

Intégration de nanoparticules métalliques dans des hydrogels à bas poids moléculaire

UMR 5215 - LCPNO - Laboratoire de Physique Chimie des Nano-Objets

135 avenue de Rangueil, 31077 TOULOUSE

Stage de deuxième année de DUT chimie à Castres

Effectué du 04/04/2022 au 17/06/2022

Ecrit et soutenue par Anissa DEMIRSOY

Maître de stage : Dr Simon TRICARD

Tuteur : Dr Pascal GUILLO

Encadrant : Sébastien LLEDOS



1 Remerciements

Dans un premier temps, je souhaite remercier mon professeur, Dominique Agustin, qui m'a soutenu pendant la demande du stage. Il a continué à m'encourager malgré les problèmes personnels que j'ai pu rencontrer au cours de mon année scolaire. Je remercie aussi Sylvain Falipou, qui a su me donner la confiance dont j'avais besoin, et qui m'a poussé à vivre cette expérience mémorable.

Dans un second temps, je remercie Simon Tricard et Sébastien Lledos qui ont été des encadrants superbe et très prévenant à mon égard. J'ai pu, grâce à leur précieuse aide, acquérir de nouvelles connaissances, développer mes capacités, le tout dans un cadre de travail très agréable.

Je remercie Juliette Fitremann de nous avoir partagé ces connaissances sur les hydrogels, sur les supramolécules qui les forment et pour le temps qu'elle a utilisé pour nous enseigner leur fabrication. En plus de nous avoir fait confiance pour le développement du projet, elle nous a généreusement fourni les molécules et le matériel nécessaire pour les expériences.

Je remercie le directeur du LPCNO, Guillaume Viau, de m'avoir laissé la chance d'intégrer le laboratoire.

Enfin, je tiens à remercier en général l'équipe NCO, qui m'a offert un cadre de travail agréable et chaleureux, apporté l'aide dont j'avais besoin, mais aussi des souvenirs inoubliables.

2 Table des matières

| | | |
|-----------|---|-----------|
| 1 | Remerciements | 2 |
| 2 | Table des matières | 3 |
| 4 | Liste des abréviations | 5 |
| 5 | Introduction | 6 |
| 5.1 | Présentation de l'organigramme..... | 6 |
| 5.2 | Objectif du projet | 6 |
| 6 | Etat de l'art..... | 7 |
| 6.1 | Nanoparticules | 7 |
| 6.1.1 | Généralités | 7 |
| 6.1.2 | Propriétés | 7 |
| 6.1.3 | Synthèses et stabilisation | 7 |
| 6.2 | Microscopie électronique par transmission (Oliviero, s.d.) | 8 |
| 6.3 | Association entre hydrogels et NPs métalliques | 9 |
| 6.3.1 | Généralités sur les hydrogels..... | 9 |
| 6.3.2 | Synthèse <i>in situ</i> de NPs | 10 |
| 7 | Résultats et discussion | 11 |
| 7.1 | Précurseur..... | 11 |
| 7.1.1 | Synthèse de nanoparticules d'or | 11 |
| 7.1.2 | Transfert de phase des nanoparticules d'or par échange de ligand | 13 |
| 7.1.3 | Gélification de la galactonamide | 16 |
| 7.2 | Auto-assemblages entre les nanoparticules et la galactonamide | 16 |
| 7.2.1 | Synthèse <i>in situ</i> des NPs..... | 16 |
| 7.2.2 | Intégration des nanoparticules préformées dans les hydrogels | 17 |
| 8 | Conclusion et perspectives | 21 |
| 9 | Bibliographie | 22 |
| 10 | Table des illustrations..... | 23 |
| 11 | Annexes | 24 |
| 11.1 | Annexes I : protocole synthèse de NPs d'or | 24 |
| 11.2 | Annexes II : protocole synthèse de NPs d'or | 25 |
| 11.3 | Annexes III : protocole synthèse de NPs d'or par la méthode Turkevich | 26 |
| 11.4 | Annexes V : protocole transfert de NPs d'or dans l'eau | 27 |
| 11.5 | Annexes VI : protocole transfert de NPs d'or dans le DMSO..... | 28 |
| 11.6 | Annexes VII : protocole transfert de NPs d'or dans l'eau | 29 |

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 11.7 | Annexes VIII : protocole fabrication d'hydrogels | 30 |
| 11.8 | Annexes IX : image TEM des assemblages entre hydrogels et NPs d'or | 31 |
| 11.9 | Annexe X : exemple de distribution de taille pour l'expérience 8 | 33 |
| 12 | Fiche métier | 34 |
| 12.1 | Technicienne chimiste en synthèse chimique | 34 |
| 12.1.1 | Compétences (selon le sujet du stage) : | 34 |
| 12.1.2 | Qualités requises : | 34 |
| 12.2 | Chercheur en chimie (de synthèse) | 34 |
| 12.2.1 | Compétences : | 34 |
| 12.2.2 | Qualités requises : | 34 |
| 13 | Résumé / Abstract | 36 |

4 Liste des abréviations

T.A : température ambiante

NPs : nanoparticules

LMWG : gels de bas poids moléculaire (Low molecular weight gels)

DMSO : diméthylsulfoxyde

GalC₇ : N-heptyl-D-galactonamide

GalC₉ : N-nonyl-D-galactonamide

Eq. : équivalent

THF : tétrahydrofurane

DBS : 1,3(R):2,4(S)-dibenzylidene-d-sorbitol

5 Introduction

5.1 Présentation de l'organigramme

Le stage a été réalisé au laboratoire de Physique et Chimie des Nano-Objets (LPCNO). Il est situé sur le site universitaire de l'université de Paul Sabatier, à Toulouse, et sous la tutelle de l'INSA, du CNRS et de l'université Paul Sabatier.

Le directeur du laboratoire est le professeur Guillaume VIAU. Le laboratoire regroupe un effectif de 80 personnes : chercheurs, enseignants chercheurs, ITA, étudiants et post doctorants. Ils sont répartis sur 5 équipes de recherche selon le sujet étudié :

- Nanomagnétisme (NM)
- Optoélectronique Quantique (OPTO)
- Nanostructures et chimie organométallique (NCO)
- NanoTech (NTC)
- Modélisation physique et Chimique (MPC)

Le laboratoire possède une expertise en :

- Spectroscopies optiques
- Nanostructuration
- Nanomagnétisme
- Mesures de transport
- Synthèse de nanoparticules
- Modélisation moléculaire

Ce stage s'est déroulé au sein de l'équipe NCO. Les responsables sont Céline Nayral et Lise-Marie Lacroix.

5.2 Objectif du projet

De nos jours, l'intérêt des nanoparticules est largement connu grâce à leurs propriétés intrinsèques. En effet, à l'échelle nanométrique, les propriétés physico-chimiques, optiques, catalytiques ou encore électroniques varient. Un exemple concret, les NPs de titane, utilisées à la fois dans la crème solaire, sur les volets en bois mais aussi dans l'alimentation, ont la propriété de filtrer les UV (assef, s.d.). Il existe un large champ d'application possible dans le domaine des nano-objets, comme l'introduction de nanoparticules dans des matériaux afin de modifier leurs propriétés (P.Venturi, 2017). La thèse de Sébastien Lledos est tournée autour de ces associations dans le but d'obtenir des matériaux hybrides. Plusieurs autoassemblages entre différentes particules métalliques et différents polymères ont été mis en place. L'intérêt du stage est de pouvoir concentrer les recherches sur un système en particulier. C'est un projet collaboratif entre deux laboratoires du site de l'université Paul Sabatier. L'objectif est d'utiliser deux supramolécules utilisées dans la fabrication d'hydrogels, la N-heptyl-D-galactonamide (GalC7) et la N-nonyl-D-galactonamide (GalC9) pour la création de systèmes hybrides. Ces supramolécules proviennent du laboratoire IMRCP. Le but de cet assemblage est d'obtenir des hydrogels avec des propriétés conductrices, afin d'apporter de nouvelles possibilités au domaine de la biologie (Piras, 2022).

6 Etat de l'art

6.1 Nanoparticules

6.1.1 Généralités

Selon la norme ISO TS/27687, les nanoparticules sont des objets à trois dimensions de l'ordre du nanomètre, dont le diamètre nominal est inférieur à 100 nm. Il existe deux catégories de nanoparticules : les organiques constituées de macromolécules comme les lipides ou les polymères (exemple : héparine), les nanoparticules inorganiques (exemple : nanoparticules de platine). Elles existent à l'état naturel mais leur synthèse par voie artificielle est intéressante pour l'utilisation de leurs propriétés intrinsèques (G.Manai, 2020).

6.1.2 Propriétés

A l'échelle nanométrique, les propriétés physico-chimiques, optiques ou électroniques varient, telle que la couleur comme la différence de couleur entre l'or à l'échelle nanométrique (rouge) et macroscopique (jaune). Puisque le nombre d'atomes constituant la particule est réduit, la proportion d'atomes exposés à sa surface est relativement grande en comparaison au matériau massif. Par conséquent, un gramme de nanoparticules offre une surface incomparablement plus grande qu'un gramme de particules macroscopiques. La surface de la nanoparticule est associée à un surcoût énergétique, elle est plus réactive. Cela implique qu'à cette échelle, les capacités à provoquer des réactions chimiques sont supérieures. En effet, les nanoparticules jouent un rôle primordial dans la catalyse, et le rendement des réactions est plus élevé que celui obtenu avec un matériau traditionnel. De surcroît, certaines nanoparticules possèdent un effet plasmonique. C'est un phénomène qui se déroule quand les nanoparticules sont soumises à une onde électromagnétique, le nuage électronique vibre (Julien Barrier).

6.1.3 Synthèses et stabilisation

Il existe deux façons de fabriquer des nanoparticules. On peut fractionner un matériau massif, c'est la technique Top Down, ou alors construire la particule souhaitée en assemblant les atomes de façon contrôlée, la technique Bottom Up (S.Tebassi, 2019).

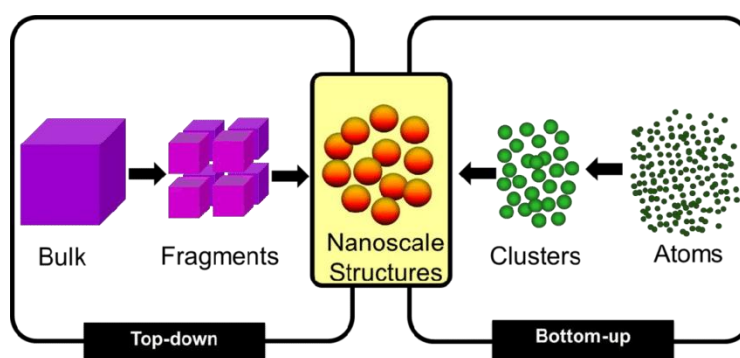


Figure 1 : méthode de synthèse des NPs

Les synthèses effectuées dans le laboratoire sont des techniques Bottom Up. Celles exécutées pour l'or sont des synthèses par réduction de sels métalliques. Le sel métallique contient les atomes du métal que l'on veut sous forme de NPs. Il faut dissoudre le précurseur en le plaçant dans un solvant pour rompre les liaisons ioniques. On utilise dans le milieu un ligand qui sert à stabiliser les NPs et éviter qu'elles s'agrègent et on ajoute un réducteur, car quand le métal est réduit, il précipite pour former des NPs. Cette méthode de synthèse peut conduire à des phénomènes de nucléation, de croissance puis de mûrissement, ce qui peut influencer les structures et les propriétés finales des

NPs. La nucléation consiste à l'agrégation des atomes de tailles très réduites, ce qui forme des nuclei. Ensuite, les atomes s'ajoutent sur les agrégats, ce qui correspond au stade de croissance. En dernier, c'est le phénomène de murissement d'Ostwald qui intervient, il définit le phénomène de dissolution des petites NPs à cause de leur énergie de surface. En effet, l'énergie de surface étant plus grande pour les petites NPs, pour obtenir une meilleure stabilité elles se dissolvent pour former une plus grande NPs, et donc être plus stable (Fernandez, 2019).

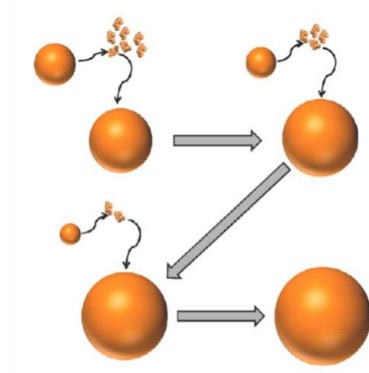


Figure 2 : représentation schématique du murissement d'Ostwald

Il existe aussi le phénomène de coalescence, qui consiste à une addition des NPs entre elles mais sans dissolution de celles-ci, à contrario du murissement. On différencie ces phénomènes principalement selon la taille des NPs. Pour éviter ces phénomènes, il faut un nombre suffisant d'équivalent de ligand pour éviter les interactions entre NPs.

6.2 Microscopie électronique par transmission (Oliviero, s.d.)

Le TEM (transmission electron microscopy) est une technique de caractérisation à l'échelle nanométrique/atomique d'échantillons solides. Un faisceau d'électron, guidé par des champs électromagnétiques, traverse l'échantillon déposé sur une grille de carbone, puis interagit avec les atomes constituant le solide analysé. Cette technique permet une analyse morphologique, structurale et chimique des échantillons solides. L'échantillon se prépare à l'aide d'une grille de carbone, où une goutte de la solution ou une couche très fine du solide à analyser est déposé. L'échantillon est ensuite séché sous vide.

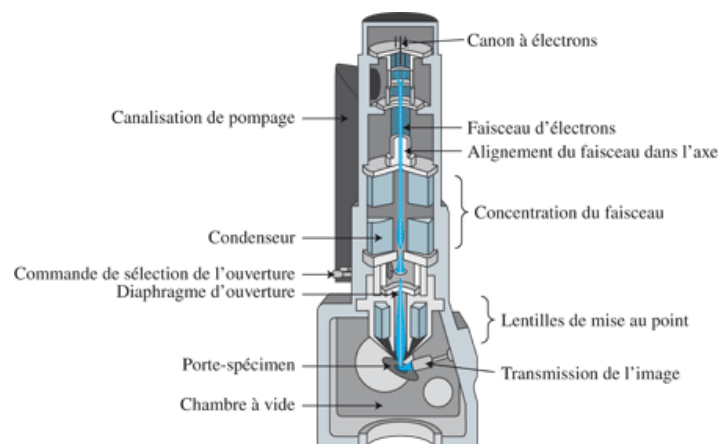


Figure 3 : schémas du microscope à transmission électronique

6.3 Association entre hydrogels et NPs métalliques

6.3.1 Généralités sur les hydrogels

Les hydrogels de bas poids moléculaire LMWG ont des propriétés différentes des hydrogels à base de polymères. Ils sont formés par de petites molécules avec des capacités d'auto-assemblages grâce à des interactions faibles dans certains solvants, ce sont des supramolécules. La structure est largement maîtrisée et la nature de l'assemblage dépend de la molécule. En comparaison, les gels supramoléculaires formés à partir de LMWG sont plus faible mécaniquement qu'un gel de polymères, ce qui complique la conservation de la forme et donc limite les applications pour cette classe de matériaux. Cependant, ils présentent aussi des avantages comme une plus grandes polyvalences en ce qui concerne les modifications chimiques (dégradabilité plus élevée, réactivité au stimuli). Plusieurs techniques sont applicables pour la fabrication de gels filamenteux, comme l'impression 3D, l'électrofilage humide ou encore par microréacteur (Bordignon, 2021). La N-heptyl-galactonamide (GalC7) est une supramolécule composée d'une partie polyols, d'une fonction amine et d'une chaîne alcane, cela fait d'elle une molécule amphiphile. En s'auto-assemblant, elle forme un hydrogel biocompatible. C'est actuellement le seul gel qui permet une culture cellulaire en trois dimensions. La culture en trois dimensions est intéressante car elle permet d'obtenir un environnement au plus proche des conditions de développement des cellules dans les organismes vivants. La N-nonyl-galactonamide (GalC9) est une des dérivées de la GalC7. Elle fait partie d'un nouveau sujet de recherche très récent qui est d'allonger la chaîne alkyl en se basant sur le fait que moins l'hydrogel est soluble plus il a de chance d'être efficace pour la mise en place d'une culture cellulaire (A.Chalard, 2018).

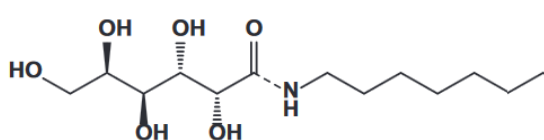


Figure 4 : formule topologique de la GalC7

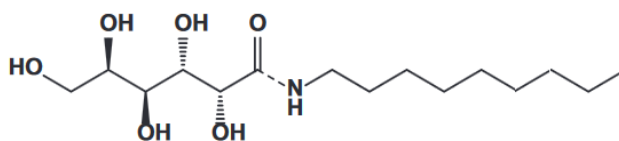


Figure 5 : formule topologique de la GalC9

La galactonamide est gélifiée par voie humide selon un phénomène d'échange de solvant. En effet, la molécule est dissoute dans le DMSO, elle est insoluble dans l'eau. Pendant l'injection de la solution dans l'eau, l'eau se diffuse au sein du liquide ce qui déclenche l'autoassemblage supramoléculaires et les filaments de gel sont obtenus. Les fibres au sein du gel sont organisées par la diffusion de l'eau et à l'échelle microscopique, l'édifice est bien organisé, c'est donc une méthode qui permet le contrôle précis de l'assemblage.

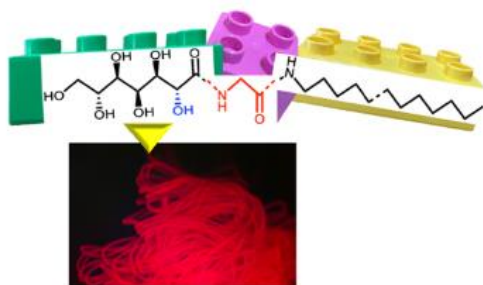


Figure 7 : schémas de l'autoassemblage d'une galactonamide (Bordignon, 2021)

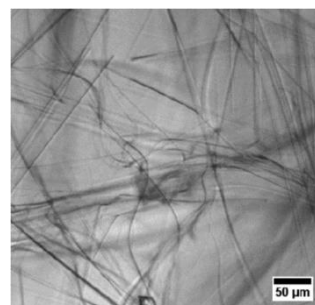


Figure 6 : observation de l'hydrogel GalC7 au microscope optique (Bordignon, 2021)

6.3.2 Synthèse *in situ* de NPs

Les systèmes hybrides permettent de combiner des propriétés intéressantes des matériaux exploités. Dans le cas des hydrogels il existe un exemple concret : le DBS-CONHNH₂, un LMWG capable de réduire le métal, on obtient une formation *in situ* de NPs. Dans la littérature, il est décrit que le gel est introduit dans une solution aqueuse de complexe d'or (III) (AuCl₃) pendant 24 heures. La couleur du gel passe du blanc au violet, ce qui confirme la réduction de l'or (III) dans le gel (Piras, 2022).

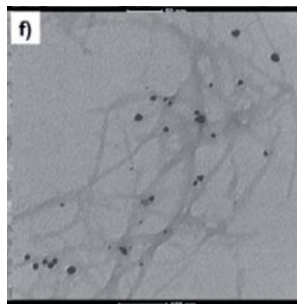


Figure 8 : gel de DBS-CONHNH₂ chargé en NPs d'or, échelle : 100nm (Piras, 2022)

Obtenir un système entre les gels et les NPs d'or est un projet prometteur dans le domaine de la biologie. En effet, les gels incorporant des NPs d'Au peuvent potentiellement, grâce aux propriétés conductrices de l'or, être utilisés pour la stimulation électrique cellulaire, facilitant la réparation osseuse, et agir sur la régénération tissulaire. Il a également été démontré que les NPs d'Au améliorent la prolifération des cellules mésenchymateuses. L'intégration de NPs d'Or dans la GalC7 pour les rendre conductrices est d'autant plus intéressante, qu'elle pourrait donner un terrain prometteur pour le développement des cellules sensibles aux stimuli électriques (par exemple cellules souches, neurones, muscles) et de plus, en 3 dimensions. L'objectif du stage est de trouver comment intégrer des NPs à la GalC7 et à la GalC9 pour les rendre conductrices. Le travail de recherche se divisera en cinq parties : la synthèse des NPs d'or, le transfert de phase par échange de ligand, la fabrication des hydrogels, la synthèse *in situ* des NPs avec la GalC7, et enfin la formation d'hydrogels concentrés en NPs d'or.

7 Résultats et discussion

7.1 Précurseur

7.1.1 Synthèse de nanoparticules d'or

7.1.1.1 Synthèse

La synthèse des nanoparticules d'or est une méthode relativement maîtrisée dans le laboratoire. C'est un métal simple à manipuler grâce à sa stabilité dans l'air et dans les solvants. La synthèse la plus couramment utilisée lors du stage est la réduction du complexe d'Or III, HAuCl_4 , dissout dans le pentane, grâce au borane tert-butylamine, en utilisant comme ligand l'oleylamine pour contrôler la taille des particules formées (annexe I). C'est la synthèse la plus intéressante, pour le contrôle de la taille, de l'homogénéité, avec un temps de réaction relativement court.

Ce qui forme la complexité de la réaction, c'est la précision qu'il faut avoir sur les paramètres au vu

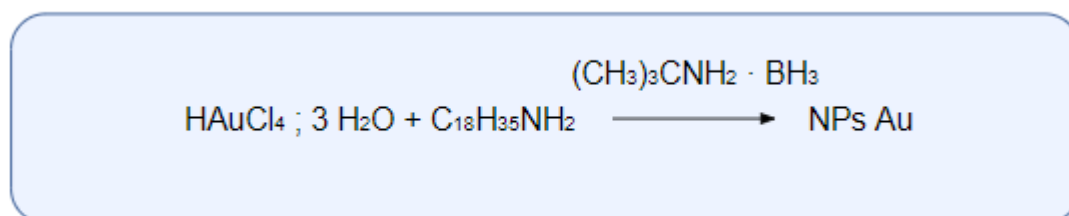


Figure 9 : réaction de synthèse des nanoparticules d'or

d'influencer les résultats. En effet, la température et le temps d'agitation influencent la taille des nanoparticules. Plus le temps d'agitation est long, plus la taille de la nanoparticule est réduite.

Ici, les nanoparticules de 3,1 nm ont été obtenues après un temps d'agitation de 1 heure, contre 30 minutes d'agitation pour celle de 4,8 nm et 5 minutes pour 6 nm.

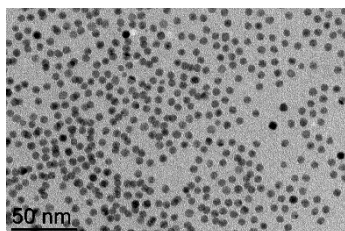


Figure 11 : NPs d'or de 5,8 nm ($\pm 0,4$) après 5 minutes d'agitation

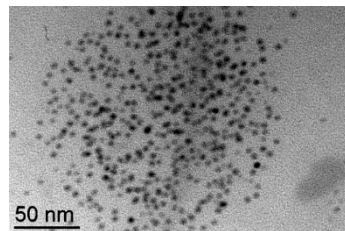


Figure 10 : NPs d'or de 4,8 nm ($\pm 0,6$) après 30 minutes d'agitation

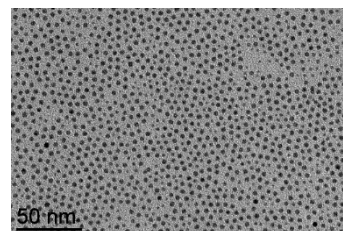


Figure 12 : NPs d'or de 3,1 nm ($\pm 0,3$) après 1 heures d'agitation

En revanche, après une heure de réaction, la taille de la particule n'évolue plus, il faut utiliser un autre paramètre pour pouvoir continuer à la réduire. Par expérimentation, on observe que quand la réaction se passe au reflux ($36,1^\circ\text{C}$), on réussit à réduire la taille à 2,5 nm, contre 3,1 nm à T.A.

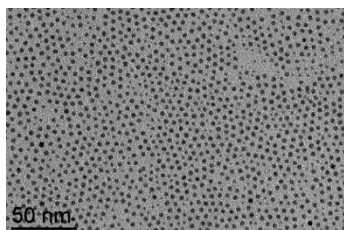


Figure 13 : NPs d'or de 3,1 nm ($\pm 0,3$) à T.A

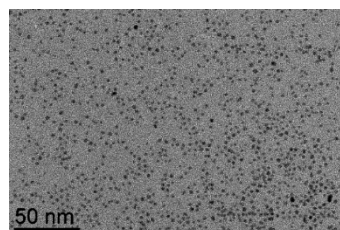


Figure 14 : NPs d'or de 2,5 nm ($\pm 0,4$) à reflux ($36,1^\circ\text{C}$)

Cette manipulation permet de contrôler la taille et la dispersité des nanoparticules, mais elle ne permet pas d'obtenir les nanoparticules dans les solvants voulus, puisque la redispersion se fait dans le pentane au risque de sinon coalescer les nanoparticules. La méthode de synthèse Turkevich a donc été testée car elle se déroule dans l'eau.

La synthèse Turkevich consiste à utiliser le citrate comme ligand et réducteur dans l'eau. Le milieu est chauffé à 80°C avec le précurseur, puis le citrate est ajouté et le milieu est laissé à température ambiante (annexe III).

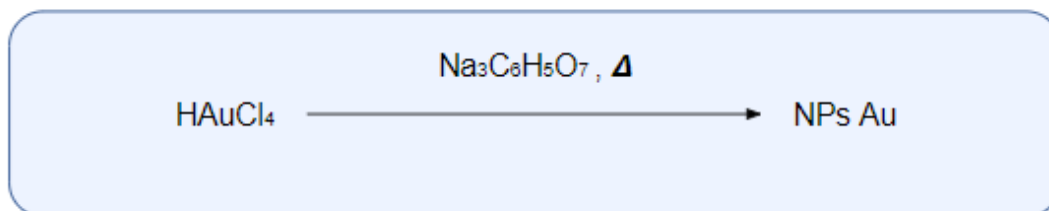


Figure 15 : réaction de synthèse Turkevich des NPs d'or

Cette synthèse, bien que connue, ne fonctionne pas systématiquement et ne donne pas des résultats reproductibles. De plus, les nanoparticules obtenues sont de nature polydisperse.

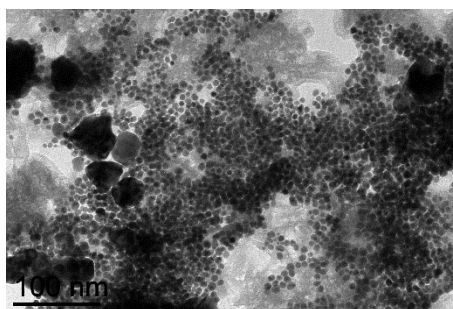


Figure 16 : Nanoparticules d'or par synthèse de Turkevich

Après caractérisation par image TEM, l'observation finale est que les nanoparticules sont obtenues dans le bon solvant, mais que la manipulation ne permet pas d'avoir un contrôle sur la taille et la dispersités des nanoparticules. Dans le cadre de la recherche, il est donc préférable d'utiliser la première méthode de synthèse et de réfléchir à une méthode de transfert des NPs dans l'eau et le DMSO.

7.1.2 Transfert de phase des nanoparticules d'or par échange de ligand

La méthode de transfert de phase consiste à créer une extraction des nanoparticules d'un diluant A (chloroforme/pentane) à un solvant B (eau/DMSO) grâce à un échange de ligand. Comme pour toute extraction, il est important que les deux liquides utilisés soient non miscibles, avec une densité différente et inerte entre elles. Le ligand contenu dans le diluant est l'oleylamine, un des premiers points est donc de trouver un ligand avec une meilleur affinité avec l'or. La théorie HSAB nous dit que l'or est un acide de Lewis mou, et que qu'il aura une meilleure affinité avec une base mole, or, les thiols sont des bases molles tandis que les amines sont des bases dures. Un ligand de la famille des thiols peut donc être envisagé pour procéder à un échange efficace.

La première expérience réalisée consiste à extraire les NPs du chloroforme à H₂O. Tout d'abord, les NPs sont centrifugées puis redispersées dans 2ml de chloroforme, tandis que dans 10ml d'eau est ajouté dix équivalents d'acide 4-mercaptobenzoïque. Ensuite, quelques gouttes d'hydroxyde de tétraméthylammonium sont ajoutées pour obtenir un pH à 12 et mieux solubiliser la molécule (annexe V). En effet, à pH 12, le thiol qui passe sous forme de thiolate et la fonction acide carboxylique sous forme de carboxylate. Les deux milieux sont mélangés est placé sous agitation pendant une nuit. Cette expérience a été réalisée avec des NPs de petites tailles (2,5 nm) et de grande taille (6 nm).

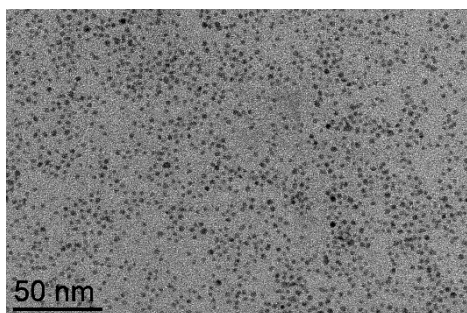


Figure 17 : NPs d'or de 2,5 nm ($\pm 0,4$) dans le pentane avant transfert de phase

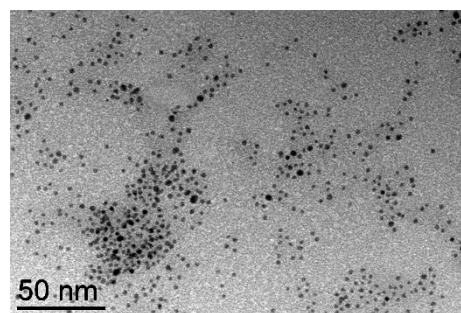


Figure 18 : NPs d'or de 2,6 nm ($\pm 0,7$) après transfert de phase dans H₂O

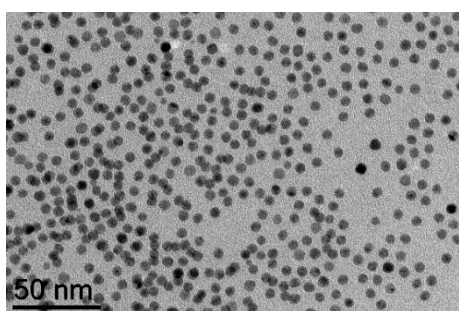


Figure 19 : NPs d'or de 5,8 nm ($\pm 0,4$) dans le pentane avant transfert de phase

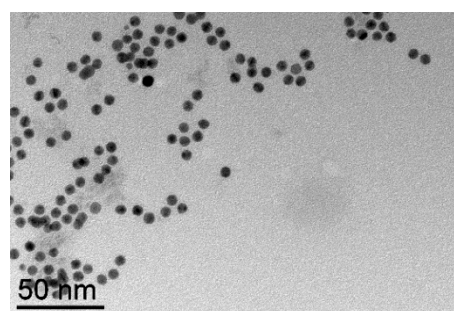


Figure 20 : NPs d'or de 7 nm ($\pm 0,5$) après transfert de phase dans H₂O

Tandis que la taille des petites NPs reste relativement inchangée, il est observé que les grandes NPs passent de 5,8 nm à 7 nm. Il peut être supposé que le transfert de phase soit accompagné par un phénomène de murissement. Après 16 jours, les NPs de petites tailles ont subi un phénomène de coalescence, tandis que les NPs de grandes tailles restent stable.

Une seconde expérience est réalisée pour extraire les NPs d'or, cette fois ci du pentane au DMSO. On utilise toujours 10 équivalents d'acide 4-mercaptobenzoïque, cette fois si sans ajouter de base car il se dissout sous sa forme classique dans le DMSO (annexe 6). Le transfert dure quelques minutes.

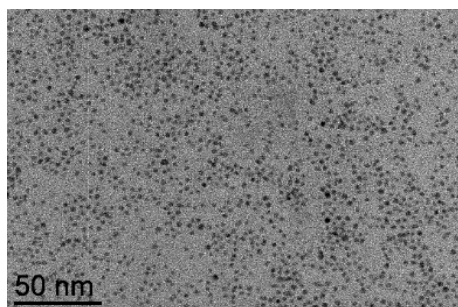


Figure 21 : NPs d'or de 2,5 nm ($\pm 0,4$) dans le pentane avant transfert de phase

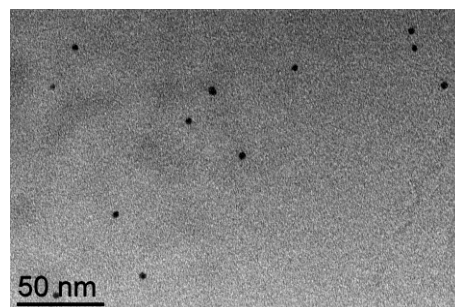


Figure 22 : NPs d'or de 3,8 nm ($\pm 0,7$) après transfert de phase dans le DMSO

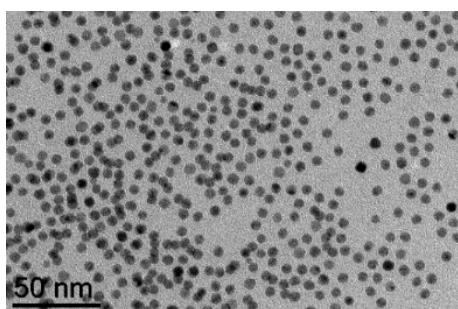


Figure 24 : NPs d'or de 5,8 nm ($\pm 0,4$) dans le pentane avant transfert de phase

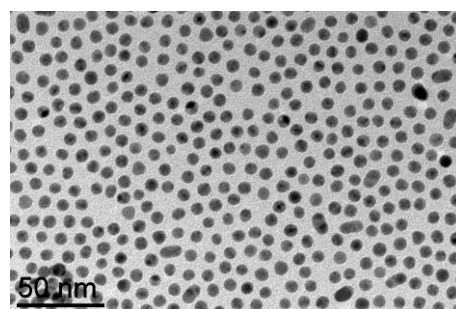


Figure 23 : NPs d'or de 6,2 nm ($\pm 0,7$) après transfert de phase dans le DMSO

Dans ce cas, une augmentation de taille a été observé pour les petites NPs, mais pas pour les grandes. Après 16 jours, les NPs de petites tailles subissent un phénomène de coalescence, tandis que les NPs de grandes tailles restent stable, bien qu'il commence à se former un petit précipité noir. Il a été observé que quand les NPs d'or se déstabilisaient, elles avaient une interaction avec l'interface entre le pentane et le DMSO. De plus, si le pentane est extrait du milieu, il est observé qu'après 42 jours, la solution de NPs aqueuse reste stable et exploitable dans des expériences.

La troisième expérience consiste à observer si le ligand utilisé avait une influence sur le transfert. Le protocole de la première expérience a été repris en remplaçant l'acide 4-mercaptobenzoïque par la L-cystéine, un acide aminé. De plus, le diluant est le pentane (annexe VII). Le transfert s'est déroulé sur 3 jours.

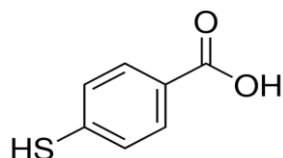


Figure 25 : formule topologique acide 4-mercaptobenzoïque (sigma-Aldrich,

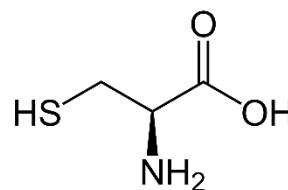


Figure 26 : formule topologique L-cystéine (Wikipedia, s.d.)

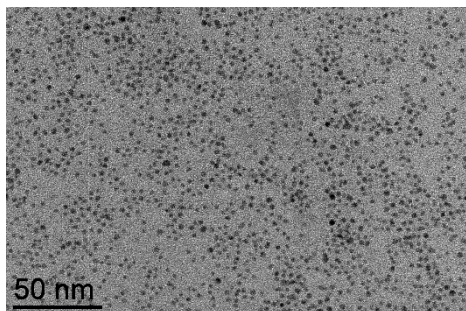


Figure 27 : NPs d'Or de 2,5 nm ($\pm 0,4$) avant transfert de phase avec la L-cystéine

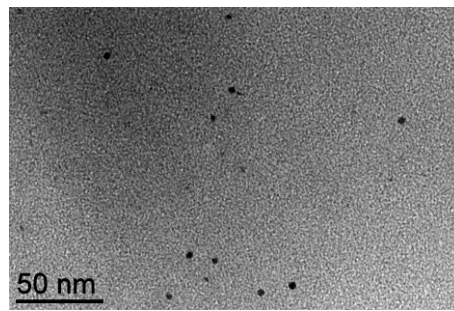


Figure 28 : NPs d'or de 3,4 nm ($\pm 1,4$) après transfert de phase la L-cystéine

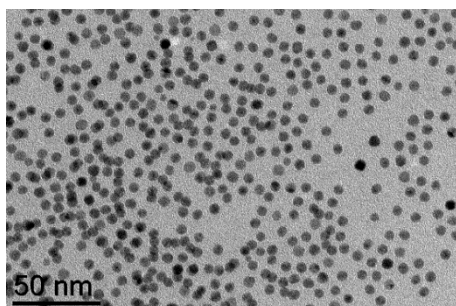


Figure 29 : NPs d'or de 5,8 nm ($\pm 0,4$) avant transfert de phase la L-cystéine

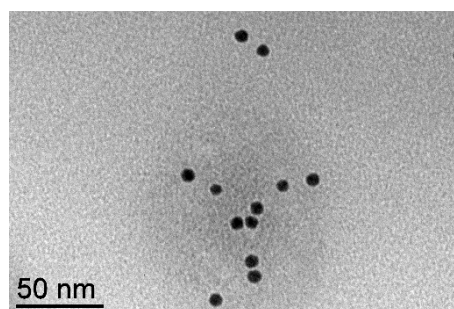


Figure 30 : NPs d'or de 7nm ($\pm 0,5$) après transfert de phase la L-cystéine

Bien que l'échange de ligand fonctionne avec la cystéine, il se pose un problème de stabilité. En effet, après 16 jours, les NPs de grandes tailles ont coalescé. De plus, la solution contenant les NPs de petites tailles est devenue totalement incolore. Il a donc été supposé qu'elles aient été oxydées, ce qui a été confirmé en ajoutant un réducteur dans le milieu, un précipité noir qui peut être des NPs d'or coalescées apparaît. Il est donc possible que dans ce milieu (eau et cystéine), les petites NPs se fasse oxyder en or I. L'or I a une couche de valence en d^{10} , les électrons sont appariés sur la couche d. Il ne peut donc pas y avoir dans ce cas de transition d-d, ce qui donne par exemple la couleur jaune à l'or III.

En conclusion, pendant chaque manipulation, il a été observé que le transfert est plus rapide pour les petites NPs, mais plus efficace en termes de rendement pour les grandes. Les images TEM confirment la présence de NPs dans les milieux voulus. Le retraitement des images montre que le transfert induit chez certaines NPs un phénomène de murissements d'Oswald. Cela justifie le fait qu'après le transfert elles soient plus grandes et plus polydisperses. De surcroît, il est constaté que les NPs de grande taille sont généralement plus stable dans le temps que les petites après le transfert. Certaines des particules s'agrègent au niveau de l'interface liquide-liquide. L'hypothèse émise est que les NPs interagissent entre elles, en formant des superstructures. Celles-ci sont peu solubles dans les deux phases, et avec des effets de densité et de tension de surfaces, elles se concentrent donc à l'interface liquide-liquide. En retirant le solvant, le phénomène peut être évité, les solutions se conservent plus facilement dans le temps et les NPs restent en suspension dans la solution.

7.1.3 Gélification de la galactonamide

La technique de fabrication des hydrogels a été importée du laboratoire IMRCP. Avant de commencer les essais d'autoassemblage, il a fallu tout d'abord maîtriser le protocole de gélification. La morphologie du gel dépend de plusieurs facteurs : le débit et la hauteur de chute. Tout d'abord la galactonamide est dissoute à l'aide d'ultra-sons dans le DMSO, à concentration de 40mg/ml pour la GalC7 et 10mg/ml pour la GalC9. Pour obtenir un gel avec des caractéristiques optimales, il y a la possibilité d'utiliser un pousse seringue. Quand le matériel est mis en place, il faut démarrer le débit et observer la gélification. En effet, si l'assemblage se passe au niveau de l'aiguille, cela veut dire que le débit est trop faible tandis que si le liquide ne s'autoassemble pas cela veut dire que le débit est trop fort ou que la hauteur du pousse seringue est trop basse. Quand les paramètres sont optimisés, on obtient des filaments de gels de couleur blanche (annexe VIII).

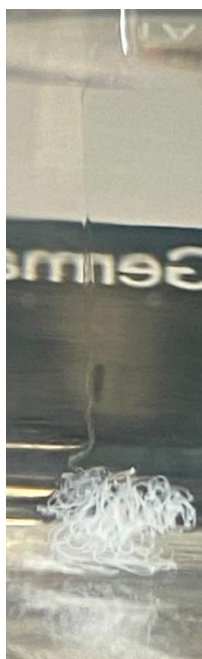


Figure 31 : autoassemblage de la GalC7 dans l'eau

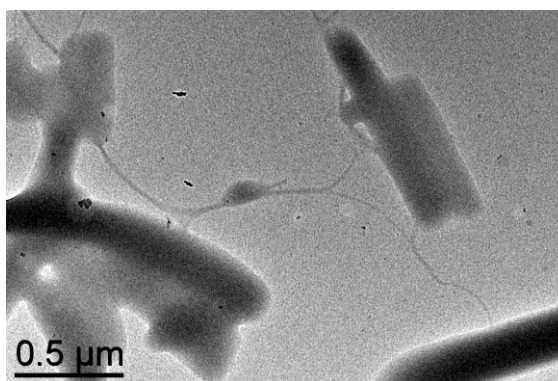


Figure 32 : Hydrogels de GalC7 vu en TEM

En général, dans les conditions du laboratoire, la hauteur de chute tourne autour de 4,6 cm. Pour la GalC7, le débit est en moyenne de 1 ml/min tandis que pour la GalC9 le débit est en moyenne de 0,9 ml/min.

7.2 Auto-assemblages entre les nanoparticules et la galactonamide

7.2.1 Synthèse in situ des NPs

Dans une première approche, il a d'abord été envisagé une synthèse in situ des NPs d'or. La synthèse utilisée classiquement a donc été reprise en changeant le ligand, l'oleylamine, par la GalC7 (petit pilulier). 5mg de complexe d'or III et 10 eq. de GalC7 ont été ajoutés dans 2 ml de THF. 3 eq. de borane tert-butylamine sont ajoutés après 30 minutes d'agitation (annexe III). Par souci de comparaison, une synthèse classique avec l'oleylamine est exécuté en parallèle, cela permet de se rendre compte des différences engendrées à chaque étape de la synthèse (grand pilulier).



Figure 33 : avant réaction (ligand + précurseur)



Figure 34 : après réaction (ajout du borane tert-butylamine)

Les différences de couleur des deux manipulations indiquent que le mécanisme en cours dans le petit pilulier n'est pas le même que pour le mécanisme classique dans le grand pilulier, qui passe de l'orange au rouge foncé (annexe I). Le petit pilulier, lui passe d'un milieu jaune à une solution avec une suspension trouble et grisâtre. En effet, avec la GalC7, les NPs ne se forment pas, mais les atomes subissent le phénomène de coalescence sans passer sous forme de NPs.

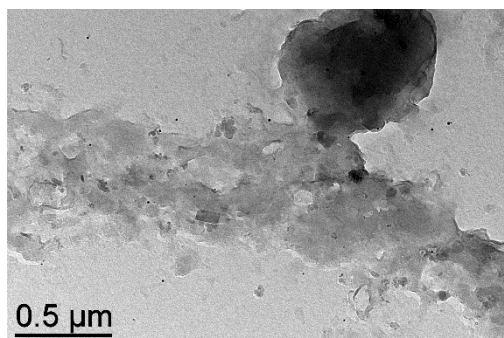


Figure 35 : image TEM de la synthèse de NPs d'or avec comme ligand GalC7

La conclusion est donc que la GalC7 n'est pas un ligand potentiel pour la synthèse de NPs d'or. Une nouvelle stratégie est alors mise en place : intégrer des NPs d'or déjà formées au moment de l'assemblage supramoléculaires.

7.2.2 Intégration des nanoparticules préformées dans les hydrogels

7.2.2.1 Plan d'expérience

Grace au transfert réalisé avant, les solvants utilisés dans la fabrication des hydrogels peuvent être facilement chargées en NPs, de petite et grande taille. Sachant que le DMSO est le solvant où les Gal sont dissoute, et l'eau le solvant de constitution de l'hydrogels, c'est un choix stratégique que d'avoir cherché à y transférer les NPs d'or. Trois facteurs vont variés au cours des expériences :

- Facteur 1 : la nature de la chaîne alkyl (C7/C9)
- Facteur 2 : la taille des NPs d'or (2,5/6nm)
- Facteur 3 : le solvant où se trouve les NPs d'or (DMSO/H₂O/DMSO et H₂O).

Pour pouvoir observer les variations qu'engendrent ces facteurs, 16 gels différents ont été fabriqués :

| N° expérience | facteur 1 | facteur 2 | facteur 3 |
|---------------|-----------|-----------|-----------------------|
| 1 | C7 | 2,5 | DMSO |
| 2 | C7 | 6 | DMSO |
| 3 | C7 | 2,5 | H ₂ O |
| 4 | C7 | 6 | H ₂ O |
| 5 | C7 | 2,5 | DMSO/H ₂ O |
| 6 | C7 | 6 | DMSO/H ₂ O |
| 7 | C7 | 2,5/6 | DMSO/H ₂ O |
| 8 | C7 | 6/2,5 | DMSO/H ₂ O |
| 9 | C9 | 2,5 | DMSO |
| 10 | C9 | 6 | DMSO |
| 11 | C9 | 2,5 | H ₂ O |
| 12 | C9 | 6 | H ₂ O |
| 13 | C9 | 2,5 | DMSO/H ₂ O |
| 14 | C9 | 6 | DMSO/H ₂ O |
| 15 | C9 | 2,5/6 | DMSO/H ₂ O |
| 16 | C9 | 6/2,5 | DMSO/H ₂ O |

Figure 36 : Plan d'expérience de l'assemblage entre les NPs d'or et les hydrogels

Le protocole de fabrication reste rigoureusement le même que pour la synthèse classique de ces hydrogels (annexe VIII), à la différence que le DMSO où la molécule est dissoute est, selon l'expérience, chargée en NPs d'or, il en est de même pour l'eau (Figure 36).

7.2.2.2 Caractérisation par TEM

Ici ne sera présenté que les images les plus intéressantes, en considérant les informations qu'elles délivrent (voir annexes VI pour image TEM de l'intégralité des expériences).

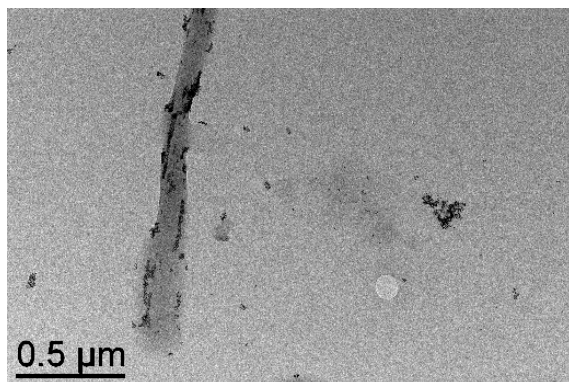


Figure 37 : hydrogel de GalC7, NPs de l'ordre de 6nm provenant de H₂O

✧ Expérience 4 :

Cette photo d'hydrogel de GalC7 peut laisser supposer que les NPs d'or restent à la surface du gel, quand elles proviennent de H₂O.

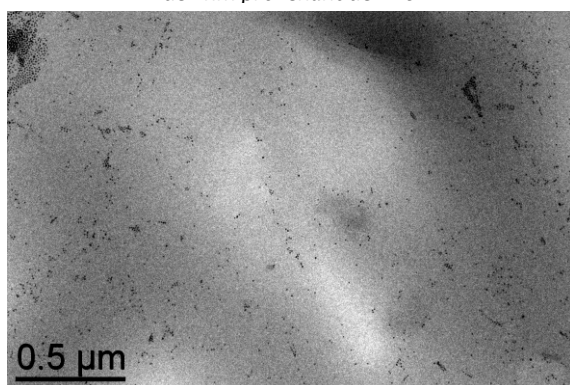


Figure 38 : hydrogel de GalC7, NPs de l'ordre de 6nm provenant du DMSO et de H₂O

✧ Expérience 6 :

Les NPs de 6nm semblent intégrées à la fois à l'intérieur et à la surface du gel quand les NPs sont initialement présentes dans l'eau et le DMSO.

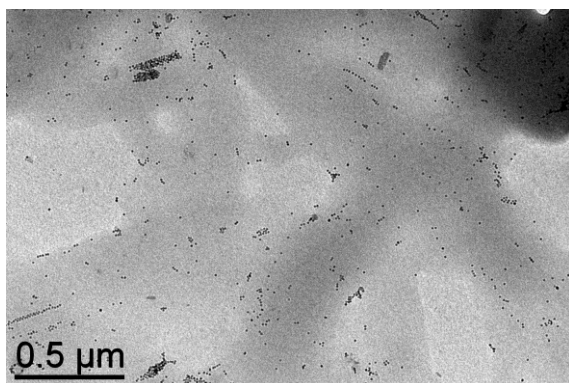


Figure 39 : hydrogel de GalC7, NPs de l'ordre de 6 nm dans le DMSO et 2,5 nm dans H₂O

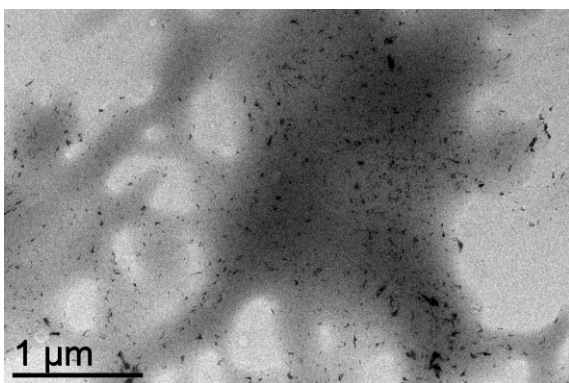


Figure 40 : hydrogel de GalC9, NPs de l'ordre de 6 nm provenant de H₂O.

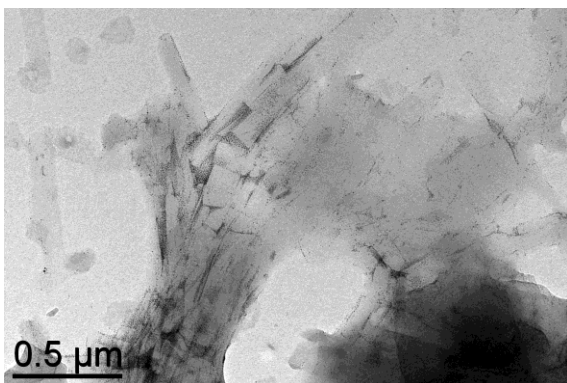


Figure 41 : hydrogel de GalC9, NPs de l'ordre de 2,5 provenant du DMSO et de H₂O

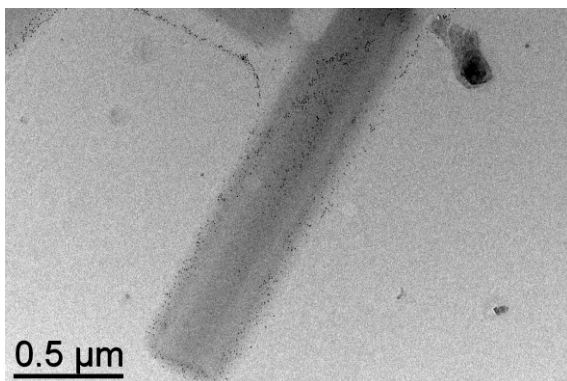


Figure 42 : hydrogel de GalC9, NPs de l'ordre de 6nm provenant du DMSO et de H₂O

Expérience 8 :

Lorsque deux tailles de NPs sont utilisées, les NPs semblent être intégrées à la fois à l'intérieur et à la surface du gel. Cependant, elles sont relativement polydisperses (de 2,7 à 12,4 nm, taille moyenne : 6nm \pm 1,5, voir annexe X). Il a pu se produire un phénomène de murissement. Nous n'avons pas observé de répartitions préférentielles, cependant un début d'organisation et d'alignement a été observé.

Expérience 12 :

Comme pour les autres gels où les NPs étaient concentrées dans H₂O, les NPs semblent être à la surface. Aucune organisation n'est observée, si ce n'est que les NPs d'or paraissent s'agréger.

Expérience 13 :

A l'intérieur du gel, les NPs imitent un arrangement en lamelle.

Expérience 14 :

Les NPs semblent être à la surface du gel.

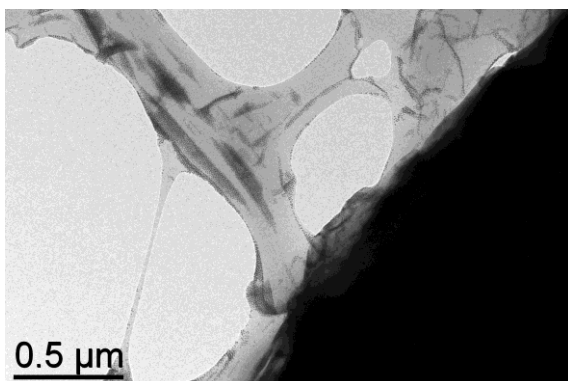


Figure 43 : hydrogel de GalC9, NPs de 2,5 provenant du DMSO et de 6 nm provenant de H₂O

✧ Expérience 15 :

A l'intérieur du gel, les NPs imitent un arrangement en lamelle.

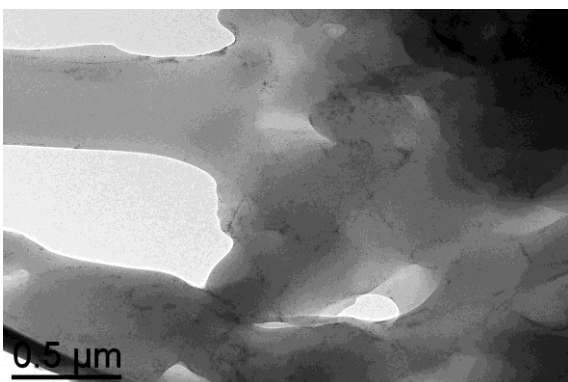


Figure 44 : hydrogel de GalC9, NPs de 6 nm provenant du DMSO et de 2,5 nm provenant de H₂O

✧ Expérience 16 :

Les NPs semblent plus présentes à l'intérieur du gel.

Ces expériences apportent de nouvelles informations importantes pour la suite de la recherche. Tout d'abord, la première information importante est sur la stabilité des NPs d'or. En les manipulant, elles ont tendance à subir des phénomènes de murissement, les tailles des NPs dans le gel sont modifiées. Il n'est pas observé de positionnement spécifique des différentes tailles de NPs dans les conditions expérimentales étudiées. Ensuite, tandis qu'il semble y avoir une organisation linéaire dans les gels de GalC9, l'intégration des NPs d'or dans la GalC7 s'avère plus aléatoire. De plus, pour confirmer les suppositions émises au cours de l'observation des images, il faudrait une analyse complémentaire en image 3D (tomographie) pour pouvoir les confirmer. Enfin, introduire des NPs dans chacun des solvants offre plus de chance à l'hydrogel d'être conducteur, car il est d'autant plus concentré en NPs.

8 Conclusion et perspectives

En résumé, le stage s'est consacré à l'alliance de deux précurseurs aux synthèses préalablement maîtrisées, les NPs d'or et la galactonamide. Il a fallu dans un premier temps réussir à s'approprier les protocoles déjà mis en place pour pouvoir les adapter au sujet. Ensuite, après avoir réussi à transférer des NPs d'or dans l'eau et le DMSO, les NPs ont pu être intégrés au LMWG pendant son autoassemblage. Le stage a été prolongé jusqu'au 6 juillet 2022 pour pouvoir valider la première étape de ce projet. Il manque effectivement pour valider le résultat de l'assemblage, d'effectuer : des mesures de conductivité, des images par MEB ou en 3D pour vérifier la répartition des NPs, des tests de stabilité des échantillons. Il faudrait également analyser par GC- notre solution de NPs d'or dans un milieu aqueux avec comme ligand la cystéine pour confirmer l'hypothèse d'un complexe d'or I. Des tests de biocompatibilités devront être mis en place pour vérifier que l'acide mercaptobenzoïque ne gêne pas les cellules. Si c'est le cas il faudra alors chercher un ligand biocompatible et efficace pour le transfert. Enfin, dans la continuité du projet, plusieurs pistes pourront être explorées, comme l'utilisation d'un gel de multi composition, combinant un LMWG avec un polymère pour surmonter le problème de stabilité mécanique, permettant une exploitation optimum du gel.

Pour conclure sur mon expérience personnelle au sein du laboratoire, cela été une expérience largement positive de mon point de vue. J'ai pu découvrir le fonctionnement d'un laboratoire public, j'ai eu la chance de participer à un domaine de recherches passionnant et acquérir un nombre de connaissances incalculable, la recherche en chimie inorganique fondamentale possédant des techniques et des méthodes de travail propres au domaine. J'ai découvert un espace de travail sain, où le premier mot d'ordre est passion mais aussi partage. J'ai pu, en plus d'en apprendre tous les jours sur mon sujet de stage, apprendre énormément par toutes les personnes que j'ai rencontrées, que cela soit dans mon équipe, dans les autres équipes que composent le laboratoire mais aussi lors des collaborations interlaboratoires (IMRCP et LCC). Ce stage a confirmé que la recherche publique est le secteur qui me correspond le mieux.

9 Bibliographie

(s.d.). Récupéré sur Wikipedia.

A.Chalard. (2018). Simple Synthetic Molecular Hydrogels from Self-Assembling Alkylgalactonamides as Scaffold for 3D Neuronal Cell Growth.

assef. (s.d.). *Les nanoparticules - la synthèse de l'ASEF.*

Bordignon, D. (2021). Wet spinning of a library of carbohydrate low molecular weight gels. *Journal of colloid and interface science.*

Fernandez, M. (2019). *Auto-assemblage de nanoparticules métalliques et semi-conductrices.*

G.Manai. (2020). *Auto-assemblage de nanoparticules métalliques orienté par des polymères peptidiques.*

Julien Barrier, S. L. (s.d.). *étude de l'effet plasmonique de nanoparticules d'or.* Paris.

Oliviero, E. (s.d.). *Microscopie électronique et analytique.*

P.Venturi. (2017). *Synthèse et caractérisation de nanomatériaux hybrides.*

Piras, C. (2022). Self-assembled gel tubes, filaments and 3D printing with in situ metal nanoparticle formation. *royal society of chemistry.*

S.Tebassi. (2019). *sythèse des matériaux hybrides nanostructurés à base de nanoparticules métalliques et de polymères peptidiques.*

sigma-Aldrich. (s.d.).

10 Table des illustrations

| | |
|--|----|
| Figure 1 : méthode de synthèse des NPs..... | 7 |
| Figure 2 : représentation schématique du murissement d'Ostwald | 8 |
| Figure 3 : schémas du microscope à transmission électronique | 8 |
| Figure 4 : formule topologique de la GalC7..... | 9 |
| Figure 5 : formule topologique de la GalC9 | 9 |
| Figure 7 : observation de l'hydrogel GalC7 au microscope optique (Bordignon, 2021)..... | 9 |
| Figure 6 : schémas de l'autoassemblage d'une galactonamide (Bordignon, 2021)..... | 9 |
| Figure 8 : gel de DBS-CONHNH ₂ chargé en NPs d'or, échelle : 100nm (Piras, 2022) | 10 |
| Figure 9 : réaction de synthèse des nanoparticules d'or | 11 |
| Figure 11 : NPs d'or de 4,8 nm ($\pm 0,6$) après 30 minutes d'agitation | 11 |
| Figure 10 : NPs d'or de 5,8 nm ($\pm 0,4$) après 5 minutes d'agitation..... | 11 |
| Figure 12 : NPs d'or de 3,1 nm ($\pm 0,3$) après 1 heures d'agitation | 11 |
| Figure 13 : NPs d'or de 3,1 nm ($\pm 0,3$) à T.A..... | 11 |
| Figure 14 : NPs d'or de 2,5 nm ($\pm 0,4$) à reflux (36,1°C) | 11 |
| Figure 15 : réaction de synthèse Turkevich des NPs d'or | 12 |
| Figure 16 : Nanoparticules d'or par synthèse de Turkevich | 12 |
| Figure 17 : NPs d'or de 2,5 nm ($\pm 0,4$) dans le pentane avant transfert de phase..... | 13 |
| Figure 18 : NPs d'or de 2,6 nm ($\pm 0,7$) après transfert de phase dans H ₂ O | 13 |
| Figure 19 : NPs d'or de 5,8 nm ($\pm 0,4$) dans le pentane avant transfert de phase | 13 |
| Figure 20 : NPs d'or de 7 nm ($\pm 0,5$) après transfert de phase dans H ₂ O..... | 13 |
| Figure 21 : NPs d'or de 2,5 nm ($\pm 0,4$) dans le pentane avant transfert de phase..... | 14 |
| Figure 22 : NPs d'or de 3,8 nm ($\pm 0,7$) après transfert de phase dans le DMSO | 14 |
| Figure 24 : NPs d'or de 6,2 nm ($\pm 0,7$) après transfert de phase dans le DMSO | 14 |
| Figure 23 : NPs d'or de 5,8 nm ($\pm 0,4$) dans le pentane avant transfert de phase..... | 14 |
| Figure 25 : formule topologique acide 4-mercaptobenzoïque (sigma-Aldrich, s.d.)..... | 14 |
| Figure 26 : formule topologique L-cystéine (Wikipedia, s.d.) | 14 |
| Figure 27 : NPs d'Or de 2,5 nm ($\pm 0,4$) avant transfert de phase avec la L-cystéine | 15 |
| Figure 28 : NPs d'or de 3,4 nm ($\pm 1,4$) après transfert de phase la L-cystéine..... | 15 |
| Figure 29 : NPs d'or de 5,8 nm ($\pm 0,4$) avant transfert de phase la L-cystéine..... | 15 |
| Figure 30 : NPs d'or de 7nm ($\pm 0,5$) après transfert de phase la L-cystéine..... | 15 |
| Figure 31 : autoassemblage de la GalC7 dans l'eau..... | 16 |
| Figure 32 : Hydrogels de GalC7 vu en TEM | 16 |
| Figure 33 : avant réaction (ligand + précurseur)..... | 17 |
| Figure 34 : après réaction (ajout du borane tert-butylamine) | 17 |
| Figure 35 : image TEM de la synthèse de NPs d'or avec comme ligand GalC7 | 17 |
| Figure 36 : Plan d'expérience de l'assemblage entre les NPs d'or et les hydrogels | 18 |
| Figure 37 : hydrogel de GalC7, NPs de l'ordre de 6nm provenant de H ₂ O..... | 18 |
| Figure 38 : hydrogel de GalC7, NPs de l'ordre de 6nm provenant du DMSO et de H ₂ O | 18 |
| Figure 39 : hydrogel de GalC7, NPs de l'ordre de 6 nm dans le DMSO et 2,5 nm dans H ₂ O..... | 19 |
| Figure 40 : hydrogel de GalC9, NPs de l'ordre de 6 nm provenant de H ₂ O. | 19 |
| Figure 41 : hydrogel de GalC9, NPs de l'ordre de 2,5 provenant du DMSO et de H ₂ O | 19 |
| Figure 42 : hydrogel de GalC9, NPs de l'ordre de 6nm provenant du DMSO et de H ₂ O | 19 |
| Figure 43 : hydrogel de GalC9, NPs de 2,5 provenant du DMSO et de 6 nm provenant de H ₂ O | 20 |
| Figure 44 : hydrogel de GalC9, NPs de 6 nm provenant du DMSO et de 2,5 nm provenant de H ₂ O..... | 20 |

11 Annexes

11.1 Annexes I : protocole synthèse de NPs d'or

AD01, 05/04/22, Référence : SL01 (INSA, CNRS, LCPNO).

Objectif : synthétiser des nanoparticules d'Or plus petites que 2,8 nm.

masse théorique = 26,84mg

| Réactifs engagés | Quantités | MM | Mmoles | Eq | Fournisseur/pureté | | Sécurité |
|------------------------|-----------|--------|--------|-----|--------------------|----------|---|
| Oleilamine | 10 mL | 267,49 | 29,8 | 107 | ALDRICH | 98% | Cancérogène, corrosif, nocif et polluant |
| HAuCl ₄ | 109,5 mg | 393,83 | 0,278 | 1 | Fisher | 49% (Au) | Corrosif et nocif |
| Pentane | 10 mL | | | | SOLVANT | | Inflammable, cancérogène, nocif, polluant |
| Borane tert-butylamine | 50 mg | 86,97 | 0,575 | 2 | / | / | Mortel, polluant |

Partie expérimentale :

Dans un ballon de 100 ml, 109,5 mg du précurseur H₂AuCl₄ sont placés. Par la suite, 10 ml de pentane et 10 ml d'oleylamine sont ajoutés. Le tout est sous agitation et à reflux (36,1°C) pendant 60 minutes. Au fur et à mesure de la réaction, le milieu s'éclaircit pour passer du rouge au jaune. Par la suite, 40mg de complexe de bore sont ajoutés dans le milieu. Le milieu devient alors d'un rouge extrêmement foncé. On centrifuge le milieu dans l'éthanol 30 minutes et une autre fois (solution divisée par 2) 10 min (10000tour/min). Enfin, les NPs d'or sont redispersées dans 20 ml de pentane. La solution est marron, ce qui peut signifier que la tailles des particules formées sont de l'ordre que l'on voulait. Pour préparer la caractérisation par TEM, une goutte de la solution finale est placée sur une grille de carbone.

11.2 Annexes II : protocole synthèse de NPs d'or

AD03, 12/04/22, Référence : AD01

Objectif sous-manipulation :

- a : reproduire manipulation AD01 sans contrainte de taille pour les NPs.
- b : synthétiser les NPs d'or en utilisant comme ligand la galactonamide.

masse théorique a = 26,35 mg b = 1,25mg

| AD03 | Réactifs engagés | Quantités | MM | mmoles | Eq | Fournisseur/pureté | Sécurité |
|------|--------------------------|-----------|--------|--------|-----|--------------------|---|
| a | Oleilamine | 10 mL | 267,49 | 29,8 | 109 | ALDRICH 98% | Cancérigène, corrosif, nocif et polluant |
| | HAuCl ₄ | 107,4 mg | 393,83 | 0,273 | 1 | Fisher 49% (Au) | Corrosif et nocif |
| | Pentane | 10 mL | | | | | Inflammable, cancérigène, nocif, polluant |
| | Borane tert-butylamine | 51,6 mg | 86,97 | 0,575 | 2 | Sigma-Aldrich 97% | Mortel, polluant |
| b | N-heptyl-D-galactonamide | 3,6 mg | 280 | 0,129 | 10 | Laboratoire INSA | Pas d'information |
| | HAuCl ₄ | 5,0 mg | 393,83 | 0,013 | 1 | Fisher 49% (Au) | Corrosif et nocif |
| | THF | 2mL | | | | | Inflammable, cancérigène, nocif, polluant |
| | Borane tert-butylamine | 3,7 mg | 86,97 | 0,042 | 3 | Sigma-Aldrich 97% | Mortel, polluant |

*IMRCP

Partie expérimentale :

Tout d'abord, la galactonamide étant une nouvelle molécule, sa solubilité doit-être testée.

Dans 2 piluliers différents, une pointe de spatule de N-Heptyl-D-galactonamide est déposée. 100 microlitres de THF sont ajoutés dans l'un et 100 microlitres de pentane dans l'autre. Les deux piluliers sont placés cinq minutes sous ultra-sons. La molécule commence à se disperser dans le THF, tandis que rien ne se passe dans le pentane. 100 microlitres de chacun des solvants sont ajoutés dans les piluliers qui sont placés cinq minutes sous ultra-sons. La molécule est totalement dispersée dans le THF, elle n'est cependant pas dissoute. En effet, la solution est trouble. La molécule ne se dissout pas dans le pentane. 200 microlitres de pentane sont ajoutés au milieu et il est placé 15 minutes dans la cuve à ultra-sons. L'expérience confirme que la galactonamide est insoluble dans le pentane.

Deux synthèses de NPs d'or sont lancées en parallèles.

Protocole sous-manipulation a : Voir manipulation AD01. Pour récupérer les NPs d'or, La solution a été centrifugée 10 min avec 8mL d'éthanol, puis 15 minutes en divisant par deux le volume dans 2 tubes différents. Les tubes sont encore centrifugés 20 min à l'aide de 5mL d'éthanol en plus. Le surnageant est séparé des NPs, qui sont redispersées dans le pentane tandis que 6 mL de MeOH sont ajoutés à chaque volume de surnageant puis le tout est centrifugé 20 minutes.

Protocole sous-manipulation b : Dans un pilulier de 30mL, 5,0mg du précurseur H₂AuCl₄, 3,6mg de Galactonamide et 2mL de THF sont placés et mis sous agitation pendant 30 minutes. 3,7 mg de borane tert-butylamine sont ajoutés dans le milieu. Il est ensuite centrifugé dans 24mL d'éthanol pendant 10 min à 10 000 tours/min.

11.3 Annexes III : protocole synthèse de NPs d'or par la méthode Turkevich

AD04, 14/04/22, Référence : SL29

Objectif : synthétiser des nanoparticules D'Or dispersées dans H₂O.

masse théorique = 2,22 mg

| Réactifs engagés | Quantités | MM | mmoles | Eq | Fournisseur/pureté | Sécurité |
|--|-----------|--------|--------|---------|--------------------|-------------------|
| Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ . 2H ₂ O | 18 mg | 294,1 | 0,061 | 2 | Alfa Aesar 99% | Combustible |
| HAuCl ₄ | 9,8mg | 393,83 | 0,025 | 1 | Fisher 49 % (Au) | Corrosif et nocif |
| H ₂ O | 100 mL | | | SOLVANT | | / |

Partie expérimentale :

Dans un tube Fisher-Porter, 9,8mg de HAuCl₄ dans 90 mL de H₂O, puis 18 mg de citrate dans 10 mL de H₂O sont placés. Le milieu est laissé à température ambiante pendant 1h30. La solution devient transparente. Elle est chauffée à 125°C jusqu'à obtenir une couleur violette. Elle est placée sous évaporation jusqu'à obtenir 44 mg.

11.4 Annexes V : protocole transfert de NPs d'or dans l'eau

ADo6, 26/04/22 Référence : KB (INSA, CNRS, LCPNO).

Objectif : Obtenir des NPs d'Or dans un milieu aqueux.

| Réactifs engagés | Quantités | MM | mmol | Eq. | Fournisseur/pureté | Sécurité |
|-------------------------|-----------|-----|------|-----|--------------------|--------------------|
| NPs Or | 2 mL | 197 | 0,05 | 1 | Laboratoire LCPNO | Combustible |
| acide mercaptobenzoïque | 164 mg | 154 | 1,06 | 20 | Acros 90% | Corrosif et nocif |
| Chloroforme | 10 mL | | | | SOLVANT | Toxique |
| Hydroxyde d'ammonium | / | 35 | / | / | | Corrosif et mortel |
| H2O | 10 mL | | | | SOLVANT | / |

Partie expérimentale :

La réaction est réalisée deux fois avec une solution de NPs de taille dite « grande » (SL01c) et « petite » (ADo1).

2 ml de solution de NPs d'Au sont placés dans un tube à centrifuger avec de l'éthanol puis le milieu est centrifugé pendant 15 minutes à 10 000 tours/minutes. Les NPs sont ensuite redispersées dans le chloroforme. En parallèle, dans 10 ml de H₂O, 164 mg d'acide mercaptobenzoïque sont mis, et quelques gouttes d'hydroxyde tétraméthylammonium sont ajoutées, de façon à obtenir un pH vers 12. Les deux milieux sont ensuite rassemblés et agités.

11.5 Annexes VI : protocole transfert de NPs d'or dans le DMSO

AD07, 29/04/22, Référence : Manipulation AD06 (INSA, CNRS, LCPNO).

Objectif : Obtenir des NPs d'Or dans le DMSO.

| AD07 | Réactifs engagés | Quantités | MM | mmol | Eq. | Fournisseur/pureté | Sécurité |
|------|-------------------------|-----------|-----|------|---------|--------------------|-------------------|
| a | NPs Or | 1 mL | 197 | 0,05 | 1 | Laboratoire LCPNO | Inflammable |
| | Acide mercaptobenzoïque | 78 mg | 154 | 0,5 | 10 | Acros 90% | Corrosif et nocif |
| | DMSO | 5 mL | | | SOLVANT | | / |
| b | NPs Or | 2 mL | 197 | 0,05 | 1 | Laboratoire LCPNO | Inflammable |
| | Acide mercaptobenzoïque | 77 mg | 154 | 0,5 | 10 | Acros 90% | Corrosif et nocif |
| | DMSO | 5 mL | | | SOLVANT | | / |

Partie expérimentale :

La réaction est réalisée deux fois avec une solution de NPs de taille dite « grande » (SL01c) et « petite » (AD01). Dans 5 ml de DMSO, 77 mg d'acide mercaptobenzoïque sont placés. 2 ml de NPs d'Au dans du pentane sont ajoutés au milieu. Le transfert se fait au bout de quelques minutes. Il est plus rapide pour les NPs de petites tailles.

11.6 Annexes VII : protocole transfert de NPs d'or dans l'eau

ADo8, 03/05/22, Référence : Manipulation ADo6 (INSA, CNRS, LCPNO).

Objectif : Obtenir des NPs d'Or dans un milieu aqueux.

| AD08 | Réactifs engagés | Quantités | MM | mmol | Eq. | Fournisseur/pureté | Sécurité |
|------|------------------|-----------|-----|------|---------|--------------------|-------------------|
| a | NPs Or | 1 mL | 197 | 0,05 | 1 | Laboratoire LCPNO | Combustible |
| | Cystéine | 61,3 mg | 154 | 0,4 | 8 | Acros 90% | Corrosif et nocif |
| | H2O | 10 mL | | | SOLVANT | | / |
| b | NPs Or | 2 mL | 197 | 0,05 | 1 | Laboratoire LCPNO | Combustible |
| | Cystéine | 61,3 mg | 154 | 0,5 | 10 | Acros 90% | Corrosif et nocif |
| | H2O | 5 mL | | | SOLVANT | | / |

Partie expérimentale :

La réaction est réalisée deux fois avec une solution de NPs de taille dite « grande » (SL01c) et « petite » (AD01). Un nouveau type de ligand est testé, la cystéine. Pour les sous-manipulations a et b, le même protocole que celui de la manipulation ADo8 est appliqué (annexe V).

11.7 Annexes VIII : protocole fabrication d'hydrogels

AD08, 03/05/22, Référence : (Bordignon, 2021)

Objectif : maîtriser la gélification de la galactonamide C7.

| AD09 | Réactifs engagés | Quantités | MM | Fournisseur/pureté |
|------|--------------------------|-----------|-----|--------------------|
| a | N-heptyl-D-galactonamide | 40 mg | 280 | Laboratoire IMRCP |
| | NPs d'Or dans DMSO | 1 mL | 154 | Laboratoire LCPNO |
| | H2O | 40 mL | | SOLVANT |
| b | N-heptyl-D-galactonamide | 40 mg | 280 | Laboratoire IMRCP |
| | DMSO | 1 mL | | SOLVANT |
| | H2O | 40 mL | | SOLVANT |

Partie expérimentale :

Pour chaque fabrication d'hydrogel, il est important de déterminer les paramètres pour obtenir un débit régulier, et une gélification à bonne hauteur. Pour cela on règle la hauteur du pousse seringue, le diamètre de la seringue et la vitesse d'écoulement. Il faut le faire dans un premier temps dans une solution claire afin de vérifier la formation de l'hydrogel.

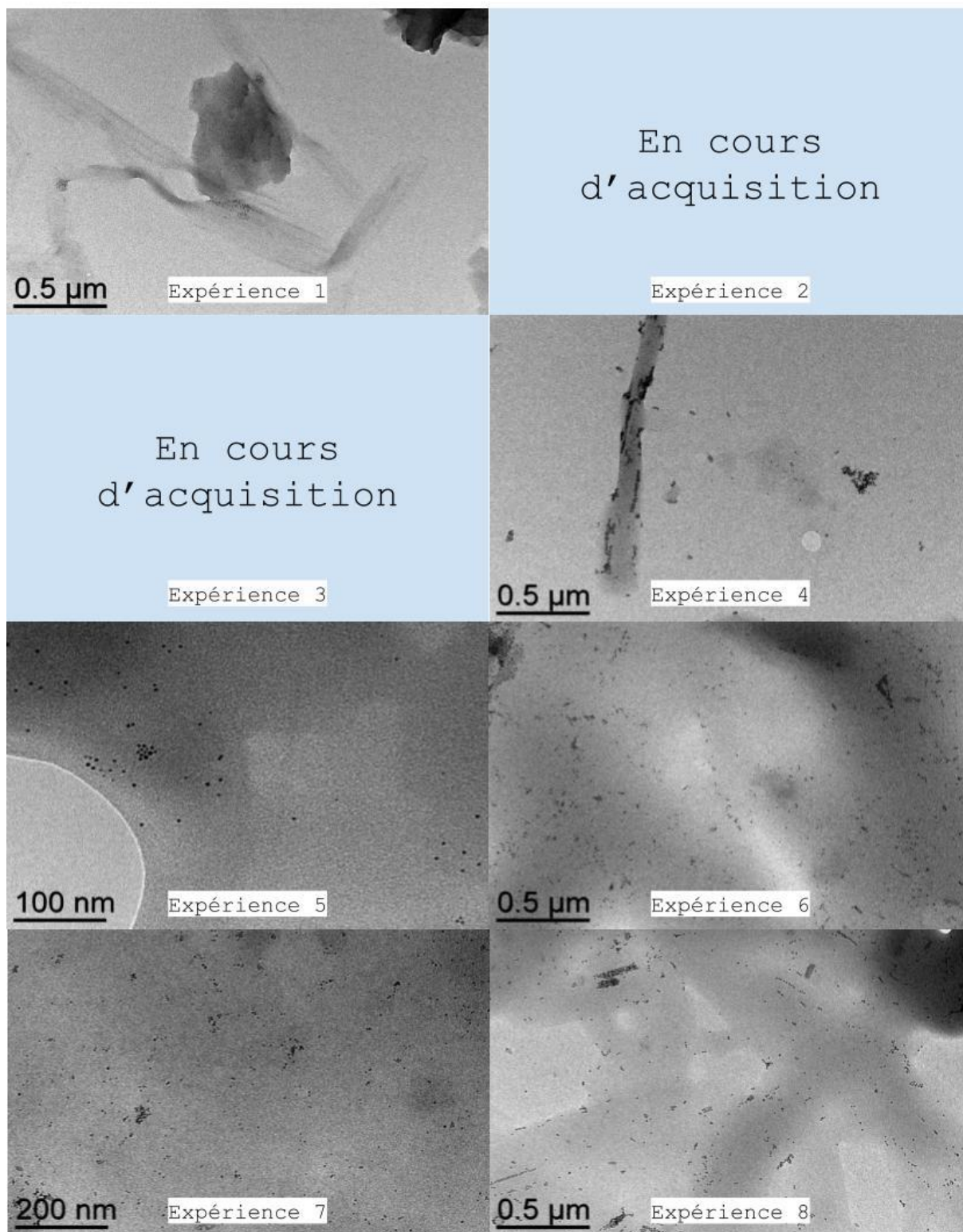
Sous-manipulation :

a : GalC7 dissout dans DMSO comprenant petites NPs gélifié dans H2O

b : GalC7 dissout dans DMSO gélifié dans H2O

La galactonamide est dissoute à l'aide des ultra-sons dans le DMSO. 0,2 ml de la solution sont introduits dans une seringue, qui est par la suite placée sur le pousse seringue pour obtenir un débit régulier, très important pour la qualité des gels. Quand la solution coule dans l'eau, elle se gélifie et forme un long fil blanc.

11.8 Annexes IX : image TEM des assemblages entre hydrogels et NPs d'or



En cours
d'acquisition

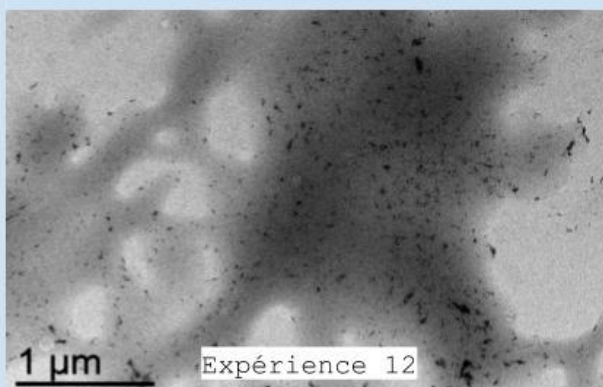
Expérience 9

En cours
d'acquisition

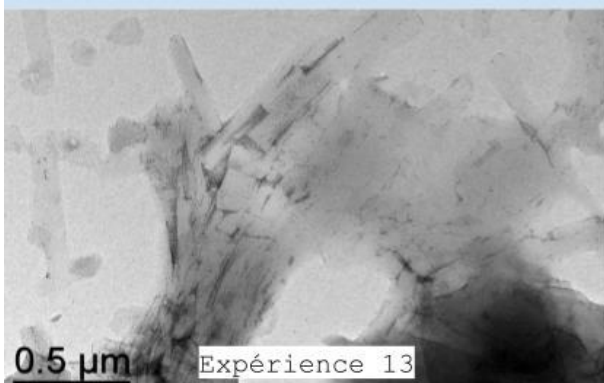
Expérience 10

En cours
d'acquisition

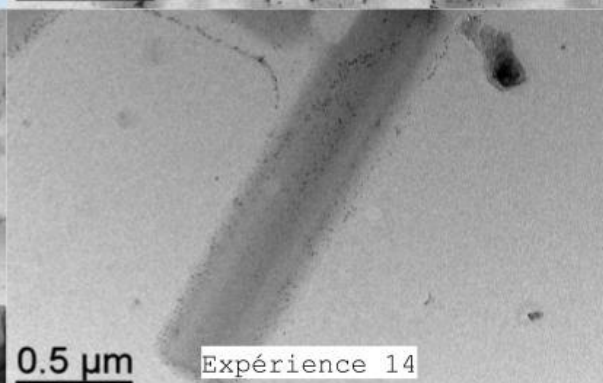
Expérience 11



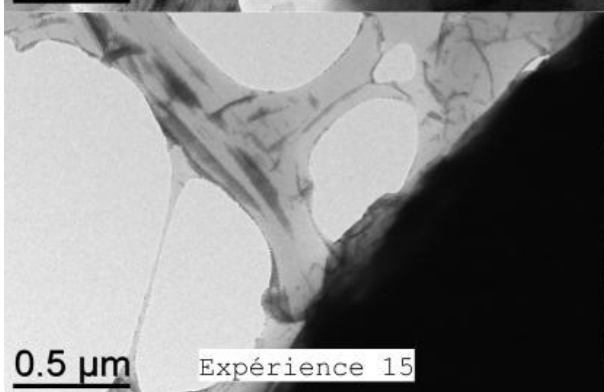
Expérience 12



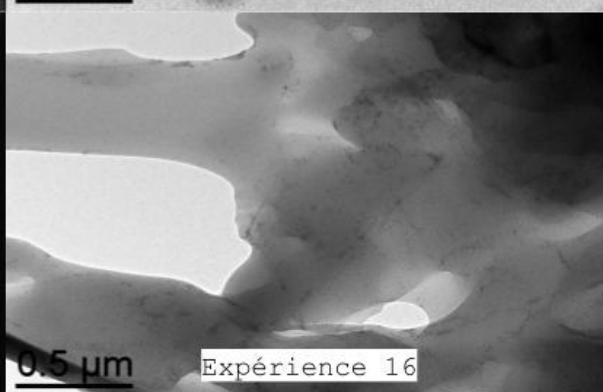
Expérience 13



Expérience 14



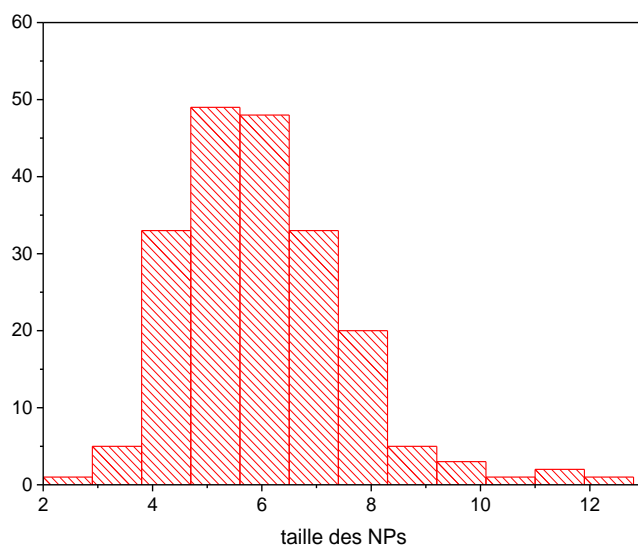
Expérience 15



Expérience 16

11.9 Annexe X : exemple de distribution de taille pour l'expérience 8

| Total de NPs | Taille | Incertitude | Minimum | Médiane | Maximum |
|--------------|--------|-------------|---------|---------|---------|
| 201 | 6 nm | 1,5 nm | 2,8 nm | 5,8 nm | 12,4 nm |



12 Fiche métier

12.1 Technicienne chimiste en synthèse chimique

Le technicien chimiste apporte un soutien technique à l'équipe, il travaille souvent en collaboration avec un ingénieur ou un docteur, de manière relativement indépendante selon les besoins du poste.

12.1.1 Compétences (selon le sujet du stage) :

- ☒ Formation technique en MET
- ☒ Analyse spectroscopie UV-visible et IR
- ☒ Traitement, interprétation et mise en forme des données expérimentales, exploitation des résultats
- ☒ Logiciel de traitement d'analyses (Image J, Origin)
- ☒ Niveau B2 en anglais
- ☒ Reproduction de protocole en synthèses inorganiques
- ☒ Reproduction de protocole en fabrication d'hydrogels
- ☒ Logiciels de bureautique
- ☒ Formation sécurité

12.1.2 Qualités requises :

- ☒ Autonomie et prise d'initiative
- ☒ Adaptabilité
- ☒ Travail en équipe
- ☒ Conscience professionnelle
- ☒ Sens critique
- ☐ Rigueur
- ☒ Organisation

12.2 Chercheur en chimie (de synthèse)

Le chercheur en chimie fondamentale a comme but de faire reculer les frontières de la connaissance. Il étudie des sujets très peu connus et peu travaillés sans obtenir de résultats concrets pendant de longues périodes. Les résultats de ses recherches, quand ils sont prometteurs, peuvent déboucher sur des publications scientifiques.

12.2.1 Compétences :

- ☒ Connaissance de la chimie théorique
- ☒ Interdisciplinarité
- ☒ Niveau C1 en anglais
- ☒ Développement de protocole
- ☒ Traitement, interprétation et mise en forme des données expérimentales, exploitation des résultats
- ☐ Formation technique aux techniques de caractérisations et analytiques

12.2.2 Qualités requises :

- ☒ Patience
- ☒ Persévérance

- ☒ Travail en équipe
- ☒ Adaptabilité
- ☒ Autonomie et prise d'initiative
- ☒ Sens critique
- ☒ Curiosité
- ☐ Rigueur
- ☒ Pédagogie

13 Résumé / Abstract

Il existe un nouveau type d'hydrogel formé par des dérivés de la galactonamide. C'est le premier gel à bas poids moléculaire où il est possible de développer une culture cellulaire en 3 dimensions. L'électrostimulation de l'hydrogel permet d'améliorer la prolifération des cellules mésenchymateuses. Il s'agit de cellules souches qui facilitent la réparation osseuse et tissulaire mais aussi qui pourrait potentiellement servir aux traitements de maladies incurables ou immunodépressives. Les nanoparticules d'or possèdent de nombreuses propriétés intéressantes, notamment électrique, mais aussi en matière de stabilité. L'objectif de ce stage est d'intégrer les NPs d'or, synthétisées par le laboratoire, aux propriétés conductrices dans ces gels de bas poids moléculaire afin de former des systèmes conducteurs pour le domaine biologique. Pour cela, l'IMRCP et le LPCNO associe leur connaissance. Dans nos travaux, nous avons associé des nanoparticules d'or de 2,5 et 6 nm, avec la N-heptyl-D-galactonamide et la N-nonyl-D-galactonamide. Nous avons développé une stratégie pour pouvoir obtenir ces hydrogels chargés en nanoparticules. Les premiers résultats ont montré qu'on pouvait obtenir une organisation des nanoparticules sous forme de lamelle avec la N-nonyl-D-galactonamide.

There is a new type of hydrogel formed by galactonamide derivatives. It is the first low molecular weight gel where it is possible to develop a cell culture in 3 dimensions. The electrostimulation of the hydrogel allows to improve the proliferation of mesenchymal cells. These are stem cells that facilitate bone and tissue repair but could also potentially be used to treat incurable or immunosuppressive diseases. Gold nanoparticles have many interesting properties, notably electrical, but also in terms of stability. The objective of this internship is to integrate gold NPs, synthesized by the laboratory, with conductive properties in these low molecular weight gels in order to form conductive systems for the biological field. For this, IMRCP and LPCNO associate their knowledge. In our work, we have associated gold nanoparticles of 2.5 and 6 nm, with N-heptyl-D-galactonamide and N-nonyl-D-galactonamide. We have developed a strategy to be able to obtain these nanoparticle associated to hydrogels. The first results showed that a lamellar organization of the nanoparticles could be obtained with N-nonyl-D-galactonamide.