées pour la catalyse dans l'eau,³⁷¹ ou pour réduire leur cytotoxicité.^{374, 375}

Les exemples de nanoparticules métalliques stabilisées par des polymères hyperramifiés en milieu aqueux sont encore peu nombreux. Le groupe de Kuo montre cependant que le polymère hyperramifié poly(allylamine) sur lequel est greffé le PEI (PAA(EI)n) est un meilleur stabilisant pour des nanoparticules d'argent que le polymère linéaire de structure similaire PAA.³⁷⁶ De même, ils ont synthétisé des nanoparticules de cuivre stables dans l'eau en présence de polyéthylène amine poly(oxypropylène diamine) hyperbranché.³⁷⁷ Notre équipe a utilisé des polymères hyperbranchés analogues de PAMAM,^{378, 379} et également des PEI avec des groupements terminaux amines ou sucres, pour synthétiser et stabiliser des nanoparticules métalliques (Cu, Ag, Au et Pt) dans l'eau.³⁸⁰

IV-1.6.c) Stabilisation par des polymères amphiphiles

Les copolymères à bloc, constitués de blocs hydrophobes et hydrophiles, possèdent un caractère amphiphile similaire aux tensioactifs. Ils peuvent donc s'adsorber à des interfaces hydrophiles/hydrophobes ou former des objets en solution (micelles, vésicules, nanosphères...).³⁸¹ La formation de nanoparticules métalliques, d'oxydes métalliques, et de chalcogènes métalliques dans des nanostructures de polymères à bloc a reçu une attention considérable.^{382, 383} Dans la plupart des cas, la formation des particules est réalisée en présence des polymères.³⁸⁴ Lorsque le polymère complexe les précurseurs métalliques, la

structuration en agrégats peut être modifiée. Quelques exemples de l'utilisation des polymères amphiphiles dans la synthèse et la stabilisation des nanoparticules dans l'eau seront donnés.

Le plus grand nombre d'exemples concerne l'utilisation de **micelles** de copolymères à blocs pour la synthèse de nanoparticules en milieu aqueux. Ainsi, Bronstein utilise des micelles de polymères amphiphiles à base de polybutadiène (PB) et de poly(oxyéthylène) comme des nanoréacteurs pour la formation de nanoparticules de platine et de palladium. Les doubles liaisons du PB complexent les sels métalliques, qui sont ensuite réduits pour former les nanoparticules. Park synthétise des nanoparticules d'or et de palladium dans des micelles de poly(2-ethyl-2-oxazoline)-b-poly(caprolactone).³⁸⁵ Dans ce cas, comme dans de nombreux autres, les particules sont formées dans le cœur des micelles. Cependant, il est également possible de former des particules dans la couronne hydrophile des micelles.³⁸⁶ Par exemple des QDs de CdS ont pu être obtenus dans la couronne de micelles de poly(styrene)-b-poly(vinylpyridinium).³⁸⁷

D'autres structures, plus complexes, à base de copolymères amphiphiles ont également permis l'obtention de nanoparticules en milieu aqueux. Ainsi, un polymère constitué de trois blocs différents peut se structurer en nanosphères.³⁸⁸ La réduction de sels de palladium au cœur de ces nanosphères a permis l'obtention de nanoparticules qui peuvent ensuite être dispersées dans l'eau. Par ailleurs, des nanoparticules d'or stables dans l'eau ont été formées dans des structures vésiculaires, résultant de l'association de diblocs contenant des peptides en hélice (hydrophobes) et un PEO (hydrophile).³⁸⁹ Dans un autre exemple, des composites polymères /nanoparticules ont été obtenus *via* l'auto-association de copolymères comportant un bloc hydrophobe poly(methyl methacrylate) et un bloc hydrophile (poly(diméthacrylate)) réticulé autour des ions Pb^{2+} . Ces copolymères forment de gros agrégats avec une couronne hydrophile riche en ions Pb^{2+} qui peuvent être aisément convertis en particules de PbS par simple bullage d' H_2S .³⁹⁰

Les polymères triblocs amphiphiles forment également des micelles – soit sphériques, soit cylindriques- qui peuvent être utilisées pour la synthèse de nanoparticules. Ainsi, des copolymères triblocs poly(acide acrylique)-poly(styrène)-poly(oxyéthylène) ont été utilisés dans la synthèse de nanofils de $CdTe$ ³⁹¹ et de nanoparticules de CdS.³⁹² Les triblocs amphiphiles les plus souvent utilisés et les plus largement étudiés pendant ces dernières années sont les Pluronics®. Ces polymères neutres à base de polyoxyéthylène (PEO) et polyoxypropylène (PPO) « PEO-PPO-PEO » sont disponibles dans une large gamme de

compositions (différentes longueurs de chaînes PEO, PPO, ainsi que plusieurs masses moléculaires). Quelques exemples de synthèses de nanoparticules assistées par des Pluronic sont reportés dans la littérature. Nous développerons en détail les propriétés des Pluronic et leurs applications à la synthèse des nanoparticules dans le chapitre 2.

IV-1.7. Stabilisation chimique.

Un autre problème dans les dispersions des nanoparticules, est la dégradation chimique des matériaux constitutifs. En effet dans le cas des nanomatériaux, le nombre d'atomes présents en surface est relativement grand, et donc susceptible de subir des attaques chimiques. Ce problème est particulièrement important avec des nanoparticules de métaux de transition tels que le fer, le nickel, ou le cobalt qui peuvent être facilement oxydés. De même les nanoparticules semi-conductrices telles que les chalcogenides métalliques (Te...) sont sensibles à l'air et peuvent être complètement dissoutes en présence d'oxygène ou de lumière. Cependant ce problème est souvent résolu par déposition chimique de métal moins sensible à l'oxydation (exemple platine sur cobalt),³⁹³ ou de silice, à la surface des nanoparticules,³⁹⁴⁻³⁹⁶ ce qui permet de former ce qu'on appelle des nanoparticules « core-shell ». ³⁹⁷ Dans notre cas, ce problème n'est pas très important car nous avons choisi l'or comme modèle de nanoparticule dans cette thèse (voir Chapitre 2). Ce dernier est stable chimiquement dans la plupart des environnements. On va donc par la suite se limiter à la stabilisation colloïdale.

V. Objectifs de la thèse

La thèse porte sur la stabilisation des nanoparticules métalliques dans l'eau. On a cherché à développer de nouvelles stratégies de stabilisation par des molécules amphiphiles. En effet, nous avons pensé que les interactions d'association entre les amphiphiles peuvent leur permettre de s'auto-organiser autour des particules et procurer une stabilisation efficace.

La stabilisation par des amphiphiles apporte un certain nombre d'avantages :

- On évite les liens covalents avec la surface des nanoparticules, ce qui permet de préserver leurs propriétés, et également d'éviter la modification de l'agent stabilisant. En effet, dans la plupart des cas, les stabilisants (polymère ou autre), se lient d'une manière covalente à la surface des nanoparticules, voire, sont utilisés comme agent réducteur.³⁵¹

- En l'absence de lien covalent, cette stratégie n'est pas spécifique à un type de particule, donc elle doit être généralisable à une grande variété de matériau.

On a choisi d'utiliser des polymères amphiphiles, essentiellement triblocs mais aussi des diblocs, comme agents stabilisants. En effet, les agrégats formés avec les polymères sont plus stables qu'avec des tensioactifs, car les dynamiques sont plus lentes. Dans ce but, on a choisi les Pluronic® de formule $(EO_x-PO_y-EO_x)$. Ces polymères amphiphiles neutres, sont commercialisés dans une large gamme de composition ce qui va nous permettre d'étudier l'effet de la structure sur la stabilisation.

Notons bien qu'on ne s'intéresse pas à la synthèse de nanoparticules **en présence** de polymère, mais qu'on cherche à trouver des procédés de stabilisation *à posteriori*. Pour cela on a donc synthétisé d'abord des nanoparticules de taille et de forme bien définie, sur lesquelles nous avons testé les différents stabilisants. Cette méthodologie permet de comparer l'effet stabilisant des différentes structures sur des particules parfaitement identiques, ce qui n'est jamais le cas dans les travaux reportés dans la littérature.

Dans cette thèse, on s'est intéressé tout d'abord à l'influence de la structure du polymère (taille, longueur des chaînes hydrophobes et hydrophiles) sur la stabilité colloïdale. Une comparaison de la stabilité en présence des triblocs PEO-PPO-PEO, et des diblocs PEO-PPO a également été effectuée. Ensuite, nous avons cherché à comprendre les associations nanoparticule/polymère en caractérisant leurs agrégats par plusieurs techniques physico-chimiques (DDL, SANS, TEM et Cryo-TEM). Des sondes hydrophobes sont solubilisées dans la zone hydrophobe des stabilisants. Enfin une étude préliminaire de cytotoxicité de ces systèmes sur des cellules de fibroblastes a été effectuée.

VI. Bibliographie

1. Henglein, A., Small-particle research: physicochemical properties of extremely small colloidal metal and semiconductor particles. *Chem. Rev* **1989**, 89, (8), 1861 - 1873.
2. Lahmani, M.; Dupas, C.; Houdy, P., Les nanosciences "Nanotechnologies et nanophysique" *Editions Belin* **2004**, Chapitre 7, 171-182.
3. Alivisatos, A. P., Nanocrystals: Building blocks for modern materials design. *Endeavour* **1997**, 21, (2), 56-60.
4. Rao, C. N. R.; Kulkarni, G. U.; Thomas, P. J.; Edwards, P. P., Size-dependent chemistry: Properties of nanocrystals. *Chemistry-a European Journal* **2002**, 8, (1), 29-35.
5. Alivisatos, A. P., Perspectives on the Physical Chemistry of Semiconductor Nanocrystals. *J. phys. Chem.* **1996**, 100, (31), 13226 - 13239.
6. Bruchez, M.; Moronne, M.; Gin, P.; Weiss, S.; Alivisatos, A. P., Semiconductor nanocrystals as fluorescent biological labels. *Science* **1998**, 281, (5385), 2013-2016.
7. Li, L. S.; Hu, J. T.; Yang, W. D.; Alivisatos, A. P., Band gap variation of size- and shape-controlled colloidal CdSe quantum rods. *Nano Letters* **2001**, 1, (7), 349-351.
8. Irimpan, L.; Nampoori, V. P. N.; Radhakrishnan, P.; Deepthy, A.; Krishnan, B., Size dependent fluorescence spectroscopy of nanocolloids of ZnO. *Journal of Applied Physics* **2007**, 102, (6), 0635241-6.
9. Bailey, R. E.; Smith, A. M.; Nie, S. M., Quantum dots in biology and medicine. *Physica E-Low-Dimensional Systems & Nanostructures* **2004**, 25, (1), 1-12.
10. Huynh, W. U.; Dittmer, J. J.; Tecler, N.; Milliron, D. J.; Alivisatos, A. P.; Barnham, K. W. J., Charge transport in hybrid nanorod-polymer composite photovoltaic cells. *Physical Review B* **2003**, 67, (11), 115326-1-12.
11. Kim, T. W.; Choo, D. C.; Shim, J. H.; Kang, S. O., Single-electron transistors operating at room temperature, fabricated utilizing nanocrystals created by focused-ion beam. *Applied Physics Letters* **2002**, 80, (12), 2168-2170.
12. Klein, D. L.; Roth, R.; Lim, A. K. L.; Alivisatos, A. P.; McEuen, P. L., A single-electron transistor made from a cadmium selenide nanocrystal. *Nature* **1997**, 389, (6652), 699-701.
13. Gudixen, M. S.; Maher, K. N.; Ouyang, L.; Park, H., Electroluminescence from a single-nanocrystal transistor. *Nano Letters* **2005**, 5, (11), 2257-2261.
14. Cui, Y.; Banin, U.; Bjork, M. T.; Alivisatos, A. P., Electrical transport through a single nanoscale semiconductor branch point. *Nano Letters* **2005**, 5, (7), 1519-1523.
15. Lahmani, M.; Dupas, C.; Houdy, P., Les nanosciences "Nanotechnologies et nanophysique" *Editions Belin* **2004**, Chapitre 11, 345-371.
16. Cui, T. H.; Hua, F.; Lvov, Y., FET fabricated by layer-by-layer nanoassembly. *Ieee Transactions on Electron Devices* **2004**, 51, (3), 503-506.
17. Sargentis, C.; Giannakopoulos, K.; Travlos, A.; Tsamakis, D., Electrical characterization of MOS memory devices containing metallic nanoparticles and a high-k control oxide layer. *Surface Science* **2007**, 601, (13), 2859-2863.
18. Koliopoulou, S.; Dimitrakis, P.; Normand, P.; Zhang, H. L.; Cant, N.; Evans, S. D.; Paul, S.; Pearson, C.; Molloy, A.; Petty, M. C.; Tsoukalas, D., Integration of organic insulator and self-assembled gold nanoparticles on Si MOSFET for novel non-volatile memory cells. *Microelectronic Engineering* **2004**, 73-74, 725-729.
19. Koliopoulou, S.; Dimitrakis, P.; Goustouridis, D.; Normand, P.; Pearson, C.; Petty, M. C.; Radamson, H.; Tsoukalas, D., Metal nano-floating gate memory devices fabricated at low temperature. *Microelectronic Engineering* **2006**, 83, (4-9), 1563-1566.

20. Koliopoulou, S.; Dimitrakis, P.; Goustouridis, D.; Chatzandroulis, S.; Normand, P.; Tsoukalas, D.; Radamson, H., A Si/SiGe MOSFET utilizing low-temperature wafer bonding. *Microelectronic Engineering* **2005**, 78-79, 244-247.
21. Tsoukalas, D.; Dimitrakis, P.; Koliopoulou, S.; Normand, P., Recent advances in nanoparticle memories. *Materials Science and Engineering B-Solid State Materials for Advanced Technology* **2005**, 124, 93-101.
22. Cardenas-Trivino, G., Chemical reactions at nanometal particles. *Journal of the Chilean Chemical Society* **2005**, 50, (3), 603-612.
23. Telkar, M. M.; Rode, C. V.; Chaudhari, R. V.; Joshi, S. S.; Nalawade, A. M., Shape-controlled preparation and catalytic activity of metal nanoparticles for hydrogenation of 2-butyne-1,4-diol and styrene oxide. *Applied Catalysis a-General* **2004**, 273, (1-2), 11-19.
24. Narayanan, R.; El-Sayed, M. A., Catalysis with transition metal nanoparticles in colloidal solution: Nanoparticle shape dependence and stability. *Journal of Physical Chemistry B* **2005**, 109, (26), 12663-12676.
25. Lewis, L. N., Chemical catalysis by colloids and clusters. *Chem. Rev.* **1993**, 93, (8), 2693 - 2730.
26. Aiken, J. D.; Lin, Y.; Finke, R. G., A perspective on nanocluster catalysis: Polyoxoanion and (n-C₄H₉N⁺ stabilized Ir(O) (similar to 300) nanocluster 'soluble heterogeneous catalysts'. *Journal of Molecular Catalysis a-Chemical* **1996**, 114, (1-3), 29-51.
27. Widgren, J. A.; Finke, R. G., A review of soluble transition-metal nanoclusters as arene hydrogenation catalysts. *Journal of Molecular Catalysis a-Chemical* **2003**, 191, (2), 187-207.
28. Zhang, J.; Yan, X. P.; Liu, H. F., Enantioselective hydrogenation of trifluoroacetophenone over polymer-stabilized platinum nanoclusters. *Journal of Molecular Catalysis a-Chemical* **2001**, 175, (1-2), 125-130.
29. Kraynov, A.; Richards, R., Enantioselective hydrogenation of ethyl pyruvate over diop modified Pt nanoclusters. Determination of geometry of the ligand adsorption mode via DRIFTS. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2007**, 9, (7), 884-890.
30. Lewis, L. N.; Lewis, N., Platinum-catalyzed hydrosilylation - colloid formation as the essential step. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, (23), 7228 - 7231.
31. Caporusso, A. M.; Panziera, N.; Pertici, P.; Pitzalis, E.; Salvadori, P.; Vitulli, G.; Martra, G., Hydrosilylation of aromatic nitriles promoted by solvated rhodium atom-derived catalysts. *Journal of Molecular Catalysis a-Chemical* **1999**, 150, (1-2), 275-285.
32. Corma, A.; Gonzalez-Arellano, C.; Iglesias, M.; Sanchez, F., Gold nanoparticles and gold(III) complexes as general and selective hydrosilylation catalysts. *Angewandte Chemie-International Edition* **2007**, 46, (41), 7820-7822.
33. Finney, E. E.; Finke, R. G., Is it homogeneous Pt(II) or heterogeneous Pt(0)(n) catalysis? Evidence that Pt(1,5-COD)Cl₂ and Pt(1.5-COD)(CH₃)₂ plus H₂ form heterogeneous, nanocluster plus bulk-metal Pt(0) hydrogenation catalysts. *Inorganica Chimica Acta* **2006**, 359, (9), 2879-2887.
34. Schmidt, T. J.; Noeske, M.; Gasteiger, H. A.; Behm, R. J.; Britz, P.; Brijoux, W.; Bonnemann, H., Electrocatalytic activity of PtRu alloy colloids for CO and CO/H₂ electrooxidation: Stripping voltammetry and rotating disk measurements. *Langmuir* **1997**, 13, (10), 2591-2595.
35. Komatsu, T.; Inaba, K.; Uezono, T.; Onda, A.; Yashima, T., Nano-size particles of palladium intermetallic compounds as catalysts for oxidative acetoxylation. *Applied Catalysis a-General* **2003**, 251, (2), 315-326.
36. Kogan, V.; Aizenshtat, Z.; Neumann, R., Preferential catalytic hydrogenation of aromatic compounds versus ketones with a palladium substituted polyoxometalate as pre-catalyst. *New Journal of Chemistry* **2002**, 26, (3), 272-274.

37. Narayanan, R.; El-Sayed, M. A., Effect of catalysis on the stability of metallic nanoparticles: Suzuki reaction catalyzed by PVP-palladium nanoparticles. *Journal of the American Chemical Society* **2003**, 125, (27), 8340-8347.
38. Li, Y.; Hong, X. M.; Collard, D. M.; El-Sayed, M. A., Suzuki cross-coupling reactions catalyzed by palladium nanoparticles in aqueous solution. *Organic Letters* **2000**, 2, (15), 2385-2388.
39. Zhu, Y. H.; Peng, S. C.; Emi, A.; Zhenshun, S.; Monalisa; Kemp, R. A., Supported ultra small palladium on magnetic nanoparticles used as catalysts for suzuki cross-coupling and heck reactions. *Advanced Synthesis & Catalysis* **2007**, 349, (11-12), 1917-1922.
40. Reetz, M. T.; Westermann, E., Phosphane-free palladium-catalyzed coupling reactions: The decisive role of Pd nanoparticles. *Angewandte Chemie-International Edition* **2000**, 39, (1), 165-168.
41. Dhas, N. A.; Gedanken, A., Sonochemical preparation and properties of nanostructured palladium metallic clusters. *Journal of Materials Chemistry* **1998**, 8, (2), 445-450.
42. Liu, P. L.; Huang, L.; Lu, Y. L.; Dilmeghani, M.; Baum, J.; Xiang, T. J.; Adams, J.; Tasker, A.; Larsen, R.; Faul, M. M., Synthesis of heterocycles via ligand-free palladium catalyzed reductive Heck cyclization. *Tetrahedron Letters* **2007**, 48, (13), 2307-2310.
43. Pachon, L. D.; van Maarseveen, J. H.; Rothenberg, G., Click chemistry: Copper clusters catalyse the cycloaddition of azides with terminal alkynes. *Advanced Synthesis & Catalysis* **2005**, 347, (6), 811-815.
44. Lin, P. C.; Ueng, S. H.; Yu, S. C.; Jan, M. D.; Adak, A. K.; Yu, C. C.; Lin, C. C., Surface modification of magnetic nanoparticle via Cu(I)-Catalyzed alkyne-azide [2+3] cycloaddition. *Organic Letters* **2007**, 9, (11), 2131-2134.
45. Astruc, D., Palladium nanoparticles as efficient green homogeneous and heterogeneous carbon-carbon coupling precatalysts: A unifying view. *Inorganic Chemistry* **2007**, 46, (6), 1884-1894.
46. Buxton, D. B.; Lee, S. C.; Wickline, S. A.; Ferrari, M., Recommendations of the National Heart, Lung, and Blood Institute Nanotechnology Working Group. *Circulation* **2003**, 108, (22), 2737-2742.
47. Parak, W. J.; Gerion, D.; Pellegrino, T.; Zanchet, D.; Micheel, C.; Williams, S. C.; Boudreau, R.; Le Gros, M. A.; Larabell, C. A.; Alivisatos, A. P., Biological applications of colloidal nanocrystals. *Nanotechnology* **2003**, 14, (7), R15-R27.
48. Riviere, C.; Roux, S.; Tillement, O.; Billotey, C.; Perriat, P., Nanosystems for medical applications: Biological detection, drug delivery, diagnosis and therapy. *Annales De Chimie-Science Des Materiaux* **2006**, 31, (3), 351-367.
49. Emerich, D. F.; Thanos, C. G., Nanotechnology and medicine. *Expert Opinion on Biological Therapy* **2003**, 3, (4), 655-663.
50. Klarreich, E., Biologists join the dots. *Nature* **2001**, 413, (6855), 450-452.
51. West, J. L.; Halas, N. J., Engineered nanomaterials for biophotonics applications: Improving sensing, imaging, and therapeutics. *Annual Review of Biomedical Engineering* **2003**, 5, 285-292.
52. Popescu, M. A.; Toms, S. A., In vivo optical imaging using quantum dots for the management of brain tumors. *Expert Review of Molecular Diagnostics* **2006**, 6, (6), 879-890.
53. Medintz, I. L.; Uyeda, H. T.; Goldman, E. R.; Mattoussi, H., Quantum dot bioconjugates for imaging, labelling and sensing. *Nature Materials* **2005**, 4, (6), 435-446.
54. Mornet, S.; Vasseur, S.; Grasset, F.; Duguet, E., Magnetic nanoparticle design for medical diagnosis and therapy. *Journal of Materials Chemistry* **2004**, 14, (14), 2161-2175.
55. Neuberger, T.; Schopf, B.; Hofmann, H.; Hofmann, M.; von Rechenberg, B., Superparamagnetic nanoparticles for biomedical applications: Possibilities and limitations of

- a new drug delivery system. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* **2005**, 293, (1), 483-496.
56. Bagwe, R. P.; Zhao, X. J.; Tan, W. H., Bioconjugated luminescent nanoparticles for biological applications. *Journal of Dispersion Science and Technology* **2003**, 24, (3-4), 453-464.
57. Zhao, X. J.; Hilliard, L. R.; Mechery, S. J.; Wang, Y. P.; Bagwe, R. P.; Jin, S. G.; Tan, W. H., A rapid bioassay for single bacterial cell quantitation using bioconjugated nanoparticles. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2004**, 101, (42), 15027-15032.
58. Taylor, J. R.; Fang, M. M.; Nie, S. M., Probing specific sequences on single DNA molecules with bioconjugated fluorescent nanoparticles. *Analytical Chemistry* **2000**, 72, (9), 1979-1986.
59. Bhalgat, M. K.; Haugland, R. P.; Pollack, J. S.; Swan, S.; Haugland, R. P., Green- and red-fluorescent nanospheres for the detection of cell surface receptors by flow cytometry. *Journal of Immunological Methods* **1998**, 219, (1-2), 57-68.
60. Goldman, E. R.; Anderson, G. P.; Tran, P. T.; Mattoussi, H.; Charles, P. T.; Mauro, J. M., Conjugation of luminescent quantum dots with antibodies using an engineered adaptor protein to provide new reagents for fluoroimmunoassays. *Analytical Chemistry* **2002**, 74, (4), 841-847.
61. Sharna, P.; Brown, S.; Walter, G.; Santra, S.; Moudgil, B., Nanoparticles for bioimaging. *Advances in Colloid and Interface Science* **2006**, 123, 471-485.
62. van Dijk, M. A.; Tchegotareva, A. L.; Orrit, M.; Lippitz, M.; Berciaud, S.; Lasne, D.; Cognet, L.; Lounis, B., Absorption and scattering microscopy of single metal nanoparticles. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2006**, 8, (30), 3486-3495.
63. Bene, L.; Szentesi, G.; Matyus, L.; Gaspar, R.; Damjanovich, S., Nanoparticle energy transfer on the cell surface. *Journal of Molecular Recognition* **2005**, 18, (3), 236-253.
64. Chan, W. C. W.; Nie, S. M., Quantum dot bioconjugates for ultrasensitive nonisotopic detection. *Science* **1998**, 281, (5385), 2016-2018.
65. Riegler, J.; Nann, T., Application of luminescent nanocrystals as labels for biological molecules. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2004**, 379, (7-8), 913-919.
66. Gerion, D.; Pinaud, F.; Williams, S. C.; Parak, W. J.; Zanchet, D.; Weiss, S.; Alivisatos, A. P., Synthesis and properties of biocompatible water-soluble silica-coated CdSe/ZnS semiconductor quantum dots. *Journal of Physical Chemistry B* **2001**, 105, (37), 8861-8871.
67. Uren, R. F., Cancer surgery joins the dots. *Nature Biotechnology* **2004**, 22, (1), 38-39.
68. Wu, X. Y.; Liu, H. J.; Liu, J. Q.; Haley, K. N.; Treadway, J. A.; Larson, J. P.; Ge, N. F.; Peale, F.; Bruchez, M. P., Immunofluorescent labeling of cancer marker Her2 and other cellular targets with semiconductor quantum dots. *Nature Biotechnology* **2003**, 21, (1), 41-46.
69. Larson, D. R.; Zipfel, W. R.; Williams, R. M.; Clark, S. W.; Bruchez, M. P.; Wise, F. W.; Webb, W. W., Water-soluble quantum dots for multiphoton fluorescence imaging in vivo. *Science* **2003**, 300, (5624), 1434-1436.
70. van Manen, H. J.; Otto, C., Hybrid confocal Raman fluorescence microscopy on single cells using semiconductor quantum dots. *Nano Letters* **2007**, 7, (6), 1631-1636.
71. Nisman, R.; Dellaire, G.; Ren, Y.; Li, R.; Bazett-Jones, D. P., Application of quantum dots as probes for correlative fluorescence, conventional, and energy-filtered transmission electron microscopy. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry* **2004**, 52, (1), 13-18.
72. Arya, H.; Kaul, Z.; Wadhwa, R.; Taira, K.; Hirano, T.; Kaul, S. C., Quantum dots in bio-imaging: Revolution by the small. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **2005**, 329, (4), 1173-1177.

73. Hanaki, K.; Momo, A.; Oku, T.; Komoto, A.; Maenosono, S.; Yamaguchi, Y.; Yamamoto, K., Semiconductor quantum dot/albumin complex is a long-life and highly photostable endosome marker. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **2003**, 302, (3), 496-501.
74. Grecco, H. E.; Lidke, K. A.; Heintzmann, R.; Lidke, D. S.; Spagnuolo, C.; Martinez, O. E.; Jares-Erijman, E. A.; Jovin, T. M., Ensemble and single particle photophysical properties (Two-Photon excitation, anisotropy, FRET, lifetime, spectral conversion) of commercial quantum dots in solution and in live cells. *Microscopy Research and Technique* **2004**, 65, (4-5), 169-179.
75. Parak, W. J.; Pellegrino, T.; Plank, C., Labelling of cells with quantum dots. *Nanotechnology* **2005**, 16, (2), R9-R25.
76. Zhang, C. Y.; Ma, H.; Nie, S. M.; Ding, Y.; Jin, L.; Chen, D. Y., Quantum dot-labeled trichosanthin. *Analyst* **2000**, 125, (6), 1029-1031.
77. Winter, J. O.; Liu, T. Y.; Korgel, B. A.; Schmidt, C. E., Recognition molecule directed interfacing between semiconductor quantum dots and nerve cells. *Advanced Materials* **2001**, 13, (22), 1673-1677.
78. Gao, X. H.; Chan, W. C. W.; Nie, S. M., Quantum-dot nanocrystals for ultrasensitive biological labeling and multicolor optical encoding. *Journal of Biomedical Optics* **2002**, 7, (4), 532-537.
79. Licha, K.; Olbrich, C., Optical imaging in drug discovery and diagnostic applications. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2005**, 57, (8), 1087-1108.
80. Garon, E. B.; Marcu, L.; Luong, Q.; Tcherniantchouk, O.; Crooks, G. M.; Koeffler, H. P., Quantum dot labeling and tracking of human leukemic, bone marrow and cord blood cells. *Leukemia Research* **2007**, 31, (5), 643-651.
81. Qian, J.; Yong, K. T.; Roy, I.; Ohulchanskyy, T. Y.; Bergey, E. J.; Lee, H. H.; Tramposch, K. M.; He, S. L.; Maitra, A.; Prasad, P. N., Imaging pancreatic cancer using surface-functionalized quantum dots. *Journal of Physical Chemistry B* **2007**, 111, (25), 6969-6972.
82. Srinivasan, C.; Lee, J.; Papadimitrakopoulos, F.; Silbart, L. K.; Zhao, M. H.; Burgess, D. J., Labeling and intracellular tracking of functionally active plasmid DNA with semiconductor quantum dots. *Molecular Therapy* **2006**, 14, (2), 192-201.
83. Jaiswal, J. K.; Mattoussi, H.; Mauro, J. M.; Simon, S. M., Long-term multiple color imaging of live cells using quantum dot bioconjugates. *Nature Biotechnology* **2003**, 21, (1), 47-51.
84. Santra, S.; Dutta, D.; Walter, G. A.; Moudgil, B. M., Fluorescent nanoparticle probes for cancer imaging. *Technology in Cancer Research & Treatment* **2005**, 4, (6), 593-602.
85. Michalet, X.; Pinaud, F. F.; Bentolila, L. A.; Tsay, J. M.; Doose, S.; Li, J. J.; Sundaresan, G.; Wu, A. M.; Gambhir, S. S.; Weiss, S., Quantum dots for live cells, in vivo imaging, and diagnostics. *Science* **2005**, 307, (5709), 538-544.
86. Ballou, B.; Lagerholm, B. C.; Ernst, L. A.; Bruchez, M. P.; Waggoner, A. S., Noninvasive imaging of quantum dots in mice. *Bioconjugate Chemistry* **2004**, 15, (1), 79-86.
87. Gao, X. H.; Cui, Y. Y.; Levenson, R. M.; Chung, L. W. K.; Nie, S. M., In vivo cancer targeting and imaging with semiconductor quantum dots. *Nature Biotechnology* **2004**, 22, (8), 969-976.
88. Gao, X. H.; Yang, L. L.; Petros, J. A.; Marshal, F. F.; Simons, J. W.; Nie, S. M., In vivo molecular and cellular imaging with quantum dots. *Current Opinion in Biotechnology* **2005**, 16, (1), 63-72.
89. Jiang, W.; Papa, E.; Fischer, H.; Mardyani, S.; Chan, W. C. W., Semiconductor quantum dots as contrast agents for whole animal imaging. *Trends in Biotechnology* **2004**, 22, (12), 607-609.

90. Kim, S.; Fisher, B.; Eisler, H. J.; Bawendi, M., Type-II quantum dots: CdTe/CdSe(core/shell) and CdSe/ZnTe(core/shell) heterostructures. *Journal of the American Chemical Society* **2003**, 125, (38), 11466-11467.
91. Kim, S.; Lim, Y. T.; Soltesz, E. G.; De Grand, A. M.; Lee, J.; Nakayama, A.; Parker, J. A.; Mihaljevic, T.; Laurence, R. G.; Dor, D. M.; Cohn, L. H.; Bawendi, M. G.; Frangioni, J. V., Near-infrared fluorescent type II quantum dots for sentinel lymph node mapping. *Nature Biotechnology* **2004**, 22, (1), 93-97.
92. Morgan, N. Y.; English, S.; Chen, W.; Chernomordik, V.; Russo, A.; Smith, P. D.; Gandjbakhche, A., Real time in vivo non-invasive optical imaging using near-infrared fluorescent quantum dots. *Academic Radiology* **2005**, 12, (3), 313-323.
93. Bauer, L. A.; Birenbaum, N. S.; Meyer, G. J., Biological applications of high aspect ratio nanoparticles. *Journal of Materials Chemistry* **2004**, 14, (4), 517-526.
94. Agrawal, A.; Zhang, C. Y.; Byassee, T.; Tripp, R. A.; Nie, S. M., Counting single native biomolecules and intact viruses with color-coded nanoparticles. *Analytical Chemistry* **2006**, 78, (4), 1061-1070.
95. Pearce, M. E.; Melanko, J. B.; Salem, A. K., Multifunctional nanorods for biomedical applications. *Pharmaceutical Research* **2007**, 24, (12), 2335-2352.
96. Shabaev, A.; Efros, A. L., 1D exciton spectroscopy of semiconductor nanorods. *Nano Letters* **2004**, 4, (10), 1821-1825.
97. Hu, J. T.; Li, L. S.; Yang, W. D.; Manna, L.; Wang, L. W.; Alivisatos, A. P., Linearly polarized emission from colloidal semiconductor quantum rods. *Science* **2001**, 292, (5524), 2060-2063.
98. Htoon, H.; Hollingworth, J. A.; Malko, A. V.; Dickerson, R.; Klimov, V. I., Light amplification in semiconductor nanocrystals: Quantum rods versus quantum dots. *Applied Physics Letters* **2003**, 82, (26), 4776-4778.
99. Fu, A. H.; Gu, W. W.; Bousset, B.; Koski, K.; Gerion, D.; Manna, L.; Le Gros, M.; Larabell, C. A.; Alivisatos, A. P., Semiconductor quantum rods as single molecule fluorescent biological labels. *Nano Letters* **2007**, 7, (1), 179-182.
100. Xu, C. J.; Sun, S. H., Monodisperse magnetic nanoparticles for biomedical applications. *Polymer International* **2007**, 56, (7), 821-826.
101. Chung, S. H.; Hoffmann, A.; Guslienko, K.; Bader, S. D.; Liu, C.; Kay, B.; Makowski, L.; Chen, L., Biological sensing with magnetic nanoparticles using Brownian relaxation (invited). *Journal of Applied Physics* **2005**, 97, (10), 10R101-1-5.
102. Schafer, R.; Kehlbach, R.; Wiskirchen, J.; Bantleon, R.; Pintaske, J.; Brehm, B. R.; Gerber, A.; Wolburg, H.; Claussen, C. D.; Northoff, H., Transferrin receptor upregulation: In vitro labeling of rat mesenchymal stem cells with superparamagnetic iron oxide. *Radiology* **2007**, 244, (2), 514-523.
103. Narasimhan, P. T.; Jacobs, R. E., Microscopy in magnetic resonance imaging. *Annual Reports on Nmr Spectroscopy, Vol 55* **2005**, 55, 259-297.
104. Huh, Y. M.; Jun, Y. W.; Song, H. T.; Kim, S.; Choi, J. S.; Lee, J. H.; Yoon, S.; Kim, K. S.; Shin, J. S.; Suh, J. S.; Cheon, J., In vivo magnetic resonance detection of cancer by using multifunctional magnetic nanocrystals. *Journal of the American Chemical Society* **2005**, 127, (35), 12387-12391.
105. Garden, O. A.; Reynolds, P. R.; Yates, J.; Larkman, D. J.; Marelli-Berg, F. M.; Haskard, D. O.; Edwards, A. D.; George, A. J. T., A rapid method for labelling CD4(+) T cells with ultrasmall paramagnetic iron oxide nanoparticles for magnetic resonance imaging that preserves proliferative, regulatory and migratory behaviour in vitro. *Journal of Immunological Methods* **2006**, 314, (1-2), 123-133.

106. Moore, A.; Josephson, L.; Bhorade, R. M.; Basilion, J. P.; Weissleder, R., Human transferrin receptor gene as a marker gene for MR imaging. *Radiology* **2001**, 221, (1), 244-250.
107. Na, H. B.; Lee, J. H.; An, K. J.; Park, Y. I.; Park, M.; Lee, I. S.; Nam, D. H.; Kim, S. T.; Kim, S. H.; Kim, S. W.; Lim, K. H.; Kim, K. S.; Kim, S. O.; Hyeon, T., Development of a T-1 contrast agent for magnetic resonance imaging using MnO nanoparticles. *Angewandte Chemie-International Edition* **2007**, 46, (28), 5397-5401.
108. Sun, C.; Sze, R.; Zhang, M. Q., Folic acid-PEG conjugated superparamagnetic nanoparticles for targeted cellular uptake and detection by MRI. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* **2006**, 78A, (3), 550-557.
109. Bulte, J. W. M.; Kraitchman, D. L., Iron oxide MR contrast agents for molecular and cellular imaging. *Nmr in Biomedicine* **2004**, 17, (7), 484-499.
110. Wang, F. H.; Lee, I. H.; Holmstrom, N.; Yoshitake, T.; Kim, D. K.; Muhammed, M.; Frisen, J.; Olson, L.; Spenger, C.; Kehr, J., Magnetic resonance tracking of nanoparticle labelled neural stem cells in a rat's spinal cord. *Nanotechnology* **2006**, 17, (8), 1911-1915.
111. Yguerabide, J.; Yguerabide, E. E., Light-scattering submicroscopic particles as highly fluorescent analogs and their use as tracer labels in clinical and biological applications - II. Experimental characterization. *Analytical Biochemistry* **1998**, 262, (2), 157-176.
112. Yguerabide, J.; Yguerabide, E. E., Light-scattering submicroscopic particles as highly fluorescent analogs and their use as tracer labels in clinical and biological applications - I. Theory. *Analytical Biochemistry* **1998**, 262, (2), 137-156.
113. Jain, P. K.; Huang, X.; El-Sayed, I. H.; El-Sayed, M. A., Review of some interesting surface plasmon resonance-enhanced properties of noble metal nanoparticles and their applications to biosystems. *Plasmonics* **2007**, 2, (3), 107-118.
114. Sokolov, K.; Follen, M.; Aaron, J.; Pavlova, I.; Malpica, A.; Lotan, R.; Richards-Kortum, R., Real-time vital optical imaging of precancer using anti-epidermal growth factor receptor antibodies conjugated to gold nanoparticles. *Cancer Research* **2003**, 63, (9), 1999-2004.
115. Cognet, L.; Tardin, C.; Boyer, D.; Choquet, D.; Tamarat, P.; Lounis, B., Single metallic nanoparticle imaging for protein detection in cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2003**, 100, (20), 11350-11355.
116. Huang, T.; Nallathamby, P. D.; Gillet, D.; Xu, X. H. N., Design and synthesis of single-nanoparticle optical biosensors for imaging and characterization of single receptor molecules on single living cells. *Analytical Chemistry* **2007**, 79, (20), 7708-7718.
117. Kumar, S.; Harrison, N.; Richards-Kortum, R.; Sokolov, K., Plasmonic nanosensors for imaging intracellular biomarkers in live cells. *Nano Letters* **2007**, 7, (5), 1338-1343.
118. El-Sayed, I. H.; Huang, X. H.; El-Sayed, M. A., Surface plasmon resonance scattering and absorption of anti-EGFR antibody conjugated gold nanoparticles in cancer diagnostics: Applications in oral cancer. *Nano Letters* **2005**, 5, (5), 829-834.
119. Copland, J. A.; Eghtedari, M.; Popov, V. L.; Kotov, N.; Mamedova, N.; Motamedi, M.; Oraevsky, A. A., Bioconjugated gold nanoparticles as a molecular based contrast agent: Implications for imaging of deep tumors using optoacoustic tomography. *Molecular Imaging and Biology* **2004**, 6, (5), 341-349.
120. Wang, Y. W.; Xie, X. Y.; Wang, X. D.; Ku, G.; Gill, K. L.; O'Neal, D. P.; Stoica, G.; Wang, L. V., Photoacoustic tomography of a nanoshell contrast agent in the in vivo rat brain. *Nano Letters* **2004**, 4, (9), 1689-1692.
121. Nitin, N.; Javier, D. J.; Richards-Kortum, R., Oligonucleotide-coated metallic nanoparticles as a flexible platform for molecular Imaging agents. *Bioconjugate Chemistry* **2007**, 18, (6), 2090-2096.

122. Curry, A.; Hwang, W. L.; Wax, A., Epi-illumination through the microscope objective applied to darkfield imaging and microspectroscopy of nanoparticle interaction with cells in culture. *Optics Express* **2006**, 14, (14), 6535-6542.
123. Mallidi, S.; Larson, T.; Aaron, J.; Sokolov, K.; Emelianov, S., Molecular specific optoacoustic imaging with plasmonic nanoparticles. *Optics Express* **2007**, 15, (11), 6583-6588.
124. Aaron, J. S.; Oh, J.; Larson, T. A.; Kumar, S.; Milner, T. E.; Sokolov, K. V., Increased optical contrast in imaging of epidermal growth factor receptor using magnetically actuated hybrid gold/iron oxide nanoparticles. *Optics Express* **2006**, 14, (26), 12930-12943.
125. Agarwal, A.; Huang, S. W.; O'Donnell, M.; Day, K. C.; Day, M.; Kotov, N.; Ashkenazi, S., Targeted gold nanorod contrast agent for prostate cancer detection by photoacoustic imaging. *Journal of Applied Physics* **2007**, 102, (6), 064701-1-4.
126. Lee, K. S.; El-Sayed, M. A., Gold and silver nanoparticles in sensing and imaging: Sensitivity of plasmon response to size, shape, and metal composition. *Journal of Physical Chemistry B* **2006**, 110, (39), 19220-19225.
127. Perez-Juste, J.; Pastoriza-Santos, I.; Liz-Marzan, L. M.; Mulvaney, P., Gold nanorods: Synthesis, characterization and applications. *Coordination Chemistry Reviews* **2005**, 249, (17-18), 1870-1901.
128. Oyelere, A. K.; Chen, P. C.; Huang, X. H.; El-Sayed, I. H.; El-Sayed, M. A., Peptide-conjugated gold nanorods for nuclear targeting. *Bioconjugate Chemistry* **2007**, 18, (5), 1490-1497.
129. Hu, M.; Chen, J. Y.; Li, Z. Y.; Au, L.; Hartland, G. V.; Li, X. D.; Marquez, M.; Xia, Y. N., Gold nanostructures: engineering their plasmonic properties for biomedical applications. *Chemical Society Reviews* **2006**, 35, (11), 1084-1094.
130. Huang, X. H.; El-Sayed, I. H.; Qian, W.; El-Sayed, M. A., Cancer cell imaging and photothermal therapy in the near-infrared region by using gold nanorods. *Journal of the American Chemical Society* **2006**, 128, (6), 2115-2120.
131. Huang, X. H.; El-Sayed, I. H.; Qian, W.; El-Sayed, M. A., Cancer cells assemble and align gold nanorods conjugated to antibodies to produce highly enhanced, sharp, and polarized surface Raman spectra: A potential cancer diagnostic marker. *Nano Letters* **2007**, 7, (6), 1591-1597.
132. Ding, H.; Yong, K. T.; Roy, I.; Pudavar, H. E.; Law, W. C.; Bergey, E. J.; Prasad, P. N., Gold nanorods coated with multilayer polyelectrolyte as contrast agents for multimodal imaging. *Journal of Physical Chemistry C* **2007**, 111, (34), 12552-12557.
133. Santra, S.; Bagwe, R. P.; Dutta, D.; Stanley, J. T.; Walter, G. A.; Tan, W.; Moudgil, B. M.; Mericle, R. A., Synthesis and characterization of fluorescent, radio-opaque, and paramagnetic silica nanoparticles for multimodal bioimaging applications. *Advanced Materials* **2005**, 17, (18), 2165-2169.
134. Mulder, W. J. M.; Griffioen, A. W.; Strijkers, G. J.; Cormode, D. P.; Nicolay, K.; Fayad, Z. A., Magnetic and fluorescent nanoparticles for multimodality imaging. *Nanomedicine* **2007**, 2, (3), 307-324.
135. Lim, Y. T.; Cho, M. Y.; Kim, J. K.; Hwangbo, S.; Chung, B. H., Plasmonic magnetic nanostructure for bimodal imaging and photonic-based therapy of cancer cells. *ChemBiochem* **2007**, 8, (18), 2204-2209.
136. Moats, R. A.; Fraser, S. E.; Meade, T. J., A "smart" magnetic resonance imaging agent that reports on specific enzymatic activity. *Angewandte Chemie-International Edition in English* **1997**, 36, (7), 726-728.
137. Josephson, L.; Kircher, M. F.; Mahmood, U.; Tang, Y.; Weissleder, R., Near-infrared fluorescent nanoparticles as combined MR/optical imaging probes. *Bioconjugate Chemistry* **2002**, 13, (3), 554-560.

138. Yang, H. S.; Santra, S.; Walter, G. A.; Holloway, P. H., Gd-III-functionalized fluorescent quantum dots as multimodal imaging probes. *Advanced Materials* **2006**, 18, (21), 2890-2894.
139. Mulder, W. J. M.; Koole, R.; Brandwijk, R. J.; Storm, G.; Chin, P. T. K.; Strijkers, G. J.; Donega, C. D.; Nicolay, K.; Griffioen, A. W., Quantum dots with a paramagnetic coating as a bimodal molecular imaging probe. *Nano Letters* **2006**, 6, (1), 1-6.
140. Larson, T. A.; Bankson, J.; Aaron, J.; Sokolov, K., Hybrid plasmonic magnetic nanoparticles as molecular specific agents for MRI/optical imaging and photothermal therapy of cancer cells. *Nanotechnology* **2007**, 18, (32), 325101-1-8.
141. Liang, S.; Pierce, D. T.; Amiot, C.; Zhao, X. J., Photoactive nanomaterials for sensing trace analytes in biological samples. *Synthesis and Reactivity in Inorganic Metal-Organic and Nano-Metal Chemistry* **2005**, 35, (9), 661-668.
142. Tansil, N. C.; Gao, Z. Q., Nanoparticles in biomolecular detection. *Nano Today* **2006**, 1, (1), 28-37.
143. Tran, P. T.; Goldman, E. R.; Anderson, G. P.; Mauro, J. M.; Mattoussi, H., Use of luminescent CdSe-ZnS nanocrystal bioconjugates in quantum dot-based nanosensors. *Physica Status Solidi B-Basic Research* **2002**, 229, (1), 427-432.
144. Pathak, S.; Choi, S. K.; Arnheim, N.; Thompson, M. E., Hydroxylated quantum dots as luminescent probes for in situ hybridization. *Journal of the American Chemical Society* **2001**, 123, (17), 4103-4104.
145. Mitchell, G. P.; Mirkin, C. A.; Letsinger, R. L., Programmed assembly of DNA functionalized quantum dots. *Journal of the American Chemical Society* **1999**, 121, (35), 8122-8123.
146. Raymo, F. M.; Yildiz, I., Luminescent chemosensors based on semiconductor quantum dots. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2007**, 9, (17), 2036-2043.
147. Kim, J. H.; Chaudhary, S.; Ozkan, M., Multicolour hybrid nanoprobe of molecular beacon conjugated quantum dots: FRET and gel electrophoresis assisted target DNA detection. *Nanotechnology* **2007**, 18, (19), 195105-1-7.
148. Chertok, B.; David, A. E.; Huang, Y. Z.; Yang, V. C., Glioma selectivity of magnetically targeted nanoparticles: A role of abnormal tumor hydrodynamics. *Journal of Controlled Release* **2007**, 122, (3), 315-323.
149. Willard, D. M.; Carillo, L. L.; Jung, J.; Van Orden, A., CdSe-ZnS quantum dots as resonance energy transfer donors in a model protein-protein binding assay. *Nano Letters* **2001**, 1, (9), 469-474.
150. Chan, W. C. W.; Maxwell, D. J.; Gao, X. H.; Bailey, R. E.; Han, M. Y.; Nie, S. M., Luminescent quantum dots for multiplexed biological detection and imaging. *Current Opinion in Biotechnology* **2002**, 13, (1), 40-46.
151. Rosenthal, S. J., Bar-coding biomolecules with fluorescent nanocrystals. *Nature Biotechnology* **2001**, 19, (7), 621-622.
152. Han, M. Y.; Gao, X. H.; Su, J. Z.; Nie, S., Quantum-dot-tagged microbeads for multiplexed optical coding of biomolecules. *Nature Biotechnology* **2001**, 19, (7), 631-635.
153. Xu, X. Y.; Georganopoulou, D. G.; Hill, H. D.; Mirkin, C. A., Homogeneous detection of nucleic acids based upon the light scattering properties of silver-coated nanoparticle probes. *Analytical Chemistry* **2007**, 79, (17), 6650-6654.
154. Haes, A. J.; Van Duyne, R. P., Preliminary studies and potential applications of localized surface plasmon resonance spectroscopy in medical diagnostics. *Expert Review of Molecular Diagnostics* **2004**, 4, (4), 527-537.
155. Huber, M.; Wei, T. F.; Muller, U. R.; Lefebvre, P. A.; Marla, S. S.; Bao, Y. P., Gold nanoparticle probe-based gene expression analysis with unamplified total human RNA. *Nucleic Acids Research* **2004**, 32, (18), e137-1-8.

156. Park, S. J.; Lazarides, A. A.; Mirkin, C. A.; Brazis, P. W.; Kannewurf, C. R.; Letsinger, R. L., The electrical properties of gold nanoparticle assemblies linked by DNA. *Angewandte Chemie-International Edition* **2000**, 39, (21), 3845-3848.
157. Willets, K. A.; Van Duyne, R. P., Localized surface plasmon resonance spectroscopy and sensing. *Annual Review of Physical Chemistry* **2007**, 58, 267-297.
158. Nicewarner-Pena, S. R.; Freeman, R. G.; Reiss, B. D.; He, L.; Pena, D. J.; Walton, I. D.; Cromer, R.; Keating, C. D.; Natan, M. J., Submicrometer metallic barcodes. *Science* **2001**, 294, (5540), 137-141.
159. Englebienne, P.; Van Hoonacker, A.; Verhas, M.; Khlebtsov, N. G., Advances in high-throughput screening: Biomolecular interaction monitoring in real-time with colloidal metal nanoparticles. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening* **2003**, 6, (8), 777-787.
160. Elghanian, R.; Storhoff, J. J.; Mucic, R. C.; Letsinger, R. L.; Mirkin, C. A., Selective colorimetric detection of polynucleotides based on the distance-dependent optical properties of gold nanoparticles. *Science* **1997**, 277, (5329), 1078-1081.
161. Storhoff, J. J.; Elghanian, R.; Mucic, R. C.; Mirkin, C. A.; Letsinger, R. L., One-pot colorimetric differentiation of polynucleotides with single base imperfections using gold nanoparticle probes. *Journal of the American Chemical Society* **1998**, 120, (9), 1959-1964.
162. Thaxton, C. S.; Rosi, N. L.; Mirkin, C. A., Optically and chemically encoded nanoparticle materials for DNA and protein detection. *Mrs Bulletin* **2005**, 30, (5), 376-380.
163. Thaxton, C. S.; Georganopoulou, D. G.; Mirkin, C. A., Gold nanoparticle probes for the detection of nucleic acid targets. *Clinica Chimica Acta* **2006**, 363, (1-2), 120-126.
164. Park, S. J.; Lazarides, A. A.; Mirkin, C. A.; Letsinger, R. L., Directed assembly of periodic materials from protein and oligonucleotide-modified nanoparticle building blocks. *Angewandte Chemie-International Edition* **2001**, 40, (15), 2909-2912.
165. Storhoff, J. J.; Mirkin, C. A., Programmed materials synthesis with DNA. *Chemical Reviews* **1999**, 99, (7), 1849-1862.
166. Taton, T. A.; Mirkin, C. A.; Letsinger, R. L., Scanometric DNA array detection with nanoparticle probes. *Science* **2000**, 289, (5485), 1757-1760.
167. Schultz, S.; Smith, D. R.; Mock, J. J.; Schultz, D. A., Single-target molecule detection with nonbleaching multicolor optical immunolabels. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2000**, 97, (3), 996-1001.
168. Nam, J. M.; Park, S. J.; Mirkin, C. A., Bio-barcode based on oligonucleotide-modified nanoparticles. *Journal of the American Chemical Society* **2002**, 124, (15), 3820-3821.
169. Chowdhury, M. H.; Aslan, K.; Malyn, S. N.; Lakowicz, J. R.; Geddes, C. D., Metal-enhanced chemiluminescence. *Journal of Fluorescence* **2006**, 16, (3), 295-299.
170. Ince, R.; Narayanaswamy, R., Analysis of the performance of interferometry, surface plasmon resonance and luminescence as biosensors and chemosensors. *Analytica Chimica Acta* **2006**, 569, (1-2), 1-20.
171. Jena, B. K.; Raj, C. R., Amperometric L-lactate biosensor based on gold nanoparticles. *Electroanalysis* **2007**, 19, (7-8), 816-822.
172. Nath, N.; Chilkoti, A., Label-free biosensing by surface plasmon resonance of nanoparticles on glass: Optimization of nanoparticle size. *Analytical Chemistry* **2004**, 76, (18), 5370-5378.
173. Wu, Z. S.; Li, J. S.; Luo, M. H.; Shen, G. L.; Yu, R. Q., A novel capacitive immunosensor based on gold colloid monolayers associated with a sol-gel matrix. *Analytica Chimica Acta* **2005**, 528, (2), 235-242.
174. Rechberger, W.; Hohenau, A.; Leitner, A.; Krenn, J. R.; Lamprecht, B.; Aussenegg, F. R., Optical properties of two interacting gold nanoparticles. *Optics Communications* **2003**, 220, (1-3), 137-141.

175. Mirkin, C. A.; Letsinger, R. L.; Mucic, R. C.; Storhoff, J. J., A DNA-based method for rationally assembling nanoparticles into macroscopic materials *Nature* **1996**, 382, 607-609.
176. Storhoff, J. J.; Lucas, A. D.; Garimella, V.; Bao, Y. P.; Muller, U. R., Homogeneous detection of unamplified genomic DNA sequences based on colorimetric scatter of gold nanoparticle probes. *Nature Biotechnology* **2004**, 22, (7), 883-887.
177. Pumera, M.; Sanchez, S.; Ichinose, I.; Tang, J., Electrochemical nanobiosensors. *Sensors and Actuators B-Chemical* **2007**, 123, (2), 1195-1205.
178. Kerman, K.; Morita, Y.; Takamura, Y.; Ozsoz, M.; Tamiya, E., Modification of Escherichia coli single-stranded DNA binding protein with gold nanoparticles for electrochemical detection of DNA hybridization. *Analytica Chimica Acta* **2004**, 510, (2), 169-174.
179. Kerman, K.; Saito, M.; Morita, Y.; Takamura, Y.; Ozsoz, M.; Tamiya, E., Electrochemical coding of single-nucleotide polymorphisms by monobase-modified gold nanoparticles. *Analytical Chemistry* **2004**, 76, (7), 1877-1884.
180. Wu, H.; Liu, G. D.; Wang, J.; Lin, Y. H., Quantum-dots based electrochemical immunoassay of interleukin-1 alpha. *Electrochemistry Communications* **2007**, 9, (7), 1573-1577.
181. Xu, Y.; Cai, H.; He, P. G.; Fang, Y. Z., Probing DNA hybridization by impedance measurement based on CdS-oligonucleotide nanoconjugates. *Electroanalysis* **2004**, 16, (1-2), 150-155.
182. Ozsoz, M.; Erdem, A.; Kerman, K.; Ozkan, D.; Tugrul, B.; Topcuoglu, N.; Ekren, H.; Taylan, M., Electrochemical genosensor based on colloidal gold nanoparticles for the detection of Factor V Leiden mutation using disposable pencil graphite electrodes. *Analytical Chemistry* **2003**, 75, (9), 2181-2187.
183. Cai, H.; Wang, Y. Q.; He, P. G.; Fang, Y. H., Electrochemical detection of DNA hybridization based on silver-enhanced gold nanoparticle label. *Analytica Chimica Acta* **2002**, 469, (2), 165-172.
184. Park, S. J.; Taton, T. A.; Mirkin, C. A., Array-based electrical detection of DNA with nanoparticle probes. *Science* **2002**, 295, (5559), 1503-1506.
185. Burmeister, J.; Bazilyanska, V.; Grothe, K.; Koehler, B.; Dorn, I.; Warner, B. D.; Diessel, E., Single nucleotide polymorphism analysis by chip-based hybridization and direct current electrical detection of gold-labeled DNA. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2004**, 379, (3), 391-398.
186. Diessel, E.; Grothe, K.; Siebert, H. M.; Warner, B. D.; Burmeister, J., Online resistance monitoring during autometallographic enhancement of colloidal Au labels for DNA analysis. *Biosensors & Bioelectronics* **2004**, 19, (10), 1229-1235.
187. Haguët, V.; Martin, D.; Marcon, L.; Heim, T.; Stievenard, D.; Olivier, C.; El-Mahdi, O.; Melnyk, O., Combined nanogap nanoparticles nanosensor for electrical detection of biomolecular interactions between polypeptides. *Applied Physics Letters* **2004**, 84, (7), 1213-1215.
188. Wang, J.; Song, F. Y.; Zhou, F. M., Silver-enhanced imaging of DNA hybridization at DNA microarrays with scanning electrochemical microscopy. *Langmuir* **2002**, 18, (17), 6653-6658.
189. Weizmann, Y.; Patolsky, F.; Willner, I., Amplified detection of DNA and analysis of single-base mismatches by the catalyzed deposition of gold on Au-nanoparticles. *Analyst* **2001**, 126, (9), 1502-1504.
190. Willner, I.; Patolsky, F.; Weizmann, Y.; Willner, B., Amplified detection of single-base mismatches in DNA using micro gravimetric quartz-crystal-microbalance transduction. *Talanta* **2002**, 56, (5), 847-856.

191. Fan, A. P.; Lau, C. W.; Lu, J. Z., Magnetic bead-based chemiluminescent metal immunoassay with a colloidal gold label. *Analytical Chemistry* **2005**, *77*, (10), 3238-3242.
192. Wang, J.; Liu, G. D.; Merkoci, A., Electrochemical coding technology for simultaneous detection of multiple DNA targets. *Journal of the American Chemical Society* **2003**, *125*, (11), 3214-3215.
193. Liu, G. D.; Wang, J.; Kim, J.; Jan, M. R.; Collins, G. E., Electrochemical coding for multiplexed immunoassays of proteins. *Analytical Chemistry* **2004**, *76*, (23), 7126-7130.
194. Kim, J. H.; Seo, K. S.; Wang, J., Rapid diagnostic barcode system for codetection of multiple protein markers. *Ieee Sensors Journal* **2006**, *6*, (2), 248-253.
195. Liu, G. D.; Lee, T. M. H.; Wang, J. S., Nanocrystal-based bioelectronic coding of single nucleotide polymorphisms. *Journal of the American Chemical Society* **2005**, *127*, (1), 38-39.
196. Arakaki, A.; Hideshima, S.; Nakagawa, T.; Niwa, D.; Tanaka, T.; Matsunaga, T.; Osaka, T., Detection of biomolecular interaction between biotin and streptavidin on a self-assembled monolayer using magnetic nanoparticles. *Biotechnology and Bioengineering* **2004**, *88*, (4), 543-546.
197. Grossman, H. L.; Myers, W. R.; Vreeland, V. J.; Bruehl, R.; Alper, M. D.; Bertozzi, C. R.; Clarke, J., Detection of bacteria in suspension by using a superconducting quantum interference device. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2004**, *101*, (1), 129-134.
198. Nie, S. M.; Xing, Y.; Kim, G. J.; Simons, J. W., Nanotechnology applications in cancer. *Annual Review of Biomedical Engineering* **2007**, *9*, 257-288.
199. Reddy, G. R.; Bhojani, M. S.; McConville, P.; Moody, J.; Moffat, B. A.; Hall, D. E.; Kim, G.; Koo, Y. E. L.; Woolliscroft, M. J.; Sugai, J. V.; Johnson, T. D.; Philbert, M. A.; Kopelman, R.; Rehemtulla, A.; Ross, B. D., Vascular targeted nanoparticles for imaging and treatment of brain tumors. *Clinical Cancer Research* **2006**, *12*, (22), 6677-6686.
200. Buxton, D. B., Nanotechnology in the diagnosis and management of heart, lung and blood diseases. *Expert Review of Molecular Diagnostics* **2007**, *7*, (2), 149-160.
201. Jain, P. K.; El-Sayed, I. H.; El-Sayed, M. A., Au nanoparticles target cancer. *Nano Today* **2007**, *2*, (1), 18-29.
202. Plank, C.; Scherer, F.; Schillinger, U.; Bergemann, C.; Anton, M., Magnetofection: Enhancing and targeting gene delivery with superparamagnetic nanoparticles and magnetic fields. *Journal of Liposome Research* **2003**, *13*, (1), 29-32.
203. Das, M.; Sanson, N.; Fava, D.; Kumacheva, E., Microgels loaded with gold nanorods: Photothermally triggered volume transitions under physiological conditions. *Langmuir* **2007**, *23*, (1), 196-201.
204. Sershen, S. R.; Westcott, S. L.; Halas, N. J.; West, J. L., Temperature-sensitive polymer-nanoshell composites for photothermally modulated drug delivery. *Journal of Biomedical Materials Research* **2000**, *51*, (3), 293-298.
205. Sonvico, F.; Dubernet, C.; Colombo, P.; Couvreur, P., Metallic colloid nanotechnology, applications in diagnosis and therapeutics. *Current Pharmaceutical Design* **2005**, *11*, (16), 2091-2105.
206. Azzazy, H. M. E.; Mansour, M. M. H.; Kazinierzak, S. C., From diagnostics to therapy: Prospects of quantum dots. *Clinical Biochemistry* **2007**, *40*, (13-14), 917-927.
207. Pauwels, E. K. J.; Erba, P., Towards the use of nanoparticles in cancer therapy and imaging. *Drug News & Perspectives* **2007**, *20*, (4), 213-220.
208. Everts, M., Thermal scalpel to target cancer. *Expert Review of Medical Devices* **2007**, *4*, (2), 131-136.
209. Torchilin, V. P., Drug targeting. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **2000**, *11*, S81-S91.

210. Lu, Z. H.; Prouty, M. D.; Guo, Z. H.; Golub, V. O.; Kumar, C. S. S. R.; Lvov, Y. M., Magnetic switch of permeability for polyelectrolyte microcapsules embedded with Co@Au nanoparticles. *Langmuir* **2005**, 21, (5), 2042-2050.
211. Xu, Z. P.; Zeng, Q. H.; Lu, G. Q.; Yu, A. B., Inorganic nanoparticles as carriers for efficient cellular delivery. *Chemical Engineering Science* **2006**, 61, (3), 1027-1040.
212. Hirsch, L. R.; Gobin, A. M.; Lowery, A. R.; Tam, F.; Drezek, R. A.; Halas, N. J.; West, J. L., Metal nanoshells. *Annals of Biomedical Engineering* **2006**, 34, (1), 15-22.
213. Son, S. J.; Bai, X.; Lee, S. B., Inorganic hollow nanoparticles and nanotubes in nanomedicine. Part 1. Drug/gene delivery applications. *Drug Discovery Today* **2007**, 12, (15-16), 650-656.
214. Alivisatos, A. P.; Gu, W. W.; Larabell, C., Quantum dots as cellular probes. *Annual Review of Biomedical Engineering* **2005**, 7, 55-76.
215. Rozenzhak, S. M.; Kadakia, M. P.; Caserta, T. M.; Westbrook, T. R.; Stone, M. O.; Naik, R. R., Cellular internalization and targeting of semiconductor quantum dots. *Chemical Communications* **2005**, (17), 2217-2219.
216. Bhattacharya, R.; Patra, C. R.; Earl, A.; Wang, S. F.; Katarya, A.; Lu, L.; Kizhakkedathu, J. N.; Yaszemski, M. J.; Greipp, P. R.; Mukhopadhyay, D.; Mukherjee, P., Attaching folic acid on gold nanoparticles using noncovalent interaction via different polyethylene glycol backbones and targeting of cancer cells. *Nanomedicine-Nanotechnology Biology and Medicine* **2007**, 3, (3), 224-238.
217. Kumar, A.; Sahoo, B.; Montpetit, A.; Behera, S.; Lockey, R. F.; Mohapatra, S. S., Development of hyaluronic acid-Fe₂O₃ hybrid magnetic nanoparticles for targeted delivery of peptides. *Nanomedicine-Nanotechnology Biology and Medicine* **2007**, 3, (2), 132-137.
218. Jen, C. P.; Chen, Y. H.; Fan, C. S.; Yeh, C. S.; Lin, Y. C.; Shieh, D. B.; Wu, C. L.; Chen, D. H.; Chou, C. H., A nonviral transfection approach in vitro: The design of a gold nanoparticle vector joint with microelectromechanical systems. *Langmuir* **2004**, 20, (4), 1369-1374.
219. Niemeyer, C. M., Nanoparticles, proteins, and nucleic acids: Biotechnology meets materials science. *Angewandte Chemie-International Edition* **2001**, 40, (22), 4128-4158.
220. Thomas, M.; Klivanov, A. M., Conjugation to gold nanoparticles enhances polyethylenimine's transfer of plasmid DNA into mammalian cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2003**, 100, (16), 9138-9143.
221. Noh, S. M.; Kim, W. K.; Kim, S. J.; Kim, J. M.; Baek, K. H.; Oh, Y. K., Enhanced cellular delivery and transfection efficiency of plasmid DNA using positively charged biocompatible colloidal gold nanoparticles. *Biochimica Et Biophysica Acta-General Subjects* **2007**, 1770, (5), 747-752.
222. Joshi, H. M.; Bhumkar, D. R.; Joshi, K.; Pokharkar, V.; Sastry, M., Gold nanoparticles as carriers for efficient transmucosal insulin delivery. *Langmuir* **2006**, 22, (1), 300-305.
223. Averitt, R. D.; Westcott, S. L.; Halas, N. J., Linear optical properties of gold nanoshells. *Journal of the Optical Society of America B-Optical Physics* **1999**, 16, (10), 1824-1832.
224. Averitt, R. D.; Sarkar, D.; Halas, N. J., Plasmon resonance shifts of Au-coated Au₂S nanoshells: Insight into multicomponent nanoparticle growth. *Physical Review Letters* **1997**, 78, (22), 4217-4220.
225. Serksen, S. R.; Westcott, S. L.; West, J. L.; Halas, N. J., An opto-mechanical nanoshell-polymer composite. *Applied Physics B-Lasers and Optics* **2001**, 73, (4), 379-381.
226. Arruebo, M.; Fernandez-Pacheco, R.; Ibarra, M. R.; Santamaria, J., Magnetic nanoparticles for drug delivery. *Nano Today* **2007**, 2, (3), 22-32.

227. Strom, V.; Hultenby, K.; Gruttner, C.; Teller, J.; Xu, B.; Holgersson, J., A novel and rapid method for quantification of magnetic nanoparticle-cell interactions using a desktop susceptometer. *Nanotechnology* **2004**, 15, (5), 457-466.
228. Gupta, A. K.; Naregalkar, R. R.; Vaidya, V. D.; Gupta, M., Recent advances on surface engineering of magnetic iron oxide nanoparticles and their biomedical applications. *Nanomedicine* **2007**, 2, (1), 23-39.
229. Senyei, A.; Widder, K.; Czerlinski, G., Magnetic guidance of drug-carrying microspheres. *J. Appl. phys.* **1978**, 49, (6), 3578-3583.
230. Lubbe, A. S.; Alexiou, C.; Bergemann, C., Clinical applications of magnetic drug targeting. *Journal of Surgical Research* **2001**, 95, (2), 200-206.
231. Bergemann, C.; Muller-Schulte, D.; Oster, J.; Brassard, L.; Lubbe, A. S., Magnetic ion-exchange nano- and microparticles for medical, biochemical and molecular biological applications. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* **1999**, 194, (1-3), 45-52.
232. Lubbe, A. S.; Bergemann, C.; Brock, J.; McClure, D. G., Physiological aspects in magnetic drug-targeting. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* **1999**, 194, (1-3), 149-155.
233. Sieben, S.; Bergemann, C.; Lubbe, A.; Brockmann, B.; Rescheleit, D., Comparison of different particles and methods for magnetic isolation of circulating tumor cells. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* **2001**, 225, (1-2), 175-179.
234. Scherer, F.; Anton, M.; Schillinger, U.; Henkel, J.; Bergemann, C.; Kruger, A.; Gansbacher, B.; Plank, C., Magnetofection: enhancing and targeting gene delivery by magnetic force in vitro and in vivo. *Gene Therapy* **2002**, 9, (2), 102-109.
235. Jain, S.; Mishra, V.; Singh, P.; Dubey, P. K.; Saraf, D. K.; Vyas, S. P., RGD-anchored magnetic liposomes for monocytes/neutrophils-mediated brain targeting. *International Journal of Pharmaceutics* **2003**, 261, (1-2), 43-55.
236. Liu-Snyder, P.; Webster, T. J., Designing drug-delivery systems for the nervous system using nanotechnology: opportunities and challenges. *Expert Review of Medical Devices* **2006**, 3, (6), 683-687.
237. Koo, Y. E. L.; Reddy, G. R.; Bhojani, M.; Schneider, R.; Philbert, M. A.; Rehemtulla, A.; Ross, B. D.; Kopelman, R., Brain cancer diagnosis and therapy with nanoplatforms. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2006**, 58, (14), 1556-1577.
238. Wang, S. Z.; Gao, R. M.; Zhou, F. M.; Selke, M., Nanomaterials and singlet oxygen photosensitizers: potential applications in photodynamic therapy. *Journal of Materials Chemistry* **2004**, 14, (4), 487-493.
239. Park, S. I.; Lim, J. H.; Kim, J. H.; Yun, H. I.; Kim, C. O., In vivo and in vitro investigation of photosensitizer-adsorbed superparamagnetic nanoparticles for photodynamic therapy. *Ieee Transactions on Magnetics* **2005**, 41, (10), 4111-4113.
240. Bakalova, R.; Ohba, H.; Zhelev, Z.; Nagase, T.; Jose, R.; Ishikawa, M.; Baba, Y., Quantum dot anti-CD conjugates: Are they potential photosensitizers or potentiators of classical photosensitizing agents in photodynamic therapy of cancer? *Nano Letters* **2004**, 4, (9), 1567-1573.
241. Tsay, J. M.; Trzoss, M.; Shi, L. X.; Kong, X. X.; Selke, M.; Jung, M. E.; Weiss, S., Singlet oxygen production by peptide-coated quantum dot-photosensitizer conjugates. *Journal of the American Chemical Society* **2007**, 129, (21), 6865-6871.
242. Samia, A. C. S.; Dayal, S.; Burda, C., Quantum dot-based energy transfer: Perspectives and potential for applications in photodynamic therapy. *Photochemistry and Photobiology* **2006**, 82, (3), 617-625.
243. Dayal, S.; Burda, C., Surface effects on quantum dot-based energy transfer. *Journal of the American Chemical Society* **2007**, 129, (25), 7977-7981.

244. Bakalova, R.; Ohba, H.; Zhelev, Z.; Ishikawa, M.; Baba, Y., Quantum dots as photosensitizers? *Nature Biotechnology* **2004**, 22, (11), 1360-1361.
245. Hilger, I.; Hergt, R.; Kaiser, W. A., Towards breast cancer treatment by magnetic heating. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* **2005**, 293, (1), 314-319.
246. Hilger, I.; Andra, W.; Hergt, R.; Hiergeist, R.; Schubert, H.; Kaiser, W. A., Electromagnetic heating of breast tumors in interventional radiology: In vitro and in vivo studies in human cadavers and mice. *Radiology* **2001**, 218, (2), 570-575.
247. Hilger, I.; Andra, W.; Hergt, R.; Hiergeist, R.; Kaiser, W. A., Magnetic thermotherapy of breast tumors: An experimental therapeutic approach. *Rofo-Fortschritte Auf Dem Gebiet Der Rontgenstrahlen Und Der Bildgebenden Verfahren* **2005**, 177, (4), 507-515.
248. Hergt, R.; Dutz, S.; Muller, R.; Zeisberger, M., Magnetic particle hyperthermia: nanoparticle magnetism and materials development for cancer therapy. *Journal of Physics-Condensed Matter* **2006**, 18, (38), S2919-S2934.
249. El-Sayed, M. A., Some interesting properties of metals confined in time and nanometer space of different shapes. *Accounts of Chemical Research* **2001**, 34, (4), 257-264.
250. Link, S.; El-Sayed, M. A., Size and temperature dependence of the plasmon absorption of colloidal gold nanoparticles. *Journal of Physical Chemistry B* **1999**, 103, (21), 4212-4217.
251. Huang, X. H.; Jain, P. K.; El-Sayed, I. H.; El-Sayed, M. A., Determination of the minimum temperature required for selective photothermal destruction of cancer cells with the use of immunotargeted gold nanoparticles. *Photochemistry and Photobiology* **2006**, 82, (2), 412-417.
252. Loo, C.; Lowery, A.; Halas, N.; West, J.; Drezek, R., Immunotargeted nanoshells for integrated cancer imaging and therapy. *Nano Letters* **2005**, 5, (4), 709-711.
253. Huff, T. B.; Tong, L.; Zhao, Y.; Hansen, M. N.; Cheng, J. X.; Wei, A., Hyperthermic effects of gold nanorods on tumor cells. *Nanomedicine* **2007**, 2, (1), 125-132.
254. Xiaohua Huang; Prashant K. Jain; Ivan H. El-Sayed; El-Sayed., M. A., Plasmonic photothermal therapy (PPTT) using gold nanoparticles. *Lasers Med Sci* **2008**, 23, 217-228.
255. Zharov, V. P.; Mercer, K. E.; Galitovskaya, E. N.; Smeltzer, M. S., Photothermal nanotherapeutics and nanodiagnostics for selective killing of bacteria targeted with gold nanoparticles. *Biophysical Journal* **2006**, 90, (2), 619-627.
256. Kim, T.; Lee, K.; Gong, M. S.; Joo, S. W., Control of gold nanoparticle aggregates by manipulation of interparticle interaction. *Langmuir* **2005**, 21, (21), 9524-9528.
257. Kallay, N.; Zalac, S., Stability of nanodispersions: A model for kinetics of aggregation of nanoparticles. *Journal of Colloid and Interface Science* **2002**, 253, (1), 70-76.
258. Schmid, G.; Klein, N.; Korste, L.; Kreibig, U.; Schönauer, D., Large transition metal clusters--VI. Ligand exchange reactions on Au₅₅(PPh₃)₁₂Cl₆--the formation of a water soluble Au₅₅ cluster. *Polyhedron* **1988**, 7, (8), 605-608.
259. Sugunan, A.; Thanachayanont, C.; Dutta, J.; Hilborn, J. G., Heavy-metal ion sensors using chitosan-capped gold nanoparticles. *Science and Technology of Advanced Materials* **2005**, 6, (3-4), 335-340.
260. Bhargava, S. K.; Booth, J. M.; Agrawal, S.; Coloe, P.; Kar, G., Gold nanoparticle formation during bromoaurate reduction by amino acids. *Langmuir* **2005**, 21, (13), 5949-5956.
261. Andreescu, D.; Sau, T. K.; Goia, D. V., Stabilizer-free nanosized gold sols. *Journal of Colloid and Interface Science* **2006**, 298, (2), 742-751.
262. Yoosaf, K.; Ipe, B. I.; Suresh, C. H.; Thomas, K. G., In situ synthesis of metal nanoparticles and selective naked-eye detection of lead ions from aqueous media. *Journal of Physical Chemistry C* **2007**, 111, (34), 12839-12847.

263. Liu, J. C.; Qin, G. W.; Raveendran, P.; Kushima, Y., Facile "green" synthesis, characterization, and catalytic function of beta-D-glucose-stabilized Au nanocrystals. *Chemistry-a European Journal* **2006**, 12, (8), 2132-2138.
264. Giersig, M.; Mulvaney, P., Preparation of ordered colloid monolayers by electrophoretic deposition. *Langmuir* **1993**, 9, (12), 3408 - 3413.
265. Mathias Brust; Merryl Walker; Donald Bethell; David J. Schiffrin; Robin Whyman, Synthesis of thiol-derivatised gold nanoparticles in a two-phase Liquid-Liquid system. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1994**, (801-802).
266. Faraday, M., Experimental relations of gold (and other metals) to light. *Philos. Trans. R. Soc. London* **1857**, 147, 145-181.
267. M. Brust; J. Fink; D. Bethell; D. J. Schiffrin; Kiely, C., Synthesis and reactions of functionalised gold nanoparticles. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1995**, 1655 - 1656.
268. Chen, S. W., 4-hydroxythiophenol-protected gold nanoclusters in aqueous media. *Langmuir* **1999**, 15, (22), 7551-7557.
269. Templeton, A. C.; Cliffel, D. E.; Murray, R. W., Redox and fluorophore functionalization of water-soluble, tiopronin-protected gold clusters. *Journal of the American Chemical Society* **1999**, 121, (30), 7081-7089.
270. Wang, Z. X.; Tan, B. E.; Hussain, I.; Schaeffer, N.; Wyatt, M. F.; Brust, M.; Cooper, A. I., Design of polymeric stabilizers for size-controlled synthesis of monodisperse gold nanoparticles in water. *Langmuir* **2007**, 23, (2), 885-895.
271. Mangeney, C.; Ferrage, F.; Aujard, I.; Marchi-Artzner, V.; Jullien, L.; Ouari, O.; Rekaï, E. D.; Laschewsky, A.; Vikholm, I.; Sadowski, J. W., Synthesis and properties of water-soluble gold colloids covalently derivatized with neutral polymer monolayers. *Journal of the American Chemical Society* **2002**, 124, (20), 5811-5821.
272. Liu, Y. L.; Shipton, M. K.; Ryan, J.; Kaufman, E. D.; Franzen, S.; Feldheim, D. L., Synthesis, stability, and cellular internalization of gold nanoparticles containing mixed peptide-poly(ethylene glycol) monolayers. *Analytical Chemistry* **2007**, 79, (6), 2221-2229.
273. Wuelfing, W. P.; Gross, S. M.; Miles, D. T.; Murray, R. W., Nanometer gold clusters protected by surface-bound monolayers of thiolated poly(ethylene glycol) polymer electrolyte. *Journal of the American Chemical Society* **1998**, 120, (48), 12696-12697.
274. Latham, A. H.; Williams, M. E., Versatile routes toward functional, water-soluble nanoparticles via trifluoroethylester-PEG-thiol ligands. *Langmuir* **2006**, 22, (9), 4319-4326.
275. Kannan, P.; John, S. A., Synthesis of mercaptothiadiazole-functionalized gold nanoparticles and their self-assembly on Au substrates. *Nanotechnology* **2008**, 19, (8), 085602-1-10.
276. Sastry, M.; Lala, N.; Patil, V.; Chavan, S. P.; Chittiboyina, A. G., Optical absorption study of the biotin-avidin interaction on colloidal silver and gold particles. *Langmuir* **1998**, 14, (15), 4138-4142.
277. Roux, S.; Garcia, B.; Bridot, J. L.; Salome, M.; Marquette, C.; Lemelle, L.; Gillet, P.; Blum, L.; Perriat, P.; Tillement, O., Synthesis, characterization of dihydrolipoic acid capped gold nanoparticles, and functionalization by the electroluminescent luminol. *Langmuir* **2005**, 21, (6), 2526-2536.
278. Tzhayik, O.; Sawant, P.; Efrima, S.; Kovalev, E.; Klug, J. T., Xanthate capping of silver, copper, and gold colloids. *Langmuir* **2002**, 18, (8), 3364-3369.
279. Bakr, O. M.; Wunsch, B. H.; Stellacci, F., High-yield synthesis of multi-branched urchin-like gold nanoparticles. *Chemistry of Materials* **2006**, 18, (14), 3297-3301.
280. Cliffel, D. E.; Zamborini, F. P.; Gross, S. M.; Murray, R. W., Mercaptoammonium-monolayer-protected, water-soluble gold, silver, and palladium clusters. *Langmuir* **2000**, 16, (25), 9699-9702.

281. Yonezawa, T.; Onoue, S.; Kimizuka, N., Preparation of highly positively charged silver nanoballs and their stability. *Langmuir* **2000**, 16, (12), 5218-5220.
282. Chen, S. H.; Kimura, K., Synthesis and characterization of carboxylate-modified gold nanoparticle powders dispersible in water. *Langmuir* **1999**, 15, (4), 1075-1082.
283. Chen, S. H.; Kimura, K., Synthesis of thiolate-stabilized platinum nanoparticles in protolytic solvents as isolable colloids. *Journal of Physical Chemistry B* **2001**, 105, (23), 5397-5403.
284. Wang, S. H.; Sato, S.; Kimura, K., Preparation of hexagonal-close-packed colloidal crystals of hydrophilic monodisperse gold nanoparticles in bulk aqueous solution. *Chemistry of Materials* **2003**, 15, (12), 2445-2448.
285. Templeton, A. C.; Chen, S. W.; Gross, S. M.; Murray, R. W., Water-soluble, isolable gold clusters protected by tiopronin and coenzyme A monolayers. *Langmuir* **1999**, 15, (1), 66-76.
286. Schaaff, T. G.; Knight, G.; Shafiqullin, M. N.; Borkman, R. F.; Whetten, R. L., Isolation and selected properties of a 10.4 kDa Gold : Glutathione cluster compound. *Journal of Physical Chemistry B* **1998**, 102, (52), 10643-10646.
287. Yonezawa, T.; Kunitake, T., Practical preparation of anionic mercapto ligand-stabilized gold nanoparticles and their immobilization. *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects* **1999**, 149, (1-3), 193-199.
288. Rogach, A. L.; Eychmuller, A.; Kornowski, A.; Weller, H., Thiol-stabilized CdSe and CdTe nanocrystals in the size quantization regime: Synthesis, optical and structural properties. *Macromolecular Symposia* **1998**, 136, 87-89.
289. Talapin, D. V.; Poznyak, S. K.; Gaponik, N. P.; Rogach, A. L.; Eychmuller, A., Synthesis of surface-modified colloidal semiconductor nanocrystals and study of photoinduced charge separation and transport in nanocrystal-polymer composites. *Physica E-Low-Dimensional Systems & Nanostructures* **2002**, 14, (1-2), 237-241.
290. A.L. Rogach; L. Katsikas; A. Kornowski; D. Su; A. Eychmüller; H. Weller, B., Synthesis and Characterization of Surface-Modified Colloidal CdTe Quantum Dots. *Bunsenges. Phys. Chem.* **1996**, 100, 1772-1778
291. Gaponik, N.; Talapin, D. V.; Rogach, A. L.; Hoppe, K.; Shevchenko, E. V.; Kornowski, A.; Eychmuller, A.; Weller, H., Thiol-capping of CdTe nanocrystals: An alternative to organometallic synthetic routes. *Journal of Physical Chemistry B* **2002**, 106, (29), 7177-7185.
292. Winter, J. O.; Gomez, N.; Gatzert, S.; Schmidt, C. E.; Korgel, B. A., Variation of cadmium sulfide nanoparticle size and photoluminescence intensity with altered aqueous synthesis conditions. *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects* **2005**, 254, (1-3), 147-157.
293. Li, C.; Chen, X.; Sui, Z. M.; Wang, L. Y.; Xu, L. M.; Hao, J. C., A facile approach for synthesis of high-stable CdS nanoparticles. *Chinese Science Bulletin* **2006**, 51, (10), 1266-1268.
294. Lan, G. Y.; Lin, Y. W.; Huang, Y. F.; Chang, H. T., Photo-assisted synthesis of highly fluorescent ZnSe(S) quantum dots in aqueous solution. *Journal of Materials Chemistry* **2007**, 17, (25), 2661-2666.
295. Shang, Q. K.; Wang, H. D.; Yu, H.; Shan, G. Y.; Yan, R., Effect of phenylalanine on photoluminescence and stability of CdTe nanocrystals capped with thioglycolic acid. *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects* **2007**, 294, (1-3), 86-91.
296. Rogach, A. L.; Kornowski, A.; Gao, M. Y.; Eychmuller, A.; Weller, H., Synthesis and characterization of a size series of extremely small thiol-stabilized CdSe nanocrystals. *Journal of Physical Chemistry B* **1999**, 103, (16), 3065-3069.

297. Bancu, L.; Meghea, A., Synthesis of fluorescent CdS-amino acid hybrids. *Revista De Chimie* **2007**, 58, (9), 904-906.
298. Barglik-Chory, C.; Buchold, D.; Schmitt, M.; Kiefer, W.; Heske, C.; Kumpf, C.; Fuchs, O.; Weinhardt, L.; Stahl, A.; Umbach, E.; Lentze, M.; Geurts, J.; Muller, G., Synthesis, structure and spectroscopic characterization of water-soluble CdS nanoparticles. *Chemical Physics Letters* **2003**, 379, (5-6), 443-451.
299. Zheng, Y. G.; Gao, S. J.; Ying, J. Y., Synthesis and cell-imaging applications of glutathione-capped CdTe quantum dots. *Advanced Materials* **2007**, 19, (3), 376-380.
300. Green, S. J.; Stokes, J. J.; Hostetler, M. J.; Pietron, J.; Murray, R. W., Three-Dimensional Monolayers: Nanometer-Sized Electrodes of Alkanethiolate-Stabilized Gold Cluster Molecules. *Journal of physical Chemistry C* **1997**, 101, (14), 2663 - 2668.
301. Hostetler, M. J.; Green, S. J.; Stokes, J. J.; Murray, R. W., Monolayers in Three Dimensions: Synthesis and Electrochemistry of -Functionalized Alkanethiolate-Stabilized Gold Cluster Compounds. *Journal of the American Chemical Society* **1996**, 118, (17), 4212 - 4213.
302. Ingram, R. S.; Hostetler, M. J.; Murray, R. W., Poly-hetero-w-functionalized alkanethiolate-stabilized gold cluster compounds. *Journal of the American Chemical Society* **1997**, 119, (39), 9175-9178.
303. Templeton, A. C.; Hostetler, M. J.; Warmoth, E. K.; Chen, S. W.; Hartshorn, C. M.; Krishnamurthy, V. M.; Forbes, M. D. E.; Murray, R. W., Gateway reactions to diverse, polyfunctional monolayer-protected gold clusters. *Journal of the American Chemical Society* **1998**, 120, (19), 4845-4849.
304. Simard, J.; Briggs, C.; Boal, A. K.; Rotello, V. M., Formation and pH-controlled assembly of amphiphilic gold nanoparticles. *Chemical Communications* **2000**, (19), 1943-1944.
305. Gittins, D. I.; Caruso, F., Biological and physical applications of water-based metal nanoparticles synthesised in organic solution. *Chem.Phys.Chem* **2002**, 3, (1), 110-113.
306. Warner, M. G.; Reed, S. M.; Hutchison, J. E., Small, water-soluble, ligand-stabilized gold nanoparticles synthesized by interfacial ligand exchange reactions. *Chemistry of Materials* **2000**, 12, (11), 3316-3320.
307. Foos, E. E.; Snow, A. W.; Twigg, M. E.; Ancona, M. G., Thiol-terminated Di-, Tri-, and tetraethylene oxide functionalized gold nanoparticles: A water-soluble, charge-neutral cluster. *Chemistry of Materials* **2002**, 14, (5), 2401-2408.
308. Kanaras, A. G.; Kamounah, F. S.; Schaumburg, K.; Kiely, C. J.; Brust, M., Thioalkylated tetraethylene glycol: a new ligand for water soluble monolayer protected gold clusters. *Chemical Communications* **2002**, (20), 2294-2295.
309. Talapin, D. V.; Rogach, A. L.; Mekis, I.; Haubold, S.; Kornowski, A.; Haase, M.; Weller, H., Synthesis and surface modification of amino-stabilized CdSe, CdTe and InP nanocrystals. *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects* **2002**, 202, (2-3), 145-154.
310. Pinaud, F.; King, D.; Moore, H. P.; Weiss, S., Bioactivation and cell targeting of semiconductor CdSe/ZnS nanocrystals with phytochelatin-related peptides. *Journal of the American Chemical Society* **2004**, 126, (19), 6115-6123.
311. Ding, S. Y.; Jones, M.; Tucker, M. P.; Nedeljkovic, J. M.; Wall, J.; Simon, M. N.; Rumbles, G.; Himmel, M. E., Quantum dot molecules assembled with genetically engineered proteins. *Nano Letters* **2003**, 3, (11), 1581-1585.
312. Blum, A. S.; Soto, C. M.; Wilson, C. D.; Whitley, J. L.; Moore, M. H.; Sapsford, K. E.; Lin, T. W.; Chatterji, A.; Johnson, J. E.; Ratna, B. R., Templated self-assembly of quantum dots from aqueous solution using protein scaffolds. *Nanotechnology* **2006**, 17, (20), 5073-5079.

313. Sukhanova, A.; Devy, M.; Venteo, L.; Kaplan, H.; Artemyev, M.; Oleinikov, V.; Klinov, D.; Pluot, M.; Cohen, J. H. M.; Nabiev, I., Biocompatible fluorescent nanocrystals for immunolabeling of membrane proteins and cells. *Analytical Biochemistry* **2004**, 324, (1), 60-67.
314. Selvakannan, P. R.; Mandal, S.; Phadtare, S.; Pasricha, R.; Sastry, M., Capping of gold nanoparticles by the amino acid lysine renders them water-dispersible. *Langmuir* **2003**, 19, (8), 3545-3549.
315. Selvakannan, P.; Mandal, S.; Phadtare, S.; Gole, A.; Pasricha, R.; Adyanthaya, S. D.; Sastry, M., Water-dispersible tryptophan-protected gold nanoparticles prepared by the spontaneous reduction of aqueous chloroaurate ions by the amino acid. *Journal of Colloid and Interface Science* **2004**, 269, (1), 97-102.
316. Selvakannan, P. R.; Swami, A.; Srisathiyarayanan, D.; Shirude, P. S.; Pasricha, R.; Mandale, A. B.; Sastry, M., Synthesis of aqueous Au core-Ag shell nanoparticles using tyrosine as a pH-dependent reducing agent and assembling phase-transferred silver nanoparticles at the air-water interface. *Langmuir* **2004**, 20, (18), 7825-7836.
317. Nayak, N. C.; Shin, K., Synthesis of L-phenylalanine stabilized gold nanoparticles and their thermal stability. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* **2006**, 6, (11), 3512-3516.
318. Slocik, J. M.; Wright, D. W., Biomimetic mineralization of noble metal nanoclusters. *Biomacromolecules* **2003**, 4, (5), 1135-1141.
319. Slocik, J. M.; Moore, J. T.; Wright, D. W., Monoclonal antibody recognition of histidine-rich peptide encapsulated nanoclusters. *Nano Letters* **2002**, 2, (3), 169-173.
320. Euliss, L. E.; Grancharov, S. G.; O'Brien, S.; Deming, T. J.; Stucky, G. D.; Murray, C. B.; Held, G. A., Cooperative assembly of magnetic nanoparticles and block copolypeptides in aqueous media. *Nano Letters* **2003**, 3, (11), 1489-1493.
321. Mandal, S.; Phadtare, S.; Sastry, M., Interfacing biology with nanoparticles. *Current Applied Physics* **2005**, 5, (2), 118-127.
322. Gittins, D. I.; Caruso, F., Spontaneous phase transfer of nanoparticulate metals from organic to aqueous media. *Angewandte Chemie-International Edition* **2001**, 40, (16), 3001-3004.
323. Kumar, A.; Mukherjee, P.; Guha, A.; Adyantaya, S. D.; Mandale, A. B.; Kumar, R.; Sastry, M., Amphoterization of colloidal gold particles by capping with valine molecules and their phase transfer from water to toluene by electrostatic coordination with fatty amine molecules. *Langmuir* **2000**, 16, (25), 9775-9783.
324. Joshi, H.; Shirude, P. S.; Bansal, V.; Ganesh, K. N.; Sastry, M., Isothermal titration calorimetry studies on the binding of amino acids to gold nanoparticles. *Journal of Physical Chemistry B* **2004**, 108, (31), 11535-11540.
325. Wang, Y.; Wong, J. F.; Teng, X. W.; Lin, X. Z.; Yang, H., "Pulling" nanoparticles into water: Phase transfer of oleic acid stabilized monodisperse nanoparticles into aqueous solutions of alpha-cyclodextrin. *Nano Letters* **2003**, 3, (11), 1555-1559.
326. Giuffrida, S.; Ventimiglia, G.; Petralia, S.; Conoci, S.; Sortino, S., Facile light-triggered one-step synthesis of small and stable platinum nanoparticles in an aqueous medium from a beta-cyclodextrin host-guest inclusion complex. *Inorganic Chemistry* **2006**, 45, (2), 508-510.
327. Liu, J.; Alvarez, J.; Ong, W.; Roman, E.; Kaifer, A. E., Tuning the catalytic activity of cyclodextrin-modified palladium nanoparticles through host-guest binding interactions. *Langmuir* **2001**, 17, (22), 6762-6764.
328. Xue, C. H.; Palaniappan, K.; Arumugam, G.; Hackney, S. A.; Liu, J.; Liu, H. Y., Sonogashira reactions catalyzed by water-soluble, beta-cyclodextrin-capped palladium nanoparticles. *Catalysis Letters* **2007**, 116, (3-4), 94-100.

329. Strimbu, L.; Liu, J.; Kaifer, A. E., Cyclodextrin-capped palladium nanoparticles as catalysts for the Suzuki reaction. *Langmuir* **2003**, 19, (2), 483-485.
330. Sau, T. K.; Murphy, C. J., Room temperature, high-yield synthesis of multiple shapes of gold nanoparticles in aqueous solution. *Journal of the American Chemical Society* **2004**, 126, (28), 8648-8649.
331. Sau, T. K.; Murphy, C. J., Self-assembly patterns formed upon solvent evaporation of aqueous cetyltrimethylammonium bromide-coated gold nanoparticles of various shapes. *Langmuir* **2005**, 21, (7), 2923-2929.
332. Nikoobakht, B.; El-Sayed, M. A., Evidence for bilayer assembly of cationic surfactants on the surface of gold nanorods. *Langmuir* **2001**, 17, (20), 6368-6374.
333. Wooding, A.; Kilner, M.; Lambrick, D. B., Studies of the double surfactant layer stabilization of water-based magnetic fluids. *Journal of Colloid and Interface Science* **1991**, 144, (1), 236-242.
334. Cheng, W. L.; Dong, S. J.; Wang, E. K., Studies of electrochemical quantized capacitance charging of surface ensembles of silver nanoparticles. *Electrochemistry Communications* **2002**, 4, (5), 412-416.
335. Maity, D.; Agrawal, D. C., Synthesis of iron oxide nanoparticles under oxidizing environment and their stabilization in aqueous and non-aqueous media. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* **2007**, 308, (1), 46-55.
336. Swami, A.; Jadhav, A.; Kumar, A.; Adyanthaya, S. D.; Sastry, M., Water-dispersible nanoparticles via interdigitation of sodium dodecylsulphate molecules in octadecylamine-capped gold nanoparticles at a liquid-liquid interface. *Proceedings of the Indian Academy of Sciences-Chemical Sciences* **2003**, 115, (5-6), 679-687.
337. Swami, A.; Kumar, A.; Sastry, M., Formation of water-dispersible gold nanoparticles using a technique based on surface-bound interdigitated bilayers. *Langmuir* **2003**, 19, (4), 1168-1172.
338. Patil, V.; Mayya, K. S.; Pradhan, S. D.; Sastry, M., Evidence for novel interdigitated bilayer formation of fatty acids during three-dimensional self-assembly on silver colloidal particles. *Journal of the American Chemical Society* **1997**, 119, (39), 9281-9282.
339. Shen, L. F.; Laibinis, P. E.; Hatton, T. A., Bilayer surfactant stabilized magnetic fluids: Synthesis and interactions at interfaces. *Langmuir* **1999**, 15, (2), 447-453.
340. Shen, L. F.; Stachowiak, A.; Fateen, S. E. K.; Laibinis, P. E.; Hatton, T. A., Structure of alkanolic acid stabilized magnetic fluids. A small-angle neutron and light scattering analysis. *Langmuir* **2001**, 17, (2), 288-299.
341. Zhang, L. X.; Sun, X. P.; Song, Y. H.; Jiang, X.; Dong, S. J.; Wang, E. A., Didodecyltrimethylammonium bromide lipid bilayer-protected gold nanoparticles: Synthesis, characterization, and self-assembly. *Langmuir* **2006**, 22, (6), 2838-2843.
342. Sistach, S.; Rahme, K.; Perignon, N.; Marty, J. D.; Viguerie, N. L. D.; Gauffre, F.; Mingotaud, C., Bolaamphiphile surfactants as nanoparticle stabilizers: Application to reversible aggregation of gold nanoparticles. *Chemistry of Materials* **2008**, 20, (4), 1221-1223.
343. Yonezawa, T.; Toshima, N.; Wakai, C.; Nakahara, M.; Nishinaka, M.; Tominaga, T.; Nomura, H., Structure of monoalkyl-monocationic surfactants on the microscopic three-dimensional platinum surface in water. *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects* **2000**, 169, (1-3), 35-45.
344. Nowicki, W., Kinetic behaviour of the system composed of nanosized gold particles and very-high-molecular-weight polyacrylamide. *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects* **2001**, 194, (1-3), 159-173.

345. Liufu, S. C.; Mao, H. N.; Li, Y. P., Adsorption of poly(acrylic acid) onto the surface of titanium dioxide and the colloidal stability of aqueous suspension. *Journal of Colloid and Interface Science* **2005**, 281, (1), 155-163.
346. L. Longenberger; G. Mills, Formation of Metal Particles in Aqueous Solutions by Reactions of Metal Complexes with Polymers. *J. phys. Chem.* **1995**, 99, (2), 475 - 478.
347. Luo, C. C.; Zhang, Y. H.; Zeng, X. W.; Zeng, Y. W.; Wang, Y. G., The role of poly(ethylene glycol) in the formation of silver nanoparticles. *Journal of Colloid and Interface Science* **2005**, 288, (2), 444-448.
348. Pardoe, H.; Chua-anusorn, W.; St Pierre, T. G.; Dobson, J., Structural and magnetic properties of nanoscale iron oxide particles synthesized in the presence of dextran or polyvinyl alcohol. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* **2001**, 225, (1-2), 41-46.
349. Chastellain, A.; Petri, A.; Hofmann, H., Particle size investigations of a multistep synthesis of PVA coated superparamagnetic nanoparticles. *Journal of Colloid and Interface Science* **2004**, 278, (2), 353-360.
350. Bai, J.; Li, Y.; Du, J.; Wang, S.; Zheng, J.; Yang, Q.; Chen, X., One-pot synthesis of polyacrylamide-gold nanocomposite. *Materials Chemistry and Physics* **2007**, 106, (2-3), 412-415.
351. Hoppe, C. E.; Lazzari, M.; Pardinan-Blanco, I.; Lopez-Quintela, M. A., One-step synthesis of gold and silver hydrosols using poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) as a reducing agent. *Langmuir* **2006**, 22, (16), 7027-7034.
352. Bronstein, L. M.; Sidorov, S. N.; Gourkova, A. Y.; Valetsky, P. M.; Hartmann, J.; Breulmann, M.; Colfen, H.; Antonietti, M., Interaction of metal compounds with 'double-hydrophilic' block copolymers in aqueous medium and metal colloid formation. *Inorganica Chimica Acta* **1998**, 280, (1-2), 348-354.
353. Bronstein, L. H.; Sidorov, S. N.; Valetsky, P. M.; Hartmann, J.; Colfen, H.; Antonietti, M., Induced micellization by interaction of poly(2-vinylpyridine)-block-poly(ethylene oxide) with metal compounds. Micelle characteristics and metal nanoparticle formation. *Langmuir* **1999**, 15, (19), 6256-6262.
354. Harris, L. A.; Goff, J. D.; Carmichael, A. Y.; Riffle, J. S.; Harburn, J. J.; St Pierre, T. G.; Saunders, M., Magnetite nanoparticle dispersions stabilized with triblock copolymers. *Chemistry of Materials* **2003**, 15, (6), 1367-1377.
355. Ishii, T.; Otsuka, H.; Kataoka, K.; Nagasaki, Y., Preparation of functionally PEGylated gold nanoparticles with narrow distribution through autoreduction of auric cation by alpha-biotinyl-PEG-block-[poly(2-(N,N-dimethylamino)ethyl methacrylate)]. *Langmuir* **2004**, 20, (3), 561-564.
356. Gittins, D. I.; Caruso, F., Multilayered polymer nanocapsules derived from gold nanoparticle templates. *Advanced Materials* **2000**, 12, (24), 1947-1949.
357. Gittins, D. I.; Caruso, F., Tailoring the polyelectrolyte coating of metal nanoparticles. *Journal of Physical Chemistry B* **2001**, 105, (29), 6846-6852.
358. Mayya, K. S.; Schoeler, B.; Caruso, F., Preparation and organization of nanoscale polyelectrolyte-coated gold nanoparticles. *Advanced Functional Materials* **2003**, 13, (3), 183-188.
359. Li, H. X.; Rothberg, L. J., Label-free colorimetric detection of specific sequences in genomic DNA amplified by the polymerase chain reaction. *Journal of the American Chemical Society* **2004**, 126, (35), 10958-10961.
360. Huang, H. Z.; Yang, X. R., Synthesis of chitosan-stabilized gold nanoparticles in the absence/presence of tripolyphosphate. *Biomacromolecules* **2004**, 5, (6), 2340-2346.
361. Huang, H. Z.; Yang, X. R., Synthesis of polysaccharide-stabilized gold and silver nanoparticles: a green method. *Carbohydrate Research* **2004**, 339, (15), 2627-2631.

362. Huang, H. Z.; Yuan, Q.; Yang, X. R., Preparation and characterization of metal-chitosan nanocomposites. *Colloids and Surfaces B-Biointerfaces* **2004**, 39, (1-2), 31-37.
363. Magdassi, S.; Bassa, A.; Vinetsky, Y.; Kamyshny, A., Silver nanoparticles as pigments for water-based ink-jet inks. *Chemistry of Materials* **2003**, 15, (11), 2208-2217.
364. Raveendran, P.; Fu, J.; Wallen, S. L., A simple and "green" method for the synthesis of Au, Ag, and Au-Ag alloy nanoparticles. *Green Chemistry* **2006**, 8, (1), 34-38.
365. Li, W. G.; Jia, Q. X.; Wang, H. L., Facile synthesis of metal nanoparticles using conducting polymer colloids. *Polymer* **2006**, 47, (1), 23-26.
366. Chen, H. J.; Wang, Y. L.; Wang, Y. Z.; Dong, S. J.; Wang, E. K., One-step preparation and characterization of PDDA-protected gold nanoparticles. *Polymer* **2006**, 47, (2), 763-766.
367. Radziuk, D.; Skirtach, A.; Sukhorukov, G.; Shchukin, D.; Mohwald, H., Stabilization of silver nanoparticles by polyelectrolytes and poly(ethylene glycol). *Macromolecular Rapid Communications* **2007**, 28, (7), 848-855.
368. Kumar, S. S.; Kumar, C. S.; Mathiyarasu, J.; Phani, K. L., Stabilized gold nanoparticles by reduction using 3,4-ethylenedioxythiophene-polystyrenesulfonate in aqueous solutions: Nanocomposite formation, stability, and application in catalysis. *Langmuir* **2007**, 23, (6), 3401-3408.
369. Kim, Y. G.; Oh, S. K.; Crooks, R. M., Preparation and characterization of 1-2 nm dendrimer-encapsulated gold nanoparticles having very narrow size distributions. *Chemistry of Materials* **2004**, 16, (1), 167-172.
370. Shi, X. Y.; Ganser, T. R.; Sun, K.; Balogh, L. P.; Baker, J. R., Characterization of crystalline dendrimer-stabilized gold nanoparticles. *Nanotechnology* **2006**, 17, (4), 1072-1078.
371. Scott, R. W. J.; Wilson, O. M.; Crooks, R. M., Synthesis, characterization, and applications of dendrimer-encapsulated nanoparticles. *Journal of Physical Chemistry B* **2005**, 109, (2), 692-704.
372. Oh, S. K.; Kim, Y. G.; Ye, H. C.; Crooks, R. M., Synthesis, characterization, and surface immobilization of metal nanoparticles encapsulated within bifunctionalized dendrimers. *Langmuir* **2003**, 19, (24), 10420-10425.
373. Scott, R. W. J.; Ye, H. C.; Henriquez, R. R.; Crooks, R. M., Synthesis, characterization, and stability of dendrimer-encapsulated palladium nanoparticles. *Chemistry of Materials* **2003**, 15, (20), 3873-3878.
374. Lesniak, W.; Bielinska, A. U.; Sun, K.; Janczak, K. W.; Shi, X. Y.; Baker, J. R.; Balogh, L. P., Silver/dendrimer nanocomposites as biomarkers: Fabrication, characterization, in vitro toxicity, and intracellular detection. *Nano Letters* **2005**, 5, (11), 2123-2130.
375. Shi, X. Y.; Wang, S. H.; Sun, H. P.; Baker, J. R., Improved biocompatibility of surface functionalized dendrimer entrapped gold nanoparticles. *Soft Matter* **2007**, 3, (1), 71-74.
376. Kuo, P. L.; Chen, W. F., Formation of silver nanoparticles under structured amino groups in pseudo-dendritic poly(allylamine) derivatives. *Journal of Physical Chemistry B* **2003**, 107, (41), 11267-11272.
377. Kuo, P. L.; Liang, W. J.; Wang, F. Y., Hyperbranch-polyethyleniminated functional polymers II: effect of polyethyleniminated polyoxypropylenediamines on copper nanoparticle formation in aqueous solution. *Colloid and Polymer Science* **2006**, 284, (4), 435-442.
378. Perignon, N.; Mingotaud, A. F.; Marty, J. D.; Rico-Lattes, I.; Mingotaud, C., Formation and stabilization in water of metal nanoparticles by a hyperbranched polymer chemically analogous to PAMAM dendrimers. *Chemistry of Materials* **2004**, 16, (24), 4856-4858.
379. Perignon, N.; Marty, J. D.; Mingotaud, A. F.; Dumont, M.; Rico-Lattes, I.; Mingotaud, C., Hyperbranched polymers analogous to PAMAM dendrimers for the formation and stabilization of gold nanoparticles. *Macromolecules* **2007**, 40, (9), 3034-3041.

380. Kramer, M.; Perignon, N.; Haag, R.; Marty, J. D.; Thomann, R.; Lauth-de Viguerie, N.; Mingotaud, C., Water-soluble dendritic architectures with carbohydrate shells for the templation and stabilization of catalytically active metal nanoparticles. *Macromolecules* **2005**, *38*, (20), 8308-8315.
381. Letchford, K.; Burt, H., A review of the formation and classification of amphiphilic block copolymer nanoparticulate structures: micelles, nanospheres, nanocapsules and polymersomes. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **2007**, *65*, (3), 259-269.
382. Antonietti, M.; Forster, S.; Oestreich, S., Micellization of amphiphilic block copolymers and use of their micelles as nanosized reaction vessels. *Macromolecular Symposia* **1997**, *121*, 75-88.
383. Lazzari, M.; Lopez-Quintela, M. A., Block copolymers as a tool for nanomaterial fabrication. *Advanced Materials* **2003**, *15*, (19), 1583-1594.
384. Forster, S.; Antonietti, M., Amphiphilic block copolymers in structure-controlled nanomaterial hybrids. *Advanced Materials* **1998**, *10*, (3), 195-217.
385. Park, C.; Rhue, M.; Lim, J.; Kim, C., Metal nanoparticles in the template of poly(2-ethyl-2-oxazoline)-block-poly(epsilon-caprolactone) micelle. *Macromolecular Research* **2007**, *15*, (1), 39-43.
386. Mandal, D.; Chatterjee, U., Synthesis and spectroscopy of CdS nanoparticles in amphiphilic diblock copolymer micelles. *Journal of Chemical Physics* **2007**, *126*, (13), 134507-1-8.
387. Zhao, H. Y.; Douglas, E. P., Preparation of corona-embedded CdS nanoparticles. *Chemistry of Materials* **2002**, *14*, (3), 1418-1423.
388. Underhill, R. S.; Liu, G. J., Triblock nanospheres and their use as templates for inorganic nanoparticle preparation. *Chemistry of Materials* **2000**, *12*, (8), 2082-2091.
389. Nishikawa, H.; Morita, T.; Sugiyama, J.; Kimura, S., Formation of gold nanoparticles in microreactor composed of helical peptide assembly in water. *Journal of Colloid and Interface Science* **2004**, *280*, (2), 506-510.
390. Wang, Y.; Zhang, J. H.; Wang, Z. H.; Wang, Z.; Yang, B., PbS nanoparticles/polymer composite aggregates through self-assembly of amphiphilic copolymer containing cross-linked hydrophilic block. *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects* **2007**, *292*, (2-3), 159-164.
391. Niu, H. J.; Zhang, L. W.; Gao, M. Y.; Chen, Y. M., Amphiphilic ABC triblock copolymer-assisted synthesis of core/shell structured CdTe nanowires. *Langmuir* **2005**, *21*, (9), 4205-4210.
392. Duxin, N.; Liu, F. T.; Vali, H.; Eisenberg, A., Cadmium sulphide quantum dots in morphologically tunable triblock copolymer aggregates. *Journal of the American Chemical Society* **2005**, *127*, (28), 10063-10069.
393. Park, J. I.; Cheon, J., Synthesis of "solid solution" and "core-shell" type cobalt-platinum magnetic nanoparticles via transmetalation reactions. *Journal of the American Chemical Society* **2001**, *123*, (24), 5743-5746.
394. Jiang, H. Y.; Zhong, W.; Tang, N. J.; Liu, X. S.; Du, Y. W., Chemical synthesis of highly magnetic, air-stable silica-coated iron particles. *Chinese Physics Letters* **2003**, *20*, (10), 1855-1857.
395. Richard-Plouet, M.; Guillot, M.; Vilminot, S.; Leuvre, C.; Estournes, C.; Kurmoo, M., hcp and fcc nickel nanoparticles prepared from organically functionalized layered phyllosilicates of nickel(II). *Chemistry of Materials* **2007**, *19*, (4), 865-871.
396. Matoussevitch, N.; Gorschinski, A.; Habicht, W.; Bolle, J.; Dinjus, E.; Bonnemann, H.; Behrens, S., Surface modification of metallic Co nanoparticles. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* **2007**, *311*, (1), 92-96.

397. Kuchibhatla, S. V. N. T.; Karakoti, A. S.; Seal, S., Colloidal stability by surface modification. *Jom* **2005**, 57, (12), 52-56.

Chapitre II

Stabilisation de nanoparticules dans l'eau par des copolymères à blocs

Table des matières de Chapitre II

I.	Choix du système et état de l'art	75
I-1.	Choix du système particule – stabilisant	75
I-1.1.	Choix des nanoparticules.....	75
I-1.2.	Choix de l'agent stabilisant	76
I-2.	Structure et propriétés des Pluronic[®]	76
I-2.1.	Les agrégats formés par les Pluronic[®] dans l'eau.....	78
I-2.2.	Applications des Pluronic.....	80
I-2.3.	Applications à la synthèse et à la stabilisation de nanoparticules dans l'eau	81
I-3.	Synthèse des nanoparticules d'or	83
I-4.	Bande de résonance plasmon des nanoparticules de métaux noble.....	84
I-4.1.	Introduction	84
I-4.2.	Origine physique de l'absorption plasmon	85
I-4.3.	Propriétés spectrales des nanoparticules métalliques.....	86
II.	Résultats.....	93
II-1.	Synthèse et caractérisation des nanoparticules d'or	93
II-1.1.	Stabilité de la solution Au-citrate	95
II-1.2.	Méthode d'analyse : description de l'agrégation et de la décantation	98
II-2.	Stabilisation par les Pluronic	100
II-2.1.	Effet de la chaîne hydrophile PEO	102
II-2.2.	Effet de la chaîne hydrophobe PPO.....	108
II-2.3.	Effet de la longueur totale du polymère	110
II-2.4.	Influence de la concentration en polymère	112
II-2.5.	Effet de la concentration en particules.....	115
II-2.6.	Stabilité en milieu acide	116
II-2.7.	Corrélation entre l'agrégation et la précipitation	117

II-2.8. Discussion.....	118
II-3. Cas des polymères amphiphiles diblocs (PEO-PPO).....	119
II-3.1. Comparaison entre les structures dibloc et tribloc	120
II-3.2. Détermination des CAC pour EO ₂₇₂ PO ₂₉ et EO ₁₁₃ PO ₁₉	122
II-3.3. Effet de la concentration en EO ₂₇₂ PO ₂₉ sur la stabilisation des AuNPs....	125
III. Conclusions.....	129
IV. Bibliographie	130

I. Choix du système et état de l'art

Comme nous l'avons vu dans le chapitre précédent, les nanoparticules possèdent des propriétés (optiques, électroniques...) uniques qui peuvent être utilisées dans de nombreuses applications. Pour limiter l'agrégation en solution, il est nécessaire d'employer des agents stabilisants.

Dans ce contexte, nous cherchons à développer de nouvelles stratégies de stabilisation de nanoparticules dans l'eau, en évitant de former des interactions covalentes entre le stabilisant et la surface des nanoparticules, ce qui risquerait d'inhiber leurs propriétés. On va utiliser des polymères amphiphiles, car on pense que ces molécules sont capables de s'auto-organiser autour des nanoparticules. Dans ce chapitre nous développerons cette stratégie, et on essaiera de comprendre l'effet de la structure de ces molécules, et les paramètres importants pour réaliser une stabilisation efficace. Pour développer cette stratégie, il faut tout d'abord choisir un système stabilisant/particule.

I-1. Choix du système particule – stabilisant

I-1.1. Choix des nanoparticules

Pour aborder l'étude de la stabilisation de nanoparticules dans l'eau, il faut tout d'abord faire le choix des nanoparticules. Notre choix s'est porté sur l'or. En effet, à cause de leurs propriétés optiques et électroniques particulières, les nanoparticules de métaux nobles trouvent des applications intéressantes en catalyse et en biosciences.^{1, 2} De plus, pour les petites particules de métaux nobles (Au, Ag, Cu), les oscillations des électrons de conduction donnent lieu à des plasmons de surface localisés. Ces derniers sont associés à une augmentation significative à la fois des phénomènes d'absorption et de diffusion de la lumière. L'absorption optique liée au plasmon permet de sonder la structure des petites particules (taille, forme), et également leur état d'agrégation.

Parmi les métaux nobles, l'or offre le plus d'avantages, car les nanoparticules d'or sont synthétisées facilement et présentent une grande stabilité chimique.³ Comme modèle de nanoparticules dans l'eau, nous avons donc choisi les nanoparticules d'or. Ces dernières peuvent être obtenues par plusieurs méthodes de synthèse. La plus facile à accomplir, c'est la méthode chimique, qui se base sur la réduction d'un précurseur d'or (sel ou acide) par un agent réducteur (citrate de sodium, borohydrure de sodium...).

Parmi les méthodes chimiques standards de préparation de nanoparticules d'or, la plus connue est celle décrite par Turkevich en 1951. Il s'agit d'une réduction de l'acide chloraurique par

du citrate de sodium. L'effet de la température et de la concentration des réactifs sur la taille finale des nanoparticules est bien décrit. La diminution de la quantité de citrate de sodium s'accompagne d'un changement de couleur de la solution colloïdale, lié à l'augmentation de taille des nanoparticules. La cause de cette variation de taille selon les conditions expérimentales est un mécanisme en deux étapes successives : la nucléation et la croissance.

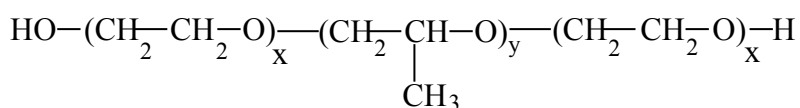
I-1.2. Choix de l'agent stabilisant

Comme nous l'avons décrit dans le premier chapitre, divers procédés sont utilisés pour obtenir des nanoparticules dispersées et stables en milieu aqueux. Souvent, il s'agit d'un greffage iono-covalent de l'agent stabilisant à la surface des nanoparticules. Une autre possibilité consiste à insérer les particules dans des structures organisées (micelles...).

Notre but dans l'équipe est de stabiliser les nanoparticules dans l'eau, plus précisément dans des milieux aqueux à haute force ionique. Notre stratégie se base sur l'utilisation de nouveaux agents stabilisants, qui ne forment pas une forte interaction avec la surface des nanoparticules. Ceci permet d'éviter l'inhibition de l'activité de surface de ces dernières. On cherche à compenser cette faible interaction stabilisant/particules par des interactions inter-stabilisant. On a choisi d'utiliser des polymères amphiphiles, hydrophiles-hydrophobes-hydrophiles, comme agents stabilisants. En effet, les agrégats formés avec les polymères sont plus stable qu'avec des tensioactifs, car les dynamiques sont plus lentes. Dans ce but, on a choisi les Pluronic[®] de formule $EO_xPO_yEO_x$, car ils sont amphiphiles, neutres, et commerciaux. Une grande variété de structures est commercialement disponible, ce qui permet l'étude de l'influence de la structure du polymère sur la stabilisation. Dans un souci de comparaison, nous nous sommes également intéressés au cas des diblocs EO_xPO_y .

I-2. Structure et propriétés des Pluronic[®]

Les copolymères triblocs à base de polyoxyéthylène et polyoxypropylène ($EO_xPO_yEO_x$), sont connus commercialement sous le nom de Pluronic[®] (BASF), Poloxamer (ICI), etc. Leur structure est présentée sur le schéma ci-dessous.



Ces copolymères à blocs sont commercialisés avec une large gamme de structures ($3 < x < 200$; $16 < y < 69$).⁴ Leur balance hydrophile-lipophile (HLB) dépend du rapport de masse PEO/PPO. Ainsi, un Pluronic avec un pourcentage élevé d'oxyéthylène est significativement soluble dans l'eau. Le tableau ci-dessous présente tous les Pluronics (BASF) utilisés durant cette étude, avec leur masse moléculaire, leurs structure, leurs valeurs de CMC extraites de la littérature. Les différentes séries de ces polymères utilisées dans ce chapitre sont aussi présentés dans ce tableau.

Nom	\overline{M}_w (g.mol ⁻¹)	nombre total d'unités EO/ polymère	nombre d'unités PO/ polymère	cmc (mM)	Séries					
					PO1	PO2	EO1	EO2	M1	M2
L62	2500	12	34	9,6			x			
L64	2900	26	30	26					x	
P65	3400	38	29	38	x		x			
P84	4200	38	43	6,2	x				x	
P85	4600	52	40	8,7			x			
P123	5750	38	69	0,05	x			x		
P104	5900	54	61	0,51				x	x	
F68	8400	152	29	18			x			x
F88	11400	206	39	12		x	x			x
F127	12600	200	65	0,56		x		x		
F108	14600	264	50	3,1						x
PEG	8000	182	0	-		x				

Tableau 1 : Copolymères à bloc $\text{EO}_x\text{PO}_y\text{EO}_x$ utilisés dans cette étude et leurs propriétés. Toutes les données sont extraites de la référence⁵ (5) et les valeurs de cmc sont données à 25 °C, à l'exception de F68 et L62, qui sont données, respectivement, à 27 °C et 20 °C et extraites des références (6) et (16).^{6,16}

Dans la suite on va rappeler les caractéristiques des solutions aqueuses de ces copolymères, ainsi que leurs applications à la solubilisation des produits hydrophobes (détergence, vectorisation...) et en particulier à la stabilisation et/ou la synthèse des nanoparticules dans l'eau.

I-2.1. Les agrégats formés par les Pluronic[®] dans l'eau

Le comportement des solutions aqueuses de ces copolymères tensioactifs a été largement examiné depuis plusieurs années.⁷ Quand la concentration est supérieure à la Concentration Micellaire Critique (CMC) à température constante, ou quand la température est supérieure à la Température Micellaire Critique à concentration constante (CMT) ces polymères forment des micelles dans l'eau, constituées d'un cœur hydrophobe «PPO» entouré par une couronne extérieure hydrophile hydratée «PEO».⁸ La taille et la morphologie des agrégats dépendent fortement des longueurs de chaînes EO et PO, ainsi que de la concentration, et des paramètres environnementaux tels que la température et la qualité du solvant (présence de co-solvant, d'autres tensioactifs et d'électrolytes...).⁹⁻¹³

Pour des solutions diluées à semi-diluées, les CMC et les CMT des Pluronic ont été largement étudiées en utilisant plusieurs techniques.^{12, 14-18} Par exemple, le groupe de Hatton^{15, 17} a publié une série d'articles sur la micellisation des Pluronic. Ils ont utilisé les mesures de tension superficielle, et la solubilisation d'une sonde hydrophobe suivie par fluorescence pour déterminer les CMC et CMT, et ils ont établi un bon accord entre les deux techniques. L'utilisation de la DSC à haute sensibilité par le groupe de Beezer,^{19, 20} a permis la détermination de la variation d'enthalpie correspondant à la micellisation de 27 copolymères, ainsi que de leur température micellaire critique (CMT). L'analyse de ces données en fonction de la composition des polymères, a montré une contribution dominante de la chaîne hydrophobe « PPO », à la fois dans le changement de l'enthalpie et la valeur de la CMT. Cette contribution a été interprétée comme une conséquence de la déshydratation des unités PO associées à la formation de micelles. La formation de micelles de Pluronic est fortement dépendante de la température, la CMC baissant de deux à trois ordres de grandeur avec une élévation de température de 20 °C.¹⁷ Ceci est dû à la déshydratation des blocs PEO et PPO.²¹ On note aussi une augmentation du rayon du cœur hydrophobe des micelles, due à la participation de segments EO déshydratés. De nombreuses techniques telles que : la diffusion de la lumière,²² la diffusion de neutrons aux petits angles,²³ l'infrarouge à transformée de Fourier,^{24, 25} la RMN,^{26, 27} la CPG,²⁸ la rhéologie,^{29, 30} la microcalorimétrie,^{7, 31} la Cryo-

TEM,³²... ont été utilisées pour l'étude de l'auto-association des Pluronic en solution aqueuse. Comme conclusions générales, ces études ont vérifié que la CMC diminue : (1) quand la longueur de la chaîne PO augmente, (2) quand la balance hydrophobe-hydrophile augmente, et (3) quand la température augmente.

Les valeurs expérimentales de CMC et CMT ne sont pas tout à fait les mêmes d'une technique à l'autre, mais en gros une gamme de concentrations ou de températures est définie. Hollande a examiné les origines des écarts importants de CMC signalées pour ces polymères. Il a utilisé une sonde fluorescente pour analyser l'agrégation, et a constaté que ce processus se produit en une série d'étapes, en identifiant un maximum de quatre régions différentes (changements spectraux) quand la concentration en polymère est augmentée.³³ En plus, on observe généralement deux ruptures de pente dans le graphe de la tension de surface en fonction de la concentration.³⁴ Ceci peut être dû à une pré-agrégation avant la CMC (formation de dimère, trimère...). Par ailleurs des anomalies de turbidité sont observées avec certains copolymères. Par exemple, le diagramme de phase du L62 dans l'eau montre deux points troubles.³⁵

Bien que ces polymères ne portent pas de charges, l'addition de sels a aussi une influence sur le point trouble, la CMC, la CMT, et la gélification, ceci à cause de la déshydratation des unités oxyéthylène.³⁶ Par exemple, la présence de sel fait que les micelles sont formées à des CMC et CMT plus faibles.^{10, 37, 38} Les sels à base de F^- , Cl^- , Br^- , I^- , conduisent à une augmentation de l'auto-hydratation de l'eau (liaisons hydrogène entre molécules d'eau, ce qui réduit l'hydratation des copolymères, et par conséquent diminue la CMC et la CMT et le point trouble dans l'ordre de $F^- > Cl^- > Br^- > I^-$). La transition des structures de micelles sphériques à allongées en présence de ces sels se fait aussi à des concentrations/températures plus faibles.^{36, 39, 40} Pour les copolymères les plus hydrophiles qui ne forment pas de micelles à la température ambiante, ces sels permettent de provoquer la formation de micelles et/ou du gel.⁴¹ Au contraire, les sels avec SCN^- ,¹² ou l'urée agissent comme briseurs de l'auto-hydratation de l'eau et par conséquent l'augmentation de l'hydratation du copolymère, et élèvent la CMC et la CMT.^{42, 43}

En solutions concentrées ou à des températures plus élevées, les Pluronic forment diverses structures comme des micelles cylindriques, des cristaux micellaires ou des gels, ce qui se traduit généralement par un changement spectaculaire dans la viscosité (Figure II. 1).^{9, 23, 31, 44-}

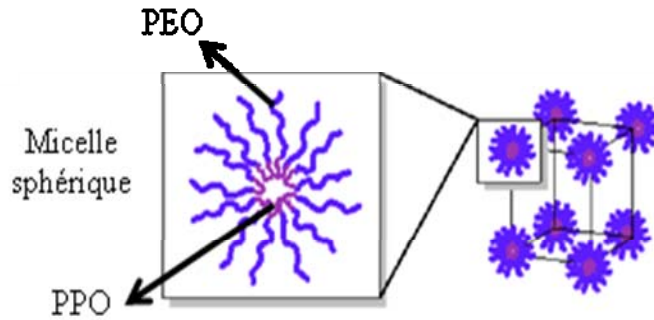


Figure II. 1 : Schéma illustrant la cristallisation des micelles de Pluronic en phase cubique micellaire.

I-2.2. Applications des Pluronic

Les copolymères à bloc $EO_xPO_yEO_x$ forment une classe importante d'agents de surface, qui a trouvé des applications industrielles très importantes dans la détergence, la dispersion et la stabilisation, la formation de mousse, l'émulsification, la lubrification, les industries pétrolières, les cosmétiques, la peinture etc... En plus, pour certains polymères une gélification thermoréversible à une température proche de la température du corps (37°C) peut avoir lieu.⁴⁸ La stabilité des micelles leur confère des applications en médecine comme la vectorisation et la libération contrôlée des médicaments.⁴⁹⁻⁵¹ Dans ce paragraphe on va citer quelques exemples d'utilisation des Pluronic.

Le cœur des micelles de Pluronic a été utilisé comme micro-container pour solubiliser des produits hydrophobes en milieu aqueux.^{47, 52-58} Ainsi, le P123 peut solubiliser des dérivés de benzoporphyrine utilisés en thérapie photodynamique.^{59, 60}

Il est connu que les micelles contenant des blocs de poly(oxyde d'éthylène) sont stabilisées stériquement, et subissent moins d'opsonisation et d'absorption par les macrophages du système réticuloendothélial, ce qui permet de faire circuler les micelles plus longtemps dans le sang.⁶¹ Les Pluronic sont apparus comme un système efficace pour la délivrance de médicaments avec des effets multiples. En effet, l'incorporation du médicament dans le cœur des micelles permet une augmentation de la solubilité, une stabilité métabolique, et un temps de circulation plus long.^{4, 62, 63} De plus, ces matériaux sont non irritant, et présentent une bonne compatibilité cellulaire avec différents types de cellules.^{64, 65} De nombreux agents cytotoxiques, ou drogues, ont été chargés dans des micelles de Pluronic.^{51, 66}

Les cellules cancéreuses surexpriment généralement la P-glycoprotéine (P-GP), qui expulse activement les principes actifs hors du compartiment cellulaire. Il a été montré que les Pluronic peuvent inhiber ce processus de résistance cellulaire aux traitements anticancéreux.^{66-68 69} De plus, le Pluronic P85 induit l'augmentation dans la fluidité des membranes des cellules endothéliales.^{70, 71} Il a été utilisé pour augmenter le transport d'un certain nombre d'agents thérapeutiques à travers un modèle de barrière hémato-encéphalique, et des cellules de type Caco-2.⁷²

Des modifications des Pluronic ont eu lieu ces dernières années afin d'améliorer leur potentiel biomédical.^{73, 74} Ainsi Oh a montré qu'un mélange L121/F127 forme des dispersions stables de particules de petite taille, capables d'améliorer la solubilisation d'une sonde modèle insoluble dans l'eau.⁷⁵ Lemieux a montré qu'une combinaison L61/F127 utilisée pour la formulation de l'ADN pour l'injection intramusculaire, augmente significativement l'expression intramusculaire de l'ADN plasmidique (10 fois de plus comparé à l'ADN nu injecté de la même manière).⁷⁶ Des agrégats de Pluronic modifiés et de polycations sont utilisés pour la délivrance des gènes.⁷⁷ D'autres possibilités consistent à réticuler la couronne des micelles de Pluronic, afin d'augmenter leur stabilité et leur efficacité comme véhicules de médicaments.^{78, 79}

I-2.3. Applications à la synthèse et à la stabilisation de nanoparticules dans l'eau

Les Pluronic sont très souvent utilisés pour la synthèse et la stabilisation de nanoparticules dans l'eau. On a sélectionné dans ce paragraphe quelques exemples.

Dans la plupart des cas, les Pluronic sont utilisés comme agents stabilisants *in situ* pendant la synthèse des nanoparticules, afin d'en limiter la croissance⁸⁰ et d'induire la morphologie finale des nanostructures.^{81, 82} Liu a étudié l'effet de Pluronic sur la morphologie de nanocristaux de PbS synthétisés à température ambiante dans l'eau, l'éthanol, et leur mélange. Leurs résultats montrent l'effet décisif de la longueur de la chaîne PEO et du solvant sur la morphologie des nanoparticules.⁸³ Des particules de CdS en forme étoilée, sphérique (creuse),⁸⁴ et de bâtonnet⁸¹ ont été synthétisées en présence de P123. Wang a montré l'effet de la concentration de P123 sur le contrôle de la morphologie (étoile, carré...) des cristaux de BaSO₄ en solution aqueuse.⁸⁵ Des nanoparticules de platine sont également synthétisées dans l'eau en présence de Pluronic comme agent stabilisants.⁸⁶ Par exemple, Niesz synthétise des

nanoparticules de platine en deux étapes. La première étape consiste à former des germes d'environ 3,5 nm par réduction d'un précurseur de platine en présence de L64. Ensuite, l'ajout de différentes concentrations d'acide hexachloroplatinique conduit à la formation de nanoparticules de platine de tailles différentes.⁸⁷ Récemment Zhang a utilisé les micelles de Pluronic pour contrôler la forme, la taille et les microstructures d'agrégats de plaquettes de ZnO (pyramidaux ou hexagonaux) en solution aqueuse.⁸⁸ Les Pluronic peuvent être aussi utilisés pour le transfert de nanoparticules synthétisées dans un solvant organique vers l'eau. Par exemple, Gonzales a récemment utilisé le F127 pour transférer d'une manière efficace, des nanoparticules d'oxyde de fer du toluène vers l'eau.⁸⁹

On note particulièrement les travaux faits ces dernières années par Alexandridis et ses collaborateurs. Ils ont développé une synthèse facile et environnementale de colloïdes d'or dans l'eau. Dans ces travaux, les Pluronic sont utilisés comme agents stabilisants et réducteurs à la fois. L'oxydation des groupements hydroxyles terminaux des blocs PEO conduit à la réduction du précurseur d'or.⁹⁰ Des nanoparticules d'or de taille variée sont obtenues avec des temps de réaction différents et différents polymères. La chaîne hydrophobe PPO joue un rôle important pour accélérer la vitesse de la réaction, ainsi que la stabilité dans le temps de ces nanoparticules. L'augmentation de la taille du PEO conduit à l'augmentation des tailles des particules, tandis que la chaîne PPO a une influence opposée.^{5, 91} D'autres études plus poussées basées sur la méthode de synthèse d'Alexandridis ont été aussi faites par Chen et son équipe. En effet, ils ont étudié l'effet de la structure des micelles de Pluronic sur la stabilisation de nanoparticules résultantes de l'auto-réduction en présence de sel. Ils ont montré que plus le cœur de la micelle est hydrophobe, plus ces dernières sont capables d'enrober les clusters primaires d'or, et par conséquent d'assurer une meilleure stabilité des nanoparticules.⁹²⁻⁹⁴ Une autre synthèse de nanoparticules d'or de différentes morphologies, en présence de micelles de Pluronic, et de micelles mixtes de deux Pluronic est effectuée par Bakshi.⁹⁵ Il s'agit de réduire un précurseur d'or (HAuCl_4) en présence de micelles de Pluronic par du NaBH_4 . Les nanoparticules d'or se forment dans les couronnes PEO des micelles. Aux plus fortes concentrations les nanoparticules se forment dans les interstices aqueux entre les micelles en interaction, conduisant à la formation de structures variées (bâtonnet, triangle).⁹⁵

Dans toutes ces études la concentration en polymère est très élevée, généralement supérieure à la CMC, donc en présence simultanée de micelles et du polymère libre. Afin de mieux

comprendre l'effet stabilisant des Pluronic, nous avons décidé de travailler au-dessous de la CMC, ce qui nous permet de supposer que les polymères existent seulement sous forme d'«unimères». De plus, la synthèse des nanoparticules est faite à part, afin d'éviter toute modification chimique des Pluronic durant la synthèse.

Notre but est de mieux comprendre l'effet de l'architecture moléculaire sur la stabilisation des nanoparticules dans l'eau. On va essayer de comprendre le rôle des deux chaînes hydrophiles (PEO), de la chaîne hydrophobe (PPO), ainsi que de la taille totale du polymère (M_w) sur la stabilité dans le temps. Ces études de comparaison de l'effet stabilisant de chaque polymère ont eu lieu en utilisant la même solution d'or colloïdal au départ. Ensuite, l'effet de la variation de la concentration en polymère ou en nanoparticules à haute force ionique en présence de sel (0,9 M NaCl) ou en milieu acide (pH~1,5) est effectué.

I-3. Synthèse des nanoparticules d'or

Nous avons donc choisi de synthétiser des nanoparticules d'or dans l'eau, par réduction d'un sel d'or avec du citrate de sodium. Les nanoparticules obtenues par cette synthèse, ont un diamètre d'environ 12 nm.

Afin de comprendre le rôle du citrate de sodium dans la réaction, une étude chimique a été faite par Turkevich en 1950,⁹⁶ pour mieux définir les produits intermédiaires et finaux. L'oxydation de l'acide citrique par des réactifs variés conduit à la formation de l'acétone diacide carboxylique (Figure II. 2).

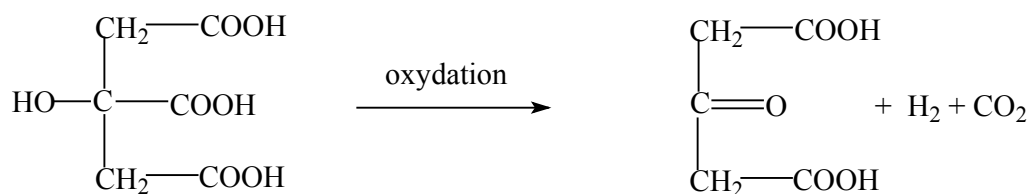


Figure II. 2 : Schéma général de l'oxydation de l'acide citrique.⁹⁶

Lorsque de l'acétone dicarboxylate de sodium est ajouté à une solution bouillante d'acide chloraurique, un changement rapide de couleur du jaune au bleu est observé, puis en quelques secondes, une solution colloïdale rouge est obtenue. Ce comportement est similaire à

celui observé durant la synthèse de nanoparticules d'or, par la méthode utilisant les ions citrates comme agent réducteur.

La réaction de synthèse des nanoparticules d'or, après réduction de l'acide tétrachloroaurique avec du citrate de sodium se fait selon le schéma réactionnel suivant :

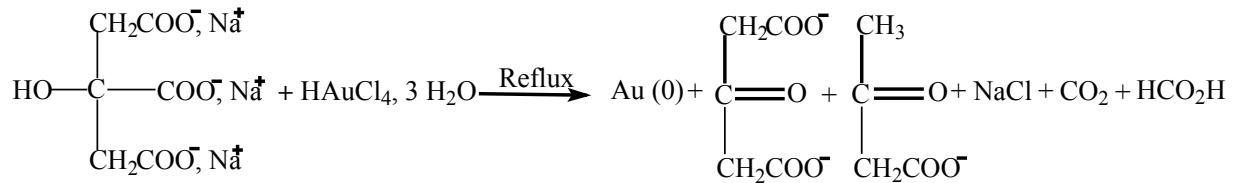


Figure II. 3 : Schéma réactionnel de la formation de nanoparticules d'or dans l'eau, par réduction de l'acide tétrachloroaurique avec du citrate de sodium.⁹⁷

La réaction présente une période d'induction qui correspond au temps suffisant à la formation d'une quantité d'acétone dicarboxylate nécessaire pour la nucléation.

Le nombre total de nucléi augmente avec la concentration en ion aurique et citrique, et passe par un maximum à une température entre 40 et 70°C. Cette dépendance inhabituelle avec la température, peut être associée avec l'observation, que des solutions diluées d'acide dicarboxylique se décomposent à une température d'environ 60°C. Par conséquent au dessus de cette température, la tendance à produire un nombre plus élevé de nucléi est compensée par la faible concentration de l'acétone dicarboxylate due à cette décomposition.

I-4. Bande de résonance plasmon des nanoparticules de métaux noble

I-4.1. Introduction

Une caractéristique des solutions colloïdales de nanoparticules de métaux nobles (or, argent ou cuivre) est la couleur de leurs solutions colloïdales, due à une forte absorption dans le spectre du visible, appelée bande de résonance plasmon de surface (BPS).

Les nanoparticules d'or ont été utilisées comme pigment de couleur rubis pour les vitraux depuis le 17ème siècle.⁹⁸ Faraday a suggéré que la couleur rouge est due à l'or métallique sous forme colloïdale, et Mie est le premier qui a expliqué ce phénomène théoriquement, en 1908 par la résolution de l'équation de Maxwell pour la dispersion et l'absorption du rayonnement électromagnétique par des particules sphériques. Depuis, le calcul des spectres de particules

est possible, puisque la fonction diélectrique du matériau est connue.⁹⁹ Dans le paragraphe suivant, nous tenons à expliquer l'origine de ce phénomène, et à en présenter un aperçu compréhensible.

I-4.2. Origine physique de l'absorption plasmon

L'origine physique de l'absorption de la lumière par des nanoparticules métalliques est l'oscillation cohérente des électrons de la bande de conduction dans les trois dimensions de l'espace, qui donne lieu à des plasmons de surface localisés. Ces résonances sont associées à une augmentation significative à la fois des phénomènes d'absorption et de diffusion induits par l'interaction avec le champ électromagnétique. Ils sont un effet de la petite taille de particules, dans la mesure où elles sont absentes dans les atomes individuels, ainsi que dans le matériau massif.¹⁰⁰

Lorsque les nanoparticules sont beaucoup plus petites que la longueur d'onde de la lumière, on peut considérer que tous les électrons confinés dans une nanoparticule voient le même champ, à un moment donné «t». Le champ électrique est donc considéré comme indépendant de la position dans la particule. Cette approximation est appelée «quasi-statique». Le déplacement du nuage d'électrons sous l'effet d'un champ électrique mène à la création de charges de surface, positives où le nuage fait défaut (manque d'électrons), et négatives où le nuage est concentré en électrons (Figure II. 4). Cet aspect justifie l'utilisation du terme «surface» dans la désignation du phénomène global. Une différence de charge nette existe donc seulement à la surface de la nanoparticule qui peut être considérée comme un dipôle électrique (Figure II. 4). Cette répartition de charge dipolaire impose une nouvelle force sur le nuage électronique. Les électrons subissent donc une force de restauration qui est en conflit avec le champ électrique externe. La position x , d'un électron participant à l'oscillation est alors régie par l'équation :

$$m_e \frac{d^2x}{dt^2} + m_e \Gamma \frac{dx}{dt} + Kx = eE$$

où K est la force de rétablissement, m_e est la masse effective de l'électron, e la charge de l'électron, E le champ électromagnétique et Γ est la constante d'amortissement. Cette approche n'a jamais été utilisée pour résoudre le problème, mais c'est un bon modèle pour comprendre la bande plasmon de surface. Cette équation décrit le mouvement d'un oscillateur harmonique amorti classique soumis à une contrainte. La solution de cette équation est

connue, et donnée par l'équation ci-dessous (où $\omega_R = (K/m_e)^{-1}$ est la fréquence propre du système).

$$x = \frac{eE}{m_e(\omega_R^2 - \omega^2 - i\Gamma\omega)}$$

La couleur observée provient donc de la forte absorption des nanoparticules métalliques quand la fréquence du champ électromagnétique entre en résonance avec le mouvement des électrons.

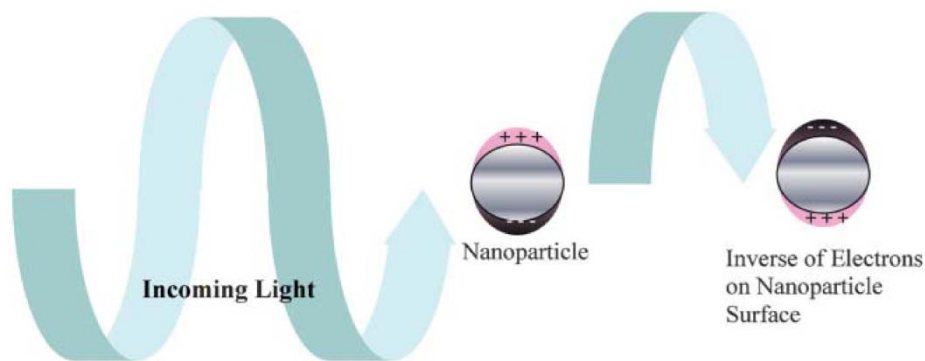


Figure II. 4 : *Origine de la résonance plasmon de surface due à l'interaction cohérente des électrons de la bande de conduction avec la lumière.*¹⁰⁰

I-4.3. Propriétés spectrales des nanoparticules métalliques

La résonance plasmon de surface a été expliquée par la théorie de Mie en 1908, y compris les propriétés optiques linéaires, telles que l'extinction et la dispersion par des petites particules métalliques sphériques. Dans ce paragraphe, on discute la dépendance des spectres d'absorption optique de nanoparticules d'or avec la dimension, la forme et l'environnement.¹⁰¹

I-4.3.a) Effet de la taille des nanoparticules

Dans la théorie de Mie, le coefficient d'extinction de petites particules métalliques résulte de toutes les oscillations multipolaires, électriques et magnétiques contribuant à l'absorption et à la dispersion du champ électromagnétique en interaction. Dans la limite quasi-statique (environ 25 nm pour les particules d'or), les oscillations plasmoniques correspondent au premier terme du développement multipolaire.¹⁰² Le coefficient d'extinction k est proportionnel à :

$$k \sim \frac{\epsilon_2}{[\epsilon_1 + 2\epsilon_m]^2 + \epsilon_2^2} \quad (1)$$

où ϵ_m est la constante diélectrique du milieu ambiant (supposée être indépendante de la fréquence). Les constantes ϵ_1 et ϵ_2 représentent les parties réelles et imaginaires de la fonction diélectrique du matériau respectivement ($\epsilon(\omega) = \epsilon_1(\omega) + i \epsilon_2(\omega)$) où ω est la fréquence angulaire de la lumière).

La condition de résonance plasmon est donc à peu près respectée quand $\epsilon_1(\omega) = -2\epsilon_m$ si ϵ_2 est faible ou faiblement dépendante de ω . Selon l'équation 1, l'absorption plasmon est indépendante la taille dans l'approximation dipolaire. Toutefois, expérimentalement un effet de taille sur la largeur du plasmon est observé, la largeur augmentant quand la taille des particules diminue. En fait, il est bien établi que la largeur de la bande plasmon est inversement proportionnelle au rayon r , pour des particules de taille inférieure à environ 20 nm.

La théorie de Mie a facilité l'explication des spectres d'absorption optique de nanoparticules métalliques. Cependant, un effet de dépendance de la taille est introduit dans l'équation 1 du régime quasi-statique, en supposant une fonction diélectrique dépendante de la taille du matériau $\epsilon(\omega, R)$.¹⁰³ La fonction diélectrique peut être écrite comme la combinaison d'un terme inter-bande $\epsilon_{IB}(\omega)$, comptant pour la réponse des électrons d, et un terme de Drude $\epsilon_D(\omega)$, tenant compte de la conduction des électrons libres seulement ($\epsilon(\omega) = \epsilon_{IB}(\omega) + \epsilon_D(\omega)$). Ce dernier est donné dans le modèle d'électrons libres par l'expression suivante :

$$\epsilon_D(\omega) = 1 - \frac{\omega_p^2}{\omega^2 + i\gamma\omega} \quad (2)$$

où $\omega_p^2 = [ne^2/(\epsilon_0 m_{eff})]$ est la fréquence plasmon dans le matériau massif, exprimée en fonction de la densité d'électrons libres n , de la charge de l'électron e , de la permittivité du vide ϵ_0 , et de la masse effective des électrons m_{eff} ; γ est une constante d'amortissement phénoménologique, égale à la largeur de la bande plasmon dans le cas d'un gaz parfait d'électrons libres, dans la limite de $\gamma \ll \omega$. Le paramètre γ est lié au libre parcours moyen des électrons. Pour une petite particule, l'effet de taille devient important, puisque le libre parcours moyen des électrons de conduction, typiquement de l'ordre de la dizaine de nanomètres dans les métaux nobles, est limité en raison de la taille de la particule. γ devient donc une fonction du rayon r de la particule.

$$\gamma(r) = \gamma_0 + \frac{A v_F}{r} \quad (3)$$

où γ_0 est la constante d'amortissement du matériau massif, v_F est la vitesse des électrons du niveau de Fermi, et A est une constante. En résumé, la dépendance avec la taille des particules dans le régime quasi-statique est introduite par l'hypothèse d'une fonction diélectrique dépendante de la taille du matériau $\epsilon(\omega, R)$. D'un point de vue microscopique elle résulte de la limitation du libre parcours moyen des électrons de conduction. Les modifications dans le spectre d'absorption optique sont désignées comme étant des effets de taille **intrinsèques**.

Pour des nanoparticules de grande taille (> 25 nm pour les particules d'or), le coefficient d'extinction dépend explicitement de la taille des nanoparticules, à travers les termes multipolaires d'ordre supérieur, qui sont des fonctions du rayon des particules et contribuent à l'absorption. Pour ces «grosses» particules, la largeur de la bande plasmon augmente avec la taille, car la longueur d'onde λ de la lumière devient comparable à la dimension de la nanoparticule. Cela conduit à une polarisation non-homogène des nanoparticules par le champ électromagnétique. L'élargissement de la bande plasmon est généralement attribué à des effets de retardation, à l'excitation des différents modes multipolaires, qui absorbent à des énergies différentes. Ce comportement est considéré comme un effet de taille **extrinsèque**, car la dépendance de taille entre dans l'expression totale de la théorie de Mie.

En conclusion, pour les petites tailles (limite quasi-statique), les effets de taille intrinsèques sont dominants et la largeur de la bande augmente quand la taille diminue. La bande plasmon disparaît pour des nanoparticules inférieures à 2 nm (cluster moléculaire). Pour les plus grosses particules, la largeur de la bande plasmon augmente également, en raison des effets de taille extrinsèque. Cette relation entre la largeur des bandes plasmons et le rayon r des particules est représentée dans la Figure II. 5b.¹⁰⁴

Jusqu'à présent, seule la largeur de la bande plasmon a été discutée. Toutefois, la position du maximum d'absorption dépend également de la taille des nanoparticules. Dans la région de taille extrinsèque, la position du pic d'absorption se déplace vers les grandes longueurs d'onde, au fur et à mesure que des termes multipolaires d'ordre supérieur dominent. La situation est plus compliquée pour les petites nanoparticules où les effets de taille intrinsèques viennent dominer. Expérimentalement, à la fois un déplacement vers le bleu et le rouge du

maximum de la plasmon ont été trouvés avec la diminution de taille. En outre, dans la région intrinsèque, l'effet du changement de taille sur la position du maximum d'absorption reste petit par rapport à la largeur totale de la bande (Figure II. 5). Ainsi, les maxima d'absorption pour les plasmons des solutions colloïdales illustrés sur la Figure II. 5b sont 517, 520 et 521 nm pour les nanoparticules de diamètre 9, 15 et 22 nm, respectivement. (Les particules de diamètre 48 et 99 nm situées dans la région de taille extrinsèque montrent des maximums d'absorption à 533 et 575 nm). Ainsi, la position du maximum du pic du plasmon n'est pas bien adaptée à une discussion sur un effet de taille au sein du régime quasi-statique.

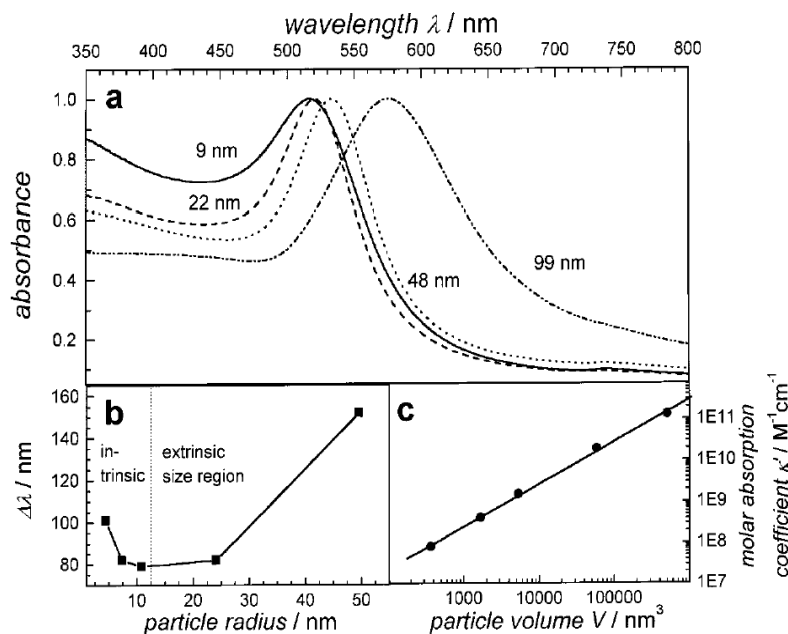


Figure II. 5 : Spectres d'absorption des solutions colloïdales de nanoparticules d'or de diamètres variant entre 9 et 99 nm obtenues expérimentalement,¹⁰⁴ montrant que le maximum d'absorption se déplace vers le rouge avec l'augmentation de la taille des particules. b) La largeur du plasmon (prise à la base) augmente avec la diminution de rayon des nanoparticules dans la région de taille intrinsèque, et augmente dans la région de taille extrinsèque comme le prédit la théorie. c) les coefficients d'extinction de ces nanoparticules d'or à leur maximum d'absorption plasmon sont tracés en fonction de leur volume sur une double échelle logarithmique. La droite est un fit des données, illustrant ainsi une dépendance linéaire, en accord avec la théorie de Mie (équation 1).¹⁰⁵

I-4.3.b) Effet de la forme des nanoparticules

L'effet de la forme des nanoparticules sur la BPS a été beaucoup moins étudié, en raison de la complexité intrinsèque du problème, et des limitations de synthèse. La BPS est cependant très sensible à la forme des particules.¹⁰⁶ En effet, les changements géométriques provoquent un

changement dans la densité du champ électrique sur la surface. Cela entraîne une modification de la fréquence d'oscillation des électrons, produisant ainsi différentes caractéristiques optiques, d'absorption et de diffusion.¹⁰⁷⁻¹⁰⁹

Pour des nanobâtonnets d'or, par exemple, l'absorption plasmon se divise en deux bandes (Figure II. 6), correspondant à l'oscillation des électrons libres le long des axes perpendiculaire et transversal à l'axe du nanobâtonnet.^{100, 105, 110} Le mode transversal montre une résonance à environ 520 nm, ce qui coïncide avec celui de la bande plasmon de particules sphériques, tandis que la résonance du mode longitudinal est déplacée vers le rouge, et dépend fortement de rapport d'aspect «AR» du nanobâtonnet. AR est défini comme la longueur divisée par la largeur du nanobâtonnet.¹³

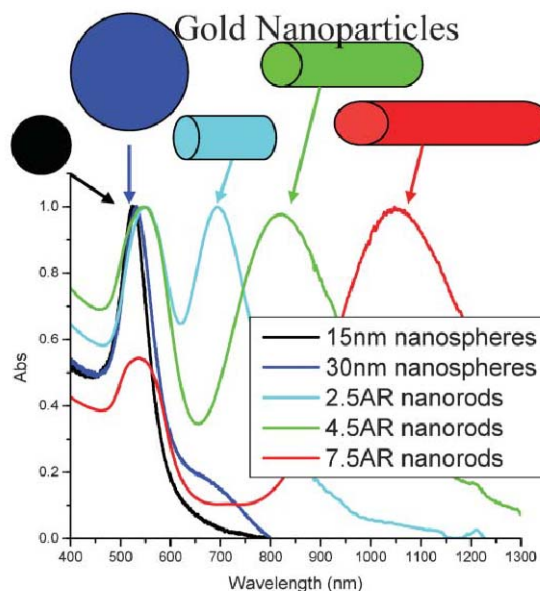


Figure II. 6 : Spectres d'absorption de nanoparticules d'or - de formes et de tailles variées.

I-4.3.c) Effet de l'environnement diélectrique

La constante diélectrique du milieu environnant joue un rôle prépondérant à la fois sur la position du maximum du plasmon, et son intensité. C'est par exemple le cas lors du transfert de nanoparticules à partir de l'eau vers une matrice d'oxyde transparente.¹¹¹ Mulvaney et al. ont montré que les nanoparticules d'or entourées d'une couche mince de silice, d'épaisseur

croissante ont une bande plasmon déplacée vers le rouge, en raison d'une augmentation de la constante diélectrique locale autour de la particule.¹¹²

Toutes ces considérations ne sont pertinentes que si les particules sont suffisamment éloignées les unes des autres (elles ne sont pas en interaction). Cependant, ce n'est pas toujours le cas, surtout quand les nanoparticules sont noyées dans une matrice, reliées par des oligomères,¹¹³ ou quand elles s'auto-organisent.¹¹⁴ Underwood a montré que la couleur de la solution colloïdale des nanoparticules d'or synthétisées dans l'eau ($n = 1,336$), ainsi que dans un mélange de butyle acétate ($n = 1,38$) et disulfure de carbone ($n = 1,62$) change du rouge pâle à violet Figure II. 7a. Ceci est observé en UV-visible par un déplacement de la bande plasmon d'environ 23 nm vers les grandes longueurs d'onde.¹¹⁵ Ung et al. ont réussi à synthétiser des couches composites de silice enrobant des nanoparticules d'or avec un réglage fin de la distance interparticules. Cette dernière est directement contrôlée par le biais de l'épaisseur de la couche de silice. La couleur observée varie fortement avec la distance interparticule. L'élargissement et le déplacement vers le rouge du plasmon dus au couplage entre les particules est remarquable, plus les distances sont courtes, plus la fréquence de résonance est faible Figure II. 7b.¹¹⁶

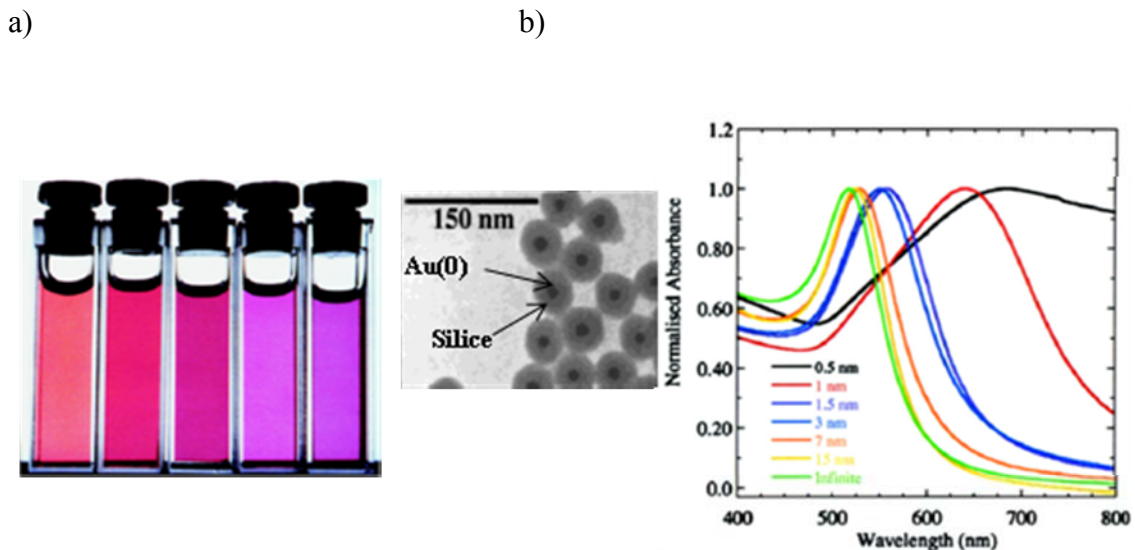


Figure II. 7 : a) Photographie montrant le changement de couleur de la solution colloïdale des nanoparticules d'or préparées dans l'eau (à gauche), et dans un mélange de butyl acétate et disulfure de carbone. Ce changement est induit par une variation de l'indice de réfraction du solvant. Les indices de réfraction des solutions sont 1,336, 1,407, 1,481, 1,525 et 1,583, ($\pm 0,004$) de gauche à droite.¹¹⁵ b) Influence de la distance interparticules sur la position de la BPS (photo de MET montrant des nanoparticules d'or entourées d'une couche de silice 17 nm).¹¹⁶

Maye¹¹⁴ a utilisé des ligands thioether multidentates comme médiateurs moléculaires pour former des assemblages sphériques de taille contrôlable (20 à 300 nm de diamètre) de nanoparticules d'or (5nm) stabilisées avec un tétraalkylammonium (Figure II. 8a). La spectroscopie UV-visible qui montre un changement d'absorbance ou de la longueur d'onde de la bande plasmon fournit une mesure de la taille des particules, de leur forme et de leurs états d'agrégation. La Figure II. 8b montre un ensemble de spectres typique de l'évolution de la bande plasmon en réponse à l'addition du thioether pour différents rapports nanoparticules/thioether. Cette évolution est accompagnée du changement de couleur de la solution des nanoparticules du rouge au bleu. Le spectre du plasmon paraît composé de deux bandes qui se chevauchent. A la plus faible concentration de thioether, ces deux bandes sont clairement résolues à 520 et 780 nm. L'apparition du point isobestique à 560 nm est un révélateur de l'implication de deux espèces dans la solution : les nanoparticules d'or isolées, et les nanoparticules d'or agrégées.

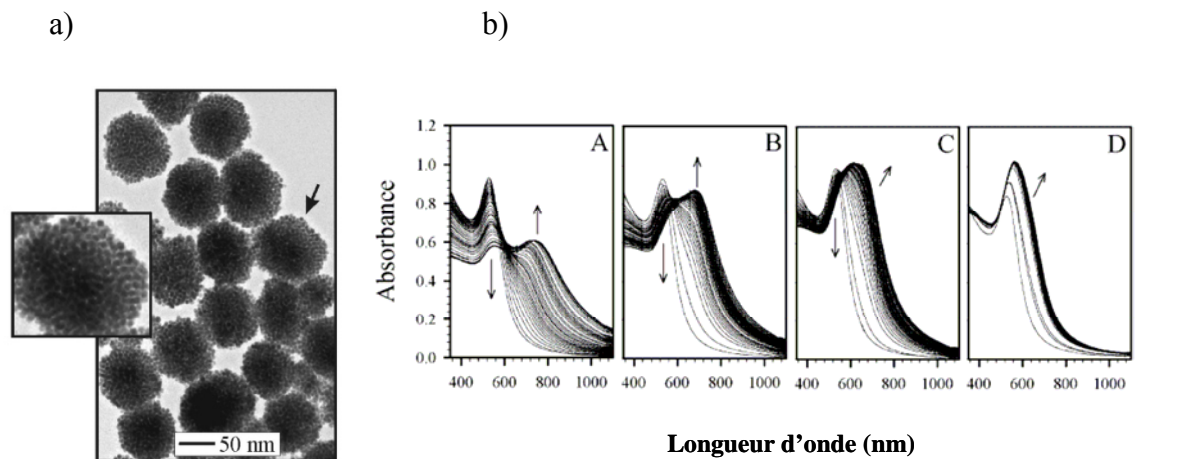


Figure II. 8 : a) micrographes de MET montrant l'assemblage de nanoparticules d'or suite à l'ajout de thioether $r = [\text{thioether}]/[\text{tétraalkylammonium}/\text{Au}] = 200$; b) Evolution du spectre d'absorption de nanoparticules d'or stabilisées par le bromure de tétraalkylammonium, lorsqu'on ajoute différentes concentrations d'un thioether (rapport en concentrations $r = 1$ (A), $r = 50$ (B), $r = 100$ (C) et $r = 600$ (D)). Les spectres sont enregistrés dans l'échelle de temps de 30 minutes, et les flèches indiquent la direction de l'évolution des spectres.¹¹⁴

En conclusion, l'agrégation des nanoparticules d'or en solution peut être détectée en UV-visible. Nous avons utilisé cette propriété afin de comprendre l'effet de l'architecture de Pluronic® sur la stabilisation des nanoparticules d'or (environ 12 nm).

II. Résultats

Dans cette partie on va décrire les différentes études expérimentales effectuées, et les résultats de la stabilisation de nanoparticules d'or dans l'eau par différentes architectures de Pluronic.

II-1. Synthèse et caractérisation des nanoparticules d'or

On a suivi un protocole, décrit par Natan en 1995 en introduisant de légères modifications.¹¹⁷ Il s'agit de réduire à reflux une solution aqueuse de HAuCl_4 par du citrate de sodium. Le changement de couleur, du jaune clair à bleu puis rouge, permet de suivre l'évolution de la réaction.

Les nanoparticules d'or obtenues par cette méthode de synthèse ont été caractérisées par spectroscopie d'absorption UV-visible. Le spectre montre une bande d'absorption très intense dans le visible, centrée à 520 nm. C'est la bande de résonance plasmon des nanoparticules d'or (coefficient d'extinction molaire $\sim 24.10^8 \text{ mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) qui est à l'origine de la couleur rouge de la solution colloïdale d'or (Figure II. 9a).⁹⁷

D'après l'étude effectuée par Turkevich en 1954, la position du maximum d'absorption reste à 522 nm pour des nanoparticules d'or de diamètre compris entre 7,5 et 33nm. Au-delà de cette taille, il y a déplacement du maximum vers le rouge, ainsi qu'un élargissement de la bande.¹¹⁸ Cependant, la position et l'intensité de la bande plasmon ne permettent pas de déterminer la taille exacte de nanoparticules d'or dans cette gamme. Nous avons donc utilisé la microscopie électronique à transmission (MET).

Pour les expériences de microscopie électronique à transmission, une grille de MET est trempée dans une goutte de la solution colloïdale, et séchée à l'air avant observation. Les nanoparticules obtenues sont de forme plutôt sphérique comme le montre la photo de MET (Figure II. 9b), et de diamètre 12 nm avec une déviation standard de 2 nm (statistique sur plus de 5000 particules, et trois synthèses différentes).

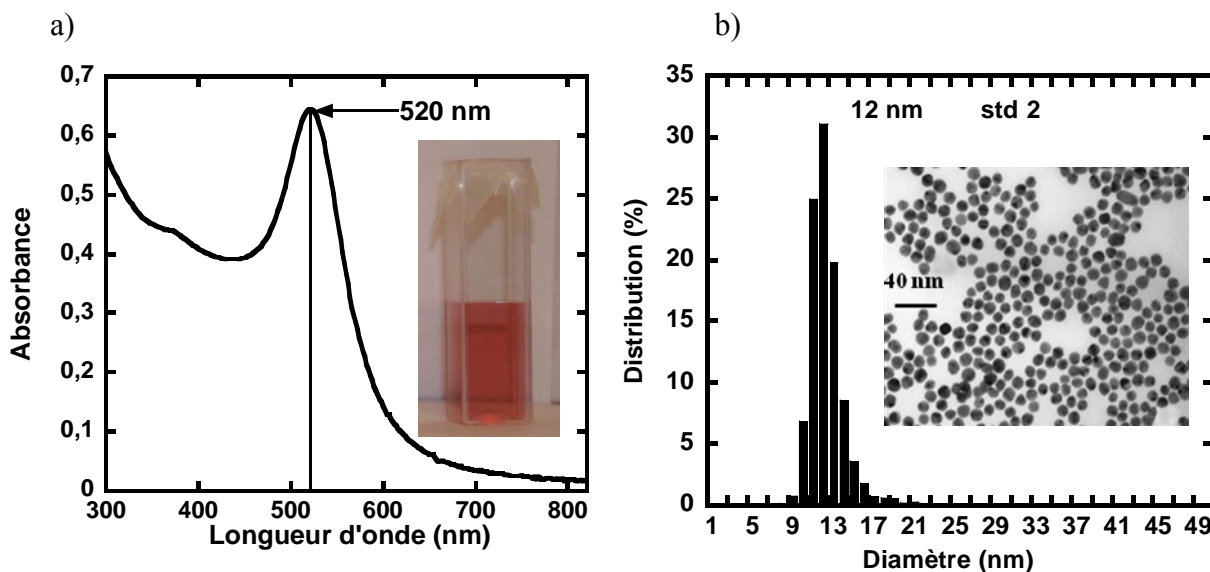


Figure II. 9 : a) Spectre d'absorption de la solution colloïdale d'or obtenue par réduction de l'acide tetrachloroaurique avec du citrate de sodium, $[AuNPs] = 3,4 \text{ nM}$. b) Cliché de MET et histogramme de la distribution de taille des nanoparticules d'or (sur plusieurs milliers de nanoparticules provenant de différents bains de synthèse).

On va dans ce paragraphe calculer le nombre d'atomes par particule, afin d'avoir une idée du nombre de particules en solution.

Le nombre d'atome d'or constituant une nanoparticule de diamètre 12 nm est calculé de la manière qui suit :

le volume d'un atome d'or est : $V_{Au} = \frac{M_{Au}}{d \cdot N_A} = 1,7 \cdot 10^{-29} \text{ m}^3$

où d est la densité de l'or ($19,3 \cdot 10^3 \text{ Kg/m}^3$), M_{Au} la masse molaire de l'or (197 g/mole) et N_A le nombre d'Avogadro.

Le nombre d'atomes d'or par particule est $N_{Au/np} = V_{np}/V_{Au}$, où V_{np} est le volume d'une nanoparticule. Soit pour des nanoparticules sphériques de diamètre 12 nm : $V_{np} = 9 \cdot 10^{-25} \text{ m}^3$ d'où $N_{Au/np} = 5,3 \cdot 10^4$ atomes/particule. Ce qui nous permet de calculer la concentration en particules dans le bain de synthèse : $[AuNPs] \sim 17 \text{ nmole.L}^{-1}$

II-1.1. Stabilité de la solution Au-citrate

La stabilité de la solution colloïdale d'AuNPs est d'abord étudiée en absence de polymère. Pour cela, on a laissé une solution de nanoparticules sous agitation continue, et on enregistre

le spectre d'absorbance à des temps donnés. Cette étude est effectuée sur les particules seules, sur les particules en présence de $[\text{NaCl}] = 0,9 \text{ M}$, ou en milieu acide ($\text{pH} \sim 2$).

Stabilité de la solution colloïdale Au-citrate : La Figure II. 10 montre le suivi de la stabilité des nanoparticules Au-citrate dans le temps. On remarque que la bande d'absorbance plasmon s'affaïsse progressivement jusqu'à disparaître entièrement en l'espace d'un mois environ. Parfois un petit épaulement est observé dans le spectre.

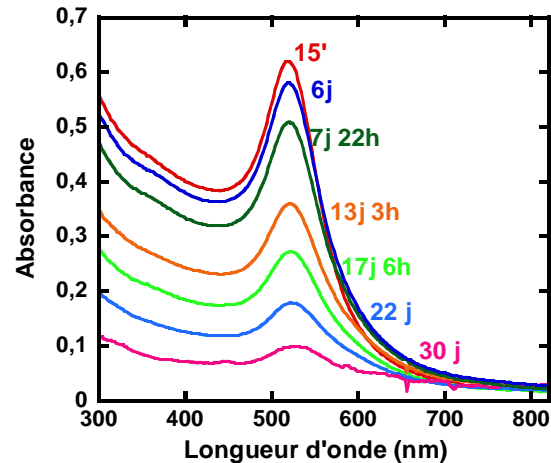


Figure II. 10 : Evolution des spectres d'absorption d'une solution de nanoparticules d'or (12 nm) dans le temps.

Cette diminution de l'absorbance correspond à la décantation des nanoparticules qui forment finalement un culot noir. On peut donc conclure que même si ces nanoparticules sont stabilisées électrostatiquement, cette stabilité n'est pas à long terme.

Effet du sel: L'ajout de $[\text{NaCl}] = 0,9 \text{ M}$ à la solution colloïdale or-citrate cause un changement instantané de la couleur, du rouge au bleu foncé. Ainsi, la Figure II. 11a montre l'évolution de la couleur de la solution dans le temps avant (1) et après ajout de sel (2). En plus, il y a diminution de l'intensité de couleur (3). A la fin, un dépôt noir est obtenu au fond de la cuve 4, la solution paraît être transparente et ne contient pas de nanoparticules. L'observation de l'échantillon, en microscopie électronique à transmission $\sim 2\text{h}$ après ajout de NaCl montre de gros agrégats de particules (Figure II. 11b).

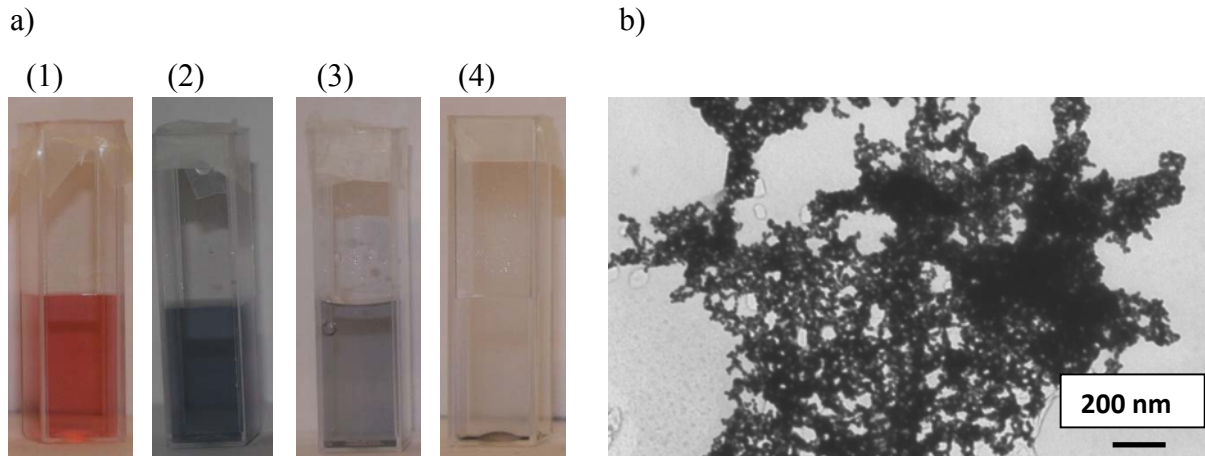


Figure II. 11 : *a) Aspect de la solution colloïdale de nanoparticules or-citrate avant (1) et après ajout de NaCl (0,9 M) (2) $t=1h$ (3) $t=4h$ (4) $t=7h$. (b) Cliché de MET 2 heures après ajout de sel. $[AuNPs] = 3,4 nM$.*

L'évolution des spectres d'absorption, après ajout du sel (0,9 M NaCl) (Figure II. 12), montre l'apparition d'une nouvelle bande autour de 700 nm (4 minutes après l'ajout de sel). Après 12 minutes, le maximum de la nouvelle bande continue à se déplacer vers des longueurs d'ondes plus élevées. En plus, il y a diminution de l'absorption sur tout le spectre. A la fin, l'absorbance devient nulle indiquant qu'il n'y a plus de nanoparticules en solution.

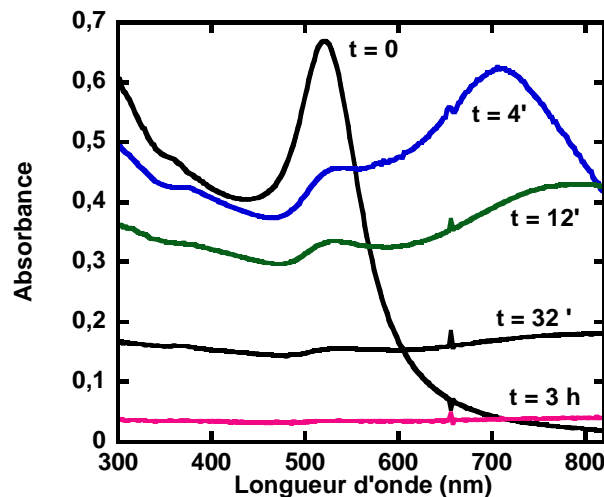


Figure II. 12 : *Evolution temporelle du spectre d'absorption de la solution de nanoparticules or-citrate en présence de NaCl (0,9 M). Les temps indiquent le temps écoulé depuis l'ajout de NaCl.*

Effet du pH sur la stabilité : Un effet identique à l'effet du sel est obtenu si la solution est acidifiée. L'ajout d'acide chlorhydrique ($HCl \sim 0,025 mol.L^{-1}$) à la solution d'AuNPs ($pH \sim 2$)

cause une neutralisation des charges de surfaces des nanoparticules, ces dernières sont donc soumises aux forces d'attractions de Vander Waals et elles s'agrègent. Une évolution spectrale très proche de celle de l'effet de sel, avec apparition d'une deuxième bande vers les grandes longueurs d'onde, suivie d'une diminution de l'absorbance sur tout le spectre dans le temps est de même observée (Figure II. 13).

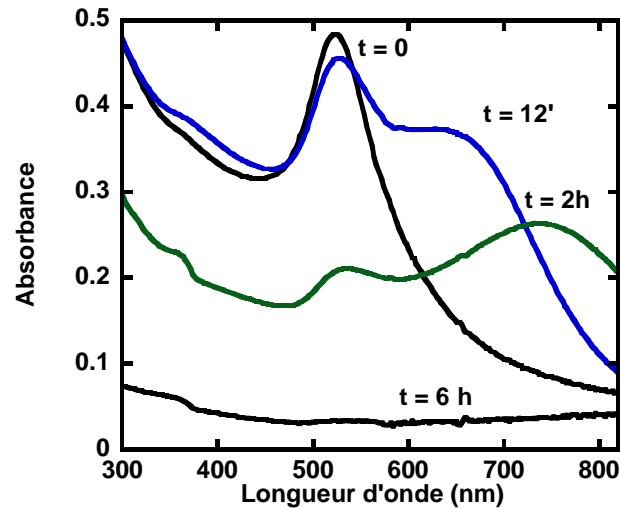


Figure II. 13 : Spectres d'absorption dans le temps montrant l'effet d'ajout de HCl (pH~2) sur la solution de nanoparticules or-citrate.

Pour conclure, on a choisi comme modèle de nanoparticules dans l'eau, les nanoparticules d'or stabilisées par du citrate, qui sont facilement synthétisées d'une manière rapide et reproductible à partir des produits commerciaux. Ces dernières sont essentiellement formées d'un cœur contenant de l'or à l'état atomique ($Au^{(0)}$) et d'une coquille riche en $Au^{(I)}$ due à la réduction incomplète de la surface des nanoparticules. Le citrate et le chlorure viennent se lier à la surface. Il en résulte des forces de répulsion électrostatiques qui les stabilisent dans l'eau.⁹⁷

Mais malgré cette charge, on doit noter que la stabilité des solutions colloïdales est de l'ordre de quelques jours (diminution sensible de l'absorbance après quelques jours). En plus, l'ajout de sel ou d'acide à de telles solutions colloïdales, cause respectivement soit un écrantage, soit une neutralisation de la charge de surfaces des nanoparticules. Elles entrent en contact, et forment des agrégats. Ces agrégats sont à l'origine du changement de couleur (Figure II. 14), et finissent par précipiter, ce qui explique la séparation entre un dépôt noir et une solution finale transparente.

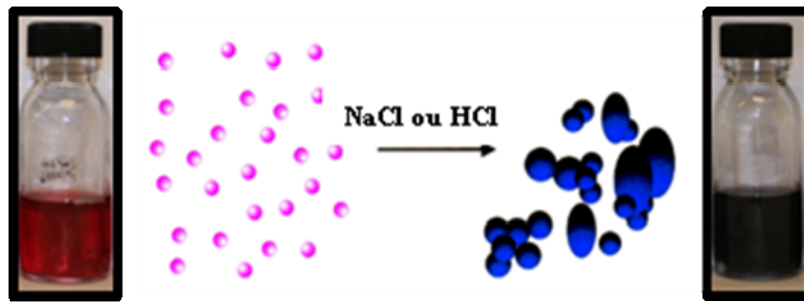


Figure II. 14 : *Changement de couleur de la solution aqueuse de nanoparticules d'or de diamètre 12 nm du rouge au bleu après ajout de NaCl ou acidification pH ~2, expliqué par un processus d'agrégation irréversible.*

La solution colloïdale or-citrate est donc très sensible à la présence de sel ou d'acide qui provoquent la déstabilisation. Ceci va nous permettre par la suite d'étudier l'effet des agents stabilisants sur une échelle de temps raisonnable.

II-1.2. Méthode d'analyse : description de l'agrégation et de la décantation

Comme nous venons de le décrire, l'agrégation et la décantation des nanoparticules s'accompagnent de modifications du spectre d'absorbance UV-visible. Dans ce paragraphe, on va décomposer ces processus et essayer de trouver des paramètres indépendants permettant de suivre leur évolution.

Paramètre d'agrégation. Un premier type de modification des spectres UV-visible est l'apparition et la croissance d'un large pic d'absorption entre 600 et 850 nm (Figure II. 15a). Cette croissance est accompagnée d'une diminution de la bande à 520 nm associée aux nanoparticules d'or initiales. Cette nouvelle bande d'absorption est liée à l'agrégation de nanoparticules d'or dans la solution. Des études expérimentales et théoriques ont déjà décrit le déplacement de la bande de résonance plasmon lorsque l'espacement entre les nanoparticules d'or diminue (voir paragraphe I-4.3.c). Ceci a été confirmé par MET, où des agrégats ont été observés pour ces échantillons (Figure II. 15b). Afin d'étudier ce processus d'agrégation, nous avons défini le paramètre suivant noté $\Delta\lambda$:

$$\Delta\lambda \text{ (nm)} = \lambda_{\text{max}} - 520$$

$\Delta\lambda$ indique la position du maximum de la nouvelle bande d'absorption λ_{\max} relativement à la bande plasmon initiale ($\lambda = 520$ nm) des nanoparticules isolées. Une faible valeur de $\Delta\lambda$ (c'est-à-dire de l'ordre de quelques dizaines de nm) peut correspondre à un changement dans l'environnement des AuNps.

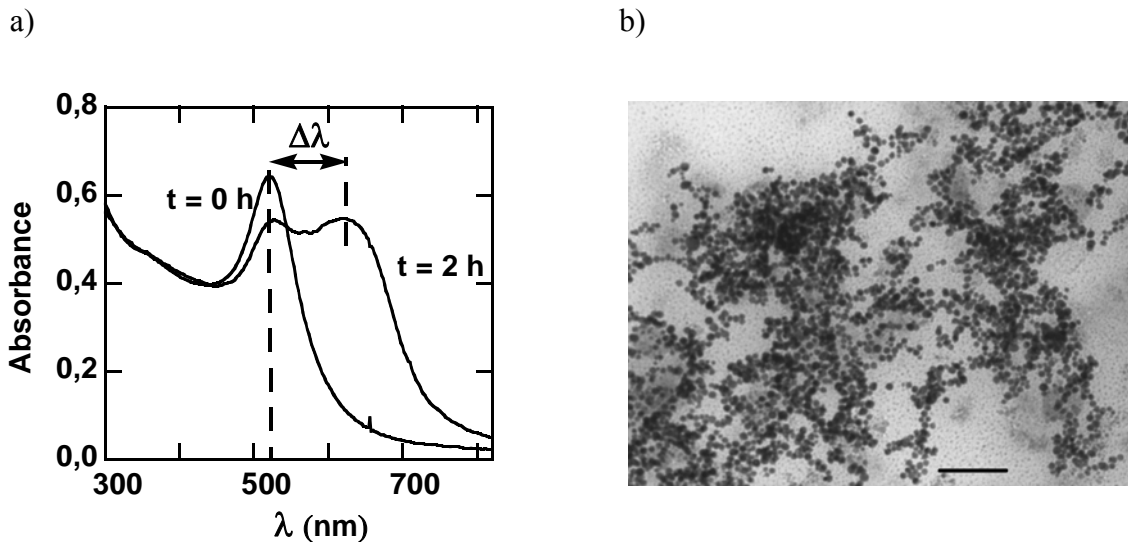


Figure II. 15 : a) Evolution du spectre d'absorption de la suspension d'AuNPs contenant $0,7 \text{ mmol.L}^{-1}$ de F68, avant, et deux heures après addition de NaCl. b) Micrographie de l'échantillon en MET, deux heures après l'ajout de sel. Barre d'échelle $\sim 100 \text{ nm}$.

Paramètre de décantation. Le deuxième type de modification des spectres UV-visible est la diminution dans le temps de l'absorbance à toutes les longueurs d'ondes, la forme du spectre étant plus ou moins entretenue dans le temps (Figure II. 16).

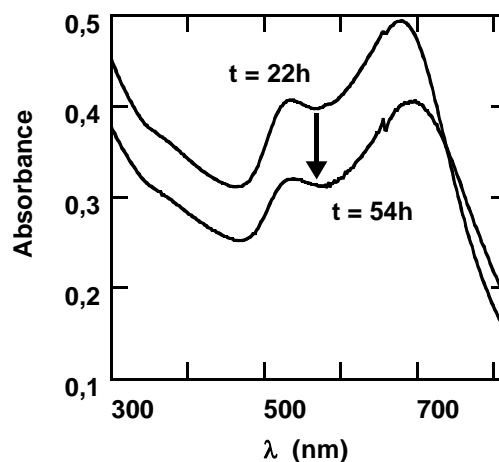


Figure II. 16 : Décantation des AuNPs/P84 (2.8 mmol.L^{-1}) montré par la diminution de l'absorbance totale à 22h et 54h après l'ajout de NaCl.

Une telle évolution suggère qu'un processus de décantation a lieu, conduisant à une diminution du nombre global de nanoparticules (agrégées ou non) dans la solution. Pour suivre ce comportement, nous avons défini le paramètre D :

$$D = 1 - \frac{A_{520} + 0,216 A_{\lambda_{\max}}}{A_{520} \text{ à } t=0}$$

Où A_{520} et $A_{\lambda_{\max}}$ sont respectivement les absorbances à 520 nm et à λ_{\max} , et $A_{520} (t=0)$ est l'absorbance initiale de la solution de nanoparticules isolées. La constante 0,216 a été définie empiriquement pour tenir compte de la variation du coefficient d'extinction molaire entre les deux bandes à 520 nm et à λ_{\max} . La valeur de D est proche de l'unité, lorsque la précipitation des AuNps est quantitative.

Le suivi de ces deux paramètres simples dans le temps va nous permettre de suivre la stabilité, en séparant l'état d'agrégation des nanoparticules dans la solution de la quantité de nanoparticules précipitées.

II-2. Stabilisation par les Pluronic

Notre but était de déterminer avec précision le rôle de l'architecture moléculaire de polymères à blocs sur la stabilisation. Pour cela, nous avons utilisé les Pluronic et une variation des paramètres moléculaires a été effectuée. En bref, six séries de Pluronic ont été étudiées séparément. Pour étudier l'effet de la longueur de la chaîne hydrophile (bloc EO) nous avons utilisé deux séries nommées EO1 (contenant des polymères L62, P65, P85, F68 et F88) et EO2 (P123, P104, F127) (voir Tableau 1 dans le paragraphe I.2). Dans ces deux séries, le nombre d'unités EO de la chaîne hydrophile augmente, alors que le nombre d'unités PO de la chaîne hydrophobe est maintenu constant (à $\sim 34 \pm 6$ et $\sim 65 \pm 4$ respectivement). Pour étudier l'effet de la chaîne hydrophobe (bloc PO), on a utilisé les séries PO1 (P65, P84, P123) et PO2 (F88, F127, PEG), correspondant à une variation du nombre d'unités PO, en gardant constant le nombre d'unités EO (~ 38 et 194 ± 12 respectivement). Enfin, les séries M1 (L64, P84, P104) et M2 (F68, F88, F108) contenant respectivement environ 47% et 84% d'unités EO (par rapport au nombre total de monomères) ont été utilisées pour étudier l'effet de la masse moléculaire.

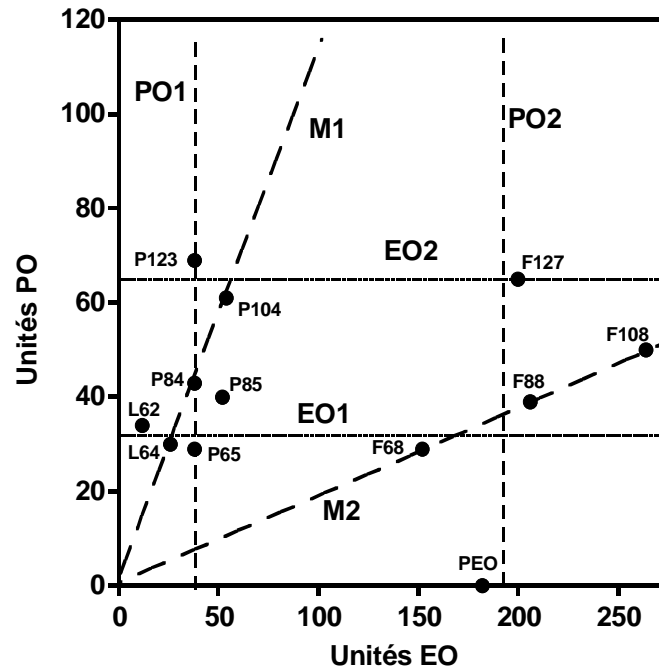


Figure II. 17 : Graphe montrant le nombre d'unités PO en fonction de nombre d'unités EO totales ($2x$) de tous les Pluronic $EO_xPO_yEO_x$ utilisées dans ce travail (●), les différentes séries de comparaison sont indiquées par des lignes reliant les polymères de chaque série par exemple (PO1 contient le P123, P84 et P65 et M2 contient le F108, F88, et F68).

Pour tous les polymères, la concentration a été maintenue en dessous de la concentration micellaire critique (voir Tableau 1). Ceci va nous permettre d'éviter une possible complexité de l'étude, due à la présence simultanée de micelles et d'unimères.

L'effet de la structure du polymère sur la stabilisation est un peu difficile à comprendre dans les études de la littérature, puisque souvent les particules sont formées **en présence** du polymère. Dans ce cas les particules obtenues possèdent des formes et des tailles dépendantes de l'architecture des polymères. En plus une modification chimique du polymère peut avoir lieu lors de la réaction. Afin d'éviter ces problèmes, nous avons proposé dans cette thèse de découpler la formation des nanoparticules de leur processus de stabilisation. Plus précisément, après la synthèse des nanoparticules, on a ajouté la quantité désirée d'une solution concentrée de polymère $EO_xPO_yEO_x$. Ensuite, on a ajouté une solution concentrée de NaCl. Pour étudier l'effet de pH on a ajouté une solution de HCl. La stabilité a été étudiée par la spectroscopie d'absorption optique et MET.

II-2.1. Effet de la chaîne hydrophile PEO

L'influence de la longueur des chaînes hydrophiles EO sur la stabilisation des nanoparticules a été étudiée en utilisant les deux séries de copolymères EO1 et EO2, comme indiqué dans le tableau 1. L'évolution des spectres d'absorption dans le temps pour les polymères de la série EO1 à 0,45 mM est représentée Figure II. 18. La valeur de la concentration a été choisie arbitrairement proche de 1/20 de la CMC la plus basse. Dans cette série, le nombre d'unités de bloc PO est constant ($\sim 34 \pm 6$) et le nombre d'unités EO varie de 12 à 206 dans l'ordre L62 <P65 <P85 <F68 <F88.

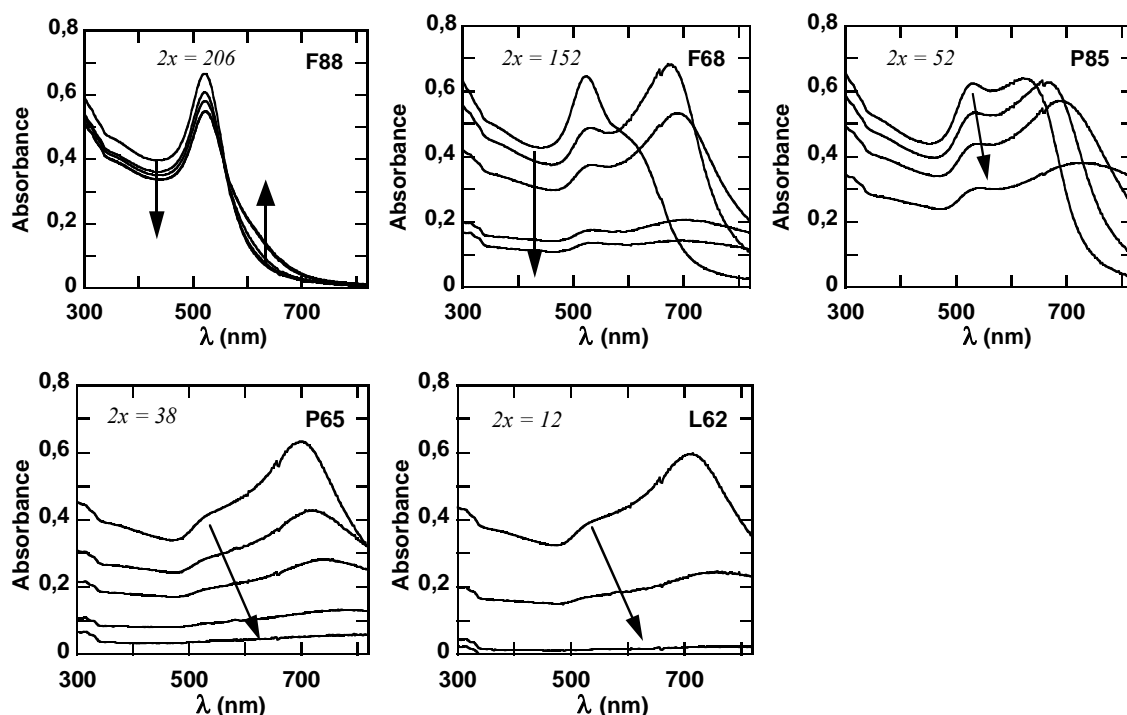


Figure II. 18 : Evolution temporelle des spectres d'absorption optique des dispersions AuNps/EO_xPO_yEO_x de la série EO1. Les flèches sont orientées de la première à la dernière mesure, respectivement 9 min et 2 jours après l'ajout de sel. Concentrations : [polymère] = 0,45 mmol.L⁻¹, [AuNPs] = 3,40 nmol.L⁻¹, [NaCl] = 0,9 mol.L⁻¹.

A l'exception de F88, une nouvelle bande d'absorption est apparue à des valeurs supérieures à 520 nm, ce qui indique une agrégation. Pour tous les copolymères sauf pour F88, les spectres présentent une diminution globale de l'absorbance totale sur le long terme, ce qui peut être expliqué par la précipitation des AuNPs. Les échelles de temps des processus de précipitation ne sont pas les mêmes pour tous les polymères EO_xPO_yEO_x. Avec P65 et L62, toutes les

nanoparticules d'or sont précipitées après quelques heures. Pour F68 et P85, cette décantation nécessite quelques dizaines d'heures pour être quantitative. Enfin, dans le cas de F88, seule une légère diminution de la bande plasmon à 520 nm a été observée, avec un léger épaulement vers 620 nm.

Les valeurs de $\Delta\lambda$ et D sont extraites de tous les spectres et tracées en fonction du temps. Un exemple typique de ces courbes est donné pour les polymères F88 ($2x=206$), F68 ($2x=152$), et P65 ($2x = 38$) Figure II. 19.

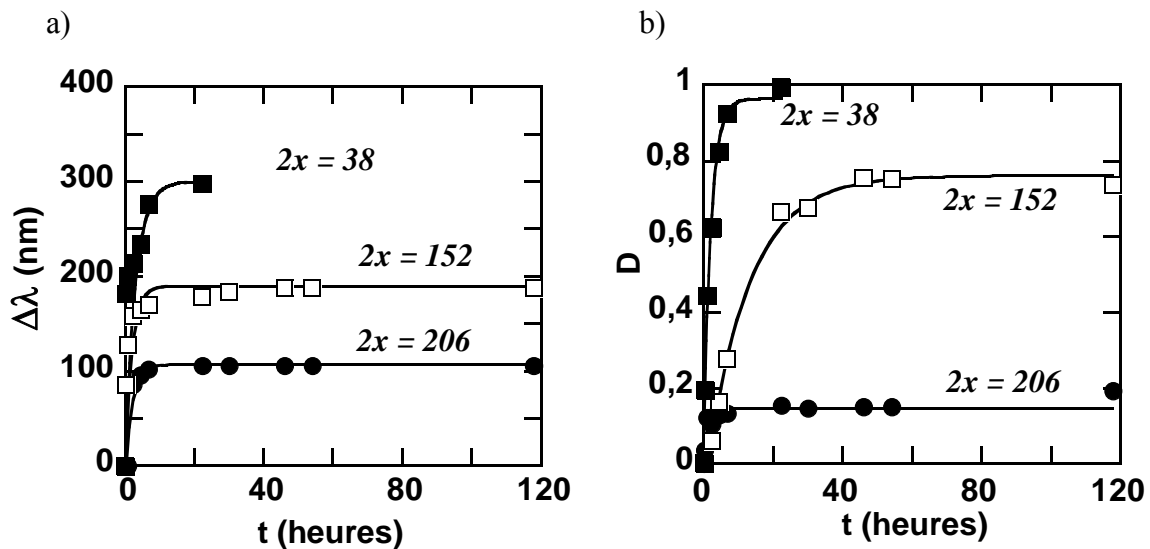


Figure II. 19 : Evolution temporelle des paramètres $\Delta\lambda$ (a) et D (b) pour certains polymères $EO_xPO_yEO_x$ de la série EO1 à une concentration en polymère de $0,45 \text{ mmol.L}^{-1}$: (■) P65 ($2x = 38$), (□) F68 ($2x = 152$), (●) F88 ($2x = 206$). Les lignes correspondent à un ajustement exponentiel des données expérimentales.

Concernant le paramètre d'agrégation ($\Delta\lambda$), une forte augmentation de $\Delta\lambda$ est observée dans les 5 premières heures après l'ajout du sel, ensuite la valeur atteint un plateau, quel que soit le copolymère. On remarque que la hauteur du plateau augmente quand la longueur du bloc hydrophile diminue. Pour P65, qui est le copolymère tribloc avec la longueur du bloc EO la plus courte, nous n'avons pas pu estimer $\Delta\lambda$ après 24 heures parce que la précipitation est quantitative. Dans tous les cas, les cinétiques peuvent être paramétrées de manière satisfaisante par une équation monoexponentielle (Figure II. 19a).

$$\Delta\lambda = \Delta\lambda_{\max} \cdot (1 - \exp(-t / \tau_{\Delta\lambda}))$$

où $\Delta\lambda_{\max}$ est la valeur du plateau et $\tau_{\Delta\lambda}$ est le temps caractéristique décrivant la cinétique de l'agrégation. Dans le cas des trois polymères précédents, le temps caractéristique $\tau_{\Delta\lambda}$ est estimé à environ 2-5 h (voir tableau 2 de l'annexe).

La Figure II. 19b, montre la cinétique d'évolution du paramètre de précipitation D. Ces données expérimentales sont également paramétrées de manière satisfaisante par une fonction du temps monoexponentielle :

$$D = D_{\max} \cdot (1 - \exp(-t / \tau_D))$$

où D_{\max} représente la valeur du plateau, et τ_D est le temps caractéristique décrivant la cinétique de décantation.

Il est clair dans cet exemple, que la fraction de nanoparticules précipitées augmente quand la longueur des blocs hydrophiles diminue. En effet, les valeurs de D_{\max} extraites du fit des courbes de la Figure II. 19b, sont trouvées autour de 1 pour P65, 0,86 pour F68 et 0,15 pour F88. Par conséquent, nous pouvons conclure qu'avec P65 ($2x = 38$), une précipitation quantitative a lieu, tandis qu'avec F68 ($2x = 152$) la précipitation n'est pas totale. Enfin, la faible valeur de D trouvée pour F88 indique l'absence de précipitation (la valeur de τ_D correspondante est donc dénuée de sens). Les valeurs de τ_D sont environ 2, 13, et 0,5 heures respectivement pour P65, F68 et F88. Comme dans le cas de $\tau_{\Delta\lambda}$, aucune évolution systématique du paramètre cinétique en fonction des paramètres structuraux ne peut être extraite (tableau 2 de l'annexe).

Afin de vérifier ces résultats, on a effectué une étude similaire avec la série EO2. Dans cette série le nombre d'unités PO de la chaîne hydrophobe vaut ($\sim 65 \pm 4$) et le nombre d'unités EO varie de 38 à 200 dans l'ordre P123 < P104 < F127. La Figure II. 20a montre l'évolution de $\Delta\lambda$ dans le temps. Pour F127 ($2x = 206$) (●) pas d'agrégation ($\Delta\lambda_{\max} \sim 0$). Le P123 ($2x = 38$) (■) et le P104 ($2x = 54$) (□) ont montré une certaine agrégation au départ ($\Delta\lambda$ augmente), puis un plateau ($\Delta\lambda_{\max} \sim 100$). Leur comportement similaire peut être expliqué par la faible différence dans leur structure (38 et 54 EO respectivement). Le F127 qui possède la chaîne EO la plus longue de cette série résiste le plus à l'agrégation. La Figure II. 20b, montre l'évolution de D dans le temps. On remarque que la valeur de D est autour de zéro, quel que soit le polymère.

On peut donc conclure qu'il n'y a pas de décantation, même si les nanoparticules sont agrégées en solution (cas de P123 et P104).

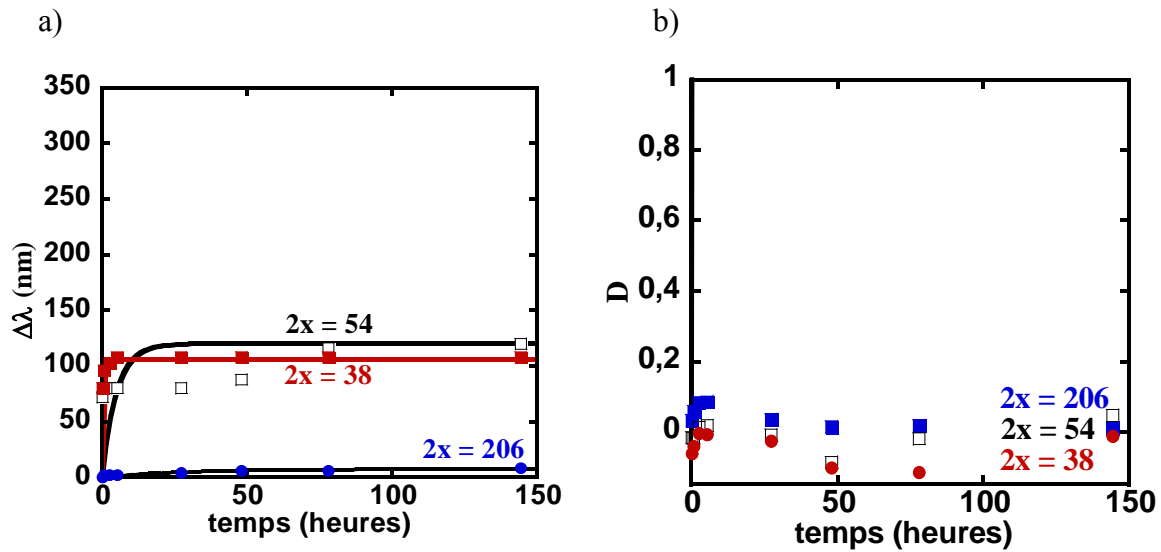


Figure II. 20 : Evolution temporelle des paramètres $\Delta\lambda$ (a) et D (b) pour les polymères $EO_xPO_yEO_x$ de la série EO2 à une concentration en polymère de $0,04 \text{ mmol.L}^{-1}$: (■) P123, P104 (□), F127 (●).

Les polymères des séries EO1 et EO2 ont été étudiés à différentes concentrations. Pour ces deux séries, et sur toutes les concentrations, les valeurs de $\Delta\lambda_{\text{max}}$ et D_{max} sont extraites de la même façon que précédemment (Figure II. 21). Dans les deux séries, $\Delta\lambda_{\text{max}}$ diminue lorsque le nombre d'unités EO des blocs hydrophiles augmente, montrant que plus les blocs hydrophiles sont longs, plus l'efficacité sur la stabilisation des AuNps est grande (Figure II. 21a). En outre, quelle que soit la longueur des groupements hydrophiles, les valeurs de $\Delta\lambda_{\text{max}}$ pour les copolymères de la série EO2 restent nettement inférieures à ceux de la série EO1. Cela démontre un certain effet de la longueur du bloc hydrophobe sur l'agrégation. On note aussi, que l'augmentation de la concentration a un effet négligeable sur la valeur de $\Delta\lambda_{\text{max}}$ par rapport à l'influence de l'effet de l'architecture moléculaire. En effet, les concentrations utilisées dans la série EO2 donnent de meilleurs effets stabilisants, bien qu'elles soient plus basses ($\leq 0,1 \text{ mmol.L}^{-1}$) que les concentrations utilisées dans la série EO1 ($0,45 \text{ mmol.L}^{-1}$). En outre, pour les échantillons de la série EO2 on a varié la concentration de $0,02 \text{ mmol.L}^{-1}$ (□) à $0,1 \text{ mmol.L}^{-1}$ (+), sans observer d'effet notable sur les valeurs de $\Delta\lambda_{\text{max}}$. Les valeurs de $\Delta\lambda_{\text{max}}$ de cette série pour toutes les concentrations paraît être superposé (Figure II. 21a).

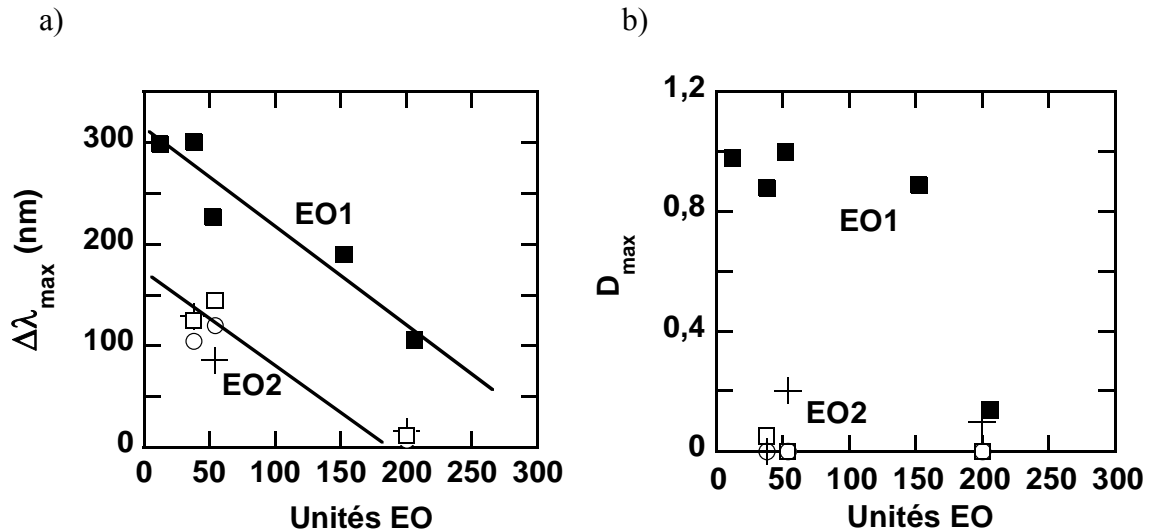


Figure II. 21 : Effet de la longueur des blocs hydrophiles, exprimée en termes de nombre d'unités EO, (a) sur la valeur maximale du paramètre d'agrégation $\Delta\lambda_{\max}$ et (b) sur la valeur maximale du paramètre de la décantation D_{\max} . Série de polymères EO1: (■) 0,45 mmol.L⁻¹; série EO2: (□) 0,02 mmol.L⁻¹, (○) 0,04 mmol.L⁻¹, (+) 0,1 mmol.L⁻¹.

Pour tous les polymères et toutes les concentrations dans ces deux séries, le paramètre de décantation D_{\max} prend soit une valeur supérieure à 0,8, ce qui indique que la plupart des nanoparticules sont précipitées, ou au-dessous de 0,2 correspondant à une précipitation faible voir nulle (Figure II. 21b). Il semble que la variation de la longueur du bloc hydrophile (dans la gamme 10-200) n'a pratiquement aucune influence sur le comportement de la précipitation. En effet, à l'exception du plus grand polymère de la série EO1 (F88), le fait d'augmenter le nombre d'unités EO n'a pas modifié fortement la valeur D_{\max} . Inversement, l'influence du nombre d'unités PO semble être important, puisque dans tous les échantillons de la série EO1 la précipitation est presque complète, (avec encore l'exception de F88 ayant les blocs hydrophiles les plus longs), tandis que dans la série EO2 tous les échantillons montrent très peu ou pas de précipitation. De même que l'agrégation, la variation de la concentration dans la gamme (0,02 - 0,1 mmol.L⁻¹) n'a qu'un faible effet sur la décantation.

En conclusion, l'étude de séries EO1 et EO2 a permis de démontrer que l'augmentation de la longueur du bloc hydrophile limite l'agrégation. Notons ici que $\Delta\lambda_{\max}$ est un paramètre structurel qui sonde la distance interparticule au sein des agrégats, et non pas la quantité de particules agrégées. Plus cette distance diminue plus la valeur de $\Delta\lambda_{\max}$ est grande. L'effet de la décantation semble quant à lui rester faible. En revanche, les valeurs du paramètre D_{\max} , qui est un paramètre quantitatif prenant en compte le nombre de particules qui précipitent, sont

différentes entre les séries EO1 et EO2 (Figure II. 21b). Les différences importantes entre les séries EO1 et EO2, aussi bien pour l'agrégation que pour la décantation, suggèrent un effet important de la longueur du bloc hydrophobe (PPO). C'est ce que nous allons étudier dans le prochain paragraphe.

II-2.2. Effet de la chaîne hydrophobe PPO

L'influence de la longueur du bloc PPO sur la stabilisation de nanoparticules a été étudiée plus profondément en utilisant deux séries de Pluronic, PO1 (P123, P84 et P65) et PO2 (F127, F88 et PEG), comme indiqué dans le tableau 1 et représenté dans la Figure II. 22. La longueur de chaque bloc hydrophile est de 19 et 97 ± 6 unités EO pour les séries PO1 et PO2 respectivement. La longueur de la chaîne hydrophobe PO varie de 29 à 69 dans PO1 et de 0 à 69 dans PO2. Les évolutions temporelles des spectres d'absorption correspondant aux polymères de ces deux séries sont représentées dans la Figure II. 22.

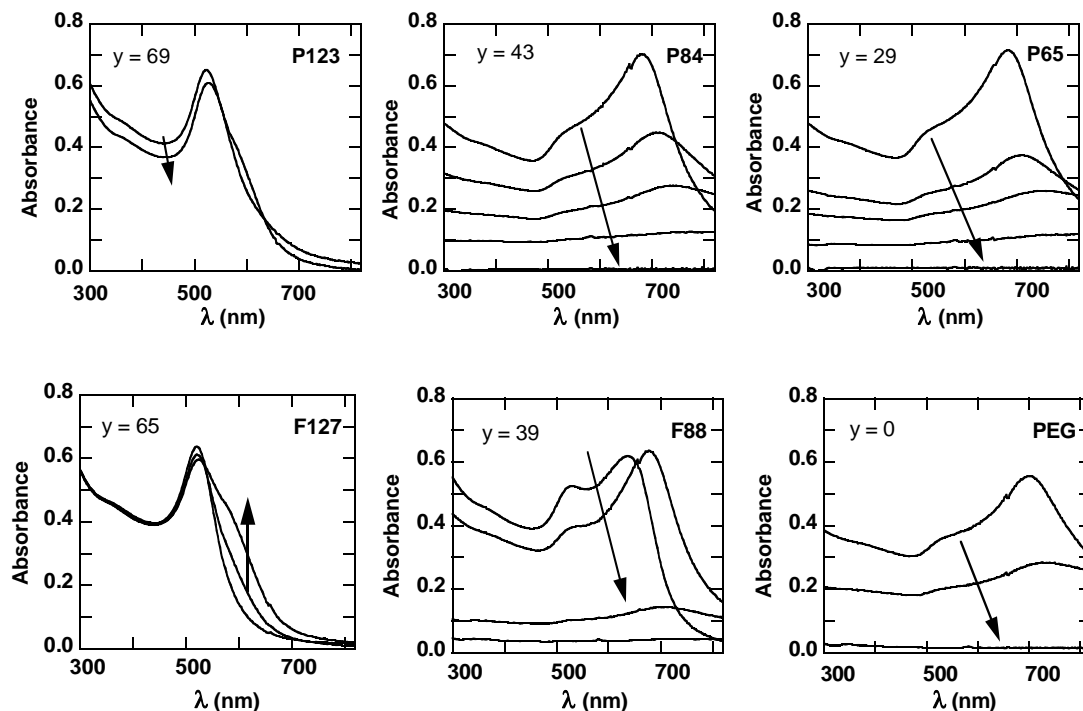


Figure II. 22 : Evolution dans le temps des spectres d'absorption des solutions colloïdales d'AuNPs stabilisées par les polymères des séries PO1 et PO2. Les flèches sont orientées de la première à la dernière mesure, respectivement ~ 7 min et 1 jour après l'ajout de sel. La concentration en polymère est $0,04 \text{ mmol.L}^{-1}$, $[\text{AuNPs}] = 3,40 \text{ nmol.L}^{-1}$, $[\text{NaCl}] = 0,9 \text{ mol.L}^{-1}$.

Sauf pour P123 dans la série PO1 et F127 dans la série PO2, une importante deuxième bande plasmon est apparue dans toutes les solutions, ainsi qu'une diminution significative de l'ensemble des spectres avec le temps. De même que précédemment, les valeurs de D et $\Delta\lambda$ sont extraites des spectres d'absorption et tracées en fonction du temps. Ensuite les valeurs $\Delta\lambda_{\max}$ et D_{\max} sont obtenues à partir de paramétrages exponentiels de ces courbes, et portés en fonction du nombre d'unité PO (Figure II. 23). Pour des blocs hydrophobes plus courts que 50 unités PO environ, les valeurs de $\Delta\lambda_{\max}$ sont proches de 300 nm, ce qui suggère une forte agrégation. L'allongement de la chaîne hydrophobe au-delà de 50 unités PO entraîne une forte diminution de $\Delta\lambda_{\max}$. Les valeurs de $\Delta\lambda_{\max}$ obtenues dans les deux séries PO1 et PO2 se superposent sur la même courbe (Figure II. 23a). Autrement dit, deux séries avec des longueurs de blocs hydrophiles très différentes donnent le même résultat. En ce qui concerne la précipitation, D_{\max} tend vers l'unité pour les polymères à chaîne hydrophobe de moins de 50 unités PO (précipitation totale), tandis que pour $PO > 50$, D_{\max} tend vers zéro, donc pas de précipitation. De la même façon les résultats des deux séries PO1 et PO2 sont superposables sur une même courbe, montrant l'effet prépondérant de la longueur du bloc hydrophobe sur la longueur des blocs hydrophiles.

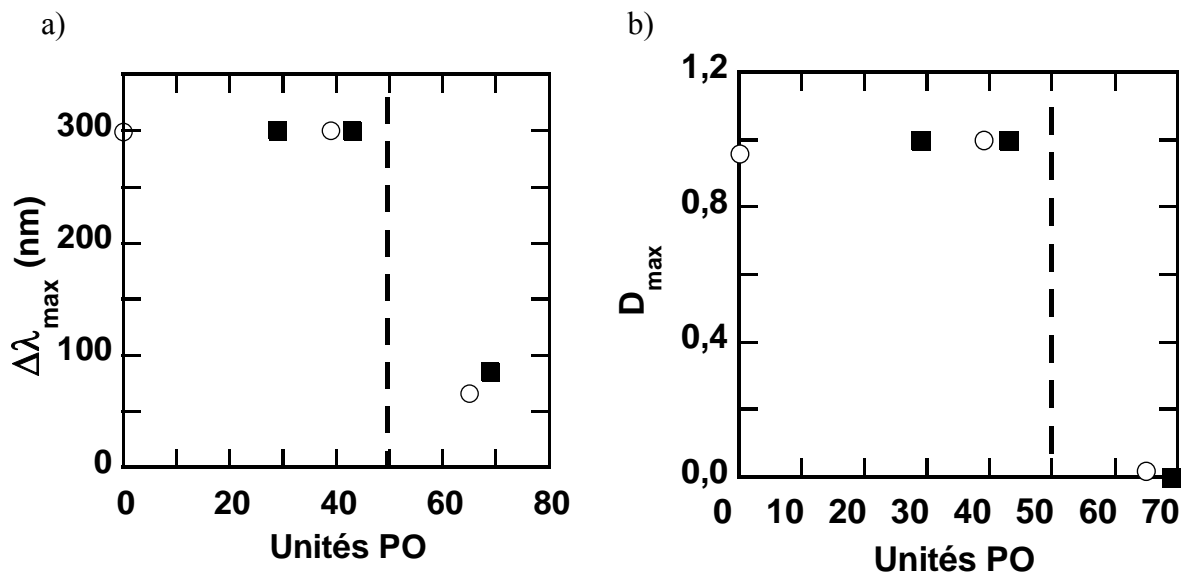


Figure II. 23 : Effet de la longueur de la chaîne hydrophobe, exprimé en termes de nombre d'unités PO, (a) sur la valeur maximale du paramètre d'agrégation $\Delta\lambda_{\max}$ et (b) sur la valeur maximale du paramètre de décantation D_{\max} (■) Série PO1, (○) Série PO2. Concentrations : $[Polymère] = 0,04 \text{ mmol.L}^{-1}$. $[NaCl] = 0,9 \text{ mol.L}^{-1}$.

Les temps caractéristiques décrivant la cinétique d'agrégation $\tau_{\Delta\lambda}$ et de décantation τ_D extraits des ajustements exponentiels des courbes de $\Delta\lambda$ et D en fonction du temps, sont présentés dans le tableau 3 (voir annexe). Les temps caractéristiques $\tau_{\Delta\lambda}$ sont estimés à environ 2-5 h. Enfin, la faible valeur de D trouvée pour P123 et pour F127 indique l'absence de précipitation (les valeurs de τ_D correspondantes sont non déterminées). Les valeurs sont environ de 1 heure respectivement pour P65, P84, PEG et F88. Là encore, aucune évolution systématique du paramètre τ_D en fonction des paramètres structuraux ne peut être extraite à partir de ces données expérimentales.

II-2.3. Effet de la longueur totale du polymère

A ce stade, il est clair que la longueur de la chaîne hydrophobe (PPO) est le paramètre essentiel pour contrôler l'agrégation et la décantation. En effet, le fait d'augmenter la longueur du bloc EO a un effet beaucoup moins prononcé sur la stabilité qu'augmenter la longueur du bloc PO. Nous avons cherché à connaître à composition en monomères constante ($y/x \sim \text{constante}$), l'influence de la masse globale du polymère. Afin d'étudier cet effet, on a choisi deux séries M1 et M2 (voir Tableau 1). De même qu'avec les autres séries, les valeurs de D_{\max} et $\Delta\lambda_{\max}$ sont extraites à partir des spectres d'absorption. Ces valeurs sont rapportées en fonction du nombre total d'unités (EO et PO) dans le polymère pour les séries M1 à 0,07 et 0,42 mmol.L^{-1} et M2 à 0,3 mmol.L^{-1} (Figure II. 24). Quelle que soit la nature et la concentration du polymère, le déplacement de la bande d'absorption et la valeur D_{\max} de chaque série diminuent lorsque la taille du polymère augmente. Cependant, la Figure II. 24b montre que même si dans la série M1 les polymères ont une taille plus petite ($x + y < 100$) que ceux de la série M2 ($x + y > 200$), la solution est plus résistante à la précipitation ($D \sim 0$). Ceci peut être expliqué par le fait que dans la série M1 les polymères sont plus riches en PO (57%) par rapport au nombre total d'unités de EO et de PO que dans la série M2 ($\sim 20\%$ PO). Une autre fois, l'effet de la chaîne hydrophobe dans les Pluronic paraît être le paramètre essentiel pour limiter la précipitation.

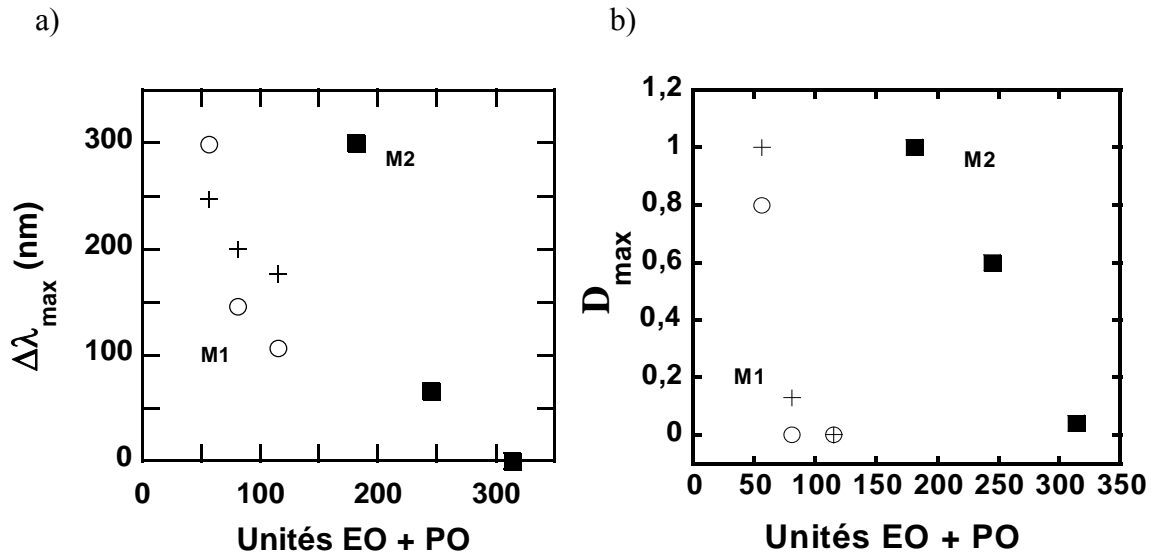


Figure II. 24 : Effet de la longueur totale du copolymère tribloc $EO_xPO_yEO_x$, exprimé en termes d'unités monomères sur la valeur maximale du paramètre d'agrégation ($\Delta\lambda_{max}$) (a) et de décantation D_{max} (b). Série M1: (○) 0,07 mmol.L⁻¹, (+) 0,42 mmol.L⁻¹ Série M2: (■) 0,3 mmol.L⁻¹.

Les déviations standards, ainsi que les temps caractéristiques décrivant la cinétique de l'agrégation $\tau_{\Delta\lambda}$, et de la décantation τ_D sont présentés dans les tableaux 4 et 5 (voir annexe du chapitre).

Le temps caractéristique $\tau_{\Delta\lambda}$ est estimé à environ 2-10 h. La faible valeur de D trouvée pour P104 ($2x + y = 115$), P84 ($2x + y = 81$) et pour F108 ($2x + y = 314$) indique l'absence de précipitation (les valeurs de τ_D correspondantes sont non déterminées (P104 et P84 à 0,42 mmol.L⁻¹ et F108 0,3 mmol.L⁻¹). Les valeurs sont environ de 2 et 15 heures respectivement pour P65, P84 et P104, et 10 et 150 heures pour F68 et F88 respectivement (tableau 4 de l'annexe). Comme avant, là encore, aucune évolution systématique du paramètre τ_D en fonction des paramètres structuraux ne peut être extraite à partir de données expérimentales.

Dans ce cas comme dans les précédents, la concentration joue peu sur l'état d'agrégation final et la précipitation des AuNps. En effet, pour la série M1 à deux concentrations (0,07 (○) et 0,42 mM (+)), les valeurs de $\Delta\lambda_{max}$ et de D_{max} obtenues sont très proches (Figure II. 24a et b). Ceci suggère que, même pour les concentrations les plus basses utilisées, il y avait une quantité suffisante de polymère dans la solution afin d'assurer que les nanoparticules d'or soient (plus ou moins) couvertes par les copolymères et en équilibre. En d'autres termes, le changement de la stabilité et de l'état d'agrégation décrit ci-dessus ne doit pas être dû à un manque de polymères en solution.

II-2.4. Influence de la concentration en polymère

Dans les expériences précédentes, la concentration a peu d'effet sur les paramètres d'agrégation et de décantation. Cependant, la gamme de concentration étudiée était limitée : de 0,02 à 0,1 mmol.L⁻¹ pour la série EO2 et de 0,07 à 0,42 mmol.L⁻¹ pour la série M1. Afin de se faire une idée plus complète sur l'effet de la concentration, nous avons étudié la stabilisation de nanoparticules dans une gamme de concentrations plus large. Nous avons utilisé les F68, F88 et F108. Ces trois polymères sont des polymères riches en EO ($2x/y \sim 0,84$) avec ($M_w = 8400, 11400, \text{ et } 14600 \text{ g.mol}^{-1}$ respectivement). Ils possèdent des valeurs de CMC relativement élevées (respectivement 18, 12 et 3,1 mmol.L⁻¹) ce qui permet de les étudier à haute concentration mais toujours sous la CMC. Ces derniers ont été étudiés dans diverses gammes de concentrations de 0,02 à 2,8 mmol.L⁻¹ pour F68, 0,02 à 4 mmol.L⁻¹ pour F88 et 0,002 à 0,9 mmol.L⁻¹ pour F108.

La

Figure II. 25, montre les spectres d'absorption de quelques concentrations des différentes séries à un temps donnée après ajout du sel.

Tous les échantillons de toutes les séries montrent un effet similaire, avec l'apparition d'une deuxième bande quand l'agrégation a lieu (faibles concentrations). Cette nouvelle bande est plus ou moins déplacée vers les grosses longueurs d'ondes quand la concentration en polymère diminue. Pour de très faibles concentrations l'absorption totale sur le spectre diminue suite à la décantation rapide à ces faibles concentrations en polymère (des photos montrant le changement du couleur du rouge au bleu suite à l'agrégation des nanoparticules sont données en annexe).

Comme auparavant, les spectres d'absorption des suspensions AuNps/copolymères ont été enregistrés dans le temps et les valeurs de D et $\Delta\lambda$ sont extraites des spectres tracés en fonction du temps et paramétré par une équation monoexponentielle. Cette fois, une évolution nette est observable pour les deux paramètres cinétiques en fonction de la concentration (Figure II. 27 pour F68, F88 et F108).

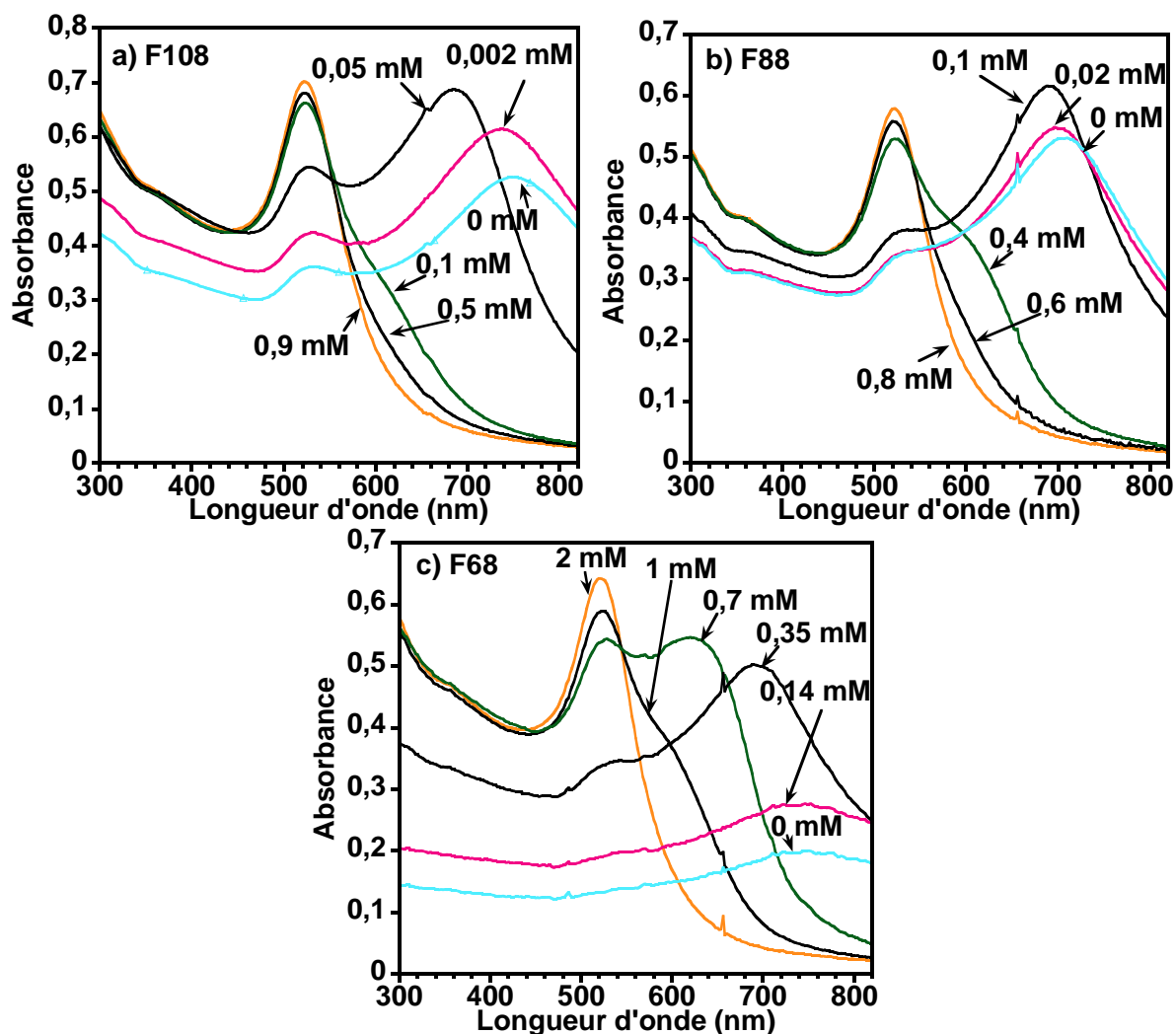


Figure II. 25 : Evolution des spectres d'absorption des suspensions $AuNp/EO_xPO_yEO_x$. ($EO_xPO_yEO_x = F108, F88, F68$) prises 1h (F108 et F88), ou 1h 54 min (F68) après l'ajout du sel. $[AuNPs] \sim 3,40 \text{ nmol.L}^{-1}$, $[NaCl] = 0,9 \text{ mol.L}^{-1}$.

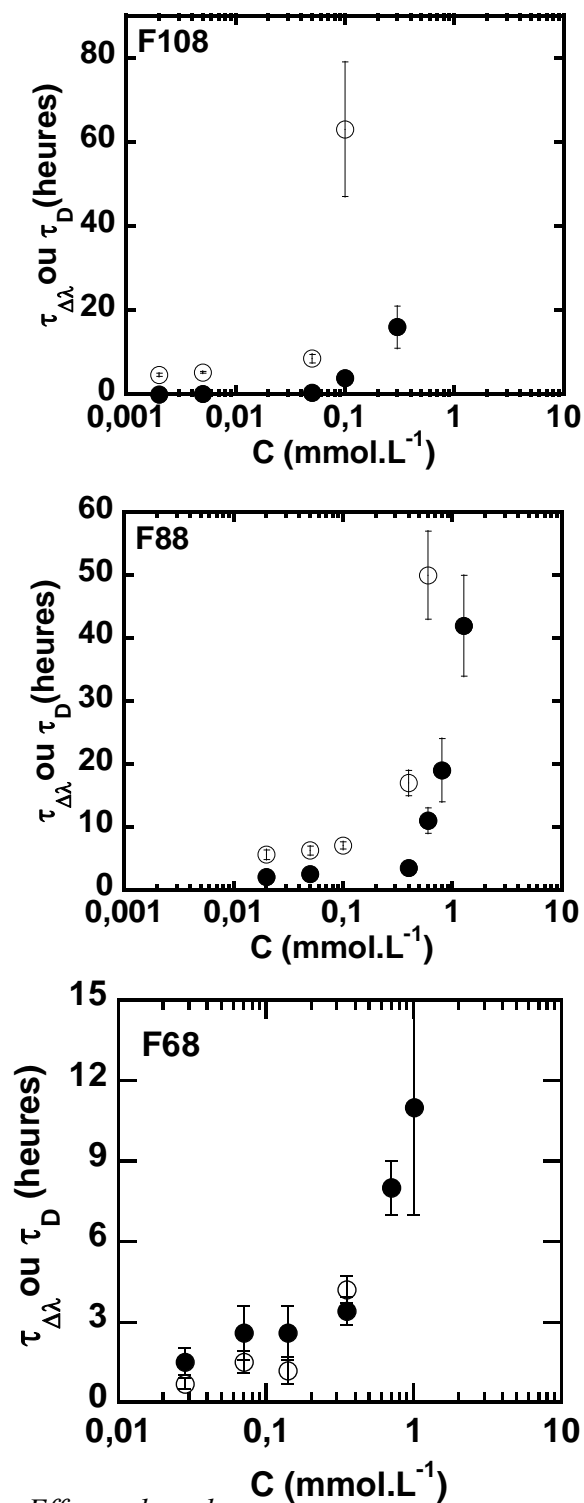


Figure II. 27 : Effet de la concentration du polymère sur les temps caractéristiques de l'agrégation $\tau_{\Delta\lambda}$ (●) et de la décantation τ_D (○) pour les polymères F68, F88 et F108.

Pour des concentrations supérieures à 1 mmol.L⁻¹ dans le cas de F68, et F88 et 0,3 mmol.L⁻¹ dans le cas de F108, l'agrégation et la décantation sont devenus très faibles, de sorte que les temps caractéristiques correspondant n'ont pas pu être déterminés.

Les valeurs de $\Delta\lambda_{\max}$ sont représentées dans la Figure II. 28a, à nouveau en utilisant une échelle logarithmique. Dans toute la gamme de concentration les valeurs de $\Delta\lambda_{\max}$ diminuent lorsque la concentration en polymère augmente, montrant que l'augmentation de la concentration en polymère apporte plus d'efficacité à la stabilisation. Il apparaît qu'aux concentrations élevées, il devrait y avoir une concentration au-dessus de laquelle il n'y a plus d'agrégation. Concernant la décantation (Figure II. 28b), il a été de nouveau observé que les nanoparticules sont soit totalement précipitées ($D_{\max} \sim 1$) pour des faibles concentrations ou restent presque totalement dans la solution ($D_{\max} \sim 0$). La valeur de la limite de concentration qui sépare les deux tendances (décantation/pas de décantation) est presque la même pour ces trois polymères ($\sim 0,3$ mM pour F108, $\sim 0,8$ mM pour F88 et ~ 1 mM pour F68).

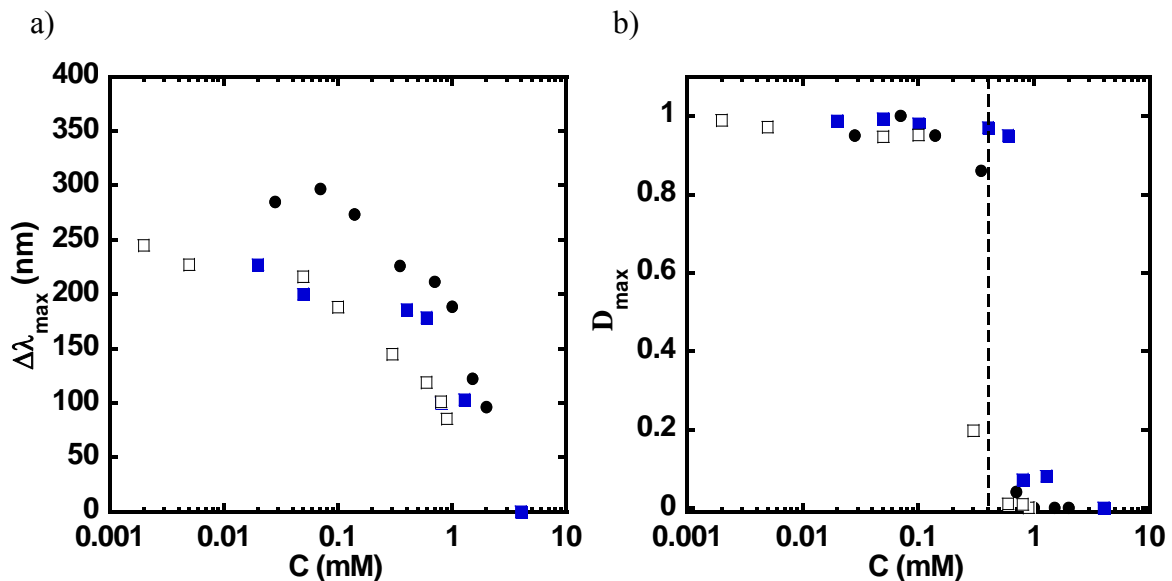


Figure II. 28 : a) Effet de la concentration en Pluronic F108 (□), F88 (■) et F68 (●) sur $\Delta\lambda_{\max}$ (a) et D_{\max} (b).

II-2.5. Effet de la concentration en particules

Afin de déterminer si l'effet de concentration est lié uniquement à la concentration en polymère, ou à la quantité relative de polymère par rapport aux nanoparticules, nous avons

effectué l'expérience suivante. On a fixé la concentration en polymère, et fait varier la concentration en nanoparticules. Deux polymères ont été choisis, le F127 (EO₁₀₀PO₆₅EO₁₀₀) et le F68 (EO₇₆PO₂₉EO₇₆). Les concentrations en polymères sont fixées à 0,07 mM pour F127 et 1,5 mM pour F68. On a fait varier la concentration en particules entre 1 nM et 16,3 nM. Par exemple, dans le cas de F127, les rapports polymère/particule sont : $4,3 \cdot 10^3$, $8,3 \cdot 10^3$, $20,5 \cdot 10^3$, $4,1 \cdot 10^4$ et $61,8 \cdot 10^4$ et pour F68 : $1,1 \cdot 10^5$, $1,8 \cdot 10^5$, $4,4 \cdot 10^5$, $8,8 \cdot 10^5$ et $1,5 \cdot 10^6$.

Des cinétiques ont été effectuées, les valeurs de $\Delta\lambda_{\max}$ et D_{\max} déterminées et rapportées en fonction des rapports Polymère/Particule en échelle logarithmique (Figure II. 29).

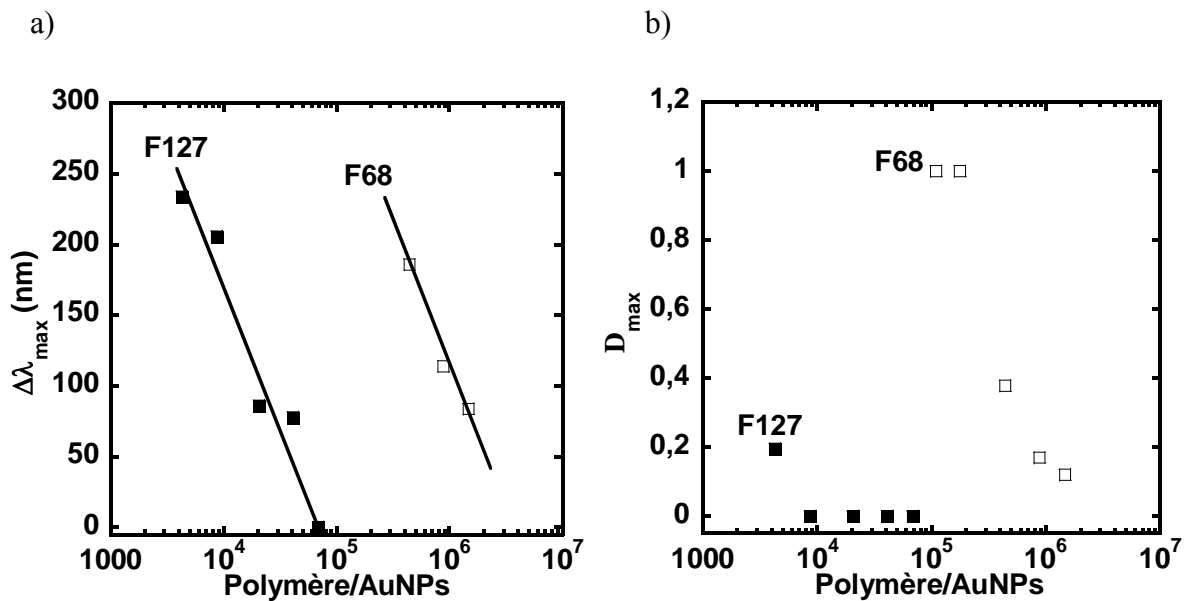


Figure II. 29 : a) Effet de la variation du rapport polymère/particule pour F127 (■) et F68 (□) sur la valeur maximale du paramètre d'agrégation $\Delta\lambda_{\max}$ (a) et D_{\max} (b). Concentrations : $[F68] = 1,5 \text{ mmol.L}^{-1}$, $[F127] = 0,07 \text{ mmol.L}^{-1}$, $[NaCl] = 0,9 \text{ mol.L}^{-1}$.

Il apparaît clairement pour les deux polymères, que l'agrégation diminue ($\Delta\lambda_{\max}$ valeur au plateau diminue), quand le rapport polymère/particule augmente (Figure II. 29a). Pour les faibles rapports F68/AuNps ($\leq 1,7 \cdot 10^5$) la mesure de $\Delta\lambda$ devient impossible après quelques heures en raison de la décantation des nanoparticules, donc les valeurs de $\Delta\lambda_{\max}$ correspondantes ne sont pas présentées sur le graphe. La Figure II. 29b montre une très légère décantation pour le plus petit rapport 4280 ($D_{\max} \sim 0,2$), mais pas de décantation ($D_{\max} \sim 0$) pour tous les autres rapports F127/AuNPs. De même les rapports F68/AuNPs supérieurs à $4,4 \cdot 10^5$ ($D_{\max} \sim 0,38$) ont montré une très légère décantation ($D_{\max} \sim 0,2$). Tandis que la décantation est totale ($D_{\max} \sim 1$) pour les rapports $1,1 \cdot 10^5$ et $1,7 \cdot 10^5$. On voit donc à travers ces expériences

que le phénomène de stabilisation n'est pas lié à la seule concentration en polymère (comme c'est le cas d'une transition micellaire), mais à un équilibre entre polymère adsorbé à la surface des particules et polymère libre.

II-2.6. Stabilité en milieu acide

Afin d'étudier la stabilité en milieu acide en présence de Pluronic, le F127 est étudié dans une gamme de concentration de 0,34 à 0,014 mM. Le pH est ajusté à pH~2 par ajout d'un volume approprié (65 μ L) d'une solution de HCl (1M). La Figure II. 30a montre l'évolution des spectres d'absorption des nanoparticules à pH~2 en présence de F127 à 0,014 mM. Les premières heures après ajout d'acide, il n'y a pas de changement dans le spectre, la solution reste stable. On ne voit pas de seconde bande, mais par contre il y a diminution globale de l'intensité, ceci s'explique par la décantation de nanoparticules. En plus, on remarque qu'il y a un peu de diffusion due à la présence des gros agrégats, mais ces derniers ne sont pas très denses (la distance interparticules reste grande, car pas de second pic aux grandes longueurs d'onde). Un cliché de MET de l'échantillon 26 heures après ajout de l'acide, est présenté dans la Figure II. 30b et montre clairement que les nanoparticules sont assemblées dans des agrégats peu denses.

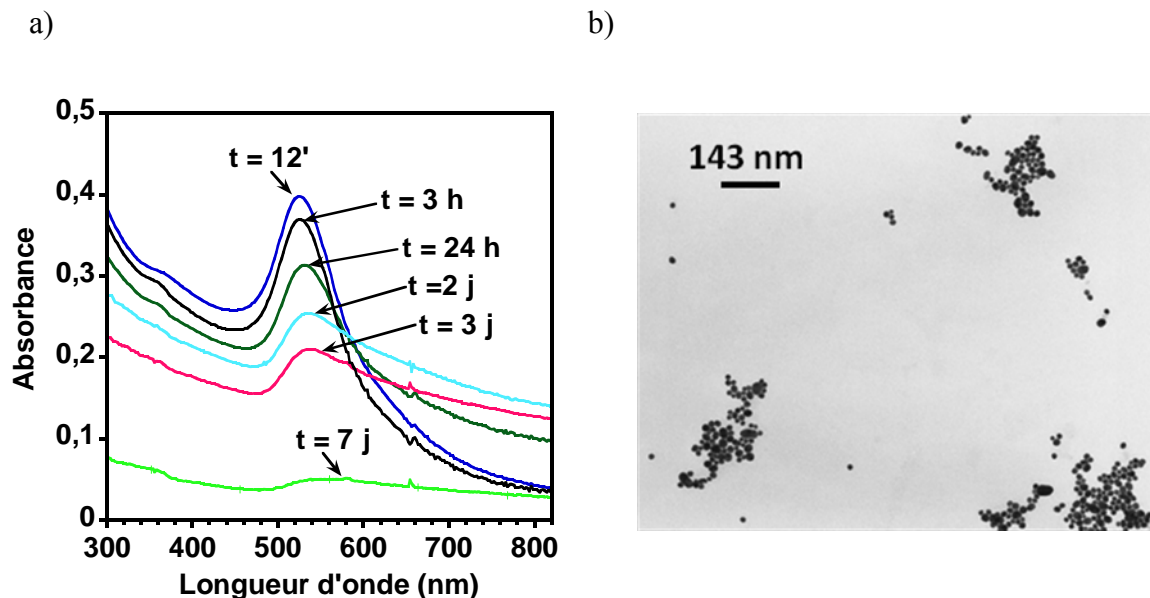


Figure II. 30 : Spectres d'absorption dans le temps montrant l'effet d'ajout de HCl (pH~2) sur la solution des nanoparticules d'or synthétisées par réduction avec du citrate, en présence du Pluronic F127 (0,014 mM), $[AuNPs] = 3,40$ nM. (b) Cliché de MET après 26h d'ajout de l'acide.

II-2.7. Corrélation entre l'agrégation et la précipitation

A l'exception de l'expérience de stabilisation en milieu acide (pH~2), et pour toutes les expériences de stabilisation en présence de NaCl (0,9 M), l'observation des paramètres d'agrégation et de décantation a montré une forte corrélation entre les valeurs de $\Delta\lambda_{\max}$ et D_{\max} . Ceci est illustré par la Figure II. 31, où les résultats de la plupart des échantillons utilisés dans cette étude ont été portés. Manifestement, la décantation devient significative quand la valeur de $\Delta\lambda_{\max}$ devient supérieure à 170 nm. Rappelons ici que $\Delta\lambda$ est un paramètre empirique qui caractérise l'état d'agrégation des particules et dépend vraisemblablement principalement de la distance interparticule au sein des agrégats. Ce résultat suggère que seuls les agrégats qui sont assez denses précipitent. On note que parfois, les valeurs maximales de $\Delta\lambda_{\max}$ sont au-delà de la fenêtre de longueur d'ondes utilisée lors de cette étude (> 300 nm), indiquant une forte agrégation des nanoparticules.

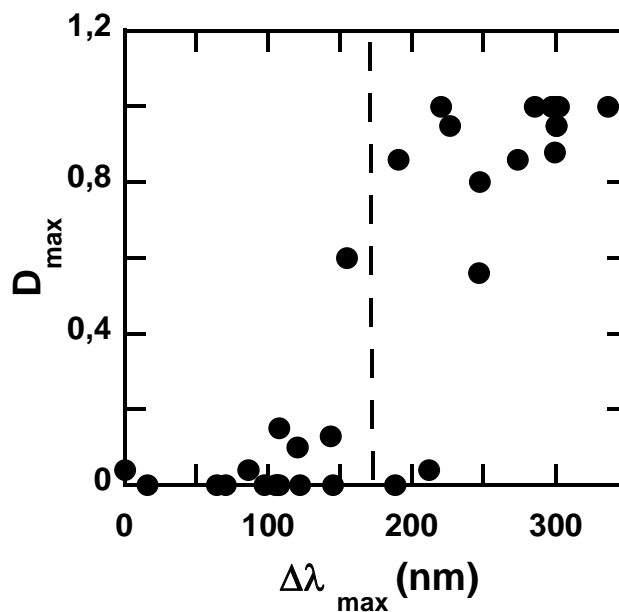


Figure II. 31 : Corrélation entre les valeurs de D_{\max} et $\Delta\lambda_{\max}$ pour toutes les expériences de stabilisation réalisées lors de la présente étude. Chaque point correspond à un polymère à une concentration donnée. La ligne matérialise la valeur $\Delta\lambda \sim 170$ nm.

II-2.8. Discussion

Dans toutes les séries de polymères le processus d'agrégation a lieu sur la même échelle de temps (2 - 5h) (certaines conditions expérimentales ont abouti à une cinétique plus lente, et sont représentées dans les tableaux correspondant aux différentes séries en Annexe). La cinétique semble dépendre principalement de la concentration. Dans la plupart des cas, aucune évolution systématique de $\tau_{\Delta\lambda}$ en fonction de paramètres structuraux (comme le nombre d'unités PO ou EO) ne peut être extraite. Toutefois, les valeurs de τ_D sont retrouvées toujours du même ordre de grandeur, ou plus grandes que celle de $\tau_{\Delta\lambda}$ (voir les tableaux). Un tel résultat suggère que le processus de précipitation a lieu en même temps ou après l'agrégation des AuNps. Les nanoparticules non agrégées ne précipitent pas, ce qui est un comportement attendu, mais on note également que l'agrégation peut se produire sans être suivie par la précipitation, quand la distance interparticules reste assez grande ($\Delta\lambda_{\max} < 170$ nm) dans les agrégats. Une diminution de la distance interparticule ($\Delta\lambda_{\max} > 170$ nm) éventuellement par coalescence, conduit à la précipitation des agrégats.

La stabilisation des nanoparticules d'or par les copolymères à des concentrations inférieures à la CMC est efficace. Elle dépend de l'architecture moléculaire des copolymères, le facteur le plus important étant la longueur du segment hydrophobe. Toutefois, la stabilisation dépend du rapport nombre du polymères/nombre de particules. Le F127 semble être le plus efficace pour la stabilisation colloïdale, puisque pour la plus faible concentration de l'étude (0,02 mmol.L⁻¹) l'agrégation reste insignifiante ($\Delta\lambda_{\max} < 75$ nm), et ces échantillons n'ont toujours pas décanté après plusieurs mois.

Diverses hypothèses peuvent être proposées pour expliquer la forte influence de la chaîne hydrophobe PPO sur la stabilisation des AuNps. Les interactions entre le bloc PPO et la surface des nanoparticules pourraient être plus forte que celle avec le bloc PEO. Cependant, étant donné que les nanoparticules d'or de départ sont chargées négativement (et donc polaires), il serait difficile de comprendre la nature des interactions entre les groupes hydrophobes et la surface. Très probablement, la cohésion de la couche du polymère enrobant les AuNps est renforcée par des interactions hydrophobes entre les blocs PPO des copolymères. En outre, on note qu'il pourrait y avoir un changement de conformation des copolymères triblocs amphiphiles autour des nanoparticules du à l'auto-exclusion entre les parties hydrophiles et hydrophobes des polymères, si on les compare à de simples structures

PEO de même longueur. Une telle auto-exclusion peut augmenter l'épaisseur moyenne de la couche de polymère autour de la nanoparticule, favorisant ainsi les répulsions stériques entre les nanoparticules et donc leur stabilité. Afin de mieux comprendre cet effet et essayer de mieux l'expliquer, on va maintenant étudier l'effet du dibloc EO_xPO_y sur la stabilisation.

II-3. Cas des polymères amphiphiles diblocs (PEO-PPO)

Les diblocs de types EO_xPO_y peuvent être considérés comme des moitiés de triblocs $EO_xPO_{2y}EO_x$. Partant de cette considération nous nous sommes demandé s'ils pouvaient également être de bons agents stabilisant. Pour cela on a sélectionné deux copolymères Poly(propylène oxide-b-ethylene oxide) ($\sim EO_{113}PO_{19}$) et ($\sim EO_{272}PO_{29}$) de masse moléculaire 6100 et 13700 g/mole respectivement. Le $EO_{113}PO_{19}$ est analogue à une moitié de F88 ($EO_{103}PO_{39}EO_{103}$). Le dibloc $EO_{272}PO_{29}$ peut être comparé avec le F68 ($EO_{76}PO_{29}EO_{76}$) car ils ont la même longueur de chaîne hydrophobe, mais aussi au F88 car le nombre total d'unités EO (environ 236 ± 36) et le nombre total d'unités PO (34 ± 5) sont proches pour les deux polymères. En plus, ces deux polymères peuvent être comparés au $PEO_{(8000)}$ utilisés lors de cette étude, ce dernier ayant une masse moléculaire moyenne entre les deux diblocs choisis.

II-3.1. Comparaison entre les structures dibloc et tribloc

Dans une expérience préliminaire, on a voulu voir si les diblocs peuvent stabiliser les nanoparticules d'or dans l'eau en présence de sel à 0,9 M et le comparer aux triblocs F88 et F68. Ces copolymères ont été comparés au même titre massique pour prendre en compte la différence de masse moléculaire.

Par exemple le F68 est comparé avec le dibloc $EO_{272}PO_{29}$ à deux concentrations différentes. La Figure II. 32 montre pour ces deux polymères l'évolution des paramètres $\Delta\lambda$ et D extraits des spectres tracés en fonction du temps. Le résultat montre clairement qu'avec le dibloc il n'y a pas d'agrégation ni de décantation sur plus de 150 heures à 0,277 mM ($\Delta\lambda_{\max}$ et $D_{\max} = 0$). En plus, ce dernier paraît avoir un meilleur effet stabilisant que le F68 à 0,45 et 0,9 mM, même s'il est utilisé à une concentration plus petite. Pour F68 à ces deux concentrations la valeur de $\Delta\lambda$ augmente jusqu'à atteindre un plateau ($\Delta\lambda_{\max} = 232$ nm et 120 nm pour 0,45 et 0,9 mM respectivement). De même D_{\max} passe de 0,11 (légère décantation) pour [F68] =

0,9 mM à $\sim 0,76$ pour $[F68] = 0,45$ mM (décantation significative). Donc on constate que bien qu'ayant un bloc hydrophobe de même longueur, le copolymère dibloc donne une bien meilleure stabilisation (à des concentrations plus faibles) qu'un tribloc.

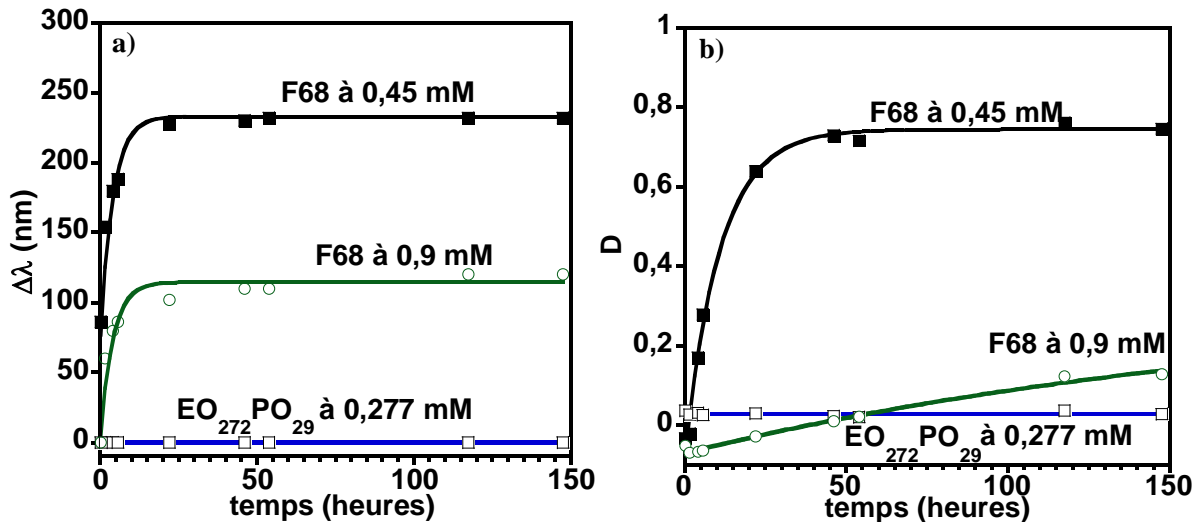


Figure II. 32 : Evolution des paramètres d'agrégation $\Delta\lambda$ (a) et de décantation D (b) dans le temps pour $EO_{272}PO_{29}$ (0,277 mM) comparé à F68 (0,45 et 0,9 mM).

De même le dibloc $EO_{272}PO_{29}$ est comparé avec F88 à 0,5 mM qui a approximativement le même nombre de EO et PO. Comme le montre la Figure II. 33a, Le $EO_{272}PO_{29}$ paraît être de même plus stable que F88.

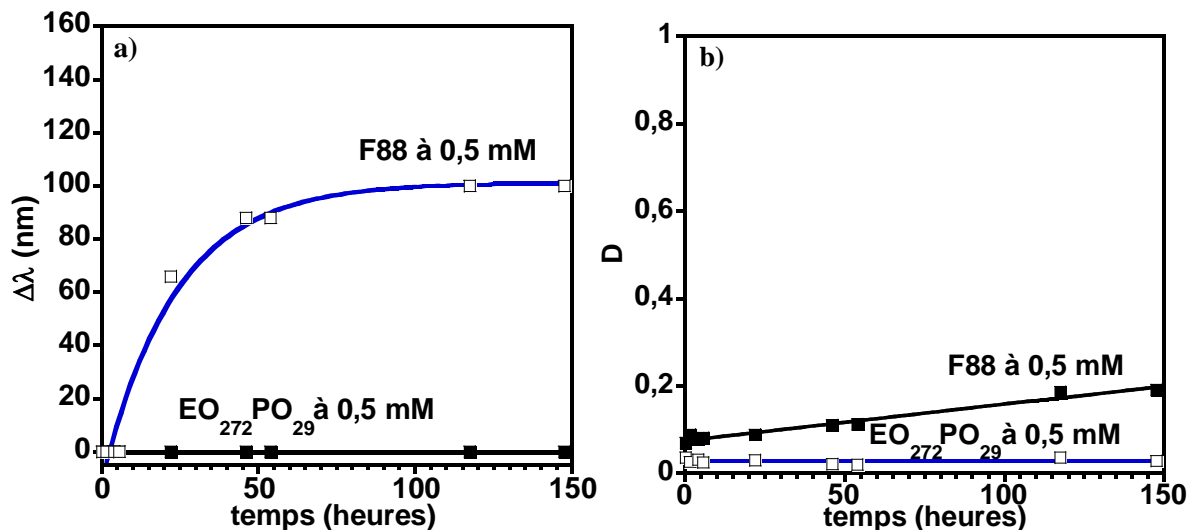


Figure II. 33 : Evolution des paramètres d'agrégation $\Delta\lambda$ (a) et de décantation D (b) dans le temps, pour $EO_{272}PO_{29}$ comparé à $EO_{103}PO_{39}EO_{103}$, à 0,5 mM. Concentrations : $[AuNPs] = 3,04$ nM, $[NaCl] = 0,9$ M.

Le dibloc $EO_{113}PO_{19}$ correspond approximativement à une moitié de F88 ($EO_{103}PO_{39}EO_{103}$). La Figure II. 34 montre l'évolution du paramètre d'agrégation en fonction du temps, pour $[EO_{113}PO_{19}] = 0,9 \text{ mM}$ et $[F88] = 0,9 \text{ mM}$ et $0,45 \text{ mM}$ (concentration/2 pour avoir le même nombre d'unités EO et PO). Pour comparer à nombre d'unités constant (soit à masse molaire constante), on considère $[F88] = 0,45 \text{ mM}$. Dans ce cas, l'augmentation de stabilité avec le dibloc est significative. A ces concentrations les valeurs de $\Delta\lambda$ au plateau ($\Delta\lambda_{\text{max}}$) sont inférieures à 100. Comme on a montré au paragraphe IV, pour des valeurs de $\Delta\lambda_{\text{max}} < 170 \text{ nm}$ il n'y a pas de décantation donc on a obtenu $D \sim 0$, et pour $[F88] = 0,45 \text{ mM}$: $D_{\text{max}} \sim 0,17$. Le graphe montre également qu'à concentration identique ($0,9 \text{ mM}$) les deux polymères ont un effet très proche : une légère agrégation est observée dans les deux cas ($\Delta\lambda_{\text{max}} = 50 \text{ nm}$). On note qu'à la même concentration la solution avec F88 contient le double d'unités (EO + PO).

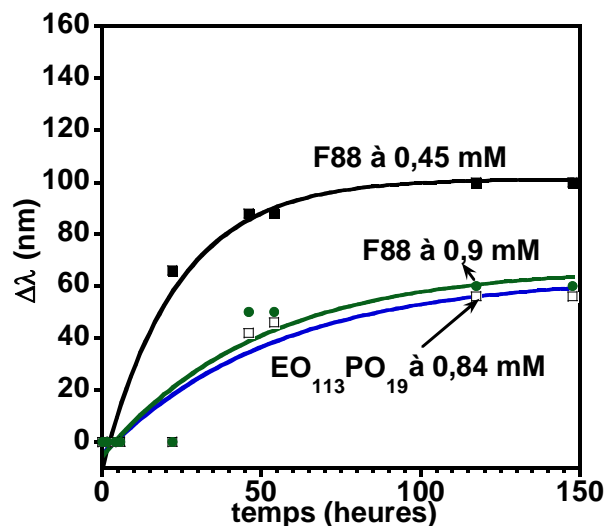


Figure II. 34 : Evolution des paramètres d'agrégation $\Delta\lambda$ dans le temps, de $EO_{113}PO_{19}$ ($0,9\text{mM}$) comparé à F88 ($0,9$ et $0,45 \text{ mM}$).

Ces résultats montrent que les diblocs sont de meilleurs agents stabilisants que les triblocs, mais on a voulu vérifier si aux concentrations utilisées il y a des micelles (ou autres agrégats) ou pas. Pour cela, dans le paragraphe qui suit, on s'est intéressé à déterminer les valeurs de Concentration d'Agrégation Critique (CAC) des deux diblocs.

II-3.2. Détermination des CAC pour EO₂₇₂PO₂₉ et EO₁₁₃PO₁₉

Nous avons déterminé les CAC des deux diblocs, en utilisant la fluorescence d'une sonde hydrophobe. La sonde choisie est la DPH (1,6-diphényl-1,3,5-hexatriène) qui est insoluble dans l'eau, mais elle peut être solubilisée dans la partie hydrophobe des agrégats de copolymères dans l'eau. Ainsi, la DPH (sous forme de poudre) est mise au contact des solutions de polymères, pendant au moins 24 heures (voir partie expérimentale). Ensuite, l'intensité de fluorescence à 428 nm ($\lambda_{ex} = 353$ nm) a été extraite des spectres d'émission, et tracée en fonction de la concentration dans une échelle logarithmique (Figure II. 35). La rupture de pente dans le graphe indique la valeur de la CAC.

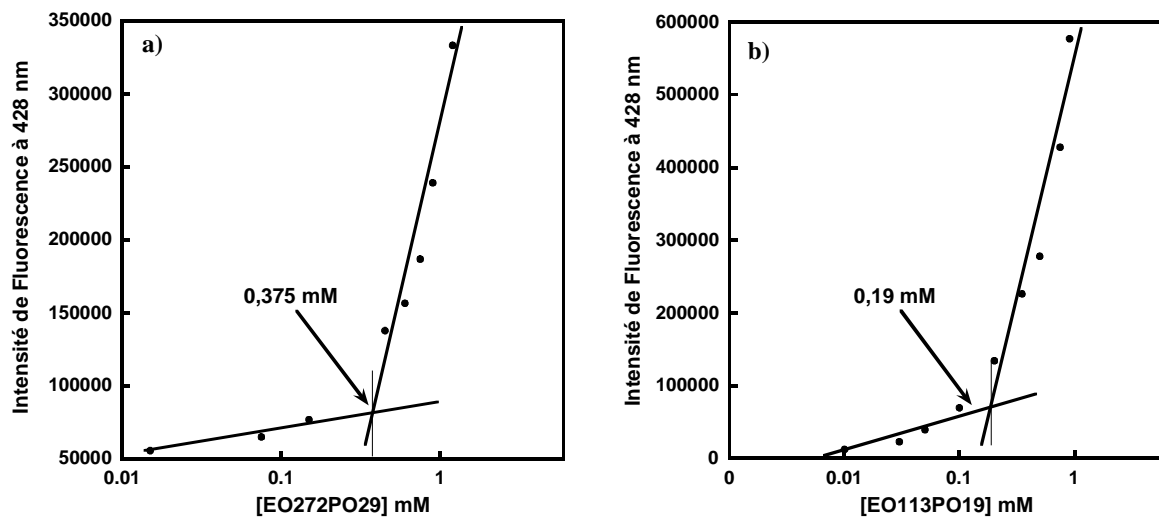


Figure II. 35 : Détermination de la concentration d'agrégation critique des diblocs par fluorescence (a) EO₂₇₂PO₂₉ (b) et EO₁₁₃PO₁₉.

Pour le dibloc EO₂₇₂PO₂₉ la CAC trouvée est de l'ordre de 0,36 mM (Figure II. 35a), et pour le EO₁₁₃PO₁₉ la CAC est de l'ordre de 0,19 mM (Figure II. 35b). D'après les valeurs trouvées, toutes les expériences de stabilisation précédentes ont été réalisées à des concentrations en dibloc supérieures à la CAC, ou très légèrement inférieures (EO₂₇₂PO₂₉ à 0,277 mM).

Le dibloc EO₂₇₂PO₂₉ a été étudié plus en détail afin d'avoir une idée plus claire sur la CAC obtenue en fluorométrie.

Etude du comportement en solution de $EO_{272}PO_{29}$ par tensiométrie : Le dibloc $EO_{272}PO_{29}$ a été étudié par tensiométrie en solution afin de déterminer la CAC. Pour cela les mesures ont été réalisées à température ambiante par la méthode de l'arrachement de la lame en platine. Cette méthode consiste à déformer l'interface et à mesurer l'énergie nécessaire à cette déformation. En effet, on a effectué des mesures de la tension de surface (γ), les valeurs obtenues sont présentées en fonction de la concentration dans une échelle logarithmique dans la Figure II. 36a. L'évolution de la tension de surface en fonction de la concentration montre une diminution de la tension de surface (entre $1,5 \cdot 10^{-4}$ à $1,5 \cdot 10^{-2}$ mmol.L $^{-1}$), ce qui correspond à l'adsorption des tensioactifs à l'interface air-eau. Ensuite, une première rupture de pente est observée et la valeur de la tension de surface se stabilise vers 48 mN/m (palier), caractéristique de l'agrégation des tensioactifs en solution. Une deuxième diminution est observée et la valeur finale de γ devient constante (palier à 45 mN/m). Il est donc probable que la première rupture de pente correspond à la formation de micelles à une concentration d'environ 0,017 mM. Ensuite, quand la concentration en polymère augmente au-delà de $\sim 0,36$ mM on observe une seconde transition vers d'autres structures, peut être des micelles allongées, ou des vésicules.

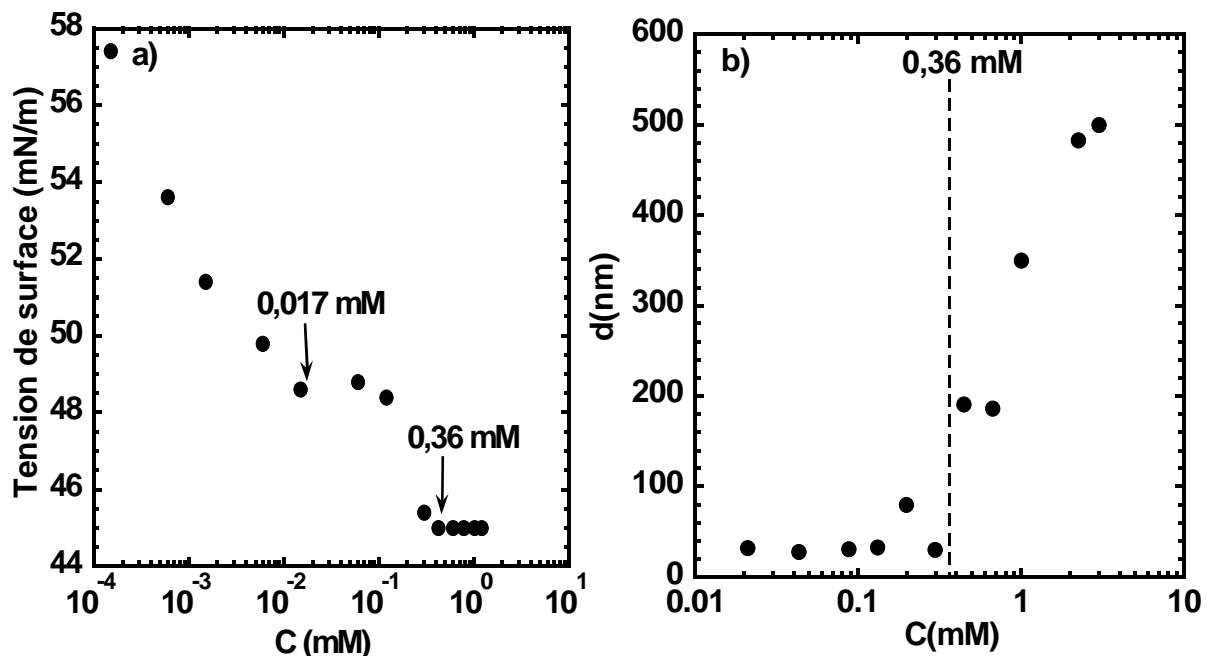


Figure II. 36 : Détermination de la concentration d'agrégation critique du dibloc, $EO_{272}PO_{29}$ par tensiométrie (a). Mesure du diamètre hydrodynamique par diffusion de la lumière en fonction de la concentration en $EO_{272}PO_{29}$.

Taille des agrégats par Diffusion Dynamique de la Lumière (DDL) : Afin de vérifier ce résultat, on a effectué des mesures de diamètre hydrodynamique des objets en solution en fonction de la concentration en EO₂₇₂PO₂₉ (Figure II. 36b). Le principe de la DDL est expliqué plus en détail dans la partie expérimentale. Au dessous de 0,01 mM l'intensité diffusée est très faible pour être mesurée. A partir de 0,02 mM des objets sont observés dont le diamètre est de l'ordre de 30 nm. Ces objets, sont probablement des micelles sphériques de EO₂₇₂PO₂₉, formées d'un cœur hydrophobe d'oxypropylène (PO) et d'une couronne hydrophile à base d'oxyéthylène (EO). Des tailles similaires sont obtenues jusqu'à ~ 0,3 mM. Ensuite, au dessus de ~ 0,36 mM une augmentation de la taille est observée jusqu'à un diamètre de l'ordre de ~500 nm à 3 mM.

On peut donc conclure que deux types d'objets sont formés en solution. Il s'agit probablement de micelles sphériques de diamètre ~ 30 nm au-delà de 0,017 mM (CMC), et d'agrégats plus grands à des concentrations supérieures à 0,36 mM (on note que ces tailles, sont aussi observées au dessous de 0,36 mM mais en quantité très faible, ce qui peut expliquer les deux ruptures de pentes observée en tensiométrie).

Dans les expériences de fluorescence la gamme de concentration étudiée est de 0,015 mM à 1,2 mM pour EO₂₇₂PO₂₉ ce qui fait qu'on observe une seule rupture de pente, qui correspond à la formation des gros agrégats. Il est probable qu'un effet similaire peut être obtenu avec EO₁₁₃PO₁₉. En effet, ce dernier forme des agrégats détecté en fluorescence à une concentration plus basse (0,19 mM) que EO₂₇₂PO₂₉ (0,375 mM). Pour cela une seule rupture de pente est observée et correspond probablement à la formation des gros agrégats, tandis qu'à des concentrations supérieures à la CMC, il y a déjà des micelles qui sont formées en solution, et que la sonde est légèrement soluble dans ces micelles (croissance lente de l'intensité de fluorescence en fonction de la concentration au dessous de la CAC).

II-3.3. Effet de la concentration en EO₂₇₂PO₂₉ sur la stabilisation des AuNPs

On a étudié l'influence de la concentration en EO₂₇₂PO₂₉ sur la stabilisation des nanoparticules d'or en présence de sel (0,9M), à des concentrations inférieures et supérieures à la CMC. La gamme de concentration en polymère utilisée est de 0 à 0,07 mM. La Figure II.

37, montre les photos prises après 1h et 10 jours d'ajout de sel. Ces photos montrent bien un bon effet stabilisant de $EO_{272}PO_{29}$ au delà d'une certaine concentration, mais cette concentration paraît être supérieure à la CMC.

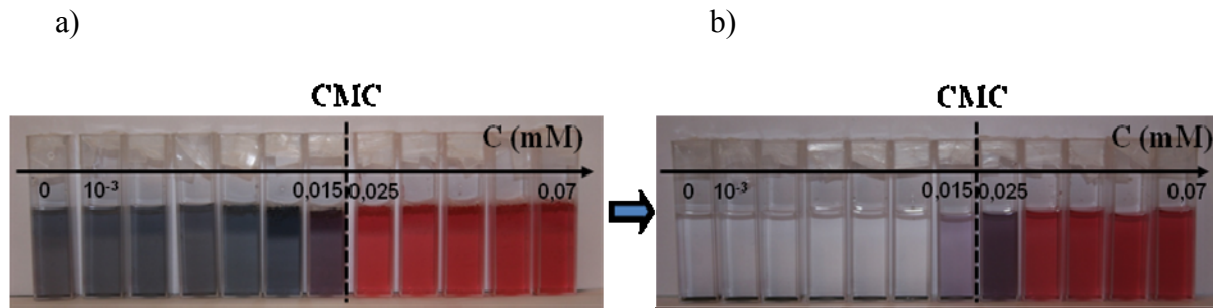


Figure II. 37 : Photos des échantillons de nanoparticules d'or stabilisées avec $EO_{272}PO_{29}$ dans la gamme 0 – 0,07 mM 1 h (a), et 10j (b) après l'ajout de sel ($NaCl$ 0,9M).

La photo après 1 heure (a) montre qu'au dessus de 0,015 mM aucun changement de couleur n'est observé. Tandis que pour les concentrations inférieures ou égale à 0,015 mM un changement de couleur de rouge au bleu est observable du à l'agrégation des nanoparticules en solution. La photo après 10 jours (b) montre que les nanoparticules agrégées précipitent, tandis qu'un changement de couleur est observé pour 0,025 mM, et au dessous les nanoparticules conservent leur couleur rouge de départ. La ligne en pointillé sur les photos représente la CMC déterminée précédemment ($\sim 0,017$ mM). Il paraît clair que les nanoparticules sont stables en présence de micelles, et elles s'agrègent et précipitent totalement au dessous. La cinétique de déstabilisation a été suivie par spectrométrie UV-visible. Les valeurs des paramètres $\Delta\lambda$ et D sont extraits des spectres d'absorptions et tracés en fonction du temps. La Figure II. 38 montre l'évolution de $\Delta\lambda$ et D pour 3 concentrations différentes.

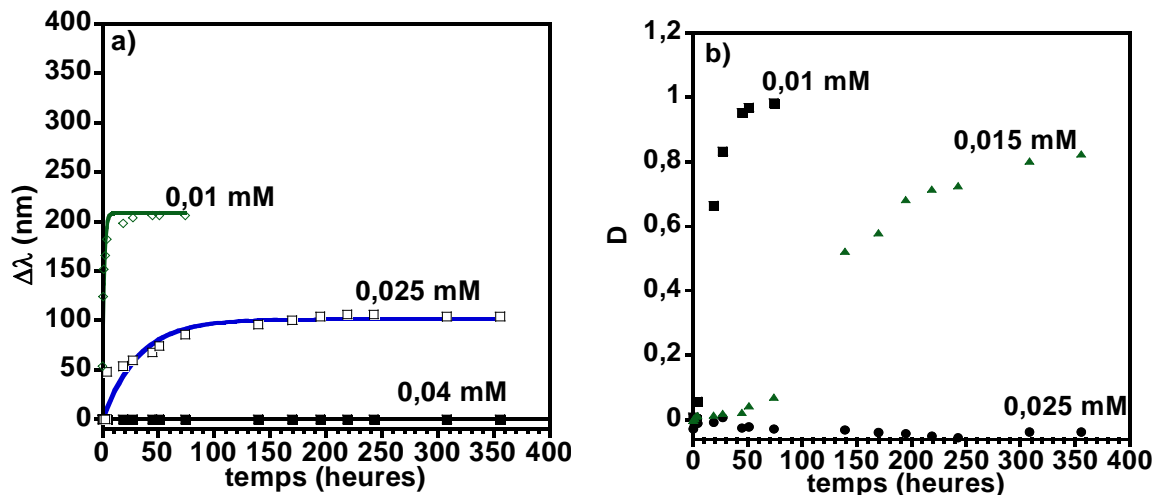


Figure II. 38 : Evolution des paramètres $\Delta\lambda$ (a) et D (b) dans le temps pour $EO_{272}PO_{29}$ à trois concentrations différentes.

Le graphe de $\Delta\lambda$ en fonction du temps montre que pour 0,01 mM les nanoparticules sont agrégées rapidement et la valeur $\Delta\lambda$ atteint un plateau de l'ordre de 200 nm ($\Delta\lambda_{\max} \sim 200$ nm) après ~ 18 heures. Pour 0,025 mM les nanoparticules s'agrègent plus lentement : après 50 heures $\Delta\lambda_{\max} \sim 100$ nm indiquant que dans ce cas les agrégats sont moins denses. Pour 0,04 mM on n'observe pas d'agrégation. En ce qui concerne la décantation (b), à 0,01 mM une décantation rapide est observée, les nanoparticules sont totalement décanté ($D \sim 1$) après ~ 44 heures d'ajout de sel. Pour 0,015 mM, la décantation n'est pas observée pendant les premières 74 heures, ensuite elle devient quantitative au-delà de 100 heures, et on atteint 80 % après 350 heures ($D \sim 0,8$), ceci montre un certain effet de la concentration en $EO_{272}PO_{29}$ au dessous de la CMC ($\sim 0,017$ mM). Pour les concentrations supérieures à 0,025 mM nous n'avons pas observé de décantation pendant plusieurs jours (~ 1 mois). Finalement, les valeurs de $\Delta\lambda_{\max}$ sont extraites des spectres d'absorption et reporté en fonction de la concentration en $EO_{272}PO_{29}$ dans une échelle logarithmique (Figure II. 39).

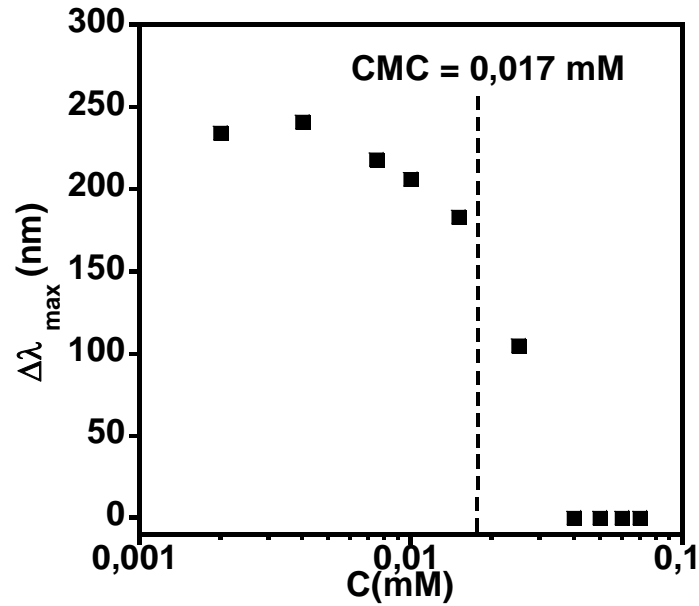


Figure II. 39 : Evolution du paramètre $\Delta\lambda_{\max}$ en fonction de la concentration de $EO_{272}PO_{29}$.

La valeur de la CMC trouvée est représentée par une ligne en pointillé. On remarque que au dessous de la CMC un léger effet de $EO_{272}PO_{29}$ sur l'agrégation est observé : L'agrégation diminuant quand la concentration augmente. Au dessus de la CMC l'agrégation diminue très significativement et devient rapidement indétectable. Nous pensons donc que la stabilisation par des micelles de dibloc prévient l'agrégation.

Enfin, une expérience de stabilisation a été effectuée dans les mêmes conditions avec le poly(oxyéthylène) EO_{190} . Ce dernier, sur grande gamme de concentration de 0 à 12 mM, n'a montré aucun effet stabilisant remarquable. En effet, dans tous les cas et pour toutes les concentrations, les nanoparticules s'agrègent instantanément après ajout de sel et finissent par précipiter dans les temps très court (~ 6 à 20 heures) (les photos des échantillons sont données en annexes). Les valeurs de $\Delta\lambda_{\max}$ de cette expérience sont représentées en fonction de la concentration avec les résultats obtenus avec les trois triblocs F108, F88, F68 et le dibloc $EO_{272}PO_{29}$ (Figure II. 40). On remarque qu'avec EO_{190} même à des fortes concentrations les valeurs de $\Delta\lambda_{\max}$ sont toujours ≥ 170 nm. En plus, on remarque pour le PEO, que la diminution de $\Delta\lambda_{\max}$ est très faible même si la quantité de polymère est beaucoup plus grande (12 mM). A l'inverse un effet stabilisant est toujours observé dans le cas des polymères amphiphiles (triblocs et dibloc). Ainsi, il est intéressant de comparer au cas du F68 (●) ($EO_{75}PO_{29}EO_{75}$) (8400 g/mole) qui à une masse équivalente à EO_{190} (▲) (8000 g/mole) la seule différence étant la présence d'une chaîne hydrophobe de 29 unités PO qui fait que les

nanoparticules sont stables avec le F68 même à des concentrations plus faibles. De même, on peut clairement observer qu'avec le dibloc $EO_{272}PO_{29}$ ($M_w \sim 13700$) la quantité de polymère nécessaire pour avoir une bonne stabilité ($\Delta\lambda_{max} \sim 0$) est plus petite que celle utilisée avec les triblocs (F88 et F68), même si le tribloc a une taille comparable (F108 = $EO_{132}PO_{50}EO_{132}$ à $M_w \sim 14600$). Cette meilleure stabilité à des concentrations plus faibles, peut être expliquée par le fait qu'avec les diblocs à une certaine concentration on forme des objets en solution qui peuvent être à l'origine de cette meilleure stabilité.

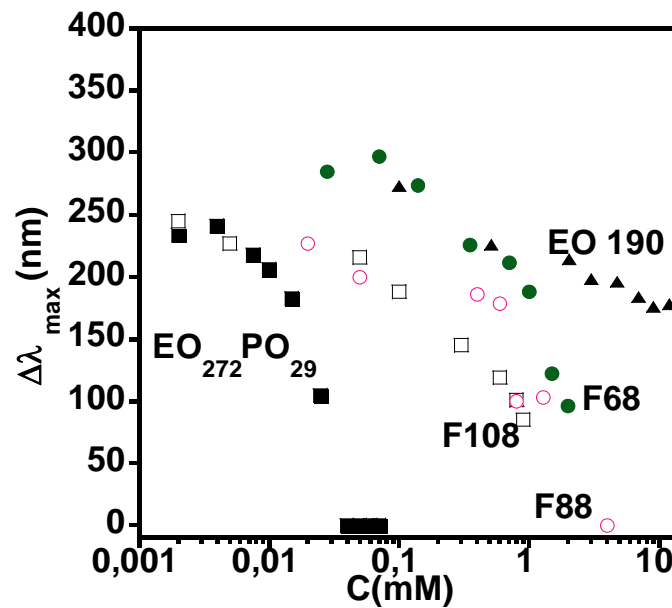


Figure II. 40 : Graphe montrant l'évolution de $\Delta\lambda_{max}$ en fonction de la concentration en polymère pour différents systèmes AuNPs/Polymère avec (Polymère = EO_{190} , $EO_{272}PO_{29}$, F108, F88 et F68).

En conclusion, la présence de la chaîne hydrophobe dans les diblocs EO_xPO_y donne un caractère amphiphile, qui fait que les nanoparticules sont stables au-delà d'une certaine concentration (CMC dans le cas de $EO_{272}PO_{29}$) due à la formation des objets auto-organisées en solution.

III. Conclusions

L'effet stabilisant des copolymères à blocs $EO_xPO_yEO_x$, à des concentrations inférieures à la concentration micellaire critique sur la stabilité des nanoparticules a été clairement démontré en utilisant des nanoparticules d'or de taille bien définie et formées avant l'ajout des polymères. La présence de la partie hydrophobe est essentielle pour avoir un effet stabilisant.

Ainsi, le PEO₍₈₀₀₀₎ n'a montré aucun effet stabilisant dans les conditions expérimentales utilisées dans cette étude. L'analyse des spectres UV-visible des dispersions copolymères/nanoparticules d'or nous a permis de décrire l'agrégation et la décantation des nanoparticules, séparément par deux paramètres. Le processus de décantation est étroitement lié au processus d'agrégation, et se produit sur une échelle de temps équivalente ou plus grande que le temps caractéristique de l'agrégation.

Dans le cas des triblocs, la stabilisation dépend de l'architecture moléculaire, la longueur du segment hydrophobe jouant le rôle prépondérant. Ceci peut être expliqué par le fait que des interactions hydrophobes-hydrophobes stabilisent l'édifice de polymère autour des nanoparticules, conduisant ainsi à un effet stabilisant plus important. Toutefois, la stabilisation dépend aussi du rapport du nombre de polymères sur le nombre de particules, plus ce rapport augmente, meilleure est la stabilisation.

Les diblocs EO_xPO_y ont montré un léger effet stabilisant au dessous de la CMC, mais toutefois, un très bon effet stabilisant dessus de la CMC. Ces derniers ont montré une meilleure stabilisation que le tribloc équivalent à deux diblocs liés (EO₁₀₃PO₃₉EO₁₀₃ ~ EO₁₁₃PO₁₉ – PO₁₉EO₁₁₃). De même, pour une même quantité d'unités EO et PO, la structure dibloc donne une meilleure stabilité que la structure tribloc, à des concentrations en polymères plus basse. Mais cette stabilité n'est pas surprenante vue que dans le cas des diblocs la CMC est plus basse, ce qui fait qu'à ces concentrations il y a des agrégats micellaires.

Puisque les interactions entre les polymères et les nanoparticules sont des interactions physiques faibles, on pense que ces résultats peuvent s'appliquer directement à d'autres types de nanoparticules. Afin de mieux comprendre l'origine de cette stabilité, et essayer d'avoir une idée de ce qu'on a en solution. Par la suite de ce travail on va s'intéresser à caractériser l'organisation du polymère à la surface des nanoparticules d'or, ce sera l'objectif du troisième chapitre de ce manuscrit.

IV. Bibliographie

1. Moores, A.; Goettmann, F., The plasmon band in noble metal nanoparticles: an introduction to theory and applications. *New Journal of Chemistry* **2006**, 30, (8), 1121-1132.
2. Murphy, C. J.; Gole, A. M.; Hunyadi, S. E.; Stone, J. W.; Sisco, P. N.; Alkilany, A.; Kinard, B. E.; Hankins, P., Chemical sensing and imaging with metallic nanorods. *Chemical Communications* **2008**, (5), 544-557.
3. Daniel, M. C.; Astruc, D., Gold nanoparticles: Assembly, supramolecular chemistry, quantum-size-related properties, and applications toward biology, catalysis, and nanotechnology. *Chemical Reviews* **2004**, 104, (1), 293-346.
4. Chiappetta, D. A.; Sosnik, A., Poly(ethylene oxide)-poly(propylene oxide) block copolymer micelles as drug delivery agents: Improved hydrosolubility, stability and bioavailability of drugs. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **2007**, 66, (3), 303-317.
5. Sakai, T.; Alexandridis, P., Mechanism of gold metal ion reduction, nanoparticle growth and size control in aqueous amphiphilic block copolymer solutions at ambient conditions. *Journal of Physical Chemistry B* **2005**, 109, (16), 7766-7777.
6. Desai, P. R.; Jain, N. J.; Bahadur, P., Anomalous clouding behavior of an ethylene oxide-propylene oxide block copolymer in aqueous solution. *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects* **2002**, 197, (1-3), 19-26.
7. Ding, Y. H.; Wang, Y.; Guo, R., Aggregation properties of amphiphilic poly(ethylene oxide)-poly(propylene oxide)-poly(ethylene oxide) block copolymer studied by cyclic voltammetry. *Journal of Surfactants and Detergents* **2004**, 7, (4), 379-385.
8. Michels, B.; Waton, G.; Zana, R., Dynamics of micelles of poly(ethylene oxide) poly(propylene oxide) poly(ethylene oxide) block copolymers in aqueous solutions. *Langmuir* **1997**, 13, (12), 3111-3118.
9. Mortensen, K., Structural properties of self-assembled polymeric aggregates in aqueous solutions. *Polymers for Advanced Technologies* **2001**, 12, (1-2), 2-22.
10. Su, Y. L.; Wei, X. F.; Liu, H. Z., Effect of sodium chloride on association behavior of poly(ethylene oxide)-poly(propylene oxide)-poly(ethylene oxide) block copolymer in aqueous solutions. *Journal of Colloid and Interface Science* **2003**, 264, (2), 526-531.
11. Su, Y. L.; Wei, X. F.; Liu, H. Z., Influence of 1-pentanol on the micellization of poly(ethylene oxide)-polypropylene oxide)-poly(ethylene oxide) block copolymers in aqueous solutions. *Langmuir* **2003**, 19, (7), 2995-3000.
12. Alexandridis, P.; Holzwarth, J. F., Differential scanning calorimetry investigation of the effect of salts on aqueous solution properties of an amphiphilic block copolymer (Ploxamer). *Langmuir* **1997**, 13, (23), 6074-6082.
13. Jansson, J.; Schillen, K.; Olofsson, G.; da Silva, R. C.; Loh, W., The interaction between PEO-PPO-PEO triblock copolymers and ionic surfactants in aqueous solution studied using light scattering and calorimetry. *Journal of Physical Chemistry B* **2004**, 108, (1), 82-92.
14. Caragheorghopol, A.; Caldararu, H.; Dragutan, I.; Joela, H.; Brown, W., Micellization and micellar structure of a poly(ethyleneoxide)/poly(propyleneoxide)/poly(ethyleneoxide) triblock copolymer in water solution, as studied by the spin probe technique. *Langmuir* **1997**, 13, (26), 6912-6921.
15. Alexandridis, P.; Athanassiou, V.; Fukuda, S.; Hatton, T. A., Surface Activity of Poly(ethylene oxide)-block-Poly(propylene oxide)-block-Poly(ethylene oxide) Copolymers. *Langmuir* **1994**, 10, (8), 2604-2612.

16. Lopes, J. R.; Loh, W., Investigation of self-assembly and micelle polarity for a wide range of ethylene oxide propylene oxide ethylene oxide block copolymers in water. *Langmuir* **1998**, 14, (4), 750-756.
17. Alexandridis, P.; Holzwarth, J. F.; Hatton, T. A., Micellization of Poly(ethylene oxide)-Poly(propylene oxide)-Poly(ethylene oxide) Triblock Copolymers in Aqueous Solutions: Thermodynamics of Copolymer Association. *Macromolecules* **1994**, 27, (9), 2414-2425.
18. Goldmints, I.; Holzwarth, J. F.; Smith, K. A.; Hatton, T. A., Micellar dynamics in aqueous solutions of PEO-PPO-PEO block copolymers. *Langmuir* **1997**, 13, (23), 6130-6134.
19. Mitchard, N. M.; Beezer, A. E.; Mitchell, J. C.; Armstrong, J. K.; Chowdhry, B. Z.; Leharne, S.; Bucktod, G., Thermodynamic analysis of scanning calorimetric transitions observed for dilute aqueous solutions of ABA block copolymers. *J. Phys. Chem.* **1992**, 96, (23), 9507-9512.
20. Beezer, A. E.; Loh, W.; Mitchell, J. C.; Royall, P. G.; Smith, D.; Tute, M. S.; Armstrong, J. K.; Chowdhry, B. Z.; Leharne, S. A.; Eagland, D.; Crowther, N. J., An Investigation of Dilute Aqueous Solution Behavior of Poly(oxyethylene) + Poly(oxypropylene) + Poly(oxyethylene) Block Copolymers. *Langmuir* **1994**, 10, (11), 4001-4006.
21. Alexandridis, P.; Nivaggioli, T.; Hatton", T. A., Temperature Effects on Structural Properties of Pluronic P104 and F108 PEO-PPO-PEO Block Copolymer Solutions. *Langmuir* **1995**, 11, (5), 1468-1476.
22. Nolan, S. L.; Phillips, R. J.; Cotts, P. M.; Dungan, S. R., Light scattering study on the effect of polymer composition on the structural properties of PEO-PPO-PEO micelles. *Journal of Colloid and Interface Science* **1997**, 191, (2), 291-302.
23. Mortensen, K., PEO-related block copolymer surfactants. *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects* **2001**, 183, 277-292.
24. Zheng, L. L.; Guo, C.; Wang, J.; Liang, X. F.; Bahadur, P.; Chen, S.; Ma, J. H.; Liu, H. Z., Micellization of Pluronic L64 in salt solution by FTIR spectroscopy. *Vibrational Spectroscopy* **2005**, 39, (2), 157-162.
25. Su, Y. L.; Wang, J.; Liu, H. Z., FTIR spectroscopic investigation of effects of temperature and concentration on PEO-PPO-PEO block copolymer properties in aqueous solutions. *Macromolecules* **2002**, 35, (16), 6426-6431.
26. Ma, J. H.; Guo, C.; Tang, Y. L.; Liu, H. Z., H-1 NMR spectroscopic investigations on the micellization and gelation of PEO-PPO-PEO block copolymers in aqueous solutions. *Langmuir* **2007**, 23, (19), 9596-9605.
27. Cau, F.; Lacelle, S., 1H NMR Relaxation Studies of the Micellization of a Poly(ethylene oxide)-Poly(propylene oxide)-Poly(ethylene oxide) Triblock Copolymer in Aqueous Solution. *Macromolecules* **1996**, 29, (1), 170-178.
28. Nixon, S. K.; Hvidt, S.; Booth, C., Micellization of block copolymer P94 in aqueous solution. *Journal of Colloid and Interface Science* **2004**, 280, (1), 219-223.
29. Ganguly, R.; Aswal, V. K.; Hassan, P. A.; Gopalakrishnan, I. K.; Yakhmi, J. V., Sphere-to-rod transition of triblock copolymer micelles at room temperature. *Pramana-Journal of Physics* **2004**, 63, (2), 277-283.
30. Ganguly, R.; Aswal, V. K.; Hassan, P. A.; Gopalakrishnan, I. K.; Yakhmi, J. V., Sodium chloride and ethanol induced sphere to rod transition of triblock copolymer micelles. *Journal of Physical Chemistry B* **2005**, 109, (12), 5653-5658.
31. Lau, B. K.; Wang, Q. Q.; Sun, W.; Li, L., Micellization to gelation of a triblock copolymer in water: Thermoreversibility and scaling. *Journal of Polymer Science Part B-Polymer Physics* **2004**, 42, (10), 2014-2025.

32. Mortensen, K.; Talmon, Y., Cryo-TEM and SANS Microstructural Study of Pluronic Polymer Solutions. *Macromolecules* **1995**, 28, (26), 8829-8834.
33. Holland, R. J.; Parker, E. J.; Guiney, K.; Zeld, F. R., Fluorescence Probe Studies of Ethylene Oxide/Propylene Oxide Block Copolymers in Aqueous Solution. *J. Phys. Chem.* **1995**, 99, (31), 11981-11988.
34. Zhang, Z. Q.; Xu, G. Y.; Wang, F.; Dong, S. L.; Li, Y., Characterization and demulsification of poly(ethylene oxide)-block-poly(propylene oxide)-block-poly (ethylene oxide) copolymers. *Journal of Colloid and Interface Science* **2004**, 277, (2), 464-470.
35. Varade, D.; Sharma, R.; Aswal, V. K.; Goyal, P. S.; Bahadur, P., Effect of hydrotropes on the solution behavior of PEO/PPO/PEO block copolymer L62 in aqueous solutions. *European Polymer Journal* **2004**, 40, (11), 2457-2464.
36. Ganguly, R.; Aswal, V. K.; Hassan, P. A., Room temperature sphere-to-rod growth and gelation of PEO-PPO-PEO triblock copolymers in aqueous salt solutions. *Journal of Colloid and Interface Science* **2007**, 315, (2), 693-700.
37. Jain, N. J.; Aswal, V. K.; Goyal, P. S.; Bahadur, P., Salt induced micellization and micelle structures of PEO/PPO/PEO block copolymers in aqueous solution. *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects* **2000**, 173, (1-3), 85-94.
38. Desai, M.; Jain, N. J.; Sharma, R.; Bahadur, P., Temperature and salt-induced micellization of some block copolymers in aqueous solution. *Journal of Surfactants and Detergents* **2000**, 3, (2), 193-199.
39. Mata, J. P.; Majhi, P. R.; Guo, C.; Liu, H. Z.; Bahadur, P., Concentration, temperature, and salt-induced micellization of a triblock copolymer Pluronic L64 in aqueous media. *Journal of Colloid and Interface Science* **2005**, 292, (2), 548-556.
40. Aswal, V. K.; Goyal, P. S.; Kohlbrecher, J.; Bahadur, P., SANS study of salt induced micellization in PEO-PPO-PEO block copolymers. *Chemical Physics Letters* **2001**, 349, (5-6), 458-462.
41. Patel, K.; Bahadur, P.; Guo, C.; Ma, J. H.; Liu, H. Z.; Yamashita, Y.; Khanal, A.; Nakashima, K., Salt induced micellization of very hydrophilic PEO-PPO-PEO block copolymers in aqueous solutions. *European Polymer Journal* **2007**, 43, (5), 1699-1708.
42. Ma, J. H.; Guo, C.; Tang, Y. L.; Chen, L.; Bahadur, P.; Liu, H. Z., Interaction of urea with pluronic block copolymers by H-1 NMR spectroscopy. *Journal of Physical Chemistry B* **2007**, 111, (19), 5155-5161.
43. Ankleshwaria, H.; Mata, J.; Bahadur, P., Clouding & micellar behavior of ethylene oxide-propylene oxide-ethylene oxide (EPE and PEP) block copolymers & their mixtures from aqueous solution. *Tenside Surfactants Detergents* **2003**, 40, (5), 303-308.
44. Prud'homme, R. K.; Wu, G.; Schneider, D. K., Structure and Rheology Studies of Poly(oxyethylene-oxypropylene-oxyethylene) Aqueous Solution. *langmuir* **1996**, 12, (20), 4651-4659.
45. Gente, G.; Iovino, A.; La Mesa, C., Supramolecular association of a triblock copolymer in water. *Journal of Colloid and Interface Science* **2004**, 274, (2), 458-464.
46. Bryskhe, K.; Jansson, J.; Topgaard, D.; Schillen, K.; Olsson, U., Spontaneous vesicle formation in a block copolymer system. *Journal of Physical Chemistry B* **2004**, 108, (28), 9710-9719.
47. Dumortier, G.; Grossiord, J. L.; Agnely, F.; Chaumeil, J. C., A review of poloxamer 407 pharmaceutical and pharmacological characteristics. *Pharmaceutical Research* **2006**, 23, (12), 2709-2728.
48. Wei, G.; Xu, H.; Ding, P. T.; Li, S. M.; Zheng, J. M., Thermosetting gels with modulated gelation temperature for ophthalmic use: the rheological and gamma scintigraphic studies. *Journal of Controlled Release* **2002**, 83, (1), 65-74.

49. Suzuki, K.; Saito, Y.; Tokuoka, Y.; Abe, M.; Sato, T., Poly(ethylene oxide)/poly(propylene oxide)/poly(ethylene oxide) triblock copolymer as a sustained-release carrier for perfume compounds. *Journal of the American Oil Chemists Society* **1997**, 74, (1), 55-59.
50. Bromberg, L. E.; Ron, E. S., Temperature-responsive gels and thermogelling polymer matrices for protein and peptide delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews* **1998**, 31, (3), 197-221.
51. Adams, M. L.; Lavasanifar, A.; Kwon, G. S., Amphiphilic block copolymers for drug delivery. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **2003**, 92, (7), 1343-1355.
52. Kozlov, M. Y.; Melik-Nubarov, N. S.; Batrakova, E. V.; Kabanov, A. V., Relationship between pluronic block copolymer structure, critical micellization concentration and partitioning coefficients of low molecular mass solutes. *Macromolecules* **2000**, 33, (9), 3305-3313.
53. Gadelle, F.; Koros, W. J.; Schechter, R. S., Solubilization of Aromatic Solutes in Block Copolymers. *Macromolecules* **1995**, 28, (14), 4883-4892.
54. Paterson, I. F.; Chowdhry, B. Z.; Leharne, S. A., Investigations of naphthalene solubilization in aqueous solutions of ethylene oxide-b-propylene oxide-b-ethylene oxide copolymers. *Langmuir* **1999**, 15, (19), 6187-6194.
55. Paterson, I. F.; Chowdhry, B. Z.; Leharne, S. A., Polycyclic aromatic hydrocarbon extraction from a coal tar-contaminated soil using aqueous solutions of nonionic surfactants. *Chemosphere* **1999**, 38, (13), 3095-3107.
56. Causse, K.; Lagerge, S.; de Menorval, L. C.; Faure, S.; Fournel, B., Turbidity and H-1 NMR analysis of the solubilization of tributylphosphate in aqueous solutions of an amphiphilic triblock copolymer (L64 pluronic). *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects* **2005**, 252, (1), 51-59.
57. Causse, J.; Lagerge, S.; de Menorval, L. C.; Faure, S., Micellar solubilization of tributylphosphate in aqueous solutions of Pluronic block copolymers - Part II. Structural characterization inferred by H-1 NMR. *Journal of Colloid and Interface Science* **2006**, 300, (2), 724-734.
58. Pepic, I.; Jalsenjak, N.; Jalsenjak, I., Micellar solutions of triblock copolymer surfactants with pilocarpine. *International Journal of Pharmaceutics* **2004**, 272, (1-2), 57-64.
59. Chowdhary, R. K.; Chansarkar, N.; Sharif, I.; Hioka, N.; Dolphin, D., Formulation of benzoporphyrin derivatives in pluronics. *Photochemistry and Photobiology* **2003**, 77, (3), 299-303.
60. Hioka, N.; Chowdhary, R. K.; Chansarkar, N.; Delmarre, D.; Sternberg, E.; Dolphin, D., Studies of a benzoporphyrin derivative with Pluronics. *Canadian Journal of Chemistry- Revue Canadienne De Chimie* **2002**, 80, (10), 1321-1326.
61. Torchilin, V. P., Structure and design of polymeric surfactant-based drug delivery systems. *Journal of Controlled Release* **2001**, 73, (2-3), 137-172.
62. Jackson, J. K.; Springate, C. M. K.; Hunter, W. L.; Burt, H. M., Neutrophil activation by plasma opsonized polymeric microspheres: inhibitory effect of Pluronic F127. *Biomaterials* **2000**, 21, (14), 1483-1491.
63. Kabanov, A. V.; Batrakova, E. V.; Alakhov, V. Y., Pluronic (R) block copolymers as novel polymer therapeutics for drug and gene delivery. *Journal of Controlled Release* **2002**, 82, (2-3), 189-212.
64. Alakhov, V.; Klinski, E.; Li, S. M.; Pietrzynski, G.; Venne, A.; Batrakova, E.; Bronitch, T.; Kabanov, A., Block copolymer-based formulation of doxorubicin. From cell screen to clinical trials. *Colloids and Surfaces B-Biointerfaces* **1999**, 16, (1-4), 113-134.
65. Cao, Y. L.; Rodriguez, A.; Vacanti, M.; Ibarra, C.; Arevalo, C.; Vacanti, C. A., Comparative study of the use of poly(glycolic acid), calcium alginate and pluronics in the

- engineering of autologous porcine cartilage. *Journal of Biomaterials Science-Polymer Edition* **1998**, 9, (5), 475-487.
66. Batrakova, E.; Lee, S.; Li, S.; Venne, A.; Alakhov, V.; Kabanov, A., Fundamental relationships between the composition of Pluronic block copolymers and their hypersensitization effect in MDR cancer cells. *Pharmaceutical Research* **1999**, 16, (9), 1373-1379.
67. Venne, A.; Li, S.; Mandeville, R.; Kabanov, A.; Alakhov, V., Hypersensitizing Effect of Pluronic L61 on Cytotoxic Activity, Transport, and Subcellular Distribution of Doxorubicin in Multiple Drug-resistant Cells *Cancer Res* **1996**, 56, (16), 3626-3629.
68. Krishna, R.; Mayer, L. D., Multidrug resistance (MDR) in cancer - Mechanisms, reversal using modulators of MDR and the role of MDR modulators in influencing the pharmacokinetics of anticancer drugs. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **2000**, 11, (4), 265-283.
69. Batrakova, E. V.; Miller, D. W.; Li, S.; Alakhov, V. Y.; Kabanov, A. V.; Elmquist, W. F., Pluronic P85 enhances the delivery of digoxin to the brain: In vitro and in vivo studies. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **2001**, 296, (2), 551-557.
70. Batrakova, E. V.; Li, S.; Vinogradov, S. V.; Alakhov, V. Y.; Miller, D. W.; Kabanov, A. V., Mechanism of pluronic effect on P-glycoprotein efflux system in blood-brain barrier: Contributions of energy depletion and membrane fluidization. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **2001**, 299, (2), 483-493.
71. Batrakova, E. V.; Li, S.; Li, Y. L.; Alakhov, V. Y.; Kabanov, A. V., Effect of pluronic p85 on ATPase activity of drug efflux transporters. *Pharmaceutical Research* **2004**, 21, (12), 2226-2233.
72. Rapoport, N. Y.; Herron, J. N.; Pitt, W. G.; Pitina, L., Micellar delivery of doxorubicin and its paramagnetic analog, ruboxyl, to HL-60 cells: effect of micelle structure and ultrasound on the intracellular drug uptake. *Journal of Controlled Release* **1999**, 58, (2), 153-162.
73. Xiong, X. Y.; Tam, K. C.; Gan, L. H., Polymeric nanostructures for drug delivery applications based on pluronic copolymer systems. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* **2006**, 6, (9-10), 2638-2650.
74. Xiong, X. Y.; Li, Y. P.; Li, Z. L.; Zhou, C. L.; Tam, K. C.; Liu, Z. Y.; Xie, G. X., Vesicles from Pluronic/poly(lactic acid) block copolymers as new carriers for oral insulin delivery. *Journal of Controlled Release* **2007**, 120, (1-2), 11-17.
75. Oh, K. T.; Bronich, T. K.; Kabanov, A. V., Micellar formulations for drug delivery based on mixtures of hydrophobic and hydrophilic Pluronic((R)) block copolymers. *Journal of Controlled Release* **2004**, 94, (2-3), 411-422.
76. Lemieux, P.; Guerin, N.; Paradis, G.; Proulx, R.; Chistyakova, L.; Kabanov, A.; Alakhov, V., A combination of poloxamers increases gene expression of plasmid DNA in skeletal muscle. *Gene Therapy* **2000**, 7, (11), 986-991.
77. Bromberg, L.; Alakhov, V. Y.; Hatton, T. A., Self-assembling Pluronic (R)-modified polycations in gene delivery. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* **2006**, 11, (4), 217-223.
78. Yang, T. F.; Chen, C. N.; Chen, M. C.; Lai, C. H.; Liang, H. F.; Sung, H. W., Shell-crosslinked Pluronic L121 micelles as a drug delivery vehicle. *Biomaterials* **2007**, 28, (4), 725-734.
79. Bae, K. H.; Lee, Y.; Park, T. G., Oil-encapsulating PEO-PPO-PEO/PEG shell cross-linked nanocapsules for target-specific delivery of paclitaxel. *Biomacromolecules* **2007**, 8, (2), 650-656.
80. Lai, J.; Shafi, K. V. P. M.; Ulman, A.; Loos, K.; Lee, Y. J.; Vogt, T.; Lee, W. L.; Ong, N. P.; Estournes, C., Controlling the size of magnetic nanoparticles using pluronic block

- copolymer surfactants (vol 109B, pg 15, 2005). *Journal of Physical Chemistry B* **2005**, 109, (5), 2034-2034.
81. Yang, C. S.; Awschalom, D. D.; Stucky, G. D., Growth of CdS nanorods in nonionic amphiphilic triblock copolymer systems. *Chemistry of Materials* **2002**, 14, (3), 1277-1284.
 82. Bao, N. Z.; Shen, L. M.; Lu, X. H.; Yanagisawa, K.; Feng, X., Room-temperature syntheses of CdS nanocrystals templated by triblock copolymer in aqueous solution under air condition. *Chemical Physics Letters* **2003**, 377, (1-2), 119-124.
 83. Liu, S. H.; Qian, X. F.; Yin, J.; Lu, H. W.; Zhu, Z. K., Room temperature synthesis of PbS nanocrystals with different morphologies in PEO-PPO-PEO triblock copolymers. *Materials Science and Engineering B-Solid State Materials for Advanced Technology* **2003**, 100, (3), 314-317.
 84. Ma, Y. R.; Qi, L. M.; Ma, J. M.; Cheng, H. M.; Shen, W., Synthesis of submicrometer-sized CdS hollow spheres in aqueous solutions of a triblock copolymer. *Langmuir* **2003**, 19, (21), 9079-9085.
 85. Wang, F.; Xu, G. Y.; Zhang, Z. Q.; Xin, X., Morphology control of barium sulfate by PEO-PPO-PEO as crystal growth modifier. *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects* **2005**, 259, (1-3), 151-154.
 86. Chytil, S.; Glomm, W. R.; Vollebakk, E.; Bergem, H.; Walmsley, J.; Sjoblom, J.; Blekkan, E. A., Platinum nanoparticles encapsulated in mesoporous silica: Preparation, characterisation and catalytic activity in toluene hydrogenation. *Microporous and Mesoporous Materials* **2005**, 86, (1-3), 198-206.
 87. Niesz, K.; Grass, M.; Somorjai, G. A., Precise control of the Pt nanoparticle size by seeded growth using EO13PO30EO13 triblock copolymers as protective agents. *Nano Letters* **2005**, 5, (11), 2238-2240.
 88. Zhang, Z. Q.; Mu, J., Hydrothermal synthesis of ZnO nanobundles controlled by PEO-PPO-PEO block copolymers. *Journal of Colloid and Interface Science* **2007**, 307, (1), 79-82.
 89. Gonzales, M.; Krishnan, K. M., Phase transfer of highly monodisperse iron oxide nanocrystals with Pluronic F127 for biomedical applications. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* **2007**, 311, (1), 59-62.
 90. Sakai, T.; Alexandridis, P., Single-step synthesis and stabilization of metal nanoparticles in aqueous pluronic block copolymer solutions at ambient temperature. *Langmuir* **2004**, 20, (20), 8426-8430.
 91. Sakai, T.; Alexandridis, P., Size- and shape-controlled synthesis of colloidal gold through autoreduction of the auric cation by poly(ethylene oxide)-poly(propylene oxide) block copolymers in aqueous solutions at ambient conditions. *Nanotechnology* **2005**, 16, (7), S344-S353.
 92. Chen, S.; Guo, C.; Hu, G. H.; Wang, J.; Ma, J. H.; Liang, X. F.; Zheng, L.; Liu, H. Z., Effect of hydrophobicity inside PEO-PPO-PEO block copolymer micelles on the stabilization of gold nanoparticles: Experiments. *Langmuir* **2006**, 22, (23), 9704-9711.
 93. Chen, S.; Hu, G. H.; Guo, C.; Liu, H. Z., Experimental study and dissipative particle dynamics simulation of the formation and stabilization of gold nanoparticles in PEO-PPO-PEO block copolymer micelles. *Chemical Engineering Science* **2007**, 62, (18-20), 5251-5256.
 94. Chen, S.; Guo, C.; Hu, G. H.; Liu, H. Z.; Liang, X. F.; Wang, J.; Ma, J. H.; Zheng, L., Dissipative particle dynamics simulation of gold nanoparticles stabilization by PEO-PPO-PEO block copolymer micelles. *Colloid and Polymer Science* **2007**, 285, (14), 1543-1552.
 95. Bakshi, M. S.; Kaura, A.; Bhandari, P.; Kaur, G.; Torigoe, K.; Esumi, K., Synthesis of colloidal gold nanoparticles of different morphologies in the presence of triblock polymer micelles. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* **2006**, 6, (5), 1405-1410.
 96. J. Turkevich; Stevenson, P. C.; Hillier, J., A study of the nucleation and growth process in the synthesis of colloidal gold *Discuss. Faraday. Soc* **1951**, 11, 55-75.

97. Mirkin, C. A., Programming the assembly of two- and three-dimensional architectures with DNA and nanoscale inorganic building blocks. *Inorganic Chemistry* **2000**, 39, (11), 2258-2272.
98. Gonella, F.; Mazzoldi, P., *Metal Nanocluster Composite Glasses*, in *Handbook of Nanostructured Materials and Nanotechnology*. H S Nalwa ed.; Academic Press San Diego, 2000; Vol. 4, p 81.
99. Mulvaney, P., Surface Plasmon Spectroscopy of Nanosized Metal Particles. *Langmuir* **1996**, 12, (3), 788-800.
100. Eustis, S.; El-Sayed, M. A., Why gold nanoparticles are more precious than pretty gold: Noble metal surface plasmon resonance and its enhancement of the radiative and nonradiative properties of nanocrystals of different shapes. *Chemical Society Reviews* **2006**, 35, (3), 209-217.
101. Kelly, K. L.; Coronado, E.; Zhao, L. L.; Schatz, G. C., The optical properties of metal nanoparticles: The influence of size, shape, and dielectric environment. *Journal of Physical Chemistry B* **2003**, 107, (3), 668-677.
102. Hohenau, A.; Krenn, J. R.; Schider, G.; Ditlbacher, H.; Leitner, A.; Aussenegg, F. R.; Schaich, W. L., Optical near-field of multipolar plasmons of rod-shaped gold nanoparticles. *Europhysics Letters* **2005**, 69, (4), 538-543.
103. Alvarez, M. M.; Khoury, J. T.; Schaaff, T. G.; Shafiqullin, M. N.; Vezmar, I.; Whetten, R. L., Optical absorption spectra of nanocrystal gold molecules. *Journal of Physical Chemistry B* **1997**, 101, (19), 3706-3712.
104. Link, S.; El-Sayed, M. A., Size and temperature dependence of the plasmon absorption of colloidal gold nanoparticles. *Journal of Physical Chemistry B* **1999**, 103, (21), 4212-4217.
105. Link, S.; El-Sayed, M. A., Spectral properties and relaxation dynamics of surface plasmon electronic oscillations in gold and silver nanodots and nanorods. *Journal of Physical Chemistry B* **1999**, 103, (40), 8410-8426.
106. Sau, T. K.; Murphy, C. J., Room temperature, high-yield synthesis of multiple shapes of gold nanoparticles in aqueous solution. *Journal of the American Chemical Society* **2004**, 126, (28), 8648-8649.
107. Hao, E.; Bailey, R. C.; Schatz, G. C.; Hupp, J. T.; Li, S. Y., Synthesis and optical properties of "branched" gold nanocrystals. *Nano Letters* **2004**, 4, (2), 327-330.
108. Murphy, C. J.; Gole, A. M.; Hunyadi, S. E.; Orendorff, C. J., One-dimensional colloidal gold and silver nanostructures. *Inorganic Chemistry* **2006**, 45, (19), 7544-7554.
109. Murphy, C. J.; San, T. K.; Gole, A. M.; Orendorff, C. J.; Gao, J. X.; Gou, L.; Hunyadi, S. E.; Li, T., Anisotropic metal nanoparticles: Synthesis, assembly, and optical applications. *Journal of Physical Chemistry B* **2005**, 109, (29), 13857-13870.
110. Yu, Y. Y.; Chang, S. S.; Lee, C. L.; Wang, C. R. C., Gold nanorods: Electrochemical synthesis and optical properties. *Journal of Physical Chemistry B* **1997**, 101, (34), 6661-6664.
111. Goettmann, F.; Moores, A.; Boissiere, C.; Le Floch, P.; Sanchez, C., A selective chemical sensor based on the plasmonic response of phosphinine-stabilized gold nanoparticles hosted on periodically organized mesoporous silica thin layers. *Small* **2005**, 1, (6), 636-639.
112. Liz-Marzan, L. M.; Giersig, M.; Mulvaney, P., Synthesis of Nanosized Gold-Silica Core-Shell Particles. *Langmuir* **1996**, 12, (18), 4329-4335.
113. Rosi, N. L.; Mirkin, C. A., Nanostructures in biodiagnostics. *Chemical Reviews* **2005**, 105, (4), 1547-1562.
114. Maye, M. M.; Lim, I. I. S.; Luo, J.; Rab, Z.; Rabinovich, D.; Liu, T. B.; Zhong, C. J., Mediator-template assembly of nanoparticles. *Journal of the American Chemical Society* **2005**, 127, (5), 1519-1529.

115. S. Underwood; P. Mulvaney, Effect of the Solution Refractive Index on the Color of Gold Colloids. *Langmuir* **1994**, 10, (10), 3427-3430.
116. Ung, T.; Liz-Marzan, L. M.; Mulvaney, P., Optical properties of thin films of Au@SiO₂ particles. *Journal of Physical Chemistry B* **2001**, 105, (17), 3441-3452.
117. Grabar, K. C.; Freeman, R. G.; Hommer, M. B.; Natan, M. J., Preparation and Characterization of Au Colloid Monolayers. *Anal. Chem.* **1995**, 67, (4), 735 -743.
118. J.Turkevich; G.Garton; P.C.Stevenson, THE COLOR OF THE COLLOIDAL GOLD. *Journal of colloid Science* **1954**, 1, 26-35.

Chapitre III

Caractérisation des systèmes polymères/nanoparticules d'or

Table des matières de chapitre III

I.	Introduction.....	142
II.	Lyophilisation et redispersion des solutions colloïdale AuNPs/Polymère	142
II-1.	Lyophilisation.....	142
II-2.	Redispersion des lyophilisats	144
III.	Filtration des hybrides Pluronic/AuNPs sur Nylon.....	150
IV.	Potentiel zêta des particules avec et sans polymère	153
V.	Diffusion dynamique de la lumière (DDL)	154
V-1.	Diffusion de la lumière avec des triblocs	155
V-2.	Diffusion de la lumière avec des diblocs	160
VI.	Diffusion des neutrons aux petits angles.	162
VII.	Observation des échantillons par MET.....	164
VII-1.	Systèmes AuNPs/Pluronic.....	165
VII-1.1.	MET après coloration négative	165
VII-1.2.	Cryo-MET sur AuNPs/Pluronic	168
VII-2.	Systèmes AuNPs/EOxPOy.....	170
VIII.	Conclusion.....	171
IX.	Bibliographie.....	172

I. Introduction.

Les travaux sur la stabilisation des nanoparticules d'or développés dans le chapitre 2 ont montré que les copolymères $EO_xPO_yEO_x$ et EO_xPO_y , peuvent efficacement stabiliser les nanoparticules dans l'eau même à haute force ionique. Dans ce chapitre nous montrons qu'en présence des polymères, il devient possible de lyophiliser et de filtrer les particules, ce qui n'est pas possible en l'absence de polymère. Ces expériences suggèrent que la surface des particules est modifiée par les copolymères.

Nous avons donc essayé de mieux comprendre l'origine de la stabilisation par les copolymères à blocs. Pour cela, les hybrides de nanoparticules d'or et de polymères sont caractérisés par différentes techniques : potentiel zêta, diffusion dynamique de la lumière, diffusion de neutron aux petits angles avec variation de contraste, la microscopie électronique à transmission (MET) et la cryo-MET.

On a démontré suite à ces études que, dans des conditions où les micelles ne se forment pas ($T < CMT$ ou $C < CMC$), les copolymères s'auto-assemblent sur les AuNps. Ces résultats expliquent la forte stabilité colloïdale des AuNps dans les solutions de Pluronic® à des concentrations inférieures à la CMC.

II. Lyophilisation et redispersion des solutions colloïdale AuNPs/Polymère

II-1. Lyophilisation

Des tentatives de lyophilisation des nanoparticules or-citrate sans polymère ont été effectuées, mais pendant l'étape de congélation, les nanoparticules s'agrègent. La glace résultante prend un aspect bleu-noir, et on obtient finalement un lyophilisat noir d'aspect très proche de celui obtenu après précipitation des agrégats de nanoparticules. Cependant, en présence d'une quantité suffisante de copolymères à blocs, la lyophilisation est rendue possible sans aucune agrégation visible des nanoparticules en solution durant l'étape de congélation. Dans ce paragraphe on montre les différents résultats des expériences de lyophilisation effectuées.

Cas des nanoparticules or-citrate, dibloc/AuNPs et de PEO /AuNPs: La Figure III. 1 montre les photos des solutions de nanoparticules d'or avec les polymères EO₂₇₂PO₂₉, EO₁₁₃PO₁₉, EO₁₉₀ et les nanoparticules or-citrate sans polymère avant et après lyophilisation. Les concentrations en polymère (0,04 mmol.L⁻¹) et en nanoparticules (3,4 nmol.L⁻¹) sont les mêmes pour tous les échantillons. La photo à gauche montre qu'avant lyophilisation, les solutions ont la même couleur rouge de départ. Pendant l'étape de congélation un changement de couleur du rouge au bleu est observé avec les systèmes EO₁₁₃PO₁₉/AuNPs, EO₁₉₀/AuNPs et sans polymère. La glace résultante dans ce cas est de couleur bleue, tandis qu'avec EO₂₇₂PO₂₉/AuNPs aucun changement de couleur n'est observé (glace de couleur rouge).

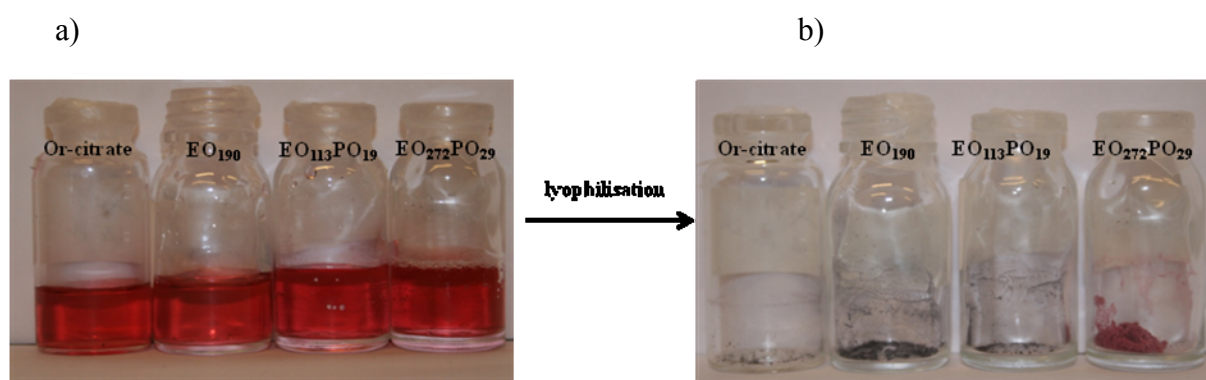


Figure III. 1 : Solution colloïdale de nanoparticules d'or stabilisées avec EO₂₇₂PO₂₉, EO₁₁₃PO₁₉, EO₁₉₀, et sans polymère, avant (a) et après lyophilisation (b). Concentrations : [Polymère] = 0,04 mmol.L⁻¹ et [AuNPs] = 3,4 nmol.L⁻¹

Les lyophilisats obtenus après un cycle de lyophilisation dans la Figure III. 1b, sont rouges avec le système EO₂₇₂PO₂₉/AuNPs, et noirs avec les autres systèmes. Donc le plus grand dibloc permet de lyophiliser les nanoparticules dans ces conditions expérimentales, sans changement de l'état d'agrégation.

Cas des Pluronic/AuNPs: La lyophilisation est de même effectuée avec les systèmes Pluronic/AuNPs. De même, il a été possible d'obtenir un lyophilisat de couleur rouge similaire à la solution colloïdale de départ. Ainsi, par exemple la photo de la Figure III. 2 montre les lyophilisats de Pluronic/AuNPs obtenus avec le F68 (1,2 mM) et le F88 (0,342 mM). Ces concentrations ont été choisies d'une manière que les nanoparticules soient stable.



Figure III. 2 : Photos de lyophilisats obtenues après un cycle de lyophilisation, F68/AuNPs (flacon gauche) et F108/AuNPs (flacon droit). Concentration : $[F68] = 1,2 \text{ mmol.L}^{-1}$ et $[AuNPs] = 3,4 \text{ nmol.L}^{-1}$; $[F108] = 0,342 \text{ mM}$ et $[AuNPs] = 8,5 \text{ nmol.L}^{-1}$.

La photo montre clairement que les lyophilisats sont de couleur rouge. La couleur est plus claire dans l'échantillon de gauche qui contient moins de particules.

En conclusion, à l'inverse du cas des nanoparticules or-citrate nues, les nanoparticules stabilisées par des copolymères à blocs peuvent dans certaines conditions résister aux étapes de lyophilisation sans changement de l'état de dispersion. Le lyophilisat résultant contient des nanoparticules à l'état non agrégé (couleur rouge). Enfin, la solution colloïdale peut être convertie et stockée sous forme de poudre.

II-2. Redispersion des lyophilisats

Des tentatives de redispersion des lyophilisats obtenus suite à un cycle de lyophilisation ont été effectuées.

Cas de dibloc/AuNPs, EO190/AuNPs et or-citrate. La Figure III. 3a montre les lyophilisats, et les solutions colloïdales résultantes obtenues après ajout de même volume d'eau initiale.

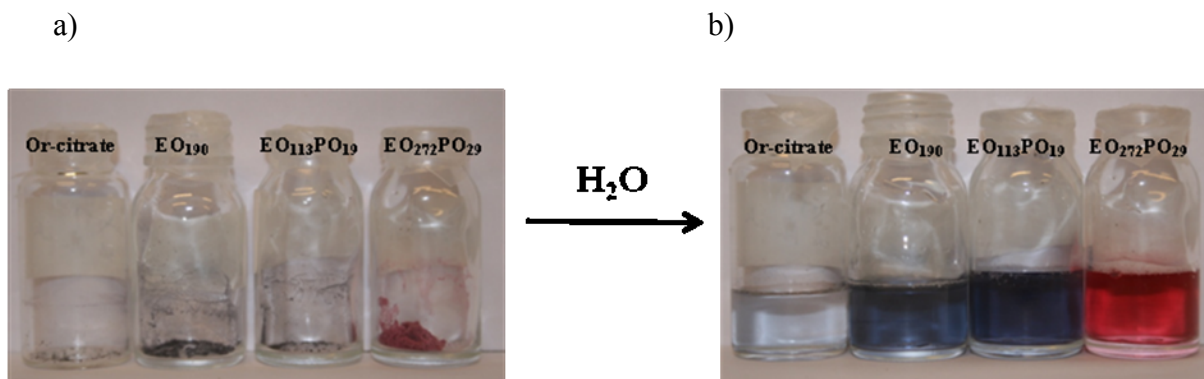


Figure III. 3 : Lyophilisats de nanoparticules d'or stabilisé avec $EO_{272}PO_{29}$, $EO_{113}PO_{19}$, EO_{190} , et sans polymère avant (a) et 5 minutes après redispersion dans l'eau (b).

La photo b montre que le lyophilisat des nanoparticules or-citrate sans polymère est non redispersable. Au contraire, la redispersion devient possible en présence de polymère, mais la couleur des solutions colloïdales obtenues n'est pas la même, indiquant des états d'agrégation différents. Le lyophilisat $EO_{272}PO_{29}/AuNPs$, donne une solution colloïdale de couleur rouge identique à la couleur initiale avant lyophilisation (bien dispersée), tandis que les lyophilisats $EO_{113}PO_{19}/AuNPs$ et $EO_{190}/AuNPs$ donnent des solutions de couleur bleues, ce qui est expliqué par l'agrégation des nanoparticules en solution.

Les spectres d'absorption UV-visible de ces solutions colloïdales 5 minutes (a) et 6 mois (b) après la redispersion sont présentés dans la Figure III. 4. Sans polymère très peu d'agrégats ont été redispersables ($A \sim 0,1$) (Figure III. 4a (4)). Au contraire, dans le cas de $EO_{272}PO_{29}$ (1) le spectre d'absorption montre une seule bande centrée à 520 nm, identique à celle des nanoparticules dispersées avant lyophilisation (0). Ce spectre est maintenu sans aucun changement pendant plus de 6 mois, les nanoparticules restent bien dispersées en solution (Figure III. 4b b). Cependant, dans le cas de $EO_{113}PO_{19}$ (2) et EO_{190} (3) le spectre montre une bande d'absorption très large, qui est due à l'addition d'une deuxième bande vers 650 nm correspondant aux nanoparticules agrégées (Figure III. 4a (4)). Dans ce cas les nanoparticules sont redispersées sous forme agrégées. Cette nouvelle bande est plus nettement observée à 665 nm dans le cas de EO_{190} (3). L'intensité s'affaïsse dans le temps dans ces deux derniers cas (2 et 3) en raison de la décantation des agrégats de nanoparticules (Figure III. 4 b 2 et 3).

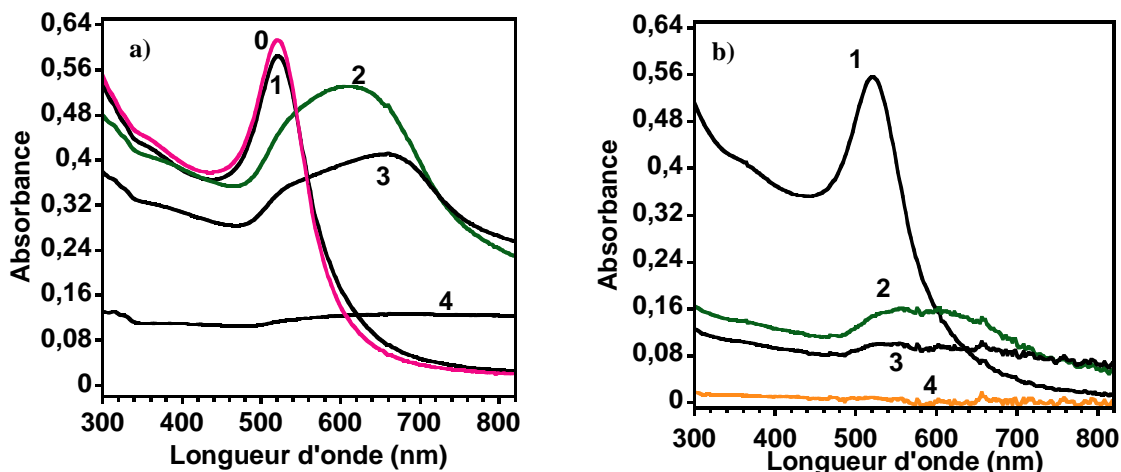


Figure III. 4 : Spectres d'absorption des redispersions des lyophilisats de nanoparticules d'or stabilisées avec $EO_{272}PO_{29}$ (1), $EO_{113}PO_{19}$ (2), EO_{190} (3), et citrate (4), après 10 minutes (a) et 6 mois (b). (0) correspond au spectre AuNPs/ $EO_{272}PO_{29}$ avant lyophilisation. Concentrations : $[Polymère] = 0,04 \text{ mmol.L}^{-1}$, $[AuNPs] = 3,4 \text{ nmol.L}^{-1}$.

Cas des Pluronic/AuNPs. Les lyophilisats obtenus à partir des solutions colloïdales de Pluronic/AuNPs ont été facilement redispersibles. Ainsi, la Figure III. 5 montre les photos de différents échantillons de Pluronic/AuNPs et un témoin de nanoparticules or-citrate avant lyophilisation (a) et après redispersion des lyophilisats (b).

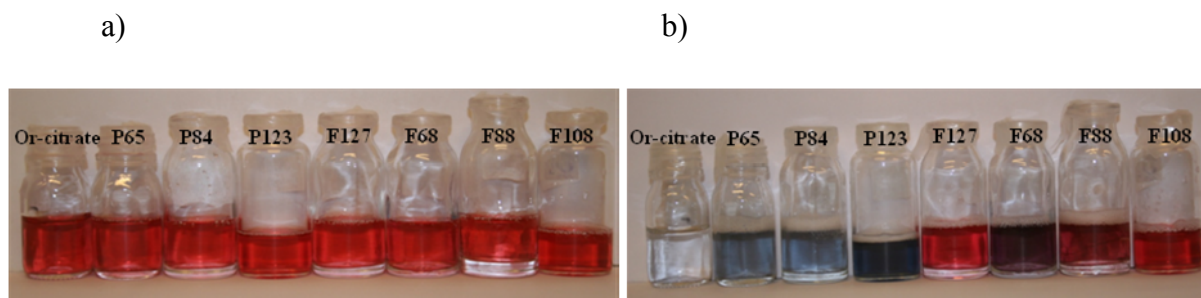


Figure III. 5 : Solutions colloïdales de Pluronic/AuNPs (F108, F88, F68, F127, P123, P84 et P65) et des nanoparticules d'or-citrate avant lyophilisation (a) et après redispersion (b). Concentrations : $[Pluronic] = 0,04 \text{ mmol.L}^{-1}$ et $[AuNPs] = 3,4 \text{ nmol.L}^{-1}$.

La photo a, montre qu'au départ tous les échantillons ont la même couleur rouge, correspondant aux particules bien dispersées en solution. La photo (b) montre le résultat 10 minutes après redispersion dans le même volume d'eau qu'au départ. Les systèmes Pluronic/AuNPs sont redispersibles avec plus ou moins de différence dans la couleur de la solution finale, dépendamment de l'architecture moléculaire des polymères (voir tableau 1).

Les résultats de la redispersion dans ce cas vont être discutés en fonction de l'architecture moléculaire des Pluronic. Ainsi, les résultats sont présentés en fonction de l'appartenance de polymère aux différentes séries étudiées dans le chapitre 2. La Figure III. 6 montre le graphe de tous les Pluronic et les différentes séries utilisées pour la comparaison de l'architecture moléculaire. Par exemple, les Pluronic F108, F88 et F68 appartiennent à la série M1 étudié dans le chapitre 2, tous les trois ayant 80% d'unités EO par rapport au nombre totale d'unités (EO+PO) avec $F108 > F88 > F68$.

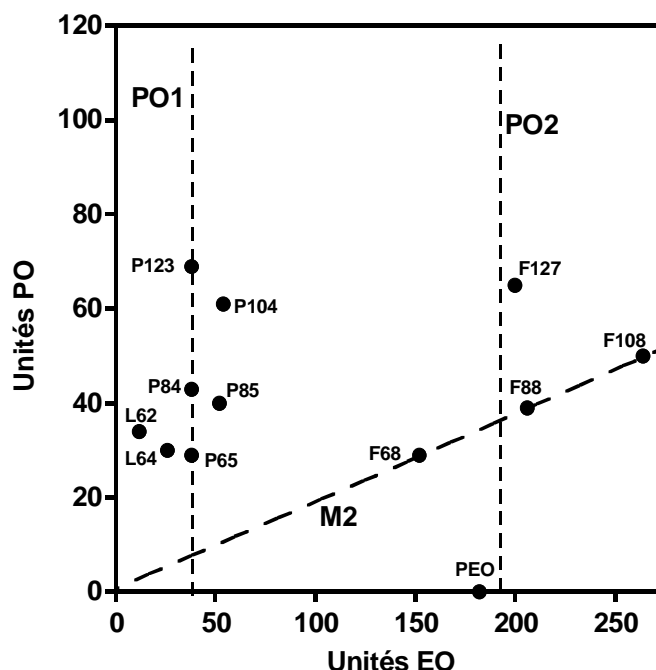


Figure III. 6 : Graphe montrant le nombre d'unités PO en fonction de nombre d'unités EO totales ($2x$) de tous les Pluronic $EO_xPO_yEO_x$ utilisées dans ce travail (\bullet), les différentes séries de comparaison sont indiquées par des lignes reliant les polymères de chaque série par exemple (PO1 contient le P123, P84 et P65 et M2 contient le F108, F88, et F68).

Les spectres d'absorption avant lyophilisation, et après redispersion ont été enregistrés et représentés dans la Figure III. 7 en respectant l'appartenance des Pluronic aux différentes séries.

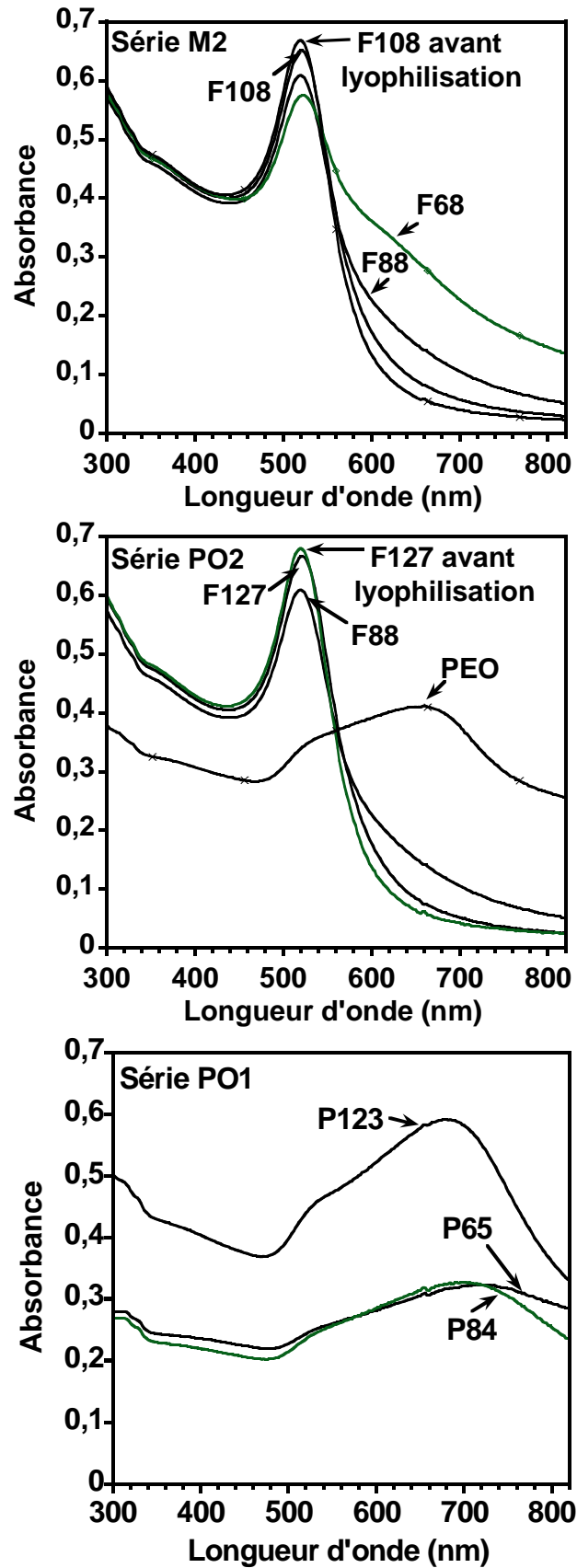


Figure III. 7 : Spectre d'absorption des échantillons de Pluronic/AuNPs et PEO/AuNPs lyophilisés puis redispersés. $[Polymère] = 0,04 \text{ mM}$ et $[AuNPs] = 3,4 \text{ nmol.L}^{-1}$

Pour la série M2 (F108, F88 et F68) on observe que les nanoparticules présentent une seule bande d'absorption. Avec le F108 le spectre est identique à celui des nanoparticules dispersées avant lyophilisation. On observe un léger épaulement avec le F88 et un épaulement plus poussé (à ~ 620 nm) avec F68, dus à une légère agrégation des nanoparticules.

Les Pluronic P123, P84 et P65 appartiennent à la série PO1 et F127, F88 et PEO à la série PO2. Comme dans le chapitre précédent, la chaîne hydrophobe paraît avoir un effet important. Ainsi, le F127 qui a la chaîne hydrophobe la plus longue de la série PO1 se redispense parfaitement (voir photo et spectre qui montre seule bande est observée à 520 nm), avec le F88 une légère partie de nanoparticule est redispersée sous forme agrégée (solution violette et léger épaulement). Dans le cas de l'homopolymère EO₁₉₀ la redispersion se fait en grande partie sous forme d'agrégats comme en témoignent le spectre et la couleur de la solution (deuxième bande vers 650 nm). Pour la série PO1 les nanoparticules sont dans tous les cas redispersées sous forme agrégées. Mais, le P123 ayant la chaîne hydrophobe la plus longue paraît avoir donné une solution de bleu foncé, l'intensité d'absorption est de même plus grande indiquant que plus des agrégats sont redispersés. Cependant, le P84 et le P65 donne des solutions bleu plus claire, avec une intensité d'absorption plus ou moins la même. La deuxième bande est localisée à ~ 682 nm pour P123 ayant la chaîne hydrophobe la plus longue et à 708 nm et 730 nm pour P84 et P65 respectivement, indiquant que l'agrégation est plus importante quand la chaîne hydrophobe diminue.

Enfin, ces deux séries montrent de même que la chaîne hydrophile joue un rôle sur la redispersion des nanoparticules. Ainsi, les polymères de la série PO2 ayant la chaîne hydrophile la plus longue (~ 100 unités EO) montrent que les nanoparticules peuvent être mieux redispersées (sous forme non agrégée cas de F127). Tandis que deux bandes sont toujours observées avec tous les polymères de la série PO1 ayant les chaînes hydrophiles les plus courtes (19 unités EO). Si par exemple, on compare F127 et P123 ayant tous les deux la même longueur de chaîne hydrophobe (65 ± 4), on remarque qu'avec le F127 ayant la chaîne hydrophile la plus longue, la redispersion est meilleure (non agrégée) que celle de P123, comme en témoignent les spectres et les couleurs des solutions.

On peut donc conclure que les lyophilisats de nanoparticules stabilisées par des copolymères sont toujours redispersables. Des effets similaires à ceux observés dans les expériences de stabilisation selon l'architecture moléculaire du polymère sont aussi obtenus après redispersion. On note que la concentration en polymère a aussi un effet sur la lyophilisation.

Par exemple, avec le F68 à 1,2 mM en polymère les nanoparticules peuvent être régénérées sans aucune agrégation, cela est présenté dans le paragraphe II.1.

III. Filtration des hybrides Pluronic/AuNPs sur Nylon.

On a essayé de filtrer des nanoparticules or-citrate sur un filtre hydrophile en nylon. Ce qu'on a observé, c'est que les nanoparticules or-citrate s'adsorbent sur le filtre, bien que la taille pores soit de 0,45 μm . On récupère un filtrat limpide qui ne contient pas de nanoparticules (Figure III. 8a). Ceci est confirmé par UV-visible, où les spectres d'absorption des solutions colloïdales, avant et après filtration sont représenté sur le même graphe dans la Figure III. 8b

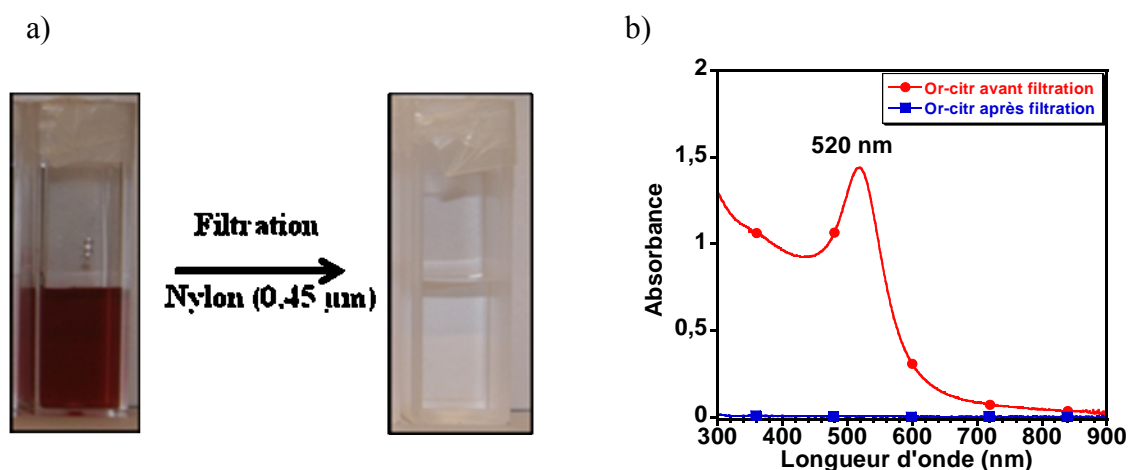


Figure III. 8 (a) Photos montrant une solution colloïdale de nanoparticules or-citrate avant et après filtration sur Nylon (0,45 μm). (b) Spectres d'absorption de la solution or-citrate avant et après filtration.

Cependant, la question qui nous intéresse c'est : est-ce-qu'une solution de nanoparticules or-citrate stabilisée par des copolymères peut passer à travers un filtre hydrophile. Pour cela, deux Pluronic, le F127 et le P123 ont été sélectionnés. La Figure III. 9 montre des échantillons de P123/AuNps avant (photo de gauche) et après filtration (photo de droite) sur filtre nylon (0,45 μm) pour des concentrations de 0 à 1,5 mM.

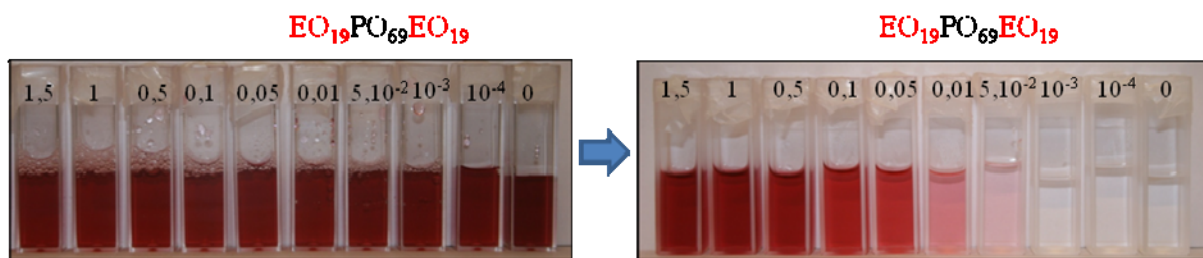


Figure III. 9 : Photos des échantillons de P123/AuNPs avant et après filtration sur Nylon (0,45 µm) Concentrations : [P123] = 1,5 mmol.L⁻¹ à 0 mmol.L⁻¹ ; [AuNPs] = 8,5 nmol.L⁻¹.

La photo montre que pour les nanoparticules or-citrate, et pour les faibles concentrations en polymère (0,001 mM) les nanoparticules ne traversent pas le filtre. Cependant, pour 0,01 mM et au-delà, les nanoparticules commencent à passer à travers le filtre. L'intensité de couleur augmente quand la concentration en polymère augmente (à 0,5 mM ~ même intensité de couleur qu'avant filtration), indiquant que plus la quantité en polymère augmente moins les nanoparticules sont adsorbées. Cette expérience a été de même effectuée dans le cas de F127/AuNPs (avec [F127] = 2,96 mM à 0 mM). Les spectres d'absorptions ont été enregistrés pour les filtrats. Quelques spectres sont représentés dans les graphes de la Figure III. 10 En plus, un spectre pour la concentration la plus élevée avant filtration est représenté dans les deux cas.

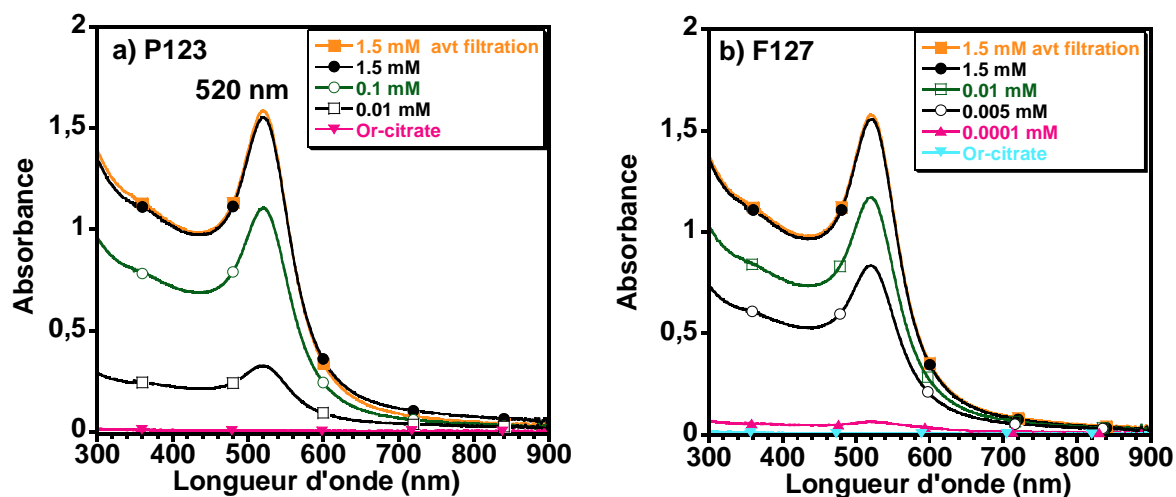


Figure III. 10 : Spectre d'absorption des filtrats de P123/AuNPs (a) et F127/AuNPs (b). Concentration : [P123] = 1,5 mM à 0 mM, [F127] = 2,976 à 0 mmol.L⁻¹ et [AuNPs] = 8,51 nmol.L⁻¹.

Dans les deux cas, les spectres montrent que l'absorbance de la bande à 520 nm augmente avec la concentration en polymère. Cependant, l'absorbance augmente plus rapidement dans le cas de F127 (Figure III. 10b). En effet, à 0,01 mM en polymère l'absorbance dans le cas de F127 est supérieure à 1 tandis qu'avec P123 l'absorbance est d'environ 0,3. Ceci indique qu'on a besoin de moins de polymère pour faire passer les nanoparticules. Les spectres d'absorption de P123/AuNPs et F127/AuNps à 1,5 mM avant filtration sont donnés dans les deux graphes. A cette concentration, dans les deux cas, les spectres avant et après filtration se superposent, indiquant ainsi qu'environ 100% des nanoparticules ont traversé le filtre. Le graphe de la Figure III. 11 montre le pourcentage de nanoparticules qui sont passées à travers le filtre en fonction des concentrations en polymère. Ce graphe montre clairement que 100% de nanoparticules peuvent traverser le filtre quand il y a suffisamment de polymère. Avec le F127, moins de polymère est nécessaires pour faire passer la totalité des AuNPs. Ceci est en bonne corrélation avec les expériences de stabilité et de lyophilisation qui ont montré que le F127 est un meilleur agent stabilisant que le P123.

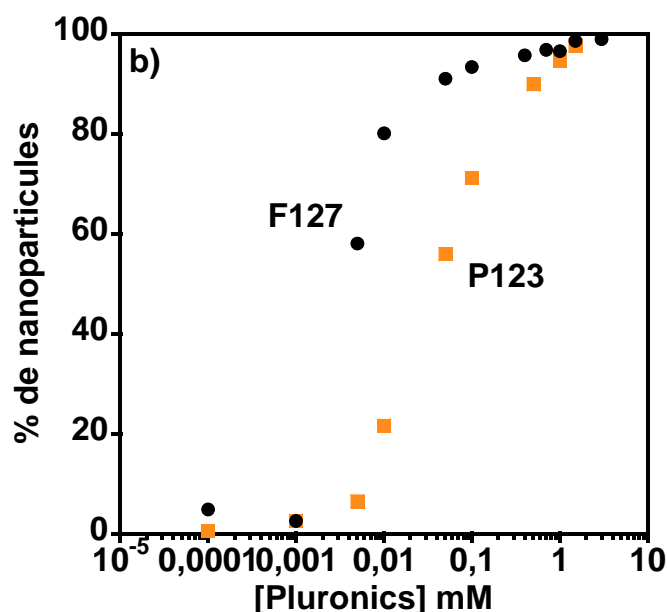


Figure III. 11 : Pourcentage de nanoparticules qui ont traversé le filtre en présence de Pluronic, représenté en fonction de la concentration en F127(●) et P123(■).

On peut donc conclure, que l'adsorption des polymères à la surface des AuNPs modifie l'état de surface de ces dernières, et les rends moins hydrophiles.

IV. Potentiel zêta des particules avec et sans polymère

D'après le modèle de Stern, une particule chargée en solution s'entoure d'un nuage ionique, Il existe une double couche électrique autour de chaque particule (Figure III. 12). Le potentiel zêta (ξ) est la valeur du potentiel électrique au plan de cisaillement de la nanoparticule (le principe de la technique est expliqué en détail dans la partie expérimentale). On note que le potentiel zêta est indépendant de la taille des particules.

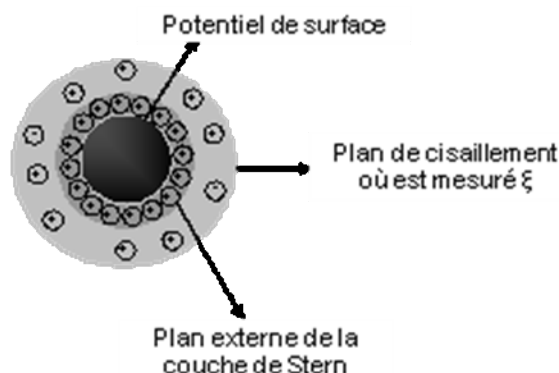


Figure III. 12 Représentation d'une particule chargée en solution selon le modèle de Stern, et montrant le lieu de la mesure du potentiel zêta.

Le potentiel zêta des nanoparticules or-citrate a été mesuré en solution, en absence et en présence de Pluronic F127 et P123. Pour les nanoparticules or-citrate une valeur de potentiel zêta de l'ordre de -40 mV a été obtenue. La Figure III. 13 montre les résultats obtenus en présence de F127 (a) et P123 (b) à différentes concentrations en polymère. Dans les deux cas on remarque que le potentiel zêta se rapproche de zéro, quand la concentration en polymère augmente. Cette diminution de potentiel zêta en valeur absolue peut être expliquée de deux manières : soit les Pluronic désorbent totalement le citrate de la surface de nanoparticules, ou bien il y a couverture des nanoparticules or-citrate par une couronne de polymère neutre d'épaisseur croissante qui accroît le rayon hydrodynamique. Une désorption totale du citrate est peu probable, car dans la plupart des cas sauf aux plus fortes concentrations en F127, le sel provoque l'agrégation. La valeur du potentiel zêta est similaire aux faibles concentrations pour les deux polymères autour de -20 mV, mais avec le P123, on arrive à la saturation du potentiel proche de zéro pour des grandes concentrations. Ce plateau étant atteint pour des

concentrations proche de la CMC, ceci peut être du à la présence de micelles de polymère qui interfèrent avec la mesure.

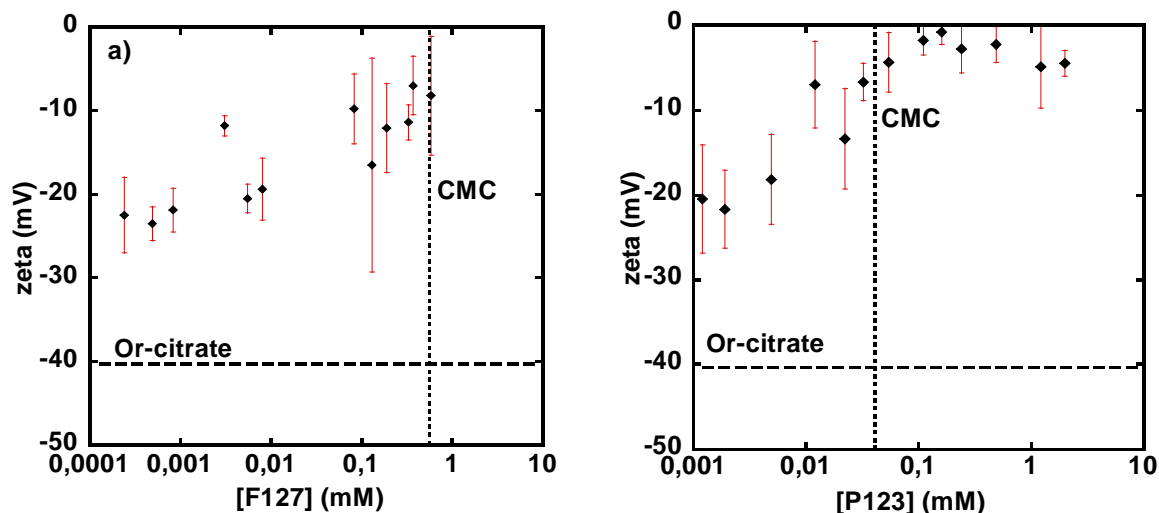


Figure III. 13 : *Potentiel zêta à la surface des nanoparticules d'or en fonction de la concentration en Pluronic. (a) F127 et (b) P123. Les lignes horizontales représentent la valeur du potentiel zêta des nanoparticules or-citrate. Les lignes verticales représentent les CMC (0,55 mM pour F127 et 0,04 mM pour P123).*

V. Diffusion dynamique de la lumière (DDL)

L'adsorption de Pluronic® sur différentes surfaces solides hydrophiles est très faible aux faibles concentrations et augmente de manière significative à l'approche de CMC.¹⁻³ Toutefois, nos résultats précédents sur la stabilisation colloïdale de AuNps ont suggéré qu'il existe une interaction avec les polymères même à des concentrations inférieures à la CMC.

Afin de sonder la formation des agrégats de polymère sur les particules, en présence et en absence de micelles, des expériences de diffusion de la lumière ont été réalisées à différentes températures au-dessus et au-dessous de la CMT. Pour chaque polymère, la taille des agrégats est mesurée en fonction de la température dans la gamme 20-70 °C. Les concentrations ont été choisies afin d'avoir la CMT dans cette gamme de températures, lorsque cela est possible.

V-1. Diffusion de la lumière avec des triblocs

Le principe de la DDL est expliqué en détail dans la partie expérimentale. Cinq Plurionics® (F127, F68, F88, F108, P84) avec différentes masses moléculaires et balances hydrophile/hydrophobe ont fait l'objet de cette étude.

On va d'abord examiner le cas de F127. Dans la Figure III. 14 une comparaison de l'intensité de la lumière diffusée par les suspensions de AuNPs, F127 et AuNPs/F127 est représentée dans la gamme de température étudiée. Dans la courbe représentant le copolymère seul, l'intensité diffusée par le polymère tout seul au dessous de la CMT est trop faible pour être mesurée. La CMT,⁴ est représentée ($\pm 2,5$ °C) par une ligne verticale pointillée. L'intensité diffusée par l'échantillon contenant les mélanges AuNPs et F127 est significativement plus élevée (environ + 120 kCps) que dans le cas des AuNPs seulement. En particulier, au dessous de la CMT, on pourrait s'attendre à mesurer la même intensité dans le système AuNPs/F127 que pour les AuNPs seules. Ces résultats suggèrent la formation d'objets de grande dimension par l'association de F127 avec des AuNPs, même en dessous de la CMT.

Les fonctions d'auto-corrélation dans le temps ont été analysées pour en extraire le diamètre hydrodynamique des objets présents dans la solution. La Figure III. 14 b montre la taille des agrégats mesurés (i) dans le mélange F127/AuNPs, (ii) dans la dispersion de copolymères seulement à la même concentration, et (iii) des AuNPs seulement. Dans le cas de solutions de F127, des dimensions significatives ont été mesurées seulement lorsque des micelles ont été formées (c'est-à-dire au-dessus de la CMT). Le diamètre de ces micelles paraît augmenter légèrement, passant de 20 à 23 nm entre la CMT et 60 °C. Des tailles similaires ont été rapportées précédemment pour des micelles F127.^{5,6}

Dans le mélange AuNPs/F127, à 20 °C, des agrégats ont été trouvés avec un diamètre hydrodynamique d'environ 32 nm, ce qui est presque 3 fois plus grand que le diamètre des AuNPs. Quand la température augmente, la taille des objets augmente également, jusqu'à un maximum ($d = 50$ nm) à $T = 30$ °C, puis la taille diminue et un "plateau" est atteint à environ 45 °C, correspondant à un diamètre 5-10 nm plus grand que les micelles de F127.

En conséquence, des objets qui sont nettement plus grands que les micelles de F127 sont observés au-dessous de la CMC quand les AuNPs sont présentes. La taille plus petite observée

au-dessus de la CMC, pourrait correspondre à une déshydratation de ces objets. Une désorption totale du polymère de la nanoparticule semble peu probable, étant donné que le F127 fournit de même une bonne stabilisation également au-dessus de la CMT. Toutefois, on ne peut pas non plus exclure que le signal de DDL devienne dominé par la dispersion des nombreuses micelles formées au dessus de la CMT.

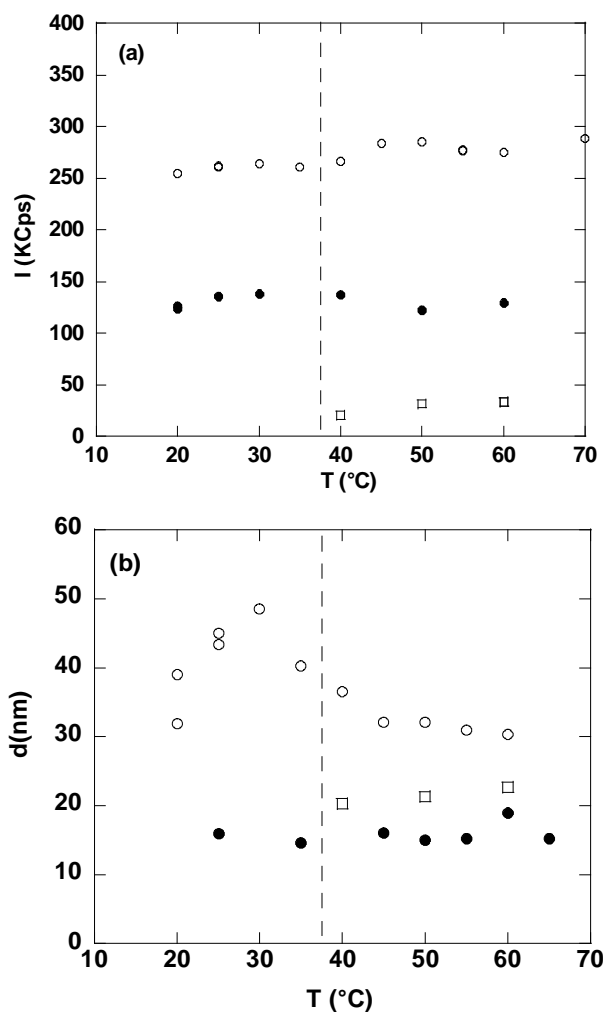


Figure III. 14 : Intensité diffusée (a) et diamètre hydrodynamique (b) mesuré par DDL dans la solution de F127 et les dispersions de AuNp et AuNp/F127 à différentes températures : AuNps (●), F127 (□), (○) AuNp/F127. Les lignes en pointillés indiquent la position de la CMT ($\pm 2,5$ nm). $[F127] = 0,07 \text{ mmol.L}^{-1}$; $[AuNPs] = 3,4 \text{ nmol.L}^{-1}$.

Afin de déterminer si les résultats précédents sont spécifiques à F127 ou peuvent être généralisés à d'autres Pluronic®, des expériences de DDL ont également été réalisées avec 4 autres Pluronic®: F68, F88, F108 et P84. Les Pluronic® F68, F88 et F108 ont tous la même proportion d'unités PO dans leur structure moléculaire ($nEO/nPO \sim 5,2$ et appartient à la

série M2 voir Figure III. 6). Comme le F127, ils contiennent plus d'unités hydrophiles qu'hydrophobes. En revanche, le P84 contient une proportion plus élevée d'unités hydrophobes PO. Les intensités diffusées, ainsi que le diamètre hydrodynamique déterminé par DDL ont montré un comportement très similaire pour F68, F88 et F108. Ces trois copolymères présentent une CMT dans la gamme de températures étudiées. La mesure du diamètre des micelles (à 60 ° C) a donné $d = 8$ nm, $d = 14,2$ nm et $d = 19$ nm pour F68, F88 et F108 respectivement, des valeurs qui se comparent avec les résultats précédents de la littérature.⁴ À des températures inférieures à la CMT, l'intensité diffusée en présence des AuNps n'était que légèrement plus élevée (de 20 à 50 kCps) que dans le cas des AuNps seulement Figure III. 15a. Toutefois, la mesure des diamètres hydrodynamiques des objets dans les dispersions mixtes a révélé la présence d'agrégats d'environ $d \sim 40-50$ nm. Encore une fois, à des températures plus élevées, il est difficile d'analyser les mesures DLS car elles pourraient être dominées par les micelles.

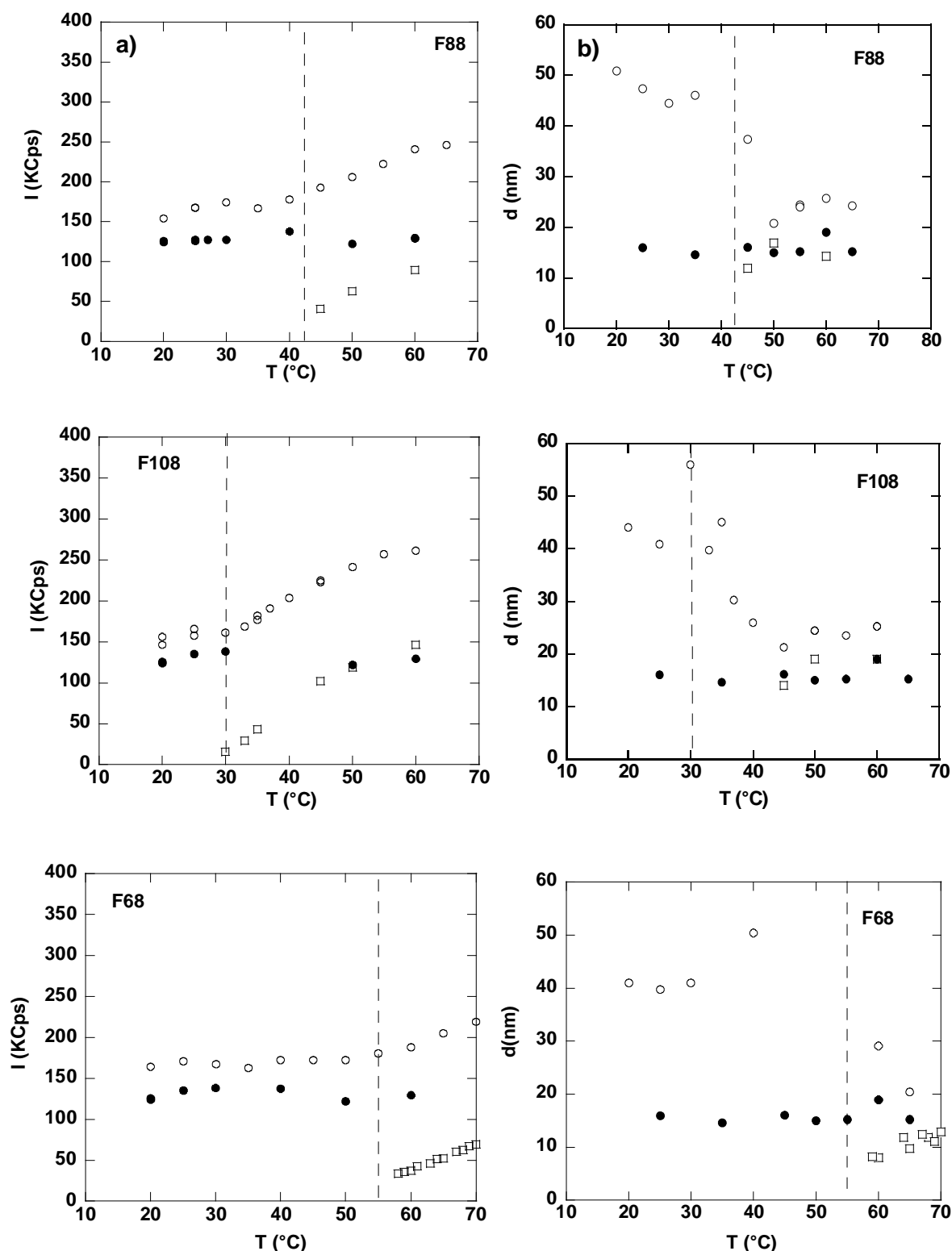


Figure III. 15 : a) Intensités diffusées et diamètres hydrodynamiques pour les solutions de Pluronic (F88, F68 et F108) (\square) et les dispersions de AuNPs (\bullet) et AuNp/Pluronic® (\circ) obtenue avec ces trois copolymères en fonction de la température. Les lignes en pointillés indiquent la position de la CMT. Concentrations: $[F88] = 0,9 \text{ mmol.L}^{-1}$, $[F68] = 2,5 \text{ mmol.L}^{-1}$; $[F108] = 0,75 \text{ mmol.L}^{-1}$; $[AuNPs] = 3,4 \text{ nmol.L}^{-1}$

Le P84, a été étudié uniquement au-dessous la CMT. L'intensité diffusée est plus importante en présence du polymère (similaire au cas de F127), ce qui correspond à la présence d'agrégats de diamètre augmentant de plus en plus avec la température entre 20 et 40nm.

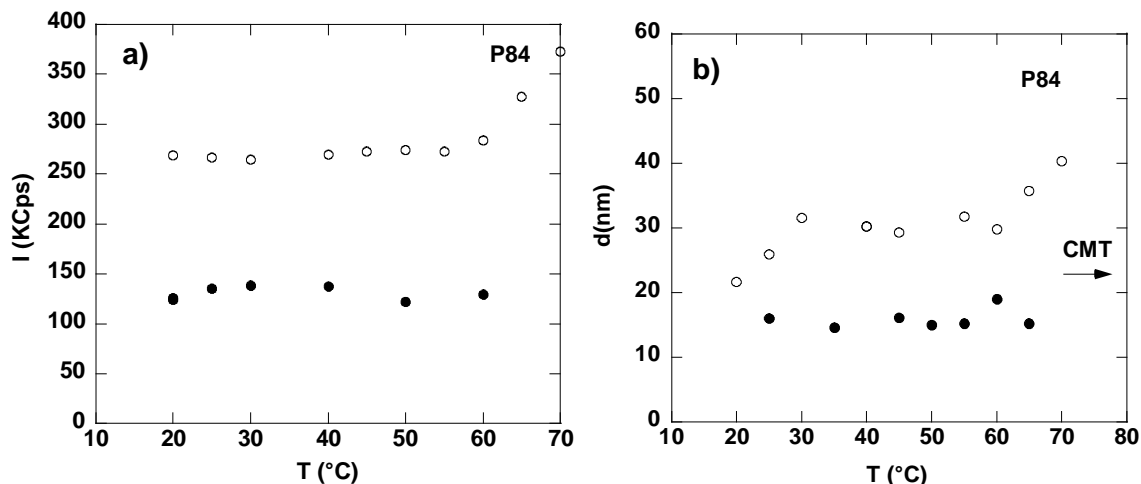


Figure III. 16 : Intensités diffusées (a) et diamètres hydrodynamiques (b) par les solutions de Pluronic® P84 et les dispersions de AuNp et AuNp/P84 en fonction de la température : (●) AuNps, (○) AuNp/P84. Concentrations : $[P84] = 0,1 \text{ mmol.L}^{-1}$; $[AuNPs] = 3,4 \text{ nmol.L}^{-1}$.

Les résultats avec tous les polymères montrent toujours pour le mélange Pluronic/AuNPs des tailles supérieures aux tailles des particules, ainsi qu'une intensité diffusée plus importante. On peut donc conclure qu'il y a formation d'objets du à l'auto-association des Pluronic en présence de AuNPs, même au dessous de la CMT.

Effet de la concentration du tribloc sur la taille des objets : On a voulu regarder l'effet de la concentration en Pluronic sur la taille des objets dans le mélange Pluronic/AuNPs. Le F127 est sélectionné et les mesures ont été effectuées en augmentant la concentration de F127 dans une gamme au dessous et au dessus de la CMC. Les tailles obtenues en fonction de la concentration en polymère sont présentées Figure III. 17.

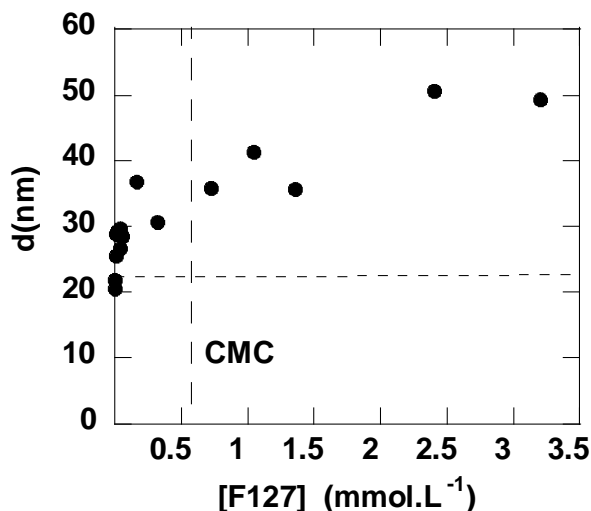


Figure III. 17 : *diamètre hydrodynamique en fonction de la concentration en polymère F127.*

Au dessous de la CMC la taille des objets augmente rapidement de 20 à 37 nm. Ceci peut être dû à l'augmentation de la quantité de polymère à la surface des AuNPs. Cependant, au dessus de la CMC et sur une gamme de concentration de 0,6 à 3 mM, on observe une croissance plus lente de la taille. Ceci, peut être dû au fait qu'au dessus de la CMC les micelles de F127 peuvent gêner les mesures. La croissance de la taille avec la concentration au dessous de la CMC indique de nouveau que les Pluronic s'auto-associent en présence des AuNPs, et forment des objets dont la taille augmente avec la quantité de polymère.

Pour conclure, les résultats de DDL ont montré que des objets de taille plus grande que des micelles sont formés dans les mélanges AuNPs/polymère. Pour vérifier que ces objets sont des hybrides polymères-AuNPs et non pas des AuNPs agrégées, on a décidé de faire la diffusion des neutrons aux petits angles.

V-2. Diffusion de la lumière avec des diblocs

Des mesures de DDL ont été effectuées avec le système EO₂₇₂PO₂₉/AuNPs. Dans ce cas, il a été difficile d'extraire un diamètre moyen, car les fonctions d'auto-corrélation sont très complexes. La Figure III. 18 montre la contribution de la taille des objets en solution sur l'intensité diffusée, dans le cas de EO₂₇₂PO₂₉ seul et du système EO₂₇₂PO₂₉/AuNPs.

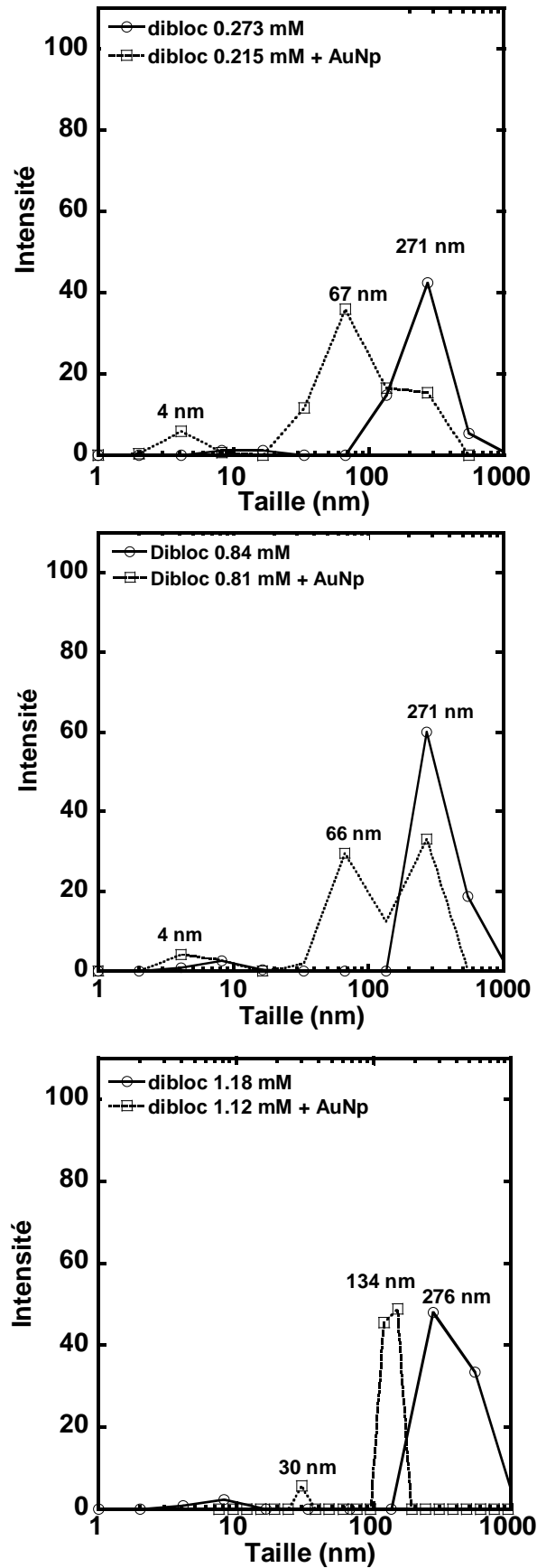


Figure III. 18 : Contribution des objets en solution à l'intensité diffusée en DDL pour le $EO_{272}PO_{29}$ seul et le mélange $EO_{272}PO_{29}/AuNPs$ seul à 3 concentrations différentes en polymère.

Avec le polymère tout seul, un pic plus ou moins large centré vers ~ 270 nm est observé pour toutes les concentrations (de 0,25 à 1,12 mM). De plus une petite contribution à l'intensité diffusée est observée vers 4 nm, qui peut être due à des unimères en solutions. Pour toutes les concentrations du mélange EO₂₇₂PO₂₉/AuNPs, il y a apparition d'un pic à des tailles inférieures à 150 nm, accompagné de la diminution de l'intensité diffusée par les objets de polymère seul vers 270 nm. Ceci, indique qu'une nouvelle population apparaît en solution qui possède une taille moyenne entre la taille des nanoparticules nues et celle des objets de polymère en solution.

En conclusion, dans le système dibloc/nanoparticules on note l'apparition d'un nouveau pic indiquant que des nouveaux objets se trouvent en solution, qui ne peut correspondre qu'à des nanoparticules d'or enrobées de EO₂₇₂PO₂₉. La taille de ces objets paraît être plus grande (> 65 nm) que ceux observés dans le cas des Pluronic, ce qui peut aussi expliquer la bonne stabilité des nanoparticules stabilisées avec EO₂₇₂PO₂₉.

VI. Diffusion des neutrons aux petits angles.

Les expériences de diffusion des neutrons aux petits angles ont été réalisées par J. Oberdisse à l'Institut Laue-Langevin (Grenoble, France).

La diffusion des neutrons aux petits angles avec des variations de contraste peut être utilisée pour observer d'une manière sélective l'un ou l'autre d'un mélange de deux éléments en solution. Les densités de longueur de diffusion du Pluronic® F127^{7, 8} et de l'or sont respectivement de $0,51 \cdot 10^{10} \text{ cm}^{-2}$ et $4,51 \cdot 10^{10} \text{ cm}^{-2}$, ce qui procure un contraste suffisant pour les observer séparément. Nous avons exploité les expériences de diffusion des neutrons en état or « éteint », afin d'observer sélectivement le F127. Comme référence, nous avons utilisé une solution de F127 à 0,25% en volume (ca CMC/2) dans D₂O (T = 23 ° C).

L'intensité diffusée est illustrée Figure III. 19. Pour F127 seul, dans la région des faibles valeurs de q, un comportement de type Guinier est obtenu :

$$I(q) = I_0 \exp(-q^2 R_g^2/3)$$

où R_g est le rayon de gyration. A des faibles valeurs de q (q tend vers 0) la limite de I est $I_0 = \Phi \Delta \rho^2 V_0$. En utilisant la fraction volumique $\Phi = 0,25\%$ et le contraste dans D_2O $\Delta \rho = 5,83 \cdot 10^{10} \text{ cm}^{-2}$, on trouve le volume d'un objet individuel, $V_0 = 2,1 \cdot 10^4 \text{ \AA}^3$. Cela correspond à 5 % près à la valeur théorique obtenue pour une seule molécule de copolymère calculée à partir de la densité et du poids moléculaire de PEO et PPO séparément (les volumes moléculaires du groupe oxyéthylène, et du groupe oxypropylène ont été pris respectivement comme $V_{EO} = 73 \text{ \AA}^3$ and $V_{PO} = 96 \text{ \AA}^3$),⁹ et indique que les molécules ne sont pas agrégées, mais individuellement dispersées. Le rayon de gyration extrait du fit de Guinier est $R_g = 56 \pm 2 \text{ \AA}$, qui est en très bon accord avec le calcul du rayon d'une pelote aléatoire «random coil» tel qu'il est proposé par Flory: $R_f = aN^{3/5} = 57 \text{ \AA}$, où $a = 2 \text{ \AA}$ est la taille d'un monomère (prise comme étant un oxyéthylène) et $N = 265$ est le nombre total de monomères de la molécule.⁹
¹⁰ Toutefois, une valeur plus petite ($R_g = 22 \text{ \AA}$) a été obtenue précédemment à partir des mesures de diffusion des neutrons aux petits angles sur des solutions de F127.¹¹

Les points expérimentaux correspondant au polymère seul sont paramétrés (Figure III. 19) avec la formule de Debye :

$$I(q) = I_0 [e^{-(qR_g)^2} + (qR_g)^2 - 1]/(qR_g)^4$$

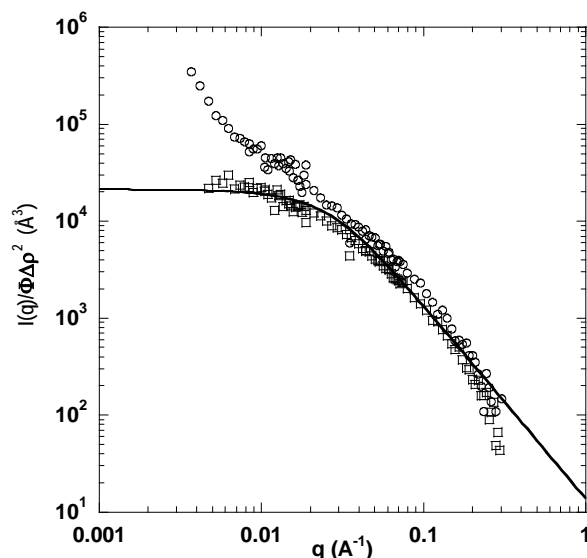


Figure III. 19 : Diffusion de neutrons aux petits angles pour les solutions de Pluronic F127 au dessous de la CMC, en absence et en présence de AuNps ($T = 23 \text{ }^\circ\text{C}$). (\square) F127 ($0,2 \text{ mmol.L}^{-1}$) dans D_2O (\circ), F127 ($0,26 \text{ mmol.L}^{-1}$) + AuNPs or « éteint » ($D_2O/H_2O = 72,5/27,5$). Les intensités diffusées sont normalisées par $\Phi \Delta \rho^2$. La ligne continue est un ajustement en utilisant la fonction de Debye pour des chaînes Gaussiennes.¹¹

Ce fit montre que les données sont en effet bien compatibles avec la diffusion d'une pelote aléatoire Gaussienne « **random gaussian coil** » ($1/q^2$ diffusion à de grands angles), I_0 et R_g étant bien sûr les mêmes que ceux trouvés avec la loi de Guinier, qui est un développement à faible angle de la loi de Debye.

Afin d'étudier la structure du polymère en présence des nanoparticules d'or, nous avons réalisé une expérience avec une dispersion de F127/AuNp, dans les mêmes conditions de concentration de polymère, mais avec un mélange de H_2O et D_2O permettant d'éteindre l'or. Ainsi, seul le polymère contribue à l'intensité cohérente. Dans la Figure III. 19, cette intensité a été superposée à celle du polymère, après renormalisation des deux à des concentrations et des contrastes identiques, ceci en divisant par $\Phi\Delta\rho^2$. On a trouvé que les courbes sont bien superposées à des valeurs de q grandes et intermédiaires, ce qui indique qu'un certain nombre de conformations des polymères sont près des chaînes Gaussiennes idéales dans les deux cas. En présence de AuNps, l'intensité à faible q s'écarte considérablement ($q < 0,02 \text{ \AA}^{-1}$). Cette augmentation d'intensité est d'au moins un ordre de grandeur. Cela signifie que de nombreuses molécules s'agrègent sur des échelles de plus de $1/0,02 = 50 \text{ \AA}$, jusqu'à probablement des centaines d'Angström. Malheureusement, aux faibles valeurs de q , les données sont assez bruitées et il n'a pas été possible d'extraire un rayon de gyration des agrégats. Toutefois, il est clair à partir de ces résultats que les nanoparticules d'or, peuvent promouvoir la formation des grands agrégats de copolymère, même au dessous la CMC.

VII. Observation des échantillons par MET

On a voulu observer les agrégats formés par les polymères en présence des nanoparticules. Pour cela, on a décidé de faire la microscopie électronique à transmission avec coloration négative, et de la Cryo-MET.

Plusieurs types d'échantillons polymère/particule (triblocs F127, P123, F108 et diblocs $EO_{272}PO_{29}$ et $EO_{113}PO_{19}$) ont pu être observés par MET. Cette technique est relativement simple à mettre en œuvre (voir partie expérimentale). Certains échantillons ont été préparés et observés par nous-mêmes au Centre de Microscopie Electronique Appliquée à la Biologie (CMEAB), d'autres par C. GAILLARD (INRA, Nantes). Cependant, l'observation en MET s'effectue sur des échantillons séchés, donc assez éloignés de la situation en solution. Nous

avons donc également fait observer quelques échantillons en Cryo-TEM par C. GAILLARD. Dans ce cas, l'échantillon est observé hydraté.

VII-1. Systèmes AuNPs/Pluronic

VII-1.1. MET après coloration négative

La MET après coloration négative d'une dispersion F127/AuNP à $[F127] = 0,04 \text{ mmol.L}^{-1}$, soit une concentration environ dix fois inférieure à la CMC (0,56mM) a typiquement donné des images comme celles présentées Figure III. 20. Le polymère apparaît avec un contraste blanc par rapport à l'acétate d'Uranyle qui couvre le fond d'un gris sombre. Les AuNPs sont vues directement avec un contraste noir. La morphologie cœur-couronne (nanoparticules/polymères) est clairement visible avec des nanoparticules d'or sombres entouré par une coquille de polymère blanche. On peut aussi noter que la plupart des nanoparticules ont une position centrale dans le polymère. Une minorité se trouve avec une position asymétrique dans le polymère, qui forme un globule de diamètre plus ou moins grand. En outre, certaines AuNPs sont trouvées nues, et inversement, de nombreux globules ne contiennent pas de nanoparticules. La présence de globules de polymères vides n'est pas surprenante, puisque pendant la phase de séchage à l'air de la solution déposée sur la grille de MET la concentration en polymère augmente au-delà de la CMC.

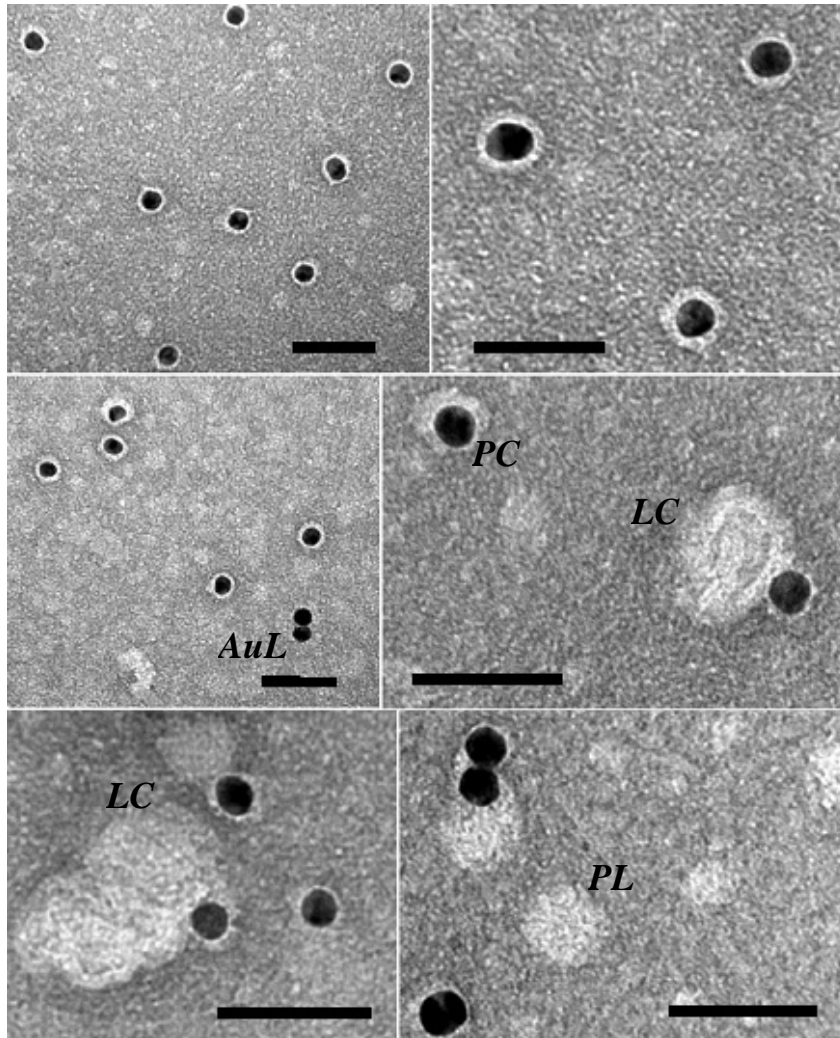


Figure III. 20 : Micrographes de MET de dispersions de F127/AuNp après coloration négative à l'acétate d'uranyle. Les nanoparticules d'or apparaissent avec un contraste sombre, tandis que le polymère a un contraste blanc. Les indications PC, LC, AuL et PL correspondent respectivement à des petites couronnes de polymère, des larges couronnes de polymère, des AuNPs libres et du polymère libre. Les barres d'échelles représentent 50 nm. (Cliché C. Gaillard).

Sur un exemple représentatif d'agrégat cœur-couronne centré, les dimensions des deux parties (du cœur et de la coque de base) ont été déterminées avec précision par la mesure de la luminosité grâce à un profil typique conçu de façon symétrique. Dans le présent cas, l'épaisseur de la couronne a été estimée à environ 3 nm et la nanoparticule à environ 17 nm de diamètre Figure III. 21.

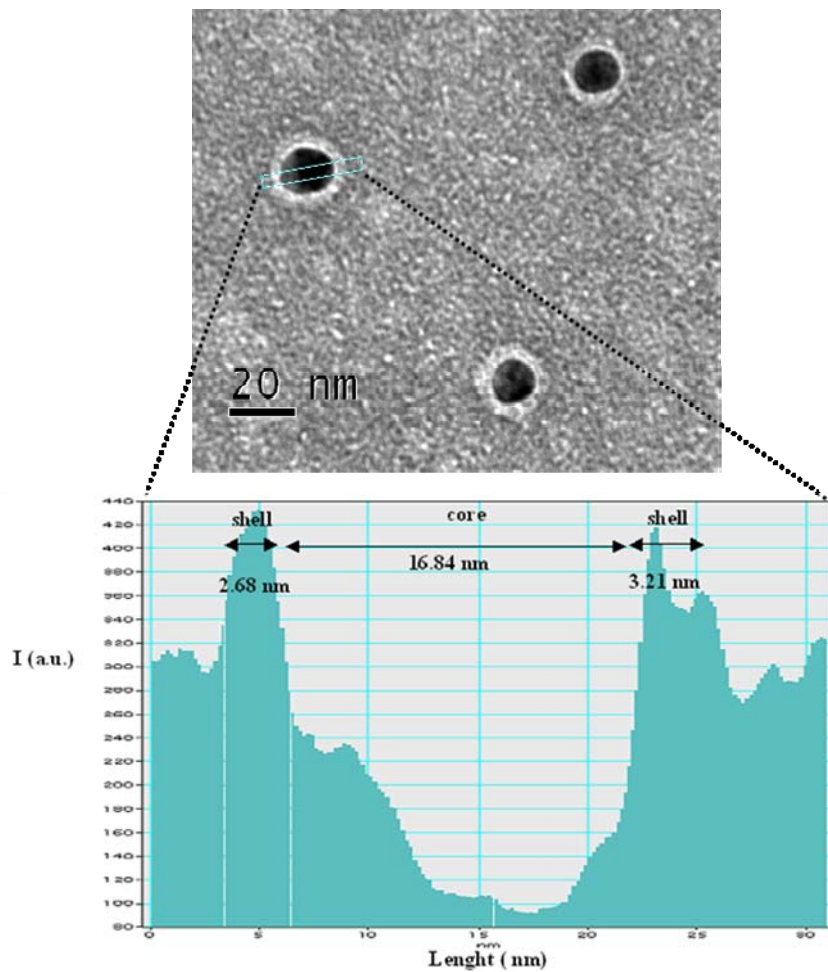


Figure III. 21 : détermination de la taille de la couronne de polymère autour des nanoparticules sur une photo de F127/AuNPs. (Cliché C. Gaillard)

Comme dans le cas de la diffusion de la lumière, cette expérience a été effectuée avec d'autres Pluronic, afin de vérifier si cette observation est générale. La Figure III. 22 montre des photos de nanoparticules stabilisées avec P123 ($0,01 \text{ mmol.L}^{-1}$) (a) et F108 ($0,04 \text{ mmol.L}^{-1}$) (b). De même que dans le cas de F127 les nanoparticules semblent être enrobées avec le polymère. On a toujours des globules de polymère libre, et très peu de nanoparticules non enrobées. Donc, cette observation paraît être généralisable à d'autres Pluronic.

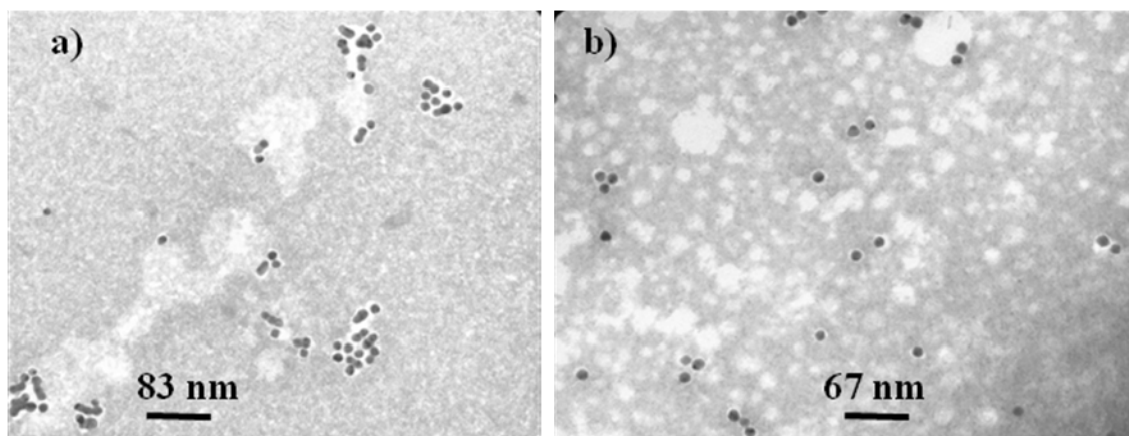


Figure III. 22 : Micrographes de MET pour les dispersions P123/AuNp (a) et F108/AuNp (b) après coloration négative à l'acétate d'uranyle.

VII-1.2. Cryo-MET sur AuNPs/Pluronic

Dans le cas de la MET en coloration négative, le polymère est totalement séché. Afin d'observer les agrégats de polymère dans un état pleinement hydraté, aussi proche que possible de son état dans la dispersion aqueuse, des expériences de cryo-MET ont été réalisées. En cryo-MET on observe un film mince de la dispersion aqueuse congelée (voir partie expérimentale). L'objectif était de confirmer la présence ou non des grands agrégats révélés par DDL et SANS, ainsi que d'avoir une idée sur l'emplacement des AuNps au sein de ces agrégats. L'étude en cryo-MET (Figure III. 23) a été effectuée à partir des mêmes échantillons que pour la MET. De même que pour la MET, une population similaire est trouvée. Trois types d'objets sont plus exactement observés: (i) des globules de polymère plus ou moins grands (25-100 nm), intégrant des nanoparticules, où l'AuNps n'est pas nécessairement placée dans une position centrale, (ii) certaines nanoparticules d'or libres (minorité), et (iii) un peu de globules de polymère libre. Globalement, les globules de polymère contenant les nanoparticules apparaissent avec un diamètre plus grand dans les micrographes de cryo-MET qu'en MET.

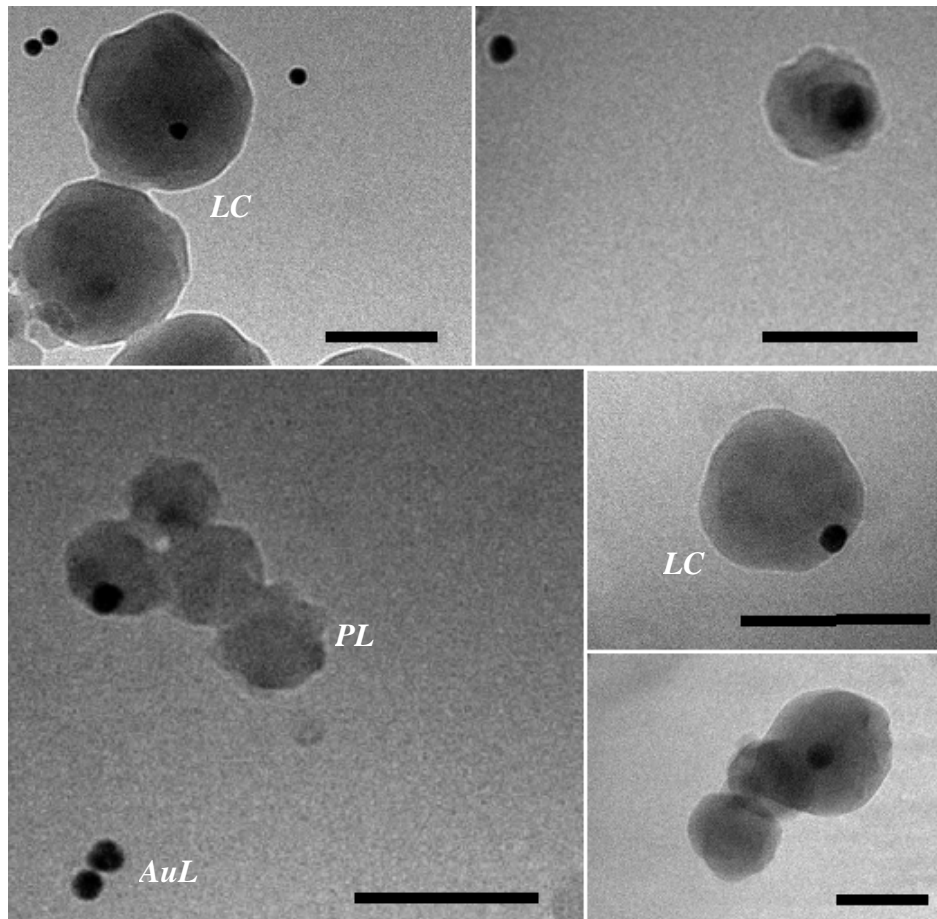


Figure III. 23 : Images de Cryo-TEM d'une dispersion aqueuse de AuNPs/F127. Les indications LC, AuL et PL indiquent respectivement les larges couronnes de polymère, les AuNPs nues et le polymère libre. Les barres d'échelles représentent 100 nm.

Comparé avec les images de MET des échantillons séchés à l'air et colorés négativement (Figure III. 20), une différence nette est observée. La différence peut certainement être attribuée à un effet de séchage du copolymère au moment de l'évaporation de la goutte de solution aqueuse sur la grille de MET, provoquant un rétrécissement de la couronne ou des globules libres. En revanche, l'observation du copolymère dans un film vitreux obtenu après une congélation rapide de la dispersion aqueuse de départ, nous a permis d'éviter tout effet de déshydratation.

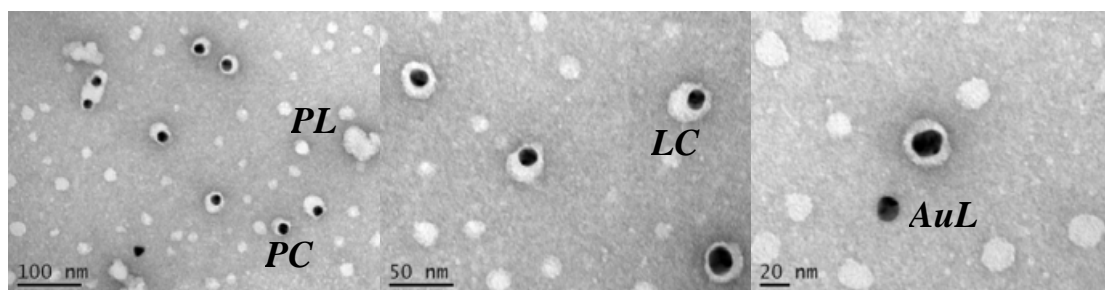
Pour conclure, les expériences de cryo-MET et de MET montrent que les gros objets détectés par les analyses de DDL et SANS correspondent principalement à de grands globules de polymère, intégrant les AuNPs. Les micrographes de MET (à partir du même échantillon) ont

démontré sans ambiguïté que les AuNps sont majoritairement situés à l'intérieur de la partie polymère, ce qui va dans le sens des expériences de stabilité.

VII-2. Systèmes AuNPs/EO_xPO_y

De même que dans le cas des triblocs, des échantillons de EO_xPO_y/AuNPs ont été observés en MET après coloration négative du polymère avec de l'acétate d'uranyle. Ainsi, la Figure III. 24 montre quelques photos de EO₂₇₂PO₂₉/AuNPs et EO₁₁₃PO₁₉/AuNPs.

a) EO₂₇₂PO₂₉/AuNPs



b) EO₁₁₃PO₁₉/AuNPs

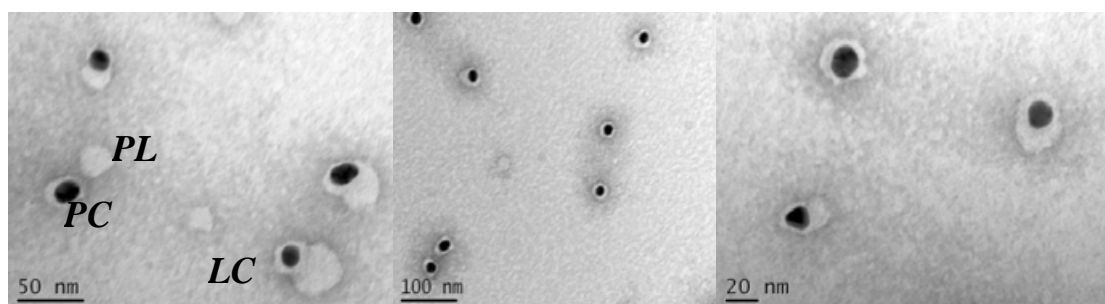


Figure III. 24 : Micrographes de MET des dispersions EO₂₇₂PO₂₉/AuNps (a) et EO₁₁₃PO₁₉/AuNps (b) après coloration négative à l'acétate d'uranyle (2% w/v). Concentrations : [polymère] = 0,04 mmol.L⁻¹, [AuNPs] = 3,4 nmol.L⁻¹. (Cliché C. Gaillard)

De même qu'avec les triblocs, les nanoparticules d'or paraissent être entourées par une coquille de polymère blanche. La forme est plutôt moins sphérique (plutôt ovoïde) que dans le cas des triblocs. Les nanoparticules ont une position centrale ou asymétrique dans le globule

de polymère, qui peut être formé avec un diamètre plus ou moins grand. Très peu d'AuNPs sont trouvées nues, et inversement, il y a (surtout dans le cas de EO272PO29) de nombreux globules de polymères sans nanoparticules. Des expériences de cryo-MET ont été effectuées comme pour les triblocs afin de vérifier cette observation, et essayer de visualiser la nature et la forme de ces objets. Il n'a pas été possible de bien visualiser la phase polymère surtout dans le cas de EO272PO29, à cause du manque de contraste dû à l'hydratation du polymère. Cependant, quelques objets de taille supérieure à 100 nm ont été observés dans le cas de EO113PO19.

On peut conclure, que la DDL et la MET ont montré que dans le cas des diblocs, les nanoparticules se trouvent dans des globules de polymères plus larges que dans le cas des triblocs.

VIII. Conclusion

Dans ce chapitre toutes les études physico-chimiques qu'on a effectuées ont montré que les polymères viennent s'adsorber autour des nanoparticules, formant ainsi un large globule qui est à l'origine de la bonne stabilité de nanoparticules. Ceci, nous a permis soit de lyophiliser puis redisperser les nanoparticules dans l'eau, soit de filtrer sur un filtre polaire (Nylon). La mesure du potentiel zêta a montré que la polarité des nanoparticules change avec l'augmentation de la concentration en polymère. A haute concentration en polymère un potentiel zêta proche de zéro est atteint. Les techniques de diffusion SANS et DDL ont montré que, avec les systèmes polymère/AuNPs des objets de taille plus grande que les micelles sont observés même au dessous de la CMC ou de la CMT. Avec le système EO₂₇₂PO₂₉/AuNPs les objets paraissent être plus grands qu'avec Pluronic/AuNPs et plus compliqués à analyser. Enfin la visualisation de ces systèmes par MET et Cryo-MET nous a permis d'observer que les nanoparticules d'or sont intégrées individuellement dans les globules de polymères. La taille des hybrides polymère/particule est plus grande, et moins sphérique dans le cas de dibloc que dans le cas des triblocs.

IX. Bibliographie

1. Kayes, J. B.; Rawlins, D. A., Adsorption characteristics of certain polyoxyethylene-polyoxypropylene block co-polymers on polystyrene latex *Colloid Polym. Sci.* **1979**, 257, 622-629.
2. Baker, J. A.; Berg, J. C., Investigation of the adsorption configuration of polyethylene oxide and its copolymers with polypropylene oxide on model polystyrene latex dispersions. *langmuir* **1988**, 4, (4), 1055 - 1061.
3. Tsurumi, D.; Yoshimura, T.; Esumi, K., Adsorption of 2-naphthol into adsorbed layer of PEO-PPO-PEO triblock copolymers on hydrophilic silica. *Journal of Colloid and Interface Science* **2006**, 297, (2), 465-469.
4. Alexandridis, P.; Nivaggioli, T.; Hatton, T. A., Temperature Effects on Structural Properties of Pluronic P104 and F108 PEO-PPO-PEO Block Copolymer Solutions. *langmuir* **1995**, 11, 1468 - 1476.
5. P. R. Desai; N. J. Jain; Sharma, R. K.; Bahadur, P., Effect of additives on the micellization of PEO/PPO/PEO block copolymer F127 in aqueous solution. *Colloids Surf. A* **2001**, 178, 57-69
6. Jansson, J.; Schillen, K.; Olofsson, G.; da Silva, R. C.; Loh, W., The interaction between PEO-PPO-PEO triblock copolymers and ionic surfactants in aqueous solution studied using light scattering and calorimetry. *Journal of Physical Chemistry B* **2004**, 108, (1), 82-92.
7. Lin, Y. N.; Alexandridis, P., Temperature-dependent adsorption of pluronic F127 block copolymers onto carbon black particles dispersed in aqueous media. *Journal of Physical Chemistry B* **2002**, 106, (42), 10834-10844.
8. Nelson, A.; Cosgrove, T., Small-angle neutron scattering study of adsorbed pluronic tri-block copolymers on laponite. *Langmuir* **2005**, 21, (20), 9176-9182.
9. Shi, H.; Zhang, S.; Steitz, R.; Chen, J.; Uredat, S.; Findenegg, G. H., Surface coatings of PEO-PPO-PEO block copolymers on native and polystyrene-coated silicon wafers. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **2004**, 246, (1-3), 81-89.
10. Diakova, B.; Kaisheva, M.; Platikanov, D., Thin liquid films from polyoxyethylene-polyoxypropylene-block copolymer on the surface of fused quartz. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **2001**, 190, (1-2), 61-70.
11. Mortensent, K.; Talmon, Y., Cryo-TEM and SANS Microstructural Study of Pluronic Polymer Solutions. *Macromolecules* **1995**, 28, (26), 8829 - 8834.

Chapitre 4

Cytotoxicité des systèmes polymères/nanoparticules d'or

Table des matières du chapitre IV

I.	Introduction.....	176
II.	Cytotoxicité des nanoparticules d'or : état de l'art	176
III.	Etude de la cytotoxicité	178
III-1.	Les fibroblastes (CHO) comme modèle de cellules.....	178
III-2.	Cytotoxicité avec les systèmes Pluronic/AuNPs	178
III-2.1.	Cas du F127/AuNPs	178
III-2.2.	Cas du F108/AuNPs	181
III-2.3.	Cas du P123/AuNPs	182
III-3.	Cytotoxicité avec le système EO ₂₇₂ PO ₂₉ /AuNPs.....	184
III-4.	Cytotoxicité des nanoparticules or-citrate nues.....	185
III-5.	Cytotoxicité des Copolymères.....	186
III-5.1.	Cytotoxicité des Pluronic	186
III-5.2.	Cytotoxicité de EO ₂₇₂ PO ₂₉	187
IV.	Observation par MET des cellules après incubation	188
V.	Etude de la stabilité des AuNPs dans le mélange RPMI/H ₂ O.....	192
VI.	Microbalance à quartz	198
VII.	Conclusions	199
VIII.	Bibliographie.....	201

I. Introduction

Les propriétés des nanoparticules sont en train de générer beaucoup d'enthousiasme en biologie moléculaire et en médecine. Les nanoparticules d'or, en raison de la résonance plasmon de surface, ont un immense potentiel pour le diagnostic et le traitement. Par exemple, la conjugaison de nanoparticules d'or par des ligands spécifiquement ciblés pour reconnaître des marqueurs biologiques à la membrane des cellules cancéreuses permet l'imagerie moléculaire spécifique et la détection de tumeurs. En outre, les nanoparticules d'or peuvent convertir la lumière fortement absorbée en chaleur localisée d'une manière efficace, ce qui peut être exploité pour la thérapie photothermique sélective. Toutefois, la possibilité d'utiliser des nanoparticules dans des applications biologiques, nécessite l'absence de cytotoxicité.

Dans nos travaux de stabilisation et de caractérisation, nous avons montré que les copolymères à blocs enrobent les nanoparticules d'or, ce qui permet de les stabiliser dans l'eau à haute force ionique (0,9 M NaCl). Les copolymères à blocs utilisés sont à base de polyéthylène glycol (PEG). Il est bien connu dans la littérature que l'incorporation de PEG à la surface des nanomatériaux possède un intérêt particulier pour la biocompatibilité. Ainsi, des nanocristaux fonctionnalisés avec du PEG montrent généralement une moindre toxicité,¹ et un temps de circulation plus long que d'autres nanocristaux fonctionnalisés avec d'autres agents de surface. Ce qui fait donc que notre système copolymère/particule peut être idéalement biocompatible.

Une étude de la cytotoxicité des systèmes Pluronic/AuNPs et EO_xPO_y/AuNPs a été effectuée sur un modèle de cellules : les fibroblastes de CHO (chinese hamster ovary) et sera présentée dans ce chapitre. En plus, nous avons réalisé des études cinétiques en microscopie électronique à transmission sur des coupes de cellules après incubation avec les nanoparticules.

II. Cytotoxicité des nanoparticules d'or : état de l'art

Bien que l'or soit un métal inerte, son effet sur la prolifération des cellules normales ne peut pas être sous-estimé. Pour déterminer la viabilité des cellules après interaction avec des nanoparticules, plusieurs études de cytotoxicité ont eu lieu. Ainsi, dans ce paragraphe

quelques exemples sur l'internalisation² et la cytotoxicité de nanoparticules d'or sur des cellules sont présentés.

La cytotoxicité de nanoparticules d'or de différentes tailles et avec différentes chimie de surface est rapportée dans la littérature. D'une façon générale, les particules de taille supérieure à quelques nanomètres (~18 nm) sont peu toxiques bien qu'elles puissent pénétrer dans les cellules. Cela a été montré pour des particules préparées par réduction au citrate ou au NaBH₄,³ et fonctionnalisées avec divers composés (BSA, peptides, glucose...)⁴⁻⁶. A l'inverse, de plus petites particules d'or (nanoparticules < 2 nm) peuvent avoir une toxicité significative.⁷ Ceci indique que la toxicité peut résulter de la diminution des dimensions d'un matériau à l'échelle nanométrique. Il a été montré que de très petites nanoparticules d'or (environ 1nm de diamètre ou Au₅₅) peuvent pénétrer les cellules et les membranes nucléaires, et se fixer à l'ADN.⁸ Une étude récente⁹ a montré sur quatre lignées cellulaires (tissu conjonctif, épithéliales, macrophages, et mélanomes) que pour des nanoparticules d'or de diamètre entre 0,8 et 15 nm toutes stabilisées par des dérivés de triphénylphosphine, les plus toxiques sont les particules d'or de taille 1,4 nm. Pour cette taille les valeurs de IC₅₀ vont de 30 à 56 µM selon la combinaison nanoparticules d'or – lignée cellulaire. En revanche, les particules d'or de taille plus grande 15 nm sont non toxiques jusqu'à des concentrations 60 fois plus élevées. La réponse cellulaire trouvée est également liée à la taille ; les particules de diamètre 1,4 nm causent principalement une mort cellulaire rapide (12 heures) par nécrose, alors que les particules de 1,2 nm de diamètre provoquent principalement un effet de mort cellulaire programmée par apoptose.

Des études plus détaillées sur la prolifération cellulaire, la structure morphologique, la diffusion, la migration, et la synthèse des protéines, qui sont autant de processus qui peuvent être affectés par la présence de nanoparticules, ont été effectuées par Pernodet et al, sur des fibroblastes humains.¹⁰

Un résultat intéressant montre que des nanoparticules or-citrate de diamètre environ 35 nm possèdent une toxicité cellulaire spécifique à des cellules cancéreuses HepG2 (human hepatocellular liver carcinoma) alors que des cellules non cancéreuses BHK21 (baby hamster kidney) survivent bien.¹¹ L'augmentation graduelle du clivage de la poly (ADP-ribose) polymérase avec les concentrations en nanoparticules implique que l'effet cytotoxique est dû à la mort programmée des cellules.

Il ressort donc de toutes ces études que les nanoparticules d'or sont non toxiques sur une grande famille de cellules et peuvent être toxiques sur d'autres types de cellules, dépendamment de leur taille, et/ou leur concentration. Elles peuvent aussi causer des changements dans la morphologie et du stress sur les cellules.^{4, 10}

III. Etude de la cytotoxicité

Dans ce paragraphe on va présenter les résultats de cytotoxicité, déterminés par l'étude de l'activité mitochondriale.

III-1. Les fibroblastes (CHO) comme modèle de cellules

Les cellules fibroblastes de type CHO (chinese hamster ovary) ont été choisies comme modèle de cellules pour étudier la cytotoxicité des systèmes copolymères/AuNPs.

Les cellules ont été incubées avec différentes concentrations de nanoparticules d'or et/ou AuNPs/copolymère dans un mélange RPMI/H₂O pendant 6h. Les contrôles correspondent à des cellules sans traitement aux nanoparticules. A la fin de chaque exposition, les cellules ont été laissées pendant au moins 24 heures dans le milieu. Le niveau de toxicité des différents systèmes a été évalué à plusieurs temps, par le dosage colorimétrique «MTT». Il s'agit de d'une réduction enzymatique mitochondriale (par la déshydrogénase mitochondriale) du sel de MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphényl tétrazolium bromure) jaune en formazan violet. La viabilité des cellules est estimée par mesure de l'absorbance à 560 nm du Formazan, et le pourcentage de cellules viables est calculé par rapport au contrôle.

III-2. Cytotoxicité avec les systèmes Pluronic/AuNPs

La cytotoxicité des hybrides polymères/AuNPs a été estimée dans les mêmes conditions. Des nanoparticules stabilisées avec trois triblocs différents (F127, P123 et F108), et le dibloc EO₂₇₂PO₂₉ ont été étudiées.

III-2.1. Cas du F127/AuNPs

Plusieurs expériences dans les mêmes conditions de culture et d'incubation, mais avec différentes concentrations F127/AuNPs ont été effectuées. Les résultats de ces expériences ont été regroupés et présentés dans ce paragraphe. Ainsi, la Figure IV. 1 montre le

pourcentage de viabilité des cellules à $t = 24, 48$ et 72 heures après l'incubation (6 heures), à différentes concentrations prise à un rapport constant F127/AuNPs (voir partie expérimentale).

On remarque qu'après 24 heures de culture un effet de cytotoxicité dépendant de la concentration. Plus le système est concentré plus il est toxique. Pour le plus grand rapport F127/AuNPs, $\sim 50\%$ de cellules restent vivantes. Ensuite à 48 et 72 heures le taux de cellules vivantes augmente à $\sim 80\%$ montrant de même que les cellules continuent à proliférer. A 48 heures on obtient de 80 à 100% de viabilité par rapport au contrôle. A 72 heures un très léger effet de concentration reste observable, mais le taux de viabilité reste toujours supérieur à 80%. On peut donc conclure que le système F127/AuNPs a un effet de cytotoxique négligeable.

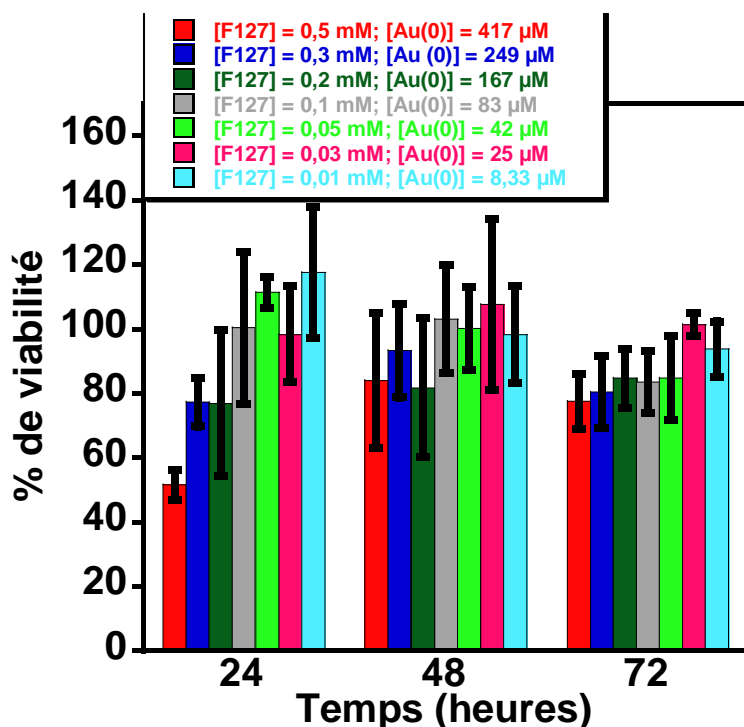


Figure IV. 1 : *Graphe montrant la viabilité des cellules à différents temps de prolifération pris après 6h d'incubation avec différentes concentrations en F127 et AuNPs.*

A toutes ces concentrations en F127/AuNPs on a observé un changement de couleur de la solution colloïdale, quand les nanoparticules sont mises en contact avec les cellules dans le RPMI, ce qui signifie que les nanoparticules s'agrègent. On a donc essayé d'augmenter la quantité de polymère par rapport à celle de nanoparticules dans la solution de départ, afin de minimiser l'agrégation. La concentration en F127 est fixée à 1,5 mM et celle des nanoparticules à $\sim 760 \pm 25 \mu\text{M}$ en Au(0). De cette solution on prend différents volumes de

(0,5 mL, 0,2 mL et 0,1 mL) qu'on complète à 1 mL avec du RPMI, pour l'incubation avec les cellules. Les résultats de viabilité obtenus après 24, 43, 72 et 91 heures de mise en culture sont présentés Figure IV. 2

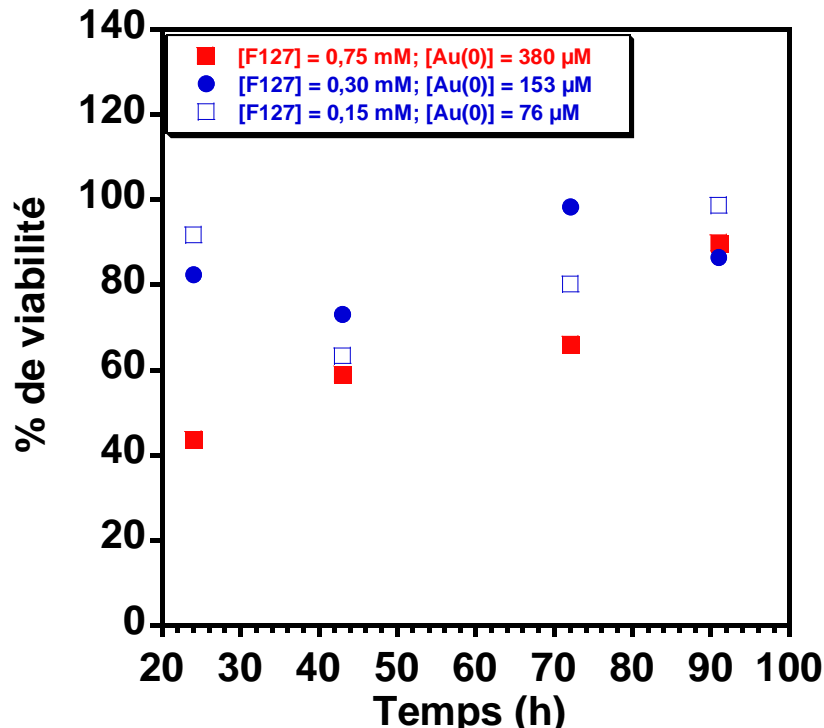


Figure IV. 2 : Graphe montrant la viabilité des cellules à différents temps de prolifération après 6h d'incubation avec différentes dilutions de la solution F127/AuNPs ($[F127] = 1,5 \text{ mM}$, $[AuNPs] = 760 \pm 25 \mu\text{M}$).

Ces résultats correspondent à deux expériences menées séparément, où la viabilité des cellules a été mesurée à des temps différents (24 et 72 h pour la première, et 43 et 91 h pour la deuxième). Si on considère le système le plus concentré, de même que l'expérience précédente, on observe une cytotoxicité nette après 24 heures (~58 % de perte de cellules). Ensuite, les cellules prolifèrent dans le temps jusqu'à atteindre ~ 90 % de viabilité à 91 heures. Pour les deux autres concentrations (0,30 mM F127 et $153 \pm 5 \mu\text{M}$ en Au (0), et 0,15 mM F127 et $76 \pm 2 \mu\text{M}$ en Au (0)), la cytotoxicité observée à 24 heures est très limitée (~ 82 à 92 % de viabilité respectivement). Ensuite, une légère décroissance dans la viabilité est observée à 43 heures (à ~ 73 et 63 % de viabilité respectivement). Pour les temps plus longs, la prolifération des cellules permet de rattraper le contrôle et d'atteindre 90 à 100 % de viabilité après 91 heures.

On peut donc conclure, que les nanoparticules or-citrate enrobées de F127 ont un effet de cytotoxicité faible. Cet effet paraît être aussi dépendant de la concentration de l'ensemble F127/AuNPs, où aux fortes concentrations certaines cellules meurent. Dans les échantillons qui ont subi une mortalité notable, la prolifération des cellules devient suffisamment importante pour rattraper partiellement le taux de viabilité des contrôles (> 80%) après 90 heures.

III-2.2. Cas du F108/AuNPs

Les cellules ont été exposées de la même manière, pendant 6 heures en présence de différentes dilutions d'une solution mère de F108/AuNPs. Les résultats de viabilité après 24, 48 et 72 heures de prolifération sont présentés dans le graphe Figure IV. 3

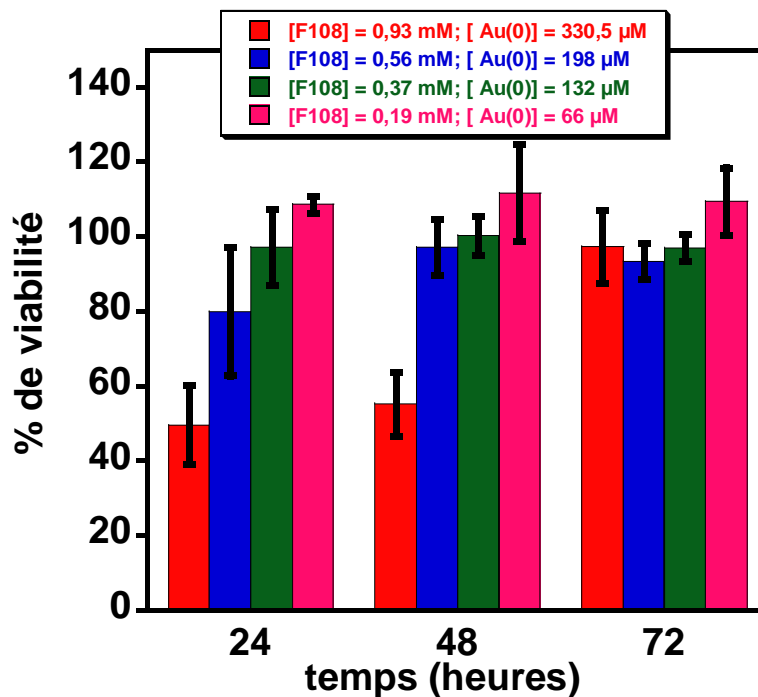


Figure IV. 3 : Graphe montrant la viabilité des cellules à différents temps de prolifération après 6h d'incubation avec différentes dilutions de la solution F108/AuNPs ([F108] = 1,86 mM; [AuNPs] = 661 µM).

On remarque après 24 heures de culture un effet cytotoxique net avec les plus grandes concentrations (0,93 mM F108 et 330µM Au(0)) où ~ 50% de cellules sont mortes. En plus, nous observons à 24 heures une variation de la cytotoxicité de système en fonction de la concentration, où le pourcentage de cellules vivantes augmente quand la concentration diminue. On atteint 100% de viabilité par rapport au contrôle pour les faibles concentrations

(0,186 mM F108 et 66,1 μ M Au (0)), taux qui reste plus ou moins constant dans le temps. Après 48 heures, une légère augmentation dans la viabilité sur toutes les concentrations est observée (pour atteindre \sim 95 %), à l'exception du système le plus concentré, où \sim 60 % de viabilité est obtenue. Après 72 heures le taux de cellules vivantes de tous les échantillons est proche de 95% de celui de contrôle. On peut donc conclure, que le comportement est très similaire à celui de système F127/AuNPs.

III-2.3. Cas du P123/AuNPs

Les cellules ont été de même que précédemment exposées au système P123/AuNPs. Le résultat de la viabilité mesurée par MTT est présenté Figure IV. 4

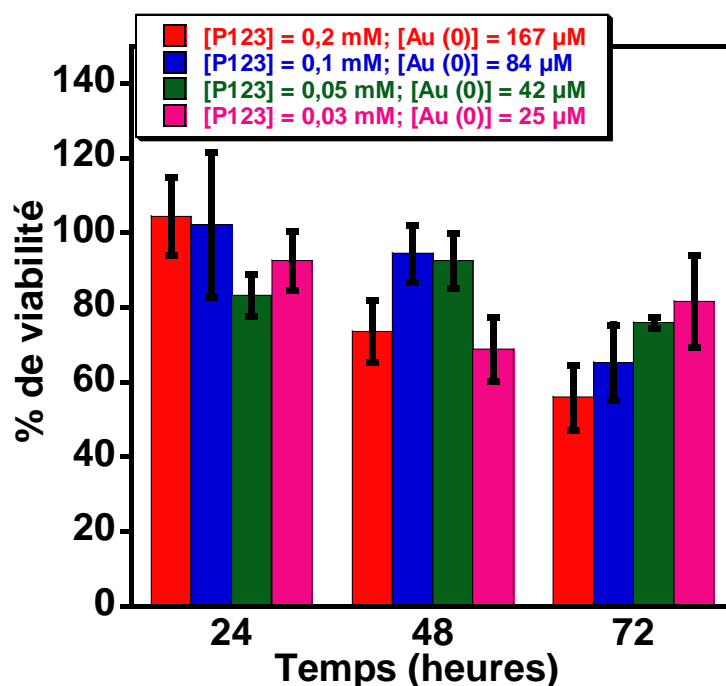


Figure IV. 4 : Graphe montrant la viabilité des cellules à différents temps de prolifération après 6h d'incubation avec différentes dilutions de la solution P123/AuNPs ([P123] = 1mM; [AuNPs] = 833 μ M).

Dans cette expérience, des résultats non similaires aux deux cas précédents sont observés. En effet, aucune toxicité évidente n'apparaît après 24 heures (viabilité $>$ 85 %, et même de l'ordre de 100 % pour les plus fortes concentrations). A 48 heures une perte de la viabilité est observée, surtout pour 0,2 mM P123 et 167 μ M Au(0), et 0,03 mM P123 et 25 μ M Au(0). On note une toxicité moyenne à 72 heures, d'autant plus importante que la concentration est

élevée. Un changement de couleur de la solution colloïdale dans le RPMI du à l'agrégation de nanoparticules est de nouveau observé. On a essayé d'augmenter la quantité de polymère par rapport à celle de nanoparticules dans la solution de départ, afin de minimiser l'agrégation, et essayer de voir si cette cytotoxicité est due au P123. Pour cela, on a effectué d'autres expériences en utilisant des concentrations plus élevées en P123. Les résultats obtenus sont présentés dans le graphe de la Figure IV. 5

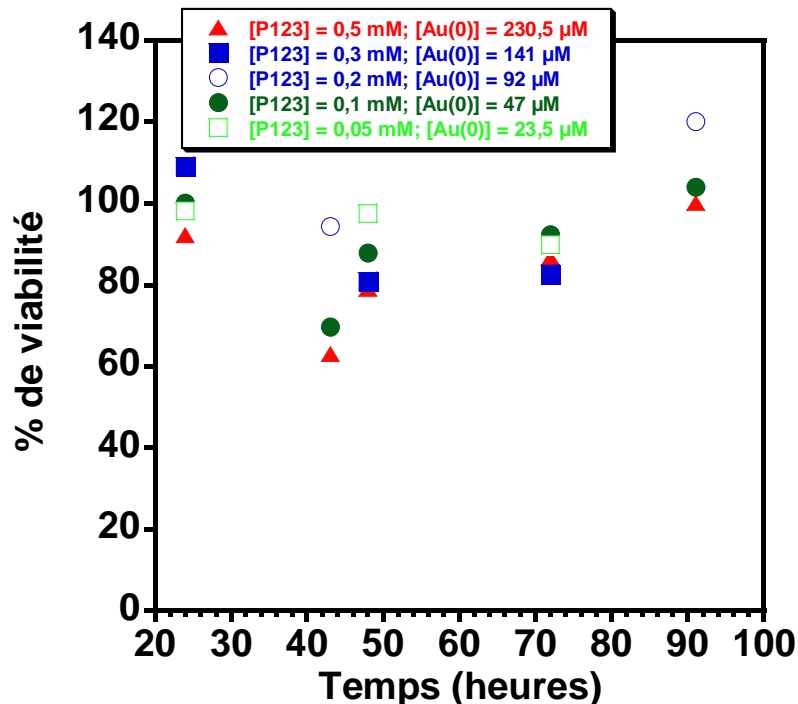


Figure IV. 5 : Graphe montrant la viabilité des cellules à différents temps de prolifération après 6h d'incubation avec différentes dilutions de la solution P123/AuNPs ([P123] = 1mM; [AuNPs] = 461 μM).

Ces résultats correspondent à deux expériences distinctes, où la viabilité des cellules est mesurée à des temps différents (24, 48 et 72 h pour la première, et 43 et 91 h pour la deuxième). Comme auparavant pas de cytotoxicité est observé à 24 heures (viabilité $\geq 90\%$), tandis que une légère diminution surtout avec les fortes concentrations est observé après 43, 48, ensuite à 72 heures pas de diminution remarquable est observé. Une viabilité de plus de 80 % à 90 % est obtenue. Si on considère les résultats après 91 heures de culture on peut de même observer que les cellules après cette légère effet de cytotoxicité, continuent à proliférer pour atteindre 100 % de viabilité.

On peut donc conclure, que les particules stabilisées par les Pluronic ont une légère toxicité aux plus fortes concentrations utilisées. Cependant, cette toxicité n'est pas très importante (viabilité toujours $\geq 50\%$), et les cellules continuent à proliférer.

III-3. Cytotoxicité avec le système $EO_{272}PO_{29}/AuNPs$.

Le test de cytotoxicité est de même effectué avec le système $EO_{272}PO_{29}/AuNPs$ à différentes concentrations, dans les mêmes conditions expérimentales. Les résultats de viabilité sont représentés Figure IV. 6

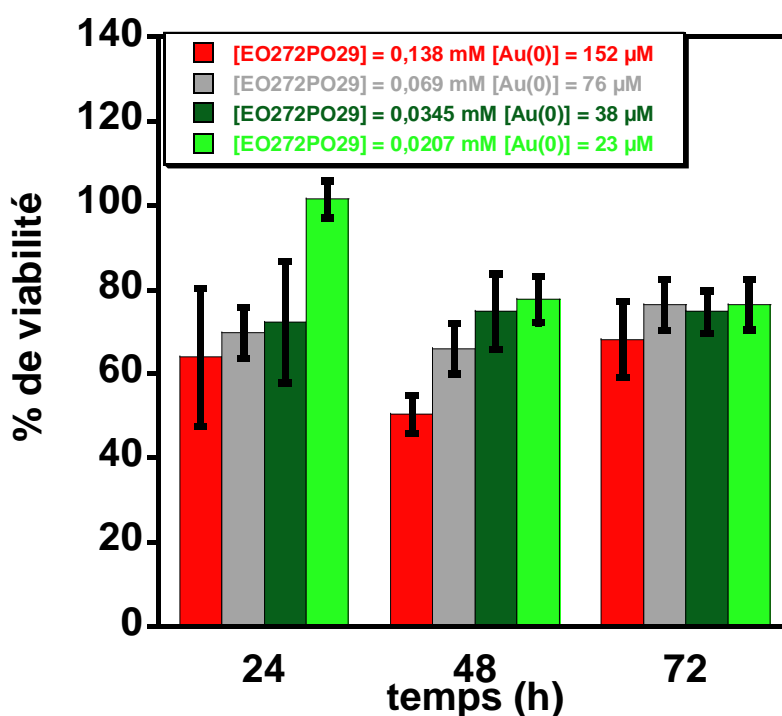


Figure IV. 6 : Graphe montrant la viabilité des cellules à différents temps de prolifération après 6h d'incubation avec différentes dilutions de la solution $EO_{272}PO_{29}/AuNPs$ ($[EO_{272}PO_{29}] = 0,692mM$; $[AuNPs] = 760\ \mu M$).

On remarque un léger effet de concentration à 24 et 48 heures. Ainsi, à 48 heures seulement 50 % des cellules sont vivantes pour la concentration la plus forte (152 μM Au(0) et 0,138 mM $EO_{272}PO_{29}$), la viabilité augmente quand les concentrations diminuent pour atteindre $\sim 80\%$ avec 28 μM Au(0) et 0,02 mM $EO_{272}PO_{29}$. Pour la concentration la plus faible, la viabilité semble diminuer avec le temps. Pour les concentrations intermédiaires la différence est très légère. Après 72 heures pour toutes les concentrations la viabilité est $\sim 80\%$. On peut donc conclure, qu'un léger effet de toxicité est observable après 24 et 48 heures, mais après 72

heures de culture, les cellules présentent un taux de viabilité de l'ordre de 80 % par rapport au contrôle.

La légère toxicité observée peut être due à l'un des composants du mélange. Dans la suite, des expériences avec les copolymères seuls, et les nanoparticules or-citrates nues, sont effectuées, afin d'avoir une idée sur leur cytotoxicité.

III-4. Cytotoxicité des nanoparticules or-citrate nues

Plusieurs expériences avec différentes concentrations en nanoparticules d'or ont été effectuées. Le pourcentage de viabilité estimé par rapport aux contrôles, et à différents temps de prolifération après l'incubation est reporté dans le graphe de la Figure IV. 7

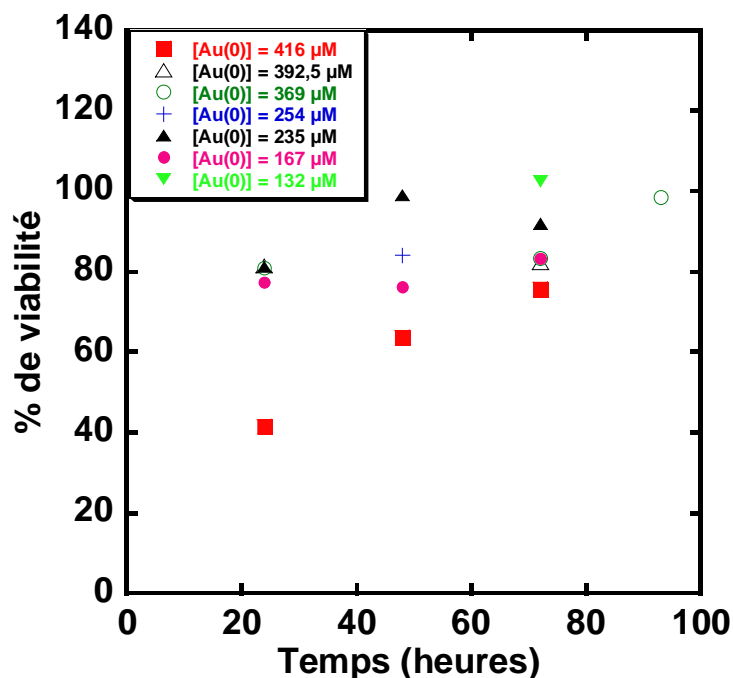


Figure IV. 7 : Graphe montrant le pourcentage de viabilité des cellules CHO à différents temps de prolifération, après incubation 6 heures à différentes concentrations en nanoparticules or-citrate.

On remarque qu'à la plus forte concentration en or 416 µM (~ 6,88 nmol.l⁻¹ en nanoparticules) (■), il y a une perte de viabilité supérieure à 50 % après 24 heures de culture. La viabilité des cellules augmente ensuite dans le temps pour atteindre ~ 65 % de cellules vivantes à 48 heures et ~75 % à 72 heures. Pour les autres concentrations 254 µM Au (0) (~ 4,7 nM en nanoparticules) 167 µM Au (0) (~2,7 nmol.L⁻¹ en nanoparticules) 132 µM Au (0)

(~ 2,4 nmol.L⁻¹ en NPs), on ne note pas de toxicité significative sur le temps de l'expérience (80 à 100% de viabilité). On peut donc conclure, qu'aux fortes concentrations en nanoparticules, certaines cellules meurent, après 24 heures de culture. Les nanoparticules or-citrate jusqu'à une concentration (~ 390 µM Au(0)) n'ont pas d'effet cytotoxique remarquable (~80% de viabilité) sur les cellules de CHO.

III-5. Cytotoxicité des Copolymères

III-5.1. Cytotoxicité des Pluronic

Le F127 et le P123 sont sélectionnés pour étudier la cytotoxicité des Pluronic. Les cellules sont exposées à différentes concentrations de ces polymères pendant 6 heures, et la viabilité des cellules après 24 heures de culture est estimée par le test MTT. Les résultats de viabilité sont représentés dans les graphes de la Figure IV. 8

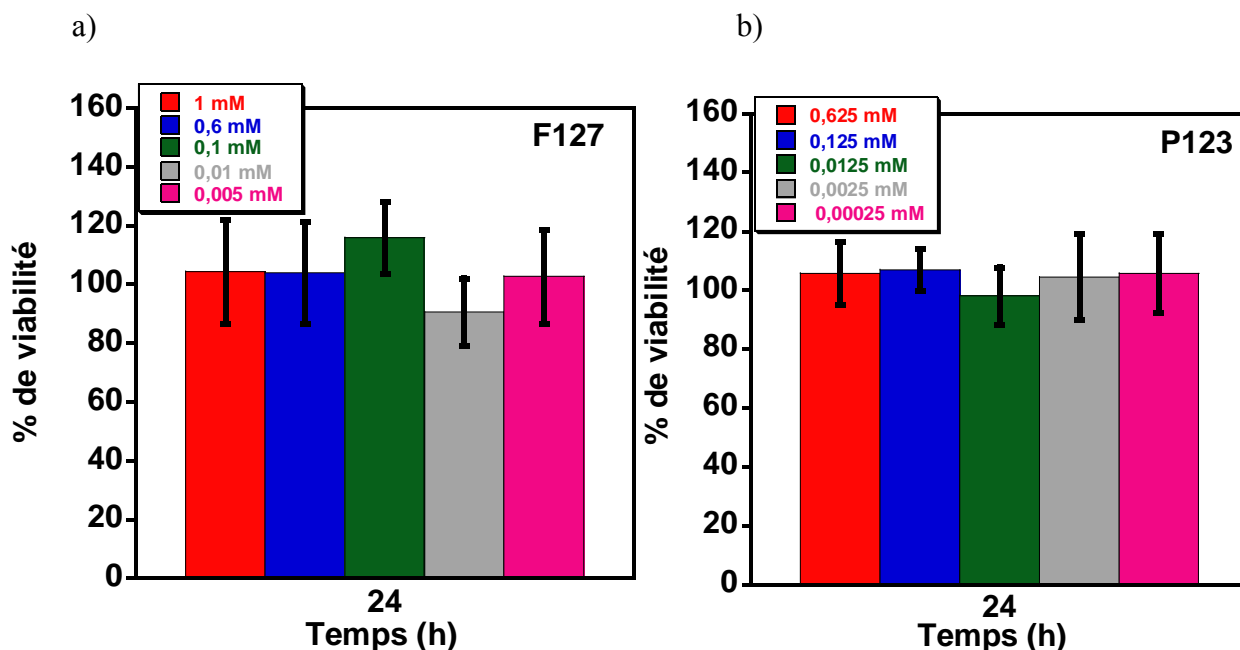


Figure IV. 8 : Viabilité des cellules à 24 heures après l'incubation avec différentes concentrations en F127 (a) et P123(b).

On remarque que pour ces deux polymères, il n'y a pas d'effet cytotoxique après 24 heures, même pour les plus fortes concentrations (1 mM pour F127 et 0,62 mM pour P123). Ces résultats ne sont pas très surprenants, étant donné que les Pluronic sont généralement connus

pour ne pas être toxiques, et largement utilisés en pharmacologie. A l'inverse le système F127/AuNPs à 0,5 mM F127 et 416 μM a montré 50 % de perte de viabilité à 24 heures, même si la concentration en polymère est plus petite, si on considère la même concentration en particules or-citrate nue (416 μM Au(0)) on a observé une viabilité de 42 %. Ce qui fait que la cytotoxicité observée précédemment pour les fortes concentrations, n'est pas forcément due aux polymères, mais plutôt à la concentration des AuNPs.

On note que dans certains cas, les cellules se détachent du fond de la boîte de puits pendant les étapes expérimentales, et ces cellules flottent à la surface de la solution de MTT, et ne sont pas prises en compte dans les tests de viabilités (elles sont prélevées avec la solution de MTT). Cependant, elles possèdent une couleur violette, indiquant que ces cellules restent toujours vivantes.

III-5.2. Cytotoxicité de EO₂₇₂PO₂₉

De la même façon, Les cellules sont exposées à différentes concentrations en EO₂₇₂PO₂₉. La viabilité des cellules après 24 et 72 heures de prolifération est présentée dans le graphe de la Figure IV. 9

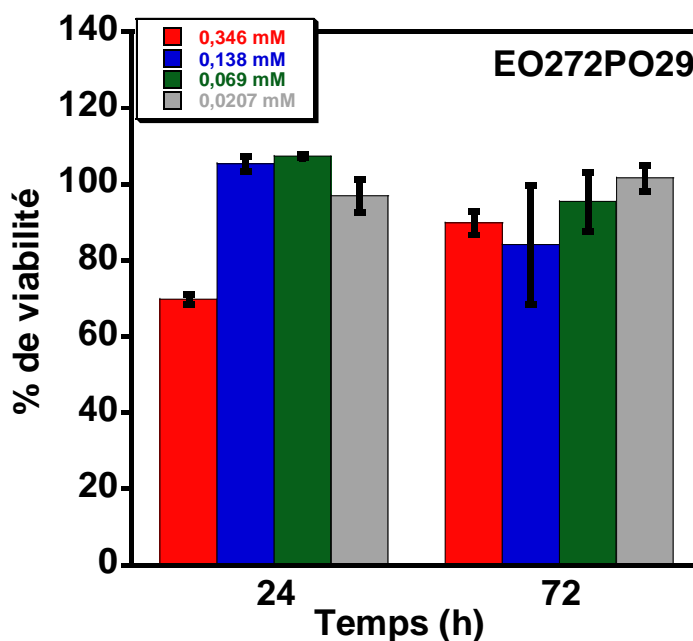


Figure IV. 9 : Graphe montrant la viabilité des cellules à 24 heures et 72 heures de prolifération après 6h d'incubation à différentes concentrations en EO₂₇₂PO₂₉.

On remarque après 24 heures, pour la plus forte concentration (0,346 mM) une perte de viabilité de ~30 %, tandis que la viabilité des cellules est de ~100 % avec les autres concentrations. Cependant, après 72 heures la viabilité avec 0,346 mM EO₂₇₂PO₂₉ augmente pour atteindre ~90 %. La perte de viabilité pour les concentrations intermédiaires (0,138 et 0,069 mM) n'est pas significative car c'est dans la barre d'erreur expérimentale. Pour la concentration la plus faible, la viabilité est toujours de l'ordre de 100 %.

On note que dans les expériences de cytotoxicité EO₂₇₂PO₂₉/AuNPs la plus forte concentration en EO₂₇₂PO₂₉ utilisée est de 0,138 mM. A cette concentration le polymère seul ne donne pas de cytotoxicité à 24 heures. A l'inverse, le système EO₂₇₂PO₂₉/AuNPs avec 0,138 mM EO₂₇₂PO₂₉ provoque une perte de viabilité de ~ 30%. Il en est de même pour [EO₂₇₂PO₂₉] = 0,069 mM.

Une fois encore il semble que la légère toxicité observée précédemment soit due à l'or et non pas au polymère.

IV. Observation par MET des cellules après incubation

Afin d'avoir une idée si les nanoparticules sont entrées dans les cellules, on a décidé de faire la MET sur les cellules. Cependant, des observations ont été effectuées en MET sur des coupes très fines des cellules effectuées par Bruno PAYRE au CMEAB (Centre de Microscopie Electronique Appliquée à la Biologie de Toulouse). Des cellules incubées avec de F127/AuNPs, EO₂₇₂PO₂₉/AuNPs, et des nanoparticules or-citrate nues ont été observées.

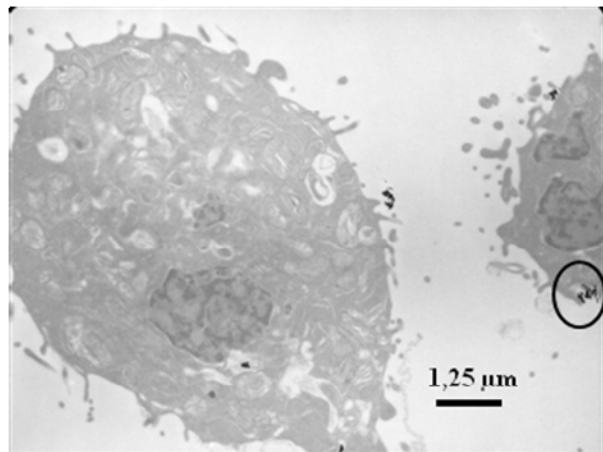
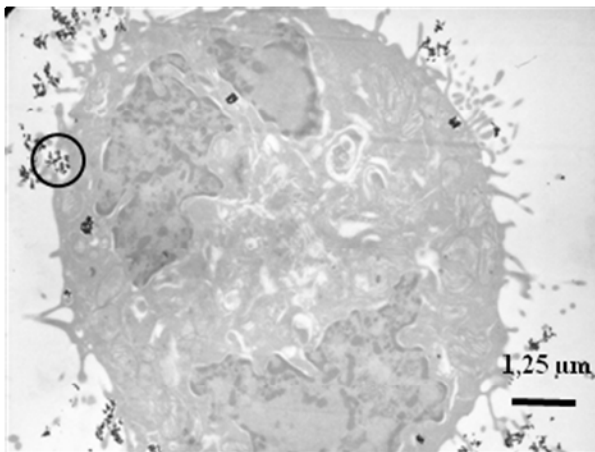
Cas de F127/AuNPs et des nanoparticules or-citrate nues. Les cellules sont exposées à une solution de AuNPs (375 µM en Au(0)), ou à une solution F127/AuNPs contenant la même concentration en Au(0) (375µM) et [F127] = 0,755 mM dans un mélange RPMI/H₂O (50/50). Après l'incubation (3 heures ou 6 heures), les puits sont rincés avec une solution tampon de PBS, et fixé avec une solution de glutaraldehyde et envoyé au service de CEMAB. Les photos prises sur des coupes observé en MET sont présentées Figure IV. 10.

Les photos montrent que dans tous les cas les nanoparticules sont entrées dans les cellules. Ces nanoparticules sont sous forme agrégées, ce qui a été également observé (par un

changement de couleur) dans les expériences de cytotoxicité. La comparaison des deux photos après 3 heures d'incubation suggère qu'avec le F127, il y a plus de nanoparticules qui sont entrées dans la cellule, mais ceci reste à vérifier sur plus d'expériences. Les nanoparticules entrent probablement par endocytose, car on peut remarquer une invagination de la membrane cellulaire entourant les nanoparticules (zones encadrées sur les deux photos de la Figure IV. 10a)

a) F127/AuNPs 3 heures d'incubation

AuNPs 3 heures d'incubation



b) F127/AuNPs 6 heures d'incubation

AuNPs 6 heures d'incubation

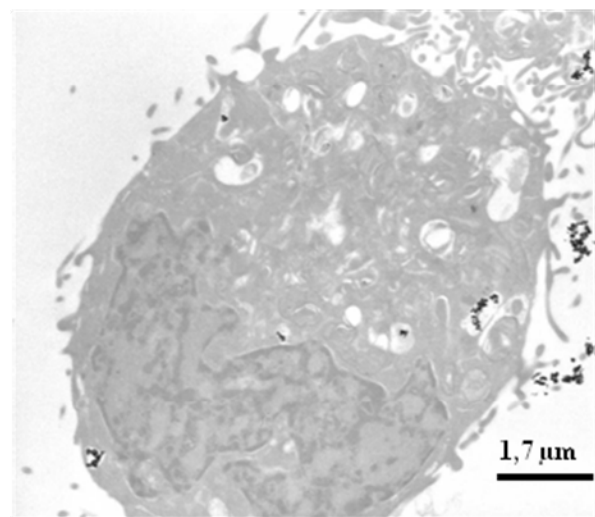
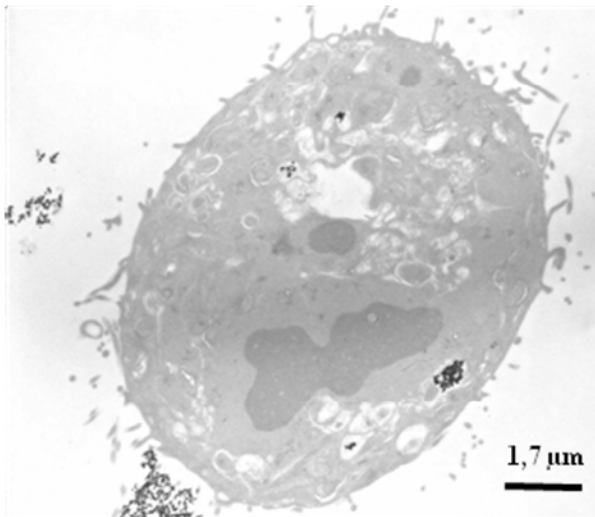


Figure IV. 10 : Clichés de MET des coupes fines de cellules après incubation 3heures (a) et 6 heures (b) avec des solutions de nanoparticules or-citrates nues et F127/AuNPs.

Après 6 heures d'incubation l'aspect cellulaire est peu modifié. Les cellules présentent un aspect normal. On n'observe pas de nanoparticules dans le noyau (zone sombre dans les cellules). En plus, les agrégats de nanoparticules à l'intérieur de cellules semblent être dans des vacuoles blanches (lysosome/endosome), ce qui est cohérent avec un mécanisme d'endocytose. Des études plus approfondies sont indispensables pour vérifier cette hypothèse.

Cas de EO₂₇₂PO₂₉/AuNPs

Les photos prises sur des coupes observées en MET 6 heures après incubation avec EO₂₇₂PO₂₉/AuNPs sont présentées dans la Figure IV. 11. On remarque qu'avec ce système les nanoparticules d'or ne sont pas agrégées. Les nanoparticules à l'intérieur des cellules conservent leur taille et leur forme de départ. Les photos de la Figure IV. 11 ont été prises sur un échantillon à 0,138 mM EO₂₇₂PO₂₉ et 152 μM Au(0).

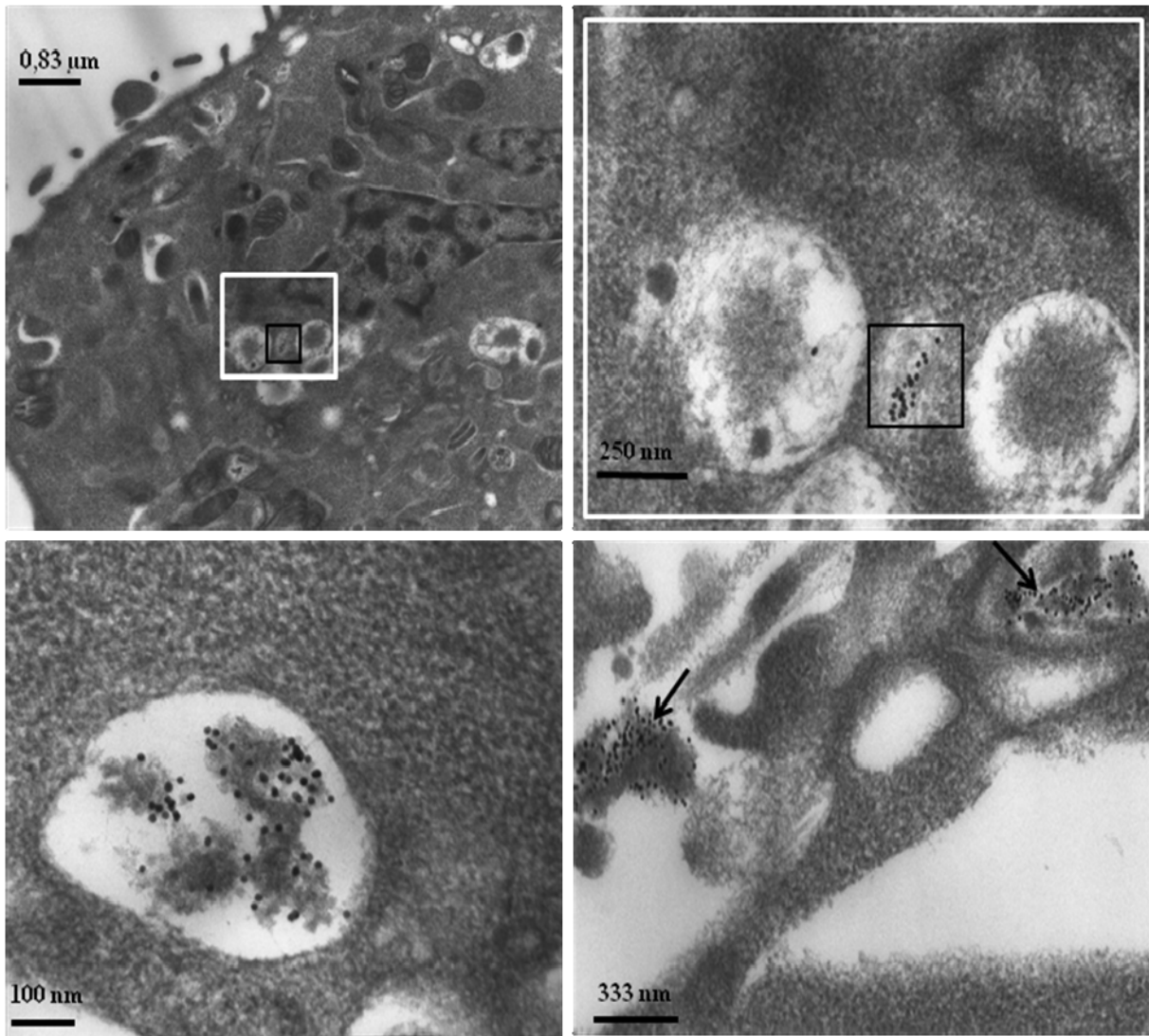


Figure IV. 11 : Clichés de MET sur des coupes fines de cellules après incubation 6 heures avec une solution de $EO_{272}PO_{29}/AuNPs$.

La première photo (en haut à gauche) montre un bout de cellule. La partie encadrée en blanc est montrée à un plus grand grossissement en haut à droite. Cette dernière montre que la partie marquée par un petit carré noir contient des nanoparticules à l'état non agrégé. D'autres photos prises sur cette grille montrent également que les nanoparticules sont entrées dans les cellules à l'état dispersé. D'autres concentrations en $EO_{272}PO_{29}/AuNPs$ ont montré des résultats similaires.

Pour conclure, les nanoparticules dans tous les cas après 6 heures d'incubation sont entrées dans les cellules. Elles se trouvent dans les cellules sous forme bien dispersés quand elles sont stabilisées avec le dibloc $EO_{272}PO_{29}$. Tandis que, dans le cas des nanoparticules or-citrate nues, et avec le système $F127/AuNPs$, les nanoparticules entrent dans les cellules sous forme des gros agrégats.

Afin d'avoir une idée sur la stabilité des nanoparticules stabilisées avec des Pluronic et EO₂₇₂PO₂₉ dans le mélange d'incubation (RPMI/H₂O), on a effectué des cinétiques suivies par UV-visible. Les résultats obtenus sont présentés dans le paragraphe qui suit.

V. Etude de la stabilité des AuNPs dans le mélange RPMI/H₂O

Des cinétiques sur F127/AuNPs, P123/AuNPs et EO₂₇₂PO₂₉/AuNPs à 37 °C dans le mélange RPMI/H₂O ont été suivies par spectroscopie UV-visible pendant 24 heures dans le cas des Pluronic et 20 heures pour EO₂₇₂PO₂₉. On a fixé le rapport polymère/particules dans l'eau, ensuite l'ensemble est dilué avec différents volumes de RPMI pour avoir à la fin 50% à 95% en RPMI dans le mélange.

Cas de F127/AuNPs : Dans tous les cas, et à toutes les concentrations en F127/AuNPs prises dans ces expériences, on a remarqué que les nanoparticules s'agrègent. En effet, dès que la solution colloïdale de nanoparticules est mélangée avec le RPMI, un changement instantané de couleur du rouge au bleu est observé. Les spectres d'absorptions à différentes concentrations sont présentés Figure IV. 12. On remarque que 5 minutes après l'ajout de RPMI, pour toutes les concentrations une nouvelle bande est localisée vers ~ 652 nm, indiquant un état d'agrégation plus ou moins similaire et indépendant de la concentration, à l'exception de F127/AuNPs (0,5mM/367µM) où la nouvelle bande est centrée vers ~ 634 nm.

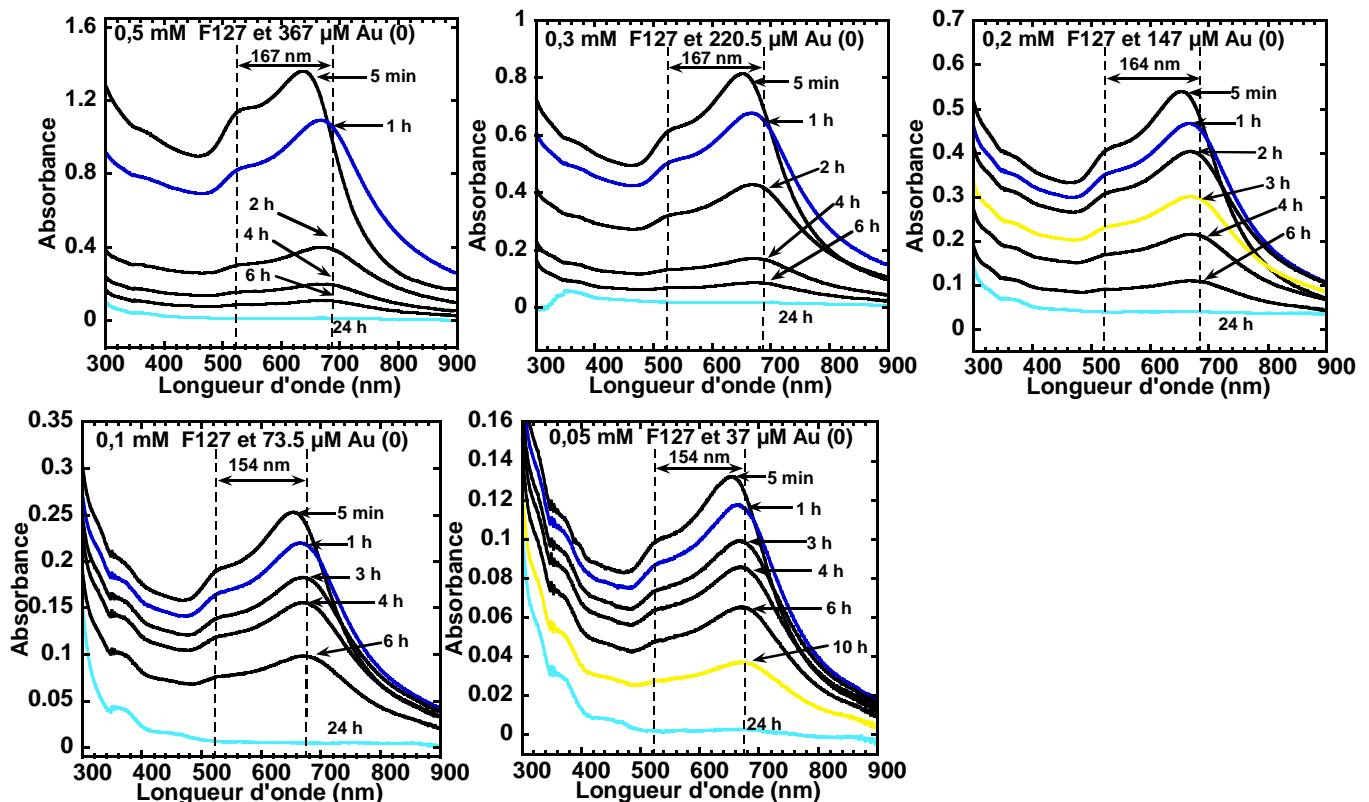


Figure IV. 12 : Spectres d'absorption dans le temps de F127/AuNPs à différentes dilutions par le RPMI (RPMI/H₂O = 50/50 ; 70/30, 80/20 ; 90/10 et 95/5 du premier au dernier graphe)

Ensuite sur des temps plus longs, on remarque dans tous les cas que la bande d'absorption se déplace légèrement vers les grandes longueurs d'ondes ($\Delta\lambda = 160 \pm 7$ nm). Ceci est accompagné de diminution de l'intensité d'absorption sur tous les spectres indiquant que les agrégats qui se forment décantent. Après 24 heures toutes les nanoparticules sont précipitées.

Cas de P123/AuNPs : Les spectres d'absorptions à différentes concentrations en P123/AuNPs sont présentés Figure IV. 13. On observe toujours l'apparition d'une deuxième bande vers des grandes longueurs d'ondes indiquant l'agrégation de nanoparticules en solution. Ensuite, dans le temps, sur toutes les concentrations, il y a déplacement de la nouvelle bande vers des longueurs d'ondes plus grandes, indiquant que les nanoparticules continuent à s'agréger.

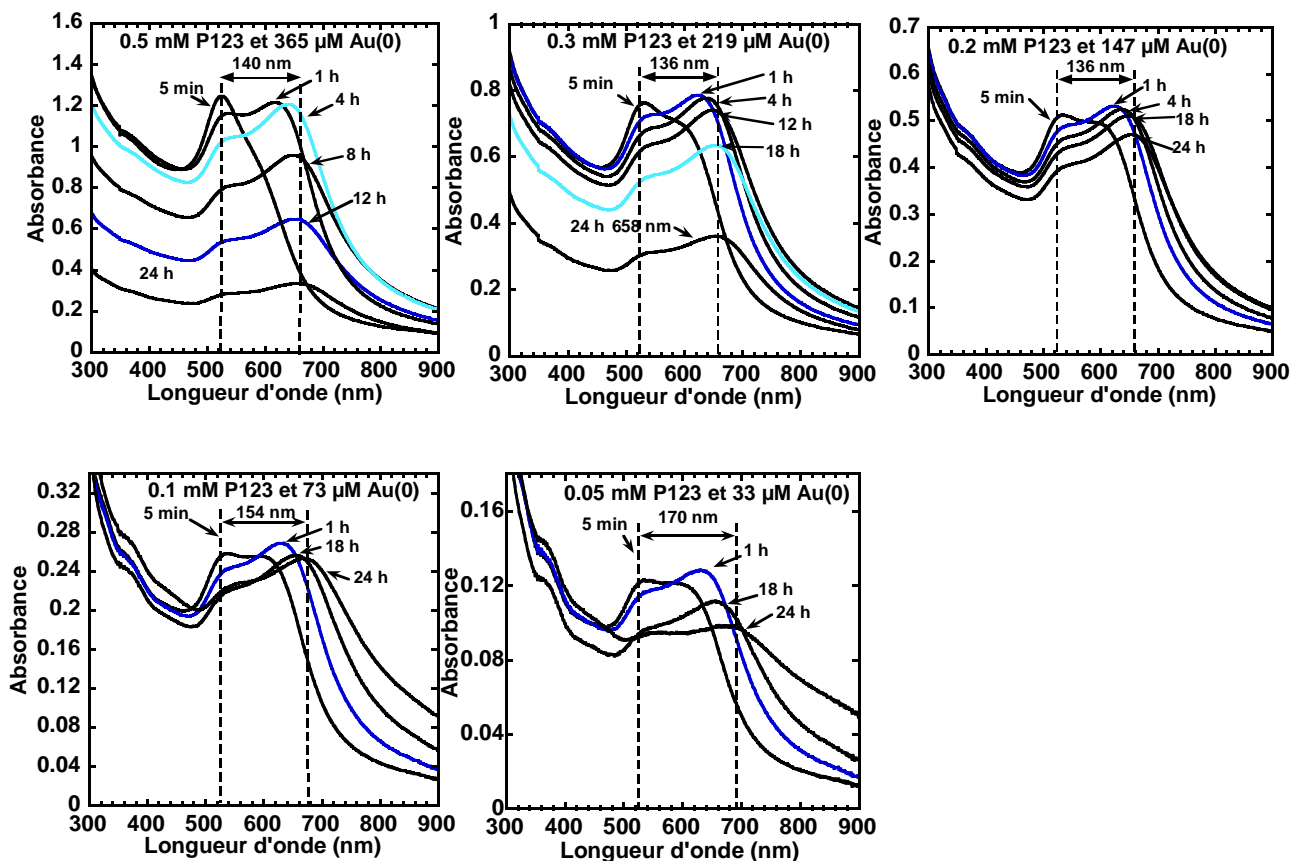


Figure IV. 13 : Spectres d'absorptions dans le temps de P123/AuNPs à différentes dilutions par le RPMI (RPMI/H₂O = 50/50 ; 70/30, 80/20 ; 90/10 et 95/5 du premier au dernier graphe).

Pour les fortes concentrations (0,5 à 0,2 mM P123 et 365 à 147 μ M Au(0)), le déplacement de la nouvelle bande atteint une position centrée à 660 ± 4 nm ($\Delta\lambda = 138 \pm 2$ nm) à 24 heures. Pour les concentrations plus petites, la bande est un peu plus déplacée ($\Delta\lambda > 154$ nm). Ceci peut être dû soit au fait que le mélange est de plus en plus riche en RPMI (90 et 95 % v/v en RPMI respectivement), soit au fait qu'aux faibles concentrations en polymère la protection des nanoparticules est moins efficace. On obtient alors des agrégats plus denses. Aux plus fortes concentrations, même si les agrégats ne sont pas si denses ($\Delta\lambda = 138 \pm 2$ nm), l'intensité diminue globalement indiquant que ces derniers précipitent. La décantation paraît être plus rapide quand la concentration augmente, tandis que pour les concentrations plus petites la diminution de l'intensité d'absorption n'est pas significative. Il est probable que cette décantation est dépendante du polymère et pas de tailles d'agrégats de nanoparticules. En effet, le P123 (70% en unités PO) à 37 °C est de plus en plus hydrophobe due à la

déshydratation des unités EO et PO, ce qui fait probablement que le polymère forme des objets plus hydrophobes qui probablement facilite la précipitation.

En conclusion, il apparaît ici que contrairement à ce qui a été décrit dans le chapitre II, les nanoparticules stabilisées par P123 sont plus résistantes à l'agrégation que dans le cas de F127. On note ici, que dans les conditions présentes (37 °C) on est toujours au dessus de la CMT.¹² En plus, il est possible qu'avec le P123 il existe des objets en solution de tailles plus grandes (comme des micelles allongées) peuvent être à l'origine de cette stabilité. En effet, on a effectué des mesures en DDL avec le P123 et on a remarqué que des objets de taille plus grande que les micelles contribuent de plus à l'intensité diffusée, tandis que dans le cas de F127 il y a seulement des micelles de diamètre de l'ordre ~20 nm. Figure IV. 14

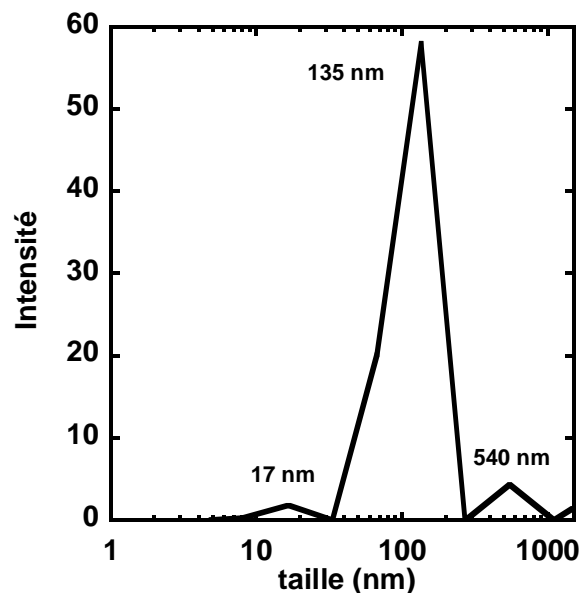


Figure IV. 14 : Distribution en taille de la contribution à l'intensité diffusée. Conditions : $[P123] = 0,012 \text{ mM}$ et $T = 35 \text{ °C}$.

Les micelles de P123 dans l'eau ont un diamètre d'environ 17 nm.¹³ Elles contribuent très peu à l'intensité diffusée. On remarque une grande contribution d'objets de taille plus grande (~120 nm) qui peuvent être des micelles allongées formées par des interactions des micelles sphériques de P123, ainsi qu'une faible contribution d'objets plus gros. Ces résultats nécessitent d'autres expériences afin de mieux comprendre la nature et la forme de ces objets.

Cas de EO₂₇₂PO₂₉/AuNPs : De même que précédemment une cinétique pendant 20 heures à 37 °C a été effectuée avec le système EO₂₇₂PO₂₉/AuNPs. Les spectres d'absorption sont présentés Figure IV. 15.

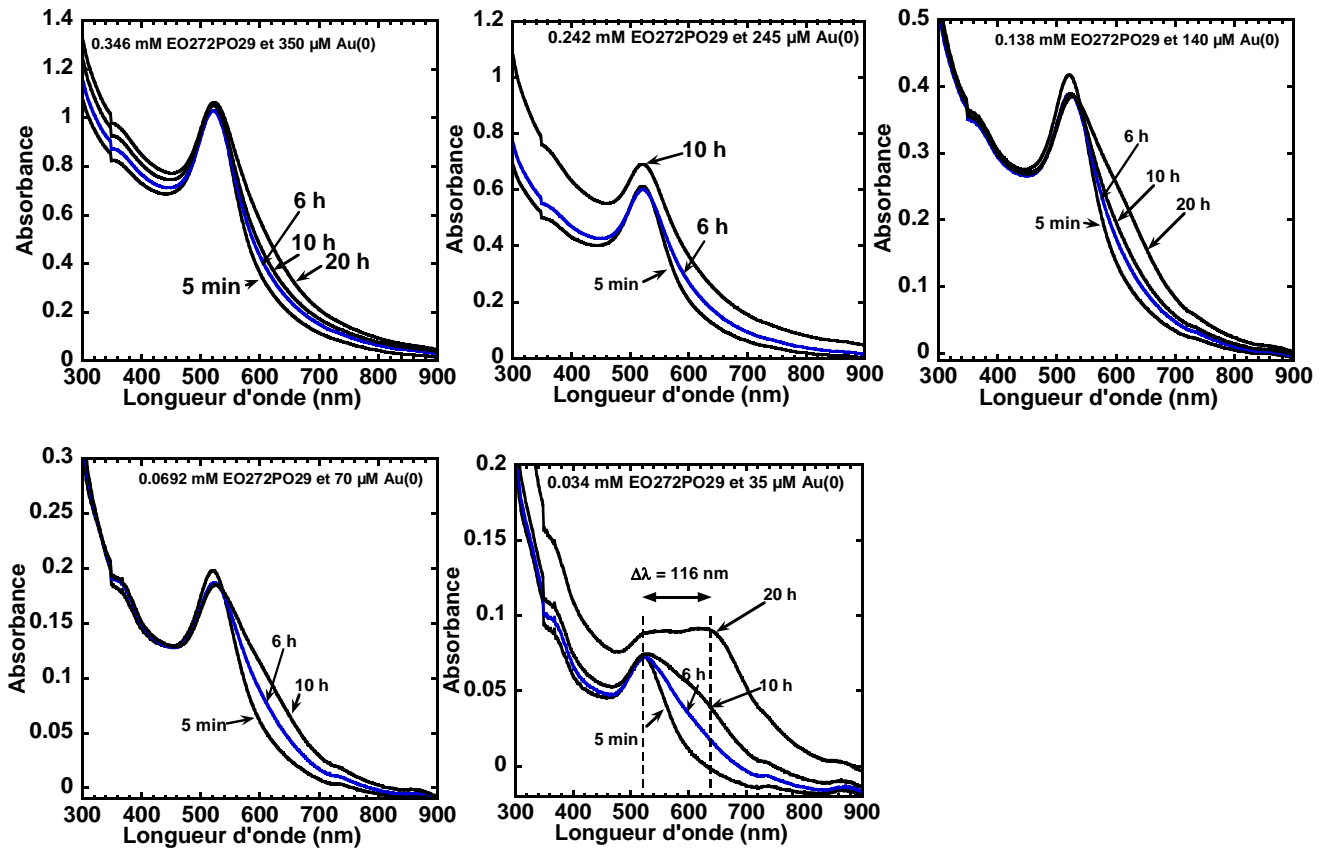


Figure IV. 15 : Spectres d'absorptions dans le temps de EO₂₇₂PO₂₉/AuNPs à différentes dilutions par le RPMI (RPMI/H₂O = 50/50 ; 65/35, 80/20 ; 90/10 et 95/5 du premier au dernier graphe).

Dans ce cas, à l'exception de la plus faible concentration (0,034 mM EO₂₇₂PO₂₉ et 35 μM Au(0)) qui montre une deuxième bande ($\Delta\lambda = 116$ nm), il n'y a pas une deuxième bande bien définie après 20 heures sur toutes les concentrations. On remarque un léger épaulement qui s'élargit lentement, indiquant une agrégation très lente. Dans certains cas on a observé un peu de diffusion aux temps longs. Cependant, après 6 heures l'agrégation n'est pas significative, ce qui confirme les résultats de MET avec le EO₂₇₂PO₂₉/AuNPs, où les nanoparticules sont trouvées à l'intérieur des cellules dans un état bien dispersées.

Dans ce cas comme précédemment pour F127 et P123 on est toujours à des concentrations supérieures à la CAC. Dans le chapitre 2 on a observé avec $EO_{272}PO_{29}$ à 25 °C deux types d'objets de tailles différentes en fonction de la concentration. Afin d'avoir une idée sur la taille des objets en solution à 37 °C, on a effectué des mesures en DDL à différentes concentrations en $EO_{272}PO_{29}$. Les diamètres hydrodynamiques obtenus sont présentées en fonction de la concentration en $EO_{272}PO_{29}$ Figure IV. 16 avec ceux à 25 °C.

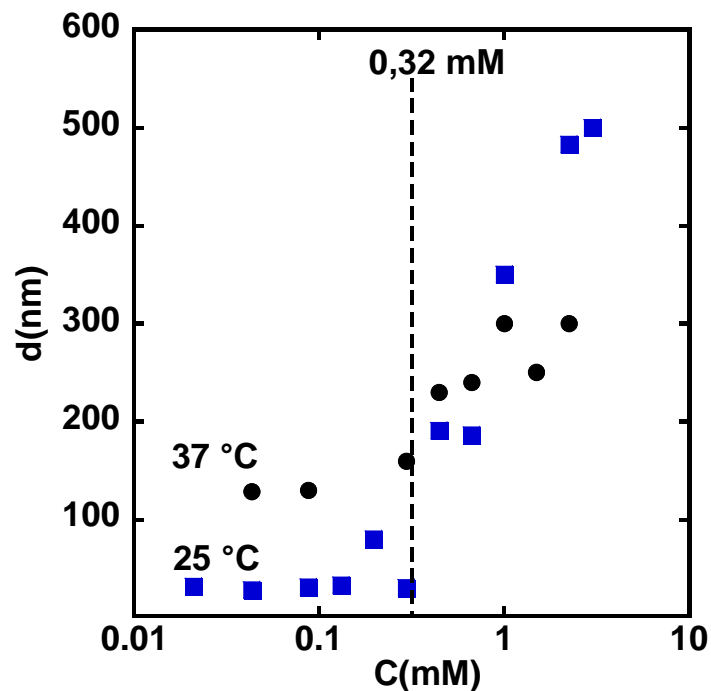


Figure IV. 16 : Diamètre hydrodynamique des objets de $EO_{272}PO_{29}$ mesurés par DDL, en fonction de la concentration à 25 °C (■) et 37°C (●).

On remarque qu'à 37 °C pour les faibles concentrations (~0,02 - 0,32 mM), les objets ont des tailles (~ 130 nm) supérieures à la taille des micelles obtenue à 25°C (~ 30 nm). Ceci peut correspondre à un changement de conformation des micelles de sphérique à allongée. Au-delà de 0,32 mM la taille des objets augmente avec la concentration jusqu'à une taille d'environ 300 nm, qui sont probablement des structures plus complexes (vésicules...). On peut donc conclure que dans les conditions physiologiques, les nanoparticules se trouvent en présence d'objets de taille supérieure à des micelles. Ces objets peuvent être à l'origine de la stabilité et des problèmes de diffusion parfois observé avec les solutions colloïdales $EO_{272}PO_{29}/AuNPs$. Toutefois, ces résultats nécessitent des expériences et des études supplémentaires, afin de mieux comprendre la nature et la forme de ces objets.

Pour conclure, les nanoparticules stabilisées avec de $\text{EO}_{272}\text{PO}_{29}$ paraissent être moins sensible à l'agrégation dans le RPMI que celles stabilisées avec des Pluronic. Ces résultats sont en bonne corrélations avec ceux de chapitre II. Toutefois, on note une agrégation importante des nanoparticules stabilisées par F127 ou P123 dans le RPMI, alors que ce dernier contient moins de sel (tampon Herpes (sulfonâtes) 25 mM) que les conditions utilisées au chapitre II. Il est donc probable qu'un autre constituant cause l'agrégation des nanoparticules. Le RPMI contient la L-glutamine (molécule avec deux fonctions amines). Il se peut que ces molécules viennent s'adsorber sur les nanoparticules d'or et déplacer le polymère ce qui peut probablement causer l'agrégation. Afin d'essayer de comprendre, et de se faire une idée sur l'effet d'ajout du RPMI sur une surface d'or. On a effectué une expérience avec une microbalance en quartz.

VI. Microbalance à quartz

La microbalance à quartz est une technique qui est souvent utilisée pour étudier l'adsorption des amphiphiles. Cette technique est basée sur les variations de vibrations d'un quartz (fréquence et dissipation). Le signal mesuré est sensible à la masse adsorbée sur le quartz, et aux propriétés viscoélastiques du fluide environnant. On a utilisé cette technique afin de regarder l'adsorption et la désorption des Pluronic. Le F127 a été sélectionné pour cette expérience. Les résultats obtenus sont montrés dans le graphe de la Figure IV. 17. Avant l'addition du F127 la surface d'or est saturée en citrate. Quand le F127 est déposé, ceci induit une diminution de la fréquence observée de 0 à -30 Hz, accompagnée de l'augmentation de l'énergie de dissipation de 0 à 5 indiquant ainsi que le polymère vient s'adsorber à la surface d'or. Ensuite l'ajout de quantités croissantes de polymère provoque de même, une diminution de la fréquence et une augmentation de D. Quand on rajoute du citrate à 4 mM, on observe une augmentation de la différence de fréquence de -50 à -25 Hz indiquant qu'une quantité de polymère est désorbé. Ceci est accompagné d'une diminution de la viscosité (D diminue de 14 à 4). Quand le RPMI est ajouté on détecte une faible variation du signal, vraisemblablement due à la viscosité du RPMI. Enfin si on ajoute encore du citrate, on remarque que très peu de variation dans ΔF et D est observé sans atteindre toujours les valeurs de départ (zéro).

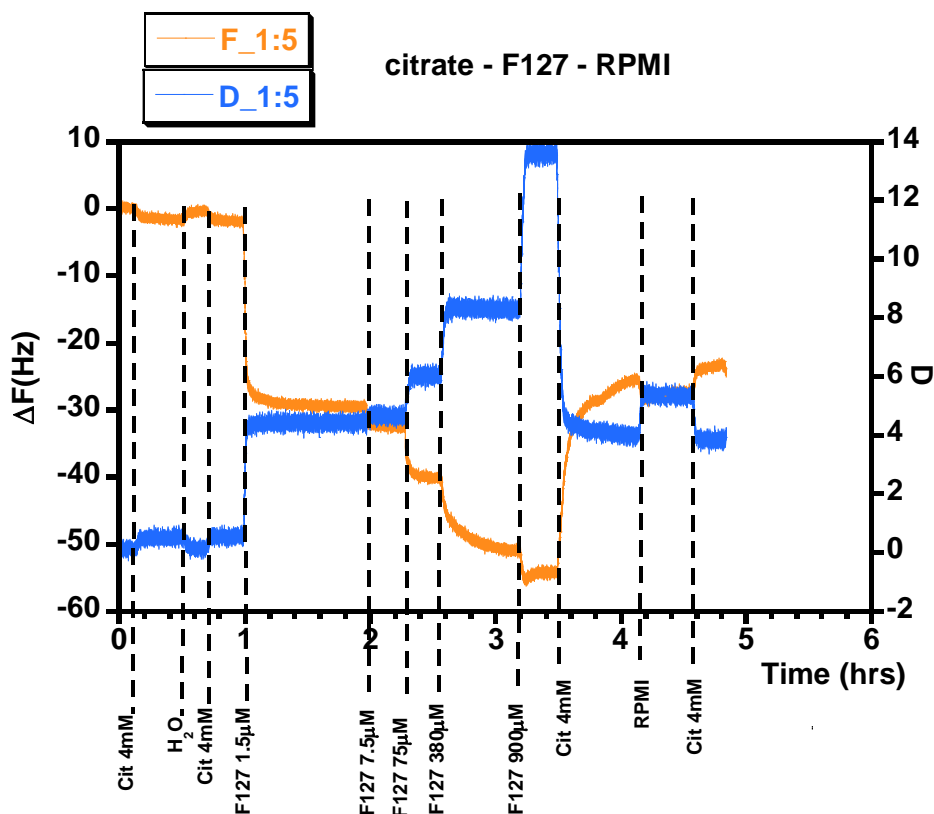


Figure IV. 17 : Graphe montrant la variation de la fréquence de résonance, et de l'énergie de dissipation induite par l'ajout de F127 et de RPMI sur un cristal recouvert d'une surface d'or.

De cette expérience, on peut tirer deux conclusions. Premièrement, la désorption du F127 induite par un lavage continu avec une solution de citrate est lente. L'allure de la courbe suggère qu'il faudrait bien plus qu'une dizaine d'heures pour tous désorber. Deuxièmement, en présence de RPMI, on ne note pas d'adsorption significative en masse sur la surface Au/F127. Des expériences plus profonde et sur des temps plus long sont toujours afin de vérifier cette hypothèse.

VII. Conclusions

Nos études de cytotoxicité avec des nanoparticules or-citrate enrobées ou non avec des copolymères à blocs, ont montré en général un faible effet de cytotoxicité dans les premières heures (24 à 48 heures) de différenciation dépendant de la concentration en nanoparticules et/ou nanoparticules/polymère. Pour les temps longs de culture, les cellules traitées présentent une viabilité proche à celle des cellules contrôle (non traitées), quelque soit la concentration

en nanoparticules et/ou polymère/nanoparticules utilisée. L'effet de concentration disparaît sur les temps de mise en culture. La microscopie électronique à transmission sur des cellules fixées après incubation a montré que dans tous les cas, avec ou sans polymère, les nanoparticules sont entrées dans les cellules. Dans le cas des nanoparticules or-citrate, et Pluronic/AuNPs les nanoparticules sont très sensibles à la présence de RPMI qui cause leur agrégation. Ces dernières entre donc dans les cellules sous forme agrégée, tandis qu'avec le système $\text{EO}_{272}\text{PO}_{29}$ /AuNPs les nanoparticules d'or conservent leur état de dispersion initial pendant les 6 heures d'incubation dans le mélange RPMI/ H_2O , et se trouvent dans les cellules à l'état non agrégée. Dans certains cas les membranes de cellules sont apparues un peu déchirées ce qui fait que certaines cellules sont mortes.

VIII. Bibliographie

1. Zhang, T. T.; Stilwell, J. L.; Gerion, D.; Ding, L. H.; Elboudwarej, O.; Cooke, P. A.; Gray, J. W.; Alivisatos, A. P.; Chen, F. F., Cellular effect of high doses of silica-coated quantum dot profiled with high throughput gene expression analysis and high content cellomics measurements. *Nano Letters* **2006**, 6, (4), 800-808.
2. Chithrani, B. D.; Ghazani, A. A.; Chan, W. C. W., Determining the size and shape dependence of gold nanoparticle uptake into mammalian cells. *Nano Letters* **2006**, 6, (4), 662-668.
3. Shukla, R.; Bansal, V.; Chaudhary, M.; Basu, A.; Bhonde, R. R.; Sastry, M., Biocompatibility of gold nanoparticles and their endocytotic fate inside the cellular compartment: A microscopic overview. *Langmuir* **2005**, 21, (23), 10644-10654.
4. Khan, J. A.; Pillai, B.; Das, T. K.; Singh, Y.; Maiti, S., Molecular effects of uptake of gold nanoparticles in HeLa cells. *Chembiochem* **2007**, 8, (11), 1237-1240.
5. Tkachenko, A. G.; Xie, H.; Coleman, D.; Glomm, W.; Ryan, J.; Anderson, M. F.; Franzen, S.; Feldheim, D. L., Multifunctional gold nanoparticle-peptide complexes for nuclear targeting. *Journal of the American Chemical Society* **2003**, 125, (16), 4700-4701.
6. Connor, E. E.; Mwamuka, J.; Gole, A.; Murphy, C. J.; Wyatt, M. D., Gold nanoparticles are taken up by human cells but do not cause acute cytotoxicity. *Small* **2005**, 1, (3), 325-327.
7. Tsoli, M.; Kuhn, H.; Brandau, W.; Esche, H.; Schmid, G., Cellular uptake and toxicity of Au(55) clusters. *Small* **2005**, 1, (8-9), 841-844.
8. Liu, Y. P.; Meyer-Zaika, W.; Franzka, S.; Schmid, G.; Tsoli, M.; Kuhn, H., Gold-cluster degradation by the transition of B-DNA into A-DNA and the formation of nanowires. *Angewandte Chemie-International Edition* **2003**, 42, (25), 2853-2857.
9. Pan, Y.; Neuss, S.; Leifert, A.; Fischler, M.; Wen, F.; Simon, U.; Schmid, G.; Brandau, W.; Jahnen-Dechent, W., Size-dependent cytotoxicity of gold nanoparticles. *Small* **2007**, 3, (11), 1941-1949.
10. Pernodet, N.; Fang, X. H.; Sun, Y.; Bakhtina, A.; Ramakrishnan, A.; Sokolov, J.; Ulman, A.; Rafailovich, M., Adverse effects of citrate/gold nanoparticles on human dermal fibroblasts. *Small* **2006**, 2, (6), 766-773.
11. Patra, H. K.; Banerjee, S.; Chaudhuri, U.; Lahiri, P.; Dasgupta, A. K., Cell selective response to gold nanoparticles. *Nanomedicine-Nanotechnology Biology and Medicine* **2007**, 3, (2), 111-119.
12. Alexandridis, P.; Holzwarth, J. F.; Hatton, T. A., Micellization of Poly(ethylene oxide)-Poly(propylene oxide)-Poly(ethylene oxide) Triblock Copolymers in Aqueous Solutions: Thermodynamics of Copolymer Association. *Macromolecules* **1994**, 27, (9), 2414-2425.
13. Soni, S. S.; Brotons, G.; Bellour, M.; Narayanan, T.; Gibaud, A., Quantitative SAXS analysis of the P123/water/ethanol ternary phase diagram. *Journal of Physical Chemistry B* **2006**, 110, (31), 15157-15165.

Partie Expérimentale

Table des matières

I. Matériels	206
II. Préparation des systèmes	206
II-1. Synthèse des nanoparticules d'or	206
II-2. Echantillons pour les études de la stabilisation.....	207
III. Techniques d'analyse physicochimique	207
III-1. Spectroscopie UV-visible (UV-vis)	207
III-2. Microscopie Electronique à Transmission (MET)	208
III-3. Cryo Microscopie électronique à Transmission (Cryo-MET).....	209
III-4. Tension de surface	209
III-5. Spectrofluorimétrie	210
III-6. Diffusion Dynamique de la Lumière (DDL).....	211
III-7. Zétamétrie	212
III-8. Diffusion des neutrons aux petits angles.....	214
IV. Lyophilisation	215
V. Culture cellulaire	215
V-1. Viabilité.....	216
V-2. MET sur les cellules après fixation	217

I. Matériels

• **Matériels et solvant utilisés :** L'eau est purifiée par un filtre et une résine échangeuse d'ions (résistivité $16 \approx \text{M}\Omega\cdot\text{cm}$), en utilisant un dispositif Purite. Toute la verrerie a été nettoyée avant d'être utilisée avec une solution d'acide (3 parties de HCl concentré et 1 partie de HNO₃ concentré), rincée à l'eau triplement distillée, à l'éthanol à l'acétone puis séchée au four. L'acide tetrachloroaurique trihydrate (HAuCl₄, 3H₂O), le citrate de sodium (C₆H₅Na₃O₇, 2H₂O), le chlorure de sodium (NaCl), les Pluronic[®] F127, F68 et le polyéthylèneglycol ($M_w = 8000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) ont été achetés auprès de Sigma Aldrich. Les Pluronic[®] P123, P104, P84, F88, L62, L64, F108, P85 et P65 ont été donnés par BASF. Certaines de leurs caractéristiques moléculaires sont énumérées dans le tableau 1 (voir chapitre 2). Les diblocs poly(ethylene oxide-b-propylene oxide) EO₁₂₀₀₀PO₁₇₀₀ ($M_w/M_n = 1,08$) et EO₅₀₀₀PO₁₁₀₀ ($M_w/M_n = 1,08$) ont été achetés auprès de « Polymer Source ». Tous les produits ont été utilisés tel qu'ils ont été reçus, sans autre purification.

II. Préparation des systèmes

II-1. Synthèse des nanoparticules d'or

La synthèse des nanoparticules d'or dans notre étude est faite de la manière suivante :

50 mL d'une solution aqueuse de HAuCl₄, 3H₂O ($1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) sous agitation, sont chauffés jusqu'à reflux, pendant 15 à 17 minutes. Ensuite 5 mL d'une solution de citrate de sodium (38,8 mM) sont injectés rapidement au niveau du vortex, par une seringue. Le chauffage est maintenu pendant 12 minutes après l'injection du citrate, puis arrêté. La solution est laissée à la température ambiante sous agitation continue.

Après injection du citrate, la couleur de la solution d'or passe de jaune clair à incolore, puis en 15 à 20 secondes devient grisâtre ou bleu foncé (nucléation), et après environ 70 à 90 secondes, elle prend sa couleur finale rouge vin, qui indique la formation de nanoparticules d'or.

La concentration en Au(0) dans le bain de synthèse est de $9,09\cdot 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, dans un volume de 55 ml, ce qui correspond à $5\cdot 10^{-5}$ mole, soit $N = 3,011\cdot 10^{19}$ atomes d'or. La taille des nanoparticules trouvées en MET est de l'ordre de $\sim 12 \text{ nm}$. Le nombre d'atomes d'or par une particule sphérique est estimé à $N_{\text{Au/np}} = 5,3\cdot 10^4$ atomes/particule (voir chapitre 2 pour le

calcul en détail). Donc la concentration en nanoparticules dans le bain de synthèse est de l'ordre de 17 nmol.L^{-1} . Dans les expériences de stabilisation la solution mère des nanoparticules d'or a été souvent diluée 5 fois.

Les nanoparticules d'or obtenues par cette méthode de synthèse ont été caractérisées par **spectroscopie UV-visible**, en utilisant des cuves en polystyrène d'un centimètre de trajet optique. La solution mère est diluée 5 fois ($[\text{AuNPs}] = 3,40 \text{ nmol.L}^{-1}$) pour la mesure, le spectre pris entre 300 et 820 nm ($A \sim 0,65$ à 520 nm).

II-2. Echantillons pour les études de la stabilisation

Pendant toutes les expériences, et pour chaque série de polymères, un même bain de synthèse de nanoparticules fraîchement préparé a été utilisé. Des solutions concentrées de polymère préparés une nuit à l'avance et conservées au frigo ont été utilisées. La solution colloïdale finale du mélange polymère/AuNPs contient $3,40 \text{ nmol.L}^{-1}$ en nanoparticules (0,5 mL de la solution mère dans 2,5 mL), et différents volumes (1mL, 0,9 mL.....) de solution de polymère concentrée sont ajoutés afin d'atteindre la concentration finale désirée de polymère en solution, le volume de l'ensemble est complété à 1,5 mL avec de l'eau ultra pure. Ensuite, la force ionique de la solution a été ajustée à $0,9 \text{ mol.L}^{-1}$ NaCl en complétant le volume à 2,5 mL avec une solution de NaCl à $2,25 \text{ mol.L}^{-1}$. Les spectres d'absorption sont enregistrés dans le temps après l'ajout de sel ($t=0$). Les expériences de comparaison sont effectuées dans les mêmes conditions (avec ou sans agitation).

III. Techniques d'analyse physicochimique

Les techniques de caractérisation et la préparation des échantillons seront développés en détail dans les paragraphes suivant :

III-1. Spectroscopie UV-visible (UV-vis)

Les mesures sont effectuées sur un spectrophotomètre à barrette de diodes Hewlett Packard HP 8452A Diode Array Spectrophotometer ou sur un Varian Carry 100 bio équipé d'un passeur.

On utilise des cuves en polystyrène, ou en quartz. Le trajet optique est de 1 cm.

III-2. Microscopie Electronique à Transmission (MET)

Principe : La MET est une technique de microscopie où un faisceau d'électrons est « transmis » à travers un échantillon très mince. Les électrons sont absorbés par les éléments riches en électrons (principalement les métaux). Les électrons transmis donnent naissance à une image. Plus l'objet est dense en électron plus il apparaît sombre. L'émission des électrons est produite par chauffage d'un filament de tungstène ou d'un cristal d'hexaborure de lanthane. Un vide poussé est effectué dans le tube du microscope. La tension accélératrice est de l'ordre de 200 kV pour les appareils les moins onéreux et 1000 kV pour les plus perfectionnés. Les lentilles magnétiques constituées d'une bobine et d'un noyau de fer focalisent le faisceau d'électrons. La variation de la distance focale permet de faire varier le grandissement (jusqu'à 1000000 x).

Appareillage : Les mesures se font au Centre de Microscopie Électronique Appliquée à la Biologie (CMEAB) sur un Hitachi HU12A à 125 kV ou 75 KV.

Une grille recouverte de carbone FORMVAR est trempée dans une goutte de la solution à analyser puis séchée, avant d'être introduite dans le microscope.

Les clichés de Microscopie Electronique à Transmission (MET) des nanoparticules or-citrate après la synthèse ont été analysés automatiquement, en utilisant Image J software (<http://rsbinfo.nih.gov/ij/>) plus de 1000 particules sont comptés par cliché et mesuré.

MET coloration négative

Une goutte de la solution aqueuse à étudier (polymères/particule) à été tout d'abord déposée sur une grille de MET en cuivre revêtue de carbone (Quantifoil, Allemagne ou Formvar), puis laissée sécher à l'air. L'échantillon a ensuite été négativement coloré à l'acétate d'uranyle (Merck, Allemagne). Pour cela, la grille a été successivement placée sur une goutte d'une solution aqueuse d'acétate d'uranyle (2% w/w) et sur une goutte d'eau distillée. Ensuite, les grilles ont été séchées à l'air avant de les introduire dans le microscope électronique. Les échantillons ont été visualisés par Cédric Gaillard à l'INRA, Nantes en utilisant un JEOL JEM-1230 TEM fonctionnant à 80 kV. Soit sur un Hitachi HU12A à 125 kV ou 75 KV au CMEAB (cas de F108 et P123).

Les solutions sont préparées par dilutions successives d'une solution mère avec de l'eau ultrapure.

III-5. Spectrofluorimétrie

Les mesures de fluorescence sont effectuées sur un spectrofluoromètre *PTI* (*Photon Technology International*) équipé d'une lampe EIMAC au Xénon de 175 watts. Tous les spectres sont automatiquement corrigés de la réponse de l'appareil. Les ouvertures de fentes sont réglées de manière à ce qu'avec l'échantillon le plus concentré en polymère, on obtienne un spectre non saturé à la longueur d'excitation utilisé. Les échantillons sont préparés selon la manière suivante :

Préparation des échantillons : Une solution mère de DPH (1,6-diphényl-1,3,5-hexatriène, 98 %, Aldrich, à été préparé dans l'acétone $\sim 65 \mu\text{mol.L}^{-1}$. De cette solution, on prélève 100 μL ($m \sim 0,078 \text{ g}$) à l'aide d'une micro-seringue, et on laisse sécher pendant une nuit. La poudre résultant est solubiliser dans 3 mL de méthanol et le spectre d'absorption est enregistré et montré dans le graphe ci-dessous.

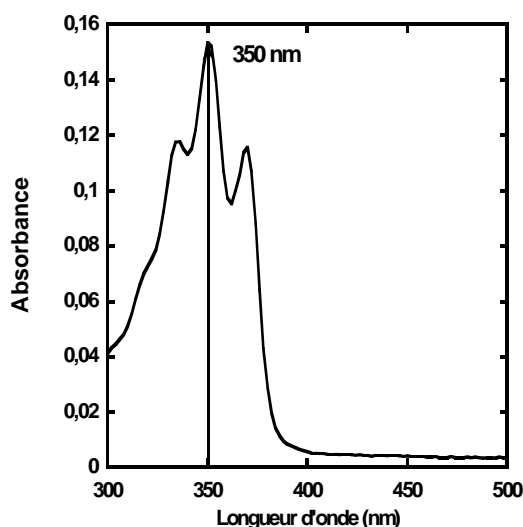


Figure 1. Spectre d'absorption de la DPH dans le MeOH. $[DPH] = 2,16 \mu\text{mol.L}^{-1}$

L'intensité d'absorption à 350 nm est de l'ordre de 0,15 quand toute la quantité de DPH est soluble. Pour toutes les échantillons de la fluorescence avec les polymères la même quantité de la solution de DPH à $\sim 65 \mu\text{mol.L}^{-1}$ (100 $\mu\text{L} \sim 0,078 \text{ g}$) est prélevée et séchée dans un tube à hémolyse pendant une nuit. Ensuite, 3mL d'une solution aqueuse de $\text{EO}_{272}\text{PO}_{29}$, ou

EO₁₁₃PO₂₉ à une concentration donnée est ajouté dans chaque tube. On attend au moins 24 heures avant que les mesures de fluorescence soient effectuées. Les spectres d'émissions des différents échantillons sont enregistrés entre 360 et 500 nm, la DPH est excitée à 353 nm. Enfin, les valeurs de l'intensité de fluorescence émise à 428 nm sont extraites à partir des spectres d'émission et tracés en fonction de la concentration en polymère pour déterminer les CAC (voir chapitre 2).

III-6. Diffusion Dynamique de la Lumière (DDL)

Principe : Le principe de la DDL consiste à mesurer au cours du temps t l'intensité de la lumière diffusée par une solution colloïdale à un angle θ . On en déduit la fonction d'auto-corrélation $g(\tau) = \langle I(t)I(t+\tau) \rangle / \langle I \rangle^2$ de cette intensité. Dans le cas de nanoparticules sphériques en solution, cette fonction est liée aux mouvements aléatoires Browniens (Figure a).

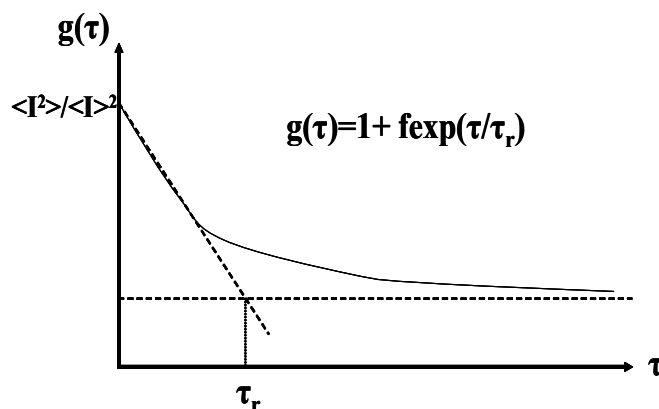


Figure 2. a) Schéma de la fonction d'auto corrélation en fonction de τ .

Dans le cas de la Figure 2. , la fonction $g(\tau)$ présente une décroissance monoexponentielle caractérisée par une constante τ_r . La valeur de τ_r permet d'évaluer le coefficient de diffusion D selon l'équation suivante :

$$\tau_r = 1/Dq^2$$

avec q : la valeur absolue du vecteur d'onde, $q = 4\pi \sin(\theta/2) / \lambda$.

L'équation de Stokes Einstein permet alors d'en déduire le rayon hydrodynamique R_h des particules :

$$R_h = KT/6\pi\eta D$$

avec η : viscosité du solvant.

Pour une solution polydisperse, la fonction d'auto-corrélation peut s'écrire sous la forme $g(\tau) = \sum (1 + f_i \exp(\tau/\tau_{ri}))$. La détermination des f_i et τ_{ri} permet d'évaluer la distribution en taille, et donc de déterminer la polydispersité des nanoparticules. Par ailleurs, l'intensité diffusée est dépendante de nombre de particules diffusantes. En tenant compte de cela, et en appliquant un modèle statistique, une distribution de la taille des particules peut être déterminée.

La DDL présente par ailleurs l'avantage d'être effectuée *in situ*.

Appareillage : Les mesures de DDL ont été réalisées sur un appareil Malvern Instrument Zetasizer 3000HSA à un angle de 90° à une température donnée. La source de lumière est un Laser He-Ne de longueur d'onde 633 nm. La température est régulée à $\pm 0,1$ °C par une plaque à effet pelletier. Afin d'obtenir une distribution de taille des agrégats, le modèle « Non Negative Least Squares » (NNLS) est utilisé pour le paramétrage des fonctions d'auto-corrélation.

Préparation des échantillons: Les échantillons de polymères seuls sont préparés par dilutions successives d'une solution mère concentrée avec de l'eau ultrapure, afin d'obtenir la concentration désirée en polymère. Les échantillons de polymère/AuNPs et AuNPs seules sont préparés de la même manière que pour la stabilisation, mais sans sel. Le volume est complété à 2,5 mL avec de l'eau ultrapure, la concentration finale en AuNPs étant toujours $\sim 3,40$ nmol.L⁻¹. Les mesures à différentes températures sont effectuées en augmentation et en descente de température, 5 minutes après que la température désirée soit atteinte.

III-7. Zétamétrie

Définition du potentiel zêta : Une particule chargée en solution va s'entourer d'un nuage ionique,¹ de telle façon qu'il existe une double couche électrique autour de chaque particule. La première couche est appelée couche de Stern. Elle correspond à la région la plus proche de la surface et comporte des ions fortement liés à cette dernière. La seconde, externe, est plus diffuse et présente une distribution ionique déterminée par les forces électriques mais aussi par les mouvements thermiques aléatoires. Le plan externe glissant (plan de cisaillement) de

la particule est située à la surface extérieure de cette seconde couche. Lorsque la particule bouge dans le milieu on considère que la structure de ces couches reste stable. C'est au niveau du plan glissant (plan de cisaillement) que le potentiel zêta est mesuré. Le rayon hydrodynamique mesuré en DDL correspond également au rayon pris à ce plan de cisaillement

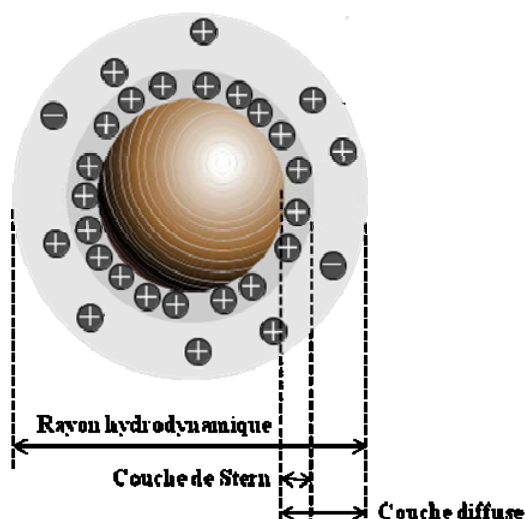


Figure 3. *Modèle de Stern de la double couche ionique à la surface d'une nanoparticule en solution.*

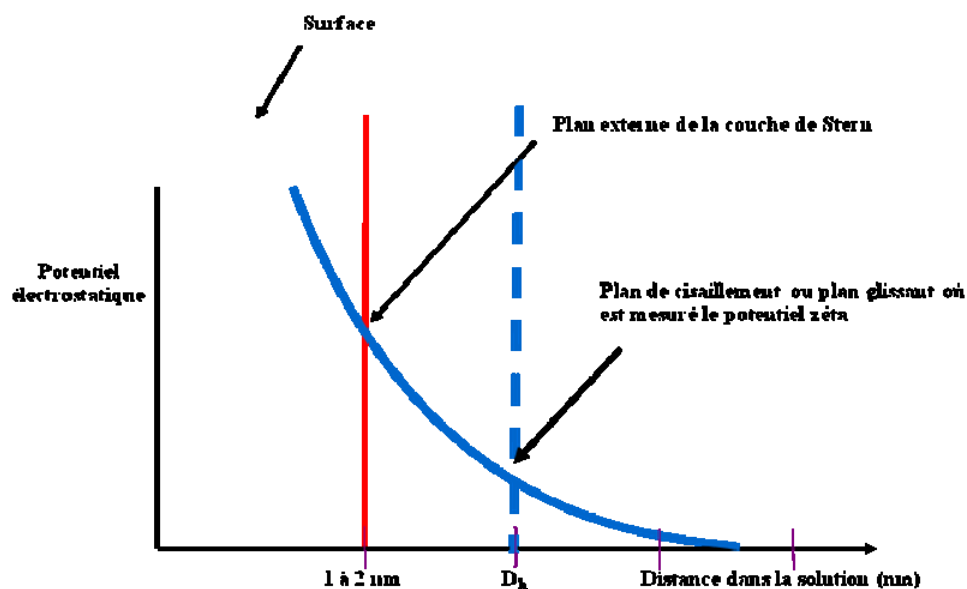


Figure 4. *Evolution du potentiel électrique en fonction de la distance à la particule.*

Principe de la mesure : lorsque la solution est soumise à un champ électrique, il en résulte un phénomène de microélectrophorèse. Les particules chargées vont se déplacer vers

l'électrode de signe opposé. A l'équilibre, l'intensité des forces de frottement est égale à l'intensité de la force d'attraction électrostatique. Les particules vont donc se déplacer à vitesse constante. Cette vitesse dépend du champ électrique appliqué, de la constante diélectrique du milieu et du potentiel zêta qui est le potentiel mesuré au niveau du plan de cisaillement.

La détermination de la vitesse de migration permet d'accéder au potentiel zêta de la particule et à la mobilité électrophorétique dans le milieu étudié. Cette dernière est définie par :

$$\mu = V/E$$

avec V la vitesse en $\mu\text{m}/\text{secondes}$, E le champ électrique en volts/cm et μ la mobilité électrophorétique en $\mu\text{m}/\text{s}/\text{volts}/\text{cm}$.

La conversion des mobilités en potentiel zêta s'effectue à l'aide de la loi de Henry :

$$\mu = \varepsilon \zeta [1 + f(ka)]/6\pi\eta$$

avec ε la constante diélectrique, ζ le potentiel zêta, η la viscosité (1cp à 25°C), a le rayon de la particule, et $1/k$ l'épaisseur de la double couche (k paramètre de Debye Huckel).

Appareillage : Le potentiel zêta ξ est mesuré avec un appareil Malvern Instrument Zetasizer 3000HSA.

III-8. Diffusion des neutrons aux petits angles

Les expériences de diffusion des neutrons aux petits angles ont été réalisées par J. Oberdisse à l'Institut Laue-Langevin (Grenoble, France) sur une ligne de faisceau D11, en recueillant des données en trois configurations différentes (longueur d'onde $\lambda = 6 \text{ \AA}$, distance échantillon-détecteur $D = 1,2 \text{ m}$, 5 m , et 20 m). La plage totale q est $0,001-0,30 \text{ \AA}^{-1}$. Les intensités diffusées ont été corrigées par la diffusion de la cuve vide, et la normalisation du détecteur a été faite en divisant par la diffusion de 1 mm d'eau légère, avant de réduire les données à l'échelle absolue (à l'aide des constantes d'instrument données par l'ILL), et en soustrayant le bruit de fond incohérent.

Préparation des échantillons : Les dispersions de AuNps obtenues par la procédure standard de réduction du sel d'or avec du citrate, n'étaient pas suffisamment concentrées ($\sim 17 \text{ nmol.L}^{-1}$)

¹) pour les mesures. Par conséquent, on a procédé à une étape de lyophilisation/dispersion pour obtenir des préparations plus concentrées, comme suit :

25 mL d'une solution de AuNPs diluée 5 fois ($[AuNPs] \sim 3,4 \text{ nmol.L}^{-1}$) et stabilisées avec le polymère ($[F127] = 0,04 \text{ mmol.L}^{-1}$), a été lyophilisé. La poudre rouge obtenu est partagée dans deux Eppendorfs, environ 9 mg dans chaque, puis solubilisée dans 1,25 mL d'un mélange de H₂O/D₂O (27,5/72,5). La composition finale de la solution colloïdale a été estimée par son absorbance à A₅₂₀ ($[AuNp] \sim 4,9.10^{-4} \text{ mmol.L}^{-1}$ $[F127] \sim 0,26 \text{ mmol.L}^{-1}$). Pour le polymère seul, une solution $[F127] = 0,20 \text{ mmol.L}^{-1}$ a été préparée avec D₂O comme solvant.

IV. Lyophilisation

La lyophilisation est effectuée sur un lyophilisateur LABCONCO[®] fonctionnant sous pression de 40 atmosphères et à une température de -55°C. Les échantillons sont préparés de la manière suivante : à partir de 1 mL de la solution mère de nanoparticules ($\sim 17 \text{ nmol.L}^{-1}$) on ajoute un volume approprié d'une solution concentrée de polymère afin d'avoir la concentration souhaitée puis le volume est complété à 5 mL avec de l'eau ultrapure. Ensuite, les solutions sont congelées dans l'azote liquide et mises au lyophilisateur pendant une nuit.

V. Culture cellulaire

Les lignées cellulaires de CHO sont cultivées en couche monocellulaire sur un support de culture (dans une boîte de culture NUNC de 25 mL) pendant ~ 48 heures, dans un milieu constitué de RPMI 1640 (Gibco) supplémenté avec de la glutamine (1% v/v, BioWhittaker), 8% de SVF (sérum de veau foetal, FBS Gibco), 1% d'une solution de pénicilline – streptomycine (Sigma), et une solution stérile of D(+)-glucose (3.5 g/L, Fluka), dans une atmosphère constituée de 5% de CO₂ et 95% d'air à 37 °C. Dans ces conditions les cellules présentent une inhibition de contact lorsqu'elles sont en confluence et le temps de génération cellulaire est de l'ordre de 16-18 heures. Elles sont repiquées toutes les 48 heures selon la procédure suivante. Le milieu de culture cellulaire est aspiré (pipette stérilisée) des boites de culture qui sont ensuite lavé avec du PBS, puis le PBS est aspiré. 500 μL de trypsine diluée 10

fois dans le PBS ($\sim 65 \mu\text{mol.L}^{-1}$) sont ensuite ajoutés afin de décoller les cellules. La surface du support de la boîte est mouillée avec de la trypsine afin de recouvrir le tapis cellulaire. La boîte est mise pendant ~ 1 minute à l'étuve à 37°C sous 5 % de CO_2 . Ensuite, on vérifie si les cellules sont bien décollées au microscope optique (sinon on remet à l'étuve un temps plus long). Enfin, on ajoute 2,5 mL du milieu sur les cellules et on mélange bien. Une fois les cellules décollées, elles peuvent être utilisées soit pour préparer les boîtes de puits où on étudie la cytotoxicité, soit pour préparer une nouvelle boîte de culture qui sera repiquée de la même manière après 2 jours et ainsi de suite...

Pour les études de cytotoxicité dans des boîtes de 24 puits (NUNC), 1 mL de milieu est ajouté dans chaque puits. Ensuite, 30 μL des cellules décollées comme précédemment sont ajoutées à chaque puits et les boîtes sont mises à l'étuve (37°C , 5% CO_2) pendant 24 heures avant l'ajout des produits à étudiés. Les cellules sont laissées se proliférer pendant 24 heures dans des boîtes de puits (24 puits, soit 12 puits ou 6 puits dans le cas de la MET), ensuite le milieu est retiré et les cellules sont rincées 2 fois avec du PBS et exposées pendant 6 heures au produit étudié selon la procédure qui suit : Plusieurs boîtes sont effectuées pour chaque expérience afin d'étudier la viabilité à des temps différents (1 boîte pour un temps donné).

Une solution polymère/particule, ou de particules seules est préparée. Ensuite, les différentes concentrations sont obtenues par dilution de cette solution avec le RPMI directement dans les puits. Chaque concentration est faite en quadruplet dans les boîtes de 24 puits et en doublet dans les boîtes de 12 puits. Pour les contrôles, deux types de contrôles sont effectués soit avec 100% RPMI ou avec un mélange 50/50 eau ultrapure/RPMI (2 puits pour chaque blanc pour une boîte de 24 puits et 1 pour une boîte de 12 puits). Suite à l'incubation les solutions des produits à étudiées sont déplacées ensuite les puits sont rincés 2 fois avec une solution tampon de PBS, et le milieu est ajouté. Enfin, les cellules sont laissées se proliférer à 37°C sous 5% de CO_2 , et la viabilité est mesurée après 24, 43, 48, 72, 91 heures de prolifération.

V-1. Viabilité

La mesure de la densité cellulaire est réalisée par dosage colorimétrique «MTT». Il s'agit de d'une réduction enzymatique mitochondriale (par la déshydrogénases mitochondriale) du sel de MTT (bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényl tétrazolium) jaune en formazan violet insoluble dans l'eau (soluble dans le diméthyl sulfoxyde DMSO).

Les mesures d'absorbance à 560 nm sont effectuées sur un spectromètre CARY 100 Bio, ou 8452 Hewlett Packard. Le blanc, qui correspond aux puits de contrôle RPMI 100% et RPMI/H₂O (50/50 soit 80/20). La densité optique (DO) des cellules du blanc correspond au 100 % de viabilité.

Le pourcentage de survie d'un échantillon est :

$$\text{Viabilité (\%)} = \text{DO}_E \times 100 / \text{DO}_c$$

DO_E : densité optique des cellules en présence des produits étudiées.

DO_c : densité optique du blanc.

L'étude de la viabilité est effectuée selon le protocole suivant :

Au bout de 24, 43, 48, 72 ou 91 heures le milieu de culture est éliminé et les cellules sont rincées par 0,5 mL de tampon PBS, les cellules mortes et non adhérentes sont ainsi éliminées. Les cellules sont ensuite incubées dans 0,5 mL (5mg/mL) de la solution de MTT (jaune) dans l'eau pendant 45 minutes à 1 heure à l'étuve (37°C, 5% CO₂). Après incubation le tapis cellulaire prend une couleur violette, la solution de MTT jaune est aspirée et les cellules sont lavées au PBS (pendant cette étape il peut avoir une perte de quelques cellules dont la couleur est violette indiquant qu'elles étaient vivantes). Les cellules sont solubilisées dans le même volume de DMSO (1 ou 2 mL) et la densité optique est enregistrée à 650 nm. Les valeurs des absorbances sont moyennées entre puits identiques, et utilisées pour calculer le % par rapport à l'absorbance des contrôles.

V-2. MET sur les cellules après fixation

La fixation est les coupes sont effectués par B. Payré au CMEAB de Toulouse.

Les cellules sont cultivées dans des boîtes de 6 puits, pendant 24 à 48 heures dans le milieu, ensuite le milieu est aspiré et les cellules sont rincées avec une solution tampon PBS. Différents volumes d'une même solution polymère/AuNPs sont ensuite ajoutés à chaque puits et complétés à 2 mL avec du RPMI. Les cellules sont exposées aux produits pendant 1 à 6 heures. Ensuite, les solutions colloïdales sont aspirées, les cellules sont rincées avec du PBS, et fixées avec ~1,5 mL d'une solution de glutaraldehyde 2%. Ensuite, ils sont envoyés au CEMAB de Toulouse ou ils ont subi la procédure expérimentale suivante (B. Payré) : Les cellules sont fixés dans un tampon Sorensen 0,1 M phosphate (pH = 7,4) pendant 1 heure, et

lavés avec la solution tampon Sorensen (0,1 M) phosphate pour 12 heures. Puis elles ont été post fixées avec 1% de OsO₄ dans une solution tampon de Sorensen phosphate (Sorensen phosphate 0,05 M, 0,25 M de glucose, OsO₄ 1%) pendant 1 heure. Les échantillons ont été déshydraté avec de l'éthanol et intégrés dans de la résine époxyde (Epon 812, Electron Microscopy Sciences). Après 24 heures de polymérisation à 60 °C, des sections ultraminesces (70nm d'épaisseur) ont été déposées sur des grilles 150 mesh collodion revêtues de cuivre et colorées avec 3% d'acétate d'uranyle dans 50% d'éthanol, et 8,5% citrate de plomb pendant 10 minutes, avant d'être examinées sur un microscope électronique HU12A Hitachi à une accélération de tension de 75 KV.

1. Israelachvili, J., Intramolecular and Surface Forces. *University of California, Santa Barbara California, USA 1991*, Second Edition, 231-233.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

Au terme de ce mémoire, nous avons atteint le but que nous nous étions fixés, à savoir stabiliser des nanoparticules dans l'eau, tout en évitant d'utiliser des ligands qui font des liaisons covalentes avec la surface des nanoparticules. La stratégie était d'utiliser des molécules amphiphiles capables de s'auto-associer autour des nanoparticules et permettant de les stabiliser dans l'eau. Afin de mieux comprendre l'effet de l'architecture moléculaire des agents stabilisants, on a décidé de travailler à des concentrations inférieures à la concentration micellaire critique (présence d'unimères uniquement), et de découpler l'étape de synthèse des nanoparticules de leur stabilisation.

La bande de résonance plasmon de surface des nanoparticules modèles d'or nous a permis de décrire l'agrégation et la décantation des nanoparticules, séparément par deux paramètres. L'effet stabilisant des triblocs $EO_xPO_yEO_x$, à des concentrations inférieures à la concentration micellaire critique sur la stabilité des AuNPs a été clairement démontré. La présence de la partie hydrophobe est essentielle pour avoir un effet stabilisant (un homopolymère PEO a aucun effet stabilisant dans les conditions utilisées (0,9 M NaCl), même à forte concentration en polymère). De plus, parmi tous les paramètres de l'architecture moléculaire (longueur des blocs hydrophile et hydrophobe, longueur totale) la longueur segment hydrophobe joue le rôle prépondérant. Ceci peut être expliqué par le fait que des interactions hydrophobes-hydrophobes stabilisent l'édifice de polymère autour des nanoparticules, conduisant ainsi à un effet stabilisant plus important. Nous démontrons ainsi le concept de la stabilisation amplifiée par l'auto-association du stabilisant.

Le cas des diblocs de type EO_xPO_y a également été étudié. Ces derniers ont toujours montré une meilleure stabilisation que les triblocs que ces derniers aient l'architecture d'un double dibloc lié ($EO_{103}PO_{39}EO_{103} \sim EO_{113}PO_{19} - PO_{19}EO_{113}$), ou la même quantité d'unités EO et PO. Toutefois, la détermination de la CAC de ces polymères a montré qu'aux concentrations étudiées les diblocs forment déjà des objets en solution. Ceci peut être à l'origine de la meilleure stabilité. En effet, le dibloc $EO_{272}PO_{29}$ paraît avoir un effet stabilisant moins important au dessous de sa CMC. Toutefois, des expériences complémentaires sont nécessaires afin de mieux comprendre la nature des gros objets en solution.

La caractérisation des différents systèmes polymère/AuNPs par différentes techniques (DDL, SANS, zétamétrie, MET et Cryo-MET) a montré que les polymères viennent s'adsorber à la surface des nanoparticules, permettant ainsi une bonne stabilité dans l'eau même à haute force ionique (0,9 M NaCl). Ceci se traduit par des possibilités de lyophilisation et de stockage sous forme de poudre, ainsi que de redispersion dans l'eau. Les expériences de filtration et de potentiel zêta montrent que la surface est modifiée par le polymère. Les études structurales (SANS, MET et DDL) nous ont permis de proposer un modèle pour l'organisation du polymère autour des particules.

L'étude de la cytotoxicité des systèmes Pluronic/AuNPs et $\text{EO}_x\text{PO}_y/\text{AuNPs}$ a été effectuée sur un modèle de cellules : les fibroblastes de CHO (chinese hamster ovary). On observe en général un effet de cytotoxicité faible dans les premières heures (24 à 48 heures), mais la prolifération reste entière, voire s'accroît. La microscopie électronique à transmission a permis de vérifier que les nanoparticules sont entrées dans les cellules (probablement par endocytose). Dans le cas des pluronics les nanoparticules s'agrègent dans le RPMI, tandis qu'une très faible agrégation est observée avec le $\text{EO}_{272}\text{PO}_{29}$. Des études supplémentaires seront toujours nécessaires afin de comprendre l'origine de cette agrégation.

Enfin, puisque les interactions entre les polymères et les nanoparticules sont des interactions physiques faibles, on pense que ces résultats peuvent s'appliquer directement à d'autres types de nanoparticules. Ces travaux possèdent donc plusieurs perspectives. Il sera intéressant d'utiliser ces polymères avec des nanoparticules qui possèdent des applications plus puissantes en biologie. Par exemple les nanobâtonnets d'or sont généralement synthétisés en présence de CTAB qui est toxique, il est possible d'enrober ces nanobâtonnets par des polymères amphiphiles et de regarder si on peut diminuer leur cytotoxicité. Ces polymères peuvent de même être utilisés avec d'autre type de particules, par exemple les nanoparticules fluorescentes QDs, il se peut de même que le fait d'enrober ces nanoparticules avec de polymères amphiphiles non toxiques, permette de diminuer leur toxicité. Ainsi, leurs propriétés de fluorescence peuvent être exploitées pour leurs utilisations en marquage cellulaire et imagerie biomoléculaire. De même, des nanoparticules magnétiques peuvent être enrobées avec ces polymères, et leurs propriétés magnétiques peuvent donc être exploitées (par exemple agent de contraste en IRM). Toutefois il est aussi nécessaire de vérifier si on peut solubiliser des produits hydrophobes (principes actifs ou autres) dans la partie hydrophobe des couronnes autour des nanoparticules. Ces polymères possèdent une fonction

Conclusion générale

alcool terminale, ils peuvent donc être fonctionnalisés avec des biomolécules afin de reconnaître spécifiquement des cellules (acide folique...). Notre équipe développe actuellement des polymères triblocs fonctionnalisés avec des biomolécules (ADN...). Ceci peut être idéal afin de mettre en œuvre des nouveaux vecteurs de biomolécules à base des hybrides de nanoparticules et de polymères.

Annexes

Stabilisation par les Pluronic

a)

Série EO1=	F88 2x = 206	F68 2x = 152	P85 2x = 52	P65 2x = 38	L62 2x = 12
C (mM)	0,45 mM				
$\Delta\lambda_{\max}$ (nm)	107±5	190±10	>180	≥240	299±30
$\tau_{\Delta\lambda}$ (heures)	2±0,5	2±1	<10	3±1	<2
D_{max}	0,15±0,025	0,86±0,04	1±0,1	1±0.02	1±0.03
τ_D (heures)	0,5±0,25	13±2	69±15	2,1±0,5	0,7±0,05
C (mM)	0,9 mM				
$\Delta\lambda_{\max}$ (nm)	~0	106±4	220±20	≥300	> 3 00
$\tau_{\Delta\lambda}$ (heures)	n.d.	0,8±02	20±10	3±1	< 2
D_{max}	<0,03	~0	1±0,2	0,95±0,03	1±0,4
τ_D (heures)	n.d.	n.d.	6350±115	2±1	0,65±0,6

b)

Série	EO2								
	F127 2x = 206	P123 2x = 38	P104 2x = 54	F127	P123	P104	F127	P123	P104
C (mM)	0,1 mM			0,04 mM			0,02 mM		
$\Delta\lambda_{\max}$ (nm)	16±3	105±2	86±15	64±42	0,04	120±10	70±5	>120	145±10
$\tau_{\Delta\lambda}$ (heures)	103±30	-	3±3	0,3± 0,1	105±2	5±2	2,5±1	~1	19±5
D_{max}	~0	-	0,04±0,09	~0	0,1±0,1	0,1±0,1	~0	0,05±0.02	~0
τ_D (heures)	n.d.	-	5±5	n.d.	~0	n.d.	n.d.	1±0.8	n.d.

Tableau 2. Valeurs des paramètres d'agrégation $\Delta\lambda_{\max}$ et de décantation D_{\max} et les temps caractéristiques correspondant $\tau_{\Delta\lambda}$ et τ_D , extraits des ajustements exponentiel des données expérimentales pour tous les polymères utilisés dans les séries EO1 (0,45 et 0,9 mM) (a) et EO2 (0,02- 0,1.mM) (b). (n.d. signifie non déterminé).

C = 0,04 mM	PO1			PO2		
	P123 y = 69	P84 y = 43	P65 y = 29	F127 y = 65	F88 y = 39	PEG y = 0
$\Delta\lambda_{\max}$ (nm)	105±2	300±30	300±30	64±42	298±30	299±10
$\tau_{\Delta\lambda}$ (heures)	0,1 ± 0,1	< 2	< 2	0,3±0,1	5,2±1,7	1,5±0,2
D_{\max}	~0	1±0,03	1±0,05	~0	1±0,2	0,88±0,3
τ_D (heures)	n.d.	3±1	2±1	n.d.	1.2±0,3	0,95±5

Tableau 3. Valeurs des paramètres d'agrégation $\Delta\lambda_{\max}$ et de décantation D_{\max} et les temps caractéristiques correspondant $\tau_{\Delta\lambda}$ et τ_D , extraits des ajustements exponentiel des données expérimentales pour tous les polymères utilisés dans les séries PO1 et PO2. Concentrations = 0,04 mM (n.d. signifie non déterminé.)

a)

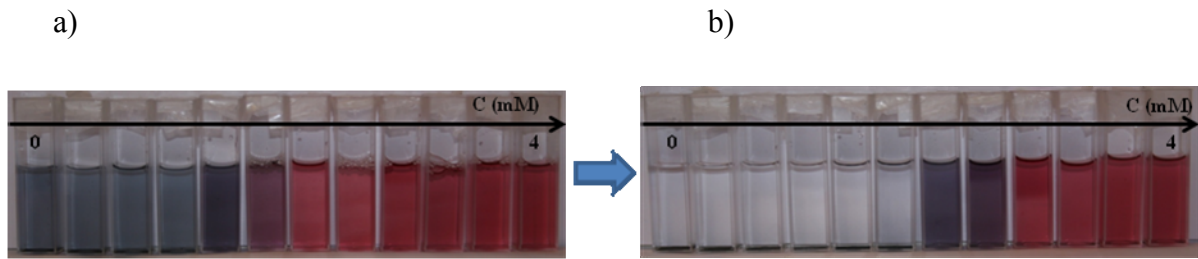
Serie M1 =	P104 2x + y = 115	P84 2x + y = 81	L64 2x + y = 56	P104 2x + y = 115	P84 2x + y = 81	L64 2x + y = 56
C (mM)	0,42 mM			0,7 mM		
$\Delta\lambda_{\max}$ (nm)	177±22	200±15	247±20	143±20	143±20	307±37
$\tau_{\Delta\lambda}$ (heures)	7±3	20±10	10±2	2±1	2±1	3,4±0,5
D_{\max}	~0	~0	0,8±0,2	0,13±0,04	0,13±0,04	1±0,3
τ_D (heures)	n.d.	n.d.	25±10	15±15	15±15	2±1

b)

Serie M2 =	F108 2x + y = 314	F88 2x + y = 245	F68 2x + y = 181
C (mM)	0,3 mM		
$\Delta\lambda_{\max}$ (nm)	~0	65±11	170±20
$\tau_{\Delta\lambda}$ (heures)	n.d.	9,1±3	9±4
D_{\max}	0,04±0,02	0,6±0,2	1±0,15
τ_D (heures)	n.d.	150±70	10±3

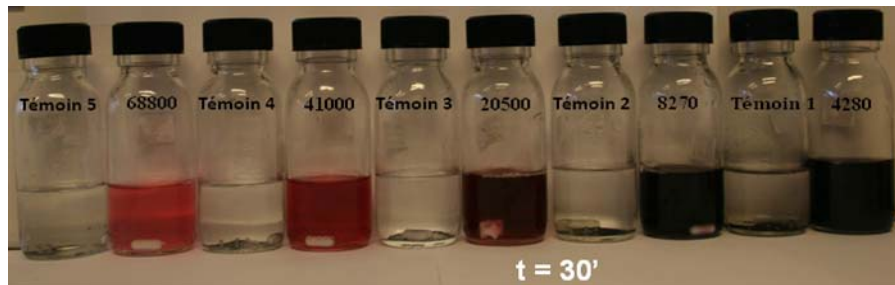
Tableau 4. Valeurs des paramètres d'agrégation $\Delta\lambda_{\max}$ et de décantation D_{\max} et les temps caractéristiques correspondant $\tau_{\Delta\lambda}$ et τ_D , extraits des ajustements exponentiel des données expérimentales pour tous les polymères utilisés dans les séries M1 (0,42 et 0,07 mmol.L⁻¹)(a) et M2 (0,3 mM) (b) (n.d. signifie non déterminé.)

Influence de la concentration en polymère



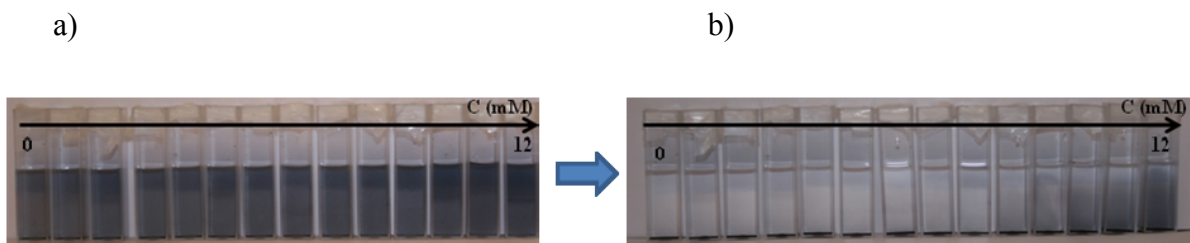
Photos des échantillons de nanoparticules d'or stabilisées avec F88 dans la gamme 0 – 4 mM 2 h (a), et 11j (b) après l'ajout de sel (NaCl 0,9M).

Effet de la concentration en particules



Photos des échantillons pour différents rapports F127/particules 30 minutes après l'ajout du sel. Les témoins correspondent à des échantillons contenant le même nombre de particules mais sans polymère.

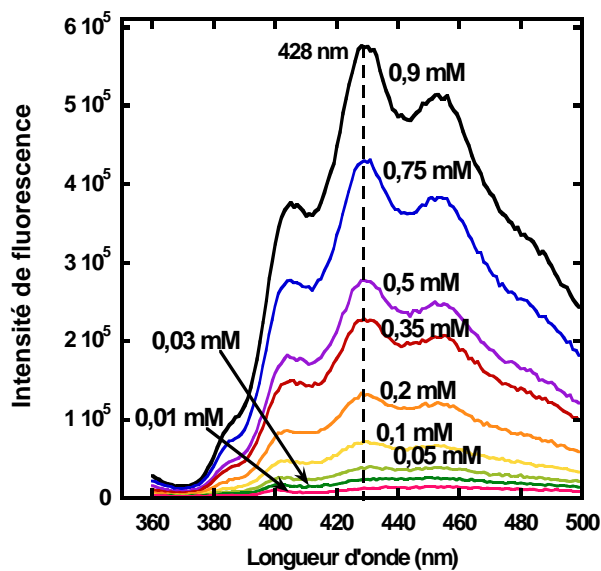
Influence de la concentration en PEO



Photos des échantillons de nanoparticules d'or stabilisées avec EO₁₉₀ dans la gamme 0 – 12 mM 1 h (a), et 20 h (b) après l'ajout de sel (NaCl 0,9M).

Détermination de la CAC de EO₂₇₂PO₂₉ et EO₁₁₃PO₁₉ par fluorimétrie

On représente les spectres d'émission dans le cas de la DPH solubilisée dans EO₁₁₃PO₁₉ à différentes concentrations.



Spectres d'émissions de la DPH excité à 353 nm solubilisé dans 3 mL de EO₁₁₃PO₁₉ à différentes concentrations montrant que plus la concentration augmente, plus la quantité de DPH soluble augmente.

«Stabilisation de nanoparticules dans l'eau par des copolymères à blocs».

Dans ce travail on a développé une nouvelle stratégie de stabilisation de nanoparticules dans l'eau. Cette stratégie se base sur l'utilisation de copolymères amphiphiles, capables de s'auto-organiser autour des nanoparticules. Comme modèle on a choisi des copolymères à blocs (diblocs et triblocs) à base de poly(oxyéthylène) et de poly(oxypropylène). La stabilisation de nanoparticules d'or a pu être étudiée grâce à leurs propriétés optiques. On a démontré que la présence et la longueur de la chaîne hydrophobe sont essentielles pour la stabilisation. Ensuite, différentes techniques d'analyse (DDL, MET, SANS, Cryo-MET...) ont permis de montrer que les copolymères s'adsorbent à la surface des nanoparticules, même en l'absence de micelle en solution ($C < CMC$). Enfin, nous démontrons la faible cytotoxicité des nanoparticules stabilisées par ces polymères.

Mots clés : stabilisation dans l'eau, polymères à blocs, nanoparticules d'or, résonance plasmon de surface, nanostructure, cytotoxicité.

«Block copolymers for the stabilization of nanoparticles in water».

We have developed a new strategy to stabilize nanoparticles in water. This strategy is based on the use of amphiphilic copolymers capable to self-assemble around the nanoparticles. We have chosen amphiphilic neutral block copolymers (diblocks and triblocks) based on poly(ethylene oxide) and poly(propylene oxide) to test this strategy. The aggregation state of gold nanoparticles has been studied using their optical properties. We have shown that the presence of a hydrophobic chain and its length are essential for the stability. Different techniques such as (DLS, TEM, cryo-TEM, and SANS...) have shown that in the presence of AuNps, under conditions in which micelles are not formed ($C < CMC$), polymer is adsorbed on AuNps forming large globules. Finally, we have demonstrated a low cytotoxicity effect of nanoparticles stabilized by these polymers.

Keywords: stabilization in water, block copolymers, gold nanoparticles, surface plasmon resonance band, nanostructure, cytotoxicity.

«Stabilisation de nanoparticules dans l'eau par des copolymères à blocs».

Dans ce travail on a développé une nouvelle stratégie de stabilisation de nanoparticules dans l'eau. Cette stratégie se base sur l'utilisation de copolymères amphiphiles, capables de s'auto-organiser autour des nanoparticules. Comme modèle on a choisi des copolymères à blocs (diblocs et triblocs) à base de poly(oxyéthylène) et de poly(oxypropylène). La stabilisation de nanoparticules d'or a pu être étudiée grâce à leurs propriétés optiques. On a démontré que la présence et la longueur de la chaîne hydrophobe sont essentielles pour la stabilisation. Ensuite, différentes techniques d'analyse (DDL, MET, SANS, Cryo-MET...) ont permis de montrer que les copolymères s'adsorbent à la surface des nanoparticules, même en l'absence de micelle en solution ($C < CMC$). Enfin, nous démontrons la faible cytotoxicité des nanoparticules stabilisées par ces polymères.

Mots clés : stabilisation dans l'eau, polymères à blocs, nanoparticules d'or, résonance plasmon de surface, nanostructure, cytotoxicité.

«Block copolymers for the stabilization of nanoparticles in water».

We have developed a new strategy to stabilize nanoparticles in water. This strategy is based on the use of amphiphilic copolymers capable to self-assemble around the nanoparticles. We have chosen amphiphilic neutral block copolymers (diblocks and triblocks) based on poly(ethylene oxide) and poly(propylene oxide) to test this strategy. The aggregation state of gold nanoparticles has been studied using their optical properties. We have shown that the presence of a hydrophobic chain and its length are essential for the stability. Different techniques such as (DLS, TEM, cryo-TEM, and SANS...) have shown that in the presence of AuNps, under conditions in which micelles are not formed ($C < CMC$), polymer is adsorbed on AuNps forming large globules. Finally, we have demonstrated a low cytotoxicity effect of nanoparticles stabilized by these polymers.

Keywords: stabilization in water, block copolymers, gold nanoparticles, surface plasmon resonance band, nanostructure, cytotoxicity.