

⑫

**DEMANDE DE BREVET D'INVENTION**

**A1**

⑲ Date de dépôt : 04.06.92.

⑳ Priorité :

⑳ Date de la mise à disposition du public de la  
demande : 10.12.93 Bulletin 93/49.

㉑ Liste des documents cités dans le rapport de  
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du  
présent fascicule.*

㉒ Références à d'autres documents nationaux  
apparentés :

㉓ Demandeur(s) : *PROLABO — FR.*

㉔ Inventeur(s) : *Dr. Larpent Chantal, Richard Joël et  
Vaslin-Reimann Sophie.*

㉕ Titulaire(s) :

㉖ Mandataire : *Cabinet Regimbeau, Martin, Schrimpf.*

㉗ **Nanoparticules de polymères fonctionnalisées, leur procédé de préparation et leur utilisation.**

㉘ La présente invention vise des nanoparticules de polymère caractérisées en ce qu'elles possèdent une distribution granulométrique resserrée, une taille comprise entre environ 10 et 50 nanomètres et présentent à leur surfaces des groupements ionogènes ou réactifs, identiques ou différents.

Elle se rapporte également à leur procédé de préparation et à leur utilisation en industrie de revêtement et dans le domaine de la biologie.



La présente invention a pour objet des particules de polymères de taille de l'ordre de la dizaine de nanomètres et présentant à leur surface des groupements ionogènes ou réactifs, lesdites particules se présentant telles quelles ou en dispersions aqueuses, leur procédé de préparation et leur application en biologie.

Les dispersions aqueuses de particules de polymères plus communément nommées latex, sont traditionnellement utilisées dans l'industrie des peintures, des adhésifs, du papier et du textile.

Ces dispersions sont classiquement obtenues par polymérisation en émulsion, cette technique permettant de préparer des particules de taille contrôlée et généralement supérieure à 0,1 micron. Ces qualités leur confèrent une grande surface spécifique qui peut être exploitée avantageusement dans toute application prenant en compte l'aspect particulière du latex.

Récemment, l'utilisation des latex s'est étendue au domaine biomédical et plus particulièrement dans les dosages immunologiques comme les diagnostics, l'adsorption de protéines et l'immobilisation d'enzymes. Dans ce type d'application, les particules de latex présentent classiquement à leur surface des groupements réactifs susceptibles d'être impliqués dans des réactions de couplage avec des molécules biologiques, comme les anticorps par exemple.

Aujourd'hui, de nombreux travaux sont en cours pour accroître la performance et plus précisément la sensibilité de détection de ces techniques de dosages biologiques. La taille des particules impliquées dans les dosages immunologiques est à l'évidence un des facteurs conditionnant leur seuil de sensibilité.

Par exemple, dans les dosages optiques comme la néphélométrie, qui consiste à détecter la lumière diffusée par les particules agrégées, via la formation de complexes anticorps-antigène, à une certaine longueur d'onde et à un angle de mesure donné, l'intensité de la lumière diffusée par une suspension de particules donnée, dépend du nombre et de la taille de ces particules. Plus la taille des centres diffusants de départ sera faible et plus leur concentration pourra être élevée pour une même intensité diffusée. Dans le cas extrême des particules de diamètre très faible, de l'ordre de 20nm, leur intensité diffusée peut être même négligeable. Dès que la réaction immunologique démarre et donc que les particules s'associent sous forme de doublets, triplets, etc., la lumière est diffusée de manière significative, ce qui permet la quantification de la réaction.

L'objet de la présente invention est précisément de mettre au point des particules de latex possédant une taille plus réduite c'est à dire de l'ordre d'une

dizaine de nanomètres et qui soient appropriées à un emploi dans les dosages biologiques.

Compte-tenu de l'application visée, il est clair que ces mêmes particules de polymères doivent en outre posséder une granulométrie resserrée pour obtenir  
 5 une sensibilité de détection élevée et présenter à leur surface des groupements réactifs vis à vis des molécules biologiques à doser.

L'obtention simultanée de ces trois caractéristiques est particulièrement délicate, car elle nécessite la mise en oeuvre de monomères fonctionnels polaires partiellement solubles dans l'eau, et qui de plus ont tendance à  
 10 polymériser en phase aqueuse ; ceci peut conduire à une déstabilisation de la dispersion, ce qui résulte en une augmentation de la taille moyenne des particules par coalescence et à un élargissement important de la distribution granulométrique

Le problème posé et résolu selon l'invention est donc la mise au point de ce  
 15 nouveau type de particules de latex répondant simultanément à trois impératifs, taille réduite, granulométrie resserrée et fonctionnalisation.

Plus précisément, la présente invention se rapporte à des nanoparticules de polymère caractérisées en ce qu'elles possèdent une distribution granulométrique  
 20 resserrée, une taille comprise entre environ 10 et 50 nanomètres et présentent à leurs surfaces des groupements ionogènes ou réactifs, identiques ou différents.

Parmi les polymères pouvant constituer lesdites particules on peut citer les homopolymères ou les copolymères contenant des motifs dérivés des  
 25 monomères vinyliques, acryliques, vinylaromatiques, d'esters vinyliques, d'alkylesters d'acides  $\alpha$  -  $\beta$  insaturés, d'esters d'acides carboxyliques insaturés, de chlorure de vinyle , de chlorure de vinylidène et/ou de diènes.

A titre illustratif, on peut plus particulièrement mentionner les monomères suivants:

- 30
- Le styrène et ses dérivés (vinyltoluène, éthylvinylbenzène ...)
  - Les esters, hydroxyesters et amides de l'acide (méth)-acrylique tels que le méthacrylate de méthyle, l'acrylate de butyle, (méth)-acrylamide,
  - Les esters vinyliques (acétate de vinyle, propionate de vinyle),
  - Les chlorures de vinyle et vinylidène,
  - 35 - Les vinylpyridines (2-vinylpyridine, 4-vinylpyridine, 2-méthyl 5-vinylpyridine)
  - Les di (éthyl) amino-alkyl (méth)-acrylates
  - Les di (éthyl) amino-alkyl (méth)-acrylamides...
  - L'allylamine

- L'éthylène imine
- Le (méth)-acrylonitrile
- Le N-vinylimidazole
- Les dialkylaminométhyl-styrènes
- 5 - La vinylpyrrolidone
- Le divinylbenzène et ses dérivés
- Les diènes conjugués (butadiène...)
- Les dérivés polyallyliques (tetraallyléthylène,...)
- Les (méth) acrylates de polyols (diméthacrylate d'éthylène glycol...)
- 10 - Le méthylène-bis (acrylamide)
- L'acide-bis (acrylamido) acétique

A titre de monomères vinyliques et acryliques convenant à l'invention, on peut plus particulièrement citer ceux dérivant du styrène, de l'acide acrylique, l'acide méthacrylique, le maléate de monobenzyle, la 2-vinylpyridine, le méthylsulfonate de styrène, le chlorométhylstyrène, l'hydroxypropylméthacrylate, l'hydroxybutylacrylate, l'hydroxyéthylacrylate, l'acrylonitrile et/ou l'acroléine.

Les groupements ionogènes ou réactifs, présents à la surface des particules, sont plus particulièrement ceux mentionnés précédemment, à titre de substituants des monomères, dont dérivent les polymères constituant les nanoparticules.

Il s'agit de préférence de groupements choisis parmi OH, SO<sub>3</sub>H, SO<sub>3</sub>R, SO<sub>4</sub>R, COOH, CHO, PhCH<sub>2</sub>Cl, NH<sub>2</sub>, NR<sub>2</sub>, NR<sub>3</sub> avec R étant un radical alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, CONH<sub>2</sub>, NH-NH<sub>2</sub>, CN, CO<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>OH avec n représentant un entier compris entre 1 et 8.

Les fonctions, présentes à la surface des nanoparticules, peuvent également dériver de la transformation chimique ultérieure, par exemple par substitution nucléophile, d'un ou plusieurs groupements réactifs portés par la chaîne polymérique constituant les nanoparticules.

Selon un aspect préféré de l'invention, le polymère constituant les nanoparticules présente une température de transition vitreuse T<sub>g</sub> supérieure à environ 20°C.

Les nanoparticules selon l'invention possèdent une distribution granulométrique resserrée. Cette monodispersité en taille permet d'accéder à la surface exacte d'adsorption des nanoparticules et par conséquent à la capacité de fixation optimale de celles ci dans les dosages immunologiques.

On considère comme resserrée toute distribution granulométrique dont l'écart-type est inférieur ou égal à 30%, et de préférence de l'ordre de 20% ; ceci signifie que les 2/3 en poids des particules ont un diamètre compris entre d<sub>m</sub>-σ

et  $d_{m+\sigma}$  ( $d_m$  : diamètre moyen ,  $\sigma$  : écart-type), dans le cas d'une distribution du type de Gauss.

Les nanoparticules selon l'invention sont susceptibles d'être obtenues par polymérisation d'une microémulsion directe du ou des monomères correspondants. Par le terme microémulsion, on entend désigner une dispersion thermodynamiquement stable par opposition à une dispersion seulement cinétiquement stable qui au terme d'un certain délai coalesce.

La présente invention se rapporte également aux dispersions aqueuses incorporant à titre de particules les nanoparticules des polymères selon l'invention.

Il s'agit de préférence de dispersions aqueuses contenant environ 1 à 25% et plus particulièrement entre environ 5 et 20% de leur poids en nanoparticules exprimé en extrait sec du polymère constituant lesdites particules.

La présente invention se rapporte également à un procédé de préparation des dispersions aqueuses selon l'invention.

Le procédé selon l'invention met en oeuvre la polymérisation d'une microémulsion directe et la récupération de ladite dispersion aqueuse à l'issue de la polymérisation, ladite microémulsion directe étant obtenue au préalable par titration à l'aide d'une quantité efficace d'un tensio-actif approprié soit d'une émulsion directe stabilisée par au moins un tensio-actif ionique soit d'une émulsion inverse stabilisée par au moins un tensio-actif non ionique, les deux émulsions, dites émulsions initiales, étant constituées d'au moins un monomère en dispersion aqueuse.

La dispersion aqueuse de nanoparticules ainsi obtenue peut en outre subir, le cas échéant, une opération de purification.

Ce procédé implique donc, dans une première étape, la formation de cette microémulsion directe.

Dans le cas d'une émulsion initiale inverse, la microémulsion correspondante est préparée par la méthode dite d'inversion inspirée du procédé SCHULMAN ( J. Phys. Chem. 1959, 63 p1677).

Elle consiste à formuler, dans un premier temps, une émulsion de type eau dans huile, l'huile étant constituée du ou des monomères considérés, à l'aide d'un émulsifiant non ionique lipophile c'est à dire de faible balance hydrophile-lipophile HLB. L'huile constitue environ 70% en poids du mélange. La quantité de ce tensio-actif non ionique est ajoutée de manière à obtenir une émulsion stabilisée. De manière générale, une faible quantité d'un tensio-actif anionique est en outre

ajoutée. Sa quantité est approximativement de 0,5% en poids par rapport au poids de monomère. Cette émulsion est ensuite inversée par addition d'une solution aqueuse d'un surfactant non ionique hydrophile c'est à dire de fort HLB jusqu'à observation de l'inversement de phase. Ce phénomène d'inversion est  
5 macroscopiquement décelable puisqu'au cours de la titration on observe successivement le passage d'une émulsion laiteuse à un gel puis à une microémulsion directe, stable, transparente et de faible viscosité.

L'émulsifiant non ionique mis en oeuvre peut être choisi parmi les dérivés nonylphénolpolyéthoxylés (NP). Le caractère lipophile ou hydrophile de ces  
10 composés varie en fonction du nombre de ses motifs éthoxy. A titre de couple émulsifiant ionique de faible HLB/ émulsifiant non ionique de fort HLB on peut ainsi citer les couples NP5/ NP 15, NP5/ NP12, NP7/NP12 et NP7/NP15.

Selon un mode de réalisation préféré de l'invention, l'émulsion inverse contient en outre et préalablement à sa titration un tensio-actif anionique. Il peut  
15 s'agir par exemple du dodécylbenzènesulfonate de sodium (DBS), du laurylsulfate de sodium (SDS) ou du dioctylsulfosuccinate de sodium (aérosol OT®).

Les dispersions de nanoparticules, obtenues par cette technique d'émulsion inverse, contiennent une quantité importante de tensio-actifs et ne peuvent donc  
20 être utilisées directement. L'élimination des tensio-actifs en excès est obtenue ultérieurement par mise en oeuvre d'une techniques de purification. Cette élimination est de préférence réalisée par dialyse qui a pour avantage de ne pas altérer la taille des particules. Aucun phénomène de floculation n' est observé.

La seconde technique, mise au point par les inventeurs, pour préparer la  
25 microémulsion consiste à partir d'une émulsion directe.

Selon cette méthode, le ou les monomères sont dispersés dans une phase aqueuse de manière à obtenir une émulsion directe contenant en outre à titre de stabilisant une quantité efficace d'au moins un émulsifiant ionique. Les  
30 pourcentages pondéraux huile/eau sont de préférence de l'ordre de 5% à 6%. Cette émulsion est ensuite titrée par addition d'un surfactant, copolymérisable ou non, jusqu'à l'obtention d'une microémulsion directe translucide de type huile dans eau, stable et de faible viscosité.

Il est entendu que le surfactant doit être sélectionné pour sa capacité à formuler une microémulsion à partir de l'émulsion directe et également son  
35 aptitude à comicelliser avec l'émulsifiant ionique.

A titre de surfactant non copolymérisable possible, on peut en particulier mentionner les alcools aliphatiques en C<sub>2</sub> à C<sub>7</sub> linéaires ou ramifiés et de

préférence ceux dérivés du butanol ou pentanol et comme surfactant copolymérisable les dérivés hydroxyalkylacrylates en C<sub>2</sub> à C<sub>7</sub>.

5 A titre d'émulsifiant ionique, on peut utiliser notamment le bromure de cetyl-triméthyl ammonium, le dodécylsulfate de sodium ou le dodécylbenzènesulfonate de sodium.

Cette seconde méthode pour préparer les microémulsions directes est avantageuse à plusieurs titres comparativement à la technique précédente.

10 Tout d'abord les quantités d'émulsifiant mises en oeuvre sont nettement inférieures et d'autre part la nature de ces émulsifiants ne soulève pas de problèmes consécutifs d'élimination. Les alcools de type pentanol sont comparativement aux nonylphénolpolyéthoxylés, très aisément éliminés par dialyse.

15 En outre, dans le cas particulier de l'hydroxyalkylacrylate, le problème d'élimination ne se pose plus puisque cet émulsifiant est incorporé par copolymérisation dans la structure du polymère, constituant la formulation des nanoparticules. Dans ce cas, seul l'émulsifiant ionique demeure présent dans la microémulsion.

20 Par ailleurs, en choisissant à titre d'émulsifiant ionique, un surfactant cationique comme le bromure de cetyl-triméthyl-ammonium on s'affranchit définitivement de toute technique de purification ultérieure puisque le CTAB précipite à la fin de la polymérisation et peut donc être aisément éliminé par simple centrifugation ou filtration.

25 Un intérêt supplémentaire de cette voie d'accès aux microlatex, également valable pour la technique dite d'inversion, est de pouvoir accéder directement à la microémulsion. Lorsque les formulations ont été établies, les microémulsions peuvent être préparées par mélange direct de l'ensemble des constituants. Cette facilité de mis en oeuvre est particulièrement intéressante sur un plan industriel.

De manière générale, les nanoparticules selon l'invention possèdent une teneur en émulsifiant inférieure à environ 3% .

30 La préparation des microémulsions est de préférence réalisée à une température voisine de la température ambiante et toujours inférieure à la température de rupture de l'émulsion de départ, typiquement de l'ordre de 40°C.

La taille des particules de cette microémulsion est de l'ordre de 5 à 8 nm.

35 La polymérisation ultérieure de ces microémulsions à l'aide d'initiateurs appropriés et dans des conditions non destructurantes, permet d'obtenir des latex, dont la taille des particules est inférieure à 50 nm et dont la distribution granulométrique est étroite.

En ce qui concerne cette étape de polymérisation des microémulsions, la faisabilité a été établie aussi bien avec des initiateurs hydrosolubles qu'organosolubles, utilisables à basse température, de préférence inférieure ou égale à 40° C. Il s'agit soit de couples redox (persulfate/diamine, eau oxygénée/acide ascorbique), soit de l'AIBN ou d'un de ces dérivés hydrosolubles, tous deux décomposables photochimiquement (irradiation UV). Suivant la nature du système initiateur et la température de réaction, le temps de polymérisation est typiquement compris entre 1 et 3 heures. Ces techniques de polymérisation dite thermiques, photochimiques ou chimiques étant très familières à l'homme de l'art, elles ne seront pas décrites ici en détail.

Les réactions d'homo- ou de co-polymérisation conduisent à des particules possédant une distribution granulométrique resserrée et une taille de l'ordre de 10 à 50nm. Elles peuvent être filmogènes ou non.

Les monomères pouvant être mis en oeuvre pour la préparation des nanoparticules sont ceux déjà cités précédemment.

Les nanoparticules selon l'invention peuvent avantageusement être utilisées dans les méthodes de dosage biologiques pour fixer ou immobiliser des substances biologiquement actives (protéines telles anticorps, enzymes..., antigènes, médicaments...) par adsorption ou couplage.

La réaction de couplage peut être réalisée selon des méthodes bien connues, par exemple :

- en faisant appel à des agents de couplage (tels que glutaraldehyde, carbodiimide hydrosoluble, N-hydroxybenzotriazole, spacers du type 1-6 diaminohexane, polysaccharide...)

- par activation des fonctions du polymère (par exemple par diazotation, par action du bromure de cyanogène, du chlorure de tosyle...)

puis réaction avec la molécule à fixer.

- etc...

Ces nanoparticules peuvent également être utilisées à titre de support dans les tests de diagnostics (agglutination- "RIA" radioimmunological assay - "IRMA" immunoradiometric assay - "EIA" enzyme immuno assay - "ELISA" enzyme linked immunosorbent assay), comme catalyseur enzymatique en biotechnologie ou comme support de culture cellulaire.

Bien entendu compte tenu de leur taille très réduite, les nanoparticules et les dispersions aqueuses correspondantes sont également susceptibles d'être employées avantageusement dans des domaines plus industriels, de type industrie de revêtement comme la peinture, l'encollage, le textile, le papier...

La présente invention vise toute application des nanoparticules revendiquées, dont plus particulièrement celles dans les domaines biologique et médicale dont les méthodes de dosages biologiques.

Les exemples présentés ci-après permettront de mettre en évidence  
5 d'autres avantages et caractéristiques de la présente invention sans toutefois en limiter la portée.

Les latex obtenus dans les exemples ci-après ont été caractérisés du point de vue granulométrie, soit par PCS ("Photon Correlation Spectroscopy" : diffusion  
10 quasi-élastique de la lumière), soit par MET (Microscopie Electronique à Transmission), et du point de vue détermination des fonctions de surface, par dosage conductimétrique des fonctions superficielles dans le cas des groupements acides.

Certains d'entre eux ont été également caractérisés par spectroscopie Infra-Rouge et R.M.N. lorsque leur solubilité le permet et par analyse élémentaire pour  
15 les copolymères contenant par exemple des halogènes.

#### **EXEMPLE 1:**

**Préparation d'une dispersion aqueuse de nanoparticules filmogène, fonctionnalisées par des groupements hydroxylés.**

20

Une microémulsion aqueuse d'hydroxyéthylacrylate et de styrène est préparée comme suit :

On solubilise dans un bécher de 250 ml et muni d'un système d'agitation mécanique, 2,5 g de bromure de cétyle-triméthyl-ammonium (CTAB) dans 7,6 g  
25 d'hydroxyéthylacrylate. A la solution ainsi obtenue, on ajoute sous agitation 2,3 g de styrène. La microémulsion est ensuite formée sous agitation par incorporation de 87,6 g d'eau au mélange.

Cette microémulsion est ensuite introduite dans un ballon tricol de 250 ml, équipé  
30 d'un système d'agitation et d'une arrivée d'azote. Elle est désaérée pendant 20 minutes sous azote, puis maintenue sous atmosphère inerte. Elle est placée sous agitation dans un bain de glace à 0° C . 82 mg de persulfate d'ammonium dans 1 ml d'eau sont ensuite ajoutés à l'aide d'une seringue, puis 107 mg de tétraméthyl-diaminoéthane (TMDAM). Au bout de 2 h, la circulation d'azote est  
35 arrêtée et la réaction se poursuit à température ambiante pendant 4 heures. On observe une précipitation du CTAB qui est éliminé de la microémulsion polymérisée par centrifugation. On obtient une dispersion aqueuse de nanoparticules contenant 10 % en poids de solide.

Caractérisation des particules :

La taille des particules est déterminée par PCS. Elle est de  $50 \text{ nm} \pm 15 \text{ nm}$ . Les particules présentent une distribution resserrée.

- 5 Après déshydratation à  $35^\circ\text{C}$  pendant 3 heures sur une plaque de verre ou de polystyrène, les particules forment un film de polymère homogène.

**EXEMPLE 2 :**

- 10 **Préparation d'une dispersion aqueuse de nanoparticules non filmogène, fonctionnalisées par des groupements hydroxylés**

Pour préparer la microémulsion aqueuse on dissout au préalable sous agitation dans un bécher de 250 ml, 9,3 g de sodium dodécylsulfate (SDS) dans 84,75 ml  
15 d'eau. 3,39 g de styrène sont ajoutés. Après agitation de l'ensemble, une émulsion blanche, laiteuse apparaît. On lui ajoute, à la burette, en maintenant l'agitation, 2,54 g d'hydroxylbutylacrylate. La solution finale est translucide.

La microémulsion ainsi obtenue est ensuite polymérisée selon le protocole décrit en exemple 1. On obtient une dispersion aqueuse de nanoparticules contenant  
20 5,9 % en poids de charges solides.

Caractérisation des particules:

La taille des particules, déterminée par PCS, est de  $20 \text{ nm} \pm 5 \text{ nm}$ .

- 25 Purification du latex par dialyse

Le latex est dialysé d'une façon statique à travers une membrane de diamètre de pores compris entre 1,5 et 3 nm ( tubes à dialyse Visking® commercialisés par la société ROTH ), qui permet l'échange avec de l'eau désionisée pendant plusieurs jours. Il est possible d'éliminer 95 % du sodium dodécylsulfate par cette méthode,  
30 tout en gardant un latex parfaitement stable.

**EXEMPLE 3 :**

- 35 **Préparation d'une dispersion aqueuse de particules non filmogène, fonctionnalisées par des groupements hydroxylés.**

De la même façon qu'en exemple 1, on solubilise dans un bécher de 250 ml et muni d'un système d'agitation, 1 g de bromure de cétyl-triméthyl-ammonium

(CTAB) dans 3,2 g d'hydroxyléthylacrylate. On y ajoute 6,9 g de styrène puis 88,9 g d'eau sous agitation.

La microémulsion, ainsi obtenue, est introduite dans un ballon tricol de 250 ml, équipé d'un système d'agitation et d'une arrivée d'azote. Elle est désaérée pendant 20 mn sous azote, puis maintenue sous agitation et dans un bain de glace à 0°C, sous atmosphère inerte. 82 mg de persulfate d'ammonium dilué dans 1ml d'eau sont ajoutés à l'aide d'une seringue, puis 107 mg de tétraméthyl diaminoéthane (TMDAM). Au bout de 2 heures, la circulation d'azote est arrêtée et la réaction est laissée se poursuivre à température ambiante environ 4 heures. On observe une précipitation du CTAB qui est éliminé par centrifugation. La dispersion aqueuse de nanoparticules contient 10% en poids de charge solide.

#### Caractérisation des particules:

La taille des particules déterminée par PCS est de 25 nm  $\pm$  7nm. Elles présentent une distribution resserrée.

#### **EXEMPLE 4**

**Préparation d'une dispersion aqueuse de nanoparticules fonctionnalisées par des groupements COOH**

#### Préparation de la microémulsion ( huile dans l'eau)

On dissout, dans un bécher de 1 litre, muni d'un système d'agitation et surmonté d'une burette, 145 mg de dodecyl benzène sulfonate de sodium (DBS) dans 5,5 g d'eau, auquel on ajoute ensuite 4,1 g de NP5 (nonylphénol polyéthoxylé de la série des émulsifiants Synperonic® avec cinq motifs polyéthoxylène). Après homogénéisation, une solution composée de 20 g de styrène et de 5 g d'acide méthacrylique (AMA), est ajoutée au mélange sous agitation.

La titration de l'émulsion inverse est réalisée à l'aide d'une solution de 65 g de NP15 (15 motifs polyéthoxylène) dans 430 g de d'eau qui est ajoutée goutte-à-goutte, sous agitation, au contenu du bécher. Le mélange réactionnel qui est laiteux à l'origine, passe par une phase gel et s'éclaircit progressivement pour conduire finalement à une solution translucide.

35

#### Polymérisation

La microémulsion ainsi obtenue, est introduite dans un tricol de 1 litre muni d'un système d'agitation, d'une arrivée d'azote ainsi que d'un thermomètre. Elle y est

désoxygénée par barbotage d'azote pendant 30 mn. 135 mg d'acide ascorbique dans 10 ml d'eau, ainsi que 17 g d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 10% sont ensuite ajoutés au mélange réactionnel. La solution est ensuite portée à 35° C pendant 4 heures, en maintenant une atmosphère d'azote et une agitation douce (100 tr/mn) .

- 5 A la fin de la réaction, le latex est strippé afin d'éliminer le monomère résiduel.

Caractérisation des particules:

Concentration du latex : 20%

Distribution de taille des particules, déterminée par PCS : 17nm ± 3nm

- 10 Distribution resserrée.

Taux de fonctions carboxyliques : 236 µeq de fonctions COOH par gramme de polymère.

Purification du latex par dialyse

- 15 Le latex est dialysé d'une façon statique à travers une membrane de diamètre de pores compris entre 1,5 et 3 nm (tubes à dialyse Visking® de Roth), qui permet l'échange avec de l'eau désionisée pendant plusieurs jours. Il est possible d'éliminer 95 % du surfactant par cette méthode, tout en gardant un latex parfaitement stable (contrôle de la taille par PCS).

20

Extrait sec avant dialyse = 16,6%

Extrait sec après dialyse = 5,07%

**EXEMPLE 5**

- 25 **Préparation d'une dispersion aqueuse de nanoparticules, facilement purifiable par dialyse.**

Préparation de la microémulsion (huile dans l'eau)

- 30 On dissout dans un bêcher de 250ml, muni d'un système d'agitation et surmonté d'une burette, 8,3g de SDS dans 75,7g d'eau.

Après homogénéisation, 8,9g de styrène sont ajoutés au mélange sous agitation.

La titration de l'émulsion est réalisée à l'aide de 7,1g de pentanol-1, qui est ajouté goutte-à-goutte, sous agitation, au contenu du becher.

- 35 Le mélange réactionnel, qui est laiteux à l'origine, passe par une phase gel et s'éclaircit progressivement pour conduire finalement à une solution translucide.

La polymérisation s'effectue selon le protocole décrit précédemment en exemple 4.

Caractérisation des particules

Concentration du latex : 17,1%.

Distribution de taille des particules, déterminés par PCS :  $20\text{nm} \pm 6\text{nm}$

Distribution resserrée.

5

Purification du latex par dialyse

Le latex est dialysé comme dans l'exemple précédent. L'élimination du cotensioactif (pentanol-1) est totale après 20 H ; celle du tensio-actif (SDS)

10 intervient après 48 H.

97% du système émulsifiant est ainsi éliminé par cette méthode, ce qui ne modifie en rien la stabilité du latex.

15 **EXEMPLE 6****Préparation d'une dispersion aqueuse de nanoparticules fonctionnalisées par des groupements méthylchlorés**

20 La méthodologie appliquée pour préparer cette dispersion aqueuse de nanoparticules est similaire à celle décrite dans l'exemple précédent. La nature des composés mis en oeuvre et leurs quantités respectives sont comme suit :

Solution S<sub>1</sub> :

	144 mg	DBS
	5,4 g	H <sub>2</sub> O
25	4,2 g	NP5
	20 g	styrène
	5 g	VCB (chlorure de vinylbenzyle)

30 Solution S<sub>2</sub>

	59 g	NP15
	400 g	H <sub>2</sub> O

35 La solution S<sub>2</sub> est additionnée goutte-à-goutte à S<sub>1</sub> . Lorsque l'ajout est terminé, on est en présence d'une microémulsion directe et translucide. La polymérisation de cette microémulsion est effectuée selon le protocole décrit dans les exemples précédents.

Caractérisation des particules:

Concentration du latex : 17,5 %

Distribution de taille des particules déterminée par PCS et MET :  $30\text{nm} \pm 9\text{nm}$

5

**EXEMPLE 7****Préparation d'une dispersion aqueuse de nanoparticules fonctionnalisées par des groupements sulfonates**

10

La méthodologie appliquée est identique à celle des essais précédents. La nature des composés mis en oeuvre et leurs quantités respectives sont comme suit :

15	Solution S <sub>1</sub> :	180 mg	DBS
		6 g	H <sub>2</sub> O
		4,1 g	NP5
		20 g	styrène sulfonate de Na
		20 g	styrène
20	Solution S <sub>2</sub> :	45 g	NP15
		300 g	H <sub>2</sub> O

Caractérisation des nanoparticules

Concentration du latex : 18,4 %

25 Distribution de taille des particules, déterminée par PCS et de  $30\text{ nm} \pm 9\text{nm}$ .

Taux de fonctions sulfonates superficielles: 80  $\mu\text{eq}$  par gramme de polymère.

**EXEMPLE 8****30 Préparation d'une dispersion de nanoparticules fonctionnalisées par des groupements carboxyliques par addition directe**

Cet essai présente le double avantage d'être particulièrement facile à réaliser et de conduire à un latex d'extrait sec plus élevé. En ce qui concerne le protocole mis en oeuvre pour la réalisation de la polymérisation, on se référera aux  
35 exemples précédents.

14

Solution S<sub>1</sub> :

145 mg	DBS
5,5 g	H <sub>2</sub> O
4,1	NP5
20 g	styrène
5 g	Acide méthacrylique

5

Solution S<sub>2</sub> :

65 g	NP15
250 g	H <sub>2</sub> O

10

Dans ce cas la microémulsion est obtenue directement par simple mélange des deux solutions. La solution S<sub>1</sub> est versée directement dans la solution S<sub>2</sub>, qui est homogénéisée sous agitation magnétique pendant quelques minutes. La microémulsion ainsi obtenue est ensuite polymérisée.

15

#### Caractérisation des nanoparticules

Concentration du latex : 30 %

Distribution de taille des particules : 25 nm ± 6nm

## REVENDEICATIONS

1. Nanoparticules de polymère caractérisées en ce qu'elles possèdent une  
5 distribution granulométrique resserrée, une taille comprise entre environ 10 et 50  
nanomètres et présentent à leur surfaces des groupements ionogènes ou  
réactifs, identiques ou différents .
2. Nanoparticules selon la revendication 1 caractérisées en ce que le polymère  
10 constituant les particules possèdent une température de transition vitreuse Tg  
supérieure à environ 20°C.
3. Nanoparticules selon la revendication 1 ou 2 caractérisées en ce que le  
15 polymère les constituant est un homopolymère ou copolymère contenant de  
motifs dérivés des monomères vinyliques, acryliques, vinylaromatiques, d'esters  
vinyliques, d'alkylesters d'acides  $\alpha$  -  $\beta$  insaturés, d'esters d'acides carboxyliques  
insaturés, de chlorure de vinyle , de chlorure de vinylène et/ou de diènes.
4. Nanoparticules selon la revendication 3 caractérisées en ce qu'il s'agit de  
20 préférence d'un polymère contenant des motifs dérivés de l'homopolymérisation  
ou copolymérisation du styrène, de l'acide acrylique, l'acide méthacrylique, le  
maléate de monobenzyle, la 2-vinylpyridine, le méthylsulfonate de styrène, le  
chlorométhylstyrène, l'hydroxyéthylacrylate, l'hydroxypropylméthacrylate,  
l'hydroxybutylacrylate, l'acrylonitrile et/ou l'acroléine.
- 25
5. Nanoparticules selon l'une quelconque des revendications 1 à 4 caractérisées  
en ce que les groupements ionogènes ou réactifs sont de préférence représentés  
par au moins un groupement choisi parmi OH, SO<sub>3</sub>H, SO<sub>3</sub>R, SO<sub>4</sub>R, COOH,  
CHO, PhCH<sub>2</sub>Cl, NH<sub>2</sub>, NR<sub>2</sub>, NR<sub>3</sub> avec R étant un radical alkyle en C<sub>1</sub>- C<sub>3</sub>, CONH<sub>2</sub>,  
30 NH-NH<sub>2</sub>, CN, CO<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>OH avec n représentant un entier compris entre 1 et 8.
6. Nanoparticules selon l'une quelconque des revendications 1 à 5 caractérisées  
en ce qu'elles possèdent un taux en émulsifiant inférieur à environ 3%.
- 35
7. Nanoparticules selon l'une quelconque des revendications précédentes  
caractérisées en ce qu'elles sont susceptibles d'être obtenues par polymérisation  
d'une microémulsion directe du ou des monomères correspondants.

8. Dispersion aqueuse de nanoparticules de polymère caractérisée en ce qu'elle contient environ de 1 à 25% et de préférence de 5 à 20% de son poids en nanoparticules selon l'une des revendications 1 à 7, exprimé en extrait sec du polymère constituant lesdites particules.

5

9. Procédé de préparation d'une dispersion aqueuse selon la revendication 8 caractérisé en ce qu'il met en oeuvre la polymérisation d'une microémulsion directe et la récupération de la dispersion aqueuse à l'issue de la polymérisation, ladite microémulsion directe étant obtenue au préalable par titration, à l'aide d'une quantité efficace d'un tensio-actif approprié soit :

10

- d'une émulsion directe stabilisée par au moins un tensio-actif ionique ou
- d'une émulsion inverse stabilisée par au moins un tensio-actif non ionique, les deux émulsions, dites émulsions initiales, étant constituées d'au moins un monomère en dispersion aqueuse.

15

10. Procédé selon la revendication 9 caractérisé en ce que la dispersion aqueuse de nanoparticules subit, le cas échéant après sa récupération une opération de purification.

20

11. Procédé selon la revendication 9 ou 10 caractérisé en ce que la microémulsion directe est de préférence préparée par titration à l'aide d'un surfactant, copolymérisable ou non d'une émulsion directe contenant outre le ou les monomères, au moins un émulsifiant ionique.

25

12. Procédé selon la revendication 11 caractérisé en ce que le surfactant non copolymérisable est de préférence un alcool aliphatique linéaire ou ramifié en  $C_2$  à  $C_7$  et de préférence les alcools dérivés du butanol ou pentanol.

30

13. Procédé selon la revendication 11 caractérisé en ce que le surfactant copolymérisable est de préférence un hydroxyalkylacrylate en  $C_2$  à  $C_7$  et de préférence l'hydroxyéthylacrylate.

35

14. Procédé selon l'une des revendications 9 à 13 caractérisé en ce que le surfactant approprié est ajouté à l'émulsion jusqu'à l'obtention d'une microémulsion directe stable et transparente.

15. Procédé selon l'une des revendications 9 à 14 caractérisé en ce que l'émulsion initiale de type inverse comprend environ 70% en poids de

monomère(s) et celle de type directe comprend environ 5 à 6% en poids de monomère(s).

5 16. Procédé selon l'une des revendications 9 à 15 caractérisé en ce que le ou les monomère(s) présent(s) dans l'émulsion initiale sont de préférence choisis parmi les monomères énumérés en revendication 4 .

10 17. Procédé selon l'une des revendications 1 à 16 caractérisé en ce que la polymérisation de la microémulsion directe est réalisée photochimiquement, chimiquement ou thermiquement à l'aide d'un initiateur hydrosoluble ou organosoluble approprié.

15 18. Procédé selon la revendication 17 caractérisé en ce que l'initiateur est de préférence un couple redox de type persulfate/diamine, eau oxygénée/acide ascorbique, l'AIBN ou un des dérivés hydrosolubles de celui-ci.

20 19. Utilisation des nanoparticules selon l'une des revendications 1 à 7 ou d'une dispersion aqueuse selon la revendication 8 dans les industries de revêtement de type peinture, collage, textile et papier.

20 20 Utilisation des nanoparticules selon l'une des revendications 1 à 7 ou d'une dispersion aqueuse selon la revendication 8 en biologie et plus particulièrement dans des méthodes de dosages biologiques.

INSTITUT NATIONAL  
de la  
PROPRIETE INDUSTRIELLE

**RAPPORT DE RECHERCHE**  
établi sur la base des dernières revendications  
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement  
national

FR 9206759  
FA 473951

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
A	DE-A-1 495 913 (B.F.GOODRICH)  -----	
		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int. Cl.5)
		C08F
Date d'achèvement de la recherche 10 FEVRIER 1993		Examineur CAUWENBERG C.L.
<p><b>CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES</b></p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul                      Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie                      A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général                      O : divulgation non-écrite                      P : document intercalaire</p> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention                      E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure.                      D : cité dans la demande                      L : cité pour d'autres raisons                      .....                      &amp; : membre de la même famille, document correspondant</p>		

1

EPO FORM 1503 03.82 (P0413)