



**HAL**  
open science

# Synthèse, caractérisations et fonctionnalisation de nanocristaux semi-conducteurs luminescents

Akram Yahia Ammar

► **To cite this version:**

Akram Yahia Ammar. Synthèse, caractérisations et fonctionnalisation de nanocristaux semi-conducteurs luminescents. Autre. Université de Strasbourg, 2014. Français. NNT : 2014STRAF058 . tel-01144108

**HAL Id: tel-01144108**

**<https://theses.hal.science/tel-01144108>**

Submitted on 21 Apr 2015

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

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

**ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES CHIMIQUES**  
Institut Pluridisciplinaire Hubert CURIEN

**THÈSE** présentée par :  
**Akram YAHIA AMMAR**

Soutenue le : 08 décembre 2014

Pour obtenir le grade de : **Docteur de l'université de Strasbourg**

Discipline/ Spécialité : Chimie

**Synthèse, caractérisations et  
fonctionnalisation de nanocristaux semi-  
conducteurs luminescents**

**THÈSE dirigée par :**

**Dr. CHARBONNIERE Loïc**

Directeur de thèse, CNRS de Strasbourg

**RAPPORTEURS :**

**Prof. HILDEBRANDT Niko**

**Dr. REISS Péter**

Rapporteur externe, université de Paris-sud

Rapporteur externe, CEA Grenoble

---

**AUTRES MEMBRES DU JURY :**

**Dr. IMBERT Daniel**

**Dr. ROGEZ Guillaume**

**Dr. NONAT Aline**

Examinateur, CEA Grenoble

Examinateur, CNRS de Strasbourg

Co-encadrante, CNRS de Strasbourg



*À mes parents,*







# Sommaire

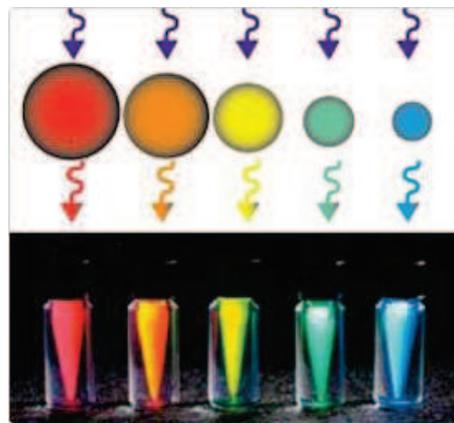
<b>Chapitre I. Introduction</b> .....	<b>1</b>
1. Structure et composition des nanocristaux semi-conducteurs .....	1
2. Les matériaux semi-conducteurs .....	2
3. Confinement quantique .....	3
4. Fluorescence .....	5
5. Synthèse des nanocristaux semi-conducteurs luminescents .....	6
4. Fonctionnalisation des quantum dot .....	11
5. Transfert d'énergie de type Förster (FRET) .....	13
6. Application des quantum dots dans des systèmes de transferts d'énergie .....	17
7. Objectifs du travail .....	18
8. Bibliographie .....	20
<b>Chapitre II. Synthèse et caractérisations de nanoparticules luminescentes de CdTe<sub>x</sub>S<sub>y</sub></b>	<b>31</b>
1. Optimisation de la synthèse .....	31
2. Caractérisation des nanoparticules .....	35
3. Model structural proposé pour le calcul de la masse molaire .....	42
4. Influence du ligand sur les propriétés optiques des nanoparticules .....	44
5. Stabilité des nanoparticules .....	51
6. Conclusion .....	52
7. Bibliographie .....	54
<b>Chapitre III. Application de nanoparticules au transfert d'énergie</b> .....	<b>59</b>
1. Synthèse et fonctionnalisation d'un dérivé du rouge du Nil .....	59
2. Caractérisations optiques .....	62
3. Etude du transfert d'énergie entre QD <sub>540</sub> et le Rouge du Nil .....	68
4. Mise en évidence du transfert d'énergie par spectrométrie de fluorescence en temps résolu .....	70
5. Etude quantitative du FRET à l'état stationnaire .....	72
6. Conclusion .....	77
7. Bibliographie .....	78
<b>Chapitre IV. Amélioration des propriétés optiques de CdTe<sub>x</sub>S<sub>y</sub></b> .....	<b>83</b>
1. Système cœur/coquille .....	83
2. Tentative d'introduction d'une couche de ZnS .....	85
3. Synthèses de nanocristaux semi-conducteurs de CdTe <sub>x</sub> S <sub>y</sub> par voie micro-ondes .....	90
4. Conclusion .....	98
5. Bibliographie .....	100

<b>Chapitre V. Déplacement des propriétés optiques vers le proche infrarouge</b> .....	<b>105</b>
1. Généralités.....	105
2. Synthèse de nanoparticules de CdTe <sub>x</sub> Hg <sub>y</sub> .....	105
3. Synthèse et caractérisations de nanoparticules de CdTe <sub>x</sub> Se <sub>y</sub> S <sub>z</sub> .....	107
4. Conclusion .....	114
5. Bibliographie .....	115
<b>Chapitre VI. Fonctionnalisation des nanoparticules luminescentes</b> .....	<b>121</b>
1. Principe de la Migration sur gel d'agarose et mise au point des conditions .....	121
2. Couplage direct par liaison peptidique.....	123
3. Couplage directe par un lien thioether .....	136
4. Couplage indirect.....	144
5. Conclusion .....	145
6. Bibliographie .....	147
<b>Chapitre VII. Conclusion et perspectives</b> .....	<b>151</b>
<b>Chapitre VIII. Partie expérimentale</b> .....	<b>157</b>
1. Technique de caractérisations des nanocristaux semi-conducteur luminescents .....	157
2. Synthèses des nanocristaux semi-conducteurs de CdTe <sub>x</sub> S <sub>y</sub> .....	160
3. Tentatives d'introduction d'une couche de ZnS .....	161
4. Synthèses de nanocristaux semi-conducteurs de CdTe <sub>x</sub> S <sub>y</sub> par voie micro-ondes. ....	162
5. Déplacement des propriétés optique vers le proche infrarouge .....	164
6. Synthèse de ligands .....	165
7. Fonctionnalisation des nanoparticules luminescentes .....	172
8. Bibliographie .....	178
<b>Abréviations</b> .....	<b>181</b>
<b>Publications et communications</b> .....	<b>183</b>



## 1. Structure et composition des nanocristaux semi-conducteurs

Les nanoparticules luminescentes (quantum dots) sont de très petits cristaux de matériaux semi-conducteurs. Elles sont généralement composées d'un cœur cristallin, généralement à base de chalcogénures comme CdSe, CdTe et HgTe. Le cœur est recouvert d'une couche de molécules organiques (Figure I.2). Leur taille varie d'environ une centaine à quelques milliers d'atomes. Le diamètre des quantum dots est compris entre deux et dix nanomètres, ce qui les met dans une gamme spéciale de taille qui conserve certaines propriétés des matériaux massifs, ainsi que des propriétés des atomes et des molécules. Pour les matériaux semi-conducteurs massifs, la bande interdite du matériau est un ensemble de barrières d'énergies entre les bandes de valence et de conduction, dicté par la composition du matériau (Tableau I.1). Contrairement à un semi-conducteur massif, la bande interdite des quantum dots est influencée par leurs tailles. Les petites nanoparticules émettent de la lumière d'énergie plus élevée que les grandes, ce qui rend la longueur d'onde de la lumière émise par les particules modulable, les plus petites nanoparticules émettant une lumière bleue et les plus grosses particules émettant une lumière rouge (Figure I.1).



**Figure I.1** : Longueurs d'onde d'émission en fonction de la variation de la taille des nanoparticules

Les ligands jouent un rôle essentiel dans la stabilité des nanocristaux car ils permettent une répulsion stérique entre nanoparticules, favorisant ainsi leur suspension dans un solvant adapté. De plus, ils servent à introduire des fonctions réactives à la surface, ce qui ouvre la porte à plusieurs types d'applications. Le cœur peut être également recouvert d'une ou plusieurs coquilles d'autres matériaux semi-conducteurs afin d'améliorer les propriétés optiques.<sup>1,2</sup> Nous verrons plus de détails dans le chapitre IV.

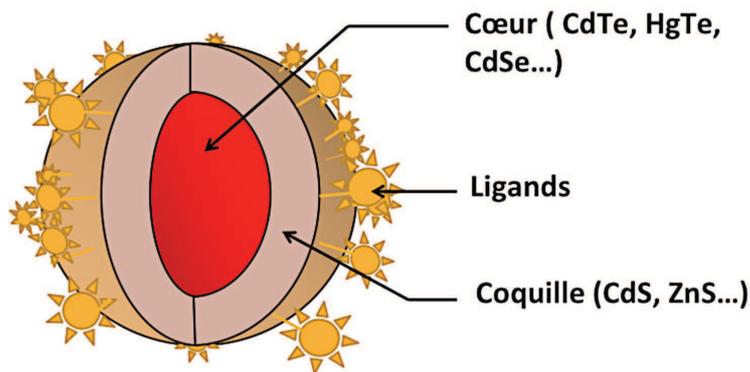


Figure I.2 : Structure schématique d'un nanocristaux semi-conducteurs

## 2. Les matériaux semi-conducteurs

Afin de comprendre les quantum dots, nous devons d'abord comprendre les matériaux qui les composent. Les matériaux semi-conducteurs sont une classe définie essentiellement par leurs propriétés électroniques. Dans les métaux et les autres conducteurs, les bandes de conduction et de valence se chevauchent, sans barrière énergétique importante. Pour les isolants, il existe une barrière d'énergie importante qui rend impossible le déplacement de l'électron entre les deux bandes. Cependant, dans un semi-conducteur, la barrière d'énergie est intermédiaire entre les conducteurs et les isolants (Figure I.3). Les bandes interdites ( $E_g$ ) pour les métaux, les semi-conducteurs, et les isolants sont généralement inférieures à 0,1 eV, entre 0,5 et 3,5 eV, et supérieures à 4 eV, respectivement.<sup>3</sup>

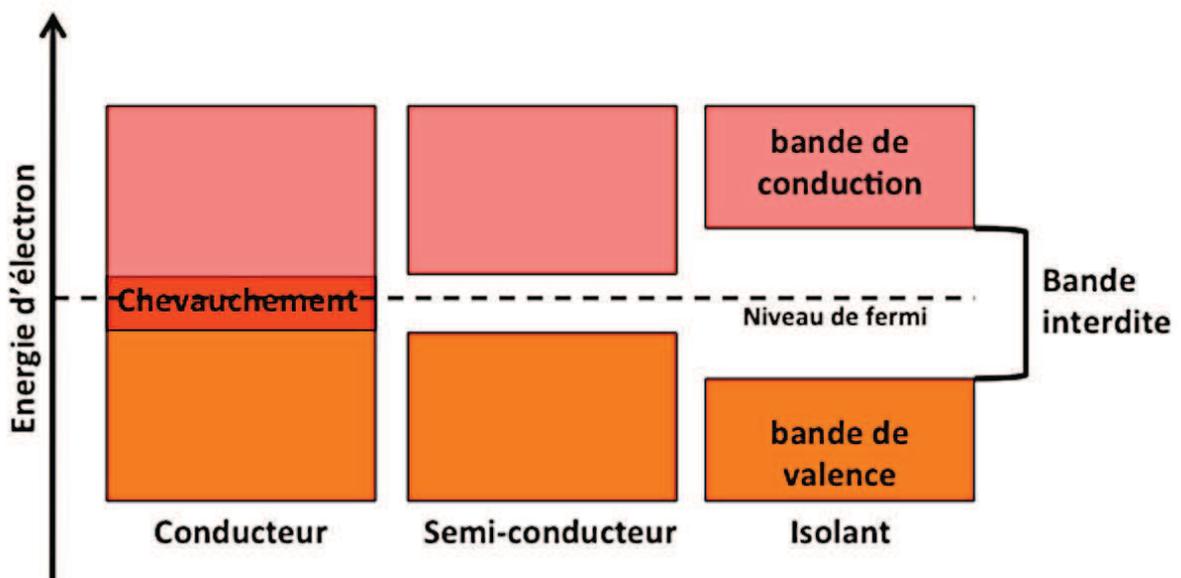
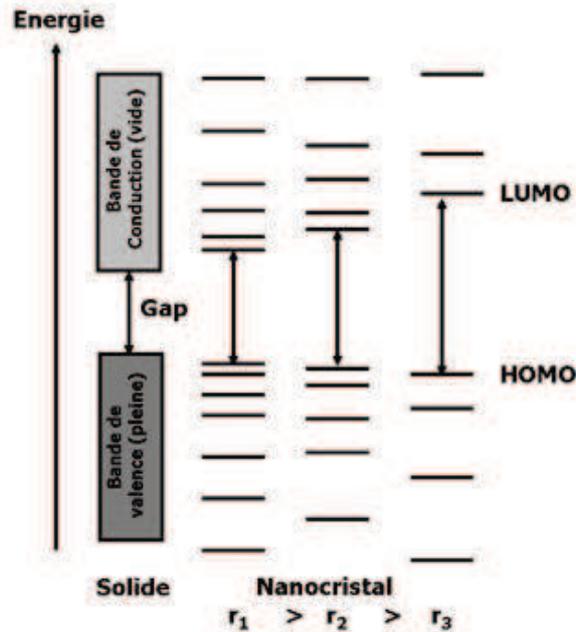


Figure I.3: Barrière d'énergie des métaux, semi-conducteurs et isolants

### **3. Confinement quantique**

La caractéristique principale des nanocristaux semi-conducteurs est que leur bande interdite est modulable en fonction de leur taille du à un phénomène appelé « Confinement quantique ». Ce phénomène est causé par la taille des nanoparticules. En effet, avec la diminution de la taille des particules, l'exciton devient plus grand que les dimensions du cristal. Cependant, pour pouvoir pénétrer dans le nanocristal, les porteurs de charge doivent accepter une énergie cinétique plus élevée, ce qui conduit à une augmentation du gap et à un confinement des niveaux énergétique en valeurs discrètes.<sup>4</sup> En raison de la taille nanométrique des nanocristaux, la structure énergétique passe d'une structure en bandes à une structure en niveaux discrets (Figure I.4). Les nanoparticules possèdent donc des propriétés intermédiaires entre celles du matériau massif et celles des composés moléculaires et la description par la théorie des orbitales moléculaires est mieux adaptée (en utilisant les termes HOMO (orbitale moléculaire le plus haute occupée, en anglais Highest Occupied Molecular Orbital) et LUMO (orbitale moléculaire la plus basse vacance, en anglais Lowest Unoccupied Molecular Orbital)) que celle des semi-conducteurs massifs (la bande de valence (BV) et bande de conduction (BC)). A cette échelle et lorsque les trois dimensions d'une particule sont plus petites que le rayon d'exciton de Bohr, les nanoparticules semi-conductrices agissent comme de grosses molécules, et le niveau d'énergie varie en fonction des orbitales et change la largeur de la bande interdite. Cela nous permet de faire varier la longueur d'onde de la lumière émise.



**Figure I.4** : Variation de la structure électronique entre le solide massif et des NCs de taille décroissante

Brus a développé une relation empirique entre la taille de la particule et la largeur de la bande interdite (Équation I.1).<sup>5,6</sup> Cette relation est basée sur l'hypothèse que les nanoparticules ont une forme sphérique de rayon  $r$ . A l'aide de **Tableau I.1**, cette relation permet de calculer la variation théorique de la bande interdite des différents semi-conducteurs ( $E_g$ ) en fonction de la taille  $r$ .

$$E_g = E_g^{Solide} + \frac{h^2 \times \pi^2}{2 \times r^2} \times \left( \frac{1}{m_e^*} + \frac{1}{m_h^*} \right) - \left( \frac{1,786 \times e^2}{\epsilon_r \times \epsilon_0} \times \frac{1}{r} \right)$$

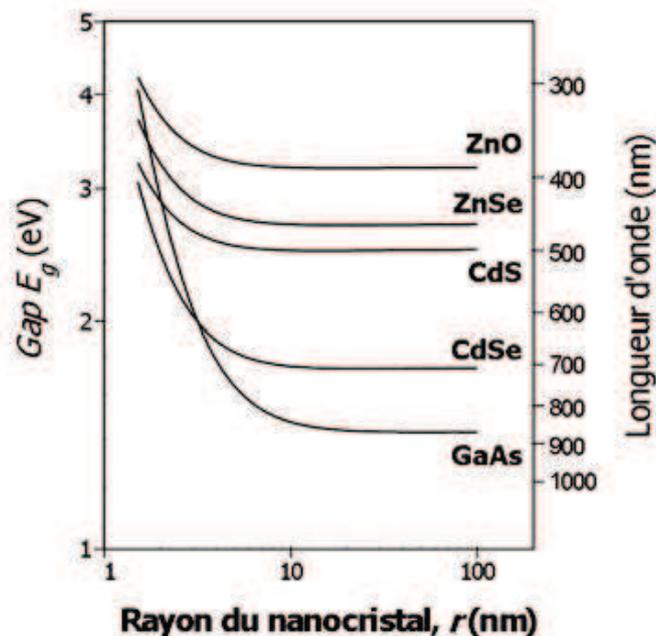
**Équation I.1**

Où

- $E_g^{Solide}$  est la bande interdite du cristal massif
- Le deuxième terme en  $1/r^2$  ( $r$  en nm) est le terme << confinement quantique >> calculé dans l'hypothèse d'un puits potentiel sphérique dans lequel sont confinés un électron et un trou de masses effectives  $m_e^*$  et  $m_h^*$  (sans dimension) ( $m_e$  est la masse de l'électron ( $9,1 \times 10^{-31}$  kg)) et  $h$  la constante de Planck réduite ( $1,0546 \times 10^{-34}$  J.S).
- Le troisième terme est le terme d'attraction coulombienne entre l'électron et le trou  $\epsilon_r$  (sans dimension) étant la permittivité diélectrique statique du matériau relative à celle du vide  $\epsilon_0$  ( $8,854 \times 10^{-12}$  F/m).

Matériau	Structure	Type	$E_g$ solide (eV)	$m_e^*$	$m_h^*$	$\epsilon_r$	$r_B$ (nm)
			à 300 K				
ZnO	wurtzite	II-VI	3,30	0,26	0,6	8,2	2,4
ZnSe	zinc blende	II-VI	2,70	0,157	0,75	8,7	3,6
ZnS	zinc blende	II-VI	3,60	0,28	0,61	8,9	2,5
CdS	wurtzite	II-VI	2,52	0,2	0,7	8,8	3,0
CdSe	wurtzite	II-VI	1,76	0,12	0,45	9,5	5,3
CdTe	zinc blende	II-VI	1,45	0,1	0,4	7,2	4,8
GaAs	zinc blende	III-V	1,42	0,063	0,5	12,9	12,2
InP	zinc blende	III-V	1,34	0,075	0,64	12,56	9,9
InAs	zinc blende	III-V	0,35	0,027	0,41	14,9	31,2

**Tableau I.1** : Paramètres de quelques semi-conducteurs de type II-VI et III-V : Structure cristallographique, type, largeur de la bande interdite ( $E_g$ ), masses effectives d'un électron ( $m_e^*$ ) et d'un trou ( $m_h^*$ ), permittivité diélectrique relative  $\epsilon_r$ , rayon ( $r$ ) d'après la référence 7

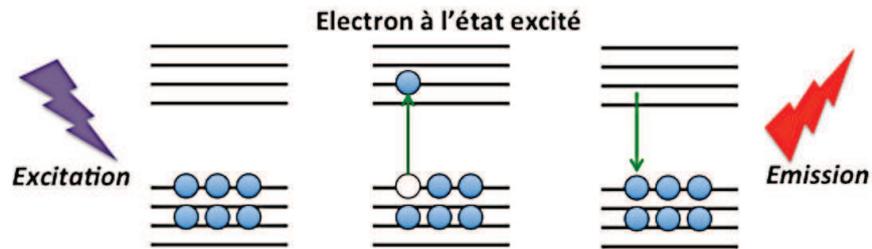


**Figure I.5** : Variation théorique de la bande interdite calculée pour des NCs de différents semi-conducteurs en fonction de la taille calculées à partir de l'Équation I-1 et des paramètres du Tableau I.1

#### 4. Fluorescence

Quand un photon d'une énergie suffisante, supérieure à la bande interdite du matériau est absorbé par le matériau, un électron est excité à partir de la bande de valence à la bande de conduction en formant un trou dans la bande de valence. Le retour de l'électron à la bande de valence se traduit par l'émission d'un photon avec une énergie proportionnelle à la largeur de

la bande interdite du matériau (Figure I.6). C'est la raison pour laquelle les quantum dots peuvent absorber toutes les longueurs d'onde d'une énergie supérieure à celle de la bande interdite et le convertir en une longueur d'onde spécifique. Elles sont donc caractérisées par un spectre d'absorption large et des coefficients d'absorption élevés ainsi que par des spectres d'émission fin et symétriques. La largeur à mi-hauteur est proportionnelle à leur dispersion en taille.



**Figure I.6** : Mécanisme d'excitation et d'émission par recombinaison radiative électron/trou

## 5. Synthèse des nanocristaux semi-conducteurs luminescents

### 5.1. Historique

L'apparition de nanocristaux semi-conducteurs remonte aux années 1980, dans trois équipes indépendantes. Le groupe d'Ekimov a développé des méthodes de synthèse de verres dopés (principalement par CdS et CdSe).<sup>8,9</sup> Cette synthèse est basée sur la dissolution du matériau semi-conducteur dans un verre fondu à des températures proches de 1500°C. Le mélange est ensuite rapidement refroidi ce qui provoque l'apparition de nanocristaux dans la matrice. Une autre étape de traitement thermique permet la croissance et le recuit des particules afin d'améliorer leur cristallinité. Les objets obtenus sont donc cristallins, de taille contrôlable et présentent une faible dispersion. Cependant, la séparation des nanoparticules de la matrice est impossible. De plus, les propriétés optiques du composite obtenues sont dominées par les états de surface.<sup>10</sup> Durant la même période, un nouveau protocole permettant d'obtenir des colloïdes de CdS et ZnS a été développé par l'équipe de Henglein.<sup>11</sup> Il s'agit des coprécipitations en milieu aqueux de sels de cadmium ( $\text{Cd}(\text{ClO}_4)_2$  par exemple) et de soufre ( $\text{Na}_2\text{S}$  ou  $\text{H}_2\text{S}$ ) en présence d'un stabilisant. Cependant, les objets obtenus présentent une mauvaise cristallinité et une dispersion difficilement contrôlable. Le principal avantage de tels protocoles est alors l'accessibilité de la surface et donc la possibilité de choisir la nature des molécules fixées. Des résultats similaires ont été obtenus par le groupe de Grätzel.<sup>12,13</sup> La dépendance des propriétés optiques (absorption et fluorescence) en fonction de la taille de nanocristaux de semi-conducteurs est attribuée à Ekimov pour des quantum dots en matrice de

verre<sup>10,9</sup> puis à Louis Brus pour les dots colloïdaux.<sup>6,14</sup> Les années 1981-1983 marquent donc l'émergence de ce nouveau domaine de recherche qu'est la synthèse et l'étude des propriétés des nanocristaux colloïdaux de semiconducteurs.

## **5.2. Méthode de synthèse**

Deux approches sont aujourd'hui utilisées pour la synthèse des nanoparticules de type quantum dots : l'approche top-down (du haut vers le bas) et l'approche bottom-up (du bas vers le haut). L'approche top-down regroupe les procédés qui permettent une réduction des structures macroscopiques jusqu'à l'échelle nanométrique. Ces méthodes sont majoritairement physiques. L'approche bottom-up est basée sur la construction « atome par atome » de structures nanométriques. Cette méthode regroupe plutôt les techniques de chimie colloïdale en solution. Les techniques de chimie colloïdale en solution ont été largement développées dans le cadre de la préparation de QDs utilisables en biologie, et sont ainsi plus amplement développées dans la partie qui suit.

### **5.2.1. Méthodes Physiques**

La préparation des quantum dots par voie physique se fait par deux techniques principales à savoir la lithographie<sup>15,16,17</sup> et l'épitaxie.<sup>18,19</sup> Les nanoparticules obtenues par cette voie présentent une mauvaise monodispersité. Ces techniques ne permettent pas la synthèse directe de quantum dots stabilisées par un ligand en solution.<sup>20</sup> De plus, ces nanoparticules ne sont pas adaptées pour des applications en biologie. Cette voie de synthèse ne sera donc pas détaillée par la suite.

### **5.2.2. Méthodes chimiques**

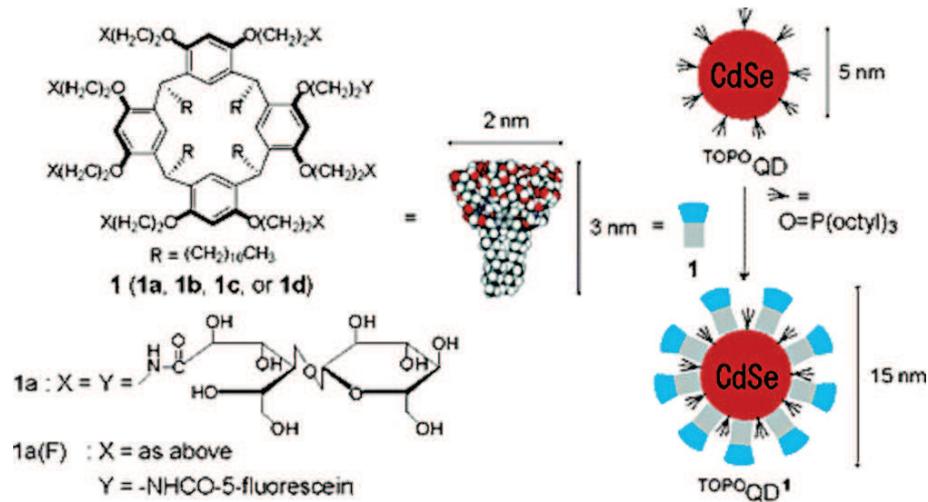
On distingue deux techniques de synthèse : la synthèse en milieu organique et la synthèse en milieu aqueux. Ces deux techniques sont utilisées pour obtenir des nanoparticules monodisperses. De plus, elles permettent de contrôler la taille des nanoparticules et offrent de nombreuses possibilités de fonctionnalisation de la surface.

#### **5.2.2.1. Synthèse en milieu organique**

Deux types de synthèse sont distinguées selon la nature du solvant : solvant coordonnant ou solvant non coordonnant. La synthèse dans les solvants coordonnants s'effectue en présence d'un précurseur organométallique comme le diméthylcadmium ( $\text{CdMe}_2$ ) et un précurseur du chalcogène approprié à des températures très élevée (jusqu'à 300 °C) pour donner des nanoparticules monodisperses de type chalcogénure de cadmium ( $\text{CdS}$ ,  $\text{CdSe}$  et  $\text{CdTe}$ ). La dispersion de taille est généralement de l'ordre de 8 à 10 % pour  $\text{CdSe}$  et de 15 % pour  $\text{CdS}$  et

CdTe.<sup>20</sup> Le solvant coordinant joue un double rôle de ligand stabilisateur et de solvant réactionnel. Une bonne cristallinité (Structure würtzite) est généralement obtenue due à la croissance lente à température élevée.<sup>21</sup> Cependant, ce type de synthèse présente l'inconvénient d'utiliser des précurseurs chers et difficiles à manipuler. Une alternative intéressante consiste à utiliser des composés inorganiques moins chers tels que les oxydes ou les sels des métaux.<sup>22</sup> Par exemple, le diméthylcadmium a été remplacé par l'oxyde de cadmium lors de la synthèse de nanoparticules de CdS, CdSe et CdTe. La synthèse se fait en présence d'acide phosphonique ou d'un acide carboxylique pour former des complexes de phosphonate de cadmium ou de carboxylate de cadmium. Ce complexe intermédiaire réagit avec le sélénure ou le tellure de trialkylphosphine pour donner des quantum dots monodisperses de 2,5 à 5 nm de diamètre. La dispersion en taille a été ensuite améliorée par l'introduction d'un cosurfactant.<sup>23,24</sup> Pour réduire d'avantage le coût de la synthèse et les risques chimiques, une autre synthèse a vu le jour qui utilise cette fois-ci des solvants non-coordinants, typiquement des alcanes ou des alcènes tels que le 1-octadécène<sup>25,26</sup> ou des mélanges plus complexes comme les paraffines liquides.<sup>27</sup> La cinétique de la croissance et la taille dépendent de la nature du ligand et de sa concentration dans le milieu.<sup>28</sup> Afin de pouvoir utiliser ces nanoparticules pour des applications biologiques, une autre étape supplémentaire est nécessaire qui consiste à les transférer en phase aqueuse.

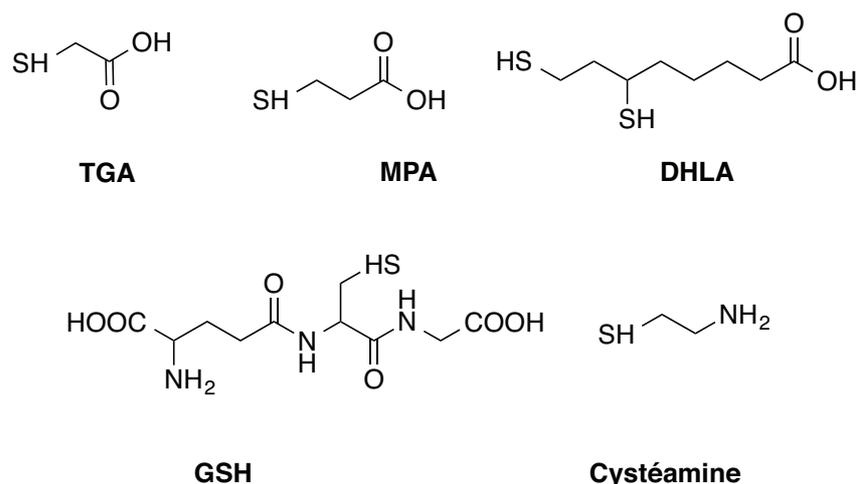
Différentes stratégies de transfert des quantum dots vers la phase aqueuse ont été mises au point au cours des dernières années. Nous pouvons citer l'échange de ligand de surface avec des molécules contenant un thiol<sup>29</sup> ou avec des oligomères de phosphine,<sup>30</sup> des dendrons<sup>31</sup> et des peptides.<sup>32,33</sup> D'autres techniques consistent à encapsuler les nanoparticules dans une couche de copolymère amphiphile<sup>34</sup> (Figure I.7) (dibloc<sup>35</sup> ou triblocs<sup>36</sup>) ou dans des coquilles de silice,<sup>37,38</sup> des micelles de phospholipides,<sup>39</sup> dans des polysaccharides amphiphiles. Afin d'éviter l'étape de transfert en phase aqueuse qui est souvent accompagnée par une chute du rendement quantique, la synthèse des quantum dots directement en milieu aqueux se présente comme une bonne méthode pour avoir des nanoparticules directement solubles dans l'eau en une seule étape.



**Figure I.7** : Encapsulation des nanoparticules dans une couche de copolymère amphiphile d'après la référence 34

### 5.2.2.2. Synthèse en milieu aqueux

Cette nouvelle méthode a été initiée par Weller et son groupe en 1996<sup>40</sup> et elle a permis d'obtenir des nanoparticules de CdTe stabilisées par le 1-thioglycolol. Ensuite, la synthèse de différents QDs tels que CdS,<sup>41,42,43</sup> CdSe,<sup>44,45</sup> CdTe,<sup>46</sup> ZnS,<sup>47</sup> ZnSe,<sup>48,49,50</sup> et HgTe<sup>51,52</sup> a été développée avec succès en milieu aqueux. Les ligands utilisés sont généralement des dérivés de thiols car le soufre présente une forte affinité avec les métaux et il forme une liaison covalente avec ces métaux. Les ligands soufrés généralement choisis présentent à leur extrémité une fonction carboxylate comme l'acide thioglycolique (TGA),<sup>53</sup> l'acide mercaptopropanoïque (MPA),<sup>54</sup> le L-glutathion (GSH)<sup>55</sup> et l'acide dihydrolipoïque (DHLA) ou une fonctions amine dans le cas de cystéamine (Figure I.8).<sup>56</sup> Cependant, les nanoparticules obtenues sont généralement faiblement cristallines à cause de la température peu élevée (100°C), les rendements quantiques sont souvent bas et la dispersion en taille est supérieure à 15%.<sup>57</sup>



**Figure I.8** : Structures des ligands: l'acide thioglycolique (TGA), l'acide mercaptopropanoïque (MPA), le L-glutathion (GSH), l'acide dihydrolipoïque (DHLA) et le cystéamine.

Afin de surpasser ces limites, de nouvelles méthodes de synthèse ont été développées, faisant appel à des techniques de chauffage alternatives, comme la synthèse hydrothermale<sup>58,59</sup> et la synthèse par irradiation micro-ondes.<sup>63,64,65</sup> Ces techniques ont permis d'augmenter considérablement la cinétique de la réaction et leur cristallinité, et se traduit par des rendements quantiques supérieurs ainsi que par la monodispersité des nanoparticules. Par exemple, la synthèse micro-ondes fournit un chauffage homogène et rapide du milieu, causant ainsi une croissance rapide et homogène des nanocristaux. Des nanoparticules sont donc obtenues avec une meilleure dispersité. De plus, pouvoir chauffer à des températures bien supérieures à celles des condition standard (à reflux) augmente la cristallinité des nanocristaux ce qui engendre une nette augmentation du rendement quantique.

### 5.3. Structure cristalline

En général, les matériaux semi-conducteurs de type II-VI et III-V cristallisent dans la forme hexagonale wurtzite ou zinc blende (Tableau I.1). Les nanocristaux peuvent cristalliser dans l'une des structures ou les deux au même temps, en fonction des conditions de synthèse.<sup>63,64</sup> Le ligand joue un rôle primordial dans l'organisation de la structure.<sup>65,66</sup> Par exemple, les clusters de CdSe préfèrent adopter une structure zinc blende mais une transition de phase quand la taille des nanoparticules atteint une valeur critique provoque un changement de la structure à wurtzite. Ce changement de structure est observé lorsque des ligands labiles sont insérés à la surface mais peut être empêché en présence d'un ligand fort comme les acides phosphoriques.<sup>63</sup>

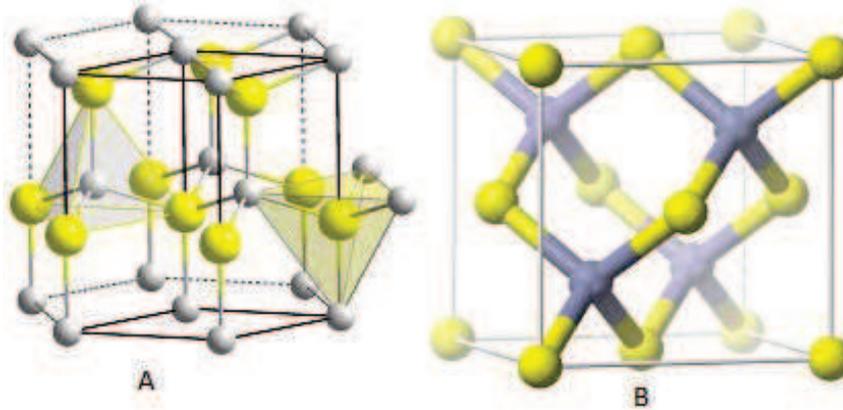


Figure I.9 : Structure cristalline de type A) Wurtzite et B) Zinc blende

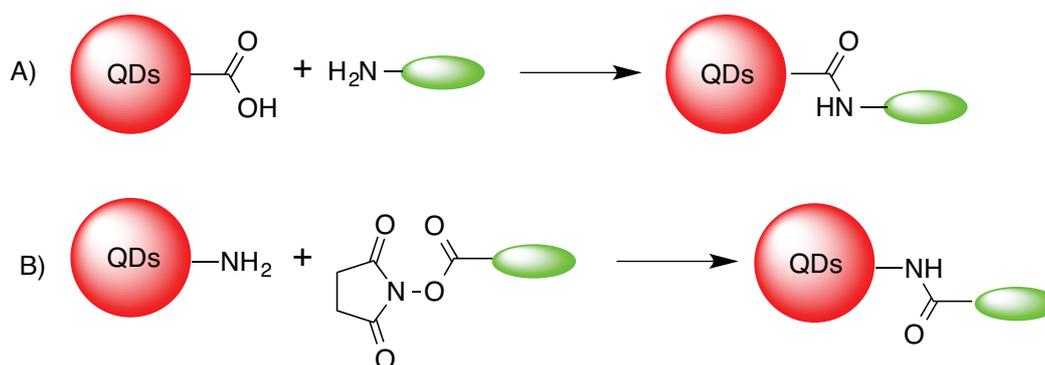
## 6. Fonctionnalisation des quantum dots

La préparation des quantum dots fonctionnalisés est essentielle pour le développement de tests, bioprobes, et biocapteurs. Les nanoparticules peuvent être couplées à différentes biomolécules, à savoir des enzymes,<sup>67,68</sup> des anticorps,<sup>69,70,71,72,73</sup> ou encore des oligonucléotides.<sup>74,75,76,77,78</sup> Le couplage peut se faire avec deux techniques: une technique directe et une technique indirecte.

### 6.1. Couplage direct

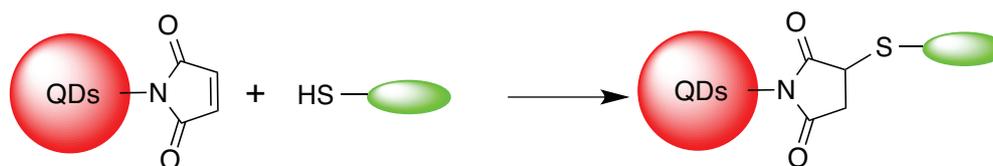
Comme dit précédemment, le ligand à la surface des nanoparticules joue un rôle de stabilisateur mais a aussi un rôle très important dans la fonctionnalisation des nanoparticules. Le ligand doit donc satisfaire trois critères :<sup>79,29</sup>

- Il doit posséder une forte affinité avec la surface des nanoparticules (par exemple un thiol dans le cas de la synthèse en phase aqueuse).
- Il doit assurer la dispersion des nanoparticules dans le milieu désiré (dans le cas de solution aqueuse, il doit posséder des fonctions chargées à la surface).
- Il doit posséder des fonctions réactives pour les utiliser comme site de greffage des molécules d'intérêt. Il s'agit généralement d'une fonction carboxylate ou une fonction amine, cela permet un couplage peptidique avec les résidus de lysine de protéines (Figure I.10).<sup>80</sup>



**Figure I.10** : Schéma de couplage peptique à la surface des quantum dots

Une autre méthode consiste à introduire une fonction maleimide à la surface des nanoparticules et le couplage se fait par la réaction de double liaison de la fonction maleimide avec un thiol présent dans la protéine (Figure I.11). Ce couplage est quantitatif, facile à mettre en œuvre et régiosélectif. La fonction thiol peut être obtenue par la réduction des ponts disulfure des anticorps<sup>70,81</sup> ou bien par la présence des résidus cystéine des protéines.<sup>71,82</sup>



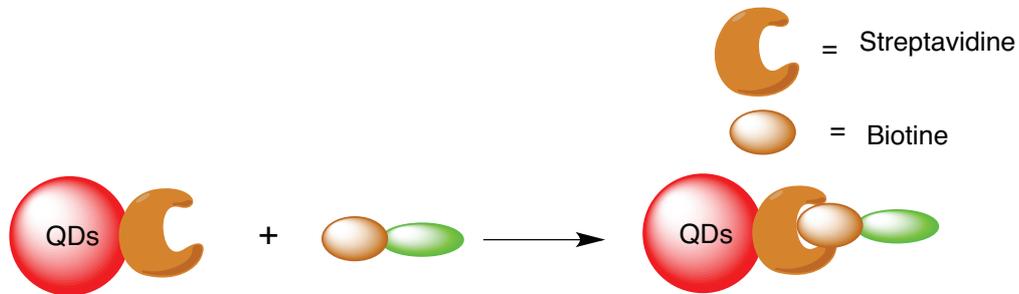
**Figure I.11** : Couplage entre des quantum dots et des biomolécules par l'intermédiaire d'une fonction maleimide

Bien que la méthode de conjugaison par l'intermédiaire d'un agent de couplage connaisse un grand succès dans de nombreuses applications, elle présente cependant quelques inconvénients auxquels il faudra être vigilant. L'orientation de la biomolécule à la surface des nanoparticules est souvent non contrôlée. Dans certains cas, la formation des adduits protéine-protéine ou bien Qds-Qds est également observée. Le nombre de biomolécules couplées à la surface des nanoparticules est difficilement contrôlable. L'activation de la surface des nanoparticules peut conduire parfois à la neutralisation des charges de la surface et à la perte de la stabilité des nanoparticules, causant ainsi la formation d'agrégats. Un mauvais choix de tampon et de pH peut diminuer considérablement l'efficacité du couplage.

## 6.2. Couplage indirect

Cette méthode indirecte consiste à utiliser des nanoparticules biotinylées et des biomolécules streptavidinylées ou l'inverse. Le couplage se fait par l'interaction spécifique entre la streptavidine et la biotine (Chapitre .VI). Des nanoparticules ont été conjuguées avec succès avec différentes biomolécules marquées avec une biotine; à savoir des anticorps, des

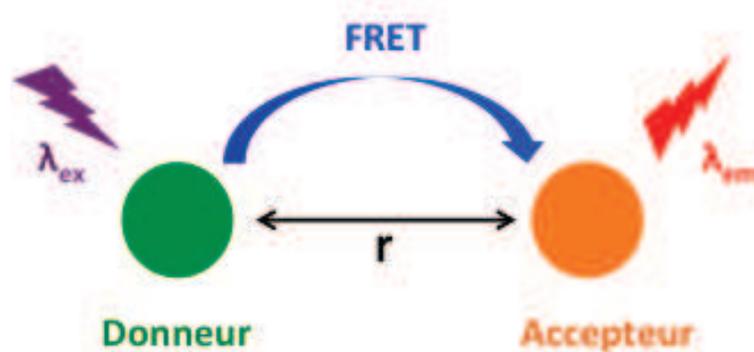
peptides,<sup>84</sup> des protéines,<sup>85</sup> et des oligonucléotides.<sup>86</sup> Cette méthode fournit un bon contrôle de la conjugaison si la biotinylation est spécifique sur un site.<sup>87</sup> Le contrôle peut se faire sur l'orientation de la protéine. Cette méthode est devenue populaire et des biomolécules biotinylés ont été développées pour pouvoir les couplés directement sur les nanoparticules.



**Figure I.12 :** Couplage entre des quantum dots et des biomolécules par l'intermédiaire de l'interaction biotine/streptavidine

### 7. Transfert d'énergie de type Förster (FRET)

Le FRET (Förster Resonance Energy Transfert) désigne un transfert d'énergie non-radiatif entre un donneur d'énergie et un accepteur d'énergie. Lorsque deux molécules aux propriétés spectroscopiques différentes (longueur d'onde d'absorption ou coefficients d'absorption molaire) sont proches et que le mélange est excité à une longueur d'onde adaptée, les processus de désexcitation probables à partir des états excités sont la fluorescence ou la phosphorescence. Le transfert d'énergie se présente comme une autre voie de désexcitation. Il se fait généralement du composé dont l'énergie de l'état excité est plus élevée (donneur) vers le deuxième composé qui devient donc l'accepteur (Figure I.13). Ce phénomène a été observé sous forme d'auto-désexcitation entre certains chromophores organiques de même nature en solution. Dans ce cas le processus est réversible, contrairement dans un système faisant intervenir des entités dont les niveaux d'énergie sont différents.



**Figure I.13 :** Transfert d'énergie entre un donneur et un accepteur séparés d'une distance  $r$

### 7.1. Mécanisme du transfert d'énergie

Le mécanisme du transfert d'énergie entre un donneur et un accepteur repose sur une interaction de type dipôle-dipôle entre l'état excité du donneur et l'état fondamental de l'accepteur tel que décrit par le physicien Theodore Förster.<sup>88</sup> Contrairement au mécanisme de Dexter qui repose sur un échange d'électron, cet échange ne nécessite pas que les deux molécules soient en contact. Cependant la distance spatiale qui les sépare est un paramètre primordial pour évaluer la qualité du transfert.

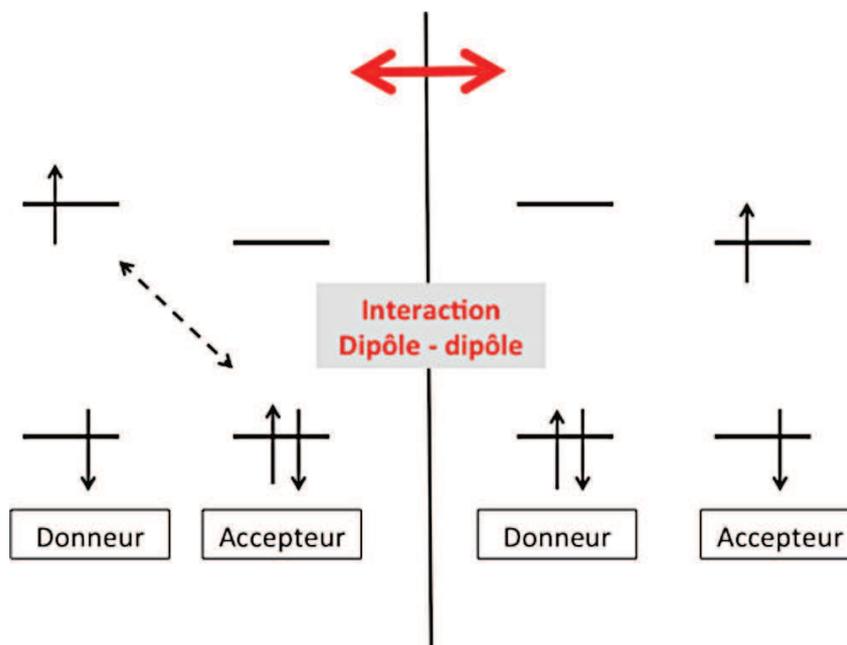


Figure I.14 : Représentation schématique du processus de transfert d'énergie selon la théorie de Förster

### 7.2. Vitesse du transfert d'énergie

La vitesse du transfert d'énergie ( $k_T$ ) croît rapidement avec la diminution de la distance du fait d'une dépendance en  $r^6$  comme le montre l'Équation I.2

$$k_T = \frac{9000 (\text{Ln } 10) K^2 \Phi_D J(\lambda)}{128 \pi^2 n^4 N_{AV} \tau_D r^6}$$

Équation I.2

Où

- $n$  est l'indice de réfraction du milieu et sa valeur est généralement comprise entre 1,33 et 1,6.<sup>89,90</sup>
- $\tau_D$  est le temps de vie du donneur en absence de l'accepteur.
- $\Phi_D$  est le rendement quantique du donneur.

- $K^2$  est le facteur d'orientation, il dépend de l'orientation relative des moments électriques associés à l'excitation du donneur et de l'accepteur.
- $J(\lambda)$  est l'intégrale de recouvrement, comme on a dit précédemment le transfert d'énergie de type Förster n'implique pas le recouvrement des orbitales du donneur et de l'accepteur d'énergie. Cependant il est nécessaire d'avoir un chevauchement important de leurs spectres d'émission et d'absorption respectifs.

Un système faisant intervenir deux unités fluorescentes (Alexa 488 et Cy5) est pris en exemple (Figure I.15) pour illustrer cette intégrale de recouvrement.

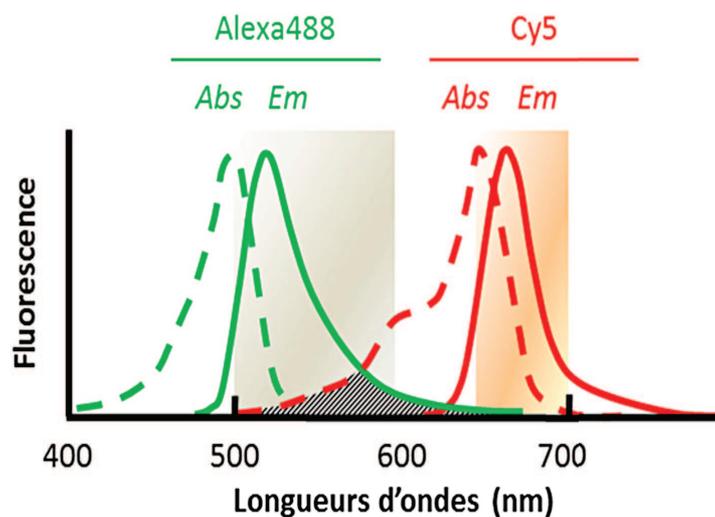


Figure I.15 : Spectres d'absorption et d'émission de Alexa488 et Cy5

La valeur de cette intégrale peut être déterminée tel qu'exprimé par l'Équation I.3

$$J(\lambda) = \frac{\int F_D(\lambda) \varepsilon_A(\lambda) \lambda^{-4} d\lambda}{\int F_D(\lambda) d\lambda}$$

Équation I.3

Où

- $F_D(\lambda)$  est l'intensité de luminescence normalisée du donneur d'énergie à la longueur d'onde  $\lambda$ .
- $\varepsilon_A(\lambda)$  est le coefficient d'extinction molaire à la longueur d'onde  $\lambda$ .

Le rayon de Förster est également un paramètre important pour décrire un transfert d'énergie. Il représente la distance pour laquelle l'efficacité du transfert d'énergie est de 50 %

et sa détermination se fait par l'Équation I.4 qui fait intervenir l'intégrale de recouvrement spectral et le rendement quantique du donneur.

$$R_0^6 = \frac{9000 (\text{Ln } 10) K^2 \Phi_D J(\lambda)}{128 \pi^2 n^4 N_{AV}}$$

**Équation I.4**

Où

- $n$  est l'indice de réfraction du milieu et sa valeur est généralement comprise entre 1,33 et 1,6.<sup>89,90</sup>
- $\Phi_D$  est le rendement quantique du donneur.
- $K^2$  est le facteur d'orientation.
- $J(\lambda)$  est l'intégrale de recouvrement.
- $N_{Av}$  est le nombre d'Avogadro ( $6,022 \cdot 10^{23}$ )

### **7.3. Efficacité du transfert d'énergie**

L'efficacité de transfert peut être calculé par formule (Équation I.5) qui relie le rayon de Förster ( $R_0$ ) et la distance entre l'accepteur et le donneur ( $r$ ) avec l'efficacité de transfert.

$$E = \frac{R_0^6}{R_0^6 + r^6}$$

**Équation I.5**

L'excitation du donneur conduit à la luminescence de l'accepteur suite au transfert d'énergie. Une augmentation de l'intensité d'émission de l'accepteur est donc observée ainsi que des variations des temps de vie de luminescence des deux entités. Ces variations s'observent également au niveau des rendements quantiques

L'efficacité du transfert d'énergie peut s'exprimées en fonction de ces trois paramètres pour le donneur en absence et en présence (DA) de l'accepteur selon l'Équation I.6.

$$E = 1 - \frac{\tau_{DA}}{\tau_D} = 1 - \frac{I_{DA}}{I_D} = 1 - \frac{\Phi_{DA}}{\Phi_D}$$

**Équation I.6**

Où

- $\tau_{DA}$ ,  $I_{DA}$  et  $\Phi_{DA}$  représentent respectivement le temps de vie, l'intensité d'émission et le rendement quantique de donneur en présence de l'accepteur.

- $\tau_D$ ,  $I_D$  et  $\Phi_D$  représentent respectivement le temps de vie, l'intensité d'émission et le rendement quantique de donneur en absence de l'accepteur

## 8. Application des quantum dots dans des systèmes de transferts d'énergie

### 8.1. Quantum dots comme donneurs d'énergie

L'utilisation des quantum dots comme donneurs d'énergie a fait l'objet de nombreux travaux.<sup>91,92,93,94</sup> Contrairement à d'autres composés luminescents (fluorophores organiques), les quantum dots offrent la possibilité de l'interaction d'un seul donneur avec plusieurs accepteurs (par exemple, les biomolécules marquées). L'utilisation de plusieurs accepteurs est particulièrement intéressante pour des applications aux analyses fluoroimmunologiques car il permet d'augmenter l'efficacité du FRET et ainsi diminuer la limite de détection de l'antigène. En outre, le contrôle du couplage des molécules autour des quantum dots offre la possibilité de contrôler l'efficacité du FRET sans changer le couple donneur-accepteur ou de la distance donneur-accepteur.

De plus le rendement quantique généralement élevé des nanoparticules participe à l'augmentation de l'intégrale de recouvrement spectral entre le donneur et l'accepteur, ce qui augmente la valeur du rayon de Förster. Ensuite, le fait de pouvoir moduler l'émission des nanoparticules en fonction de leur taille nous permet de choisir des nanoparticules avec une émission permettant d'avoir un maximum de recouvrement spectral entre le donneur et l'accepteur. Les nanoparticules présentent également l'avantage d'avoir un spectre d'absorption large qui permet de minimiser l'excitation directe de l'accepteur. Les coefficients d'absorption molaires et les rendements quantiques élevés des boîtes quantiques permettent également l'utilisation d'une excitation avec une source peu puissante, ce qui réduit l'excitation directe de l'accepteur, et surtout minimise le taux de l'effet de photoblanchiment. La seule difficulté avec ces systèmes, vient du fait que les accepteurs sont souvent situés à des distances légèrement différentes du donneur, ou à orientations différentes. Cependant, ces différences sont généralement négligées.

Les calculs théoriques de Allan<sup>95</sup> et Curutchet<sup>96</sup> ont démontré que les formules de Förster sont applicables aux nanocristaux semi-conducteurs. Les résultats des différentes études expérimentales sont en très bons accords avec les analyses théoriques. De plus, les mesures de l'efficacité à l'état stationnaire et par les temps de vie sont en bon accord avec la distance donneur-accepteur estimée.<sup>97,98,55</sup>

## **8.2. Quantum dots comme accepteurs d'énergie**

L'utilisation des quantum dots comme accepteurs dans des systèmes de transfert d'énergie est moins fréquente en raison de leur large spectre d'excitation, qui entraîne souvent une excitation directe à presque n'importe quelle longueur d'onde (indépendante du donneur). Cependant, il existe principalement deux concepts pour surmonter la limitation de l'excitation directe. La première est d'utiliser des donneurs d'énergie avec un temps de vie longs (de l'ordre de millisecondes) permettant d'éliminer l'émission des quantum dots puisque leur temps de vie est de l'ordre de la nano à microsecondes.<sup>99,100,101,102,103,104</sup> La deuxième stratégie consiste à utiliser une autre source d'excitation comme par exemple, les donneurs bioluminescents ou chimiluminescents.<sup>105,106,107,108</sup> Les principaux avantages de l'utilisation nanocristaux semi-conducteurs comme accepteurs sont :

- Les spectres d'émission fins permettent l'utilisation de plusieurs accepteurs de types QD pour le même donneur, sans chevauchement de leurs spectres d'émission et donc de faire du multiplexage.<sup>109</sup>
- Leurs coefficients d'extinction molaire élevés permettent d'avoir une grande intégrale de recouvrement spectral et donc des rayons de Förster élevés.
- Enfin, pouvoir greffer plusieurs donneurs à la surface d'une même QD, permet d'augmenter la probabilité de sensibilisation des quantum dots.

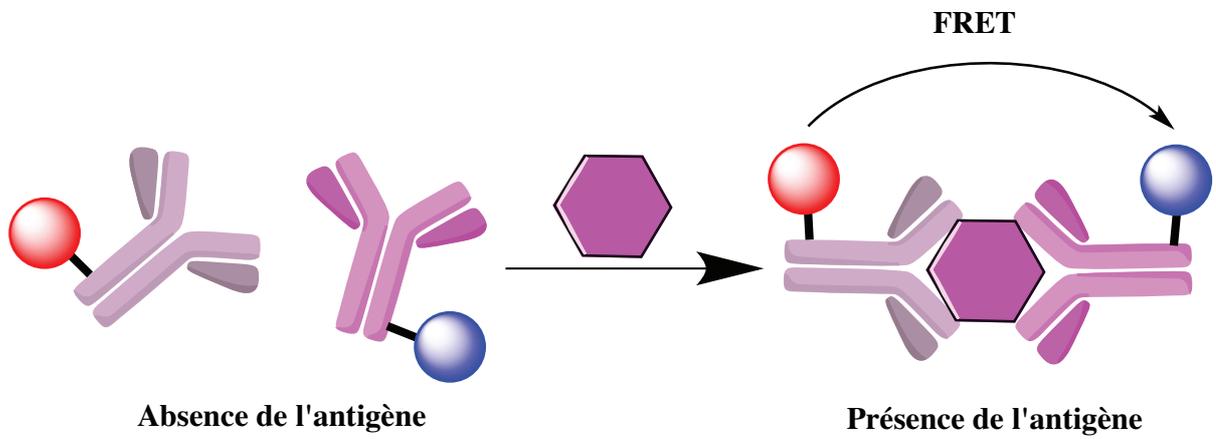
## **9. Objectifs du travail**

Dans ces travaux nous allons montrer différentes méthodes de synthèse en phase aqueuse des nanoparticules de  $\text{CdTe}_x\text{S}_y$ ,  $\text{CdHg}_x\text{Te}_y$  et  $\text{CdTe}_x\text{Se}_y\text{S}_z$ . Les nanoparticules de  $\text{CdTe}_x\text{S}_y$  ont été synthétisées en utilisant la technique standard (à reflux) et la technique par irradiation micro-ondes, ce qui nous permis de voir la différence entre les deux techniques.

Ces nanoparticules seront couplées avec des différentes molécules (Rouge du Nil, ligands Bispidines) et protéines (albumine de sérum bovin; BSA et anticorps; PSR 222). Le coulage sera réalisé par deux méthodes : méthode directe et méthode indirecte.

Nos nanoparticules conjuguées seront testées dans deux modèles de transfert d'énergie. Dans un premier temps, elles seront utilisées comme donneurs d'énergie pour la sensibilisation du Rouge du Nil, accroché à la surface. Dans un second temps, elles seront utilisées comme accepteurs pour réaliser des dosages fluoroimmunologiques, le donneur utilisé est un complexe de terbium. Le rapprochement entre le donneur et l'accepteur se fera par la formation d'un complexe sandwich. En effet, la présence de l'antigène aura pour

conséquence de rapprocher dans l'espace les deux différents traceurs marqués initialement par l'anticorps correspondant et former un immunocomplexe (Figure I.16).



**Figure I.16 :** Formation d'un immunocomplexe entre les traceurs et transfert d'énergie (FRET) observé

## 10. Bibliographie

1. Xie, R., Zhong, X. & Basché, T. Synthesis, Characterization, and Spectroscopy of Type-II Core/Shell Semiconductor Nanocrystals with ZnTe Cores. *Adv. Mater.* **17**, 2741–2745 (2005).
2. Dabbousi, B. O., Rodriguez-Viejo, J., Mikulec, F. V., Heine, J. R., Mattoussi, H., Ober, R., Jensen, K. F. & Bawendi, M. G. (CdSe)ZnS Core–Shell Quantum Dots: Synthesis and Characterization of a Size Series of Highly Luminescent Nanocrystallites. *J. Phys. Chem. B* **101**, 9463–9475 (1997).
3. Resch-Genger, U., Grabolle, M., Cavaliere-Jaricot, S., Nitschke, R. & Nann, T. Quantum dots versus organic dyes as fluorescent labels. *Nat. Methods* **5**, 763–775 (2008).
4. Bawendi, M. G., Steigerwald, M. L. & Brus, L. E. The Quantum Mechanics of Larger Semiconductor Clusters (&#034; Quantum Dots&#034;). *Annu. Rev. Phys. Chem.* **41**, 477–496 (1990).
5. Brus, L. Electronic wave functions in semiconductor clusters: experiment and theory. *J. Phys. Chem.* **90**, 2555–2560 (1986).
6. Brus, L. E. Electron–electron and electron–hole interactions in small semiconductor crystallites: The size dependence of the lowest excited electronic state. *J. Chem. Phys.* **80**, 4403–4409 (1984).
7. Physique de l'état solide de charles kittel pdf - PDF PHYSIQUE DE L'ETAT SOLIDE DE CHARLES KITTEL. (2011).
8. Ekimov, A. I. & Onushchenko, A. A. Quantum size effect in three-dimensional microscopic semiconductor crystals. *Sov. J. Exp. Theor. Phys. Lett.* **34**, 345 (1981).
9. Ekinov, A. I., Efros, A. L., Shubina, T. V. & Skvortsov, A. P. Quantum-size stark effect in semiconductor microcrystals. *J. Lumin.* **46**, 97–100 (1990).
10. Ekimov, A. I. & Onushchenko, A. A. Size quantization of the electron energy spectrum in a microscopic semiconductor crystal. *ZhETF Pisma Redaktsiiu* **40**, 337 (1984).
11. Alfassi, Z., Bahnemann, D. & Henglein, A. Photochemistry of colloidal metal sulfides. 3. Photoelectron emission from cadmium sulfide and cadmium sulfide-zinc sulfide cocolloids. *J. Phys. Chem.* **86**, 4656–4657 (1982).
12. Dung, D., Ramsden, J. & Graetzel, M. Dynamics of interfacial electron-transfer processes in colloidal semiconductor systems. *J. Am. Chem. Soc.* **104**, 2977–2985 (1982).
13. Moser, J. & Graetzel, M. Light-induced electron transfer in colloidal semiconductor dispersions: single vs. dielectronic reduction of acceptors by conduction-band electrons. *J. Am. Chem. Soc.* **105**, 6547–6555 (1983).
14. Brus, L. E. On the development of bulk optical properties in small semiconductor crystallites. *J. Lumin.* **31–32, Part 1**, 381–384 (1984).

15. Zhang, Y., Gao, H., Niu, J. & Liu, B. Facile synthesis and photoluminescence of graphene oxide quantum dots and their reduction products. *New J. Chem.* **38**, 4970–4974 (2014).
16. Lu, J., Yeo, P. S. E., Gan, C. K., Wu, P. & Loh, K. P. Transforming C60 molecules into graphene quantum dots. *Nat. Nanotechnol.* **6**, 247–252 (2011).
17. Dong, Y., Shao, J., Chen, C., Li, H., Wang, R., Chi, Y., Lin, X. & Chen, G. Blue luminescent graphene quantum dots and graphene oxide prepared by tuning the carbonization degree of citric acid. *Carbon* **50**, 4738–4743 (2012).
18. Petroff, P. M., Lorke, A. & Imamoglu, A. Epitaxially self-assembled quantum dots. *Phys. Today* **54**, 46–52 (2001).
19. Schornbaum, J., Winter, B., Schießl, S. P., Gannott, F., Katsukis, G., Guldi, D. M., Spiecker, E. & Zaumseil, E. Epitaxial Growth of PbSe Quantum Dots on MoS<sub>2</sub> Nanosheets and their Near-Infrared Photoresponse. *Adv. Funct. Mater.* **24**, 5798–5806 (2014).
20. Murray, C. B., Norris, D. J. & Bawendi, M. G. Synthesis and characterization of nearly monodisperse CdE (E = sulfur, selenium, tellurium) semiconductor nanocrystallites. *J. Am. Chem. Soc.* **115**, 8706–8715 (1993).
21. Alivisatos, A. P. Perspectives on the Physical Chemistry of Semiconductor Nanocrystals. *J. Phys. Chem.* **100**, 13226–13239 (1996).
22. Peng, Z. A. & Peng, X. Formation of High-Quality CdTe, CdSe, and CdS Nanocrystals Using CdO as Precursor. *J. Am. Chem. Soc.* **123**, 183–184 (2001).
23. De Mello Donegá, C., Hickey, S. G., Wuister, S. F., Vanmaekelbergh, D. & Meijerink, A. Single-Step Synthesis to Control the Photoluminescence Quantum Yield and Size Dispersion of CdSe Nanocrystals. *J. Phys. Chem. B* **107**, 489–496 (2003).
24. Talapin, D. V., Rogach, A. L., Kornowski, A., Haase, M. & Weller, H. Highly Luminescent Monodisperse CdSe and CdSe/ZnS Nanocrystals Synthesized in a Hexadecylamine–Trioctylphosphine Oxide–Trioctylphosphine Mixture. *Nano Lett.* **1**, 207–211 (2001).
25. Bullen, C., Embden, J. V., Jasieniak, J., Cosgriff, J. E., Mulder, R. J., Rizzardo, E., Gu, M. & Raston, C. L. High Activity Phosphine-Free Selenium Precursor Solution for Semiconductor Nanocrystal Growth. *Chem. Mater.* **22**, 4135–4143 (2010).
26. Sun, Z. H. *et al.* Ligand Effects of Amine on the Initial Nucleation and Growth Processes of CdSe Nanocrystals. *J. Phys. Chem. C* **114**, 10126–10131 (2010).
27. Wang, L., Sun, X., Liu, W. & Liu, B. High quality zinc-blende CdSe nanocrystals synthesized in a hexadecylamine–oleic acid–paraffin liquid mixture. *Mater. Chem. Phys.* **120**, 54–60 (2010).
28. Bullen, C. R. & Mulvaney, P. Nucleation and Growth Kinetics of CdSe Nanocrystals in Octadecene. *Nano Lett.* **4**, 2303–2307 (2004).

29. Pathak, S., Choi, S. K., Arnheim, N. & Thompson, M. E. Hydroxylated quantum dots as luminescent probes for in situ hybridization. *J. Am. Chem. Soc.* **123**, 4103–4104 (2001).
30. Kim, S. & Bawendi, M. G. Oligomeric Ligands for luminescent and stable nanocrystal quantum dots. *J. Am. Chem. Soc.* **125**, 14652–14653 (2003).
31. Guo, W. Z., Li, J. J., Wang, Y. A. & Peng, X. G. Conjugation chemistry and bioapplications of semiconductor box nanocrystals prepared via dendrimer bridging. *Chem. Mater.* **15**, 3125–3133 (2003).
32. Zhou, M. & Ghosh, I. Quantum dots and peptides: a bright future together. *Biopolymers* **88**, 325–339 (2007).
33. Pinaud, F., King, D., Moore, H. P. & Weiss, S. Bioactivation and cell targeting of semiconductor CdSe/ZnS nanocrystals with phytochelatin-related peptides. *J. Am. Chem. Soc.* **126**, 6115–6123 (2004).
34. Osaki, F., Kanamori, T., Sando, S., Sera, T. & Aoyama, Y. A quantum dot conjugated sugar ball and its cellular uptake on the size effects of endocytosis in the subviral region. *J. Am. Chem. Soc.* **126**, 6520–6521 (2004).
35. Wu, X. Y., Liu, H., Liu, J., Haley, K. N., Treadway, J. A., Larson, J. P., Ge, N., Peale, F. & Bruchez, M. P. Immunofluorescent labeling of cancer marker Her2 and other cellular targets with semiconductor quantum dots. *Nat. Biotechnol.* **21**, 41–46 (2003).
36. 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. *Nat. Biotechnol.* **22**, 969–976 (2004).
37. Bruchez, M., Moronne, M., Gin, P., Weiss, S. & Alivisatos, A. P. Semiconductor Nanocrystals as Fluorescent Biological Labels. *Science* **281**, 2013–2016 (1998).
38. 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†. *J. Phys. Chem. B* **105**, 8861–8871 (2001).
39. Dubertret, B., Skourides, P., Norris, D. J., Noireaux, V., Brivanlou, A. H. & Libchaber, A. In Vivo Imaging of Quantum Dots Encapsulated in Phospholipid Micelles. *Science* **298**, 1759–1762 (2002).
40. Rogach, A. L. *et al.* Synthesis and characterization of thiol-stabilized CdTe nanocrystals. *Berichte Bunsenges. Für Phys. Chem.* **100**, 1772–1778 (1996).
41. Li, H., Shih, W. Y. & Shih, W.-H. Synthesis and Characterization of Aqueous Carboxyl-Capped CdS Quantum Dots for Bioapplications. *Ind. Eng. Chem. Res.* **46**, 2013–2019 (2007).
42. Xiao, Q. & Xiao, C. Surface-defect-states photoluminescence in CdS nanocrystals prepared by one-step aqueous synthesis method. *Appl. Surf. Sci.* **255**, 7111–7114 (2009).

43. Xiao, Q., Xiao, C. & Ouyang, L. Strong enhancement of band-edge photoluminescence in CdS nanocrystals prepared by one-step aqueous synthesis method. *J. Lumin.* **128**, 1942–1947 (2008).
44. Xia, Y.-S. & Zhu, C.-Q. Aqueous synthesis of luminescent magic sized CdSe nanoclusters. *Mater. Lett.* **62**, 2103–2105 (2008).
45. Talapin, D. V. *et al.* Synthesis and surface modification of amino-stabilized CdSe, CdTe and InP nanocrystals. *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.* **202**, 145–154 (2002).
46. Li, Y., Jing, L., Qiao, R. & Gao, M. Aqueous synthesis of CdTe nanocrystals: progresses and perspectives. *Chem. Commun.* **47**, 9293–9311 (2011).
47. Liu, Y., Li, Z., Zhong, W., Zhang, L., Chen, W. & Li, Q. Synthesis and photoluminescence properties of ZnS nanobowl arrays via colloidal monolayer template. *Nanoscale Res. Lett.* **9**, 389 (2014).
48. Zheng, Y., Yang, Z. & Ying, J. Y. Aqueous Synthesis of Glutathione-Capped ZnSe and Zn<sub>1-x</sub>Cd<sub>x</sub>Se Alloyed Quantum Dots. *Adv. Mater.* **19**, 1475–1479 (2007).
49. Wang, Y., Wang, C., Xu, S., Wang, Z. & Cui, Y. Cation-inverting-injection: a novel method for synthesis of aqueous ZnSe quantum dots with bright excitonic emission and suppressed trap emission. *Nanotechnology* **25**, 295602 (2014).
50. Ding, Y., Shen, S. Z., Sun, H., Sun, K. & Liu, F. Synthesis of l-glutathione-capped-ZnSe quantum dots for the sensitive and selective determination of copper ion in aqueous solutions. *Sens. Actuators B Chem.* **203**, 35–43 (2014).
51. Talapin, D. V., Poznyak, S. K., Gaponik, N. P., Rogach, A. L. & Eychmüller, A. Synthesis of surface-modified colloidal semiconductor nanocrystals and study of photoinduced charge separation and transport in nanocrystal-polymer composites. *Phys. E Low-Dimens. Syst. Nanostructures* **14**, 237–241 (2002).
52. Chen, M., Yu, H., Kershaw, S. V., Xu, H., Gupta, S., Hetsch, F., Andrey, L., Rogach, A. L. & Ni Zhao, N. Fast, Air-Stable Infrared Photodetectors based on Spray-Deposited Aqueous HgTe Quantum Dots. *Adv. Funct. Mater.* **24**, 53–59 (2014).
53. Lv, X., Xue, X., Huang, Y., Zhuang, Z. & Lin, Z. The relationship between photoluminescence (PL) decay and crystal growth kinetics in thioglycolic acid (TGA) capped CdTe quantum dots (QDs). *Phys. Chem. Chem. Phys.* **16**, 11747–11753 (2014).
54. Luan, W., Yang, H., Wan, Z., Yuan, B., Yu, X. & Tu, S.-T. Mercaptopropionic acid capped CdSe/ZnS quantum dots as fluorescence probe for lead(II). *J. Nanoparticle Res.* **14**, 1–8 (2012).
55. Yahia-Ammar, A., Nonat, A. M., Boos, A., Rehspringer, J. L., Asfari, Z. & Charbonnière, L. J. Thin-coated water soluble CdTeS alloyed quantum dots as energy donors for highly efficient FRET. *Dalton Trans.* (2014).

56. Pei, J., Zhu, H., Wang, X., Zhang, H. & Yang, X. Synthesis of cysteamine-coated CdTe quantum dots and its application in mercury (II) detection. *Anal. Chim. Acta* **757**, 63–68 (2012).
57. Ingert, D. & Pileni, M.-P. Limitations in Producing Nanocrystals Using Reverse Micelles as Nanoreactors. *Adv. Funct. Mater.* **11**, 136–139 (2001).
58. Liu, J. & Li, X. Hydrothermal synthesis of CdTe quantum dots–TiO<sub>2</sub>–graphene hybrid. *Phys. Lett. A* **378**, 405–407 (2014).
59. Liu, N. & Yang, P. Hydrothermal Synthesis of High-Quality Type-II CdTe/CdSe Core/Shell Quantum Dots with Dark Red Emission. *J. Nanosci. Nanotechnol.* **14**, 5817–5823 (2014).
60. He, Y., Sai, L. M., Lu, H. T., Hu, M., Lai, W. Y., Fan, Q.-L., Wang, L.-H. & Huang, W. Microwave-Assisted Synthesis of Water-Dispersed CdTe Nanocrystals with High Luminescent Efficiency and Narrow Size Distribution. *Chem. Mater.* **19**, 359–365 (2007).
61. Moghaddam, M. M., Baghbanzadeh, M., Keilbach, A. & Kappe, C. O. Microwave-assisted synthesis of CdSe quantum dots: can the electromagnetic field influence the formation and quality of the resulting nanocrystals? *Nanoscale* **4**, 7435–7442 (2012).
62. Zhan, H.-J., Zhou, P.-J., He, Z.-Y. & Tian, Y. Microwave-Assisted Aqueous Synthesis of Small-Sized, Highly Luminescent CdSeS/ZnS Core/Shell Quantum Dots for Live Cell Imaging. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2012**, 2487–2493 (2012).
63. Li, L. S., Pradhan, N., Wang, Y. & Peng, X. High Quality ZnSe and ZnS Nanocrystals Formed by Activating Zinc Carboxylate Precursors. *Nano Lett.* **4**, 2261–2264 (2004).
64. Yordanov, G. G., Gicheva, G. D., Bochev, B. H., Dushkin, C. D. & Adachi, E. The effects of temperature and carboxylic acid ligand on the growth of nanocrystalline CdSe in a hot paraffin matrix. *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.* **273**, 10–15 (2006).
65. Vossmeier, T., Katsikas, L., Giersig, M., Popovic, I. G., Diesner, K., Chemseddine, A., Eychmueller, A. & Weller, H. CdS Nanoclusters: Synthesis, Characterization, Size Dependent Oscillator Strength, Temperature Shift of the Excitonic Transition Energy, and Reversible Absorbance Shift. *J. Phys. Chem.* **98**, 7665–7673 (1994).
66. Mohamed, M. B., Tonti, D., Al-Salman, A., Chemseddine, A. & Chergui, M. Synthesis of High Quality Zinc Blende CdSe Nanocrystals. *J. Phys. Chem. B* **109**, 10533–10537 (2005).
67. Wu, P., He, Y., Wang, H.-F. & Yan, X.-P. Conjugation of Glucose Oxidase onto Mn-Doped ZnS Quantum Dots for Phosphorescent Sensing of Glucose in Biological Fluids. *Anal. Chem.* **82**, 1427–1433 (2010).
68. Ji, X., Zheng, J., Xu, J., Rastogi, V. K., Cheng, T.C., DeFrank, J. J. & Leblanc, R. M. (CdSe)ZnS quantum dots and organophosphorus hydrolase bioconjugate as biosensors for detection of paraoxon. *J. Phys. Chem. B* **109**, 3793–3799 (2005).

69. Goldman, E. R., Medintz, I. L., Whitley, J. L., Hayhurst, A., Clapp, A. R., Uyeda, H. T., Deschamps, J. R., Lassman, M. E. & Mattoussi, A. Hybrid Quantum Dot–Antibody Fragment Fluorescence Resonance Energy Transfer-Based TNT Sensor. *J. Am. Chem. Soc.* **127**, 6744–6751 (2005).
70. Wei, Q., Lee, M., Yu, X., Lee, E. K., Seong, G. H., Choo, J. & Cho, Y. W. Development of an open sandwich fluoroimmunoassay based on fluorescence resonance energy transfer. *Anal. Biochem.* **358**, 31–37 (2006).
71. Pathak, S., Davidson, M. C. & Silva, G. A. Characterization of the Functional Binding Properties of Antibody Conjugated Quantum Dots. *Nano Lett.* **7**, 1839–1845 (2007).
72. Rakovich, T. Y. *et al.* Highly Sensitive Single Domain Antibody–Quantum Dot Conjugates for Detection of HER2 Biomarker in Lung and Breast Cancer Cells. *ACS Nano* **8**, 5682–5695 (2014).
73. Li, C., Ji, Y., Wang, C., Liang, S., Pan, F., Zhang, C., Chen, F., Fu, H., Wang, K. & Cui, J. BRCA1 antibody- and Her2 antibody-conjugated amphiphilic polymer engineered CdSe/ZnS quantum dots for targeted imaging of gastric cancer. *Nanoscale Res. Lett.* **9**, 1–13 (2014).
74. Ikanovic, M., Rudzinski, W. E., Bruno, J. G., Allman, A., Carrillo, M. P., Dwarakanath, S., Bhahdigadi, S., Rao, P., Kiel, J. L. & Andrews, C. J. Fluorescence Assay Based on Aptamer-Quantum Dot Binding to *Bacillus thuringiensis* Spores. *J. Fluoresc.* **17**, 193–199 (2007).
75. Zhou, D., Piper, J. D., Abell, C., Klenerman, D., Kang, D.-J. & Ying, L. Fluorescence resonance energy transfer between a quantum dot donor and a dye acceptor attached to DNA. *Chem. Commun.* 4807–4809 (2005).
76. Han, M., Gao, X., Su, J. Z. & Nie, S. Quantum-dot-tagged microbeads for multiplexed optical coding of biomolecules. *Nat. Biotechnol.* **19**, 631–635 (2001).
77. Shi, J. *et al.* A fluorescence resonance energy transfer (FRET) biosensor based on graphene quantum dots (GQDs) and gold nanoparticles (AuNPs) for the detection of mecA gene sequence of *Staphylococcus aureus*. *Biosens. Bioelectron.*
78. Kokkinos, C., Economou, A., Petrou, P. S. & Kakabakos, S. E. Microfabricated Tin–Film Electrodes for Protein and DNA Sensing Based on Stripping Voltammetric Detection of Cd(II) Released from Quantum Dots Labels. *Anal. Chem.* **85**, 10686–10691 (2013).
79. Chan, W. C., Maxwell, D. J., Gao, X., Bailey, R. E., Han, M., Nie, S., Chan, W. C., Maxwell, D. J., Gao, X., Bailey, R. E., Han, M. & Nie, S. Luminescent quantum dots for multiplexed biological detection and imaging. *Curr. Opin. Biotechnol.* **13**, 40–46 (2002).
80. Fernández-Argüelles, M. T., Costa-Fernández, J. M., Pereiro, R. & Sanz-Medel, A. Simple bio-conjugation of polymer-coated quantum dots with antibodies for fluorescence-based immunoassays. *Analyst* **133**, 444–447 (2008).

- 81.** Sun, M. M. C., Beam, K. S., Cervený, C. G., Hamblett, K. J., Blackmore, R. S., Michael, Y., Torgov, M. Y., Handley, F. G. M., Senter, P. D. & Alley, S. C. Reduction–Alkylation Strategies for the Modification of Specific Monoclonal Antibody Disulfides. *Bioconjug. Chem.* **16**, 1282–1290 (2005).
- 82.** Barat., B, Sirk., S. J, McCabe., K. E, Li., J, Lepin., E. J, Remenyi., R, Koh., A. L, Olafsen., T, Gambhir., S. S, Weiss., S & Wu., A. M. Cys-diabody Quantum Dot Conjugates (ImmunoQdots) for Cancer Marker Detection. *Bioconjug. Chem.* **20**, 1474–1481 (2009).
- 83.** Goldman., E. R, Balighian., E. D, Mattoussi., H, Kuno., M. K, Mauro., J. M, Tran., P. T & Anderson., G;P. Avidin: A Natural Bridge for Quantum Dot–Antibody Conjugates. *J. Am. Chem. Soc.* **124**, 6378–6382 (2002).
- 84.** Vu., T. Q, Maddipati., R, Blute., T. A, Nehilla., B. J, Nusblat., L & Desai., T. A. Peptide-Conjugated Quantum Dots Activate Neuronal Receptors and Initiate Downstream Signaling of Neurite Growth. *Nano Lett.* **5**, 603–607 (2005).
- 85.** Lidke., D. S, Nagy., P, Heintzmann., R, Arndt-Jovin., D. J, Post., J. N, Grecco., H. E, Jares-Erijman., E. A & Jovin., T. M. Quantum dot ligands provide new insights into erbB/HER receptor–mediated signal transduction. *Nat. Biotechnol.* **22**, 198–203 (2004).
- 86.** Zhang, C.-Y., Yeh, H.-C., Kuroki, M. T. & Wang, T.-H. Single-quantum-dot-based DNA nanosensor. *Nat. Mater.* **4**, 826–831 (2005).
- 87.** Chattopadhyaya, S., Tan, L. P. & Yao, S. Q. Strategies for site-specific protein biotinylation using in vitro, in vivo and cell-free systems: toward functional protein arrays. *Nat. Protoc.* **1**, 2386–2398 (2006).
- 88.** Förster, T. 10th Spiers Memorial Lecture. Transfer mechanisms of electronic excitation. *Discuss. Faraday Soc.* **27**, 7–17 (1959).
- 89.** Steinberg, I. Z. Long-range nonradiative transfer of electronic excitation energy in proteins and polypeptides. *Annu. Rev. Biochem.* **40**, 83–114 (1971).
- 90.** Moog, R. S., Kuki, A., Fayer, M. D. & Boxer, S. G. Energy transport and trapping in a synthetic chlorophyllide substituted hemoglobin: orientation of the chlorophyll S1 transition dipole. *Biochemistry (Mosc.)* **23**, 1564–1571 (1984).
- 91.** Algar, W. R., Tavares, A. J. & Krull, U. J. Beyond labels: a review of the application of quantum dots as integrated components of assays, bioprobes, and biosensors utilizing optical transduction. *Anal. Chim. Acta* **673**, 1–25 (2010).
- 92.** Medintz, I. L. & Mattoussi, H. Quantum dot-based resonance energy transfer and its growing application in biology. *Phys. Chem. Chem. Phys. PCCP* **11**, 17–45 (2009).
- 93.** Freeman, R. & Willner, I. Optical molecular sensing with semiconductor quantum dots (QDs). *Chem. Soc. Rev.* **41**, 4067–4085 (2012).

- 94.** Algar, W. R., Kim, H., Medintz, I. L. & Hildebrandt, N. Emerging non-traditional Förster resonance energy transfer configurations with semiconductor quantum dots: Investigations and applications. *Coord. Chem. Rev.* **263–264**, 65–85 (2014).
- 95.** Allan, G. & Delerue, C. Energy transfer between semiconductor nanocrystals: Validity of Förster's theory. *Phys. Rev. B* **75**, 195311 (2007).
- 96.** Curutchet, C., Franceschetti, A., Zunger, A. & Scholes, G. D. Examining Förster Energy Transfer for Semiconductor Nanocrystalline Quantum Dot Donors and Acceptors. *J. Phys. Chem. C* **112**, 13336–13341 (2008).
- 97.** Pons., T, Medintz., I. L, Sapsford., K. E, Higashiya., S, Grimes., A. F, English., D. S & Mattoussi., H. On the Quenching of Semiconductor Quantum Dot Photoluminescence by Proximal Gold Nanoparticles. *Nano Lett.* **7**, 3157–3164 (2007).
- 98.** Medintz., I. L, Sapsford., K. E, Clapp., A. R, Pons., T, Higashiya., S, Welch., J. T & Mattoussi., H. Designer Variable Repeat Length Polypeptides as Scaffolds for Surface Immobilization of Quantum Dots. *J. Phys. Chem. B* **110**, 10683–10690 (2006).
- 99.** Geissler., D, Charbonnière., L. J, Ziessel., R. F, Butlin., N. G, Löhmansröben., H. G & Hildebrandt., N. Quantum dot biosensors for ultrasensitive multiplexed diagnostics. *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* **49**, 1396–1401 (2010).
- 100.** Hildebrandt, N., Charbonnière, L. J., Beck, M., Ziessel, R. F. & Löhmansröben, H.-G. Quantum dots as efficient energy acceptors in a time-resolved fluoroimmunoassay. *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* **44**, 7612–7615 (2005).
- 101.** Charbonnière, L. J., Hildebrandt, N., Ziessel, R. F. & Löhmansröben, H.-G. Lanthanides to quantum dots resonance energy transfer in time-resolved fluoroimmunoassays and luminescence microscopy. *J. Am. Chem. Soc.* **128**, 12800–12809 (2006).
- 102.** Härmä, H., Soukka, T., Shavel, A., Gaponik, N. & Weller, H. Luminescent energy transfer between cadmium telluride nanoparticle and lanthanide(III) chelate in competitive bioaffinity assays of biotin and estradiol. *Anal. Chim. Acta* **604**, 177–183 (2007).
- 103.** Hildebrandt, N., Charbonnière, L. J. & Löhmansröben, H.-G. Time-resolved analysis of a highly sensitive Förster resonance energy transfer immunoassay using terbium complexes as donors and quantum dots as acceptors. *J. Biomed. Biotechnol.* **2007**, 79169 (2007).
- 104.** Chen., M. J, Wu., Y. S, Lin., G. F, Hou., J. Y, Li., M, Liu., T. C. Quantum-dot-based homogeneous time-resolved fluoroimmunoassay of alpha-fetoprotein. *Anal. Chim. Acta* **741**, 100–105 (2012).
- 105.** So, M.-K., Xu, C., Loening, A. M., Gambhir, S. S. & Rao, J. Self-illuminating quantum dot conjugates for in vivo imaging. *Nat. Biotechnol.* **24**, 339–343 (2006).
- 106.** Yao, H., Zhang, Y., Xiao, F., Xia, Z. & Rao, J. Quantum dot/bioluminescence resonance energy transfer based highly sensitive detection of proteases. *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* **46**, 4346–4349 (2007).

- 107.** Zhao, S., Huang, Y., Liu, R., Shi, M. & Liu, Y.-M. A nonenzymatic chemiluminescent reaction enabling chemiluminescence resonance energy transfer to quantum dots. *Chem. Weinh. Bergstr. Ger.* **16**, 6142–6145 (2010).
- 108.** Freeman, R., Liu, X. & Willner, I. Chemiluminescent and chemiluminescence resonance energy transfer (CRET) detection of DNA, metal ions, and aptamer-substrate complexes using hemin/G-quadruplexes and CdSe/ZnS quantum dots. *J. Am. Chem. Soc.* **133**, 11597–11604 (2011).
- 109.** Hildebrandt, N., Wegner, K. D. & Algar, W. R. Luminescent terbium complexes: Superior Förster resonance energy transfer donors for flexible and sensitive multiplexed biosensing. *Coord. Chem. Rev.* **273–274**, 125–138 (2014).

## **Chapitre II. Synthèse et caractérisations de nanoparticules luminescentes de CdTe<sub>x</sub>S<sub>y</sub>**



## **1. Optimisation de la synthèse**

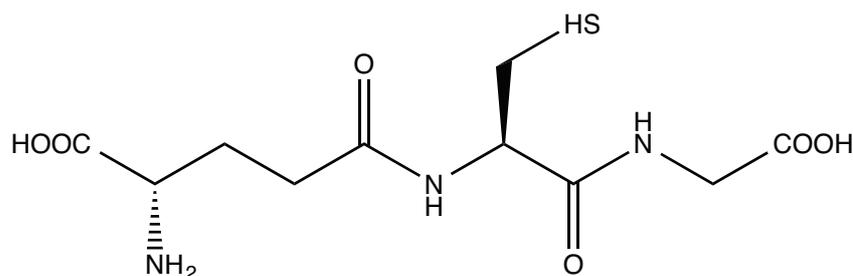
Dans un premier temps la synthèse des nanoparticules a été réalisée en s'inspirant du mode opératoire décrit par Chi et al.<sup>1</sup>

La synthèse est effectuée dans l'eau afin d'obtenir des nanoparticules directement hydrosolubles. La première étape consiste à préparer une solution contenant du Cd<sup>2+</sup> et un ligand thiolate. Cette solution est obtenue en mélangeant un sel de chlorure de cadmium (4 eq) et le glutathion (4 eq). Le glutathion (Figure II.17) est un tri-peptide qui possède deux fonctions carboxylates. Il forme des complexes Cd<sup>2+</sup>/RSH cationiques et anioniques ayant pour stoechiométrie (Cd-SR)<sup>+</sup>, Cd(SR)<sub>3</sub><sup>-</sup> et Cd(SR)<sub>4</sub><sup>2-</sup>.<sup>2</sup> Il est très important de noter que les complexes formés ne sont pas solubles dans l'eau à pH acide, c'est pourquoi la synthèse est effectuée en milieu basique (pH = 9,4) en présence de citrate-trisodique.

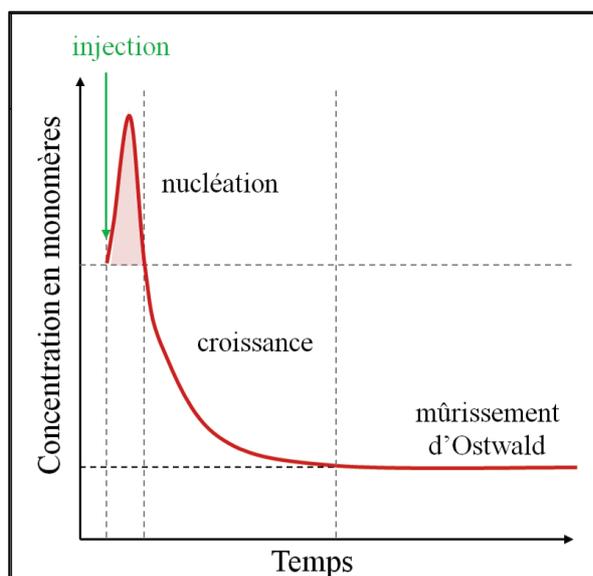
La deuxième étape est basée sur l'injection du précurseur de Te<sup>2-</sup> (1 eq). Ce dernier est obtenu par la réduction de Na<sub>2</sub>TeO<sub>3</sub> par le NaBH<sub>4</sub> à température ambiante. Il faut noter qu'après 1h30 de réaction à température ambiante, la couleur de la solution passe de incolore à vert. Ce changement de couleur est lié à la formation des germes de CdTe. La fonction thiolate du glutathion est liée à la surface des nanoparticules d'une manière covalente. Les deux fonctions carboxylates chargées négativement à pH 9,4 permettent une bonne dispersion des nanoparticules en phase aqueuse et limitent la formation d'agrégats en générant un potentiel de surface négatif et donc une force de répulsion électrostatique. La croissance des nanoparticules se produit au cours de l'étape de chauffage selon deux processus : la nucléation et la croissance.

La nucléation correspond à l'apparition des premiers germes stables qui, à plus grande échelle, composeront le nanocristal. Cette étape exige une importante concentration en monomère permettant de franchir la barrière énergétique de formation des noyaux. La concentration en monomère chute quand la nucléation commence et la nucléation devient donc plus favorable énergétiquement.

L'étape de croissance correspond à l'accroissement des germes par la consommation des monomères présents en solution, la phase de maturation d'Ostwald commence.<sup>3-4</sup> Durant cette phase, les petites particules ayant une énergie de surface plus élevée se dissolvent au profit de la croissance des particules plus grandes jusqu'à ce qu'un équilibre soit atteint (Figure II.18). Généralement, cette étape conduit à une dispersion en taille de l'ordre de 15 à 20 %.<sup>5</sup>



**Figure II.17 :** Structure du glutathion (GSH)



**Figure II.18 :** Les différentes étapes de la synthèse colloïdale d'après la référence 6

Cette croissance est confirmée par le suivi temporel des spectres d'absorption et d'émission. En effet, un reflux prolongé favorise la croissance des nanoparticules et induit l'évolution de la position du maximum d'absorption (Figure II.19) et d'émission (Figure II.20), ce qui se traduit par un décalage de leur maximum d'absorption (Figure II.19) et d'émission (Figure II.20) vers les basses énergies. Ce décalage est dû à la diminution du confinement quantique. Il faut noter que durant cette étape de chauffage, une bande d'absorption caractéristique de la formation de CdS est observée à 380 nm.<sup>7</sup> La formation de CdS est le résultat de la décomposition du glutathion et l'incorporation du soufre dans le cœur des nanoparticules.<sup>8,9</sup> Le chauffage est stoppé lorsqu'on obtient la longueur d'onde d'émission désirée. Lorsqu'ils sont isolés, les nanocristaux de  $\text{CdTe}_x\text{S}_y$  sont précipités avec de l'éthanol et sont séparés par centrifugation puis séchés sous vide.

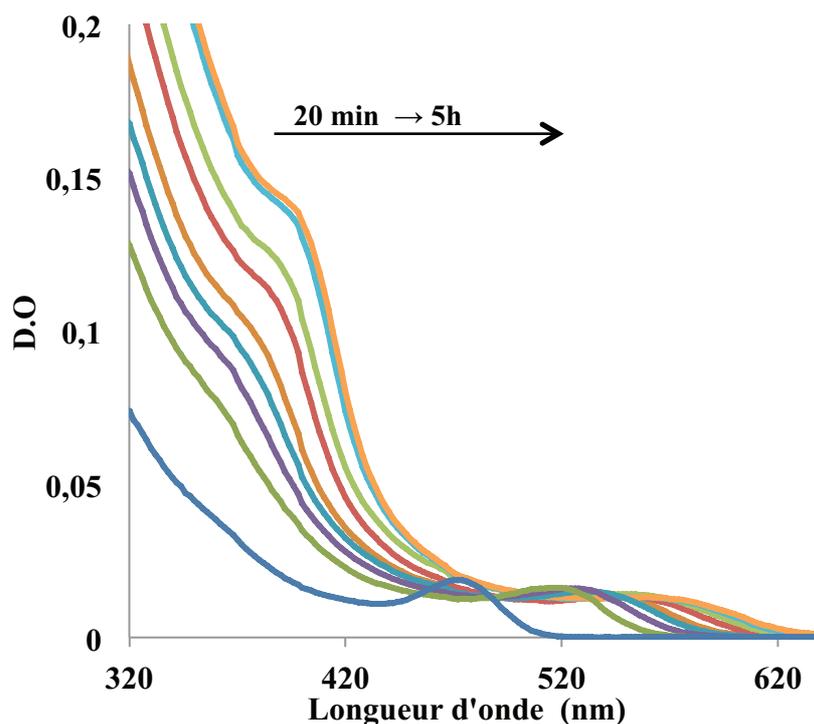


Figure II.19 : Evolution du maximum d'absorption en fonction du temps de chauffage, Tris/HCl (0,01 M), pH 7.4,  $\lambda_{ex} = 430$  nm

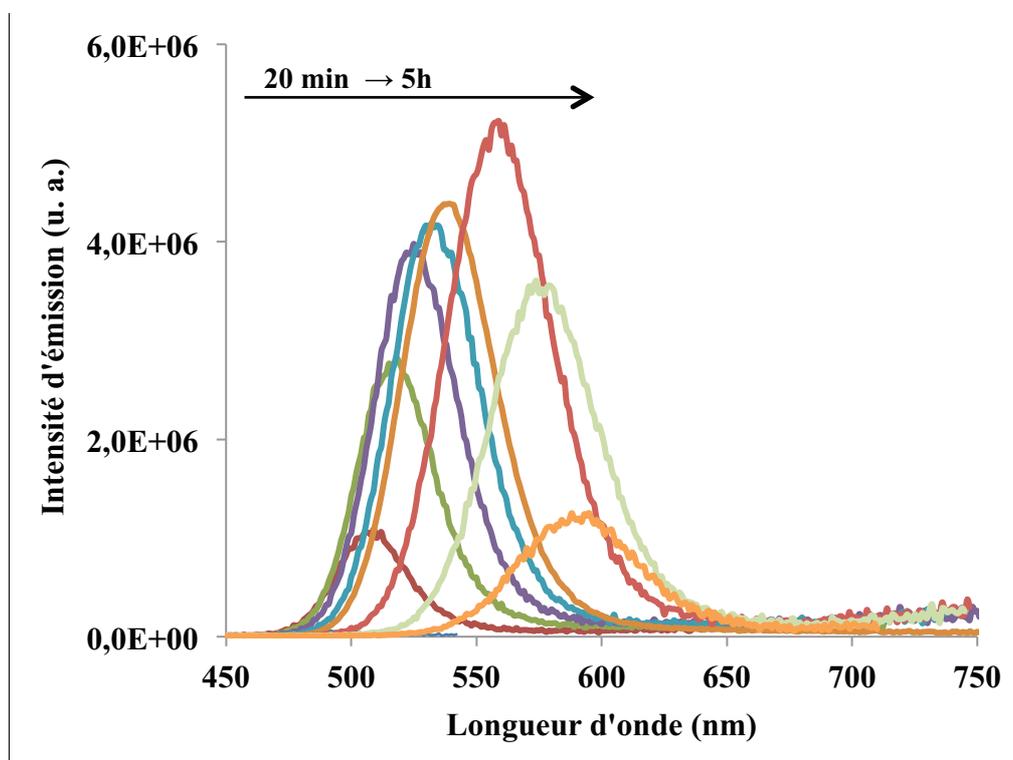
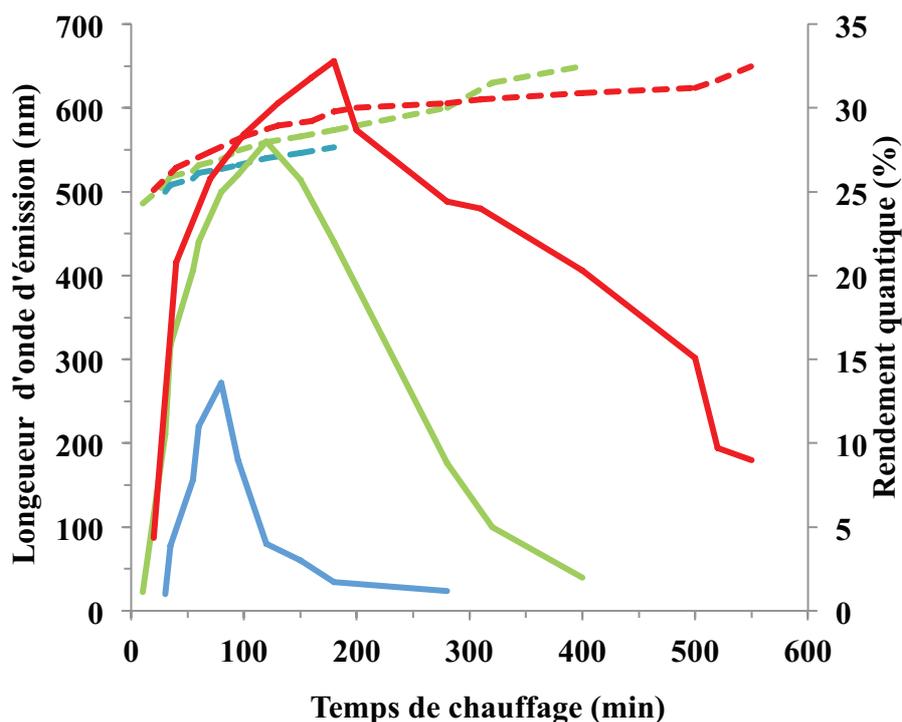


Figure II.20 : Evolution du maximum d'émission en fonction du temps de chauffage, Tris/HCl (0,01 M), pH 7.4,  $\lambda_{ex} = 430$  nm

Les propriétés optiques des nanoparticules obtenues, notamment, le décalage de la longueur d'onde d'émission et le rendement quantique maximal sont influencés par plusieurs paramètres à savoir : la température de chauffage, le pH du milieu et le rapport molaire Cd/Te/Glutathion. Malgré de nombreux essais, la synthèse décrite par Chi et al<sup>1</sup> avec un rapport molaire Cd/Te/GSH de 5/1/6 n'a pas permis d'avoir les résultats décrit à savoir un rendement quantique de 84 %. Le maximum du rendement quantique obtenu était de 12 %. Une optimisation de la synthèse en fonction du rapport molaire Cd/Te/GSH a donc été réalisée afin d'obtenir une synthèse reproductible de nanoparticules avec des propriétés optiques optimales. Différentes synthèses de nanoparticules ont été effectuées en variant la stœchiométrie de Cd/Te/GSH (x, y, z avec x = 4,  $0,2 \leq y \leq 3$  et z = 4 ou 8) (Tableau VII.2). Pour une composition en tellure élevée ( $y \geq 1,5$ ), la formation d'agrégats est observée, qui se traduit par des rendements quantiques faibles. En présence d'une teneur en  $\text{Te}^{2-}$  inférieure à 0,2 ou avec d'un excès de glutathion, les nanoparticules obtenues sont caractérisées par une formation d'une grande proportion de CdS, et elle conduit à des rendements quantiques inférieurs à 20 % à 600 nm. Finalement les conditions optimales en terme de reproductibilité et en terme de propriétés optiques sont avec un ratio de Cd/Te/GSH = 4/0,5/4.

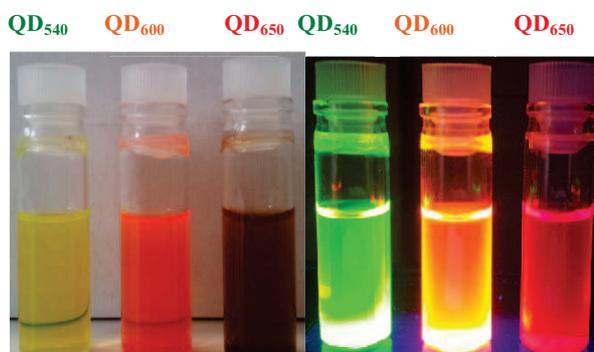
Les longueurs d'onde d'émission des nanoparticules synthétisées ainsi que leur rendements quantiques lors de quelques synthèses d'optimisation sont résumés à la Figure II.21. Les spectres d'émission pour un ratio de Cd/Te/GSH = 4/0,5/4 montrent un maximum d'intensité d'émission à 600 nm avec un rendement de 32 %, et le maximum du décalage de la longueur d'onde d'émission était de 650 nm avec un rendement de 10 %. Le même décalage maximal de la longueur d'onde est obtenu avec une stœchiométrie de Cd/Te/Glutathion = 4/1/4. Cependant le rendement quantique était de 2 %. Pour une stœchiométrie de Cd/Te/GSH = 4/1,5/4, la solution commence à noircir après 80 minutes de chauffage et elle devient complètement noire après 280 °C de chauffage. Les rendements quantiques mesurés pour la dernière synthèse ne dépassent pas les 14 %.



**Figure II.21 :** Longueurs d’onde d’émission (traits discontinus) et les rendements quantiques correspondants (traits continus) à 3 stœchiométries de Cd/Te/GSH (4/1,5/4 (bleu), 4/1/4 (vert), 4/0,5/4 (rouge)), Tris/HCl (0,01 M), pH 7.4,  $\lambda_{ex}$  =430 nm

## 2. Caractérisation des nanoparticules

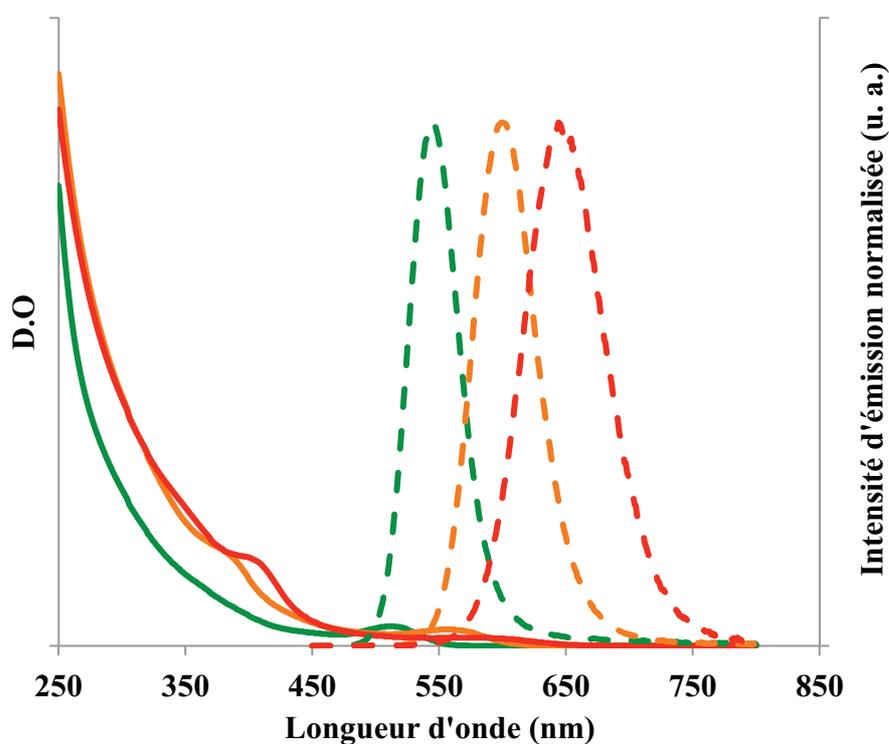
Une synthèse à grande échelle nous permet non seulement d’obtenir des quantum dots en grande quantité (plusieurs dizaines de mg), mais elle nous permet également de confirmer sa reproductibilité à grande échelle. La synthèse des nanoparticules de CdTe<sub>x</sub>S<sub>y</sub> avec une stœchiométrie de Cd/Te/GSH de 4/0,5/4 a été reproduite en multipliant le volume par un facteur 20. Trois lots de nanoparticules **QD<sub>540</sub>** (395 mg), **QD<sub>600</sub>** (230 mg) et **QD<sub>650</sub>** (240 mg) sont isolés après 2h, 4h et 10h de chauffage, respectivement (Figure II.22).



**Figure II.22 :** **QD<sub>540</sub>**, **QD<sub>600</sub>** et **QD<sub>650</sub>** en suspension dans un tampon Tris/HCl (0,01 M), pH 7.4; **A)** sans irradiation, **B)** sous irradiation U.V ( $\lambda_{ex}$  =365 nm)

## 2.1. Caractérisations Optiques

Les spectres d'absorption et d'émission pour 3 échantillons sont présentés sur la Figure II.23. Des maximums d'absorption à 507 nm, 550 nm et 580 nm sont obtenus après 2h, 4h et 10h de chauffage. Ils correspondent respectivement à des pics d'émission à 540 nm, 600 nm et 650 nm. On note également l'apparition de la bande d'absorption à 380 nm pour **QD<sub>600</sub>** et 400 nm pour **QD<sub>650</sub>** qui est liée à la formation d'une couche de CdS comme cela a été expliqué précédemment. Cette couche de CdS influe directement sur les propriétés optiques des nanoparticules. Le décalage de Stokes entre le maximum d'absorption et le maximum d'émission est de 43 nm pour **QD<sub>540</sub>**, 36 nm pour **QD<sub>600</sub>** et 63 nm pour **QD<sub>650</sub>**.



**Figure II.23** : Evolution des spectres d'absorption (traits continus) et des spectres d'émission (traits discontinus) des différents prélèvements (**QD<sub>540</sub>** (vert), **QD<sub>600</sub>** (orange) et **QD<sub>650</sub>** (rouge)), Tris/HCl (0,01 M), pH 7.4,  $\lambda_{ex} = 430$  nm

La largeurs à mi-hauteur des spectres d'émission s'accroît avec le temps de chauffage. En effet, après 2 h de chauffage **QD<sub>540</sub>** présente un pic à 540 nm dont la largeur à mi-hauteur est l'environ 46 nm, contre 70 nm pour l'échantillon **QD<sub>650</sub>** obtenu après 10h de chauffage. Ce phénomène traduit le taux de croissance inhomogène provoqué par un reflux prolongé, et donc l'augmentation de la distribution de taille.<sup>10</sup> Les rendements quantiques de luminescence ( $\Phi$ ) sont calculés par la méthode absolue à l'aide de la sphère d'intégration et la méthode relative en comparant avec la Rhodamine 6G, ils sont de 24 % pour **QD<sub>540</sub>**, 29 % pour **QD<sub>600</sub>** et 10 % pour **QD<sub>650</sub>**.

L'augmentation du rendement quantique entre QD<sub>540</sub> et QD<sub>600</sub> peut s'expliquer en partie par la correction des défauts de surface lors la formation de la couche de CdS. Au delà de 600 nm, le rendement quantique chute du fait de modifications de l'état de surface.

Le profil de décroissance temporel est mesuré par comptage de photons uniques corrélé en temps (Time-Correlated Single Photon Counting ; TCSPC) sous excitation à 303 nm avec une NanoLED. Les temps de vie sont obtenus par un ajustement tri-exponentiel selon l'Équation II.7.

$$I(t) = \sum_{i=1}^3 B_i \exp^{-t/\tau_i}$$

Équation II.7

Où  $\tau_i$  représente la durée de vie et  $B_i$  la population des différents composants.

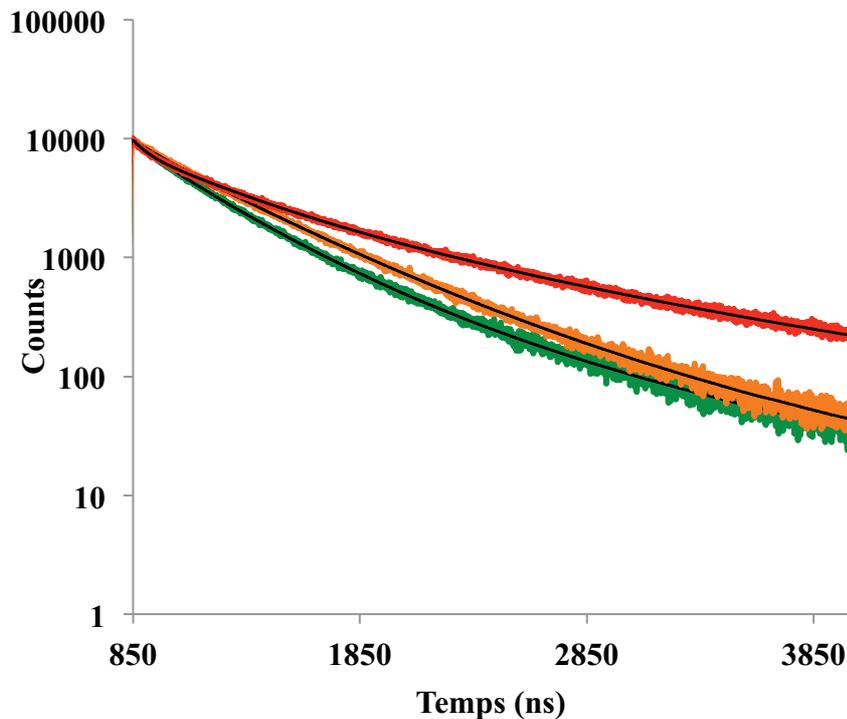


Figure II.24 : Profil des temps de vie de QD<sub>540</sub> (vert), QD<sub>600</sub> (orange) et pour QD<sub>650</sub> (rouge), et l'ajustement en tri-exponentiel correspondant (noir)

Le temps de vie moyen  $\langle \tau \rangle$  est calculé à partir de l'Équation II.8<sup>11</sup> et les résultats sont résumés dans le Tableau 2

$$\langle \tau \rangle = \frac{\sum_{i=1}^3 B_i \tau_i^2}{\sum_{i=1}^3 B_i \tau_i}$$

Équation II.8

	$\tau_1$ (ns)/ $B_1$ (%)	$\tau_2$ (ns)/ $B_2$ (%)	$\tau_3$ (ns)/ $B_3$ (%)	$\langle \tau \rangle$ (ns)	$\Phi$ (%)
<b>QD<sub>540</sub></b>	12,8 (4,4)	38 (71,5)	93 (24,1)	50	24
<b>QD<sub>600</sub></b>	8 (3,8)	42 (71,1)	95 (25,1)	54	29
<b>QD<sub>650</sub></b>	6 (2,9)	44 (36,6)	122 (60,5)	90	10

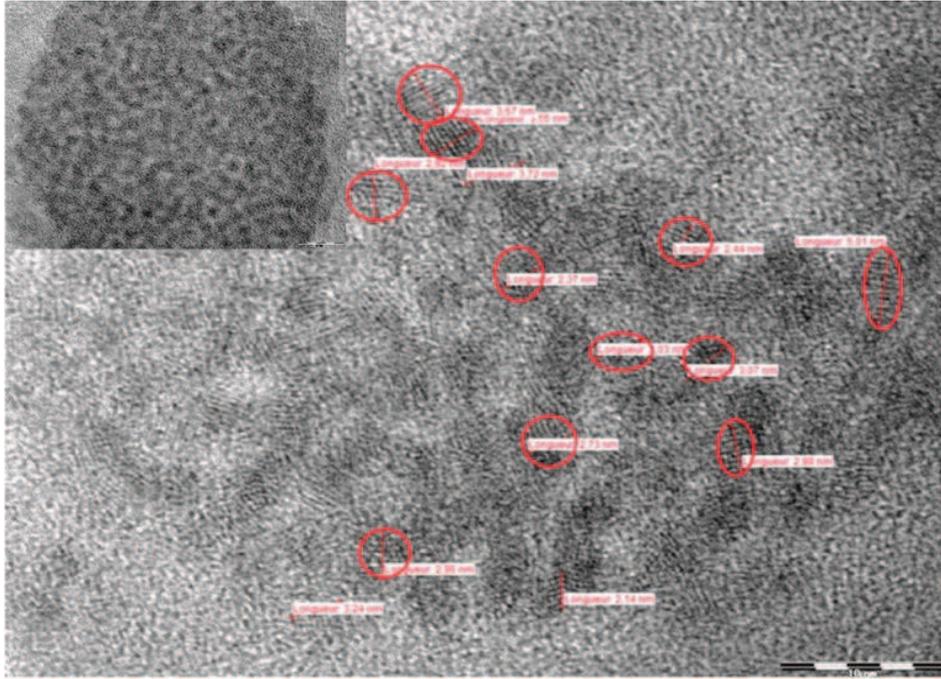
**Tableau 2** : Temps de vie  $\tau_i$  ( $i = 1-3$ ), population  $B_i$  ( $i = 1-3$ ) et rendements quantiques des échantillons **QD<sub>540</sub>**, **QD<sub>600</sub>** et **QD<sub>650</sub>**

La composante la plus courte correspond à la recombinaison des excitons dans le cœur des nanoparticules, Les composantes longues (37 – 122 ns) sont associées à la désactivation thermique à la surface.<sup>11</sup>

La composante la plus longue augmente avec l'augmentation de la longueur d'onde d'émission, ce qui s'explique par l'augmentation du ratio surface/volume et par la formation d'une couche de CdS à la surface. L'influence d'une couche de CdS sur le temps de vie des nanoparticules de CdTe est rapportée dans les travaux de Q. Zeng et al.<sup>12</sup> Ce phénomène est interprété par la diminution des désactivations non-radiatives en raison de la séparation des porteurs de charges. A titre de comparaison, des temps de vie de 21 ns et 24 ns ont été mesurés pour des nanoparticules de CdTe stabilisées par l'acide thioglycolique (TGA) qui émettent à 553 nm et 650 nm mais sans couche protectrice de surface.<sup>13</sup> Dans notre cas, les temps de vie moyens sont multipliés par un facteur de 2,5 pour les **QD<sub>540</sub>**, ce qui est probablement lié à l'effet de ligand de surface et une meilleure protection de la surface par le glutathion. De plus le temps de vie des **QD<sub>540</sub>** est significativement augmenté par un facteur de 3,5 et cette augmentation est en grande partie liée à l'introduction de la couche de CdS qui protège la surface mais surtout, sépare les porteurs des charges.

## 2.2. Caractérisations morphologiques

Des nanoparticules sphériques avec une bonne distribution de taille sont observées sur les images de Microscope Electronique à Transmission (MET) (Figure II.25). Une taille moyenne de  $3,1 \pm 0,8$  nm est calculée sur l'ensemble des nanoparticules de l'image MET pour **QD<sub>540</sub>**.



**Figure II.25** : Image MET du **QD<sub>540</sub>**

La taille moyenne des quantum dots peut également être estimée à partir de la relation décrite dans les travaux de X. Peng et coll (Équation II.9).<sup>14</sup> Cette relation relie initialement le diamètre du cœur des nanoparticules de CdTe pures avec la longueur d'onde du maximum d'absorption,  $\lambda$  (Équation II.9). Cependant, La même relation a également été utilisée pour estimer la taille de quantum dots de CdTe<sub>x</sub>S<sub>y</sub><sup>15</sup> avec une bonne correspondance entre les mesures théoriques et les mesures expérimentales. Dans le cas des nanoparticules **QD<sub>540</sub>**, le diamètre théorique du cœur obtenu par cette relation ( $D_{Th} = 3,3$  nm) vient confirmer le diamètre expérimental mesuré MET ( $D_{exp} = 3,1$  nm).

$$D_{Th} = (9,8127 \times 10^{-7} \times \lambda^3) - (1,7147 \times 10^{-3} \times \lambda^2) + (1,0064 \times \lambda) - 194,84$$

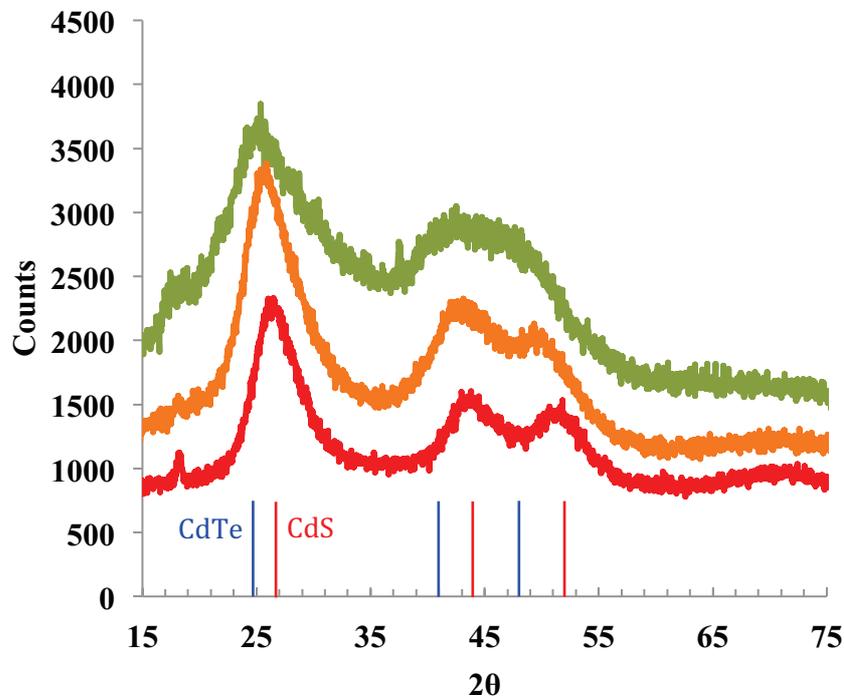
**Équation II.9**

	<b>QD<sub>540</sub></b>	<b>QD<sub>600</sub></b>	<b>QD<sub>650</sub></b>
$\lambda_{Abs}$ (nm)	507	550	580
$\phi$ (nm)	2,6	3,3	3,3

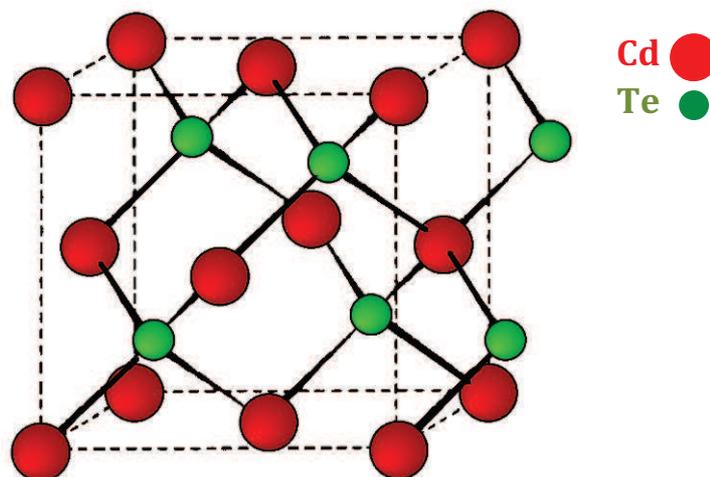
**Tableau II.3** : Calcul théorique de la taille du cœur des nanoparticules des échantillons **QD<sub>540</sub>**, **QD<sub>600</sub>** et **QD<sub>650</sub>**

Les poudres des trois échantillons ont été analysées par diffraction des rayons X (Figure II.26). Les diagrammes obtenus correspondent bien aux résultats trouvés dans la littérature.<sup>8</sup>

Un large pic est observé à  $25^\circ$  (111) et deux autres à  $45^\circ$  du au chevauchement entre les plans (220) et (311) confirment que les nanoparticules obtenues possèdent une structure type zinc blende (Figure II.27).



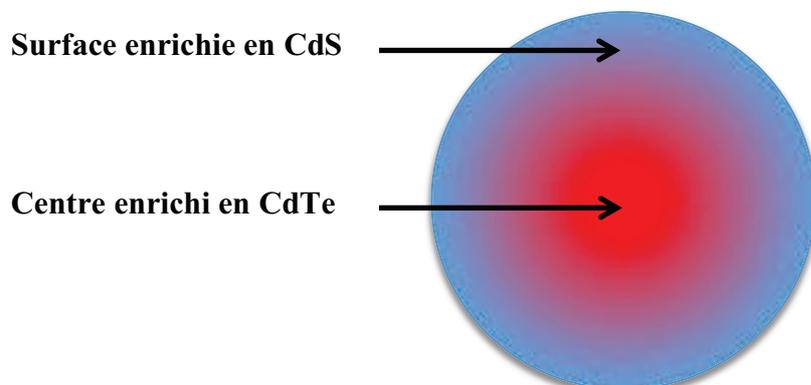
**Figure II.26** : Diagramme de diffraction des rayons X de QD<sub>540</sub> (vert), QD<sub>600</sub> (Orange) et QD<sub>650</sub> (rouge)



**Figure II.27** : Maille cristalline élémentaire d'une structure de type zinc blende de CdTe

Le pic caractéristique des trois échantillons se trouve entre le pic caractéristique du CdTe pur et celui du CdS pur. De plus, un décalage du pic de diffraction est observé en fonction de l'augmentation de la taille des nanoparticules vers des propriétés du CdS pur, impliquant la

formation d'une solution solide de CdTe<sub>x</sub>S<sub>y</sub> avec une proportion en CdS croissante (Figure II.28). Ces résultats confirment encore une fois la décomposition du glutathion est l'incorporation du soufre dans le cœur des nanoparticules.



**Figure II.28** : Représentation schématique du cœur des nanocristaux de CdTe<sub>x</sub>S<sub>y</sub>

### 2.3. Caractérisations chimiques

Une caractérisation chimique nous a permis de déterminer les proportions des différents éléments présents dans ces nanocristaux de type CdTe<sub>x</sub>S<sub>y</sub> notamment le nombre de molécules de glutathion à la surface.

La teneur en Cd, Te et S est déterminée par ICP-AES (Tableau II.4). Une augmentation de la concentration des différents éléments (Cd, Te et S) est constatée de **QD<sub>540</sub>** et de **QD<sub>600</sub>**. Cette augmentation est liée à la croissance du cœur. Ensuite, une stabilisation de la quantité de Te est observée entre **QD<sub>600</sub>** et **QD<sub>650</sub>**, qui est interprétée par la consommation totale de Te<sup>2-</sup> présent en solution. La proportion de soufre présente dans le cœur des nanoparticules est calculée à partir de l'Équation II.10.

	Cd (mmol/g)	S <sub>tot</sub> (mmol/g)	Te (mmol/g)	S <sub>tot</sub> /Te	(S <sub>tot</sub> +Te)/Cd
<b>QD<sub>540</sub></b>	2,22 ± 0,05	2,11 ± 0,03	0,31 ± 0,01	6,73	1,09
<b>QD<sub>600</sub></b>	3,75 ± 0,10	3,32 ± 0,06	0,58 ± 0,01	5,72	1,04
<b>QD<sub>650</sub></b>	4,81 ± 0,08	4,30 ± 0,11	0,50 ± 0,01	8,66	1,00

**Tableau II.4** : Résultats des analyses ICP-AES pour **QD<sub>540</sub>**, **QD<sub>600</sub>** et **QD<sub>650</sub>**

$$S_{\text{cœur}} = S_{\text{tot}} - S_{\text{GSH}}$$

**Équation II.10**

S<sub>cœur</sub> est la concentration de S<sup>2-</sup> dans le cœur.

$S_{\text{tot}}$  est la concentration totale en  $S^{2-}$ .

$S_{\text{GSH}}$  est la concentration totale en soufre provenant du glutathion.

La concentration en soufre lié au glutathion de surface est calculée à partir des analyses élémentaires du C, H et N (Tableau II.5) de la façon suivante :

Le ratio molaire en azote est déterminé par l'analyse élémentaire (Tableau II.5). Sachant qu'une mole du glutathion contient 3 moles d'azote et 1 mol de soufre, cela permet d'accéder au ratio molaire en soufre lié au glutathion. Les résultats des calculs sont résumés dans le Tableau II.6.

	C (%)	N (%)	H (%)
<b>QD<sub>540</sub></b>	6,61	20,44	3,39
<b>QD<sub>600</sub></b>	4,44	13,24	2,08
<b>QD<sub>650</sub></b>	2,31	7,34	1,55

**Tableau II.5** : Résultats des analyses élémentaires C, H et N pour **QD<sub>540</sub>**, **QD<sub>600</sub>** et **QD<sub>650</sub>**

	$S_{\text{GSH}}$ (mmol/g)	$S_{\text{cœur}}$ (mmol/g)
<b>QD<sub>540</sub></b>	1,56	0,55
<b>QD<sub>600</sub></b>	1,07	2,55
<b>QD<sub>650</sub></b>	0,55	3,55

**Tableau II.6** : Teneurs calculées en soufre à la surface ( $S_{\text{GSH}}$ ) et dans le cœur ( $S_{\text{cœur}}$ )

### 3. Model structural proposé pour le calcul de la masse molaire

Bien qu'il soit indispensable pour calculer d'autres paramètres comme le coefficient d'extinction molaire, le poids moléculaire de ces nanoparticules n'a jamais été déterminé d'une manière précise.

Dans cette partie un modèle structural pour calculer le poids moléculaire est proposé. Ce modèle est basé sur deux hypothèses. La première consiste à considérer que les nanoparticules sont parfaitement sphériques et leur volume total est calculé selon l'Équation II.11. La deuxième hypothèse est de considérer que la densité moyenne ( $\rho$ ) des nanocristaux du  $\text{CdTe}_x\text{S}_y$  est égale à la moyenne des densités du CdS pur et CdTe pur pondérées par les ratios molaires X et Y déterminés précédemment.

$$V_{\text{Coeur}} = \frac{4}{3} \times \pi \times \left(\frac{D}{2}\right)^3$$

**Équation II.11**

Où D représente le diamètre des nanoparticules.

Le poids moléculaire du cœur des nanoparticules est ensuite calculé à partir de l'Équation II.12.

$$M_{cœur} = V_{cœur} \times \rho \times N_{Av}$$

**Équation II.12**

Avec

V : le volume du cœur des nanoparticules.

$\rho$  : la densité moyenne calculée.

$N_{Av}$  : le nombre d'Avogadro.

À partir de la masse molaire du cœur ( $M_{cœur}$ ) ainsi calculée et de la composition molaire des différents éléments x, y, z pour CdTe<sub>x</sub>S<sub>y</sub>, nous pouvons remonter à la formule chimique de type (CdTe<sub>x</sub>S<sub>y</sub>)<sub>K</sub> pour une nanoparticule. Le facteur K est calculé à partir de l'Équation II.13. Le même facteur est donc utilisé pour remonter au nombre de glutathion à la surface des nanoparticules ( $N_{GSH}$ ).

$$M_{cœur} = K \times (X \times M_{Cd} + Y \times M_S)$$

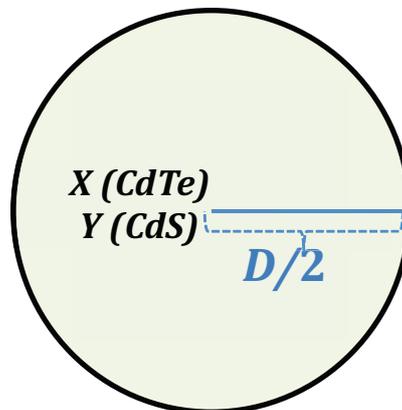
**Équation II.13**

Le poids moléculaire total des nanocristaux est obtenu par la somme du poids moléculaire de la couche du glutathion et celui du cœur selon l'Équation II.14.

$$M_{total} = M_{cœur} + N_{GSH} \times M_{GSH}$$

**Équation II.14**

Ce modèle nous a ainsi permis de calculer le nombre de glutathion autour d'une nanoparticule (Équation II.15) et donc la formule moléculaire (Tableau II.7)



**Figure II.29** : Modèle sphérique des nanocristaux

	QD <sub>540</sub>	QD <sub>600</sub>	QD <sub>650</sub>
$\rho$ (Kg/m <sup>3</sup> )	5,2	5,0	4,9
D <sub>Th</sub> (nm)	2,6	3,3	3,3
D <sub>Exp</sub> (nm)		3,1	
V <sub>Th</sub> (nm <sup>3</sup> )	9,16	18,69	19,51
V <sub>Exp</sub> (nm <sup>3</sup> )		15,89	
M <sub>Coeur</sub> (g/mol)	28680	56640	58070
N <sub>GSH</sub>	142	106	44
M <sub>Tot</sub> (g/mol)	77530	93100	73200
<b>Formule chimique</b>	Cd <sub>205</sub> Te <sub>29</sub> S <sub>50</sub> (GSH) <sub>142</sub>	Cd <sub>374</sub> Te <sub>58</sub> S <sub>225</sub> (GSH) <sub>106</sub>	Cd <sub>385</sub> Te <sub>56</sub> S <sub>300</sub> (GSH) <sub>44</sub>

**Tableau II.7 :** Résumé du calcul du poids moléculaire du cœur, le nombre de glutathion et la formule chimique des nanoparticules à partir du modèle proposé (( $\rho$ ) la densité, (D) diamètre (Th = obtenu de l'équation II.3 et Exp = mesuré par MET), (V) volume, et leur poids moléculaire: M<sub>Tot</sub> (poids moléculaire total), M<sub>cœur</sub> (poids moléculaire du cœur) et N<sub>GSH</sub> le nombre total de glutathion à la surface

Nous pouvons noter une variation non linéaire du nombre de glutathion de surface en fonction de la taille des nanoparticules. Une augmentation du nombre de ligand est constatée entre QD<sub>540</sub> (2,6 nm) et QD<sub>600</sub> (3,3 nm). Cependant, à partir de QD<sub>600</sub> une diminution du nombre de ligand est observée. Le modèle proposé nous permet, à partir du calcul du poids moléculaire, de déterminer le coefficient d'extinction molaire des nanoparticules. En particulier  $\epsilon = 103500 \text{ L. mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  à 375 nm pour QD<sub>540</sub>. Cette valeur est très importante par la suite car elle nous permet de bien contrôler les procédures de conjugaison et d'avoir des informations quantitatives plus précises sur les concentrations à partir de la mesure des spectres d'absorption UV-Visible. Cela est particulièrement important pour des applications en biologie.

#### 4. Influence du ligand sur les propriétés optiques des nanoparticules

Ce chapitre est dédié à l'étude de la relation entre le nombre de glutathion à la surface des nanocristaux et leurs propriétés optiques.

Le nombre de molécules de ligand nécessaire pour obtenir un recouvrement total de la surface des nanoparticules peut être estimé à partir du calcul de la surface des nanoparticules et de l'encombrement généré par le ligand (Figure II.30). Une telle relation a récemment été décrite par Resch-Genger, Eychmüller, Gaponik et leurs collaborateurs dans le cas de nanoparticules sphériques de CdTe, stabilisées par l'acide thioglycolique (TGA) (Équation II.15).<sup>16</sup>

$$N_{Ligand} = (4\pi \times (r_{particule} + Z_{max})^2) / A_{Ligand}$$

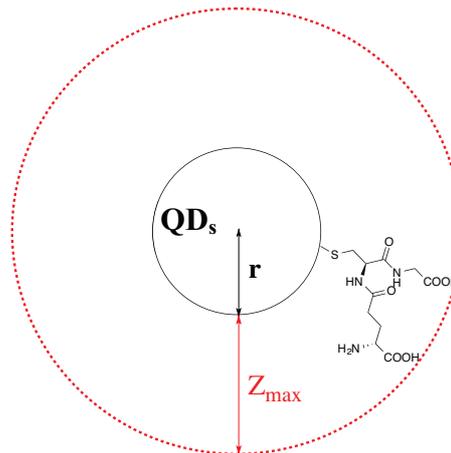
**Équation II.15**

Où

$r_{particule}$  est le rayon du cœur des nanoparticules mesuré par le MET ( $r = D_{Th}/2$ ).

$Z_{max}$  est l'épaisseur de la couche de glutathion.

$A_{ligand}$  est la surface recouverte par le ligand.



**Figure II.30** : Modèle de la surface générée par le ligand autour des nanoparticules

Dans leurs travaux Resch-Genger, Eychmüller, Gaponik et al ont utilisé des simulations dynamiques afin de calculer  $Z_{max}$  et  $A_{ligand}$ .

Notre estimation est basée sur un modèle moléculaire statique de type MM2 (Chem3D) d'une molécule de glutathion immobilisée sur une surface de type CdS (Figure II.31).

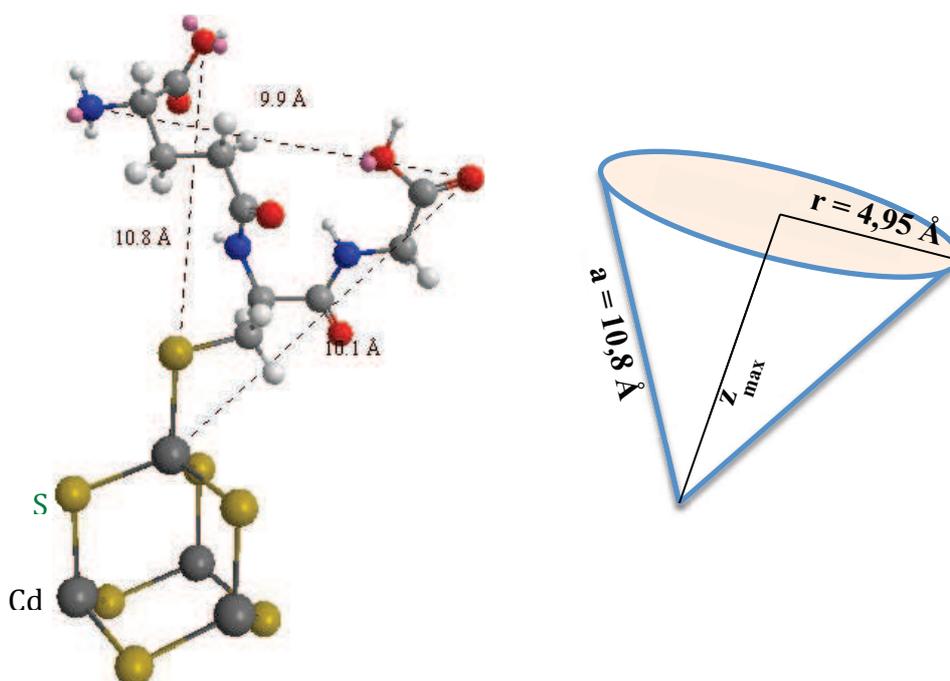
Ce modèle nous a permis de faire une approximation selon la quelle la forme du glutathion est conique (Figure II.31). L'épaisseur de la couche de glutathion ( $Z_{max}$ ) et la surface occupée par le ligand ( $A_{ligand}$ ) ont été également calculées à partir de ce modèle selon l'Équation II.16 et l'Équation II.17 respectivement.

$$Z_{max} = \sqrt{(a^2 - r^2)}$$

Équation II.16

$$A_{ligand} = \pi \times r^2$$

Équation II.17

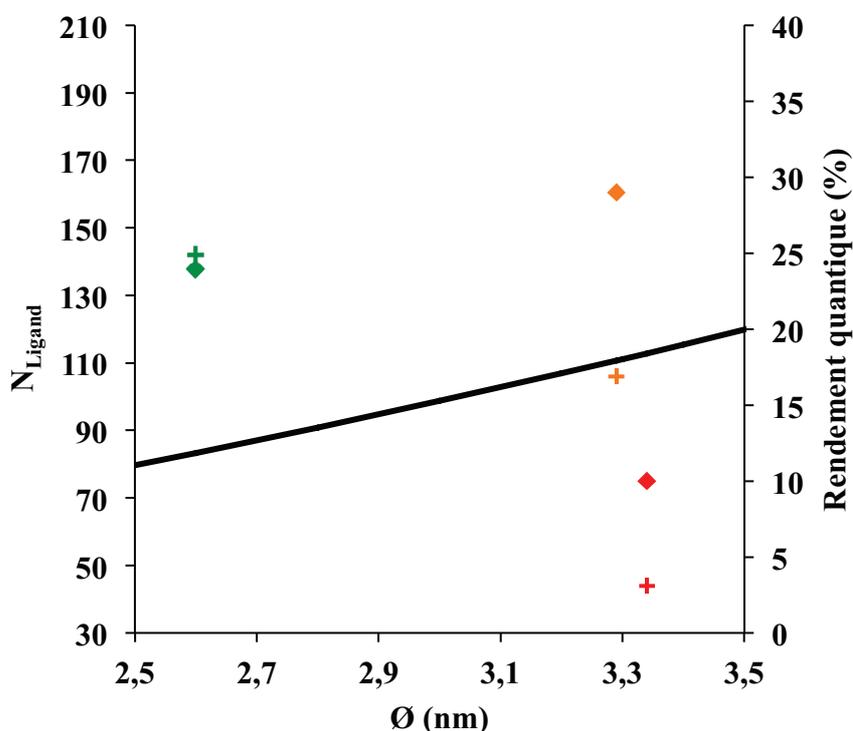


**Figure II.31** : Modèle conique de type MM2 d'une molécule de glutathion immobilisée sur une surface de type CdS

A partir de ces calculs, le profil théorique du nombre de ligand pour une couche de GSH peut être tracé en fonction de la taille des nanoparticules (Figure II.32). Pour les plus petites nanoparticules **QD<sub>540</sub>**, le nombre de molécules de glutathion présent à la surface est nettement supérieur au nombre de ligands théorique dans le cas d'une monocouche. Ce nombre reste constant après plusieurs étapes de précipitation et après une colonne chromatographique d'exclusion de taille sur résine Sephadex. Ceci indique que toutes les molécules de GSH sont fortement liées à la surface des nanoparticules, probablement par la formation d'une couche supplémentaire de ligand à la surface des nanoparticules.<sup>16</sup>

La croissance des nanoparticules est accompagnée par la diminution du nombre de glutathion de la surface. Cette diminution est liée à la décomposition du glutathion pour former une couche de CdS. La Figure II.32 indique une étroite corrélation entre l'état de surface et le rendement quantique des nanoparticules. Pour les échantillons **QD<sub>540</sub>** et **QD<sub>600</sub>**,

pour lesquels le nombre de glutathion est suffisant pour assurer une couverture totale de la surface, nous observons un rendement quantique important (24 % et 29 % respectivement). En revanche, pour l'échantillon QD<sub>650</sub>, une chute importante du rendement quantique est observée, probablement liée au faible recouvrement de la surface par les molécules de GSH. Cette baisse du rendement quantique peut s'expliquer à la fois par l'augmentation des désactivations non radiatives et par la formation d'agrégats. En effet, la diminution du potentiel de surface, causée par la diminution du nombre de glutathion, entraîne la diminution de la force de répulsion électrostatique entre les nanoparticules.



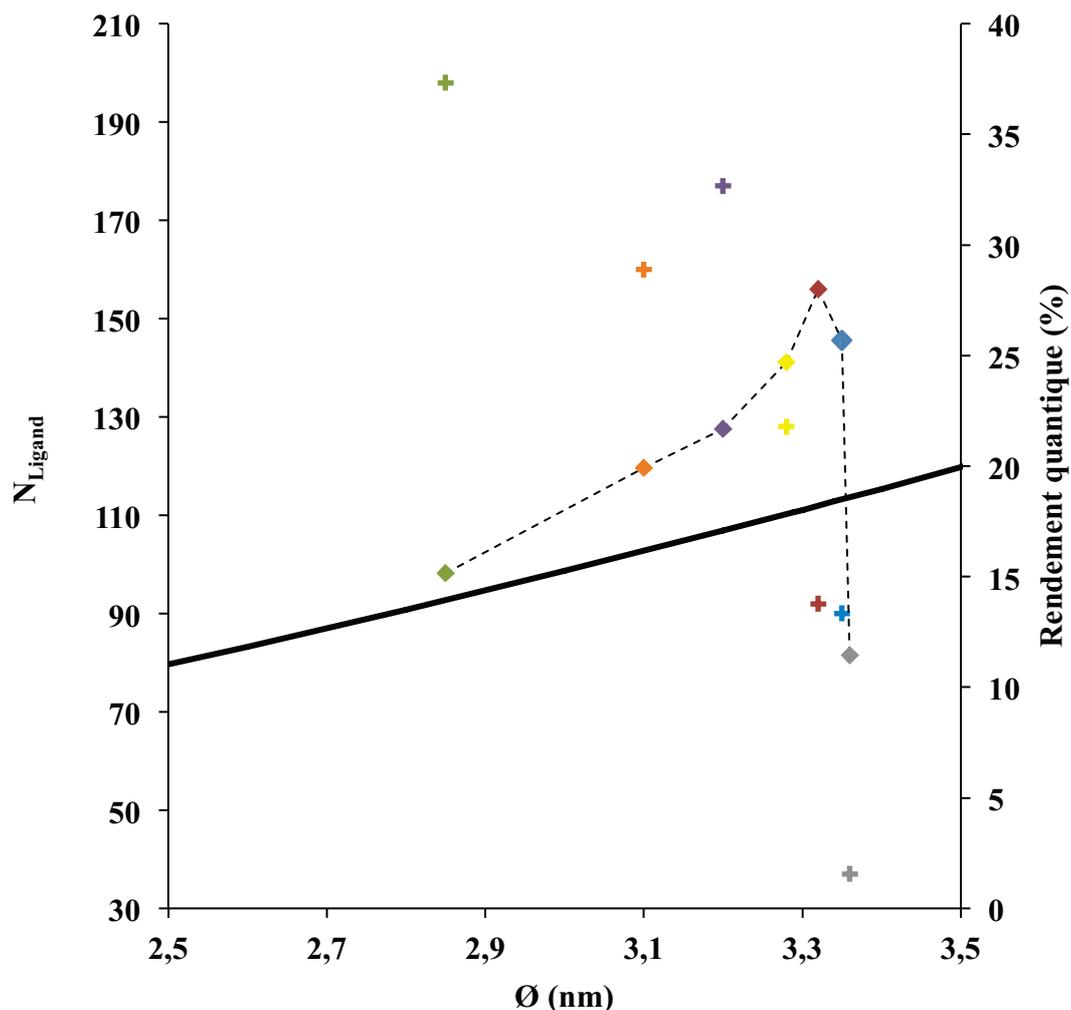
**Figure II.32** : Nombre de molécules de glutathion estimé pour une monocouche de ligand à la surface des nanoparticules (trait noir), nombre de glutathion calculé (+) et rendements quantiques de luminescence (◆) (QD<sub>540</sub> (vert), QD<sub>600</sub> (orange) et QD<sub>650</sub> (rouge))

Dans le but de confirmer cette corrélation entre le rendement quantique et la couverture de surface par le glutathion, une autre synthèse a été réalisée avec d'avantage de prélèvements. Tous les échantillons sont obtenus selon le mode opératoire décrit au paragraphe 1. Les caractérisations optiques et chimiques ont été réalisées et les formules molaires sont obtenues en appliquant le modèle structural proposé (Tableau II.8). L'évolution du rendement quantique des nanoparticules et du nombre de GSH de surface en fonction de leur taille est représentée sur la Figure II.33. Au cours des trois premières heures, le nombre du glutathion se trouve largement au dessus de la courbe théorique, indiquant la formation de plusieurs

couches de glutathion. Après quatre heures de réaction, le nombre de glutathion commence à diminuer et le rendement quantique augmente jusqu'à atteindre 29%. Une chute significative du nombre du glutathion est ensuite observée, accompagnée par une chute importante du rendement quantique, de manière analogue à ce qui avait été observé pour les 3 échantillons. En conclusion, cette nouvelle manipulation confirme la reproductibilité de la synthèse et également l'impact de couverture de surface par le ligand sur les propriétés optiques.

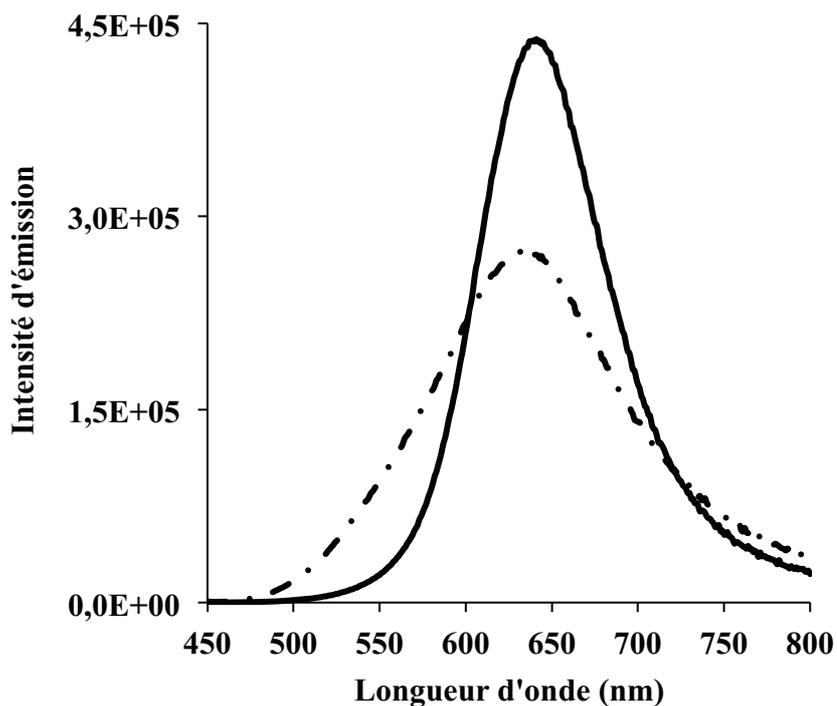
	t (min)	$\lambda_{em}$ (nm)	$\Phi$ (%)	$D_{Th}$ (nm)	$V_{Th}$ (nm <sup>3</sup> )	$\rho$ (Kg/nm <sup>3</sup> )	$M_{Cœur}$ (g/mol)	$M_{Tot}$ (g/mol)	Formule moléculaire
<b>QD<sub>555</sub></b>	60	555	15,2	2,85	12,1	5,28	38314	99100	CdTe <sub>0,13</sub> S <sub>0,15</sub> (GSH) <sub>0,69</sub>
<b>QD<sub>575</sub></b>	120	575	19,9	3,1	15,6	5,13	48069	97169	CdTe <sub>0,14</sub> S <sub>0,32</sub> (GSH) <sub>0,47</sub>
<b>QD<sub>591</sub></b>	180	591	21,7	3,2	17,1	5,20	53578	107880	CdTe <sub>0,12</sub> S <sub>0,33</sub> (GSH) <sub>0,44</sub>
<b>QD<sub>601</sub></b>	210	601	24,7	3,28	18,5	5,05	56351	95466	CdTe <sub>0,15</sub> S <sub>0,58</sub> (GSH) <sub>0,35</sub>
<b>QD<sub>612</sub></b>	270	612	28	3,32	19,2	5,01	57779	86262	CdTe <sub>0,12</sub> S <sub>0,55</sub> (GSH) <sub>0,22</sub>
<b>QD<sub>624</sub></b>	375	624	25,7	3,37	20,0	5,01	60431	86868	CdTe <sub>0,11</sub> S <sub>0,54</sub> (GSH) <sub>0,21</sub>
<b>QD<sub>647</sub></b>	435	647	11,4	3,46	21,0	4,94	62566	71130	CdTe <sub>0,11</sub> S <sub>0,55</sub> (GSH) <sub>0,09</sub>

**Tableau II.8** : Propriétés des nanoparticules de CdTe<sub>X</sub>S<sub>Y</sub> pour sept temps de chauffage (t) : Rendement quantique de luminescence ( $\Phi$ ) à la longueur d'onde d'émission ( $\lambda_{em}$ ), diamètre théorique ( $D_{Th}$ , obtenu à partir l'équation II.3), volume ( $V_{Th}$ ), la masse volumique ( $\rho$ ), poids moléculaires:  $M_{Tot}$  (poids moléculaire total),  $M_{cœur}$  (poids moléculaire du cœur) ainsi que la formule moléculaire



**Figure II.33** : Nombre de molécules de glutathion estimé pour une monocouche de ligand à la surface des nanoparticules (trait noir), nombre de glutathion calculé (+) et rendements quantiques de luminescence ( $\blacklozenge$ ) (QD<sub>555</sub> (vert), QD<sub>575</sub> (orange), QD<sub>591</sub> (violet), QD<sub>601</sub> (jaune), QD<sub>612</sub> (marron), QD<sub>624</sub> (bleu) et QD<sub>647</sub> (gris))

Pour vérifier cette hypothèse, une solution de glutathion a été ajoutée à une suspension des nanoparticules émettant à 636 nm (QD<sub>636</sub>), dans le citrate à pH = 8,5. Après 24 heures à température ambiante, nous observons la dispersion des agrégats, probablement dû à l'ajout de GSH à la surface et à l'augmentation de la force de répulsion électrostatique entre les nanoparticules. De plus, des variations importantes sont observées au niveau des spectres d'émission (**Figure II.34**). Le spectre d'émission est affiné, tout en gardant le même maximum d'émission et le rendement quantique passe 12 % à 15 %, probablement du fait d'une meilleure protection de la surface.

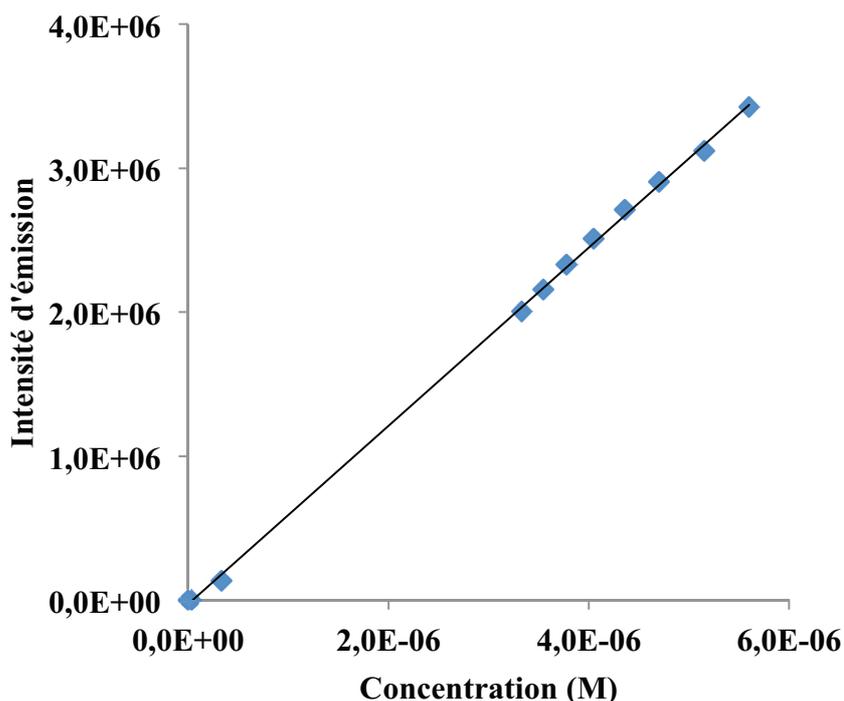


**Figure II.34** : Spectre d'émission de QD<sub>636</sub> avant (trait discontinu) et après l'addition du glutathion (trait continu) à température ambiante dans le citrate à pH 8,5

### 5. Stabilité des nanoparticules

Des tests de stabilité ont été réalisés dans différentes conditions en mesurant l'évolution des spectres d'émission en fonction du temps.

Tout d'abord nous pouvons noter que les nanoparticules sont stables pour une période de 21 jours en solution aqueuse et dans le tampon Tris/HCl (0,01 M) à pH 7,4 (pH physiologique). De plus, leurs propriétés d'émission restent stables dans une gamme de concentration allant de 3,4  $\mu$ M jusqu'à 0,6  $\mu$ M (Figure II.35), ce qui en fait de bons candidats pour des applications en biologie.<sup>17</sup>



**Figure II.35** : Evolution de l'intensité d'émission de **QD<sub>540</sub>** à en fonction de la dilution

## 6. Conclusion

Nous avons mis au point une méthode de synthèse de quantum dots de  $\text{CdTe}_x\text{S}_y$  stabilisés par un ligand hydrophile (le glutathion) en solution aqueuse.

Des nanoparticules stables et avec de bonnes propriétés optiques sont obtenues avec une stœchiométrie  $\text{Cd/Te/glutathion} = 4/0,5/4$ . Au cours de la synthèse, la formation d'une couche de CdS est observée et se manifeste par l'apparition d'une bande d'absorption caractéristique à 380 nm et par des diffractogrammes de rayons X caractéristiques d'une solution solide de  $\text{CdTe}_x\text{S}_y$ . De plus nous observons la croissance de la couche de CdS à la surface des nanoparticules au cours du chauffage. La proportion du soufre introduits dans le cœur des nanoparticules est déterminée par des analyses élémentaires (C, H, N et ICP-AES).

À partir de ces analyses, nous avons proposé un modèle structural pour calculer le poids moléculaire, définir la formule molaire des nanoparticules et estimer le nombre de ligands à la surface. Le coefficient d'extinction molaire de l'échantillon **QD<sub>540</sub>** a ainsi pu être déterminé.

Enfin, nous avons montré l'existence d'une relation entre le rendement quantique et le nombre de glutathion. Lorsque le nombre de GSH en surface est insuffisant pour assurer une couverture totale des nanoparticules, nous observons une chute significative du rendement quantique. Cette chute est probablement liée à l'augmentation des désactivations non-

radiatives dues à la mauvaise protection de la surface. La formation d'agrégats est également provoquée par l'insuffisance de L-glutathion à la surface.

## 7. Bibliographie

1. Sheng, Z., Han, H., Hu, X. & Chi, C. One-step growth of high luminescence CdTe quantum dots with low cytotoxicity in ambient atmospheric conditions. *Dalton Trans.* **39**, 7017–7020 (2010).
2. Lens, P. *Biofilms in Medicine, Industry and Environmental Biotechnology: Characteristics, Analysis and Control*. (IWA Publishing, 2003).
3. Vengrenovich, R. D., Gudyma, Y. V. & Yarema, S. V. Ostwald ripening of quantum-dot nanostructures. *Semiconductors* **35**, 1378–1382 (2001).
4. Voorhees, P. W. The theory of Ostwald ripening. *J. Stat. Phys.* **38**, 231–252 (1985).
5. Rogach, A. L., Talapin, D. V., Shevchenko, E.V., Kornowski, A., Haase, M. & Weller, H. Organization of Matter on Different Size Scales: Monodisperse Nanocrystals and Their Superstructures. *Adv. Funct. Mater.* **12**, 653–664 (2002).
6. Murray, C. B., Kagan, C. R. & Bawendi, M. G. Synthesis and Characterization of Monodisperse Nanocrystals and Close-Packed Nanocrystal Assemblies. *Annu. Rev. Mater. Sci.* **30**, 545–610 (2000).
7. Tortiglione, C., Quarta, A., Tino, A., Manna, L., Cingolani, R. & Pellegrino, T. Synthesis and Biological Assay of GSH Functionalized Fluorescent Quantum Dots for Staining *Hydra vulgaris*. *Bioconjug. Chem.* **18**, 829–835 (2007).
8. Zheng, Y., Gao, S. & Ying, J. Y. Synthesis and Cell-Imaging Applications of Glutathione-Capped CdTe Quantum Dots. *Adv. Mater.* **19**, 376–380 (2007).
9. Zhan, H.-J., Zhou, P.-J., He, Z.-Y. & Tian, Y. Microwave-Assisted Aqueous Synthesis of Small-Sized, Highly Luminescent CdSeS/ZnS Core/Shell Quantum Dots for Live Cell Imaging. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2012**, 2487–2493 (2012).
10. Rogach, A. L., Franzl, T., Klar, T. A., Feldmann, J., Gaponik, N., Lesnyak, V., Shavel, A., Eychmüller, A., Rakovich, Y. P. & Donegan, J. F. Aqueous Synthesis of Thiol-Capped CdTe Nanocrystals: State-of-the-Art. *J. Phys. Chem. C* **111**, 14628–14637 (2007).
11. Jones, M., Nedeljkovic, J., Ellingson, R. J., Nozik, A. J. & Rumbles, G. Photoenhancement of Luminescence in Colloidal CdSe Quantum Dot Solutions. *J. Phys. Chem. B* **107**, 11346–11352 (2003).
12. Zeng, Q., Kong, X., Sun, Y., Zhang, Y., Tu, L., Zhao, J. & Zhang, H. Synthesis and Optical Properties of Type II CdTe/CdS Core/Shell Quantum Dots in Aqueous Solution via Successive Ion Layer Adsorption and Reaction. *J. Phys. Chem. C* **112**, 8587–8593 (2008).
13. Yang, P. & Murase, N. Preparation-Condition Dependence of Hybrid SiO<sub>2</sub>-Coated CdTe Nanocrystals with Intense and Tunable Photoluminescence. *Adv. Funct. Mater.* **20**, 1258–1265 (2010).
14. Yu, W. W., Qu, L., Guo, W. & Peng, X. Experimental Determination of the Extinction Coefficient of CdTe, CdSe, and CdS Nanocrystals. *Chem. Mater.* **15**, 2854–2860 (2003).

- 15.** Xue, M., Wang, X., Wang, H. & Tang, B. The preparation of glutathione-capped CdTe quantum dots and their use in imaging of cells. *Talanta* **83**, 1680–1686 (2011).
- 16.** Leubner, S., Hatami, S., Esendemir, N., Lorenz, T., Joswig, J. O., Lesnyak, V., Recknagel, S., Gaponik, N., Resch-Genger, U. & Eychmüller, A. Experimental and theoretical investigations of the ligand structure of water-soluble CdTe nanocrystals. *Dalton Trans.* **42**, 12733–12740 (2013).
- 17.** Delehanty, J. B., Susumu, K., Manthe, R. L., Algar, W. R. & Medintz, I. L. Active cellular sensing with quantum dots: transitioning from research tool to reality; a review. *Anal. Chim. Acta* **750**, 63–81 (2012).



## **Chapitre III. Application des nanoparticules au transfert d'énergie**



Des études récentes ont montré l'existence d'un piégeage dynamique de la luminescence de CdS ou de CdSe<sup>1</sup> en présence du rouge du Nil résultant d'une interaction coulombienne. Ce piégeage de la luminescence est interprété par un transfert d'énergie de type Förster (FRET) des nanoparticules (donneur) vers le rouge du Nil (accepteur). L'efficacité maximale de transfert d'énergie observée est de 50 % pour les nanoparticules de CdSe ayant un diamètre de 3,3 nm, dans le chloroforme.

Dans cette partie, un couplage covalent a été réalisé entre les nanoparticules de CdTeS et un dérivé du rouge du Nil synthétisé au laboratoire. En réduisant la distance donneur-accepteur, ce couplage devrait significativement améliorer l'efficacité du transfert d'énergie.

#### 1. Synthèse et fonctionnalisation d'un dérivé du rouge du Nil

Le Rouge du Nil (Nile-Red) (Figure III.36) est une sonde fluorescente hydrophobe largement utilisée dans l'étude de biosystèmes tels que les protéines<sup>2,3</sup> et les membranes.<sup>4,5</sup> Les propriétés optiques de ce fluorophore sont fortement influencées par la polarité du solvant.<sup>6,7</sup> En effet, leur spectres d'absorption et d'émission se déplacent vers les basses énergies lorsque la polarité augmente et le rendement quantique chute, ce qui est connu sous le nom de l'effet solvatochrome.

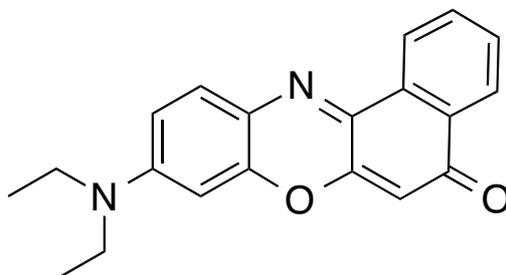
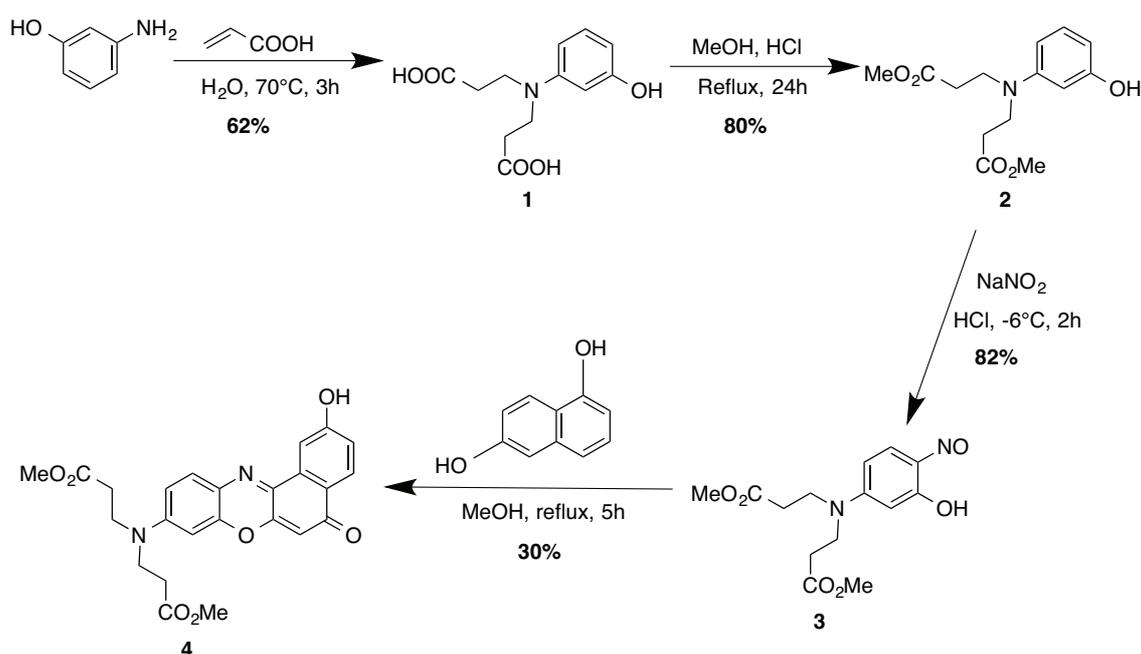


Figure III.36 : Structure du Rouge du Nil

Un dérivé du Rouge du Nil substitué en position 2 par un groupement hydroxyl (Composé 4, Figure III.37) a été synthétisé selon une adaptation de la procédure décrite dans les travaux de J. Jose et K. Burgess.<sup>8</sup> La position phénolique va permettre d'introduire un espaceur de type aminopropylamine, l'amine primaire servant de fonction réactive pour le couplage à la surface des nanoparticules.

Le composé 4 est obtenu en quatre étapes (Figure III.37). Une addition de Michael de l'acide acrylique sur le 3-amino-phénol permet d'obtenir le composé 1, purifié par recristallisation. Le diester correspondant (Composé 2) est obtenu par une étape d'estérification classique avec un rendement de 80 %. Le composé 3 est obtenu par une étape

de nitrosation du composé 2 par le nitrite de sodium à  $-6\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Une adaptation de la procédure initialement décrite par de J. Jose et K. Burgess <sup>8</sup> a été proposée afin d'améliorer la régiosélectivité de la réaction. De plus, nous avons montré que le dérivé nitroso (Composé 3) pouvait être purifié par recristallisation dans l'éthanol à  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Le dérivé du Rouge du Nil (Composé 4) est finalement obtenu par la condensation du nitroso (Composé 3) sur le 1,6-dihydroxynaphtalène. Plusieurs produits de condensation sont obtenus parmi lesquels le composé 4 qui est séparé par colonne chromatographique.



**Figure III.37 :** Synthèse du composé 4

La fonctionnalisation du dérivé 4 nécessite la synthèse de la chaîne aminopropyl (composé 6). La préparation du composé 6 se fait en deux étapes à partir du 3-aminopropanol (Figure III.38). La première étape consiste en la protection de l'amine primaire avec le dicarbonate de di-tert-butyle ( $\text{Boc}_2\text{O}$ ) dans l'éthanol à  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  pour donner le composé 5 qui est ensuite purifié par chromatographie flash sur colonne de silice. Le composé 5 subit une réaction de bromation avec le N-bromosuccinide (NBS) en présence de triphényl phosphine pour donner le composé 6. Le produit final a été isolé par colonne chromatographique avec un rendement de 30 %.

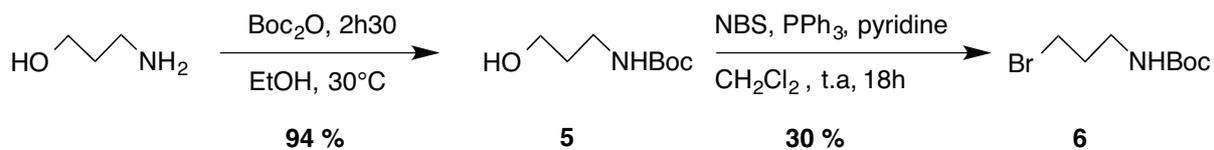


Figure III.38 : Synthèse du composé 6

La Figure III.39 illustre la fonctionnalisation du Rouge du Nil par une réaction de Williamson sur le composé 4. Une substitution nucléophile est réalisée sur le groupement phénol par le tert-butyl (bromopropyl) carbamate pour donner le composé 5, isolé par une extraction au dichlorométhane et purifié par chromatographie flash sur silice. Une déprotection du Boc avec l'acide trifluoroacetic donne le Rouge du Nil fonctionnalisé avec la chaîne aminopropyl (composé 8) qui est obtenu pur après une colonne chromatographique sur silice.

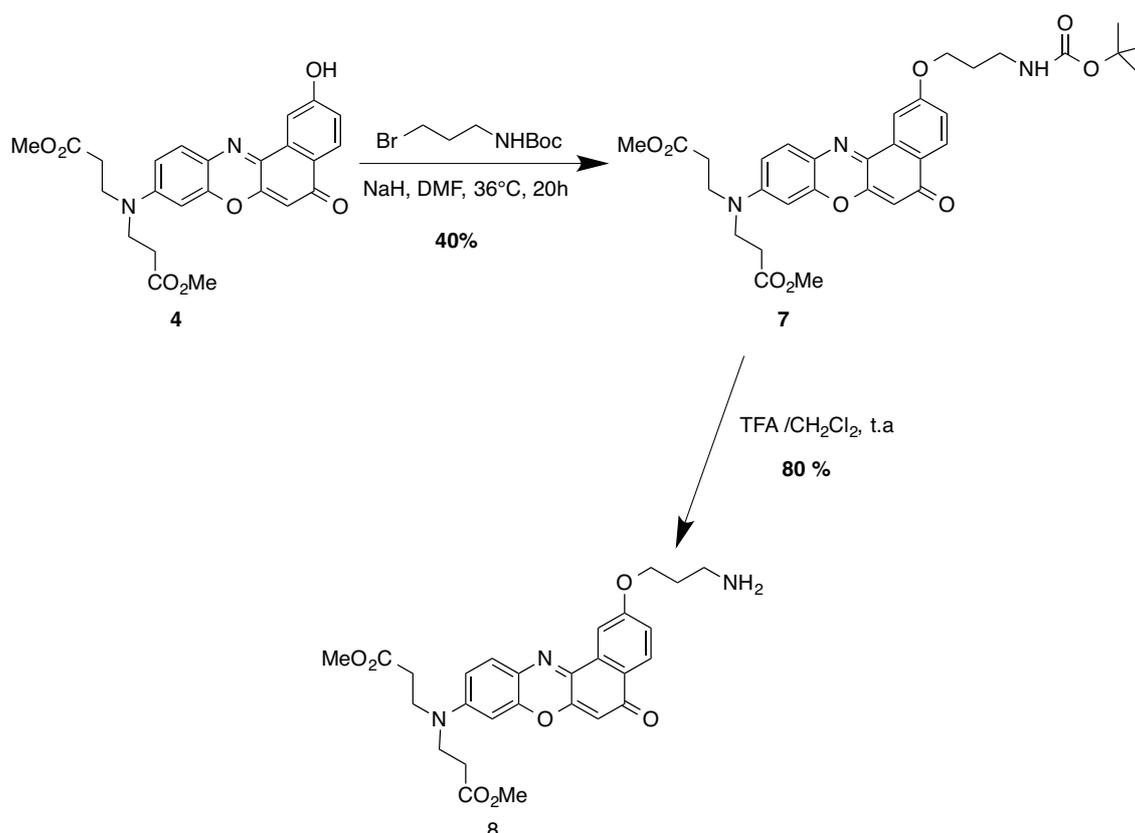
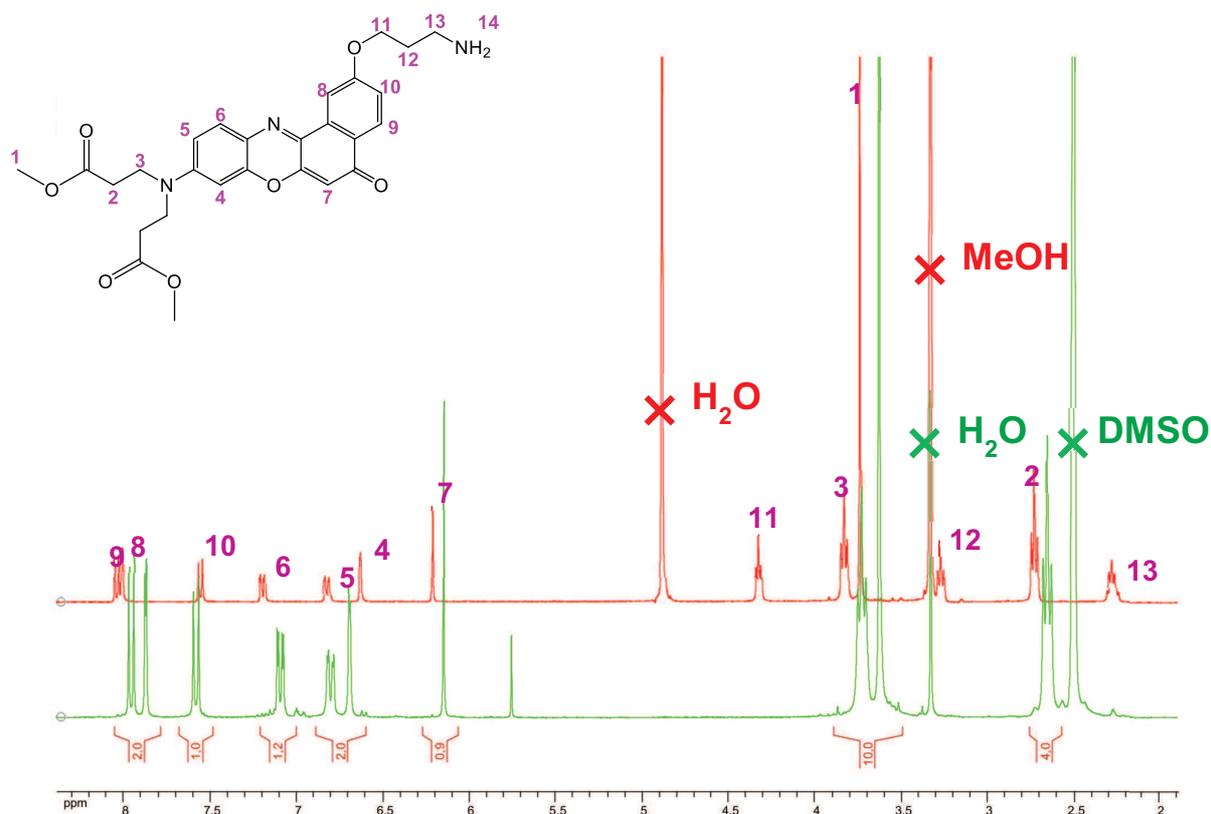


Figure III.39 : Schéma réactionnel de la fonctionnalisation du rouge du Nil

La Figure III.40 montre les spectres RMN  $^1\text{H}$  des composés 4 (vert) et 6 (rouge). L'apparition des signaux caractéristiques de la chaîne aminopropyl est clairement observée

avec des déplacements chimiques de 4,30 ppm pour le proton 11, 3,25 ppm pour 13 et 2,26 pour 12.



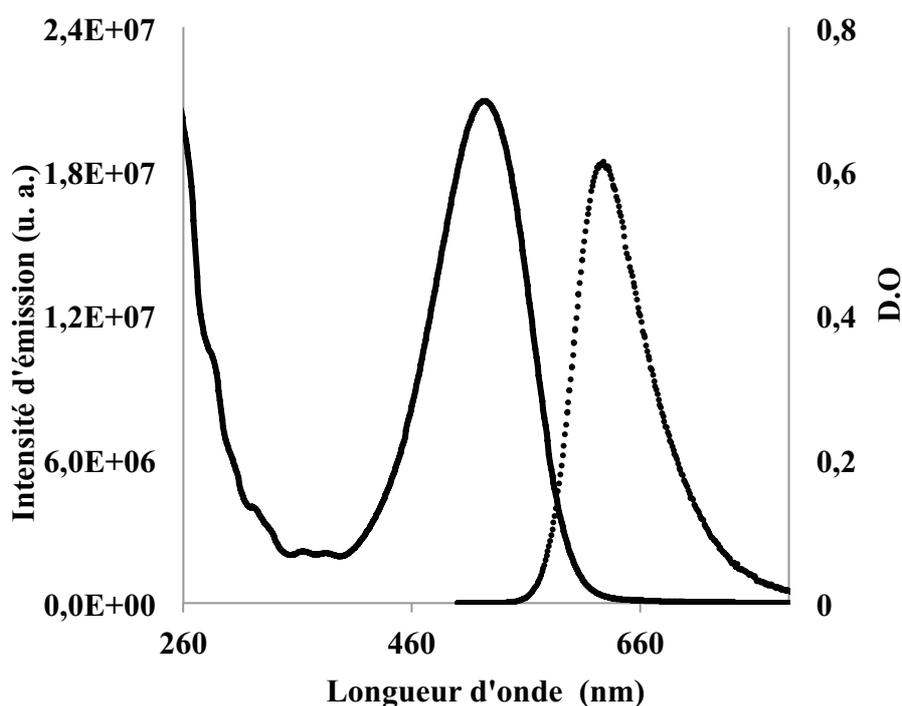
**Figure III.40** : Spectres RMN  $^1\text{H}$  du composé 4 (vert) et du composé 6 (rouge)

## 2. Caractérisations optiques

### 2.1. Etudes des propriétés optiques

Les spectres d'absorption et d'émission du composé 6 (appelé par la suite RN) sont présentés à la Figure III.41. Le spectre d'absorption présente un pic d'absorption à 525 nm. Il faut noter la présence d'une région à faible absorption du Rouge du Nil dans une fenêtre comprise entre 346 et 420 nm.

Sous excitation à 525 nm, nous observons le spectre d'émission qui présente un maximum à 642 nm. Le déplacement de Stokes (caractéristique de l'écart entre la longueur d'absorption et d'émission) est particulièrement important pour un fluorophore organique. Un déplacement de 117 nm est mesuré à comparer avec un écart d'environ 25 nm pour la Rhodamine 6G dans l'éthanol.



**Figure III.41 :** Spectre d'absorption (trait continu) et d'émission (trait discontinu) du Rouge du Nil dans le méthanol ( $\lambda_{\text{ex}} = 500 \text{ nm}$ )

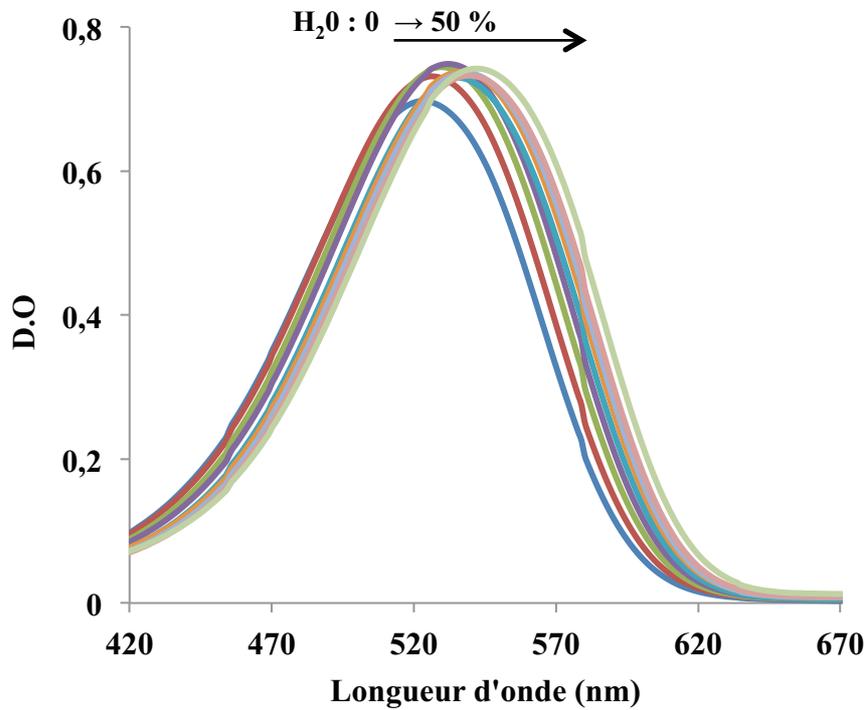
## 2.2. L'effet solvatochrome

L'effet solvatochrome est nettement observé sur les spectres d'absorption (Figure III.42) et d'émission (Figure III.43). La position des maxima d'absorption et d'émission se décale vers les basses énergies (Figure III.42 Figure III.43). Ce décalage est accompagné par une chute de l'intensité d'émission et le rendement quantique varie de 53 % dans le méthanol pur à 27 % dans un mélange eau/méthanol 50/50.

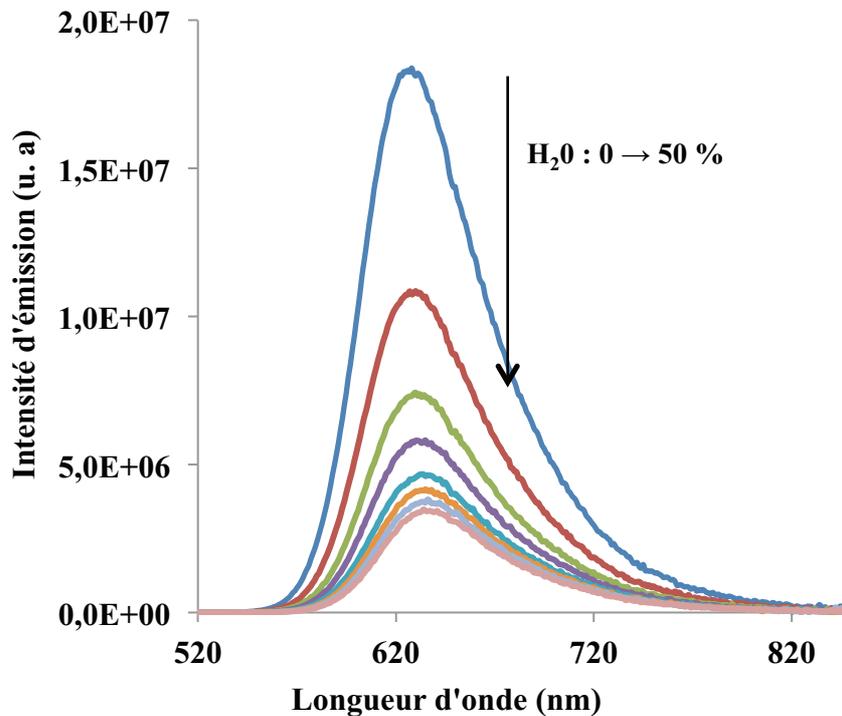
L'effet solvatochrome du Rouge du Nil a été largement documenté.<sup>9,10,11,12</sup> Dans le cas des solvants protiques comme le méthanol et l'eau, deux théories sont avancées. La première suggère la stabilisation de l'état excité par la formation de liaisons hydrogène.<sup>12</sup>

La deuxième, également valable dans les solvants aprotiques, est attribuée au phénomène de relaxation dipolaire. En effet, le Rouge du Nil est caractérisé par un moment dipolaire ( $\mu_G$ ) élevé dû à une séparation partielle des charges entre les groupements amine (donneurs d'électron) et le carbonyle (accepteur). A l'état excité la densité électronique migre du groupement amine vers le carbonyle et le moment dipolaire s'accroît ( $\mu_E$ ). Après excitation, les dipôles de solvant peuvent se réorienter ou se relaxer vers  $\mu_E$ , ce qui diminue l'énergie de l'état excité. Lorsque la polarité du solvant augmente, cet effet devient important,

occasionnant une émission de plus faible énergie et donc à plus grandes longueurs d'onde (Figure III.44).<sup>12</sup>



**Figure III.42 :** Evolution du spectre d'absorption dans un mélange MeOH/H<sub>2</sub>O avec des compositions variant de 0 % à 50 % en eau



**Figure III.43 :** Evolution du maximum d'émission dans un mélange MeOH/H<sub>2</sub>O avec des compositions variant de 0 % à 50 % en eau

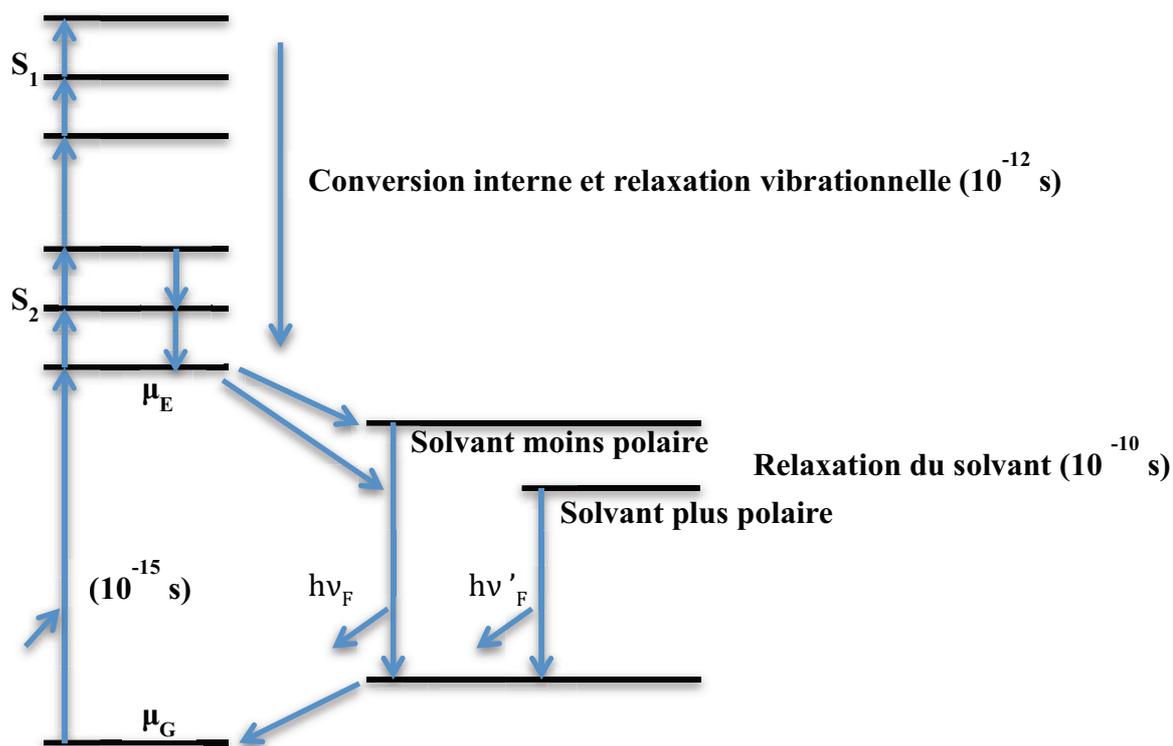


Figure III.44 : Diagramme de fluorescence de Jablonski tenant compte de la relaxation du solvant<sup>14</sup>

### 2.3. Procédure de couplage

Le couplage du composé 7 à la surface des nanoparticules QD<sub>540</sub> a été réalisé par un couplage peptidique classique à pH = 7,4, en activant les fonctions acide carboxylique du glutathion avec de la N-hydroxysuccinimide (NHS) en présence de N-(3-diméthylaminopropyl)-N-éthylcarbodiimide (EDC) (Figure III.45).<sup>15</sup>

Afin d'étudier l'influence du taux de couplage sur les propriétés des nanoparticules, une série de 6 échantillons a été préparée en ajoutant une quantité croissante du Rouge du Nile (5 eq, 9eq, 13eq, 18eq et 23 eq) à des aliquots de la solution de QD<sub>540</sub> activée (Figure III.46). Les nanoparticules fonctionnalisées sont ensuite précipitées par addition de méthanol, séparées par centrifugation et séchées sous vide.

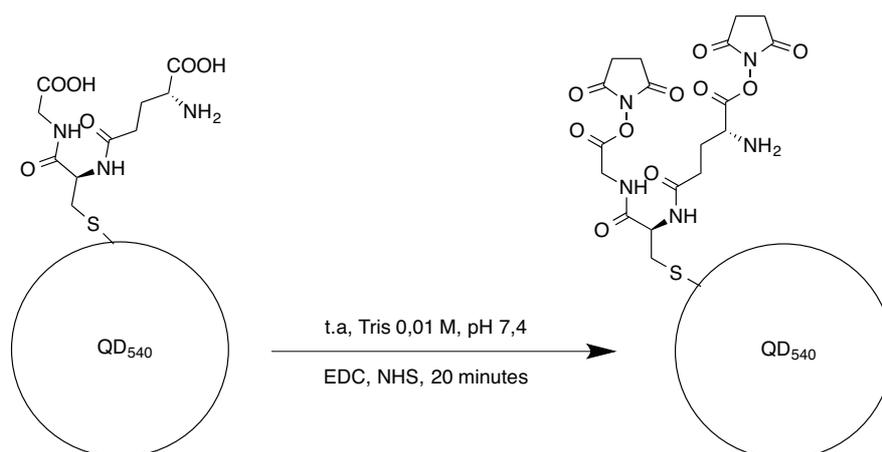


Figure III.45 : Procédure d'activation des carboxylates du glutathion avec EDC et NHS

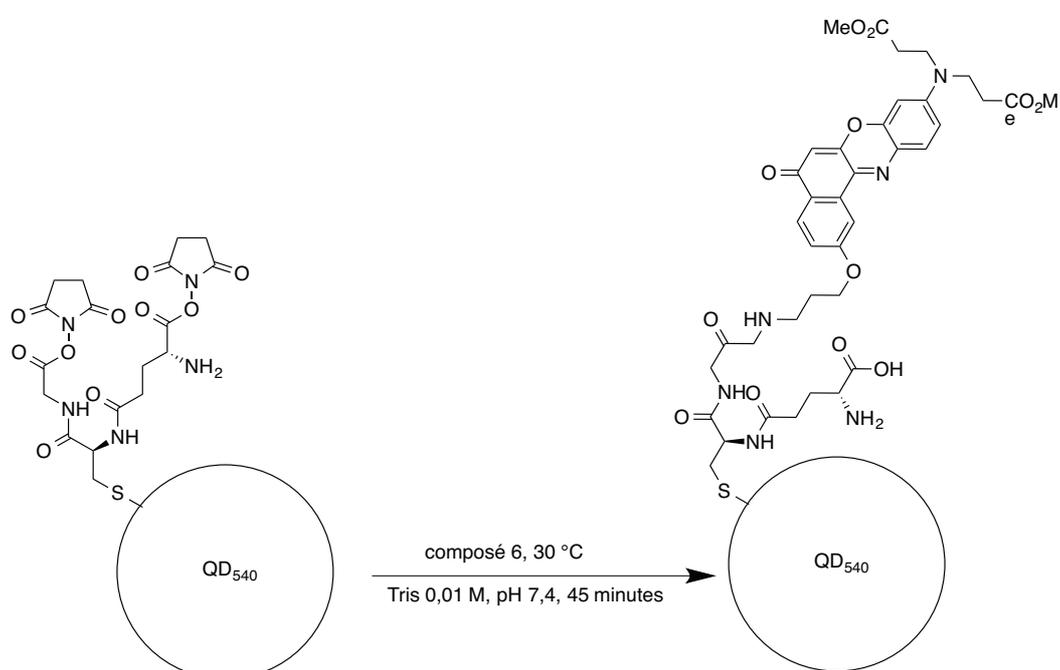
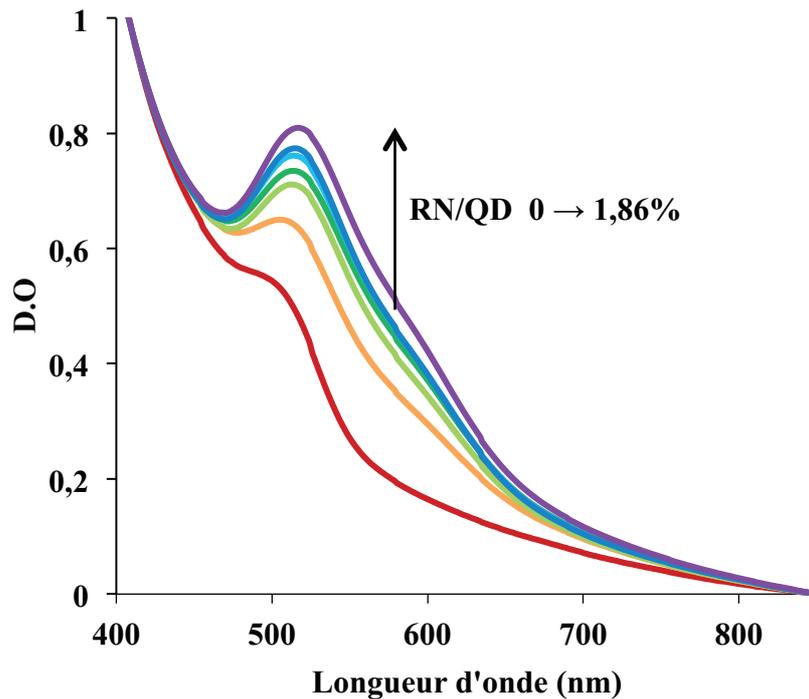


Figure III.46 : Procédure du couplage des **QD<sub>540</sub>** activées avec le Rouge du Nil

#### 2.4. Calcul du taux de couplage

Le taux de couplage a été calculé à partir des mesures des spectres d'absorption UV-visible des 6 échantillons. La Figure III.47 montre les spectres d'absorption enregistrés en fonction de la quantité de Rouge du Nil ajoutée.



**Figure III.47** : Spectre d'absorption des  $QD_{540}$  non conjugués (—), et des QDs conjugués en fonction de l'augmentation du ratio molaire RN/QD ( $QD-RN1$ , —,  $QD-RN2$ , —,  $QD-RN3$ , —,  $QD-RN4$ , —,  $QD-RN5$ , —,  $QD-RN6$ , —), normalisés à 408 nm où l'absorption du Rouge de Nil est négligeable, Tris/HCl 0,01 M, pH 7,4

Le spectre d'absorption des nanoparticules conjuguées au Rouge du Nil ( $A(\lambda)$ ) a été considéré comme la combinaison linéaire du spectre d'absorption du Rouge du Nil ( $A_{RN}(\lambda)$ ) et celui des  $QD_{540}$  activés ( $A_{QD}(\lambda)$ ) selon l'Équation III.18 (Figure III.48).

$$A(\lambda) = a \times A_{RN}(\lambda) + b \times A_{QD}(\lambda)$$

**Équation III.18**

Les concentrations des  $QD_{540}$  activées et du Rouge du Nil ont été obtenues à partir des populations a et b en tenant en compte des coefficients d'extinctions molaire respectifs ( $16600 \text{ L. mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  à 535 nm pour le Rouge du Nil et  $70130 \text{ L. mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  à 400 nm) pour  $QD_{540}$ . Le taux de couplage des différents échantillons est résumé dans le Tableau III.9. Le maximum de couplage est de 1,86 RN/QD et est obtenu pour l'addition de 37 équivalents de Rouge de Nil par  $QD_{540}$ . Au delà de 37 équivalents, la formation d'agrégats est observée et les nanoparticules deviennent insolubles en phase aqueuse.

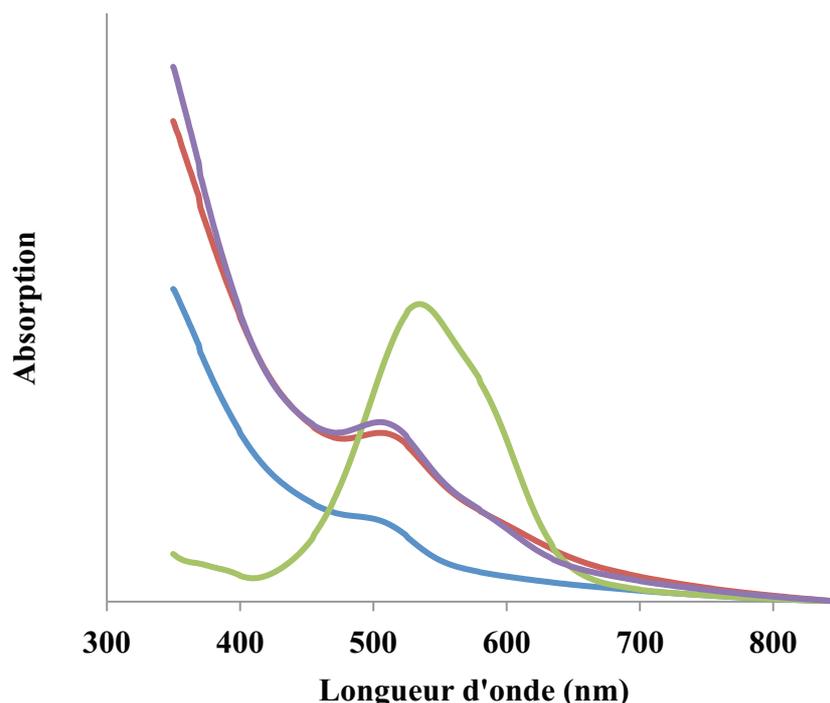


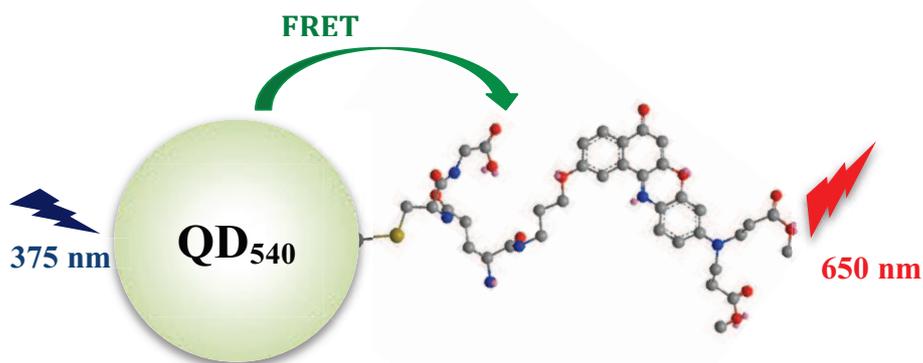
Figure III.48 : Spectre d'absorption du Rouge du Nil (vert), de **QD<sub>540</sub>** activée (bleu) et de QD-RN1 (rouge) ainsi que la combinaison linéaire (violet)

échantillons	Eq.	<i>b</i>	<i>a</i>	<i>[QD]</i>	<i>[RN]</i>	<i>[RN]/[QD]</i>
QD-RN1	5	1.68	0.18	9.60E-06	7.67E-06	0.80
QD-RN2	9	3.11	0.55	1.77E-05	2.34E-05	1.32
QD-RN3	13	2.5	0.49	1.42E-05	2.08E-05	1.46
QD-RN4	18	2.2	0.45	1.25E-05	1.91E-05	1.53
QD-RN5	23	2.16	0.46	1.23E-05	1.96E-05	1.59
QD-RN6	37	2.09	0.52	1.19E-05	2.21E-05	1.86

Tableau III.9 : Résumé des calculs des concentrations de **QD<sub>540</sub>** *[QD]*, le Rouge du Nil *[RN]* et le taux de couplage *[RN]/[QD]*.

### 3. Etude du transfert d'énergie entre **QD<sub>540</sub>** et le Rouge du Nil

Nous avons utilisé le produit du couplage pour étudier le transfert d'énergie de type Förster (FRET) entre les nanoparticules (donneur) et le Rouge du Nil accepteur (Figure III.49). Comme nous avons vu précédemment, le Rouge du Nil présente une faible absorption à 375 nm. Au contraire, les nanoparticules possèdent une forte absorption à cette longueur d'onde. Dans notre étude, le Système **QD-RN** est donc excité à 375 nm pour éviter l'excitation directe du Rouge du Nil.

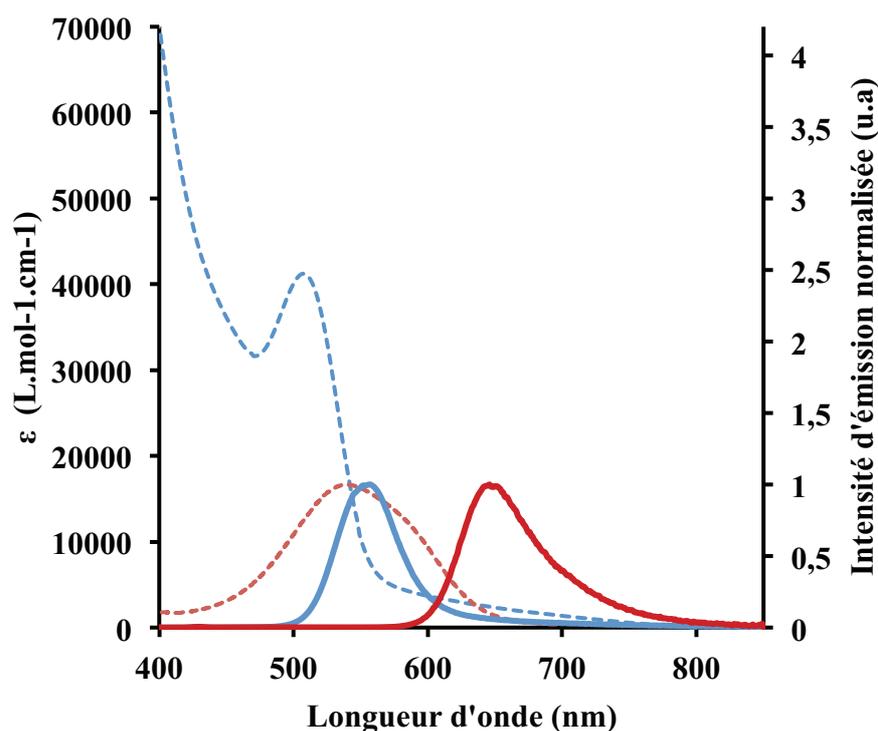


**Figure III.49** : Schéma du transfert d'énergie de type Förster (FRET) entre les nanoparticules (QD<sub>540</sub>) et le Rouge du Nil ( $\lambda_{exc} = 375 \text{ nm}$ )

### 3.1. Choix de QD<sub>540</sub> comme donneur

Le choix des QD<sub>540</sub> pour le couplage avec le Rouge du Nil et l'étude du transfert d'énergie est basé sur deux facteurs très importants :

1. *Le recouvrement spectral* : Un bon recouvrement spectral entre les QD<sub>540</sub> activées et le Rouge du Nil est observé (Figure III.50). L'intégrale du recouvrement de  $9,41 \times 10^{14} \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1} \text{ nm}^4$  est calculée à partir de l'équation I.3.
2. *La distance donneur-accepteur* : les caractérisations structurales montrent que les QD<sub>540</sub> possèdent une faible couche de CdS par rapport aux autres échantillons. La distance donneur-accepteur est donc plus courte et le transfert d'énergie sera plus efficace.



**Figure III.50** : Spectres d'absorption (traits discontinus) et d'émission (normalisée au maximum, traits continus) de **QD<sub>540</sub>** en présence de NHS/EDCI (bleu,  $\lambda_{ex} = 375$  nm) et le Rouge du Nil (rouge,  $\lambda_{ex} = 556$  nm)

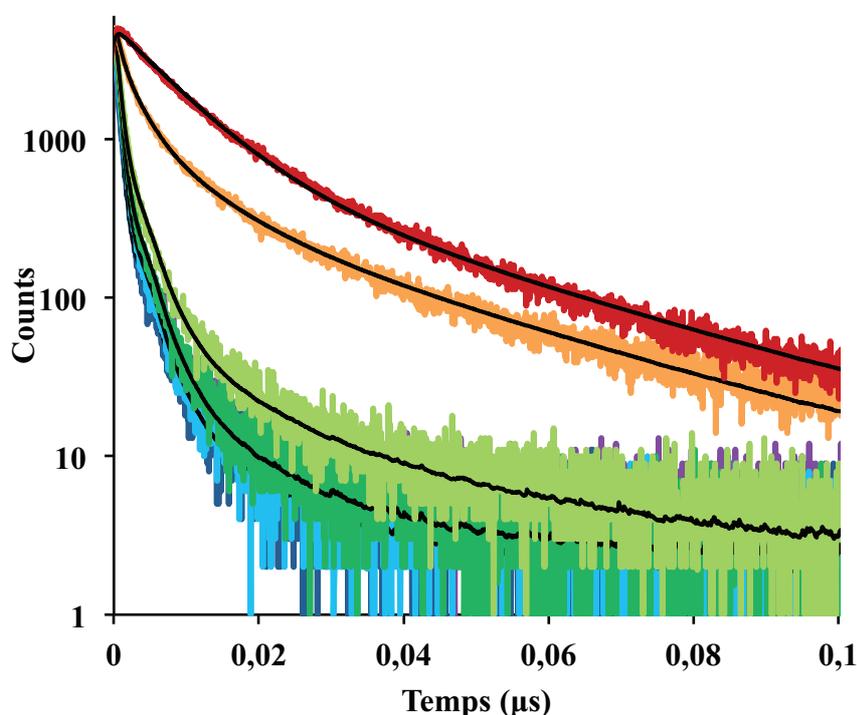
A partir de l'équation I.4, un rayon de Förster  $R_0$  de 41 Å a été déterminé. Cette valeur est très similaire aux données de la littérature. A titre de comparaison, un rayon de 51 Å a été mesuré lorsque le Rouge du Nil commercial est utilisé comme accepteur et des nanoparticules de CdSe avec un diamètre de 2,4 nm, comme donneur dans le chloroforme.<sup>16</sup> Un rayon compris entre 42 et 55 Å est trouvé pour des nanoparticules de CdSe/ZnS couplées à des peptides.<sup>17</sup> Il faut noter que dans notre cas, le rayon de Förster trouvé est trois fois supérieur au rayon du cœur, ce qui laisse prédire un bon transfert d'énergie entre les nanoparticules et le Rouge du Nil.

#### 4. Mise en évidence du transfert d'énergie par spectrométrie de fluorescence en temps résolu

Le transfert d'énergie des quantum dots **QD<sub>540</sub>** vers le Rouge du Nil a été mis évidence par spectrofluorimétrie résolue en temps. Les profils de décroissance temporelle des 6 échantillons ont été mesurés par la technique de comptage de photonique corrélée en temps (Time Correlated Single Photon Counting, TCPSC), en utilisant une spectrale émettant à 370 nm comme source d'excitation.

Comme mentionné précédemment, l'absorption du Rouge du Nil étant négligeable à cette longueur d'onde, nous pouvons considérer qu'il n'y a pas d'excitation directe.

L'émission du cœur de CdTe<sub>x</sub>S<sub>y</sub> a été enregistrée à 550 nm. Celle du Rouge du Nil (à 648 nm) donne un signal de faible intensité et ne permet pas de bonnes mesures de temps de vie. La Figure III.51 illustre les courbes de temps de vie enregistrés à 550 nm pour les 6 échantillons. Les profils de décroissance temporelle sont traités en mode tetra-exponentiel. Les 4 temps de vie et les populations correspondantes ( $\alpha_i$ ,  $i = 1-4$ ) sont résumés dans le **Tableau III.10**. Par ailleurs, une diminution de temps vie du donneur en fonction de l'augmentation du ratio RN/QD est constatée. Le temps de vie moyen des nanoparticules passe de 18 ns à 1,1 ns pour QD-RN6. Cette diminution est en accord avec le transfert d'énergie des nanoparticules vers le Rouge du Nil. Il faut noter que l'activation des carboxylates des glutathions de la surface influe fortement sur le temps de vie moyen de CdTe<sub>x</sub>S<sub>y</sub> qui passe de 50 ns pour QD<sub>540</sub> à 18 ns pour les QD<sub>540</sub> activées en ester-NHS. Cette diminution ne se traduit pas au niveau du rendement quantique qui ne varie presque pas (24 %). Nous n'avons pour l'instant pas d'interprétation à ce phénomène.



**Figure III.51** : Profil des temps de vie QDs non conjugués (—), et des QD<sub>540</sub> au Rouge du Nil (QD-RN1, —, QD-RN2, —, QD-RN3, —, QD-RN4, —, QD-RN5, —, QD-RN6, —), Tris/HCl (0,01 M), pH 7.4,  $\lambda_{ex}$  =370 nm,  $\lambda_{em}$  =540 nm

Echantillons	$\tau_1$ (ns)	$\tau_2$ (ns)	$\tau_3$ (ns)	$\tau_4$ (ns)	$\alpha_1$ (%)	$\alpha_2$ (%)	$\alpha_3$ (%)	$\alpha_4$ (%)	$\langle\tau\rangle$ (ns)
<b>QD<sub>540</sub></b>	5,39	15,18	49,32	0	29,72	53,35	16,93	0	18,05
<b>QD-RN1</b>	3,78	13,47	47,33	0,78	26,39	33,16	23,66	16,79	16,79
<b>QD-RN2</b>	1,18	06,17	29,64	0,47	28,16	11,89	05,18	54,17	2,86
<b>QD-RN3</b>	1,52	04,60	20,83	0,41	21,04	10,23	02,68	66,05	1,62
<b>QD-RN4</b>	1,19	04,62	25,38	0,33	21,55	08,84	01,66	67,95	1,31
<b>QD-RN5</b>	0,36	01,76	9,12	0	76,15	18,04	05,81	0	1,12
<b>QD-RN6</b>	0,40	02,01	10,07	0	77,00	18,99	04,10	0	1,10

**Tableau III.10** : Paramètre des temps de vie pour **QD<sub>540</sub>** en fonction de l'augmentation du ratio molaire RN/QD dans 0.01 M TRIS-HCl, pH 7.4,  $\lambda_{ex}$  = 370 nm et  $\lambda_{em}$  = 540 nm.

L'efficacité du FRET devrait pouvoir être déterminée à partir de ces données (Équation I.7). Cependant, le traitement des données en mode multi-exponentiel rend les calculs très compliqués.

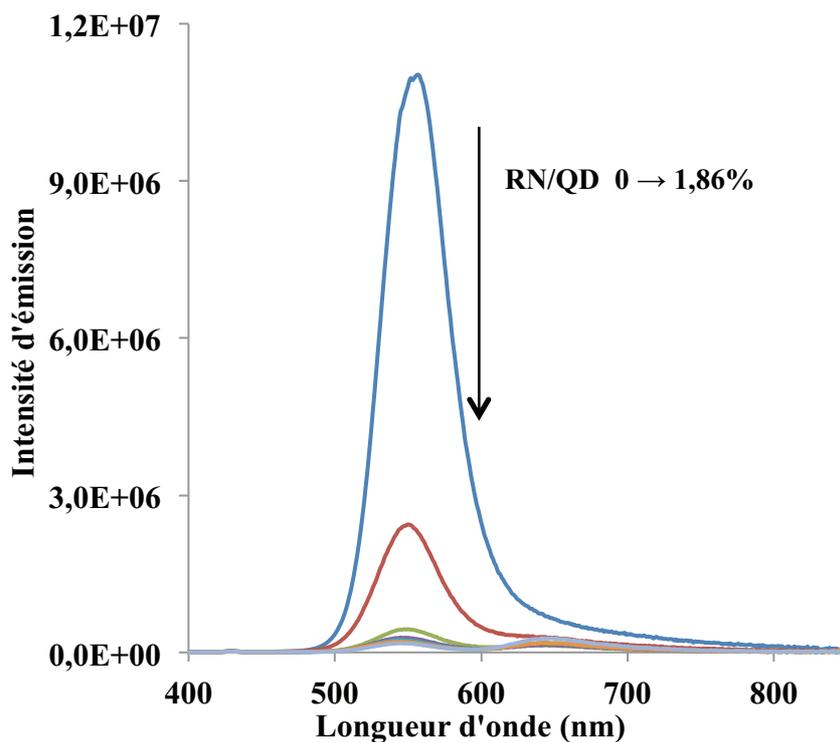
### 5. Etude quantitative du FRET à l'état stationnaire

Une étude quantitative du transfert d'énergie a pu être réalisée à l'état stationnaire. Les propriétés d'émission du Rouge du Nil couplé au **QD<sub>540</sub>** sont présentées à la Figure III.52. L'excitation des nanoparticules à 375 nm ( $\epsilon = 103\,500\text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  à 375 nm) donne lieu à un spectre d'émission centré à 550 nm. Comme prévu, l'augmentation du ratio de RN/QD provoque une diminution de l'émission des **QD<sub>540</sub>** à 550 nm (Figure III.52). Cette diminution systématique est due au transfert d'énergie des **QD<sub>550</sub>** (donneur) vers le Rouge du Nil (accepteur) attaché à la surface. Ce transfert d'énergie se manifeste également par l'augmentation de la luminescence du Rouge du Nil, observée à 648 nm (Figure III.53)

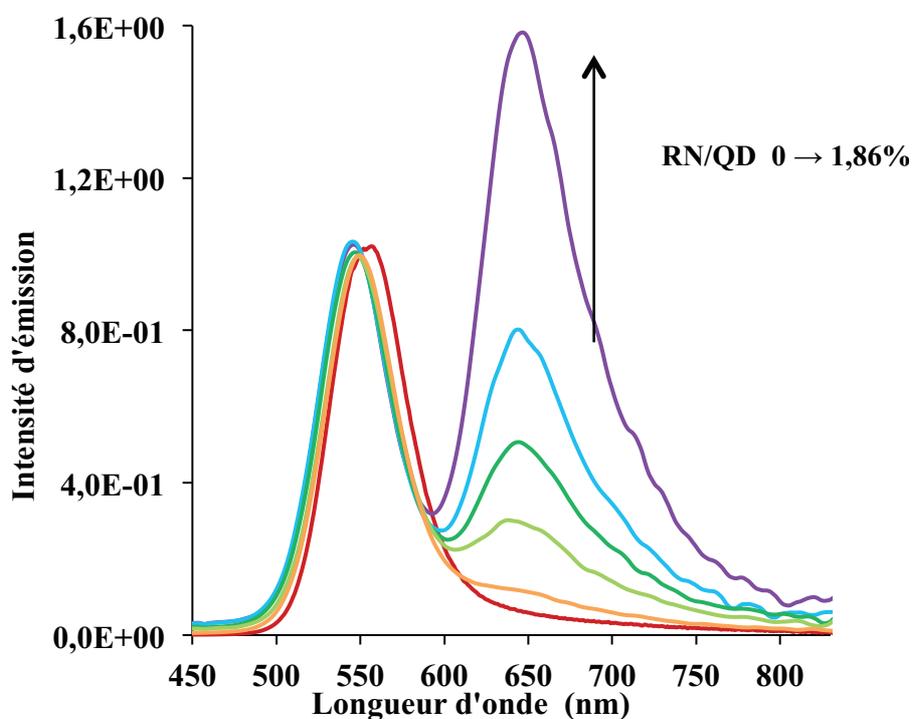
Ces variations spectrales ont permis de calculer l'efficacité du transfert pour les 6 échantillons, en utilisant l'équation I.7. Une correction a été apportée pour l'échantillons **QD-RN1** pour le quel le taux de couplage est inférieur à 1. Dans ce cas, la contribution des **QD<sub>540</sub>** non couplés (20 %) a été soustraite du spectre d'émission (Équation III.19).

$$I_{DA}(\text{QD} - \text{RN1}) = \frac{I_{\text{QD-RN1}} - 0,2 \times I_D}{0,8}$$

**Équation III.19**



**Figure III.52 :** spectre d'émission des QDs non conjugués (—), et des QDs conjugués en fonction des différents taux de couplage (QD-RN1, —, QD-RN2, —, QD-RN3, —, QD-RN4, —, QD-RN5, —, QD-RN6, —), Tris/HCl, pH 7.4 (0,01 M),  $\lambda_{\text{ex}} = 375 \text{ nm}$



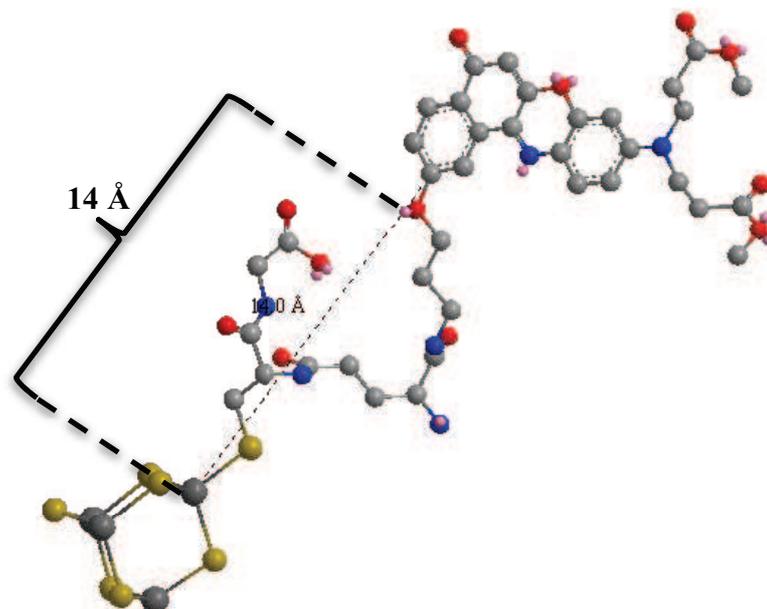
**Figure III.53 :** Spectres d'émission normalisés au maximum d'émission des QDs non conjugués (—), et des QD<sub>540</sub> au Rouge du Nil (QD-RN1, —, QD-RN2, —, QD-RN3, —, QD-RN4, —, QD-RN5, —, QD-RN6, —), Tris/HCl (0,01 M), pH 7.4,  $\lambda_{\text{ex}} = 375 \text{ nm}$

L'efficacité moyenne du transfert d'énergie observée est de 98% (Tableau III.11). Elle n'est pas limitée par le recouvrement spectral entre le spectre d'absorption du Rouge du Nil et le spectre d'émission des nanoparticules luminescentes mais par d'autres paramètres tels que le rendement quantique des quantum dots et la distance entre le donneur et l'accepteur. Cette distance a été calculée à partir de l'équation I.6 et les valeurs obtenues sont résumées dans le Tableau III.11.

La distance moyenne entre le donneur et l'accepteur (Tableau III.11) calculée est de 24 Å, ce qui est en très bon accord avec la distance théorique calculée à partir de notre modèle structural. En effet, la somme du rayon des nanoparticules (13 Å) et la distance estimée à 14 Å entre l'atome du soufre du glutathion et le Rouge du Nil (Figure III.54) est en bonne corrélation avec la distance donneur-accepteur calculée par la théorie du FRET. Cette distance est quatre fois inférieure à la distance estimée pour des interactions non covalentes entre des nanoparticules de CdSe et le Rouge du Nil.<sup>1</sup> Dans notre cas, l'efficacité du transfert d'énergie obtenue est quantitative (98 %) et est favorisée par la courte distance entre le donneur et l'accepteur. À titre de comparaison, une efficacité de transfert limitée à 51 % a été déterminée lors d'interaction non-covalente entre les quantum dots de CdSe et le Rouge du Nil.<sup>1</sup>

Echantillon	RN/QD <sub>540</sub>	E <sub>FRET</sub> (%)	r (Å)
QD-RN1	0,80	98,4	21
QD-RN2	1,32	95,8	27
QD-RN3	1,46	97,4	25
QD-RN4	1,53	97,9	25
QD-RN5	1,59	98,1	24
QD-RN5	1,86	98,4	24

**Tableau III.11** : Résumé de l'efficacité du transfert d'énergie ( $E_{\text{FRET}}$ ) et de la distance donneur-accepteur entre les QD<sub>540</sub> et le Rouge du Nil ( $r$ ) en fonction du taux de couplage [RN/QD<sub>540</sub>]

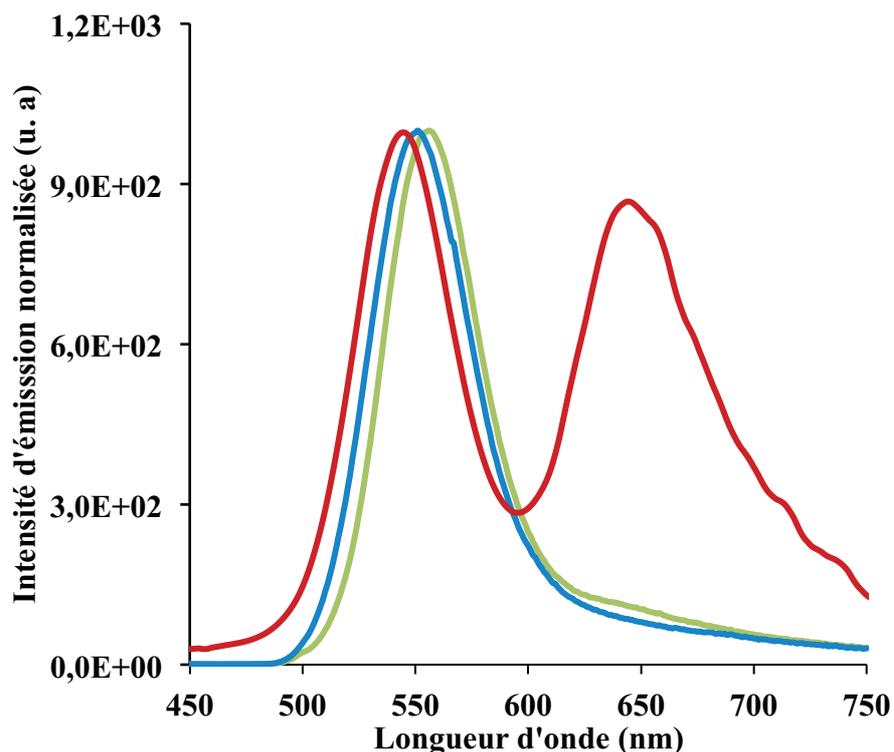


**Figure III.54** : Modèle théorique de la distance entre l'atome du soufre du glutathion et le Rouge du Nil (MM2)

Bien que la distance donneur-accepteur indique que les nanoparticules et le Rouge du Nil sont couplés d'une manière covalente, une série de manipulations a été effectuée afin de confirmer que le transfert d'énergie entre les **QD<sub>540</sub>** et le Rouge du Nil est un transfert via une liaison covalente et non pas un transfert dynamique dû à des interactions de Van der Waals.

Dans un premier temps, les nanoparticules (**QD<sub>540</sub>**) sont mélangées avec 23 équivalents de Rouge du Nil en absence d'agents de couplage et le mélange est laissé réagir pendant 45 minutes. Les nanoparticules sont en suite précipitées au méthanol, lavées (20 cycles) et isolées par centrifugation.

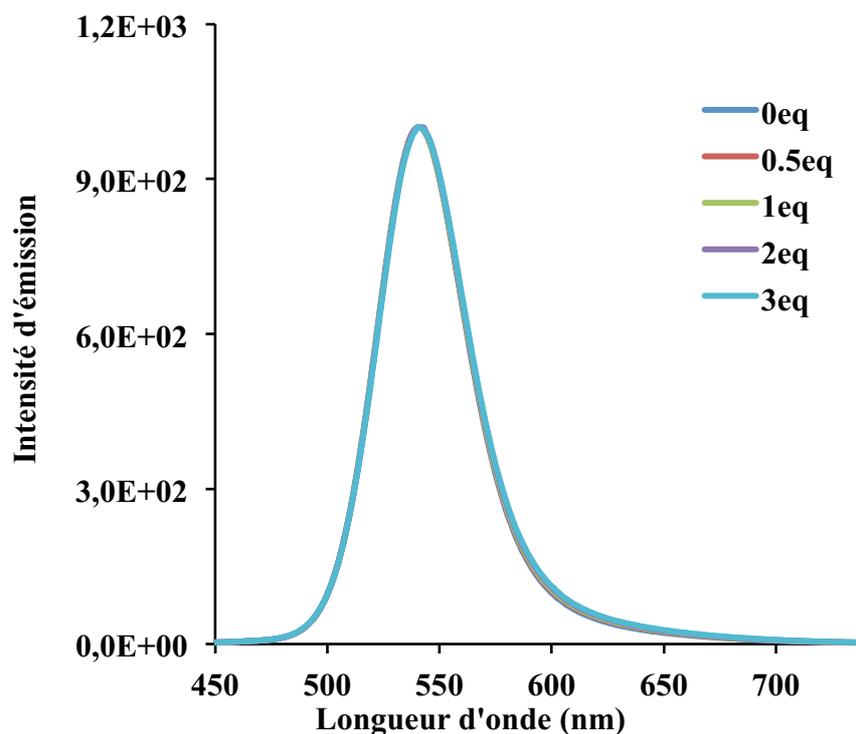
Des études spectroscopiques sont réalisées sur les nanoparticules en excitant à 375 nm afin d'exciter sélectivement les **QD<sub>540</sub>**. La **Figure III.55** montre les spectres d'émission des nanoparticules normalisés au maximum d'émission à 550 nm. Un signal de luminescence négligeable est observé des quantum dots vers le Rouge du Nil. Ce résultat confirme que le transfert d'énergie observé pour les nanoparticules fonctionnalisées est très majoritairement dû au Rouge du Nil couplé de manière covalente à la surface.



**Figure III.55** : Spectres d'émission normalisés de  $QD_{540}$  en l'absence du Rouge du Nil (bleu), en présence de 23 eq de Rouge du Nil non conjugué (vert) et conjugués au Rouge du Nil (rouge), Tris/HCl (0,01 M), pH 7.4,  $\lambda_{ex} = 375$  nm

Dans un deuxième temps, une solution de  $QD_{540}$  est préparée à la même concentration que celle utilisée lors de l'étude de FRET. 0,5 ; 1 ; 2 et 3 eq de Rouge du Nil sont rajoutés en absence de EDC et NHS. Après 45 minutes de réaction, les spectres d'émission des différents échantillons sont mesurés (**Figure III.56**).

Aucun transfert d'énergie n'est observé à cause de la longue distance entre le donneur et l'accepteur. En effet, la concentration utilisée est trop faible pour observer un transfert dynamique important.



**Figure III.56** : Spectres d'émission normalisés de **QD<sub>540</sub>** avant et après ajout de 0, 0.5, 1,2 et 3 équivalents de Rouge du Nil, Tris/HCl (0,01 M), pH 7.4,  $\lambda_{ex}$  =375 nm

## 6. Conclusion

Dans ce chapitre le Rouge du Nil a été couplé de manière covalente à la surface de nanoparticules de CdTe<sub>x</sub>S<sub>y</sub> émettant à 540 nm, via un couplage peptidique entre les fonctions carboxylates du glutathion à la surface et l'amine du Rouge du Nil fonctionnalisé. Ces quantum dots fonctionnalisés ont été utilisés comme donneur dans l'étude du transfert d'énergie de type Förster vers rouge du Nil, utilisé comme accepteur. Nous avons démontré qu'il y'a un bon recouvrement spectral entre le spectre d'émission des **QD<sub>540</sub>** fonctionnalisés et le spectre d'absorption du Rouge du Nil et un bon transfert d'énergie. L'efficacité du transfert de est de 98% et la distance calculée entre le donneur et l'accepteur est de 24 Å. Cette distance correspond bien à la valeur théorique calculée à partir d'un modèle moléculaire et du modèle structural des nanoparticules présenté au chapitre I.

### 7. Bibliographie

1. Sadhu, S., Haldar, K. K. & Patra, A. Size Dependent Resonance Energy Transfer between Semiconductor Quantum Dots and Dye Using FRET and Kinetic Model. *J. Phys. Chem. C* **114**, 3891–3897 (2010).
2. Delehanty, J. B., Susumu, K., Manthe, R. L., Algar, W. R. & Medintz, I. L. Active cellular sensing with quantum dots: transitioning from research tool to reality; a review. *Anal. Chim. Acta* **750**, 63–81 (2012).
3. Mazumdar, M., Parrack, P. K. & Bhattacharyya, B. Interaction of Prodan with tubulin. A fluorescence spectroscopic study. *Eur. J. Biochem. FEBS* **204**, 127–132 (1992).
4. Fowler, S. D. & Greenspan, P. Application of Nile red, a fluorescent hydrophobic probe, for the detection of neutral lipid deposits in tissue sections: comparison with oil red O. *J. Histochem. Cytochem.* **33**, 833–836 (1985).
5. Greenspan, P. & Fowler, S. D. Spectrofluorometric studies of the lipid probe, Nile red. *J. Lipid Res.* **26**, 781–789 (1985).
6. Dutt, G. B., Doraiswamy, S. & Periasamy, N. Molecular reorientation dynamics of polar dye probes in tertiary-butyl alcohol-water mixtures. *J. Chem. Phys.* **94**, 5360–5368 (1991).
7. Sackett, D. L. & Wolff, J. Nile red as a polarity-sensitive fluorescent probe of hydrophobic protein surfaces. *Anal. Biochem.* **167**, 228–234 (1987).
8. Jose, J. & Burgess, K. Syntheses and Properties of Water-Soluble Nile Red Derivatives. *J. Org. Chem.* **71**, 7835–7839 (2006).
9. Hess, C. M., Riley, E. A. & Reid, P. J. Dielectric Dependence of Single-Molecule Photoluminescence Intermittency: Nile Red in Poly(vinylidene fluoride). *J. Phys. Chem. B* **118**, 8905–8913 (2014).
10. Prifti, E. Reymon, L. Umabayashi, M. Hovius, R., Riezman, H & Johnsson, K. A Fluorogenic Probe for SNAP-Tagged Plasma Membrane Proteins Based on the Solvatochromic Molecule Nile Red. *ACS Chem. Biol.* **9**, 606–612 (2014).
11. Tigreros, A., Ortiz, A. & Insuasty, B. Effect of pi-conjugated linkage on photophysical properties: Acetylene linker as the better connection group for highly solvatochromic probes. *Dyes Pigments* **111**, 45–51 (2014).
12. Golini, C. M., Williams, B. W. & Foresman, J. B. Further Solvatochromic, Thermochemical, and Theoretical Studies on Nile Red. *J. Fluoresc.* **8**, 395–404 (1998).
13. Lakowicz, J. R. in *Principles of Fluorescence Spectroscopy* 515–530 (Springer US, 1999).
14. Shan, Y. Wang, L. Shi, Y. Li, H. Liu, H. Yang, B. Li, T. Fang X & Li, W. NHS-mediated QDs-peptide/protein conjugation and its application for cell labeling. *Talanta* **75**, 1008–1014 (2008).

- 15.** Artemyev, M., Ustinovich, E. & Nabiev, I. Efficiency of Energy Transfer from Organic Dye Molecules to CdSe–ZnS Nanocrystals: Nanorods versus Nanodots. *J. Am. Chem. Soc.* **131**, 8061–8065 (2009).
- 16.** Medintz, I. L. Clapp, A. R. Brunel, F. M. Tiefenbrunn, T. Uyeda, H. T. Chang, E. L. Deschamps, J. R. Dawson, P. E. Mattoussi, H. Proteolytic activity monitored by fluorescence resonance energy transfer through quantum-dot–peptide conjugates. *Nat. Mater.* **5**, 581–589 (2006).



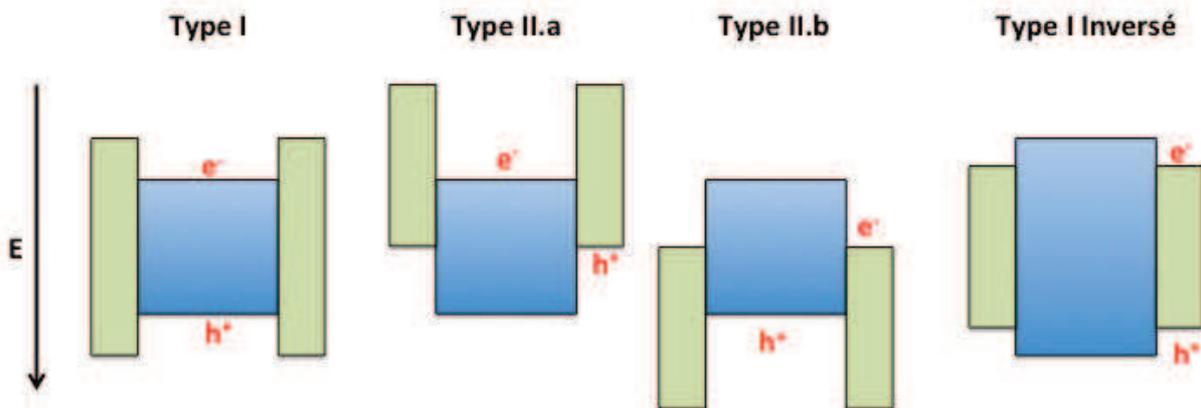
## Chapitre IV. Amélioration des propriétés optiques de CdTe<sub>x</sub>S<sub>y</sub>



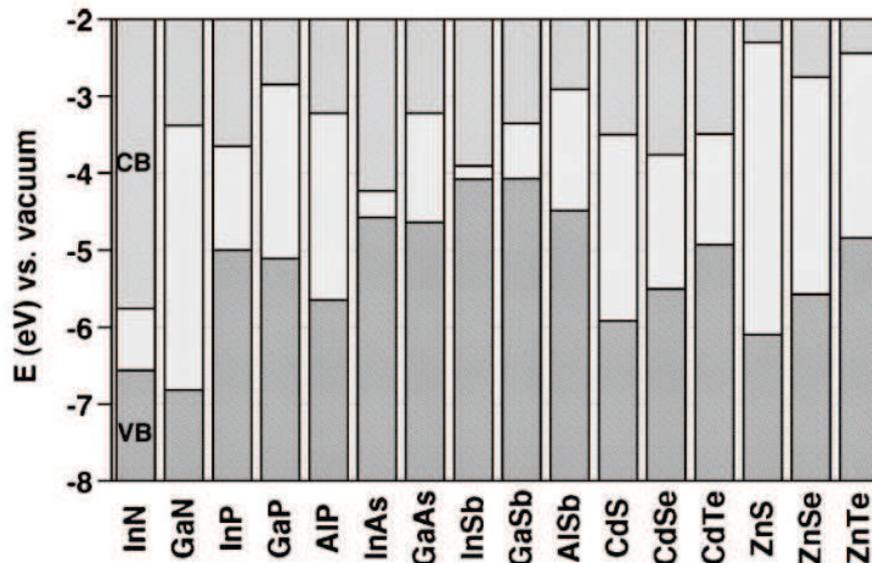
## 1. Système cœur/coquille

L'état de la surface des quantum dots joue un rôle très important à la fois sur leurs propriétés optiques et leurs stabilités chimiques. Au cours des dernières années, des efforts ont été investis dans la passivation de surface des cœurs de CdSe et CdTe afin d'améliorer leurs photostabilité ainsi que leurs rendements de luminescence.<sup>1</sup> Les défauts à la surface des quantum dots du groupe II-VI sont des sites vacants cationiques ou anioniques. Ces défauts sont à l'origine des rendements quantiques de fluorescence généralement limités, de l'ordre de quelques pour cent à température ambiante. En effet, si les atomes de surface ne sont pas passivés, cela crée des pièges pour l'électron ou les trous, qui favorise les processus de désactivation non-radiatifs. Pour corriger ces défauts, une stratégie consiste à recouvrir les nanoparticules d'une coquille avec un autre semi-conducteur.

Le choix du matériau pour la coquille dépend des propriétés désirées. Il existe plusieurs types de systèmes cœur/coquille, caractérisés par la position relative de la bande de valence et la bande de conduction du cœur et de la coquille (Figure IV.57).<sup>1</sup> Tous ces systèmes de cœur/coquille peuvent être obtenus, en utilisant une grande variété de combinaison des matériaux en fonction de la position de la bande désirée (Figure IV.58).



**Figure IV.57** : Position relative de la bande de valence et de la bande de conduction dans des différents systèmes cœur/coquille (cœur (bleu), coquille (vert)).



**Figure IV.58** : Niveau d'énergie électronique des semi-conducteur de type III-V et II-VI (BC : bande de conduction, BV : bande de valence) <sup>1</sup>

Le type I est le premier et le plus commun des système cœur/coquille. Dans ce type d'hétéro-structure la bande interdite de la coquille est plus large que la bande de conduction du cœur, confinant l'électron et le trou dans le cœur du nanocrystal (Figure IV.57). Le premier but de ce système est d'augmenter le rendement de luminescence par passivation de la surface du cœur, et d'isoler le cœur de son environnement pour réduire la dégradation chimique. Les premiers systèmes cœur/coquille de type I sont des nanoparticules de CdSe/ZnS. En effet, Le ZnS est le premier matériau qui a été utilisé pour améliorer les propriétés optiques des nanoparticules luminescentes en raison de sa bande interdite très large de 3,6 eV.<sup>2</sup> Il présente un alignement de type I avec de nombreux matériaux de cœur. De plus, il permet d'obtenir des matériaux avec une bonne photostabilité grâce à sa forte résistance vis-à-vis de l'oxydation. En 1996, l'équipe de Guyot-Sionnest a réalisé les premiers travaux sur la croissance d'une coquille de sulfure de zinc (bande interdite du matériaux massif : 3,6 eV), à la surface de nanoparticules de CdSe.<sup>2</sup> Par conséquent, des nanocristaux de CdSe/ZnS avec des rendements quantiques qui atteignent les 50 % ont été obtenus. De plus, ces nanocristaux présentent une forte résistance au photo-blanchiment sous excitation continue comparé aux nanocristaux de départ. Cependant dans des systèmes de type I un décalage de la luminescence de 10 nm vers le rouge est souvent observé, due à une fuite de l'exciton dans la matrice de la coquille, réduisant ainsi le confinement quantique.<sup>3</sup>

Dans les systèmes de type II.a, la bande de valence et de conduction du matériau du cœur sont toutes les deux plus basses en énergie (ou plus haute, on parle donc de type II.b) que

celles des matériaux de la coque (Figure IV.57) induisant cette fois une séparation spatiale entre l'électron et le trou, l'un des porteurs de charge est donc localisé dans le cœur tandis que l'autre est localisé dans la coque comme par exemple des nanocristaux de CdS/ZnSe<sup>4</sup>, CdTe/CdSe,<sup>5</sup> CdSe/ZnTe<sup>5</sup> et ZnSe/CdS.<sup>6</sup> Ce type de coquille provoque un décalage significatif des propriétés optiques vers le rouge ainsi que l'augmentation du temps de vie.<sup>5</sup> En effet, la longueur d'onde d'émission maximale observée est supérieure à celle correspondant au matériau du cœur et de la coquille.<sup>5</sup> Cette technique a permis d'obtenir des nanocristaux émettant dans le proche infrarouge.<sup>7,8,9</sup>

Le système de type I inversé présente une bande interdite du matériau du cœur plus large que celle du matériau de la coquille, et la bande de conduction du cœur a une énergie plus haute que celle de la coquille alors que la bande de valence de la coquille a une énergie moins élevée que celle du cœur (Figure IV.57). Les porteurs de charge restent donc partiellement délocalisés dans la coquille et le décalage du spectre de la fluorescence vers le rouge peut être contrôlé par le changement de l'épaisseur de la couche conduisant à des rendements quantiques généralement faibles. Les exemples les plus connus dans la littérature sont CdS/CdSe et ZnSe/CdSe.<sup>10</sup>

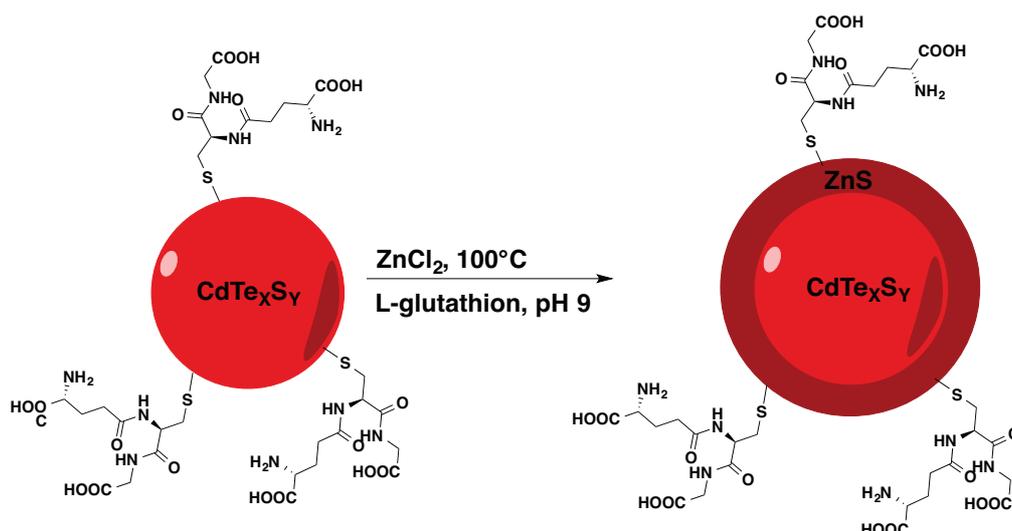
Dans notre travail, l'introduction d'une coquille à la surface des nanoparticules de CdTe<sub>x</sub>S<sub>y</sub> a pour but d'améliorer leurs propriétés optiques à savoir le rendement quantique. Le choix du matériau doit donc satisfaire les conditions pour un alignement de type 1.

À la lumière de ces caractéristiques, le ZnS a été choisi comme matériau pour former une coquille à la surface des nanoparticules.

### 2. Tentative d'introduction d'une couche de ZnS

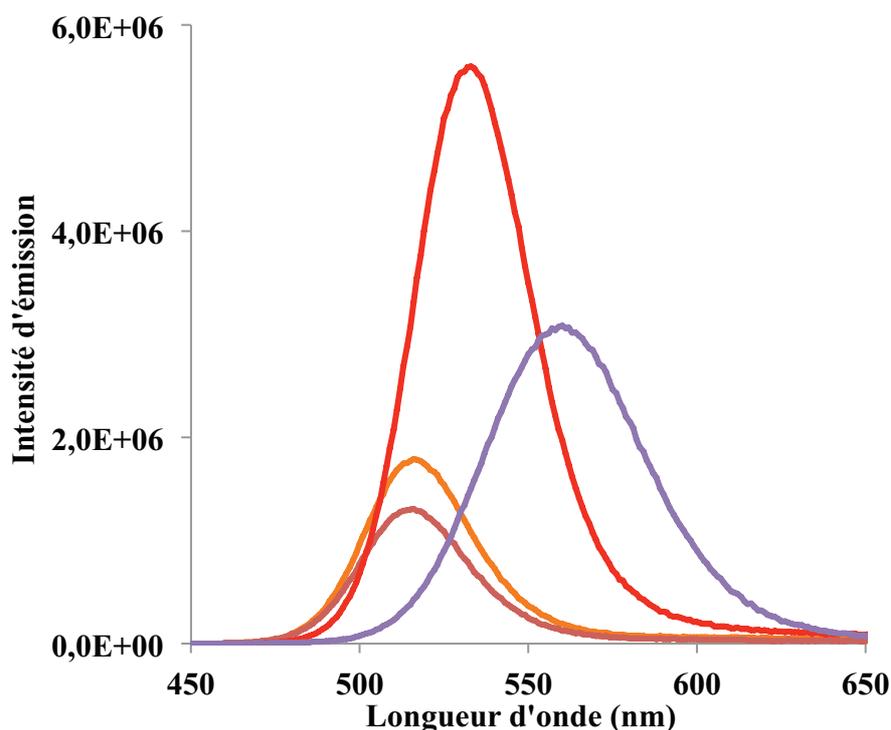
Plusieurs tentatives d'introduction d'une couche de ZnS à la surface des nanocristaux semi-conducteurs ont été effectuées.

La première tentative consiste à additionner une solution aqueuse de ZnCl<sub>2</sub> et de glutathion à une solution des nanoparticules émettant à 513 nm avec un rendement de 6 %, obtenues après 2h30 de croissance à 100 °C (QD<sub>513</sub>). Le pH du mélange est ajusté à 9 (pH = 4 initialement) avec une solution aqueuse de NaOH (1 M). Au cours du chauffage (100 °C), les ions sulfure sont générés par la décomposition du glutathion, qui s'associent ensuite aux ions de Zn<sup>2+</sup> dans le milieu réactionnel, formant ainsi des clusters de ZnS qui germent à la surface des nanoparticules en créant une coquille (Figure IV.59).



**Figure IV.59 :** Croissance d’une coquille de ZnS obtenue à partir de  $ZnCl_2$  et de L-glutathion

La Figure IV.59 montre le suivi de l’évolution des propriétés optiques en fonction du temps de chauffage. Une chute de l’intensité de luminescence des  $QD_{513}$  est observée après l’ajout de la solution de  $ZnCl_2$  et du glutathion. Cette chute est probablement liée à la diminution du pH (de 6,80 à 4). En effet, la diminution du pH vers les pH acide est accompagnée par une chute du rendement quantique des nanoparticules de 6 % à 4 %. Bien que le pH soit ensuite ajusté à 9, la luminescence des  $QD_{513}$  ne s’améliore pas. Cependant, après 120 minutes de chauffage, une augmentation significative du rendement quantique des nanoparticules de  $CdTe_xS_y$ , est observée qui passe de 4 % à 16%. Cette augmentation résulte de la croissance de la couche de ZnS à la surface des nanoparticules. Elle est accompagnée par un décalage de 7 nm de la longueur d’onde d’émission vers le rouge. Cela indique que la surface des nanoparticules est déjà saturée par le ZnS.<sup>11</sup> Après 390 minutes de chauffage, une chute de la luminescence est observée et le rendement quantique passe de 16 % à 9 % avec un décalage de 17 nm.



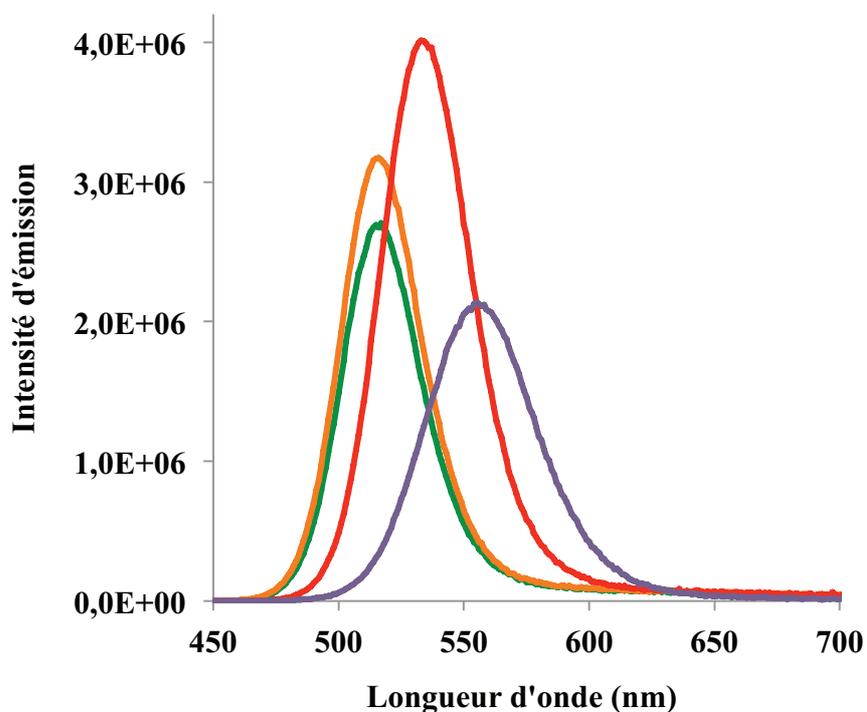
**Figure IV.60 :** Spectres d'émission des QDs CdTe<sub>x</sub>S<sub>y</sub> avant (orange), après l'ajout des précurseurs (marron) et de CdTe<sub>x</sub>S<sub>y</sub>/ZnS pour différents temps du chauffage 120 minutes (rouge), 390 minutes (violet)

Il faut rappeler que notre but consiste à introduire une coquille de ZnS à la surface des nanoparticules afin d'obtenir des nanoparticules avec des propriétés optiques plus intéressantes que celles obtenues avec des nanoparticules non passivée. Cependant les nanoparticules obtenues après l'introduction d'une couche de ZnS possèdent des propriétés optiques moins intéressantes que les nanoparticules préparées sans coquille de ZnS. Par exemple un rendement quantique de 9 % à 557 nm est obtenu après passivation de la surface par la couche de ZnS, alors que les nanoparticules sans coquille possèdent un rendement quantique de 20 %.

Nous avons supposé qu'un phénomène irréversible, qui a lieu lors de la chute du pH à pH=4, était à l'origine des mauvaises propriétés optiques obtenues. Une autre tentative a donc été effectuée en tenant compte de ce paramètre.

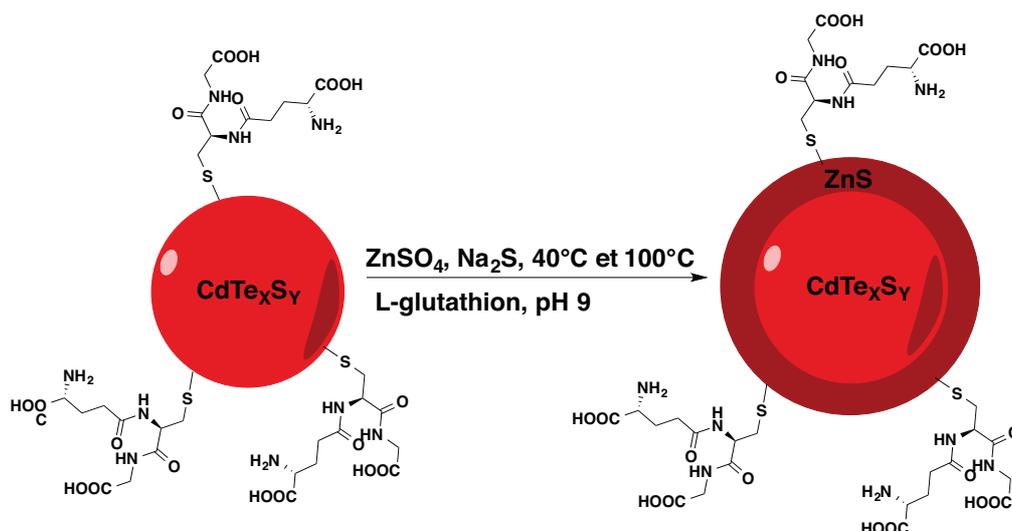
Pour la deuxième tentative, le mode opératoire de la tentative 1 est répété en préparant cette fois-ci la solution de ZnCl<sub>2</sub> et de L-glutathion dans un tampon citrate (0,02 M) à pH 9. Contre toute attente, une chute de l'intensité de la luminescence initiale après l'ajout de la solution de ZnCl<sub>2</sub> et du glutathion est encore observée (de 6 à 5 %) (**Figure IV.61**). Ce phénomène reste sans interprétation. Ensuite, après 120 minutes du chauffage le rendement

quantique passe de 5 % à 9 % et le décalage de la longueur d'onde est de 18 nm. Il faut noter cette augmentation est plus faible que celle obtenue dans la première tentative (4 % à 16%), cela est peut être a cause à la présence de citrate.



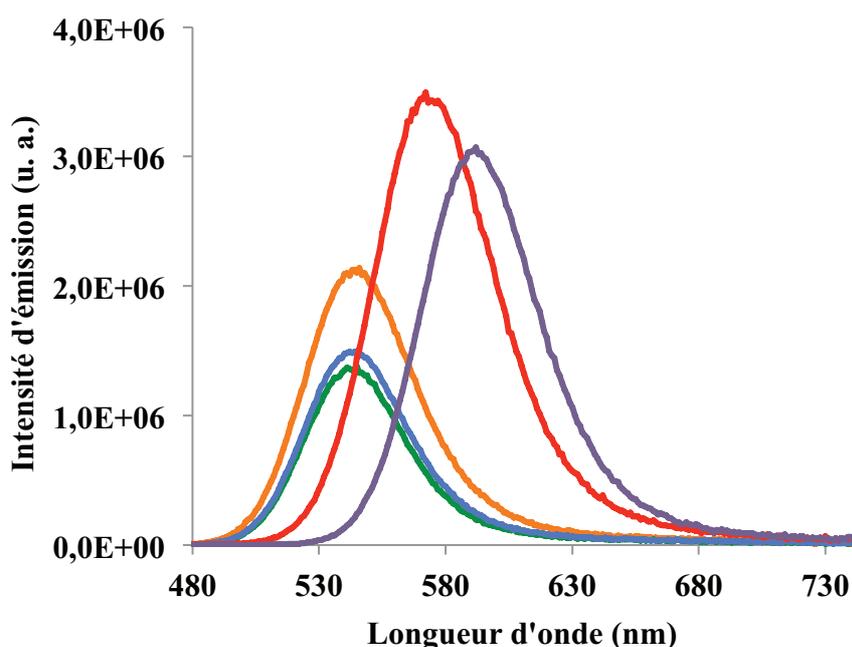
**Figure IV.61** : Spectres d'émission des QDs  $\text{CdTe}_x\text{S}_y$  avant (orange), après l'ajout des précurseurs (vert) et de  $\text{CdTe}_x\text{S}_y/\text{ZnS}$  pour différents temps du chauffage 120 minutes (rouge), 400 minutes (violet)

Pour la dernière tentative (Figure IV.62), nous avons utilisé d'autres précurseurs pour les ions  $\text{Zn}^{2+}$  et  $\text{S}^{2-}$ . Une solution aqueuse de  $\text{ZnSO}_4$  (1,25 mM) est donc utilisée à la place de la solution de  $\text{ZnCl}_2$  et les ions sulfure sont générés à la fois par la décomposition du glutathion et également par l'addition de  $\text{Na}_2\text{S}$ .



**Figure IV.62 :** Croissance d'une coquille de ZnS à la surface des nanoparticules en présence de ZnSO<sub>4</sub> et de Na<sub>2</sub>S

La **Figure IV.63** montre l'évolution des propriétés optiques avant et après le chauffage. Une diminution du rendement quantique (de 24 % à 13%) est encore une fois observée après l'ajout des précurseurs de la coquille à pH = 9. Aucune amélioration significative n'a été observée après une heure du chauffage à 40 °C. Il a donc été décidé de chauffer le mélange à 100 °C. Après 90 minutes de chauffage à 100 °C, une augmentation de l'intensité d'émission est constatée et le rendement quantique atteint une valeur de 28 % à 570 nm. Le maximum d'émission se déplace de 540 nm à 570 nm, soit un décalage de 30 nm.



**Figure IV.63 :** Spectres d'émission des QDs CdTe<sub>x</sub>S<sub>y</sub> avant (orange), après l'ajout des

précurseurs (vert) et de  $\text{CdTe}_x\text{S}_y/\text{ZnS}$  pour différents temps du chauffage 60 minutes à 40 °C (bleu), 90 minutes (rouge) et 130 minutes (violet) à 100 °C.

Au final, les résultats obtenus par l'introduction d'une coquille de ZnS ne sont pas satisfaisants. En effet, cela est probablement lié au désaccord de maille avec le matériau du cœur. En effet, l'épaisseur de la coquille est limitée par la différence entre les paramètres de maille entre le matériau du cœur et de la coquille. Il faut noter qu'il est possible de faire croître une coque à la surface du cœur jusqu'à une certaine épaisseur critique, au delà de cette épaisseur, des fissures de la coque apparaissent.<sup>12</sup>

Une autre approche a donc été adoptée afin d'atteindre le but désiré. Cette approche consiste à utiliser un chauffage aux micro-ondes dans le but de préparer des nanoparticules de  $\text{CdTe}_x\text{S}_y$  de meilleure cristallinité.

### 3. Synthèses de nanocristaux semi-conducteurs de $\text{CdTe}_x\text{S}_y$ par voie micro-ondes

#### 3.1. Généralités

La chimie sous micro-ondes est une technique de plus en plus utilisée à la fois simple à mettre en œuvre et rapide. La première utilisation générale du four micro-ondes remonte aux années 1950. Cependant, la première utilisation en chimie date de 1986, lorsque les groupes de Gedye et Giguere présentent une accélération de la réaction en chimie organique par l'utilisation de fours micro-ondes domestiques. Cette nouvelle voie de synthèse présentait des risques, notamment des dangers d'explosions dus au manque de moyens de contrôle et de surveillance. Grâce à des améliorations des fours micro-ondes, il est maintenant possible d'avoir un contrôle en temps réel de la température, la puissance et la pression.

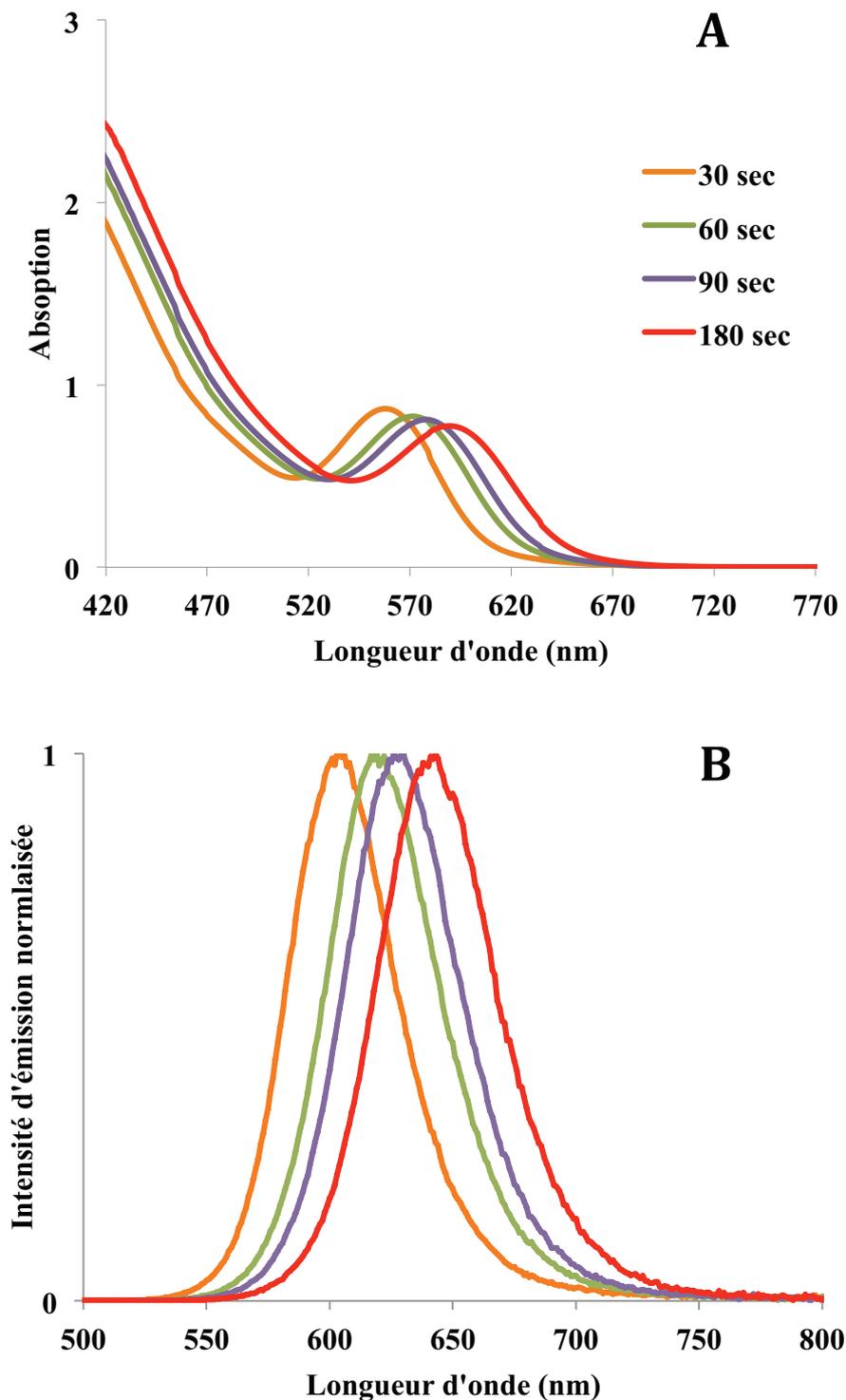
Les micro-ondes sont des ondes électromagnétiques contenant des composantes électriques et magnétiques. L'interaction de matériaux diélectriques, liquides ou solides avec des micro-ondes conduit à une réorientation de leurs dipôles afin de suivre les variations du champ. Certaines fréquences de champ mènent à la friction entre les molécules, résultant en la production de chaleur interne et à l'augmentation de la température du matériau.<sup>13</sup> La synthèse aux micro-ondes est en général rapide, simple et efficace, c'est pourquoi cette méthode a été adoptée pour de nombreuses applications en chimie. L'irradiation par micro-ondes a été également appliquée pour la préparation des diverses nanoparticules, à savoir des nanoparticules d'argent,<sup>14</sup> de germanium<sup>15</sup> et d'oxyde de zinc,<sup>16</sup> et en particulier des nanoparticules semi-conductrices luminescentes de  $\text{CdSe}$ ,<sup>17</sup>  $\text{ZnS}$ <sup>18</sup> et  $\text{CdTe}$ .<sup>19,20</sup> Cette

technique a montré une croissance très rapide des nanoparticules ainsi que de bonnes propriétés optiques. Par exemple des nanoparticules de CdTe recouvert par MPA (acide mercaptopropionique) qui émettent à 773 nm sont obtenues après 45 minutes par irradiation micro-ondes à 160 °C, avec des rendements quantiques qui atteignent 50 %. Leurs synthèse par la méthode standard dure 2 à 3 jours.<sup>21</sup> Nous nous sommes donc intéressés à la synthèse des quantum dots de CdTe<sub>x</sub>S<sub>y</sub> par voie micro-ondes.

### 3.2. Synthèse par voie micro-ondes

Dans un premier temps, le protocole opératoire de la synthèse classique (cf. Chapitre II) a été répété pour préparer les précurseurs mais cette fois-ci, 2 ml de solution finale sont mis dans un réacteur de 10 mL. Les réactifs sont chauffés à 100 °C pendant différents temps.

La Figure IV.64 montre l'évolution des spectres d'absorption et d'émission en fonction du temps de chauffage. Comme attendu, un décalage du pic excitonique d'absorption et d'émission est observé indiquant la croissance des nanoparticules de CdTe<sub>x</sub>Se<sub>y</sub>. Des nanoparticules émettant à 600 nm sont obtenues après seulement 30 secondes de chauffage et seulement 180 secondes sont nécessaires pour obtenir des nanoparticules émettant à 640 nm, ce qui représente une bonne économie de temps comparativement à la synthèse classique (plusieurs heures étaient nécessaires). De plus, les rendements quantiques obtenus par cette technique (37% à 595 nm) sont plus élevés que ceux obtenus par la synthèse classique (29 % à 600 nm).



**Figure IV.64** : Spectres d'absorption (A) et d'émission (B) en fonction du temps de chauffage par irradiation micro-ondes (les spectres d'émission sont normalisés au maximum d'émission ; orange (595 nm,  $\Phi = 37\%$ ) ; vert (615 nm ;  $\Phi = 34\%$ ) ; violet (623 nm  $\Phi = 33\%$ ) ; rouge (640 nm,  $\Phi = 30\%$ ),  $\lambda_{ex} = 430$  nm

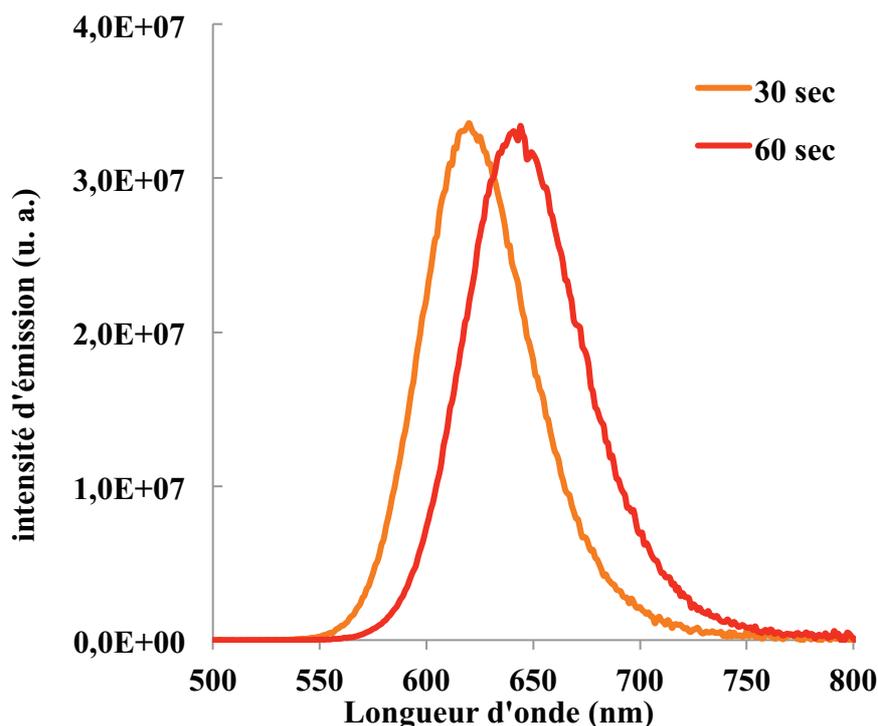
Malgré tous ces avantages, cette technique présente un inconvénient majeur lié à la faible quantité de nanoparticules obtenue. En effet, le volume de la solution à mettre dans les micro-

ondes est limité à 2 mL pour les réacteurs de 10 mL et à 20 mL pour les réacteurs de 30 mL, limitant ainsi la quantité des nanoparticules préparée (2 ou 3 mg). Jouer sur la concentration de la solution semble être une bonne alternative pour corriger ce problème.

### 3.3. Influence de la concentration

Une solution trop concentrée n'est pas propice à la croissance de nanoparticules avec de bonnes propriétés optiques. En effet, pour la solution concentrée 10 fois, la solution se colore en noir immédiatement après l'ajout de NaBH<sub>4</sub>. De plus, les propriétés optiques ne sont pas améliorées et une très faible luminescence est observée après 30 secondes et 180 secondes de chauffage. En revanche, la solution 5 fois plus concentrée se comporte de manière habituelle. Après 1h30 à température ambiante, une coloration verte est observée, qui correspond probablement à la formation de clusters de CdTe. La Figure IV.65 montre l'évolution des spectres d'émission pour deux différents temps de chauffage (30 sec et 60 sec). Nous pouvons remarquer que la cinétique de la réaction est plus rapide pour une solution 5 fois concentrée. En effet, après 30 secondes et 60 secondes de chauffage, des nanoparticules qui émettent à 620 nm et 640 nm respectivement sont obtenues, contrairement à la solution diluée (90 secondes pour 623 nm et 180 secondes pour 638 nm). Les rendements quantiques quant à eux n'ont pas été influencés par le changement de la concentration et restent donc stables ( $\Phi = 35\%$  à 620 nm et  $33\%$  à 640 nm).

La suite du travail consiste à utiliser les réacteurs de 30 mL, ce qui permet d'augmenter le volume du mélange à 20 ml. Aucune influence n'a été observée sur les rendements quantique ( $\Phi = 36\%$  à 598 nm). Cependant, la cinétique de la réaction a significativement diminuée. Par exemple, on passe de 30 seconde (réacteur de 10 ml) à 20 minutes (réacteur de 30 ml) pour préparer des nanoparticules émettant autour de 595 nm. Cela est lié à la cinétique de chauffage, car il est plus facile de chauffer 2 mL que de chauffer 20 mL.

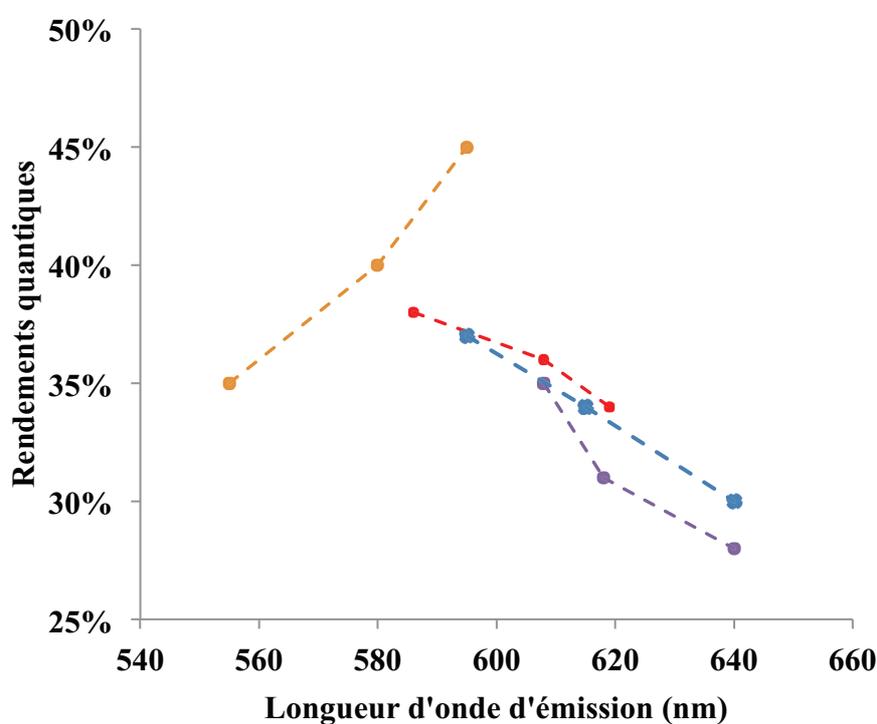


**Figure IV.65** : Evolution du spectre d'émission (à partir d'une solution 5 fois plus concentrée) pour deux temps de chauffage, orange (620 nm,  $\Phi = 35\%$ ) ; rouge (640 nm,  $\Phi = 33\%$ ),  $\lambda_{\text{ex}} = 430$  nm

### 3.4. Influence de la température de chauffage

La température du chauffage joue un rôle très important sur la croissance des nanoparticules ainsi que sur leurs propriétés optiques. Généralement, les nanoparticules préparées en phase aqueuse avec la méthode classique, à reflux présentent de mauvaises propriétés optiques et de très grandes distances à mi-hauteur. Ceci est dû à la concentration élevée des défauts de surface résultant de la croissance lente des nanoparticules à basse température.<sup>22,23,24,19</sup> En revanche, il a été démontré que la température de chauffage présente une grande influence sur la cinétique d'attachement et de détachement du ligand à la surface des nanocristaux.<sup>19,25</sup> En effet, l'augmentation de la température accélère la dissociation des ligands de surface et la croissance des nanoparticules. Cependant, une température trop élevée cause également le détachement des ligands de la surface des nanoparticules et promeut la formation de complexes libres, causant ainsi la formation d'un grand nombre de défauts de surface, à l'origine de mauvaises propriétés optiques. Une température optimum permet d'atteindre un équilibre entre le taux d'attachement et le détachement des complexes. Cette température s'appelle « Zero growth », c'est un élément primordial pour obtenir une surface parfaitement passivée et des nanoparticules à haute luminescence avec de bonnes propriétés optiques.<sup>26</sup>

Une étude de l'évolution des propriétés optiques en fonction de la température de chauffage a été réalisée. La procédure consiste à chauffer le mélange final à quatre températures différentes (100 °C, 120 °C, 130 °C et 150 °C) et à suivre l'évolution du spectre d'émission et du rendement quantique en fonction du temps et en fonction de la température de chauffage. La température optimum dans nos études est de 120 °C (Figure IV.66), pour laquelle des nanoparticules émettant à 595 nm avec un rendement de 45 % à 595 nm ont été obtenues après 20 secondes. L'équilibre a été rompu quand la température a été augmentée (à partir de 130 °C), ce qui a conduit à la diminution du rendement quantique.



**Figure IV.66** : Rendements quantiques des nanoparticules de  $\text{CdTe}_x\text{S}_y$  au cours de leur croissance à différentes températures : 150 °C (violet), 130 °C (rouge), 120 °C (orange) et 100 °C (bleu), (Solution concentrée 5 fois, réacteur de 2 mL)

À la suite de cette étude, les paramètres de préparation des nanoparticules ont été fixés comme suit

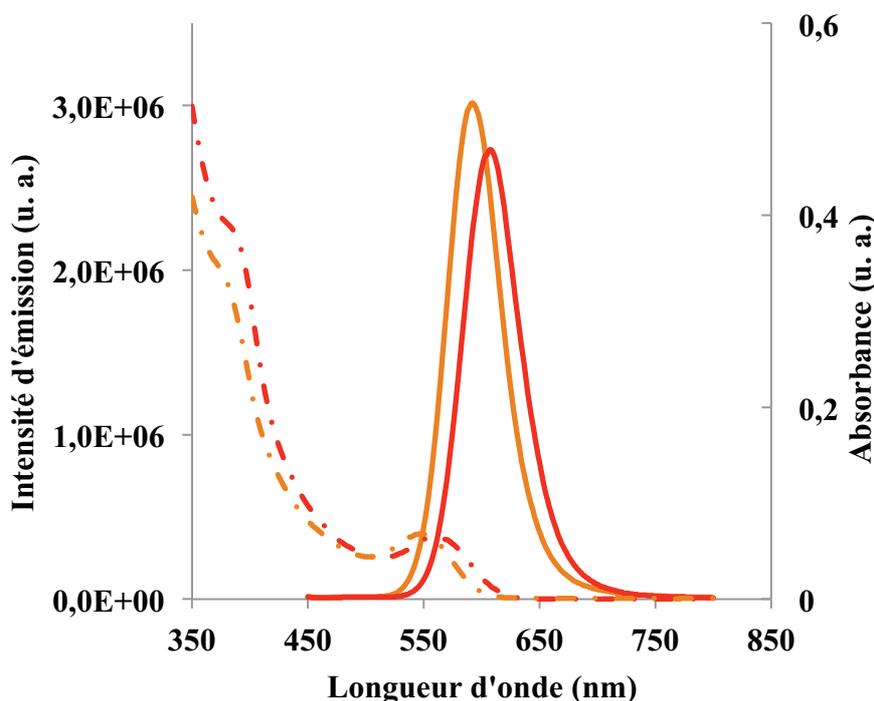
- Une concentration  $C_{\text{Cd}} = 0,014 \text{ M}$ , c'est à dire 5 fois plus concentré que la synthèse de base.
- Un volume de 20 ml.
- Une température de chauffage de 120 °C.

Cette synthèse à grande échelle est décrite au paragraphe suivant.

### 3.5. Synthèse à grande échelle et caractérisations des nanoparticules par voie micro-ondes

Le protocole opératoire fixé lors de la partie précédente a été appliqué pour synthétiser des nanoparticules de  $\text{CdTe}_x\text{S}_y$  à grande échelle.

La Figure IV.67 montre les spectres d'absorption et d'émission des nanoparticules préparées par voie micro-ondes après 20 minutes ( $\text{QD}_{587}$ ) et 30 minutes ( $\text{QD}_{602}$ ) de croissance. La synthèse est reproductible et donne des rendements quantiques similaires (47 % et 44% pour  $\text{QD}_{587}$  et  $\text{QD}_{602}$ , respectivement). Cependant, la quantité obtenue cette fois-ci est de l'ordre de 100 mg ce qui nous permet de bien caractériser ces nanoparticules. De manière similaire à ce qui avait été observé au cours de la synthèse classique, nous notons l'apparition de nouvelles bandes d'absorption centrées à 389 nm pour  $\text{QD}_{587}$  et 395 nm pour  $\text{QD}_{602}$ , et qui correspond à la formation de CdS suite à la décomposition du glutathion, des ions sulfures s'incorporent dans le cœur des nanoparticules pour former un alliage de  $\text{CdTe}_x\text{S}_y$  (cf. Chapitre II). D'autre part, une légère chute de la luminescence est constatée pour le deuxième échantillon, liée à la mauvaise protection de la surface par le ligand.



**Figure IV.67** : Spectres d'absorption (trait discontinu) et spectres d'émission (trait continu) des  $\text{QD}_{587}$  (orange) et  $\text{QD}_{602}$  (rouge).  $\lambda_{\text{ex}} = 430 \text{ nm}$

Le diamètre des nanoparticules est de 3,2 nm et 3,3 nm pour  $\text{QD}_{587}$  et  $\text{QD}_{602}$ , respectivement. Il a été calculé partir de l'équation qui relie la longueur d'onde d'absorption et le diamètre des nanoparticules (Équation II.3).

## Chapitre IV. Amélioration des propriétés optiques des nanoparticules de CdTe<sub>x</sub>S<sub>y</sub>

Une caractérisation chimique a été réalisée pour déterminer la composition chimique des différents éléments présents dans les nanoparticules. La teneur en Cd, Te et S a été déterminée par ICP-AES (Tableau IV.12) et la teneur en glutathion est déterminée par analyse C, H, N (Tableau IV.13) selon la méthode décrite au chapitre I.

	Cd (mmol/g)	S <sub>tot</sub> (mmol/g)	Te (mmol/g)	(S <sub>tot</sub> + Te)/Cd
QD <sub>587</sub>	2,80 ± 0,2	2,40 ± 0,2	0,42 ± 0,03	1,00
QD <sub>602</sub>	3,30 ± 0,2	2,60 ± 0,1	0,54 ± 0,01	0,95

Tableau IV.12 : Résultats des analyses ICP-AES pour QD<sub>587</sub> et QD<sub>602</sub>

	C %	N%	H%
QD <sub>587</sub>	4,91	15,71	2,93
QD <sub>602</sub>	2,78	12,03	3,03

Tableau IV.13 : Résultats des analyses élémentaires C, H et N pour QD<sub>587</sub> et QD<sub>602</sub>

Le modèle proposé pour le calcul du poids moléculaire a été mis à profit pour déterminer les formules chimiques des nanoparticules. Les résultats obtenus sont résumés dans le Tableau IV.14. Le nombre de glutathion lié à la surface des nanoparticules diminue, cette diminution est accompagnée par une chute des propriétés optiques.

La Figure IV.68 illustre le nombre de molécules de glutathion théorique estimé pour une monocouche de ligand à la surface des nanoparticules et le nombre de glutathion calculé ainsi que leur rendement quantique. De manière similaire, ce qui a été présenté dans le chapitre II, les échantillons QD<sub>587</sub> et QD<sub>602</sub> présentent un nombre de glutathion suffisant pour assurer une couverture totale de la surface d'où le rendement quantique élevé.

	QD <sub>587</sub>	QD <sub>602</sub>
D <sub>Th</sub> (nm)	3,2	3,34
V <sub>Th</sub> (nm <sup>3</sup> )	17,4	19,5
M <sub>Coeur</sub> (g/mol)	53125	59184
N <sub>GSH</sub>	150	76
M <sub>Tot</sub>	104725	85328
Formule molaire	Cd <sub>366</sub> Te <sub>53</sub> S <sub>162</sub> (GSH) <sub>150</sub>	Cd <sub>389</sub> Te <sub>64</sub> S <sub>230</sub> (GSH) <sub>76</sub>

Tableau IV.14 : Poids moléculaire du cœur, le nombre du glutathion et la formule chimique des nanoparticules QD<sub>587</sub> et QD<sub>602</sub> à partir du modèle proposé

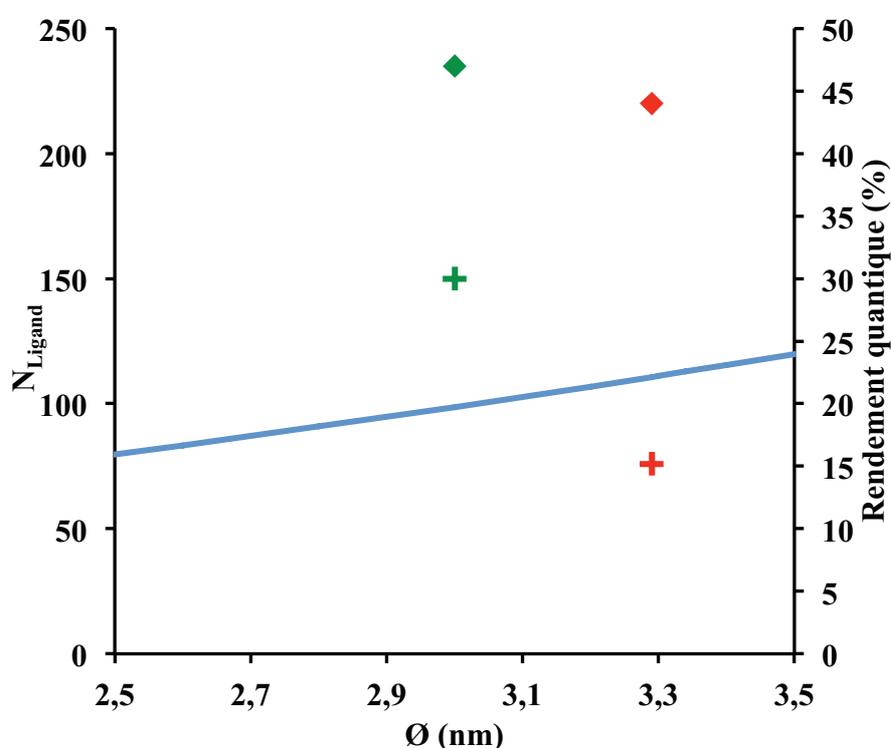


Figure IV.68 : Nombre de molécules de glutathion estimé pour une monocouche de ligand à la surface des nanoparticules (trait bleu), nombre de glutathion calculé (+) et rendements quantiques de luminescence (◆) (QD<sub>587</sub> (vert), et QD<sub>602</sub> (rouge))

#### 4. Conclusion

A ce stade du travail, nous avons souhaité améliorer les propriétés optiques des nanoparticules. Dans un premier temps, nous avons essayé de passiver la surface avec une coquille de ZnS. Malheureusement, après plusieurs tentatives les nanoparticules obtenues ne présentent pas les propriétés optiques désirées et les rendements quantiques sont similaires ou plus faibles que ceux obtenus durant la synthèse classique. Cela est probablement dû à un

mauvais contrôle de l'épaisseur de la couche de ZnS et à l'apparition de nouveaux défauts de surface.

La synthèse aux micro-ondes se présente comme une autre alternative pour améliorer les propriétés optiques des nanocristaux luminescents. Des nanoparticules de CdTe<sub>x</sub>S<sub>y</sub> avec de très bonnes propriétés optiques ont été obtenues. Les résultats démontrent que les nanoparticules obtenues possèdent de très bons rendements quantiques (47 % à 587 nm) sans traitement et sans coquille protectrice supplémentaire. À titre de comparaison, un rendement quantique de 29 % a été obtenu par la synthèse classique, en revanche à la même longueur d'onde le rendement quantique obtenu par synthèse micro-ondes est de 44 %. De plus, la synthèse aux micro-ondes est très rapide et elle nous permet d'obtenir des nanoparticules émettant jusqu'à 610 nm en quelques minutes. Leurs formules chimiques ont été déterminées grâce au modèle proposé pour le calcul du poids moléculaire et dans les deux cas, le nombre de ligands de surface est proche de la valeur optimale pour une monocouche, compte tenu de l'erreur liée aux différentes approximations.

### 5. Bibliographie

1. Reiss, P., Protière, M. & Li, L. Core/Shell semiconductor nanocrystals. *Small Weinh. Bergstr. Ger.* **5**, 154–168 (2009).
2. Hines, M. A. & Guyot-Sionnest, P. Synthesis and Characterization of Strongly Luminescing ZnS-Capped CdSe Nanocrystals. *J. Phys. Chem.* **100**, 468–471 (1996).
3. Battaglia, D., Li, J. J., Wang, Y. & Peng, X. Colloidal Two-Dimensional Systems: CdSe Quantum Shells and Wells. *Angew. Chem. Int. Ed.* **42**, 5035–5039 (2003).
4. Ivanov, S. A., Piryatinski, A., Nanda, J., Tretiak, S., Zavadil, K. R., Wallace, W. O., Werder. & D. Klimov, V. I. Type-II Core/Shell CdS/ZnSe Nanocrystals: Synthesis, Electronic Structures, and Spectroscopic Properties. *J. Am. Chem. Soc.* **129**, 11708–11719 (2007).
5. Kim, S., Fisher, B., Eisler, H.-J. & Bawendi, M. Type-II Quantum Dots: CdTe/CdSe(Core/Shell) and CdSe/ZnTe(Core/Shell) Heterostructures. *J. Am. Chem. Soc.* **125**, 11466–11467 (2003).
6. Nemchinov, A., Kirsanova, M., Hewa-Kasakarage, N. N. & Zamkov, M. Synthesis and Characterization of Type II ZnSe/CdS Core/Shell Nanocrystals. *J. Phys. Chem. C* **112**, 9301–9307 (2008).
7. Hu, D., Zhang, P., Gong, P., Lian, S., Lu, Y., Gao, D. & Cai, L. A fast synthesis of near-infrared emitting CdTe/CdSe quantum dots with small hydrodynamic diameter for in vivo imaging probes. *Nanoscale* **3**, 4724–4732 (2011).
8. Shen, H., Zheng, Y., Wang, H., Xu, W., Qian, L., Yang, Y., Titov, A., Hyvonen, J. & Li, L. S. Highly efficient near-infrared light-emitting diodes by using type-II CdTe/CdSe core/shell quantum dots as a phosphor. *Nanotechnology* **24**, 475603 (2013).
9. Zlatev, I., Giraut, A., Morvan, F., Herdewijn, P. & Vasseur, J.-J.  $\delta$ -Di-carboxybutyl phosphoramidate of 2'-deoxycytidine-5'-monophosphate as substrate for DNA polymerization by HIV-1 reverse transcriptase. *Bioorg. Med. Chem.* **17**, 7008–7014 (2009).
10. Zhong, X., Xie, R., Zhang, Y., Basché, T. & Knoll, W. High-Quality Violet- to Red-Emitting ZnSe/CdSe Core/Shell Nanocrystals. *Chem. Mater.* **17**, 4038–4042 (2005).
11. Xu, S. C., Yang, Y., Liu, Y., Miao, H., Dong, M., Yang, J., Zhang, J., Dai, Z., Zheng, G., Sun, B., Sun, S. & Jiang Z. An Enhanced Luminescent CdTe/ZnS Core-Shell Quantum Dot: Synthesis, Characterization, and its Optical Properties. *Adv. Mater. Res.* **217-218**, 212–215 (2011).
12. Lhuillier, S. I. Synthèses et caractérisations de nanoparticules de semiconducteurs II-VI de géométries contrôlées. (Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2010).

13. Rao, K. J., Vaidhyathan, B., Ganguli, M. & Ramakrishnan, P. A. Synthesis of Inorganic Solids Using Microwaves. *Chem. Mater.* **11**, 882–895 (1999).
14. Kahrilas, G. A., Wally, L. M., Fredrick, S. J., Hiskey, M., Prieto, A. L. & Owens, J. E. Microwave-Assisted Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Orange Peel Extract. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2**, 367–376 (2014).
15. Muthuswamy, E., Iskandar, A. S., Amador, M. M. & Kauzlarich, S. M. Facile Synthesis of Germanium Nanoparticles with Size Control: Microwave versus Conventional Heating. *Chem. Mater.* **25**, 1416–1422 (2013).
16. Barreto, G., P. N., Morales, G., Quintanilla, M. L. L. & pez. Microwave Assisted Synthesis of ZnO Nanoparticles: Effect of Precursor Reagents, Temperature, Irradiation Time, and Additives on Nano-ZnO Morphology Development. *J. Mater.* **2013**, e478681 (2013).
17. Moghaddam, M. M., Baghbanzadeh, M., Keilbach, A. & Kappe, C. O. Microwave-assisted synthesis of CdSe quantum dots: can the electromagnetic field influence the formation and quality of the resulting nanocrystals? *Nanoscale* **4**, 7435–7442 (2012).
18. Shahid, R., Toprak, M. S. & Muhammed, M. Microwave-assisted low temperature synthesis of wurtzite ZnS quantum dots. *J. Solid State Chem.* **187**, 130–133 (2012).
19. He, Y., Sai, L.-M, Lu, H.-T., Hu, M., Lai, W.-Y., Fan, Q.-L., Wang, L.-H. & Huang, W. Microwave-Assisted Synthesis of Water-Dispersed CdTe Nanocrystals with High Luminescent Efficiency and Narrow Size Distribution. *Chem. Mater.* **19**, 359–365 (2007).
20. He, H., Sun, X., Wang, X. & Xu, H. Synthesis of highly luminescent and biocompatible CdTe/CdS/ZnS quantum dots using microwave irradiation: a comparative study of different ligands. *Luminescence* n/a–n/a
21. Li, L., Qian, H. & Ren, J. Rapid synthesis of highly luminescent CdTe nanocrystals in the aqueous phase by microwave irradiation with controllable temperature. *Chem. Commun.* 528–530 (2005).
22. Gaponik, N. D. V., Talapin, A. L., Rogach, K. H., Elena V. S & Andreas. K. Thiol-Capping of CdTe Nanocrystals: An Alternative to Organometallic Synthetic Routes. *J. Phys. Chem. B* **106**, 7177–7185 (2002).
23. He, Y., Hao, T. L., Li M. S., Wen. Y. L., Qu. L. F., Lian. H. W & Wei. H. Synthesis of CdTe Nanocrystals through Program Process of Microwave Irradiation. *J. Phys. Chem. B* **110**, 13352–13356 (2006).
24. He, Y., Hao, T. L., Li M. S., Wen. Y. L., Qu. L. F., Lian. H. W & Wei. H. Microwave-Assisted Growth and Characterization of Water-Dispersed CdTe/CdS Core–Shell Nanocrystals with High Photoluminescence. *J. Phys. Chem. B* **110**, 13370–13374 (2006).

**25.** Wuister, S. F., Driel, F. van & Meijerink, A. Luminescence and growth of CdTe quantum dots and clusters. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **5**, 1253–1258 (2003).

**26.** Jeong, S., Jeong, S., Marc. A., Jagjit. N., Sergei. I., Victor .I. K., & Jennifer. A. Hollingsworth Effect of the Thiol–Thiolate Equilibrium on the Photophysical Properties of Aqueous CdSe/ZnS Nanocrystal Quantum Dots. *J. Am. Chem. Soc.* **127**, 10126–10127 (2005).

## **Chapitre V. Déplacement des propriétés optiques vers le proche infrarouge**



## **1. Généralités**

Comme nous l'avons vu dans l'introduction, la fenêtre spectrale du proche-infrarouge (700-920 nm) est particulièrement intéressante pour l'imagerie de tissus et de milieux biologiques, puisque leur absorption et leur fluorescence ainsi que celle de l'eau sont très faibles dans cette zone.<sup>1</sup> Cependant, pour les longueurs d'onde supérieures à 750 nm, l'utilisation des fluorophores organiques est limitée par leurs faibles rendements quantiques, qui est de 20% au maximum dans les solvants organiques,<sup>2</sup> 4 % dans l'eau dans une région spectrale entre 750 et 950 nm<sup>3</sup> et souvent inférieur à 0,2 % pour des longueurs d'ondes d'émission supérieures à 1000 nm.<sup>4</sup> De plus, les fluorophores organiques présentent une mauvaise stabilité photochimique. Les nanoparticules émettant dans le proche infrarouge (NIR), sont donc une excellente alternative pour les applications dans le domaine biologique.<sup>5,6,7</sup> Leurs rendements quantiques de fluorescence peuvent atteindre 55 % à 1145 nm pour des nanoparticules de CdHgTe,<sup>7</sup> 20 % à 800 nm pour des nanoparticules de CuInSe/ZnS ou encore 17 % à 700 nm pour des nanoparticules de CdTeSe.<sup>8</sup>

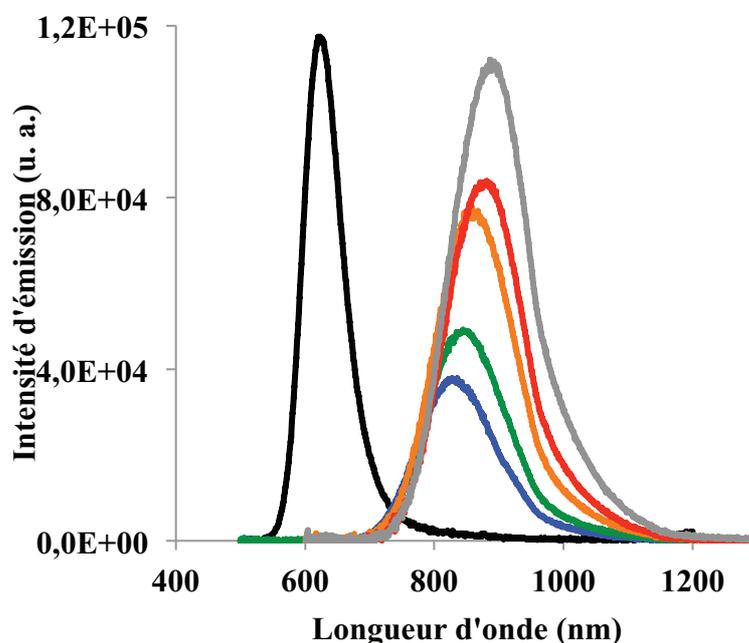
Dans ce chapitre, nous nous intéresserons à la synthèse en solution aqueuse de nanoparticules semi-conductrices émettant dans le proche infrarouge. Dans un premier temps, la synthèse de nanoparticules de CdTeHg a été envisagée. Nous nous sommes ensuite orientés vers des nanoparticules de CdTeSeS, plus stables.

## **2. Synthèse de nanoparticules de CdTe<sub>x</sub>Hg<sub>y</sub>**

Les nanoparticules semi-conductrices de Cd<sub>x</sub>Hg<sub>1-x</sub>Te possèdent une variation de la bande interdite de +1,6 eV à -0,3 eV en fonction de la teneur en mercure (X, X varie de 0 à 1), rendant ces nanoparticules très attractives pour la bioimagerie.<sup>9,10</sup> En 2002, le groupe de Rogach a décrit la première synthèse de nanocristaux de CdHgTe.<sup>11</sup> Du fait de leurs propriétés optiques dans le proche infrarouge plusieurs groupes ont participé à l'amélioration de ces propriétés.<sup>6,12,13,14,15,16,17,18,19</sup> Différents groupes ont étudié l'influence de la variation du rapport Cd et Hg sur les propriétés optiques des nanoparticules.<sup>7,10,13,19</sup> À l'issue de ces études des nanoparticules de CdTeHg avec de bonnes propriétés optiques dans le proche infrarouge ont été obtenues (rendement quantique de 60 % à 840 nm<sup>19</sup> et de 50 % à 1125 nm<sup>7</sup>).

La synthèse des nanoparticules de CdHg<sub>x</sub>Te<sub>y</sub> a été effectuée en s'inspirant du protocole décrit par l'équipe de Rogach<sup>11</sup> avec quelques modifications. Les nanoparticules ont été synthétisées par l'échange d'ions Cd<sup>2+</sup> présents dans des nanoparticules de CdTe<sub>x</sub>S<sub>y</sub> par le Hg<sup>2+</sup>. Cet échange a été réalisé dans l'eau à température ambiante. Nous avons utilisé des nanoparticules de CdTe<sub>x</sub>S<sub>y</sub> (QD<sub>618</sub>, λ<sub>em</sub> = 630 nm, Φ = 30 %) comme matériaux de départ. La

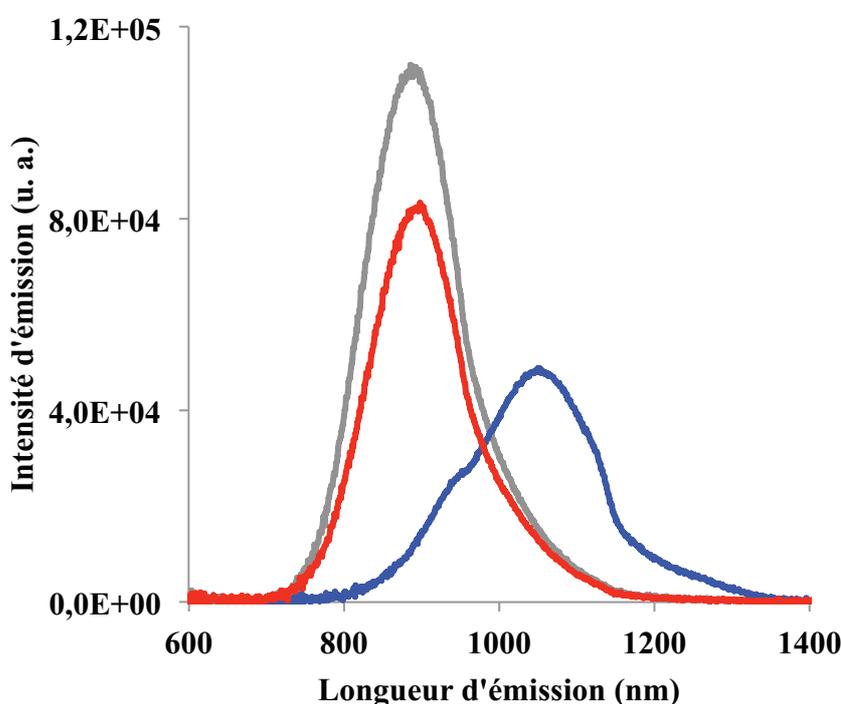
synthèse consiste à solubiliser les **QD<sub>618</sub>** dans l'eau ultra-pure et à rajouter le chlorure de mercure ( $\text{HgCl}_2$ ) et le glutathion (GSH). Le pH est ensuite ajusté à 10 avec NaOH. La Figure V.69 montre l'évolution de spectres d'émission des nanoparticules avant et après la procédure d'échange avec le mercure. L'échange entre les ions  $\text{Cd}^{2+}$  et  $\text{Hg}^{2+}$  est clairement observé et le spectre d'émission se déplace vers les plus basses énergies donc vers les plus grandes longueurs d'onde. En effet, le pic correspondant au maximum d'émission se déplace de la région du visible (624 nm) vers le proche infrarouge (880 nm), après 10 h de réaction à température ambiante. Il est bien connu que la largeur de la bande interdite des nanoparticules diminue progressivement avec la diminution de la teneur en  $\text{Cd}^{2+}$ , et donc le décalage du maximum d'émission vers les basses énergie est attribué à l'échange d'ion entre le  $\text{Cd}^{2+}$  et  $\text{Hg}^{2+}$ .<sup>7</sup> La mauvaise solubilité de  $\text{HgTe}$  dans l'eau, qui est 20 fois plus faible que celle du  $\text{CdTe}$ ,<sup>7</sup> favorise la substitution des ions  $\text{Cd}^{2+}$  par les ions  $\text{Hg}^{2+}$ . La procédure d'échange s'effectue premièrement avec les ions  $\text{Cd}^{2+}$  de la surface. Ensuite, les ions  $\text{Hg}^{2+}$  s'incorpore dans le cœur des nanoparticules pour former une solution solide de  $\text{CdTeHgS}$ .<sup>11</sup> Une fois la longueur d'onde d'émission désirée atteinte, les nanoparticules (**QD<sub>875</sub>**) sont précipitées à l'aide d'isopropanol, isolées par centrifugation et lavées 5 fois à l'isopropanol afin d'éliminer le  $\text{Hg}^{2+}$  n'ayant pas réagit.



**Figure V.69** : Evolution des spectres d'émission des nanoparticules de CdTe avant (noir) et après ajout de  $\text{Hg}^{2+}$  à température ambiante : 1 h (bleu), 2 h (vert), 4 h (orange), 6 h (rouge) et 10 h (gris),  $\lambda_{\text{ex}} = 430$  nm.

Les nanoparticules obtenues après 10 h de réaction possèdent un bon rendement quantique de 40 % ( $\lambda_{\text{em}} = 875$  nm) ce qui correspond bien aux résultats trouvés dans la littérature, à

savoir des rendements quantiques de 45 % à 950 nm<sup>4</sup> et de 38 % à 930 nm.<sup>7</sup> Cependant, contrairement aux nanoparticules de CdTeHg stabilisées par le MPA (acide mercaptopropionique),<sup>7</sup> les nanoparticules de CdTeHg stabilisées par le L-glutathion (**QD<sub>875</sub>**) présentent une très mauvaise stabilité dans l'eau. La Figure V.70 montre l'évolution de spectres d'émission de **QD<sub>875</sub>** dans l'eau après 1h et 8h. Un décalage du maximum d'émission vers les basses énergie est observé, cela est peut être attribuable à l'incorporation continue de Hg<sup>2+</sup> dans le cœur des nanoparticules, formant ainsi un cœur de HgTe qui possède une mauvaise solubilité dans l'eau<sup>7</sup> d'où la déformation et l'élargissement du spectre d'émission à 1039 nm.



**Figure V.70** : Spectres d'émission ( $\lambda_{\text{ex}} = 430 \text{ nm}$ ) des nanoparticules **QD<sub>875</sub>** dans l'eau enregistrés immédiatement (gris) après 1h (rouge) et 8h (bleu).

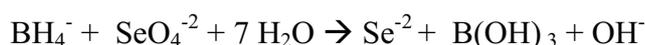
Ces problèmes de stabilité nous ont incité à nous orienter vers une nouvelle famille de nanoparticules.

### 3. Synthèse et caractérisations de nanoparticules de CdTe<sub>x</sub>Se<sub>y</sub>S<sub>z</sub>

Les nanoparticules de CdTe<sub>x</sub>Se<sub>y</sub> ont été initialement développées par Nie et son équipe afin d'atteindre des longueurs d'onde d'émission supérieures, jusqu'à 850 nm, avec un rendement quantique de 60 % dans le chloroforme.<sup>20</sup> Cependant les nanoparticules ont été préparées dans des solvants organiques à haute température en utilisant des précurseurs chers et toxiques comme par exemple le tri-n-octylphosphine (TOPO).<sup>21,22</sup> De plus, une seconde

étape de transfert de la phase organique vers la phase aqueuse est nécessaire pour pouvoir les utilisées dans des application biologiques. Cette étape est souvent suivie par une grande chute des propriétés de luminescence. Des travaux ont ensuite montré la possibilité d'effectuer la synthèse en phase aqueuse de nanoparticules de CdSeTe.<sup>8,23</sup> À notre connaissance le meilleur rendement quantique enregistré est de 50 % à 610 nm avec des nanoparticules de CdTeSe stabilisées par l'acide mercaptosuccinique.<sup>8</sup>

Dans cette partie, nous décrivons une synthèse facile de nanoparticules de CdTe<sub>x</sub>Se<sub>y</sub>S<sub>z</sub> en phase aqueuse par irradiation micro-onde, en utilisant des précurseurs moins chers et surtout moins toxiques comme le chlorure de cadmium (CdCl<sub>2</sub>. 2,5H<sub>2</sub>O), le sélénate de sodium (Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub>) et le tellurate de sodium (Na<sub>2</sub>TeO<sub>3</sub>). Dans un premier temps, des clusters de CdTe<sub>x</sub>Se<sub>y</sub>(GSH) sont obtenus par la réduction de Se et Te par NaBH<sub>4</sub> en présence de L-glutathion comme stabilisant (Équation V.20, Équation V.21, Équation V.22). Ces réactions sont accompagnées par un changement de la couleur de la solution, qui passe de marron à vert clair.



**Équation V.20**



**Équation V.21**



**Équation V.22**

Ensuite, des aliquots de 20 ml cette solution sont prélevés, et chauffés à 120 °C sous irradiation micro-ondes pendant différents temps de chauffage.

La première synthèse à une stœchiométrie de Cd/Te/Se/GSH égale à 8/7/1/10. La Figure V.71 montre l'évolution des spectres d'émission pour 4 différents temps de chauffage (1 minutes, 10 minutes, 15 minutes, et 17 minutes). Un décalage du maximum d'émission vers les basses énergies est observé confirmant la croissance des nanoparticules. Le maximum de décalage de la longueur d'onde d'émission est de 680 nm, ce qui est plus grand que celui obtenu avec les nanoparticules de CdTe<sub>x</sub>S<sub>y</sub> (650 nm, chapitre II). De plus, de bons rendements quantiques sont obtenus à savoir des valeurs de 40 %, 30 %, 20 % et 13 % à 620 nm, 670 nm, 680 nm et 685 nm respectivement. Toutes ces propriétés optiques,

particulièrement le maximum de décalage de la longueur d'onde et les bons rendements quantiques correspondant rendent ces nanoparticules très intéressantes. Une optimisation de la synthèse a donc été envisagée afin d'améliorer les propriétés optiques de ces nanocristaux. Deux paramètres ont été optimisés : la concentration du ligand et le rapport molaire Se/Te.

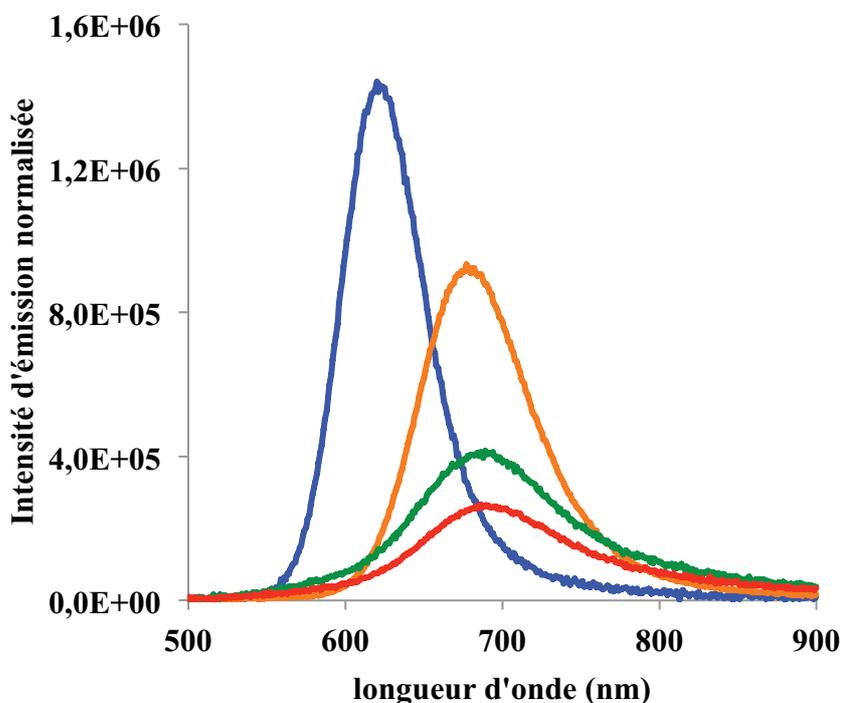
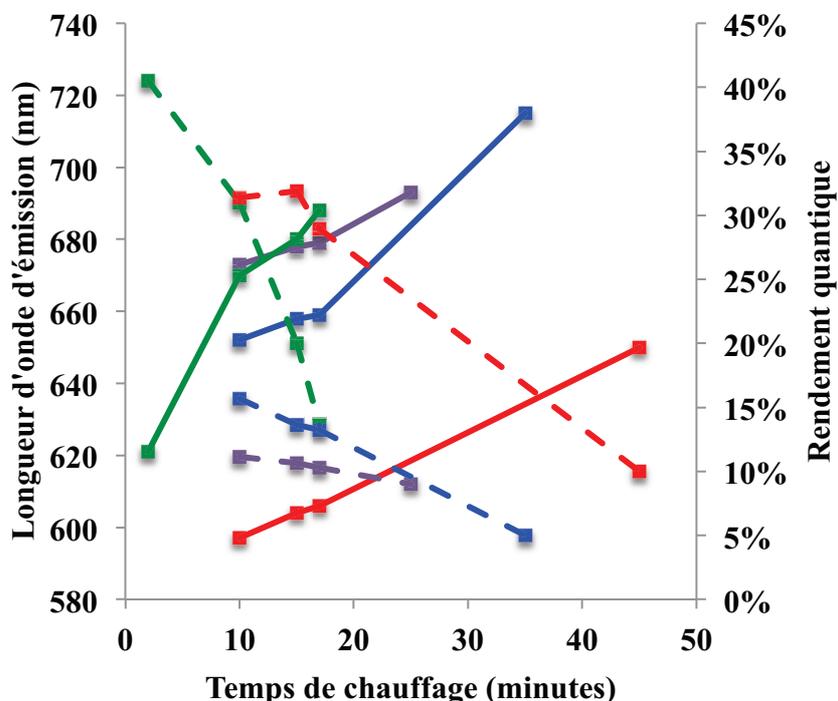


Figure V.71 : Spectres d'émission obtenus après 1 minutes (bleu), 10 minutes (orange), 15 minutes (vert) et 17 minutes (rouge) sous irradiation micro-onde.

### 3.1 Influence de la concentration du ligand

Dans un premier temps, nous avons étudié l'influence de la concentration de L-glutathion sur les propriétés optiques des nanoparticules luminescentes. La stœchiométrie de Cd/Te/Se est fixée à 8/7/1 et le nombre d'équivalent de L-glutathion varie de 4 à 10 équivalents. 4 stœchiométries ont été testées : 4 équivalents de GSH, 6 équivalents, 8 équivalents et 10 équivalents. La Figure V.72 représente les valeurs des maxima d'émission obtenus ainsi que les rendements quantiques correspondant, en fonction du temps de chauffage. Dans chacun des cas, la croissance des nanoparticules se manifeste par le décalage de la longueur d'onde d'émission observée au cours du chauffage. Cependant, la cinétique de la réaction diminue avec l'augmentation du nombre d'équivalent de L-glutathion. Par exemple, une longueur d'onde d'émission de 650 nm peut être atteinte en moins de 10 minutes de chauffage en présence de 4 équivalents de GSH, alors qu'il faut 45 minutes pour 10 équivalents. Cela est probablement lié à la formation d'un complexe très stable de  $CdTe_xSe_y(GSH)$  en présence d'un excès de L-glutathion, ce qui rend difficile la croissance. Les meilleurs résultats sont

obtenus avec 4 équivalents de L-glutathion, à savoir un rendement quantique maximal de 40 % à 621 nm et un décalage maximal à 688 nm avec un rendement de 13 %. Cette stœchiométrie en L-glutathion a donc été conservée pour la suite du travail.



**Figure V.72 :** Longueurs d'onde d'émission (traits continus) et rendements quantiques correspondants (traits discontinus) pour 4 stœchiométrie en L-glutathion (4 équiv. (vert), 6 équiv. (violet), 8 équiv. (bleu), 10 équiv. (rouge)), avec un ratio molaire fixe de Cd/Te/Se = 8/7/1 ( $\lambda_{exc} = 430$  nm).

### 3.2 Influence du ratio molaire Se/Te

Il a été démontré que les nanoparticules se forment d'une manière homogène avec n'importe quelle composition de Cd, Te, et Se.<sup>8,24</sup> La nucléation et la croissance durant la synthèse sont séparées en deux étapes : la nucléation à température ambiante et la croissance à haute température. Quand la température augmente l'effet du mûrissement d'Ostwald apparaîtra (cf. Chapitre II), cela peut être un avantage pour former des nanoparticules homogènes. La variation du ratio de Te et de Se dans la synthèse des nanoparticules de CdTe<sub>x</sub>Se<sub>y</sub>(GSH) peut faire varier la longueur d'onde d'émission dans une région spectrale de 550 nm à 690 nm comparé avec une fenêtre spectrale de 560 à 610 nm pour CdSe pur ou de 550 à 650 pour le CdTe pur. La diminution de la bande interdite résulte de l'augmentation du confinement quantique suite à la croissance du cœur mais aussi de la variation de la composition des nanoparticules.<sup>23</sup> De manière générale, la bande interdite d'un alliage peut être approximée par la loi de Vegard, comme une fonction linéaire des bandes interdites des

semiconducteurs qui le composent (Équation V.4).<sup>20-25</sup> Cette loi a pu prédire avec succès la structure et la fonction de plusieurs alliages. Par exemple le spectre d'absorption des nanoparticules  $Ag_xAu_{(1-x)}$  suit une variation linéaire en fonction la composition de l'alliage.<sup>21,22</sup>

$$E_{alliage} = X \times E_A + (1 - X) \times E_B$$

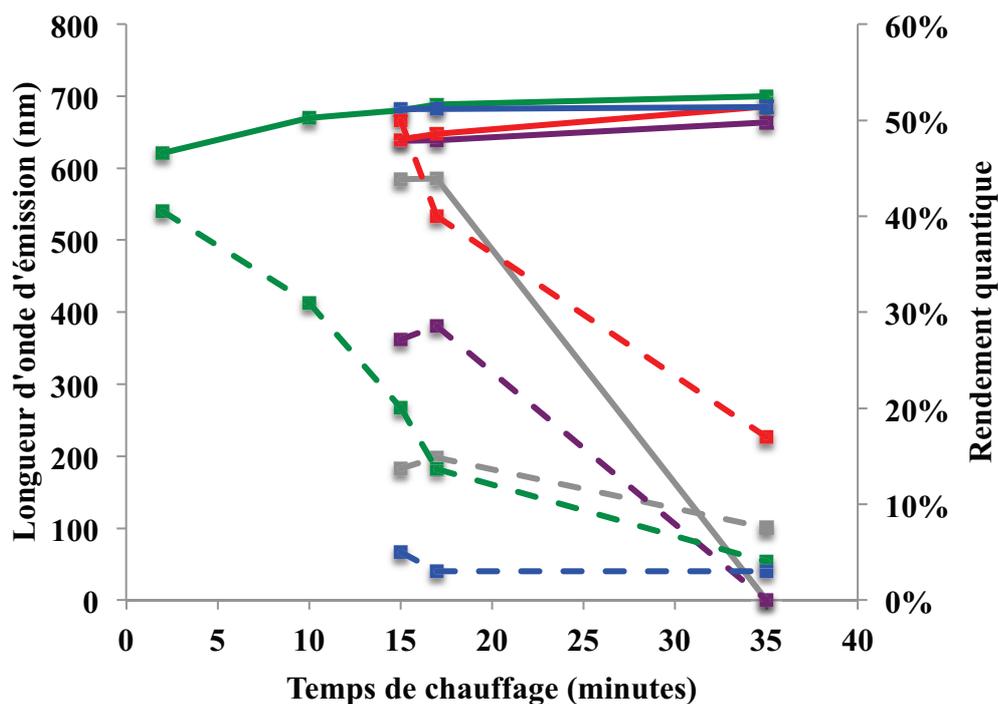
**Équation V.23**

Où

- X est la fraction molaire
- $E_A$ ,  $E_B$  et  $E_{alliage}$  sont les énergies de la bande interdite de A pur, de B pur et de l'alliage  $A_xB_{(1-x)}$

Cependant, cette relation linéaire ne s'applique pas sur toutes les classes de nanoalliages semi-conducteurs. En particulier, pour les nanoalliages de CdTeSe, ou une étude a montré l'existence d'une relation non-linéaire provoquée par un effet qui s'appelle « Optical Bowing ».<sup>27,28</sup> Cet effet est utilisé pour décrire la variation de la largeur de la bande interdite d'un alliage semi-conducteur. Il est connu pour être lié à la structure électronique et la déformation du réseau dans les alliages semi-conducteurs. Cependant, cette effet non linéaire n'est pas causé que par le confinement quantique, mais la taille peut être également un facteur contribuant.<sup>20</sup>

Afin d'étudier l'influence du ratio Se/Te sur les propriétés optiques des nanoparticules de  $CdTe_xSe_y$ , nous avons préparé des nanoparticules en phase aqueuse par irradiation micro-ondes en variant le ratio Se/Te (1/6, 1/1, 6/1, 7/1, 8/1) en fixant la stochiométrie de GSH à 4 équivalents. Les valeurs maximales des pics d'émission ainsi que les rendements quantiques correspondants sont représentés sur la Figure V.73. Comme attendu, un décalage du pic d'émission est observé au cours du chauffage, qui correspond à la diminution de la bande interdite suite à la croissance des nanoparticules. L'augmentation du ratio molaire Se/Te est accompagnée d'une diminution de la bande associée à l'incorporation de Se. Les meilleures propriétés optiques sont obtenues avec un ratio molaire de Se/Te = 6/1, à savoir un rendement quantique de 50 % à 640 nm et un maximum de décalage de la longueur d'onde d'émission de 686 nm avec un rendement de 17 %.

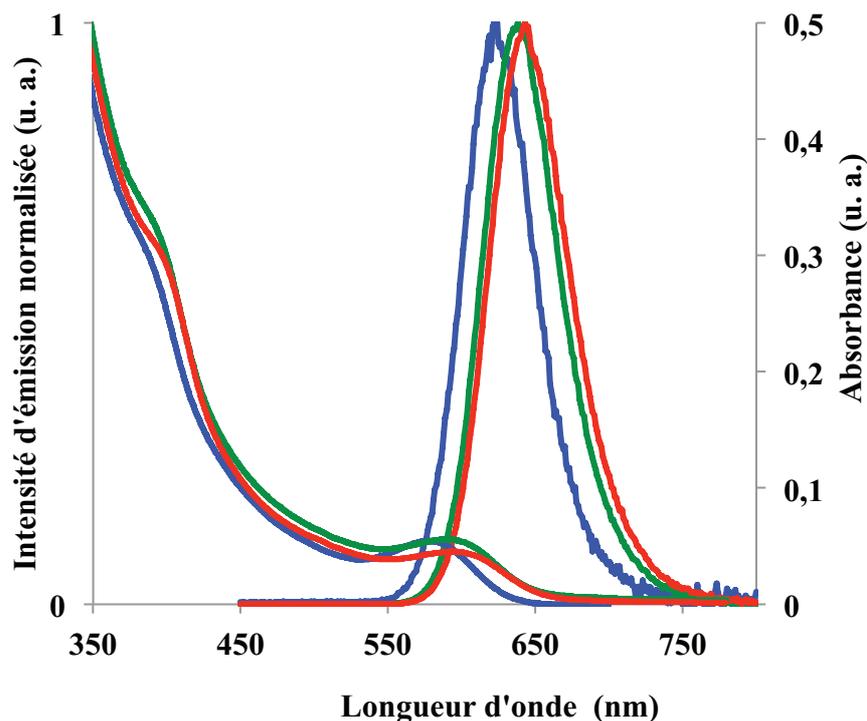


**Figure V.73 :** Longueurs d'onde d'émission (traits continus) et rendements quantiques correspondants (traits discontinus) pour 5 rapports Se/Te différents (1/6 (gris), 1/1 (violet), 6/1 (rouge), 7/1 (vert), 8/1 (bleu)) ( $\lambda_{\text{ex}} = 430 \text{ nm}$ , 4 équivalents de GSH).

À la suite de cette étude, les paramètres de préparation des nanoparticules ont été fixés comme suit :

- Une stœchiométrie de Cd/Se/Te/GSH = 8/6/1/4.
- Une température de chauffage de 120 °C.

Pour vérifier la reproductibilité de la synthèse, plusieurs essais ont été effectués. La Figure V.74 montre les spectres d'absorption et d'émission pour 3 différents temps de chauffage. Après 15 minutes de chauffage, des nanoparticules émettant à 638 nm avec un rendement quantique de 52 % sont obtenues et un rendement quantique de 40 % à 648 nm est enregistré après 17 minutes de chauffage, ce qui correspond bien aux résultats obtenus lors de l'étape d'optimisation. Cependant, après 11 minutes de chauffage un rendement quantique plus élevé (60 % à 620 nm) est obtenu. Il faut noter aussi l'apparition d'une bande d'absorption à 385 nm, liée à la formation de CdS à la surface des nanoparticules suite à la décomposition de glutathion au cours de la réaction (cf. Chapitre I).



**Figure V.74:** Evolution de spectres d'absorption (traits discontinus) et de spectres d'émission (traits continus,  $\lambda_{\text{ex}} = 430$  nm) des nanoparticules de  $\text{CdTe}_x\text{Se}_y\text{S}_z$  (0.01 M TRIS-HCl, pH 7.4) pour 3 différents temps de réaction à 120 °C (11 min pour  $\text{QD}_{623}$ ; bleu, 15 min pour  $\text{QD}_{638}$ ; vert et 17 min pour  $\text{QD}_{648}$ ; rouge)

La mesure de diffraction des rayons X sur une poudre de  $\text{QD}_{623}$  (Figure V.75) confirme que les nanoparticules possèdent une structure cristalline de type Zinc blende, ce qui est aussi caractéristique des nanoparticules de  $\text{CdTe}_x\text{S}_y$  synthétisées précédemment (cf. Chapitre I). La position du pic de  $\text{QD}_{623}$  se trouve entre une position du pic caractéristique de CdSe pur et de CdS pur et confirme la présence de CdS à la surface des nanoparticules. Cela confirme encore une fois la décomposition de glutathion pour générer les ions sulfures.

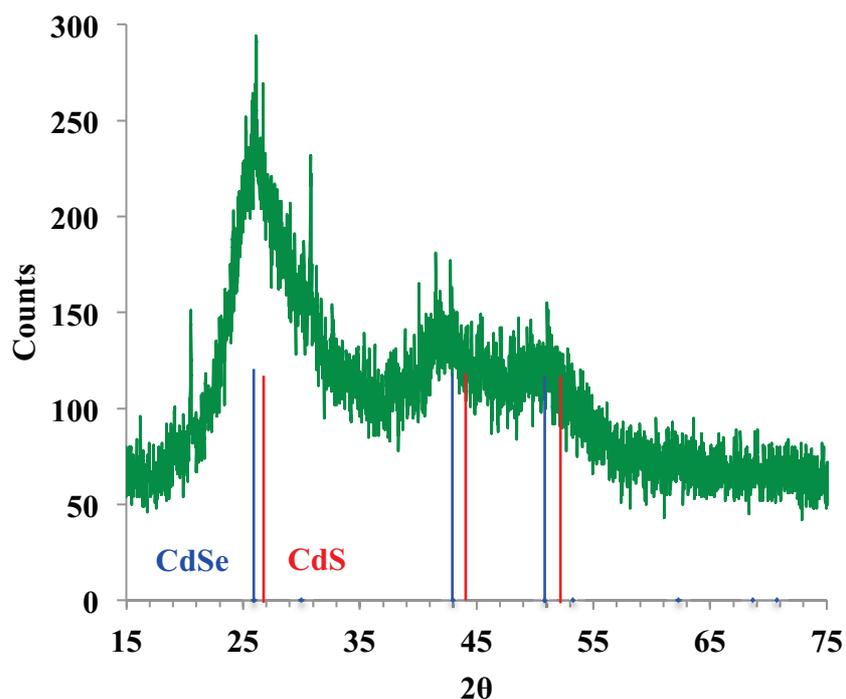


Figure V.75 : Diagramme de diffraction des rayons X de QD<sub>623</sub>

#### 4. Conclusion

Dans ce chapitre nous avons montré une synthèse facile de nanoparticules émettant dans le proche infrarouge avec de bonnes propriétés optiques. Des nanoparticules de CdTeHg stabilisées par le L-glutathion ont été synthétisées en phase aqueuse à température ambiante. Elles présentent des propriétés optiques intéressantes, à savoir un rendement quantique de 40 % à 800 nm. Cependant, comme la préparation s'effectue à température ambiante, la croissance de ces nanoparticules continue même après les avoir isolées causant le décalage du spectre d'émission et la chute du rendement quantique. Les nanoparticules de CdTe<sub>x</sub>Se<sub>y</sub>S<sub>z</sub> se présentent comme une alternative stable. Après une optimisation de la synthèse, en jouant sur le nombre d'équivalent du ligand (L-glutathion) à la surface et sur le rapport molaire Se/Te, nous avons pu préparer en phase aqueuse des nanoparticules émettant à 620 nm avec un rendement maximal de 60 %. A notre connaissance, la littérature montre peu de préparation de ce type de nanoparticules en phases aqueuse, et le rendement quantique maximum enregistré et de 50 % à 610 nm.<sup>8</sup>

## 5. Bibliographie

1. Weissleder, R. & Ntziachristos, V. Shedding light onto live molecular targets. *Nat. Med.***9**, 123–128 (2003).
2. H. Sargent, E. Infrared Quantum Dots. *Adv. Mater.***17**, 515–522 (2005).
3. Pauli, J., Vag, T., Haag, R., Spieles, M., Wenzel, M., Kaiser, W.A., Resch-Genger, U. & Hilger I. An in vitro characterization study of new near infrared dyes for molecular imaging. *Eur. J. Med. Chem.***44**, 3496–3503 (2009).
4. Leubner, S., Schneider, R., Dubavik, A., Hatami, S., Gaponik, N., Resch-Genger, U. & Eychmüller A. Influence of the stabilizing ligand on the quality, signal-relevant optical properties, and stability of near-infrared emitting Cd<sub>1-x</sub>Hg<sub>x</sub>Te nanocrystals. *J. Mater. Chem. C***2**, 5011–5018 (2014).
5. Gu, Y.-P., Cui, R., Zhang, Z.-L., Xie, Z.-X. & Pang, D.-W. Ultrasmall Near-Infrared Ag<sub>2</sub>Se Quantum Dots with Tunable Fluorescence for in Vivo Imaging. *J. Am. Chem. Soc.***134**, 79–82 (2012).
6. Cassette, E., Pons, T., Bouet, C., Helle, M., Bezdetnaya, L., Marchal, F. & Dubertret B. Synthesis and Characterization of Near-Infrared Cu–In–Se/ZnS Core/Shell Quantum Dots for In vivo Imaging. *Chem. Mater.***22**, 6117–6124 (2010).
7. Cai, W., Jiang, L., Yi, D., Sun, H., Wei, H., Zhang, H., Sun, H. & Bai Y. High Quality CdHgTe Nanocrystals with Strong Near-Infrared Emission: Relationship between Composition and Cytotoxic Effects. *Langmuir***29**, 4119–4127 (2013).
8. Song, L., Duan, J. & Zhan, J. One-pot Microwave Assisted Synthesis of Homogeneously Alloyed Cd<sub>6x</sub>Te<sub>1-x</sub> Nanocrystals with Tunable Photoluminescence. *Mater. Lett.***64**, 1843–1845 (2010).
9. Miao, S., Hickey, S. G., Rellinghaus, B., Waurisch, C. & Eychmüller, A. Synthesis and Characterization of Cadmium Phosphide Quantum Dots Emitting in the Visible Red to Near-Infrared. *J. Am. Chem. Soc.***132**, 5613–5615 (2010).
10. Wang, H., Lou, S., Tang, S., Xu, W., Shang, H., Shen, H. & Li, L.S.. Thiolate-assisted cation exchange reaction for the synthesis of near-infrared photoluminescent Hg<sub>x</sub>Cd<sub>1-x</sub>Te nanocrystals. *Dalton Trans.***41**, 12726–12732 (2012).
11. Harrison, M. T., Kershaw, S. V., Burt, M. G., Eychmüller, A., Weller, H. & Rogach, A. L. Wet chemical synthesis and spectroscopic study of CdHgTe nanocrystals with strong near-infrared luminescence. *Mater. Sci. Eng. B***69–70**, 355–360 (2000).
12. Mei, F., He, X.-W., Li, W.-Y. & Zhang, Y.-K. Preparation and characterization of CdHgTe nanoparticles and their application on the determination of proteins. *J. Fluoresc.***18**, 883–890 (2008).
13. Qian, H., Dong, C., Peng, J., Qiu, X., Xu, Y. & Ren, J. High-quality and water-soluble near-infrared photoluminescent CdHgTe/CdS quantum dots prepared by adjusting size and composition. *J. Phys. Chem. C***111**, 16852–16857 (2007).

14. Tsay, J. M., Pflughoeft, M., Bentolila, L. A. & Weiss, S. Hybrid Approach to the Synthesis of Highly Luminescent CdTe/ZnS and CdHgTe/ZnS Nanocrystals. *J. Am. Chem. Soc.***126**, 1926–1927 (2004).
15. Rogach, A. L. *et al.* Colloidally prepared CdHgTe and HgTe quantum dots with strong near-infrared luminescence. *Phys. Status Solidi B Basic Res.***224**, 153–158 (2001).
16. Harrison, M. T., Kershaw, S. V., Burt, M. G., Rogach, A. L., Kornowski, A., Eychmüller, A. & Weller, H. Colloidal nanocrystals for telecommunications. Complete coverage of the low-loss fiber windows by mercury telluride quantum dots. *Pure Appl. Chem.***72**, 295–307 (2000).
17. Taniguchi, S., Green, M. & Lim, T. The Room-Temperature Synthesis of Anisotropic CdHgTe Quantum Dot Alloys: A ‘Molecular Welding’ Effect. *J. Am. Chem. Soc.***133**, 3328–3331 (2011).
18. Chen, H., Li, L., Cui, S., Mahounga, D., Zhang, J. & Gu, Y. Folate conjugated CdHgTe quantum dots with high targeting affinity and sensitivity for in vivo early tumor diagnosis. *J. Fluoresc.***21**, 793–801 (2011).
19. Bailey, R. E. & Nie, S. One-pot aqueous synthesis of high quality near infrared emitting Cd<sub>1-x</sub>Hg<sub>x</sub>Te nanocrystals. *J. Mater. Chem.***19**, 9147–9152 (2009).
20. Bailey, R. E. & Nie, S. Alloyed Semiconductor Quantum Dots: Tuning the Optical Properties without Changing the Particle Size. *J. Am. Chem. Soc.***125**, 7100–7106 (2003).
21. Bailey, R. E., Strausburg, J. B. & Nie, S. A New Class of Far-Red and Near-Infrared Biological Labels Based on Alloyed Semiconductor Quantum Dots. *J. Nanosci. Nanotechnol.***4**, 569–574 (2004).
22. Xing, B., Li, W., Wang, X., Dou, H., Wang, L., Sun, K., He, X., Han, J., Xiao, H., Miao, J. & Li, Y. Highly-fluorescent alloyed quantum dots of CdSe<sub>1-x</sub>Te<sub>x</sub> synthesized in paraffin liquid: gradient structure and promising bio-application. *J. Mater. Chem.***20**, 5664–5674 (2010).
23. Piven, N., Susha, A. S., Döblinger, M. & Rogach, A. L. Aqueous Synthesis of Alloyed CdSe<sub>x</sub>Te<sub>1-x</sub> Nanocrystals. *J. Phys. Chem. C***112**, 15253–15259 (2008).
24. Wei, S.-H., Zhang, S. B. & Zunger, A. First-principles calculation of band offsets, optical bowings, and defects in CdS, CdSe, CdTe, and their alloys. *J. Appl. Phys.***87**, 1304–1311 (2000).
25. Vegard, L. Die Konstitution der Mischkristalle und die Raumfüllung der Atome. *Z. Für Phys.***5**, 17–26 (1921).
26. Mulvaney, P. Surface Plasmon Spectroscopy of Nanosized Metal Particles. *Langmuir***12**, 788–800 (1996).

27. Poon, H. C., Feng, Z. C., Feng, Y. P. & Li, M. F. Relativistic band structure of ternary II-VI semiconductor alloys containing Cd, Zn, Se and Te. *J. Phys. Condens. Matter* **7**, 2783 (1995).
28. Willardson, R. K. *Compound semiconductors* /. (1962).



## **Chapitre VI. Fonctionnalisation des nanoparticules luminescentes**



Comme nous l'avons vu dans le premier chapitre, les nanocristaux semi-conducteurs luminescents font partie des nanomatériaux les plus intéressants pour des applications dans de vastes domaines, en particulier celui de la biologie. Ils sont généralement recouverts d'une couche de ligands qui assure leur stabilité, leur solubilité et permet également la fonctionnalisation avec d'autres molécules. La fonctionnalisation des nanoparticules par des biomolécules est très importante pour développer des systèmes d'analyse, des sondes biologiques et des biosenseurs. Des enzymes<sup>7-8</sup> des anticorps<sup>9</sup> et des oligonucléotides<sup>10</sup> ont été couplés avec succès à la surface de nanoparticules.

Dans notre travail, nous montrons trois méthodes de fonctionnalisation :

- 1- La fonctionnalisation directe via un couplage peptidique.
- 2- La fonctionnalisation directe par un lien thioether entre une fonction maleimide et une fonction thiol d'un résidu cystéine.
- 3- Le couplage indirect par une interaction streptavidine/biotine.

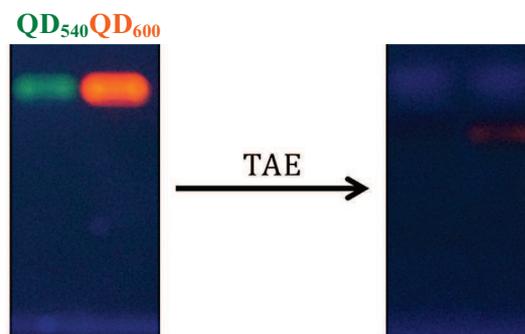
La confirmation de la fonctionnalisation des nanoparticules est très importante dans notre étude. Les nanoparticules fonctionnalisées sont caractérisées par l'augmentation de leur taille, volume et poids, dus à l'attachement de la biomolécule lors de la fonctionnalisation. Cette augmentation rend possible l'utilisation de différentes techniques de caractérisation. Plusieurs méthodes de séparation ont été décrites, mais la séparation par gel d'électrophorèse est la méthode la plus utilisée.<sup>1,2,3,4</sup>

### **1. Principe de la Migration sur gel d'agarose et mise au point des conditions**

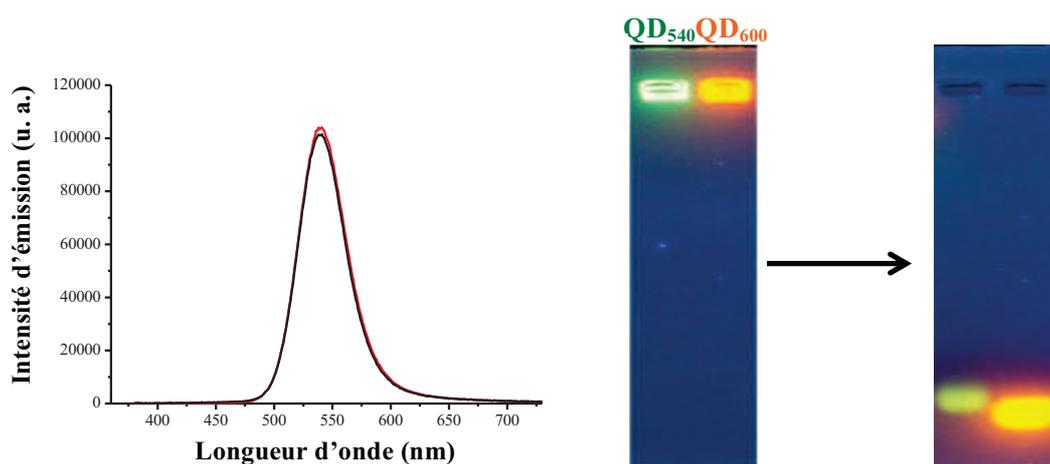
L'électrophorèse sur gel d'agarose est une méthode de séparation utilisée à la base pour séparer les biomolécules en fonction de leur taille et de leur charge électrique.<sup>5,6</sup> Elle se fait par migration de particules chargées sous l'influence d'un champ électrique. Dans cette partie, une petite étude a été réalisée pour déterminer les conditions optimales pour avoir une bonne séparation.

Dans un premier temps, pour la préparation du gel nous avons utilisé un tampon standard en suivant des protocoles décrits dans la littérature, à savoir un tampon TAE (Tris/Acétate/EDTA).<sup>1,2,3</sup> Cependant, les nanoparticules présentent une forte diminution voir une disparition de la luminescence après seulement 10 minutes lorsqu'elles sont solubilisées dans un tampon TEA (Figure VI.76). Le même phénomène a été observé pour le TBE (Tris/Borate/EDTA). Contrairement aux deux tampons TEA et TBE, le tampon HEPES se présente comme le tampon idéal pour conserver la luminescence initiale des nanoparticules. En effet, les nanoparticules conservent leur luminescence dans le tampon HEPES et il n'y a

quasiment pas de différence au niveau de l'intensité de luminescence entre l'eau et le tampon HEPES.

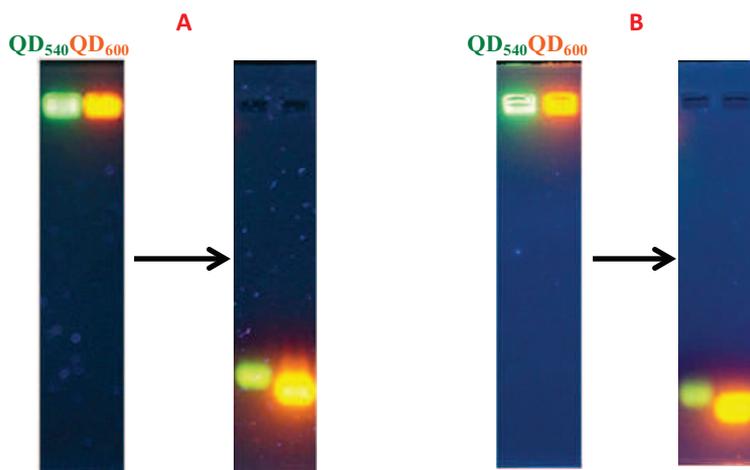


**Figure VI.76 :** Gel d'électrophorèse des nanoparticules **QD<sub>540</sub>** et **QD<sub>600</sub>** (Agarose 1% (m/v), 0.25% bleu de bromphenol et 30% glycerol, Tampon: 0.5 x TBE, Voltage: 100 V, Temps : 10 minutes)



**Figure VI.77 :** A) Spectre d'émission de **QD<sub>540</sub>** solubilisé dans l'eau (rouge) et dans un tampon HEPES (noir). B) Gel électrophorèse des nanoparticules **QD<sub>540</sub>** et **QD<sub>600</sub>** (Agarose 1% (m/v), 0.25% bleu de bromphenol et 30% glycerol, Tampon: HEPES 25 mM, Voltage: 100 V, Temps : 30 minutes).

Nous avons également étudié l'influence de la concentration en agarose sur la migration des nanoparticules. Pour cela nous avons effectué une autre migration sur un gel d'agarose à 0,5 (m/v) % en conservant les autres paramètres. La Figure VI.78 montre les résultats obtenus après 30 minutes de migration. Il n'existe pratiquement pas de différence entre une migration sur un gel d'agarose à 1 % et à 0,5 %. Cependant, nous remarquons un petit élargissement au niveau des puits de nanoparticules après migration sur un gel d'agarose à 0,5 %.



**Figure VI.78 :** Gel d'électrophorèse des nanoparticules **QD<sub>540</sub>** et **QD<sub>600</sub>** sur Agarose à 0,5 % (A) ou agarose à 1 % (B) (0.25% bleu de bromphenol et 30% glycerol, Tampon: HEPES 25 mM, Voltage: 100 V, Temps : 30 minutes)

Après cette étude concernant le choix du tampon de migration et la concentration du gel d'agarose, nous avons décidé d'utiliser le tampon HEPES pour la préparation du gel et pour la migration. La concentration du gel a été fixée à 1% pour la suite du travail.

## 2. Couplage direct par liaison peptidique

Comme nous l'avons vu dans le chapitre III, la fonctionnalisation du Rouge du Nil à la surface des nanoparticules a été effectuée par un couplage peptidique classique en activant les fonctions acide carboxylique du glutathion avec de la N-hydroxysuccinimide (NHS) en présence de N-(3-diméthylaminopropyl)-N-éthylcarbodiimide (EDC). Le même protocole décrit précédemment (cf. chapitre III) a été répété pour introduire des biomolécules à la surface des nanoparticules.

### 2.1. Fonctionnalisation par des biomolécules

Dans un premier temps, nous avons effectué un couplage avec la BSA (albumine de sérum bovin) qui est une protéine extraite du sérum de bœuf. Son poids moléculaire est de 66430 Da et elle est composée de 583 acides aminés.<sup>11</sup> La fonctionnalisation avec la BSA sert comme un modèle pour mettre au point les conditions de couplage (§2.1.1). Un deuxième couplage a été réalisé entre les nanoparticules (**QD<sub>602</sub>**,  $\lambda_{em} = 602$ ,  $\Phi = 47$  %) et la streptavidine (§2.1.2) qui est une protéine tétramérique de fort poids moléculaire (52 kDa) isolée à partir des bactéries du genre streptomyce.<sup>12</sup> À la surface de chaque unité de la streptavidine se trouvent 24 résidus de type lysines et donc au moins autant d'amines libres potentielles pour permettre le couplage avec des nanoparticules à travers la formation de liaisons peptidiques. La

streptavidine a une forte constante d'affinité avec la biotine ( $K_d \approx 10^{-15} \text{ mol}^{-1}$ )<sup>13</sup> ce qui vaut à ce couple substrat/récepteur d'être souvent utilisé pour le diagnostic et pour l'étude d'interactions spécifiques. Avoir des nanoparticules streptavidinylées nous ouvre donc la porte à la fonctionnalisation avec des composés biotinylés (méthode indirecte). Une deuxième fonctionnalisation avec le PSR 222 qui un anticorps du cancer de la prostate est envisagée, afin de pouvoir détecter et quantifier l'antigène TPSA par des expériences de transfert d'énergie (§2.1.3). En effet, le cancer de la prostate, apparaissant majoritairement chez l'homme de plus de cinquante ans, est le cancer le plus fréquent de l'individu masculin. Il se manifeste par un taux anormalement élevé de TPSA (Total Prostate Specific Antigen) dans le sérum d'un patient. La dernière fonctionnalisation directe concerne l'introduction de complexe de Cu (II) à la surface des nanoparticules (§2.1.4).

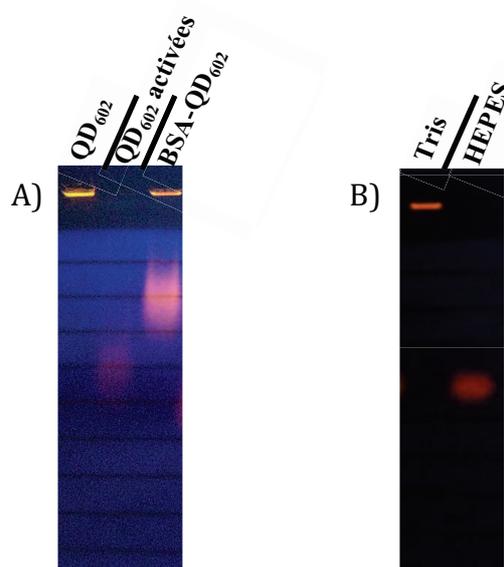
### 2.1.1. Couplage avec la BSA

Grace à ses amines libres contenues sur les lysines, la BSA peut se lier via une liaison peptidique à la surface des nanoparticules. Les nanoparticules (**QD**<sub>602</sub>,  $\lambda_{em} = 602$ ,  $\Phi = 47\%$ ) ont été activées avec 1000 équivalents d'EDC et 500 équivalent de NHS dans un tampon TRIS (0,01 M pH = 7,4). Ce couplage nous sert de modèle pour fixer les paramètres expérimentaux de la fonctionnalisation à savoir le solvant, la concentration des réactifs et le temps de la réaction.

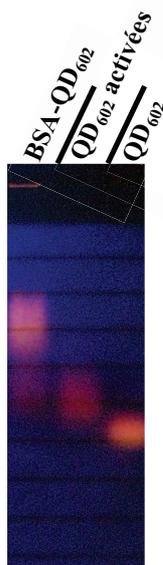
Le choix du solvant joue un rôle très important pour bien réussir la procédure de couplage, il doit satisfaire une condition importante qui est la solubilité des réactifs. Dans notre cas il s'agit d'un milieu aqueux puisque les nanoparticules et les biomolécules sont solubles dans l'eau. De plus, sous certaines conditions de pH, les nanoparticules précipitent et forment des agrégats, ce qui rend la procédure de couplage difficile. À cet effet, un solvant tamponné a pH 7 a été utilisé pour conserver la répulsion électrostatique entre les charges négatives des acides carboxyliques des molécules de glutathion ( $pK_{a1} = 3.59$ ,  $pK_{a2} = 8.75$ ,  $pK_{a3} = 9.65$ ). Le produit intermédiaire (nanoparticules activées en ester NHS) n'a pas été isolé et a été utilisé directement pour l'étape qui suit pour éviter une possible hydrolyse rapide des esters de type N-hydroxysuccinimide.<sup>14</sup>

La Figure VI.79.A illustre les résultats du gel d'électrophorèse des nanoparticules libres, activées et couplées à la BSA. Les nanoparticules couplées migrent moins rapidement que les nanoparticules activées. Cela est probablement lié au poids additionnel de la BSA ajouté à la surface des nanoparticules. Contrairement à ce qui été attendu, les nanoparticules libres **QD**<sub>602</sub> restent immobiles (Figure VI.79.A). Ce phénomène peut s'expliquer par la neutralisation de la

charge des nanoparticules par le TRIS. Pour confirmer cette hypothèse, nous avons effectué des tests de migration sur gel d'agarose avec un autre lot de nanoparticules (**QD<sub>602</sub>**) dissoutes dans le TRIS (0,01 M, pH = 7,4) et dans de l'HEPES (0,02 M, pH 7,6). La Figure VI.79.B montre les résultats obtenus après 2h de migration. Les nanoparticules solubilisés dans le TRIS restent immobiles contrairement aux nanoparticules solubilisées dans l'HEPES. Nous avons alors décidé de réaliser le couplage dans un autre tampon (HEPES 0,02 M, pH 7,6), mais les résultats d'électrophorèse sur gel montrent que l'étape de fonctionnalisation n'est pas complète (Figure VI.80). Cela se traduit pas la présence d'une fraction de nanoparticules activées n'ayant pas réagi.



**Figure VI.79** : A) Gel électrophorèse de **QD<sub>602</sub>**, **QD<sub>602</sub> activées** et de **QD<sub>602</sub> couplées** à la BSA dans le TRIS (0,01 M, pH = 7,4). B) **QD<sub>602</sub>** solubilisées dans le TRIS (0,01 M, pH = 7,4) et dans l'HEPES (0,02 M, pH = 7,6) (Agarose 1%, 0.25% bleu de bromphenol et 30% glycérol, Tampon: HEPES 25 mM, Voltage: 30 V, Temps : 2 h)



**Figure VI.80 :** Gel électrophorèse de **QD<sub>602</sub>**, **QD<sub>602</sub> activées** et **QD<sub>602</sub> couplées** à la BSA dans l'HEPES (0,02 M, pH = 7,6)

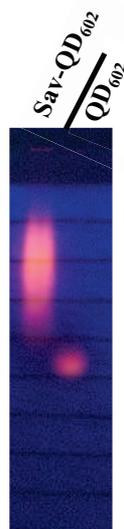
A la suite de ces résultats le protocole suivi pour le couplage est le suivant. L'activation des carboxylates des nanoparticules a été effectuée dans un tampon TRIS (0,01 M, pH = 7,4) avec 1000 équivalents de EDC et 500 équivalents de NHS pendant 20 minutes. 2 équivalents de BSA ont ensuite été ajoutés et le mélange a été laissé à réagir pendant 3 heures. Le mélange final a été concentré et purifié par ultrafiltration en utilisant de l'HEPES (0,02 M, pH = 7,6). Le seuil en poids moléculaire de la membrane est de 100 kDa. Cette étape nous permet non seulement d'éliminer les produits de départ n'ayant pas réagi (excès d'agent de couplage par exemple) mais aussi de changer le tampon TRIS par un tampon HEPES (0,02 M, pH = 7,6). Un test a été effectué sur des nanoparticules dissoutes dans un tampon TRIS. Il consiste à échanger le tampon par plusieurs cycles d'ultrafiltration en utilisant une membrane de 50 kDa et les résultats présentés dans la figure VI.6 montrent que les nanoparticules retrouvent leur totale mobilité après 12 cycles de lavage (Figure VI.81).



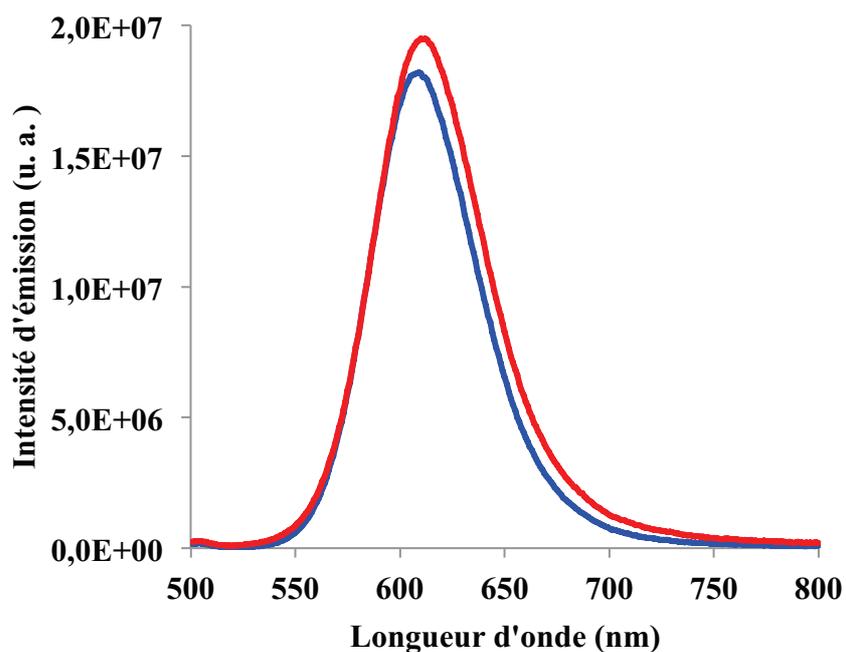
**Figure VI.81** : Gel d'agarose des **QD<sub>602</sub>** en fonction du nombre de cycle de lavage (Agarose 1%, 0.25% bleu de bromphenol et 30% glycerol, Tampon: HEPES 25 mM, Voltage: 30 V, Temps : 2h15)

### 2.1.2. Couplage avec la streptavidine

La fonctionnalisation a été réalisée en suivant le protocole décrit précédemment et a été mise en évidence par gel électrophorèse (Figure VI.82). Comme attendu, les nanoparticules non couplées migrent rapidement par rapport aux nanoparticules couplées du fait de la différence de taille. Il faut noter que les nanoparticules conservent bien leurs luminescences après le marquage. La Figure VI.83 montre les spectres d'émission avant et après le coulage. le rendement quantique après le couplage est similaire à celui avant le couplage de (48 %). Cependant un décalage de quelques nanomètres a été observé.



**Figure VI.82** : Gel d'électrophorèse de A) **QD<sub>602</sub>**, **QD<sub>602</sub> activées** et **QD<sub>602</sub> couplées** à la streptavidine (**Sav- QD<sub>602</sub>**) (Agarose 1%, 0.25% bleu de bromphénol et 30% glycérol, Tampon: HEPES 25 mM, Voltage: 30 V, Temps : 1h30)



**Figure VI.83** : Spectre d'émission de **QD<sub>602</sub>** avant (bleu) et après (rouge) le couplage avec la streptavidine ( $\lambda_{ex} = 430$  nm, HEPES 0,02 M, pH = 7,6)

Les nanoparticules couplées à la streptavidine ont été testées dans un système de transfert d'énergie avec un complexe de lanthanide biotinylé. Ces travaux ont été réalisés au sein du laboratoire du Professeur Niko Hildebrandt à l'université de Paris-sud. Les nanoparticules ont été utilisées comme accepteur d'énergie. Le donneur d'énergie est un complexe de terbium. De tels complexes sont connus pour leurs propriétés optiques très intéressantes en

microscopie résolue en temps, du fait temps de vie longs (de l'ordre de la ms). Ils sont très souvent utilisés comme donneur d'énergie dans des systèmes de transfert d'énergie de type Förster.<sup>15</sup> Nous avons utilisé un complexe de terbium biotinylé synthétisé au laboratoire dans les travaux de thèse du Dr. Katia Nchimi Nono (Figure VI.84).<sup>16</sup> La proximité entre le donneur et l'accepteur est assurée par l'interaction forte entre la biotine et la streptavidine. Malheureusement, après plusieurs tentatives, aucune variation au niveau de temps vie ou de l'intensité d'émission du complexe de terbium n'a pu être observée.

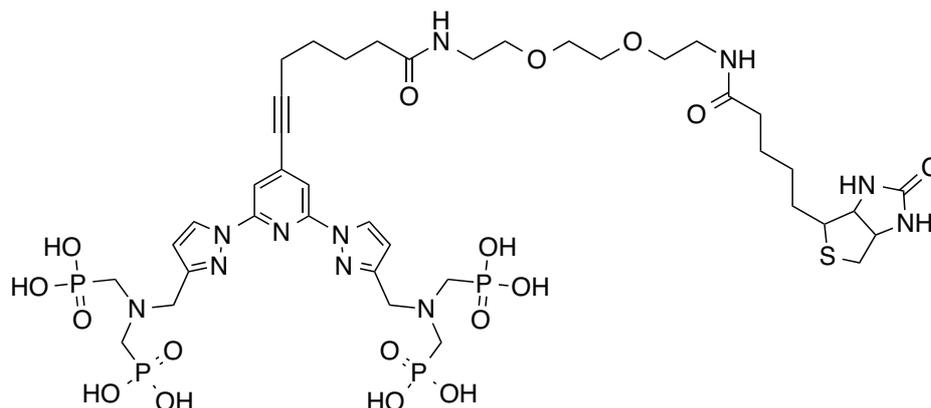


Figure VI.84 : ligand biotinylé utilisé pour la complexation du terbium <sup>16</sup>

### 2.1.3. Couplage avec l'anticorps du cancer de la prostate PSR222

Le couplage a été effectué avec 2 équivalents d'anticorps en suivant le protocole décrit précédemment. La détermination du taux de couplage a été réalisée en collaboration avec l'équipe du Pr Niko Hildebrandt par deux méthodes distinctes, la méthode de Bradford <sup>17</sup> et la spectroscopie UV-Visible.

La méthode de Bradford est une technique basée sur la mesure de l'absorbance d'un colorant (le bleu de Coomassie, (Figure VI.85)) dont le maximum d'absorption varie selon sa forme (libre ou fixée à des protéines). La solution de bleu de Coomassie est caractérisée par une coloration jaune ou verte lorsque le pH est acide et les sulfonates sont sous leur forme protonée. Le maximum d'absorption est alors situé entre 465 et 470 nm. La molécule est sous sa forme déprotonée lorsqu'elle se lie aux protéines et la solution change de coloration et devient bleue avec un maximum d'absorption à 595 nm. La concentration des protéines est donc déduite par la mesure de l'absorbance à cette longueur d'onde.

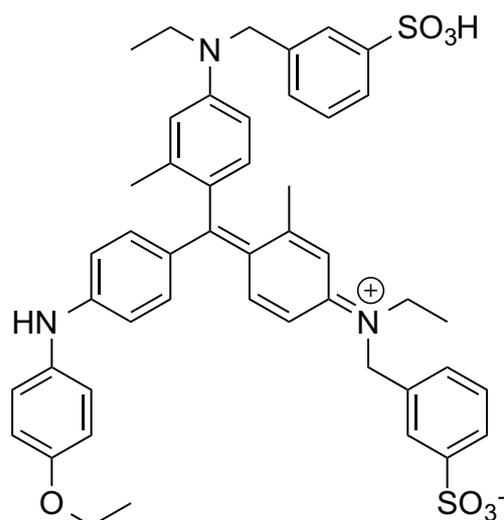


Figure VI.85 : Formule développée du bleu de Coomassie

Une courbe de calibration linéaire avec de l'albumine sérique bovin (BSA) est d'abord mesurée dans la gamme de concentrations visées (Figure VI.86).

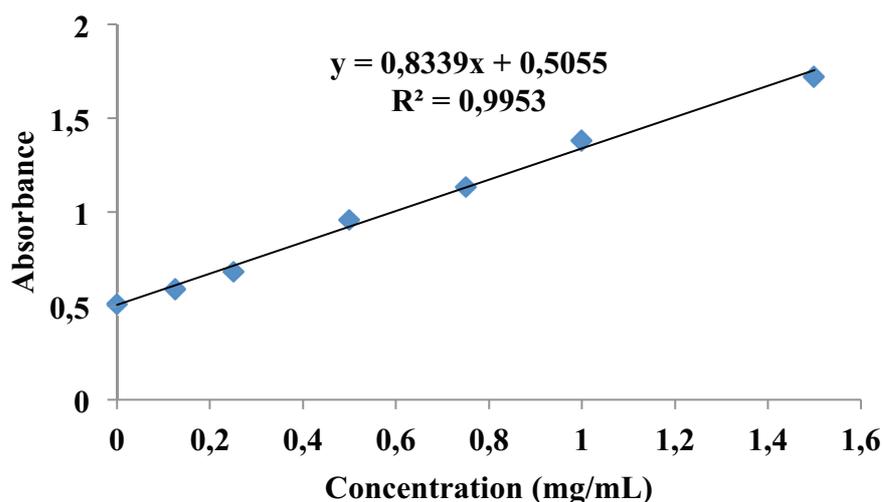
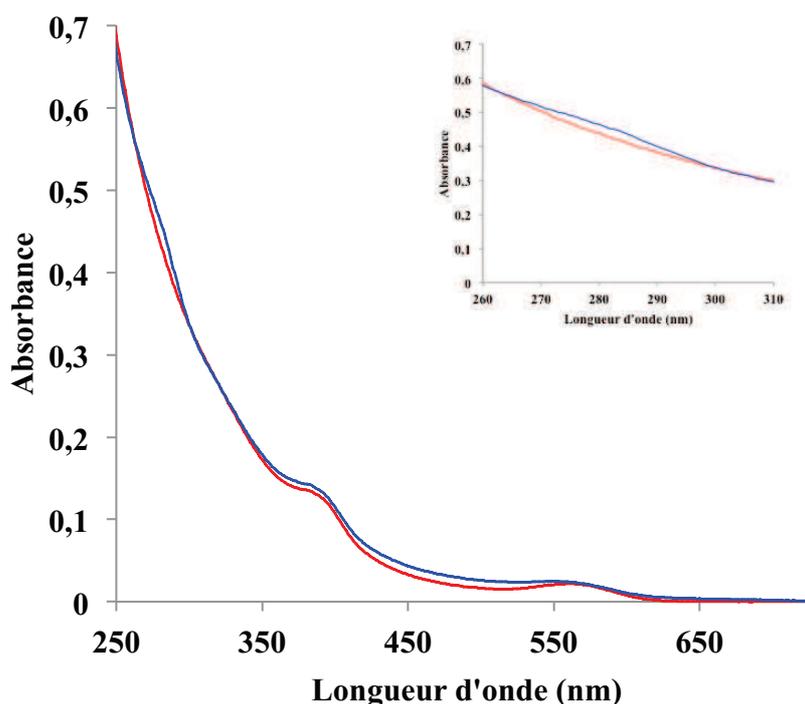


Figure VI.86 : Courbe de calibration obtenue avec la BSA comme standard du test de Bradford (Absorption 595 nm)

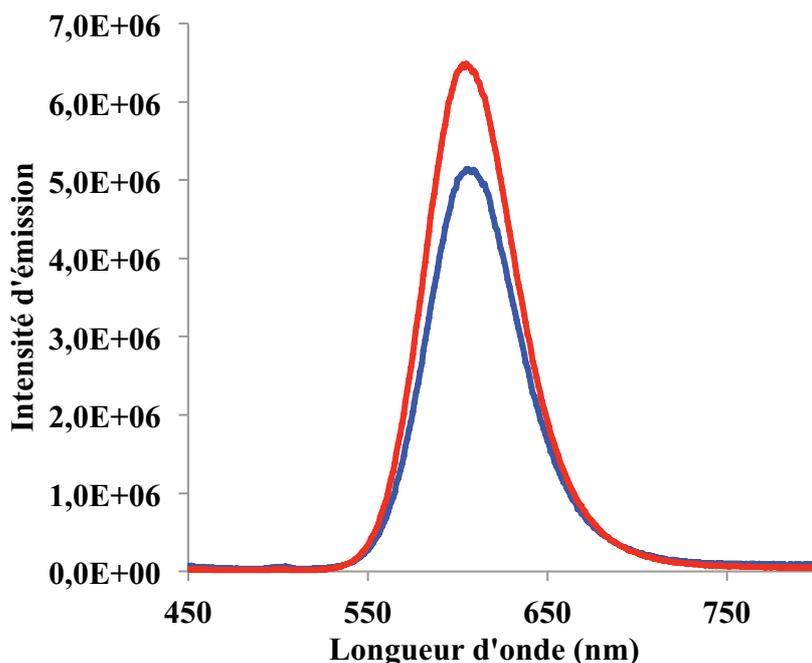
Dans un second temps, la concentration de l'anticorps a été déterminée par la mesure de la densité optique à 595 nm et elle est de 5,93  $\mu\text{M}$ . Cette concentration a été calculée par une deuxième méthode basée sur la spectroscopie UV-Visible. La Figure VI.87 montre les spectres d'absorption des nanoparticules libres et des nanoparticules couplées aux anticorps. Une concentration en anticorps de 4,17  $\mu\text{M}$  a été calculée à 280 nm ( $\epsilon_{\text{PSR222}} = 150000 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ) en appliquant la relation de Beer-Lambert. De la même manière, nous avons calculé la concentration des nanoparticules **QD<sub>602</sub>** mais cette fois-ci à 320 nm ( $\epsilon_{\text{QD602}} = 538897$

$M^{-1}.cm^{-1}$ ), une valeur de  $17 \mu M$  a été trouvée. Le taux de couplage a été donc déduit à partir du ratio molaire (PSR222/QD<sub>602</sub>) et les valeurs trouvées sont de 34 % pour la méthode de Bradford et de 25 % pour l'absorption. La différence entre les deux valeurs est liée aux erreurs expérimentales, en particulier pour la méthode de Bradford. Il faut noter que les résultats du gel d'électrophorèse indiquent clairement l'absence de la bande caractéristique des nanoparticules libres, alors que le taux de couplage indique une moyenne de 25 % (35 % par Bradford) de couplage seulement. Ce résultat pourrait être interprété par le couplage d'au moins trois nanoparticules par anticorps.



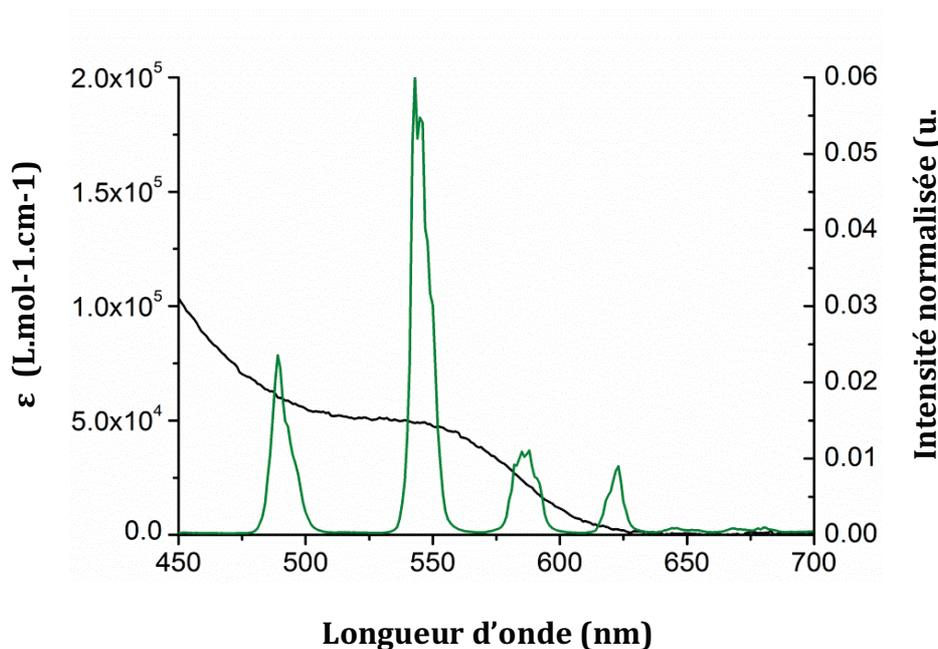
**Figure VI.87** : Spectres d'absorption de QD<sub>602</sub> non couplées (rouge) et QD<sub>602</sub> couplées aux PSR 222 (PSR222-QD<sub>602</sub>) (bleu)

La Figure VI.88 illustre les spectres d'émission des nanoparticules non couplées et des nanoparticules couplées. Nous remarquons un faible décalage de la longueur d'onde de 3 nm, accompagné par une faible diminution du rendement quantique, ce dernier passant de 47 % à 41 %, de l'ordre de l'erreur expérimentale de mesure.



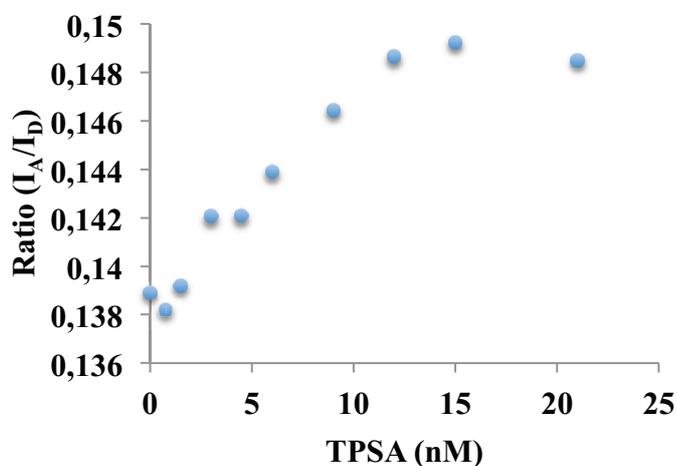
**Figure VI.88** : Spectres d'émission de **QD<sub>602</sub>** non couplées (rouge) et **QD<sub>602</sub>** couplées aux PSR 222 (**PSR222-QD602**) (bleu)

Les nanoparticules couplées au PSR 222 ont été également testées comme accepteur dans un système de transfert d'énergie. Cette fois le complexe de terbium Lumi-4 conjuguée à l'anticorps secondaire PSS 233 (anticorps du cancer de la prostate) a été utilisé comme donneur, et le rapprochement entre les deux entités se fait par reconnaissance anticorps/antigène. L'expérience consiste à mettre le PSR222-QD<sub>602</sub> et PSS233-Lumi4Tb en présence de TPSA qui conduit à la formation d'un immunocomplexe comme décrit en introduction (Figure I.16). La Figure VI.89 montre le recouvrement spectral entre le spectre d'émission du complexe de terbium et le spectre d'absorption des nanoparticules **QD<sub>602</sub>**. L'intégrale de recouvrement est de  $3,48 \times 10^{15} \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{nm}^4$  et a été calculée à partir de l'équation I.3. En utilisant l'équation I.4, un rayon de Förster  $R_0$  de 58 Å a été déterminé.



**Figure VI.89** : Spectre d'émission du complexe de lanthanide (vert) et d'absorption de **QD<sub>602</sub>** (noir),  $\lambda_{ex} = 445$  nm

La Figure VI.90 montre une faible variation du ratio des intensités de luminescence donneur/accepteur en fonction de la quantité de TPSA ajoutée ce qui confirme le transfert d'énergie de Lumi4Tb vers **QD<sub>602</sub>**. En effet, l'ajout de TPSA est accompagné d'une augmentation de la luminescence des nanoparticules **QD<sub>602</sub>**. Cette augmentation est probablement la conséquence d'un transfert d'énergie de Lumi4Tb vers **QD<sub>602</sub>**. Cependant, aucune variation au niveau du temps de vie du complexe de terbium n'a été observée. Ce faible transfert d'énergie est peut être dû au faible taux de couplage.



**Figure VI.90** : Evolution du ratio ( $I_A/I_D$ ) en fonction de l'ajout de TPSA

#### 2.1.4. Couplage avec un chélate bifonctionnel du $^{64}\text{Cu}$ (II)

Ces travaux ont pour objectif de développer des agents de contraste bimodaux pour l'imagerie optique et la tomographie à émission de positons (TEP). Pour cela les nanoparticules ont été fonctionnalisées avec un chélate bifonctionnel du  $^{64}\text{Cu}$  (II) de type bispidine (Nommé  $\text{L}^6$ , Figure VI.91). Le chélate bifonctionnel de type bispidine a été synthétisé dans notre laboratoire par le Dr. Amandine Roux. Il possède des propriétés chimiques très intéressantes à savoir une constante de complexation très élevée pour le  $^{64}\text{Cu}(\text{II})$ , une bonne sélectivité du  $\text{Cu}(\text{II})$  par rapport aux  $\text{Zn}(\text{II})$ ,  $\text{Ni}(\text{II})$  et  $\text{Co}(\text{II})$  et une cinétique de complexation très rapide.

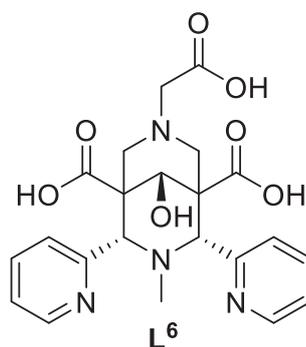


Figure VI.91 : Structure du chélate bifonctionnel du  $^{64}\text{Cu}$  de type bispidine ( $\text{L}^6$ )

Une fonction de couplage a été introduite afin de greffer le chélate bifonctionnel  $\text{L}^6$  à la surface des nanoparticules. Une fonction amine a été introduite pour donner le ligand  $\text{L}^{13}$  (Figure VI.92). Cette fonction permet de réaliser un couplage peptidique en activant les fonctions carboxylates des nanoparticules en ester NHS (Figure III.10).

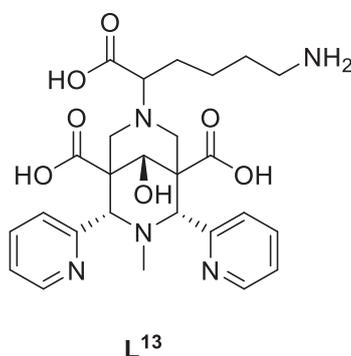


Figure VI.92 : Structure de ligand  $\text{L}^{13}$

Le couplage de  $L^{13}$  avec les nanoparticules  $QD_{602}$  a été réalisé en activant les fonctions carboxylates des nanoparticules avec 100 équivalents de EDC et 60 équivalents de NHS dans un tampon TRIS/HCl (0,01 M, pH = 7,4) pendant 20 minutes à température ambiante (Figure VI.93). 15 équivalents de  $L^{13}$  ont ensuite été ajoutés et le mélange est laissé à réagir à température ambiante pendant 3h. La purification de l'échantillon a été effectuée par ultrafiltration avec un tampon HEPES (0,02 M, pH = 7,6) en utilisant des membranes de 50 kDa afin d'éliminer les agents de couplage ainsi que le ligand n'ayant pas réagi.

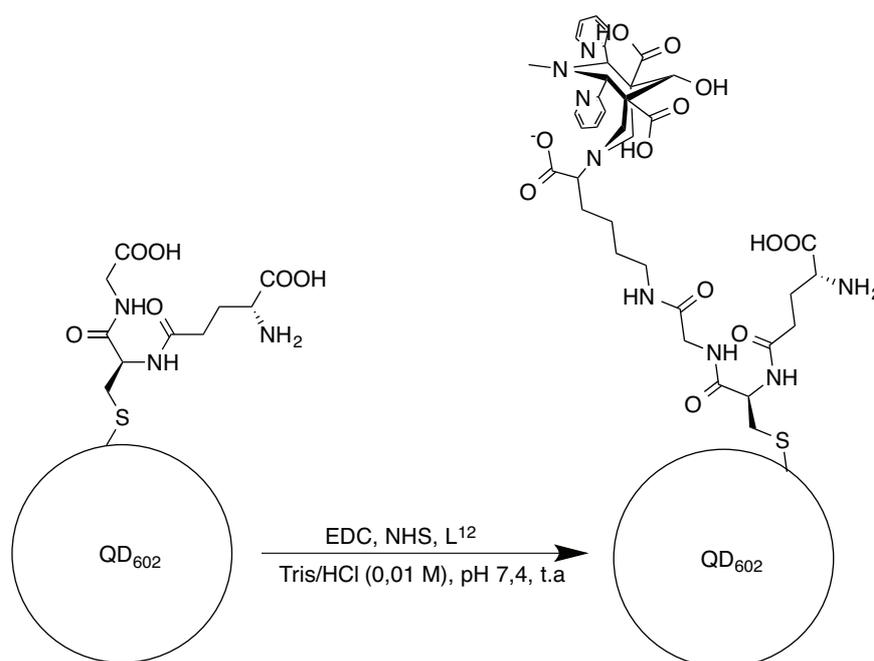
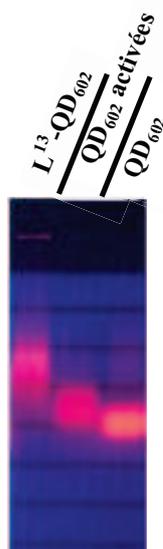
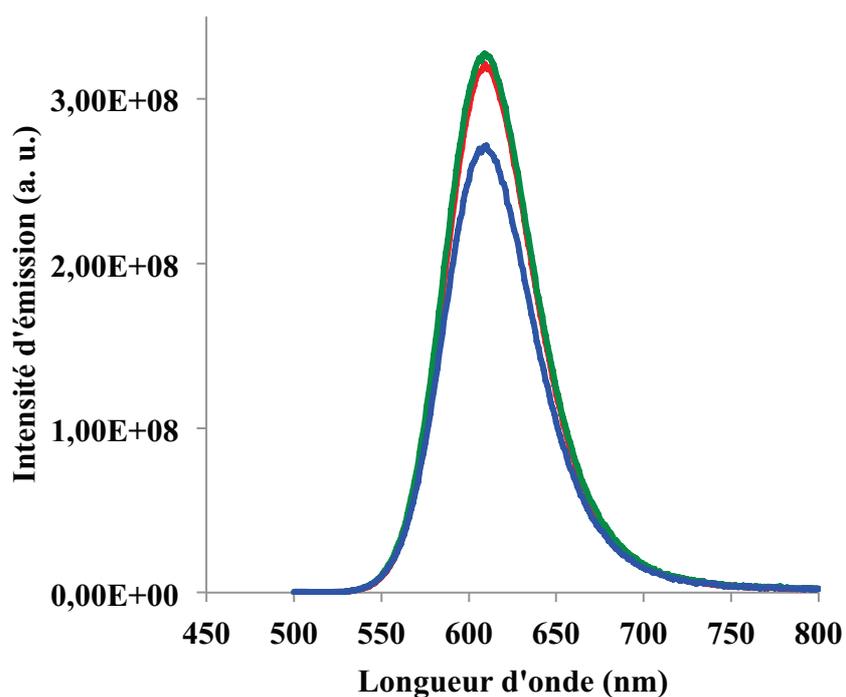


Figure VI.93 : Procédure de couplage du ligand  $L^{13}$  avec les nanoparticules  $QD_{602}$

Le couplage a été mis en évidence par gel d'électrophorèse (Figure VI.94). Les nanoparticules couplées à  $L^{13}$  migrent moins que les nanoparticules non couplées ainsi que les nanoparticules activées. Cela est dû au changement de l'état de charge de la surface ainsi que la taille des nanoparticules après la fonctionnalisation. Les propriétés optiques sont également mesurées après la fonctionnalisation. La Figure VI.95 montre le spectre d'émission des nanoparticules  $QD_{602}$ , les nanoparticules activées et les nanoparticules couplées au ligand  $L^{13}$ . Nous remarquons que la fonctionnalisation des nanoparticules par le ligand  $L^{13}$  est accompagnée d'une légère diminution de l'intensité d'émission. Le rendement quantique passe de 47 % à 42 %. Encore une fois, cette variation est de l'ordre de l'erreur expérimentale et n'est pas significative. Nous pouvons conclure que nous pouvons introduire un ligand du Cu(II) sans modifier les propriétés optiques des nanoparticules.



**Figure VI.94** : Gel d'électrophorèse de  $QD_{602}$ ,  $QD_{602}$  activées et  $QD_{602}$  couplées au  $L^{13}$  ( $L^{13}-QD_{602}$ ) (Agarose 1%, 0.25% bleu de bromphénol et 30% glycérol, Tampon: HEPES 25 mM, Voltage: 30 V, Temps : 1h15)

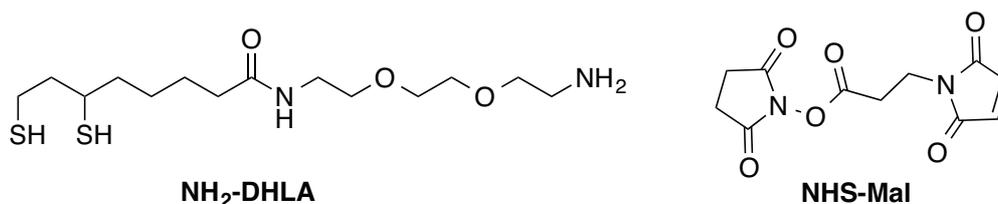


**Figure VI.95** : Spectres d'émission normalisés (d.o.<sub>430</sub> = constante) de  $QD_{602}$  (vert),  $QD_{602}$  activées (rouge) et  $QD_{602}$  couplées à  $L^{13}$  ( $\lambda_{ex} = 430$  nm, HEPES 0,02 M, pH = 7,6)

### 3. Couplage directe par un lien thioether

Le but de cette partie est d'obtenir des nanoparticules qui possèdent une fonction maléimide à la surface. Cela permet un couplage thio-ether avec les résidus cysteine des biomolécules, sans ajout d'agent de couplage ni purification. Pour cela un dérivé de DHLA

(Acide dihydrolipoïque) possédant une fonction amine (nommé  $\text{NH}_2\text{-DHLA}$ , Figure VI.96) a été choisi. Grâce à sa fonction amine facilement accessible, ce ligand offre la possibilité d'être couplé avec un dérivé de maléimide (nommé  $\text{NHS-Mal}$ , Figure VI.96) via un couplage peptidique. La fonction dithiol assure également un très bon accrochage à la surface des nanoparticules de façon plus stable qu'un monothiol.<sup>18</sup>



**Figure VI.96** : Formules développées du dérivé de l'acide dihydrolipoïque ( $\text{NH}_2\text{-DHLA}$ ) et du dérivé NHS de maléimide ( $\text{NHS-Mal}$ )

### 3.1.1. Synthèse de $\text{NH}_2\text{-DHLA}$ et $\text{NHS-Mal}$

La synthèse du  $\text{NH}_2\text{-DHLA}$  a été développée au sein du laboratoire. Cette synthèse est réalisée en trois étapes à partir d'un précurseur commercial ; l'acide lipoïque (Figure VI.97). Le groupe amine du composé 9 (obtenu par une réaction de monoprotection du bisaminotriéthylèneglycol par un groupement terbutylcarbonate), réagit avec l'acide carboxylique de l'acide lipoïque (LA) pour former un amide en présence de DCC et de NHS pour donner le composé 10. L'action de l'acide trifluoroacétique (TFA) à température ambiante sur le composé 10 permet de déprotéger l'amine avec un rendement de 80 %. La dernière étape consiste à réduire le pont disulfure en présence de  $\text{NaBH}_4$  dans  $\text{NaHCO}_3$  pour donner le composé  $\text{NH}_2\text{-DHLA}$ . Le composé est utilisé sans évaporation et sans purification pour éviter l'oxydation et la reformation de la liaison S-S.

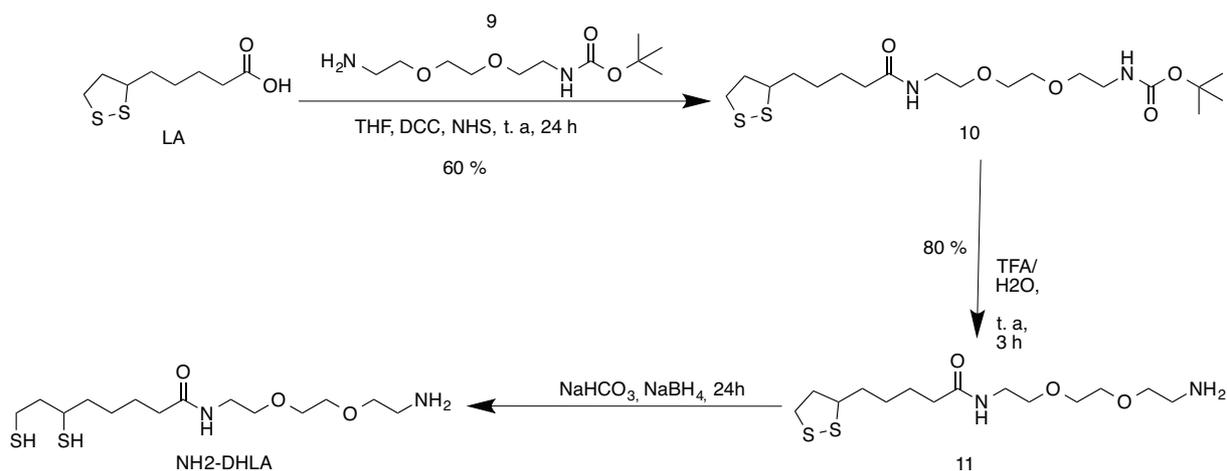


Figure VI.97 : Synthèse de  $\text{NH}_2\text{-DHLA}$

Par ailleurs le NHS-Mal a été synthétisé en deux étapes, à partir d'anhydride maleimidique (Figure VI.98). L'anhydride maleimidique réagit avec l'acide aminé à température ambiante pendant 4h. La fonction acide carboxylique du composé **13** a été activée à travers la formation d'un ester de N-hydroxysuccinimidyl et le composé **NHS-Mal** a alors été obtenu avec un rendement de réaction global de 40 %.

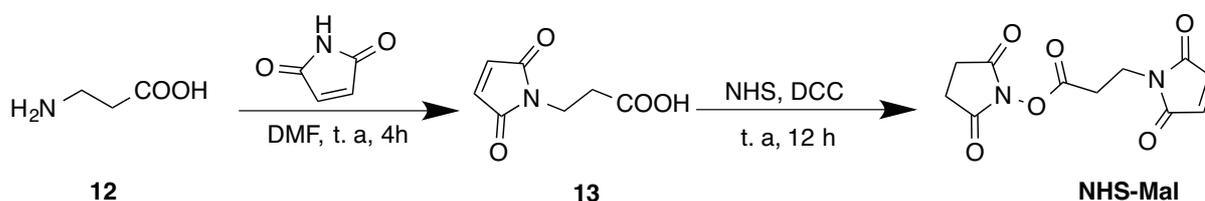


Figure VI.98 : Synthèse de NHS-Mal

### 3.1.2. Introduction de la fonction maleimide

L'introduction de la fonction maleimide se fait en deux étapes one pot<sup>19</sup> (Figure VI.99). La première étape consiste à échanger le L-glutathion à la surface des nanoparticules **QD<sub>638</sub>** ( $\lambda_{\text{em}} = 638 \text{ nm}$ ,  $\Phi = 52 \%$ ) par le **NH<sub>2</sub>-DHLA** et la deuxième étape consiste à réaliser un couplage peptique entre l'amine du **NH<sub>2</sub>-DHLA** à la surface des nanoparticule et NHS-maleimide.

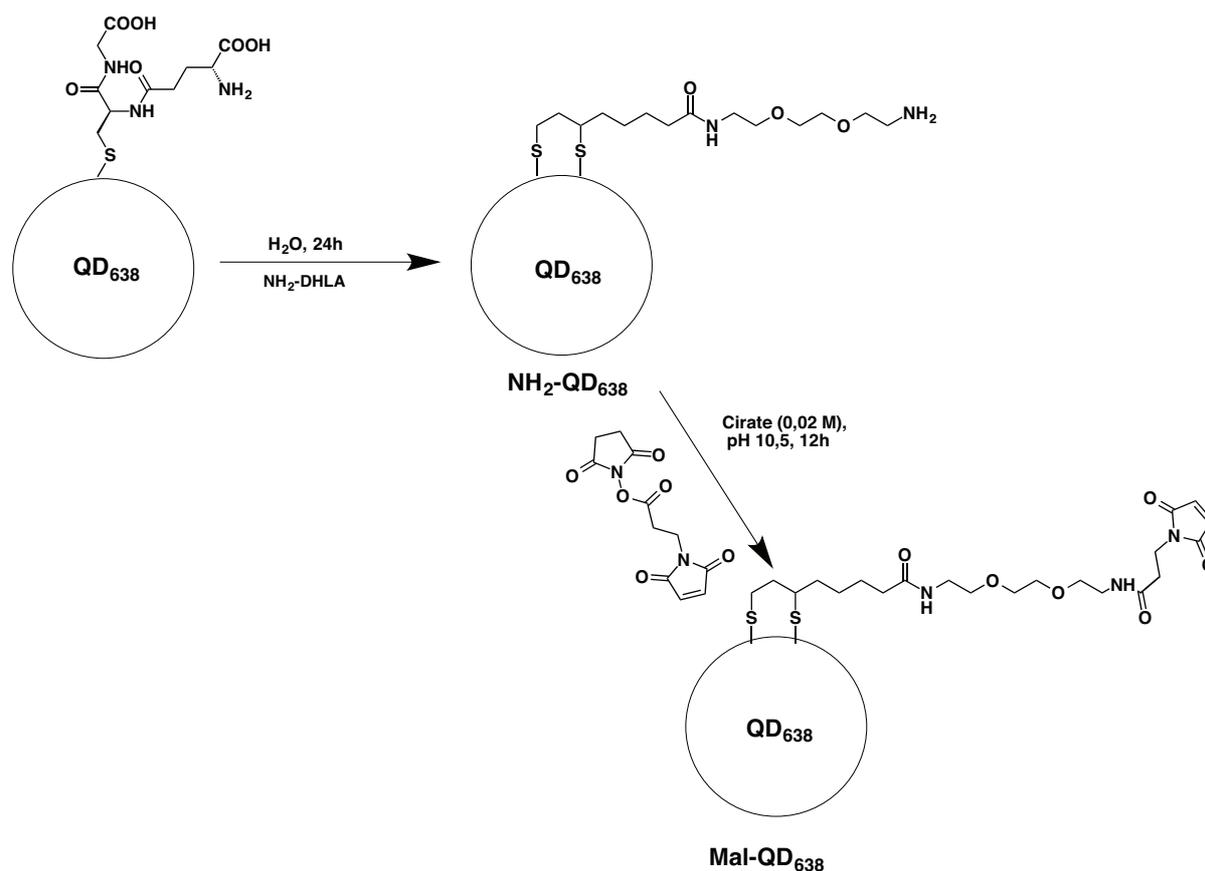
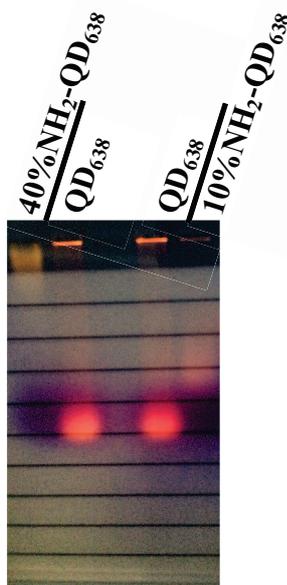


Figure VI.99 : Schéma d'introduction de la fonction maleimide

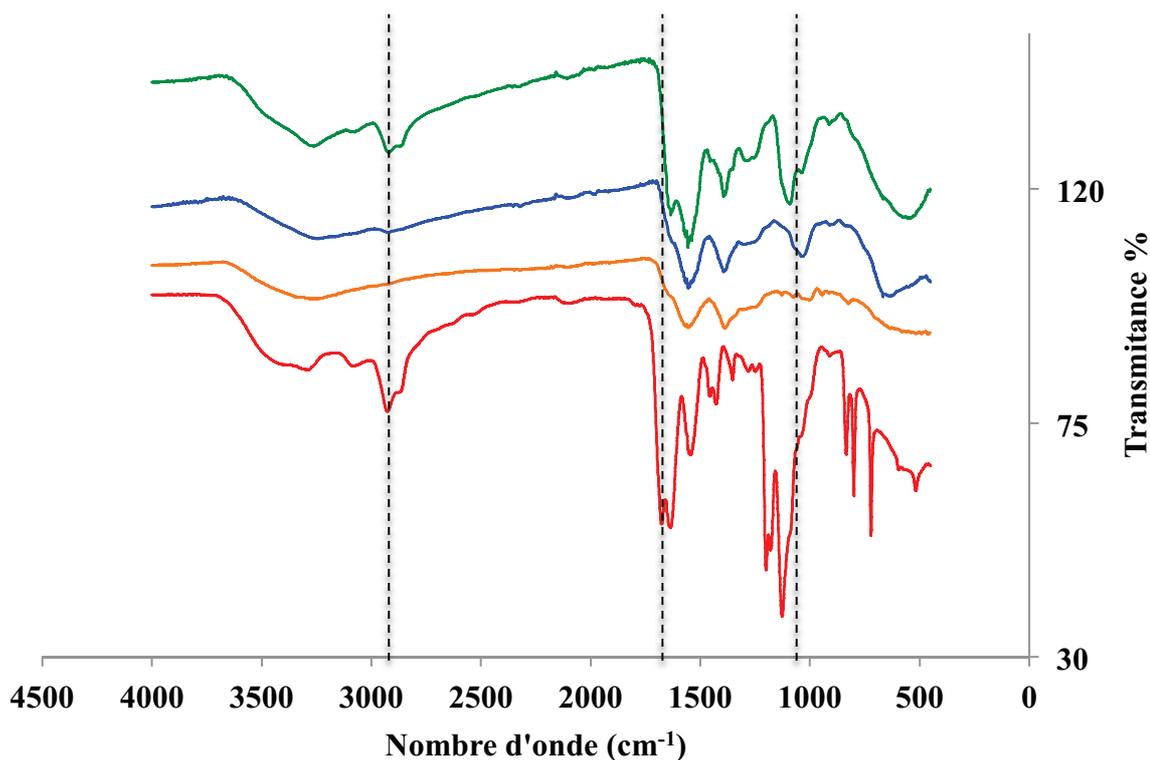
La première étape a été réalisée à température ambiante afin d'éviter le changement des propriétés optiques des nanoparticules. Dans un premier temps, nous avons effectué l'échange en ajoutant 40 % (nommé 40%NH<sub>2</sub>-QD<sub>638</sub>) et 10 % de NH<sub>2</sub>-DHLA (10%NH<sub>2</sub>-QD<sub>638</sub>). Le ligand a été ajouté à partir du brut réactionnel issu de la synthèse du ligand, c'est à dire en présence de NaBH<sub>4</sub> et de NaHCO<sub>3</sub>. Après quelques heures de réaction à température ambiante, la solution devient trouble. Les nanoparticules sont précipitées avec du méthanol, puis lavées 20 fois avec le méthanol afin d'éliminer l'excès de NH<sub>2</sub>-DHLA. Il est à noter qu'après l'échange les nanoparticules sont devenues insolubles dans l'eau à pH 7,4.

L'échange du ligand a été mis en évidence par deux méthodes, le gel électrophorèse et la spectrométrie infrarouge. La Figure VI.100 présente les résultats du gel d'électrophorèse. Comme attendu, les nanoparticules obtenues après l'échange (NH<sub>2</sub>-QD<sub>638</sub>) migrent moins rapidement que les nanoparticules de départ (QD<sub>638</sub>), du fait de la diminution de la charge à la surface des nanoparticules. En effet, la procédure d'échange implique l'échange de deux molécules de L-glutathion possédant deux charges négatives par un seul ligand NH<sub>2</sub>-DHLA possédant une charge positive à pH 7,4. Plus l'échange est important, plus la charge superficielle diminue et moins les particules migrent, d'où la différence entre les deux bandes.

La Figure VI.101 montre les spectres infrarouges de  $\text{NH}_2\text{-DHLA}$ ,  $\text{QD}_{638}$ ,  $40\%\text{NH}_2\text{-QD}_{638}$  et  $10\%\text{NH}_2\text{-QD}_{638}$ . Les nanoparticules sont caractérisées par une large bande à  $3000\text{-}3700\text{ cm}^{-1}$  qui correspond aux vibrations de OH de l'acide et  $\text{NH}_2$  du L-glutathion et deux bandes à  $1400\text{ cm}^{-1}$  et  $1550\text{ cm}^{-1}$  qui correspondent aux vibrations de C=O du L-glutathion. L'échange du ligand se traduit par l'apparition de nouvelles bandes infrarouges liés au  $\text{NH}_2\text{-DHLA}$ , notamment la double bande de C-O éther à  $1100$  et  $1200\text{ cm}^{-1}$ , les vibrations des liaisons N-H des amides à  $1750\text{ cm}^{-1}$  et celles des  $\text{CH}_2$  de la chaîne à  $2900\text{ cm}^{-1}$ .

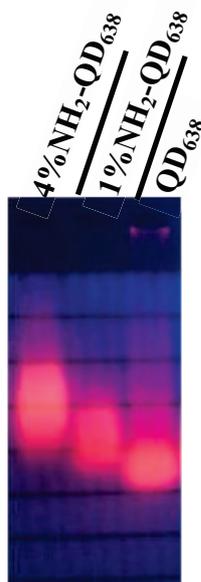


**Figure VI.100** : Gel d'électrophorèse de  $\text{QD}_{638}$ ,  $40\%\text{NH}_2\text{-QD}_{638}$  et  $10\%\text{NH}_2\text{-QD}_{638}$  dans le HEPES (0,02 M, pH = 7,6), 1h30 de migration



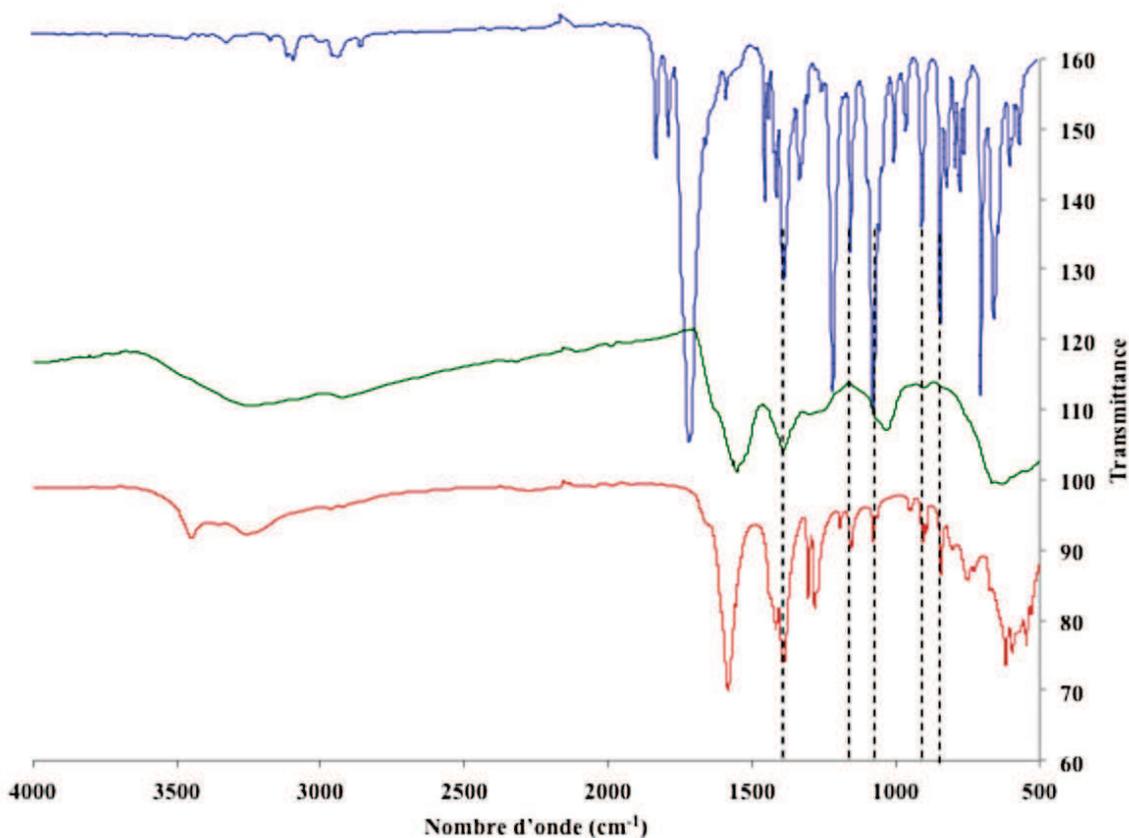
**Figure VI.101:** Spectres infrarouge de NH<sub>2</sub>-DHLA (rouge), QD<sub>638</sub> (orange), 40%NH<sub>2</sub>-QD<sub>638</sub> (vert) et 10%NH<sub>2</sub>-QD<sub>638</sub> (bleu)

Cependant, l'échange de ligand s'accompagne d'une forte diminution du rendement quantique qui passe de 52% à 10% et 20% pour 40%NH<sub>2</sub>-QD<sub>638</sub> et 10%NH<sub>2</sub>-QD<sub>638</sub> respectivement. Cela est probablement dû à la mauvaise protection apportée par NH<sub>2</sub>-QD<sub>638</sub> en comparaison de celle du L-glutathion. Pour diminuer l'effet de ligand, nous nous sommes décidé à effectuer deux autres tentatives d'échange en utilisant des nanoparticules mais avec 4% (4%NH<sub>2</sub>-QD<sub>638</sub>) et 1% (1%NH<sub>2</sub>-QD<sub>638</sub>) afin d'essayer de conserver le rendement quantique initial. Malheureusement l'échange n'a pas pu être mis en évidence par la spectrométrie infrarouge, les signaux caractéristiques du ligand étant trop faibles. Cependant, les gels électrophorèse montre clairement une différence de migration entre les bandes de QD<sub>638</sub>, 4%NH<sub>2</sub>-QD<sub>638</sub> et 1%NH<sub>2</sub>-QD<sub>638</sub> (Figure VI.102). Comme attendu, le 4%NH<sub>2</sub>-QD<sub>638</sub> migre moins que 1%NH<sub>2</sub>-QD<sub>638</sub> à cause de la différence de charge de surface. Le même phénomène a été observé concernant le rendement quantique, à savoir une diminution du rendement quantique de 52 % à 33 % pour 1%NH<sub>2</sub>-QD<sub>638</sub> et 28 % pour 4%NH<sub>2</sub>-QD<sub>638</sub>.



**Figure VI.102 :** Gel d'électrophorèse de **QD<sub>638</sub>**, **4%NH<sub>2</sub>-QD<sub>638</sub>** et **1%NH<sub>2</sub>-QD<sub>638</sub>** dans le HEPES (0,02 M, pH = 7,6), 1h30 de migration

La deuxième étape consiste à réaliser un couplage peptidique entre NHS-Mal et 10%NH<sub>2</sub>-QD<sub>638</sub> (et 1%NH<sub>2</sub>-QD<sub>638</sub>) dans un milieu basique à pH 10,5 afin d'avoir les groupement amine sous forme NH<sub>2</sub>. Le NHS-Mal a été dissout dans la DMF, puis ajouté à la solution de QDs et laissé à réagir pendant 12h à température ambiante. Il faut noter que nous avons fait une étude préliminaire sur le comportement des nanoparticules en présence de DMF. Les résultats montrent que jusqu'à 20 % de DMF ajoutée, les nanoparticules sont bien solubles gardent les mêmes propriétés optiques. Au delà de ce pourcentage les nanoparticules commencent à précipiter. Les nanoparticules sont ensuite précipitées avec la DMF, lavées plusieurs fois au méthanol et séchées sous vide.



**Figure VI.103 :** Spectres infrarouge de NHS-Mal(rouge), 10%NH<sub>2</sub>-QD<sub>638</sub>(vert) et 10%NH<sub>2</sub>-QD<sub>638</sub>(bleu)

Après le couplage avec NHS-Mal le rendement quantique passe de 20% à 7% pour 10%Mal-QD<sub>638</sub> et de 33% à 12% pour 4%Mal-QD<sub>638</sub>. Le couplage a également été mis en évidence par les spectres infrarouge de NHS-Mal, 10%NH<sub>2</sub>-QD<sub>638</sub> et 10%Mal-QD<sub>638</sub> (Figure VI.103). L'apparition des bandes caractéristiques du maleimide est clairement observée à savoir la bande des vibrations C-N-C à 1100 cm<sup>-1</sup> et la bande C-C à 1400 cm<sup>-1</sup>. Malheureusement, la faible signature de 1%NHS-Mal ne nous a pas permis de l'observer sur le spectre infrarouge. Cependant nous avons réalisé un test de couplage avec la BSA qui possède une cystéine donc un groupement thiol susceptible de réagir avec la double liaison de le maléimide. Le couplage a été démontré par gel d'électrophorèse (Figure VI.104). Nous remarquons que la mobilité des nanoparticules après le couplage diminue, cela est principalement du au poids additionnel de la BSA. Le rendement quantique, mesuré après le

couplage, passe de 12 % à 24 %. Cette augmentation est attribuée à la protection de la surface par la BSA



**Figure VI.104:** Gel d'électrophorèse de 1% Mal-QD<sub>638</sub> et BSA-QD<sub>638</sub> dans l'HEPES (0,02 M, pH = 7,6), 1h30 de migration

#### 4. Couplage indirect

Dans cette dernière partie, nous avons mis à profit l'interaction Streptavidine/Biotine pour introduire le chélate bifonctionnel du <sup>64</sup>Cu à la surface des nanoparticules. Pour cela le ligand L<sup>15</sup> qui possède une fonction biotine a été synthétisé (Figure VI.105). Nous l'avons couplé à la surface des nanoparticules streptavidinées (Sav-QD<sub>602</sub>) avec le ligand L<sup>15</sup>. Malheureusement, nous n'avons pas pu mettre en évidence le couplage par le gel d'électrophorèse à cause de la faible quantité de matériel. Cependant, les spectres d'émission ont pu être enregistrés en fonction de l'ajout de L<sup>15</sup> (Figure VI.106). Une légère diminution de la luminescence a été observée lors de cet ajout et laisse sous entendre une modification de la surface. D'autres propriétés (diamètre hydrodynamique, potentiel zeta) doivent être mesurées pour confirmer cette interaction.

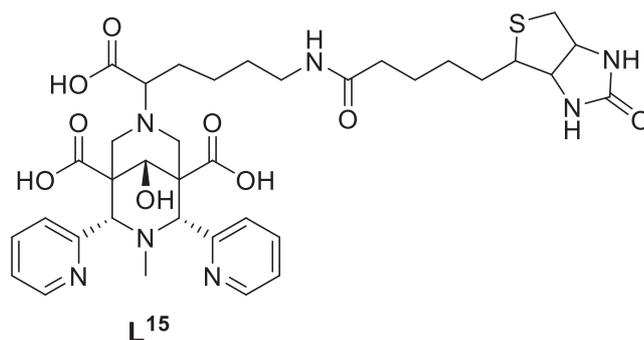


Figure VI.105 : Structure du ligand L<sup>15</sup>

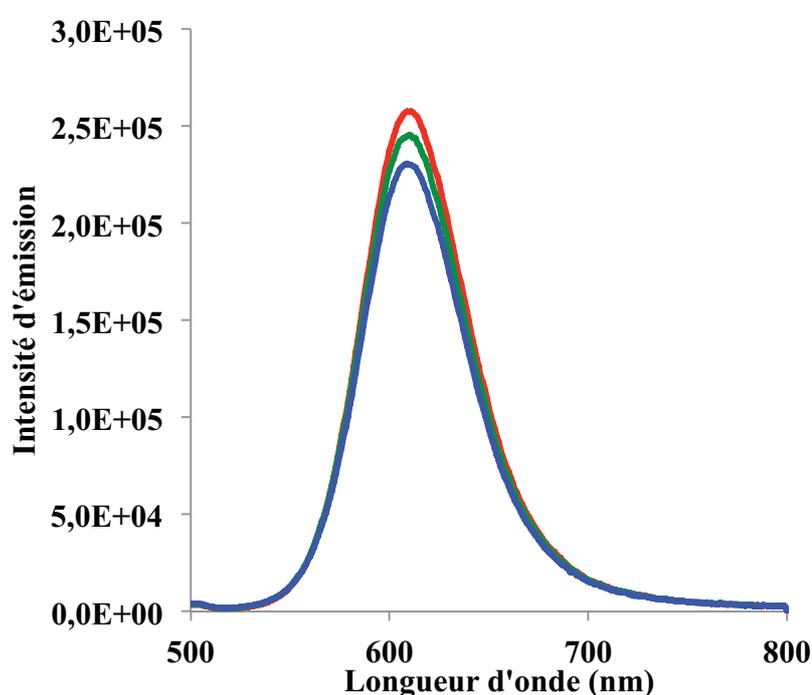


Figure VI.106 : Spectres d'émission de Sav-QD<sub>602</sub> (rouge) lors de l'ajout de L<sup>15</sup> (4 équivalents (vert) et 8 équivalents (bleu)) ( $\lambda_{\text{ex}} = 430 \text{ nm}$ , HEPES 0,02 M, pH = 7,6)

## 5. Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons abordé la fonctionnalisation de surface des nanoparticules avec de petites molécules organiques ou de plus grosses biomolécules. Les exemples que nous avons développés concernent à la fois des agents de contraste bimodaux pour l'imagerie optique et la tomographie à émission de positons (TEP), avec la fixation de chélate bifonctionnel du <sup>64</sup>Cu (II) de type bispidine, ou le diagnostic du cancer de la prostate, comme dans le cas du couplage avec le PSR222. Le couplage avec les biomolécules, notamment avec la BSA a été effectué par deux méthodes. La première méthode consiste à faire un couplage peptique directement à partir des fonctions carboxylates du L-glutathion présent à la surface des nanoparticules. Une alternative de couplage consiste à introduire une fonction

maléimide. Pour cela un dérivé de DHLA (Acide dihydrolipoïque) possédant une fonction amine (nommé NH<sub>2</sub>-DHLA, Figure VI.96) a été choisi. Avec sa fonction amine, ce ligand permet des couplages de type peptidiques, qui nous ont permis d'introduire une fonction maléimide. Cette possibilité nous permet d'avoir des nanoparticules stables prêtes à être couplées avec des biomolécules. Cependant, cette procédure est accompagnée par une grande chute du rendement quantique. Les nanoparticules bioconjuguées ont été testées comme accepteurs dans des systèmes de transfert d'énergie avec un complexe de terbium. Malheureusement aucun transfert n'a été observé pour les nanoparticules couplées à la streptavidine. Un faible signal de transfert d'énergie a pu être observé dans le cas des nanoparticules conjuguées à l'anticorps PSR222, mais la faible intensité du signal de FRET ne nous a pas permis de la caractériser.

## 6. Bibliographie

1. Zdobnova, T. A., Stremovskiy, O. A., Lebedenko, E. N. & Deyev, S. M. Self-Assembling Complexes of Quantum Dots and scFv Antibodies for Cancer Cell Targeting and Imaging. *PLoS ONE* **7**, e48248 (2012).
2. Kumar, P., Sharma, S. C. & Deep, A. Bioconjugation of anti estrogen alpha antibody with CdSSe/ZnS quantum dots for molecular sensing of a breast cancer antigen. *Sens. Actuators B Chem.* **202**, 404–409 (2014).
3. Ag., D, Bongartz, Dogan., L. E, Seleci., M, Walter., J. G, Demirkol., D. O, Stahl., F, Ozcelik., S, Timur & S, Scheper., T. Biofunctional quantum dots as fluorescence probe for cell-specific targeting. *Colloids Surf. B Biointerfaces* **114**, 96–103 (2014).
4. Iyer, A., Chandra, A. & Swaminathan, R. Hydrolytic enzymes conjugated to quantum dots mostly retain whole catalytic activity. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Gen. Subj.* **1840**, 2935–2943 (2014).
5. Viovy, J.-L. Electrophoresis of DNA and other polyelectrolytes: Physical mechanisms. *Rev. Mod. Phys.* **72**, 813–872 (2000).
6. Serwer, P. Agarose gels: Properties and use for electrophoresis. *ELECTROPHORESIS* **4**, 375–382 (1983).
7. Ji., X, Zheng., J, Xu., J, Rastogi., V. K, Cheng., T. C, DeFrank., J. J & Leblanc., R. M.(CdSe)ZnS quantum dots and organophosphorus hydrolase bioconjugate as biosensors for detection of paraoxon. *J. Phys. Chem. B* **109**, 3793–3799 (2005).
8. Wu, P., He, Y., Wang, H.-F. & Yan, X.-P. Conjugation of Glucose Oxidase onto Mn-Doped ZnS Quantum Dots for Phosphorescent Sensing of Glucose in Biological Fluids. *Anal. Chem.* **82**, 1427–1433 (2010).
9. Hanauer, M., Pierrat, S., Zins, I., Lotz, A. & Sönnichsen, C. Separation of Nanoparticles by Gel Electrophoresis According to Size and Shape. *Nano Lett.* **7**, 2881–2885 (2007).
10. Ikanovic., M, Rudzinski., W. E, Bruno., J. G, Allman., A, Carrillo., M. P, Dwarakanath., S, Bhahdigadi., S, Rao., P, Kiel., J. L & Andrews., C. J. Fluorescence Assay Based on Aptamer-Quantum Dot Binding to Bacillus thuringiensis Spores. *J. Fluoresc.* **17**, 193–199 (2007).
11. Hirayama, K., Akashi, S., Furuya, M. & Fukuhara, K. Rapid confirmation and revision of the primary structure of bovine serum albumin by ESIMS and frit-FAB LC/MS. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **173**, 639–646 (1990).
12. Wouters, F. S., Verveer, P. J. & Bastiaens, P. I. H. Imaging biochemistry inside cells. *Trends Cell Biol.* **11**, 203–211 (2001).
13. Lisenbee, C. S., Karnik, S. K. & Trelease, R. N. Overexpression and mislocalization of a tail-anchored GFP redefines the identity of peroxisomal ER. *Traffic Cph. Den.* **4**, 491–501 (2003).

- 14.** Lomant, A. J. & Fairbanks, G. Chemical probes of extended biological structures: synthesis and properties of the cleavable protein cross-linking reagent [35S]dithiobis(succinimidyl propionate). *J. Mol. Biol.* **104**, 243–261 (1976).
  
- 15.** Hildebrandt, N., Wegner, K. D. & Algar, W. R. Luminescent terbium complexes: Superior Förster resonance energy transfer donors for flexible and sensitive multiplexed biosensing. *Coord. Chem. Rev.* **273–274**, 125–138 (2014).
  
- 16.** Nchimi Nono, K. *Synthèse de complexes luminescents à base d'ions lanthanides pour le marquage de biomolécules : application au diagnostic de la maladie d'Alzheimer.* (Strasbourg, 2012).
  
- 17.** Rosenberg, I. M. *Protein Analysis and Purification: Benchtop Techniques.* (Springer Science & Business Media, 2006).
  
- 18.** Choi., Y, Lee., J, Kim., K, Kim., H, Sommer., P & Song., R. Fluorogenic assay and live cell imaging of HIV-1 protease activity using acid-stable quantum dot–peptide complex. *Chem. Commun.* **46**, 9146–9148 (2010).
  
- 19.** Berry., D. J, Ma., Y, Ballinger., J. R, Tavaré., R, Koers., A, Sunassee., K, Zhou., T, Nawaz., S, Mullen., G. E, Hider., R. C & Blower PJ. Efficient bifunctional gallium-68 chelators for positron emission tomography: tris(hydroxypyridinone) ligands. *Chem. Commun.* **47**, 7068–7070 (2011).

## **Chapitre VII. Conclusion et perspectives**



Ce travail de thèse est axé sur la préparation de nanocristaux semi-conducteurs en vue d'améliorer leurs propriétés optiques et sur leur application à des systèmes de transfert d'énergie de type Förster (FRET). Ce type de nanoparticules ouvre la porte à plusieurs applications, notamment des applications biologiques (marquage, analyses immunofluorologiques).

Dans un premier temps, les nanoparticules de  $\text{CdTe}_x\text{S}_y$  ont été préparées en phase aqueuse en utilisant des sels de cadmium et de tellure en présence d'un réducteur ( $\text{NaBH}_4$ ) pour former le cœur et un ligand stabilisant (L-glutathion, GSH) à la surface. Après une longue série d'optimisation de la synthèse en variant la stœchiométrie des différents éléments (Cd, Te, L-glutathion), des nanoparticules de  $\text{CdTe}_x\text{Se}_y(\text{GSH})$  avec de bonnes propriétés optiques ont été obtenues, à savoir un rendement quantique de 30 % à 600 nm. Au cours de la synthèse, l'apparition d'une bande d'absorption à 380 nm est observée. Cette bande est attribuée la formation de CdS suite à la décomposition du L-glutathion. La proportion du soufre introduite dans le cœur des nanoparticules est déterminée par des analyses élémentaires (C, H, N et ICP-AES). Suite à ces résultats, un modèle structural pour calculer le poids moléculaire et définir la formule molaire des nanoparticules est proposé. Ce modèle est basé sur deux approximations importantes : (i) la première suppose que les nanoparticules ont une forme parfaitement sphérique et nous a permis de calculer leur volume et (ii) la deuxième considère que la densité moyenne des nanocristaux de  $\text{CdTe}_x\text{S}_y$  est égale à la moyenne des densités du CdS pur et du CdTe pur pondérées par les ratios molaires de CdS et CdTe présents dans le nanocristal. Ce modèle nous a permis également d'estimer le nombre de ligands présents à la surface des nanoparticules et de démontrer l'existence d'une relation entre le nombre de ligand à la surface et le rendement quantique. Cette relation a été validée par des tests expérimentaux.

Les nanoparticules ont été testées comme donneur d'énergie dans des systèmes de transfert d'énergie de type Förster (FRET). La possibilité de choisir l'émission des nanoparticules en fonction de leur taille nous a permis d'avoir un bon recouvrement spectral entre les spectres d'absorption de l'accepteur (dans notre cas le Rouge de Nil) et du donneur (ici les nanoparticules). L'efficacité du transfert est de 98% et la distance calculée entre le donneur et l'accepteur est de 24 Å. Cette distance correspond bien à la valeur théorique calculée à partir d'un modèle moléculaire et d'un modèle structural des nanoparticules.

Ensuite, différentes stratégies ont été étudiées afin d'améliorer les propriétés optiques : augmenter le rendement quantique et déplacer les spectres vers le proche infrarouge. Nous tout d'abord avons essayé d'introduire une coque d'un autre semi-conducteur (ZnS).

Malheureusement, le mauvais le choix du matériau de la coque ne nous a pas permis d'obtenir les résultats désirés. Cependant, la synthèse sous irradiation micro-ondes s'est présentée comme une bonne solution pour améliorer les propriétés optiques des nanoparticules. Cette synthèse nous a permis d'obtenir en une seule étape des nanoparticules solubles dans l'eau avec un rendement quantique de 47 % à 587 nm, c'est à dire 1,6 fois supérieurs à celui des nanoparticules issues d'une synthèse à reflux. De plus, cette synthèse est rapide et permet d'obtenir des nanoparticules qui émettent à 650 nm en quelques minutes seulement (10 heures avec la synthèse à reflux). Nous avons pu mettre à profit le modèle proposé afin de déterminer leurs formules chimiques.

Afin de décaler l'émission vers le proche infrarouge, à savoir minimiser la largeur de la bande interdite, nous avons modifié la composition du matériau du cœur. Pour cela, nous avons préparé des nanocristaux semi-conducteurs de  $\text{CdHg}_x\text{Te}_y$ . Les nanoparticules obtenues possèdent une émission entre 800 et 900 nm, ce qui correspond bien à notre objectif. Cependant, elles présentent une mauvaise stabilité dans l'eau. La synthèse de nanoparticules de  $\text{CdTe}_x\text{Se}_y\text{S}_z$  nous a offert la possibilité d'avoir les à la fois propriétés optiques et la stabilité désirées. Nous avons mis à profit la synthèse micro-ondes pour préparer des nanoparticules de bonne cristallinité. Après une optimisation de la synthèse, nous avons pu obtenir des nanoparticules de  $\text{CdTe}_x\text{Se}_y\text{S}_z$  stables avec de bonnes propriétés optiques à savoir un rendement quantique de 60 % à 620 nm et le maximum de décalage de la longueur d'onde d'émission était de 686 nm avec un rendement de 17 %.

Les nanoparticules synthétisées dans les parties précédentes ont été fonctionnalisées avec succès avec des biomolécules (albumine sérum bovin; BSA, anticorps; PSR222 et la streptavidine) via un couplage peptidique en activant les fonctions carboxylates du L-glutathion de la surface et le couplage a été mis en évidence par gel électrophorèse. Les nanoparticules couplées au PSR 222 (anticorps du cancer de la prostate) ont été testées comme accepteur d'énergie dans un système de transfert d'énergie de type Förster. Dans ce cas, un complexe de terbium a été utilisé comme donneur afin de détecter et quantifier l'antigène spécifique de la prostate TPSA (Total Prostate Specific Antigen). Nous avons pu observé un transfert d'énergie entre les nanoparticules et le complexe de terbium. Cependant, le signal du FRET est trop faible pour obtenir des informations quantitatives. Cela est probablement lié au faible taux de marquage (25 %).

Dans le but de développer des agents multimodaux à la fois pour l'imagerie optique et la Tomographie à Emission de Positons (TEP), nous avons introduit un chélate bifonctionnel du  $^{64}\text{Cu}$  (II) de type bispidine à la surface des nanoparticules. Deux techniques de couplage ont

été envisagée : La première consiste en un couplage peptidique des fonctions acide carboxylique du L-glutathion avec un dérivé aminé. Le second profite de la forte interaction entre des quantum dots streptavidinylés et un dérivé bispidine marqué avec une biotine. Les couplages ont été mis en évidence par gel d'électrophorèse. Dans les deux cas, aucune altération significative des propriétés optiques des nanoparticules n'a été observée.

Une deuxième voie de couplage a été développée qui consiste à introduire une fonction maleimide à la surface de nanoparticules. L'introduction se fait en deux étapes par le biais d'un échange de ligand avec un dérivé d'acide dihydrolipoïque (DHLLA). Ce dernier permet un bon accrochage à la surface des nanoparticules, grâce à ses deux fonctions thiols. La fonction maleimide a été introduite avec succès à la surface des nanoparticules et le couplage a été mis en évidence par les spectres infra-rouge et par gel électrophorèse. Les nanoparticules portant la fonction maleimide ont été couplées avec la BSA (par l'intermédiaire de son résidu cystéine) et les résultats du gel d'agarose montrent confirmer le couplage entre la BSA et les nanoparticules. Cependant, ces étapes d'introduction de la fonction maleimide ont été accompagnées par une chute du rendement quantique des nanoparticules qui passe de 52 à 12 % en présence de maleimide et 24 % en présence de BSA. Malheureusement après plusieurs tentatives, nous n'avons pas pu conserver le rendement quantique initial des nanoparticules. Certes, cette voie présente l'avantage d'avoir des nanoparticules prêtes à coupler avec des biomolécules comportant une fonction thiol, et elle offre la possibilité de contrôler un peu l'orientation des biomolécules à la surface des nanoparticules mais elle reste à améliorer pour obtenir des nanoparticules finales avec un bon rendement quantique. Différents paramètres pourraient être améliorés comme le taux de greffage et la composition des nanoparticules. Par exemple, l'extension de cette technique à d'autres types de nanoparticules comme InP/ZnS est envisagée.



## **Chapitre VIII. Partie expérimentale**



## 1. Technique de caractérisations des nanocristaux semi-conducteur luminescents

### 1.1. Caractérisations optiques

Les spectres UV-Visible ont été enregistrés à l'aide de spectromètre Specord 205 (Analytik jena) et les spectres d'émission de fluorescence ont été enregistrés avec un spectrofluorimètre Horiba Jobin Yvon Fluorolog 3 qui fonctionne avec une lampe Xenon continue de 450W. La détection a été effectuée avec un détecteur de type Hamamatsu R928. Un filtre à 399 nm a été utilisé pour éliminer les artefacts du second ordre. Les temps de vie ont été mesurés en mode TCSPC en utilisant une diode électroluminescente (Nanoled) émettant à 303 nm comme source d'excitation. Les données ont été traitées en mode mono, bi ou tris-exponentiel avec le logiciel DataStation de Jobin Yvon. Les rendements quantiques ont été déterminés avec deux méthodes :

1. Mesure relative : une mesure relative est souvent utilisée, elle consiste à comparer la luminescence d'une solution du colloïde à une fluorophore de référence dont on connaît son rendement quantique. Généralement, la Rhodamine 6G dans l'eau ( $\Phi = 76\%$ )<sup>1</sup> ou bien le ruthenium(II) tris(bipyridine) dans l'eau ( $\Phi = 4\%$ ).<sup>2</sup> L'absorption est simplement mesurée dans un spectromètre UV-Visible. La valeur de l'absorbance des solutions doit être inférieure à 0,05. Le rendement quantique est égale à :

$$Rq_{QDs} = \frac{n_{(QDs)}^2 \times I_{QDs} \times A_{R6G}}{n_{R6G}^2 \times I_{R6G} \times A_{(QDs)}}$$

Où  $n$  est l'indice de réfraction du milieu,  $I$  l'intensité émise (la surface en dessous de la courbe d'émission) et  $A$  est l'absorbance à 430 nm. La dépendance de l'intensité d'excitation en fonction de longueur d'onde est corrigée par une fonction de réponse fournie par le fabricant.

2. Mesure absolue par une sphère d'intégration : L'intensité d'émission doit être récoltée dans toutes les directions de l'espace. Pour cela, la surface intérieure de la sphère d'intégration est totalement recouverte d'un revêtement réfléchissant. La méthode consiste à mettre l'échantillon à l'intérieur de la sphère d'intégration et à l'exciter grâce à une lampe xénon. La lumière sortante de la sphère est détectée par un photomultiplicateur Hamamatsu R928 (Figure VIII.107). Tous les spectres ont

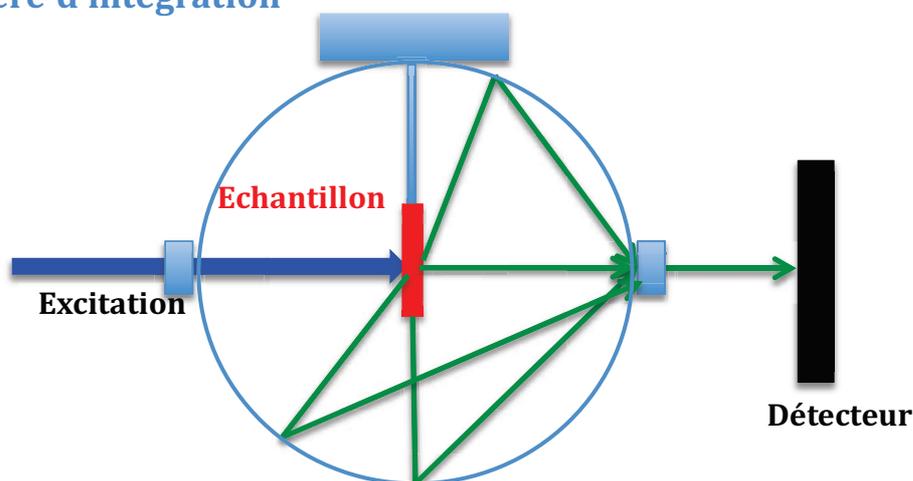
été corrigés pour les fonctions instrumentales. Lorsque cela est nécessaire, un filtre à 399 nm a été utilisé pour éliminer les artefacts du second ordre. Le rendement quantique de luminescence a été déterminé en utilisant une sphère d'intégration Quanta- $\Phi$  de Horiba selon le mode opératoire décrit dans la littérature.<sup>3</sup>

Le rendement de quantique de luminescence  $\Phi$  est donné par :

$$\Phi = \frac{E_i(\lambda) - (1 - A) \times E_0(\lambda)}{L_0(\lambda) \times A}$$

Où  $A = (L_0(\lambda) - L_i(\lambda))/L_0(\lambda)$ ,  $E_i(\lambda)$  est l'intégration de la luminescence de l'échantillon,  $E_0(\lambda)$  l'intégration de la luminescence de la sphère sans échantillon,  $A$  est l'absorbance de l'échantillon,  $L_i(\lambda)$  est l'intégration du profil d'excitation de la sphère vide (sans l'échantillon),  $L_0(\lambda)$  est l'intégration du profil d'excitation l'échantillon diffusé par la sphère d'intégration en absence de l'échantillon et  $L_i(\lambda)$  est le profil d'excitation intégrée par le faisceau incident en présence de l'échantillon. Les spectres intégrés ont été corrigés à l'aide des fonctions de correction fournis par le fournisseur.

### Sphère d'intégration



**Figure VIII.107** : Schéma de la mesure du rendement quantique par une sphère d'intégration

### 1.2. Caractérisations morphologiques

Des images de Microscopie Electronique à Transmission (MET) ont été enregistrées avec un microscope électronique à transmission TOPCON 002B couplé avec l'analyse dispersive en énergie, avec une résolution de 0,18 nm.

Les échantillons obtenus sous forme de poudre, sont dispersés dans l'éthanol et une goutte de ce mélange est déposée sur une grille. La grille est constituée des membranes poreuses recouvertes par une couche amorphe du carbone.

Les mesures des diffractions des rayons-X ont été effectuées avec un diffractomètre D8 Advance Bruker en mode  $\theta/2\theta$  en utilisant la raie  $K\alpha$  du Cu à 1.5406 Å.

### 1.3. Caractérisations chimiques

La composition chimique des nanocritaux a été déterminée par deux techniques d'analyses élémentaires :

- La spectroscopie par torche à plasma (ICP-AES ou Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy) pour le dosage des éléments Cd, Te, Se et S.
- La microscopie élémentaire C, H et N.

L'ICP-AES est une technique basée sur le couplage d'une torche et d'un spectromètre d'émission atomique. L'analyse a été réalisée avec spectromètre Varian 720 équipé d'un nébuliseur Meinhard quartz et d'une chambre de pulvérisation cyclone. Les échantillons sont minéralisés dans l'acide nitrique sur un bain de sable pendant 1 heure avant les analyses. L'émission de Cd, Te, S et Se a été mesurée à deux ou trois longueurs d'onde d'émission : 214,439 nm et 226,502 pour le Cd, 180,669 nm, 181,972 nm et 182,562 nm pour le soufre et 182,153 nm, 214,282 nm et 238,579 nm pour le Te. La calibration de l'instrument est effectuée avec un standard certifié (CPI international) ou à partir d'une solution stock de  $\text{Na}_2\text{TeO}_3$  dans l'eau.

L'analyse élémentaire CHN a été effectuée au service commun d'analyses élémentaires de l'université de Strasbourg.

### 1.4. Gel électrophorèse

#### a) Préparation du gel électrophorèse (agarose 1%)

150 mg d'agarose est mise dans 150 ml d'un tampon (TBE, TAE ou HEPES) et chauffée à 100 °C au bain-marie pour faire fondre l'agarose. Le mélange est laissé refroidir jusqu'à ce qu'il devienne possible de saisir le flacon à main nue (environ 60 °C). 120 mL de la solution préparée est versée doucement sur un moule du gel. Des peignes de 1 mm du fond sont en suite enfoncés dans la solution pour former les trous pour le dépôt d'échantillons (**image**). Le gel est laissé se figer pendant 30 minutes à température ambiante, ensuite il est mis au réfrigérateur à 4 °C pendant 15 minutes. Quand le gel est complètement figé, les peignes sont retirés soigneusement. Le gel est mis dans le réservoir d'électrophorèse (**image**). Le tampon

est ajouté dans l'unité d'électrophorèse suffisamment pour recouvrir le gel d'une épaisseur de 3 à 5 mm.

### *b) Préparation de l'échantillon*

Généralement, nous déposons une solution contenant 20 µg de notre échantillon dans de tampon HEPES (0,02 M, pH 7,6) dilué deux fois avec la solution de chargement (0,25% bleu de bromophenol et 30% de glycérol) et le mélange est bien agité avec un vortex. 10 µg de nanoparticules sont déposées sur le gel.

## 1. Synthèses des nanocristaux semi-conducteurs de $CdTe_xS_y$

### 1.1. Synthèse classique (4eq Cd, 1 eq Te, 4 eq GSH)

4 mL de  $CdCl_2 \cdot 2,5H_2O$  (0,04 M, 0,16 mmol) sont dilués dans 50 mL d'eau ultra-pure dans un ballon bis-col. Le citrate trisodique dihydrate (100 mg, 0,34 mmol), 2 mL d'une solution de  $Na_2TeO_3$  (0,01 M, 0,04 mmol), le L-glutathion (50 mg, 0,165 mmol) et  $NaBH_4$  (50 mg, 1,32 mmol) sont ajoutés sous agitation à température ambiante. Le pH du mélange est égal à 9,4. Après une heure et demie la couleur du mélange passe au vert. On plonge alors le ballon réactionnel dans un bain d'huile à 100 °C en conditions aérobiques.

Au cours de la réaction, des prélèvements de 200 µL (Tableau VIII.15) sont effectués puis dilués dans 1,8 mL d'eau ultra-pure afin de réaliser un suivi temporel des propriétés optiques du milieu réactionnel.

Echantillons	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Temps (min)	20	40	70	100	180	225	330	450	600

**Tableau VIII.15 :** Numéros des prélèvements en fonction du temps de chauffage

### 1.2. Etude de l'influence de la stœchiométrie

Cette procédure a ensuite été répétée en faisant varier la stœchiométrie des réactifs selon les conditions décrites dans le (Tableau VIII.16).

Synthèse	Stœchiométrie			CdCl <sub>2</sub> 2,5H <sub>2</sub> O (0,16 M)	Na <sub>2</sub> TeO <sub>3</sub> (0,04 M)	GSH
	Cd	Te	GSH			
1	4	3	4	4 mL	3 mL	50 mg
2	4	2	4	4 mL	2 mL	50 mg
3	4	1,5	4	4 mL	1,5 mL	50 mg
4	4	1	8	4 mL	1,5 mL	100 mg
5	4	0,5	4	4 mL	0,5 mL	50 mg

**Tableau VIII.16 :** Résumé des conditions opératoires pour les différentes synthèses

Les spectres d'absorption et d'émission sont enregistrés au cours du temps. Les spectres d'émission sont normalisés pour une D. O constante à la longueur d'onde d'excitation ( $\lambda_{ex} = 430$  nm)

### 1.3. Synthèse à grande échelle (4eq Cd, 0,5eq Te, 4eq GSH)

Le protocole précédemment décrit au a été adapté afin d'isoler une large quantité de nanoparticules pour effectuer les différentes caractérisations.

80 mL de CdCl<sub>2</sub>, 2,5H<sub>2</sub>O (0,04 M, 3,2 mmol) sont dilués dans 1 L d'eau ultra-pure dans un ballon bis-col. Le Citrate trisodique dihydrate (2 g, 6,8 mmol), 40 mL d'une solution de Na<sub>2</sub>TeO<sub>3</sub> (0,01 M, 0,4 mmol), le L-gluthation (1 g, 3,3 mmol) et NaBH<sub>4</sub> (1 g, 26,4 mmol) sont ajoutés sous agitation à température ambiante. Le pH du mélange est égal à 9,4. Après une heure et demie la couleur du mélange passe au vert. On plonge le ballon réactionnel dans un bain d'huile à 100 °C en conditions aérobiques.

Trois aliquots sont prélevés après 2h (350 mL, **QD<sub>540</sub>**), 4h (350 mL, **QD<sub>600</sub>**) et 10h (420 mL, **QD<sub>650</sub>**) de chauffage. Les nanoparticules luminescentes sont précipitées avec 1 L d'éthanol, séparées par centrifugation, lavées 4 fois à l'éthanol et séchées sous vide pour obtenir une poudre (**QD<sub>540</sub>** (395 mg), **QD<sub>600</sub>** (230 mg), **QD<sub>650</sub>** (240 mg)) respectivement.

## 2. Tentatives d'introduction d'une couche de ZnS

### 2.1. Tentative 1

**QD<sub>513</sub>** (19,6 mg) sont dissouts dans 24 mL d'une solution aqueuse de ZnCl<sub>2</sub> (1 mM) et de L-glutathion (4 mM). Le pH de la solution est ajusté à 9 (4 initialement) avec NaOH (1 M). Le mélange est agité pendant 1h à température ambiante et ensuite chauffé à 100 °C. Des prélèvements sont effectués en fonction du temps de chauffage (Tableau VIII.17).

Echantillons	1	2	3
Temps (min)	0	120	390

**Tableau VIII.17 :** Les différents prélèvements en fonction de temps de chauffage

### 2.2. Tentative 2

Le mode opératoire de la tentative 1 est répété en préparant cette fois-ci la solution de ZnCl<sub>2</sub>, GSH dans un tampon citrate (0,025 M) à pH 9. Des prélèvements sont effectués en fonction du temps de chauffage (Tableau VIII.18)

Echantillons	1	2	3
Temps (min)	0	120	400

**Tableau VIII.18 :** Les différents prélèvements en fonction de temps de chauffage

### 2.3. Tentative 3

QD<sub>550</sub> (6,7 mg,  $8,6 \times 10^{-5}$  mmol) sont dissouts dans 10 mL d'eau ultra-pure. 40  $\mu$ L d'une solution aqueuse de ZnSO<sub>4</sub> (1,25 mM) sont ajoutés, suivis de 40  $\mu$ L d'une solution de glutathion (1,25 mM). Le pH est ajusté à 9,6 avec une solution aqueuse de NaOH (1 M). Le mélange est laissé réagir pendant 20 minutes à température ambiante. La réaction est ensuite chauffée à 40 °C puis à 100 °C.

## 3. Synthèses de nanocristaux semi-conducteurs de CdTe<sub>x</sub>S<sub>y</sub> par voie micro-ondes.

Dans notre laboratoire un four micro-ondes CEM est utilisé, il possède une vitesse de chauffage de 2 à 6 °C/sec avec une température comprise entre -80 et 300°C. La puissance maximale de ce four micro-ondes est de 300 W avec une pression allant jusqu'à 30 bar (435 psi).

### 3.1. Synthèse des nanoparticules de CdTe<sub>x</sub>S<sub>y</sub> par voie micro-ondes

4 mL de CdCl<sub>2</sub>. 2,5H<sub>2</sub>O (0,04 M, 0,16 mmol) sont dilués dans 50 mL d'eau ultra-pure dans un ballon bis-col. Le citrate trisodique dihydrate (100 mg, 0,34 mmol), 2 mL d'une solution de Na<sub>2</sub>TeO<sub>3</sub> (0,01 M, 0,02 mmol), le L-glutathion (50 mg, 0,165 mmol) et NaBH<sub>4</sub> (50 mg, 1,32 mmol) sont ajoutés sous agitation à température ambiante. Le pH du mélange est égal à 9,4. Après une heure et demie la couleur du mélange passe au vert. Des réacteurs de 10 mL sont remplis avec 2 mL de la solution préparée précédemment et chauffés à 100 °C au four micro-ondes pendant 30, 60, 90 et 180 secondes.

### 3.2. Influence de la concentration

1. Concentrée 5 fois : 4 mL de  $\text{CdCl}_2 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$  (0,04 M, 0,16 mmol) sont dilués dans 5,5 mL d'eau ultra-pure dans un ballon bis-col. Le citrate trisodique dihydrate (100 mg, 0,34 mmol), 2 mL d'une solution de  $\text{Na}_2\text{TeO}_3$  (0,01 M, 0,02 mmol), le L-glutathion (50 mg, 0,165 mmol) et  $\text{NaBH}_4$  (50 mg, 1,32 mmol) sont ajoutés sous agitation à température ambiante. Le pH du mélange est égal à 9,4. Après une heure et demie la couleur du mélange passe au vert. Des réacteurs de 10 mL sont remplis avec 2 mL de la solution préparée précédemment et chauffés à 100 °C au four micro-ondes pendant 30 et 60 secondes.
2. Concentrée 10 fois : A 4 mL de une solution de  $\text{CdCl}_2 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$  (0,04 M, 0,16 mmol), on ajoute le citrate trisodique dihydrate (100 mg, 0,34 mmol), 2 mL d'une solution de  $\text{Na}_2\text{TeO}_3$  (0,01 M, 0,04 mmol), le L-glutathion (50 mg, 0,165 mmol) et  $\text{NaBH}_4$  (50 mg, 1,32 mmol) sous agitation à température ambiante. la solution noircis après l'ajout du  $\text{NaBH}_4$ .

### 3.3. Influence de la température

16 mL de  $\text{CdCl}_2 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$  (0,04 M, 0,64 mmol) sont dilués dans 200 mL d'eau ultra-pure dans un ballon bis-col. Le citrate trisodique dihydrate (400 mg, 1,36 mmol), 8 mL d'une solution de  $\text{Na}_2\text{TeO}_3$  (0,01 M, 0,08 mmol), le L-glutathion (200 mg, 0,66 mmol) et  $\text{NaBH}_4$  (200 mg, 5,28 mmol) sont ajoutés sous agitation à température ambiante. Le pH du mélange est égal à 9,4. Après une heure et demie la couleur du mélange passe au vert. Des réacteurs de 30 mL sont remplis avec 20 mL de la solution préparée précédemment et chauffés à différentes températures pendant différents temps de réaction (Tableau VIII.19)

	Temps de chauffage		
	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>
120 °C	5 minutes	10 minutes	15 minutes
130 °C	4 minutes	8 minutes	16 minutes
150 °C	30 secondes	1 minute	3 minutes

Tableau VIII.19 : Paramètres utilisés pour la synthèse micro-ondes

### 3.4. Synthèse à grande échelle des nanoparticules de CdTeXS<sub>Y</sub> par voie micro-ondes

16 mL d'une solution aqueuse de  $\text{CdCl}_2 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$  (0,04 M, 0,64 mmol) sont dilués dans 20 ml d'eau dans ballon de 50 mL. Le Citrate trisodique (400 mg, 0,136 mmol), 4 mL d'une solution de  $\text{Na}_2\text{TeO}_3$  (0,01 M, 0,08 mmol), le L-glutathion (200 mg, 0,66 mmol) et  $\text{NaBH}_4$

(200 mg, 5,28 mmol) sont ajoutés sous agitation magnétique à température ambiante. Le pH de la solution est égal à 9,3. Après une heure et demie, la couleur de la solution passe en vert. Deux réacteurs de 30 mL sont remplis avec 20 mL de la solution préparée précédemment et chauffés à 120 °C au four micro-ondes pendant 25 minutes et 43 minutes respectivement. Les nanoparticules sont ensuite précipitées avec 20 mL d'éthanol, isolées par centrifugation et séchées sous pression réduite pour donner **QD<sub>595</sub>** (95 mg) et **QD<sub>605</sub>** (94 mg).

#### **4. Déplacement des propriétés optique vers le proche infrarouge**

##### **4.1. Synthèse des nanoparticules de CdTe<sub>x</sub>Hg<sub>y</sub>S<sub>z</sub>**

5 mg de **QD<sub>600</sub>** sont dissous dans 50 mL d'eau ultra-pure. Le pH est ajusté à 10 en utilisant une solution aqueuse de NaOH (1 M). Le glutathion (10,1 mg,  $3,3 \times 10^{-3}$  mmol) et HgCl<sub>2</sub> (4,5 mg,  $1,6 \times 10^{-2}$  mmol) sont ensuite ajoutés à température ambiante. Le mélange est laissé sous agitation pendant une heure. La réaction est suivie dans le temps en effectuant les prélèvements décrits dans le Tableau VIII.20. Les nanoparticules sont précipitées à l'acétone. Les échantillons sont ensuite séchés sous pression réduite avant d'effectuer les caractérisations optiques.

<b>Echantillons</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
<b>Temps (min)</b>	60	120	240	360	600

**Tableau VIII.20** : Différents prélèvements en fonction du temps de réaction

##### **4.2. Synthèse de nanoparticules de CdTe<sub>x</sub>Se<sub>y</sub>S<sub>z</sub> par voie micro-ondes**

45 mg de CdCl<sub>2</sub> · 2,5H<sub>2</sub>O (45 mg, 0,20 mmol), Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub> (27 mg, 0,15 mmol), Na<sub>2</sub>TeO<sub>3</sub> (5,53 mg, 0,025 mmol) et du citrate trisodique (120 mg, 0,04 mmol) sont ajoutés dans un ballon contenant 24 mL d'eau ultra pure. Le pH du mélange est 9,4. Le mélange est laissé réagir sous agitation à température ambiante pendant 10 minutes. Le L-glutathion (30,7 mg, 0,24 mmol) et NaBH<sub>4</sub> (30,7 mg, 0,1 mmol) sont ajoutés à température ambiante sous agitation magnétique. La réaction est laissée pendant trois heures à température ambiante. Cinq prélèvements de 2 mL sont réalisés puis chauffés au four micro-ondes pendant différents temps (Tableau VIII.21).

Echantillons	1	2	3	4
Temps (min)	1	10	15	17

Tableau VIII.21 : Temps de chauffage pour les échantillons de 1 à 5

Une optimisation de la synthèse est également faite en jouant sur la stœchiométrie de Cd, Se, Te, et du L-glutathion. Les différentes stœchiométries sont résumées dans le tableau suivant (Tableau VIII.22)

Synthèse	Stœchiométrie			
	Cd	Se	Te	L-Glutathion
1	8 eq	7 eq	1 eq	4 eq
2	8 eq	7 eq	1 eq	6 eq
3	8 eq	7 eq	1 eq	8 eq
4	8 eq	7 eq	1 eq	10 eq
5	8 eq	6 eq	1 eq	4 eq
6	8 eq	8 eq	1 eq	4 eq
7	8 eq	1 eq	6 eq	4 eq

Tableau VIII.22 : Résumé des différentes conditions opératoires pour la synthèse de nanoparticules de CdTe<sub>x</sub>Se<sub>y</sub>S<sub>z</sub>

## 5. Synthèse de ligands

### 5.1. Solvant et réactifs

Les solvants utilisés pour la réaction sont soit disponibles dans le commerce ou distillés en laboratoire.

- Le DMF a été distillé sous pression réduite en présence du KOH.
- Les solvants deutériés sont conservés à 4 °C.
- Tous les autres réactifs sont disponibles dans le commerce et utilisés sans purification.
- Les Chromatographies sur couche mince ont été effectuées sur des feuilles d'aluminium amincies portant la silice 60 F<sub>254</sub> fournies par Merck. Les Colonnes chromatographiques ont été effectuées à l'aide de gel de silice fournie par Merck (40 -63 µm) et les chromatographies flash on été effectuées avec du gel de silice 40-63 um fourni par Merck.

- La multiplicité des signaux de RMN <sup>1</sup>H est exprimée comme suit :

s : singulet , d : doublet, dd : doublet dédoublé, t : triplet, q : quadruplet, m : multiplet.

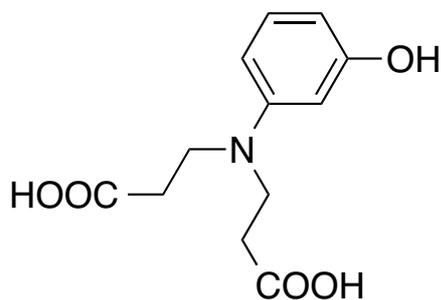
Les constantes de couplage  $J$  sont exprimées en Hertz (Hz). Les déplacements chimiques sont exprimés en ppm en utilisant le signal résiduel non deutérié comme référence.<sup>4</sup>

## 5.2. Analyses et caractérisations

Les spectres RMN  $^1\text{H}$  ont été enregistrés sur un spectromètre Bruker AC 300 (300 MHz) pour le proton et à 75 MHz et 50 MHz pour le carbone un spectromètre Bruker AC 300 (300 MHz) et 200 (200 MHz). Les spectres RMN sont traités à l'aide du logiciel *NMR Notebook* (version 2,70). Les spectres de masse à haute résolution ont été enregistrés par la méthode d'ionisation électrospray sur un micro-TOF LC Bruker Daltonics. Les analyses élémentaires CHN ont été enregistrées au service commun d'analyses élémentaires de l'université de Strasbourg. Les spectres infrarouges ont été enregistrés avec spectroscopie Perkin-Emer par la méthode RTA (Réflectance Totale Atténuée).

## 5.3. Synthèse de Rouge du Nil

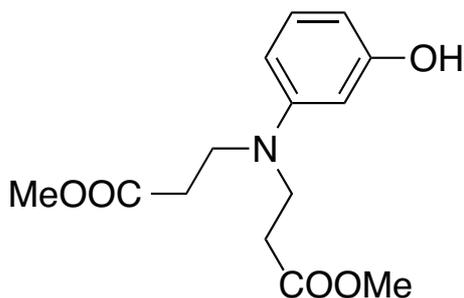
### c) Composé 1<sup>5</sup>



Une solution de 3-aminophénol (30,0 g, 0,28 mmol) dans un mélange d'acide acrylique (51 ml, 0,83 mmol) et d'eau (25 ml) est portée à reflux à 70°C pendant 3h. Le mélange réactionnel est ramené à température ambiante. 50 ml d'éthanol sont ajoutés et le mélange est refroidi à 5°C pour obtenir un précipité. Le précipité formé est lavé

avec de l'éthanol et séché sous vide afin d'obtenir le composé 1 (42,9 g, 62%) sous forme de poudre blanche.  $^1\text{H RMN}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  7,02-6,98 (m, 1H) ; 6,28-6,24 (m, 2H) ; 6,19-6,17 (m, 1H) ; 3,64 (t, 4H,  $J = 4,5$  Hz) ; 2,59 (t, 4H,  $J = 4,5$  Hz).  $^{13}\text{C RMN}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  172,6 ; 158,6 ; 148,6 ; 130,0 ; 104,0 ; 104,2 ; 99,6 ; 46,8 ; 31,7.  $\text{ESI}^+/\text{MS}$   $m/z = 253,04$  (M)<sup>+</sup> calculé pour  $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{NO}_5$ .

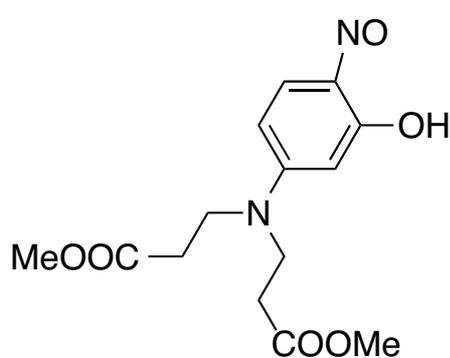
### d) Composé 2<sup>5</sup>



Une solution du composé 1 (10,0 g, 39,5 mmol) dans 500 mL de méthanol et 1 mL du HCl 10,0 M est mise à reflux à 75 °C pendant 12h. Le méthanol est évaporé et le produit obtenu est dissout dans 100

mL de d'eau distillée. L'acide est ensuite neutralisé avec  $\text{NaHCO}_3$  ( $\text{pH} = 7$ ) et une extraction au dichlorométhane/eau est réalisée. La phase organique est séparée puis séchée à l'aide de  $\text{MgSO}_4$ . Le solvant est évaporé et le composé 2 est obtenu (8,9 g, 80%) sous la forme d'un semi-solide jaune.  $^1\text{H RMN}$  (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) :  $\delta$  7,05-6,95 (m, 1H); 6,25-6,15 (m, 3H); 3,65 (s, 6H); 3,59 (t, 4H,  $J = 7,2$  Hz); 2,58 (t, 4H,  $J = 7,2$  Hz).  $^{13}\text{C RMN}$  (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) :  $\delta$  173,3; 158,4; 148,5; 130,1; 104,6; 104,2; 99,9; 51,1; 46,9; 32,1.  $\text{ESI}^+/\text{MS}$   $m/z = 281,36$  (M)<sup>+</sup> calculé pour  $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{NO}_5$ .

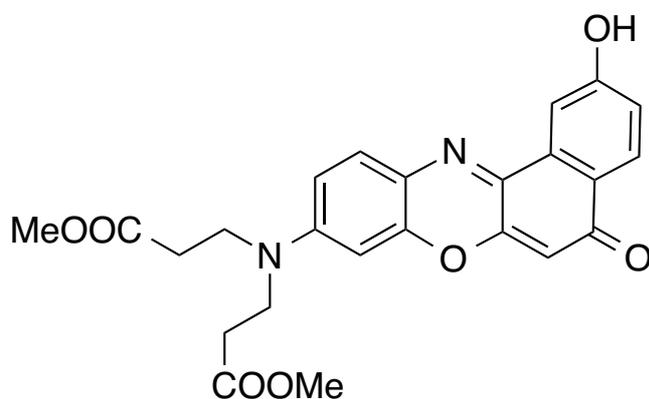
e) Composé 3<sup>5</sup>



Une solution du composé 2 (4,6 g, 16,04 mmol) dans un mélange de 6 mL de  $\text{HCl}$  10 M et 4 mL de méthanol est refroidie à  $-6$  °C dans un bain de glace et de sel (80 %/20 %). Une solution de nitrite de sodium (1,2 g, 16,05 mmol) dans 9 mL de méthanol (un minimum d'eau est rajouté pour solubiliser le mélange) est ajoutée goutte à goutte en 2 h. La température du milieu est maintenue à

$-6$  °C pendant 2h. Le méthanol est évaporé et le produit est dissout dans 10 mL d'eau distillée. L'acide est ensuite neutralisé avec  $\text{NaHCO}_3$  ( $\text{pH} = 7$ ) et une extraction au dichlorométhane est réalisée. La phase organique est séparée et séchée avec  $\text{MgSO}_4$ . Le solvant est évaporé sous pression réduite et une recristallisation a été faite dans l'éthanol à  $4$  °C pendant 3 jours. Le mélange est filtré et le filtrat est lavé 4 fois avec de l'éthanol froid, puis séché sous vide. Le composé 3 est finalement obtenu (4,1 g, 82 %) sous la forme d'une poudre rouge.  $^1\text{H RMN}$  (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) :  $\delta$  7,60 (d, 1H,  $J = 9$  Hz); 7,15 (d, 1H,  $J = 12$  Hz); 6,34 (s, 1H); 4,09 (d, 4H,  $J = 27$  Hz); 3,54 (s, 6H); 2,81-2,73 (m, 4H).  $^{13}\text{C RMN}$  (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) :  $\delta$  182,1; 163,1; 157,5; 134,3; 104,8; 104,7; 99,7; 44,3; 39,5; 22,6.  $\text{ESI}^+/\text{MS}$   $m/z = 311,23$  (M+H)<sup>+</sup> calculé pour  $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_6$ .

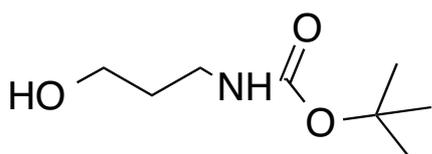
f) Composé 4<sup>5</sup>



Le 1,6-Dihydroxynaphthol (1,0 g, 6,44 mmol) est dissout dans 1 mL de HCl (10 M). Une solution du composé 3 (2,0 g, 6,44 mmol) dans 60 ml de méthanol est ajoutée. Le milieu réactionnel est ensuite chauffé à 80 °C pendant 5h. Le solvant est évaporé et le brut est purifié par chromatographie flash sur silice (éluant :

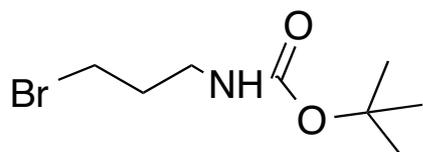
CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH avec un gradient de 0 à 3 % en méthanol). Le composé 4 est obtenu (0,9 g, 30 %) sous la forme d'une poudre rouge. <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) : δ 7,97 (d, 1H, *J* = 8,6 Hz); 7,88 (s, 1H); 7,66 (d, 1H, *J* = 9,1 Hz); 7,13 (dd, 1H, *J* = 8,6 Hz, 2,6 Hz); 6,82 (dd, 1H, *J* = 9,1 Hz, 2,6 Hz); 6,70 (s, 1H); 6,15 (s, 1H); 3,73 (t, 4H, *J* = 6,5 Hz); 3,62 (s, 6H); 2,66 (t, 4H, *J* = 6,5 Hz). <sup>13</sup>C RMN (50 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) : δ 181,6; 171,7; 160,7; 151,4; 150,2; 146,1; 140,0; 133,6; 130,7; 127,5; 124,2; 123,8; 118,6; 110,0; 108,3; 104,4; 97,0; 51,5; 46,3; 31,5. ESI<sup>+</sup>/MS *m/z* = 450,14 (M)<sup>+</sup> pour C<sub>24</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>.

g) Composé 5<sup>6</sup>



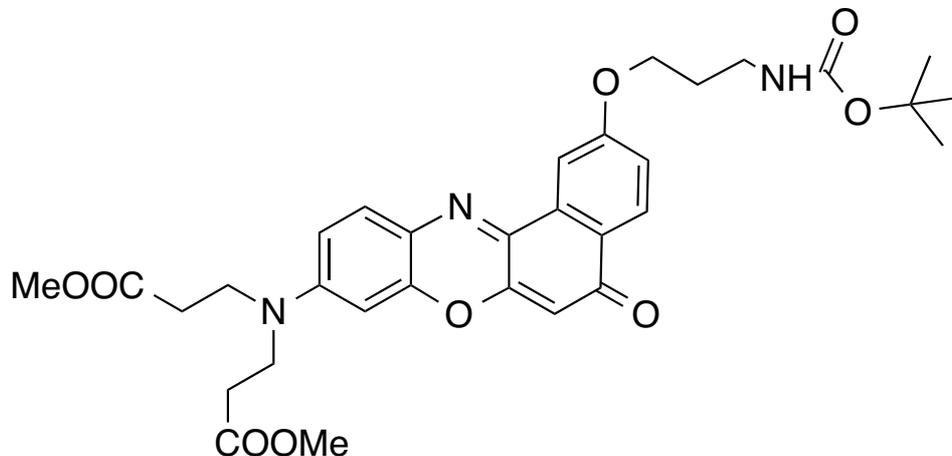
Un mélange de 3-aminopropanol (5 mL, 66,60 mmol) et de Boc<sub>2</sub>O (16,3 g, 73,26 mmol) est mis en solution dans 135 mL d'éthanol. Le milieu réactionnel est laissé sous agitation magnétique à 30°C pendant 2h30. Le solvant

est évaporé et une extraction au dichlorométhane/eau est réalisée. La phase organique est collectée et séchée avec MgSO<sub>4</sub>. Le solvant est évaporé et le produit est purifié par chromatographie flash sur colonne de silice (éluant : CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH avec un gradient de MeOH 0-5%). Le composé 5 est obtenu sous forme d'une huile transparente (11,0 g, 94%). <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 4,98 (s, 1H); 3,66 (q, 2H, *J* = 6,0 Hz); 3,39 (t, 1H, *J* = 6,0 Hz); 3,28 (q, 2H, *J* = 6,0 Hz); 1,67 (m, 2H, *J* = 6,0 Hz); 1,45 (s, 9H).

h) Composé 6<sup>7</sup>

Une solution de triphényl phosphine ( $\text{PPh}_3$ ) (10,3 g, 40,65 mmol) dans 45 mL de dichlorométhane est ajoutée goutte à goutte à une suspension de N-bromosuccinimide (NBS). Le mélange est laissé réagir pendant 15 minutes à température ambiante. A ce mélange sont ajoutés une solution du composé 5 (2,43 g, 0,01 mmol) dans 2 mL de dichlorométhane puis de la pyridine (424  $\mu\text{L}$ , 0,02 mmol) sous argon à température ambiante. Après 18h, le solvant est évaporé et le produit est purifié par chromatographie sur colonne de silice (éluant : cyclohexane/acétate d'éthyle avec un gradient de 0 à 100 % d'acétate d'éthyle). Le produit est obtenu (1,4 g, 30 %) sous la forme d'huile jaune.  $^1\text{H RMN}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  3,43 (t, 2H,  $J = 6,3$  Hz); 3,27 (q, 2H,  $J = 6,3$  Hz); 2,04 (m, 2H,  $J = 6,3$  Hz); 1,43 (s, 9H).  $^{13}\text{C RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)  $\delta$  : 156,1; 79,8; 39,3; 33,0; 31,2; 28,7. **IR (neat)** 3348; 2977; 2933; 1690. **ESI<sup>+</sup>/MS**  $m/z = 238,240$  ( $\text{M}+\text{Na}$ )<sup>+</sup> calculé pour  $\text{C}_8\text{H}_{16}\text{NO}_2$ .

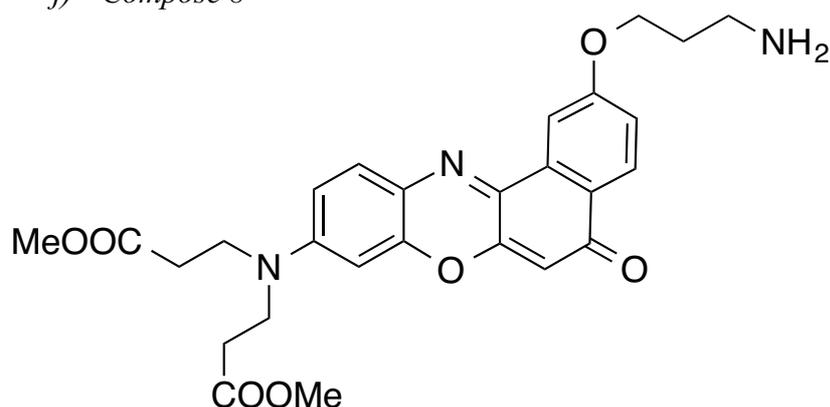
## i) Composé 7



Le composé 4 (450,0 mg, 0,99 mmol) est dissout dans 5 mL de DMF et le NaH (28,0 mg, 1,16 mmol) est ajouté sous argon à température ambiante. Le milieu réactionnel est soumis à une agitation magnétique à température ambiante pendant 20 minutes. Le Tert-butyl (3-bromopropyl) carbamate (280,0 mg, 1,17 mmol) est ajouté et le mélange est chauffé à 36°C pendant 20h. Une extraction au dichlorométhane/eau est réalisée, la phase organique est séparée puis séchée avec  $\text{MgSO}_4$ . Le solvant est évaporé et le brut est purifié par

chromatographie flash sur silice (éluant :  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  avec un gradient de méthanol 0-1,5%. Le composé 7 est obtenu pure sous la forme d'une poudre rouge (230,0 mg, 40%).  $^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  8.15 (d, 1H,  $J = 8.7$  Hz), 7.98 (d, 1H,  $J = 2.6$  Hz), 7.57 (d, 1H,  $J = 9.0$  Hz), 7.13 (dd, 1H,  $J_1 = 8.7$  Hz,  $J_2 = 2.6$  Hz), 6.63 (dd, 1H,  $J_1 = 8.7$  Hz,  $J_2 = 2.6$  Hz), 6.44 (d, 1H,  $J = 2.6$  Hz), 6.24 (s, 1H), 4.93 (s, 1H), 4.20 (t, 2H,  $J = 6.0$  Hz), 3.77 (t, 4H,  $J = 7.1$  Hz), 3.72 (s, 6H), 3.38 (m, 2H), 2.67 (t, 4H,  $J = 7.1$  Hz), 2.06 (m, 2H), 1.45 (s, 9H).  $^{13}\text{C}$  RMN (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 183.3, 171.9, 161.7, 156.2, 151.8, 149.9, 146.6, 141.6, 133.9, 131.2, 127.9, 125.9, 125.3, 118.7, 109.7, 107.0, 105.9, 97.4, 79.4, 66.2, 52.1, 47.1, 38.0, 32.2, 29.7, 28.6. IR (neat) 3442, 2960, 2362, 1741  $\text{cm}^{-1}$ . ESI<sup>+</sup>/MS: 608.26  $[\text{M} + \text{H}]^+$  (33%), 630.24  $[\text{M} + \text{Na}]^+$  (67%). Anal. Calc (mass %) pour  $\text{C}_{32}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_9$ : C, 63.25; H, 6.14; N, 6.92. Trouvé : C, 63.09; H, 6.31; N, 6.80.

j) Composé 8

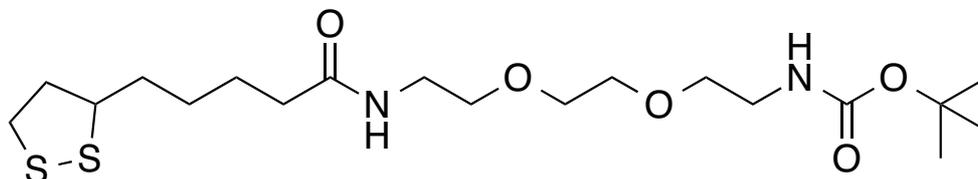


Le composé 5 est solubilisé dans 6 mL de dichlorométhane et 1,3 mL d'acide trifluoroacétique (TFA) sont ajoutés. Le milieu réactionnel est laissé sous agitation magnétique à température

ambiante pendant 30 minutes. Le solvant du milieu réactionnel est évaporé et le brut est purifié par une colonne chromatographis flash sur silice (éluant :  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  94/6). Le composé pur est obtenu sous la forme d'un solide rouge (100,0 mg, 88 %).  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  8.02 (d, 1H,  $J = 8.8$  Hz), 7.99 (d, 1H,  $J = 2.2$  Hz), 7.54 (d, 1H,  $J = 9.1$  Hz), 7.18 (dd, 1H,  $J_1 = 8.8$  Hz,  $J_2 = 2.4$  Hz), 6.80 (dd, 1H,  $J_1 = 9.1$  Hz,  $J_2 = 2.4$  Hz), 6.61 (d, 1H,  $J = 2.4$  Hz), 6.20 (s, 1H), 4.30 (d, 2H,  $J = 5.7$  Hz), 3.81 (t, 4H,  $J = 7.0$  Hz), 3.72 (s, 6H), 3.25 (t, 2H,  $J = 7.2$  Hz), 2.71 (t, 4H,  $J = 7.0$  Hz), 2.26 (m, 2H).  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  185.0, 173.7, 162.8, 153.9, 152.3, 147.9, 140.9, 135.3, 132.3, 128.6, 126.6, 126.2, 119.3, 111.9, 107.9, 105.4, 98.3, 66.6, 52.4, 48.0, 38.5, 32.9, 28.3. ESI<sup>+</sup>/MS: 508.21  $[\text{M} + \text{H}]^+$ . IR (neat) 3383, 2967, 2362, 1729  $\text{cm}^{-1}$ . Anal. Calc (mass %) pour  $\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_7 \cdot 0.6\text{TFA}$ : C, 57.86; H, 5.10; N, 7.18. Trouvé : C, 57.84; H, 5.67; N, 7.26.

## 5.4. Synthèse du dérivé de acide dihydrolipoïque (DHLA)

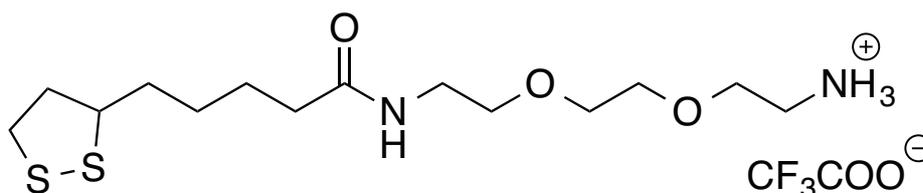
## a) Composé 10



Acide lipoïque (LA) (1,0 g, 5,01 mmol) est solubilisé dans 10 mL de THF. DCC (1,54 g, 7,51 mmol), NHS (0,8 g, 7,52 mmol) et composé 5 (1,6 g, 6,53 mmol) sont ajoutés. Le milieu réactionnel est laissé sous agitation magnétique à température ambiante pendant 12 h. Le solvant du milieu réactionnel est évaporé et le brut est solubilisé dans 40 mL d'acétate d'éthyle. Une extraction à l'acétate d'éthyle/eau 40 mL/20 mL est réalisée. La phase organique est séparée et séchée avec  $\text{MgSO}_4$ . Le solvant est évaporé sous pression réduite. Le composé 10 est obtenu pur à 84%, le reste est le produit déjà déprotégé qu'on va l'utiliser sans une purification supplémentaire (1,3 g, 3,02 mmol).

$^1\text{H RMN}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.11 (s, 1H), 5.01 (s, 1H), 3.55-3.40 (m, 7H), 3.38 (q, 2H), 3.25 (m, 2H), 3.10 (m, 2H), 3.08 (m, 2H), 2.40 (td,  $J = 13, 6.8$  Hz, 1H), 2.14 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H), 1.86 (td,  $J = 13, 6.8$  Hz, 1H), 1.70-1.53 (m, 4H), 1.38 (m, 13H).

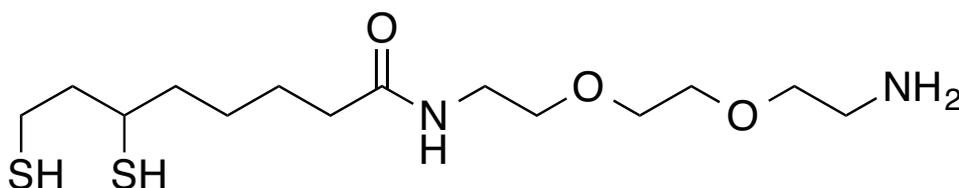
## a) Composé 11



Le composé 10 (1,2 g, 2,78 mmol) est solubilisé dans 5 mL de dichlorométhane et 1,3 mL d'acide trifluoroacétique (TFA) sont ajoutés. Le milieu réactionnel est laissé sous agitation magnétique à température ambiante pendant 45 minutes. Le solvant du milieu réactionnel est évaporé et le composé est précipité à l'éther de pétrole puis récupéré par centrifugation. Le composé est obtenu sous forme d'huile jaune (562,9 mg, 1,67 mmol).

$^1\text{H RMN}$  (400 MHz, MeOD)  $\delta$  3.73-3.68 (m, 7H), 3.66 (s, 2H), 3.56 (m, 2H), 3.42-3.36 (m, 2H), 3.16-3.08 (m, 2H), 2.86 (m, 1H), 2.22 (m, 2H), 2.03 (s, 1H), 1.68-1.49 (m, 8H)

a) *NH<sub>2</sub>-DHLA*



Le composé 10 (600 mg, 1,38 mmol) est solubilisé dans 10 mL de NaHCO<sub>3</sub>. NaBH<sub>4</sub> (100 mg, 2,65 mmol) est ajouté. Le mélange est laissé sous agitation magnétique à température ambiante pendant 30 minutes puis laissé à 4°C pendant 3h. Le produit est utilisé directement dans son milieu réactionnel.

## 6. Fonctionnalisation des nanoparticules luminescentes

### 6.1. Fonctionnalisation avec le Rouge du Nil

#### 6.1.1. Procédure de couplage

Les nanoparticules **QD<sub>540</sub>** (12,6 mg) sont dissoutes dans 10 mL de tampon tris-HCl (0,01 M, pH 7,4). EDC (58 mg, 0,37 mmol) et NHS (18 mg, 0,18 mmol) sont ajoutés. Le mélange est laissé à réagir sous agitation magnétique pendant 20 minutes à température ambiante. Une solution du composé 8 (0,025 M) dans le méthanol est préparée. Une série de 6 échantillons est préparée en rajoutant 3 µL, 6 µL, 9 µL, 12 µL, 15 µL et 24 µL de cette solution à 1 mL de la solution du **QD<sub>540</sub>** soit 5, 9, 13, 18, 23, 37 équivalents d'analogue du Rouge du Nil par **QD<sub>540</sub>**. Les 6 échantillons sont soumis à une agitation magnétique pendant 45 minutes. Le produit de couplage est précipité au méthanol et récupéré par centrifugation (14800 tr/min, 5 minutes). Un lavage avec le méthanol est effectué (20 cycles) afin d'éliminer l'excès de composé 8. Le produit est ensuite séché sous pression réduite pour éliminer les traces de méthanol.

#### 6.1.2. Détermination du taux de couplage

Le taux de couplage a été déterminé par la mesure du spectre d'absorption UV-visible de **QD<sub>540</sub>** après fonctionnalisation

Le spectre a été déconvolué sous la forme d'une combinaison linéaire du spectre d'absorption de l'analogue du Rouge du Nil ( $A_{RN}(\lambda)$ ) et du spectre d'absorption du **QD<sub>540</sub>** ( $A_{QD1}(\lambda)$ ) selon l'Équation VIII.24:

$$A(\lambda) = a A_{RN}(\lambda) + b A_{QD}(\lambda)$$

Équation VIII.24

La concentration du Rouge du Nil et du **QD<sub>540</sub>** a été déterminée à partir des populations *a* et *b*, en prenant en compte les coefficients d'extinction molaire respectifs à savoir 16 600 L. mol<sup>-1</sup>. cm<sup>-1</sup> à 535 nm pour l'analogue du Rouge du Nil et 70 130 L. mol<sup>-1</sup>. cm<sup>-1</sup> pour les **QD<sub>540</sub>** à 408 nm.

Les résultats sont résumés dans le Tableau VIII.23 :

Echantillons	Eq.	<i>b</i>	<i>a</i>	[QD1]	[NR]	[RN]/[QD1]
QD <sub>540</sub> -RN1	5	1.68	0.18	9.60616E-06	7.67711E-06	0.79918599
QD <sub>540</sub> -RN2	9	3.11	0.55	1.77828E-05	2.34578E-05	1.31912799
QD <sub>540</sub> -RN3	13	2.5	0.49	1.42949E-05	2.08988E-05	1.46197756
QD <sub>540</sub> -RN4	18	2.2	0.45	1.25795E-05	1.91928E-05	1.5257187
QD <sub>540</sub> -RN5	23	2.16	0.46	1.23508E-05	1.96193E-05	1.58850548
QD <sub>540</sub> -RN6	37	2.09	0.52	1.19505E-05	2.21783E-05	1.85584497

Tableau VIII.23 Facteurs *a* et *b* et les concentrations correspondantes de RN et QD<sub>540</sub> ainsi que les ratios RN/QD1 pour les échantillons QD<sub>540</sub>-RN1, QD<sub>540</sub>-RN2, QD<sub>540</sub>-RN3, QD<sub>540</sub>-RN4, QD<sub>540</sub>-RN5 et QD<sub>540</sub>-RN6.

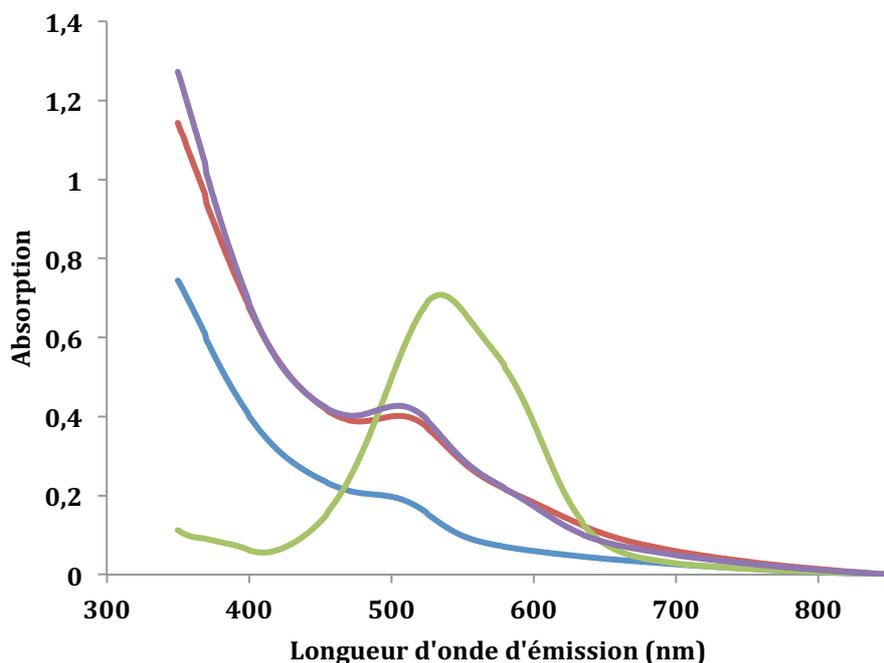


Figure VIII.108 : Spectre d'absorption de l'analogue du Rouge du Nil (vert), **QD<sub>540</sub>** (bleu) et pour les **QD<sub>540</sub>-RN1** ainsi que la combinaison linéaire (violet).

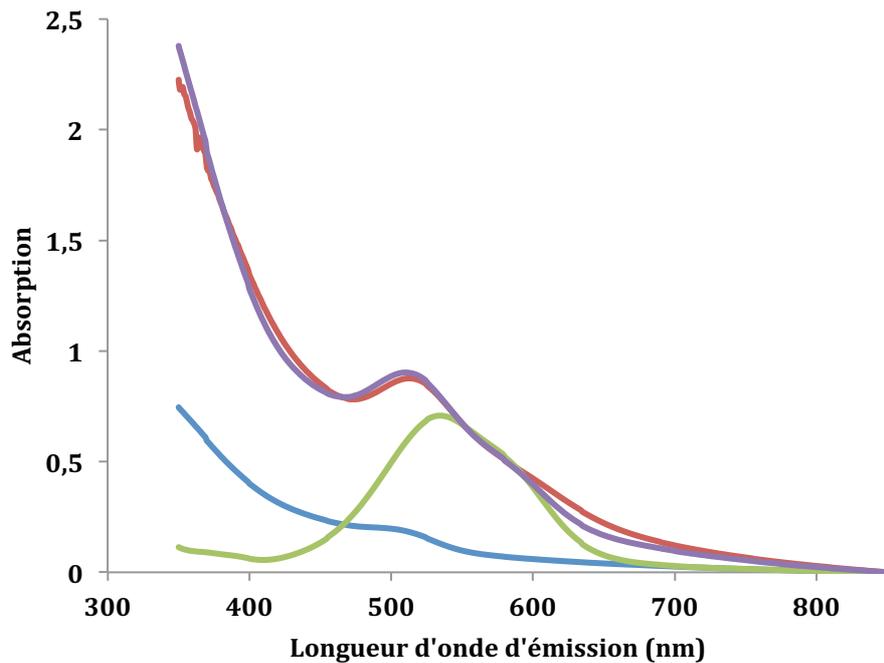


Figure VIII.109 : Spectre d'absorption de l'analogue du Rouge du Nil (vert), QD<sub>540</sub> (bleu) et pour les QD<sub>540</sub>-RN2 ainsi que la combinaison linéaire (violet).

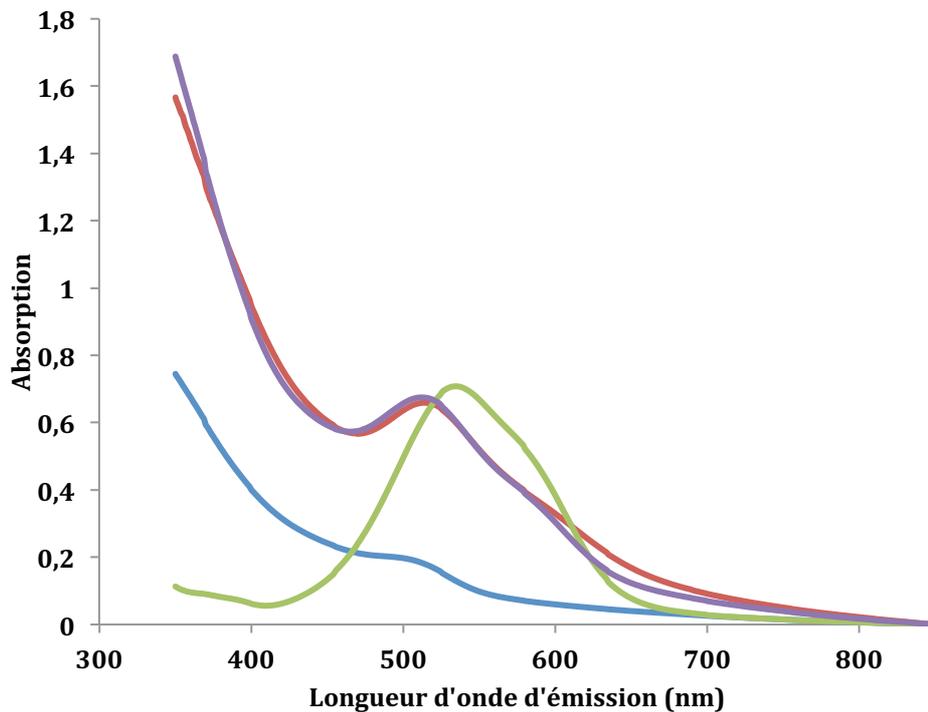


Figure VIII.110 : Spectre d'absorption de l'analogue du Rouge du Nil (vert), QD<sub>540</sub> (bleu) et pour les QD<sub>540</sub>RN3 ainsi que la combinaison linéaire (violet).

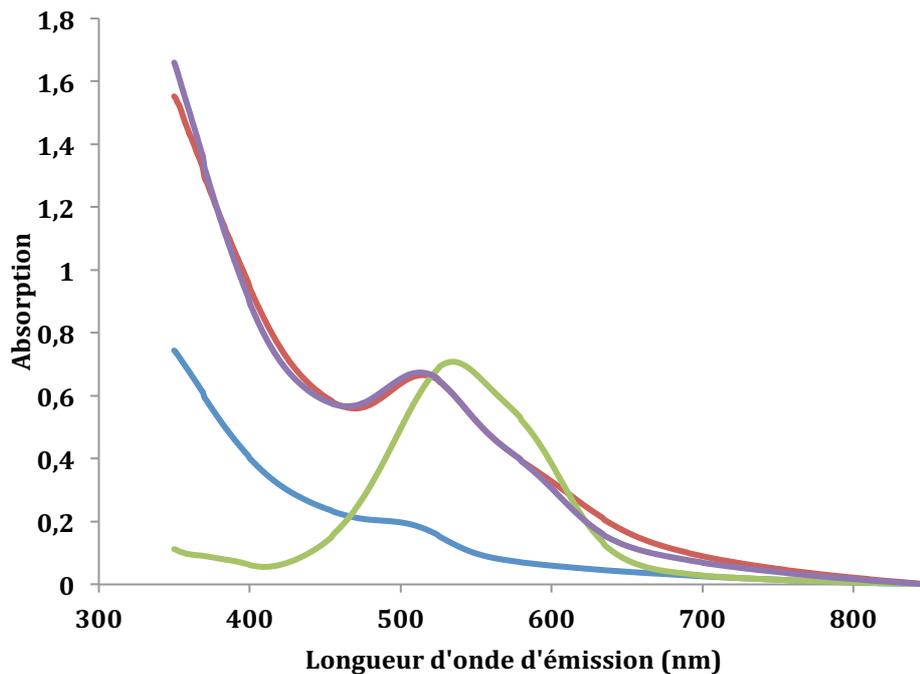


Figure VIII.111 : Spectre d'absorption de l'analogue du Rouge du Nil (vert), QD<sub>540</sub> (bleu) et pour les QD<sub>540</sub>-RN4 ainsi que la combinaison linéaire (violet)

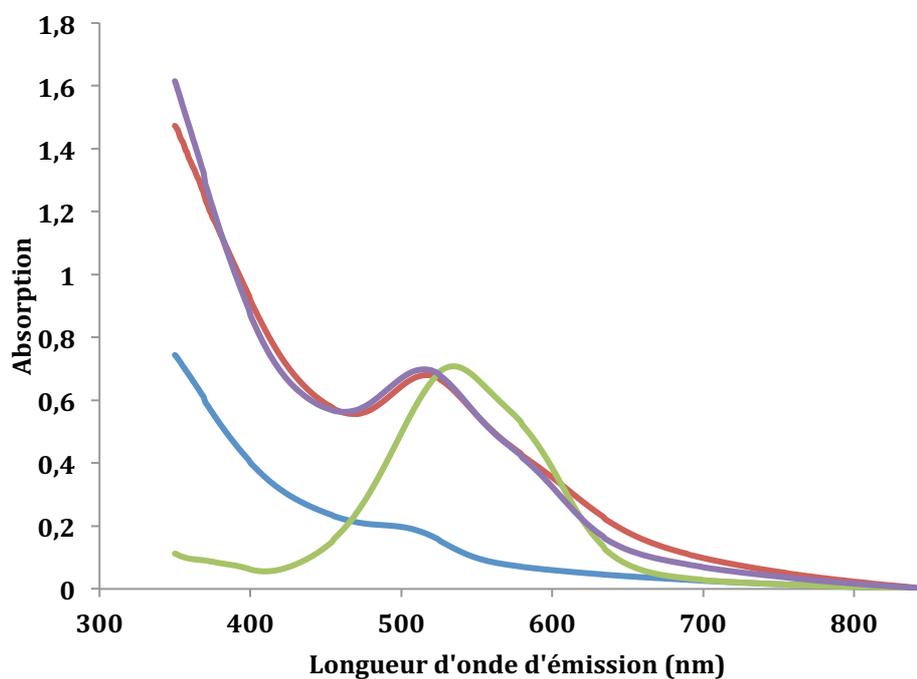
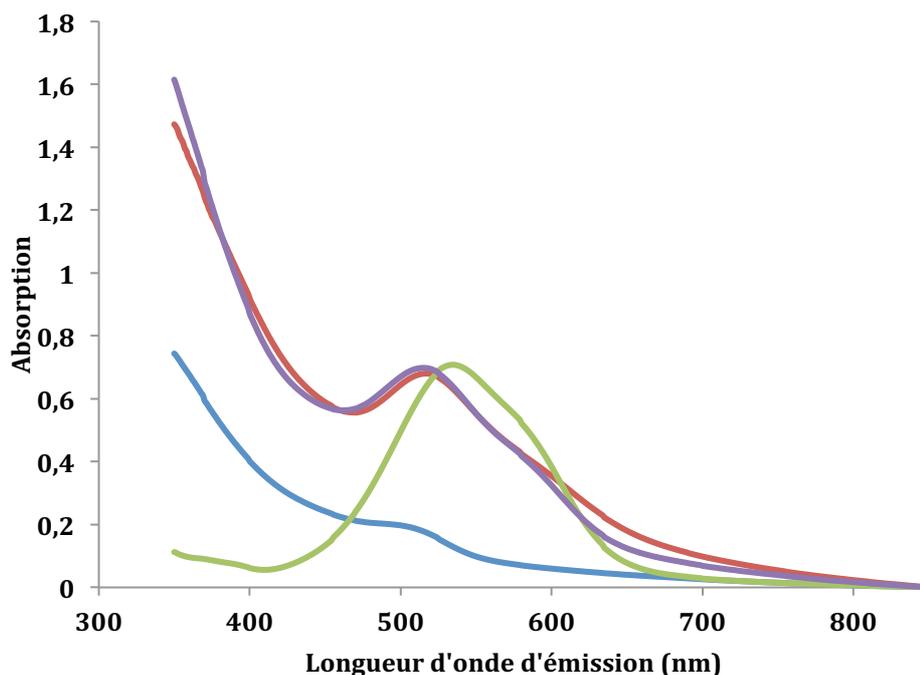


Figure VIII.112 : Spectre d'absorption de l'analogue du Rouge du Nil (vert), QD<sub>540</sub> (bleu) et pour les QD<sub>540</sub>-RN5 ainsi que la combinaison linéaire (violet).



**Figure VIII.113 :** Spectre d'absorption de l'analogue du Rouge du Nil (vert), **QD<sub>540</sub>** (bleu) et pour les **QD<sub>540</sub>-RN6** ainsi que la combinaison linéaire (violet).

### 6.2. Fonctionnalisation avec le chélate bifonctionnels **L<sup>13</sup>**

Les nanoparticules **QD<sub>602</sub>** (5 mg,  $5,86 \cdot 10^{-5}$  mmol) sont dissoutes dans 5 mL de tampon tris-HCl (0,01 M, pH 7,4). 20  $\mu$ L d'une solution aqueuse de EDC (0,054 M) et 20  $\mu$ L d'une solution aqueuse de NHS (0,026 M) sont ajoutés. Le mélange est laissé à réagir sous agitation magnétique pendant 20 minutes à température ambiante. 10  $\mu$ L d'une solution du ligand **L<sup>13</sup>** (0,017 M) est ensuite rajoutée à 1 mL de la solution de **QD<sub>602</sub>**. Le mélange est laissé réagir pendant 3 heures. Une série d'ultrafiltration (20 cycles) a été effectuée avec le tampon HEPES (0,02 M, pH 7,6) une utilisant un filtre avec une membrane de 50 kDa.

### 6.3. Fonctionnalisation avec la BSA

Les nanoparticules **QD<sub>602</sub>** (10 mg,  $11,71 \cdot 10^{-5}$  mmol) sont dissoutes dans 10 mL de tampon tris-HCl (0,01 M, pH 7,4). 22  $\mu$ L d'une solution aqueuse de EDC (0,48 M) et 25  $\mu$ L d'une solution aqueuse de NHS (0,20 M) sont ajoutés. Le mélange est laissé à réagir sous agitation magnétique pendant 25 minutes à température ambiante. 23  $\mu$ L d'une solution de la BSA (0,01 M) est ensuite rajoutée à 1 ml de la solution de **QD<sub>602</sub>**. Le mélange est laissé réagir pendant 3 heures. Une série d'ultrafiltration (20 cycles) a été effectuée avec le tampon HEPES (0,02 M, pH 7,6) une utilisant un filtre avec une membrane de 100 kDa.

#### 6.4. Fonctionnalisation avec la Streptavidine

Les nanoparticules **QD<sub>602</sub>** (4 mg,  $4,68 \cdot 10^{-5}$  mmol) sont dissoutes dans 4 mL dans tampon tris-HCl (0,01 M, pH 7,4). 17,6  $\mu$ L d'une solution aqueuse de EDC (2,43 M) et 7  $\mu$ L d'une solution aqueuse de NHS (1,46 M) sont ajoutés. Le mélange est laissé réagir sous agitation magnétique pendant 23 minutes à température ambiante. 100  $\mu$ L d'une solution de la streptavidine ( $3,78 \cdot 10^{-5}$  M) est ensuite rajoutée à 40  $\mu$ L de la solution de **QD<sub>602</sub>**. Le mélange est laissé réagir pendant 3 heures. Une série d'ultrafiltration (20 cycles) a été effectuée avec le tampon HEPES (0,02 M, pH 7,6) une utilisant un filtre avec une membrane de 100 kDa.

#### 6.5. Fonctionnalisation avec le PSR222

Les nanoparticules **QD<sub>602</sub>** (4 mg,  $4,68 \cdot 10^{-5}$  mmol) sont dissoutes dans 4 mL de tampon tris-HCl (0,01 M, pH 7,4). 17,6  $\mu$ L d'une solution aqueuse de EDC (2,43 M) et 7  $\mu$ L d'une solution aqueuse de NHS (1,46 M) sont ajoutés. Le mélange est laissé à réagir sous agitation magnétique pendant 23 minutes à température ambiante. 100  $\mu$ L d'une solution du PSR222 ( $1,44 \cdot 10^{-5}$  M) soit 220  $\mu$ g est ensuite rajoutée à 30  $\mu$ L de la solution de **QD<sub>602</sub>**. Le mélange est laissé réagir pendant 3 heures. Une série d'ultrafiltration (20 cycles) a été effectuée avec le tampon HEPES (0,02 M, pH 7,6) une utilisant un filtre avec une membrane de 100 kDa.

#### 6.6. Introduction de la fonction maleimide

*Première étape :*

Les nanoparticules **QD<sub>638</sub>** (20 mg) sont dissoutes dans 4 mL de l'eau ultrapure. 40 %, 10%, 4% et 1% (soit 8 mg ( $2,36 \cdot 10^{-2}$  mmol), 2 mg ( $5,90 \cdot 10^{-3}$  mmol), 0,8 mg ( $2,3 \cdot 10^{-3}$  mmol) et 0,2 mg ( $5,90 \cdot 10^{-4}$  mmol) respectivement) de solution de la synthèse de **NH<sub>2</sub>-DHLA** sont ajoutés à la solution de **QD<sub>638</sub>**. Le mélange est laissé réagir à température ambiante pendant 12 h et la solution devient trouble. Les nanoparticules ont été ensuite précipitées par centrifugation et lavées 20 fois à l'aide du méthanol pour éliminer le reste du ligand n'ayant pas réagit. Les nanoparticules sont séchées à pression réduite pendant une nuit pour donner **NH<sub>2</sub>-QD<sub>638</sub>**.

*Deuxième étape :*

Les nanoparticules **NH<sub>2</sub>-QD<sub>638</sub>** (20 mg) sont dissoutes dans 4 mL du tampon Citrate (0,1 M, pH 10,5), 50  $\mu$ L, 12,5  $\mu$ L, 5  $\mu$ L et 1,5  $\mu$ L de Mal-NHS dans DMF (0,47 M) soit  $2,36 \cdot 10^{-2}$  mmol,  $5,90 \cdot 10^{-3}$  mmol,  $2,3 \cdot 10^{-3}$  mmol et  $5,90 \cdot 10^{-4}$  mmol de Mal-NHS. Le mélange est laissé réagir pendant 12 h. les nanoparticules ont précipitées à l'aide du méthanol, lavées 20 fois et récupérées pas centrifugation. Le produit final a séchée à pression réduite.

## 7. Bibliographie

1. Olmsted, J. Calorimetric determinations of absolute fluorescence quantum yields. (2002).
2. Ishida, H., Tobita, S., Hasegawa, Y., Katoh, R. & Nozaki, K. Recent advances in instrumentation for absolute emission quantum yield measurements. *Coord. Chem. Rev.* **254**, 2449–2458 (2010).
3. De Mello, J. C., Wittmann, H. F. & Friend, R. H. An improved experimental determination of external photoluminescence quantum efficiency. *Adv. Mater.* **9**, 230–232 (1997).
4. Fulmer, G. R. *et al.* NMR Chemical Shifts of Trace Impurities: Common Laboratory Solvents, Organics, and Gases in Deuterated Solvents Relevant to the Organometallic Chemist. *Organometallics* **29**, 2176–2179 (2010).
5. Jose, J. & Burgess, K. Syntheses and Properties of Water-Soluble Nile Red Derivatives. *J. Org. Chem.* **71**, 7835–7839 (2006).
6. Kane, B. E., Grant, M. K. O., El-Fakahany, E. E. & Ferguson, D. M. Synthesis and evaluation of xanomeline analogs—Probing the wash-resistant phenomenon at the M1 muscarinic acetylcholine receptor. *Bioorg. Med. Chem.* **16**, 1376–1392 (2008).
7. Zlatev, I., Giraut, A., Morvan, F., Herdewijn, P. & Vasseur, J.-J.  $\delta$ -Di-carboxybutyl phosphoramidate of 2'-deoxycytidine-5'-monophosphate as substrate for DNA polymerization by HIV-1 reverse transcriptase. *Bioorg. Med. Chem.* **17**, 7008–7014 (2009).

## Abréviations

BC	Bande de valence
BC	Bande de conduction
BSA	Bovine Serum Albumin
DCC	DicyClohexylCarbodiimide
DHLA	DiHydroLipoïc Acid
DMF	Diméthylformamide
E <sub>FRET</sub>	Efficacité de transfert
EDCI	1-Ethyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide
EDTA	Ethylène Diamine Tétra Acétique
FRET	Förster Resonance energy transfer
GSH	L-glutathion
HCl	Acide chlorhydrique
HEPES	Acide 4-(2-hydroxyéthyl)-1-pipérazine éthane sulfonique
LA	Lipoïque Acid
MET	Microscope Electronique à Transmission
NHS	N-hydrosuccinimidyl
MPA	MercaptoPropionic Acide
QD	Quantum dots
r	Rayon
R <sub>0</sub>	Rayon de Förster
RN	Rouge du Nil
t.a	Température ambiante
TCSPC	Time Correlated Single Photon Counting
TGA	Acide thioglycolique
THF	TetraHydroFuran
TOPO	Tri-n-OctylPhOsphine
TPSA	Total Prostate Specific Antigen
Tris	Trishydroxyméthylaminométhane



## Publications et communications

### *Publications :*

1. Akram Yahia-Ammar, Aline M. Nonat, Anne Boos, Jean-Luc Rehspringer, Zouhair Asfari, and Loïc J. Charbonnière. Dalton Trans., 2014, 43 (41), 15583-15592
2. K Dipali Sadhukhan, Corrado Rizzoli, Eugenio Garribba, Carlos J. Gomez Garcia, Akram Yahia-ammam, Loic Charbonniere, Samiran Mitra, Dalton Trans., 2012,41, 11565-11568

### *Communications orales :*

*Quantum dots: Synthesis, characterizations and application for energy transfer*

Akram Yahia-Ammar, Aline M. Nonat et Loïc J. Charbonnière

GdR Nanoalliages, Jun 2014, Strasbourg, France

*Synthesis, characterization and functionalization of luminescent semiconductor Nano crystals of CdTeS*

Akram Yahia-Ammar, Aline M. Nonat, Laurence Sabatier et Loïc J. Charbonnière.

GdR Nanoalliages., *Journée des doctorants*, November 2013, Strasbourg, France

*Synthesis and characterizations of CdTeS alloys quantum dots*

Akram Yahia-Ammar, Aline M. Nonat, Jean-Luc Rehspringer et Loïc J. Charbonnière

GECOM-CONCOORD, Jun 2012, Métabief, France

### *Communications par affiche:*

*Bright quantum dots as fluorescent tags for targeted bio-imaging applications*

Akram Yahia-Ammar, Aline M. Nonat, Laurence Sabatier et Loïc J. Charbonnière

COST TD1004 Action, Octobre 2014, Istanbul, Turquie

*Nanomatériaux marqués au  $^{64}\text{Cu}$  pour le diagnostic et la radiothérapie*

Akram Yahia-Ammar, Aline M. Nonat, Amandine Roux et Loïc J. Charbonnière

GPOL 2014, juin 2014, Klingenthal, France

*Antibody-conjugated quantum dots for the diagnosis of prostate cancer by time-resolved fluoroimmunoassays*

Akram Yahia Ammar, Aline Nonat, Laurence Sabatier, Xue Qiu, David Wegner,

Niko Hildebrandt et Loïc J. Charbonnière

COST TD1004 Action, Septembre 2013, Athene, Greece

*Transfert d'énergie de boîtes quantiques (QD) de CdTexSy vers le rouge du Nil*

Akram Yahia-Ammar, Aline M. Nonat et Loïc J. Charbonnière

Journée Boîte Quantique (JBQ), Jun 2013, Paris, France.

*Synthesis and characterizations of CdTeS alloys quantum dots*

Akram Yahia-Ammar, Aline M. Nonat, Jean-Luc Rehspringer et Loïc J. Charbonnière

GECOM-CONCOORD, Jun 2012, Métabief, France







## Synthèses, caractérisations et fonctionnalisation de nanocristaux semi-conducteurs luminescents

### Résumé

Nous avons développé plusieurs méthodes de synthèse de nanocristaux semi-conducteurs luminescents directement en solution aqueuse. Des nanoparticules de  $CdTe_xS_y$  ont été préparées en phase aqueuse et les propriétés optiques ont été étudiées. Suite aux caractérisations chimiques, un modèle a été proposé pour calculer le poids moléculaire et déterminer la formule molaire des nanoparticules de  $CdTe_xS_y$ . Nous avons démontré l'existence d'une relation entre le rendement quantique et le nombre de ligand à la surface des nanoparticules. Les propriétés optiques ont été améliorées grâce à la synthèse sous irradiation micro-ondes. Cette méthode de synthèse nous a permis de synthétiser des nanoparticules de  $CdTe_xSe_yS_z$  avec de bonnes propriétés à 680 nm. Les nanoparticules ont été couplées avec différentes molécules (Rouge du Nil, ligands Bispidines) et protéines (albumine de sérum bovin; BSA et anticorps; PSR 222). Le couplage a été mis en évidence par gel d'électrophorèse. Nous avons également testé les nanoparticules comme donneur ou accepteur dans des systèmes de transfert d'énergie.

**Mots clefs :** Quantum dots, nanocristaux, FRET, fonctionnalisation, Rouge de Nil, Synthèse, Fluorescence.

### Abstract

We have developed several methods for the synthesis of luminescent semiconductor nanocrystals in aqueous solution.  $CdTe_xS_y$  nanoparticles were prepared in the aqueous solution and their optical properties have been studied. Following chemical characterization, a model was proposed to calculate the molecular weight and molecular formula  $CdTe_xS_y$  of the nanoparticles. We have demonstrated the existence of a relationship between the quantum yield and the number of ligands at the surface of the nanoparticles. The optical properties have been improved by using microwave irradiation for the synthesis. This method has allowed us to synthesize  $CdTe_xSe_yS_z$  nanoparticles with good optical up to 680 nm. The nanoparticles were then coupled with various molecules (Nil Red, Bispidins ligands) and proteins (bovin serum albumin; BSA and antibody; PSR 222). The coupling was demonstrated by gel electrophoresis. We also tested the nanoparticles as a donor or acceptor in energy transfer systems.

**Keywords :** Quantum dots, nanocrystals, FRET, functionalization, Nile Red, synthesis, fluorescence.



