



HAL
open science

Nanoparticules de réseaux de coordination pour l'imagerie médicale

Gabriella Paul

► **To cite this version:**

Gabriella Paul. Nanoparticules de réseaux de coordination pour l'imagerie médicale. Chimie de coordination. Université Paris Saclay (COMUE), 2015. Français. NNT: 2015SACLS009 . tel-01424122

HAL Id: tel-01424122

<https://theses.hal.science/tel-01424122>

Submitted on 2 Jan 2017

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.

NNT : 2015SACLS009

THESE DE DOCTORAT
DE L'UNIVERSITE PARIS-SACLAY,
préparée à l'Université Paris-Sud

ÉCOLE DOCTORALE 2MIB
Sciences chimiques : molécules, matériaux, instrumentation et biosystèmes
Spécialité de doctorat : Chimie

Par

Mme Gabriella PAUL

Nanoparticules de réseaux de coordination pour l'imagerie médicale

Thèse présentée et soutenue à Orsay, le 1er octobre 2015 :

Composition du Jury :

M. Tripier Raphaël	Professeur, Université de Bretagne Occidentale	Rapporteur
M. Dominguez Vera José Manuel	Professeur, Universidad de Granada	Rapporteur
Mme Begin-Colin Sylvie	Professeur, Université de Strasbourg	Président du jury
M. Muller Robert N.	Professeur, Université de Mons	Examineur
Mme Catala Laure	Maître de conférences, Université Paris-Sud	Directeur de thèse
M. Mallah Talal	Professeur, Université Paris-Sud	Co-directeur de Thèse



REMERCIEMENTS

Mes sincères remerciements à Laure Catala, ma directrice de thèse, avec qui j'ai pris beaucoup de plaisir à travailler pendant ces trois années. Merci pour ta confiance, ton soutien permanent, ton écoute, ta disponibilité ainsi que pour l'excellente formation scientifique que tu m'as transmise au cours de ces trois ans. Un grand merci également pour tous ces riches moments partagés en dehors du labo, pendant lesquels nous avons beaucoup ri et partagé et qui nous ont permis de devenir de véritables amies.

Tous mes remerciements à Talal Mallah, directeur du laboratoire et co-directeur de cette thèse. Merci de m'avoir fait confiance et de m'avoir confié les travaux dirigés de chimie inorganique au sein du parcours magistère PCM. Cette expérience en enseignement pendant ces trois ans a été très intéressante et enrichissante. Merci également pour ta disponibilité et pour les discussions scientifiques.

Je tiens également à remercier Raphaël Tripiet et Jose-Manuel Dominguez Vera d'avoir accepté d'être rapporteur de ce travail. Merci Raphaël pour ton intérêt concernant mon travail de thèse ainsi que pour ton invitation au congrès sur l'imagerie médicale à York. Merci également à Sylvie Bégin-Colin et à Robert Muller d'avoir accepté de juger cette thèse.

Tous mes remerciements aux collaborateurs : Merci à toute l'équipe du Professeur Robert Muller de l'Université de Mons pour m'avoir accueilli à plusieurs reprises au sein de leur laboratoire afin que je puisse effectuer les mesures de relaxivité et de contraste des particules. Un grand merci à Sophie Laurent qui m'a accueilli les bras ouverts, m'a formé aux mesures de relaxivité et était toujours disponible pour répondre à mes questions. Merci également à Luce Vander Elst et à Matthieu Roch. Je tiens également à remercier l'équipe d'Olivier Tillement de l'Université de Lyon 1 pour leur accueil chaleureux. Je remercie particulièrement Lucie Sancey avec qui j'ai pu travailler sur les tests de toxicité et réaliser des études in-vitro et in-vivo. Un grand merci à Philippe Méjanelle, mon binôme de choc, pour la mise au point des mesures ICP. Merci à Eric Rivière pour les mesures magnétiques, François Brisset pour les mesures EDS et Alexandre Gloter pour les images de microscopie sous haute résolution et de STEM-EELS.

Je tiens également à remercier Nada Dia qui m'a formé sur la synthèse de nanoparticules lors de mon arrivée au laboratoire en janvier 2012. Ce fut un réel plaisir de travailler avec toi. Merci également à Camille Huet qui a effectué un stage de L2 sur cette thématique. Mes sincères remerciements à Lucile Fétiveau qui a effectué son stage de M2 sur ce sujet et qui reprend la suite de cette thèse.

Je tiens également à remercier tous les membres du LCI pour leur sympathie, leur disponibilité et leur bonne humeur qui ont rendu le quotidien de cette thèse plus qu'agréable.

Je remercie ma grande amie Stéphanie, avec qui j'ai partagé tant de fous rires, de conversations de filles et de bombec dans le bureau et en dehors du labo ! Un grand merci à mon ami Jérôme qui a toujours été là pour moi et avec qui j'ai partagé des supers moments au labo et en dehors ! Merci également à Olga avec qui j'ai beaucoup échangé, appris, rigolé, bu et fait les magasins. Merci à Monica pour sa belle amitié au labo et à la maison et pour tous nos lundi, mardi, mercredi et jeudi spéciaux ! Merci à Cyril et Vincent, mes deux collègues et amis, avec qui j'ai eu le grand plaisir de partager le bureau pendant ces trois années. Mes sincères remerciements à mes deux compatriotes, Christian et Mauri, mes deux rayons de soleil du laboratoire, avec qui j'ai passé des moments inoubliables, rempli d'amitié, de fous rires et d'alcool ! Merci également à Baptiste, Virgile, Charlotte et Feng.

Je remercie également Crokette pour son soutien ainsi que pour la patience et l'enthousiasme avec lesquels elle a réussi à faire le sommaire et la mise en page de ma thèse jusqu'à 3h du matin, deux jours avant que je rende mon manuscrit. Merci ma Piyonne adorée !!! Merci à Diana pour son soutien et ses huit mois de folie passé à vivre ensemble où tu as bien réussi à me faire déconnecter de ma thèse. Merci ma Didou !!! Merci à Zain pour sa bonne humeur constante, son amitié, son soutien et toutes nos sorties et soirées. Merci ma Zenou !!!

Mes plus tendres remerciements à mon doux Raphaël pour son précieux soutien, sa patience et sa grande compréhension. Un grand merci également à toute ma famille et particulièrement aux deux femmes de ma vie, ma mère et ma sœur, qui ont toujours été là pour moi. Et pour finir, un merci spirituel à mon père qui m'a transmis son goût pour la science, et qui j'en suis certaine doit être très fier de moi...

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.....	8
CHAPITRE I : BIBLIOGRAPHIE	10
I. Un peu d'Histoire.....	10
II. Principe de la Résonance Magnétique Nucléaire (RMN).....	11
III. Les agents de contraste.....	16
III.1. Définition de la relaxivité	16
III.2. Théorie de la relaxivité – Modèle de Bloembergen, Solomon et Freed	17
III.2.1. Relaxation paramagnétique	17
III.2.2. Mécanisme par sphère interne	19
III.2.3. Mécanisme de la seconde sphère de coordination	22
III.2.4. Mécanisme par sphère externe	23
III.2.5. Dépendance en champ de la relaxivité : profils de dispersion.....	24
III.3. Optimisation de la relaxivité des agents de contraste.....	25
III.3.1. Paramètres influençant le mécanisme de sphère interne.....	25
III.3.2. Agents de contraste commerciaux	31
IV. Agents de contraste à base de Gd(III).....	36
IV.1. Complexes mononucléaires	36
IV.2. Agents de contraste métallo-dépendants	39
IV.3. Association chélate - macromolécules (polymères, protéines, dendrimères).....	41
IV.4. Agents de contraste lipophiles	45
IV.5. Nanoparticules inorganiques contenant des ions paramagnétiques.....	46
V. Agents de contraste à base de Mn(II).....	50
V.1. Chélates de Mn ^{II}	50
V.2. Encapsulation dans des liposomes	51
V.3. Complexes macromoléculaires de Mn ^{II}	52
V.4. Nanoparticules contenant des ions Mn ^{II}	53
VI. Nanoparticules de bleu de Prusse et ses analogues comme agent de contraste pour l'IRM	58
VI.1. Le bleu de Prusse et ses analogues.....	59
VI.1.1. Le bleu de Prusse : structure et propriétés.....	59
VI.1.2. Les analogues du bleu de Prusse : structure et propriétés.....	60
VI.1.3. Réseaux de coordination à ponts cyanures : vers la synthèse d'agents de contraste	61
VI.1.4. Etat de l'art	62
VII. Objectifs de la thèse	74

**CHAPITRE II : NANOPARTICULES DE RESEAUX DE COORDINATION
CONTENANT DES IONS Mn^{II} COMME AGENTS DE CONTRASTE T_1 POUR
L'IMAGERIE A RESONANCE MAGNETIQUE..... 82**

I.	Introduction	82
II.	Synthèse et caractérisations structurales des nanoparticules	84
II.1.	Synthèse des particules	84
II.1.1.	Précipitation contrôlée en phase aqueuse	84
II.1.2.	Enrobage des particules au dextran	86
II.2.	Caractérisations structurales et de taille des particules	87
II.2.1.	Diffusion dynamique de la lumière (DDL)	87
II.2.2.	Diffraction des rayons X sur poudre (DRX)	88
II.2.3.	Microscopie électronique en transmission (MET)	91
II.3.	Discussion	93
II.4.	Caractérisations chimiques des particules	95
II.4.1.	Analyse élémentaire	95
II.4.2.	Spectroscopie Infrarouge	98
II.4.3.	Mesures magnétiques	100
III.	Mesures de relaxivité et discussion.....	101
III.1.	Relaxivité longitudinale	101
III.2.	Répartition statistique des ions Mn^{II} : modèle « alliage »	104
III.3.	Localisation des ions Mn^{II} en périphérie : modèle cœur-coquille	107
III.4.	Profils de dispersion des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y@$ dextran	111
III.5.	Etude du relargage	114
III.6.	Système optimal	114
III.6.1.	Relaxivité optimale	114
III.6.2.	Enrobage optimal	117
IV.	Images de contraste T_1 des nanoparticules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y[33]@(dext)_{25}$.....	118
IV.1.	Comparaison du contraste T_1 des nanoparticules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y [33]@(dext)_{25}$ avec le Gd-DTPA 118	
IV.2.	Effet du polymère sur le contraste pondéré en T_1 des nanoparticules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y [33]@(dext)_{25}$ 120	
IV.3.	Effet de la concentration en Mn^{II} sur le contraste pondéré en T_1 des nanoparticules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ $[33]@(dext)_{25}$	121
V.	Toxicité des nanoparticules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y[33]@(dext)_{25}$.....	122
VI.	Internalisation cellulaire des nanoparticules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y[33]@(dext)_{25}$.....	124
VI.1.	Synthèse des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y [33]$ enrobées de dextran-TRITC	124
VI.2.	Etude des redispersions	126
VI.2.1.	DDL	126
VI.2.2.	Spectroscopie UV-visible	126
VI.2.3.	Spectroscopie de fluorescence	128
VI.3.	Suivi de l'internalisation cellulaire des particules $[33]$ -TRITC par imagerie confocale de fluorescence.....	129
VII.	Vers des études <i>in-vivo</i>.....	131
VII.1.	Test de biodistribution	131
VII.2.	Vers de nouveaux enrobages : influence sur la relaxivité	133

CHAPITRE III : INSERTION D'IONS Cu^{II} ET Fe^{III} AU SEIN DE NANOPARTICULES D'ANALOGUE DU BLEU DE PRUSSE : VERS LA SYNTHÈSE D'OBJETS MULTIMODAUX OU A VISEE THERAPEUTIQUE 140

I. Les nanoparticules $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{Fe}^{\text{III}}_{1-x}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_y$ 141

I.1. Nanoparticules $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{Fe}^{\text{III}}_{1-x}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_y$ obtenues par précipitation contrôlée en une étape 142

I.1.1. Synthèse 142

I.1.2. Caractérisations de taille et structurales des nanoparticules $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{Fe}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ 143

I.1.3. Caractérisations chimiques des nanoparticules $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{Fe}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ 147

I.1.4. Relaxivité des nanoparticules $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{Fe}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y @ (\text{dext})_{25}$ 149

I.2. Nanoparticules de type cœur-coquille $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}} @ \text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ par croissance épitaxiale 158

I.2.1. Synthèse des cœur-coquilles 159

I.2.2. Caractérisations de taille et structurales des nanoparticules $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{Fe}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ 161

I.2.3. Caractérisations chimiques des nanoparticules $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{Fe}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ 167

I.2.4. Profils de dispersion et images de contraste pondérées en T_1 169

I.2.5. Discussion 172

I.2.6. Comparaison aux nanoparticules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ obtenues par précipitation contrôlée en une étape 173

II. Nanoparticules de $\text{Mn}^{\text{II}}_x(\text{In}^{\text{III}}_a\text{Cu}^{\text{II}}_b)_{1-x}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_y$ 176

II.1. Nanoparticules de $\text{Mn}^{\text{II}}_x(\text{In}^{\text{III}}_a\text{Cu}^{\text{II}}_b)_{1-x}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_y$ obtenues par précipitation contrôlée en une étape 178

II.1.1. Synthèse 178

II.1.2. Caractérisations de taille et structurales des nanoparticules $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{Fe}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ 179

II.1.3. Caractérisations chimiques des nanoparticules $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{Fe}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ 184

II.1.4. Profils de dispersion et images de contraste pondérées en T_1 des nanoparticules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [50] 186

II.1.5. Discussion 189

II.2. Nanoparticules $\text{Mn}^{\text{II}}_x(\text{In}^{\text{III}}_a\text{Cu}^{\text{II}}_b)_{1-x}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_y$ de type cœur-coquille 191

II.2.1. Synthèse 191

II.2.2. Caractérisations de taille et structurales des nanoparticules $\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Cu}^{\text{II}}_x\text{Fe}^{\text{II}} @ \text{MnFe}$ 192

II.2.3. Caractérisations chimiques des nanoparticules de $\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Cu}^{\text{II}}_x\text{Fe}^{\text{II}} @ \text{MnFe}$ 198

II.2.4. Profils de dispersion 199

III. Nanoparticules de $\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}\text{Fe}^{\text{II}} @ \text{Mn}_x\text{Fe}_{1-x}$ avec $x = 0,05$ et $0,25$ 201

III.1. Caractérisations de taille et structurales des nanoparticules 201

III.1.1. Diffusion dynamique de la lumière (DDL) 201

III.1.2. Diffraction des Rayons X sur poudre (DRX) 203

III.1.3. Microscopie électronique à transmission (MET) 204

III.2. Caractérisations chimiques des particules de $\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}\text{Fe}^{\text{II}} @ \text{Mn}_x\text{Fe}_{1-x}$ 205

III.2.1. Spectroscopie infrarouge (IR) 205

III.2.2. Analyses élémentaires (AE) 206

III.3. Profils de dispersion 207

III.4. Images de contraste T_1 210

IV. Conclusion et perspectives 211

CHAPITRE IV : NANOPARTICULES DE $Gd^{III}In^{III}Fe^{II}$ ET $Gd^{III}Fe^{III}Fe^{II}$: EFFET DU PARAMAGNETISME DU CŒUR SUR LA RELAXIVITE 215

I. Introduction	215
II. Nanoparticules $K_kGd^{III}In^{III}_{1-x}[Fe(CN)_6]_y$	217
II.3. Synthèse des particules	217
II.4. Caractérisations structurales et de taille des particules	218
II.2.5. Diffusion dynamique de la lumière (DDL)	218
II.2.6. Diffraction des rayons X sur poudre (DRX)	219
II.2.7. Microscopie électronique en transmission (MET)	221
II.5. Caractérisations chimiques des particules	224
II.3.1. Spectroscopie Infrarouge	224
II.3.2. Analyse élémentaire et ICP	225
II.6. Mesures de relaxivité et contraste T_1	226
III. Nanoparticules $K_kGd^{III}Fe^{III}_{1-x}[Fe(CN)_6]_y$	232
III.5. Synthèse des particules	232
III.6. Caractérisations structurales et de taille des particules	232
III.2.3. Diffusion dynamique de la lumière (DDL)	232
III.2.4. Diffraction des rayons X sur poudre (DRX)	234
III.2.5. Microscopie électronique en transmission (MET)	235
III.7. Caractérisations chimiques des particules	236
III.3.1. Spectroscopie Infrarouge	236
III.3.2. Analyse élémentaire et ICP	237
III.8. Mesure de relaxivité et contraste T_1	238
IV. Conclusion et perspectives	244
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	247
ANNEXES	250
ANNEXE 1. Synthèse et redispersion des nanoparticules $Mn^{II}In^{III}_{1-x}[Fe^{II}(CN)_6]$ en solution	250
ANNEXE 2. Caractérisations chimiques : AE, EDS, ICP et IR	251
ANNEXE 3. Diffraction des Rayons X sur poudre : détermination du paramètre de maille et de la taille des domaines diffractants	253
ANNEXE 4. Diffusion Dynamique de la Lumière (DDL)	254
ANNEXE 5. Microscopie électronique en transmission (MET)	255
ANNEXE 6. Calcul du nombre d'atomes total et de surface contenus dans une particule cubique de côté n	256
ANNEXE 7. Caractérisations structurales et chimiques des nanoparticules $Mn^{II}In^{III}Fe^{II}$ [25]@(PVP) .	258
ANNEXE 8. Synthèse de nanoparticules cœur-coquille	260
ANNEXE 9. Synthèse des nanoparticules BdP@MnFe	260

ANNEXE 10.	Synthèse des nanoparticules BdP@BdP@MnFe	261
ANNEXE 11.	Synthèse des nanoparticules de $Mn^{II}_{0,25}(In^{III}_aCu^{II}_b)_{0,75}Fe^{II}$	262
ANNEXE 12.	Synthèse des nanoparticules cœur-coquille $In^{III}_{1-x}Cu^{II}_xFe@MnFe$	263
ANNEXE 13.	DRX et IR des nanoparticules $In^{III}_{0,5}Cu^{II}_{0,5}Fe@MnFe$	264
ANNEXE 14.	Synthèse des nanoparticules cœur-coquille $In^{III}_{0,75}Cu^{II}_{0,25}Fe@Mn_xFe_{1-x}$ avec $x = 0,05$ ou $0,25$	265
ANNEXE 15.	Synthèse des nanoparticules $Gd^{III}_xIn^{III}_{1-x}[Fe^{II}(CN)_6]$ et $Gd^{III}_xFe^{III}_{1-x}[Fe^{II}(CN)_6]$	266
ANNEXE 16.	Caractérisations structurales et chimiques des nanoparticules $Gd^{III}In^{III}Fe^{II} [5]@(PVP)$	267

Introduction

Le domaine des nanosciences suscite un intérêt croissant au sein de la communauté scientifique cherchant à créer et à développer des objets sur mesure adaptés à de nombreuses applications. Depuis une vingtaine d'années, le développement de nano-objets pour leur utilisation en nanomédecine (diagnostic, thérapie, vectorisation, encapsulation et relargage contrôlé de principes actifs etc...) est en plein essor. En effet, l'avantage de travailler à l'échelle nanométrique est de pouvoir combiner au sein d'un même objet diverses propriétés et fonctionnalités complémentaires faisant de ces nano-matériaux de véritables plateformes pouvant être modulées à souhait. Ainsi, pour la conception de ces nouveaux objets, il est crucial de pouvoir contrôler finement la taille, la structure, la morphologie ainsi que la composition chimique tout en explorant l'influence de la réduction de la taille sur les propriétés physico-chimiques de ces nano-objets.

En regard de ces problématiques, ce travail de thèse est dédié à la synthèse contrôlée de nanoparticules de réseaux de coordination paramagnétiques, pour leur utilisation en tant qu'agents de contraste T_1 pour l'IRM. D'autre part, la synthèse de nanoparticules de type cœur-coquille permettant de faire croître de manière contrôlée des objets en solution, par l'ajout d'une coquille constituée d'un réseau de même nature ou de nature différente que les particules servant de germe, sera exploitée. Cette synthèse ouvrira la voie à la conception d'objets multimodaux, détectables par différentes techniques d'imagerie médicale, ainsi qu'à l'élaboration de nanoparticules à visée thérapeutique.

Pour la mise au point de ces nanoparticules paramagnétiques, les réseaux de coordination à ponts cyanures ont été choisis et plus particulièrement les analogues du bleu de Prusse. Ces réseaux ont été étudiés très largement à l'état de massif alors que l'étude de leur comportement à l'échelle nanométrique reste relativement récente. Cette famille de matériaux présente une large gamme de propriétés physiques (magnétiques, photomagnétique, transition de spin, stockage de gaz, décontamination de déchets nucléaires) ainsi que de nombreux avantages pour la synthèse d'agents de contraste T_1 pour l'IRM, de systèmes multimodaux ou encore de nano-objets alliant diagnostic et thérapie. En effet, la grande proportion d'atomes de surface, la structure tridimensionnelle rigide, la microporosité ainsi que la grande versatilité chimique de ces réseaux de coordination font de ces nanoparticules d'analogues du bleu de

Prusse d'excellents candidats pour leur utilisation dans le domaine de l'imagerie médicale ainsi que de la thérapie.

Au cours de ce travail de thèse, la synthèse de ces nanoparticules d'analogues du bleu de Prusse sera finement contrôlée afin d'explorer et d'optimiser les différents paramètres pouvant influencer les propriétés de ces nano-objets. Ainsi, différentes questions seront abordées au cours de cette étude afin de comprendre l'influence de la taille, de la composition chimique, de la microporosité, de l'enrobage ou encore de la localisation des ions paramagnétiques sur les propriétés des nanoparticules synthétisées, dans le but d'exalter les performances de ces nano-objets innovants.

Chapitre I : Bibliographie

I. UN PEU D'HISTOIRE...

L'imagerie par Résonance Magnétique Nucléaire (IRM) est une technique d'imagerie médicale non-invasive et non-radiative principalement dédiée à l'imagerie du système nerveux central (cerveau et moelle épinière), du cœur, des muscles et des tumeurs c'est-à-dire des tissus mous. L'IRM est un outil d'imagerie médicale très performant qui fournit des images tridimensionnelles et en coupes avec une très grande précision anatomique ($< 1\text{mm}$) et un bon contraste. Cette technique est basée sur le principe de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) des protons de l'eau contenus dans l'organisme lorsqu'ils sont soumis à un champ magnétique extérieur et à une excitation électromagnétique. En 1933, Stern et al. découvrent que le proton possède un moment magnétique. En 1938, Rabi met en évidence l'interaction d'ondes électromagnétiques et des noyaux sur des faisceaux d'atomes conduisant à la création du terme « Résonance Magnétique Nucléaire ». En 1946, F. Bloch et E. Purcell décrivent la RMN sur des échantillons d'eau et de paraffine et partagent le prix Nobel de Physique en 1952 pour « le développement de nouvelles méthodes de mesures magnétiques nucléaires ». En 1971, R. Damadian propose d'utiliser la RMN en Médecine pour différencier les tumeurs malignes des tumeurs bénignes¹ et c'est en 1973, que la première image par IRM est obtenue et publiée dans Nature par P.C. Lanterbur (Figure I-1).² Il s'agit de l'image obtenue de deux tubes d'1mm de diamètre remplis d'eau et placés sous un champ de 1,4T.



Figure I-1. Image de résonance magnétique nucléaire du proton obtenue pour deux tubes d'1 mm de diamètre remplis d'eau placés sous un champ magnétique de 1,5T.²

C'est en 1979 que Moore et al. obtiennent les premières images du cerveau en multiples incidences (Fig.I-2), l'exploration du crâne devient alors possible.³



Figure I-2. Premières images du cerveau obtenues par IRM en 1979 par Moore et al.

L'IRM, sans cesse en développement, est donc devenue une technique puissante du domaine de l'imagerie médicale et constitue l'une des plus importantes avancées du XX^{ème} siècle dans le domaine de la Médecine. En reconnaissance de « leurs découvertes concernant l'imagerie par résonance magnétique », Peter Mansfield et Paul Lauterbur furent récompensés par le Prix Nobel de médecine en 2003.

II. PRINCIPE DE LA RESONANCE MAGNETIQUE NUCLEAIRE (RMN)

Découlant du principe de la RMN, le magnétisme mesuré en IRM n'est détectable que pour les noyaux possédant un nombre impair de protons. C'est le cas de l'atome d'Hydrogène (^1H) qui est abondamment répandu dans le vivant, tant au niveau de l'eau, des liquides organiques ou des graisses. Afin de bien comprendre le principe de l'IRM, un bref aperçu de la RMN est présenté ci-dessous.

Le phénomène de résonance magnétique nucléaire, décrit par Bloch et Purcell en 1946, est résumé en trois étapes essentielles:

- En absence d'un champ magnétique statique puissant, les noyaux d'Hydrogène possèdent un moment magnétique nucléaire individuel sans orientation privilégiée. L'aimantation totale M_0 , résultante de la somme de ces moments, est nulle (Fig. I-3(a)).
- Après l'application d'un champ magnétique uniforme B_0 dirigé selon l'axe Oz, les moments magnétiques nucléaires s'alignent avec le champ B_0 et décrivent un mouvement de précession autour de l'axe Oz. Une aimantation résultante M_0 orientée selon l'axe Oz est alors détectée (Fig. I-3(b)).

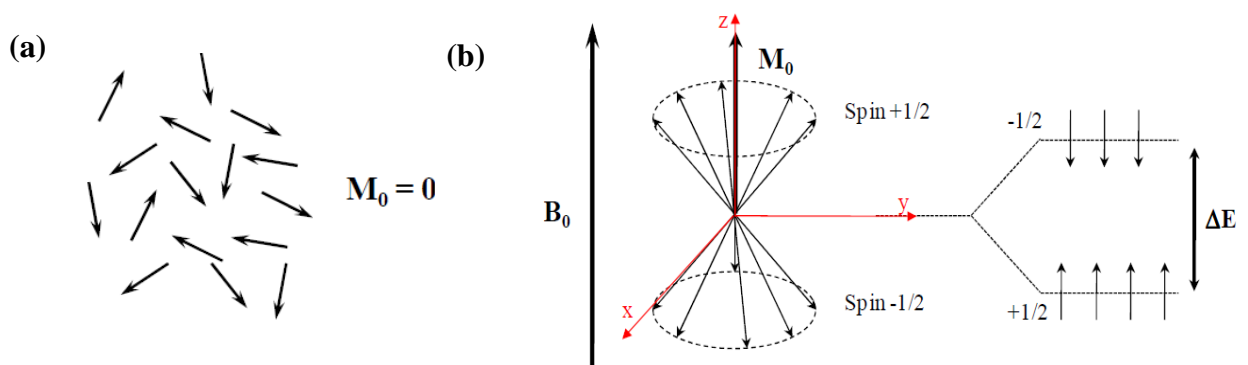


Figure I-3. (a) Moments magnétiques nucléaires des noyaux d'atomes d'hydrogène sans orientation privilégiée donnant une aimantation résultante M_0 nulle ; (b) Moments magnétiques nucléaires alignés avec le champ magnétique B_0 selon l'axe Oz

- En appliquant un second champ magnétique B_1 (impulsions radiofréquences 10^6 fois plus faible et perpendiculaire à B_0), les spins basculent dans le plan xy de sorte que la nouvelle aimantation M se retrouve dans le plan xy où elle sera mesurée (Fig. I-4(a)). Ainsi, la composante longitudinale de l'aimantation M (selon l'axe Oz) devient nulle après l'application de l'impulsion RF.
- Après arrêt des impulsions RF, l'aimantation M tend à relaxer vers son état d'équilibre, c'est-à-dire suivant l'axe Oz, tout en décrivant un mouvement hélicoïdal de rayon décroissant (Fig. I-4(b)). Les valeurs des composantes de l'aimantation varient alors en fonction du temps de sorte que la composante transversale M_{xy} se déphase et tend à s'annuler alors que la composante longitudinale M_z croît jusqu'à revenir à sa valeur initiale. La décroissance de M_{xy} engendre un courant induit (signal électrique) qui sera capté par la bobine émettrice de B_1 . Une fois amplifié, ce signal est

constitué d'un ensemble de sinusoides amorties en fonction du temps, qui par la transformée de Fourier, aboutit au spectre RMN final.

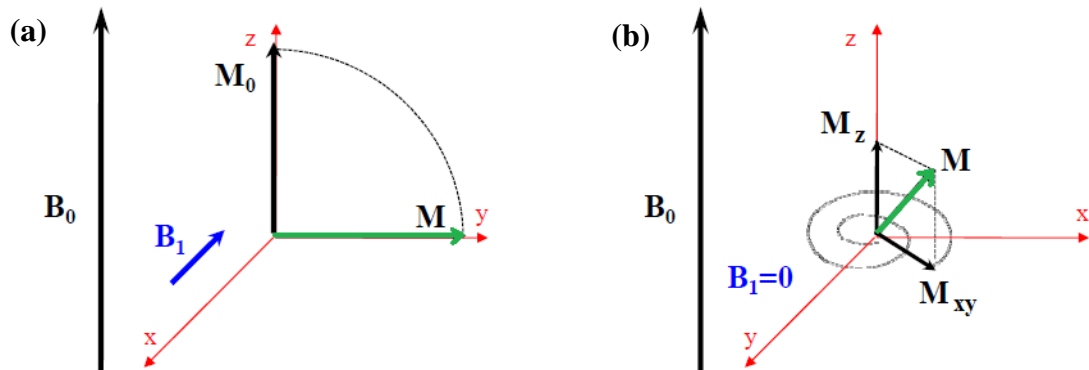


Figure I-4. (a) Basculement de l'aimantation M_0 orientée selon l'axe Oz dans le plan transversal xy , sous l'application d'impulsions radiofréquences B_1 perpendiculaires à B_0 . (b) Retour de l'aimantation M vers sa position d'équilibre

Bien que simultanées, les relaxations des deux composantes longitudinale (M_z) et transversale (M_{xy}) de l'aimantation M , vers leurs valeurs initiales sont considérées séparément. Le temps mis par chacune des deux composantes du spin nucléaire du proton pour retourner à sa valeur d'équilibre est alors appelé temps de relaxation.

- La relaxation longitudinale, correspondant au retour à l'équilibre de l'aimantation suivant l'axe z et donc à une augmentation de l'aimantation suivant cet axe, suit une loi exponentielle croissante (Fig. I-5(a)) décrite par l'équation (1):

$$M_z(t) = M_0 (1 - e^{-t/T_1}) \quad (1)$$

où M_0 correspond à l'aimantation à l'équilibre et T_1 au temps de relaxation longitudinale des spins nucléaires des protons. L'augmentation de la composante longitudinale est liée à la désexcitation des moments magnétiques nucléaires individuels qui tendent à repeupler leur état fondamental tout en émettant une énergie radiative.

- La relaxation transversale qui correspond à la perte de l'aimantation selon le plan xy, suit une loi exponentielle décroissante (Fig. I-5(b)) décrite par l'équation (2) :

$$\mathbf{M}_{xy}(t) = \mathbf{M}_0 \cdot e^{-t/T_2} \quad (2)$$

avec T_2 le temps de relaxation transversale. Cette décroissance a pour origine la perte de cohérence entre les moments magnétiques nucléaires individuels en rotation, acquise lors de l'application du pulse RF. Suite à l'arrêt du pulse, la fréquence de précession varie d'un proton à l'autre engendrant alors une perte de rotation en phase.

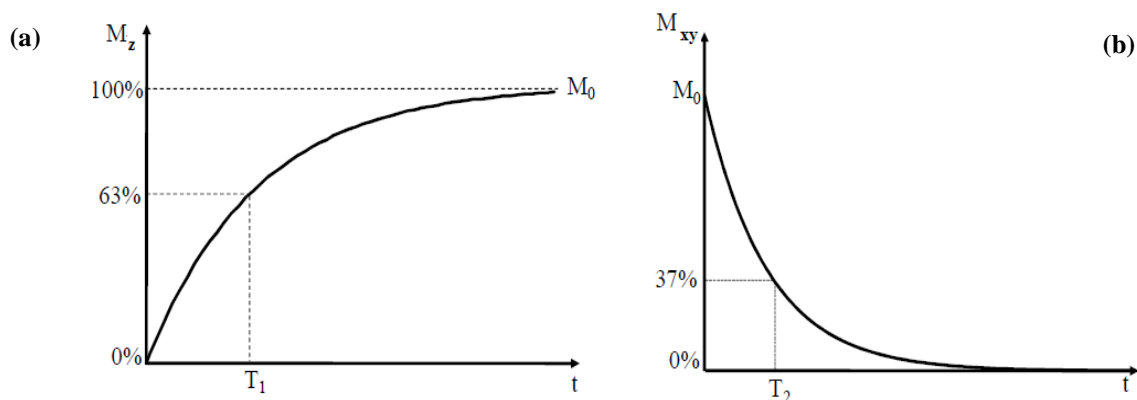


Figure I-5. Evolution de la composante longitudinale M_z (a) et transversale M_{xy} (b) après arrêt de l'impulsion RF en fonction du temps.

Comme montré sur les graphiques ci-dessus, T_1 correspond au temps mis par les spins nucléaires des protons de l'eau pour que la composante longitudinale de l'aimantation M_z soit égale à 63% de l'aimantation initiale M_0 ($M_z = 0,63M_0$). De la même façon, T_2 correspond au temps mis par les spins nucléaires pour décroître jusqu'à une valeur égale à 37% de l'aimantation initiale M_0 . Expérimentalement, ce sont ces temps de relaxation longitudinale et transversale qui sont mesurés. Les temps de relaxation T_1 et T_2 dépendent de nombreux paramètres tels que la mobilité, l'environnement moléculaire des protons de l'eau ainsi que de certains paramètres diffusionnels comme la température ou encore la viscosité du milieu.

De la même façon, l'IRM qui repose sur le principe de la RMN, permet de visualiser les tissus mous de l'organisme, riches en protons, par la mesure des temps de relaxation longitudinale et

transversale des spins nucléaires des protons. Le contraste de l'image obtenue est alors le résultat d'une différence entre les temps de relaxation des spins nucléaires des protons de l'eau contenus dans l'organisme. Etant basée sur le temps de relaxation du proton de l'eau qui est le principal constituant des tissus biologiques, l'IRM est alors une technique d'imagerie qui permet une excellente résolution spatiale mais qui n'est parfois pas assez sensible à certaines zones du corps humain telles que le tractus gastro-intestinal (TGI) ou encore le cerveau. En effet, les modifications hydriques faibles liées à la présence de lésions au sein de l'organisme ne sont pas suffisantes pour la détection de certaines pathologies. Pour accroître la sensibilité de cette technique basée sur la relaxation des spins nucléaires des protons et donc améliorer le contraste, il est souvent nécessaire de procéder à de longs temps d'acquisition. Une autre façon très efficace d'influencer et par là-même d'améliorer le signal IRM, est l'utilisation d'une source magnétique locale, provenant d'une espèce paramagnétique. En effet, théoriquement si un proton excité dans le vide est soumis à un champ de 1,5T, il mettrait 10^{16} ans pour retourner spontanément dans un état stable. En revanche, si l'on place un centre magnétique (un autre proton par exemple) fluctuant près de lui, sa relaxation sera de l'ordre de la seconde. Ainsi, le temps de relaxation longitudinale (T_1) du proton dans l'eau pure ou dans les tissus biologiques est d'environ 4 secondes et d'une fraction de seconde, respectivement. A l'extrême, si un électron (658 fois plus magnétique que le proton) est placé dans le voisinage du proton, l'interaction conduit à une relaxation du moment magnétique nucléaire du proton de quelques microsecondes. La présence d'un électron, ou plus généralement d'une source magnétique locale, provenant d'une espèce paramagnétique, possède alors une grande influence sur la relaxation du moment nucléaire. Toute fluctuation locale autour du proton entraîne une différence de comportement vis-à-vis de la relaxation du spin nucléaire. Cette différence peut-être engendrée dans un échantillon par un gradient de champ, par la présence d'espèces *in vivo* qui vont interagir avec le proton de façon à diminuer son temps de relaxation ou par la présence d'une espèce introduite volontairement *in vivo*. Ainsi, sur une échelle de gris, il sera possible d'obtenir une image présentant différents contrastes selon le champ local ressenti par les protons ou selon leur environnement. Le contraste de l'image obtenu à l'aide des espèces *in vivo* ou par l'action de gradient de champ n'est pas toujours efficace, et appelle à l'utilisation d'espèces paramagnétiques introduites par injection, appelées « agents de contraste ». Il s'agit d'édifices chimiques (complexes, macromolécules, nanoparticules) qui permettent d'accélérer les temps de relaxation longitudinale et transversale des spins nucléaires en interagissant avec les protons des molécules d'eau présents dans l'organisme. Ceci permet à la fois de renforcer le contraste des

tissus anormaux ou œdémateux, possédant une teneur plus élevée en eau que les tissus sains, mais aussi de réduire le temps d'acquisition. Les agents de contraste permettent ainsi d'augmenter l'intensité du signal et la qualité des images comme montré sur la figure I-6 et améliorent considérablement le diagnostic médical. En pratique clinique, l'utilisation d'agents de contraste correspond à 30% des examens pratiqués.

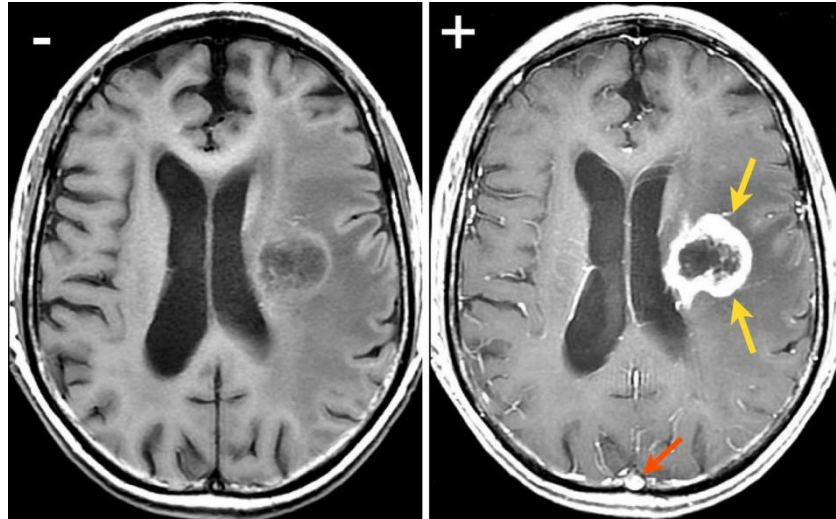


Figure I-6. Cliché IRM du cerveau enregistré sans agent de contraste (-) et avec agent de contraste (+). La flèche rouge représente un vaisseau sanguin normal alors que les flèches jaunes montrent la présence d'une tumeur.

III. LES AGENTS DE CONTRASTE

III.1. Définition de la relaxivité

Il existe deux types d'agents de contraste dits T_1 ou T_2 selon qu'ils agissent sur la composante longitudinale ou transversale du moment magnétique nucléaire du proton de l'eau. La grandeur qui caractérise l'efficacité d'un agent de contraste est la relaxivité, notée r_i avec $i= 1$ ou 2 selon le type d'agent de contraste considéré. La relaxivité est liée au temps de relaxation T_i du spin nucléaire du proton de l'eau selon la relation suivante :^{4,5}

$$(1/T_i)_{obs} = (1/T_i)_{dia} + r_i [M^{n+}] \quad (3)$$

avec $T_{i(dia)}$ le temps de relaxation des spins nucléaires avant l'ajout de l'agent de contraste et $[M^{n+}]$ la concentration en ions paramagnétiques dans le milieu suite à l'ajout de l'agent de contraste. D'après l'équation ci-dessus, la relaxivité est inversement proportionnelle au temps

de relaxation du moment magnétique nucléaire du proton de l'eau ($T_{i(\text{obs})}$). L'agent de contraste permettra donc d'accélérer la relaxation du spin nucléaire du proton, conduisant à une augmentation de la relaxivité et par là-même du contraste. Un agent de contraste T_1 diminuera le temps de relaxation du spin nucléaire selon sa composante longitudinale et l'agent de contraste T_2 selon sa composante transversale.^{6, 7} Les agents T_1 ou positifs conduisent à un contraste blanc et plus brillant (cf. Fig. I-6) contrairement aux agents T_2 ou négatifs qui donnent des images plus sombres, rendant le diagnostic par IRM plus difficile que lors de l'utilisation d'agents de contraste T_1 . Les agents T_1 sont des entités paramagnétiques (chélates de Gd^{III}) alors que les agents T_2 sont superparamagnétiques (oxydes métalliques). Ces agents de contraste sont injectés chez le patient et doivent donc être stables en sérum physiologique, non toxiques, biocompatibles et efficaces à faible dose. La valeur de la relaxivité d'un agent de contraste détermine son efficacité de sorte que plus cette valeur est élevée, meilleur sera le contraste généré. Cependant, la relaxivité est fonction de nombreux paramètres intrinsèques à la structure de l'agent de contraste et dépend également de différents mécanismes mis en jeu lors de la relaxation nucléaire du proton de l'eau. Pour cela, avant de présenter les différents travaux effectués dans ce domaine d'imagerie médicale, il est nécessaire d'introduire la théorie de la relaxivité, de souligner les principaux mécanismes qui y sont impliqués et de discuter les paramètres moléculaires à optimiser pour augmenter l'efficacité de ces agents.

III.2. Théorie de la relaxivité – Modèle de Bloembergen, Solomon et Morgan

III.2.1. *Relaxation paramagnétique*

Une théorie générale concernant la relaxation nucléaire en présence d'une substance paramagnétique à proximité des protons de l'eau a été développée par Bloembergen, Solomon et Freed.^{8, 9} Selon cette théorie, ces entités paramagnétiques induisent une augmentation de la relaxivité longitudinale et transversale, R_1 et R_2 , en diminuant les temps de relaxation des moments magnétiques nucléaires des protons de l'eau, T_1 et T_2 . Cette diminution des temps de relaxation longitudinale et transversale s'explique par des interactions de type dipôle-dipôle entre les spins nucléaires des protons de l'eau et le champ magnétique local fluctuant

engendré par les moments magnétiques des électrons non appariés de l'espèce paramagnétique. Pour cela, les agents de contraste doivent être constitués d'un métal possédant un maximum d'électrons non appariés permettant d'induire un champ local capable de modifier les paramètres intrinsèques des molécules d'eau présentes dans les tissus. Ainsi, les métaux de transition (Fe^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Mn^{3+} , etc.) et les lanthanide trivalents (Gd^{3+} , Dy^{3+} , etc) sont de bons candidats en tant qu'agents de contraste pour l'IRM. Jusqu'à présent, le cation métallique le plus utilisé en IRM est le Gd^{3+} ce qui s'explique par ses propriétés magnétiques favorables (sept électrons non appariés, huit positions de coordination ainsi qu'un temps de relaxation électronique relativement lent). Cependant, le champ magnétique local créé au voisinage du centre métallique décroît rapidement avec la distance métal-proton. Il est à noter que la relaxation paramagnétique des spins nucléaires des protons de l'eau en présence d'un composé paramagnétique met en jeu trois mécanismes qui sont la relaxation par sphère interne (SI) ou par sphère externe (SE) ainsi que la relaxation de la seconde sphère (SS). Ces trois mécanismes dépendent de l'interaction dipolaire métal-proton et donc de la distance entre le centre métallique et les molécules d'eau, comme montré sur la figure I-7. Sur ce schéma, le métal considéré est le Gd^{3+} puisqu'il s'agit du cation magnétique le plus utilisé en IRM.

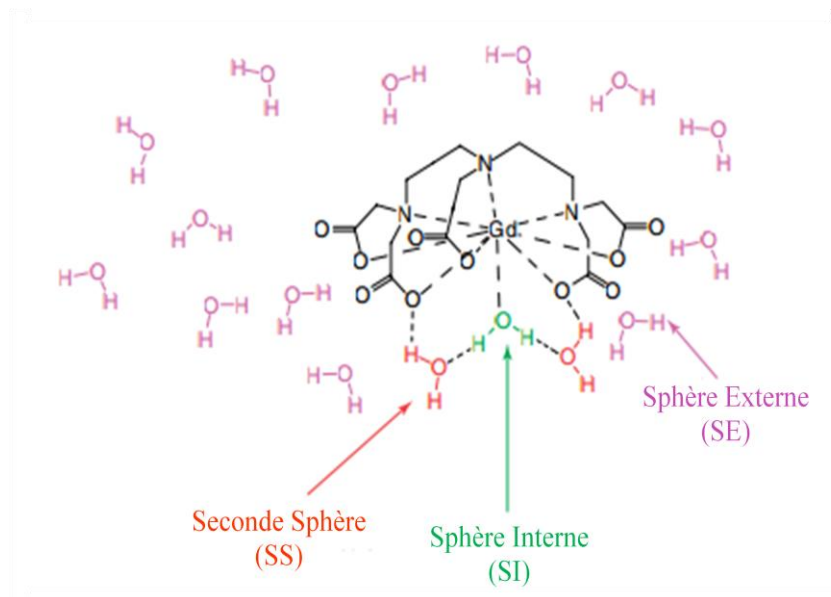


Figure I-7. Mécanismes mis en jeu dans la relaxation paramagnétique¹⁰

- La relaxation par sphère interne (SI) concerne les molécules d'eau présentes dans la première sphère de coordination du métal et qui sont en échange avec le milieu (solvant). Le mécanisme par sphère interne est donc caractérisé par une liaison de coordination entre le centre métallique et la molécule d'eau.

- La relaxation de la seconde sphère de coordination (SS) concerne les molécules d'eau en échange rapide avec le solvant qui sont liées par liaisons hydrogènes soit aux molécules d'eau de la première sphère de coordination ou bien à un atome électronégatif du ligand chélatant le centre métallique, capable d'établir ce type de liaisons chimiques.
- La relaxation par sphère externe est caractérisée par la diffusion des molécules d'eau à proximité du chélate.

Ainsi, la relaxivité paramagnétique totale correspond à la somme de ces trois effets tel que :

$$\text{---} \quad \text{---} \quad \text{---} \quad \text{---} \quad (4)$$

III.2.2. Mécanisme par sphère interne

La contribution de la sphère interne au mécanisme de relaxation paramagnétique dépend de l'échange chimique des molécules d'eau de la première sphère de coordination du métal avec les molécules d'eau du solvant, de l'orientation du complexe hydraté ainsi que de la relaxation du spin électronique du cation paramagnétique. Ces trois phénomènes sont respectivement gouvernés par le temps de résidence des molécules d'eau dans la première sphère de coordination du métal (τ_M), par le temps de corrélation rotationnel du complexe hydraté (τ_R) ainsi que par le temps de relaxation du spin électronique (τ_{s1} et τ_{s2}), comme illustré sur le schéma ci-contre.

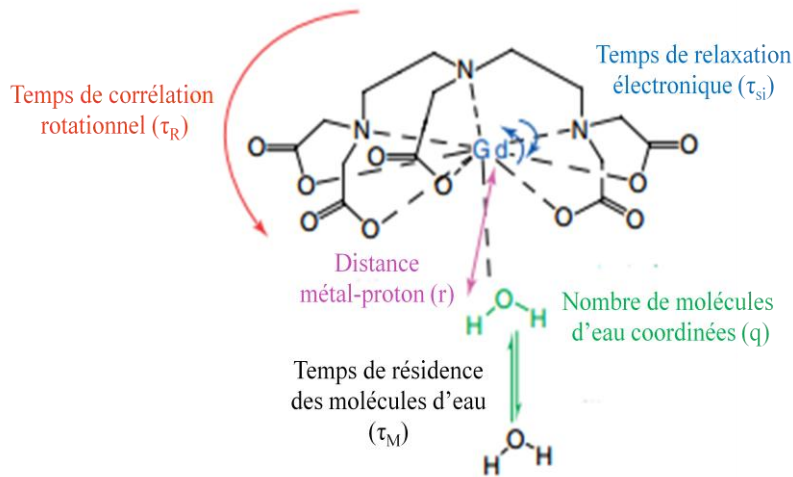


Figure I-8. Mécanisme de relaxation par sphère interne¹⁰

Comme dit précédemment, la relaxation des spins nucléaires des protons de l'eau présents dans la première sphère de coordination du métal (T_{iM} avec $i= 1$ ou 2) est principalement due aux interactions dipolaires entre le noyau des protons de l'eau et les électrons non appariés du centre métallique. La contribution du mécanisme par sphère interne aux relaxivités longitudinale et transversale est donnée par les équations (5) et (6) :

$$\text{-----} \quad (5)$$

$$R_2^{IS} = f \cdot q \cdot \frac{1}{\tau_M} \frac{T_{2M}^{-2} + \tau_M^{-1} T_{2M}^{-1} + \Delta\omega_M^2}{(\tau_M^{-1} + T_{2M}^{-1})^2 + \Delta\omega_M^2} \quad (6)$$

Avec la concentration en complexe magnétique hydraté, q le nombre de molécules coordonnées dans la première sphère de coordination du métal, τ_M le temps de résidence de la molécule d'eau coordonnée au métal et $\Delta\omega_M$ la différence de déplacement chimique entre l'eau coordonnée et l'eau dans le solvant. Si $\Delta\omega_M \leq \tau_M^{-1}$ et $\tau_M^{-1} \gg \Delta\omega_M$ alors l'équation (6) devient similaire à l'équation (5).

Pour les complexes paramagnétiques tels que ceux utilisés en IRM, les expressions de T_{iM} et T_{2M} sont données par les équations de Solomon-Bloembergen-Morgan selon deux mécanismes de relaxation. Le mécanisme scalaire ou contact (T_i^{SC}), qui correspond à l'interaction entre la densité électronique et la densité nucléaire du noyau, et le mécanisme dipôle-dipôle, qui correspond à l'interaction électron/proton en dehors du noyau tel que :

(7)

La contribution dipolaire est fonction de l'orientation du moment nucléaire relativement au moment électronique, et est modulée par tous les phénomènes qui peuvent modifier cette orientation (temps de relaxation électronique, temps de rotation de l'édifice, échange de la molécule d'eau entre l'espèce paramagnétique et le solvant). La contribution scalaire est soumise aux mêmes influences, excepté la rotation de l'édifice qui n'intervient pas dans ce cas. Les expressions de T_{iM} (avec $i = 1$ ou 2) sont données ci-dessous :

$$\frac{1}{T_{1M}} = \frac{2}{15} \left(\frac{\mu_0}{4\pi} \right)^2 \gamma_H^2 \gamma_S^2 \hbar^2 S(S+1) \frac{1}{r^6} \left[\frac{7\tau_{e2}}{1 + (\omega_S \tau_{e2})^2} + \frac{3\tau_{e1}}{1 + (\omega_H \tau_{e1})^2} \right] \quad (8)$$

$$\frac{1}{T_{2M}} = \frac{1}{15} \left(\frac{\mu_0}{4\pi} \right)^2 \gamma_H^2 \gamma_S^2 \hbar^2 S(S+1) \frac{1}{r^6} \left[4\tau_{e1} + \frac{13\tau_{e2}}{1 + (\omega_S \tau_{e2})^2} + \frac{3\tau_{e1}}{1 + (\omega_H \tau_{e1})^2} \right] \quad (9)$$

avec μ_0 la perméabilité du vide ; γ_H et γ_S le rapport gyromagnétique du proton et de l'électron respectivement ; \hbar la constante de Planck ; S le spin électronique du cation paramagnétique ; r la distance entre les protons des molécules d'eau dans la première sphère de coordination du métal et les électrons non appariés du métal ; ω_H et ω_S les fréquences de précession de Larmor du proton et de l'électron respectivement et τ_{ei} ($i = 1$ ou 2) correspond au temps de corrélation global caractérisant la relaxation dipolaire tel que :

(10)

avec τ_R le temps de corrélation rotationnel du complexe hydraté, τ_M le temps de résidence des molécules d'eau coordonnée au métal et τ_{si} ($i = 1$ ou 2) le temps de relaxation longitudinale ou transversale des spins électroniques du cation paramagnétique.

Dans la gamme de champ magnétique utilisée en IRM, les principaux paramètres gouvernant la relaxivité sont le nombre de molécules d'eau dans la sphère de coordination du métal (q), le temps de relaxation longitudinale ou transversale des spins électroniques (τ_{si}), le temps de corrélation rotationnel du complexe hydraté (τ_R) et le temps d'échange des molécules d'eau

dans la sphère de coordination du métal (τ_M). Ainsi, la relaxivité sera gouvernée par le temps le plus court des trois, de sorte que plus ce temps est long (tout en étant plus court que les autres), meilleure sera la relaxivité. En général, τ_R est le temps caractéristique limitant la relaxivité. Une des façons d'allonger le temps de corrélation rotationnel est d'augmenter la taille des édifices chimiques. Ainsi différentes stratégies peuvent être employées et certaines d'entre-elles seront présentées par la suite.

III.2.3. Mécanisme de la seconde sphère de coordination

Cette contribution concerne les molécules d'eau qui ne sont pas directement coordonnées au cation paramagnétique et qui s'organisent dans la seconde sphère de coordination du métal comme illustré sur la figure I-9.

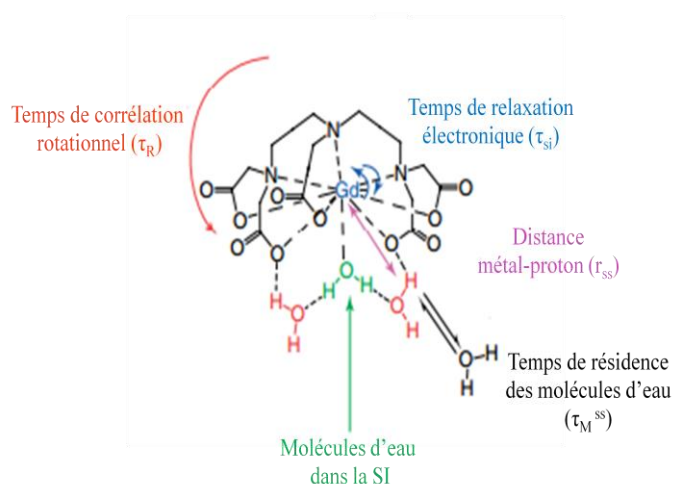


Figure I-9. Mécanisme de relaxation de la seconde sphère ¹⁰

De la même façon que pour la contribution de la sphère interne, la théorie de Solomon-Bloembergen-Morgan s'applique à la relaxation nucléaire des protons des molécules d'eau constituant le seconde sphère de coordination du cation paramagnétique. Les relaxivités longitudinale et transversale s'exprime selon l'équation suivante :

$$\text{-----} \quad \text{avec } i = 1 \text{ ou } 2 \quad (11)$$

avec le nombre de molécules d'eau dans la seconde sphère de coordination du métal, le temps de relaxation longitudinale ($i = 1$) ou transversale ($i = 2$) des spins nucléaires des protons de la seconde sphère de coordination et le temps de résidence des molécules

d'eau dans la seconde sphère de coordination sachant que ce temps est beaucoup plus court que $\tau_{c1,2}$. Les équations (8) et (9) données précédemment et décrivant le temps de relaxation des protons coordonnés au centre métallique () sont valables dans le cas de la seconde sphère en remplaçant les paramètres caractéristiques de la sphère interne par ceux de la seconde sphère tels que r_{ss} et $\tau_{c1,2}^{ss}$. De même que pour la contribution de la sphère interne, $\tau_{c1,2}^{ss}$ correspond au temps de corrélation global caractérisant le mécanisme dipolaire mis en jeu lors de la relaxation nucléaire du proton de l'eau tel que :

$$\text{---} \quad \text{---} \quad \text{---} \quad \text{---} \quad (12)$$

Enfin, r_{ss} est la distance entre les protons des molécules d'eau de la seconde sphère de coordination et les électrons non appariés du centre paramagnétique.

III.2.4. Mécanisme par sphère externe

La relaxation de la sphère externe a été décrite par Freed comme résultant d'une interaction dipolaire à longue distance entre le spin électronique du centre paramagnétique et le spin nucléaire des protons des molécules d'eau présentes dans le milieu (Figure I-10).

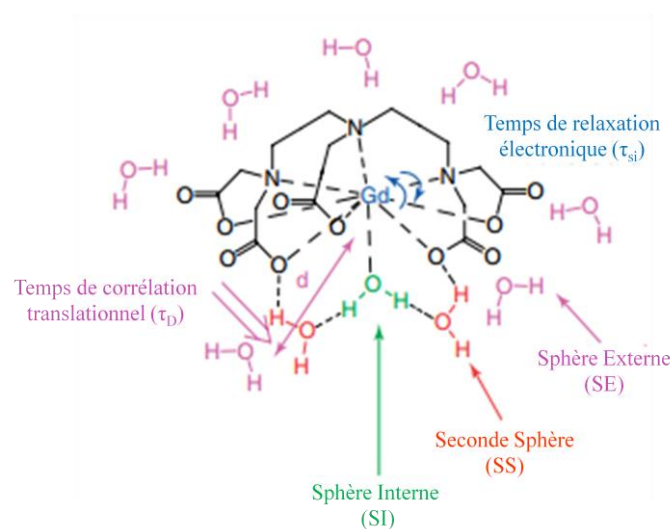


Figure I-10. Mécanisme de relaxation de la sphère externe ¹⁰

Cette contribution peut être estimée en remplaçant le ligand par un autre similaire conduisant à l'absence de toute molécule d'eau dans la sphère de coordination de l'espèce paramagnétique. Le mécanisme de relaxation par sphère externe est gouverné par le temps de corrélation translationnel (τ_D). Ce temps caractéristique dépend de la diffusion relative de l'espèce paramagnétique et des molécules d'eau donc du coefficient de diffusion du milieu (D) ainsi que de la plus proche distance d'approche du proton de la molécule d'eau et des électrons non appariés du métal (d) selon la relation :

— (13)

Le même type d'équation que pour la première sphère de coordination est utilisée pour décrire cette contribution (cf. équations (8) et (9)), qui participe significativement à la relaxivité totale (> 10%). En effet, pour les complexes de Gd^{3+} de faible masse moléculaire et contenant une seule molécule d'eau dans la sphère de coordination du métal, la contribution par sphère externe est quasi équivalente à la contribution par sphère interne. Néanmoins, contrairement au mécanisme par sphère interne, la contribution par sphère externe est indépendante de la taille de l'édifice paramagnétique. Ainsi, pour des complexes de Gd^{3+} de plus grande taille, la contribution de la sphère externe devient très faible en comparaison avec la relaxation de la sphère interne.

III.2.5. Dépendance en champ de la relaxivité : profils de dispersion

L'évolution de la relaxation paramagnétique en fonction du champ magnétique appliqué est une technique puissante car elle peut donner accès à un certain nombre de paramètres décrivant les trois mécanismes (SI, SS et SE) mis en jeu lors de la relaxation nucléaire des protons de l'eau. Par l'ajustement théorique du profil expérimental obtenu pour un complexe donné il est possible d'accéder aux paramètres suivants : τ_M , q , τ_R , τ_v , τ_{s0} , r , τ_M^{SS} , q^{SS} , r_{ss} , D et d . τ_{s0} correspond à la relaxation du spin électronique du cation paramagnétique en l'absence de champ magnétique et τ_v est le temps de corrélation global caractérisant la relaxation électronique selon les équations :

$$\frac{1}{\tau_{S1}} = \frac{1}{5\tau_{SO}} \left[\frac{1}{1 + \omega_S^2 \tau_V^2} + \frac{4}{1 + 4\omega_S^2 \tau_V^2} \right] \quad (14)$$

$$\frac{1}{\tau_{S2}} = \frac{1}{10\tau_{SO}} \left[3 + \frac{5}{1 + \omega_S^2 \tau_V^2} + \frac{2}{1 + 4\omega_S^2 \tau_V^2} \right] \quad (15)$$

L'allure du profil peut également renseigner sur la taille des objets. En effet, un objet de l'ordre du nanomètre présentera un profil différent d'un objet moléculaire. Différents profils seront présentés et discutés par la suite.

III.3. Optimisation de la relaxivité des agents de contraste

III.3.1. Paramètres influençant le mécanisme de sphère interne

Comme expliqué précédemment, la relaxation des protons présents dans la première sphère de coordination du métal est fonction de plusieurs paramètres physiques et chimiques qui peuvent être optimisés afin d'augmenter l'efficacité des agents de contraste. Ce paragraphe vise donc à présenter brièvement chacun de ces paramètres en mettant l'accent sur l'influence qu'ils peuvent avoir sur la relaxation des protons de la sphère interne dans le but d'améliorer l'efficacité des agents de contraste paramagnétiques et ainsi diminuer la dose efficace à introduire dans l'organisme.

- **Le nombre d'hydratation (q)**

D'après l'équation (5), la relaxivité est directement proportionnelle au nombre de molécules d'eau coordonnées au métal de sorte que plus la valeur de q est élevée, meilleure est l'efficacité de l'agent de contraste comme montré sur la figure I-10.¹⁰

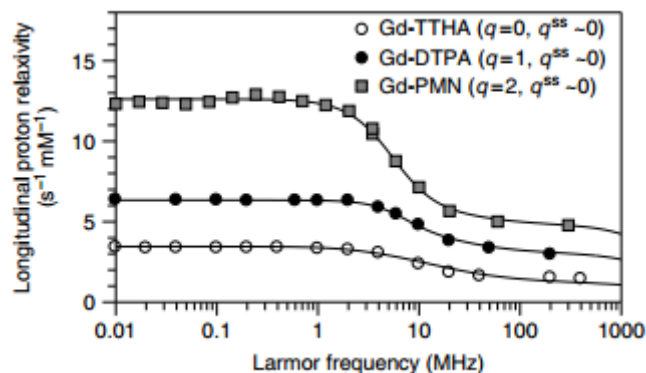


Figure I-10. Profils enregistrés à 310K de trois complexes de Gd^{3+}

Il s'agit ici de trois complexes linéaires de taille similaire (valeur de τ_R équivalente) contenant du Gd^{3+} . D'autre part, aucune molécule d'eau n'est présente dans la seconde sphère de coordination du cation paramagnétique quel que soit le complexe considéré. Le profil obtenu pour le complexe Gd-TTHA met en évidence la contribution de la sphère externe à la relaxation nucléaire, mécanisme participant toujours à la relaxivité totale de l'objet, contrairement aux mécanismes de SI et de SS qui contribuent uniquement si une ou plusieurs molécules d'eau de la première ou de la seconde sphère de coordination se trouvent en échange avec les molécules d'eau du milieu environnant. La comparaison des profils obtenus pour le Gd-DTPA et le Gd-PMN indiquent que plus le nombre de molécules d'eau présentes dans la première sphère de coordination du Gd^{3+} est important, tout en maintenant la stabilité de l'édifice, meilleure est la relaxivité. Ainsi, le degré d'hydratation d'un complexe de Gd(III) dépend de la denticité du ligand chélate. En modifiant la denticité du ligand, il est alors envisageable d'augmenter le nombre de molécules d'eau présentes dans la sphère interne et par conséquent d'améliorer l'efficacité du complexe. Cependant, une diminution de la denticité du ligand chélatant pourrait s'accompagner d'une perte de la stabilité thermodynamique et/ou cinétique du complexe augmentant alors sa toxicité. Jusqu'à présent, la stabilité *in vivo* des complexes de Gd contenant plus d'une molécule d'eau dans leur sphère de coordination reste problématique.

- ***Le temps d'échange des molécules d'eau (τ_M)***

Le mécanisme de relaxation par sphère interne dépend de la vitesse d'échange (K_{ex}) entre les molécules d'eau coordinées au cation paramagnétique et les molécules d'eau du solvant selon:

$$— \quad (16)$$

Plus la vitesse d'échange est élevée, plus le temps de résidence est court et meilleure est la relaxivité selon l'équation (5). Cet échange rapide des molécules d'eau est un paramètre essentiel puisqu'il permet de propager le phénomène de relaxation nucléaire vers les molécules d'eau du solvant. Ce paramètre a été estimé lors des travaux de Swift et Connick par la mesure de la vitesse de relaxation transversale de l' ^{17}O sur des solutions diluées contenant des espèces paramagnétiques.¹¹ La vitesse d'échange des molécules d'eau a été étudiée sur une large gamme de complexes de Gd^{3+} .¹² Il a été montré que pour des complexes de faibles masses moléculaires, une valeur de τ_M inférieure à 500 ns ne limitait pas la relaxivité dans la gamme de champ magnétique utilisée en IRM. En revanche, pour des complexes de masses moléculaires plus importantes, une valeur de τ_M inférieure à 40 ns est indispensable pour éviter un quenching de l'effet de propagation de la relaxation nucléaire des protons de l'eau.

- ***La distance métal-proton (r)***

D'après l'équation (8), ce paramètre présente une grande influence sur la relaxivité des protons de la sphère interne puisque R_1 est inversement proportionnelle à r^6 de sorte qu'une faible diminution de r pourrait entraîner une forte augmentation de la relaxivité. Ainsi, il a été montré par des calculs théoriques qu'un raccourcissement de 0,1 Å de la distance métal-proton conduirait à une augmentation de 20% de la relaxivité. Bien que difficile à estimer, plusieurs études cristallographiques menées sur des complexes de Gd^{3+} ont montré que la distance métal-proton se situe toujours aux alentours de $0,31 \pm 0,01$ nm. Cependant, l'effet positif du raccourcissement de la distance métal-proton sur la relaxivité a été observé sur un dérivé du complexe Gd-DTPA tel que montré sur la figure I-11.

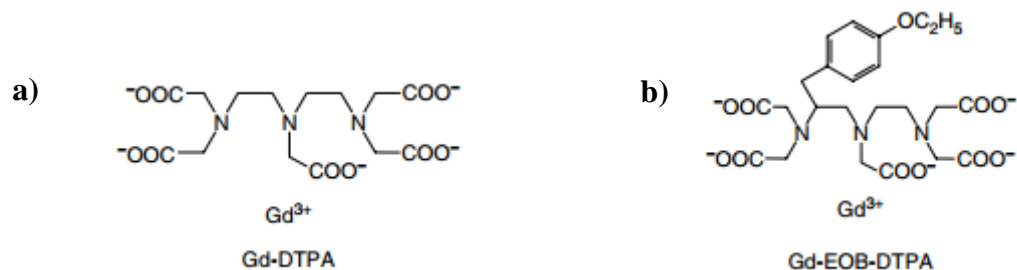


Figure I-11. Structure chimique du Gd-DTPA (a) et du Gd-EOB-DTPA (b)

La fonctionnalisation en position C4 du ligand DTPA ($r_{DTPA} = 0,31$ nm) conduisant au ligand EOB-DTPA a permis un raccourcissement de la distance métal-ligand telle que $r_{EOB-DTPA} = 0,30$ nm et par conséquent à une augmentation de la relaxivité de $3,9 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ pour le Gd-DTPA à $5,5 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ pour le Gd-EOB-DTPA, enregistrée dans les mêmes conditions (310K et 20MHz).^{13, 14} Néanmoins, les études visant à optimiser ce paramètre difficile à maîtriser expérimentalement restent très rares.

- **Le temps de corrélation rotationnel (τ_R)**

D'après l'équation (17), la relaxivité est directement proportionnelle à τ_R de sorte que plus ce temps est long, meilleure est la relaxivité :

$$R_1 = \frac{1}{T_1} = \frac{3}{8} \left(\frac{e^2 q Q}{\hbar} \right)^2 \tau_R \quad (17)$$

La théorie de la relaxation nucléaire prévoit donc que plus τ_R est élevé meilleure sera la relaxivité.⁷ Ce paramètre est donc l'un des plus simple à optimiser, puisqu'il suffit d'augmenter la masse moléculaire de l'objet afin d'allonger le temps τ_R et ainsi ralentir la précession de l'objet sur lui-même pour augmenter la relaxivité (Figure I-12).¹⁰

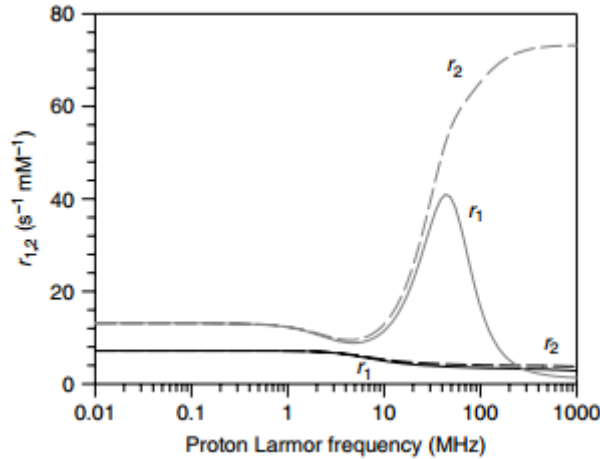


Figure I-12. Simulations de la relaxivité en fonction du champ magnétique appliqué de complexes de Gd avec $q = 1$; $r = 0,31\text{nm}$; $\tau_M = 100\text{ns}$, $\tau_{s0} = 100\text{ps}$ et $\tau_R = 60\text{ps}$ (traits noirs) ou $\tau_R = 6\text{ns}$ (traits gris) avec r_1 en trait plein et r_2 en pointillés dans les deux cas. La contribution de la sphère externe a été calculée avec $d = 0,36\text{nm}$ et $D = 3.109\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$

Cet exemple met en évidence l'effet positif de l'augmentation de τ_R (de 60 ps à 6 ns) sur la relaxivité. De plus, l'allure du profil obtenu pour $\tau_R = 6\text{ns}$ est caractéristique d'un objet nanométrique en précession lente. Ainsi pour de tels profils, il a été montré que d'importantes valeurs de τ_R entraînent une forte augmentation de la relaxivité pour une gamme de champ magnétique compris entre 0,5T et 1,5T suivi d'une nette diminution de r_1 pour des champs magnétiques supérieurs à 2T. Concernant la relaxivité transversale r_2 , son évolution en fonction du champ magnétique appliquée est équivalente à l'évolution de r_1 jusqu'à 0,5T puis continue de croître au-delà de 0,5T, avec l'augmentation du champ magnétique appliqué. Il est à noter que pour des valeurs de champs couramment utilisées en milieu clinique (0,2-3T soit 10-130 MHz), un temps de corrélation rotationnel supérieur à 1 ns garantit une augmentation significative de la relaxivité. Cependant, au-delà de 10 ns ce temps n'aurait plus d'effet sur la relaxivité (Figure I-13).

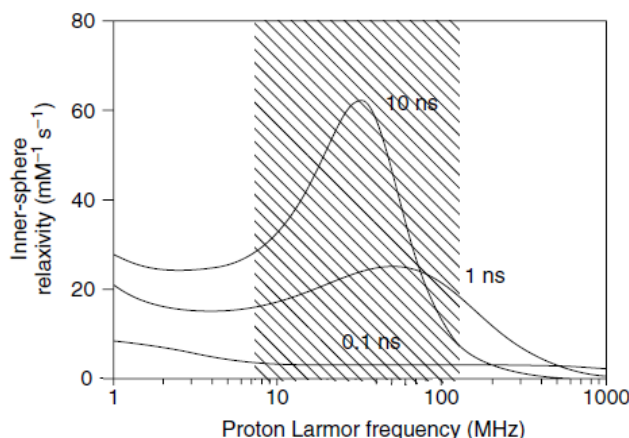


Figure I-13. Relaxivité de la sphère interne en fonction de la fréquence de Larmor simulée par la théorie SBM, pour différents temps de corrélation rotationnel τ_R ⁷

La plupart des agents de contraste utilisés actuellement en clinique sont des complexes moléculaires de faible masse molaire qui présente une relaxivité limitée par une valeur de τ_R faible qui se traduit par une précession rapide. Pour cela, la diminution de la mobilité d'un agent de contraste, par l'augmentation de sa masse molaire, est le défi majeur auquel les chimistes ont été confrontés pendant les dernières vingt-cinq années. Cette modification de la taille de l'édifice paramagnétique afin de ralentir sa précession *in vivo*, peut être réalisée selon différentes stratégies :

- soit en modifiant la structure du ligand chélatant pour atteindre une masse molaire plus importante ;
- soit en incorporant des complexes paramagnétiques dans des substrats macromoléculaires biocompatibles tels que les polymères, protéines, polysaccharides, macromolécules endogènes, liposomes, micelles ou nanoparticules ;
- soit en utilisant des matériaux nanométriques incorporant au sein de leur structure des ions paramagnétiques.

Ces différentes approches seront présentées et discutées par la suite puisque la majeure partie des travaux réalisés dans le but d'exalter la relaxivité des agents de contraste à consister en la modification de la taille de l'édifice contenant l'ion paramagnétique.

III.3.2. Agents de contraste commerciaux

- ***Les agents T_1***

Bien qu'ils améliorent la relaxation des protons des molécules d'eau, les cations métalliques libres utilisés en tant qu'agents de contraste sont toxiques. En effet, leur présence sous forme d'ions libres dans l'organisme pourrait être à l'origine de nombreuses complications. A titre d'exemple, les ions libres Gd^{3+} ont tendance à former des complexes de $Gd(OH)_3$ insolubles à pH physiologique et pouvant s'accumuler dans le foie, les os et les ganglions lymphatiques. Une solution pour palier à cette toxicité consiste à immobiliser ces ions au sein de ligands chélatants organiques, linéaires ou cycliques, pour former des complexes non toxiques, inertes et stables dans l'organisme. La découverte dans les années 1980 de l'aptitude des structures de type polyaminocarboxylates à former des chélates stables thermodynamiquement et cinétiquement avec les ions $Gd(III)$, a ouvert la voie au développement de la chimie des agents de contraste paramagnétiques.⁶ Actuellement, les agents de contraste à base de $Gd(III)$ représentent 90% de l'ensemble des produits de contraste T_1 utilisées en diagnostic clinique. Malgré les nombreux ligands chélatants ayant été mis au point ces vingt dernières années, seuls neuf chélates de Gd ont reçu l'autorisation de mise sur le marché pour leur injection dans l'organisme lors d'un examen IRM. (Figure I-14). Les valeurs de relaxivité de ces agents T_1 commerciaux à base de $Gd(III)$ et ne contenant qu'une seule molécule d'eau dans leur sphère de coordination sont regroupées dans le tableau I-1.

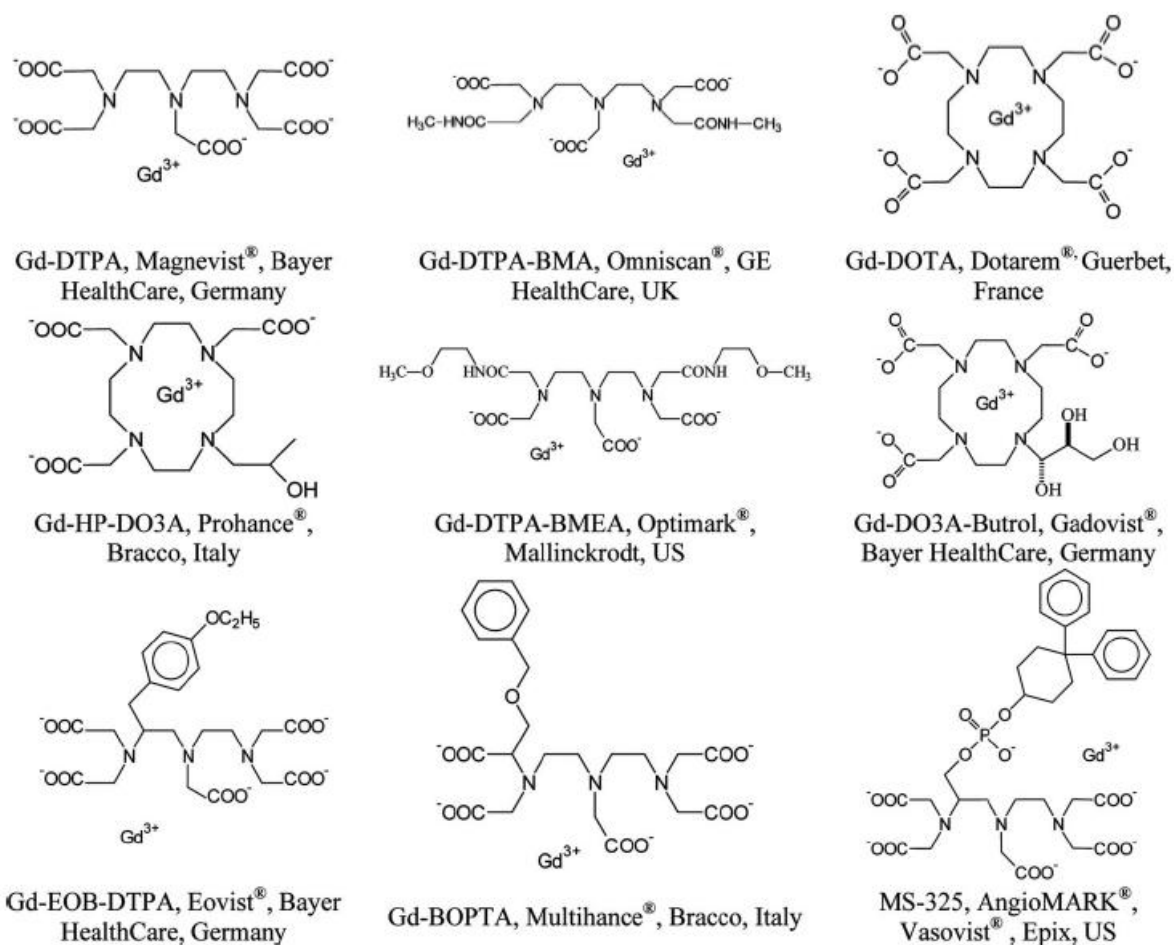


Figure I-14. Agents de contraste T₁ commerciaux à base de Gd(III)¹⁵

Contrast agent	Name	Company	Relaxivity (s ⁻¹ mM ⁻¹) At 60MHz, 310 K
Gd-DTPA	Magnevist, gadopentetate dimeglumine	Bayer Schering Pharma AG, Germany	3.3
Gd-DTPA-BMA	Omniscan, Gadodiamide	General Electric Healthcare, UK	3.3
Gd-DOTA	Dotarem, gadoterate meglumine	Guerbet, France	2.9
Gd-HP-DO3A	Prohance, Gadoteridol	Bracco, Italy	2.9
Gd-BOPTA	MultiHance, gadobenate dimeglumine	Bracco, Italy	4.0
Gd-DO3A-butrol	Gadovist, Gadobutrol	Bayer Schering Pharma AG, Germany	3.3
Gd-EOB-DTPA	Primovist, Eovist	Bayer Schering Pharma AG, Germany	5.4
Gd-DTPA-BMEA	Gadoversetamide, Optimark	General Electric Healthcare, UK	3.8
MS-325	Vasovist	Bayer Schering Pharma AG	5.4

Tableau I-1. Relaxivité des agents de contraste T₁ commerciaux (310K et 60 MHz)¹⁵

La première génération d'agents de contraste à avoir été approuvée pour leur utilisation en clinique est constituée du Gd-DTPA (Magnevist®), du Gd-DTPA-BMA (Omniscan®), du Gd-DOTA (Dotarem®) et du Gd-HPDO3A (Prohance®) sachant que le premier chélate de Gd(III) à avoir reçu l'approbation de mise sur le marché a été le Gd-DTPA en 1988. Ces quatre agents de contraste T₁ commerciaux sont non spécifiques, c'est-à-dire qu'ils se répartissent uniformément dans le liquide extracellulaire après injection et sont éliminés par filtration glomérulaire. Suite à cela, la fonctionnalisation du Gd-DTPA par un substituant lipophile a permis la synthèse du Gd-BOPTA (Multihance®) et du Gd-EOB-DTPA (Eovist®), agents de contraste spécifiques du foie et capables de détecter des lésions hépatiques telles que des métastases ainsi que de confirmer la présence d'hépatocytes sains selon l'intensité du contraste obtenu.^{16, 17} Un agent de contraste intravasculaire, de masse molaire élevée, a également été mis au point (MS-325 (AngioMARK®)) ainsi que des agents de contraste de taille moyenne (~ 5-6 kDa), Gd-DTPA-BMEA (Optimark®) et Gd-DO3A-Butrol (Gadovist®) caractérisés par un long temps de circulation dans le sang permettant le diagnostic des troubles vasculaires ou encore la visualisation du trajet des vaisseaux sanguins avant une intervention chirurgicale.^{18, 19} L'agent de contraste MS-325 se lie à l'Albumine Stérique Humaine (HSA), protéine endogène présente dans le sang, ce qui lui permet d'avoir un temps de résidence long dans le système intra-vasculaire, d'où des temps d'acquisition plus longs permettant un meilleur rapport signal sur bruit ainsi qu'une meilleure qualité des images. De plus, sa grande taille évite sa diffusion à travers l'endothélium vasculaire c'est-à-dire son relargage dans l'espace interstitiel contrairement à la première génération d'agents de contraste (Gd-DTPA, Gd-DTPA-BMA, Gd-DOTA et Gd-HPDO3A), qui du fait de leur faible poids moléculaire et de leur petite taille, présentent le désavantage, après injection, d'être rapidement excrétés en dehors du système vasculaire (temps de résidence < 2h pour le Gd-DTPA).²⁰

Par ailleurs, en 1989 Rocklage et al. ont rapporté la synthèse ainsi que la structure cristallographique du Mn^{II}DPDP, le DPDP étant un ligand hexadentate dérivé de l'EDTA (Figure I-15).²¹ Après des essais cliniques, ce complexe a été approuvé par la FDA et constitue à ce jour, le seul agent de contraste commercial à base de Mn^{II} autorisé en milieu clinique.

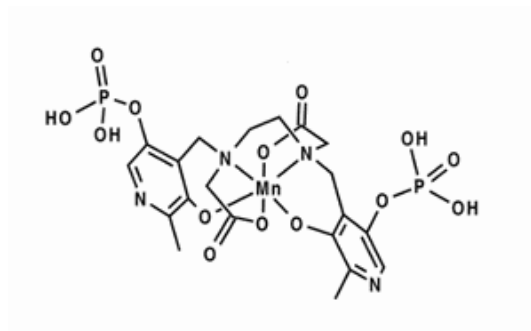


Figure I-15. Structure chimique du Mn^{II} DPDP (Teslascan®)²¹

Cet agent de contraste commercial à base de $Mn(II)$ est administré par voie intraveineuse et utilisé pour l'imagerie du foie. Bien qu'aucune molécule d'eau ne soit coordonnée au $Mn(II)$, cet agent de contraste augmente considérablement l'intensité du signal IRM (en T_1 et en T_2) obtenu lors d'examen *in vivo* du foie et sa relaxivité longitudinale est de $2,8 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ à 20 MHz et 40°C . D'autre part, en 1997, un agent de contraste T_1 administré par voie orale à base de $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ a été approuvé par la FDA pour son utilisation clinique en imagerie gastro-intestinale. Cependant, due à sa toxicité, cet agent de contraste à base de $Mn(II)$ fut retiré du marché quelques temps après. En effet, les ions Mn^{2+} interféraient dans les processus physiologiques dépendants au Ca^{2+} , entraînant le transport et l'internalisation des ions Mn^{2+} dans les neurones.²² Pour cette raison, l'utilisation de sels de Mn^{2+} est à présent strictement interdite pour des essais en phase clinique. Il est donc nécessaire d'utiliser des édifices paramagnétiques stables empêchant tout relargage d'ions Mn^{2+} , toxiques pour l'organisme.

- **Les agents T_2**

La majorité des travaux réalisés concernant la synthèse d'agents de contraste T_2 reposent sur l'élaboration de nanoparticules superparamagnétiques d'oxyde de fer. Ces nanoparticules peuvent être classées en trois catégories selon leur diamètre hydrodynamique :

- USPIO (Ultra Small Particles of Iron oxyde) composées de particules d'un diamètre hydrodynamique compris entre 10 et 40 nm

- SPIO (Small Particles of Iron oxyde) composées de particules d'un diamètre hydrodynamique compris entre 60 et 150 nm
- Des particules de plus grande taille avec un diamètre hydrodynamique compris entre 300 nm et 3,5 μm .

Quelques particules d'oxyde de fer ont été approuvées pour commencer des essais cliniques et d'autres sont actuellement en cours d'essais (Tableau I-2).^{23, 24}

Contrast agent	Name	Company	Particle size	Target organs
AMI-25	Ferumoxide Endorem Feridex IV	Guerbet, Berlex Laboratories	80–150 nm	R_2 enhanced in normal RES cells of the liver/spleen
AMI-227	Ferumoxtran Sinerem Combidex	Guerbet, Advanced Magnetics	20–40 nm	R_2 enhanced in normal RES cells of the liver/spleen/lymph/bone marrow R_1 enhancement observed in highly blood-perfused tissue at early stages
SHU 555A	Resovist Ferucarbotran	Bayer Schering Pharma AG,	62 nm	R_2 enhanced in normal RES cells of the liver/spleen R_1 enhancement observed in highly blood-perfused tissue at early stages
NC100150	Clariscan	General Electric Healthcare	20 nm	R_2 enhanced in normal RES cells of the liver/spleen R_1 enhancement observed in highly blood-perfused tissue at early stages
AMI-121	Ferumoxil Lumirem Gastromark	Guerbet, Advanced Magnetics	300 nm	R_2 enhanced in gastrointestinal system
OMP	Abdoscan	General Electric Healthcare	3.5 μm	R_2 enhanced in gastro-intestinal system

Tableau I-2. Exemples d'agents de contraste commerciaux T_2

L'efficacité de ces particules d'oxyde de fer en tant qu'agents de contraste T_2 dépend de nombreux paramètres tels que la taille des nanoparticules, leur charge, leur enrobage, etc. En effet après la synthèse, l'enrobage de ces nanoparticules d'oxyde de fer est crucial afin d'éviter leur agrégation en solution colloïdale et permettre leur bonne redispersion en solution aqueuse ou en milieu physiologique. De plus, l'enrobage chimique de ces particules pourrait permettre le ciblage d'un organe ou d'une zone spécifique de l'organisme comme montré dans le tableau ci-dessous.

Coating molecules	Applications
Citric acid	Cellular targeting
Silane	Silane coupling agents for molecular imaging targeting
Dextran	Long plasma half-life
Polyethylene glycol (PEG)	Long plasma half-life, improves the biocompatibility
Polyvinyl alcohol (PVA)	Long plasma half-life, drug delivery, tendon repair
Polypeptides	Cell biology, targeting cells
Poly (D, L-lactide)	Biocompatible, low cytotoxicity
Polyvinylpyrrolidone (PVP)	Long plasma half-life
Chitosan	Nonviral gene delivery system, biocompatible
Polymethylmethacrylate (PMMA)	Drug delivery
Polyethyleneimine (PEI)	Gene vectors

Tableau I-3. Exemples d'enrobages chimiques et de leurs applications biologiques

Une large gamme d'enrobage de nature différente peut être utilisée tels que des petites molécules (acide citrique, acides aminés) ou encore des polymères organiques (PVP, PEG), des siloxanes, des polypeptides ou bien des polymères constitués de groupements polysaccharides (Dextran, Chitosan). Une large gamme d'enrobage des particules est donc possible permettant la stabilité des objets en milieu physiologique associée à une fonction spécifique selon la nature de la matrice (ciblage, temps long de résidence dans le sang, relargage de principes actifs...etc). Ce paramètre peut donc être optimisé et sera discuté dans le cadre de ce travail de thèse notamment concernant l'effet de l'enrobage sur la relaxivité des objets ainsi que sur la stabilité colloïdale des nanoparticules lors d'injection *in vivo*.

Les exemples d'agents de contraste rapportés dans la littérature sont très nombreux et largement variés. La partie suivante constitue une revue non exhaustive du travail effectué sur les agents de contraste ainsi que sur les principales stratégies développées pour renforcer leur efficacité tout en minimisant la dose efficace à injecter au patient.

IV. AGENTS DE CONTRASTE A BASE DE Gd(III)

IV.1. Complexes mononucléaires

Comme mentionné précédemment, les agents de contraste T_1 à base de Gd(III) ont une relaxivité dominée par le temps de corrélation rotationnel c'est-à-dire par une rotation rapide du chélate sur lui-même. Une des stratégies consiste donc à augmenter la taille de l'édifice

afin d'obtenir des valeurs de relaxivité longitudinale plus élevées ainsi qu'un temps de résidence plus long dans le système vasculaire. Dans la course au développement de ces nouveaux agents de contraste, l'entreprise Guerbet a mis au point un nouvel agent de contraste à base de Gd(III), le P-792 constitué d'un ligand organique macrocyclique dérivé du Gd-DOTA,²⁵ dont la structure chimique est présentée ci-dessous.

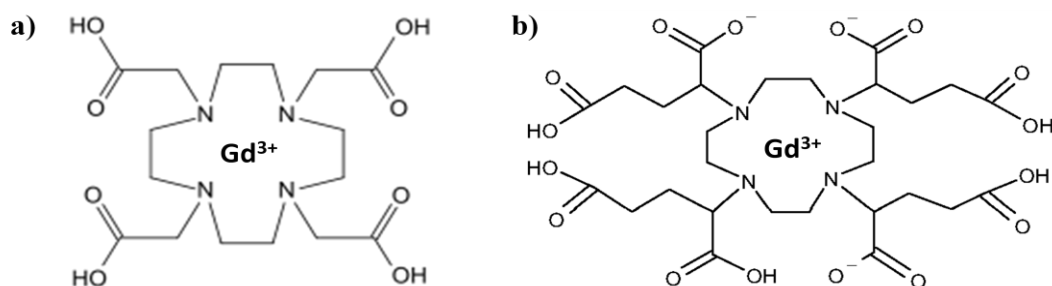


Figure I-16. Structure chimique du Gd-DOTA (a) et du Gd-P792 (b)²⁵

Ainsi, le Gd-P792 présente un volume hydrodynamique cent vingt-cinq fois supérieur à celui du Gd-DOTA limitant sa diffusion à travers la barrière endothéliale et augmentant fortement sa relaxivité comme montré sur la figure ci-dessous.

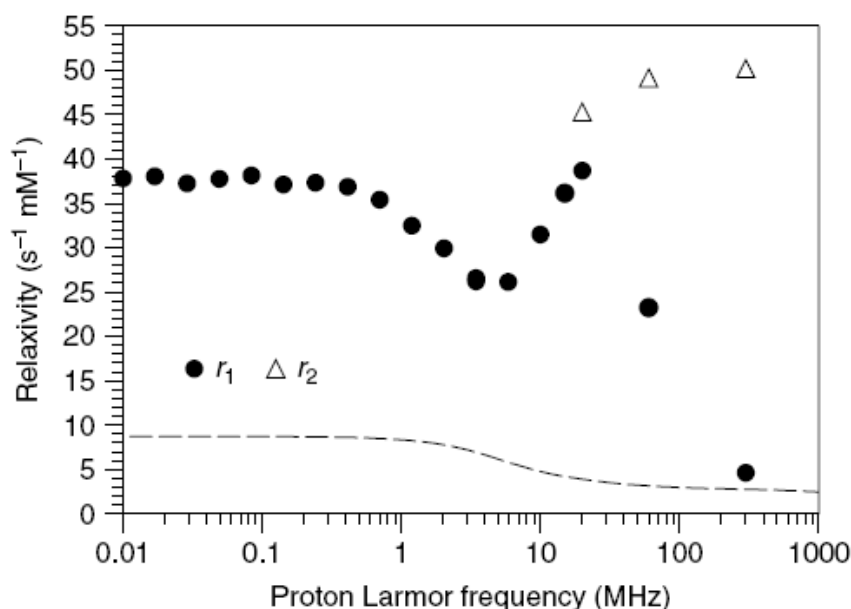


Figure I-17. Profils enregistrés à 310K pour le Gd-P792 et le Gd-DOTA (pointillés)¹⁰

L'allure du profil du Gd-P792 en comparaison avec le profil du Gd-DOTA est caractéristique d'un édifice plus volumineux, de l'ordre du nanomètre. Cette augmentation de taille conduit à une nette augmentation de la relaxivité qui est de $29 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ à 60MHz pour le Gd-P792 contre $4,2 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ pour le Gd-DOTA, dans les mêmes conditions. Le Gd-P792 a été reporté dans la littérature en 2001 et est actuellement en essais clinique (phase II). Cet agent de contraste serait utilisé lors d'examen d'angiographie coronaire ainsi que pour la détection d'ischémie ou de tumeurs.

Une autre stratégie afin d'améliorer la relaxivité des agents de contraste à base de Gd(III) est l'augmentation du nombre de molécules d'eau dans la première sphère de coordination du cation paramagnétique. En effet, tous les agents de contraste commerciaux T_1 ont une seule molécule d'eau dans leur sphère interne. L'augmentation du paramètre q requiert une réduction du nombre de groupements donneurs du ligand organique chélatant, nombre qui devrait être inférieure à huit afin de pouvoir coordiner deux molécules d'eau dans la première sphère de coordination du métal. Concernant les ligands polyaminocarboxylates, présents dans la plupart des agents T_1 commerciaux, cette diminution de la denticité du ligand conduit à des chélates peu stables et donc inappropriés pour des applications cliniques. Une génération plus récente de complexes a donc été développée en utilisant le caractère oxophile des Lanthanides(III). Des complexes d'hydroxypyridinone de Gd^{III} et leurs dérivés (Figure I-18) intégrant une seconde molécule d'eau dans leur première sphère de coordination ont alors été mis au point par Raymond et al.²⁶

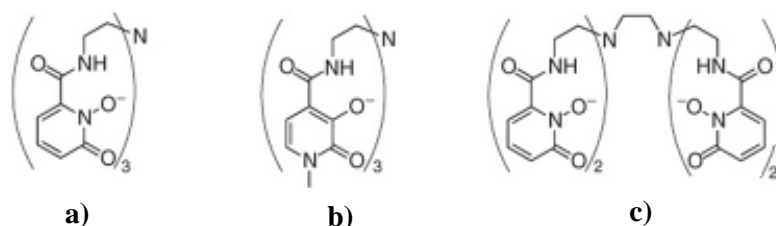


Figure I-18. Ligands chélates hydroxypyridinone et ses dérivés (a) TREN-1,2-(HOPO)₃, (b) TREN-1-Me-3,2-(HOPO)₃ et (c) H(2,2)-1,2-(HOPO)₄²⁶

Ces ligands chélatants présentent six position de coordination et permettent au Gd^{3+} d'avoir deux molécules d'eau dans sa première sphère de coordination d'où des valeurs de relaxivité de l'ordre de $10 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$. De plus, bien que ces ligands soient hexadentates, la stabilité de cette famille de chélate de Gd^{3+} est tout à fait acceptable ($\log \beta_{110} = 20,3$). Par ailleurs, ces

complexes sont plus stables que le Gd-DTPA-BMA (agent T₁ commercial) vis-à-vis de la transmétallation par le Zn²⁺ ou le Ca²⁺ et l'interaction avec de possibles anions endogènes est également faible.

IV.2. Agents de contraste métallo-dépendants

Cette partie est consacrée à l'élaboration d'agents de contraste « intelligents » dont la relaxivité varie en réponse à différents stimuli tels que le pH, la présence d'ions métalliques (Ca²⁺, K⁺, Mg²⁺, Zn²⁺, Fe²⁺), d'enzymes ou de petites biomolécules impliqués dans différents mécanismes. Cette stratégie permet de cibler de manière spécifique, des processus physiologiques ou biochimiques ou encore des tumeurs notamment par la sensibilité au pH de certains agents de contraste mis au point. En 2002, Leade et al. ont développé un agent de contraste dont la performance en IRM dépend de la présence ou non d'ions Ca²⁺. En incorporant un ligand DOPTA capable de se lier aux ions Ca²⁺, entre deux complexes dérivés du Gd-DOTA (Figure I-19), la relaxivité de ce composé augmente de 3,3 mM⁻¹.s⁻¹ à 5,8 mM⁻¹.s⁻¹ (500 MHz, 298K).²⁷

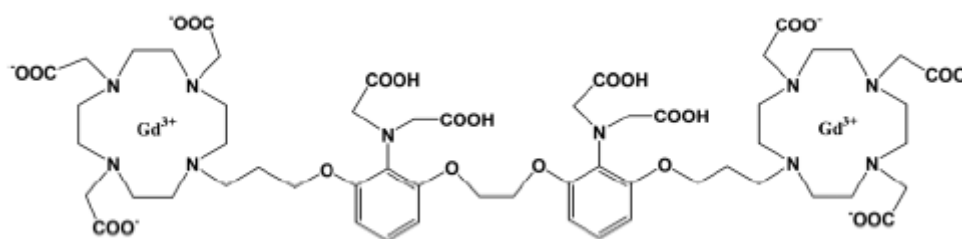


Figure I-19. Structure chimique du DOPTA-Gd²⁷

Les auteurs expliquent cette augmentation de relaxivité par un changement de conformation du complexe de Gd lorsqu'il est lié au Ca²⁺ entraînant une diminution du temps de relaxation longitudinale des protons de l'eau. A la suite de cela, une série d'agents de contraste activés par des ions métalliques tels que Ca²⁺, K⁺, Mg²⁺, Zn²⁺, Fe²⁺ et Cu²⁺ ont été développés et synthétisés. Parmi ces travaux, Desreux et al., ont mis au point un édifice supramoléculaire résultant de l'auto-assemblage de trois chélateurs de Gd(phen)HDO3A autour d'un ion Fe²⁺ comme montré sur la figure I-20.²⁸

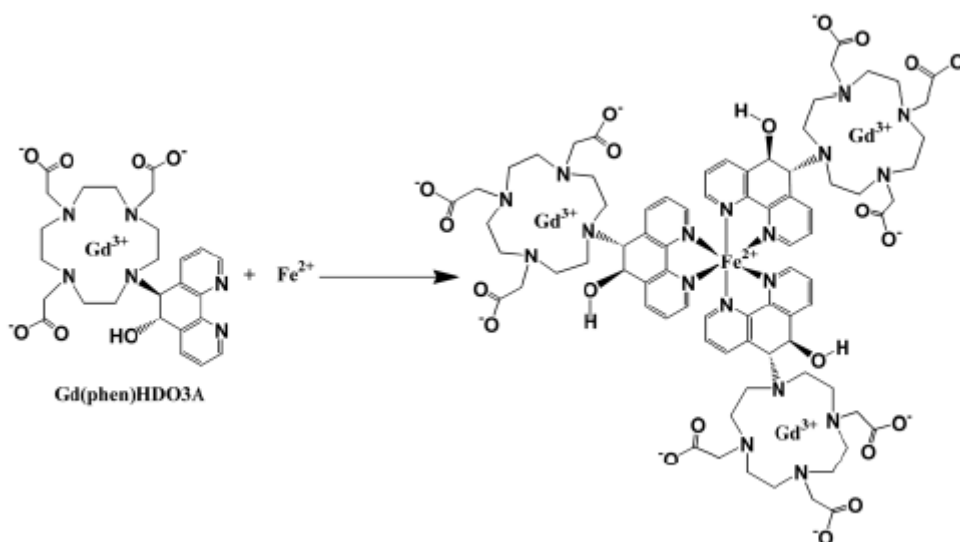


Figure I-20. Auto-assemblage de complexes de Gd(phen)HDO3A autour d'un ion Fe^{2+} ²⁸

Cet auto-assemblage conduit à une augmentation de la taille de l'édifice et donc à un allongement du temps τ_R d'où une forte augmentation de la relaxivité de $5,1$ à $12,5 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ à 20 MHz et 298K .

Un autre travail intéressant, publié par Chang et al., a consisté en l'élaboration d'un agent de contraste capable de détecter la présence de Cu^{2+} . Il s'agit d'un complexe de Gd-DO3A fonctionnalisé par un bras d'imino-diacétate capable de se lier au Cu^{2+} (Figure I-21).²⁹

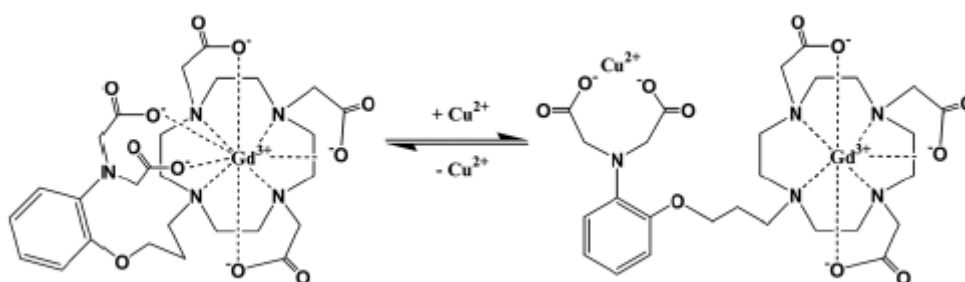


Figure I-21. Changement de conformation du Gd-DO3A en présence de Cu^{2+} ²⁹

La liaison du bras d'imino-diacétate aux ions Cu^{2+} facilite l'accès des molécules d'eau à la première sphère de coordination du Gd^{3+} entraînant une augmentation de la relaxivité de $3,76 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ à $5,29 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ (400 MHz , 298K).

IV.3. Association chélate - macromolécules (polymères, protéines, dendrimères)

▪ *Par liaison covalente*

La formation d'une liaison covalente entre des complexes de Gd^{III} préalablement fonctionnalisés sur une macromolécule est une autre stratégie adoptée par de nombreuses équipes de recherche. Cette méthode permet à la fois d'augmenter la taille des édifices tout en concentrant une centaine d'ions paramagnétiques au sein d'un même objet. Différents exemples ont été rapportés tels que des réactions de polymérisation du Gd-DTPA di-anhydre avec des polymères synthétiques linéaires tels que la cystamine³⁰ et la L-cystine.³¹ La relaxivité de ces macromolécules varie en fonction de leur masse molaire, qui dépend elle-même de la longueur de la chaîne. Les valeurs de relaxivité sont généralement autour de $10 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$. Pour des raisons de faible greffage des chélates de Gd(III), cette méthode a été rapidement été remplacée par une autre consistant à greffer par liaison covalente des chélates sur des protéines ou des polymères naturels (Figure I-22) tel que l'albumine,³² les polysuccinimides,³³ les polysaccharides³⁴ ou encore les polyacides-aminés.³⁵

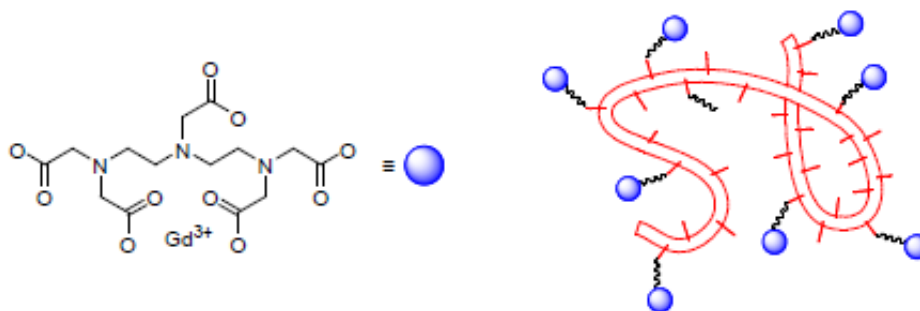


Figure I-22. Schéma du Gd-DTPA greffé de façon covalente à un polymère branché

Parmi les travaux les plus pertinents, les chélates dérivés du Gd-DTPA greffés sur l'albumine sérique humaine (Gd-DTPA/HSA) ou bovine (Gd-DTPA/BHS) ont montré des valeurs de relaxivité élevées ($14 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ contre $4 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ pour le Gd-DTPA libre, à 10 MHz).³⁶ Cependant, ces structures n'ont pas pu être utilisées cliniquement à cause des problèmes de toxicité cardiovasculaire causés et du long temps de rétention dans l'organisme. D'autre part,

la flexibilité de la chaîne reliant le chélate de Gd à la macromolécule entraîne un important degré de rotation locale du complexe de Gd, limitant ainsi la relaxivité de ces systèmes d'où des valeurs inférieures à celles prédites par la théorie SMB.

Pour palier à ce problème de précession locale, Zhang et al. ont proposé d'associer des tétramère de Gd(III) à la protéine HSA *via* deux points d'accrochage (ancrage multi-site) afin d'apporter plus de rigidité à la structure (Figure I-23) et ainsi augmenter la relaxivité grâce à une précession solidaire de l'édifice. Une augmentation de 30% de la relaxivité a été obtenue lorsque le complexe de Gd-DTPA est doublement accroché à la protéine.³⁷

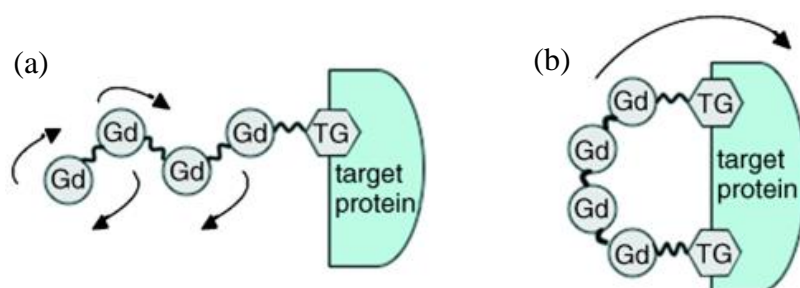


Figure I-23. Représentation schématique de l'accrochage mono (a) et multi-site (b) du tétramère de Gd(III) conjugué à une protéine cible³⁷

Récemment, Zhen et al. ont rapporté le couplage du Gd-DTPA conjugué à l'albumine (Gd-DTPA/HSA) à un carboxylfullène C_{60} . La synergie entre le HSA et le C_{60} a mené à une augmentation significative de la relaxivité du système tel que $r_1 = 86 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ dans l'eau à (20MHz et 300K) comme montré ci-dessous.³⁸

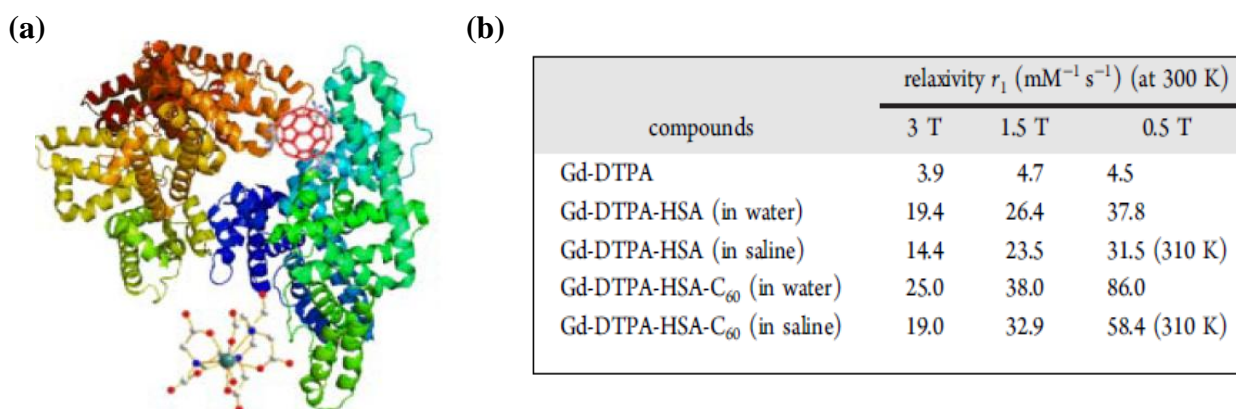


Figure I-24. (a) Représentation 3D de la structure $(\text{Gd-DTPA})_x\text{-HSA-}\{\text{C}_{60}[\text{C}(\text{COOH})_2]_3\}_y$; (b) Tableau comparatif des valeurs de relaxivité obtenues à différents champs magnétiques (en $\text{mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ par mM de gadolinium) dans l'eau ou en milieu salin³⁸

Des polymères cascades ou dendrimères, largement utilisés pour des applications biomédicales, ont ainsi été explorés en tant que plateforme pour le greffage d'agents de contraste. Ces structures ont été choisies car elles présentent de nombreux avantages tels qu'une faible polydispersité, une taille et forme bien définies, une non toxicité et une surface facilement fonctionnalisable. Parmi les différentes familles de dendrimères, les polyamidoamines (PAMAM) et les polypropylèneimine (PPI) sont les plus couramment étudiés. Ce sont des molécules sphériques, solubles dans l'eau, avec des groupements amine terminaux en surface. Le nombre de groupements amine augmente rapidement avec la génération du dendrimère (8 amines sur un dendrimère de première génération G_1 , 16 sur G_2 , 32 sur G_3 et ainsi de suite).³⁹

Parmi les travaux rapportés dans la littérature, le Gadomer-17 (ou Gd-DOTA-24-Cascade-polymer) a suscité un grand intérêt. Sa structure, constituée d'un cœur d'acide trimésique sur lequel sont greffées des dendrons de L-lysine, lui permet d'accueillir jusqu'à 24 complexes de gadolinium (Figure I-25) d'où sa valeur de relaxivité élevée égale à $17.2 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$.⁴⁰

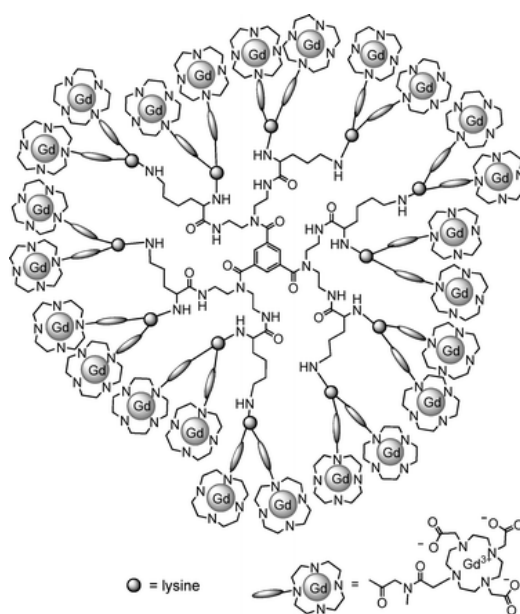


Figure I-25. Structure simplifiée du Gadomer-17⁴⁰

Néanmoins, les chélates dendritiques décrits à ce jour restent non-biodégradables et difficilement excrétés hors de l'organisme en raison de leur grande taille. Ye et al. ont récemment rapporté la synthèse d'agents de contraste dendritiques à différentes générations biodégradables ($G_x/\text{MOP-DTPA}$; $x=0 ; 1 ; 2$ et 3) formés d'un cœur de β -cyclodextrine. Ces composés ont une taille comprise entre 2,8 et 8,6 nm selon leur degré de polymérisation et

une relaxivité de l'ordre de $11,7 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$.⁴¹ En général, les valeurs de relaxivité des dendrimères conjugués varient entre $15 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ et $40 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ par ion Gd^{III} selon le type de chélate greffé et la génération du dendrimère. Ces valeurs sont nettement plus élevées que celles obtenues pour les polymères linéaires.⁴²

▪ **Par liaison non-covalente**

Plusieurs groupes ont étudié l'interaction non covalente entre des chélates de Gd et la protéine HSA, celle-ci étant la macromolécule endogène la plus abondante dans le corps humain. Cette interaction non covalente se traduit par une situation d'équilibre qui s'établit entre le chélate de Gd libre et le chélate de Gd lié à la HSA. Des valeurs de relaxivité élevées ont été obtenues pour certains complexes dérivés du Gd-DTPA comme montré ci-dessous.

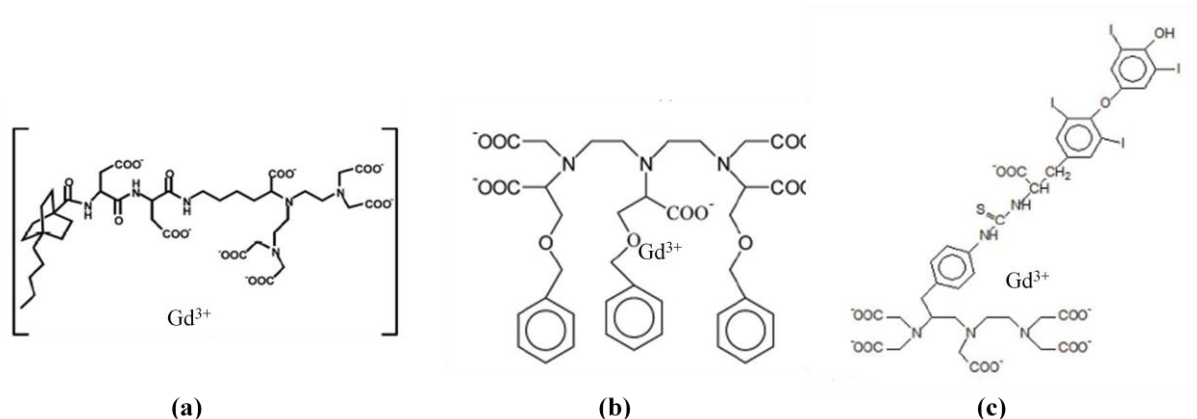


Figure I-26. Structures chimiques de trois chélates de Gd (a) MP-2269⁴³ (b) Gd-DTPA-(BOM)₃⁴⁴ et (c) Gd-C₄-thyroxin-DTPA⁴⁵ en interaction non-covalente avec la protéine HSA

Les valeurs de relaxivité obtenues pour ces chélates de Gd ainsi que les valeurs des constantes d'association K_a avec la protéine HSA sont regroupées dans le tableau ci-dessous.

Chélate de Gd	$R_1^P \text{ (mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}\text{)}$	$K_a \text{ (M}^{-1}\text{)}$
MP-2269	30,9	$1,6 \cdot 10^4$
Gd-DTPA-(BOM) ₃	48	$4,0 \cdot 10^4$
Gd-C ₄ -thyroxin-DTPA	36,1	$1,0 \cdot 10^4$

Tableau I-4. Propriétés de trois complexes de Gd en interaction non covalente avec la protéine HSA. Mesures effectuées en solution aqueuse dans 4% HSA à 310K et 20 MHz.⁴³⁻⁴⁵

Outre les très bonnes valeurs de relaxivité obtenues, cette stratégie permet également une élimination rapide par les reins du complexe de Gd sous sa forme libre, conduisant ainsi à une faible toxicité. Par ailleurs, de nombreux dérivés du Gd-DOTA en interaction non covalente avec la protéine HSA ont été synthétisés et présentent des valeurs de relaxivité proches de celles obtenues pour les dérivés du Gd-DTPA.

IV.4. Agents de contraste lipophiles

Une autre stratégie adoptée pour augmenter l'efficacité des agents de contraste a été leur encapsulation au sein de structures micellaires. En effet, en plus de présenter l'avantage de pouvoir transporter un grand nombre d'ions paramagnétiques au sein d'une même structure, pour des applications en IRM, de telles architectures peuvent également être chargées en principes actifs et/ou fonctionnalisées en surface pour le ciblage *in vivo*.

Plusieurs dérivés lipophiles du Gd-DTPA ont été synthétisés et encapsulés au sein de micelles dites « micelles paramagnétiques » et présentent une relaxivité dépendante de la longueur de la chaîne aliphatique R accrochée à la fonction amide (Figure I-27).^{46, 47}

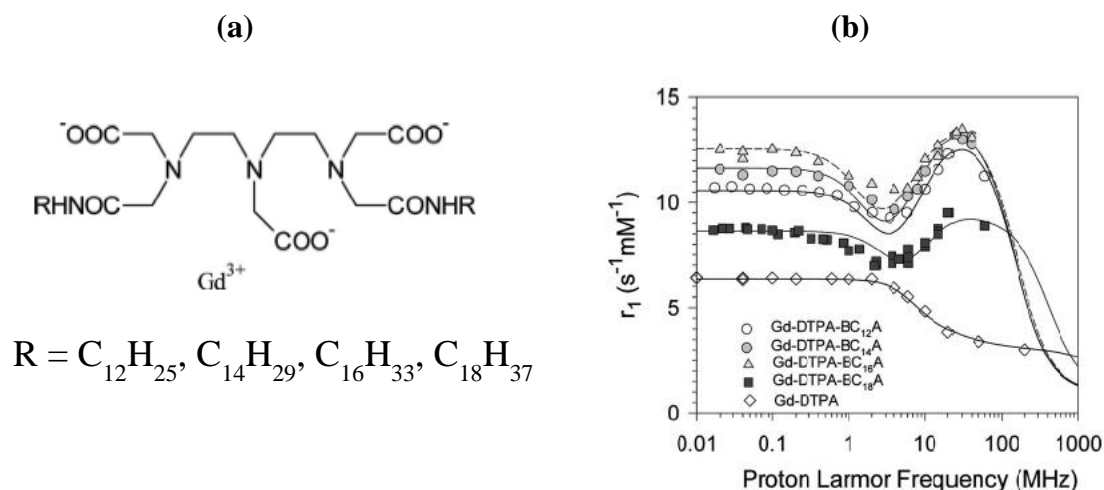


Figure I-27. (a) Dérivés lipophiles bis(amide) du Gd-DTPA avec différentes longueurs de chaînes R⁴⁷ et (b) profils à 310K de ces différents dérivés lipophiles comparés à celui du Gd-DTPA⁴⁶

Ces micelles paramagnétiques ont un diamètre hydrodynamique de 20 nm et présentent du fait de leur plus grande taille et donc de leur précession plus lente, une meilleure relaxivité que celle du Gd-DTPA. Concernant les dérivés lipophiles, la relaxivité la plus faible est obtenue pour le dérivé présentant dix-huit atomes de carbone ce qui s'explique par une flexibilité plus importante du complexe de Gd^{III} due à longueur de chaîne plus grande entraînant ainsi une précession locale du complexe de Gd^{III}. Concernant les autres dérivés, la relaxivité à 20MHz se situe aux alentours de 13 mM⁻¹.s⁻¹, valeur trois fois supérieures à celles du Gd-DTPA. Néanmoins, bien que présentant le double avantage de pouvoir contenir des complexes paramagnétiques pour l'imagerie ainsi que de pouvoir délivrer un médicament, la couche lipidique constituant les micelles ou les liposomes reste un obstacle à la bonne diffusion des molécules d'eau de l'intérieur de la cavité vers l'extérieur. D'autre part, la question de la stabilité de ces objets une fois introduits dans l'organisme ainsi que de leur élimination reste en suspens.

IV.5. Nanoparticules inorganiques contenant des ions paramagnétiques

L'avancée récente des nanoparticules a permis d'envisager leur utilisation en tant qu'agents de contraste. En effet, ces objets ont l'avantage d'être de véritables plateformes sur lesquelles peuvent être introduites différentes propriétés complémentaires (imagerie, luminescence, transport de médicaments) en permettant de plus une fonctionnalisation en surface afin d'améliorer le ciblage *in vivo* (greffage de protéines, anticorps).

La volonté de combiner plusieurs propriétés au sein d'un même objet a conduit certaines équipes à synthétiser des nanoparticules d'or pour leurs propriétés en tomographie et luminescence à la surface desquelles des complexes de Gd ont été greffés pour apporter la propriété d'imagerie. Ces objets, en général d'une taille inférieure à 10 nm, ont pu être chargés en surface d'une centaine de complexes de Gd(III) mais présentent des valeurs de relaxivité ne dépassant pas dans la plupart des cas 20 mM⁻¹.s⁻¹. Ceci s'explique par une précession locale des complexes de Gd(III) de surface entraînant une diminution de la relaxivité.^{48, 49} Moriggi et al. ont contourné ce problème en créant un lien rigide entre un chélate de Gd^{III} et des nanoparticules d'or via une fonction thiol permettant l'obtention

d'objets d'une taille de 4,8 nm en précession lente, conduisant à une relaxivité de $60 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ par ion Gd à 60 MHz.⁵⁰ Une autre alternative visant à réduire la mobilité des chélates de Gd(III), a été la synthèse de nanoparticules incorporant directement au sein de leur structure des ions paramagnétiques. Ainsi, la précession solidaire d'un objet paramagnétique de taille suffisamment importante et donc ayant un temps τ_R assez long pourrait être une bonne stratégie pour la synthèse d'agents de contraste pour l'IRM ou encore pour la synthèse de nanoparticules multimodales et/ou à visée thérapeutique. De plus, malgré les valeurs élevées de relaxivité transversale présentées par les nanoparticules d'oxydes de Fe(II) et Fe(III), les agents T_2 présentent le désavantage d'induire sur les images de contraste des artefacts, pouvant conduire à des erreurs de diagnostic. Ainsi, afin de conserver les avantages apportés par les nanoparticules, beaucoup de groupes se sont tournés vers la synthèse d'agents de contraste nanométriques T_1 .

Ainsi une première génération de nanoparticules inorganiques ne présentant aucune molécule d'eau coordonnée au cation paramagnétique, excepté en surface, tels que les phosphates $\text{Gd}^{\text{III}}\text{PO}_4$,⁵¹ les fluorures $\text{Gd}^{\text{III}}\text{F}_3$,⁵² ou encore les nanoparticules d'oxydes de Gd_2O_3 ,⁵³ a été mise au point. Des nanoparticules de $\text{Gd}^{\text{III}}\text{PO}_4$ de 23 nm de diamètre ont été synthétisées par voie hydrothermale et post-fonctionnalisées par du dextran afin d'assurer la bonne redispersion de ces objets en solution aqueuse. Une relaxivité de $13,9 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ et un rapport r_2/r_1 égal à 1,1 (à 0,47T) ont confirmé le caractère T_1 de ces nanoparticules.

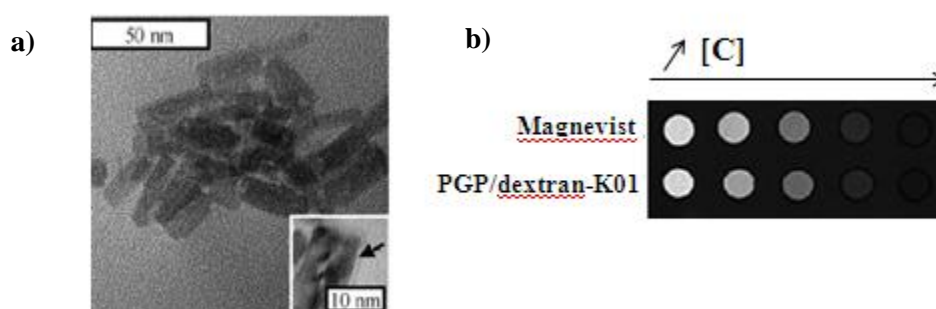


Figure I-28. (a) Images TEM des nanoparticules de GdPO_4 enrobées de dextran (b) Images de contraste pondérées en T_1 : Magnevist (5,0 ; 1,0 ; 0,5 ; 0,1 et 0,01 mM en Gd^{3+}) ; PGP/dextran-K01 (2,2 ; 1,1 ; 0,5 ; 0,2 et 0,04 mM en Gd^{3+})⁵¹

La concentration en Gd^{3+} a un effet positif sur le contraste pondéré en T_1 et ces particules de $Gd^{III}PO_4$ présentent un meilleur contraste que l'agent clinique.

Un autre travail très intéressant mené par l'équipe d'O.Tillement a consisté à synthétiser des nanoparticules sphériques de $Gd^{III}_2O_3$ de différentes tailles, obtenues en synthèse polyol et encapsulées par une coquille de silice contenant des fluorophores (Fluorescéine, Rhodamine ou Cystéine) ainsi que des groupements PEG-COOH liés de façon covalente au réseau inorganique, dans le but d'élaborer des objets multimodaux (IRM/Fluorescence) pour des applications *in vivo*.⁵³

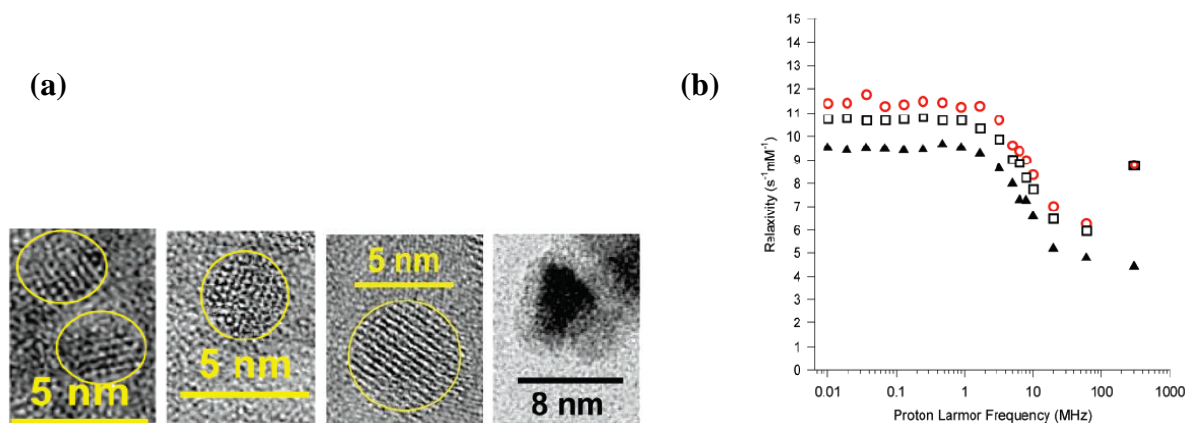


Figure I-29. (a) Images HRTEM de nanoparticules de Gd_2O_3 de 2,2 ; 3,8 ; 4,6nm et cœur-coquilles de $Gd_2O_3@SiO_2$ de 4,6@2*2 nm ; (b) Profils enregistrés à 298K sur les solutions colloïdales de GadoSiPEG2 (cercles), GadoSiPEG4(carré) et GadoSiPEG5 (triangles)⁵³

A faible champ, la relaxivité diminue avec l'augmentation de la taille du cœur de Gd_2O_3 . Les auteurs expliquent ce phénomène par un enfouissement des Gd^{3+} dans les couches les plus internes (diminution du rapport Surface/Volume avec l'augmentation de la taille) conduisant à moins d'interactions entre les molécules d'eau et les Gd^{3+} d'où un abaissement de la relaxivité. La relaxivité par Gd^{3+} se situe donc aux alentours de $10 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$. Cependant, la relaxivité par nanoparticule est extrêmement élevée (de 10^3 à $10^4 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ selon la taille) et pourrait atteindre des valeurs plus importante si seuls les atomes de surface (contribution majoritaire à la relaxivité) étaient pris en compte. D'autre part, les contrastes pondérés en T_1 et à faible concentration en ions Gd^{3+} sont meilleurs pour les particules de 2,2 et 3,8 nm que pour le Gd-DOTA (Figure I-31(a)). De plus, grâce à la présence de Cystéine dans la coquille

de silice, l'internalisation de ces particules dans des souris a pu être suivie par microscopie confocale de fluorescence (Figure I-30(b)).

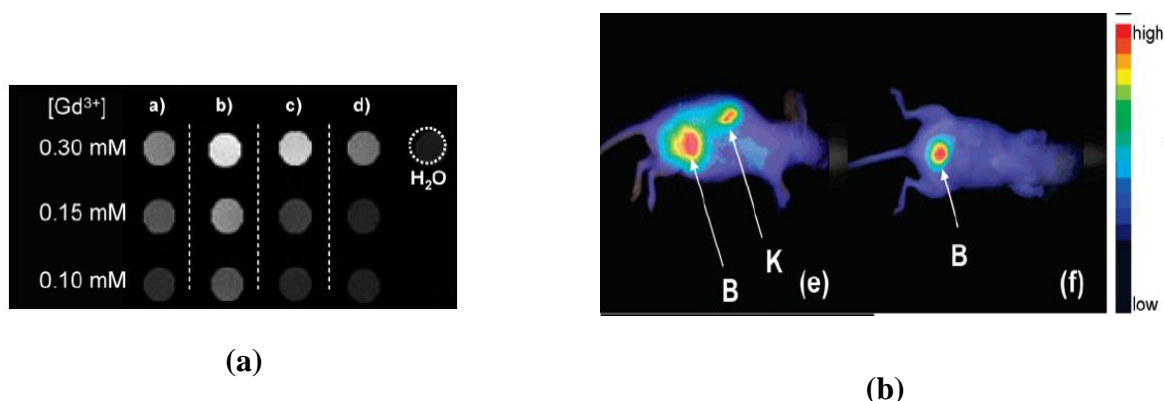


Figure I-30. (a) Images pondérées en T₁ (a) Gd-DOTA et Gd₂O₃ (b) 2,2 nm, (c) 3,8 nm et (d) 4,6 nm ; (b) Images de fluorescence obtenues 3h après l'injection des particules GadoSi2C⁵³

L'internalisation des particules et leur suivi par microscopie de fluorescence montre une élimination de celles-ci par voie rénale trois heures après l'injection sans aucune agrégation observée dans les poumons. De plus, l'absence de particules dans le foie est signe d'une faible reconnaissance de celles-ci par le système immunitaire. Bien que ce travail soit très intéressant pour le caractère bimodal de ces nanoparticules, la relaxivité de ces objets ne dépassent pas 10 mM⁻¹.s⁻¹, probablement en raison d'une limitation de la diffusion des molécules d'eau à travers la coquille de silice.

D'autre part, une stratégie employant la chimie de coordination sur des réseaux microporeux de type MOF a été développée, visant à exploiter la microporosité pour exalter les sites internes.^{54, 55} Par ailleurs, une approche élégante a consisté à maîtriser la précipitation de polymères de coordination de chélates de Gd^{III}, présentant sur le ligand des fonctions phosphonate permettant de complexer des ions Cu^{II}. Des nanobâtonnets de 200 nm (et 10 nm de largeur) permettent d'atteindre des valeurs de r₁ autour de 15 mM⁻¹.s⁻¹ à 60 MHz.⁵⁶ De plus, ces dix dernières années les nanoparticules de réseaux de coordination à ponts cyanures ont suscité un intérêt croissant au sein de la communauté scientifique. En effet, ce type de nanoparticules présentent de nombreux avantages pour la synthèse d'agents de contraste pour l'IRM ainsi que pour l'élaboration d'objets multimodaux et/ou à visée thérapeutique. La plupart des travaux rapportés dans la littérature ont été menés en parallèle des recherches effectuées au laboratoire depuis 2006 sur la synthèse de nanoparticules de réseaux de coordination pour leurs applications en nanomédecine. Ainsi, une partie de ce chapitre

bibliographique, présentée par la suite, sera consacrée à l'avancée des nanoparticules d'analogues du bleu de Prusse en vue d'applications bio-médicale (diagnostic et/ou thérapie).

V. AGENTS DE CONTRASTE A BASE DE Mn(II)

En milieu clinique, les agents de contraste utilisés le plus fréquemment sont des chélates de Gd^{III}. En effet, à ce jour neuf agents de contraste T₁ commerciaux à base de Gd^{III} existent (cf. Figure I-14 et Table I-1) contre un seul agent de contraste clinique à base de Mn^{II} (cf. Figure I-15). Bien qu'administré sous forme de chélate, plusieurs cas de Fibrose Systémique Néphrogénique ont été reportés chez des patients souffrant d'insuffisance rénale et ayant reçu des produits de contraste à base de Gd^{III}. En raison de son spin électronique élevé ($S = 5/2$) ainsi que d'un temps d'échange rapide des molécules d'eau, le Mn^{II} serait une alternative possible pour la synthèse d'agents de contraste pour l'IRM. Bien que les études rapportées dans la littérature soient encore peu nombreuses en comparaison aux études faites sur le Gd^{III}, plusieurs groupes de recherche se sont penchés vers l'utilisation de cet ion.

V.1. Chélates de Mn^{II}

La complexation du Mn^{II} par une large série de ligands chélatants linéaires ou cycliques a été explorée par plusieurs équipes de recherche. Bien que la complexation par le DTPA soit suffisamment forte pour prévenir l'accumulation du Mn^{II} dans les tissus, la relaxivité reste faible ($r_1 = 1,5 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ à 11,7T, 298K en solution aqueuse)⁵⁷ en comparaison avec celle du Gd-DTPA, ce qui s'explique par l'absence de molécules d'eau dans la première sphère de coordination du Mn^{II}. La complexation par le ligand DPDP (cf. Figure I-15) a permis le développement du seul agent de contraste T₁ commercial à base de Mn^{II} présentant une relaxivité comparable aux complexes de Gd^{III} ($r_1 = 2,8$ et $3,8 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ pour le Mn^{II}DPDP et le Gd^{III}DOTA respectivement, à 20 MHz, 40°C).⁵⁸

En 2005, Liu et al. ont mis au point un ligand dérivé du DTPA, le DTPA-BpABA (Figure I-31(a)) permettant la complexation de 2,5 Mn^{II}, chacun capable d'accepter plus d'une

molécule d'eau dans sa première sphère de coordination conduisant à une valeur élevée de r_1 égale à $16,8 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$.^{57, 59} La complexation d'un seul Mn^{II} par ce même ligand alors présentant sept sites de coordination mena étonnement à une valeur de relaxivité de $5,1 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ meilleure que celle du Gd-DTPA ($r_1 = 4,1 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$). Les auteurs expliquent cette valeur de relaxivité par la présence d'un grand nombre de molécules d'eau dans la seconde sphère de coordination du Mn^{II} en interaction avec les groupements amides du ligand via des liaisons hydrogènes. En 2006, Zhang et al, décident de coupler le DTPA avec l'isoniazide (Figure I-31(b)), un puissant anti-tuberculeux pour cibler des organes spécifiques.⁶⁰ Une valeur de relaxivité de $6,9 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, expliquée par la même hypothèse que l'exemple précédent, est obtenue.

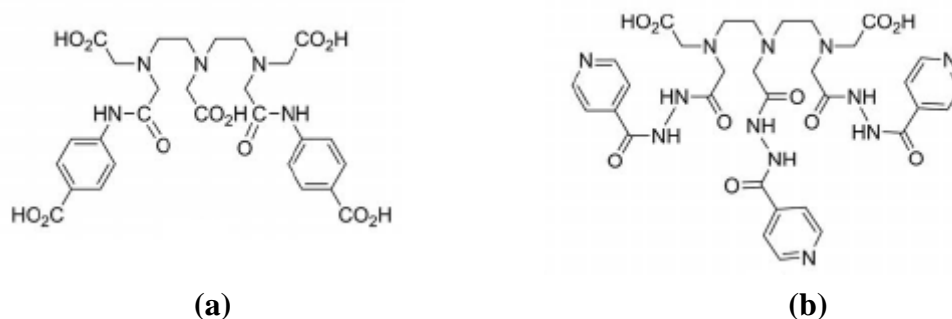


Figure I-31. Ligands (a) DTPA-BpABA^{57, 59} et (b) DTPA-Isoniazid⁶⁰

V.2. Encapsulation dans des liposomes

Une des stratégies pour diminuer la toxicité du Mn^{II} est son encapsulation dans des liposomes avant son injection par voie intraveineuse. D'autre part, l'architecture résultante, de plus grande taille, permettrait une précession ralentie de l'objet augmentant ainsi sa relaxivité. En 1993, Unger et al., mirent au point une complexe de Mn^{II} avec un ligand amphiphile, EDTA-DDP (Figure I-32(a)), encapsulé dans des liposomes de différentes tailles.⁶¹ Une valeur de relaxivité de $37,4 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ fut obtenue pour les liposomes de plus faible diamètre (30 nm), montrant une augmentation de l'intensité du signal pondéré en T_1 dans le foie, en comparaison avec ces mêmes liposomes chargés en ions Mn^{II} libres. Suite à cela, deux autres ligands amphiphiles dérivés du DTPA (DTPA-BPO et DTPA-BTO, Figure I-32(b)) furent mis au point en 1997 et les complexes de Mn^{II} résultants encapsulés dans des liposomes.⁶² Malgré

des valeurs élevées de relaxivité obtenues sur des expériences in vitro, aucune étude complémentaire (imagerie in vivo, biodistribution, stabilité, etc.) n'a été publiée.

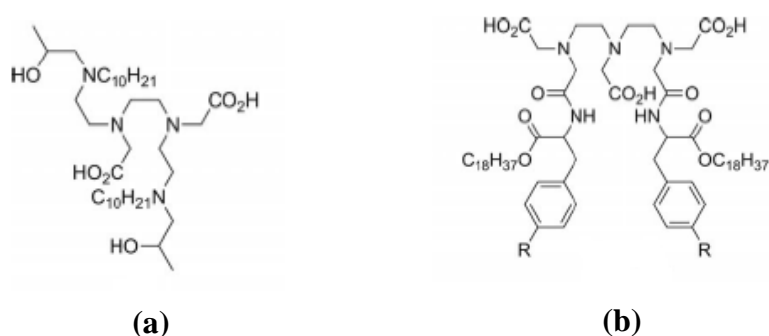


Figure I-32. Ligands (a) EDTA-DDP⁶¹ et (b) DTPA-BPO (R = H) et DTPA-BTO (R = OH)⁶²

V.3. Complexes macromoléculaires de Mn^{II}

Quelques exemples d'architectures macromoléculaires incorporant des chélates de Mn^{II} ont été décrits dans la littérature. Récemment, Huang et al., ont couplé le MnDTPA à des monomères de chitosan via une liaison amide (Figure I-33 (a)).⁶³ Ces macromolécules se sont révélées très stables en solution aqueuse, sans relargage d'ions Mn²⁺ libres, et présentent une relaxivité supérieure à celle du Gd-DTPA. Une autre étude, extrêmement intéressante, menée par Aime et al., a consisté en l'encapsulation de complexe de Mn^{III}-porphyrine (MnTPPS⁴⁻) dans une matrice de poly-β-cyclodextrin comme montré sur la figure I-33 (b).⁶⁴ Ce complexe supramoléculaire présente une relaxivité de 40,8 mM⁻¹.s⁻¹ en solution aqueuse à 20 MHz et 25°C, valeur plus de quatre fois supérieure à celle du MnTPPS⁴⁻ libre, dans les mêmes conditions.

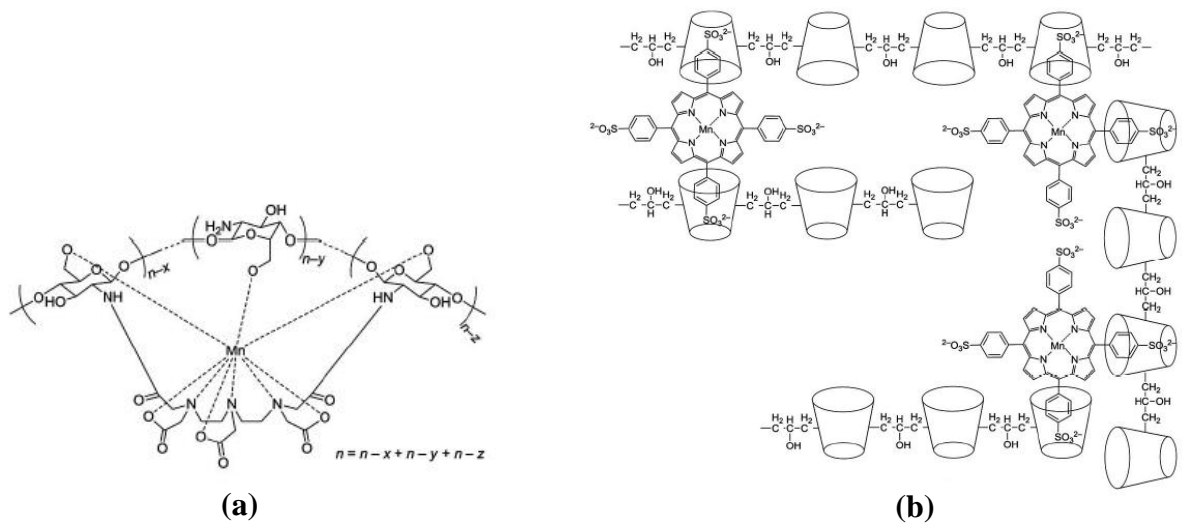


Figure I-33. Structures chimiques des complexes (a) MnDTPA-(chitosan)_n⁶³ et (b) MnTPPS⁴⁻ encapsulés dans une matrice de poly-β-cyclodextrin⁶⁴

V.4. Nanoparticules contenant des ions Mn^{II}

- *Nanoparticules d'oxyde de Mn*

Plusieurs travaux ont été rapportés sur l'utilisation de nanoparticules d'oxydes de Mn (MnO ou Mn₃O₄) comme agents de contraste T₁ pour l'IRM. Parmi les différents travaux publiés, Na et al. ont décrit la synthèse de nanoparticules de MnO de différentes tailles enrobées par une matrice phospholipidique.⁶⁵

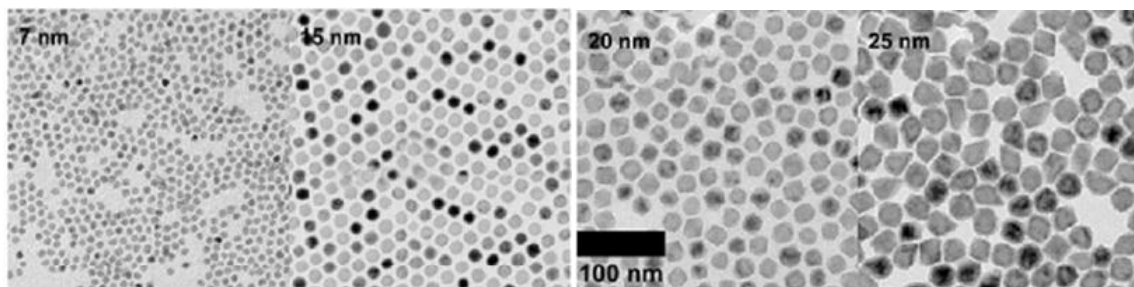


Figure I-34. Images TEM de naoparticules de MnO de 7, 15, 20 et 25 nm⁶⁵

Les valeurs de relaxivité sont faibles et diminuent avec l'augmentation de la taille des particules ($r_1 = 0,37 ; 0,18 ; 0,13$ et $0,12 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ pour des nanoparticules de 7 ; 15 ; 20 et 25 nm respectivement). Les auteurs expliquent cette tendance par une participation exclusive à la relaxivité des ions Mn^{II} présents en surface. En effet, plus les nanoparticules sont de petite taille, plus le rapport surface/volume augmente d'où un nombre plus importants d'ions Mn^{II} actifs dans le cas des plus petites particules. Suite à ce travail, Huang et al., mirent au point la synthèse de nanoparticules de MnO et Mn_3O_4 par décomposition hydrothermal. Les nanoparticules d'une taille inférieure à 5 nm présentent une relaxivité supérieure à $1 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$.⁶⁶ Par ailleurs, des nanoparticules de MnO de 2-3 nm enrobées par de l'acide D-glucorinique, mises au point par Baek et al., présentent une relaxivité de $7 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$.⁶⁷ Ces travaux confirment donc la participation exclusive des ions Mn^{2+} de la surface puisque les valeurs de relaxivité augmentent lorsque la taille des nanoparticules diminue. Néanmoins, ça n'est que récemment que des nanoparticules de MnO enrobées par des dendrimères fonctionnalisés par des chaînons PEG ont pu être utilisées en tant qu'agent de contraste T_1 intra-vasculaire, sans problème de dissolution ni de toxicité.⁶⁸

Par ailleurs, des nanoparticules de MnO combinant IRM et TEP (Tomographie à Emission de Positrons) ont été développées par Huang et al.⁶⁹ Ces nanoparticules sont enrobées par la protéine HSA, matrice hydrophile permettant la bonne diffusion des molécules d'eau vers la sphère de coordination du Mn^{II} . En effet, les auteurs suggèrent que les faibles valeurs de relaxivité obtenues par Na et al., sont en partie dues à l'enrobage phospholipidique hydrophobe utilisé empêchant une diffusion optimale des molécules d'eau. La stratégie de synthèse de ces nanoparticules de MnO bimodales ainsi que leurs performances en IRM et TEP sont présentées sur la figure ci-dessous.

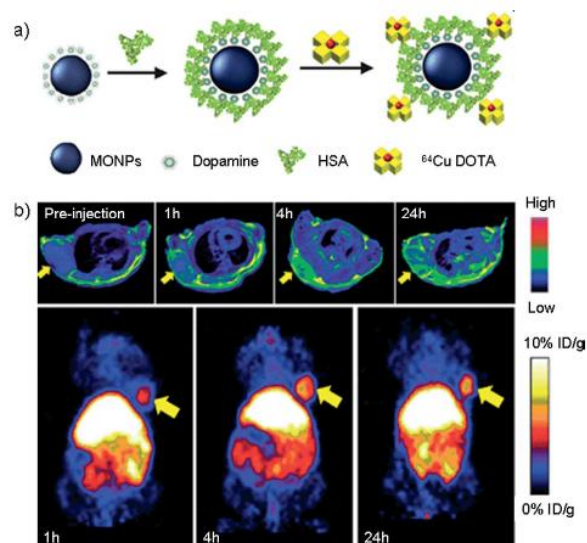


Figure I-35. (a) Formation des nanoparticules de MnO@HSA-⁶⁴Cu-DOTA (b) Images de contraste pondéré en T₁ (haut) et images TEP (bas) à 0, 1, 4 et 24h après l'injection des particules dans des cellules tumorales U87MG de souris ⁶⁹

Les nanoparticules résultantes présentent un diamètre hydrodynamique d'environ 40 nm et une relaxivité cinq fois supérieures à celle des particules développées par Na et al. Les auteurs expliquent ce résultat par l'enrobage avec la protéine HSA, responsable du caractère hydrophile de ces objets ainsi que de leur bonne stabilité en milieu physiologique. Par ailleurs, le meilleur contraste obtenu pour les deux types d'imagerie a lieu 4h après l'injection des particules et le ciblage des tumeurs et du foie est mis en évidence par les images TEP.

- *Nanoparticules d'oxyde de Mn creuses*

Au lieu de réduire la taille des particules comme montré dans les exemples ci-dessus pour accroître le nombre d'ions Mn²⁺ de surface, une autre stratégie développée par An et al. a consisté à synthétiser des nanoparticules d'oxyde de Mn creuses afin de maximiser les interactions entre les ions Mn^{II} de surface et les molécules d'eau.⁷⁰ Ainsi le traitement thermique (300°C) de nanoparticules de MnO en présence d'oxyde de trioctylphosphine a permis l'obtention de particules de MnO (Figure I-36).

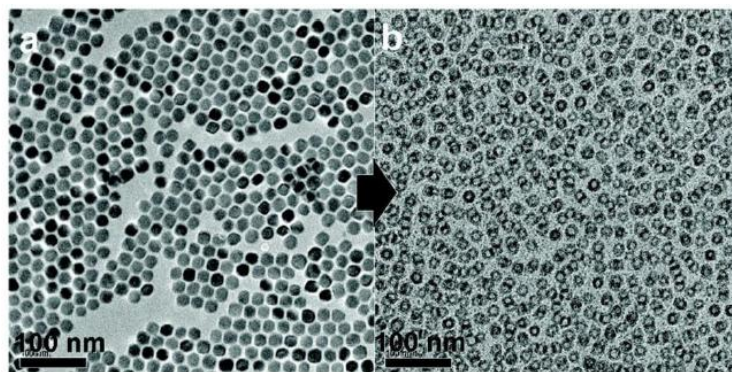


Figure I-36. Images TEM (a) avant et (b) après traitement thermique des particules de MnO ⁷⁰

Ces nanoparticules creuses facilitent grandement l'accès des molécules aux sites paramagnétiques entraînant une augmentation de la relaxivité de 0,35 à 1,15 mM⁻¹.s⁻¹ pour des nanoparticules de MnO de 20 nm de diamètre. Des essais d'encapsulation de particules de MnO dans une coquille de silice MnO@SiO₂ suivi d'un traitement thermique à 60°C en présence d'éthylacétate et d'hydroxyde de sodium a permis l'obtention de système creux H-MnO@mSiO₂.⁷¹ Néanmoins les valeurs de relaxivité restent très faibles en raison d'une mauvaise diffusion des molécules d'eau à travers la coquille de silice.

- *Dopage de nano-structures par des ions Mn²⁺*

L'incorporation de complexes de type Mn^{III}-porphyrines (Mn-PPC) dans des micelles inverses constituées de groupements polyéthylénimine (PEI) amphiphiles a été réalisée par Pan et al. (Figure I-37).⁷²

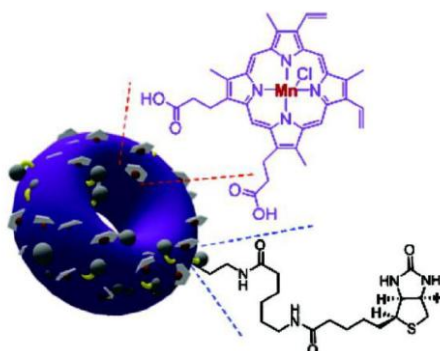


Figure I-37. Nanostructure amphipile constituée de groupements PEI et chargée en complexes Mn-PPC ⁷²

La plupart des complexes de Mn-PPC se trouvent en surface de cette nanostructure facilitant l'accès des molécules d'eau aux cations Mn^{III} d'où une relaxivité de $3,7 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$. De plus, cette nano-structure amphiphile permet d'encapsuler des principes actifs tels que la doxorubicine ou la camptothécine (98% et 99% d'encapsulation, respectivement) faisant de ces architectures des nanoplatformes combinant diagnostic (IRM) et thérapie.

Un autre travail développé par Tu et al., a consisté à doper des quantum dots présentant des propriétés d'absorption dans le proche infra-rouge (optimum de pénétration des tissus) par des ions Mn^{II} . Ces objets d'environ 4nm de diamètre, enrobés par du dextran sulfaté, présentent une relaxivité longitudinale de $25 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ en plus de combiner IRM et détection optique.⁷³

Une autre étude intéressante concernant des quantum dots cœur-coquille dopés par du Mn^{II} a également été rapportée par Wang et al.⁷⁴ Sur un cœur de CdSe de 4,1 nm est déposée une coquille de $Zn_{1-x}Mn_xS$ de moins d'1 nm de diamètre (Figure I-38). Selon le taux de dopage en Mn^{II} (de 1 à 6%) et l'épaisseur de la coquille (de 1,5 à 6 couches de $Zn_{1-x}Mn_xS$), la relaxivité varie de 10 à $20 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ (60 MHz, 37°C). La localisation des ions Mn^{II} uniquement en surface des particules permet de limiter l'injection d'ions Mn^{II} ne participant pas à la relaxivité, favorisant l'obtention de ces valeurs de relaxivité ainsi qu'une augmentation du signal pondéré en T_1 avec l'augmentation de la concentration en Mn^{II} (Figure I-38).

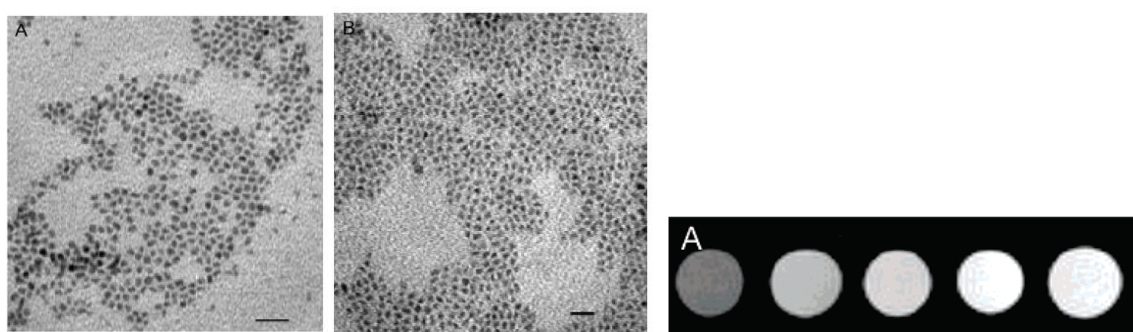


Figure 38. Images TEM de (gauche) cœurs de CdSe de 4,1 nm (centre) cœur-coquilles CdSe@ $Zn_{1-x}Mn_xS$ de 4,7 nm (échelle 20 nm) et images de contraste pondérées en T_1 (droite) à 0,00 ; 0,024 ; 0,049 ; 0,097 et 0,194 mM en Mn^{II} (de gauche à droite)⁷⁴

Egalement, des nanoMOFs ont été mis au point par Taylor et al. pour leur application en tant qu'agent de contraste pour l'IRM.⁷⁵ Des réseaux de téréphtalate à base de Mn, le $\text{Mn}(\text{BCD})(\text{H}_2\text{O})_2$ et le $\text{Mn}_3(\text{BTC})_2(\text{H}_2\text{O})_6$ (BCD : 1,4-benzènedicarboxylate et BTC : 1,3,5-benzènetricarboxylate) ont été utilisés afin de synthétiser, par une synthèse en microémulsion, des nanobâtonnets d'environ 1 μm ainsi que des plaquettes polydisperses de 50 à 300 nm.

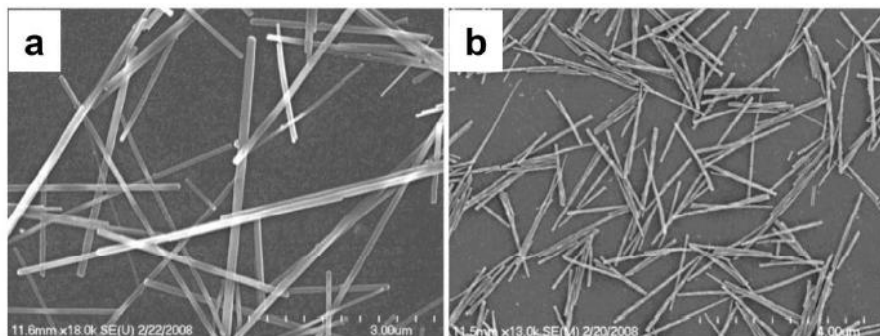


Figure I-39. Images MEB de (a) $\text{Mn}(\text{BCD})(\text{H}_2\text{O})_2$ et (b) $\text{Mn}_3(\text{BTC})_2(\text{H}_2\text{O})_6$ ⁷⁵

Ces nanoparticules présentent des valeurs de relaxivité intéressantes de l'ordre de $5\text{mM}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ ainsi que la possibilité d'être fonctionnalisées par du PVP ou de la silice pouvant incorporer d'autres fonctionnalités tels que des peptides ou des molécules fluorescentes. La très grande taille de ces objets reste toutefois un obstacle à leur utilisation *in vivo*.

VI. NANOPARTICULES DE BLEU DE PRUSSE ET SES ANALOGUES COMME AGENT DE CONTRASTE POUR L'IRM

Les nanoparticules de bleu de Prusse et ses analogues suscitent un intérêt croissant pour leur utilisation en tant qu'agents de contraste pour l'IRM ainsi que pour la conception d'objet multimodaux et/ou théragnostiques. Ce travail de thèse est centré sur la synthèse de nanoparticules de bleu de Prusse et de ses analogues pour leurs diverses applications dans le domaine de la nanomédecine. En parallèle des travaux menés au laboratoire depuis 2006, plusieurs études concernant ces nanoparticules de réseaux de coordination et leurs

applications en diagnostic et/ou thérapie ont été rapportées. Ainsi, après une description de la structure cristallographique du bleu de Prusse et de ses analogues, un état de l'art sur ces nanoparticules utilisées en imagerie médicale et/ou en thérapie sera présenté, montrant ainsi l'intérêt croissant porté par la communauté scientifique et donc l'importance de cette activité sur ce type de nano-objets.

VI.1. Le bleu de Prusse et ses analogues

VI.1.1. *Le bleu de Prusse : structure et propriétés*

Le bleu de Prusse (BdP), considéré comme étant le premier composé de coordination, a été découvert à Berlin au début du XVIII^{ème} siècle. Il s'agit d'un précipité de couleur bleu caractéristique, obtenu immédiatement par réaction de coprécipitation entre une solution aqueuse de chlorure de fer (III) et une autre d'hexacyanoferrate (II) de potassium conduisant à un composé de formule générale $\text{Fe}^{\text{III}}_4[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_3 \cdot 15\text{H}_2\text{O}$. En raison de la difficulté à cristalliser ce composé, sa structure cristallographique n'a été résolue que tardivement, dans les années 70. Ainsi, Buser et al. ont démontré que le bleu de Prusse cristallise dans un réseau tridimensionnel cubique à faces centrées, de paramètre de maille $a = 10.17 \text{ \AA}$ (groupe d'espace $Fm\bar{3}m$) où les atomes de fer (ferreux et ferrique) alternent dans la structure reliés par des ligands cyanure.⁷⁶ Par ailleurs, la stœchiométrie [4:3], imposée par l'électroneutralité du réseau, induit la présence de lacunes non ordonnées en ferrocyanure. La sphère de coordination des ions Fe^{III} est alors complétée par des molécules d'eau. De plus, étant donné la distance élevée entre les ions $\text{Fe}(\text{II})$ et $\text{Fe}(\text{III})$, imposée par les cyanures pontants, des cavités sont présentes dans le réseau, pouvant accueillir un certain nombre de molécules d'eau zéolitique (Figure I-40).

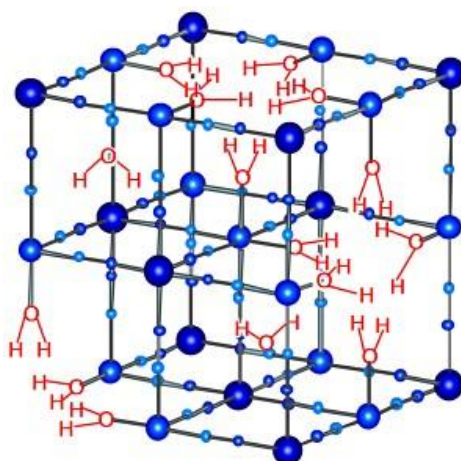


Figure I-40. Structure cristallographique du bleu de Prusse avec des molécules d'eau coordonnées et zéolitiques

La couleur du bleu de Prusse s'explique par un transfert de charge du Fe^{II} vers le Fe^{III} caractérisé par une absorption intense du bleu de Prusse à 700 nm, longueur d'onde optimale de pénétration des tissus.

VI.1.2. Les analogues du bleu de Prusse : structure et propriétés

La substitution des ions $\text{Fe}(\text{II})$ et/ou $\text{Fe}(\text{III})$ du bleu de Prusse par d'autres ions di- et/ou trivalents de la première série des métaux de transition (Ni^{II} , $\text{Co}^{\text{II/III}}$, Mn^{II} , $\text{Cr}^{\text{II/III}}$ etc...), a permis de mettre au point une nouvelle famille de composés que sont les analogues du bleu de Prusse. Ces composés de formule générale $\text{A}_x\text{M}_4^{\text{II/III}}[\text{M}'^{\text{III/II}}(\text{CN})_6]_{(8+x)/3}\square_{(4-x)/3}\cdot n\text{H}_2\text{O}$ avec A un cation alcalin (K^+ , Na^+ , Cs^+ , Rb^+) et \square des lacunes en hexacyanométallates, présentent une structure ainsi qu'un nombre de lacunes dépendant de la quantité et de la nature des alcalins.

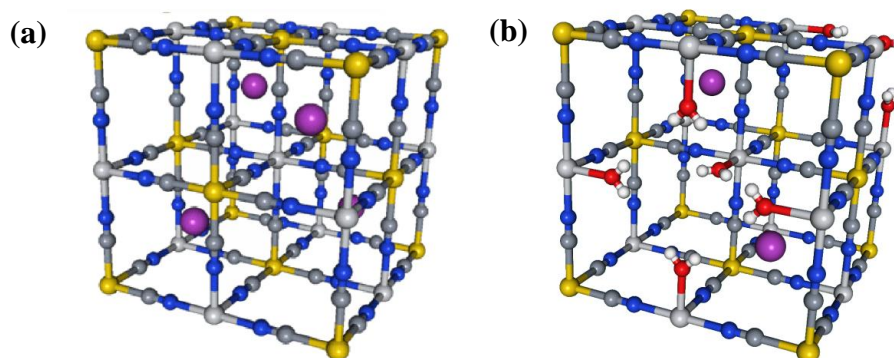


Figure I-4&. Structures des analogues du bleu de Prusse $A_xM_4^{II/III}[M'^{III/II}(CN)_6]_{(8+x)/3}\square_{(4-x)/3}.nH_2O$: (a) pour $x=4$ et (b) pour $x<4$; M' (jaune), M (gris clair), C (gris foncé), N (bleu) et cation alcalin (violet). Les molécules d'eau coordonnées sont représentées en rouge.

Pour $x=4$, la structure est un réseau cubique à faces centrées non lacunaire avec une alternance de cations M et M' reliés par des ponts cyanures. Les cations alcalins occupent les interstices tétraédriques du réseau (Figure I-41(a)). D'autre part, le caractère σ -donneur / π accepteur du côté carbone et σ -donneur / faiblement π donneur du côté azote impose aux ions M' et M une configuration bas spin et haut spin respectivement.

Concernant les autres stœchiométries ($x<4$), la structure tridimensionnelle présente des lacunes en hexacyanométallate (entités $M'(CN)_6^{n-}$). Ainsi, les ions M situés au voisinage des sites vacants, complètent leur sphère de coordination par des molécules d'eau (Figure I-41(b)). En se limitant à la première série des métaux de transition (3d), il existe déjà un grand nombre de combinaisons pour le couple $M^{II/III}/M'^{II/III}$ et de multiples composés $A_xM^{II/III}[M'^{II/III}(CN)_6]_y.nH_2O$ sont envisageables, menant à de nombreuses propriétés (magnétisme, photomagnétisme, électrochromisme...etc) en vue d'applications variées.

VI.1.3. Réseaux de coordination à ponts cyanures : vers la synthèse d'agents de contraste

Dans le cadre de ce travail de thèse, portant sur la synthèse d'agents de contraste nanométriques pour l'IRM mais aussi sur la synthèse d'objets multimodaux et/ou à visée thérapeutique, nos efforts se sont portés sur les réseaux d'analogues du bleu de Prusse et les réseaux d'hexacyanométallate de terres rares. En effet, l'élaboration de nanoparticules de ce

réseau de coordination présente de nombreux avantages pouvant faire de ces nano-objets d'excellents candidats pour la synthèse d'agents de contraste T_1 pour l'IRM :

- La structure tridimensionnelle de ces réseaux de coordination ainsi que la taille nanométrique de ces objets permet une précession solidaire de l'objet, conduisant à un temps de corrélation rotationnel τ_R plus long, tout en s'affranchissant d'une quelconque précession locale ;

- La proportion d'atomes de surface est plus importante pour des nanoparticules de réseaux de coordination que pour des particules d'oxydes ou de métal pur. Ainsi, pour une particule de 3 nm de diamètre, la surface compte 30% d'atomes pour une particule de Fer contre 60% pour un réseau de type analogue du bleu de Prusse. Ceci permet donc dans l'hypothèse d'une activité exclusive des ions de surface, de limiter l'injection de métaux non localisés en surface et ne participant pas à la relaxivité ;

- L'utilisation d'un réseau tridimensionnel permet au cation paramagnétique d'avoir plus d'une molécule d'eau dans sa première sphère de coordination sans altérer la stabilité de l'édifice, contrairement à la plupart des agents moléculaires commerciaux ;

- La microporosité de ces réseaux permet d'envisager une activité non nulle des ions paramagnétiques localisés ailleurs qu'en surface, même si l'activité des ions de surface reste prédominante ;

- Enfin les analogues du bleu de Prusse offre une grande versatilité permettant de moduler à souhait la composition chimique ainsi que l'enrobage des nanoparticules pour ainsi optimiser les propriétés de relaxivité tout en combinant d'autres fonctionnalités d'imagerie et/ou de thérapie au sein du même nano-objet.

VI.1.4. Etat de l'art

- **Réseaux à ponts cyanure à base de Gd^{III} et de Mn^{II}**

Depuis 2006, des travaux sont menés au sein de notre équipe sur l'élaboration de nanoparticules de réseaux de coordination à base de Gd^{III} pour l'IRM, cependant ces études n'ont donné lieu à des résultats satisfaisants que récemment. Le problème rencontré

initialement était la forte solubilité des réseaux $\text{Gd}^{\text{III}}[\text{Fe}^{\text{II/III}}(\text{CN})_6].n\text{H}_2\text{O}$ dans l'eau, le Gd^{III} étant très oxophile. La structure des réseaux de lanthanides à ponts cyanure n'est pas cubique à face centrée comme le montre la figure I-42. En effet, la maille des réseaux $\text{KGd}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})_2[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6].\text{H}_2\text{O}$ abrégé GdFe est orthorhombique. Les ions Gd^{III} se trouvent dans un prisme trigonal formé par les cyanures et deux molécules d'eau complètent la sphère de coordination du Gd^{III} ayant alors un environnement du type $[\text{GdN}_6\text{O}_2]$. Le Fe^{II} se trouve lié à six atomes de carbone provenant des ligands cyanure et se trouve donc dans une géométrie octaédrique.

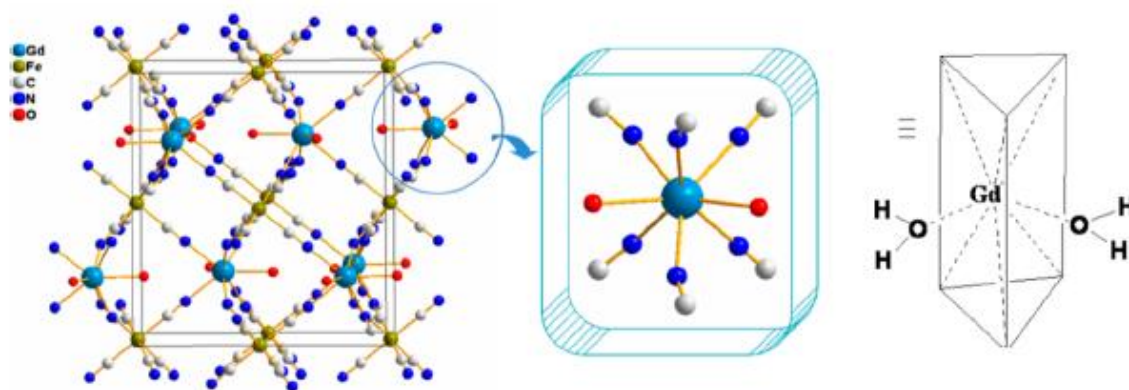


Figure I-42. Représentation de la structure cristallographique du $\text{KGd}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})_2[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6].\text{H}_2\text{O}$ (Gd, Fe, C, N, O) ; les ions K^+ ainsi que les molécules d'eau zéolitiques ont été supprimés par soucis de clarté.⁷⁷

Malgré la forte solubilité de ce réseau dans l'eau, des résultats encourageants ont été obtenus en 2008 par Guari et al. en confinant la croissance de ce réseau dans une matrice chitosan obtenant ainsi des nanoparticules de diamètre inférieur à 10 nm.⁷⁸ Une valeur de relaxivité élevée de l'ordre de $20 \text{ mM}^{-1}.\text{s}^{-1}$ à 60 MHz a été obtenue, cependant la solubilisation de ces nanocomposites se fait en milieu acide ($\text{pH} = 4-5$).

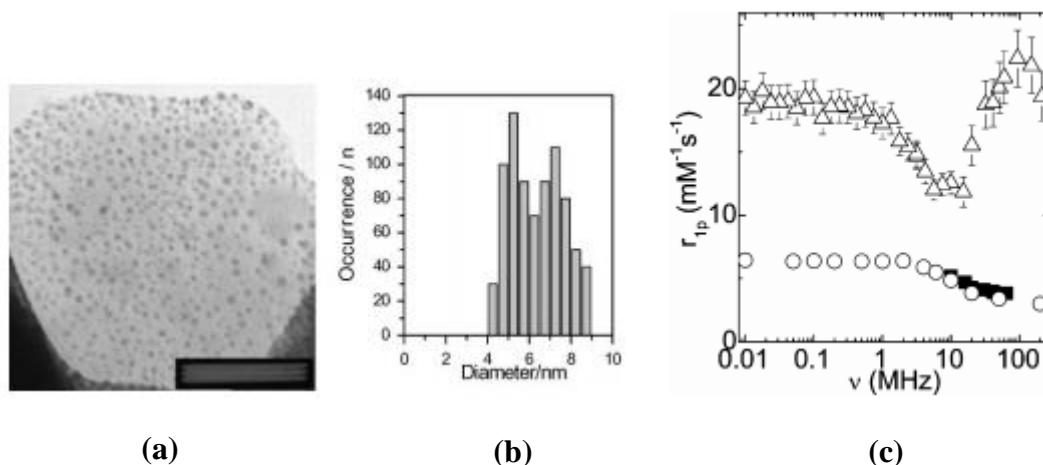


Figure I-43. (a) Images TEM et (b) distribution de taille des nanoparticules $\text{Gd}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ redispersées dans l'eau acide (pH=4-5) ; (c) Profils enregistrés à 298K (nanoparticules $\text{Gd}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Δ) ; du Gd-DTPA (\circ) et Omniscan $^{\text{®}}$ (\blacksquare))⁷⁸

La même équipe a rapporté en 2011 la synthèse de nanoparticules trimétalliques à base d'octacyanométallate de formule $\text{Ln}_{0,33}{}^{3+}\text{Gd}_x{}^{3+}/[\text{Mo}(\text{CN})_8]^{3-}$ ($\text{Ln}^{3+} = \text{Eu}, \text{Tb}$).⁷⁹ La relaxivité de ces objets sphériques de 3-4 nm reste faible puisque du même ordre de grandeur que celle du Gd-DTPA. Néanmoins, le dopage de ces réseaux par des ions lanthanides fait de ces nanoparticules des objets multimodaux (IRM/Fluorescence).

A la suite de ces travaux, la même équipe s'est intéressée en 2013 à l'influence de la nature de l'enrobage ainsi que de la présence d'un centre paramagnétique à proximité du Gd^{3+} sur la relaxivité de nanoparticules de formule $\text{Gd}^{\text{III}}[\text{M}^{\text{III}}(\text{CN})_6]^{3-}$ avec $\text{M} = \text{Fe}$ ou Co .⁸⁰ Indépendamment de la composition chimique des objets et de la nature de l'enrobage, des nanoparticules sphériques de taille comprises entre 2,1 et 3,4 nm ont été obtenues. La meilleure relaxivité a été obtenue pour les particules $\text{Gd}^{\text{III}}[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6]^{3-}@\text{PEG1000}$ (Figure I-44).

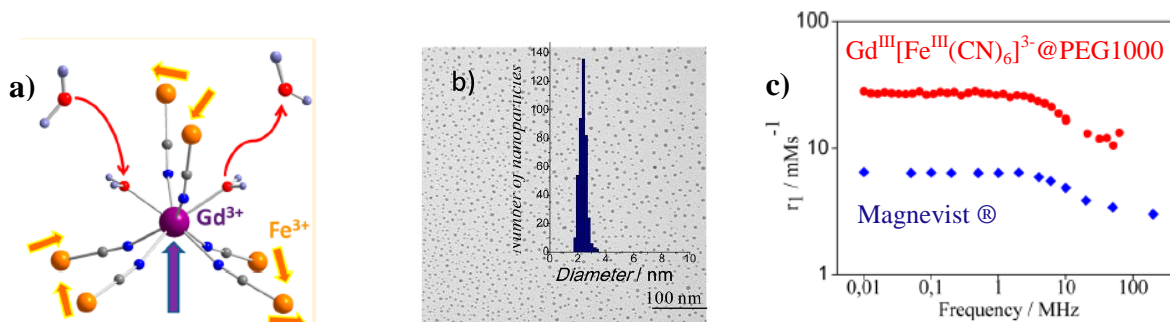


Figure I-44. (a) Représentation schématique de l'environnement du Gd^{3+} (b) Images TEM et distribution de taille des nanoparticules $Gd^{III}[Fe^{III}(CN)_6]^{3-}@PEG1000$ et (c) Profils enregistrés à 298K des particules $Gd^{III}[Fe^{III}(CN)_6]^{3-}@PEG1000$ et du Magnevist®⁸⁰

Malgré une relaxivité intéressante égale à $13,3 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ à 4,7T, les performances de ces objets restent inférieures aux particules de $Gd^{III}Fe^{III}(CN)_6 \cdot 4H_2O$ enrobées de chitosan et redispersées dans l'eau acide.⁷⁸ Néanmoins, les auteurs ont montré dans cette étude que la présence d'un centre paramagnétique (ici Fe^{3+} avec $S=1/2$) coordonné au Gd^{3+} via les ligands cyanures était favorable à la relaxivité. En effet, la relaxivité de particules de formule $Gd^{III}[Co^{III}(CN)_6]^{3-}@PEG1000$ de même taille mais présentant un centre diamagnétique est 2,5 fois inférieure.

Tout récemment (septembre 2014), des valeurs de relaxivité importantes ($r_1=35 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ à 60 MHz) ont été obtenues par Perera et al., sur des nanoparticules $Gd^{III}[Fe^{II}(CN)_6]$ de 25 nm stabilisées par du citrate et du polyvinylpyrrolidone (PVP).⁷⁷ Les contrastes pondérés en T_1 sont bons à faible concentration et leur intensité augmente avec la concentration en Gd^{3+} (Figure I-45 (a)). De plus, des tests MTT ont été menés sur des cellules HeLa montrant plus de 90% de cellules viables 48h après l'injection des nanoparticules à 1 mM en Gd^{3+} (Figure I-45 (b)).

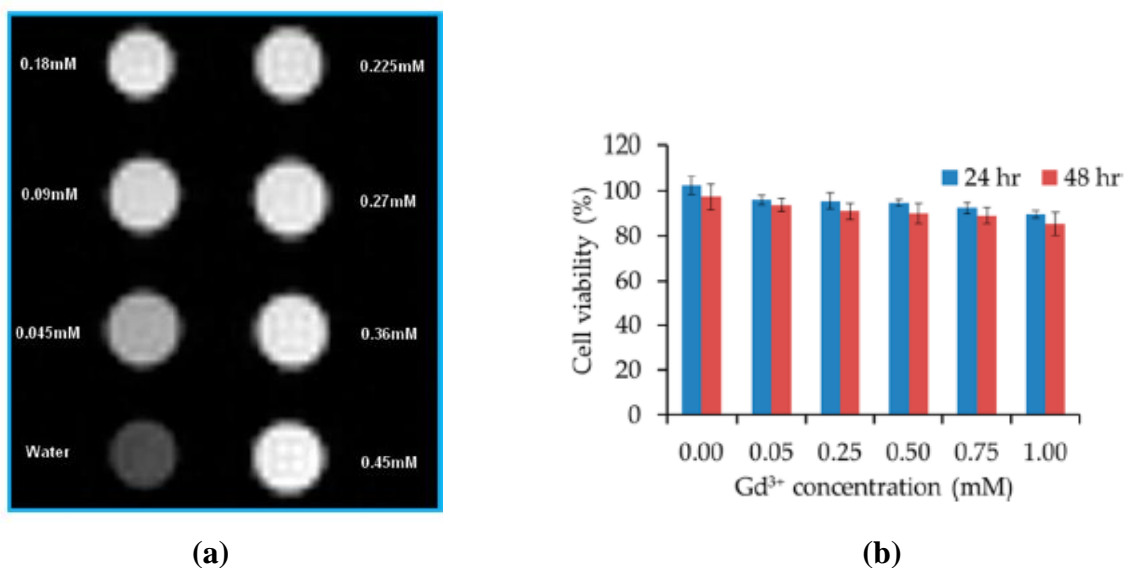


Figure I-45. (a) Images pondérées en T₁ et (b) viabilité cellulaire en fonction de la concentration en Gd³⁺ ⁷⁷

Ces valeurs très élevées de relaxivité sont surprenantes pour des tailles de 25 nm, comparativement aux résultats obtenus par Larionova et al (20 mM⁻¹.s⁻¹ à 60 MHz pour une taille de 3 nm), qui certes conduisent à un temps de corrélation rotationnel important mais à une proportion élevée de Gd enfouis et donc moins actifs. Une des explications pourrait être l'agrégation partielle des particules lors de la redispersion conduisant à des temps de corrélation rotationnel très élevés. Aucune mesure du diamètre hydrodynamique des particules par DDL n'est reportée dans l'article.

Le relargage de groupements CN⁻ libres ainsi que de Gd³⁺ a également été analysé par ICP dans différentes conditions.

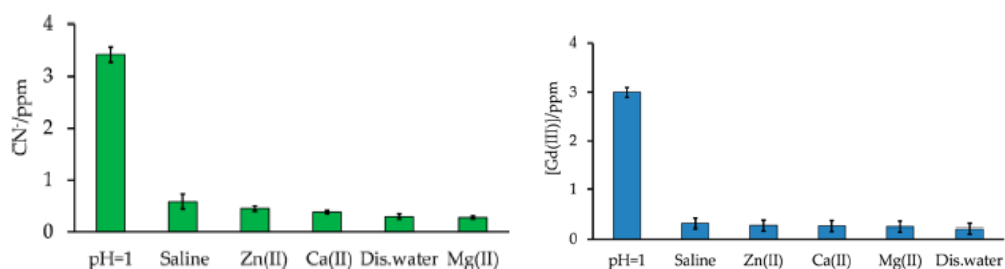
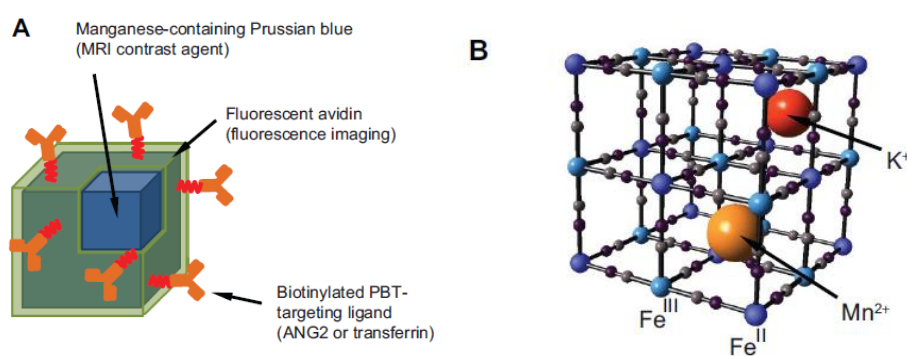


Figure I-46. Relargage de CN⁻ (gauche) et de Gd³⁺ (droite) libres dans différentes conditions ⁷⁷

Les concentrations les plus élevées de relargage autant pour les groupements CN^- que pour les ions Gd^{3+} ont lieu dans des conditions extrêmement acides (3,5 ppm et 3 ppm, respectivement pour CN^- et Gd^{3+}) et restent inférieures à 1 ppm pour les autres conditions suggérant une stabilité thermodynamique et cinétique de ces nanoparticules en conditions physiologique.

Concernant le Mn^{II} , un brevet a été publié sur des particules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}$, où les auteurs reportent une valeur de r_1 de $6,07 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ et de r_2 de $117 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$. La difficulté est de contrôler la distribution de taille et d'éviter le relargage des ions sur des réseaux d'ABP assez solubles. Egalement, une étude publiée, en mai 2014, par Dumont et al.⁸¹ porte sur la synthèse de nanoparticules d'analogues du bleu de Prusse à base de Mn^{II} comme agent de contraste T_1 pour l'IRM. Ces particules d'une taille de 33 nm sont fonctionnalisées par des fluorophores sur lesquels sont attachés des groupements permettant le ciblage de tumeurs cérébrales (Figure I-47A). Par ailleurs les auteurs supposent la présence des ions Mn^{II} dans les sites interstitiels du BdP (Figure I-47B).



Ces nanoparticules présentent une relaxivité de $15,8 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ et permettent le ciblage ainsi que la visualisation de tumeurs cérébrales par microscopie de fluorescence.

- **Les premiers pas vers le théragnostique**

Le bleu de Prusse de formule $\text{Fe}^{\text{III}}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_{0,75}$ a la particularité d'absorber fortement dans le proche infrarouge en raison d'un transfert de charge entre le Fe^{II} et le Fe^{III} à travers le pont cyanure. Il a été montré en 2012, par Fu et al., l'efficacité de nanoparticules de BdP dans le traitement de tumeurs.⁸² En effet, sous irradiation laser (808nm) les nanoparticules localisées dans les tumeurs génèrent un échauffement local permettant le traitement de celles-ci par hyperthermie. Dans cette étude, les auteurs montrent les propriétés d'hyperthermie des nanoparticules de BdP qui sont proches de celles des nanobâtonnets d'or couramment étudiés pour ce type d'application.

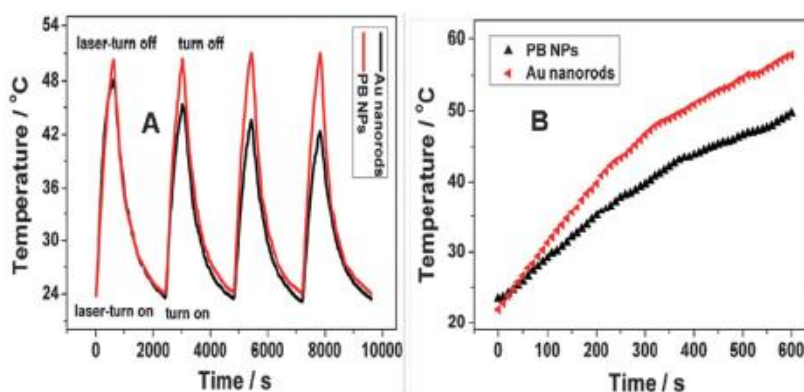


Figure I-48. Variation de température : A) des nanoparticules de bleu de Prusse et des nanobâtonnets d'or sous irradiation pendant 4 cycles B) dispersion en solution aqueuse des particules et des bâtonnets d'Au sous irradiation continue pendant 10 min⁸²

En plus de présenter des propriétés en hyperthermie très prometteuses, les nanoparticules de BdP présentent une grande stabilité photo-thermale, sont peu coûteuses et sont cliniquement approuvées par la FDA.

Suite à ce travail, deux études au cours de l'année 2014 ont montré que les propriétés d'hyperthermie des nanoparticules de BdP permettaient un traitement efficace de la tumeur chez la souris.^{83, 84}

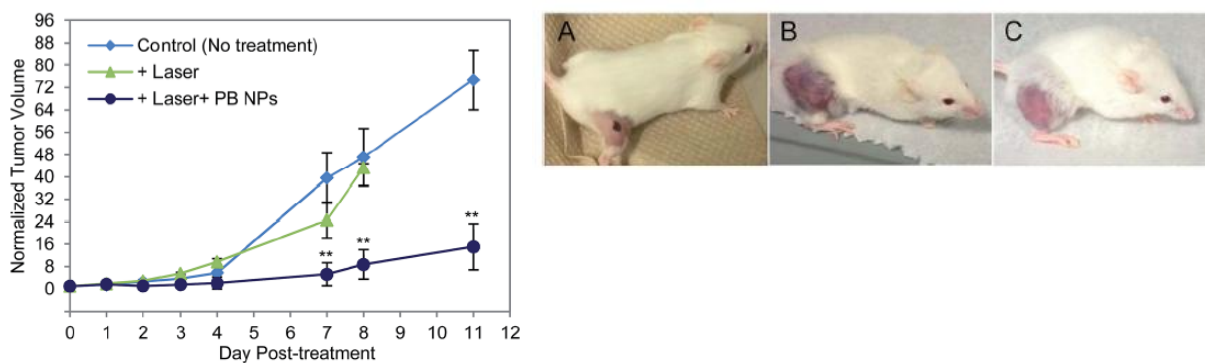


Figure I-49. Evolution du volume tumoral sans traitement (C), sous irradiation laser (B) et en présence de NPs de BdP et d'irradiation laser (A)⁸⁴

Hoffman et al. ont ainsi montré que l'absorption de BdP dans l'infrarouge, par irradiation laser, était nettement plus efficace qu'un traitement uniquement par irradiation laser et permettait de réduire le volume de tumeurs chez la souris, comme montré sur la Figure III-49.

Enfin, au cours de ces deux derniers mois, deux publications ont fait l'objet de systèmes utilisant la structure ABP pour combiner potentiel en IRM et photothermie. Une publication de Dumont et al., concernant des nanoparticules de bleu de Prusse dopées au Gd^{III} de formule $K_{0,53}Gd_{0,89}Fe^{III}_4[Fe^{II}(CN)_6]_{3,8}.1,2H_2O$ a montré leur performance en imagerie avec une excellente relaxivité de $38,5 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ à 3T.⁸⁵ Néanmoins le diamètre hydrodynamique de ces particules se situe aux alentours de 200 nm après enrobage. De par la caractérisation de leurs objets, les auteurs supposent une nouvelle fois la présence du gadolinium dans les sites interstitiels de la structure CFC du BdP. Les performances en photothermie de ces objets n'ont pas été étudiées dans cet article. En revanche, des nanoparticules cœur-coquilles avec un gradient de Gd^{III} inséré dans les lacunes du bleu de Prusse ont été synthétisées il y a un mois par l'équipe de D. Talham.⁸⁶ La structure cristallographique supposée ainsi qu'un cliché MET des objets obtenus sont présentés sur la Figure I-50.

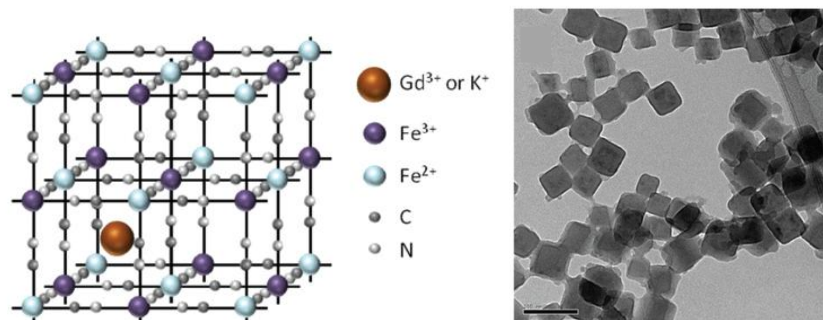


Figure I-50. Structure cristallographique des nanoparticules Gd-PB (gauche) et image TEM des particules Gd-PB (échelle = 100 nm) (droite)⁸⁶

Ces objets de 60 nm sont produits sans enrobage, et présentent une activité intéressante en IRM avec des valeurs de relaxivité longitudinale de l'ordre de $12 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, combinée à un traitement des cellules tumorales par hyperthermie.

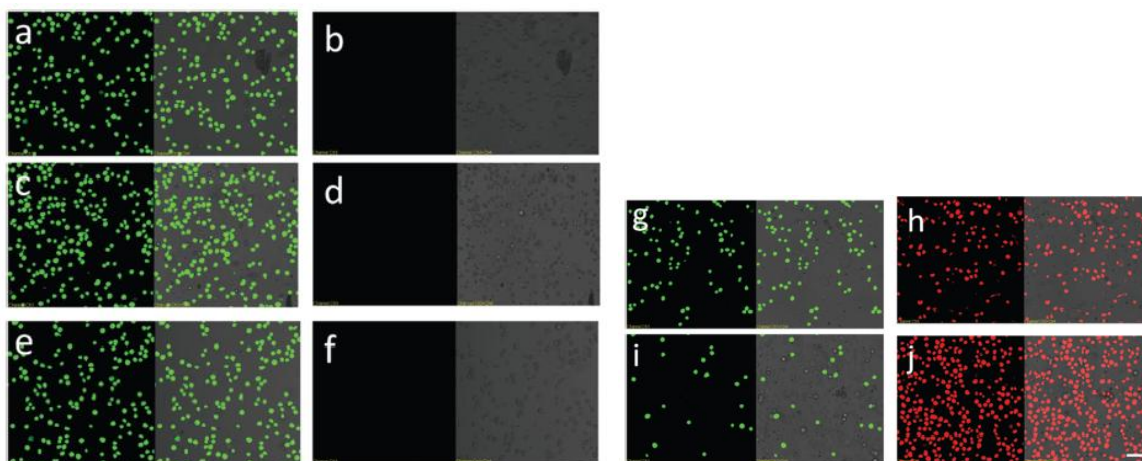


Figure I-51. Images de microscopie confocale des cellules CEM tumorales vivantes (vert) et mortes (rouge).

(a-b) sans traitement ; (c-d) avec irradiation laser ; (e-f) avec Gd-PB NPs ; (g-h) avec Gd-PB NPs à $0,046 \text{ mM}$ + irradiation laser et (i-j) avec Gd-PB NPs à $0,46 \text{ mM}$ + irradiation laser⁸⁶

Par ailleurs, cette activité de photothermie du bleu de Prusse s'est confirmée sur des systèmes de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ publiés tout récemment, avec des taux variables de Mn de 5 à 25 %.⁸⁷ Il s'agit de nanocubes de BdP dopés en Mn^{II} avec des tailles extraites par TEM comprises entre 60 et 160 nm pour 5 et 25% de Mn^{II} respectivement, comme montré sur la Figure I-52.

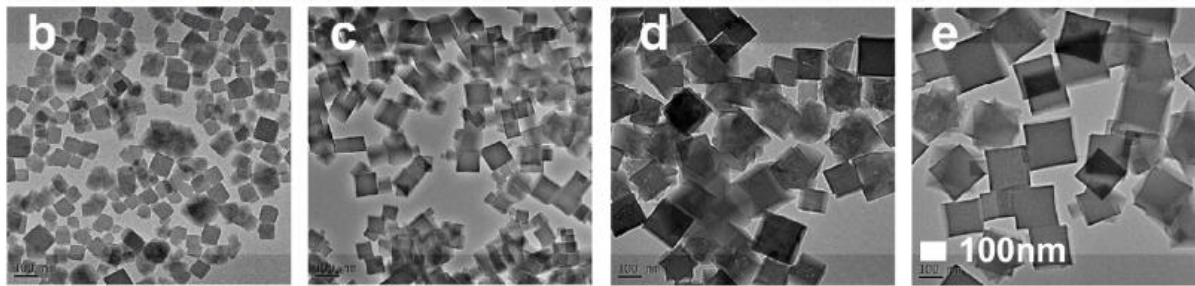


Figure I-52. Images TEM (échelle 100 nm) des nanocubes de BdP dopés au Mn^{II} (0, 5, 15 et 25 % respectivement) ⁸⁷

Des tests *in vivo* ont été effectués montrant l'accumulation de ces nanocubes au niveau des zones tumorales, améliorant ainsi l'effet photothermique combiné à une relaxivité optimale égale à $7,64 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ obtenue pour les objets dopés à 25% en Mn^{II} , comme montré sur la figure ci-dessous. Ces valeurs élevées de relaxivité sont liées très probablement au temps de corrélation rotationnel long d'objets de 160 nm de diamètre.

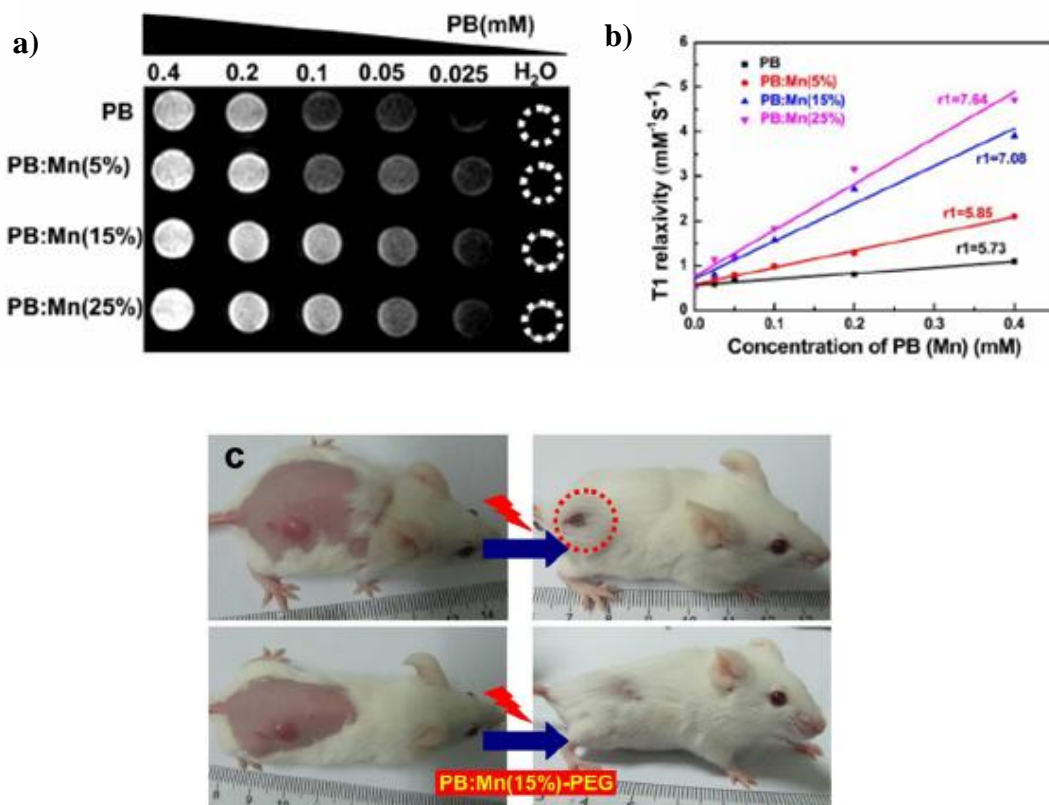


Figure I-53. (a) Images de contraste pondérées en T_1 à différentes concentrations en nanoparticules pour PB :Mn (0 ; 5 ; 15 et 25% respectivement) ; (b) Valeurs de r_1 en fonction de la concentration en nanoparticules pour les différents teneurs en Mn^{II} ; (c) Tumeur de souris traitée par irradiation laser (haut) et par irradiation laser + NPs PB :Mn (15%)-PEG avant traitement (gauche) et 18 jours après le traitement (droite) ⁸⁷

Deux études récentes, publiées en mars 2015, rapportent l'utilisation de nanoparticules de BdP pour leur application en photothermie combinée au relargage de doxorubicine.^{88, 89} Le travail publié par Wu et al. consiste en l'élaboration de nanoparticules de BdP creuses, constituées d'une coquille de 15 nm d'épaisseur (abrégié PBNCs) présentant des défauts permettant la diffusion de molécules de doxorubicine à travers la coquille suivie de leur précipitation dans le cœur vide de la particule (abrégié PBNCs-DOX).

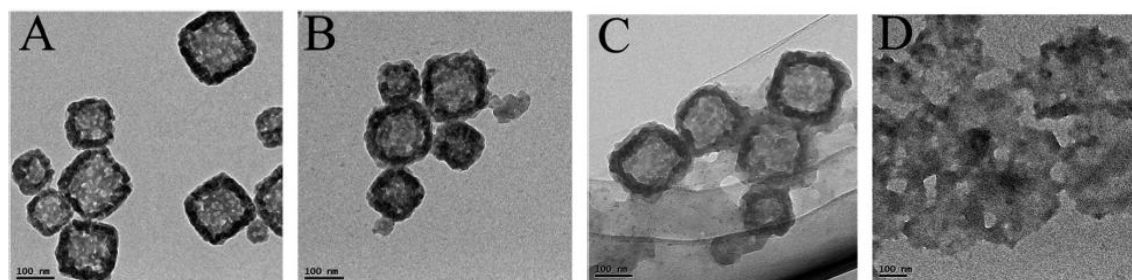


Figure I-54. Images TEM de (A) PBNCs ; (B) PBNCs-DOX avec [DOX] = 0,25 mg.mL⁻¹ ; (C) PBNCs-DOX avec [DOX] = 0,50 mg.mL⁻¹ et (D) DOX libre (échelle= 100 nm)⁸⁹

La situation optimale est obtenue pour une concentration de 0,25 mg.mL⁻¹ en doxorubicine puisqu'aucun changement de taille des PBNCs n'est observé. D'autre part, les auteurs ont évalué une immobilisation de 33% en masse de la doxorubicine au cœur de la particule correspondant à 84% de doxorubicine immobilisée par rapport à la quantité insérée initialement en solution. Le relargage de doxorubicine est modulé par le pH et sous irradiation laser (808nm) comme montré ci-dessous.

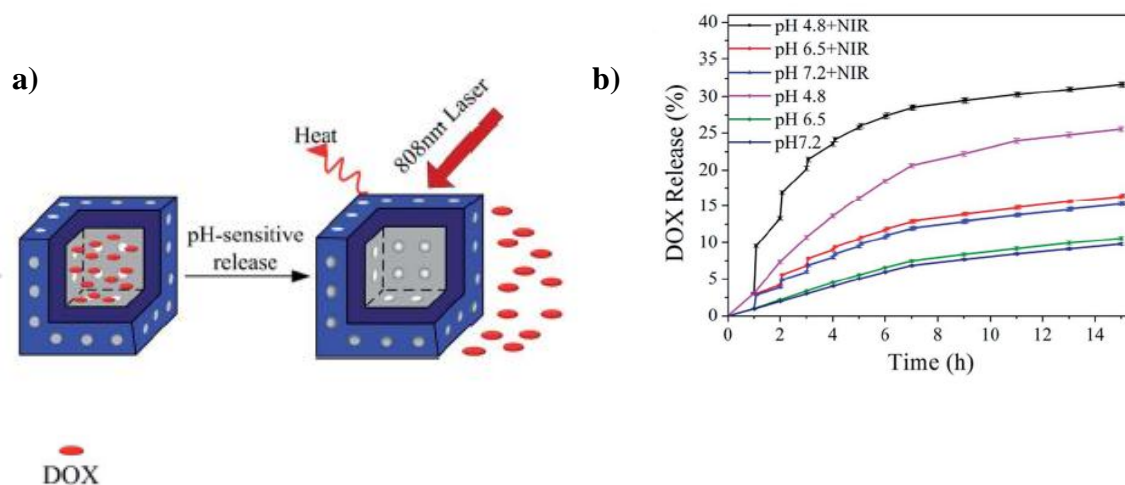


Figure I-55. (a) Schéma représentant le relargage de DOX sous irradiation laser et en fonction du pH et (b) Relargage de DOX pH-dépendant en fonction du temps avec et sans irradiation laser⁸⁹

Cette étude montre donc un meilleur relargage à pH acide et sous irradiation. Enfin le potentiel en photothermie de ces objets chargés en doxorubicine a été évalué et leur efficacité sous irradiation laser a été prouvée sur des carcinomes hépatocellulaires (HepG2).

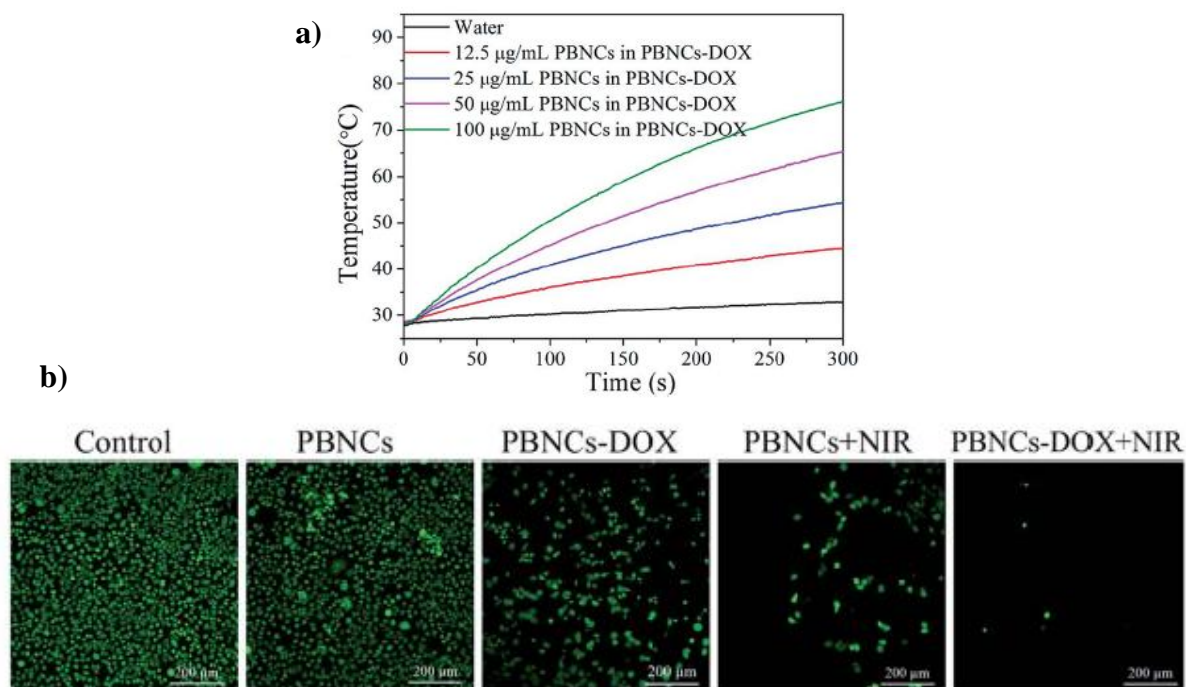


Figure I-56. (a) Effet photothermique des nanoparticules PBNCs-DOX avec $[DOX] = 12,5 ; 25 ; 50$ et $100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ en fonction du temps et (b) Photothermal ablation des cellules HepG2 sous différentes conditions avec de gauche à droite : (1) sans traitement (2) PBNCs (3) PBNCs-DOX (4) PBNCs + NIR (5) PBNCs-DOX + NIR (les cellules vivantes apparaissent en vert dû au marquage par un fluorophore)⁸⁹

L'intérêt croissant de la communauté scientifique ces cinq dernières années montre l'importance de la thérapie des tumeurs par photothermie combinée au diagnostic par l'imagerie médicale (IRM / Fluorescence / TEP/ TEMP). Cette partie bibliographique nous prouve que les nanoparticules d'analogues du bleu de Prusse semblent être des candidats très prometteurs pour le développement d'agents théragnostiques.

VII. OBJECTIFS DE LA THESE

Ce travail de thèse porte sur la synthèse de nanoparticules de réseaux de coordination pour des applications envisagées dans le domaine de la nanomédecine. Pour cela, nos efforts se sont portés sur des réseaux à ponts cyanures, comme les analogues du bleu de Prusse (ABP) ou hexacyanométallates de gadolinium, présentant une grande flexibilité chimique ainsi que de nombreux avantages pour la synthèse de nanoparticules destinées au diagnostic et/ou à la thérapie à plus long terme.

Le chapitre II sera consacré à la synthèse de nanoparticules d'ABP de formule $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6$ en tant qu'agents de contraste T_1 pour l'IRM. Une série de nanoparticules sera synthétisée à différents taux de Mn^{II} , variant de 5 à 90%, afin d'évaluer l'influence de cet ion sur les propriétés structurales et chimiques de ces nano-objets. La localisation des ions Mn^{II} au sein de ces nanoparticules sera discutée sur la base des résultats de relaxivité obtenus. Par ailleurs, l'influence de l'enrobage sur la relaxivité de ces objets sera présentée de même que l'internalisation *in vitro* et *in vivo* des particules présentant les meilleures performances en IRM.

Le chapitre III est dédié à la synthèse d'objets multimodaux détectables par deux techniques d'imagerie complémentaires, l'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) et la Tomographie à Emission de Positrons (TEP). Pour conférer ce caractère bimodal, des ions Cu^{II} seront insérés au sein des nanoparticules $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6$ présentant la relaxivité optimale, avec l'objectif à terme de transposer la synthèse en présence d'un faible pourcentage de radioisotopes $^{64}\text{Cu}^{\text{II}}$. Deux méthodes de synthèse seront employées et confrontées :

- 1- Une synthèse en une étape menant à des nanoparticules de formule $\text{Mn}^{\text{II}}_x(\text{In}^{\text{III}}_y\text{Cu}^{\text{II}}_z)_{1-x}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]$ qui pourrait conduire à une répartition statistique des ions (structure de type « alliage » ou solution solide) ;
- 2- Une synthèse par voie séquentielle développée au laboratoire permettant la synthèse de nanoparticules de type cœur-coquille constituées d'un cœur $\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Cu}^{\text{II}}_x\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6$

sur lequel sera effectué la croissance épitaxiale d'une coquille de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6$. Trois systèmes caractérisés par une coquille de 0,5 nm d'épaisseur à différents taux de Mn^{II} (5 ; 25 et 100% respectivement) seront synthétisés et leurs performances en IRM seront comparées.

Cette étude permettra de déterminer la structure optimale (alliage versus cœur-coquille) présentant les meilleures performances en IRM combinées à un autre mode d'imagerie médicale.

Une seconde partie de ce chapitre portera sur l'élaboration de nanoparticules de formule $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6$, pouvant allier diagnostic (IRM) et thérapie (photothermie). Des nanoparticules de type « alliage » et « cœur-coquille » seront également synthétisées. L'influence de la localisation des ions Mn^{II} en surface de la particule sur la relaxivité des objets sera discutée. Concernant les nanoparticules cœur-coquilles, l'influence de la taille des objets sur la relaxivité des systèmes sera également explorée.

Enfin le chapitre IV portera sur la synthèse de nanoparticules de formule $\text{Gd}^{\text{III}}\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6$ et $\text{Gd}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6$ comme qu'agents de contraste T_1 pour l'IRM . Cette étude permettra d'étudier notamment l'influence d'un cœur paramagnétique de BDP, à proximité du Gd^{III} , sur la relaxivité de ces objets.

1. K. S. Zaner and R. Damadian, *Science (New York, N.Y.)*, 1975, **189**, 729-731.
2. P. C. Lanterbur, *Nature*, 1973, 190-191.
3. W. S. Hinshaw, E. R. Andrew, P. A. Bottomley, G. N. Holland, W. S. Moore and B. S. Worthington, *The British journal of radiology*, 1979, **52**, 36-43.
4. E. Toth, L. Helm and A. E. Merbach, *Contrast Agents I*, 2002, **221**, 61-101.
5. L.Helm, 2006, **49**, 45.
6. P. Caravan, J. J. Ellison, T. J. McMurry and R. B. Lauffer, *Chemical Reviews*, 1999, **99**, 2293-2352.
7. R. B. Lauffer, *Chemical Reviews*, 1987, **87**, 901-927.
8. N. b. I. Solomon, *The journal of Chemical Physics*, 1956, **25**, 261-266.
9. L. O. M. N. Bloembergen, *The Journal of Chemical Chemistry*, 1961, **34**, 842-850.
10. L. V. E. a. R. N. M. S. Laurent, *Encyclopédie EMRS*, 2011.
11. O. M. N. D. D. H. Powell, D.Pubanz, Y. Lebedev, W. Schlaepfer and A. E. Merbach, *Journal of American Chemical Society*, 1996, **118**, 9333.
12. A. E. M. a. E. Toth, *The Chemistry of Contrast Agents in Medical Magnetic Resonance Imaging*, 2001.
13. F. M. L. Vander Elst, S. Laurent, F. Seghi, F. Chapelle and R. N. Muller *Magnetic Resonance in Medicine*, 1997, **38**, 604-614.
14. B. R. R. N. Muller, S. Laurent, J. Platzek, C. Pierart, P. Mareski and L. Vander Elst, *European Journal of Inorganic Chemistry*, 1999, 1949-1955.
15. C. S. B. a. E. Toth, 2012.
16. M. B. H. Schmitt-Willich, Ch. L. J. Ewers, G. Michl, A. Muller-Farnow, O. Petrov, J. Platzek, B. Raduchel and D. Sulzle, *Inorganic Chemistry*, 1999, **38**, 1134-1144.
17. S. A. F. Uggeri, P. Anelli, M. Botta, M. Brochetta, C. de Haen, G. Ermondi, M. Grandi and P. Paoli, *Inorganic Chemistry*, 1995, **34**, 633-642.
18. M. P. L. Vander Elst, I. Raynal, C. Simonot and R. N. Muller, *European Journal of Inorganic Chemistry*, 2003, 2495-2501.
19. I. R. L. Vander Elst, M. Port, P. Tisnes and R. N. Muller, *Inorganic Chemistry*, 2005, 1142-1148.
20. R. B. Clarkson, *Contrast Agents I*, 2002, **221**, 201.

21. W. P. C. S. M. Rocklage, S. C. Quay, F. E. Hahn and K. N. Raymond, *Inorganic Chemistry*, 1989, **28**, 477-485.
22. R. G. Pautler, *NMR Biomed*, 2004, **17**, 595-601.
23. D. F. S. Laurent, M. Port, A. Roch, C. Robic, L Vander Elst and R. N. Muller, *Chemical Reviews*, 2008, **108**, 2064.
24. A. K. G. a. M. Gupta, *Biomaterials*, 2005, **26**, 1563.
25. C. C. Marc Port *, Olivier Rousseaux, Isabelle Raynal, Ludovic Devoldere, and A. D. Jean-Marc Idae, Soizic Le Greneur, C. Simonot and Dominique Meyer, *Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine*, 2001, **12**, 121-127.
26. A. D. E J. Werner, C. J. Jocher and K. N. Raymond, *Angewandte Chemie International Edition*, 2008, **47**, 8568.
27. G. P. W. Li, M. Fragai, C. Luchinat and T. J. Meade, *Inorganic Chemistry*, 2002, **41**, 4018-4024.
28. C. G. J. Paris, V. Humblet, P. K. Mohapatra, V. Jacques and J. F. Desreux, *Inorganic Chemistry*, 2006, **45**, 5092-5102.
29. E. L. Q. a. C. J. Chang, *Journal of the American Chemical Society*, 2006, **128**, 15942-15943.
30. Z. R. P. Lu, D. L.; Goodrich, K. C.; Wang, X.; Dalle, J. G.; Buswell, H. R., *Magnetic Resonance in Medicine*, 2003, **51**, 27-34.
31. M. W. Aaron, X.; Goodrich, K. C.; Zong, Y.; Parker, D. L.; Lu, Z. R., *Bioconjugate chemistry*, 2004, **15**, 1424-1430.
32. U. O. Schmiedl, M. D.; Moseley, M. E.; Brasch, R. C., *American journal of roentgenology*, 1986, **147**, 1263-1270.
33. H. Y. J. Lee, H. W.; Seo, S. M.; Kwak, B. K.; Khang, G.; Cho, S. H., *Bioconjugate chemistry*, 2006, **17**, 700-706.
34. G. F. Sun, J.; Jinga, F.; Peia, F.; Liu, M. , *Journal of magnetism and magnetic materials*, 2003, **265**, 123-129.
35. X. J. Wen, E. F.; Price, R. E.; Kim, E. E.; Wu, Q.; Wallace, S.; Charnsangavej, C.; Gelovani, J. G.; Li, C., *Bioconjugate chemistry*, 2004, **15**, 1408-1415.
36. R. Clarkson, *Contrast Agents I*, 2002, 201-235.
37. Z. G. Zhang, M. T.; Spiller, M.; McMurry, T. J.; Lauffer, R. B.; Caravan, P. , *Angewandte Chemie International Edition*, 2005, **44**, 6766-6769.

38. M. Z. Zhen, J.; Ye, L.; Li, S.; Jin, C.; Li, K.; Qiu, D.; Han, H.; Shu, C.; Yang, Y., *Applied Materials & Interfaces*, 2012, **4**, 3724-3729.
39. R. Haag, *Chemistry-A European Journal*, 2001, **7**, 327-335.
40. B. S.-W. Misselwitz, H.; Ebert, W.; Frenzel, T.; Weinmann, H. J. , *Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine*, 2001, **12**, 128-134.
41. M. Q. Ye, Y.; Shen, Y.; Hu, H.; Sui, M.; Tang, J., *Journal of materials chemistry*, 2012, **22**, 14369-14377.
42. M. T. L. Botta, *European Journal of Inorganic Chemistry*, 2012, 1945-1960.
43. L. V. E. K. Adzamlı, S. Laurent and R. N. Muller, *Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine*, 2001, **12**, 92-95.
44. M. C. S. Aime, G. Digilio and E. Terreno, *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 1999, **4**, 766-774.
45. V. H. C. Henoumont, L. Vander Elst, S. Laurent and R. N. Muller, *Journal of Physical Chemistry B*, 2010, **114**, 3689-3697.
46. T. N. P.-V. K. Kimpe, S. Laurent, C. Pierart, L. vander Elst, R. N. Muller and K. Binnemans, *European Journal of Inorganic Chemistry*, 2003, 3021-3027.
47. L. L. P. L. Anelli, V. Lorusso, M. Schneider, H. Tournier and F. Uggeri, *Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine*, 2001, **12**, 114-120.
48. H. S. Yang, G. A. Walter and P. H. Holloway, *Advanced Materials*, 2006, **18**, 2890.
49. J. T. C. Alric, G. Le Duc, C. Mandon, C. Billotey, A. Le Meur-Herland, T. Brochard, F. Vocanson, M. Janier, P. Perriat, S. Roux and O. Tillement, *Journal of the American Chemical Society*, 2008, **130**, 5908.
50. L. Moriggi, C. Cannizzo, E. Dumas, C. R. Mayer, A. Ulianov and L. Helm, *Journal of the American Chemical Society*, 2009, **131**, 10828.
51. S. Y. H. Hifumi, A. Tanimoto, D. Citterio and K. Suzuki, *Journal of the American Chemical Society*, 2006, **128**, 15090.
52. P. R. D. F. Evanics, F. C. J. M. van Veggel, G. J. Stanisiz and R. S. Prosser, *Chemistry of Materials*, 2006, **18**, 2499.
53. J.-L. Bridot, A.-C. Faure, S. Laurent, C. Riviere, C. Billotey, B. Hiba, M. Janier, V. Josserand, J.-L. Coll, L. Vander Elst, R. Muller, S. Roux, P. Perriat and O. Tillement, *Journal of the American Chemical Society*, 2007, **129**, 5076-5084.
54. W. J. Rieter, K. M. L. Taylor, H. An, W. Lin and W. Lin, *Journal of the American Chemical Society*, 2006, **128**, 9024-9025.

55. J. L. Vivero-Escoto, R. C. Huxford-Phillips and W. Lin, *Chemical Society Reviews*, 2012, **41**, 2673-2685.
56. A. Carne-Sanchez, C. S. Bonnet, I. Imaz, J. Lorenzo, E. Toth and D. Maspocho, *Journal of the American Chemical Society*, 2013, **135**, 17711-17714.
57. Y. C. Liu, J. Zhang, Q. Luo, S. L. Ma, M. Q. Xu and W. X. Zhu, *Chinese Journal of Chemistry*, 2005, **23**, 1012-1016.
58. G. Elizondo, C. J. Fretz, D. D. Stark, S. M. Rocklage, S. C. Quay, D. Worah, Y. M. Tsang, M. C. M. Chen and J. T. Ferrucci, *Radiology*, 1991, **178**, 73-78.
59. Y. C. Liu, S. L. Ma, Q. L. Guo, J. Zhang, M. Q. Xu and W. X. Zhu, *Inorganic Chemistry Communications*, 2005, **8**, 574-577.
60. D. W. Zhang, Z. Y. Yang, S. P. Zhang and R. D. Yang, *Transition Metal Chemistry*, 2006, **31**, 333-336.
61. E. Unger, T. Fritz, D. K. Shen and G. L. Wu, *Investigative Radiology*, 1993, **28**, 933-938.
62. X. Zhao, R. X. Zhuo, Z. G. Lu and W. Y. Liu, *Polyhedron*, 1997, **16**, 2755-2759.
63. Y. Huang, X. Zhang, Q. Zhang, X. Dai and J. Wu, *Magnetic Resonance Imaging*, 2011, **29**, 554-560.
64. S. Aime, M. Botta, E. Gianolio and E. Terreno, *Angewandte Chemie-International Edition*, 2000, **39**, 747.
65. H. B. Na, J. H. Lee, K. An, Y. I. Park, M. Park, I. S. Lee, D.-H. Nam, S. T. Kim, S.-H. Kim, S.-W. Kim, K.-H. Lim, K.-S. Kim, S.-O. Kim and T. Hyeon, *Angewandte Chemie-International Edition*, 2007, **46**, 5397-5401.
66. C.-C. Huang, N.-H. Khu and C.-S. Yeh, *Biomaterials*, 2010, **31**, 4073-4078.
67. J. Y. P. M. J. Baek, W. Xu, K. Kattel, H. G. Kim, E. J. Lee, A. K. Patel, J. J. lee, Y. Chang, T. J. Kim, J. E. Bae, K. S. Chae and G. H. Lee, *Acs Applied Materials & Interfaces*, 2010, **2**, 2949-2955.
68. P. Chevallier, A. Walter, A. Garofalo, I. Veksler, J. Lagueux, S. Begin-Colin, D. Felder-Flesch and M. A. Fortin, *Journal of Materials Chemistry B*, 2014, **2**, 1779-1790.
69. J. Huang, J. Xie, K. Chen, L. Bu, S. Lee, Z. Cheng, X. Li and X. Chen, *Chemical Communications*, 2010, **46**, 6684-6686.
70. K. An, S. G. Kwon, M. Park, H. B. Na, S.-I. Baik, J. H. Yu, D. Kim, J. S. Son, Y. W. Kim, I. C. Song, W. K. Moon, H. M. Park and T. Hyeon, *Nano Letters*, 2008, **8**, 4252-4258.

71. T. Kim, E. Momin, J. Choi, K. Yuan, H. Zaidi, J. Kim, M. Park, N. Lee, M. T. McMahon, A. Quinones-Hinojosa, J. W. M. Bulte, T. Hyeon and A. A. Gilad, *Journal of the American Chemical Society*, 2011, **133**, 2955-2961.
72. D. Pan, S. D. Caruthers, G. Hu, A. Senpan, M. J. Scott, P. J. Gaffney, S. A. Wickline and G. M. Lanza, *Journal of the American Chemical Society*, 2008, **130**, 9186.
73. X. M. C. Tu, P. Pantazis, S. M. Kauzlarich and A. Louie, *J. Am. Chem. Soc.*, 2010, **132**, 2016-2023.
74. S. Wang, B. R. Jarrett, S. M. Kauzlarich and A. Y. Louie, *Journal of the American Chemical Society*, 2007, **129**, 3848-3856.
75. K. M. L. Taylor, W. J. Rieter and W. Lin, *Journal of the American Chemical Society*, 2008, **130**, 14358.
76. H. J. S. Buser, D.; Petter, W.; Ludi, A., *Inorganic Chemistry*, 1977, **16**, 2704-2710.
77. V. S. Perera, L. D. Yang, J. Hao, G. Chen, B. O. Erokwu, C. A. Flask, P. Y. Zavalij, J. P. Basilion and S. D. Huang, *Langmuir*, 2014, **30**, 12018-12026.
78. Y. Guari, J. Larionova, M. Corti, A. Lascialfari, M. Marinone, G. Poletti, K. Molvinger and C. Guerin, *Dalton Transactions*, 2008, 3658-3660.
79. E. Chelebaeva, J. Larionova, Y. Guari, R. A. S. Ferreira, L. D. Carlos, A. A. Trifonov, T. Kalaivani, A. Lascialfari, C. Guerin, K. Molvinger, L. Datas, M. Maynadier, M. Gary-Bobo and M. Garcia, *Nanoscale*, 2011, **3**, 1200-1210.
80. M. Perrier, S. Kenouche, J. Long, K. Thangavel, J. Larionova, C. Goze-Bac, A. Lascialfari, M. Mariani, N. Baril, C. Guerin, B. Donnadiou, A. Trifonov and Y. Guari, *Inorganic Chemistry*, 2013, **52**, 13402-13414.
81. M. F. Dumont, S. Yadavilli, R. W. Sze, J. Nazarian and R. Fernandes, *International Journal of Nanomedicine*, 2014, **9**, 2581-2595.
82. G. Fu, W. Liu, S. Feng and X. Yue, *Chemical Communications*, 2012, **48**, 11567-11569.
83. G. Fu, W. Liu, Y. Li, Y. Jin, L. Jiang, X. Liang, S. Feng and Z. Dai, *Bioconjugate Chemistry*, 2014, **25**, 1655-1663.
84. H. A. Hoffman, L. Chakrabarti, M. F. Dumont, A. D. Sandler and R. Fernandes, *RSC Advances*, 2014, **4**, 29729-29734.
85. M. F. Dumont, H. A. Hoffman, P. R. S. Yoon, L. S. Conklin, S. R. Saha, J. Paglione, R. W. Sze and R. Fernandes, *Bioconjugate Chemistry*, 2013, **25**, 129-137.
86. Y. Li, C. H. Li and D. R. Talham, *Nanoscale*, 2015, **7**, 5209-5216.

87. W. Zhu, K. Liu, X. Sun, X. Wang, Y. Li, L. Cheng and Z. Liu, *Acs Applied Materials & Interfaces*, 2015, **7**, 11575-11582.
88. P. Xue, J. Bao, Y. Wu, Y. Zhang and Y. Kang, *Rsc Advances*, 2015, **5**, 28401-28409.
89. M. Wu, Q. Wang, X. Liu and J. Liu, *Rsc Advances*, 2015, **5**, 30970-30980.

Chapitre II : Nanoparticules de réseaux de coordination contenant des ions Mn^{II} comme agents de contraste T_1 pour l'imagerie à résonance magnétique

Ce chapitre est dédié à la synthèse de nanoparticules comme agents de contraste T_1 pour l'imagerie à résonance magnétique. Pour cela, ce travail est centré autour de l'utilisation de nanoparticules de réseaux de coordination incorporant au sein de la structure des ions paramagnétiques. En effet, le but est de synthétiser et d'étudier des nanoparticules paramagnétiques, qui par leur taille posséderont un temps de corrélation rotationnel plus long et donc une relaxivité à priori exaltée en comparaison aux chélates de Gd^{III} commerciaux, ou encore au seul agent de contraste T_1 clinique à base de Mn^{II} , le Mn^{II} DPDP (Teslascan®). Les réseaux sur lesquels se sont portés nos efforts sont les analogues du bleu de Prusse, incorporant au sein de leur structure des ions Mn^{II} paramagnétiques ($S = 5/2$). Dans ce chapitre, l'influence du taux de Mn^{II} sur la taille, les caractéristiques chimiques et magnétiques des particules ainsi que sur leurs propriétés de relaxivité sera présentée et discutée. Le rôle de l'enrobage et la localisation des ions Mn^{II} sur les propriétés de relaxivité des nanoparticules seront également étudiés. Enfin une partie de ce chapitre portera sur l'étude de la toxicité de ces objets ainsi que sur l'internalisation de ces particules selon des études *in vitro* et *in vivo*.

I. INTRODUCTION

Cette étude a porté sur la synthèse de nanoparticules de réseaux de coordination à ponts cyanures à base de Mn^{II} . Le Mn^{II} est en configuration électronique $(t_{2g})^3 (e_g)^2$ d'où une valeur de spin égale à $5/2$. Le Mn^{II} est donc paramagnétique d'où le caractère agent de contraste T_1 de ces nanoparticules. Il présente certains avantages notables en comparaison au Gd^{III} . Le

temps de relaxation électronique du Mn^{II} est plus long que celui du Gd^{III} et l'échange des molécules d'eau s'effectue plus rapidement que pour l'ion hydraté, alors que le phénomène inverse est constaté dans les complexes de Gd^{III} . Ainsi récemment, plusieurs équipes de recherche se sont tournées vers l'utilisation de cet ion pour la synthèse d'agent de contraste T_1 pour l'IRM (cf. Chapitre I). A ce jour, il existe quelques exemples rapportés dans la littérature de complexes ou de nanoparticules à base de Mn^{II} comme agents de contraste pour l'IRM. Des travaux effectués sur la synthèse de nanoparticules d'oxydes de Mn^{II} ont montré la participation exclusive des ions de surface à la relaxivité avec une valeur optimale de $7mM^{-1}.s^{-1}$ pour des nanoparticules de MnO de 2-3 nm de diamètre.¹ L'augmentation de la surface spécifique lors de la synthèse de nanoparticules de MnO creuses a permis d'augmenter la relaxivité d'un facteur trois pour des nanoparticules d'une taille de 20 nm, bien que celle-ci reste faible (aux alentours de $1 mM^{-1}.s^{-1}$).² Dans notre cas, l'utilisation du réseau d'analogues du bleu de Prusse est prometteuse pour la synthèse d'agents de contraste T_1 , notamment grâce à la microporosité de ce réseau ainsi qu'à la proportion de sites de surface largement supérieure à celle d'une particule d'oxyde ou métallique. En effet, pour une particule de 3 nm, la surface compte 30% d'atomes pour une particule de Fer contre 60% pour un réseau de type d'analogue du bleu de Prusse. Ceci permet donc, dans l'hypothèse d'une activité exclusive des ions de surface, de limiter l'injection de métaux non localisés en surface et ne participant pas à la relaxivité.

Les nanoparticules synthétisées au cours de ce travail ont pour formule :

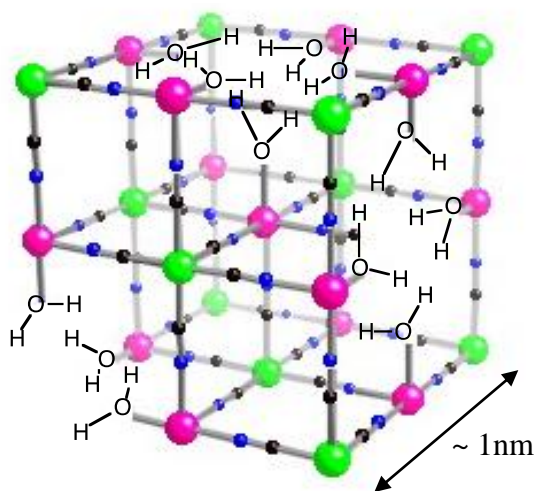


Figure II-1. Structure cristallographique de l'analogue du bleu de Prusse $M^{III/II}[M^{III/II}(CN)_6]_y, nH_2O$. (Les ions alcalins ne sont pas représentés sur la structure)

Le Fe^{II} est en configuration bas spin d'où la configuration électronique $(t_{2g})^6 (e_g)^0$ et l'Indium (III) présente une configuration électronique à couche fermée ($4d^{10}$). Ces deux cations sont donc diamagnétiques et ne contribuent donc pas à la relaxivité des objets. Le cation In^{III} a été introduit dans la structure car le réseau $\text{Mn}^{\text{II}}_2 [\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]$ s'est avéré être instable. De plus, les ions In^{III} présentent l'avantage de pouvoir être utilisés comme traceurs pour imager des organes par scintigraphie permettant d'aller vers la synthèse d'objets multimodaux (IRM /TEMP).³ En effet, l'un des nombreux avantages de ces objets est que le réseau d'analogue du bleu de Prusse, de par sa grande flexibilité chimique, permet d'incorporer directement au sein du même réseau les ions responsables du caractère bimodal (ici, Mn^{II} et In^{III}). Par ailleurs, lors de la synthèse de ces nanoparticules de $\text{Mn}^{\text{II}}_x \text{In}^{\text{III}}_{1-x} [\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_y$ nous n'avons pas travaillé en excès d'alcalins de sorte à générer des lacunes en hexacyanoferrate (cf. Figure II-1). Ces lacunes ont pour but d'augmenter la microporosité du réseau afin de permettre aux molécules d'eau contenues dans l'organisme d'accéder aux ions Mn^{II} non localisés en surface. Ceci pourrait conduire à une participation des ions paramagnétiques situés dans les couches les plus internes de la particule, s'ajoutant à la contribution des ions paramagnétiques de surface. Un avantage supplémentaire de l'utilisation d'un réseau tridimensionnel pour la synthèse d'agents de contraste T_1 est sa stabilité permettant aux cations Mn^{II} d'avoir dans leur sphère de coordination plus d'une molécule d'eau, tout en limitant le relargage des ions en solution. De plus, cette structure tridimensionnelle entraînerait une précession solidaire de l'objet tout en s'affranchissant de quelconques rotations locales qui pourraient diminuer la relaxivité des particules. Lorsque nous avons débuté ce travail, aucune publication n'était parue à ce sujet.

II. SYNTHÈSE ET CARACTÉRISATIONS STRUCTURALES DES NANOPARTICULES

II.1. Synthèse des particules

II.1.1. Précipitation contrôlée en phase aqueuse

L'équipe « nanosystèmes magnétiques » a montré il y a quelques années qu'un ajout rapide des précurseurs sur un excès d'hexacyanométallates permettait, dans des conditions suffisamment diluées, de générer des particules contrôlées d'analogue du bleu de Prusse. La stabilité de ces particules est liée à l'incorporation d'un excès d'hexacyanométallate qui

confère une charge négative à la particule, attestée par la mesure de potentiel zéta (égal à -40 mV pour ces nanoparticules à base de Mn^{II}). Un seul cas ne permettant pas d'obtenir des particules stables de manière contrôlée est le cas des analogues du bleu de Prusse à base de Mn^{II} , pour des raisons liées à des critères de cinétique et thermodynamique (vitesse d'échange élevée, mécanisme d'échange associatif et constantes de formation du réseau faible). Une des stratégies a consisté à utiliser des pourcentages variables d' In^{III} en présence de Mn^{II} afin de voir l'impact sur la taille des particules. Ainsi une série de nanoparticules d'analogue du bleu de Prusse tri-métallique $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ à différentes fractions molaires en Mn^{II} ($x = 0.25, 0.50, 0.75$ et 0.90) ont été synthétisées dans le cadre du travail de thèse de Y. Prado.⁴ La taille et la relaxivité de ces objets étaient fortement dépendantes du taux d'ions Mn^{II} incorporés ainsi que de leur localisation au sein de la particule. De plus, des valeurs de relaxivité élevées ont été observées motivant ainsi la poursuite de cette étude dans le cadre de ce travail de thèse. Afin de compléter cette étude des particules de $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ ont été synthétisées à différentes fractions molaires en Mn^{II} ($x = 0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25, 0.40$), désignées par les symboles $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [5], [10], [15], [20], [25] et [40], dans le but d'évaluer l'influence du taux de Mn^{II} sur les propriétés de taille, structurales, chimiques et de relaxivité de ces systèmes.

Ainsi, par ajout rapide d'une solution contenant des sels de $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ et $InCl_3$ à 0,5mM dans une autre solution contenant un sel de $K_4Fe(CN)_6$ à 0,5mM, placée sous vive agitation à 2°C et choisies pour des taux de Mn^{II} compris entre 5 et 90%, des particules stables sont obtenues sans ajout de surfactant. Suite à l'ajout, le mélange résultant est laissé à 2°C pendant 30 minutes puis ensuite mis à température ambiante pendant 30 minutes. Le protocole expérimental de synthèse des particules est décrit plus en détails, en annexe 1. Cette méthode de synthèse consistant en une stabilisation spontanée d'objets nanométriques est particulièrement intéressante dans le cas de l'utilisation de ces particules en tant qu'agents de contraste T_1 pour l'IRM. En effet, cette stratégie de synthèse permet de s'affranchir de l'utilisation de ligands qui, en se coordonnant aux ions de surface, pourraient bloquer des voies d'échange des molécules d'eau entre l'ion paramagnétique et le solvant, diminuant alors la relaxivité. Ceci a notamment été observé dans le cas de nanoparticules de Gd_2O_3 ou de nanoparticules de MnO creuses enrobées par une couche de silice empêchant alors la bonne diffusion des molécules d'eau à travers cette couche de polymère enrobant les particules.^{2, 5} Ces particules synthétisées sont ensuite enrobées par un polymère permettant leur redispersion en solution aqueuse ainsi que l'étude de leurs propriétés de relaxivité. Pour cette étape, il est

donc crucial d'enrober les particules par une matrice biocompatible et hydrophile permettant la diffusion des molécules d'eau vers la sphère de coordination des ions Mn^{II} . L'avantage de cette méthode est de pouvoir varier l'enrobage a posteriori sans modifier la taille des particules et donc de pouvoir sonder l'effet de ce dernier sur leurs propriétés de relaxivité.

II.1.2. Enrobage des particules au dextran

La récupération des particules se fait par l'ajout d'un polymère biocompatible, le dextran, dont la structure chimique est présentée sur la figure II-2.

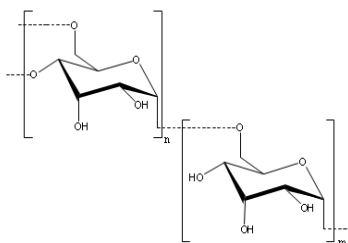


Figure II-2. Structure chimique du dextran

Ce polymère interagit avec les particules par des liaisons hydrogène qui s'établissent entre les cyanures non pontants de la surface et les groupements hydroxyle du dextran. Ainsi les sites de coordination du Mn^{II} ne sont pas bloqués par une éventuelle interaction avec le polymère. Expérimentalement, 25 équivalents de dextran sont ajoutés par rapport aux ions Mn^{II} et In^{III} . L'ajout de cette quantité de dextran permet d'assurer une bonne protection des particules vis-à-vis de l'agrégation tout en limitant la quantité de polymère libre. Les particules enrobées de dextran sont ensuite précipitées par l'ajout de 0,8 équivalents d'acétone puis centrifugées pendant 15 minutes à 8000 rpm et séchées sous vide. Les échantillons récupérés sous forme de poudre sont ensuite caractérisés par spectroscopie Infrarouge (IR), Diffraction des Rayons X sur poudre (DRX) et Analyses Élémentaires (AE, EDS et ICP). Ces méthodes sont détaillées dans les annexes 2 et 3. De plus, ces échantillons sont redispersés dans l'eau pour les études de relaxométrie. Le protocole de redispersion des particules est expliqué dans l'annexe 1.

II.2. Caractérisations structurales et de taille des particules

II.2.1. Diffusion dynamique de la lumière (DDL)

La diffusion dynamique de la lumière des solutions colloïdales (cf. annexe 4) de ces objets montre que le diamètre hydrodynamique des particules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ augmente avec la fraction molaire de Mn^{II} , x . Celui-ci évolue de 6,5 à 15,7 nm pour des particules de composition comprise entre 5 et 90%. Sur la figure II-3 sont présentées quelques distributions de taille obtenues par DDL pour les échantillons [6], [33], [53], [77] et [91]. La distribution est mieux contrôlée sur les faibles pourcentages de Mn^{II} .

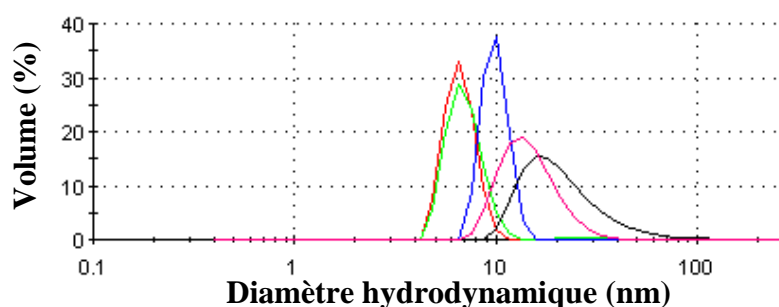


Figure II-3. Distribution de taille en volume des particules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ [6], [33], [53], [77], [91], obtenues par DDL en solution aqueuse à température ambiante

Les tailles extraites des distributions de taille en volume des particules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ pour les différentes fractions molaires en Mn^{II} sont regroupées dans le tableau ci-dessous (Tableau I-1).

	[6]	[15]	[18]	[27]	[33]	[40]	[53]	[77]	[91]
Diamètre hydrodynamique (nm)	7	7	6,5	7,5	7	7,5	9	11	16

Tableau I-1. Diamètre hydrodynamique des particules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ issues des distributions en volume obtenues par DDL en solution aqueuse, à température ambiante

Pour un taux de Mn^{II} compris entre 40 et 91% la taille des particules augmente avec le taux de Mn^{II} . En effet, la taille évolue de 7,5 à 16 nm dans cette gamme de dopage. En revanche, pour un taux de Mn^{II} compris entre 6 et 40%, le diamètre hydrodynamique des particules est quasi-constant et se situe aux alentours de 7 nm.

Par ailleurs, les redispersions de ces particules (cf. annexe 1) entourées de dextran en solution aqueuse présentent des tailles en DDL en accord avec les tailles obtenues après mélange (de 6,5 à 16 nm) selon la fraction molaire en Mn^{II} . Sur la figure II-4 sont présentées, à titre d'exemples, les redispersions des particules de $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [27] et [33].

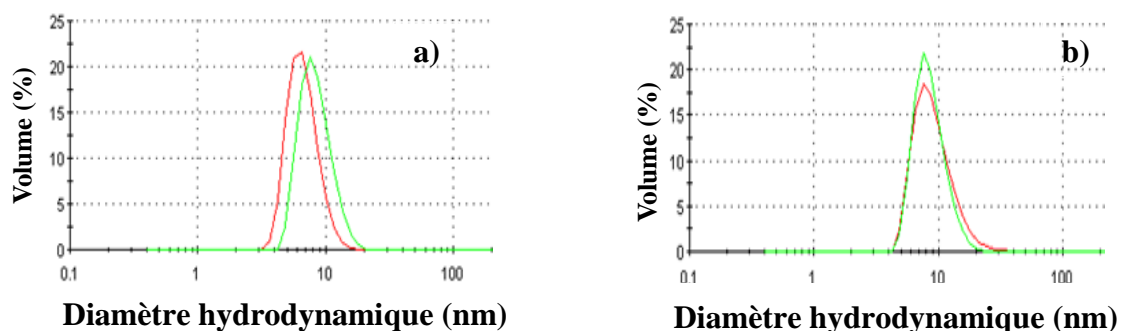


Figure II-4. Distributions de taille des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ obtenues 30 minutes après mélange à température ambiante (rouge) et après redispersion à 10 mM dans l'eau (vert). a) [27] ; b) [33]

Les distributions de taille en DDL des redispersions des particules à 10 mM sont en accord avec les tailles obtenues en solution colloïdale. De plus l'étendue des distributions est constante montrant une bonne stabilité des nanoparticules synthétisées. Ce résultat a été reproduit pour les différents lots de particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [x] entourées de dextran, ayant été synthétisés.

II.2.2. Diffraction des rayons X sur poudre (DRX)

Les diagrammes de poudre des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ entourées de dextran mettent en évidence la structure cubique à faces centrées des objets synthétisés. Sur la figure II-5 sont

présentés les diffractogrammes obtenus pour les particules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y [x]$ avec l'indexation des pics de diffraction.

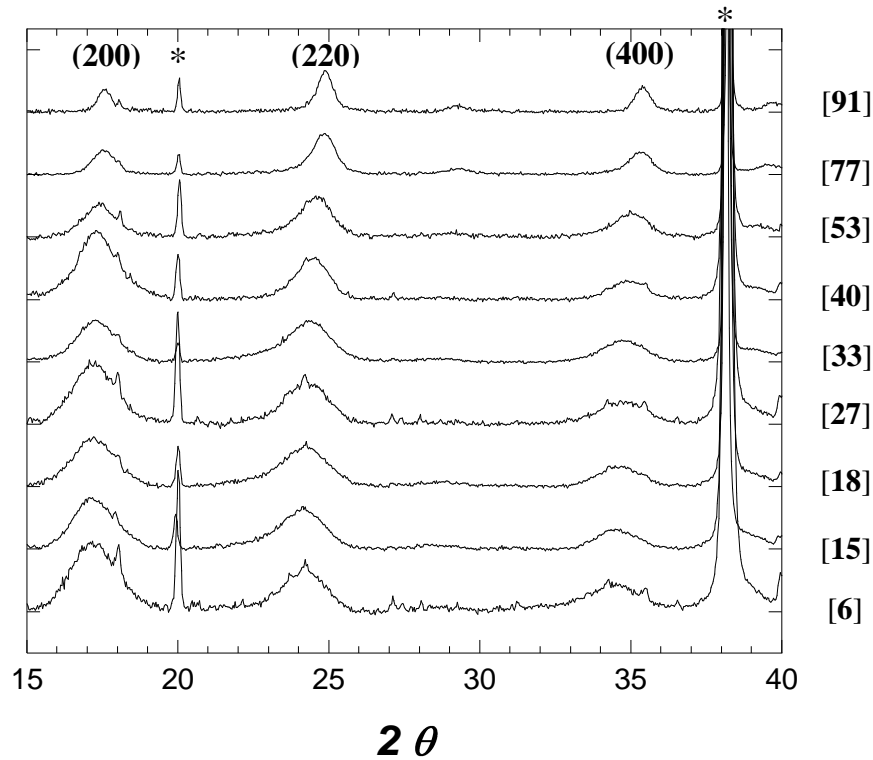


Figure II-5. Diffractogrammes des particules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y [x]$ entourées de dextran, (* pics issus du porte échantillon)

Les tailles et paramètres de maille des différentes particules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ sont calculés par application de la loi de Bragg et de la relation de Scherrer aux raies (220) et (400), ce qui est décrit en annexe 3. D'après la figure ci-dessus, plus le taux de Mn^{II} augmente plus les pics de diffraction se décalent vers les valeurs élevées de 2θ . Or, d'après la loi de Bragg, plus la valeur de 2θ est grande plus la distance interréticulaire est faible d'où une diminution du paramètre de maille avec l'augmentation du taux de Mn^{II} . D'autre part, plus la fraction molaire en Mn^{II} augmente, plus les pics de diffraction s'affinent conduisant à une diminution de la largeur à mi-hauteur, $\beta_{1/2}$. Ceci traduit une augmentation de la taille des nanoparticules avec l'augmentation du taux de Mn^{II} . Néanmoins, pour des nanoparticules de type cœur-coquille constituées de deux réseaux d'ABP de paramètre de maille proche mais différent, on assiste à un élargissement artificiel des pics de diffraction dû à la superposition des deux réseaux entraînant alors une sous-estimation de la taille des particules.

Dans le tableau II-2 sont regroupées les valeurs des longueurs de cohérence des domaines diffractants et des paramètres de maille obtenus par DRX pour les particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ synthétisées.

	[6]	[15]	[18]	[27]	[33]	[40]	[53]	[77]	[91]
a (Å)	10,43	10,41	10,37	10,36	10,32	10,29	10,22	10,16	10,13
Taille (nm)	5,4	5,1	4,9	5,3	5,2	5,5	6,4	9	13,4

Tableau II-2. Valeurs des paramètres de maille et des tailles (moyennes sur les raies (220) et (400)) des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ dans le dextran

Ces différentes valeurs, nous permettent de tracer l'évolution de la taille des domaines diffractants et du paramètre de maille des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$, obtenues par DRX, en fonction de la fraction molaire en Mn^{II} (Figure II-6).

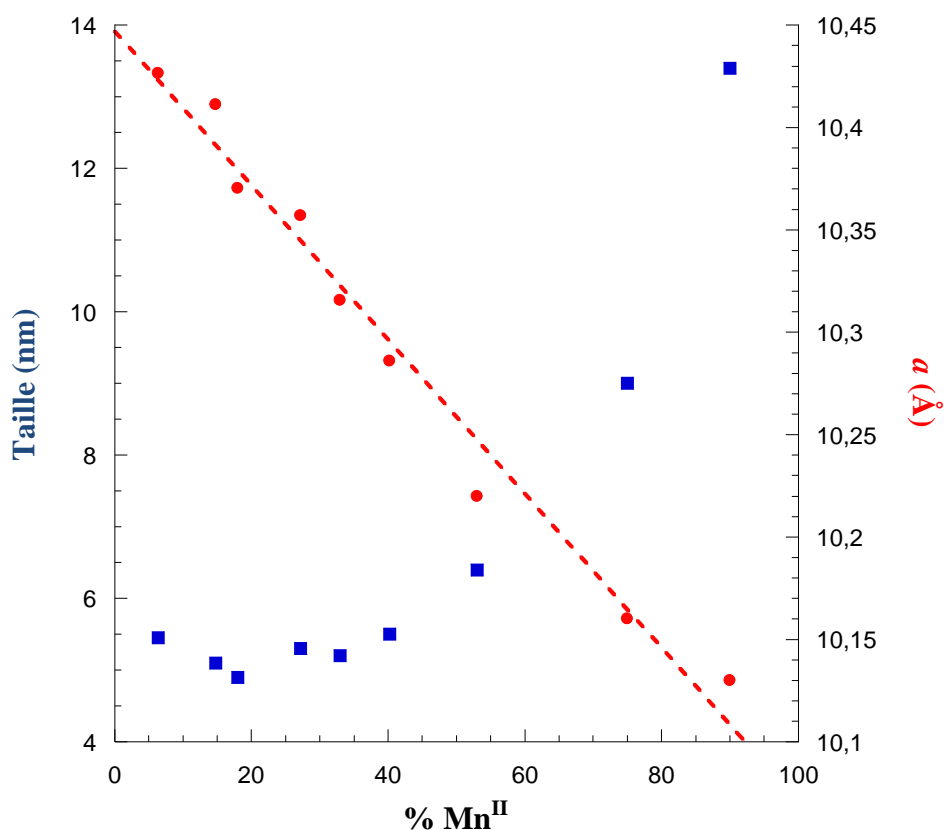


Figure II-6. Tailles et paramètres de maille des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ en fonction du taux de Mn^{II} , obtenus par DRX

Une diminution quasi-linéaire du paramètre de maille est observée avec l'augmentation du taux de Mn^{II} . Cette diminution du paramètre de maille s'explique par la substitution des ions In^{III} par des ions Mn^{II} de rayon ionique plus faible, en accord avec les paramètres de maille des réseaux $In^{III}_4[Fe(CN)_6]_3$ et $Mn^{II}_2[Fe(CN)_6]$, d'une valeur de 10,45 Å et 10,07 Å respectivement. Cette évolution du paramètre de maille prouve l'insertion des ions Mn^{II} au sein du réseau cristallographique, et écarte une éventuelle adsorption ou coprécipitation des Mn^{II} . Concernant la taille des particules, elle augmente pour des taux de Mn^{II} croissants et compris entre 40 et 91%. Pour des taux de Mn^{II} compris entre 6 et 40%, la taille des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ n'évolue pas. La tendance est donc en accord avec les distributions de tailles en volume des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$, obtenues par DDL en solutions colloïdales.

L'étude publiée en 2015 par Zhu et al.,⁶ confirme cette insertion des ions Mn^{II} au sein du réseau également par les résultats obtenus concernant l'évolution du paramètre de maille en fonction du taux de Mn^{II} . En revanche, Dumont et al.,⁷ supposent la présence des ions Mn^{II} dans les sites interstitiels du bleu de Prusse. Cette conclusion, fautive, se retrouve dans plusieurs publications récentes. Cet argument est erroné puisqu'il s'appuie sur la présence d'une seule série de pics caractéristiques de la structure du BdP. Néanmoins, les paramètres de maille des réseaux $Fe^{III}-NC-Fe^{II}$ et $Mn^{II}-NC-Fe^{II}$ ne sont pas assez éloignés pour permettre la visualisation des contributions des deux réseaux par DRX.

II.2.3. Microscopie électronique en transmission (MET)

Les nanoparticules enrobées de dextran ont été observées par microscopie électronique en transmission. Le principe de cette technique est présenté dans l'annexe 5. Les images obtenues pour les particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [6], [15], [33], [53], [77] et [91] sont présentées sur la figure II-7.

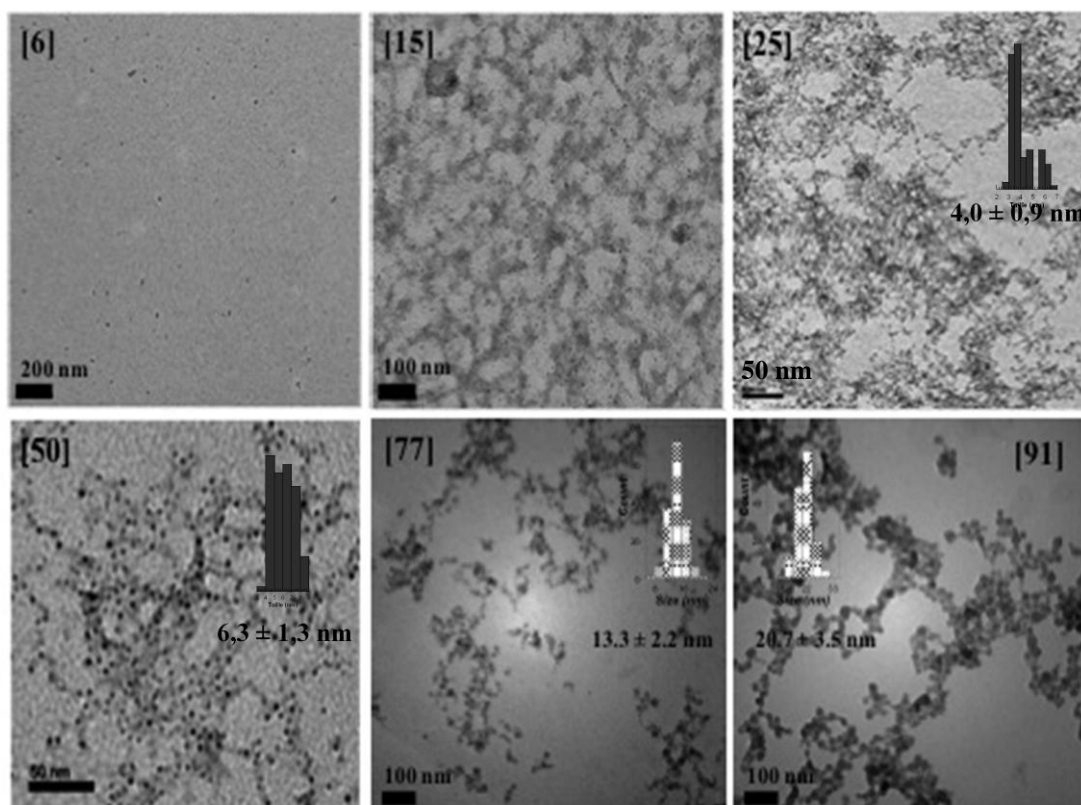


Figure II-7. Images MET des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [6], [15], [33], [50], [77] et [91] entourées de dextran

La taille des nanoparticules dopées à 6 et 15% en Mn^{II} n'a pas pu être estimée. En effet, le contraste est faible en raison de la faible densité métallique des objets (~ 741 atomes) pour des particules de réseaux de si petite taille (< 5 nm). Cependant, qualitativement, il apparaît sur ces images que la tendance est bonne puisque les nanoparticules présentent une taille plus importante à mesure que le taux de Mn^{II} augmente. D'autre part, les particules semblent facettées et cubiques, ce qui est en accord avec un réseau cristallographique de type CFC. Les tailles moyennes des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [33], [53], [77] et [91] extraites par MET sont regroupés ci-dessous dans le tableau II-3.

$Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$	[33]	[53]	[77]	[91]
d (nm) par MET	$4,0 \pm 0,9$	$6,3 \pm 1,3$	$13,3 \pm 2,2$	$20,7 \pm 3,5$

Tableau II-3. Distribution de taille, extraite par MET, des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [33], [53], [77] et [91]

La tendance est bonne puisque la taille des particules augmente avec l'augmentation du taux de Mn^{II} . Les tailles sont également en bon accord avec celles obtenues par DDL et DRX à l'exception des particules dopées à 77% et 91% qui présentent un diamètre plus important en MET. Ceci peut s'expliquer par une éventuelle évolution au cours du temps, des objets déposés sur la grille de microscopie. Néanmoins, les redispersions de ces particules se sont montrées stables dans le temps (taille estimée en solution colloïdale par DDL jusqu'à six mois après la synthèse des objets) indépendamment du taux de Mn^{II} inséré au sein du réseau. Concernant les particules faiblement dopées en ions Mn^{II} , une alternative serait de les observer par microscopie en champ sombre (STEM) en l'absence d'enrobage, ce qui permettrait d'augmenter leur contraste pour ainsi mieux les visualiser et pouvoir estimer leur taille moyenne.

II.3. Discussion

Pour conclure sur la caractérisation de taille des particules, les résultats de taille des particules $Mn_x^{II}In_{1-x}^{III}Fe_y^{II}$ en fonction du taux de Mn^{II} , obtenus par DDL et DRX sont regroupés sur la figure II-8. Les images de microscopie électronique en transmission, n'ayant pu confirmer que l'ordre de grandeur des particules notamment pour les faibles dopages en Mn^{II} , la comparaison de la taille des objets en fonction du taux de Mn^{II} est basée sur les tailles moyennes déterminées par DRX et DDL.

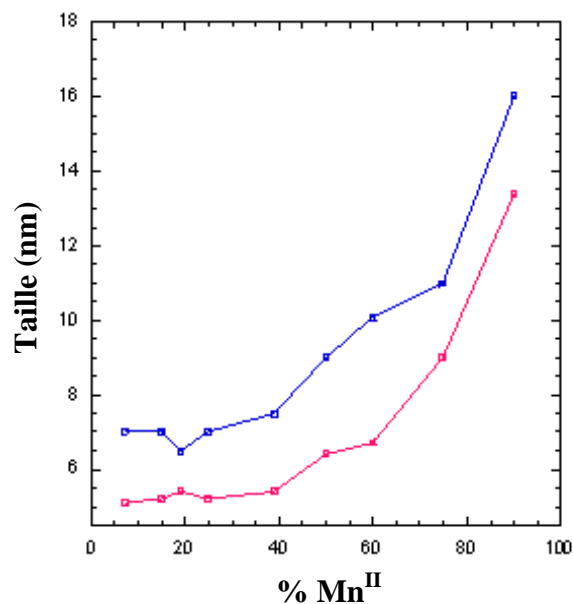


Figure II-8. Tailles des particules $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ en fonction du taux de Mn^{II} , obtenus par DRX (rose) et DDL (bleu)

L'évolution de la taille des particules en fonction du taux de Mn^{II} est identique quelle que soit la technique de caractérisation utilisée. Cependant, les tailles obtenues par DRX sont plus faibles. Ceci est cohérent puisque c'est le diamètre hydrodynamique des objets qui est mesuré par DDL alors que par DRX seul le réseau cristallographique est sondé. La DDL surestime donc la taille réelle des objets.

Pour un taux de Mn^{II} compris entre 40 et 91% la taille des particules augmente avec le taux de Mn^{II} . En revanche, pour un taux de Mn^{II} compris entre 6 et 40%, la taille des particules est quasi-constante. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que la croissance des particules $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ serait contrôlée par la nucléation du réseau $\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$. La différence de solubilité entre les réseaux $\text{Mn}^{\text{II}}_2\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6$ et $\text{In}^{\text{III}}_4[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_3$ peut expliquer que la nucléation soit dominée par le plus insoluble, ici le réseau $\text{In}^{\text{III}}_4[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_3$ ($\text{pKs}(\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}) = 33,8$ et $\text{pKs}(\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}) = 12,1$). Ainsi, les germes seraient plus riches en In^{III} et les ions Mn^{II} seraient localisés en surface de la particule, ce qui est caractéristique d'une structure de type cœur-coquille. L'augmentation de taille des particules pour un dopage en Mn^{II} compris entre 40 et 91% pourrait alors s'expliquer par le fait que plus la sursaturation en In^{III} diminue moins les germes $\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ sont nombreux. De cette façon, les ions Mn^{II} , présents en plus grande quantité dans les particules [40] à [91], s'incorporent sur moins de germes que dans le cas des

particules [6] à [40] menant alors à des particules de plus grande taille. Les mesures de relaxivité permettront d'infirmer ou de confirmer cette hypothèse.

II.4. Caractérisations chimiques des particules

Dans cette partie, le but est de déterminer la composition des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}[Fe^{II}(CN)_6]_y$. Ceci a été réalisé au moyen des analyses élémentaires, de l'EDS (Energie Dispersive Spectroscopy) ainsi que de la spectroscopie Infrarouge. Ces trois techniques permettant la caractérisation chimique et spectroscopique des particules sont présentées dans l'annexe 2.

II.4.1. Analyse élémentaire

La corrélation des résultats obtenus en analyses élémentaires (% de C, H et N) et en EDS (rapports Mn^{II}/Fe^{II} , In^{III}/Fe^{II} et Mn^{II}/In^{III}) permettent de déterminer les unités formulaires des particules de $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ synthétisées. Toutefois, un problème n'a pas pu être anticipé : la proportion d' In^{III} est faussée par la présence à la même énergie que la raie $L\alpha$ de l'Indium, de la raie $K\alpha$ du potassium. La composition du cœur inorganique a donc été établie sur le ratio Mn/Fe. La teneur en C, H et N permet de déterminer la proportion de dextran enrobant les particules. Enfin, la teneur en potassium est calculée en respectant l'électroneutralité du composé. Les unités formulaires obtenues pour les particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}[Fe^{II}(CN)_6]_y$ [x] sont présentées dans le tableau II-4.

%Mn	Unités formulaires des particules $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{In}^{\text{III}}_{1-x}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_y$
[6]	$\text{K}_{0,70}\text{Mn}^{\text{II}}_{0,06}\text{In}^{\text{III}}_{0,94}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_{0,91}\cdot 49\text{H}_2\text{O (dext)}_{48}$
[15]	$\text{K}_{0,75}\text{Mn}^{\text{II}}_{0,15}\text{In}^{\text{III}}_{0,85}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_{0,90}\cdot 55\text{H}_2\text{O (dext)}_{49}$
[18]	$\text{K}_{0,86}\text{Mn}^{\text{II}}_{0,18}\text{In}^{\text{III}}_{0,82}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_{0,92}\cdot 31\text{H}_2\text{O (dext)}_{33}$
[27]	$\text{K}_{0,83}\text{Mn}^{\text{II}}_{0,27}\text{In}^{\text{III}}_{0,73}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_{0,89}\cdot 65\text{H}_2\text{O (dext)}_{40}$
[33]	$\text{K}_{0,81}\text{Mn}^{\text{II}}_{0,33}\text{In}^{\text{III}}_{0,67}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_{0,87}\cdot 36\text{H}_2\text{O (dext)}_{35}$
[40]	$\text{K}_{1,00}\text{Mn}^{\text{II}}_{0,40}\text{In}^{\text{III}}_{0,60}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_{0,90}\cdot 33\text{H}_2\text{O (dext)}_{33}$
[53]	$\text{K}_{1,01}\text{Mn}^{\text{II}}_{0,53}\text{In}^{\text{III}}_{0,47}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_{0,87}\cdot 19\text{H}_2\text{O (dext)}_{26}$
[77]	$\text{K}_{1,09}\text{Mn}^{\text{II}}_{0,77}\text{In}^{\text{III}}_{0,23}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_{0,83}\cdot 22\text{H}_2\text{O (dext)}_{23}$
[91]	$\text{K}_{1,11}\text{Mn}^{\text{II}}_{0,91}\text{In}^{\text{III}}_{0,09}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_{0,80}\cdot 22\text{H}_2\text{O (dext)}_{23}$

Tableau II-4. Unités formulaires des particules $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ entourées de dextran, déduites des analyses élémentaires et de l'EDS

Les taux de Mn^{II} incorporés correspondent aux taux introduits initialement en solution en dehors des pourcentages inférieurs à 40%, pour lesquels la quantité de Mn^{II} insérée dans le réseau est légèrement supérieure à celle introduit initialement en solution lors de la synthèse. Cependant, les synthèses à bas taux de Mn^{II} (de 6 à 40%) ont été répétées et la reproductibilité de ces résultats a été démontrée. D'autre part, au-delà de 40%, le taux de ferrocyanure diminue lorsque la fraction molaire en Mn^{II} augmente. Ceci s'explique par la substitution d'ions trivalents (In^{III}) par des ions divalents (Mn^{II}) ce qui induit une diminution de charges positives et par la même de charges négatives pour respecter l'électroneutralité du réseau d'où une augmentation du taux de lacunes en ferrocyanure, de 10% à 20% lorsque le taux de Mn^{II} augmente. Cette variation du taux de lacunes en ferrocyanures s'explique également par les différences de stœchiométries des réseaux massifs $\text{In}^{\text{III}}_4[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_3$ [4 :3] et $\text{Mn}^{\text{II}}_2[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]$ [2 :1].

D'autre part, connaissant la taille et la composition chimique des particules il est possible d'estimer le nombre de chaînes de dextran par particule ainsi que le nombre de points d'accrochage d'une chaîne. Les résultats des analyses élémentaires C, H et N nous indiquent le nombre de motifs dextran ($\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$) pour une unité $[\text{Mn}^{\text{II}}+\text{In}^{\text{III}}]$. Le nombre de motifs par

particule s'obtient donc en multipliant le nombre de motifs dextran obtenu par analyse élémentaire par le nombre total d'atomes qui dépend de la taille des particules (ici, la taille des particules extraite par DRX a été utilisée). Le calcul du nombre d'atomes total d'une particule cubique de côté n est expliqué dans l'annexe 6. Enfin, en divisant le nombre de motifs par particule par le nombre de motifs constituant une chaîne dextran on obtient le nombre de chaîne par particule. La masse molaire d'une chaîne de dextran est de 40 000 g.mol^{-1} et celle d'un motif dextran de 162 g.mol^{-1} ce qui correspond à un degré de polymérisation moyen de 247. De plus, il est possible d'estimer le nombre de points d'accrochage d'une chaîne dextran en divisant le nombre d'atomes de surface par le nombre de chaînes par particule. Les valeurs obtenues sont regroupées dans le tableau ci-dessous.

% Mn^{II}	d (nm)	$N_{\text{at total}}$	n_{dext}	Nombre de motifs/particule	Nombre de chaînes/particule	N_{at} surface	Nombre de points d'accrochage
6,4	5,4	843	48	40464	164	358	2,2
15	5,1	703	49	34447	139	314	2,3
18	4,9	630	33	20790	84	290	3,4
27,2	5,3	781	40	31240	126	339	2,7
33	5,2	741	35	25935	105	327	3,1
40,2	5,5	865	33	28528	116	365	3,2
53	6,4	1315	26	34190	138	494	3,6
77	9	3430	23	78890	319	974	3,1
91	13,4	10743	23	247090	1000	2157	2,2

Tableau II-5. Nombre de chaînes dextran par particule et nombre de points d'accrochage d'une chaîne en fonction du taux de Mn^{II}

L'évolution du nombre de chaînes dextran par particule ainsi que du nombre de points d'accrochage d'une chaîne en fonction du taux de Mn^{II} est représentée sur la figure II-9.

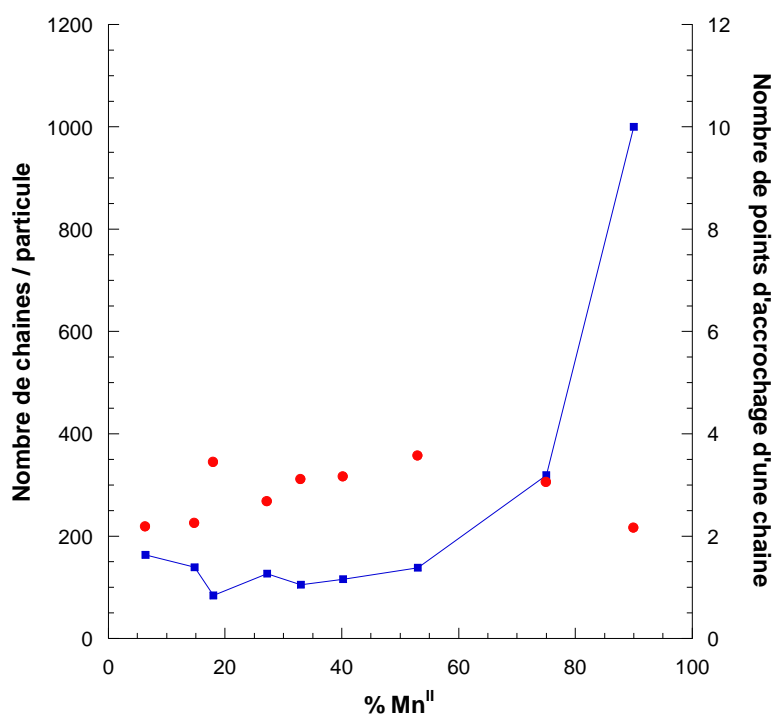


Figure II-9. Evolution du nombre de chaînes par particule (bleue) et du nombre de points d'accrochage (rouge) en fonction du taux de Mn^{II}

Le nombre de chaînes par particule est constant jusqu'à 40% en Mn^{II} puis augmente avec le taux de Mn^{II}. En effet, plus la taille de l'objet augmente plus le nombre d'atomes est important d'où un nombre de chaînes plus élevé. Cependant, indépendamment du taux de Mn^{II}, une chaîne dextran présente trois points d'accrochage. Ce polymère interagit avec les particules certainement par des liaisons hydrogène qui s'établissent entre les cyanures non pontants de la surface et les groupements hydroxyle du dextran.

II.4.2. Spectroscopie Infrarouge

Sur la figure II-10, sont présentées les données obtenues par spectroscopie infrarouge (cf. annexe 2) en transmission concernant la vibration asymétrique des cyanures pontants, pour les particules de Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y synthétisées.

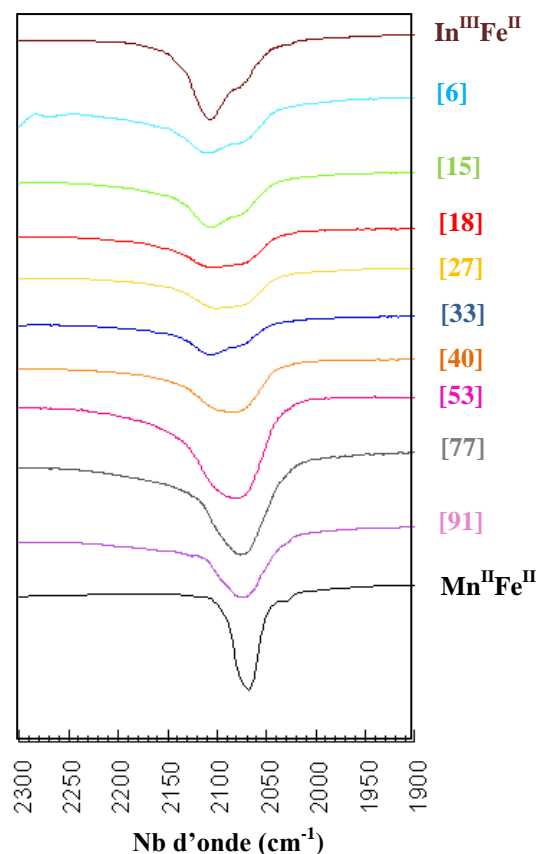


Figure II-10. Spectres infrarouge dans la zone 1900-2300 cm^{-1} pour les particules de $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ en fonction de la fraction molaire en Mn^{II} , x .

La bande de vibration des cyanures pontants présente une évolution en fonction de la fraction molaire x en Mn^{II} . En effet, plus le taux de Mn^{II} augmente plus la bande de vibration des cyanures pontants se déplace vers les basses fréquences. Elle varie de 2108 cm^{-1} pour un taux de 6% de Mn^{II} à 2069 cm^{-1} pour un taux de 91%. Cette tendance est en accord avec la vibration des bandes du réseau $\text{In}^{\text{III}}_4[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_3$ (2108 cm^{-1}) et du réseau $\text{Mn}^{\text{II}}_2\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6$ (2067 cm^{-1}). On distingue les deux types d'enchaînements, $\text{Mn}^{\text{II}}\text{-NC-Fe}^{\text{II}}$ et $\text{In}^{\text{III}}\text{-NC-Fe}^{\text{II}}$, pour les taux faibles de Mn^{II} en raison du plus fort coefficient d'absorption du $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ par rapport au réseau $\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ (vérifié sur les spectres en absorbance). La présence d'un épaulement dans la bande de vibration des cyanures pontants du massif $\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ est probablement liée aux cyanures non pontants. Cette bande est certainement présente sur les spectres des particules mais est décalée par rapport à celle des ponts $\text{Mn}^{\text{II}}\text{-NC-Fe}^{\text{II}}$. Cette diminution de la fréquence de vibration des cyanures pontants avec l'augmentation du taux de Mn^{II} prouve, une nouvelle fois, l'insertion des ions Mn^{II} au sein du réseau cristallographique.

II.4.3. Mesures magnétiques

L'aimantation en fonction du champ magnétique entre 5 et -5T a été mesurée à 5K pour les particules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ entourées de dextrans. Les résultats sont présentés sur la figure II-11.

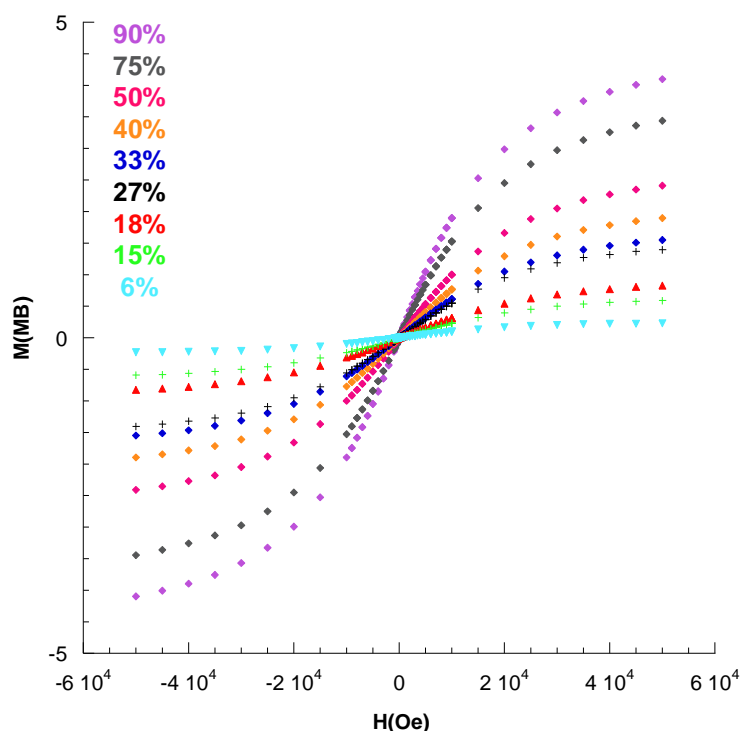


Figure II-11. Aimantation en fonction du champ, mesurée entre 5 et -5T et à 5K, pour les particules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ en fonction de la fraction molaire en Mn^{II} , x.

Les mesures magnétiques montrent un comportement purement paramagnétique ($H_c = 0$ Oe) des particules indépendamment du taux de Mn^{II} , ce qui est caractéristique d'un agent de contraste de type T_1 . De plus, à 5T l'aimantation devient de plus en plus importante à mesure que le taux de Mn^{II} augmente, les ions In^{III} (d^{10}) et Fe^{II} (d^6 bas spin) étant diamagnétiques. Cette évolution de l'aimantation en fonction du taux de Mn^{II} prouve encore une fois la bonne insertion du Mn^{II} au sein des particules. Si le réseau cristallographique était composé de 100% d'ions Mn^{II} , l'aimantation à 5T serait égale à $5\mu\text{B}$ puisque le spin de Mn^{II} vaut $5/2$ pour $g = 2,00$. Connaissant expérimentalement la valeur de l'aimantation à 5T pour chacune des différentes fractions molaires en Mn^{II} il est alors possible par une simple règle de trois d'estimer la teneur en Mn^{II} pour chaque échantillon. Cette estimation expérimentale du taux de Mn^{II} , extraite des mesures magnétiques, est présentée dans le tableau ci-dessous.

%Mn ^{II} théorique	[6]	[15]	[18]	[27]	[33]	[40]	[53]	[77]	[91]
%Mn ^{II} expérimental	4	12	16	28	31	38	48	69	82

Tableau II-6. Taux de Mn^{II} au sein des particules de Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y, extrait des mesures d'aimantation en fonction du champ à 5K et entre 5 et -5T

Les taux de Mn^{II} déduits expérimentalement sont en bon accord avec la quantité d'ions initialement introduits en solution. Cependant une légère sous-estimation du taux de Mn^{II} est observée, due au fait que l'aimantation ne sature pas complètement à 5T.

III. MESURES DE RELAXIVITE ET DISCUSSION

III.1. Relaxivité longitudinale

Dans un premier temps, les propriétés de relaxivité ont été étudiées à 60 MHz et à 37°C sur des redispersions de particules de Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y entourées de dextran à 10mM. Expérimentalement, c'est le temps de relaxation longitudinal T₁ des spins nucléaires des protons de l'eau en présence des particules qui est mesuré. A partir de cette mesure et connaissant la concentration exacte en Mn^{II} (obtenue par EDS au préalable), la relaxivité moyenne par Mn^{II} notée r₁ peut-être déterminée. Pour cela il suffit de soustraire à l'inverse du temps T₁ la contribution diamagnétique des protons de l'eau à 37°C égale à 0,2826 s⁻¹ puis de diviser le résultat obtenu par la concentration en ions Mn^{II}. La grandeur obtenue est la relaxivité moyenne par Mn^{II} notée r₁ et exprimée mM⁻¹.s⁻¹. On parle de relaxivité moyenne par Mn^{II} car le nombre total d'atomes de Mn^{II} au sein de la particule est considéré, indépendamment de leur localisation, au cœur ou en surface de la particule, et donc indépendamment de leur contribution relative à la relaxivité de l'objet.

La figure II-12 représente l'évolution de la relaxivité r₁ des particules de Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y en fonction du taux de Mn^{II}, à 60 MHz et à 37°C.

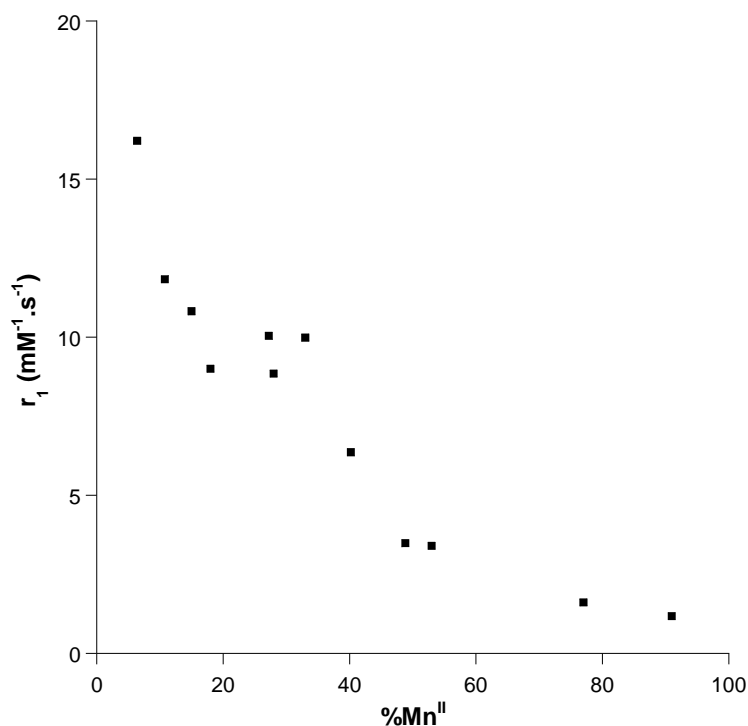


Figure II-12. Evolution à 60MHz et à 37°C de la relaxivité longitudinale r_1 des particules $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ entourées de dextran, en fonction de la fraction molaire en Mn^{II} , x .

Tout d'abord, on observe que la relaxivité est fortement dépendante du taux de Mn^{II} , puisque celle-ci diminue avec l'augmentation du taux de Mn^{II} . En effet, des valeurs élevées de relaxivité, comprises entre 16,2 et 6,4 $\text{mM}^{-1}.\text{s}^{-1}$, sont obtenues pour les faibles dopages en Mn^{II} , de 6 à 40%. En revanche, entre 50 et 91% de Mn^{II} , la relaxivité est comprise entre 3,5 et 1,2 $\text{mM}^{-1}.\text{s}^{-1}$. Deux mesures complémentaires ont été réalisées afin de s'assurer que les valeurs de relaxivité obtenues n'étaient pas dues à du Mn^{II} libre en solution aqueuse ou à du Mn^{II} libre en solution aqueuse en présence de dextran. Dans l'échantillon Mn^{II} + dextran, la quantité de dextran introduite en solution a été déterminée de sorte que la stoechiométrie Mn/dextran soit identique à celle obtenue par les analyses élémentaires pour la particule $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ [15]. Les valeurs élevées de relaxivité obtenues pour les particules faiblement dopées en Mn^{II} ne sont ni dues à la présence de Mn^{II} libre en solution aqueuse ni à une éventuelle interaction entre les ions Mn^{II} et le dextran. En effet, le Mn^{II} et le Mn^{II} + dextran présentent de faibles valeurs de relaxivité égales à 1,28 et à 1,81 $\text{mM}^{-1}.\text{s}^{-1}$ respectivement. Ces deux mesures écartent tout effet de Mn^{II} libre en solution qui pourrait être présent initialement ou relargué lors de la redispersion. Dumont et al. obtiennent une relaxivité de 15,8 $\text{mM}^{-1}.\text{s}^{-1}$ pour des nanoparticules de 33 nm dopées à 70% en Mn^{II} ce qui paraît élevée pour des particules de cette taille contenant des ions Mn^{II} enfouis dans les sites interstitiels (hypothèse

erronée). Zhu et al. obtiennent des valeurs plus faibles comprises entre 5,73 et 7,64 $\text{mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ pour des taux de Mn^{II} compris entre 5 et 25% respectivement correspondant à des tailles de particules variant de 60 à 160 nm. Contrairement à notre étude, les valeurs de relaxivité augmentent avec la teneur en Mn^{II} ce qu'ils expliquent tout simplement par une quantité plus importante de Mn^{II} au sein des objets. Dans ce cas ils considèrent une activité équivalente des ions Mn^{II} indépendamment du taux de dopage et les valeurs mentionnées correspondraient à une relaxivité par particule et non à une relaxivité par ion Mn^{II} .

La relaxivité transversale moyenne par Mn^{II} notée r_2 et déterminée par la mesure du temps de relaxation transversal T_2 des spins nucléaires des protons de l'eau à 60MHz et à 37°C, suit la même tendance que la relaxivité longitudinale avec des valeurs comprises entre 28 et 1,4 $\text{mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ comme présenté sur la figure II-13. De plus, les rapports r_2/r_1 compris entre 1,8 et 1,1 (cf. Figure II-14) confirme le comportement en tant qu'agents de contraste T_1 pour l'IRM de ces particules de $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ indépendamment de la fraction molaire en Mn^{II} .

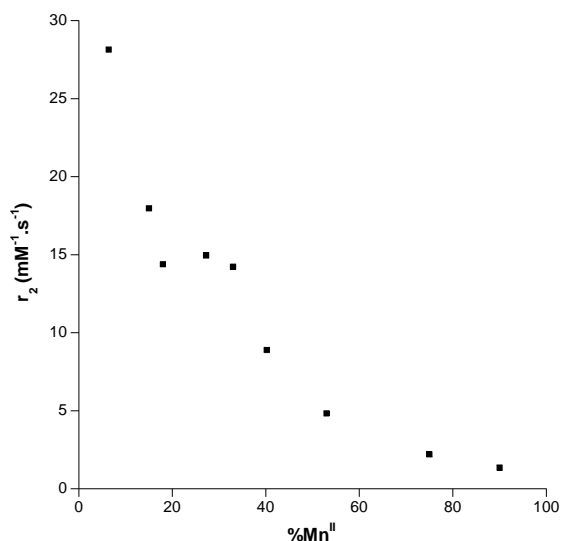


Figure II-13. Evolution à 60MHz et à 37°C de la relaxivité transversale r_2 des particules $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ en fonction du taux de Mn^{II}

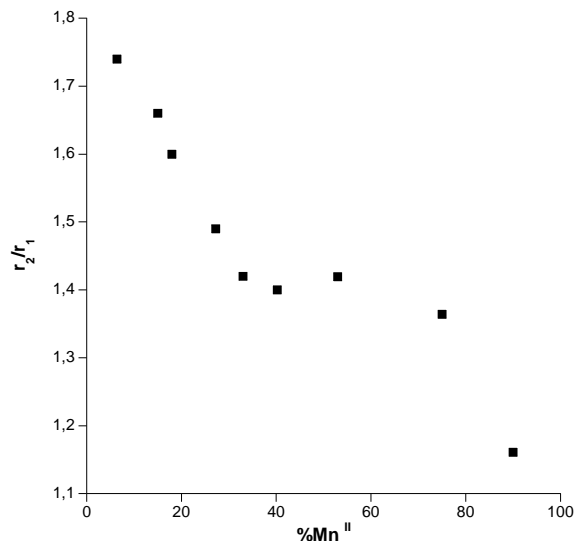


Figure II-14. Evolution de r_2/r_1 , à 60MHz et 37°C des particules $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ en fonction du taux de Mn^{II}

La tendance concernant les valeurs de r_1 , présentée sur la figure II-12 suggère que la relaxivité par ion Mn^{II} n'est pas équivalente selon leur localisation, au cœur ou en surface de la particule. Les ions Mn^{II} situés au cœur de la particule sont nettement moins actifs que ceux situés en surface puisque malgré la porosité du réseau l'échange des molécules d'eau dans la sphère de coordination du cation paramagnétique est plus difficile lorsque celui-ci est enfoui au sein de la particule. Ceci rejoint des études menées sur des particules de zéolites contenant des ions Gd^{III} .⁸ Cette évolution de la relaxivité en fonction du taux de Mn^{II} s'explique, dans un premier temps, par un enfouissement progressif des ions Mn^{II} au cœur de la particule à mesure que le taux de Mn^{II} augmente. Ceci est cohérent avec une activité moindre des Mn^{II} situés au cœur de la particule que ceux situés en surface. Plus le taux de Mn^{II} est élevé, plus grande est la fraction d'ions inactifs et plus la valeur moyenne de la relaxivité est affaiblie. Afin de mieux comprendre cette évolution, il est important de considérer la répartition des ions Mn^{II} au sein de la particule : la répartition des ions Mn^{II} est-elle homogène ou inhomogène ? En d'autres termes, les particules présentent-elles plutôt une structure de type alliage, avec une répartition statistique des Mn^{II} au sein de la particule, ou bien une structure de type cœur-coquille, avec une localisation des Mn^{II} essentiellement en surface de la particule ? La cartographie des cations métalliques par spectromicroscopie STEM-EELS est délicate en raison de la faible densité en ions métalliques et de la faible taille de ces objets, ce qui nous a conduit à considérer deux hypothèses. Ces deux hypothèses concernant la morphologie des particules de $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ seront discutées sur la base des résultats de relaxivité obtenus.

III.2. Répartition statistique des ions Mn^{II} : modèle « alliage »

Considérons tout d'abord une répartition statistique des ions Mn^{II} et calculons la contribution des atomes de Mn^{II} de surface aux propriétés de relaxivité des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$. Pour cela, nous nous placerons dans l'hypothèse que seuls les atomes de Mn^{II} de la surface participent à la relaxivité des objets. Dans ce cas, nous estimons le nombre d'atomes de Mn^{II} en surface (Mn^{II}_s) en fonction de la taille de la particule et de la proportion de Mn^{II} introduite au sein du réseau. Les valeurs obtenues sont présentées dans le tableau II-7, ci-dessous. Concernant la taille des particules, étant donné que pour les taux de Mn^{II} compris entre 6 et 40% la taille est équivalente, nous avons considéré une taille de 5,2 nm dans cette gamme de

dopages ce qui correspond à la moyenne des tailles obtenues par DRX pour les particules avec un taux de Mn^{II} compris entre 6 et 40%.

% Mn^{II}	r_1 (mM ⁻¹ .s ⁻¹)	Taille (nm)	N_{at} total	N_{at} surface	$N_{at} Mn^{II}$	$\frac{N_{at} surface}{N_{at} total}$	Mn^{II}_s si alliage
6,4	16,21	5,2	741	326	47	0,44	21
15	10,82	5,2	741	326	111	0,44	49
18	9,00	5,2	741	326	133	0,44	59
27,2	10,04	5,2	741	326	202	0,44	89
33	9,98	5,2	741	326	245	0,44	108
40,2	6,36	5,2	741	326	298	0,44	131
53	3,41	6,4	1315	494	697	0,38	265
77	1,62	9,0	3430	974	2641	0,28	740
91	1,18	13,4	10743	2157	9776	0,20	1955

Tableau II-7. Nombre d'atomes de Mn^{II} en surface des particules $Mn^x In^{III}_{1-x} Fe^y$ en fonction de la taille de la particule et du pourcentage de Mn^{II} dans l'hypothèse d'une structure alliage

Le nombre total d'atomes pour une particule cubique de côté n est : $N_{at\ total} = 4n^3 + 6n^2 + 3n + 1$. D'autre part, le nombre total d'atomes de surface pour une particule de côté n est : $N_{at\ surface} = 12n^2 + 2$. La démonstration de ces formules est présentée dans l'annexe 6.

Le nombre d'atomes de Mn^{II} est obtenu en multipliant le nombre d'atomes total par le taux de Mn^{II} . D'autre part, le nombre de Mn^{II} situés en surface de la particule est calculé en multipliant le nombre total d'atomes de Mn^{II} par le rapport $N_{at\ surface} / N_{at\ total}$ qui dépend de la taille de l'objet. Connaissant le nombre d'atomes de Mn^{II} en surface des particules et la relaxivité moyenne par Mn^{II} pour ces particules, il est possible de calculer d'une part la relaxivité r_1 par particule ainsi que la relaxivité par Mn^{II} de surface dans le cas d'une structure de type alliage. Les valeurs obtenues sont présentées dans le tableau II-9, page 26.

La relaxivité par particule s'obtient en multipliant le nombre total d'atomes de Mn^{II} dans la particule par la relaxivité moyenne par Mn^{II} , obtenue précédemment (cf. figure II-12). La relaxivité par atome de Mn^{II} de surface est calculée en divisant la relaxivité par particule par le nombre d'atomes de Mn^{II} situés en surface de la particule. Nous pouvons ainsi tracer

l'évolution de la relaxivité par atome de Mn^{II} de surface ($r_1/\text{Mn}^{\text{II}}_s$) en fonction du taux de Mn^{II} .

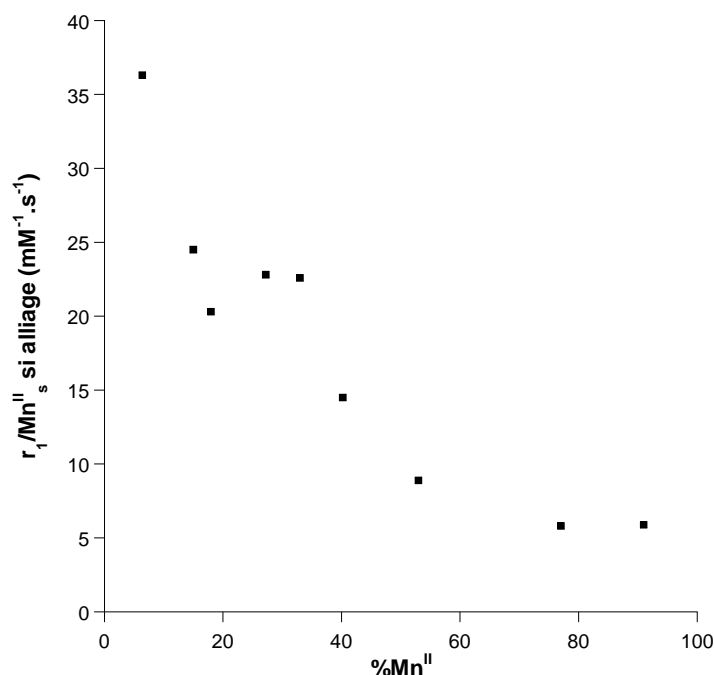


Figure II-15. Relaxivité par Mn^{II} de surface (Mn^{II}_s) en fonction du taux de Mn^{II} dans l'hypothèse d'une structure de type alliage des particules $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$

En ayant considéré une participation exclusive des atomes de Mn^{II} de surface à la relaxivité, la relaxivité moyenne par Mn^{II} de surface devrait donc être constante quel que soit le taux de Mn^{II} dans les particules $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$. La figure II-15 montre que ceci n'est pas le cas pour l'hypothèse d'une répartition statistique des ions Mn^{II} . En effet, de 90 à 40% en Mn^{II} , la valeur de la relaxivité varie de 5,9 à 14,5 $\text{mM}^{-1}.\text{s}^{-1}$. De plus, à faible taux de Mn^{II} les valeurs de relaxivité sont extrêmement élevées (supérieures à 36 $\text{mM}^{-1}.\text{s}^{-1}$ pour l'échantillon à 6% en Mn^{II}) et notamment supérieures aux valeurs rapportées dans la littérature. Ceci suggère que le nombre d'ions Mn^{II} localisés en surface est probablement sous-estimé par ce modèle et qu'un enrichissement en Mn^{II} de la surface est à prendre en compte d'où la seconde hypothèse, celle d'une structure de type cœur-coquille des particules $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$.

III.3. Localisation des ions Mn^{II} en périphérie : modèle cœur-coquille

Un autre modèle est de considérer une répartition des ions Mn^{II} à la périphérie de la particule : il s'agit du modèle cœur-coquille avec un cœur riche en $In^{III}Fe^{II}$ et une coquille de $Mn^{II}Fe^{II}$. En effet, le réseau $In^{III}_4[Fe^{II}(CN)_6]_3$ est le plus insoluble d'où une nucléation conduisant à l'obtention de germes plus riches en In^{III} et à une localisation des ions Mn^{II} en surface de la particule. Le nombre d'atomes de Mn^{II} en surface de la particule dans cette hypothèse de structure, est indiqué dans le tableau ci-dessous.

% Mn^{II}	N_{at} surface	N_{at} Mn^{II}	Mn^{II}_s si cœur- coquille	Mn^{II}_s / N_{at} surface
6,4	326	47	47	0,14
15	326	111	111	0,34
18	326	133	133	0,41
27,2	326	202	202	0,62
33	326	245	245	0,75
40,2	326	298	298	0,91
53	494	697	494	1
77	974	2641	974	1
91	2157	9776	2157	1

Tableau II-8. Nombre d'atomes de Mn^{II} en surface (Mn^{II}_s) des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ en fonction de la taille de la particule et du % Mn^{II} dans l'hypothèse d'une structure de type cœur-coquille

Comme dans le cas du modèle alliage, il est possible de calculer la relaxivité par atome de Mn^{II} de surface dans l'hypothèse d'une structure cœur-coquille. Pour cela, la relaxivité par particule est divisée par le nombre d'atomes de Mn^{II} situés en surface dans le cas du modèle cœur-coquille. Les valeurs de r_1 obtenue par Mn^{II} de surface dans ce modèle ainsi que dans le modèle alliage et les valeurs de relaxivité par particule sont regroupées dans le tableau ci-dessous. Afin de comparer les deux hypothèses, les tailles prises en compte pour les particules restent identiques à celles considérées dans l'hypothèse d'une structure alliage des objets.

Néanmoins, il est à noter que dans l'hypothèse d'une structure de type cœur-coquille, la superposition des deux composantes constituées de réseaux de paramètres de maille proches entraînerait un élargissement des pics de diffraction et donc une sous-estimation de la taille des particules. Il apparaît toutefois que celles-ci sont de l'ordre de 5 nm par MET.

% Mn	6,4	15	18	27	33	40	53	77	91
r₁/particule (mM ⁻¹ .s ⁻¹)	762	1201	1197	2028	2445	1895	2377	4278	11535,7
r₁/Mn^{II}_s si alliage (mM ⁻¹ .s ⁻¹)	36,3	24,5	20,3	22,8	22,6	14,5	8,9	5,8	5,9
r₁/Mn^{II}_s si cœur-coquille (mM ⁻¹ .s ⁻¹)	16,2	10,8	9,0	10,0	10,0	6,4	4,8	4,4	5,3

Tableau II-9. Relaxivité par particule et par Mn^{II} de surface (Mn^{II}_s) en fonction du taux de Mn^{II} dans les hypothèses d'une structure alliage ou cœur-coquille des particules Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y

Ces résultats permettent de tracer la relaxivité par atome de Mn^{II} de surface en fonction du taux de Mn^{II} dans l'hypothèse d'une structure cœur-coquille, comme montré sur la figure II-16.

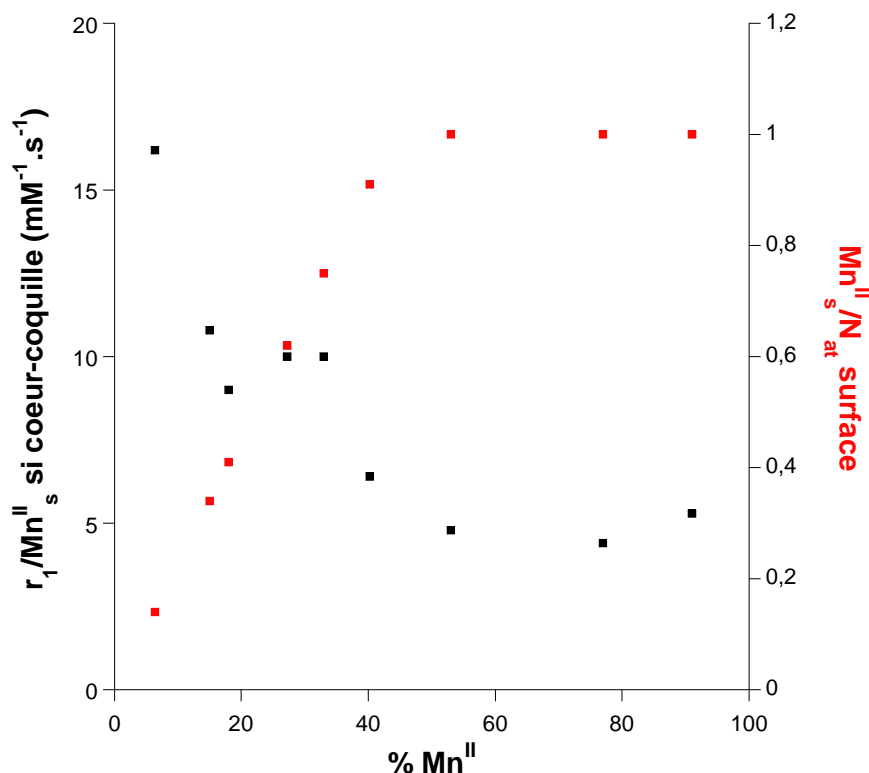


Figure II-16. Relaxivité par Mn^{II} de surface ($r_1/\text{Mn}^{\text{II}}_s$) et saturation de la surface en Mn^{II} ($\text{Mn}^{\text{II}}_s/N_{\text{at surface}}$) en fonction du taux de Mn^{II} dans l'hypothèse d'une structure de type cœur-coquille des particules $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$

Nous remarquons que dans ce cas, la valeur de la relaxivité r_1 par Mn^{II}_s est quasi-constante entre 53 et 91% de Mn^{II} (aux alentours de $5 \text{ mM}^{-1}.\text{s}^{-1}$). Par ailleurs, en dessous de 53%, la relaxivité n'est pas constante et augmente fortement jusqu'à $16,2 \text{ mM}^{-1}.\text{s}^{-1}$ par Mn^{II} de surface pour les particules $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ [6]. Une valeur de relaxivité par Mn^{II} égale à $16,2 \text{ mM}^{-1}.\text{s}^{-1}$ est nettement supérieure aux valeurs de relaxivité inférieures à $1 \text{ mM}^{-1}.\text{s}^{-1}$ obtenues pour des nanoparticules d'oxyde de Mn^{II} d'une taille variant de 7 nm à 25 nm^{9, 10} et environ deux fois supérieure à la relaxivité de particules de MnO de $2,5 \text{ nm}^1$, valeurs également enregistrées à 60MHz. Les particules étant à peu près dans la même gamme de taille, la meilleure efficacité en tant qu'agent de contraste T_1 des particules de $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ peut s'expliquer par une plus grande proportion d'atomes de surface dans le cas d'un réseau d'analogue du bleu de Prusse en comparaison avec une particule d'oxyde ou métallique. En calculant le rapport du nombre d'atomes de Mn^{II} en surface sur le nombre total d'atomes de surface (cf. colonne 5 du tableau II-8), la proportion d'atomes de Mn^{II} situés en surface des particules est déterminée. Ainsi, la surface est saturée en Mn^{II} de [53] à [91] et ne l'est pas en dessous de ces fractions molaires.

Cette différence de relaxivité par Mn^{II} de surface, selon le taux de Mn^{II} , pourrait être due à l'influence des interactions dipolaires plus fortes pour les taux élevés de Mn^{II} et/ou à un effet de champ local plus important lié à la présence d'une forte concentration en ions paramagnétiques. Ces interactions dipolaires entraînent une augmentation du temps de relaxation électronique du spin nucléaire du Mn^{II} et par conséquent diminueraient la relaxivité pour les particules [53], [77], et [91], où la surface est complètement saturée en Mn^{II} .¹¹ Le nombre de premiers et de seconds voisins Mn^{II} serait donc identique pour ces taux de Mn^{II} , avec 5 voisins Mn^{II} à la distance a et 8 voisins Mn^{II} à la distance $(a\sqrt{2})/2$ Å, favorisant les interactions dipolaires entre les ions Mn^{II} , présents à la surface d'une même particule. En dessous de 53%, la surface n'est pas saturée en Mn^{II} ce qui signifie une diminution du nombre moyen de Mn^{II} voisins et des interactions dipolaires. Ceci pourrait expliquer l'augmentation de la relaxivité à faible taux de Mn^{II} .

Ces représentations de la relaxivité r_1 par Mn^{II} de surface nous montrent donc que l'hypothèse d'une structure cœur-coquille des particules $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ est plus probable que celle d'une structure de type alliage. De plus, l'hypothèse d'une structure cœur-coquille est en accord avec les évolutions de taille obtenues par DDL et DRX, qui suggèrent la nucléation de germes $\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$, réseau le plus insoluble des deux, et l'incorporation du réseau $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ sur ces particules d' $\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$.

Pour confirmer cette hypothèse, une expérience supplémentaire consistant à synthétiser des nanoparticules dopées à 90% en Mn^{II} mais sans ajout d' In^{III} ($\text{Mn}^{\text{II}}_{0,90}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_y$) a été réalisée afin de savoir si la présence de germes $\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ étaient nécessaires à la formation de particules de $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ stables. La taille des ces objets obtenue par DDL directement après l'ajout brutale à 2°C, de la solution aqueuse de Mn^{II} à la solution aqueuse de ferrocyanure sous vive agitation est présentée sur la figure II-17.

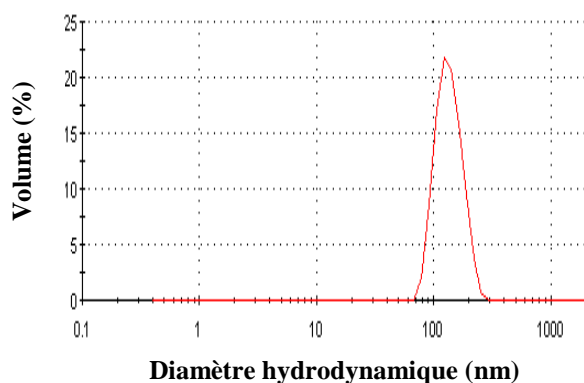


Figure II-17. Taille des particules $\text{Mn}^{\text{II}}_{0,90}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_y$ issues de la distribution en volume obtenue par DDL, en solution aqueuse à 2°C

A 2°C et directement après l'ajout de la solution aqueuse de Mn^{II} dans celle d'hexacyanoferrate, les particules de $\text{Mn}^{\text{II}}_{0,90}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_y$ présentent une taille en DDL égale à 122 nm, très supérieure à celle des particules $\text{Mn}^{\text{II}}_{0,90}\text{In}^{\text{III}}_{0,10}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_y$, de 16 nm en solution colloïdale. Quelques minutes après l'ajout, les particules $\text{Mn}^{\text{II}}_{0,90}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_y$ ont précipité. Cette expérience vient donc appuyer l'hypothèse d'une germination contrôlée par le réseau $\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$. Les particules $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ présentent donc une structure de type cœur-coquille résultant d'une croissance contrôlée par la nucléation des germes $\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ et d'une localisation des ions Mn^{II} en surface de la particule. Il est clair que ce modèle ne prend pas en compte de gradient de concentration qui pourrait également engendrer ce type d'évolution.

III.4. Profils de dispersion des particules $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ @dextran

Les résultats de relaxivité longitudinale présentés précédemment ont été enregistrés à 60 MHz. Les profils NMRD représentent la variation de la relaxivité en fonction de la fréquence, de 0,01 à 300 MHz. Ces mesures sont très intéressantes car l'allure du profil obtenu ($r_1=f(\text{fréquence})$) donne de nombreuses informations concernant les temps caractéristiques gouvernant la relaxivité ainsi que sur la présence d'ions libres au sein de la solution colloïdale de particules. De même que pour les mesures à 60 MHz, expérimentalement c'est le temps T_1 qui est mesuré au sein de la redispersion des particules $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ à 10 mM, à 37°C pour chaque fréquence. Sur la figure II-18 sont présentés les profils obtenus pour les particules $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ [6], [33] et [77].

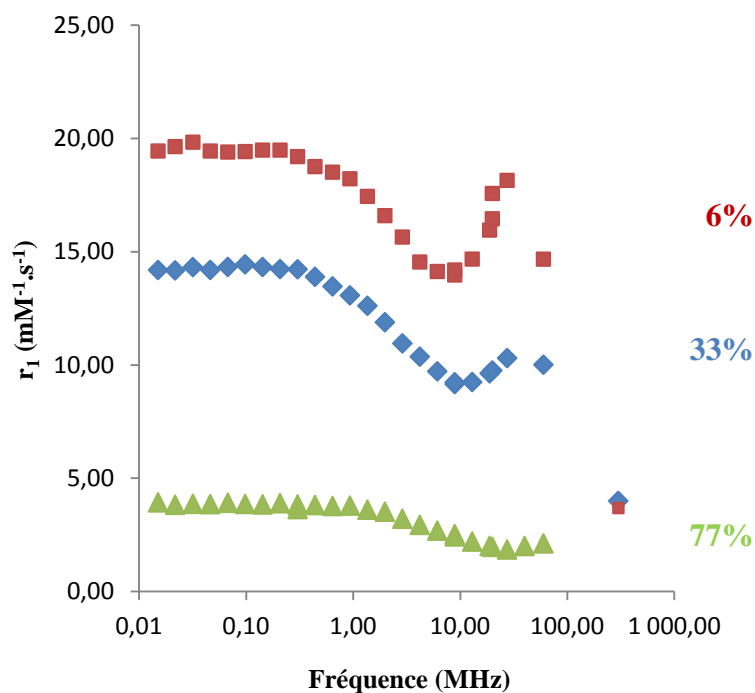


Figure II-18. Profils de dispersion des particules $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ [6], [33] et [77] entourées de dextran, enregistrés à 37°C entre 0,01 et 300 MHz

Les résultats sont cohérents avec les mesures enregistrées à 60 MHz (cf. Figure II-12) puisque la relaxivité diminue avec l'augmentation du taux de Mn^{II} . Indépendamment de l'échantillon, l'évolution de la relaxivité en fonction de la fréquence présente des caractéristiques communes. En effet, la relaxivité est constante dans les basses fréquences puis diminue jusqu'à un minimum pour ensuite ré-augmenter et diminuer de nouveau à partir de 100 MHz. Cette allure de profil est caractéristique d'une relaxivité limitée par le temps de corrélation rotationnel.¹²⁻¹⁴ Une diminution de la relaxivité moins abrupte conduisant à un déplacement du minimum vers les hautes fréquences, est observée lorsque le taux de Mn^{II} augmente. De plus la chute de la relaxivité à haut champ (300 MHz), communément observée dans le cas de nanoparticules paramagnétiques, est moins prononcée lorsque la fraction molaire en Mn^{II} augmente. En effet, la relaxivité est identique à 7T pour les particules $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ [6] et [33]. Enfin, le plateau observé dans les basses fréquences, indépendamment du taux de Mn^{II} , suggère qu'il n'y a pas de relargage d'ions Mn^{II} libres en solution et donc que ces ions sont bien insérés au sein des nanoparticules. Dans la littérature, certains systèmes présentent des profils avec des relaxivités non constantes dans les basses fréquences, indiquant alors le relargage d'ions paramagnétiques libres, pouvant être toxiques

pour l'organisme tel que le Gd^{III} . L'absence de relargage d'ions paramagnétiques dans le cas des ces particules d'analogue du bleu de Prusse à base de Mn^{II} est un critère très encourageant pour leur utilisation en tant qu'agents de contraste T_1 . Ce relargage négligeable est sans doute lié à l'interaction électrostatique forte entre les cœurs chargés et les ions Mn^{II} qui stabilise la coquille de $MnFe$.

La limitation de la relaxivité des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ par le temps de corrélation rotationnel a également été confirmée par la comparaison de la valeur de r_1 obtenue pour les particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [6] et [33] à $5^\circ C$ et $37^\circ C$, comme montré sur la figure ci-dessous.

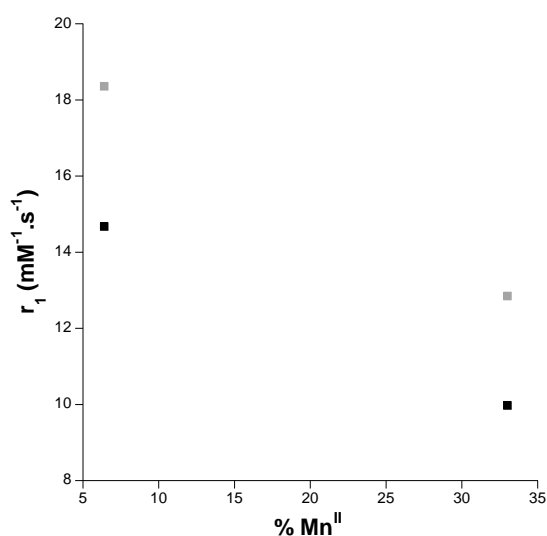


Figure II-19. Valeurs de r_1 à $5^\circ C$ et $37^\circ C$ des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [6] et [33], enregistrées à 60 MHz

Pour les particules dopées à 6% en Mn, la relaxivité évolue de $14,7 mM^{-1}.s^{-1}$ à $18,4 mM^{-1}.s^{-1}$ à $5^\circ C$ et de $10,0 mM^{-1}.s^{-1}$ à $12,9 mM^{-1}.s^{-1}$ à $5^\circ C$ pour les particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [33]. Cette augmentation de la relaxivité à basse température suggère que le paramètre limitant est le temps de corrélation rotationnel. En effet, à plus basse température les particules précessent plus lentement entraînant alors une augmentation de la relaxivité. Si le temps d'échange des molécules d'eau dans la sphère de coordination du Mn^{II} avait été le temps limitant alors la relaxivité aurait été supérieure à $37^\circ C$ puisque la température favorise une diffusion plus rapide des molécules d'eau et donc un temps d'échange plus court.

III.5. Etude du relargage

Des expériences complémentaires d'ultrafiltration ont également été menées afin de confirmer l'absence de relargage d'ions Mn^{II} libres. Pour cela, les particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [33] ont été redispersées à 10mM puis centrifugées pendant 20 minutes à 5000g à trois reprises successives et lavées avec 1mL d'eau après chaque centrifugation. Le filtrat récupéré a d'une part été sondé en relaxivité et d'autre part analysé en ICP afin de détecter la présence ou non d'ions Mn^{II} . Le principe de l'ICP ainsi que le protocole expérimental ayant permis le dosage du Mn^{II} et de l' In^{III} dans le filtrat récupéré, sont présentés annexe 2. J'ai réalisé ces expériences avec l'assistance de P. Mejanelle. Le temps T_1 mesuré sur ce filtrat correspondait à celui de l'eau, écartant alors la présence d'ions paramagnétiques. De plus, le dosage du filtrat par ICP a révélé la présence d'une quantité négligeable de Mn^{II} égale à $4 \mu g.L^{-1}$ soit 75 nM correspondant à un relargage de 0,4% d'ions Mn^{II} par rapport à la concentration initiale en Mn^{II} lors de la redispersion des particules en solution aqueuse avant ultrafiltration. Aucune trace d' In^{III} n'a été détectée sachant que le seuil de détection de l' In^{III} par ICP à la longueur d'onde utilisée est inférieur à un relargage de 2%. Ces deux expériences complémentaires confirment donc les observations faites sur la base des profils obtenus : la relaxivité r_1 des particules de $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ est donc bien limitée par le temps de corrélation rotationnel et les redispersions de ces particules sont stables avec un relargage d'ions Mn^{II} extrêmement faible et donc non toxique pour l'organisme.

III.6. Système optimal

III.6.1. Relaxivité optimale

Dans les résultats de relaxivité présentés et discutés précédemment, il s'agissait de la relaxivité par atome de Mn^{II} or il est également important de représenter la relaxivité totale de ces objets, c'est-à-dire la relaxivité par particule, pour les différents taux de Mn^{II} . En effet, c'est la relaxivité par particule qui est à l'origine de leur efficacité en tant qu'agent de contraste. Les valeurs de relaxivité par particule sont données dans le tableau II-10. Cette estimation est cependant faussée pour les taux élevés de Mn^{II} qui correspondent à de grandes tailles de particules. En effet, l'énorme proportion d'ions Mn^{II} en surface des particules [53],

[77] et [91] compense la faible relaxivité par Mn^{II} que présentent ces objets. Une particule de 16 nm^3 ($\sim 90\%$ en Mn^{II}) contient autant d'atomes que 27 particules de $5,3\text{ nm}^3$ (obtenues pour 6% de Mn^{II}), comme illustré sur la figure II-20.

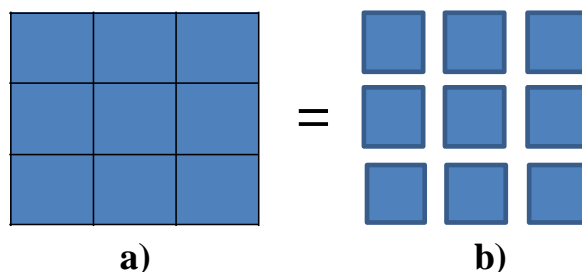


Figure II-20. Face d'une particule de 16 nm^3 (a) contenant autant d'atomes que neuf particules de $5,3\text{ nm}^3$ (b)

Or, le contraste issu de l'injection de 27 particules de $5,3\text{ nm}^3$ peut s'avérer bien supérieur à celui généré par l'injection d'une particule de 16 nm^3 . Afin de déterminer l'objet présentant la relaxivité optimale pour le minimum d'ions métalliques injectés, il faut donc considérer un même nombre total d'atomes. Dans cette étude, nous avons considéré 741 atomes au total d'où une taille de particule égale à $5,2\text{ nm}$ indépendamment du taux de Mn^{II} . D'autre part, ceci permet de comparer le contraste obtenu en fonction du taux de Mn pour un même quantité d'ions métalliques injectés c'est-à-dire pour une même toxicité. Les résultats sont présentés dans le tableau II-10.

$\% Mn^{II}$	r_1/Mn^{II} ($mM^{-1}.s^{-1}$)	N_{at} total	N_{at} Mn^{II}	r_1 /particule pour une taille donnée
6,4	16,21	741	47	762
15	10,82	741	111	1201
18	9,00	741	134	1206
27,2	10,04	741	202	2028
33	9,98	741	245	2445
40,2	6,36	741	298	1895
53	3,41	741	393	1340
77	1,62	741	571	925
91	1,18	741	674	795

Tableau II-10. Relaxivité par particule $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ en fonction du taux de Mn^{II} , en considérant un même nombre total d'atomes (741 atomes)

Sur la figure II-21 est représentée l'évolution de la relaxivité par particule en fonction du taux de Mn^{II} en considérant une même taille de particule (5,2 nm), indépendamment du taux de Mn^{II} .

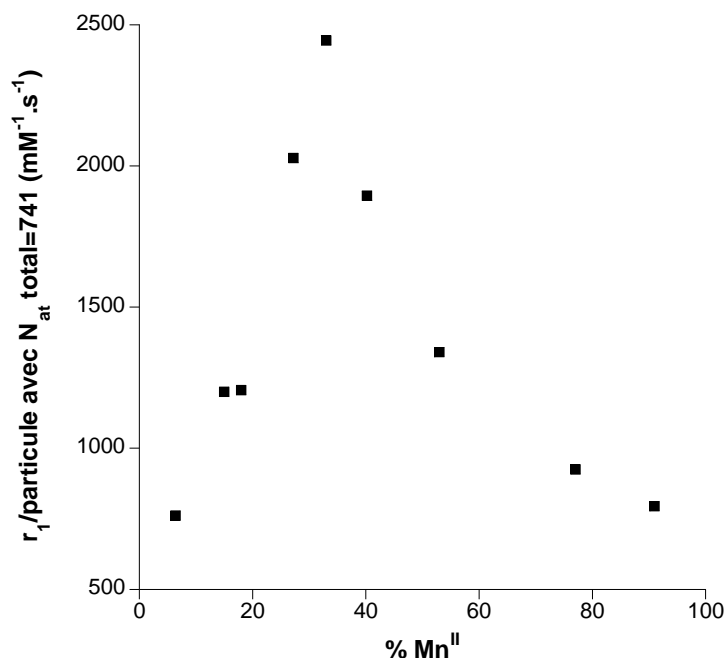


Figure II-21. Relaxivité longitudinale par particule en fonction du taux de Mn^{II} pour une taille fixée à 5,2 nm

D'après les valeurs de relaxivité par particule rapportées à un même nombre d'atomes total et donc à une même toxicité, la relaxivité optimale, égale à $2445 \text{ mM}^{-1}.\text{s}^{-1}$, est obtenue pour les particules dopées à 33% en Mn^{II} . Sachant que la relaxivité du GdDTPA vaut $4,2 \text{ mM}^{-1}.\text{s}^{-1}$, il faudrait alors injecter 582 chélates de Gd^{III} pour avoir la même efficacité qu'une seule particule de $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ dopée à 33% en Mn^{II} . Cette valeur de relaxivité élevée pour ces nanoparticules à base de Mn^{II} peut s'expliquer par un effet de concentration locale en ions paramagnétiques. En effet, ces nanoparticules de $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [33] d'une taille de 5,2 nm contiennent 245 atomes de Mn^{II} au sein d'un même objet alors que les agents T_1 commerciaux sont des complexes moléculaires contenant alors un seul ion paramagnétique avec un certain nombre de molécules d'eau dans sa sphère de coordination. Ce résultat prouve donc les avantages de ces nanoparticules d'ABP en tant qu'agents de contraste T_1 pour l'IRM en comparaison avec les chélates de Gd^{III} utilisés actuellement en milieu clinique. D'autre part, afin de déterminer le système optimal, l'effet de la densité de dextran enrobant les particules de $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [33] sur la relaxivité a également été étudié.

III.6.2. Enrobage optimal

Pour déterminer la densité optimale de dextran, la relaxivité longitudinale des particules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ [33] enrobées de 12,5 ; 25 et 50 équivalents de dextran par rapport aux ions $[\text{Mn}^{\text{II}}+\text{In}^{\text{III}}]$ a été étudiée. En effet, une plus grande quantité de chaînes dextran enrobant les particules pourrait peut-être ralentir leur précession permettant ainsi d'exalter davantage la relaxivité des particules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ [33]. Les résultats obtenus sont présentés ci-dessous sur la figure II-22.

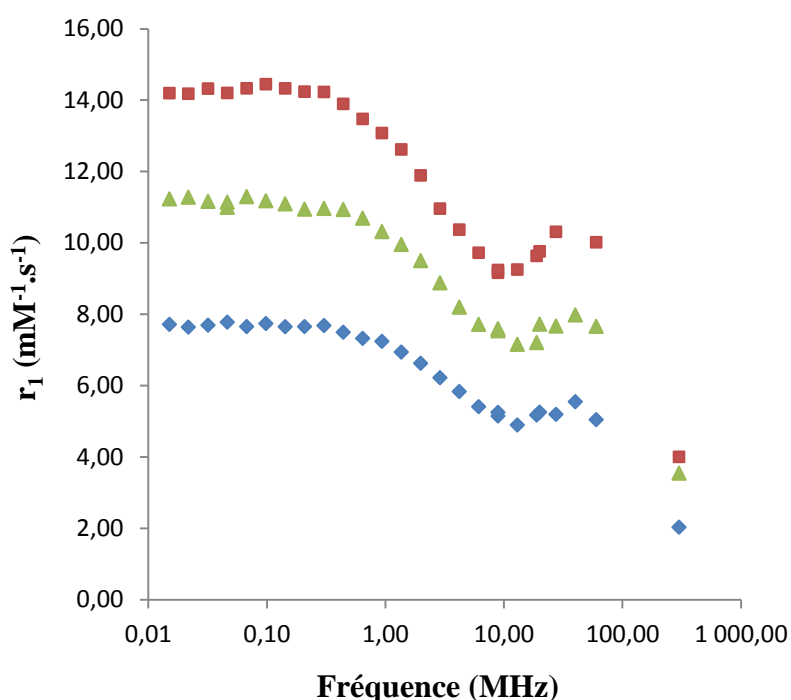


Figure II-22. Profils NMRD des particules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ [33] entourées de 12,5 ; 25 et 50 équivalents de dextran, enregistrés à 37°C entre 0,01 et 300 MHz

Il s'agit ici de la relaxivité moyenne par ion Mn^{II} . Tout d'abord, indépendamment du taux de dextran les profils en fréquence conservent la même allure caractéristique d'une relaxivité limitée par le temps de corrélation rotationnel. La relaxivité optimale est obtenue pour les particules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ [33] enrobées par 25 équivalents de dextran. Avec 12,5 équivalents de dextran autour des particules, le polymère ne semble avoir aucune influence sur la relaxivité puisque celle-ci est proche de la relaxivité des particules nues égale à $7\text{mM}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$, mesurée en solution colloïdale à 60 MHz et à 37°C. Avec 50 équivalents de dextran, la

relaxivité est inférieure à celle des particules enrobées par 25 équivalents de dextran. Ceci pourrait s'expliquer par une diffusion plus difficile des molécules d'eau à travers la couche de polymère entraînant une diminution de la relaxivité. Cette étude montre que le polymère joue un rôle sur la relaxivité et qu'il est important de trouver le bon compromis entre une densité de chaînes de dextran suffisamment importante pour ralentir la précession des particules mais aussi suffisamment perméable à la bonne diffusion des molécules d'eau vers la sphère de coordination des ions Mn^{II} . De plus, il est clair que le polymère a un effet positif sur la relaxivité puisque les particules enrobées de dextran présentent des valeurs de relaxivité supérieures à celles des particules nues ($r_1 = 7mM^{-1}.s^{-1}$ à 60 MHz et à 37°C) indiquant un bon échange des molécules d'eau à travers la couche de polymère. Dans le cas de ces particules de $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$, le système optimal en tant qu'agents de contraste T_1 pour l'IRM est donc celui dopé à 33% en Mn^{II} et entouré par 25 équivalents de dextran. C'est pourquoi, dans la suite de ce travail, dédié davantage aux applications biologiques et médicales de ces nano-objets, nos efforts se sont donc portés sur les nanoparticules de $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [33]@(dext)₂₅.

IV. IMAGES DE CONTRASTE T_1 DES NANOPARTICULES $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [33]@(dext)₂₅

IV.1. Comparaison du contraste T_1 des nanoparticules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [33]@(dext)₂₅ avec le Gd-DTPA

Le contraste T_1 généré par les particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [33]@(dext)₂₅ en comparaison avec le Gd-DTPA (agent T_1 commercial) a été vérifié et est présenté sur la figure II-23.

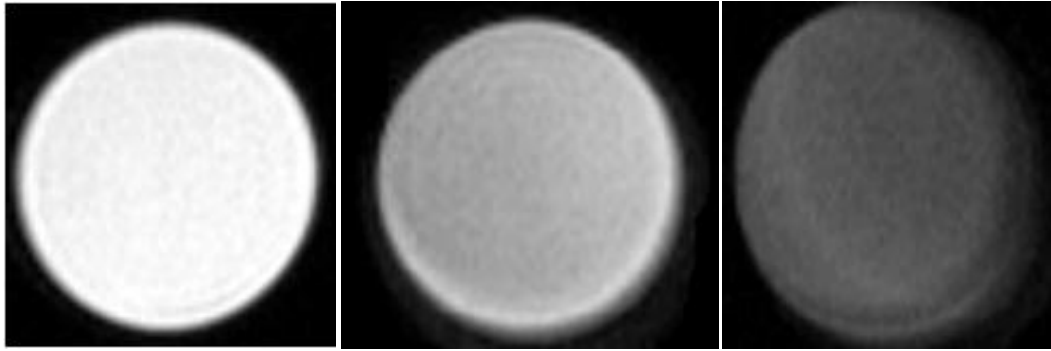


Figure II-23. Images de contraste pondérées en T_1 des nanoparticules $Mn^{II}In^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [33]@(dext)₂₅ avec $[Mn^{II}] = 0,2$ mM (gauche), du Gd-DTPA avec $[Gd^{III}] = 0,2$ mM (centre) et de l'eau (droite) enregistrées à 7 T en solution aqueuse. (TR = 22ms et TE = 3 ms)

Ces images de contraste pondérées en T_1 ont été enregistrées à une faible concentration en ions paramagnétiques (0,2 mM) ainsi qu'à haut champ (7 T). En se référant aux profils des particules de Mn^{II} présentés précédemment, c'est à 300 MHz que la relaxivité longitudinale par ions Mn^{II} est la plus faible. En effet, en travaillant à haut champ, la valeur de r_2 augmente renforçant alors le contraste T_2 et diminuant ainsi l'efficacité sur la relaxation longitudinale des spins nucléaires des protons de l'eau. Néanmoins, il apparaît clairement que les nanoparticules d'ABP à base d'ions Mn^{II} améliorent considérablement le contraste en comparaison avec le Gd-DTPA même à une faible concentration en ions paramagnétiques (0,2 mM) et à haut champ prouvant ainsi le fort potentiel de ces nanoparticules de réseaux de coordination comme agent de contraste T_1 . Cette exceptionnelle efficacité même à haut champ et à faible concentration des particules $Mn^{II}In^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [33], peut s'expliquer par une valeur faible du rapport r_2/r_1 à 300 MHz. En effet, en raison du faible nombre de sites paramagnétiques présents au sein de ces nanoparticules de 5 nm de diamètre (seulement 245 atomes de Mn^{II} par particule sachant que l' In^{III} et le Fe^{II} sont diamagnétiques) combiné à un bon échange des molécules d'eau dans la sphère de coordination des ions Mn^{II} situés en périphérie des particules, la valeur de r_2 reste modérée même à haut champ permettant de conserver le fort potentiel des ces nanoparticules en tant qu'agent de contraste T_1 . Les appareils IRM utilisés actuellement en milieu hospitalier travaillent à une fréquence de 3 T (120 MHz) ce qui donneraient un contraste pondéré en T_1 meilleur que celui présenté ci-dessus. Néanmoins, il en serait de même pour le Gd-DTPA conduisant à une même différence de contraste entre les deux systèmes même à plus bas champ. De plus, ces images de contraste ont été enregistrées à un temps de récupération très faible (TR = 22 ms) prouvant une relaxation longitudinale rapide des spins nucléaires des protons de l'eau en présence des

nanoparticules de $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ [33]. En effet, TR correspond au temps écoulé entre deux impulsions radiofréquences à 90° ce qui signifie que le temps de relaxation longitudinale T_1 des spins nucléaires des protons de l'eau est inférieur à 22 ms. Ces temps courts sont très favorables puisqu'ils permettent de diminuer le temps d'un examen IRM du patient. Enfin, cette mesure de contraste a été effectuée six mois plus tard sur la même redispersion de nanoparticules $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ [33]@(dext)₂₅ conduisant à un résultat identique et prouvant ainsi la grande stabilité colloïdale de ces objets.

IV.2. Effet du polymère sur le contraste pondéré en T_1 des nanoparticules $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ [33]@(dext)₂₅

Les images de contraste T_1 ont également été enregistrées à 300 MHz sur des redispersions en solution aqueuse des nanoparticules dopées à 33% en Mn^{II} et enrobées par 12,5 ; 25 et 50 équivalents de dextran. Les résultats obtenus sont présentés ci-dessous.

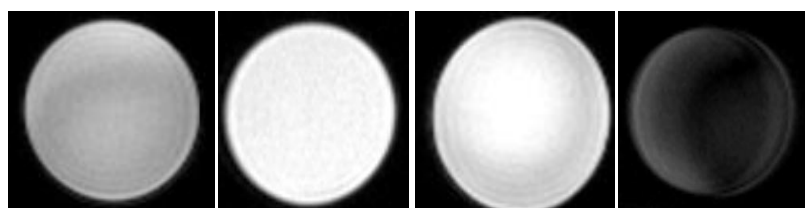


Figure II-24. Images de contraste pondérées en T_1 des nanoparticules $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ [33]@(dext)_x avec $[\text{Mn}^{\text{II}}] = 0,2$ mM et $x = 12,5 ; 25$ et 50 équivalents et l'eau (de gauche à droite) enregistrées à 7 T en solution aqueuse (TR = 22 ms et TE = 3 ms).

Comme précédemment les images de contraste ont été enregistrées à 0,2 mM en Mn^{II} et l'eau a été prise comme référence. Ces résultats sont en accord avec les valeurs de relaxivité obtenues à 300 MHz pour ces trois systèmes (cf. figure II-22). En effet, le meilleur contraste est obtenu lorsque les particules sont entourées par 25 équivalents de dextran, système déterminé précédemment comme optimal. Avec 12,5 équivalents de dextran, le contraste est moins bon et avec 50 équivalents le contraste est meilleur et très proche de celui obtenu pour le système optimal enrobé par 25 équivalents de dextran. Ceci est cohérent puisqu'à 300 MHz les particules entourées de 25 équivalents de dextran ont une relaxivité de $4 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ et celle contenant 50 équivalents de dextran de $3,6 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, comme montré sur la figure II-22. Ces résultats sont donc en bon accord avec les valeurs de relaxivité en fonction du champ

obtenues précédemment, et prouve une nouvelle fois que les particules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ [33]@(dext)₂₅ constituent le système optimal.

IV.3. Effet de la concentration en Mn^{II} sur le contraste pondéré en T_1 des nanoparticules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ [33]@(dext)₂₅

Les images de contraste T_1 des nanoparticules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ [33]@(dext)₂₅ en fonction de la concentration en Mn^{II} ont été enregistrées à 300 MHz sur des redispersions de ces particules en solution aqueuse, comme montré sur la figure II-25.

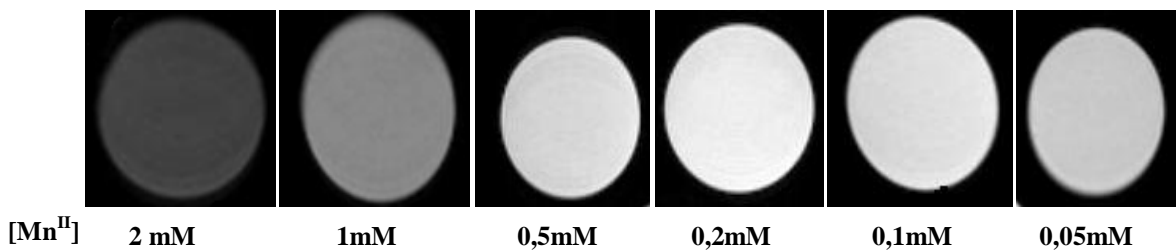


Figure II-25. Images de contraste pondérées en T_1 des nanoparticules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ [33]@(dext)₂₅ en fonction de la concentration en Mn^{II} , enregistrées à 7 T en solution aqueuse (TR = 22 ms et TE = 3 ms)

Le meilleur contraste T_1 semble être obtenu pour une concentration de 0,2 mM en Mn^{II} . En effet, à plus forte concentration (1 mM et 2 mM en Mn^{II}) les moins bons contrastes obtenus sont liés à une plus forte diminution des valeurs de r_1 à haut champ.¹⁵ Bien que légèrement moins performants, les contrastes enregistrés à 0,1 mM et 0,05 mM en Mn^{II} sont suffisants. Cependant, il serait préférable d'injecter les particules à une concentration plus élevée afin que suffisamment de composé puisse atteindre les tissus de l'organisme soumis à l'examen IRM et ainsi exalter l'effet de concentration locale responsable des valeurs élevées de relaxivité par particule déterminées précédemment. Il est donc important de trouver le bon compromis entre une concentration suffisante en ions Mn^{II} permettant de générer un bon contraste et d'atteindre les zones d'intérêt de l'organisme tout en gardant une toxicité acceptable. Les études de toxicité sont présentées par la suite.

V. TOXICITE DES NANOPARTICULES $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [33]@(dext)₂₅

Pour compléter ce travail, des études de toxicité des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [33]@(dext)₂₅ ont été menées à l'université de Lyon 1 au LPCML par Lucie Sancey. Il est important de rappeler qu'en dépit de la présence de cyanures, ceux-ci sont très fortement liés au fer. En effet, le bleu de Prusse est extrêmement stable même à pH acide (constante de solubilité très faible telle que $K_s = 10^{-84}$)¹⁶ et peut-être classé comme composé non toxique. En effet, des capsules de bleu de Prusse « Radiogardase® » ont été administrées par voie orale (3g/jour) aux patients contaminés au ¹³⁷Cs et ¹³⁴Cs (tragédie de Goiânia au Brésil en 1987) sans présenter aucun effets secondaires.^{17, 18} D'autre part, l'utilisation orale du bleu de Prusse comme antipoison à la contamination au césium radioactif et au thallium non radioactif a été récemment approuvée par la FDA (US Food and Drugs Administration).¹⁹

Le protocole d'étude de toxicité est basé sur la transformation d'un sel de tétrazolium (MTT) en un colorant bleu par les mitochondries des cellules. Une fois transformé, ce composé est alors solubilisé et l'absorbance à 570nm est mesurée. La transformation de ce sel atteste de la viabilité cellulaire. Ces études ont été réalisées sur 96 puits contenant chacun 15 000 cellules mises en culture 24h avant l'expérience. Cette étude de toxicité des nanoparticules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [33]@(dext)₂₅ a été réalisée sur deux types de lignée cellulaires, des cellules embryonnaires humaines de reins (HEK-293) et des carcinomes murins mammaires (TSA). Les nanoparticules ont été injectées dans le milieu de culture cellulaire à des concentrations variables allant de 0,01 mM à 5 mM en nanoparticules puis placées à 37°C et sous 5% de CO₂. Les tests MTT ont été menés 1h et 24h après l'injection des particules. Malgré la biocompatibilité du dextran, la toxicité de ce polymère a également été explorée, toxicité pouvant être engendrée à cause d'une quantité trop importante de dextran « ingérée » par les cellules. Pour cela, la toxicité du dextran a été évaluée de sorte que sa concentration soit la même que dans les échantillons de nanoparticules [33] enrobées par 25 équivalents de dextran pour les différentes concentrations dont la toxicité a été mesurée. Les résultats obtenus concernant la toxicité des $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [33]@(dext)₂₅ sur les deux lignées cellulaires sont présentés sur la figure II-26. Ces résultats sont comparés à ceux obtenus sur les mêmes types de cellules mais sans exposition aux nanoparticules (Contrôle positif). Concernant le contrôle de mort cellulaire (Contrôle négatif), les cellules ont été incubées en présence de 10 µM de

staurosporine, molécule induisant l'apoptose (mort cellulaire). Ces mesures de toxicité ont été effectuées trois fois afin de s'assurer de la fiabilité des résultats obtenus.

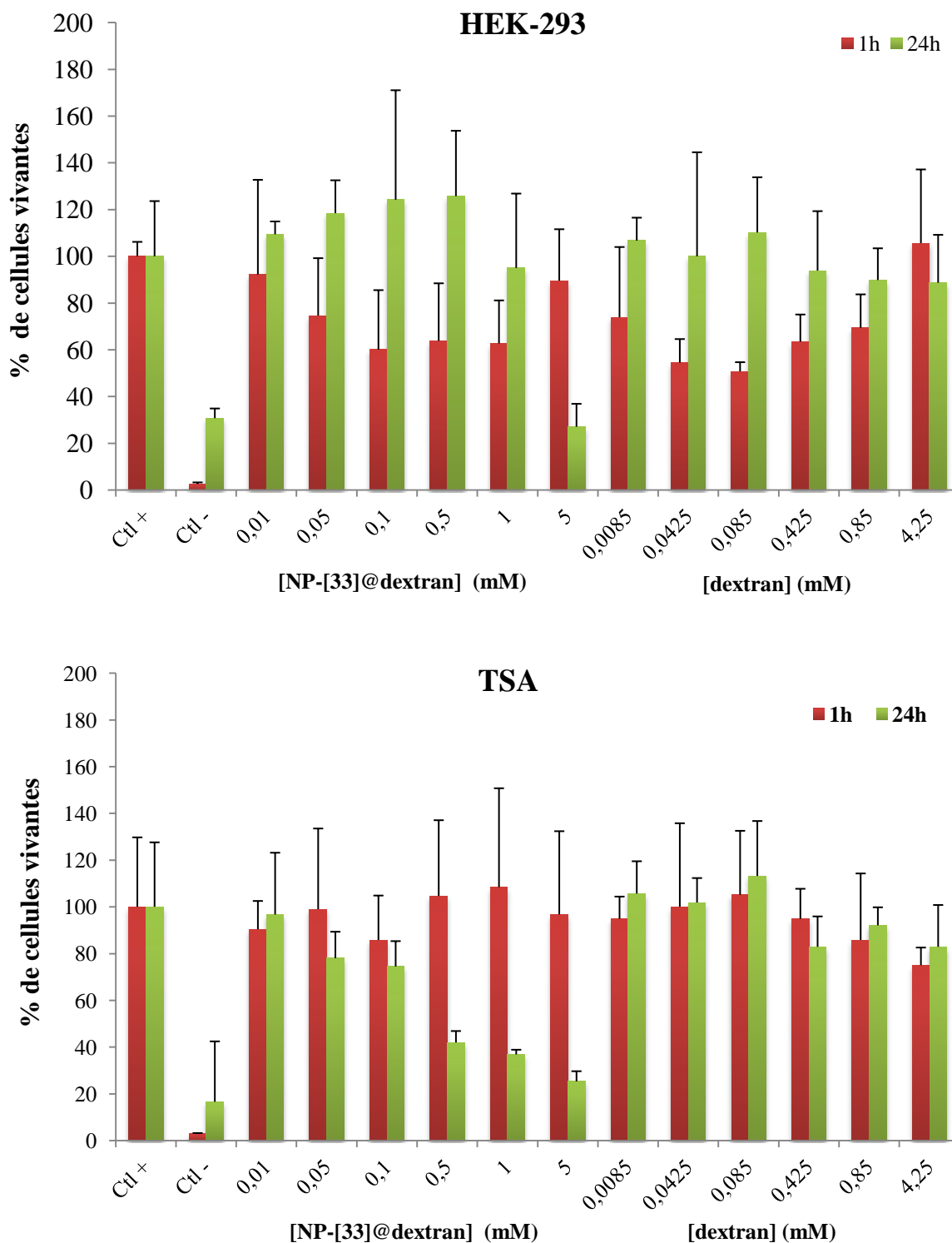


Figure II-26. Etudes de toxicité des nanoparticules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y [33]@(dext)_{25}$ à différentes concentrations sur deux lignées cellulaires : HEK-93 (haut) et TSA (bas)

Aucune toxicité des nanoparticules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ [33]@(dext)₂₅ n'est observée après 24h sur les cellules HEK-93 jusqu'à une concentration de 5 mM. De plus, le pourcentage de cellules viables est comparable dans le cas des particules et du dextran pur confirmant la non toxicité de ces nanoparticules sur les cellules embryonnaires humaines de reins, organe d'élimination majeur. En revanche concernant la lignée cellulaire TSA, bien qu'aucune toxicité ne soit observée 1h après l'injection des particules, celles-ci commencent à avoir un effet non négligeable sur la viabilité cellulaire à partir d'une concentration de 0,5 mM, 24h après l'injection des particules et révélant un IC₅₀ de 3,8 mg.L⁻¹ (532 μM en nanoparticules [33]). Pour conclure, les nanoparticules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ [33]@(dext)₂₅ ont une toxicité dépendante de la lignée cellulaire. En effet, ces nanoparticules ne sont pas toxiques pour les cellules HEK-93 même 24h après l'injection et à des concentrations élevées mais présentent une faible toxicité à partir de 24h et d'une concentration de 0,5 mM pour les cellules TSA. Une explication pourrait être le caractère cancéreux des cellules TSA entraînant un dérèglement des récepteurs pouvant être impliqués dans des mécanismes d'internalisation ou de défense de la cellule par exemple. La toxicité est toutefois faible par rapport à d'autres systèmes à base de Mn.

Pour aller plus loin dans les applications, les particules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ [33]@(dext)₂₅ ont été internalisées dans des cellules vivantes et leur internalisation a été suivie par microscopie confocale de fluorescence.

VI. INTERNALISATION CELLULAIRE DES NANOPARTICULES $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ [33]@(dext)₂₅

VI.1. Synthèse des particules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ [33] enrobées de dextran-TRITC

Pour pouvoir imager les particules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ dopées à 33% en Mn^{II} et donc suivre leur internalisation dans des cellules vivantes par microscopie confocale de fluorescence, un enrobage par un dextran fonctionnalisé par un fluorophore, le TRITC

(TétraméthylRhodamineIsoThioCyanate) a été mis au point. La structure chimique du dextran-TRITC est présentée sur la figure II-27.

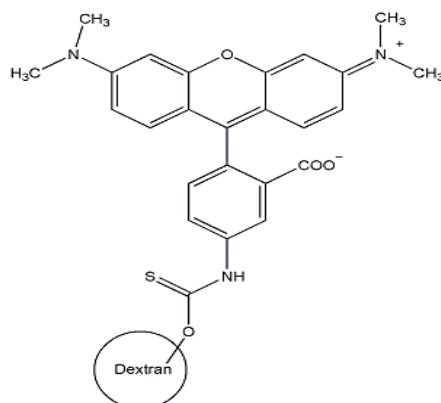


Figure II-27. Structure chimique du dextran-TRITC

Le TRITC est un fluorophore, dérivé de la rhodamine, qui est excité aux alentours de 540 nm et qui fluoresce entre 550 et 700 nm avec un maximum d'émission de fluorescence aux alentours de 580 nm. La solubilité du dextran-TRITC est différente de celle du dextran. En effet, en suivant le même protocole expérimental que lors de l'enrobage des nanoparticules au dextran, les particules enrobées de dextran-TRITC n'ont pas pu être précipitées à l'acétone. Tout d'abord, 25 équivalents de dextran-TRITC par rapport aux ions Mn^{II} et In^{III} ont été ajoutés, afin de favoriser l'interaction entre ce polymère et les particules. Le TRITC confère une couleur rose intense à la solution contenant les nanoparticules en suspension. Ensuite 25 équivalents de dextran non marqué ont été ajoutés permettant la précipitation des nanoparticules entourées de dextran-TRITC avec 1,2 équivalents d'acétone par rapport au volume total de solution. Cette solution a été centrifugée une première fois pendant 45 minutes à 2°C puis une seconde fois pendant 30 minutes à 2°C tout en veillant à ce que le surnageant ne soit plus rose afin de s'assurer du bon enrobage des particules par ce polymère fluorescent. Les objets résultant de cette synthèse seront appelés par la suite [33]-TRITC.

VI.2. Etude des redispersions

VI.2.1. DDL

La stabilité des redispersions au cours du temps des particules [33]-TRITC a été caractérisée par DDL comme montré sur la figure II-28.

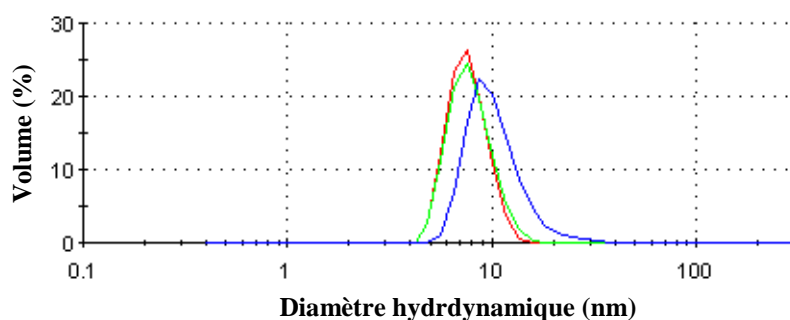


Figure II-28. Taille des nanoparticules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [33]-TRITC : 30minutes à température ambiante en solution aqueuse (rouge), redispersion dans l'eau à 10 mM (vert) et redispersion à 0,5 mM dans l'eau 10 jours après la synthèse (bleu)

Les nanoparticules [33]-TRITC présentent une taille moyenne de 7 nm en solution colloïdale à la fin de la synthèse (cf. distribution de taille en rouge sur la figure II-28) ce qui est en accord avec la taille moyenne obtenue par DDL pour les particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [33] enrobées de dextran. De plus, ces particules sont bien redispersables à 10mM en solution aqueuse, en effet aucune évolution de taille n'est observée jusqu'à 24h. Après 10 jours, la redispersion à 0,5 mM des particules [33]-TRITC nous prouve la stabilité de ces objets. En effet, la taille se situe aux alentours de 8 nm.

VI.2.2. Spectroscopie UV-visible

Comme dit précédemment, le chromophore TRITC confère une couleur rose intense à la solution colloïdale de particules de $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ dopées à 33% en Mn^{II} . Ceci a permis d'évaluer, par spectroscopie d'absorption UV-visible, les proportions de dextran-TRITC,

autour des particules ainsi que n'ayant pas été récupérées lors de la précipitation de celles-ci. L'étude a porté sur la redispersion des particules [33]-TRITC et sur le surnageant récupéré après les étapes de centrifugation. Tout d'abord, une droite d'étalonnage a été établie afin de déterminer précisément le coefficient d'extinction molaire du dextran-TRITC. Cette droite étalon a été tracée à 543 nm, longueur d'onde utilisée par la suite pour le suivi de l'internalisation des particules par microscopie confocale de fluorescence. La figure II-29 représente les spectres d'absorption UV-visible, centrés aux alentours de 543nm, obtenus pour différentes concentrations en dextran-TRITC ainsi que pour les particules [33]-TRITC et le surnageant résultant de la synthèse de ces particules.

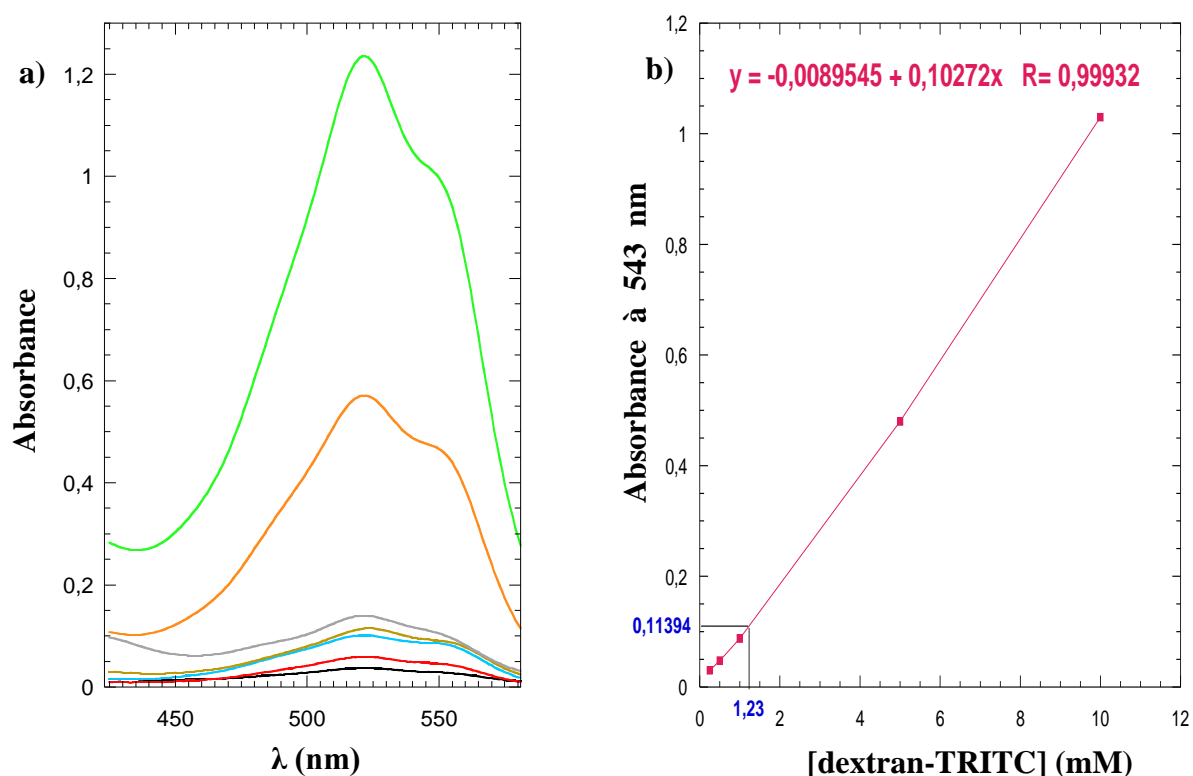


Figure II-29. a) Spectres d'absorption en fonction de la concentration en dextran-TRITC : à 10 mM, 5 mM, 1 mM, 0,5 mM, 0,25 mM et spectre d'absorption des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [33]@(dext)₂₅ à 0,07 mM (marron) ainsi que du surnageant résultant (gris). **b)** Droite d'étalonnage : absorbance du dextran-TRITC à 543 nm en fonction de la concentration en dextran-TRITC en mM

Le coefficient d'extinction molaire correspondant à la pente de la droite est obtenue par régression linéaire. Il est de $102,7 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ par monomère dextran-TRITC. Sachant que le coefficient d'extinction molaire du TRITC est de $100\,000 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$, ceci correspond à

0,1% de motifs dextran porteurs du fluorophore, et correspond bien à la valeur indiquée par le fournisseur (0,1-0,8%). En analysant le surnageant, qui présente une absorbance à 543 nm de 0,114, une concentration de 1,20 mM est déduite à partir du coefficient précédemment déterminé. La valeur de la concentration a également été confirmée graphiquement comme montré sur la figure II-29b). La concentration initiale en dextran-TRITC étant de 6,25 mM (concentration correspondant à 25 équivalents par rapport à l'unité $[\text{In}^{\text{III}}+\text{Mn}^{\text{II}}]$) ceci signifie que 81% du dextran-TRITC a été récupéré avec les particules. Ceci ne signifie pas que le dextran-TRITC resté dans le surnageant est libre en solution, il peut par exemple être associé à de petites particules n'ayant pas précipité.

Par ailleurs, la redispersion des particules [33]-TRITC a été étudiée par spectroscopie UV-visible à 0,25 mM en unité formulaire, $\text{K}_{0,48}\text{Mn}_{0,28}\text{In}_{0,72}[\text{Fe}(\text{CN})_6]_{0,8}(\text{H}_2\text{O})_{35}(\text{dext})_{47}$, déterminée par EDS et analyse élémentaire. L'absorbance mesurée à 543 nm est de 0,53, ce qui correspond à une concentration en dextran-TRITC de 5,2 mM. Si 100% du dextran enrobant les particules était du dextran-TRITC, cette concentration serait de 11,75 mM (0,25mM x 47 éq.). Ceci signifie que sur les 47 équivalents de dextran enrobant les particules, 21 équivalents correspondent à du dextran-TRITC. Ceci est proche des proportions introduites initialement (25 équivalents de chaque dextran).

VI.2.3. Spectroscopie de fluorescence

Pour évaluer l'émission de fluorescence, la solution colloïdale des particules [33]-TRITC a été diluée de sorte à avoir une absorbance proche du dextran-TRITC à 1 mM. Ceci nous permettra par la suite de comparer l'émission de fluorescence du dextran-TRITC seul et du dextran-TRITC enrobant la particule pour une même quantité de photons absorbés. Nous avons choisi de sonder le dextran-TRITC à 1 mM car son absorbance à 543 nm se situe aux alentours de 0,1 évitant ensuite la saturation du signal d'émission de fluorescence. Les caractéristiques spectrales des particules [33]-TRITC et du dextran-TRITC à 1 mM sont présentées sur la figure II-30.

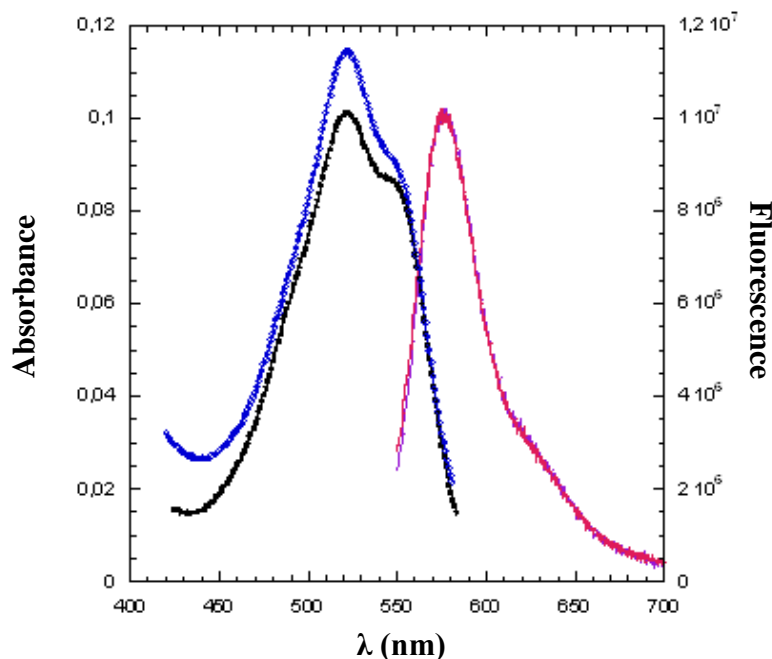


Figure II-30. Spectres d'absorption et d'émission de fluorescence : Absorbance (noir) et fluorescence (violet) du dextran-TRITC seul à 1 mM et absorbance (bleu) et fluorescence (rose) des particules [33]-TRITC.

Les spectres de fluorescence des particules [33]-TRITC ainsi que du dextran-TRITC à 1 mM se superposent exactement alors que l'absorbance de la particule est légèrement supérieure à celle du dextran-TRITC seul. Ceci montre donc l'existence d'une faible inhibition de la fluorescence du TRITC en présence de la particule en comparaison avec le TRITC seul.

En conclusion, nous avons vérifié que les particules [33]-TRITC sont redispersables, stables et présentent une émission de fluorescence préservée.

VI.3. Suivi de l'internalisation cellulaire des particules [33]-TRITC par imagerie confocale de fluorescence

L'étape suivante a consisté à internaliser les particules [33]-TRITC dans des carcinomes murins mammaires et à suivre leur internalisation par microscopie confocale de fluorescence. Cette partie d'internalisation cellulaire a été réalisée au LPCML de l'Université Lyon 1. J'ai assisté à ces expériences d'internalisation cependant les manipulations ont été réalisées par Lucie SANCEY. Les nanoparticules enrobées de dextran-TRITC ont été redispersées dans

l'eau puis injectées dans le milieu de culture cellulaire à une concentration de 1mM. Les nanoparticules ont été incubées pendant 30 minutes puis le milieu de culture a été retiré afin d'éliminer l'excès de nanoparticules n'ayant pas pénétré dans les cellules puis remplacé par un milieu sans particules contenant les éléments essentiels pour la cellule.

Les cellules ont ensuite été observées, en transmission ainsi qu'en fluorescence, à différents temps après l'injection des nanoparticules dans le milieu extracellulaire comme montré sur la figure II-30. L'excitation a été réalisée à 543 nm et l'émission de fluorescence a été collectée de 550 à 695 nm.

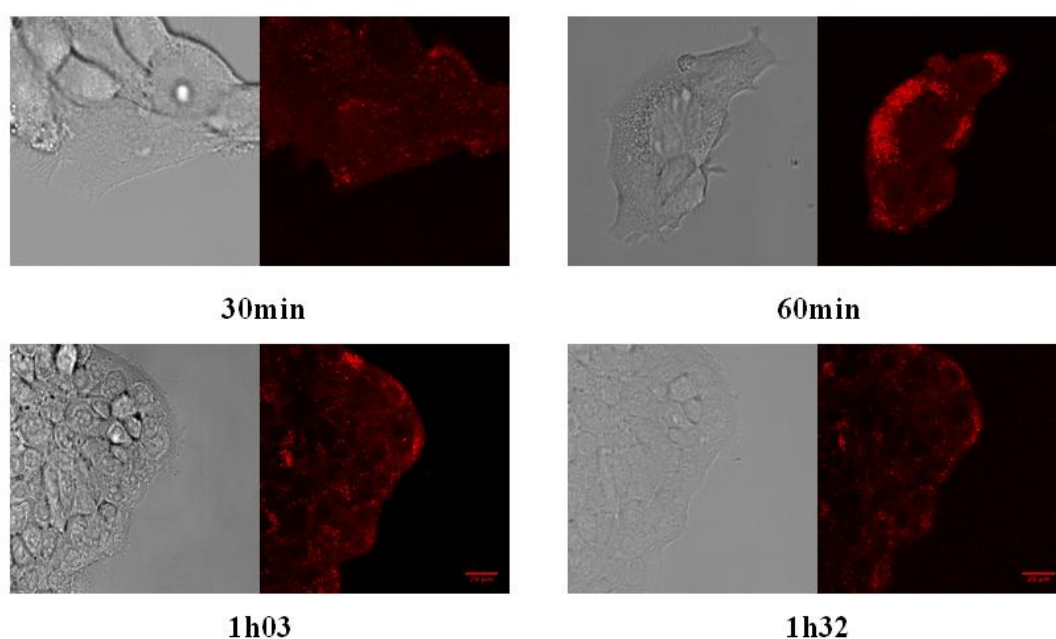


Figure II-31. Images en transmission (à gauche) et en émission de fluorescence (à droite) en fonction du temps des particules [33]-TRITC injectées dans le milieu de culture cellulaire des carcinomes murins mammaires

Ces observations mettent en évidence une internalisation rapide des nanoparticules puisque 30 minutes après l'injection, un nombre non négligeable de particules est présent dans les cellules. D'autre part, les particules sont internalisées sous forme de vésicules, visibles sur les images de fluorescence, suggérant un mécanisme d'internalisation des particules par endocytose ou macropinocytose. Enfin, sur l'image à 60 minutes, il apparaît clairement que les particules ne pénètrent pas dans le noyau cellulaire, ce qui est caractéristique des objets de taille nanométrique. Les résultats positifs obtenus au cours de cette étude nous ont encouragé à aller plus loin dans les applications et à nous diriger vers des études *in-vivo*, comme expliqué dans la partie suivante.

VII. VERS DES ETUDES IN-VIVO

VII.1. Test de biodistribution

Avant l'injection des particules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ [33]@(dext)₂₅, leur stabilité en sérum physiologique a été testée sur une redispersion à 5 mM de ces particules.

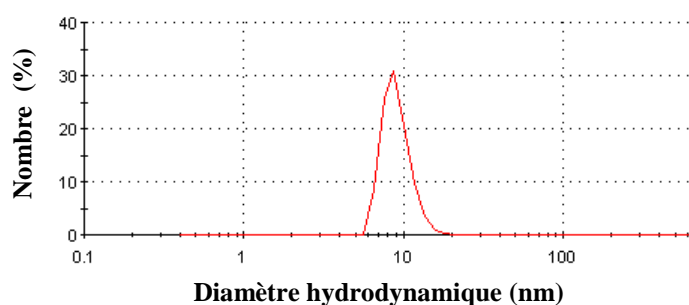


Image II-32. Distribution de taille obtenue par DDL des nanoparticules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ [33]@(dext)₂₅ redispersées à 5 mM en sérum physiologique

La taille moyenne obtenue par DDL est de 8,7 nm ce qui est en accord avec les tailles obtenues en solution colloïdale. Cette mesure atteste de la bonne stabilité de ces objets en sérum physiologique.

Les nanoparticules ont ensuite été injectées dans des souris saines de type albinos à l'Hôpital de Lyon 1 avec Lucie Sancey. Pour cela, les nanoparticules ont été redispersées à 5 mM dans du plasma puis injectées par voie intraveineuse dans les souris placées sous anesthésie générale. Le but est de réaliser un test de biodistribution des particules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ [33]@(dext)₂₅ dans les différents organes de la souris. Nous disposons uniquement de deux souris pour ces premiers tests *in-vivo*. Pour cela, après injection des particules, les souris sont sacrifiées, 1h après l'injection pour l'une et 24h après l'injection pour l'autre, puis disséquées afin de récupérer les différents organes et de doser par ICP leur teneur en Mn^{II} afin de localiser les particules. Pour le premier essai, 200 μL de la redispersion de nanoparticules à 5 mM dans du plasma ont été injectés dans la veine présente dans la queue de la souris. Malheureusement, suite à une accumulation pulmonaire et probablement à un volume de solution colloïdale injecté trop important, la première souris est morte quelques minutes après l'injection. Pour la seconde, un volume de 100 μL de la redispersion de nanoparticules à 5 mM dans du plasma a été injecté. Au réveil de l'anesthésie la souris était bien portante et a été

sacrifiée 1h après l'injection des particules. Les différents organes ont ensuite été récupérés et analysés par ICP afin de déterminer la teneur en Mn^{II} dans chacun d'eux et donc la localisation des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y [33]@(dext)_{25}$ 1h après leur injection. Les résultats sont présentés sur la figure II-33.

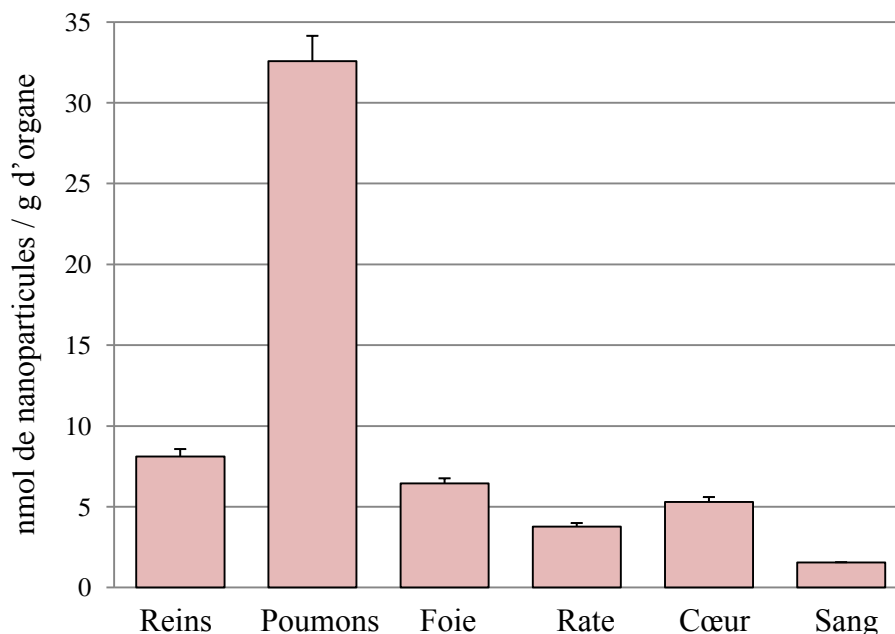


Image II-33. Test de biodistribution des nanoparticules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y [33]@(dext)_{25}$ injectées à 5 mM dans des souris saines de type albinos.

Ces résultats indiquent qu'une bonne partie des particules se localisent dans les reins et dans le foie en quantité légèrement inférieure. Cependant beaucoup de particules restent bloquées dans les poumons, 1h après le sacrifice de la souris. Ceci s'expliquerait par la taille des nanoparticules qui resteraient dans les micro-vaisseaux des poumons alors que très peu de particules se trouvent dans la rate, organe également très vascularisé. La stabilité colloïdale des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y [33]@(dext)_{25}$ à 5 mM en sérum physiologique avait pourtant été vérifiée, écartant la formation d'agrégats. Cette accumulation pulmonaire pourrait être due à une adsorption des particules sur les globules rouges ou bien à une interaction avec une protéine présente dans le sang entraînant une augmentation de la taille des objets ou encore une stabilité différente des particules redispersées dans du plasma en comparaison avec la redispersion en sérum physiologique. Pour cela, il faudrait redisperser les particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y [33]@(dext)_{25}$ à 5 mM dans du plasma et étudier leur stabilité au cours du temps, ce qui sera réalisé dans la suite de ce travail. Malheureusement, il n'a pas été possible de collecter l'urine de la souris après sacrifice afin de voir si des particules avaient déjà été éliminées et donc filtrées par les reins.

Mis à part leur caractère biocompatible et hydrophile, ces polymères ont été choisis car ils pourraient interagir avec les particules soit par liaisons hydrogène (directes ou non) avec les cyanures non pontant de la surface soit par liaisons électrostatiques notamment pour les PEG portant un groupement NH_2 qui devrait être protonné à pH physiologique ($\text{pH} = 7,4$) d'où la possibilité d'interactions électrostatiques avec les particules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ [33] chargées négativement. De plus, l'interaction de ce type de polymère avec des particules d'analogues du bleu de Prusse de type $\text{Gd}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{III}}$ a été rapportée dans la littérature bien qu'il soit difficile de le certifier.²¹

▪ *Enrobages par les PEG fonctionnalisés*

Malheureusement, l'ajout des polymères de type PEG (25 équivalents/ $[\text{Mn}^{\text{II}}+\text{In}^{\text{III}}]$) puis d'acétone n'a pas permis de récupérer les particules après l'étape de centrifugation même en augmentant le volume d'acétone ajouté. Une des stratégies a été de concentrer à l'évaporateur rotatif la solution colloïdale contenant les nanoparticules et le PEG puis de précipiter le tout à l'acétone. Suite à cela une très faible quantité de poudre a été récupérée ne permettant pas de faire les caractérisations nécessaires. Ainsi, les interactions électrostatiques et/ou hydrogène pouvant s'établir entre les groupements terminaux des chaînes PEG et la surface des particules ne sont pas assez fortes pour interagir efficacement avec les particules, ce qui peut s'expliquer par le fait que seules les extrémités de chaîne sont fonctionnalisées.

Afin de confirmer cette hypothèse que les polymères de type PEG n'interagissent pas avec les particules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ [33] des mesures de relaxivité ont été réalisées tout d'abord sur les particules « nues » puis sur la même solution colloïdale de particules « nues » au sein de laquelle 25 équivalents de polymère ont été introduits. Les mesures de relaxivité à 60 MHz et 37°C sont regroupées dans le tableau ci-dessous.

	MnInFe [33] « nues »	MnInFe [33]@PEG-NH₂OH	MnInFe [33]@PEG-NH₂
r_1 (mM⁻¹.s⁻¹)	8,3	9,0	8,2

Tableau 11. Valeurs de $r_1/\text{Mn}^{\text{II}}$ en fonction de l'enrobage à 60 MHz et 37°C

Les relaxivité par Mn^{II} des particules « nues » et des particules en présence de PEG-NH₂OH et PEG-NH₂ sont très proches ce qui prouve que ces polymères n'ont pas d'influence sur la relaxivité des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [33]. De plus, puisque les particules n'ont pas pu être récupérées sous forme de poudre avec ces polymères, ceci confirme l'absence d'interaction entre polymère PEG et particules.

▪ **Enrobages par le PVP**

100 équivalents de PVP par rapport aux ions Mn^{II} et In^{III} ont été introduits dans la solution colloïdale de nanoparticules suivi de l'ajout de 3 équivalents d'acétone permettant la récupération des nanoparticules enrobées de PVP après centrifugation. Les caractérisations chimiques et structurales de ces particules sont présentées en Annexe 7. Les redispersions de ces particules enrobées de PVP sont stables permettant l'enregistrement de leur profil de relaxivité ainsi que la comparaison avec l'enrobage au dextran, comme montré ci-dessous.

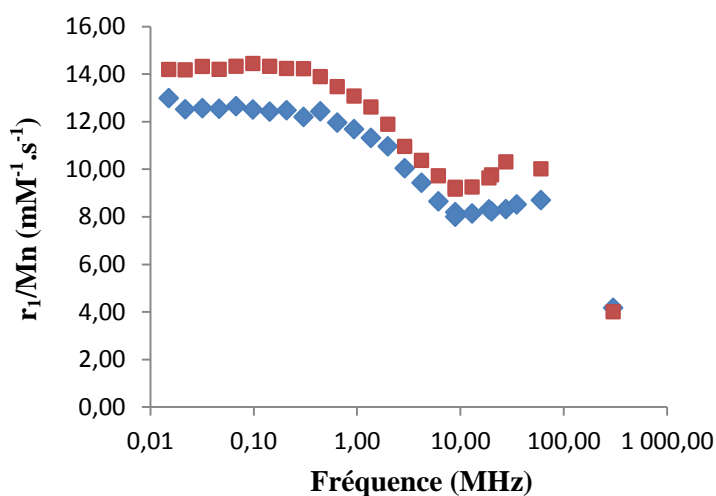


Figure I-35. Evolution de r_1 en fonction de la fréquence à 37°C pour $MnInFe[33]@(dextran)_{25}$ et $MnInFe[33]@(PVP)_{25}$

L'enrobage des particules $MnInFe$ [33] par du PVP abaisse très légèrement les valeurs de relaxivité en comparaison avec l'enrobage au dextran, cependant ces relaxivités restent tout de même très bonnes. De plus, l'allure du profil est caractéristique d'un objet en précession lente, prouvant l'effet positif du PVP sur la relaxivité des particules $MnInFe$ [33]. Par la suite, il faudrait donc vérifier la stabilité de ces objets en conditions *in vivo* pour la réalisation de nouveaux tests de biodistribution, en espérant une bonne élimination rénale ainsi que peu ou pas d'accumulation des objets $MnInFe$ [33]@(PVP)₂₅ dans les poumons.

VIII. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Ce chapitre a été consacré à la synthèse de nanoparticules de réseaux de coordination à base de Mn(II), comme agent de contraste T_1 pour l'imagerie médicale. Pour cela, nos efforts se sont portés sur le réseau d'analogue du bleu de Prusse qui présente de nombreux avantages allant en faveur d'une meilleure relaxivité (grande proportion de sites de surface, bonne stabilité, microporosité). Des nanoparticules de formule $K_2Mn^II_xIn^{III}_{1-x}[Fe^II(CN)_6]_y$ ont été synthétisées en faisant varier le taux de Mn^{II} de 5% à 90% afin d'évaluer l'influence du taux de Mn^{II} sur la relaxivité de ces nano-objets.

L'évolution de la taille des particules en fonction du taux de Mn^{II} , extraite par DDL, DRX et MET, suggère une croissance des particules contrôlée par la nucléation de germes riches en In^{III} et une localisation des ions Mn^{II} en périphérie des particules, répartition caractéristique d'une structure de type cœur-coquille. D'autre part, l'évolution observée en fonction du taux de Mn(II) lors des études magnétiques et des caractérisations par DRX et IR ont confirmé la bonne insertion des ions Mn^{II} au sein du réseau.

Concernant les propriétés de relaxivité longitudinale, des valeurs élevées par ion Mn^{II} de surface (r_1/Mn_s) ont été obtenues conduisant à des performances supérieures à celles obtenues pour des nanoparticules métalliques ou d'oxydes de Mn^{II} , dûe à la grande proportion d'atomes de surface que présentent ces nanoparticules d'analogues du bleu de Prusse. De plus, la relaxivité optimale par particule est obtenue pour les particules dopées à 33% en Mn^{II} et l'étude de l'influence de la densité de dextran sur la relaxivité de ces particules a permis de déterminer le système optimale de formule $Mn^II_xIn^{III}_{1-x}Fe^II_y [33]@(dext)_{25}$. Il est à noter que ces particules génèrent un excellent contraste pondéré en T_1 , supérieur à celui du Gd-DTPA, même à haut champ (7 T) et à faible concentration en ions paramagnétiques (0,2 mM en Mn^{II}), dû à un faible rapport r_2/r_1 ainsi qu'à un faible nombre de sites paramagnétiques de surface (In^{III} et Fe^{II} sont diamagnétiques) couplé à un échange rapide des molécules d'eau dans la sphère de coordination du Mn^{II} . De plus, en raison de leur faible toxicité et de leur grande stabilité, ces nanoparticules d'analogues du bleu de Prusse à base de Mn(II) sont d'excellents candidats en tant qu'agents de contraste T_1 .

Malgré la faible porosité de ces réseaux, empêchant la participation des ions les plus éloignés de la surface, la synthèse des nanoparticules cœur-coquille, par voie séquentielle développée au laboratoire²², illustre la possibilité d'introduire uniquement les ions Mn^{II} nécessaires à la relaxivité des objets tout en diminuant la toxicité. De plus, cela ouvre la voie à la possibilité de créer des objets multimodaux, dont les ions de surface seraient actifs en IRM alors que le cœur pourrait présenter des propriétés optiques ou bien contenir des ions détectables par une autre technique d'imagerie tel que la scintigraphie grâce à la présence des ions $^{111}In^{III}$ comme traceurs.

1. J. Y. P. M. J. Baek, W. Xu, K. Kattel, H. G. Kim, E. J. Lee, A. K. Patel, J. J. lee, Y. Chang, T. J. Kim, J. E. Bae, K. S. Chae and G. H. Lee, *Acs Applied Materials & Interfaces*, 2010, **2**, 2949-2955.
2. K. An, S. G. Kwon, M. Park, H. B. Na, S.-I. Baik, J. H. Yu, D. Kim, J. S. Son, Y. W. Kim, I. C. Song, W. K. Moon, H. M. Park and T. Hyeon, *Nano Letters*, 2008, **8**, 4252-4258.
3. S. Wang, B. R. Jarrett, S. M. Kauzlarich and A. Y. Louie, *Journal of the American Chemical Society*, 2007, **129**, 3848-3856.
4. Y. Prado, *Thèse de doctorat*, 2010.
5. J.-L. Bridot, A.-C. Faure, S. Laurent, C. Riviere, C. Billotey, B. Hiba, M. Janier, V. Josserand, J.-L. Coll, L. Vander Elst, R. Muller, S. Roux, P. Perriat and O. Tillement, *Journal of the American Chemical Society*, 2007, **129**, 5076-5084.
6. W. Zhu, K. Liu, X. Sun, X. Wang, Y. Li, L. Cheng and Z. Liu, *Acs Applied Materials & Interfaces*, 2015, **7**, 11575-11582.
7. N. J. J. Johnson, W. Oakden, G. J. Stanisz, R. S. Prosser and F. C. J. M. van Veggel, *Chemistry of Materials*, 2011, **23**, 3714-3722.
8. E. Csajbok, I. Banyai, L. Vander Elst, R. N. Muller, W. Z. Zhou and J. A. Peters, *Chemistry-a European Journal*, 2005, **11**, 4799-4807.
9. H. B. Na, J. H. Lee, K. An, Y. I. Park, M. Park, I. S. Lee, D.-H. Nam, S. T. Kim, S.-H. Kim, S.-W. Kim, K.-H. Lim, K.-S. Kim, S.-O. Kim and T. Hyeon, *Angewandte Chemie-International Edition*, 2007, **46**, 5397-5401.
10. C.-C. Huang, N.-H. Khu and C.-S. Yeh, *Biomaterials*, 2010, **31**, 4073-4078.
11. H. T. T. Matsuda, K. Hashimoto and S I. Ohkoshi, *Dalton Transactions*, 2006, 5046.
12. V. H. C. Henoumont, L. Vander Elst, S. Laurent and R. N. Muller, *Journal of Physical Chemistry B*, 2010, **114**, 3689-3697.
13. L. V. E. a. R. N. M. S. Laurent, *Encyclopédie EMRS*, 2011.
14. R. B. Clarkson, *Contrast Agents I*, 2002, **221**, 201.
15. A. Bjørnerud, *The Physics of Magnetic Resonance Imaging*, University of Oslo, 2008.
16. E. M. E. J. M. Vertelman, D. Gournis, P. Rudolf, T. Bakas, J. Luzon, R. Broer, A. Pugzlys, T. T. A. Lummen, P. H. M. Van Loosdrecht and P. J. Van Koningsbruggen, *Chemistry of Materials*, 2006, **18**, 1951.
17. F. Guerard, Y.-S. Lee, R. Tripier, L. P. Szajek, J. R. Deschamps and M. W. Brechbiel, *Chemical Communications*, 2013, **49**, 1002-1004.

18. M. Shokeen and C. J. Anderson, *Accounts of Chemical Research*, 2009, **42**, 832-841.
19. Y. Prado, L. Lisnard, D. Heurtaux, G. Rogez, A. Gloter, O. Stephan, N. Dia, E. Riviere, L. Catala and T. Mallah, *Chemical Communications*, 2011, **47**, 1051-1053.
20. D. F. T. a. C. O. Church, *Pharmacotherapy : The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*, 2001, **21**, 1364-1367.
21. M. Perrier, S. Kenouche, J. Long, K. Thangavel, J. Larionova, C. Goze-Bac, A. Lascialfari, M. Mariani, N. Baril, C. Guerin, B. Donnadieu, A. Trifonov and Y. Guari, *Inorganic Chemistry*, 2013, **52**, 13402-13414.
22. L. Catala, D. Brinzei, Y. Prado, A. Gloter, O. Stephan, G. Rogez and T. Mallah, *Angewandte Chemie-International Edition*, 2009, **48**, 183-187.

Chapitre III : Insertion d'ions Cu^{II} et Fe^{III} au sein de nanoparticules d'analogues du bleu de Prusse : vers la synthèse d'objets multimodaux ou à visée thérapeutique

Ce chapitre est consacré à la synthèse de nanoparticules d'analogues du bleu de Prusse présentant soit une modalité d'imagerie combinée à des propriétés de thérapie ou soit deux modalités d'imagerie complémentaires combinées au sein d'un même objet. Pour cela, une première partie de ce chapitre sera consacrée à la synthèse de nanoparticules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ permettant la détection de ces objets par IRM associée à des propriétés de photothermie, dues à l'absorption du BDP dans l'infrarouge. En effet, il a été montré récemment que l'utilisation de nanoparticules de BDP pour le traitement de tumeurs par photothermie était très prometteuse.¹⁻⁷ La seconde partie portera sur l'insertion d'ions Cu^{II} au sein des nanoparticules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ permettant la détection de ces objets par IRM ainsi que par Tomographie à Emission de Positrons (TEP), grâce à la présence des ions Cu^{II} . Ces deux types d'imagerie sont complémentaires, puisque l'IRM est une imagerie de type anatomique et le TEP une imagerie de type fonctionnelle d'où l'intérêt de combiner ces deux propriétés au sein d'un même objet. Ce chapitre sera donc divisé en deux parties : la première partie sera consacrée à la synthèse de nanoparticules de type $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ et la seconde partie portera sur l'élaboration de nanoparticules de type $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$. Dans les deux cas, la structure de ces nanoparticules de type alliage ou cœur-coquille sera étudiée. Pour cela, deux types de synthèse seront employés pour l'élaboration de ces objets puis confrontés sur la base des résultats de relaxivité obtenus.

I. LES NANOPARTICULES $Mn^{II}_xFe^{III}_{1-x}[Fe^{II}(CN)_6]_y$

Cette partie est dédiée à la synthèse de nanoparticules de type $Mn^{II}_xFe^{III}_{1-x}[Fe^{II}(CN)_6]_y$ permettant de combiner au sein d'un même nano-objet des propriétés de diagnostic et de thérapie. En effet, comme montré dans le chapitre II, l'insertion d'ions Mn^{II} au sein de nanoparticules d'ABP conduit à des propriétés de relaxivité très intéressantes auxquelles viennent s'ajouter, par la présence du bleu de Prusse, des potentialités en photothermie pouvant être exploitées à terme, pour le traitement local de tumeurs. Dans cette étude, les nanoparticules de $Mn^{II}_xFe^{III}_{1-x}[Fe^{II}(CN)_6]_y$ seront obtenues selon deux stratégies de synthèse :

- Une première stratégie de synthèse basée sur la précipitation contrôlée en une étape consistant en un ajout rapide, à basse température et en conditions diluées, d'une solution aqueuse contenant les sels de Mn^{II} et de Fe^{III} dans une autre solution aqueuse contenant un sel d'hexacyanoferrate $[Fe^{II}(CN)_6]^{4-}$. Cette première stratégie ne garantit pas à priori la localisation en surface des ions Mn^{II} , même si celle-ci est favorisée par la forte insolubilité du bleu de Prusse.
- La seconde stratégie de synthèse proposée pour la mise au point de ces objets consiste en la croissance séquentielle d'une coquille du réseau $Mn^{II}_x[Fe^{II}(CN)_6]_y$ sur des particules de cœur de réseau $Fe^{III}[Fe^{II}(CN)_6]_{0,75}$ obtenues préalablement par précipitation contrôlée dans l'eau. Cette stratégie de synthèse mise au point au laboratoire et permettant l'obtention de nanoparticules de type cœur-coquille sera détaillée par la suite, dans la partie consacrée à la synthèse de ces objets.

Ainsi, les nanoparticules $Mn^{II}_xFe^{III}_{1-x}[Fe^{II}(CN)_6]_y$ obtenues selon ces deux méthodes de synthèse seront caractérisées d'un point de vue chimique et structural. De plus, les propriétés de relaxivité de ces objets seront également étudiées et les deux stratégies de synthèse employées pour l'élaboration de ces nanoparticules seront comparées sur la base des performances IRM.

I.1. Nanoparticules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}_{1-x}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_y$ obtenues par précipitation contrôlée en une étape

I.1.1. Synthèse

Il a été montré dans le chapitre II que des nanoparticules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}_{1-x}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_y$ stables, chargées négativement et de taille bien contrôlée étaient obtenues dans l'eau sans ajout d'agent stabilisant. La synthèse consistait en un ajout rapide d'une solution aqueuse contenant les sels de $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ et de In^{III} , dans des conditions suffisamment diluées ($[\text{Mn}^{\text{II}} + \text{In}^{\text{III}}] = 0,5 \text{ mM}$) et à basse température (2°C), sur une autre solution aqueuse contenant un sel d'hexacyanoferrate $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]^{4-}$. Dans les mêmes conditions opératoires mais en substituant le sel d' In^{III} par un sel de $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, il est alors possible d'obtenir des nanoparticules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}_{1-x}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_y$, à différentes fractions molaires en Mn^{II} . L'avantage que présente ces objets en comparaison aux nanoparticules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}_{1-x}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_y$, est que pour un même taux de dopage en Mn^{II} , les ions Fe^{III} situés en surface des nanoparticules pourraient également contribuer à la relaxivité de ces objets. Ainsi, des nanoparticules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}_{1-x}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_y$ ont été synthétisées à différentes fractions molaires en Mn^{II} ($x = 0.25, 0.50, 0.75$ et 0.80), désignées par les symboles $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ [25], [50], [75] et [80]. Ces nanoparticules ont ensuite été enrobées de dextran, précipitées à l'acétone puis récupérées sous forme de poudre selon le même protocole que présenté dans le chapitre II. Il est à noter que ces objets ont été élaborés et caractérisés d'un point de vue chimique et structural lors de la thèse de Y. Prado.⁸ Dans le cadre de mon travail de thèse, les propriétés de relaxivité ont été étudiées et discutées nous menant ainsi à la synthèse de nanoparticules de même composition mais de morphologie différente (type cœur-coquille), ce qui sera présenté par la suite.

I.1.2. Caractérisations de taille et structurales des nanoparticules $Mn^{II}_xFe^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$

I-1.2.1. Diffusion dynamique de la lumière (DDL)

La diffusion dynamique de la lumière des solutions colloïdales de ces objets montre que la taille des particules de $Mn^{II}_xFe^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ augmente avec la fraction molaire de Mn^{II} , comme montré sur la Figure III-1. L'étendue des distributions semblent être constante et présente une dispersion relativement faible.

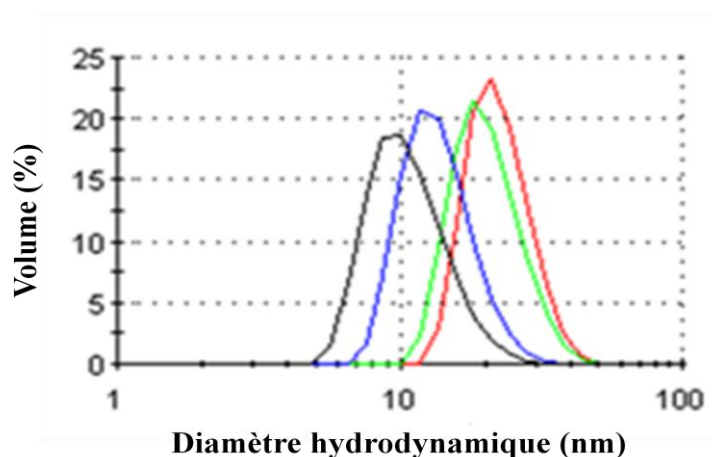


Figure III-1. Distribution de taille des particules $Mn^{II}_xFe^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [25] ; [50] ; [75] et [80]

Les diamètres hydrodynamiques moyens des particules de $Mn^{II}_xFe^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [x], extraits par DDL des distributions en volume, sont regroupés dans le tableau ci-dessous.

$Mn^{II}_xFe^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$	[25]	[50]	[75]	[80]
DDL (nm)	10	12	18	21

Tableau III-1. Diamètres hydrodynamiques moyens des nanoparticules $Mn^{II}_xFe^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ issues des distributions obtenues par DDL, en solution aqueuse et à température ambiante

D'autre part, les redispersions de ces objets entourés de dextran en solution aqueuse présentent des tailles en DDL en accord avec les tailles moyennes obtenues en solution colloïdale (de 15 à 33 nm pour des taux de Mn^{II} croissants). Néanmoins, les particules au sein

de ces redispersions ont tendance à évoluer (élargissement de la distribution de taille, taille moyenne plus élevée) au bout d'une durée supérieure à 24 h, d'autant plus que la fraction molaire en Mn^{II} est importante. En dessous de cette durée, il n'y a pas d'évolution ce qui permet de réaliser les mesures de relaxivité et de contraste.

1-1.2.2. Diffraction des rayons X sur poudre (DRX)

Les diagrammes de poudre des particules $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{Fe}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ entourées de dextran mettent en évidence la structure cubique à faces centrées des ces objets (Figure III-2). Les paramètres de maille des réseaux $\text{Mn}^{\text{II}}_2\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6$ et $\text{Fe}^{\text{III}}[(\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6)]_{0,75}$, de 10.14 Å et 10.15 Å respectivement, sont très proches, ne permettant pas d'observer une évolution du paramètre de maille pour les particules $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{Fe}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ en fonction de la fraction molaire en Mn^{II} .

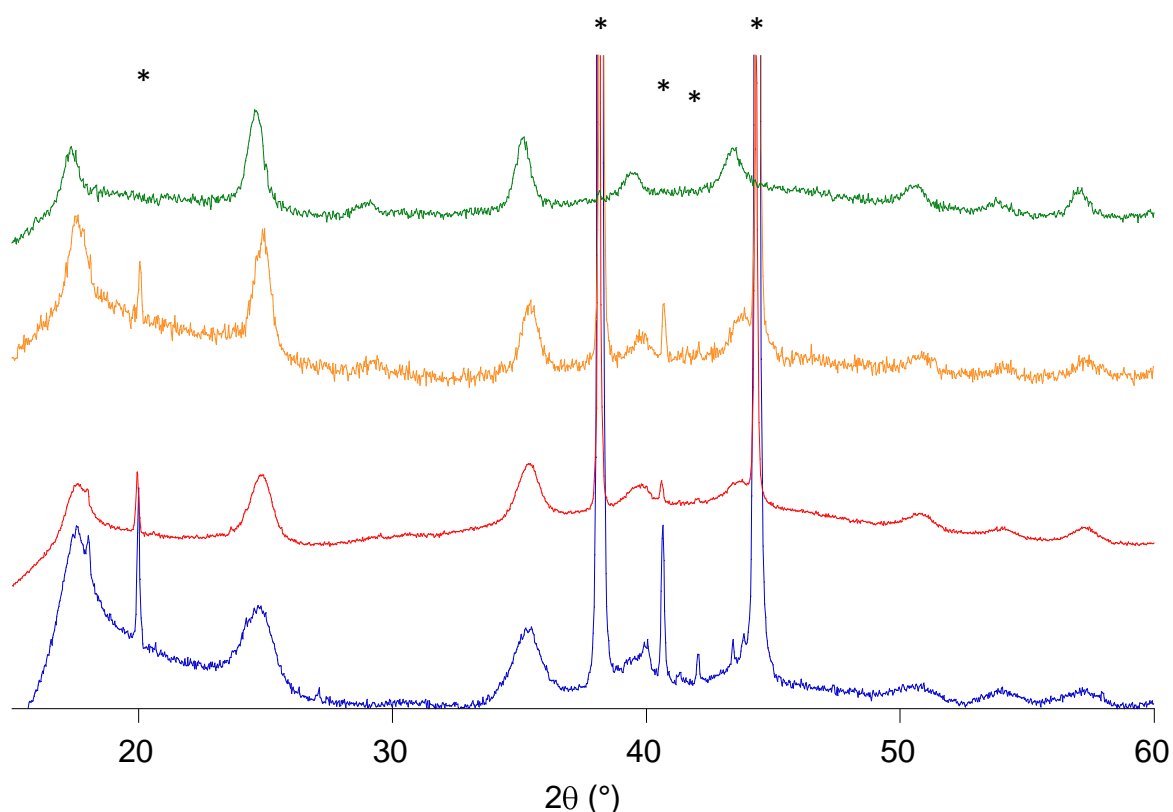


Figure III-2. Diffractogrammes des particules $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{Fe}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ [25] ; [50] ; [75] et [80], entourées de dextran (* pics issus du porte échantillon)

L'application de la relation de Scherrer à la raie (400) donne des tailles de domaines diffractants de 6.6 nm, 8.0 nm, 9.7 nm et 10.5 nm pour les composés [25], [50], [75] et [80],

respectivement. Ces longueurs de cohérence sont nettement inférieures à celles obtenues par DDL, bien que cette dernière technique surestime la taille des objets (diamètre hydrodynamique). Ainsi, ces faibles tailles obtenues par DRX pourraient s'expliquer par un élargissement des pics de diffraction dû à une superposition des pics caractéristiques des deux réseaux, $\text{Mn}^{\text{II}}_2\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6$ et $\text{Fe}^{\text{III}}[(\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6)]_{0,75}$, de paramètres de maille très proches. Cette sous-estimation de la taille des objets supposerait que ces nanoparticules ne sont pas des alliages parfaits et pourraient présenter une organisation de type cœur-coquille ou néanmoins un enrichissement ou un gradient de concentration en Mn^{II} vers la surface de la particule. Cependant, bien que les tailles moyennes des particules, extraites par DRX, soient nettement inférieures à celles obtenues par DDL, la tendance reste en accord puisque la taille augmente avec la fraction molaire en Mn^{II} , x .

I-1.2.3. Microscopie électronique à transmission (MET)

Les clichés de MET, obtenus sur les redispersions des nanoparticules $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{Fe}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ entourées de dextran sont présentés sur la Figure III-3.

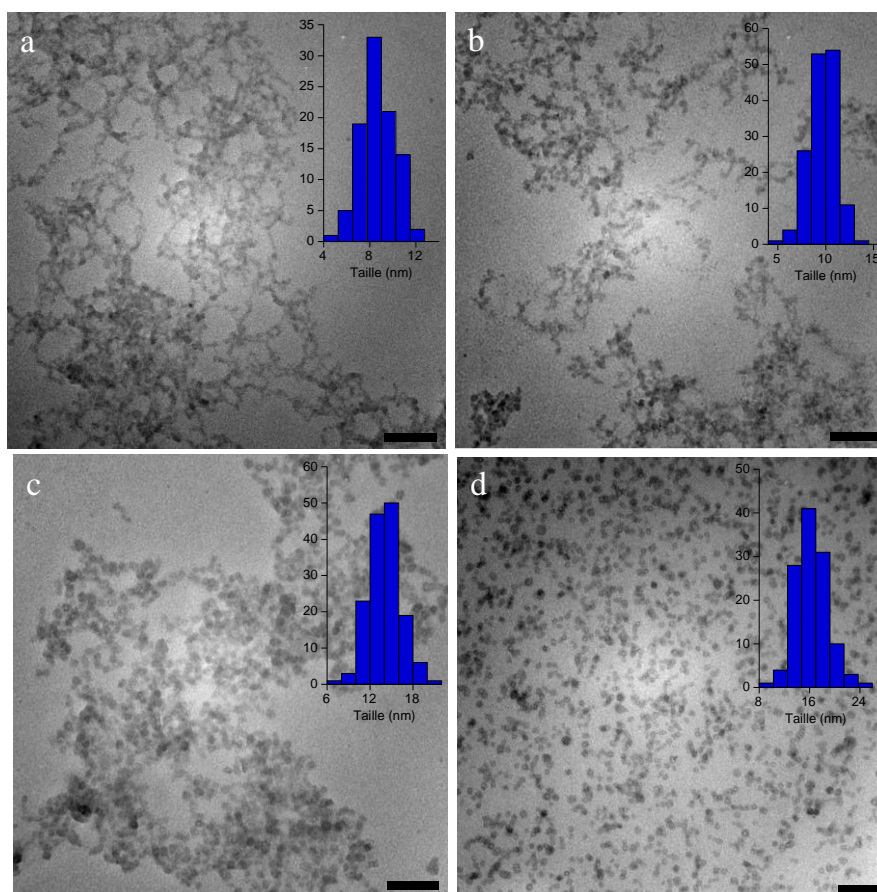


Figure III-3. Images MET des particules $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{Fe}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ (a) [25], (b) [50], (c) [75] et (d) [80] entourées de dextran (échelle 100 nm)

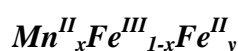
Qualitativement, la taille des particules semblent augmenter avec la fraction molaire en Mn^{II} . De plus, les particules apparaissent cubiques, bien facettées et monodisperses. Les tailles moyennes extraites par MET sont regroupées dans le tableau ci-dessous.

$\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{Fe}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$	[25]	[50]	[75]	[80]
MET (nm)	8.7 ± 1.5	9.7 ± 1.4	14.1 ± 2.2	16.2 ± 2.5

Tableau III-2. Tailles moyennes des particules $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{Fe}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ issues des images de MET

Les tailles extraites par MET et DDL sont en bon accord, bien que toujours légèrement supérieures par DDL. De plus, la même tendance quant à l'augmentation de la taille des particules $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{Fe}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ avec le taux de Mn^{II} est observée par DDL, DRX et MET.

I.1.3. Caractérisations chimiques des nanoparticules



I-1.3.1. Spectroscopie infrarouge (IR)

Les caractérisations des particules $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{Fe}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ en fonction du taux de Mn^{II} menées par spectroscopie infrarouge sont présentées sur la Figure III-4. La vibration asymétrique des cyanures pontants a été étudiée sur les particules enrobées de dextran. De plus, les vibrations $\text{Fe}^{\text{II}}\text{-C}$ présentent à plus basse énergie ont également été analysées sur les particules précipitées avec du NaCl puisque la signature infrarouge du dextran masque les vibrations $\text{Fe}^{\text{II}}\text{-C}$ dans les basses fréquences.

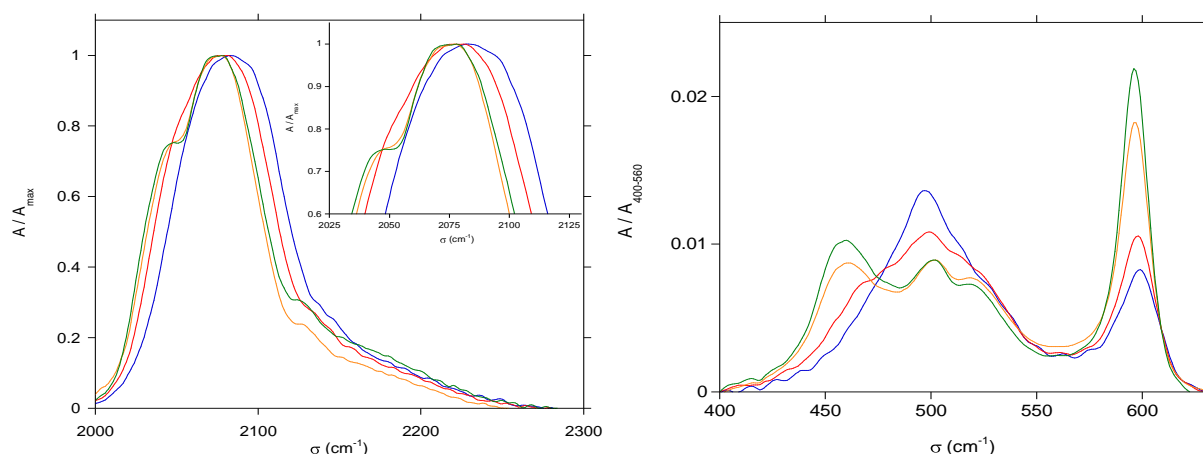


Figure III-1. Spectres infrarouge en absorption des particules $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{Fe}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ [25] ; [50] ; [75] et [80] entourées de dextran dans la zone 2000-2300 cm^{-1} (gauche) et précipitées avec NaCl dans la zone 400-600 cm^{-1} (droite)

Concernant la zone des hautes fréquences (cf. Figure III-4 (gauche)), la bande de vibration des cyanures pontant varie de 2082 cm^{-1} à 2074 cm^{-1} lorsque le taux de Mn^{II} augmente. Ceci est en accord avec la proportion plus faible de ponts $\text{Fe}^{\text{III}}\text{-NC-Fe}^{\text{II}}$ à 2085 cm^{-1} et l'apparition de ponts $\text{Mn}^{\text{II}}\text{-NC-Fe}^{\text{II}}$ à 2068 cm^{-1} , lorsque la fraction molaire en Mn^{II} augmente. De plus, un épaulement apparaît à plus basse énergie (2048 cm^{-1}) sur les composés $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{Fe}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ [75] et [80], et semble être responsable de l'élargissement de la vibration des cyanures pontants dans le composé dopé à 50% en Mn^{II} . Cette bande est proche de la bande de vibration asymétrique des cyanures pontants du ferrocyanure de potassium à 2045 cm^{-1} . Cependant, la

présence de ferrocyanure de potassium semble peu probable. Cette bande n'est pas non plus liée à la présence de paires $\text{Mn}^{\text{III}}\text{-NC-Fe}^{\text{II}}$ qui devraient apparaître à plus haute énergie.^{9, 10}

Les particules de $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{Fe}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ ont également été précipitées avec du chlorure de sodium, afin de pouvoir observer les vibrations $\text{Fe}^{\text{II}}\text{-C}$ présentes à plus basse énergie, qui sont masquées en présence de dextran (Figure III-4 (droite)). Cette zone montre la diminution de la vibration $\text{Fe}^{\text{II}}\text{-C}(\text{N-Fe}^{\text{III}})$ à 500 cm^{-1} et l'augmentation de la vibration $\text{Fe}^{\text{II}}\text{-C}(\text{N-Mn}^{\text{II}})$ à 460 cm^{-1} lorsque la fraction molaire en Mn^{II} augmente. Cette évolution observée dans les basses fréquences met donc en évidence la présence de ponts $\text{Mn}^{\text{II}}\text{-NC-Fe}^{\text{II}}$ et $\text{Fe}^{\text{III}}\text{-NC-Fe}^{\text{II}}$ prouvant ainsi la bonne insertion du Mn^{II} au sein des nanoparticules de $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{Fe}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$.

Par ailleurs, la vibration observée à plus haute énergie correspond au recouvrement des vibrations du réseau $\text{Mn}^{\text{II}}_2\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6$ (595 cm^{-1}) et du bleu de Prusse (601 cm^{-1}). L'absence de la bande caractéristique du ferrocyanure de potassium située à plus basse énergie (585 cm^{-1}) écarte l'hypothèse de la présence de cette entité au sein des nanoparticules synthétisées. De plus, une autre bande semble apparaître à 518 cm^{-1} pour les différents taux de Mn^{II} , mais apparaît de façon plus prononcée pour les échantillons [75] et [80]. Cette bande est également présente dans le bleu de Prusse massif à 513 cm^{-1} mais n'a pu être attribuée.

I-1.3.2. Analyses élémentaires

Les résultats obtenus par EDS (Mn^{II} , $\text{Fe}^{\text{II/III}}$) montrent que les rapports $\text{Mn}^{\text{II}} / \text{Fe}^{\text{III}}$ sont en parfait accord avec les quantités introduites initialement en solution. De plus les analyses élémentaires (C, H, N) indiquent qu'environ 25 équivalents de dextran sont présents autour des particules ce qui correspond également aux quantités introduites en solution.

[25]	$\text{K}_{0,81}\text{Mn}^{\text{II}}_{0,25}\text{Fe}^{\text{III}}_{0,75}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_{0,89} 29\text{H}_2\text{O} (\text{Dext})_{23}$
[50]	$\text{K}_{1,03}\text{Mn}^{\text{II}}_{0,51}\text{Fe}^{\text{III}}_{0,49}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_{0,88} 24\text{H}_2\text{O} (\text{Dext})_{22}$
[75]	$\text{K}_{1,08}\text{Mn}^{\text{II}}_{0,76}\text{Fe}^{\text{III}}_{0,24}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_{0,83} 36\text{H}_2\text{O} (\text{Dext})_{22}$
[80]	$\text{K}_{1,09}\text{Mn}^{\text{II}}_{0,81}\text{Fe}^{\text{III}}_{0,19}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_{0,82} 24\text{H}_2\text{O} (\text{Dext})_{24}$

Tableau I1-3. Unités formulaires des particules $\text{Mn}^{\text{II}}_x\text{Fe}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ dans le dextran déduites des analyses élémentaires (C, H, N) et des rapports des métaux obtenus par EDS

Le taux de lacunes en ferrocyanure varie de 10% à 20% avec l'augmentation du taux de Mn^{II} au sein des nanoparticules $Mn^{II}_xFe^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$. Cette évolution traduit que la substitution d'ions trivalents (Fe^{III}) par des ions divalents (Mn^{II}) induit une augmentation du taux de lacunes. Ceci peut être liée aux différences de stœchiométrie des réseaux massifs $Fe^{III}_4[Fe^{II}(CN)_6]_3$ et $[4 : 3]$ et $Mn^{II}_2[Fe^{II}(CN)_6]$ $[2 : 1]$, qui présentent un taux de lacunes en hexacyanoferrate différent. Enfin, l'exacte localisation des ions K^+ (dans le réseau ou à l'extérieur) devra être confirmée par des analyses complémentaires sur des échantillons récupérés au DODA.

1.1.4. Relaxivité des nanoparticules $Mn^{II}_xFe^{III}_{1-x}Fe^{II}_y@(\text{dextran})_{25}$

Ces nanoparticules contiennent au sein de leur structure deux ions paramagnétiques, Mn^{II} ($S=5/2$) et Fe^{III} ($S=5/2$) susceptibles de participer à la relaxivité de ces objets. Ainsi, dans un premier temps, les propriétés de relaxivité des nanoparticules de bleu de Prusse d'une taille de 6 nm ont été étudiées afin d'estimer la contribution des ions Fe^{III} de surface. Connaissant la contribution d'un ion Fe^{III} de surface, il a ensuite été possible d'estimer la relaxivité des ions Mn^{II} de surface au sein des particules de $Mn^{II}_xFe^{III}_{1-x}Fe^{II}_y@(\text{dextran})_{25}$, sur la base des résultats de relaxivité obtenus pour ces systèmes.

- ***Nanoparticules de bleu de Prusse***

Les profils de relaxivité de nanoparticules de BdP de 6 nm de diamètre ont été enregistrés de 0,01 à 100 MHz et à 37°C. L'influence de l'enrobage sur la relaxivité a été étudiée sur ces nanoparticules enrobées soit par 12,5 ou par 25 équivalents de dextran comme montré III-5. Les valeurs de r_1 , r_2 et du rapport r_2/r_1 à 60 MHz et à 37°C sont regroupées dans le tableau III-4.

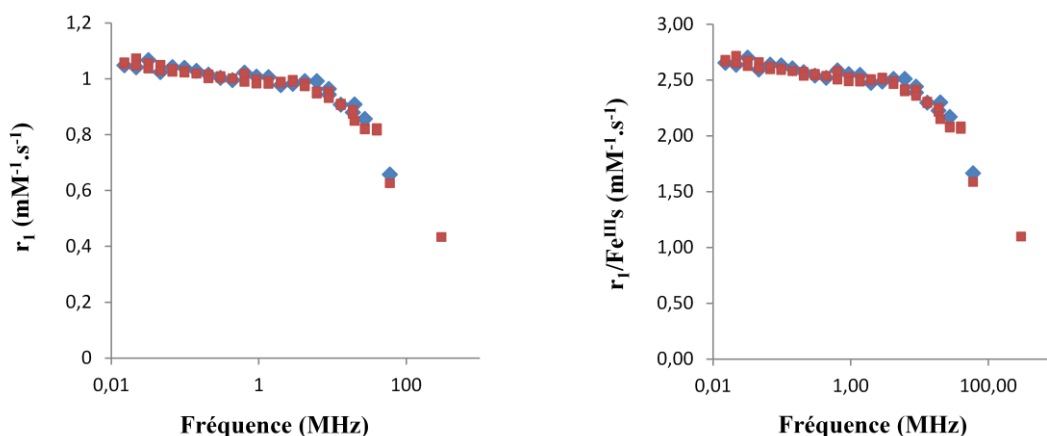


Figure III-5. Profils des $\text{BdP}[6]@(\text{dextran})_x$ avec $x = 12,5$ ou 25 équivalents en fonction de la fréquence : **a)** r_1 moyenne par atome de Fe^{III} et **b)** r_1 par atome de Fe^{III} de surface ($r_1/\text{Fe}^{\text{III}}_s$)

	r_1 ($\text{mM}^{-1}.\text{s}^{-1}$)	r_2 ($\text{mM}^{-1}.\text{s}^{-1}$)	r_2/r_1
BdP[6]@(dext)_{12,5}	0,7	1,1	1,6
BdP[6]@(dext)₂₅	0,6	1,0	1,7

Tableau III-4. Valeurs de r_1 , r_2 et r_2/r_1 à 60 MHz et à 37°C pour les nanoparticules de $\text{BdP}[6]@(\text{dextran})_x$ avec $x = 12,5$ ou 25 équivalents

Ces allures de profils ne sont pas caractéristiques de nano-objets dont la relaxivité est limitée par le temps de corrélation rotationnel. De plus, aucun effet de la densité de dextran enrobant les particules sur la relaxivité n'est observé, confirmant ainsi que le temps de rotation de l'objet sur lui-même ne gouverne pas la relaxivité, contrairement aux nanoparticules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ étudiées dans le chapitre précédent. En effet, les systèmes à base de Fe^{III} ont été peu étudiés en raison de leur faible valeur de relaxivité notamment due à une faible vitesse d'échange des molécules d'eau ainsi qu'à un temps de relaxation électronique relativement court ($10^{-9}/10^{-11}$ s), limitant la relaxivité. Les profils observés sur la figure III-5 sont donc caractéristiques de nano-objets dont la relaxivité est limitée par le temps de relaxation du spin électronique, d'où des faibles valeurs de relaxivité comprises entre 0,4 et 1 $\text{mM}^{-1}.\text{s}^{-1}$ à 300 MHz et 0,01 MHz, respectivement (cf. Figure III-5-a). Néanmoins, il a été vu dans le chapitre précédent, que les ions paramagnétiques situés en surface des particules contribuaient majoritairement à la relaxivité des objets. Ainsi, la relaxivité exprimée par atomes de Fe^{III} situés en surface ($r_1/\text{Fe}^{\text{III}}_s$) conduit à des relaxivités comprises entre 1 et 2,7 $\text{mM}^{-1}.\text{s}^{-1}$ à 300 MHz et 0,01 MHz, respectivement avec une relaxivité par ion Fe^{III} de surface égale à 1,7 $\text{mM}^{-1}.\text{s}^{-1}$ à 60 MHz (cf. Figure III-5-b). Connaissant la contribution des ions Fe^{III} de surface à la relaxivité, il a alors été possible d'étudier et de rationaliser la contribution des ions Mn^{II} et

Fe^{III} de surface à la relaxivité des nanoparticules Mn^{II}Fe^{III}_{1-x}Fe^{II}_y@(dextran)₂₅. Par ailleurs, les valeurs des rapports r₂/r₁ (inférieures à 2) obtenues à 60 MHz et à 37°C attestent du comportement T₁ de ces nanoparticules.

▪ *Nanoparticules de Mn^{II}Fe^{III}_{1-x}Fe^{II}_y@(dextran)₂₅*

La relaxivité des particules Mn^{II}Fe^{III}Fe^{II} [25], [50] et [80] a été étudiée afin de déterminer l'effet du Mn^{II} sur la relaxivité des particules de bleu de Prusse. Les profils de dispersion enregistrés à 37°C entre 0,01 et 100 MHz sont présentés sur la Figure III-6 et les valeurs de r₁, r₂ et du rapport r₂/r₁ par ion Mn^{II}, obtenues à 60 MHz et à 37°C sont regroupées dans le tableau III-4.

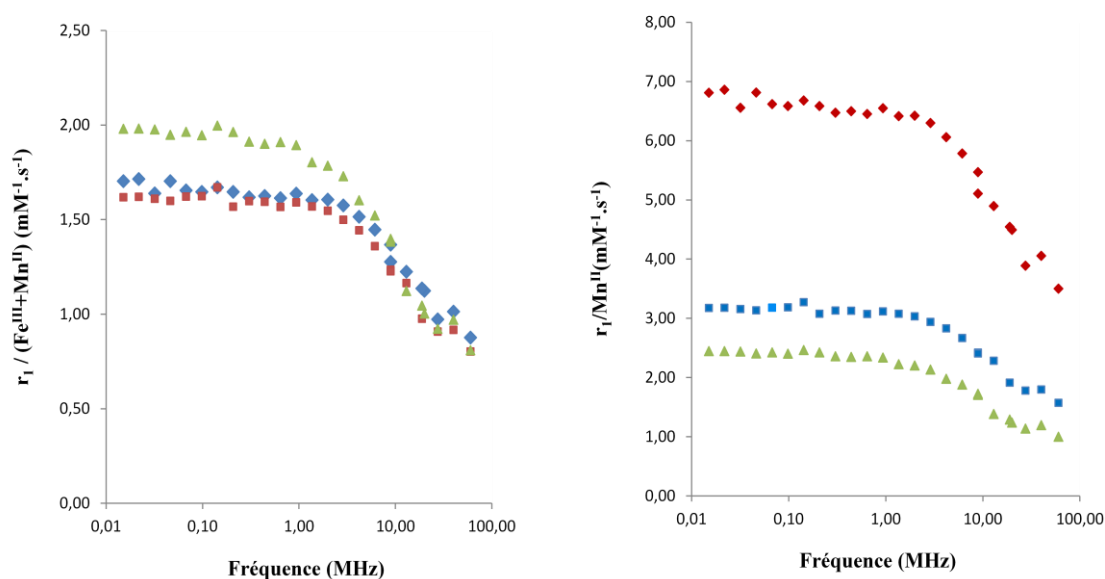


Figure III-6. Profils des Mn^{II}Fe^{III}Fe^{II}@(dextran)₂₅ [25], [50] et [80] en fonction de la fréquence : a) r₁ moyenne par atome de Fe^{III} + Mn^{II} et b) r₁ par atome de Mn^{II} (r₁/Mn^{II})

	r ₁ /Mn (mM ⁻¹ .s ⁻¹)	r ₂ /Mn (mM ⁻¹ .s ⁻¹)	r ₂ /r ₁
MnFeFe [25]	3,5	5,3	1,5
MnFeFe [51]	1,6	2,2	1,4
MnFeFe [81]	1,0	1,4	1,4

Tableau III-5. Valeurs de r₁, r₂ et r₂/r₁ à 60 MHz et à 37°C, par ion Mn^{II}, pour les nanoparticules de MnFeFe [25], [51] et [81] entourées de dextran

La Figure III-5-a) représente la relaxivité moyenne par mM d'ion paramagnétique ($\text{Mn}^{\text{II}} + \text{Fe}^{\text{III}}$) en fonction de la fréquence. En comparaison avec la relaxivité des BdP, la relaxivité des particules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ est 1,5 à 2 fois plus élevée en fonction du taux de Mn^{II} , montrant un effet de cet ion malgré des valeurs de r_1 qui restent faibles. Pour cette représentation, la relaxivité augmente avec le taux de Mn^{II} . Néanmoins, cette représentation tient compte uniquement des concentrations en ions $[\text{Mn}^{\text{II}} + \text{Fe}^{\text{III}}]$ sans tenir compte de leur localisation au sein de la particule ni de leur contribution à la relaxivité, sachant que d'après les études menées précédemment, l'ion Mn^{II} présente de meilleures performances en IRM que l'ion Fe^{III} . La Figure III-5-b) représente la relaxivité moyenne par atome de Mn^{II} , sans tenir compte de la contribution des ions Fe^{III} . Les valeurs de r_1 sont alors 2 à 6 fois supérieures aux valeurs obtenues pour les nanoparticules de BdP montrant un effet positif du Mn^{II} sur la relaxivité. De même que pour les particules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$, la relaxivité moyenne par Mn^{II} diminue à mesure que le taux de Mn augmente pouvant s'expliquer dans un premier temps, par un enfouissement progressif des ions Mn^{II} au sein de la particule puisque le rapport surface / volume diminue avec l'augmentation de la taille des particules. A plus haut de taux de Mn^{II} , plus d'ions sont enfouis diminuant ainsi la valeur moyenne de r_1 par Mn^{II} puisque ces ions localisés dans les couches les plus internes contribuent peu ou pas à la relaxivité des objets. Néanmoins, indépendamment de la représentation choisie pour r_1 , les profils sont caractéristiques d'objets dont la relaxivité est limitée par le temps de relaxation du spin électronique prouvant ainsi la contribution des ions Fe^{III} à la relaxivité. Par ailleurs, les valeurs des rapports r_2/r_1 obtenues à 60 MHz et à 37°C sont identiques indépendamment du taux de Mn et de la taille des objets (1,4 et 1,5). Ces rapports r_2/r_1 sont inférieurs à 2 confirmant le comportement T_1 de ces nanoparticules.

Par la suite, la relaxivité des particules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ sera rationalisée en considérant uniquement la participation des ions Fe^{III} et Mn^{II} situés **en surface** de la particule. Leurs contributions respectives à la relaxivité seront déterminées. Comme dans le chapitre précédent, le calcul des contributions des ions de surface sera réalisé selon deux hypothèses :

- Une répartition statistique des ions Mn^{II} et Fe^{III} en surface des particules conduisant à une structure de type « alliage » des nanoparticules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$.

- Un enrichissement de la surface des particules en ions Mn^{II} conduisant à des objets de type cœur-coquille constitués d'un cœur de BdP et d'une coquille de $Mn^{II}Fe^{II}$, le réseau $Fe^{III}Fe^{II}$ étant plus insoluble.

▪ *Hypothèse de répartition statistique : modèle « alliage »*

Comme dans le chapitre précédent, on suppose que seuls les ions paramagnétiques situés en surface des nanoparticules contribuent à la relaxivité. Connaissant la taille des nanoparticules il est alors possible de déterminer le nombre d'atomes total ainsi que le nombre total d'atomes de surface (cf. annexe 6). Dans le cas du modèle alliage, le nombre d'ions Mn^{II} situés en surface s'obtient en multipliant le taux de Mn^{II} au sein des nanoparticules par le nombre total d'atomes de surface. Le même calcul est effectué pour les ions Fe^{III} .

% Mn^{II}	d (nm)	N_{at} total	N_{at} surface	N_{at} total Mn^{II}	N_{at} total Fe^{III}	Mn^{II}_s alliage	Fe^{III}_s alliage
25	8,7	3115	910	779	2536	228	682
51	9,7	4245	1131	2165	2080	577	554
81	16,2	18630	3151	15090	3540	2552	599

Tableau III-6. Nombre d'atomes de Mn^{II} et de Fe^{III} de surface dans le cas d'une structure de type alliage pour les particules $Mn^{II}Fe^{III}Fe^{II}$ [25], [50] et [80]

D'autre part connaissant la relaxivité de chacun de ces ions lorsqu'ils sont situés en surface il est alors possible de calculer la relaxivité par particule pour chaque ion ainsi que la relaxivité totale par particule en tenant compte de la contribution des ions Mn^{II} et Fe^{III} . La relaxivité par ion Fe^{III} de surface de $1,7 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ a été calculée à partir des mesures de relaxivité effectuées sur des particules de BdP d'une taille de 6 nm (cf. Figure III-5-b). Concernant la relaxivité par ion Mn^{II} de surface, les valeurs utilisées pour les calculs seront celles obtenues lors des mesures de relaxivité des particules $Mn^{II}Fe^{III}Fe^{II}$ sans tenir compte de la contribution des ions Fe^{III} (cf. Figure III-6-b). Il s'agit de la relaxivité moyenne par ion Mn^{II} , indépendamment de leur localisation au sein de la particule (r_1/Mn). En multipliant cette valeur par le nombre total d'atomes de Mn^{II} , il est possible d'accéder à la relaxivité par particule sans considérer la participation des ions Fe^{III} ($r_1/part. (Mn)$). Enfin, en divisant la relaxivité par particule par le nombre d'ions Mn^{II} situés en surface dans le cas d'une structure de type alliage, la valeur

obtenue correspond à la relaxivité par atome de Mn^{II} de surface. Il s'agit en réalité d'une relaxivité apparente, notée r_1/Mn_s app. En effet, cette valeur est surestimée puisque la contribution des ions Fe^{III} de surface n'est pas prise en compte. A titre d'exemple, les résultats obtenus pour une fréquence de 60 MHz sont regroupés dans le tableau ci-dessous.

% Mn^{II}	r_1/Mn (60 MHz)	$r_1/\text{part.}$ (Mn)	r_1/Mn_s app (60 MHz)	$r_1/\text{part.}$ (Mn^{II}_s)	$r_1/\text{Fe}^{\text{III}}_s$ (60 MHz)	$r_1/\text{part.}$ (Fe^{III}_s)
25	3,5	2726,5	12	2736	1,7	1159,4
51	1,6	3463	6	3462	1,7	941,8
81	1,0	15090	6	15312	1,7	1018,3

Tableau III-7. Valeurs de r_1 apparente par atome de Mn^{II} de surface et relaxivité par particule en tenant compte de la contribution des ions Mn^{II} de surface d'une part et des ions Fe^{III} de surface d'autre part, dans le cas d'une structure de type alliage

La relaxivité totale par particule en considérant la contribution des ions Mn^{II} et Fe^{III} de surface s'obtient en faisant la somme des relaxivités par particule relative à chaque ion (colonnes 5 et 7, Tableau III-7). Enfin la contribution de chacun des ions de surface à la relaxivité totale par particule s'obtient en divisant la contribution de chaque ion à la relaxivité par particule par la relaxivité totale par particule (% de r_1 (Mn^{II}_s) = $[r_1/\text{part.}(\text{Mn}^{\text{II}}_s)] / [r_1/\text{part.}(\text{Mn}^{\text{II}}_s + \text{Fe}^{\text{III}}_s)]$). Les résultats de ces calculs sont présentés dans le tableau ci-dessous.

% Mn^{II}	$r_1/\text{part.}(\text{Mn}^{\text{II}}_s + \text{Fe}^{\text{III}}_s)$ à 60 MHz ($\text{mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)	% r_1 (Mn^{II}_s)	% r_1 (Fe^{III}_s)	r_1/Mn_s à 60 MHz ($\text{mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)
25	3895,4	70	30	8,4
51	4403,8	79	21	4,7
81	16330	94	6	5,6

Tableau III-8. Valeurs de r_1/Mn_s à 60 MHz dans le cas du modèle alliage

Les valeurs de r_1 par Mn^{II} de surface ne sont pas constantes et évoluent avec le taux de Mn^{II} , bien que les valeurs obtenues pour les nanoparticules [51] et [81] soient assez proches. Pour ces trois compositions, bien que la surface ne soit pas saturée en ions Mn^{II} , celle-ci est saturée en ions paramagnétiques puisque des ions Fe^{III} sont également présents en surface. D'après les observations faites sur les nanoparticules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$, la relaxivité par ion Mn^{II} de surface dans le cas d'une couche saturée est de l'ordre de $4\text{-}5 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$. Les valeurs obtenues dans le cas des particules [51] et [81] sont donc plausibles, mais la valeur obtenue pour les

particules dopées à 25% est trop élevée. En effet, les ions Fe^{III} contribuent moins à la relaxivité que les ions Mn^{II} , donc une couche saturée en ions Mn^{II} et Fe^{III} devrait présenter une relaxivité inférieure à $4\text{-}5 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ obtenue sur divers systèmes de tailles voisines tels que les MnInFe , ce qui n'est pas le cas ici.

▪ *Localisation des ions paramagnétiques en périphérie : modèle cœur-coquille*

Les mêmes calculs ont été réalisés dans l'hypothèse d'une structure de type cœur-coquille (CC) des particules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$. Dans cette hypothèse, la répartition des ions de surface n'est plus statistique puisqu'on considère une structure composée d'un cœur de BdP et d'une coquille de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$. Les résultats obtenus sont regroupés dans les tableaux ci-dessous.

% Mn^{II}	d (nm)	$N_{\text{at total}}$	$N_{\text{at surface}}$	$N_{\text{at total Mn}^{\text{II}}}$	$\text{Mn}_s \text{ CC}$	$\text{Fe}^{\text{III}}_s \text{ CC}$
25	8,7	3115	910	779	779	131
51	9,7	4245	1131	2165	1131	-
81	16,2	18630	3151	15090	3151	-

Tableau III-9. Nombre d'atomes de Mn^{II} et de Fe^{III} de surface dans le cas d'une structure de type cœur-coquille pour les particules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [25], [50] et [80]

% Mn^{II}	r_1/Mn à 60 MHz ($\text{mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)	$r_1/\text{part. (Mn)}$ ($\text{mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)	$r_1/\text{Mn}_s \text{ app}$ à 60 MHz ($\text{mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)	$r_1/\text{part. (Mn}^{\text{II}}_s)$ ($\text{mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)	$r_1/\text{Fe}^{\text{III}}_s$ à 60 MHz ($\text{mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)	$r_1/\text{part. (Fe}^{\text{III}}_s)$ ($\text{mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)
25	3,5	2727	3,5	2727	1,7	222,7
51	1,6	3463	3,1	3506	1,7	-
81	1,0	15090	4,8	15 125	1,7	-

Tableau III-10. Valeurs de r_1 apparente par atome de Mn^{II} de surface et relaxivité par particule en tenant compte de la contribution des ions Mn^{II} de surface d'une part et des ions Fe^{III} de surface d'autre part, dans le cas d'une structure de type cœur-coquille

%Mn ^{II}	r ₁ /part. (Mn ^{II} _s + Fe ^{III} _s) à 60 MHz (mM ⁻¹ .s ⁻¹)	% r ₁ (Mn ^{II} _s)	%r ₁ (Fe ^{III} _s)	r ₁ /Mn _s à 60 MHz (mM ⁻¹ .s ⁻¹)
25	2949,2	92	8	3,2
51	3506,1	100	-	3,1
81	15124,8	100	-	4,8

Tableau III-11. Valeurs de r₁/Mn_s à 60 MHz dans le cas de l'hypothèse cœur-coquille

Dans le cas de l'hypothèse cœur-coquille, la surface des nanoparticules [51] et [81] est saturée en ions Mn^{II}, et la surface des particules [25] est composée de 92% d'ions Mn^{II} et de 8% d'ions Fe^{III}. Dans cette hypothèse, la relaxivité par Mn^{II} de surface est constante pour les plus faibles dopages (3,1 et 3,2 mM⁻¹.s⁻¹) et augmente (4,8 mM⁻¹.s⁻¹) pour les particules [81] bien que la saturation de la surface soit la même que pour les particules [51]. Cette augmentation de la relaxivité pour un même taux de couverture de surface, pourrait s'expliquer par la taille plus importante des particules Mn^{II}Fe^{III}Fe^{II} [80] (16,2 nm contre 8,7 et 9,7 nm pour les Mn^{II}Fe^{III}Fe^{II} [25] et [51], respectivement) conduisant à un temps de corrélation rotationnel plus long et donc à une augmentation de la relaxivité de ces objets. Les valeurs de relaxivité par ions Mn^{II} de surface pour les nanoparticules Mn^{II}Fe^{III}Fe^{II} [25], [51] et [81], dans l'hypothèse d'une structure de type cœur-coquille, sont présentés sur la Figure III-7.

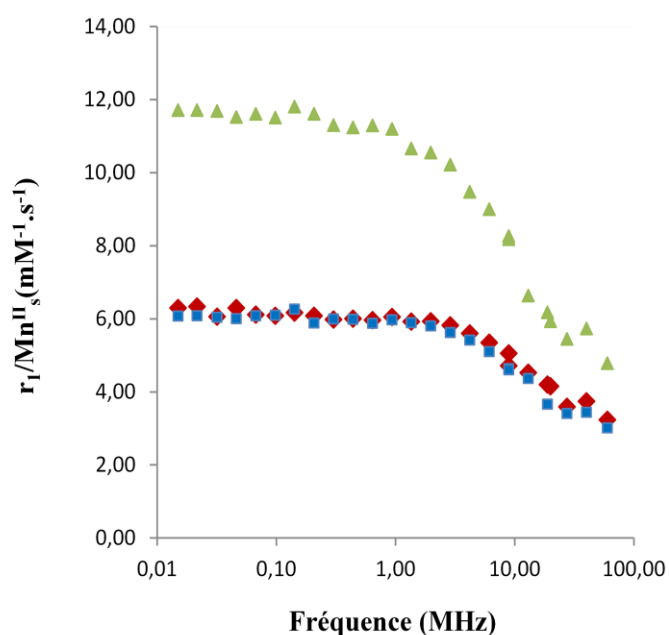


Figure III-7. Valeurs de r₁/Mn_s en fonction de la fréquence pour les nanoparticules Mn^{II}Fe^{III}Fe^{II} [25], [51] et [81], dans le cas d'une structure de type cœur-coquille

Au vu des résultats obtenus concernant les valeurs de $r_1/\text{Mn}^{\text{II}}_s$, l'hypothèse d'une structure de type cœur-coquille des nanoparticules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ semble plus cohérente que l'hypothèse d'une structure alliage. En effet, dans le cas du modèle alliage, les valeurs de $r_1/\text{Mn}^{\text{II}}_s$ ne sont pas constantes et semblent trop élevées pour une couche de surface saturée en ions Mn^{II} et Fe^{III} . En revanche, dans le cas de l'hypothèse cœur-coquille, les valeurs de $r_1/\text{Mn}^{\text{II}}_s$ sont constantes pour les particules [25] et [51] et proches des valeurs attendues pour une couche saturée en ions Mn^{II} et Fe^{III} , puisque les valeurs obtenues à 60 MHz sont voisines de celles obtenues pour les nanoparticules MnInFe à plus fort taux de Mn (autour de $4\text{-}5 \text{ mM}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$). De plus, l'augmentation de la relaxivité par Mn^{II} de surface pour les particules dopées à 81% en Mn^{II} , pourrait s'expliquer par un temps de corrélation rotationnel plus long puisque ces objets ont une taille deux fois supérieure aux nanoparticules [51] et [81], conduisant à une augmentation de la relaxivité. Ces deux hypothèses nous conduisent à penser que la structure de ces particules, si elle n'est pas globalement de type cœur-coquille, présente un enrichissement très fort en Mn^{II} , en surface des particules. Les systèmes consisteraient, d'après les analyses chimiques et les tailles observées, en des cœurs de bleu de Prusse de 7,6 nm, 7,8 nm et 9,1 nm donc quasi invariants pour des taux de 25, 51 et 81% de Mn^{II} respectivement, entourés d'une couche moléculaire (0,5 nm) de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ pour [25] d'une coquille de 1 nm d'épaisseur pour [51] et de 3,5 nm d'épaisseur pour [81].

La cartographie par STEM-EELS du Mn^{II} pourrait dans les meilleures conditions permettre de prouver cette hypothèse, mais la faible taille de ces objets associée à la présence de la matrice organique rend cette détermination particulièrement délicate, et n'a pu être obtenue dans le cadre de cette thèse.

Afin de corroborer les résultats obtenus sur ces nanoparticules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$, obtenues par précipitation contrôlée en une étape et de confronter l'hypothèse d'une structure cœur-coquille, une deuxième partie de ce travail a porté sur la synthèse de nanoparticules de type cœur-coquille par voie séquentielle composées d'un cœur de BdP et d'une coquille de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$. En comparant les propriétés de relaxivité de ces nanoparticules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$, obtenues selon deux stratégies de synthèse différentes, l'hypothèse d'une structure de type cœur-coquille des particules présentées ci-dessus pourra être confirmée ou non.

I.2. Nanoparticules de type cœur-coquille $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}@\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ par croissance épitaxiale

L'avantage des nanoparticules d'analogie du bleu de Prusse obtenues en solution colloïdale est la présence de cyanures non pontants en surface des objets ainsi que l'absence d'agent stabilisant. Cette particularité permet d'augmenter la taille de ces particules de façon contrôlée par la croissance épitaxiale d'une coquille d'ABP d'une nature identique ou différente à celle des nanoparticules de cœur, présentes préalablement en solution aqueuse, du moment que les paramètres de maille ne diffèrent pas plus de 5%. Ce contrôle fin de la taille à l'échelle moléculaire et de la nature de ces nanoparticules cœur-coquille permet de moduler et de combiner à souhait différentes propriétés complémentaires au sein d'un même objet. Cette méthode de synthèse de nanoparticules cœur-coquille par voie séquentielle, a été développée au sein du laboratoire, donnant lieu à des études très intéressantes concernant notamment le magnétisme présenté par ces objets.^{11, 12} Ainsi, à titre d'exemple, des nanoparticules cœur-coquille de formule $\text{CsCoCr}@\text{CsFeCr}@\text{CsNiCr}$ d'une taille de 50 nm ont pu être synthétisées et caractérisées par microscopie électronique sous haute résolution (HR-TEM) et spectromicroscopie permettant la localisation des éléments au sein des différentes couches d'ABP constituant ces objets, comme montré sur la Figure ci-dessous.

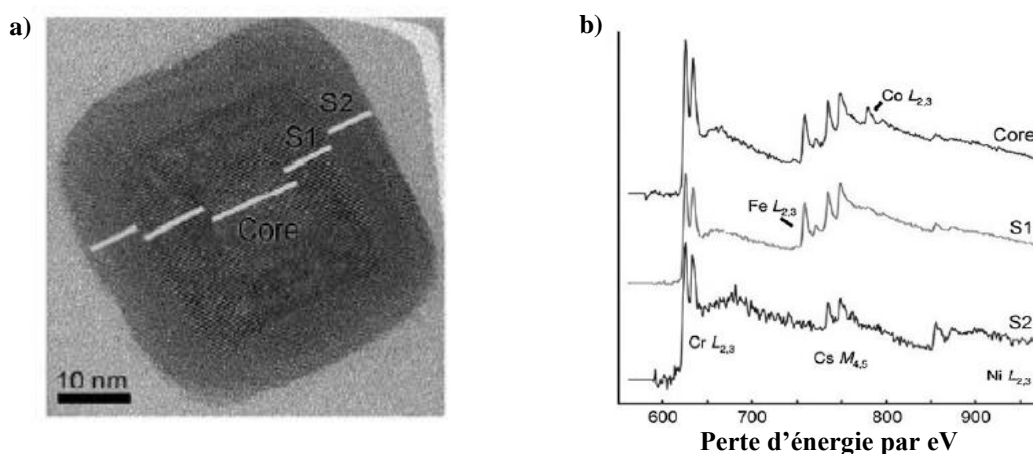


Figure III-8. Nanoparticules cœur-coquille de $\text{CsCoCr}@\text{CsFeCr}@\text{CsNiCr}$ a) image de HR-TEM et b) Spectres STEM-EELS du cœur et des coquilles (S1 et S2)¹¹

Ces caractérisations montrent l'épitaxie entre cœur et coquille ainsi qu'une bonne cristallinité de ces nanoparticules d'un diamètre de 50 nm. En revanche, la croissance de coquilles de très

faible épaisseur (1 nm) sur des objets d'une taille inférieure à 10 nm s'avère très délicate en raison de la faible densité en ions métalliques. Les caractérisations par HR-TEM et STEM-EELS confirmant la bonne croissance de la coquille et la cristallinité des objets sont peu exploitables pour des particules de 5-10 nm en raison de l'évolution sous faisceau et de la limite de résolution autour de 2 nm en routine. Cette méthode de synthèse de nanoparticules cœur-coquille exploitée sur de nombreux systèmes au laboratoire a donc été utilisée dans ce chapitre afin de combiner au sein d'un même objet des propriétés de diagnostic (IRM) et thérapie (photothermie) ainsi que des propriétés d'imagerie complémentaires (IRM/TEP).

1.2.1. Synthèse des cœur-coquilles

La synthèse de nanoparticules de type cœur-coquille consiste donc à faire croître de manière contrôlée des particules initialement présentes en solution colloïdale appelées particules de « cœur ». Pour permettre la croissance épitaxiale d'un réseau sur des particules de cœur, réseau constituant alors la « coquille », le prérequis est que les paramètres de maille soient proches ($\Delta a < 5\%$). De plus, l'ajout des précurseurs de la coquille en solution doit s'effectuer lentement et en faible quantité. En effet, l'ajout de ces précurseurs à des faibles concentrations est crucial puisqu'il permet de dissocier les processus de nucléation et croissance et d'éviter ainsi tous phénomènes de nucléation secondaire menant à la formation de nouveaux germes. Cette concentration doit cependant être assez élevée pour permettre la nucléation hétérogène à la surface des particules de cœur et ainsi permettre la croissance du réseau constituant la coquille. Ce compromis est assuré si l'ajout des précurseurs de la coquille se fait goutte à goutte ($1\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$), dans la solution colloïdale de particules de cœur. Ainsi, si tous les précurseurs réagissent sur les particules initialement présentes en solution, il est envisageable de faire croître ces objets de manière contrôlée. La quantité de précurseurs, n_S (mole), à ajouter au sein de la solution de particules peut être calculée (Annexe 8), en tenant compte de la taille initiale, a_C (nm) et finale, a_{CS} (nm), des ces objets cubiques, ainsi que des quantités nécessaires de précurseurs pour former les particules de cœur, servant alors de germes, n_C (mole), telle que :

— —

Dans cette partie, la croissance d'une coquille du réseau $\text{Mn}^{\text{II}}_2[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]$ sur des particules de cœur de $\text{Fe}^{\text{III}}_4[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_3$, obtenues préalablement en solution colloïdale par précipitation contrôlée, sera étudiée. Deux types d'objets seront mis au point :

- Des nanoparticules constituées d'un cœur $\text{Fe}^{\text{III}}_4[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_3$ d'une taille de 6 nm et d'une coquille de $\text{Mn}^{\text{II}}_2[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]$ d'1 nm d'épaisseur, désignées par la suite BdP@MnFe , d'une taille théorique visée de $6@2*1$ nm
- Des nanoparticules de plus grande taille constituées également d'un cœur $\text{Fe}^{\text{III}}_4[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_3$ d'une taille de 6 nm, d'une première coquille du même réseau de 6 nm d'épaisseur conduisant à un cœur de BdP « grossis », puis d'une seconde coquille de $\text{Mn}^{\text{II}}_2[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]$ d'1 nm d'épaisseur, seront synthétisées. Ces objets, d'une taille théorique visée de $6@2*6@2*1$ nm, seront désignés par la suite BdP@BdP@MnFe .

La première étape pour l'élaboration de ces deux types d'objet est la synthèse d'un cœur de BdP de 6 nm de diamètre, obtenu par l'ajout rapide d'une solution aqueuse de $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{NO}_3)_3$ à 0,5 mM dans une autre solution aqueuse de $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6^{4-}$ également à 0,5 mM, placée à 2°C et sous vive agitation. Les nanoparticules de cœur ainsi obtenues sont diluées par deux dans l'eau avant l'ajout des précurseurs de la coquille pour éviter toute nucléation secondaire. Pour les nanoparticules de BdP@MnFe , deux solutions à 0,5 mM et à 2°C de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Cl}_2$ et de $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6^{4-}$ sont ajoutées goutte à goutte dans la solution colloïdale contenant les cœurs de BdP , placée à 2°C et sous vive agitation. Les quantités de précurseurs ajoutées sont telles que le rapport $n_s/n_c = 1,4$. Concernant les nanoparticules de BdP@BdP@MnFe , après dilution des particules de cœur, deux solutions à 0,5 mM et à 2°C de $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{NO}_3)_3$ et de $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6^{4-}$ sont ajoutées goutte à goutte dans la solution colloïdale tel que $n_s/n_c = 26$, permettant l'obtention de nanoparticules de cœur « grossis » de type BdP@BdP . Ces particules sont ensuite diluées par deux dans l'eau avant l'ajout des précurseurs de la coquille $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ pour éviter toute agrégation, selon la même méthode que pour les particules de BdP@MnFe . Les quantités ajoutées pour la formation d'une coquille de MnFe d'une épaisseur de 1 nm sont telles que le rapport $n_s/n_c = 0,4$. Les quantités de précurseurs ajoutés lors de ces synthèses sont détaillées dans les annexes 9 et 10.

Les nanoparticules synthétisées sont ensuite entourées de dextran (ajout de 25 équivalents), précipitées à l'acétone puis récupérées sous forme de poudre après centrifugation et séchage sous vide, permettant de les caractériser d'un point de vue chimique et structural. De plus, les valeurs de relaxivité obtenues pour ces deux types d'objets seront comparées aux performances IRM des nanoparticules $Mn^{II}Fe^{III}Fe^{II}$, obtenues par précipitation contrôlée. Ceci permettra de confirmer ou non l'hypothèse d'une structure de type cœur-coquille de ces objets présentés précédemment. Enfin, la synthèse de ces nanoparticules de type cœur-coquille, constituées d'une coquille de $Mn^{II}Fe^{II}$ d'1 nm d'épaisseur mais de tailles différentes (8 et 20 nm respectivement), permettra d'étudier l'influence du temps de corrélation rotationnel sur la relaxivité de ces particules.

I.2.2. Caractérisations de taille et structurales des nanoparticules $Mn^{II}_xFe^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$

I-2.2.1. Diffusion dynamique de la lumière (DDL)

La diffusion dynamique de la lumière (DDL) présente l'avantage de pouvoir suivre l'évolution de la synthèse directement en solution colloïdale et donc de s'assurer de la bonne croissance des nanoparticules cœur-coquille. Ainsi, des mesures de la taille des particules en solution aqueuse ont été effectuées à la fin de la synthèse des particules de cœur ainsi qu'après l'ajout des précurseurs de la coquille comme montré sur la figure III-8.

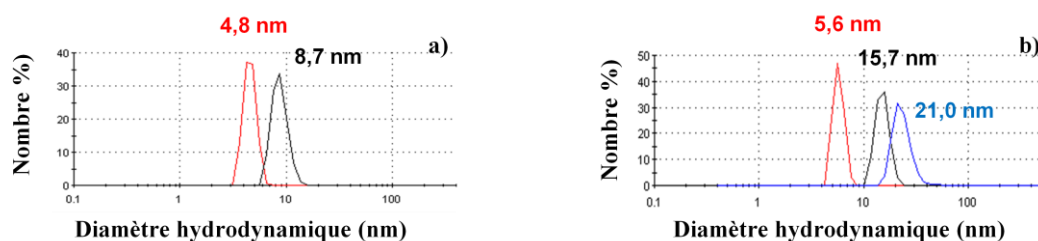


Figure III-8. Distribution de taille en nombre des nanoparticules **a)** BdP [6] et BdP@MnFe [6@2*1] et **b)** BdP [6], BdP@BdP [6@2*6] et BdP@BdP@MnFe [6@2*6@2*1], obtenues par DDL en solution aqueuse à 2°C

Les diamètres hydrodynamiques moyens obtenus par DDL sont légèrement plus faibles que 6 nm pour les cœurs, ce qui laisse présager des tailles réelles plus faibles que 6 nm pour ces cœurs et les cœur-coquilles résultants. L'étendue des distributions de taille reste constante durant la croissance de ces objets avec néanmoins une légère augmentation pour les nanoparticules BdP@BdP@MnFe en fin de synthèse (Figure III-8-b).

Les nanoparticules entourées de dextran ont également été redispersées en solution aqueuse à 10 mM, comme montré sur la figure III-9.

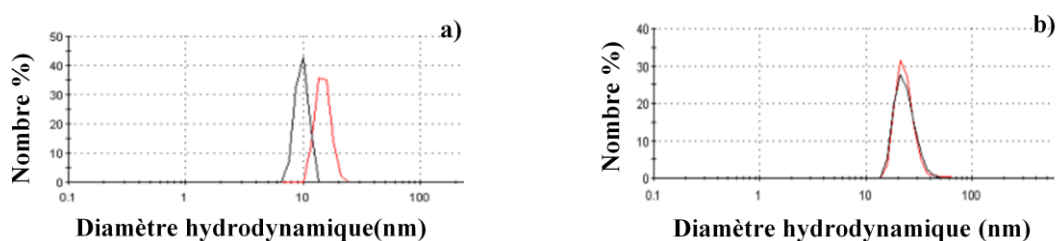


Figure III-9. Distribution de taille en nombre des nanoparticules en fin de synthèse (noir) et après redispersion dans l'eau (rouge) **a)** BdP@MnFe **b)** BdP@BdP@MnFe, obtenues par DDL à température ambiante

Une légère augmentation de la taille des particules BdP@MnFe enrobées de dextran est observée après redispersion dans l'eau (de 10,1 à 13,5 nm) ce qui peut s'expliquer par la présence du dextran ainsi que par la surestimation de la taille des objets lors des mesures effectuées par DDL. La taille des particules BdP@BdP@MnFe après redispersion est en parfait accord avec la taille moyenne obtenue en fin de synthèse (la coquille de dextran ayant une influence moindre sur ces objets). Enfin, l'étendue des distributions de taille est constante après redispersion pour les deux types d'objets montrant la stabilité ainsi que la bonne redispersion de ces nanoparticules cœur-coquille en solution aqueuse.

I-2.2.2. Diffraction des rayons X sur poudre (DRX)

▪ Les nanoparticules de $BdP@MnFe@(dext)_{25}$

Les diffractogrammes de poudre obtenus pour les cœurs de BdP [6] et les nanoparticules cœur-coquille BdP@MnFe [8] entourées de dextran sont présentés sur la figure III-10. De plus, ces diagrammes de poudre sont comparés à celui du réseau $Mn^{II}Fe^{II}$.

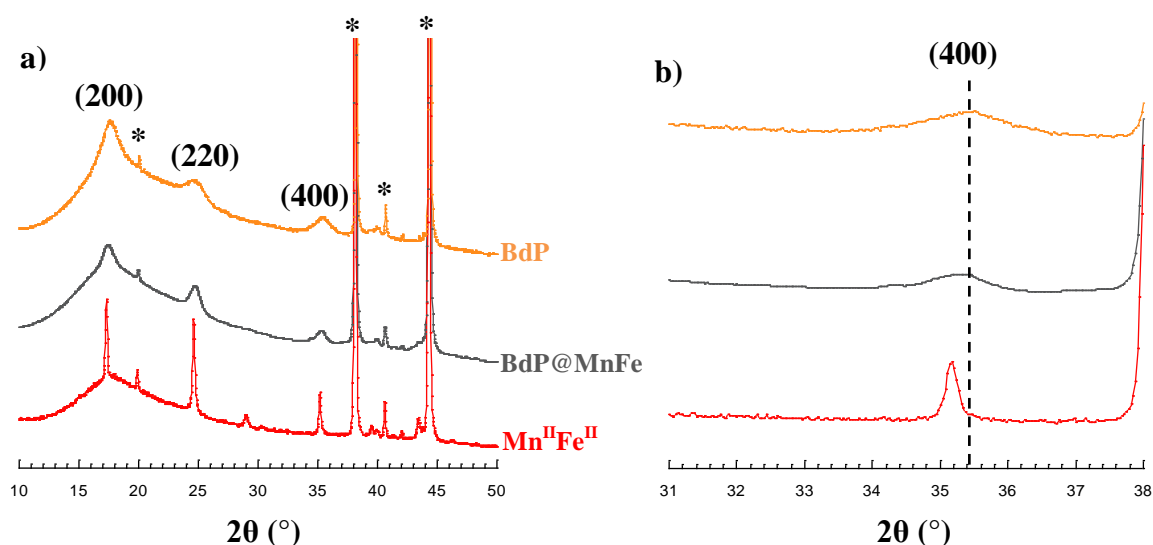


Figure III-10. Diffractogrammes des particules **BdP** et **BdP@MnFe** entourées de dextran ainsi que du réseau **Mn^{II}Fe^{II}** a) entre 10° et 50° b) Zoom sur la raie (400) (* pics issus du porte-échantillon)

Les diffractogrammes de poudre confirment la structure cubique à faces centrées des nanoparticules cœur-coquille de BdP@MnFe entourées de dextran (Figure III-10-a). Les pics de diffraction des particules BdP@MnFe semblent très légèrement décalés vers les plus faibles valeurs de 2θ se situant ainsi entre les pics de diffraction des réseaux de $Fe^{III}_4[Fe^{II}(CN)_6]_3$ de paramètre de maille 10,16 Å et de $Mn^{II}_2[Fe^{II}(CN)_6]$ de paramètre de maille 10,14 Å. Le paramètre de maille obtenu pour ces particules cœur-coquille est de 10,16 Å ce qui est cohérent avec les paramètres de maille des réseaux constituant le cœur et la coquille de ces objets. D'autre part, le zoom effectué sur la raie (400) et présenté sur la figure b) montre un très léger affinement des pics de diffraction des nanoparticules de BdP@MnFe en comparaison avec les particules de BdP indiquant une augmentation de la taille des objets ce qui est cohérent avec la croissance d'une coquille. Les tailles moyennes extraites par DRX

sur les raies (220) et (400) sont de 5,1 nm pour les cœurs de BdP et de 9,2 nm pour les particules de BdP@MnFe. Ces tailles correspondraient à la croissance d'une coquille de 2 nm d'épaisseur (5,1@2*2 nm). Toutefois, pour une architecture cœur-coquille, chaque composante (cœur et coquille) va induire un élargissement des pics correspondant à la longueur de cohérence des domaines diffractants, et ce avec un très léger décalage en angle. Le résultat de cette superposition conduit, en fonction de la cristallinité de chaque composante, à un élargissement artificiel qui ne reflète pas forcément la taille réelle cœur + coquille. Cette taille n'est qu'indicative et atteste tout de même de la bonne cristallinité des particules cœur-coquille synthétisées. La taille obtenues par MET sera utilisée dans les calculs ultérieurs visant à interpréter les propriétés de relaxivité de ces objets.

▪ *Les nanoparticules de BdP@BdP@MnFe@(dext)₂₅*

Sur la figure ci-dessous sont présentés les diffractogrammes des particules de BdP, BdP@BdP et BdP@BdP@MnFe entourées de dextran ainsi que le diffractogramme du réseau Mn^{II}Fe^{II}.

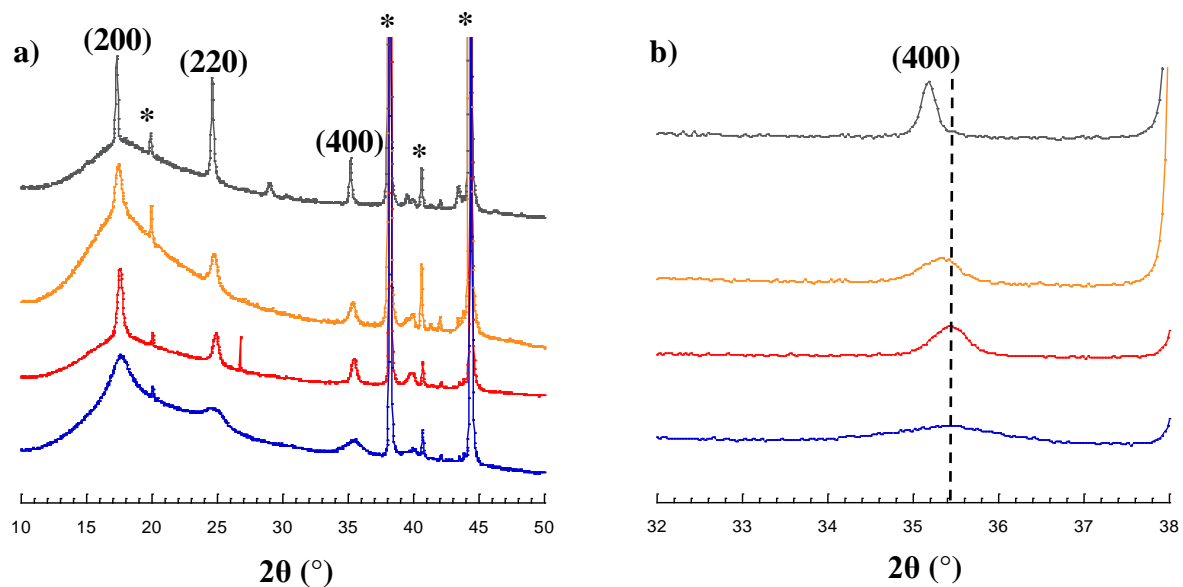


Figure III-11. Diffractogrammes des particules **BdP**, **BdP@BdP** et **BdP@BdP@MnFe** entourées de dextran ainsi que du réseau Mn^{II}Fe^{II} a) entre 10° et 50° b) Zoom sur la raie (400) (* pics issus du porte-échantillon)

Les pics de diffraction mettent en évidence la structure cubique à faces centrées des différents échantillons analysés. La présence du dextran induit un pic large autour de $2\theta = 15^\circ$. Qualitativement, le zoom effectué sur la raie (400) présente un affinement clair des pics de

diffraction des particules BdP@BdP en comparaison avec les particules de BdP avec une même position du maximum des pics en 2θ (paramètre moyen de 10,16 Å) prouvant la croissance des cœurs. Les pics de diffraction des particules de BdP@BdP@MnFe sont très légèrement décalés vers les plus faibles valeurs de 2θ , bien que le paramètre de maille moyen extrait par DRX soit identique à celui des cœurs grossis ($a = 10,16$ Å), ce qui est en bon accord avec la croissance d'une coquille de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ de paramètre de maille légèrement inférieur.

Concernant la taille des objets, les pics de diffraction des particules BdP@BdP@MnFe semblent plus larges que ceux des particules de BdP@BdP d'une taille de 17nm (cf. Figure III-11-b). Ceci peut s'expliquer par un élargissement artificiel des pics de diffraction des particules BdP@BdP@MnFe comme discuté précédemment. En effet, la taille des particules de BdP@BdP@MnFe extraite par DRX est de 15nm alors que la taille théorique attendue est de 20 nm. Cette sous-estimation de la taille des particules ainsi que la diminution du paramètre de maille des objets prouve la bonne croissance de la coquille de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ sur des particules de BdP@BdP de 17 nm. La taille expérimentale de ces particules sera extraite par MET.

I-2.2.3. Microscopie électronique à transmission (MET)

Les clichés de microscopie obtenus sur des redispersions des nanoparticules de BdP@MnFe et BdP@BdP@MnFe entourées de dextran sont présentés sur la Figure III-12.

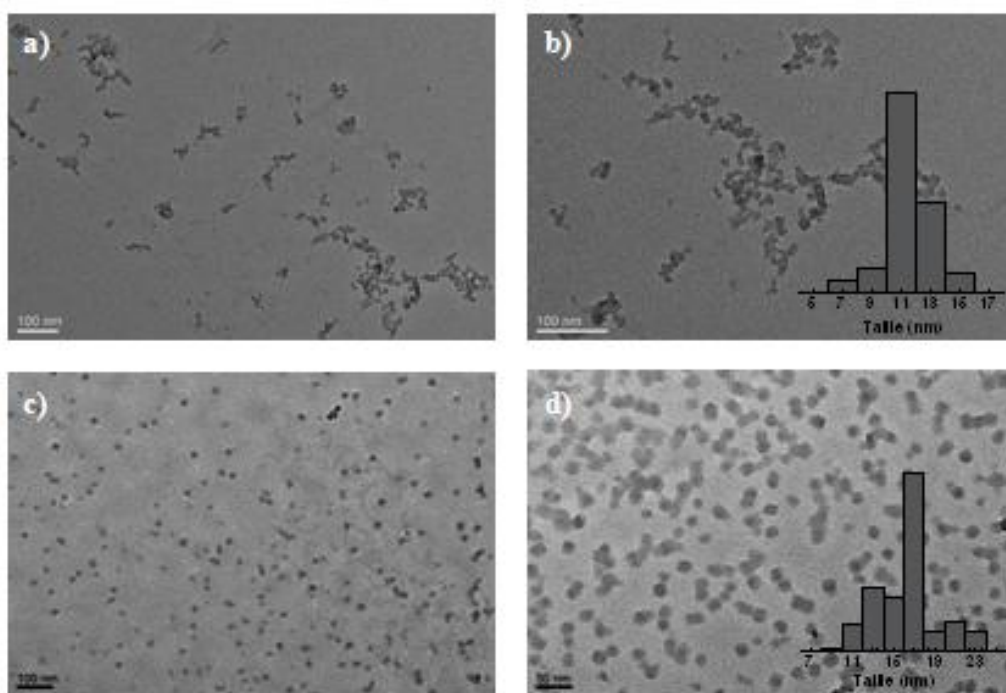


Figure III-12. Images MET des redispersions des particules BdP@MnFe entourées de dextran **a)** x 20 000 **b)** x 40 000 et des particules BdP@BdP@MnFe entourées de dextran **c)** x 20 000 **d)** x 40 000

Ces clichés montrent que les deux types de particules cœur-coquille semblent cubiques et monodisperses. Les distributions de taille ont été réalisées sur les images c) et d) car elles ont été prises avec un zoom plus important. Ainsi, les tailles moyennes obtenues par MET sont de $11,4 \pm 1,7$ nm pour les BdP@MnFe et de $16,3 \pm 2,9$ nm pour les BdP@BdP@MnFe. Les tailles sont légèrement supérieures à celles obtenues par DRX ce qui est cohérent puisque la structure cœur-coquille des particules entraîne un élargissement artificiel des pics de diffraction et donc une sous-estimation de la taille des objets comme discuté précédemment. D'autre part, la taille expérimentale des particules de BdP@MnFe est supérieure à la taille théorique visée de 8 nm et celle des particules de BdP@BdP@MnFe est inférieure à la taille théorique attendue de 20 nm. Connaissant la taille des particules cœur-coquille ainsi que les teneurs en ions Mn^{II} et Fe^{III} , il est possible de déterminer la taille des particules de cœurs ainsi que l'épaisseur de la coquille pour les deux échantillons. Ceci sera déterminé par la suite lors de la présentation des teneurs en ions métalliques, obtenues par ICP.

I.2.3. Caractérisations chimiques des nanoparticules $Mn^{II}_xFe^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$

I-2.3.1. Spectroscopie infrarouge (IR)

Les données IR centrées sur la bande de vibration asymétrique des cyanures pontants des nanoparticules BdP@MnFe et BdP@BdP@MnFe entourées de dextran sont présentées ci-dessous.

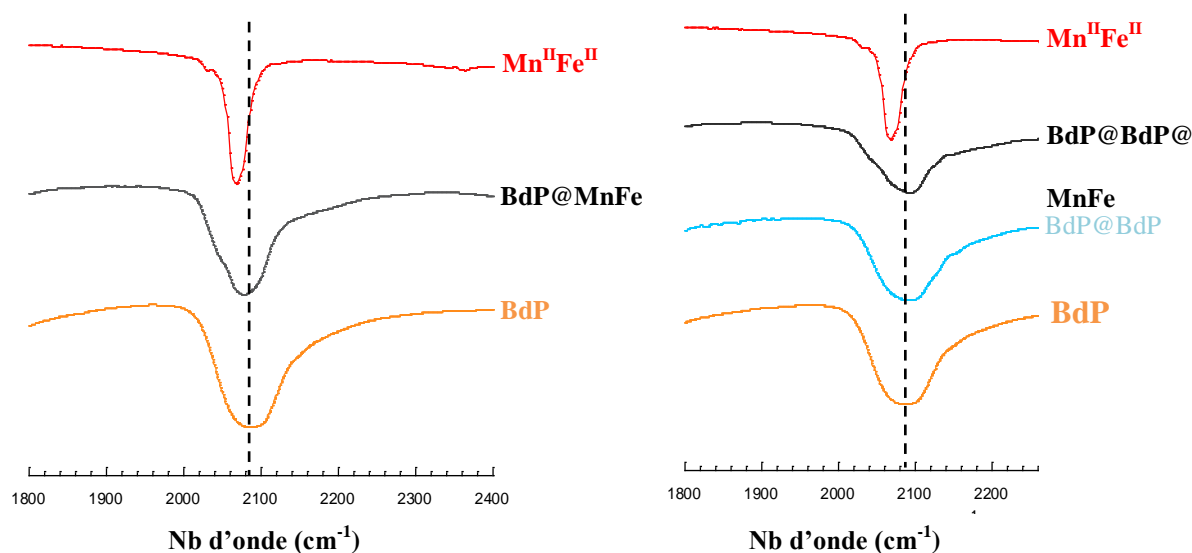


Figure III-13. Spectres infrarouge dans la zone de 1800 à 2400 cm^{-1} , à gauche : BdP, BdP@MnFe et $Mn^{II}Fe^{II}$ et à droite ; BdP, BdP@BdP, BdP@BdP@MnFe et $Mn^{II}Fe^{II}$

Ces spectres mettent en évidence la présence des deux réseaux, $Fe^{III}Fe^{II}(CN)_6$ et $Mn^{II}_2Fe^{II}(CN)_6$, au sein des particules cœur-coquille. En effet, pour les deux systèmes la bande caractéristique de la vibration asymétrique des cyanures pontants contient deux contributions : celle du cœur de BdP situé dans les plus hautes fréquences et celle du $Mn^{II}Fe^{II}$ légèrement décalée vers les plus basses fréquences. Concernant les particules de BdP@MnFe l'effet est plus prononcé que pour les plus gros nano-objets car la bande des cyanures pontants est légèrement décalée vers les basses fréquences en comparaison avec la position de la bande des cyanures pontants du cœur BdP en raison du ratio 1 : 1,4 entre la composante FeFe et MnFe. Pour les particules de BdP@BdP@MnFe, le maximum de la bande des cyanures

pontants est à la même fréquence que la bande des cyanures pontants du BdP en raison du ratio FeFe et MnFe de 1 : 0,6, néanmoins l'élargissement de cette bande est attribué à la signature du réseau $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6$. Ces caractérisations spectroscopiques attestent de la présence d'une coquille de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ ainsi que de la présence des cœurs BdP et BdP@BdP, également mise en évidence par la couleur bleue des poudres de particules récupérées après la synthèse.

I-2.3.2. Analyses élémentaires

La composition chimique des nanoparticules $\text{BdP@MnFe}@(\text{dext})_{25}$ et $\text{BdP@BdP@MnFe}@(\text{dext})_{25}$ obtenue par ICP ($\text{Fe}^{\text{II}}/\text{Fe}^{\text{III}}$ et Mn^{II}) et analyses élémentaires (C, H, N) sont présentées dans le tableau ci-dessous.

BdP@MnFe	$\text{Fe}^{\text{III}}_{0,42}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_{0,30}@K_{0,80}\text{Mn}^{\text{II}}_{0,58}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_{0,50}\cdot(\text{dext})_{24}\cdot(\text{H}_2\text{O})_{34}$
BdP@BdP@MnFe	$\text{Fe}^{\text{III}}_{0,4}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_{0,3}@K_{0,8}\text{Mn}^{\text{II}}_{0,4}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_{0,4}\cdot(\text{dext})_{58}\cdot(\text{H}_2\text{O})_{83}$

Tableau III-12. Unités formulaires des particules BdP@MnFe et BdP@BdP@MnFe dans le dextran déduites des analyses élémentaires (C, H, N) et des mesures faites par ICP ($\text{Fe}^{\text{II/III}}$ et Mn)

Concernant les particules BdP@MnFe , un rapport $\text{Fe}^{\text{II}}/\text{Fe}^{\text{III}}$ égal à 0,75 est obtenu pour le cœur, ce qui est en accord avec la stœchiométrie du réseau $\text{Fe}^{\text{III}}_4[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_3$ [4 : 3] et un rapport $\text{Mn}^{\text{II}}/\text{Fe}^{\text{III}}$ de 1,4 est obtenu pour la coquille ce qui correspond au ratio introduit. De plus, les particules sont enrobées par 24 équivalents de dextran. Concernant les particules BdP@BdP@MnFe , les rapports métalliques ($\text{Mn}^{\text{II}}/\text{Fe}^{\text{III}} = 0,5$) sont également en accord avec les quantités introduites initialement en solution ($\text{Mn}^{\text{II}}/\text{Fe}^{\text{III}} = 0,4$), néanmoins les particules sont entourées par 58 équivalents de dextran.

Comme dit précédemment, en connaissant la teneur en ions Mn^{II} , obtenue par ICP, ainsi que la taille moyenne des objets obtenue par MET, il est alors possible de déterminer la taille des cœurs ainsi que l'épaisseur de la coquille $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ pour les deux échantillons. Comme vu précédemment, il est possible de déterminer pour une particule de diamètre n , le nombre d'atomes total ainsi que le nombre total d'atomes de surface ($N_{\text{at total}} = 4n^3 + 6n^2 + 3n + 1$ et $N_{\text{at surface}} = 12n^2 + 2$).

Ainsi, une particule de BdP@MnFe d'une taille de 11,4 nm contient 6741 atomes et se compose, d'après les analyses élémentaires, de 58% d'ions Mn^{II} et de 42% d'ions Fe^{III} soit 3910 et 2831 atomes de chaque élément respectivement. Un cœur composé de 2831 atomes de Fe^{III} correspond à une taille d'environ 8,4 nm. En soustrayant la taille du cœur à la taille des particules cœur-coquille, les particules de BdP@MnFe présentent une coquille de 1,5 nm d'épaisseur soit l'équivalent de trois couches moléculaires. Concernant les particules de BdP@BdP@MnFe, une taille de 16,3 nm correspond à un nombre d'atomes total de 18 967 avec 7113 atomes de Mn^{II} et 11854 atomes de Fe^{III} d'après les teneurs obtenues par ICP. Les particules de BdP@BdP mesurent donc environ 13,9 nm d'où une coquille de $Mn^{II}Fe^{II}$ d'une épaisseur de 1,2 nm correspondant à un peu plus de deux couches moléculaires. Une explication pour ces tailles, différentes de celles attendues, provient sans doute d'une taille plus faible des cœurs de BdP, considérée à 6 nm mais obtenus en réalité à des tailles inférieures à 5 nm d'après les études DRX et MET. A partir de cœurs de 4,8 nm, des particules de BdP de 13,9 nm sont obtenues, et les cœur-coquilles BdP@BdP@MnFe de 16,3 nm en découlent. Les cœurs de BdP autour de 9 nm pour les cœur-coquille BdP@MnFe ne peuvent être les cœurs d'origine, et la probable agrégation contrôlée liée à l'augmentation de la force ionique et à la diminution de la charge de surface pourrait expliquer la taille des cœur-coquille BdP@MnFe. Comme nous le verrons par la suite, ce phénomène de coalescence a également été rencontré dans d'autres systèmes et sera étudié dans la suite de ce travail. Connaître l'épaisseur de la coquille est crucial puisque cela nous permettra par la suite d'évaluer d'une part, la participation des ions Mn^{II} de surface à la relaxivité et d'autre part, la contribution des ions Mn^{II} situés dans les couches les plus internes c'est-à-dire de déterminer l'influence de la microporosité sur la participation des ions internes à la relaxivité.

1.2.4. Profils de dispersion et images de contraste pondérées en T_1

Sur la figure ci-dessous, sont présentés les profils de dispersion enregistrés à 37°C entre 0,01 et 300MHz, sur les redispersions des particules BdP@MnFe et BdP@BdP@MnFe entourées de dextran. De plus, les valeurs de r_1 , r_2 et du rapport r_2/r_1 par ion Mn^{II} à 37°C, obtenues à 60 et à 300 MHz sont regroupées dans le tableau III-13.

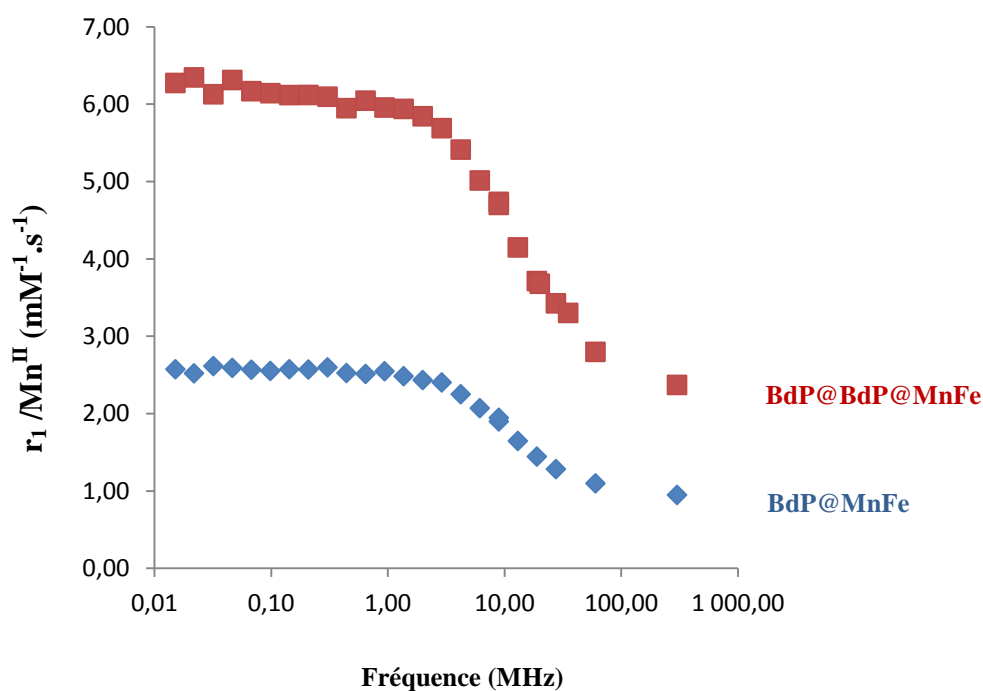


Figure III-14. Valeur de r_1/Mn^{II} en fonction de la fréquence des particules $BdP@MnFe$ et $BdP@BdP@MnFe$ entourées de dextran, en solution aqueuse et à 37°C

	BdP@MnFe (60 MHz)	BdP@MnFe (300 MHz)	BdP@BdP@MnFe (60 MHz)	BdP@BdP@MnFe (300 MHz)
r_1 (mM ⁻¹ .s ⁻¹)	1,1	1,0	2,8	2,4
r_2 (mM ⁻¹ .s ⁻¹)	1,8	4,9	7	45,9
r_2/r_1	1,6	4,9	2,5	19,1

Tableau III-13. Valeurs de r_1 , r_2 et r_2/r_1 à 60 et à 300MHz et à 37°C, par ion Mn^{II} , pour les nanoparticules cœur-coquille $BdP@MnFe$ et $BdP@BdP@MnFe$, entourées de dextran

Il s'agit ici de la relaxivité moyenne par ions Mn^{II} indépendamment de leur localisation au sein de la particule. Pour une épaisseur de coquille plus ou moins équivalente, la relaxivité des particules de $BdP@BdP@MnFe$ est 2,5 fois supérieure à celle des particules de $BdP@MnFe$. Ceci s'explique par la plus grande taille des objets qui conduit à un temps de corrélation rotationnel plus élevée donc à une précession plus lente de l'objet d'où une augmentation des valeurs de relaxivité. De plus, les particules cœur-coquille de plus grande taille sont enrobées

par 2,5 fois plus de dextran, d'après les analyses élémentaires, ce qui ne va pas en faveur d'une meilleure relaxivité. En effet, il a été montré dans le chapitre précédent que l'optimum de relaxivité est obtenu pour un enrobage constitué de 25 équivalents de polymère par rapport aux ions di- ou tri-valents liés du côté azote du pont cyanure. Concernant les valeurs des rapports r_2/r_1 , celles-ci augmentent avec le paramagnétisme de la particule puisque les rapports sont supérieures pour les particules de BdP@BdP@MnFe , à 60 et 300 MHz. D'autre part, à 300 MHz les valeurs de r_2 par ion Mn^{II} sont exaltées conduisant à un rapport r_2/r_1 égal à 5,2 pour les particules de BdP@MnFe et proche de 20 pour les particules BdP@BdP@MnFe de plus grande taille. Bien que les valeurs de relaxivité longitudinales de ces particules soient inférieures à celle du Gd-DTPA (de l'ordre de $4 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ à 300 MHz) ou encore à celles des particules de MnInFe ou MnInCuFe traitées précédemment, cette étude permet de mettre en évidence l'effet du temps de corrélation rotationnel sur la relaxivité des objets.

De plus, cette meilleure performance des nanoparticules cœur-coquille de BdP@BdP@MnFe est également reflétée dans les images de contraste pondérées en T_1 enregistrées à 300 MHz, à 37°C et à une concentration de 0,2 mM en ions Mn^{II} , comme montré ci-dessous.

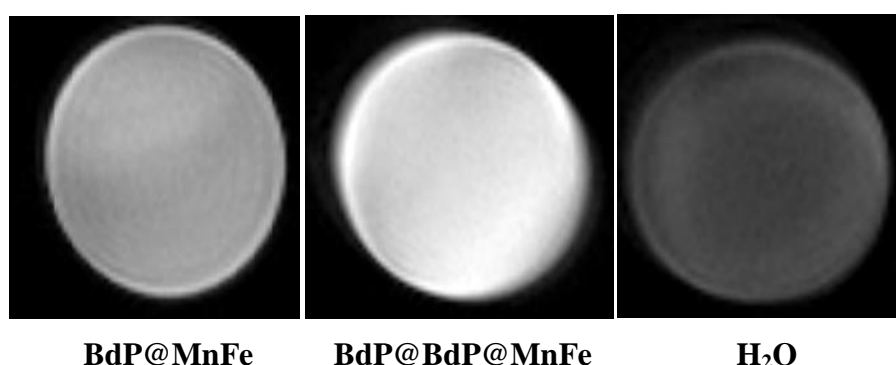


Figure III-14. Images de contraste pondérée en T_1 des nanoparticules cœur-coquille de BdP@MnFe (gauche), BdP@BdP@MnFe (centre) et de l'eau (gauche), enregistrées à 0,2 mM en Mn^{II} et à 300 MHz. (TR = 22 ms et TE = 3 ms)

Dûe à une plus grande taille des particules de BdP@BdP@MnFe et donc à une précession plus lente de ces objets, l'image de contraste T_1 obtenue est meilleure car plus brillante en comparaison avec les particules de BdP@MnFe , de même composition chimique mais de taille moins importante. Cette étude met donc en évidence l'effet positif du temps de corrélation rotationnel sur la relaxivité de ces particules.

1.2.5. Discussion

Au vu des observations précédentes, la relaxivité peut également être rapportée aux ions Mn^{II} situés en surface de la particule, en considérant une participation nulle ou du moins négligeable des ions Mn^{II} situés au sein des couches les plus internes de la coquille de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$. Ainsi, dans les figures III-15 sont présentés les évolutions des profils de dispersion obtenus pour les deux types d'objets en prenant en compte, dans un premier temps, uniquement la participation des ions Mn^{II} situés en périphérie des particules puis en considérant également la participation des ions Mn^{II} situés dans les deux ou trois sous-couches moléculaires selon le système considéré.

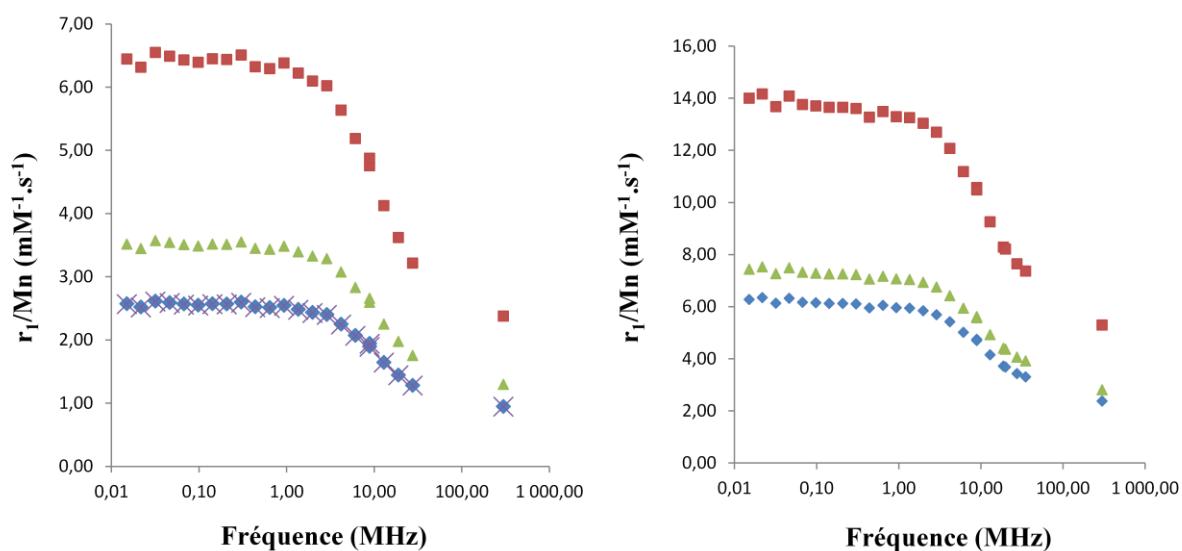


Figure III-15. Relaxivité par Mn^{II} (bleue), $\text{Mn}^{\text{II}}_{\text{s},n}$ (rouge), $\text{Mn}^{\text{II}}_{\text{s},n-1}$ (vert), $\text{Mn}^{\text{II}}_{\text{s},n-2}$ (croix bleues) pour les particules de BdP@MnFe (a) et BdP@BdP@MnFe (b) entourées de dextran, en solution aqueuse et à 37°C

Les profils tracés en bleu correspondent à la relaxivité par Mn^{II} de surface. Pour cela les mêmes calculs que précédemment ont été effectués. La relaxivité par particule a été divisée par le nombre d'atomes de Mn situés en surface (appelée couche n) de la particule pour une structure de type cœur-coquille. A cette valeur, a été ajoutée la contribution des ions Mn situés dans la couche n-1. Pour cela, sachant que le paramètre de maille de ces réseaux est d'environ 10 \AA (enchaînement Fe-CN-Mn-NC-Fe), une couche moléculaire fait $0,5 \text{ nm}$ d'épaisseur (enchaînement Fe-CN-Mn). Pour calculer le nombre d'atomes de Mn situés dans la couche n-1, il suffit de calculer le nombre d'atomes de Mn de surface d'une particule de

côté ($n - 2 \times 0,5$ nm) avec n la taille de la particule initiale (taille obtenue par MET). Ainsi les courbes en vert correspondent à la relaxivité des ions Mn^{II} situés en surface de la particule et dans la couche $n-1$. Le même calcul a ensuite été effectué en ajoutant la contribution des ions Mn^{II} situés dans la troisième couche moléculaire pour les particules de $BdP@MnFe$ (croix bleues).

En considérant la participation exclusive des ions Mn^{II} de surface (cf. courbes rouges), les valeurs de relaxivité par Mn^{II} sont environ 2,5 fois supérieures aux valeurs moyennes obtenues par ions Mn^{II} , pour les deux types de particules. De plus, des valeurs comparables par Mn de surface, à celles des $MnInFe$ 25% sont obtenues pour les particules de $BdP@BdP@MnFe$ ce qui est très prometteur puisque ces particules permettraient en plus du diagnostic par IRM de traiter les tumeurs par photothermie grâce à l'absorption du BdP dans l'IR. ¹⁻⁷ Enfin, un autre avantage de ces objets est leur non toxicité, puisque le bleu de Prusse a été approuvé par la FDA (US Food and Drugs Administration). ^{13, 14}

1.2.6. Comparaison aux nanoparticules $Mn^{II}Fe^{III}Fe^{II}$ obtenues par précipitation contrôlée en une étape

Précédemment, l'hypothèse d'une structure de type cœur-coquille des nanoparticules $Mn^{II}Fe^{III}Fe^{II}$ s'est avérée plus plausible qu'une structure de type alliage. Il est alors intéressant de comparer pour une même taille de particule c'est-à-dire pour un temps de corrélation rotationnel équivalent, les particules de $Mn^{II}Fe^{III}Fe^{II}$ avec les particules cœur-coquille de $BdP@MnFe$ et $BdP@BdP@MnFe$, afin de confirmer ou d'infirmer l'hypothèse émise.

Les particules de $MnFeFe$ dopées à 50% en Mn^{II} mesurent $9,7 \pm 1,4$ nm, taille comparable aux particules cœur-coquille de $BdP@MnFe$ d'une taille de $11,4 \pm 1,7$ nm. De même, les particules de $MnFeFe$ dopées à 80% en Mn^{II} et mesurant $16,2 \pm 2,5$ nm sont comparables aux particules cœur-coquilles de $BdP@BdP@MnFe$ d'une taille de $16,3 \pm 2,9$ nm. La comparaison des propriétés de relaxivité de ces objets est présentée sur la figure ci-dessous. Seule la contribution des ions Mn^{II} situés en surface des particules a été prise en compte.

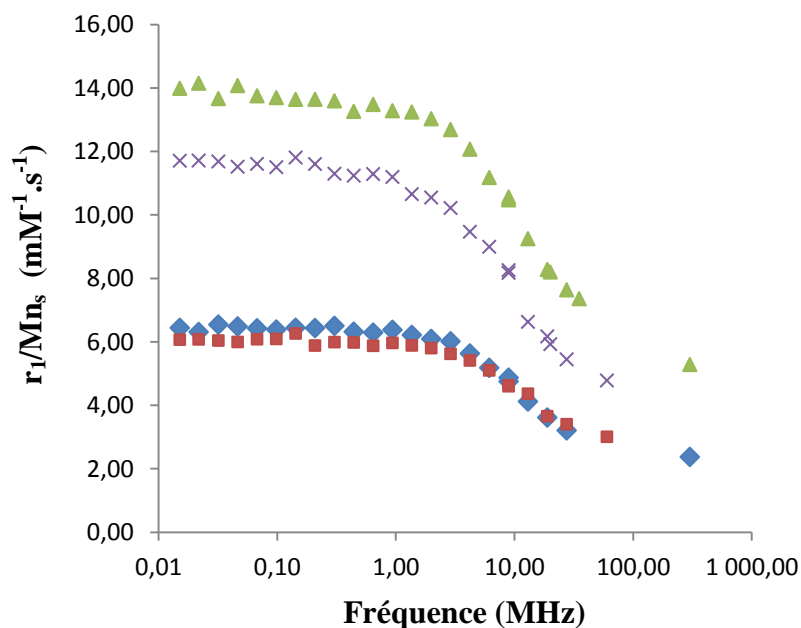


Figure III-16. Valeurs de r_1/Mn_s pour les nanoparticules $BdP@MnFe$, $BdP@BdP@MnFe$, $Mn^{II}Fe^{III}Fe^{II}$ [50] et $Mn^{II}Fe^{III}Fe^{II}$ [80] (croix), enregistrées en solution aqueuse et à 37°C

Sur la figure ci-dessus, il apparaît clairement que la relaxivité des particules de $Mn^{II}Fe^{III}Fe^{II}$ [50] est identique à celle des nanoparticules de $BdP@MnFe$, de même taille. Ce résultat valide donc l'hypothèse d'une morphologie de type cœur-coquille pour les particules de $Mn^{II}Fe^{III}Fe^{II}$ [50], synthétisées par précipitation contrôlée en une étape. La relaxivité des particules $Mn^{II}Fe^{III}Fe^{II}$ [80] est également très proche de celle des nanoparticules $BdP@BdP@MnFe$, confirmant également une structure de type cœur-coquille de ces objets ou du moins un très fort enrichissement de la surface des particules $Mn^{II}Fe^{III}Fe^{II}$, en ions Mn^{II} . D'autre part, la comparaison de ces quatre systèmes constitués d'un cœur de BdP et d'une surface saturée en ions Mn^{II} , montre l'effet positif de l'allongement du temps de corrélation rotationnel. En effet, pour des objets environ deux fois plus grand, la relaxivité par Mn de surface est également doublée, de $6 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ à $14 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ pour les nanoparticules de $BdP@MnFe$ et de $BdP@BdP@MnFe$ respectivement.

Pour conclure sur cette étude, il a été montré que la synthèse de nanoparticules de type $Mn^{II}Fe^{III}Fe^{II}$ par précipitation contrôlée conduit à l'obtention de nanoparticules de type cœur-coquille avec une surface enrichie en ions Mn^{II} . Cette stratégie de synthèse, reposant sur la nucléation de germes du réseau le moins soluble (ici le BdP) et permettant ensuite l'incorporation du réseau $Mn^{II}Fe^{II}$ en surface, est donc optimale de par sa simplicité. Les meilleures performances IRM (proches des particules $Mn^{II}In^{III}Fe^{II}$) ont été observées pour les nanoparticules de plus grande taille (~16 nm) constituées d'une surface saturée en ions Mn^{II} .

De plus, ces particules présentent l'avantage de potentiellement allier diagnostic et thérapie par la présence des ions Mn^{II} et du cœur de BdP, respectivement. Les systèmes obtenus pourront être optimisés davantage en ne liant qu'une sous-couche moléculaire diluée de manière à obtenir des relaxivités comparables à celles des systèmes MnInFe par ion Mn^{II} , ceux-ci étant tous localisés en surface. Deux stratégies sont possibles :

- Utiliser un cœur de bleu de Prusse de grande taille, l'idée première étant d'augmenter davantage le temps de corrélation rotationnel. Toutefois, l'augmentation du paramagnétisme des nanoparticules s'accompagne d'une augmentation de r_2 et du rapport r_2/r_1 (en particulier à haut champ), ce qui peut aller à l'encontre d'un fort contraste pondéré en T_1 . L'utilisation de cœurs de tailles supérieures n'est pas forcément idéale, mais toutefois deux systèmes complémentaires seront étudiés. Un cœur de BdP de 17 nm avec une seule couche moléculaire (ici deux couches moléculaires) de $Mn^{II}Fe^{II}$ et un cœur de BdP de 30 nm avec également une seule couche moléculaire de $Mn^{II}Fe^{II}$.

- Sur des cœurs de BdP de 5 nm, incorporer 5 à 25% de Mn^{II} ce qui représente 10 à 50% de taux de couverture de la surface. Ceci devrait permettre d'atteindre les mêmes performances que les particules de MnInFe en pouvant exploiter le cœur de BdP en photothermie. Cette stratégie présente en outre l'avantage de ne pas induire de ratios r_2/r_1 trop élevés, avec une seule couche moléculaire de MnFe. Si l'on parvient à préserver la relaxivité r_1 de $12 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ obtenue sur les particules MnInFe en remplaçant par un cœur de MnFeFe avec 10% de Mn, il sera à priori plus efficace et moins nocif d'employer ces particules que des particules de 30 nm.

II. NANOPARTICULES DE $Mn^{II}_x(In^{III}_aCu^{II}_b)_{1-x}[Fe^{II}(CN)_6]_y$

Cette partie est consacrée à la synthèse de nanoparticules de type $Mn^{II}_x(In^{III}_aCu^{II}_b)_{1-x}[Fe^{II}(CN)_6]_y$ permettant de combiner potentiellement au sein d'un même nano-objet deux types d'imagerie médicale (IRM/TEP) grâce à la présence des ions Mn^{II} et Cu^{II} , respectivement. L'objectif était de démontrer sur des ions « froids », qu'il est possible d'incorporer des taux variables de Cu^{II} en préservant des performances d'agents T_1 des nano-objets obtenus. Les techniques d'imageries médicales de Tomographie d'Emission MonoPhotonique (TEMP) et de Positrons (TEP) sont nées dans les années 1970. Bien que la résolution de ces techniques soient inférieures à celle de l'IRM (4 mm et 6 mm pour le TEP et le TEMP respectivement contre une résolution inférieure à 1 mm pour l'IRM), ces modes de détection sont très intéressants notamment lorsqu'ils sont couplés à une imagerie de type anatomique tel que l'IRM. En effet, les techniques de médecine nucléaire (scintigraphie, TEMP ou TEP) permettent de détecter des anomalies fonctionnelles ou métaboliques au sein de l'organisme n'ayant encore eu aucunes répercussions sur l'aspect des organes et donc non détectables par IRM. Ainsi, le développement de ces techniques est en plein essor puisqu'elles permettent le diagnostic et le suivi thérapeutique précoce de maladies. Ces techniques reposent sur le marquage d'un traceur spécifique d'une fonction de l'organisme ou d'une pathologie, par un radioisotope permettant la détection d'une anomalie par l'émission de photons γ comme schématisé ci-dessous, de façon très simplifiée.

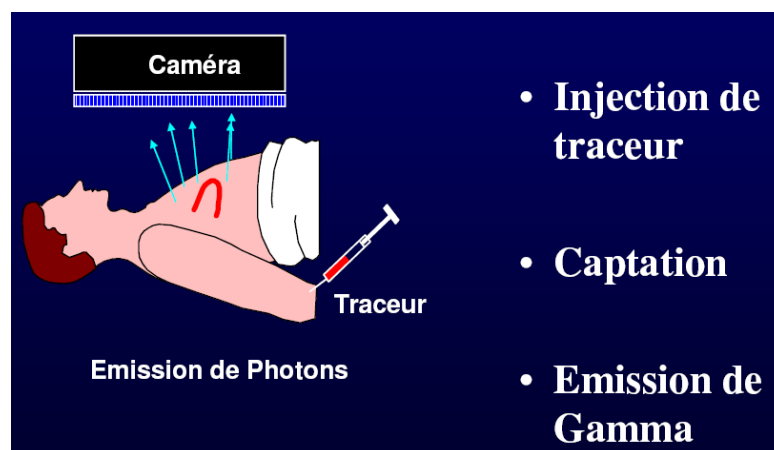


Figure III-16. Schéma simplifié des trois étapes d'un examen de médecine nucléaire (scintigraphie, TEMP et TEP)

L'examen consiste donc à injecter au patient un traceur fonctionnalisé par un isotope radioactif, qui sera capté par un organe spécifique. Ce radio-isotope émettra des photons γ captés par une caméra et permettant la visualisation d'une fonction physiologique ou métabolique de l'organisme. L'injection par voie intraveineuse suppose une stabilité du radiotraceur dans le sang ainsi qu'une élimination de celui-ci par voie urinaire afin d'éviter tout problème de toxicité pour l'organisme. En médecine nucléaire, trois types d'examen peuvent être réalisés :

- La scintigraphie développée dans les années 1960 et la TEMP résultent de l'émission d'un seul photon γ par un radioisotope. La différence entre ces deux techniques est que la scintigraphie est une imagerie planaire (2D) alors que la TEMP est une imagerie 3D.
- La TEP générant l'émission d'un positron β^+ qui en se combinant dans l'organisme à un électron conduit à l'émission de deux photons γ émis à 180° l'un de l'autre, permettant une meilleure résolution que la TEMP.

Les isotopes les plus utilisés en TEMP sont l' ^{123}I et l' ^{131}I pour la détection d'anomalies thyroïdiennes. Le ^{99}Tc et le ^{201}Tl sont également utilisés pour visualiser l'état de perfusion du myocarde. Récemment, les travaux de Guari et al. concernant la détection par TEMP de nanoparticules de BdP entourées de PEG-NH₂ d'une taille de 2-3 nm, marquées par du ^{201}Tl se sont montrés très encourageants.¹⁵ D'autre part, l'émetteur de positrons β^+ le plus utilisé pour des examens de TEP est le ^{18}F présentant un temps de demi-vie égal à 110 min, temps suffisamment long pour la réalisation de l'examen et permettant également une élimination rapide de l'isotope par voie urinaire. Des travaux récents ont également montré l'intérêt d'utiliser du $^{89}\text{Zr(IV)}$ pour le ciblage de tumeurs.¹⁶

Dans ce chapitre, l'insertion de Cu^{II} au sein des nanoparticules d'ABP, permettrait de remplacer pour des applications à plus long terme, cet ion par du ^{64}Cu , émetteur de positrons β^+ , pour la détection de ces nanoparticules par TEP.^{17, 18} La substitution de l'In par son isotope radioactif ^{111}In , permettrait également de détecter ces nanoparticules par TEMP. L'un

des premiers objectifs de cette étude était d'essayer de stabiliser des nanoparticules de type $\text{Mn}^{\text{II}}_{0,25}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,75}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ pour deux raisons. La première concerne la substitution des ions In^{III} par des ions Cu^{II} , pour la détection des nanoparticules par TEP. En effet, l'un des avantages du Cu^{II} est son temps de demi-vie égal à 12h, temps suffisamment long pour synthétiser les objets puis les détecter par TEP et suffisamment court pour permettre une élimination rapide de l'isotope présent dans l'organisme du patient. En effet, le temps de demi-vie de l' In^{III} est de 2,8 jours ce qui supposerait une élimination plus lente du radio-isotope et donc une toxicité plus importante pour un patient exposé à ce type d'objets. La seconde raison, concerne la possible encapsulation de principes actifs cationiques en interactions électrostatiques avec les particules chargées négativement qui pourrait être envisagée sur le plus long terme. La masse molaire du Cu^{II} étant inférieure à celle de l' In^{III} , le pourcentage massique d'encapsulation de principes actifs serait donc supérieur en présence de Cu^{II} . Ainsi, de la même façon que pour les nanoparticules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$, des nanoparticules de $\text{Mn}^{\text{II}}_x(\text{In}^{\text{III}}_a\text{Cu}^{\text{II}}_b)_{1-x}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_y$ seront obtenues selon deux stratégies de synthèse. La première stratégie par précipitation contrôlée en une étape et la seconde stratégie par croissance séquentielle épitaxiale d'une coquille de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ sur un cœur de $\text{Cu}^{\text{II}}_x\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}$. Les nanoparticules de $\text{Mn}^{\text{II}}_x(\text{In}^{\text{III}}_a\text{Cu}^{\text{II}}_b)_{1-x}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_y$ obtenues selon ces deux méthodes de synthèse seront caractérisées d'un point de vue chimique et structural. De plus, les propriétés de relaxivité de ces objets seront également explorées et les deux stratégies de synthèse employées pour l'élaboration de ces nanoparticules seront comparées sur la base des résultats de relaxivité obtenus.

II.1. Nanoparticules de $\text{Mn}^{\text{II}}_x(\text{In}^{\text{III}}_a\text{Cu}^{\text{II}}_b)_{1-x}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_y$ obtenues par précipitation contrôlée en une étape

II.1.1. Synthèse

La synthèse des nanoparticules de composition chimique $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6$ a lieu dans les mêmes conditions expérimentales que la synthèse des particules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6$ présentée au chapitre précédent. La synthèse se fait par un ajout rapide d'une solution aqueuse contenant des sels de $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, InCl_3 et $\text{CuCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ à 0,5mM dans une autre solution

aqueuse contenant un sel de $K_4Fe(CN)_6$ à 0,5mM, placées à 2°C et sous vive agitation. Suite à l'ajout, le mélange résultant est laissé à 2°C pendant 30 minutes puis ensuite remonté à température ambiante pendant 30 minutes. Les nanoparticules synthétisées sont ensuite enrobées de dextran, précipitées à l'acétone puis récupérées sous forme de poudre permettant leurs caractérisations chimiques, structurales ainsi que l'étude de leurs propriétés de relaxivité. Le protocole expérimental de synthèse des particules est décrit plus en détails dans l'annexe 11.

Ainsi, des nanoparticules de $Mn^{II}_x(In^{III}_aCu^{II}_b)_{(1-x)}Fe^{II}_y$ ont été synthétisées à différentes fractions molaires en In^{III} et Cu^{II} afin de déterminer la composition chimique optimale donnant lieu à des nanoparticules bien contrôlées en taille et stables au cours du temps sans ajout d'agent stabilisant. La teneur en Mn^{II} est fixée à $x=0,25$ puisqu'il a été montré dans le chapitre précédent que les nanoparticules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ dopées à 25% en Mn^{II} présentaient la relaxivité optimale. Le taux de Mn^{II} étant fixé à 25%, quatre compositions ont été testées :

$a = 0,25$ et $b = 0,75$; $a = b = 0,5$; $a = 0,75$ et $b = 0,25$; $a = 0$ et $b = 1$, désignées par la suite par les notations $Mn^{II}In^{III}Cu^{II}Fe^{II}$ [25], [50], [75] et [100] en référence au pourcentage de Cu^{II} inséré au sein du réseau $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$.

II.1.2. Caractérisations de taille et structurales des nanoparticules $Mn^{II}_x(In^{III}_aCu^{II}_b)_{1-x}[Fe^{II}(CN)_6]_y$

II-1.2.1. Diffusion dynamique de la lumière (DDL)

La diffusion dynamique de la lumière des solutions colloïdales de ces objets montre que le diamètre hydrodynamique des particules de $Mn^{II}_{0,25}(In^{III}_aCu^{II}_b)_{0,75}Fe^{II}_y$ varie en fonction de la fraction molaire en Cu^{II} . Sur la figure III-17, sont présentées les distributions de taille obtenues en fin de synthèse, pour les nanoparticules dopées à 25, 50, 75 et 100% en Cu^{II} .

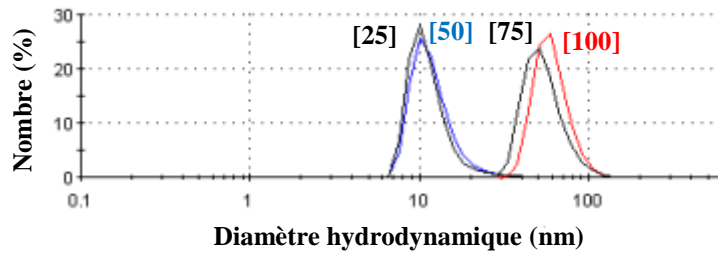


Figure III-17. Distribution de taille des particules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [25] ; [50] ; [75] et [100], obtenues par DDL en solution aqueuse et à température ambiante

Les diamètres hydrodynamiques moyens (D_h) des nanoparticules de $\text{Mn}^{\text{II}}_{0,25}(\text{In}^{\text{III}}_a\text{Cu}^{\text{II}}_b)_{0,75}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ à différentes fractions molaires en Cu^{II} , issues des distributions en nombre obtenues par DDL, sont regroupées dans le tableau ci-dessous (Tableau III-14).

	[25]	[50]	[75]	[100]
Dh (nm)	10,1	10,1	50,8	58,8

Tableau III-14. Diamètre hydrodynamique moyen des particules $\text{Mn}^{\text{II}}_{0,25}(\text{In}^{\text{III}}_a\text{Cu}^{\text{II}}_b)_{0,75}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ issues des distributions obtenues par DDL en solution aqueuse, à température ambiante

Les nanoparticules dopées à 25 et 50% en Cu^{II} présentent un diamètre hydrodynamique de 10,1 nm. Pour les plus hauts dopages en Cu^{II} , les nanoparticules obtenues sont plus grandes et montrent une évolution de la taille avec l'augmentation du taux de Cu^{II} . En effet, ces nanoparticules mesurent 50,8 nm et 58,8 nm pour des taux de Cu^{II} de 75% et 100%, respectivement. D'autre part, sachant que la DDL surestime la taille des objets, il est possible de considérer que les particules de MnInCuFe [25] et [50] possèdent une taille moyenne très proche bien que légèrement supérieure à celle des nanoparticules de $\text{Mn}^{\text{II}}_{0,25}\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Fe}^{\text{II}}_y$. Ainsi, pour une même taille de particule et donc un temps de corrélation rotationnel identique, ceci permettrait donc de déterminer l'influence du Cu^{II} sur la relaxivité des particules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$. De plus, sachant qu'il a été montré dans le chapitre précédent que l'exaltation de la relaxivité des particules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ était due à la localisation des ions Mn^{II} en surface, la comparaison des résultats de relaxivité de ces deux types d'objets permettra de déduire la localisation des ions Mn^{II} et Cu^{II} au sein des particules de MnInCuFe .

Le diamètre hydrodynamique des nanoparticules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [75] et [100] étant trop importants en comparaison à celui des nanoparticules de $\text{Mn}^{\text{II}}_{0,25}\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Fe}^{\text{II}}_y$, la suite de cette étude a été focalisée sur les nanoparticules MnInCuFe dopées à 50% en Cu^{II} . En effet, en plus de présenter une taille moyenne proche de celle des nanoparticules de $\text{Mn}^{\text{II}}_{0,25}\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Fe}^{\text{II}}_y$, ces objets contiennent plus d'ions Cu^{II} que les nanoparticules MnInCuFe [25], permettant un taux d'encapsulation massique de principes actifs plus élevé comme discuté précédemment.

La redispersion des particules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [50] entourées de dextran en solution aqueuse présente une taille moyenne en DDL en accord avec la taille obtenue après mélange comme le montre la figure III-18.

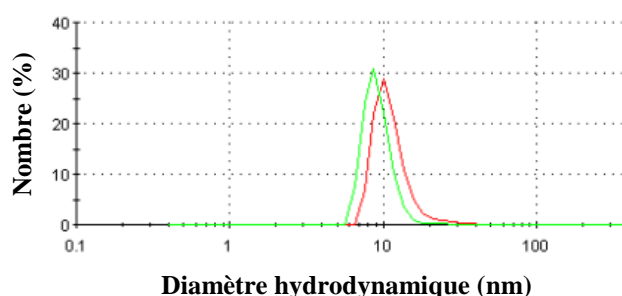


Figure III-18. Distribution de taille en nombre des nanoparticules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [50] en fin de synthèse (rouge) et après redispersion dans l'eau (vert), obtenues par DDL à température ambiante

De plus, la redispersion des particules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [50] est très stable dans le temps, puisque la taille moyenne des particules n'évolue pas huit jours après la première mesure.

II-1.2.2. Diffraction des rayons X sur poudre (DRX)

Le diffractogramme des particules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [50] enrobées de dextran, comparé à celui des particules $\text{Mn}^{\text{II}}_{0,25}\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ également entourées de dextran et au réseau $\text{Cu}^{\text{II}}_2[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]$ est présenté figure III-19.

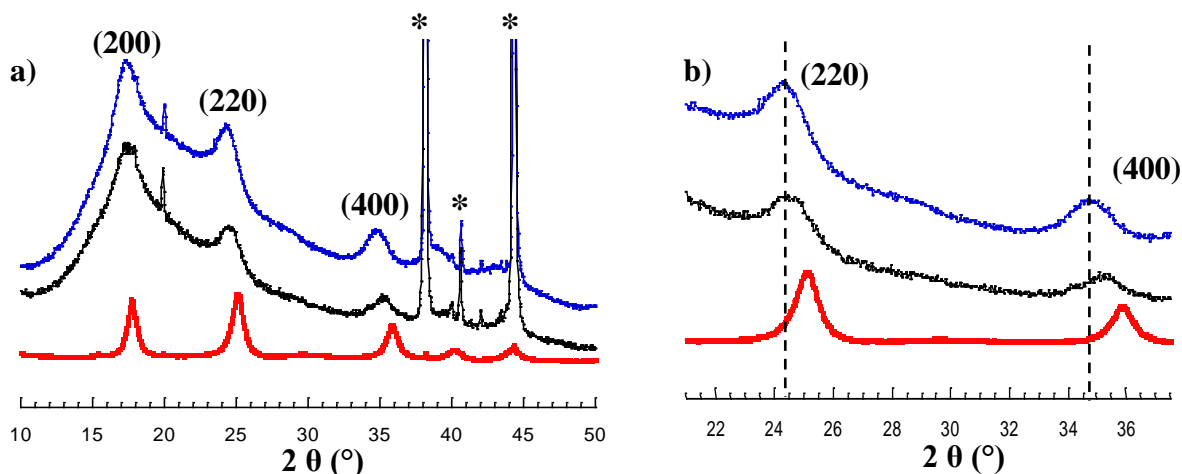


Figure III-19. a) Diffractogrammes des nanoparticules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [50] (noir), MnInFe [25] (bleu) entourées de dextran et $\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ massif (rouge) (* pics issus du porte échantillon) et b) Zoom sur les raies (220) et (400)

Les nanoparticules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [50] entourées de dextran présentent les pics caractéristiques de la structure cubique à faces centrées. La taille et le paramètre de maille de ces objets sont calculés par application de la loi de Bragg et de la formule de Scherrer aux raies (220) et (400). La figure III-19-b) montre qu'en présence de Cu^{II} les pics de diffraction des particules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [50] se décalent vers les valeurs élevées de 2θ , ce qui est en accord avec le paramètre de maille du réseau $\text{Cu}^{\text{II}}_2[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]$ égal à $10,02 \text{ \AA}$. En effet, le paramètre de maille extrait par DRX est de $10,21 \text{ \AA}$ pour les particules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [50] et de $10,28 \text{ \AA}$ pour les particules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [25]. Cette diminution du paramètre de maille s'explique par la substitution des ions In^{III} par des ions de diamètre plus faible, les ions Cu^{II} ($r(\text{Cu}^{\text{II}}) = 69 \text{ pm}$ et $r(\text{In}^{\text{III}}) = 80 \text{ pm}$). Ce résultat prouve donc l'insertion des ions Cu^{II} au sein du réseau cristallographique, et écarte une éventuelle adsorption ou coprécipitation des Cu^{II} . Concernant la taille des particules, la figure III-19-b) présente un léger affinement des pics de diffraction en présence des ions Cu^{II} suggérant une faible augmentation de la taille des particules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [50] en comparaison avec la taille des particules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [25]. Ceci est confirmé par les tailles moyennes des domaines diffractants extraites par DRX qui sont de $5,8 \text{ nm}$ et de $5,2 \text{ nm}$ pour les particules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [50] et de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [25], respectivement (taille sous-estimée par cette technique).

II-1.2.3. Microscopie électronique à transmission (MET)

Les redispersions des nanoparticules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [50] enrobées de dextran ont été observées par microscopie électronique à transmission et les images obtenues sont présentées sur la figure III-20.

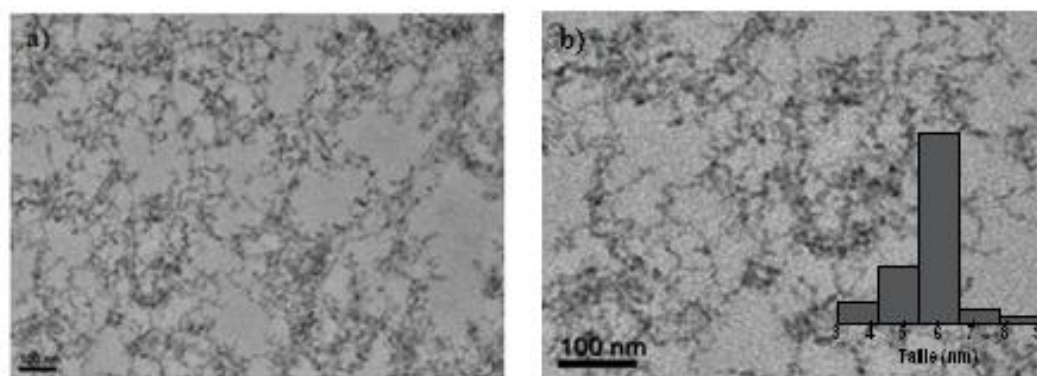
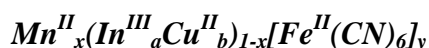


Figure III-20. Images MET des redispersions des particules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [50] en solution aqueuse grossissement a) $\times 20000$ b) Zoom de l'image a)

Qualitativement, les nanoparticules semblent être facettées et cubiques, ce qui est en accord avec un réseau cristallographique de type analogue du bleu de Prusse. De plus, les particules sont homogènes en taille justifiant la faible étendue de la distribution de taille obtenue par DDL sur les redispersions de ces objets (cf. Figure III-18). La taille moyenne des ces nanoparticules a été estimée sur l'image b) qui est un zoom de l'image a). Ainsi, la taille moyenne extraite par TEM des particules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [50] est de $5,7 \pm 1,0$ nm. Cette taille est en accord avec la taille moyenne obtenue par DRX et DDL, sachant que cette dernière technique de caractérisation surestime la taille des objets.

II.1.1. Caractérisations chimiques des nanoparticules



II-1.3.1. Spectroscopie infrarouge (IR)

Les données IR centrées sur la bande de vibration asymétrique des cyanures pontants des nanoparticules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [50] et $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [25] entourées de dextran sont présentées ci-dessous et comparées aux réseaux massifs de $\text{Mn}^{\text{II}}_2\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6$, $\text{Cu}^{\text{II}}_2\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6$ et $\text{In}^{\text{III}}_4[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_3$.

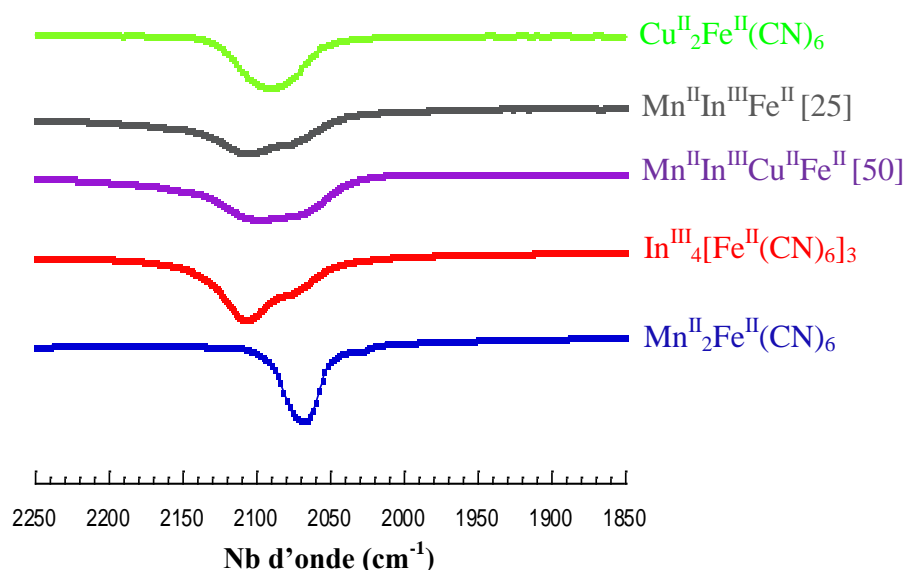


Figure III-21. Spectres infrarouge dans la zone de 1800 à 2400 cm^{-1} des nanoparticules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [50] et $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [25] entourées de dextran et des réseaux massifs de $\text{Mn}^{\text{II}}_2\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6$, $\text{Cu}^{\text{II}}_2\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6$ et $\text{In}^{\text{III}}_4[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_3$

Concernant les particules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [25], la bande de vibration asymétrique des cyanures pontants laisse apparaître clairement les deux contributions $\text{In}^{\text{III}}\text{-NC-Fe}^{\text{II}}$ et $\text{Mn}^{\text{II}}\text{-NC-Fe}^{\text{II}}$ alors que la bande caractéristique des nanoparticules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [50] est située à la même fréquence mais est élargie. Ceci est cohérent avec l'allure de la bande de vibration des cyanures pontant du réseau $\text{Cu}^{\text{II}}_2\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6$. En effet, la bande large obtenue pour les nanoparticules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [50] contient les trois contributions caractéristiques des enchainements $\text{In}^{\text{III}}\text{-NC-Fe}^{\text{II}}$, $\text{Mn}^{\text{II}}\text{-NC-Fe}^{\text{II}}$ et $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-NC-Fe}^{\text{II}}$. Les caractérisations par spectroscopie infrarouge sont en accord l'insertion des ions Cu^{II} au sein du réseau d'analogue du bleu de Prusse des particules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [50] synthétisées.

II-1.3.2. Spectroscopie UV- visible

Les redispersions des nanoparticules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [50] en solution aqueuse ont été étudiées par spectroscopie d'absorption dans la gamme de 300 à 800 nm comme montré sur la figure ci-dessous.

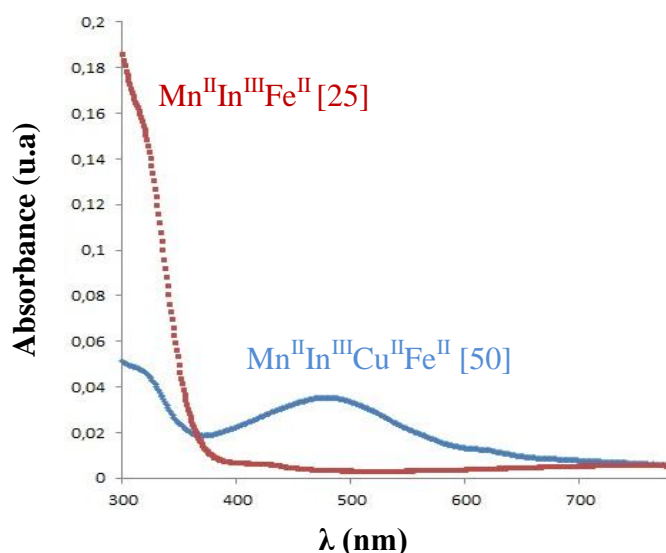


Figure III-22. Spectres d'absorption UV-visible enregistrés sur des redispersions en solution aqueuse des particules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [25] et $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [50] entourées de dextran entre 300 et 800 nm

Contrairement aux nanoparticules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [25] qui sont incolores en solution aqueuse, les nanoparticules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [50] présentent une coloration marron, caractéristique de la présence du Cu^{II} . Ainsi, une bande d'intervallence caractéristique du transfert de charge de paires $\text{Cu}^{\text{II}}/\text{Fe}^{\text{II}}$ vers $\text{Cu}^{\text{I}}/\text{Fe}^{\text{III}}$ est observée à 475 nm. Connaissant l'absorbance et la concentration des particules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [50] au sein de la redispersion étudiée par spectroscopie d'absorption UV-visible, il est possible de déterminer, par l'application de la loi de Beer-Lambert, le coefficient d'extinction molaire du réseau $\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$. Un coefficient d'extinction molaire de $286 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ est obtenu expérimentalement ce qui est en accord avec la valeur théorique obtenue pour un réseau de type $\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$.¹⁹ Les résultats obtenus par spectroscopie d'absorption UV-visible prouve donc une nouvelle fois la bonne insertion du Cu au sein du réseau cristallographique.

II-1.3.3. Analyses élémentaires

Les pourcentages massiques des métaux, mesurés par EDS, permettent d'établir la composition chimique du cœur inorganique et la teneur en C, H et N mesurée permet de déterminer la proportion de dextran enrobant les particules. L'unité formulaire obtenue pour les nanoparticules synthétisées de $\text{Mn}^{\text{II}}_{0,25}\text{In}^{\text{III}}_{0,375}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,375}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ (= $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [50]) enrobées de dextran est la suivante : $\mathbf{K}_{0,48}\mathbf{Mn}^{\text{II}}_{0,27}\mathbf{In}^{\text{III}}_{0,35}\mathbf{Cu}_{0,38}[\mathbf{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_{0,9}(\mathbf{H}_2\mathbf{O})_{33}(\mathbf{dext})_{26}$.

Les taux de Mn^{II} , In^{III} et Cu^{II} incorporés au sein du réseau correspondent aux taux introduits initialement en solution. De plus, la proportion de dextran autour des particules est également en bon accord avec les 25 équivalents de polymère introduits lors de la synthèse, permettant la bonne redispersion des particules en solution aqueuse. Ainsi, pour un même taux de Mn^{II} et une même quantité de dextran enrobant les particules, l'influence du Cu^{II} sur la relaxivité des nanoparticules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [25] va pouvoir être étudiée.

II.1.2. Profils de dispersion et images de contraste pondérées en T_1 des nanoparticules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [50]

▪ *Alliage ou cœur-coquille ?*

De la même façon que pour les nanoparticules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ et $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$, la relaxivité des particules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ par Mn de surface a été calculée dans le cas d'une structure de type cœur-coquille ou alliage des particules. Le nombre d'atomes de Mn^{II} de surface dans le cas de ces deux hypothèses pour des particules de 5,7 nm de diamètre (taille extraite par MET) est présenté dans le tableau III-15.

d (nm)	N _{at} total	N _{at} surface	N _{at} total Mn ^{II}	Mn _s alliage	Mn _s CC
5,7	954	392	258	106	258

Tableau III-15. Nombre d'atomes de Mn^{II} de surface dans le cas d'une structure de type cœur-coquille ou alliage pour les particules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [50]

De la même façon que pour les systèmes présentés précédemment, la relaxivité par particule est calculée puis divisée par le nombre d'atomes de Mn^{II} de surface dans le cas d'une structure de type alliage d'une part, et d'une structure de type cœur-coquille d'autre part. De plus, contrairement au cas des particules de $Mn^{II}Fe^{III}Fe^{II}$, la contribution des ions Cu^{II} de surface n'est pas prise en compte. En effet, le spin électronique du Cu^{II} est égal à 1/2 et la contribution des ions Cu^{II} de surface est de $0,62 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, ce qui est négligeable par rapport à l'activité des ions Mn^{II} de surface (aux alentours de 3-4 nm comme vu précédemment). La contribution des ions Cu^{II} de surface a été estimée sur des nanoparticules de $Cu^{II}_3[Fe^{III}(CN)_6]_2$ d'une taille de 5,2 nm publiées dans la littérature par l'équipe de J. Larionova.²⁰

Les valeurs de relaxivité par atome de Mn^{II} de surface dans le cas d'une structure alliage ou cœur-coquille obtenues à 37°C entre 0,01 et 300 MHz sont présentées sur la figure III-23. De plus, les valeurs de r_1 , r_2 et r_2/r_1 par ion Mn^{II} obtenues à 60 et 300 MHz sont regroupées dans le tableau III-16.

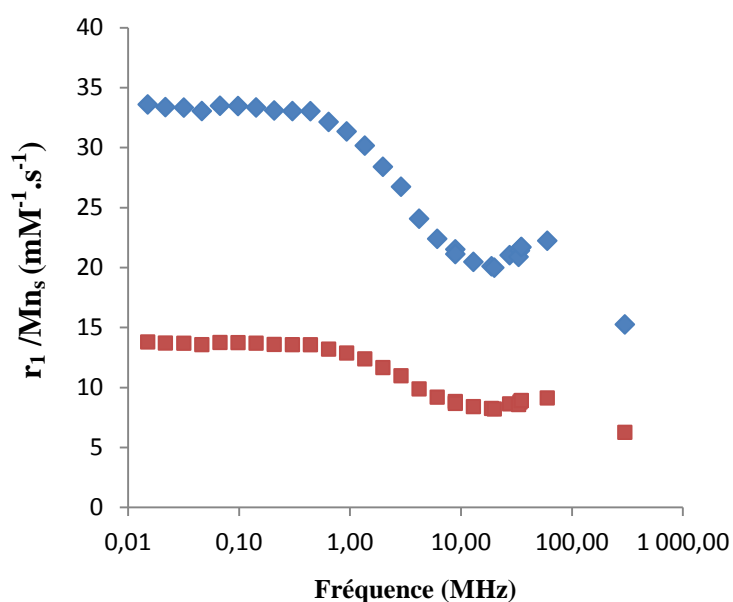


Figure III-23. Valeurs de r_1/Mn_s en fonction de la fréquence dans l'hypothèse d'une structure **alliage** ou **cœur-coquille** des particules $Mn^{II}In^{III}Cu^{II}Fe^{II}$ [50]

$MnInCuFe[50]@(dext)_{25}$	r_1 ($\text{mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)	r_2 ($\text{mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)	r_2/r_1
60 MHz	9,1	12,8	1,4
300 MHz	6,3	15,6	2,5

Tableau III-16. Valeurs de r_1 , r_2 et r_2/r_1 à 60 et à 300MHz et à 37°C, par ion Mn^{II} , pour les nanoparticules $MnInCuFe$ [50] entourées de dextran

De la même façon que pour les particules de type $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$, la structure de type cœur-coquille semble plus plausible au vue des valeurs de relaxivité très élevées pour des atomes de Mn^{II} de surface dans le cas de l'hypothèse d'une structure de type alliage. D'autre part, les relaxivités obtenues dans l'hypothèse d'une structure cœur-coquille des particules, sont très proches des valeurs obtenues pour les MnInFe [25] ce qui indique que l'insertion du Cu^{II} ne diminue pas la relaxivité. Le rapport r_2/r_1 est inférieur à 2 à 60 MHz indiquant le comportement T_1 des particules de MnInCuFe [50]. A 300 MHz, la relaxivité du Cu^{II} semble exaltée conduisant à un rapport r_2/r_1 supérieur à 2.

L'hypothèse d'une structure de type cœur-coquille des particules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [50] sera validée ou non par la suite lors de l'étude des propriétés de relaxivité des particules de type cœur-coquille $\text{In}_{1-x}\text{Cu}_x\text{Fe@MnFe}$ synthétisées.

- **Effet de l'enrobage**

L'influence de la densité de dextran enrobant les nanoparticules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [50] sur leurs propriétés de relaxivité a également été explorée. Pour cela, 25 ou 50 équivalents de dextran par rapport aux ions Mn^{II} , In^{III} et Cu^{II} ont été ajoutés à la solution colloïdale de nanoparticules obtenue en fin de synthèse. Les unités formulaires des nanoparticules obtenues sont présentées dans le tableau ci-dessous.

Nb éq. dextran	Unités Formulaires
25	$\text{K}_{0,48}\text{Mn}^{\text{II}}_{0,27}\text{In}^{\text{III}}_{0,35}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,38}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_{0,9}(\text{H}_2\text{O})_{33}(\text{dext})_{26}$
50	$\text{K}_{0,48}\text{Mn}^{\text{II}}_{0,27}\text{In}^{\text{III}}_{0,35}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,38}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_{0,9}(\text{H}_2\text{O})_{64}(\text{dext})_{47}$

Tableau III-17. Unités formulaires des particules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [25] et $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [50] dans le dextran déduites des analyses élémentaires (C, H, N) et des mesures faites par EDS (Mn^{II} , Fe^{II} , In^{III} et Cu^{II})

La seule différence entre ces deux systèmes est la densité de dextran présente autour des particules permettant d'évaluer l'effet de cet enrobage sur la relaxivité des objets, comme montré sur la figure ci-dessous.

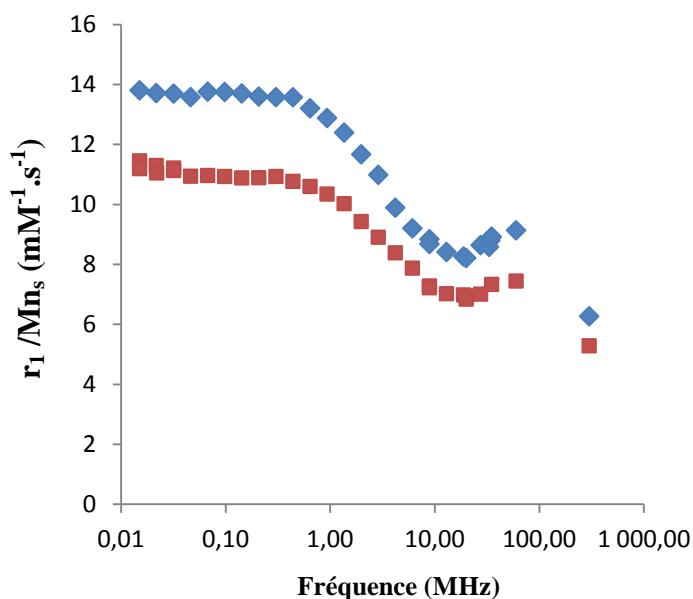


Figure III-24. Valeurs de r_1/Mn_s en fonction de la fréquence pour les nanoparticules $Mn^{II}In^{III}Cu^{II}Fe^{II}$ [50]@(dext)₂₅ et $Mn^{II}In^{III}Cu^{II}Fe^{II}$ [50]@(dext)₅₀

De même que pour les particules de $Mn^{II}In^{III}Fe^{II}$, la relaxivité est dépendante de l'enrobage et le système optimal est obtenu pour les nanoparticules de $Mn^{II}In^{III}Cu^{II}Fe^{II}$ [50] enrobées par 25 équivalents de dextran. En effet, bien que ce polymère soit hydrophile, il faut trouver le bon compromis entre une densité de dextran suffisante pour ralentir la précession de l'objet sur lui-même mais permettant également la bonne diffusion des molécules d'eau vers la sphère de coordination du cation paramagnétique. Bien que la relaxivité de ces particules reste bonne en présence de 50 équivalents de dextran, le temps d'échange des molécules d'eau semble ralenti dans ce cas par une diffusion plus difficile due à une couche de polymère moins perméable que dans le cas des particules entourées par 25 équivalents de dextran.

II.1.3. Discussion

Sur la base des résultats de relaxivité obtenus pour les particules de $Mn^{II}In^{III}Fe^{II}$ [25] et de $Mn^{II}In^{III}Cu^{II}Fe^{II}$ [50] enrobées par 25 équivalents de dextran, il est possible d'évaluer l'influence du Cu^{II} sur la relaxivité des objets. La comparaison des propriétés de relaxivité de ces deux systèmes est présentée sur la figure III-26.

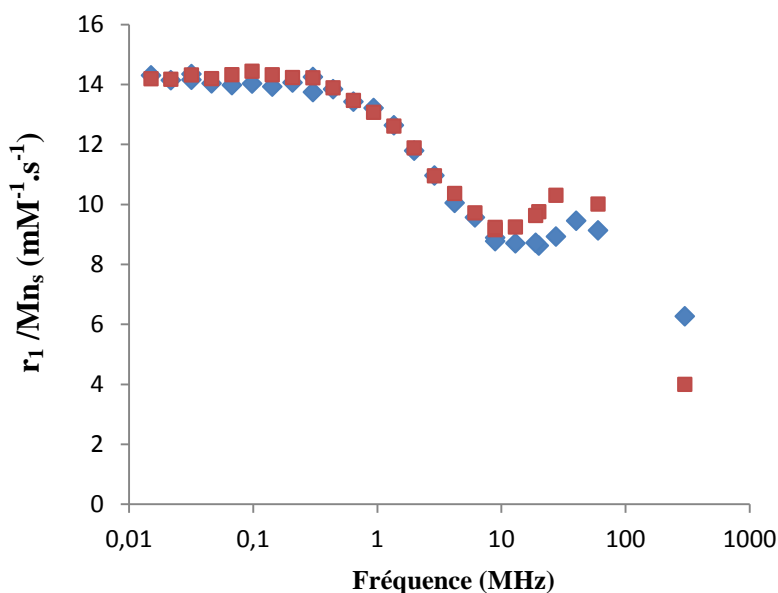


Figure III-26. Valeurs de r_1/Mn_s en fonction de la fréquence pour les nanoparticules de $Mn^{II}In^{III}Cu^{II}Fe^{II}$ [50]@(*dext*)₂₅ et $Mn^{II}In^{III}Fe^{II}$ [25]@(*dext*)₂₅

La relaxivité des nanoparticules de $Mn^{II}In^{III}Cu^{II}Fe^{II}$ [50] est quasiment identique à celles des nanoparticules de $Mn^{II}In^{III}Fe^{II}$ [25] avec une allure de profil caractéristique d'une relaxivité limitée par le temps de corrélation rotationnel. La relaxivité des particules à base de Cu^{II} et Mn^{II} est légèrement plus faible entre 10 et 60 MHz mais présente une valeur de r_1/Mn_s supérieure à 300 MHz en comparaison avec les particules de $Mn^{II}In^{III}Fe^{II}$ [25]. Ces deux types de nanoparticules présentent des tailles très voisines et un taux de couverture de la surface en Mn^{II} également similaire. En effet, la surface des particules de $Mn^{II}In^{III}Cu^{II}Fe^{II}$ [50] est saturée à 66% en Mn^{II} contre 56% dans le cas des nanoparticules de $Mn^{II}In^{III}Fe^{II}$ [25]. Ce taux de couverture de la surface en Mn^{II} plus élevé dans le cas des particules à base de Cu^{II} pourrait expliquer la très légère diminution de la relaxivité entre 10 et 60 MHz dû à des interactions dipolaires plus importantes. Par ailleurs, la valeur de relaxivité plus élevée à 300 MHz pour les particules de $Mn^{II}In^{III}Cu^{II}Fe^{II}$ [50] pourrait être due à la présence du Cu^{II} à proximité du Mn^{II} , en surface des particules. Dans ce cas, la proximité du Cu^{II} et du Mn^{II} aurait un effet positif à haut champ. De plus, l'exaltation de la relaxivité du Cu^{II} à haut champ uniquement est corroborée par le rapport r_2/r_1 obtenu à 300 MHz pour ces objets (cf. Tableau III-16).

Pour conclure sur cette étude, l'insertion du Cu^{II} au sein des particules de $Mn^{II}In^{III}Fe^{II}$ [25] n'affecte pas, de manière générale, leur relaxivité qui se situe toujours aux alentours de 10 $mM^{-1}.s^{-1}$ à 60MHz. Ceci est une preuve indirecte de la localisation des ions Mn^{II} en surface

des nanoparticules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$. Ceci sous-entendrait donc que la croissance de ces objets est contrôlée par la nucléation de germes $\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ conduisant à des nanoparticules présentant une surface riche en ions Mn^{II} d'où les valeurs de r_1 observées. Cette surface n'étant pas saturée en ions Mn^{II} , des ions Cu^{II} seraient également localisés en surface des particules mais contribueraient peu ou pas à la relaxivité des objets au vu des résultats obtenus. Cependant, un effet positif de la présence du Cu^{II} au sein des nanoparticules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [50] semble être observé à haut champ. Enfin, les nanoparticules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [50] synthétisées présentent l'avantage d'être d'excellents agents de contraste T_1 pour l'IRM et de pouvoir également être détectés par TEMP grâce à la présence des ions Cu^{II} ou In^{III} , bien qu'aucun essai d'imagerie TEMP n'ait encore pu être mené.

Par la suite, et afin de s'assurer que ces nanoparticules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [50], obtenues par précipitation contrôlée, présentent bien une structure de type cœur-coquille, une deuxième partie de ce travail a porté sur la synthèse de nanoparticules de type cœur-coquille composées d'un cœur de $\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Cu}^{\text{II}}_x\text{Fe}^{\text{II}}$ et d'une coquille de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$. En comparant les propriétés de relaxivité de ces nanoparticules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$, obtenues selon deux stratégies de synthèse différentes, l'hypothèse d'une structure de type cœur-coquille des particules présentées dans cette partie, pourra être confirmée ou non et le choix de la stratégie de synthèse de ces objets sera alors discuté.

II.2. Nanoparticules $\text{Mn}^{\text{II}}(\text{In}^{\text{III}}_a\text{Cu}^{\text{II}}_b)_{1-x}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_y$ de type cœur-coquille

II.2.1. Synthèse

Selon le même protocole que pour les nanoparticules cœur-coquille de type BdP@MnFe et BdP@BdP@MnFe , des nanoparticules de type $\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Cu}^{\text{II}}_x\text{Fe}^{\text{II}}@\text{MnFe}$ ont été synthétisées. Le but de cette étude est de localiser tous les ions Mn^{II} en surface des objets afin d'exalter la relaxivité et de la comparer à celle des nanoparticules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [50] obtenues par précipitation contrôlée en solution aqueuse. Des essais de synthèse des particules de cœurs $\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Cu}^{\text{II}}_x\text{Fe}^{\text{II}}$ à différents taux de Cu^{II} ont été réalisés tel que $x = 0,25 ; 0,5 ; 0,75$ et 1 . Les résultats concernant les tailles moyennes de ces objets sont identiques à ceux obtenus pour les

nanoparticules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [25], [50], [75] et [100] (cf. Figure III-17). Au vu des tailles obtenues pour ces particules, deux compositions chimiques ont été choisies pour la synthèse des nanoparticules de cœur telles que $x = 0,25$ ou $0,5$. Ainsi par addition goutte à goutte de deux solutions aqueuses contenant pour l'une, $0,5 \text{ mM}$ de $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ et pour l'autre $0,5 \text{ mM}$ de $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]^{4-}$ dans la solution colloïdale contenant les cœurs de $\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Cu}^{\text{II}}_x\text{Fe}^{\text{II}}$, placée à 2°C et sous vive agitation, des nanoparticules cœur-coquille de formule $\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}\text{Fe}^{\text{II}}@\text{MnFe}$ et $\text{In}^{\text{III}}_{0,5}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,5}\text{Fe}^{\text{II}}@\text{MnFe}$ sont obtenues. La quantité de précurseurs Mn^{II} et Fe^{II} ajoutée tel que $n_s/n_c = 0,7$, correspond à la croissance d'une coquille de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ d' 1 nm d'épaisseur. Le protocole de synthèse de ces nanoparticules est expliqué dans l'annexe 12. Les nanoparticules synthétisées sont ensuite entourées de dextran (ajout de 25 équivalents), précipitées à l'acétone puis récupérées sous forme de poudre après centrifugation et séchage sous vide, permettant de les caractériser d'un point de vue chimique et structural. Les propriétés de relaxivité de ces objets seront également mesurées et la teneur en Cu^{II} , différente pour ces deux échantillons, permettra d'évaluer l'influence du paramagnétisme du cœur sur la relaxivité.

II.2.2. Caractérisations de taille et structurales des nanoparticules $\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Cu}^{\text{II}}_x\text{Fe}^{\text{II}}@\text{MnFe}$

II-2.2.1. Diffusion dynamique de la lumière (DDL)

Les diamètres hydrodynamiques moyens des nanoparticules de cœur et cœur-coquille mesurés par DDL directement en solution colloïdale sont présentés sur la Figure III-27.

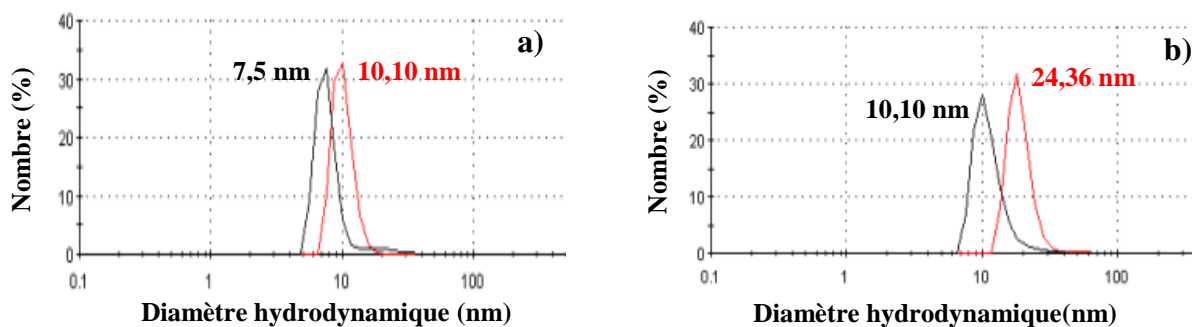


Figure III-27. Distribution de taille en nombre des nanoparticules a) $\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}\text{Fe}^{\text{II}}$ et $\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}\text{Fe}^{\text{II}}@\text{MnFe}$ et b) $\text{In}^{\text{III}}_{0,5}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,5}\text{Fe}^{\text{II}}$ et $\text{In}^{\text{III}}_{0,5}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,5}\text{Fe}^{\text{II}}@\text{MnFe}$, obtenues par DDL en solution aqueuse à 2°C

Les diamètres hydrodynamiques moyens obtenus par DDL montrent une croissance contrôlée en taille des nanoparticules de $\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}\text{Fe}^{\text{II}}@\text{MnFe}$. En effet, à la fin de l'ajout des précurseurs de la coquille, la taille des nanoparticules a augmenté de 2,5 nm correspondant à la croissance d'une coquille d'1 nm d'épaisseur à l'incertitude près, comme visée théoriquement. Concernant les nanoparticules de $\text{In}^{\text{III}}_{0,5}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,5}\text{Fe}^{\text{II}}@\text{MnFe}$, la taille moyenne est plus que doublée après l'ajout des précurseurs de la coquille, néanmoins les particules restent stables dans le temps et l'étendue de la distribution de taille reste constante en comparaison avec les particules de cœur. Compte tenu que le diamètre hydrodynamique peut inclure la couche diffuse, cette taille apparente ne signifie pas que la croissance ne soit pas contrôlée.

Les diamètres hydrodynamiques moyens de ces nanoparticules entourées de dextran et redispersées en solution aqueuse ont également été mesurées comme montré sur la figure III-28.

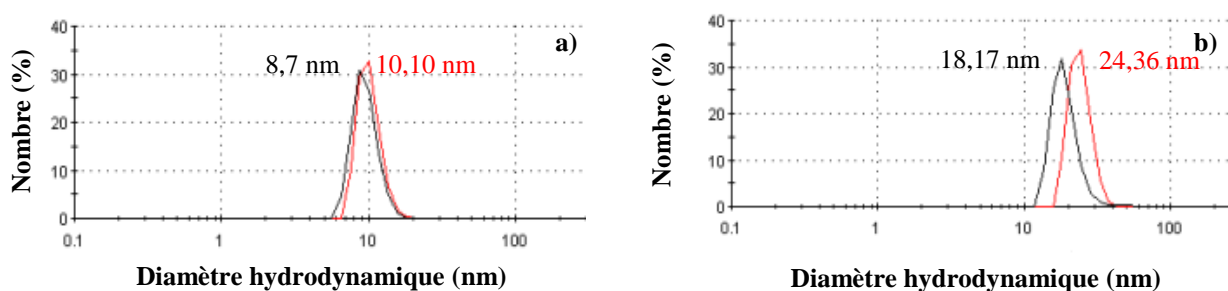


Figure III-28. Distribution de taille en nombre des nanoparticules en fin de synthèse (rouge) et après redispersion dans l'eau (noir) **a)** $\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}\text{Fe}^{\text{II}}@\text{MnFe}$ **b)** $\text{In}^{\text{III}}_{0,5}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,5}\text{Fe}^{\text{II}}@\text{MnFe}$, obtenues par DDL à température ambiante

Les diamètres hydrodynamiques des nanoparticules cœur-coquille obtenus après redispersion en solution aqueuse sont en accord avec les tailles des particules en fin de synthèse. Ces résultats confirment la stabilité ainsi que la bonne redispersion de ces objets permettant, entre autre, la mesure de leurs propriétés de relaxivité.

II-2.2.2. Diffraction des rayons X sur poudre (DRX)

- *Nanoparticules de cœurs*

Les diffractogrammes des nanoparticules de $\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}\text{Fe}^{\text{II}}$ et $\text{In}^{\text{III}}_{0,5}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,5}\text{Fe}^{\text{II}}$ centrés sur les raies (220) et (400) sont présentés sur la Figure III-29.

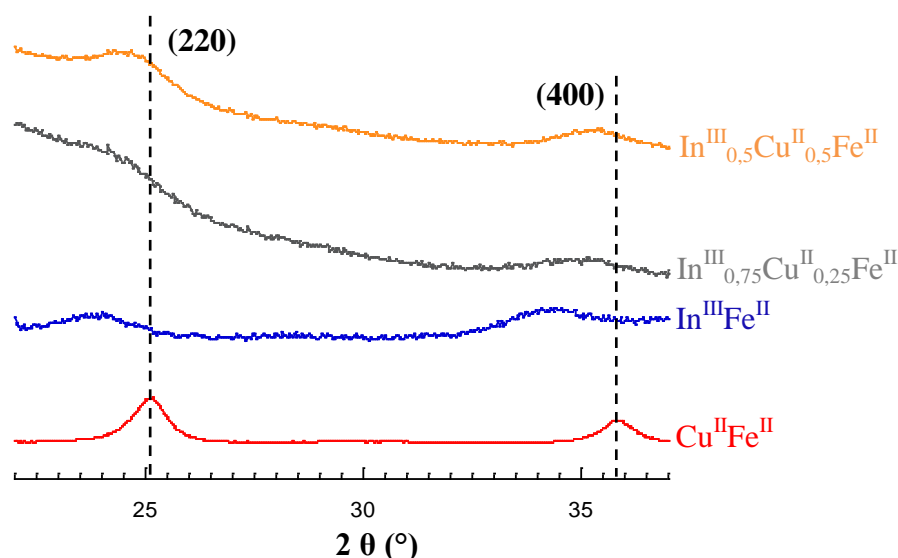


Figure III-29. a) Diffractogrammes des nanoparticules de cœur $\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}\text{Fe}^{\text{II}}$ et $\text{In}^{\text{III}}_{0,5}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,5}\text{Fe}^{\text{II}}$ entourées de dextran et des réseaux $\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ et $\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ centrés sur les raies (220) et (400)

Les diffractogrammes des particules de cœurs mettent en évidence la structure cubique à faces centrées de ces objets. D'un point de vue qualitatif, les pics de diffraction de ces nanoparticules se situent (en position 2θ) entre les pics de diffraction des réseaux $\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ (10,45 Å) et $\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ (10,02 Å) ce qui est cohérent. De plus, un léger décalage des pics de diffraction des particules de $\text{In}^{\text{III}}_{0,5}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,5}\text{Fe}^{\text{II}}$ vers les valeurs les plus élevées de 2θ est observé en comparaison avec les particules de $\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}\text{Fe}^{\text{II}}$, ce qui est en accord avec un taux de Cu^{II} plus important entraînant une diminution du paramètre de maille. En effet, le paramètre de maille évolue de $10,31 \pm 0,05$ Å à $10,17 \pm 0,05$ Å pour 25 et 50% de Cu^{II} respectivement, ce qui s'explique par la substitution d'une partie des ions In^{III} par des ions Cu^{II} de rayon ionique inférieur. Concernant les tailles moyennes extraites sur les raies (220) et (400), les

cœurs dopés à 25% en Cu^{II} mesurent 5,3 nm et ceux dopés à 50% en Cu^{II} présentent une taille de 5,1 nm. La taille de ces particules n'évolue pas avec le taux de Cu^{II} .

▪ *Nanoparticules cœur-coquille*

Sur la Figure III-30 est présenté, à titre d'exemple, le diffractogramme des nanoparticules de $\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}\text{Fe}^{\text{II}}@ \text{MnFe}$ entourées de dextran, comparé à celui des particules de cœur et du réseau massif de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$. Les caractérisations de taille et de structure des particules de $\text{In}^{\text{III}}_{0,5}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,5}\text{Fe}^{\text{II}}@ \text{MnFe}$ sont présentées en annexe 13, car la même tendance est observée que pour les particules dopées à 25% en Cu^{II} .

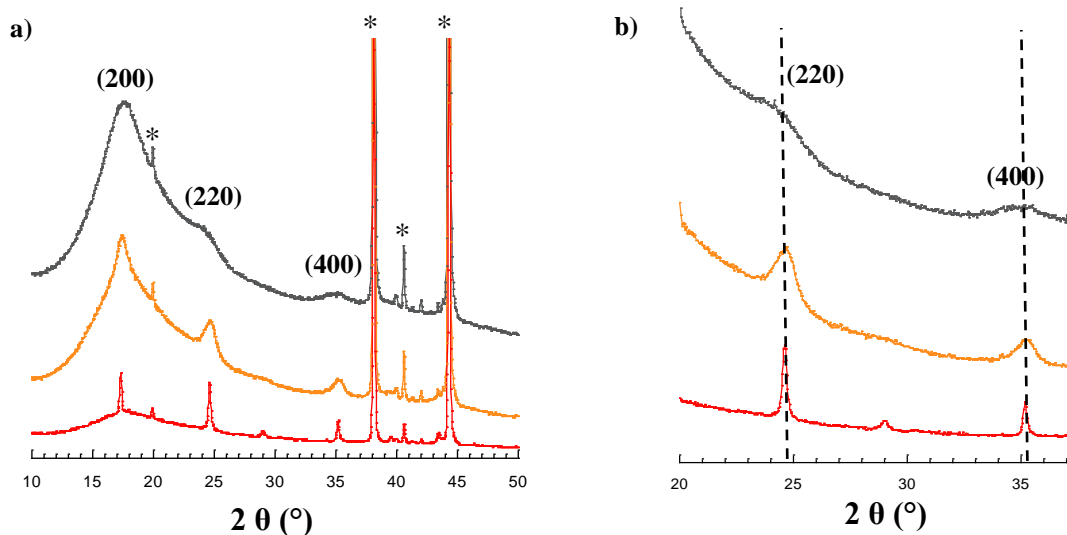


Figure III-30. a) Diffractogrammes des particules de $\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}\text{Fe}^{\text{II}}$ et $\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}\text{Fe}^{\text{II}}@ \text{MnFe}$ entourées de dextran et du réseau $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ (* pics issus du porte-échantillon) et b) Zoom sur les raies (220) et (400)

Qualitativement, le diffractogramme des nanoparticules cœur-coquille de composition $\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}\text{Fe}^{\text{II}}@ \text{MnFe}$ présente un affinement ainsi qu'un déplacement des pics de diffraction vers les valeurs les plus élevées de 2θ en comparaison avec le diffractogramme des particules de cœurs. La même tendance est observée, de manière moins prononcée, pour les nanoparticules de $\text{In}^{\text{III}}_{0,5}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,5}\text{Fe}^{\text{II}}@ \text{MnFe}$ comme montré en annexe 13. Les tailles et paramètres de maille moyens obtenus pour ces deux types de nanoparticules sont regroupés dans le tableau III-12.

	$\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}\text{Fe}^{\text{II}}$	$\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}\text{Fe}^{\text{II}}@\text{MnFe}$	$\text{In}^{\text{III}}_{0,5}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,5}\text{Fe}^{\text{II}}$	$\text{In}^{\text{III}}_{0,5}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,5}\text{Fe}^{\text{II}}@\text{MnFe}$
Taille (nm)	5,3	9,4	5,1	10,0
a (Å)	$10,31 \pm 0,05$	10,17	$10,17 \pm 0,05$	10,15

Tableau III-12. Tailles et paramètres de maille, extraits par DRX, des nanoparticules de cœur et cœur-coquille

Concernant la taille des nanoparticules cœur-coquille, celle-ci est supérieure à la taille théorique attendue puisque la synthèse consistait à faire croître une coquille de 1 nm d'épaisseur. Les tailles obtenues suggèrent donc une éventuelle agrégation contrôlée des particules de cœurs, deux à deux, conduisant à l'obtention de particules d'un diamètre de 10 nm entourées d'une coquille de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ d'1 nm d'épaisseur. Ceci donnerait des tailles de particules cœur-coquille d'environ 12 nm ce qui est cohérent sachant que la DRX sous-estime, de manière artificielle, la taille des particules cœur-coquille lorsqu'elles sont constituées de deux réseaux d'ABP de paramètres de maille différents comme c'est le cas ici. D'autre part, dans les deux cas le paramètre de maille tend après l'ajout des précurseurs de la coquille vers le paramètre de maille du réseau $\text{Mn}^{\text{II}}_2[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]$ égal à 10,14 Å. Ainsi, l'augmentation de la taille ainsi que la diminution du paramètre de maille des particules cœur-coquille en comparaison avec les particules de cœurs prouve la bonne croissance de la coquille de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ sur les cœurs de $\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Cu}^{\text{II}}_x\text{Fe}^{\text{II}}$.

II-2.2.3. Microscopie électronique à transmission (MET)

Les clichés de microscopie obtenus sur des redispersions en solution aqueuse des nanoparticules de cœur et cœur-coquille sont présentés sur la Figure III-31.

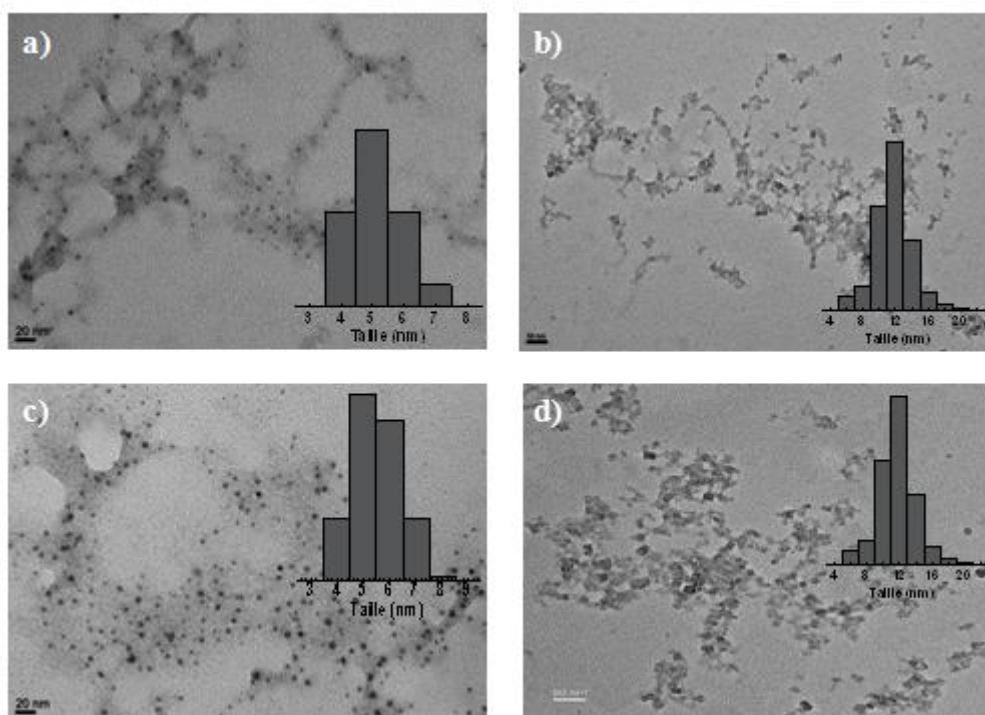


Figure III-31. Images MET des cœurs (a) $\text{In}_{0,75}\text{Cu}_{0,25}\text{Fe}$ et (c) $\text{In}_{0,5}\text{Cu}_{0,5}\text{Fe}$ (échelle 20nm, grossissement x60 000) et des nanoparticules cœur-coquille (b) $\text{In}_{0,75}\text{Cu}_{0,25}\text{Fe}@MnFe$ et (d) $\text{In}_{0,5}\text{Cu}_{0,5}\text{Fe}@MnFe$ (échelle 50nm, grossissement x25 000), entourées de dextran en solution aqueuse

Les tailles moyennes, extraites par MET, pour ces nanoparticules sont regroupées dans le tableau ci-dessous.

	$\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}\text{Fe}^{\text{II}}$	$\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}\text{Fe}^{\text{II}}@MnFe$	$\text{In}^{\text{III}}_{0,5}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,5}\text{Fe}^{\text{II}}$	$\text{In}^{\text{III}}_{0,5}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,5}\text{Fe}^{\text{II}}@MnFe$
Taille (nm)	$5,1 \pm 0,8$	$11,2 \pm 2,4$	$5,5 \pm 0,9$	$11,5 \pm 2,6$

Tableau III-18. Tailles moyennes, extraites par MET, des nanoparticules de cœur et cœur-coquille

Les tailles moyennes obtenues par MET sont en accord avec les tailles extraites par DRX. Ceci confirme une probable agrégation des particules de cœurs, deux à deux, possiblement liée à l'augmentation de la force ionique et/ou à la neutralisation partielle de la charge de surface (ce qui sera vérifié dans la suite de ce travail). Néanmoins, ces synthèses ont été répétées et sont reproductibles suggérant une agrégation contrôlée des particules de cœur.

II.2.3. Caractérisations chimiques des nanoparticules de $\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Cu}^{\text{II}}_x\text{Fe}^{\text{II}}@\text{MnFe}$

II-2.3.1. Spectroscopie infrarouge (IR)

Les spectres infrarouge centrés sur la bande de vibration des cyanures pontants des nanoparticules de cœur et cœur-coquille dopées à 25% en Cu^{II} sont présentés sur la figure III-32. Les spectres IR des particules dopées à 50% présentent la même tendance et sont par conséquent présentés en annexe 13.

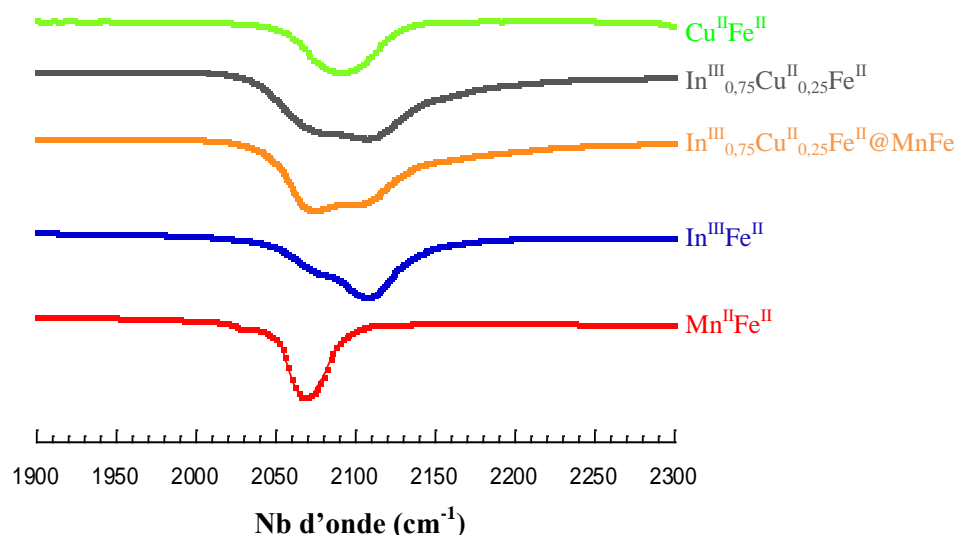


Figure III-32. Spectres infrarouge dans la zone de 1900 à 2300 cm^{-1} des nanoparticules de $\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}\text{Fe}^{\text{II}}$ et $\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}\text{Fe}^{\text{II}}@\text{MnFe}$ entourées de dextran et des réseaux massifs de $\text{Mn}^{\text{II}}_2\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6$, $\text{Cu}^{\text{II}}_2\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6$ et $\text{In}^{\text{III}}_4[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_3$

La bande de vibration des cyanures pontants des nanoparticules de cœurs $\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}\text{Fe}^{\text{II}}$ présente deux contributions correspondant aux deux types d'enchaînements $\text{In}^{\text{III}}\text{-NC-Fe}^{\text{II}}$ dans les plus hautes fréquences et $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-NC-Fe}^{\text{II}}$ dans les basses fréquences, en accord avec les bandes de vibration ce réseau. De plus, la couleur marron des poudres de particules obtenues caractérise la présence du Cu^{II} . Le spectre IR caractéristique des particules cœur-coquille de $\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}\text{Fe}^{\text{II}}@\text{MnFe}$, présente une augmentation de l'intensité de la contribution de la bande des cyanures pontants située dans les plus basses fréquences. Il s'agit de la vibration

des cyanures pontants au sein de l'enchaînement $\text{Mn}^{\text{II}}\text{-NC-Fe}^{\text{II}}$, en accord avec la bande de vibration du réseau $\text{Mn}^{\text{II}}_2[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]$ située à 2067 cm^{-1} comme présenté sur la figure ci-dessus. Ceci atteste donc de la formation d'une coquille $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ sur les particules de cœur.

II-2.3.2. Analyses élémentaires (AE)

Les pourcentages massiques des métaux déterminés par ICP ainsi que la teneur en C, H, N obtenue par EDS ont permis de déterminer les unités formulaires des nanoparticules cœur-coquille comme montré dans le tableau III-19.

% Cu^{II}	Unités formulaires
25	$\text{K}_{0,85}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}\text{In}^{\text{III}}_{0,75}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_{0,9}@\text{K}_{1,8}\text{Mn}^{\text{II}}_{0,9}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_{0,9}@\text{(dext)}_{25}.\text{(H}_2\text{O)}_{27}$
50	$\text{K}_{1,11}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,51}\text{In}^{\text{III}}_{0,49}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_{0,9}@\text{K}_{1,8}\text{Mn}^{\text{II}}_{0,9}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_{0,9}@\text{(dext)}_{32}.\text{(H}_2\text{O)}_{26}$

Tableau III-19. Unités formulaires des particules $\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}\text{Fe}^{\text{II}}@\text{MnFe}$ et $\text{In}^{\text{III}}_{0,5}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,5}\text{Fe}^{\text{II}}@\text{MnFe}$ dans le dextran déduites des analyses élémentaires (C, H, N) et des mesures faites par EDS (Mn^{II} , Fe^{II} , In^{III} et Cu^{II})

Pour les deux échantillons, un rapport $\text{Mn}^{\text{II}}/(\text{Cu}^{\text{II}}+\text{In}^{\text{III}})$ de 0,9 est obtenu expérimentalement ce qui est supérieur au ratio $\text{Mn}^{\text{II}}/(\text{Cu}^{\text{II}}+\text{In}^{\text{III}})$ introduit initialement en solution et égal à 0,7. Néanmoins, ces expériences ont été reproduites et sont reproductibles avec une même quantité de Mn^{II} insérée par rapport aux ions ($\text{Cu}^{\text{II}}+\text{In}^{\text{III}}$). D'autre part, les particules sont bien enrobées par environ 25 équivalents de dextran.

II.2.4. Profils de dispersion

Les relaxivités moyennes par atome de Mn^{II} (r_1/Mn) ainsi que par atome de Mn^{II} de surface (r_1/Mn_s) en fonction de la fréquence pour les particules $\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}\text{Fe}^{\text{II}}@\text{MnFe}$ et $\text{In}^{\text{III}}_{0,5}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,5}\text{Fe}^{\text{II}}@\text{MnFe}$ sont présentées ci-dessous. Au vu des caractérisations de taille présentées précédemment, les valeurs de r_1/Mn ont été calculées pour une couche d'1 nm

d'épaisseur saturée en ions Mn^{II} et les valeurs de r_1/Mn_s ont été calculées en tenant compte uniquement de la participation des ions Mn^{II} présents en surface ce qui équivaut à considérer la participation d'une seule couche moléculaire de 0,5 nm d'épaisseur. Ces relaxivités sont également comparées aux performances des particules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [50] dans l'hypothèse d'une structure de type cœur-coquille.

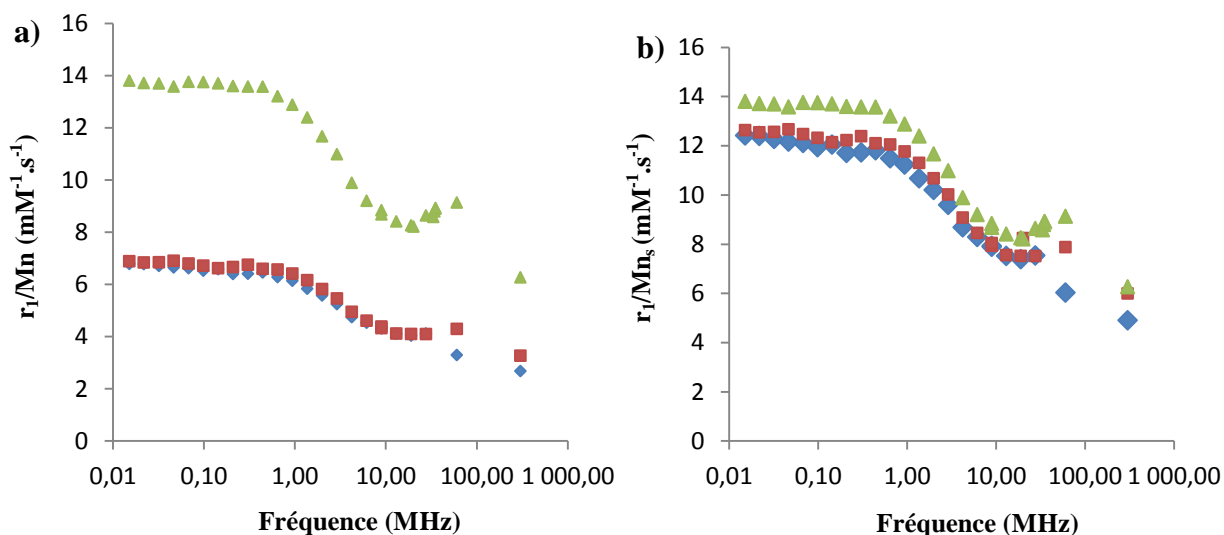


Figure III-33. a) r_1/Mn et b) r_1/Mn_s pour les particules $\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}\text{Fe}^{\text{II}}@\text{MnFe}$, $\text{In}^{\text{III}}_{0,5}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,5}\text{Fe}^{\text{II}}@\text{MnFe}$ et MnInCuFe [50] entourées de dextran, enregistrées en solution aqueuse à 37°C

Concernant les valeurs de r_1/Mn (Figure III-33-a), les nanoparticules cœur-coquille sont moins performantes que les nanoparticules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [50] obtenues par synthèse en une étape. Ceci s'explique par un enfouissement des ions Mn^{II} au sein des nanoparticules cœur-coquille présentant une coquille de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ d'1 nm d'épaisseur. En revanche, dans le cas de l'hypothèse cœur-coquille des particules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [50] tous les ions Mn^{II} sont en surface, aucun ion n'est enfoui d'où des valeurs de relaxivités plus élevées. D'autre part, les valeurs de r_1/Mn sont identiques pour les nanoparticules cœur-coquille dopées à 25 ou 50% en Cu^{II} , à l'exception des valeurs obtenues à 60 MHz et 300 MHz. En effet, pour ces valeurs de champ, la relaxivité des particules de $\text{In}^{\text{III}}_{0,5}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,5}\text{Fe}^{\text{II}}@\text{MnFe}$ est supérieure à celle des particules de $\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}\text{Fe}^{\text{II}}@\text{MnFe}$. Le paramagnétisme du cœur aurait donc un effet positif à haut champ, ce qui avait également été observé pour les nanoparticules $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [50] en comparaison avec les nanoparticules de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [25] (cf. Figure III-26). Lorsque la relaxivité est exprimée par Mn de surface, les valeurs obtenues pour les nanoparticules cœur-coquille sont très proches de celles des $\text{Mn}^{\text{II}}\text{In}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [50] bien que légèrement inférieures. Ceci s'explique par la saturation de la surface en ions Mn^{II} dans le cas

des particules cœur-coquille ce qui diminue la relaxivité comme observé pour les particules MnInFe [x] (avec x = 5 à 90%) par rapport aux particules de Mn^{II}In^{III}Cu^{II}Fe^{II} [50] où la surface n'est saturée qu'à 66% en Mn^{II}. D'autre part, cette comparaison des valeurs de r_1/Mn_s valide l'hypothèse d'une structure de type cœur-coquille des particules Mn^{II}In^{III}Cu^{II}Fe^{II} [50]. Néanmoins, les valeurs de r_1/Mn_s des nanoparticules cœur-coquille ne sont pas strictement comparables puisque ces objets ont une taille environ deux fois plus grande que les nanoparticules de Mn^{II}In^{III}Cu^{II}Fe^{II} [50]. L'effet positif du temps de corrélation rotationnel vient donc probablement s'ajouter aux importantes valeurs de r_1/Mn_s obtenues, bien que celles-ci restent inférieures à la relaxivité des particules Mn^{II}In^{III}Cu^{II}Fe^{II} [50]. Sur la base de ces résultats de relaxométrie, il apparaît que la relaxivité peut être modulée en contrôlant la localisation des ions Mn^{II} ainsi que la saturation de la surface en ions actifs. De plus, ces résultats suggèrent que la relaxivité optimale serait obtenue pour des systèmes où tous les ions Mn^{II} seraient en surface tout en minimisant les interactions dipolaires. Ainsi, afin d'exalter au maximum la relaxivité de ces nanoparticules de type cœur-coquille, deux nouveaux échantillons de formule In^{III}_{0,75}Cu^{II}_{0,25}Fe^{II}@Mn_{0,05}Fe_{0,95} et In^{III}_{0,5}Cu^{II}_{0,5}Fe^{II}@Mn_{0,25}Fe_{0,75} ont été mis au point. Ces objets devraient présenter une seule couche moléculaire d'ions Mn^{II} correspondant à un taux de 5% et 25% en ions Mn^{II} permettant d'améliorer davantage la relaxivité à l'instar des systèmes MnInFe [5] et [25]. La synthèse de ces objets a été réalisée selon le même protocole que les nanoparticules cœur-coquille présentées précédemment, et les quantités de matière mises en jeu sont détaillées dans l'annexe 14.

III. NANOPARTICULES DE In^{III}_{0,75}Cu^{II}_{0,25}Fe^{II}@Mn_xFe_{1-x} AVEC x = 0,05 ET 0,25

III.1. Caractérisations de taille et structurales des nanoparticules

III.1.1. Diffusion dynamique de la lumière (DDL)

La mesure du diamètre hydrodynamique des particules directement en solution colloïdale, par DDL, a permis de suivre la synthèse des nanoparticules comme montré sur la Figure III-34.

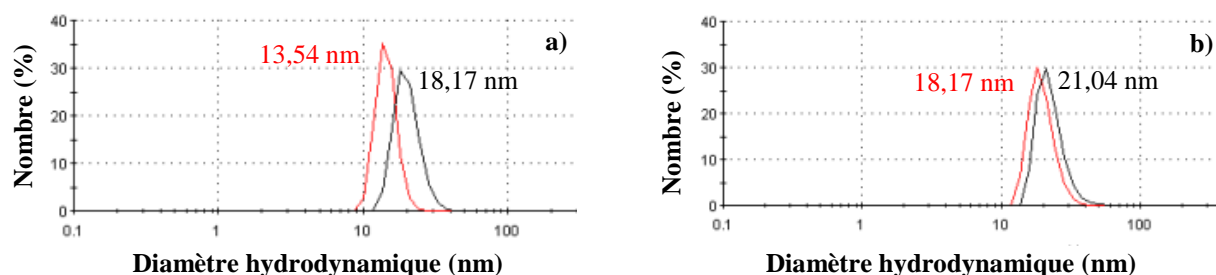


Figure III-34. Distribution de taille en nombre des nanoparticules **a)** $\text{In}_{0,75}\text{Cu}_{0,25}\text{Fe@Mn}_{0,05}\text{Fe}$ et **b)** $\text{In}_{0,75}\text{Cu}_{0,25}\text{Fe@Mn}_{0,25}\text{Fe}$, obtenues par DDL en solution aqueuse à 2°C

Les diamètres hydrodynamiques moyens obtenus par DDL montrent une évolution de la taille des particules après l'ajout des précurseurs de la coquille avec une étendue de la distribution de taille qui reste constante en comparaison avec celle des nanoparticules de cœur indiquant l'obtention d'objets de taille homogène. Les diamètres hydrodynamiques moyens, extraites par DDL, se situent aux alentours de 20 nm sachant que cette technique surestime la taille des particules.

Les redispersions de ces particules cœur-coquille enrobées de dextran ont également été étudiées par DDL comme montré sur la Figure ci-dessous.

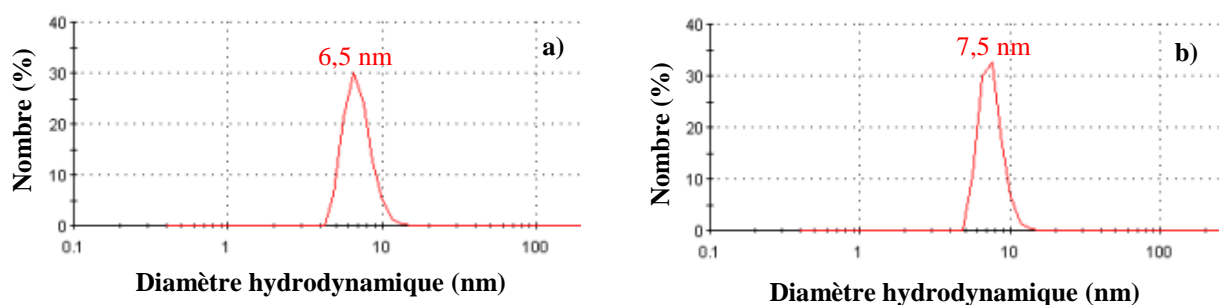


Figure III-35. Distribution de taille en nombre des nanoparticules après redispersion dans l'eau **a)** $\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}\text{Fe}^{\text{II}}\text{@Mn}_{0,05}\text{Fe}$ **b)** $\text{In}^{\text{III}}_{0,5}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,5}\text{Fe}^{\text{II}}\text{@Mn}_{0,25}\text{Fe}$, obtenues par DDL à température ambiante

Le diamètre hydrodynamique moyen de ces nanoparticules entourées de dextran et redispersées en solution aqueuse est plus faible que pour les mêmes objets obtenus en fin de synthèse à 2°C (cf. Figure III-34). Néanmoins les diamètres hydrodynamiques moyens obtenus après redispersion sont en accord avec les tailles théoriques visées puisque la

croissance d'une seule couche moléculaire de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ a été réalisée sur des cœurs de $\text{In}_{0,75}\text{Cu}_{0,25}\text{Fe}$ d'une taille de 5nm soit une taille théorique finale attendue de 6 nm ($5@2*0,5$ nm).

III.1.2. Diffraction des Rayons X sur poudre (DRX)

Les diffractogrammes des nanoparticules $\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}\text{Fe}^{\text{II}}@ \text{Mn}_{0,05}\text{Fe}_{0,95}$ et $\text{In}^{\text{III}}_{0,5}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,5}\text{Fe}^{\text{II}}@ \text{Mn}_{0,25}\text{Fe}_{0,75}$ entourées de dextran sont présentés sur la Figure III-34.

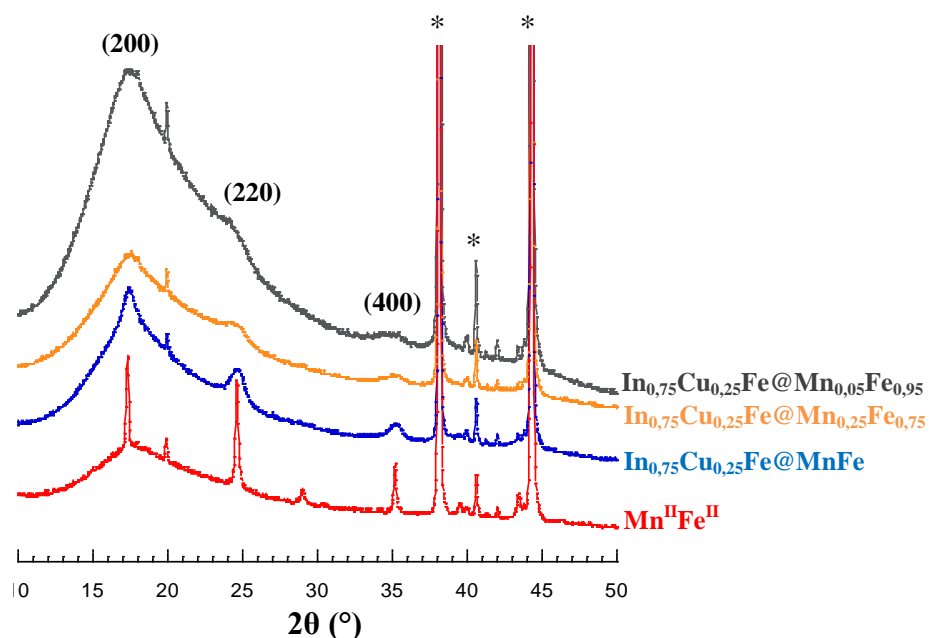


Figure III-34. Diffractogrammes des nanoparticules $\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}\text{Fe}^{\text{II}}@ \text{Mn}_{0,05}\text{Fe}_{0,95}$; $\text{In}^{\text{III}}_{0,5}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,5}\text{Fe}^{\text{II}}@ \text{Mn}_{0,25}\text{Fe}_{0,75}$; $\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}\text{Fe}^{\text{II}}@ \text{MnFe}$ entourées de dextran et du réseau massif $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ (* pics issus de porte échantillon)

Les pics de diffraction des nanoparticules cœur-coquille dopées à 5% et 25% en Mn^{II} mettent en évidence la structure cubique à faces centrées de ces nanoparticules. Qualitativement, les pics de diffraction se décalent vers les valeurs les plus élevées de 2θ à mesure que le taux de Mn^{II} augmente. Les tailles et les paramètres de maille moyens, extraits par DRX à partir des raies (220) et (400) sont regroupés dans le tableau III-20 ci-dessous.

	$\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}\text{Fe}^{\text{II}}@\text{Mn}_{0,05}\text{Fe}_{0,95}$	$\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}\text{Fe}^{\text{II}}@\text{Mn}_{0,25}\text{Fe}_{0,75}$	$\text{In}^{\text{III}}_{0,5}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,5}\text{Fe}^{\text{II}}@\text{MnFe}$
Taille (nm)	5,0	5,5	9,4
a (Å)	$10,41 \pm 0,05$	$10,25 \pm 0,03$	$10,17 \pm 0,01$

Tableau III-20. Tailles et paramètres de maille, extrait par DRX, des nanoparticules cœur-coquille

Concernant le paramètre de maille, celui-ci diminue à mesure que le taux de Mn^{II} augmente s'expliquant par la substitution des ions Fe^{II} par des ions Mn^{II} de rayon ionique plus faible. Cette diminution du paramètre de maille prouve donc l'insertion des ions Mn^{II} au sein du réseau cristallographique. D'autre part, la taille des particules cœur-coquille dopées à 5% et 25% en Mn^{II} se situe aux alentours de 5 nm, taille environ deux fois inférieure à celle des nanoparticules composées d'une couche saturée en ions Mn^{II} . Ainsi, les objets présentant une couche insaturée en ions Mn^{II} semblent ne pas résulter d'une agrégation des particules puisque la quantité de Mn^{II} ajoutée ne suffit pas à neutraliser les objets. La taille expérimentale obtenue est donc en accord avec la taille théorique visée.

III.1.3. *Microscopie électronique à transmission (MET)*

Les images de MET obtenues sur des redispersions des nanoparticules $\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}\text{Fe}^{\text{II}}@\text{Mn}_{0,05}\text{Fe}_{0,95}$ et $\text{In}^{\text{III}}_{0,5}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,5}\text{Fe}^{\text{II}}@\text{Mn}_{0,25}\text{Fe}_{0,75}$ entourées de dextran sont présentées sur la figure III-35.

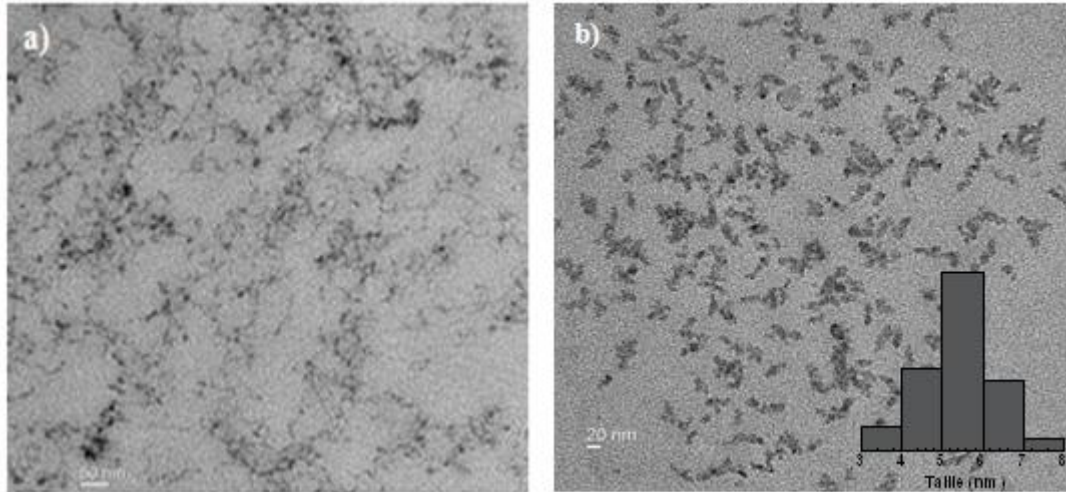


Figure III-35. Images de MET des redispersions des nanoparticules **a)** $\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}\text{Fe}^{\text{II}}@\text{Mn}_{0,05}\text{Fe}_{0,95}$ (échelle : 50 nm) et **b)** $\text{In}^{\text{III}}_{0,5}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,5}\text{Fe}^{\text{II}}@\text{Mn}_{0,25}\text{Fe}_{0,75}$ (échelle : 20 nm) entourées de dextran

En raison du grossissement trop faible de l'image, la taille moyenne des nanoparticules $\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}\text{Fe}^{\text{II}}@\text{Mn}_{0,05}\text{Fe}_{0,95}$ n'a pas pu être estimée. La taille se situe autour de 5 nm ce qui est cohérent avec la taille des cœurs de 5,1 nm (cf. Figure III-31). La taille moyenne, extraite par MET, des nanoparticules de $\text{In}^{\text{III}}_{0,5}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,5}\text{Fe}^{\text{II}}@\text{Mn}_{0,25}\text{Fe}_{0,75}$ est de $5,5 \pm 1,0$ nm, ce qui est également cohérent avec la taille des cœurs $\text{In}_{0,5}\text{Cu}_{0,5}\text{Fe}$ (cf. Figure III-31). Cette taille est également en accord avec les résultats obtenus par DRX. Ainsi, n'ayant pu extraire par MET la taille moyenne des particules $\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}\text{Fe}^{\text{II}}@\text{Mn}_{0,05}\text{Fe}_{0,95}$, les tailles moyennes extraites par DRX seront prises en compte pour les calculs des valeurs de relaxivité rapportées au nombre d'atome de Mn^{II} de surface.

III.2. Caractérisations chimiques des particules de $\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}\text{Fe}^{\text{II}}@\text{Mn}_x\text{Fe}_{1-x}$

III.2.1. Spectroscopie infrarouge (IR)

Les spectres IR centrés sur la bande de vibration asymétrique des cyanures pontant des particules $\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}\text{Fe}^{\text{II}}@\text{Mn}_x\text{Fe}_{1-x}$ entourées de dextran sont présentés ci-dessous.

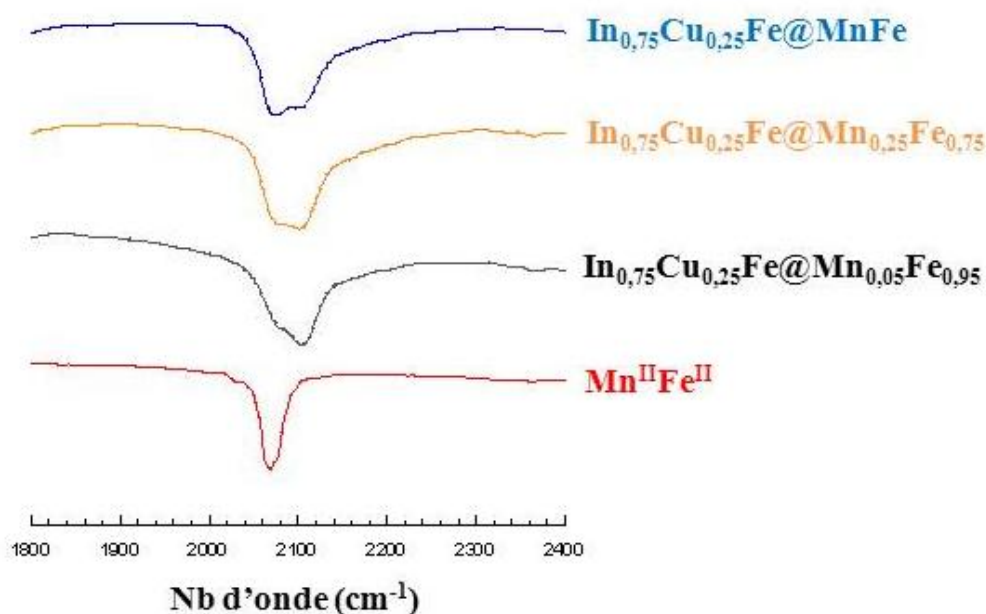


Figure III-36. Spectres infrarouge dans la zone de 1800 à 2400 cm^{-1} des nanoparticules de $\text{In}_{0,75}\text{Cu}_{0,25}\text{Fe@Mn}_{0,05}\text{Fe}_{0,95}$, $\text{In}_{0,75}\text{Cu}_{0,25}\text{Fe@Mn}_{0,25}\text{Fe}_{0,75}$, $\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}\text{Fe}^{\text{II}}\text{@MnFe}$ entourées de dextran et du réseau de $\text{Mn}^{\text{II}}_2\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6$

Comme vu précédemment, la bande des cyanures pontants de ces nanoparticules cœur-coquille contient trois contributions caractéristiques des enchaînements $\text{In}^{\text{III}}\text{-NC-Fe}^{\text{II}}$ (hautes fréquences), $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-NC-Fe}^{\text{II}}$ et $\text{Mn}^{\text{II}}\text{-NC-Fe}^{\text{II}}$ (basses fréquences). La signature de l'enchaînement $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-NC-Fe}^{\text{II}}$ se distingue moins bien, cependant la couleur marron des poudres de ces échantillons caractérise la présence du Cu^{II} . Le point important présenté ici est l'évolution de l'intensité de la contribution $\text{Mn}^{\text{II}}\text{-NC-Fe}^{\text{II}}$ au sein de la bande de vibration des cyanures pontants. En effet, il apparaît clairement que l'intensité de cette contribution augmente avec le taux de Mn^{II} prouvant ainsi la création de ponts $\text{Mn}^{\text{II}}\text{-NC-Fe}^{\text{II}}$ et donc la bonne insertion du Mn^{II} au sein de la coquille $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ de ces nanoparticules.

III.2.2. Analyses élémentaires (AE)

Les pourcentages massiques des métaux déterminés par ICP ainsi que la teneur en C, H, N obtenue par EDS ont permis de déterminer les unités formulaires des nanoparticules cœur-coquille comme montré dans le tableau ci-dessous.

% Mn ^{II}	Unités formulaires
5	$K_{0,85}Cu^{II}_{0,25}In^{III}_{0,75}[Fe^{II}(CN)_6]_{0,9}@K_{3,06}Mn^{II}_{0,17}[Fe^{II}(CN)_6]_{0,85}@(dext)_{54} \cdot (H_2O)_{78}$
25	$K_{0,88}Cu^{II}_{0,28}In^{III}_{0,72}[Fe^{II}(CN)_6]_{0,9}@K_{2,02}Mn^{II}_{0,33}[Fe^{II}(CN)_6]_{0,67}@(dext)_{85} \cdot (H_2O)_{100}$

Tableau III-21. Unités formulaires des particules $In^{III}_{0,75}Cu^{II}_{0,25}Fe^{II}@Mn_{0,05}Fe_{0,95}$ et $In^{III}_{0,75}Cu^{II}_{0,25}Fe^{II}@Mn_{0,25}Fe_{0,75}$ dans le dextran déduites des analyses élémentaires (C, H, N) et des mesures faites par EDS (Mn^{II}, Fe^{II}, In^{III} et Cu^{II})

Les compositions chimiques des particules de cœur correspondent aux taux métalliques introduits initialement en solution. Concernant la coquille, l'échantillon dopé à 5% en Mn^{II} est constitué expérimentalement de 17% de Mn^{II} et l'échantillon contenant 25% de Mn^{II} théoriquement est constitué de 33% de Mn^{II} expérimentalement. D'autre part, la quantité de dextran est supérieure aux 25 équivalents ayant été introduits initialement en solution ce qui tend à diminuer la relaxivité comme il a été vu précédemment pour les nanoparticules de Mn^{II}In^{III}Cu^{II}Fe^{II} [50] et Mn^{II}In^{III}Fe^{II} [25].

III.3. Profils de dispersion

Les valeurs de relaxivité par atome de Mn de surface (r_1/Mn_s) sont présentées sur la Figure III-37. Pour les nanoparticules de $In^{III}_{0,75}Cu^{II}_{0,25}Fe^{II}@Mn_{0,05}Fe_{0,95}$ et de $In^{III}_{0,75}Cu^{II}_{0,25}Fe^{II}@Mn_{0,25}Fe_{0,75}$ tous les ions Mn^{II} sont situés en surface puisqu'une seule couche moléculaire de 0,5 nm a été épitaxiée sur les nanoparticules de cœurs de $In^{III}_{0,75}Cu^{II}_{0,25}Fe^{II}$. Les valeurs de r_1 , r_2 et les rapports r_2/r_1 à 60 MHz et 300 MHz pour les nanoparticules $In^{III}_{0,75}Cu^{II}_{0,25}Fe^{II}@Mn_xFe_{1-x}$ avec $x = 0,05 ; 0,25$ et 1 sont regroupées dans le tableau III-22.

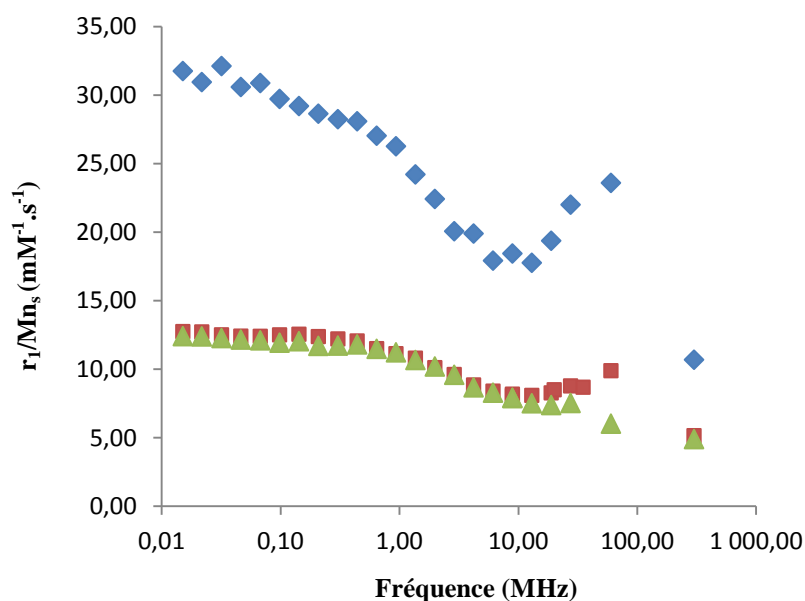


Figure III-37. Valeurs de r_1/Mn_{II} pour les particules $In^{III}_{0,75}Cu^{II}_{0,25}Fe^{II}@Mn_xFe_{1-x}$ entourées de dextran, avec $x = 0,05$; $0,25$ et 1 , enregistrées en solution aqueuse à $37^\circ C$

$In_{0,75}Cu_{0,25}Fe$ $@Mn_xFe_{1-x}$	r_1 à 60 MHz ($mM^{-1}.s^{-1}$)	r_2 à 60 MHz ($mM^{-1}.s^{-1}$)	r_2/r_1 à 60 MHz	r_1 à 300 MHz ($mM^{-1}.s^{-1}$)	r_2 à 300 MHz ($mM^{-1}.s^{-1}$)	r_2/r_1 à 300 MHz
$x = 0,05$	23,6	37,8	1,6	10,7	24,3	2,3
$x = 0,25$	9,9	13,9	1,4	5,2	20,7	4,0
$x = 1$	3,3	4,7	1,4	2,7	9,1	3,4

Tableau III-23. Valeurs de r_1 , r_2 et r_2/r_1 à 60 et à 300MHz et à $37^\circ C$, par ion Mn^{II} , pour les nanoparticules cœur-coquille $In^{III}_{0,75}Cu^{II}_{0,25}Fe^{II}@Mn_xFe_{1-x}$ avec $x = 0,05$; $0,25$ et 1 , entourées de dextran

Bien que la taille (11,2 nm) et la densité de dextran (25 équivalents) enrobant les nanoparticules $In^{III}_{0,75}Cu^{II}_{0,25}Fe^{II}@MnFe$ aillent en faveur d'une meilleure relaxivité, les valeurs de r_1/Mn_{II} sont nettement supérieures pour les nanoparticules présentant une coquille insaturée en Mn^{II} . Lorsqu'on abaisse le taux de couverture de la surface de 100% à 59% (x varie de 1 à 0,25), la relaxivité augmente peu, dû sans doute à un effet du temps de corrélation rotationnel favorable pour les particules avec $x = 1$. En revanche, si ce taux est abaissé à 11% ($x=0,05$), la valeur double. Pour les cœur-coquilles correspondant à 5% en Mn^{II} , les valeurs de relaxivité sont extrêmement élevées, de l'ordre de $24 mM^{-1}.s^{-1}$ à 60 MHz et aux alentours de $11 mM^{-1}.s^{-1}$ à 300 MHz, dépassant les valeurs des nanoparticules à base de Mn^{II} (à 5%)

présentées dans le chapitre I. Le profil n'est cependant pas très précis en raison de la faible quantité de solution lors de l'enregistrement de la relaxivité. La figure ci-dessus prouve donc l'effet positif de la diminution de la saturation de la surface en Mn^{II} , ainsi que des interactions dipolaires entre Mn^{II} sur la relaxivité. Un travail très intéressant a également montré l'influence de l'épaisseur ainsi que du taux de Mn^{II} inséré au sein d'une coquille de $Zn_{1-x}Mn_xS$ sur un cœur de CdSe de 4,1 nm. Les auteurs ont montré des valeurs de r_1 variant de 20 à 10 $mM^{-1}.s^{-1}$, à 37°C et 60 MHz, pour des taux de Mn^{II} compris entre 1 et 6% et des épaisseurs de coquille allant de 1,5 à 6 couches de $Zn_{1-x}Mn_xS$, respectivement.²¹ Concernant les rapports r_2/r_1 , une nouvelle fois les valeurs obtenues indiquent un effet ressenti du Cu^{II} , uniquement à haut champ conduisant à des rapports supérieurs à 2. Enfin sur la Figure III-38 sont comparées les relaxivités des nanoparticules dopées à 25% en Mn^{II} , en présence ou en absence de Cu^{II} .

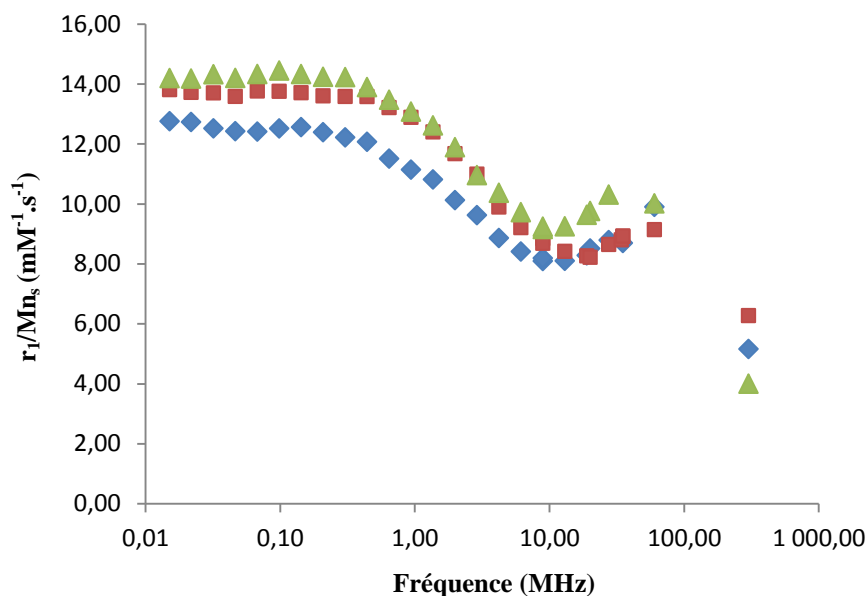


Figure III-38. Valeurs de r_1/Mn_s pour les particules $In^{III}_{0,75}Cu^{II}_{0,25}Fe^{II}@Mn_{0,25}Fe_{0,75}$, $Mn_{0,25}In_{0,375}Cu_{0,375}Fe$ et $MnInFe$ [25] entourées de dextran, enregistrées en solution aqueuse à 37°C

Les valeurs de relaxivité de ces trois échantillons sont très proches et se situent au-delà de 12 $mM^{-1}.s^{-1}$ par ion Mn de surface dans les basses fréquences, avec aucun effet visible du Cu^{II} sur la relaxivité. Néanmoins, à 300 MHz, le Cu^{II} semble avoir un effet positif puisque les deux échantillons à base de Cu^{II} , présentent une meilleure relaxivité en comparaison avec les nanoparticules de $MnInFe$ [25]. Comme mentionné précédemment, les nanoparticules de $MnInCuFe$ [50] sont de bons candidats en tant qu'agents de contraste T_1 pour l'IRM puisque

la présence du Cu^{II} ne modifie pas de manière significative la relaxivité des particules de MnInFe [25] dans les basses fréquences, et permet, de plus, d'améliorer la relaxivité à haut champ. D'autre part, grâce à la présence du Cu^{II} , ces nanoparticules permettent de combiner au sein d'un même objet deux types d'imagerie complémentaires (IRM/TEP), bien qu'aucun essai de TEP n'ait encore pu être réalisé. L'idée serait d'introduire un faible pourcentage d'ions ^{64}Cu (1%) lors de la synthèse faite in situ. Enfin, la grande simplicité de synthèse de ces nanoparticules par précipitation contrôlée, en une étape, est également un atout considérable.

III.4. Images de contraste T_1

Les images de contraste pondérées en T_1 , enregistrées à 300 MHz et à 0,2 mM en Mn^{II} , pour les nanoparticules cœur-coquilles à base de Cu^{II} et de Mn^{II} (MnInCuFe [50] et $\text{In}_{0,75}\text{Cu}_{0,25}\text{Fe}^{\text{II}}@\text{Mn}_x\text{Fe}_{1-x}$ avec $x = 1$ et 0,25) sont présentées sur la Figure III-39. Malheureusement en raison d'un problème expérimental, le contraste T_1 des nanoparticules $\text{In}_{0,75}\text{Cu}_{0,25}\text{Fe}^{\text{II}}@\text{Mn}_{0,05}\text{Fe}_{0,95}$ n'a pas pu être enregistré.

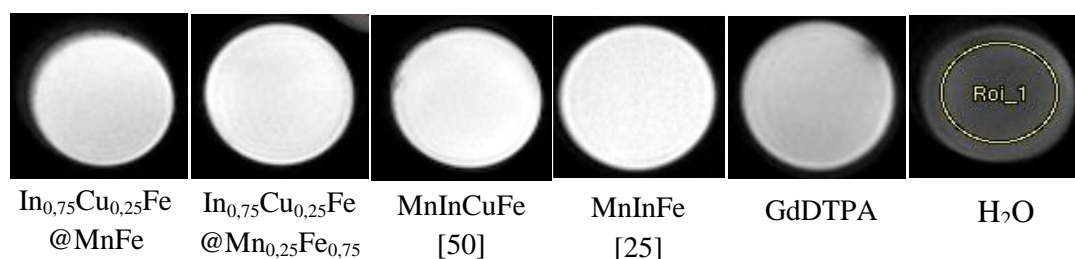


Figure III-39. Images de contraste pondérée en T_1 des nanoparticules $\text{In}_{0,75}\text{Cu}_{0,25}\text{Fe}@\text{MnFe}$; $\text{In}_{0,75}\text{Cu}_{0,25}\text{Fe}@\text{Mn}_{0,25}\text{Fe}_{0,75}$, MnInCuFe [50], MnInFe [25] du GdDTPA et de l'eau, enregistrées à 0,2 mM en Mn^{II} et à 300 MHz. (TR = 22 ms et TE = 3 ms)

Les images de contraste pondérées en T_1 sont en accord avec les profils de dispersion obtenus (cf. Figure III-38 et III-37). En effet, les contrastes des particules cœur-coquilles $\text{In}_{0,75}\text{Cu}_{0,25}\text{Fe}@\text{MnFe}$ et $\text{In}_{0,75}\text{Cu}_{0,25}\text{Fe}@\text{Mn}_{0,25}\text{Fe}_{0,75}$ sont quasiment identiques et légèrement moins intenses que les images de contraste T_1 des particules MnInCuFe [50] et MnInFe [25], également très proches. De plus, ces contrastes sont meilleurs que ceux du GdDTPA attestant des bonnes performances IRM de ces nanoparticules à base de Cu^{II} et de Mn^{II} .

IV. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Ce chapitre a été consacré à l'élaboration d'objets théranostiques combinant diagnostic et thérapie, ainsi qu'à la synthèse d'objets multimodaux, potentiellement détectables par deux techniques d'imagerie complémentaires. Pour cela, des nanoparticules de formule $Mn^{II}Fe^{III}Fe^{II}$ ont été mises au point permettant de combiner au sein d'un même objet, diagnostic par IRM et traitement des tumeurs par photothermie, grâce à l'absorption du bleu de Prusse dans l'infrarouge. Egalement, des nanoparticules à base de Mn^{II} et Cu^{II} , détectables par IRM et TEP ont été développées. Pour l'élaboration de ces objets, deux stratégies de synthèse ont été menées. Une première méthode consistant en l'obtention de ces nanoparticules par précipitation contrôlée en une étape et une seconde stratégie consistant à faire croître, par voie séquentielle, une coquille d'un réseau d'ABP sur des nanoparticules de cœur, d'un réseau d'ABP de nature différente, préalablement obtenues en solution aqueuse par précipitation contrôlée. Pour les deux types d'objets, ces deux méthodes de synthèse ont été comparées et confrontées sur la base des résultats de relaxivité, et la synthèse par précipitation contrôlée en une étape s'est avérée être plus avantageuse. En effet, les nanoparticules obtenues selon cette stratégie de synthèse, plus rapide et plus facile, présentent également une structure de type cœur-coquille permettant une localisation des ions paramagnétiques en surface des particules et ainsi une exaltation de la relaxivité. D'autre part, l'effet positif du temps de corrélation rotationnel a été montré sur des nanoparticules constituées d'un cœur de BdP d'une taille de 14 nm et d'une coquille de $Mn^{II}Fe^{II}$ d'1 nm d'épaisseur. En effet, la relaxivité a plus que doublé en comparaison avec des nanoparticules cœur-coquille également constituées d'une coquille de $Mn^{II}Fe^{II}$ d'1 nm d'épaisseur mais d'un diamètre total de 10 nm. Ceci permet de comparer l'effet plutôt défavorable sur les valeurs de r_1 constaté sur les deux types d'objets (par une étape ou par voie séquentielle) lors de l'utilisation d'un cœur paramagnétique de bleu de Prusse par rapport à un cœur diamagnétique, lorsqu'une couche saturée de MnFe est présente.

Concernant les nanoparticules cœur-coquille contenant des ions Mn^{II} et Cu^{II} , il a été montré que la saturation de la surface en Mn^{II} , pouvant être modulée via cette stratégie de synthèse par voie séquentielle, joue un rôle crucial sur la relaxivité. En effet, les valeurs de relaxivité sont exaltées pour une seule couche moléculaire de $Mn^{II}Fe^{II}$ insaturée en ions Mn^{II} , avec des valeurs allant jusqu'à $24 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ à 60 MHz pour un taux de Mn^{II} égal à 5%. D'autre part, l'insertion du Cu^{II} au sein de ces nanoparticules semble avantageuse puisqu'en plus

d'apporter un mode d'imagerie complémentaire, la relaxivité des particules de $\text{Mn}_{0,25}\text{In}_{0,375}\text{Cu}_{0,375}\text{Fe}$ est meilleure à 300 MHz et n'est pas modifiée de façon significative aux autres valeurs de champ, en comparaison avec les nanoparticules de MnInFe [25].

1. G. Fu, W. Liu, S. Feng and X. Yue, *Chemical Communications*, 2012, **48**, 11567-11569.
2. G. Fu, W. Liu, Y. Li, Y. Jin, L. Jiang, X. Liang, S. Feng and Z. Dai, *Bioconjugate chemistry*, 2014, **25**, 1655-1663.
3. H. A. Hoffman, L. Chakrabarti, M. F. Dumont, A. D. Sandler and R. Fernandes, *Rsc Advances*, 2014, **4**, 29729-29734.
4. Y. Li, C. H. Li and D. R. Talham, *Nanoscale*, 2015, **7**, 5209-5216.
5. M. Wu, Q. Wang, X. Liu and J. Liu, *Rsc Advances*, 2015, **5**, 30970-30980.
6. P. Xue, J. Bao, Y. Wu, Y. Zhang and Y. Kang, *Rsc Advances*, 2015, **5**, 28401-28409.
7. W. Zhu, K. Liu, X. Sun, X. Wang, Y. Li, L. Cheng and Z. Liu, *Acs Applied Materials & Interfaces*, 2015, **7**, 11575-11582.
8. Y. Prado, *Thèse de doctorat*, 2010.
9. H. T. T. Matsuda, K. Hashimoto and S. I. Ohkoshi, *Dalton Transactions*, 2006, 5046.
10. E. M. E. J. M. Vertelman, D. Gournis, P. Rudolf, T. Bakas, J. Luzon, R. Broer, A. Pugzlys, T. T. A. Lummen, P. H. M. Van Loosdrecht and P. J. Van Koningsbruggen, *Chemistry of Materials*, 2006, **18**, 1951.
11. L. Catala, D. Brinzei, Y. Prado, A. Gloter, O. Stephan, G. Rogez and T. Mallah, *Angewandte Chemie-International Edition*, 2009, **48**, 183-187.
12. Y. Prado, L. Lisnard, D. Heurtaux, G. Rogez, A. Gloter, O. Stephan, N. Dia, E. Riviere, L. Catala and T. Mallah, *Chemical Communications*, 2011, **47**, 1051-1053.
13. Y. Yang, C. Brownell, N. Sadrieh, J. May, A. Del Grosso, D. Place, E. Leutzinger, E. Duffy, R. He, F. Houn, R. Lyon and P. Faustino, *Clinical Toxicology*, 2007, **45**, 776-781.
14. D. F. T. a. C. O. Church, *Pharmacotherapy : The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*, 2001, **21**, 1364-1367.
15. M. Perrier, M. Busson, G. Massasso, J. Long, V. Boudousq, J. P. Pouget, S. Peyrottes, C. Perigaud, C. Porredon-Guarch, J. de Lapuente, M. Borrás, J. Larionova and Y. Guari, *Nanoscale*, 2014, **6**, 13425-13429.
16. F. Guerard, Y.-S. Lee, R. Tripier, L. P. Szajek, J. R. Deschamps and M. W. Brechbiel, *Chemical Communications*, 2013, **49**, 1002-1004.
17. M. Shokeen and C. J. Anderson, *Accounts of Chemical Research*, 2009, **42**, 832-841.

18. A. Rodriguez-Rodriguez, Z. Garda, E. Ruscsak, D. Esteban-Gomez, A. de Blas, T. Rodriguez-Blas, L. M. P. Lima, M. Beyler, R. Tripier, G. Tircso and C. Platas-Iglesias, *Dalton Transactions*, 2015, **44**, 5017-5031.
19. S. P. Moulik, G. C. De, A. K. Panda, B. B. Bhowmik and A. R. Das, *Langmuir*, 1999, **15**, 8361-8367.
20. M. Perrier, S. Kenouche, J. Long, K. Thangavel, J. Larionova, C. Goze-Bac, A. Lascialfari, M. Mariani, N. Baril, C. Guerin, B. Donnadieu, A. Trifonov and Y. Guari, *Inorganic Chemistry*, 2013, **52**, 13402-13414.
21. S. Wang, B. R. Jarrett, S. M. Kauzlarich and A. Y. Louie, *Journal of the American Chemical Society*, 2007, **129**, 3848-3856.

Chapitre IV : Nanoparticules de $Gd^{III}In^{III}Fe^{II}$ et $Gd^{III}Fe^{III}Fe^{II}$: effet du paramagnétisme du cœur sur la relaxivité

Ce chapitre porte sur la synthèse de nanoparticules d'analogues du bleu de Prusse incorporant au sein de leur structure des ions Gd^{III} , ion le plus couramment utilisé pour la synthèse d'agents de contraste T_1 en raison de son spin électronique élevé ($S = 7/2$), conduisant à d'excellentes propriétés de relaxivité. Ainsi des nanoparticules de $Gd^{III}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}$ et $Gd^{III}_xFe^{III}_{1-x}Fe^{II}$ seront synthétisées à différents taux de Gd^{III} et caractérisées d'un point de vue chimique et structural. L'effet du paramagnétisme du cœur de $Fe^{III}Fe^{II}$ sur la relaxivité de ces nano-objets sera évalué en comparaison avec les particules présentant un cœur diamagnétique de type $In^{III}Fe^{II}$. Enfin, pour les nanoparticules présentant la relaxivité la plus élevée, l'influence de l'enrobage sur la relaxivité sera également explorée.

I. INTRODUCTION

Depuis 2006, des travaux sont menés au sein de notre équipe sur l'élaboration de nanoparticules de réseaux de coordination à base de Gd^{III} pour l'IRM, dans l'objectif initial d'exploiter la microporosité de ces réseaux. Les premiers efforts ont été consacrés aux réseaux de téréphtalates de Gd, mais la publication de l'équipe de Lin sur le même sujet nous a fait nous tourner vers les réseaux à ponts cyanure. Cependant les essais menés en microémulsion, confinement en présence de polymère et stabilisation spontanée sur les réseaux $Gd^{III}[Fe^{II/III}(CN)_6].nH_2O$ n'ont pas abouti à des nanoparticules stables et individualisées.

La structure du réseau $KGd^{III}(H_2O)_2[Fe^{II}(CN)_6].H_2O$ n'est pas cubique à face centrée comme le montre la figure IV-1. En effet, la maille des réseaux $KGd^{III}(H_2O)_2[Fe^{II}(CN)_6].H_2O$ abrégé $Gd^{III}Fe^{II}$ est orthorhombique. Les ions Gd^{III} se trouvent dans un prisme trigonal formé par les atomes d'azote des groupements cyanures et deux molécules d'eau complètent la sphère de

coordination du Gd^{III} conduisant à un environnement du type $[GdN_6O_2]$. Le Fe^{II} se trouve en géométrie octaédrique, lié aux six atomes de carbone des ligands cyanure.

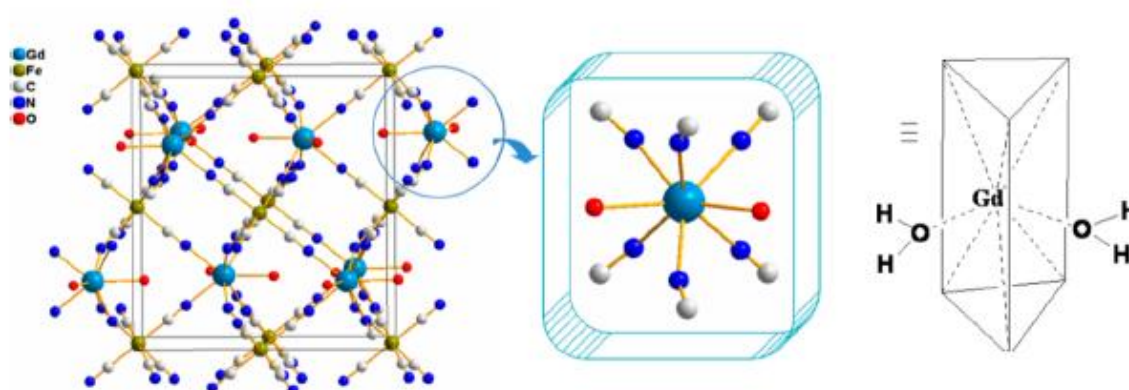


Figure IV-1. Représentation de la structure cristallographique du $KGd^{III}(H_2O)_2[Fe^{II}(CN)_6].H_2O$ (Gd,Fe,C,N,O) ; les ions K^+ ainsi que les molécules d'eau zéolitiques ont été supprimés par soucis de clarté.¹

La présence de ces deux molécules d'eau échangeables dans la première sphère de coordination des ions Gd^{III} est un avantage pour les applications visées. Si ces ions sont localisés en surface, ce nombre de molécules d'eau peut être supérieur à deux.

L'objectif de ce chapitre a été d'associer le réseau $K_kGd^{III}[Fe(CN)_6]_y$ à un coeur de type ABP et d'obtenir ainsi des nanoparticules de formule globale $K_kGd^{III}_xIn^{III}_{1-x}[Fe(CN)_6]_y$, consistant en une structure enrichie en Gd^{III} en périphérie ; notre stratégie s'est basée sur l'utilisation de germes insolubles $In^{III}Fe^{II}$ ayant mené à des résultats concluants concernant les nanoparticules à base d'ions Mn^{II} (cf. Chapitre II). D'autre part, les potentialités du bleu de Prusse en photothermie²⁻⁶ nous ont conduit à étendre cette stratégie en remplaçant le réseau $InFe$ par un coeur paramagnétique de $Fe^{III}_x[Fe^{II}(CN)_6]_y$, permettant l'obtention de nanoparticules de type $K_kGd^{III}_xFe^{III}_{1-x}[Fe(CN)_6]_y$. Dans les deux cas, l'objectif était de synthétiser des nanoparticules stables, sans agent stabilisant, de tailles bien contrôlées et inférieures à 10 nm, afin de maximiser la proportion d'atomes de Gd^{III} en surface, participant principalement à la relaxivité.

Contrairement aux particules explorées précédemment constituées de réseaux de $Mn^{II}_2[Fe^{II}(CN)_6]$ et de $Cu^{II}_2[Fe^{II}(CN)_6]$ de structures cfc et de paramètres de maille voisins, les réseaux de $Gd^{III}_4[Fe^{II}(CN)_6]_3$ et de $In^{III}_4[Fe^{II}(CN)_6]_3$ ne présentant pas la même structure (orthorhombique et cubique à faces centrées respectivement), la croissance épitaxiale est impossible. La croissance d'une coquille de faible épaisseur et de cristallinité plus faible était

toutefois envisageable. Nos efforts se sont donc portés sur des faibles taux de Gd^{III} , de manière à limiter la démixion des deux phases $In^{III}Fe^{II}$ et $Gd^{III}Fe^{II}$. Ainsi, les particules devraient être constituées d'un cœur riche en $In^{III}Fe^{II}$ et d'une surface riche en entités $GdFe$, réseau plus soluble que l' $InFe$.

Dans ce chapitre, la synthèse et les caractérisations chimiques et structurales de ces deux types de nanoparticules seront présentées. D'autre part, la relaxivité de ces systèmes sera étudiée et comparée afin d'évaluer l'influence d'un cœur paramagnétique sur la relaxivité. De plus, l'influence de l'enrobage sur la relaxivité sera également analysée.

Après une première partie consacrée aux nanoparticules de type $K_kGd^{III}_xIn^{III}_{1-x}[Fe(CN)_6]_y$, une seconde partie portera sur les nanoparticules de $K_kGd^{III}_xFe^{III}_{1-x}[Fe(CN)_6]_y$. Concernant ces systèmes, le but était tout d'abord de déterminer leurs potentialités en tant qu'agents de contraste T_1 pour l'IRM, pour pouvoir à plus long terme, exploiter également leurs propriétés de photothermie afin de se diriger vers des nano-objets à visée thérapeutique.

II. NANOPARTICULES $K_kGd^{III}_xIn^{III}_{1-x}[Fe(CN)_6]_y$

II.3. Synthèse des particules

La stratégie développée au sein du laboratoire et menée lors de la synthèse des nanoparticules présentée dans les chapitres précédents a également été appliquée dans ce cas. Ainsi par un ajout rapide d'une solution aqueuse contenant les sels de $GdCl_3 \cdot 6H_2O$ et $InCl_3$ à 0,5 mM et 2°C sur une solution aqueuse d'hexacyanométallates (0,5 mM et 2°C) placée sous vive agitation, il a été possible d'obtenir des nanoparticules de type $K_kGd^{III}_xIn^{III}_{1-x}[Fe(CN)_6]_y$ en faisant varier le taux de Gd^{III} de 5 à 25%. Ces nanoparticules se différencient par le taux de Gd^{III} qu'elles contiennent et seront donc nommées par la suite $Gd^{III}In^{III}Fe^{II} [x]$ avec $x = 5 ; 10 ; 15 ; 20$ ou 25 . Des nanoparticules de composition $K_kGd^{III}[Fe^{II}(CN)_6]_y \cdot n(H_2O)$ ont également été préparées dans le but de caractériser ce système dérivé du réseau d'analogue du bleu de Prusse et ainsi pouvoir confirmer ou infirmer la présence du réseau $Gd^{III}Fe^{II}$ au sein

des objets de type $K_kGd^{III}_xIn^{III}_{1-x}[Fe(CN)_6]_y$. La synthèse de ces objets est détaillée dans l'annexe 15.

Les taux de Gd^{III} insérés initialement en solution correspondent à la formation d'une seule sous-couche moléculaire de $GdFe$ en périphérie des cœurs ABP. A la fin de la synthèse les nanoparticules sont enrobées par du dextran puis précipitées à l'acétone. Après centrifugation, les nanoparticules synthétisées sont récupérées sous forme de poudre puis caractérisées d'un point de vue chimique et structural.

II.4. Caractérisations structurales et de taille des particules

II.2.5. Diffusion dynamique de la lumière (DDL)

A titre d'exemple, les diamètres hydrodynamiques (D_h) des nanoparticules de $GdInFe$ [5], [10], [15] et [100] sont présentés sur la Figure IV-2 et les valeurs extraites de ces distributions de taille en volume sont regroupés dans le tableau IV-1.

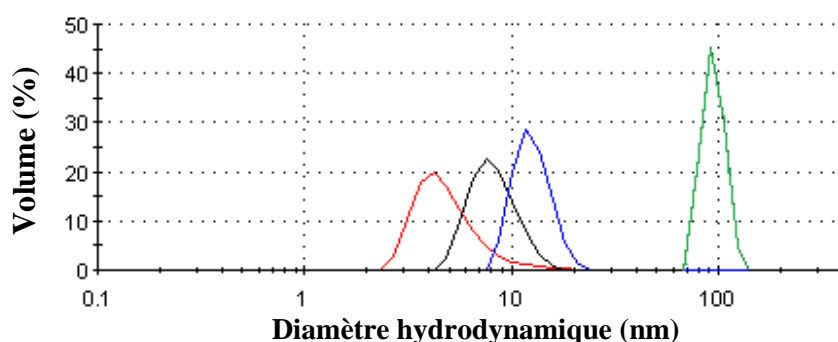


Figure IV-2. Distributions de taille en volume des particules $Gd^{III}In^{III}Fe$ [5], [10], [15] et [100], obtenues par DDL en solution aqueuse à température ambiante

	[5]	[10]	[15]	[100]
D_h (nm)	5	5-6	7-11	85

Tableau IV-1. Diamètres hydrodynamiques des nanoparticules $Gd^{III}In^{III}Fe$ [5], [10], [15], [100] obtenues par DDL en solution aqueuse à température ambiante

Ces mesures montrent une légère évolution du diamètre hydrodynamique des particules en fonction du taux de Gd^{III} . En effet, plus le taux de Gd^{III} augmente, plus les particules sont grandes. Néanmoins, en raison du faible nombre de coups détectés par l'appareil aux concentrations d'étude, ces valeurs restent indicatives. De manière importante, il faut noter qu'en l'absence d'indium, les nanoparticules $Gd^{III}Fe^{II}$ stabilisent autour de 80 nm démontrant l'importance de l'insolubilité du réseau $In^{III}Fe^{II}$. En effet, ceci permet la formation de germes riches en $In^{III}Fe^{II}$ et ainsi l'obtention de nanoparticules de $Gd^{III}In^{III}Fe^{II}$ d'une taille inférieure à 10 nm.

De plus, les redispersions en solution aqueuse des particules entourées de dextran présentent des tailles en DDL en accord avec celles obtenues en fin de synthèse pour les différents taux de gadolinium, avec une très légère évolution liée à la présence des chaînes de dextran. A titre d'exemple, les distributions de taille obtenues, en solution colloïdale, pour les particules de $Gd^{III}In^{III}Fe^{II}$ [5] et [10] à la fin de la synthèse et après redispersion sont montrées sur la figure suivante.

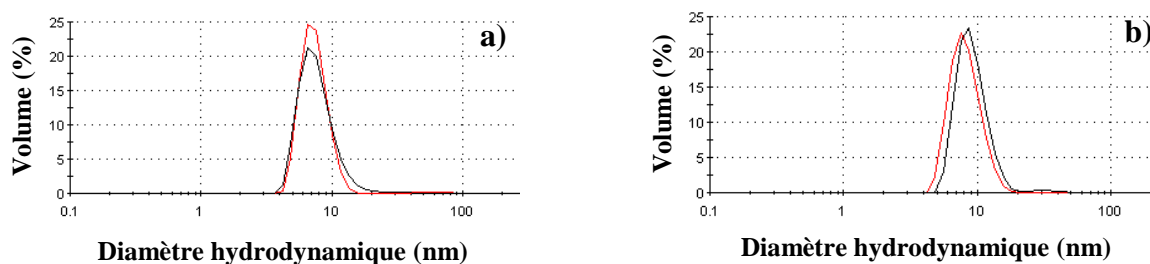


Figure IV-3. Distributions de taille des particules $Gd^{III}In^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ obtenues en fin de synthèse à température ambiante (rouge) et après redispersion à 10 mM dans l'eau (noir). **a)** [5] ; **b)** [10]

II.2.6. Diffraction des rayons X sur poudre (DRX)

Les diffractogrammes de poudre des particules $Gd^{III}In^{III}Fe^{II}$ [5] à [25] et $Gd^{III}Fe^{II}$ entourés de dextran sont présentés sur la Figure IV-4.

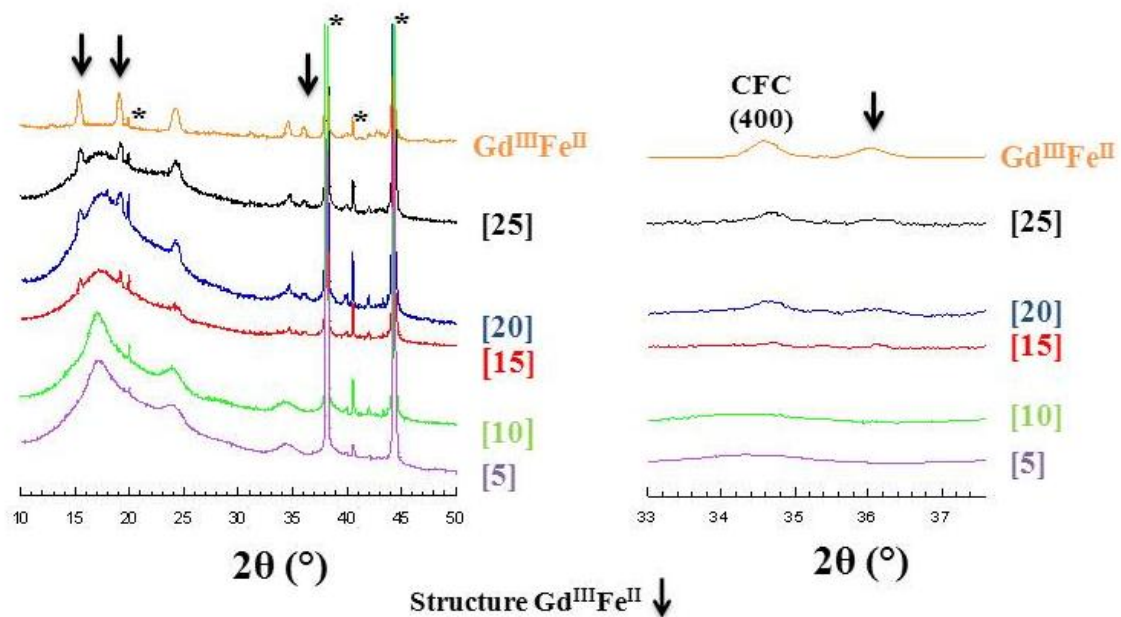


Figure IV-4. a) Diffractogrammes des particules $Gd^{III}In^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [5] ; [10] ; [15] ; [20] ; [25] et des particules $Gd^{III}Fe^{II}$, entourées de dextran (* pics issus du porte échantillon) et **b)** Zoom sur la raie (400) de la structure CFC

Comme mentionné précédemment, les réseaux $Gd^{III}Fe^{II}(CN)_6$ et $In^{III}Fe^{II}(CN)_6$ n'ont pas la même structure (orthorhombique et CFC respectivement), cependant les taux de Gd^{III} explorés (5 à 25%), correspondent à la formation d'une sous-couche moléculaire d'entités $GdFe$ sur des germes riches en $In^{III}Fe^{II}$. L'épitaxie entre les réseaux étant impossible, une sous-couche peu cristalline est attendue dans le cas des objets visés. Ainsi la présence des pics de diffraction du réseau $GdFe$ dans le cas des échantillons à 15%, 20% et 25% tend à prouver la démixion des deux phases et donc l'obtention de deux populations de particules bien distinctes. En revanche, sur les diffractogrammes obtenus pour les composés $Gd^{III}In^{III}Fe^{II}$ [5] et [10] seuls les pics caractéristiques de la structure d'ABP sont observés, correspondant au cœur ABP avec des entités $GdFe$ éparses à la surface. La longueur de cohérence du domaine diffractant des particules ainsi que le paramètre de maille, extraits par DRX, pour ces deux échantillons sont regroupés dans le tableau IV-2

	[5]	[10]
Paramètre de maille (Å)	10,48	10,45
Diamètre (nm)	4,9	5,3

Tableau IV-2. Valeurs des paramètres de maille et des tailles (moyennes sur les raies (220) et (400)) des particules $Gd^{III}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [5] et [10] enrobées de dextran

Comme attendu, le paramètre de maille obtenu pour ces deux échantillons correspond à celui du réseau $In^{III}Fe^{II}$ ($a = 10,45 \text{ \AA}$). De plus, la taille des particules est d'environ 5 nm (cohérent avec les tailles obtenues pour les particules MnInFe) et évolue peu pour ces faibles taux de Gd^{III} ce qui est en accord avec les mesures obtenues par DDL. Ceci démontre que la cristallinité des cœurs d'ABP est préservée et conforte l'hypothèse d'entités $Gd^{III}Fe^{II}$ en surface des particules.

II.2.7. Microscopie électronique en transmission (MET)

Les nanoparticules enrobées de dextran et redispersées à 10 mM dans l'eau ont été observées par MET. Les images obtenues pour les particules $Gd^{III}In^{III}Fe^{II}$ [5] ; [10] ; [15] ; [20] ; [25] et [100] sont présentées sur la figure ci-dessous.

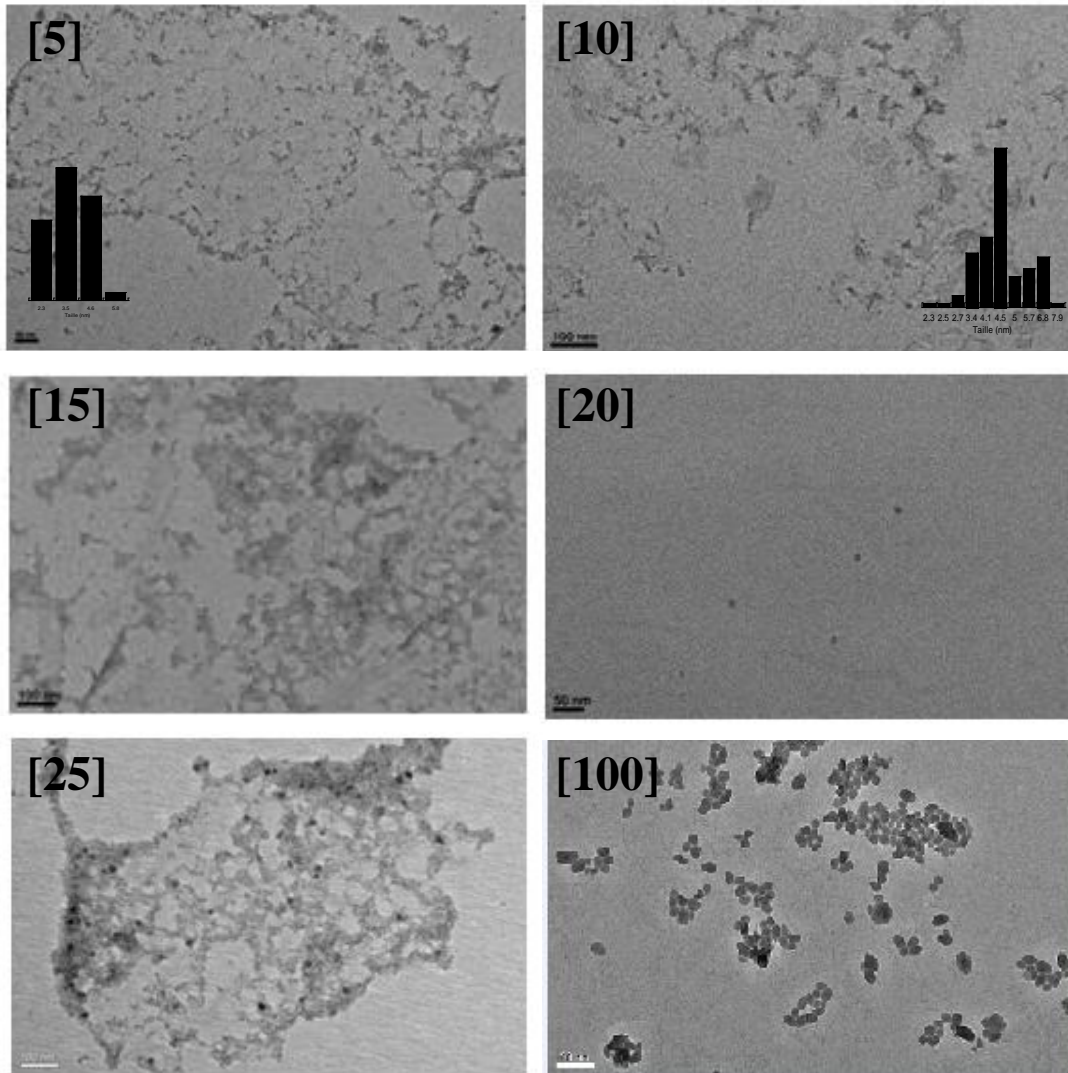


Figure IV-5. Images MET des particules $Gd^{III}In^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [5], [10], [15], [20], [25] et [100] entourées de dextran (échelle : 50 nm pour [5] et [20] ; échelle : 100 nm pour [10] ; [15] ; [25] et [100])

Pour les faibles taux de Gd^{III} (de 5 à 20%), les images sont peu contrastées en raison de la petite taille et de la faible densité métallique des particules. A 25% de Gd^{III} , deux populations de nanoparticules sont observées : des petites particules peu contrastées probablement d' $In^{III}Fe^{II}$ et des particules de plus grande taille et mieux contrastées correspondant probablement à des nanoparticules de $Gd^{III}Fe^{II}$. Ceci confirme donc la démixion des nanoparticules mise en évidence précédemment par les études menées par DRX. Bien que sur les échantillons dopés à 15 et 20% en Gd^{III} , des nanoparticules de plus grande taille ne soient pas observées, les diffractogrammes sont caractéristiques d'une démixion de phase, c'est pourquoi la suite de cette étude a été focalisée sur les nanoparticules $Gd^{III}In^{III}Fe^{II}$ [5] et [10]. La taille moyenne de ces objets, extraite par MET, est de $4,1 \pm 1,0$ nm et $4,5$ nm pour les

échantillons [5] et [10] respectivement. Cependant la petite taille et le faible contraste de ces nano-objets pour ces taux de Gd^{III} , ne permettent pas de déterminer de façon précise la taille des nanoparticules et d'établir une distribution de taille correcte, car l'augmentation du grandissement conduit systématiquement à une perte de contraste. Néanmoins, les tailles moyennes estimées par MET sont proches de celles déterminées par DRX et montrent peu d'évolution de la taille des particules en fonction du taux de Gd^{III} . Enfin, les images MET obtenues pour les particules de $Gd^{III}Fe^{II}$ montrent bien des objets de plus grande taille et mieux contrastés, constituant ainsi un nouvel argument en faveur de l' In^{III} pour la synthèse de nanoparticules de $Gd^{III}In^{III}Fe^{II}$. Par ailleurs, il apparaît clairement que ces particules d'environ 25 nm sont agrégées en solution colloïdale (80 nm par DDL).

Afin de s'assurer qu'il n'y a pas de démixion de phase pour les échantillons dopés à 5 et 10% en Gd^{III} , des études de STEM-EELS ont été réalisées dans le but de localiser les trois éléments (Gd^{III} , In^{III} et Fe^{II}) au sein d'un même objet. Les résultats obtenus pour les particules $Gd^{III}In^{III}Fe^{II}$ [5] sont présentés ci-dessous.

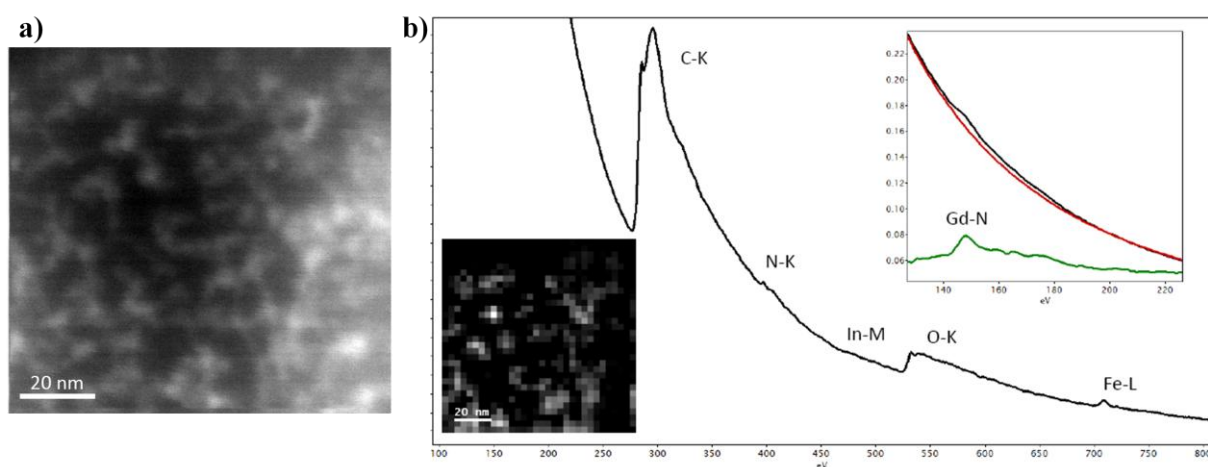


Figure IV-6. a) Images de MET en champ sombre (échelle = 20 nm) et **b)** Analyse chimique (Gd, In,Fe) réalisée par spectromicroscopie des nanoparticules $Gd^{III}In^{III}Fe^{II}$ [5]@(dext)₃₀

Sur la Figure IV-6.a), les nanoparticules apparaissent en blanc car il s'agit d'une image de microscopie en champ sombre. Il est très dur de déterminer avec exactitude la taille et la distribution de tailles d'objets si petits (environ 5 nm) peu contrastés, notamment en raison de la présence de dextran autour des particules et du faible nombre d'atomes sondés (5 atomes de Fe, 5 atomes d'In dans l'épaisseur). Les objets mesurent environ 4-5 nm ce qui est cohérent

avec les tailles obtenues précédemment par DDL, DRX et MET. Sur cette image, il n'a pas été possible d'établir une distribution de taille. L'analyse chimique par spectromicroscopie (cf. Figure IV-6.b) montre la colocalisation, au sein d'une même particule, des trois éléments constituant le cœur inorganique (Gd^{III} , In^{III} et Fe^{II}) confirmant par la même, qu'il n'y a pas de démixion de phase pour les nanoparticules dopées à 5% en Gd^{III} .

Pour conclure sur cette partie, le tableau IV-3 regroupe les tailles moyennes des nanoparticules $Gd^{III}In^{III}Fe^{II}$ [5] et [10], extraites par DDL, DRX et MET.

	DDL (nm)	DRX (nm)	MET (nm)
$Gd^{III}In^{III}Fe^{II}$ [5]	5	4,9	4,1
$Gd^{III}In^{III}Fe^{II}$ [10]	5,5	5,3	4,5

Tableau IV-3. Taille moyenne des particules $Gd^{III}In^{III}Fe^{II}$ [5] et [10], obtenue par DDL, DRX et MET

Les résultats de taille extraits par ces différentes techniques sont en accord et indiquent que les nanoparticules de $Gd^{III}In^{III}Fe^{II}$ [5] et [10] ont une taille d'environ 5 nm. Les mesures faites par DRX laissent supposer que ces nanoparticules sont constituées d'un cœur $In^{III}Fe^{II}$ et d'une sous-couche moléculaire d'entités $Gd^{III}Fe^{II}$ située en surface des objets. De plus, les mesures de DDL et les images MET ont montré des nanoparticules bien individualisées en solution aqueuse.

II.5. Caractérisations chimiques des particules

II.3.1. Spectroscopie Infrarouge

Sur la figure IV-7, sont présentées les données obtenues par spectroscopie infrarouge en transmission concernant la vibration asymétrique des cyanures pontants, pour les particules de $Gd^{III}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ synthétisées avec 5 à 25% de Gd^{III} .

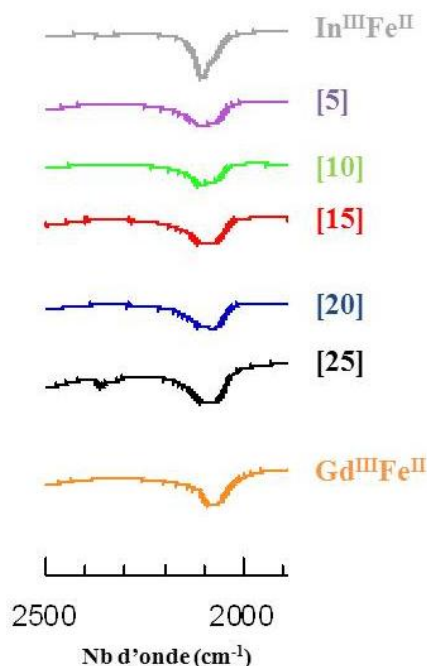


Figure IV-7. Spectres infrarouge dans la zone 1900-2500 cm^{-1} pour les particules de $\text{Gd}^{\text{III}}\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{II}}_y$ en fonction de la fraction molaire en Gd^{III} , x .

La spectroscopie IR permet de confirmer la présence des liaisons $\text{Fe}^{\text{II}}\text{-CN-Gd}^{\text{III}}$ et $\text{Fe}^{\text{II}}\text{-CN-In}^{\text{III}}$ et ainsi d'écarter la présence des ions Gd^{III} dans les sites interstitiels du réseau d'ABP, comme supposé par certains travaux publiés récemment dans la littérature.^{7, 8}

Dans notre cas, une évolution de la bande de vibration des cyanures pontants en fonction de la quantité de Gd^{III} insérée est observée. En effet, la bande de vibration se déplace vers les basses fréquences à mesure que le taux de Gd^{III} augmente. Elle varie entre 2100 cm^{-1} et 2060 cm^{-1} lorsque le taux de Gd^{III} augmente, ce qui est en accord avec la vibration des bandes du réseau $\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ (2108 cm^{-1}) et du réseau $\text{Gd}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ (2070 cm^{-1}). De plus, pour les plus bas taux de Gd^{III} , la présence des enchaînements $\text{Fe}^{\text{II}}\text{-CN-Gd}^{\text{III}}$ et $\text{Fe}^{\text{II}}\text{-CN-In}^{\text{III}}$ se distingue par un dédoublement de la bande de vibration, caractéristique des deux contributions $\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ et $\text{Gd}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$.

II.3.2. Analyse élémentaire et ICP

En associant les résultats obtenus par analyse élémentaire (C, H, N) et ICP (Gd, In, Fe), il est possible de déterminer les unités formulaires des nanoparticules synthétisées. Cette étape est

indispensable puisqu'elle donne accès à une concentration en Gd^{III} fiable, nécessaire pour les études en relaxométrie qui dépendent de la concentration en ions paramagnétiques. Les unités formulaires obtenues pour les particules $Gd^{III}_xIn^{III}_{1-x}[Fe^{II}(CN)_6]_y$ [5] et [10] sont présentées dans le tableau IV-4.

% Gd^{III}	Unité formulaire des particules $Gd^{III}In^{III}Fe^{II}$	% de relargage de Gd
[5]	$K_{0,04}Gd_{0,07}In_{0,93}[Fe(CN)_6]_{0,74},(Dextran)_{30},(H_2O)_{36}$	0,001
[10]	$K_{0,08}Gd_{0,10}In_{0,90}[Fe(CN)_6]_{0,73},(Dextran)_{27},(H_2O)_{28}$	0,004

Tableau IV-4. Unité formulaire des particules $Gd^{III}In^{III}Fe$ [x] et pourcentage de relargage de Gd^{III} , déterminés par ICP

Les taux de Gd^{III} déterminés par ICP correspondent aux taux introduits initialement en solution. De plus, les nanoparticules sont bien entourées d'environ 25 équivalents de dextran. Le relargage d'ions Gd^{III} libres en solution a également été analysé par ICP. Pour cela, des ultrafiltrations ont été réalisées sur des redispersions de particules à 0,2 mM en Gd^{III} , en solution aqueuse. Le filtrat récupéré après centrifugation a ensuite été analysé par ICP afin de déterminer la présence ou non d'ions Gd^{III} libres, qui seraient toxiques pour l'organisme. Les valeurs reportées dans le tableau IV-4 indiquent un très faible relargage d'ions Gd^{III} , ce qui prouve la stabilité des nanoparticules synthétisées. Cette vérification du relargage d'ions Gd^{III} libres est cruciale pour envisager l'utilisation de ces nanoparticules en IRM.

II.6. Mesures de relaxivité et contraste T_1

- *Profils de dispersion*

Ci-dessous sont présentées les mesures de relaxivité en fonction de la fréquence (de 0,01 à 300 MHz) enregistrées à 37°C, pour les nanoparticules $Gd^{III}In^{III}Fe^{II}$ [5], [10] et [25].

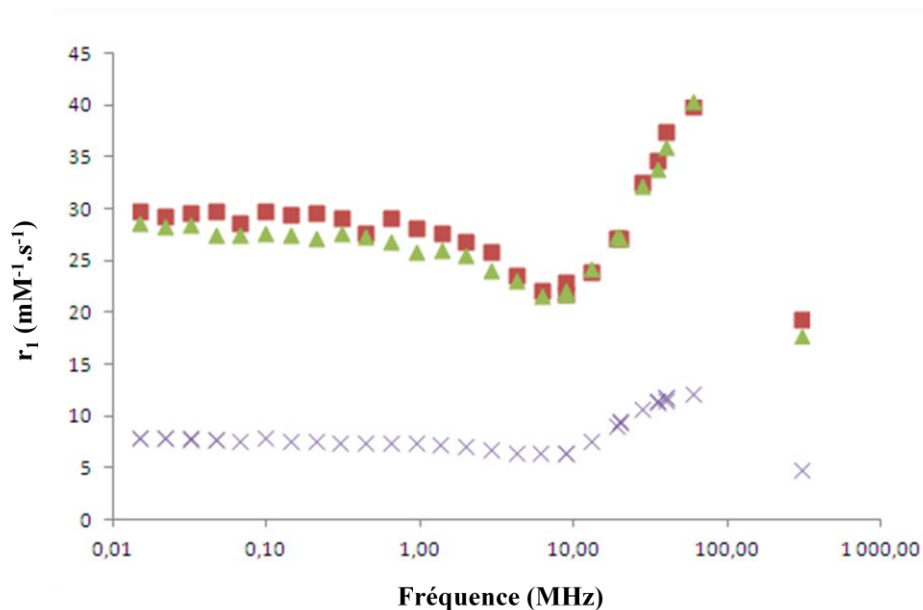


Figure IV-8. Valeurs de r_1 à 37°C en fonction de la fréquence en MHz pour les nanoparticules $Gd^{III}_xIn^{III}_{1-x}[Fe^{II}(CN)_6]_y$ [5], [10] et [25]

Ces trois composés présentent des profils caractéristiques de nano-objets en précession lente avec un maximum de relaxivité obtenu à 60 MHz. Les particules dopées à 25% en Gd^{III} ont une relaxivité nettement inférieure à celle des nanoparticules $Gd^{III}In^{III}Fe^{II}$ [5] et [10]. Cette importante diminution pour le composé $Gd^{III}In^{III}Fe$ [25] s'explique par la démixion entre la structure $In^{III}Fe^{II}$ et la structure $Gd^{III}Fe^{II}$. Ainsi, des ions Gd^{III} se trouvent enfouis au sein des couches les plus internes des particules $Gd^{III}Fe^{II}$ et ne participent donc pas significativement à la relaxivité de ces objets. Par ailleurs, les relaxivités des composés dopés à 5 et 10% en Gd^{III} sont très proches et particulièrement élevées. Ces valeurs importantes et identiques peuvent s'expliquer par une répartition statistique des ions Gd^{III} en surface de la particule. Cette répartition homogène pour des taux aussi faibles conduirait à des distances $Gd^{III}-Gd^{III}$ importantes, limitant les interactions dipolaires qui pourraient diminuer les valeurs de r_1 . Pour les deux systèmes $Gd^{III}In^{III}Fe^{II}$ [5] et [10], les ions Gd^{III} se situeraient donc en périphérie des particules sans interactions dipolaires avec d'autres sites paramagnétiques d'où une même relaxivité par ion Gd^{III} , indépendamment du taux de dopage. De plus, des mesures de r_1 et de r_2 à 60 MHz et à 5°C ont été effectuées pour les particules $Gd^{III}In^{III}Fe^{II}$ [5] et [10]. Les valeurs obtenues sont regroupées dans le tableau IV-5.

$Gd^{III}In^{III}Fe^{II}$ [x]	T (°C)	r_1 (mM ⁻¹ .s ⁻¹)	r_2 (mM ⁻¹ .s ⁻¹)	r_2/r_1
[5]	5	63,0	87,2	1,4
	37	39,9	27,4	0,7
[10]	5	60,9	83,1	1,4
	37	40,4	52,9	1,3

Tableau IV-5. Valeurs de la relaxivité longitudinale r_1 et transversale r_2 et rapports r_2/r_1 (60 MHz) à 37°C et 5°C pour les composés $Gd^{III}In^{III}Fe$ [5] et [10]

Pour les deux composés, les valeurs de relaxivité sont nettement augmentées à basse température. C'est un argument montrant que le temps de corrélation rotationnel est bien le temps limitant la relaxivité et non l'échange des molécules d'eau. En effet, à plus basse température, le mouvement de précession des objets est plus lent conduisant à un temps de corrélation rotationnel plus long et donc à une meilleure relaxivité.

Les valeurs de relaxivité par ion Gd^{III} sont exceptionnelles, compte tenu de la taille des objets de quelques nanomètres (~ 5 nm). Dans la littérature des valeurs trois fois plus faibles de l'ordre de 12,3 mM⁻¹.s⁻¹ à 60 MHz ont été rapportées pour des particules d'analogue du bleu de Prusse à base de Gd^{III} d'une taille de 60 nm.⁸ Une autre étude a également été rapportée sur des nanoparticules d'ABP contenant des ions Gd^{III} , d'une taille de 33 nm ayant une relaxivité de 38,5 mM⁻¹.s⁻¹ à 3 T.⁷ Il est probable vu l'absence de mesures de DDL que ces objets aient été étudiés à l'état agrégé, car l'enfouissement d'ions Gd^{III} sur ces systèmes est incompatible avec de telles valeurs, et en désaccord à tous les autres résultats sur ce type de réseaux. D'autre part, pour une même taille d'objets, les relaxivités des nanoparticules $Gd^{III}In^{III}Fe$ sont cinq fois supérieure à celles de particules d'oxyde de type Gd_2O_3 ⁹, neuf fois supérieure à la relaxivité de particules de $NaGdF_4$ d'une taille de 4 nm¹⁰ et dix fois supérieure à la relaxivité de particule de $Eu_{0,33}^{3+}Gd_{0,34}^{3+}[Mo(CN)_8]^{3-}@chitosan$ d'une taille de 4,5 nm.¹¹ Enfin, les rapports r_2/r_1 obtenus sont inférieurs à 2 ce qui confirme le caractère T_1 de ces agents de contraste nanométriques à base de Gd^{III} .

- ***Influence de l'enrobage sur la relaxivité des nanoparticules $Gd^{III}In^{III}Fe^{II}$ [5]***

L'avantage de notre procédé de synthèse est qu'il permet de moduler l'enrobage a posteriori et d'éviter tout effet du polymère sur la taille des particules obtenues. L'influence de l'enrobage sur la relaxivité des nanoparticules dopées à 5% en Gd^{III} a ainsi été étudiée. Pour

cela, la relaxivité, à 60 MHz et à 37°C, de ces particules entourées par un polymère de type PEG (PEG-COOH ou PEG-NH₂) ou par du PVP a été comparée aux valeurs obtenues pour les particules « nues » ou enrobées par du dextran. La structure chimique de ces enrobages est présentée sur la figure IV-9.

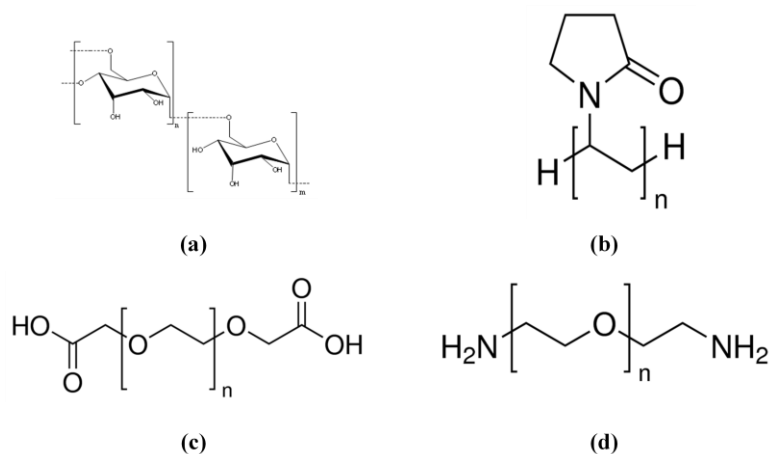


Figure IV-9. Structure chimique du (a) dextran (b) PVP (c) PEG-COOH et (d) PEG-NH₂

Après la synthèse des nanoparticules Gd^{III}In^{III}Fe [5], 25 équivalents de polymère ont été ajoutés à la solution colloïdale puis précipité par un ajout d'acétone. De même que pour les particules Mn^{II}In^{III}Fe^{II}, présentées dans le chapitre II, les nanoparticules enrobées de PEG n'ont pas pu être récupérées sous forme de poudre après centrifugation. Ceci pourrait être dû à une mauvaise interaction des nanoparticules Gd^{III}In^{III}Fe [5] avec les polymères de type PEG ou bien à l'utilisation d'un mauvais co-solvant puisque le PEG est bien plus soluble dans l'acétone que le dextran ou le PVP. En revanche, les nanoparticules enrobées par le PVP ont été récupérées sous forme de poudre et caractérisées d'un point de vue chimique et structural. Ces nanoparticules de composition chimique K_{0,04}Gd_{0,08}In_{0,92}[Fe(CN)₆]_{0,76}.(PVP)₂₉.(H₂O)₂₈, déterminée par AE (C,H,N) et ICP (Gd,In,Fe) présentent une structure CFC et une taille de 5,4 nm déterminée par DRX. Les caractérisations chimiques et de taille de ces objets sont présentées en Annexe 16.

Les valeurs de relaxivité r_1 ont été mesurées à 37°C et à 60 MHz après avoir redispersées les nanoparticules enrobées de dextran ou de PVP en solution aqueuse. La mesure de la relaxivité des nanoparticules « nues » a été faite en solution colloïdale. Concernant les polymères de type PEG, les mesures de relaxivité ont également été effectuées directement en solution colloïdale après l'ajout des polymères en fin de synthèse, afin de voir une éventuelle influence

du polymère sur la relaxivité des nanoparticules en comparaison aux particules « nues ». Les valeurs obtenues sont regroupées dans le tableau ci-dessous.

	« nues »	Dextran	PVP	PEG-NH ₂	PEG-COOH
$r_1(\text{mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1})$ pour $\text{Gd}^{\text{III}}\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [5]	21,0	39,9	37,3	20,6	10,3

Tableau IV-6. Valeurs r_1 par ion Gd^{III} à 60 MHz et à 37°C des nanoparticules $\text{Gd}^{\text{III}}\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}$ [5] en fonction de l'enrobage

D'après les valeurs de r_1 obtenues, il apparaît clairement que le dextran et le PVP ont un effet positif sur la relaxivité des nanoparticules $\text{Gd}^{\text{III}}\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}$ [5]. En effet, l'enrobage par 25 équivalents de polymère augmente le diamètre hydrodynamique des particules entraînant alors une précession plus lente des objets ce qui favorise la relaxivité. D'autre part, ces deux polymères sont hydrophiles permettant ainsi un échange efficace des molécules d'eau dans la sphère de coordination du Gd^{III} . La relaxivité des particules en présence de PEG-NH₂ n'est pas modifiée par rapport aux particules nues, indiquant alors que le polymère n'interagit pas avec les particules. Des liaisons hydrogène auraient pu s'établir entre les groupements amino et les cyanures non-pontants présents en surface des nanoparticules, ou bien la possible protonation des groupements amino en solution aqueuse aurait pu permettre une interaction de type électrostatique avec les particules chargées négativement. Cependant, les polymères PEG ne sont fonctionnalisés qu'en extrémités de chaînes conduisant à de faibles interactions avec les particules. Concernant le PEG-COOH, une nette diminution de la relaxivité est observée puisque celle-ci est divisée par deux par rapport aux particules « nues ». Les ions Gd^{III} étant très oxophiles, il est probable que le polymère se soit directement coordonné au Gd^{III} via les groupements carboxylates, diminuant ainsi le nombre de molécules d'eau dans la sphère de coordination du Gd^{III} et rendant l'échange des molécules d'eau beaucoup plus difficile. Par ailleurs, cette hypothèse est une preuve indirecte de la localisation des ions Gd^{III} en surface des nanoparticules $\text{Gd}^{\text{III}}\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}$. Dans ce cas, l'enrobage par du PEG-COOH a alors un effet négatif sur la relaxivité des nanoparticules $\text{Gd}^{\text{III}}\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}$ [5].

Pour conclure sur cette étude, la relaxivité optimale est obtenue par une interaction via des liaisons hydrogène entre les particules et un polymère hydrophile. Le profil de dispersion des nanoparticules de $\text{Gd}^{\text{III}}\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}$ [5]@(PVP)₂₉ comparé à celui des nanoparticules $\text{Gd}^{\text{III}}\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}$ [5]@(dextran)₃₀ est présenté en Annexe 16. Les relaxivités de ces deux systèmes sont très proches indépendamment de la fréquence du champ appliqué.

- *Images de contraste T_1 des nanoparticules $Gd^{III}In^{III}Fe [5]@(dextran)_{30}$*

Le contraste pondéré en T_1 des nanoparticules $Gd^{III}In^{III}Fe [5]@(dextran)_{30}$ à 0,2 mM en Gd^{III} est présenté sur la Figure IV-10 et comparé aux performances du Gd-DTPA.

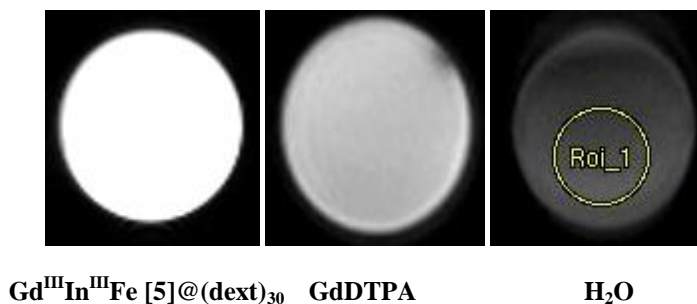


Figure IV-10. Images de contraste pondérées en T_1 des nanoparticules $Gd^{III}In^{III}Fe [5]@(dext)_{30}$ avec $[Gd^{III}] = 0,2mM$ (gauche), du Gd-DTPA avec $[Gd^{III}] = 0,2 mM$ (centre) et de l'eau (droite) enregistrées à 7 T en solution aqueuse. (TR = 22 ms et TE = 3 ms)

Le contraste des nanoparticules $Gd^{III}In^{III}Fe [5]@(dextran)_{30}$ est nettement supérieur à celui de l'agent clinique pour une même concentration en Gd^{III} et à haut champ (7 T). Ceci est cohérent avec les valeurs de relaxivité mesurées puisque la relaxivité des particules dopées à 5% est de $20 mM^{-1}.s^{-1}$ à 300 MHz (cf. Figure IV-8), ce qui est cinq fois supérieur à la relaxivité du Gd-DTPA.

Pour conclure sur cette partie, il a été possible de synthétiser des nanoparticules de $Gd^{III}In^{III}Fe [5]$ et $[10]$ d'environ 5 nm de diamètre, avec une structure constituée d'un cœur $In^{III}Fe^{II}$ et d'une sous-couche moléculaire située en surface des particules et constituée d'entités $Gd^{III}Fe^{II}$. Par ailleurs, les plus hauts taux de Gd^{III} ont mené à une démixion de phase et donc à deux populations de nanoparticules, situation inexploitable pour des applications en IRM. Les relaxivités par ion Gd^{III} pour les particules $Gd^{III}In^{III}Fe [5]$ et $[10]$ sont très élevées et identiques, dû à une localisation de ces ions en surface de la particule ainsi qu'à l'absence d'interactions dipolaires entre sites paramagnétiques. L'excellente relaxivité de ces objets a été confirmée par les images de contraste pondérées en T_1 des nanoparticules $Gd^{III}In^{III}Fe [5]@(dextran)_{30}$. Par la suite, l'influence d'un cœur paramagnétique de bleu de Prusse sur la relaxivité des nanoparticules à base de Gd^{III} a été explorée. Les résultats obtenus sont présentés dans la deuxième partie de ce chapitre.

III. NANOPARTICULES $K_kGd^{III}_xFe^{III}_{1-x}[Fe(CN)_6]_y$

III.5. Synthèse des particules

Pour la synthèse de ces nanoparticules de type $K_kGd^{III}_xFe^{III}_{1-x}[Fe^{II}(CN)_6]_y$, la même stratégie que précédemment a été adoptée en remplaçant le cœur $In^{III}Fe^{II}$ par un cœur de bleu de Prusse de formule $Fe^{III}_x[Fe^{II}(CN)_6]_y$, ce réseau étant très insoluble. En effet, en plus d'être paramagnétique grâce à la présence du Fe^{III} ($S=5/2$), ce cœur présente des propriétés intéressantes en photothermie comme montré récemment dans la littérature. Dans un premier temps, le but est de déterminer les capacités de ces nanoparticules en tant qu'agents de contraste T_1 pour pouvoir à plus long terme explorer leur potentiel en photothermie et se diriger vers la synthèse d'objets théranostiques. Deux compositions de particules contenant 5% et 10% de Gd^{III} respectivement, ont été synthétisées et seront désignées par les notations $Gd^{III}Fe^{III}Fe^{II}$ [5] et $Gd^{III}Fe^{III}Fe^{II}$ [10]. Le protocole de synthèse de ces nanoparticules est identique à celui des nanoparticules de $K_kGd^{III}_xIn^{III}_{1-x}[Fe^{II}(CN)_6]_y$, en remplaçant le sel de $InCl_3$ par un sel de $Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$. La synthèse des particules $K_kGd^{III}_xFe^{III}_{1-x}[Fe^{II}(CN)_6]_y$ avec $x = 0,05$ et $0,10$ est décrite en Annexe 15. Ces particules ont été enrobées par 25 équivalents de dextran, précipitées à l'acétone puis récupérées sous forme de poudre après centrifugation et séchage sous vide, permettant ainsi la caractérisation des nanoparticules synthétisées.

III.6. Caractérisations structurales et de taille des particules

III.2.3. *Diffusion dynamique de la lumière (DDL)*

Sur la figure IV-11 sont présentés les diamètres hydrodynamiques moyens des nanoparticules $Gd^{III}Fe^{III}Fe^{II}$ [5] et [10], mesurés directement en solution colloïdale à la fin de la synthèse.

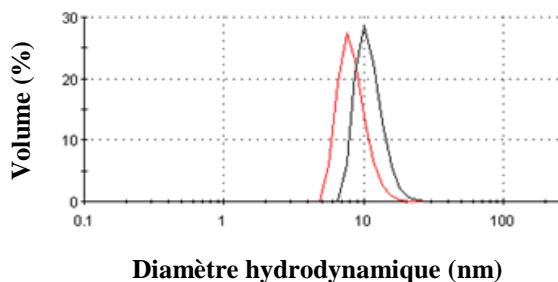


Figure IV-11. Distribution de taille en volume des nanoparticules $Gd^{III}Fe^{III}Fe^{II}$ [5] et [10], obtenues par DDL en solution colloïdale à température ambiante

D'après les mesures faites par DDL, le diamètre hydrodynamique est légèrement plus grand lorsque le taux de Gd^{III} augmente. En effet, les tailles moyennes extraites par cette technique sont de 8 nm pour les particules dopées à 5% en Gd^{III} et de 11 nm pour celles dopées à 10% en Gd^{III} . Les redispersions de ces particules en solution aqueuse ont également été réalisées et vérifiées par DDL. Cependant, la couleur bleue intense de la solution due au cœur de bleu de Prusse interfère avec le système de détection de l'appareil donnant lieu à des résultats souvent inexploitable. Ainsi, les résultats obtenus pour les particules $Gd^{III}Fe^{III}Fe^{II}$ [5] ne sont pas fiables et donc ininterprétables au vu des corrélogrammes obtenus. La taille moyenne obtenue après redispersion des nanoparticules $Gd^{III}Fe^{III}Fe^{II}$ [10] à 1 mM est présentée ci-dessous.

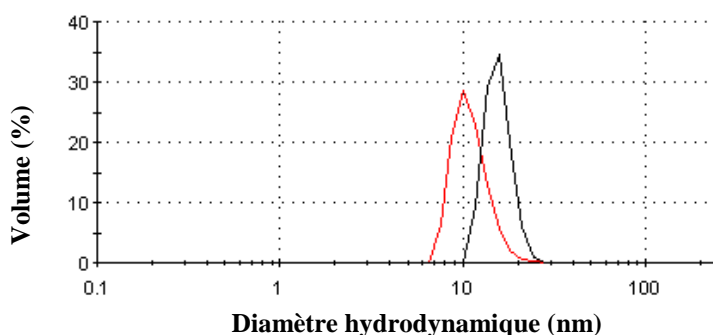


Figure IV-12. Distributions de taille en volume des nanoparticules $Gd^{III}Fe^{III}Fe^{II}$ [10] en fin de synthèse (rouge) et après redispersion à 1 mM en solution aqueuse (noir), obtenues par DDL à température ambiante

Le diamètre hydrodynamique des particules $Gd^{III}Fe^{III}Fe^{II}$ [10] est légèrement plus grand après redispersion ($d=14,6$ nm), mais reste cependant en accord avec la taille moyenne obtenue en fin de synthèse ($d=11,0$ nm) compte tenu de la présence du polymère. De plus, les distributions de taille sont proches en fin de synthèse et après redispersion en solution aqueuse, montrant ainsi la stabilité des nanoparticules.

III.2.4. Diffraction des rayons X sur poudre (DRX)

Les diffractogrammes de poudre des particules $\text{Gd}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [5] et [10] entourés de dextran sont présentés sur la Figure IV-13.

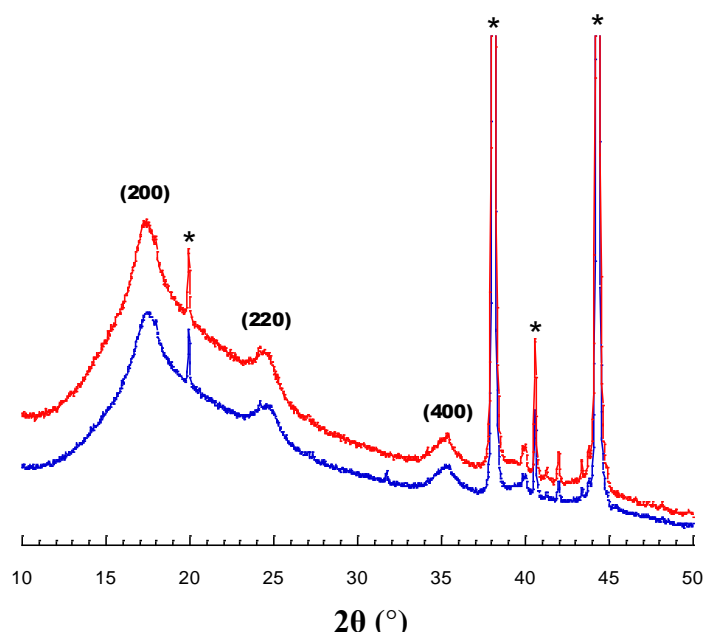


Figure IV-13. Diffractogrammes des nanoparticules $\text{Gd}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [5] et [10] entourées de dextran (*pics issus du porte échantillon)

Les diffractogrammes des nanoparticules $\text{Gd}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [5] et [10] sont caractéristiques d'une structure CFC, ce qui est attendu pour des nanoparticules constituées d'un cœur de bleu de Prusse présentant une sous-couche moléculaire d'entités $\text{Gd}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$, située en périphérie des particules. Les diffractogrammes obtenus pour ces faibles teneurs en Gd^{III} écartent toute éventuelle démixion de phase. Les paramètres de maille ainsi que les tailles moyennes des particules $\text{Gd}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [5] et [10], extraits par DRX, sont présentés dans le tableau ci-dessous.

	$\text{Gd}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [5]	$\text{Gd}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [10]
Paramètre de maille (Å)	10,18	10,28
Taille (nm)	6,1	6,8

Tableau IV-7. Paramètres de maille et tailles des nanoparticules $\text{Gd}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [5] et [10], extraits par DRX

Le paramètre de maille des nanoparticules $\text{Gd}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [x] est plus faible que celui des nanoparticules $\text{Gd}^{\text{III}}\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [x] (de l'ordre de 10,5 Å). Ceci s'explique par la substitution des ions In^{III} par des ions Fe^{III} de rayon ionique moins important ($r_{\text{Fe}^{\text{III}}} = 0,55 \text{ \AA}$ et $r_{\text{In}^{\text{III}}} = 0,80 \text{ \AA}$). D'autre part, une légère augmentation de la taille des nanoparticules de bleu de Prusse est observée, de l'ordre de l'incertitude, indiquant une taille de domaines diffractants d'environ 6 nm. De plus, ces nanoparticules de $\text{Gd}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [x] présentent des tailles légèrement supérieures aux particules $\text{Gd}^{\text{III}}\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [x] (aux alentours de 5nm). Ceci peut s'expliquer par la taille des germes ou particules de cœur puisque les particules $\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{III}}$ ont des tailles de l'ordre de 4 nm alors que les particules de BdP présentent des tailles aux alentours de 6 nm comme montré dans les chapitres précédents.

III.2.5. Microscopie électronique en transmission (MET)

Les clichés MET obtenues pour les nanoparticules $\text{Gd}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [5] et [10] en solution colloïdale et après redispersion à 1 mM en solution aqueuse, sont présentés sur la Figure IV-14.

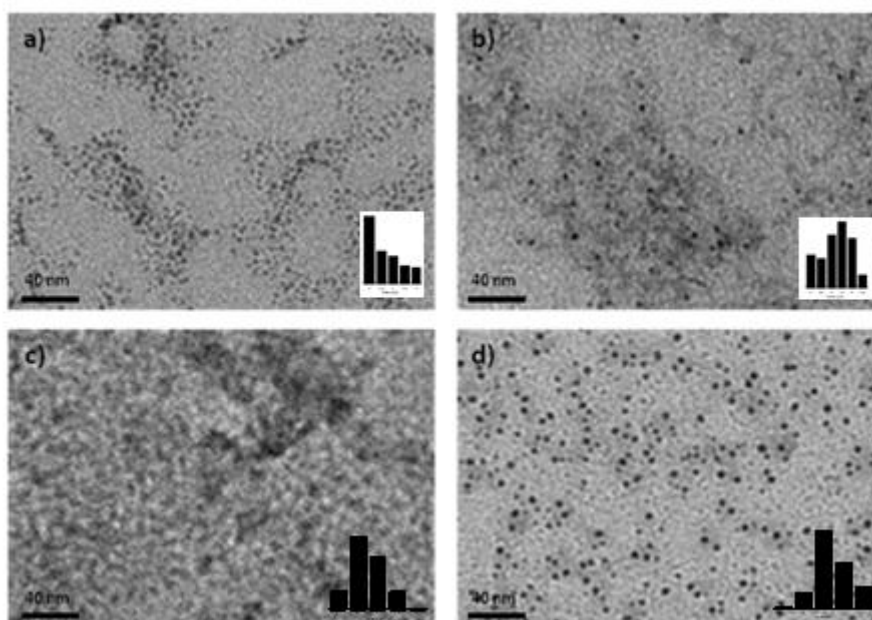


Figure IV-14. Images MET des nanoparticules $\text{Gd}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [x] en solution colloïdale en fin de synthèse de a) [5] ; b) [10] et après redispersion à 1mM en solution aqueuse c) [5] ; d) [10] (échelle = 40 nm)

D'un point de vue qualitatif, les nanoparticules apparaissent monodisperses, bien individualisées et de très petite taille (échelle de 40 nm). Il est très difficile d'extraire la taille moyenne pour des nanoparticules de si petite taille. Les distributions de taille ont tout de même été effectuées mais sont données à titre indicatif car la taille extraite par MET dans ce cas est erronée. Ces résultats de taille sont comparés à ceux obtenus par DDL et DRX, afin de voir si les tailles moyennes des nanoparticules $Gd^{III}Fe^{III}Fe^{II}$ [5] et [10] sont cohérentes indépendamment de la technique de caractérisation utilisée.

	DDL		MET	DRX
	<i>Fin de synthèse</i>	<i>Redispersion à 1mM</i>	<i>Redispersion à 1mM</i>	
[5] (nm)	8	-	4,0±1,0	6,1
[10] (nm)	11	14,6	4,3±1,0	6,8

Tableau IV-8. Tailles moyennes des particules $Gd^{III}Fe^{III}Fe^{II}$ [5] et [10] obtenues par DDL, MET et DRX

Les tailles moyennes obtenues par DRX et MET sont proches et indiquent que les nanoparticules $Gd^{III}Fe^{III}Fe^{II}$ [5] et [10] ont une taille comprise entre 4 et 7 nm avec une très légère différence selon le taux de Gd^{III} inséré ce qui s'explique par des incertitudes sur les mesures. Ces particules sont monocristallines puisque la longueur de cohérence extraite des mesures DRX est proche de la taille observée en MET. Les mesures de DDL surestiment la taille des objets (solvatation et enrobage polymérique) mais montrent que les particules sont bien individualisées en solution. Des efforts seront menés dans la suite de ce travail pour acquérir des images en MET de meilleure qualité. .

III.7. Caractérisations chimiques des particules

III.3.1. Spectroscopie Infrarouge

Sur la figure IV-15, sont présentées les données obtenues par spectroscopie infrarouge en transmission concernant la vibration asymétrique des cyanures pontants, pour les nanoparticules $Gd^{III}Fe^{III}Fe^{II}$ [5] et [10] enrobées de dextran.

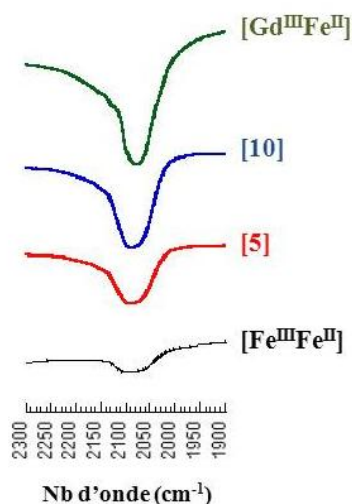


Figure IV-15. Spectres IR des nanoparticules $Gd^{III}Fe^{III}Fe^{II}$ [5] et [10], du $Gd^{III}Fe^{II}$ et du $Fe^{III}Fe^{II}$, dans la zone 2300-1900 cm^{-1}

La bande caractéristique de la vibration asymétrique des cyanures pontants est décalée vers les basses fréquences par rapport aux nanoparticules de composition $Gd^{III}In^{III}Fe$ puisque la vibration de l'enchaînement $In^{III}-NC-Fe^{II}$ se situe à 2108 cm^{-1} . Les bandes de vibration caractéristiques des réseaux $Gd^{III}Fe^{II}$ et $Fe^{III}Fe^{II}$ se situent à 2070 cm^{-1} ce qui est en accord avec les bandes de vibration obtenues pour les nanoparticules $Gd^{III}Fe^{III}Fe^{II}$ [5] et [10] situées à 2080 cm^{-1} . Ces bandes sont larges et contiennent les deux contributions caractéristiques des enchaînements $Gd^{III}-NC-Fe^{II}$ et $Fe^{III}-NC-Fe^{II}$. Il n'a pas été possible (panne du spectromètre) de compléter cette étude sur des particules $Gd^{III}Fe^{III}Fe^{II}$ [5] et [10] récupérées sans enrobage dans la zone des basses fréquences afin de confirmer la présence de l'enchaînement $Gd^{III}-NC-Fe^{II}$ attestant que les ions Gd^{III} ne seraient pas dans les sites interstitiels du BdP comme rapporté dans la littérature.^{7, 8} Toutefois, les résultats obtenus sur les particules $Gd^{III}In^{III}Fe^{II}$ nous confortent dans cette hypothèse. Ces études seront menées dans la suite de ce travail.

III.3.2. Analyse élémentaire et ICP

La composition chimique des nanoparticules $Gd^{III}Fe^{III}Fe^{II}$ [5] et [10] entourées de dextran a été déterminée par AE (C, H, N) et ICP (Gd, In, Fe) et est présentée dans le tableau IV-9. Des études d'ultrafiltration ont également été menées sur les redispersions de ces particules en

solution aqueuse à 0,2 mM en Gd^{III}. Le filtrat récupéré a été analysé par ICP et les résultats concernant le relargage d'ions Gd^{III} libres sont également présentés dans le tableau ci-dessous.

% Gd ^{III}	Unité formulaire des particules Gd ^{III} In ^{III} Fe ^{II} [x]	Relargage de Gd ^{III} (%)
[5]	K_{0,60}Gd_{0,05}Fe^{III}_{0,95}[Fe(CN)₆]_{0,90}·(dextran)₂₈·(H₂O)₃₇	0,001
[10]	K_{0,60}Gd_{0,10}Fe^{III}_{0,90}[Fe(CN)₆]_{0,90}·(dextran)₂₈·(H₂O)₃₉	0,03

Tableau IV-9. Unités formulaires des nanoparticules Gd^{III}Fe^{III}Fe^{II} [5] et [10] et taux de relargage de Gd^{III} déterminé par ICP et AE

Les taux de Gd^{III} déterminés par ICP correspondent aux taux introduits initialement en solution. De plus, les particules sont bien entourées par environ 25 équivalents de dextran, assurant la bonne redispersion de ces objets en solution aqueuse. Enfin, le relargage d'ions Gd^{III} libres est très faible ce qui est positif pour la suite de cette étude ainsi que pour l'utilisation de ces nano-objets en tant qu'agents de contraste T₁ combiné à une thérapie par photothermie.

III.8. Mesure de relaxivité et contraste T₁

- *Profils de dispersion*

Les profils de dispersion, enregistrés à 37°C entre 0,01 et 300 MHz, des nanoparticules Gd^{III}Fe^{III}Fe^{II} [5] et [10] sont présentés sur la figure IV-16 et comparés aux profils obtenus pour les particules de Gd^{III}In^{III}Fe [5] et [10].

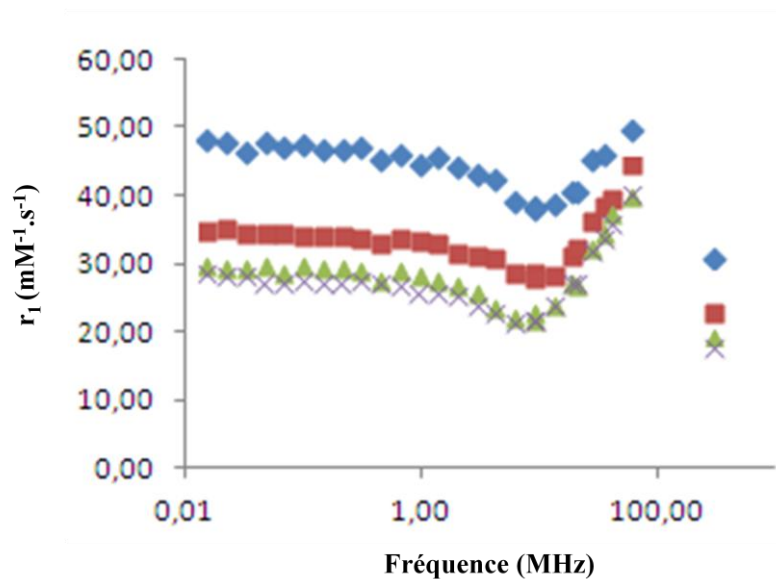


Figure IV-16. Relaxivités longitudinales r_1 en fonction de la fréquence en MHz pour les nanoparticules $\text{Gd}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [5] ; [10] et $\text{Gd}^{\text{III}}\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [5] ; [10]

La relaxivité des systèmes $\text{Gd}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ est plus élevée que celle obtenue pour les nanoparticules $\text{Gd}^{\text{III}}\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$. En effet, à 60 MHz, les particules $\text{Gd}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [5] et [10] présentent des relaxivités égales à 49,7 et 44,6 $\text{mM}^{-1}.\text{s}^{-1}$ respectivement alors que les particules $\text{Gd}^{\text{III}}\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [5] et [10] ont une relaxivité autour de 40 $\text{mM}^{-1}.\text{s}^{-1}$, dans l'hypothèse où seuls les ions Gd^{III} contribuent. Ceci semblait a priori raisonnable étant donné la relaxivité de 1.7 $\text{mM}^{-1}.\text{s}^{-1}$ obtenue sur les cœurs de bleu de Prusse contre 40 $\text{mM}^{-1}.\text{s}^{-1}$ par ion Gd^{III} obtenues sur le GdInFe de tailles voisines.

Etant donné que les tailles des nanoparticules sont comparables, cette exaltation des valeurs de r_1 pour les systèmes $\text{Gd}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ tend à mettre en évidence qu'un cœur paramagnétique de bleu de Prusse peut avoir un effet positif sur la relaxivité. Ceci pourrait se rapprocher à première vue d'une étude menée sur des nanoparticules de $\text{Gd}^{\text{III}}[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6]$ en comparaison avec des systèmes du type $\text{Gd}^{\text{III}}[\text{Co}^{\text{III}}(\text{CN})_6]$, dans laquelle les auteurs montrent que la relaxivité longitudinale est augmentée de 2,5 fois en présence d'un cœur paramagnétique. Néanmoins, l'origine de cette exaltation de la relaxivité en présence d'un centre paramagnétique à proximité du Gd^{III} , n'est pas expliquée clairement et semble incohérente avec une interaction d'échange inopérante à température ambiante et un effet des dipolaires $\text{Gd}^{\text{III}}/\text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6$ qui seraient plutôt défavorables et abaisseraient la relaxivité.¹²

Un autre élément intrigant est que contrairement aux nanoparticules de $\text{Gd}^{\text{III}}\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$, la relaxivité des nanoparticules de $\text{Gd}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ diminue à mesure que le taux de Gd^{III} augmente.

Des études de relaxivité en température à 60MHz ont également été effectuées et les valeurs obtenues sont regroupées dans le tableau ci-dessous.

$Gd^{III}Fe^{III}Fe^{II}$ [x]	T (°C)	r_1 ($mM^{-1}.s^{-1}$)	r_2 ($mM^{-1}.s^{-1}$)	r_2/r_1
[5]	5	81,2	71,8	0,9
	37	49,7	55,6	1,2
[10]	5	70,0	97,6	1,4
	37	44,6	61,2	1,4

Tableau IV-10. Valeurs de la relaxivité longitudinale r_1 et transversale r_2 et rapports r_2/r_1 (60 MHz) à 37°C et 5°C pour les composés $Gd^{III}Fe^{III}Fe^{II}$ [5] et [10]

De même que pour les particules de $Gd^{III}In^{III}Fe^{II}$, les relaxivités longitudinales sont plus élevées à basse température, confirmant ainsi que la relaxivité des composés $Gd^{III}Fe^{III}Fe^{II}$ est gouvernée par le temps de corrélation rotationnel. Les valeurs des rapports r_2/r_1 sont inférieures à 2 indiquant que ces objets sont d'excellents candidats en tant qu'agents de contraste T_1 . De plus, les nanoparticules de $Gd^{III}Fe^{III}Fe^{II}$ [5] ont une relaxivité extrêmement élevée ($50 mM^{-1}.s^{-1}$ à 60 MHz), valeurs se situant parmi les relaxivités les plus élevées rapportées dans la littérature.

▪ *Images de contraste T_1*

Le contraste pondéré en T_1 des nanoparticules $Gd^{III}Fe^{III}Fe^{II}$ [5]@(dextran)₂₈ à 0,2 mM en Gd^{III} est présenté sur la Figure IV-17 et comparé aux performances du Gd-DTPA.

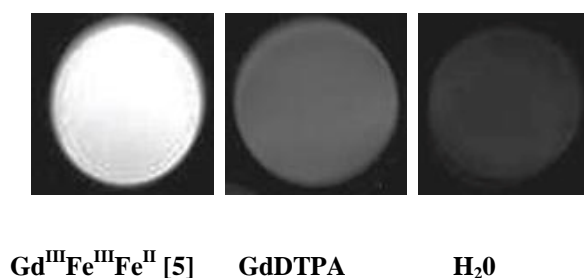


Figure IV-17. Images de contraste pondérées en T_1 des nanoparticules $Gd^{III}Fe^{III}Fe^{II}$ [5]@(dext)₂₈ avec $[Gd^{III}] = 0,2mM$ (gauche), du Gd-DTPA avec $[Gd^{III}] = 0,2 mM$ (centre) et de l'eau (droite) enregistrées à 7 T en solution aqueuse. (TR = 22 ms et TE = 3ms)

Pour une même concentration en Gd^{III} et à haut champ (7 T), le contraste des nanoparticules $Gd^{III}Fe^{III}Fe^{II} [5]@(dext)_{28}$ est meilleur que celui de l'agent clinique. En effet, pour ces nanoparticules dopées à 5% en Gd^{III} , la relaxivité est de $30,9 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ à 300 MHz, ce qui reste énorme, environ huit fois supérieure à celle du Gd-DTPA. Une étude en concentration a également été réalisée pour les nanoparticules $Gd^{III}Fe^{III}Fe^{II} [5]@(dext)_{28}$ comme montré sur la figure ci-dessous.

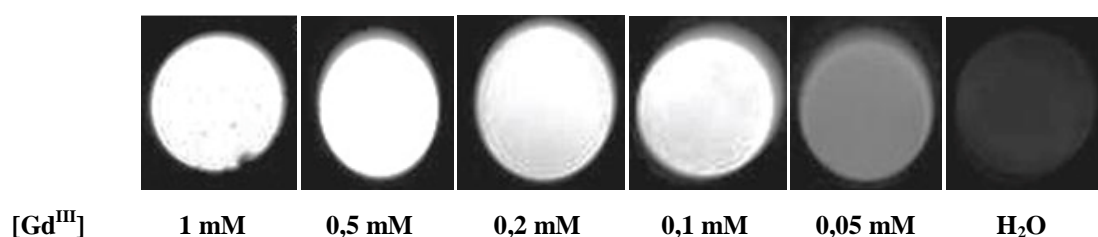


Figure IV-18. Images de contraste T_1 des nanoparticules $Gd^{III}Fe^{III}Fe^{II} [5]@(dext)_{28}$ à différentes concentrations en Gd^{III} , enregistrées à 7 T en solution aqueuse (TR = 22ms et TE = 3ms)

Un effet positif de la concentration sur le contraste T_1 est observé puisque le contraste est plus brillant avec l'augmentation de la concentration en Gd^{III} . Pour les concentrations à 0,5 et 1 mM en Gd^{III} , il y a une saturation du signal liée aux limites de l'appareil. Les images de contraste pondérées en T_1 , à 0,2 mM en Gd^{III} , des nanoparticules $Gd^{III}Fe^{III}Fe^{II} [5]$ et [10] ont également été comparées aux contrastes obtenus pour les nanoparticules $Gd^{III}In^{III}Fe^{II} [5]$ et [10]. Le signal de l'eau et du GdDTPA ont été diminués afin de ne pas avoir de saturation sur les 4 échantillons de nanoparticules et de pouvoir les différencier.

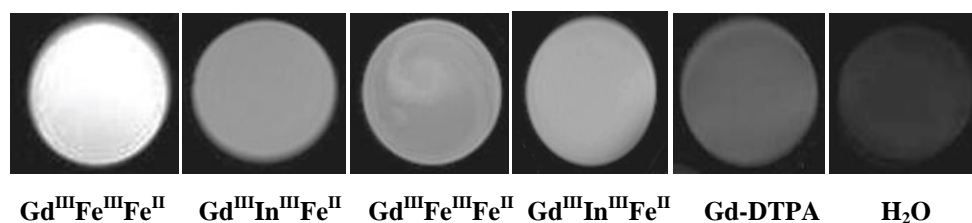


Figure IV-19. Images de contraste pondérées en T_1 des nanoparticules $Gd^{III}Fe^{III}Fe^{II}$ et $Gd^{III}In^{III}Fe^{II} [5]$ et [10] entourées de dextran et du Gd-DTPA à 0,2 mM en Gd^{III} , enregistrées à 7 T en solution aqueuse (TR = 22 ms et TE = 3 ms)

Les échantillons présentés sur la figure IV-19 présentent tous un meilleur contraste que l'agent clinique ce qui est normal d'après les valeurs de relaxivité cinq à huit fois supérieures pour ces nanoparticules à base de Gd^{III} en comparaison avec la relaxivité du Gd-DTPA. Les contrastes T_1 des particules $Gd^{III}In^{III}Fe^{II}$ [5] ; [10] et $Gd^{III}Fe^{III}Fe^{II}$ [10] sont très proches ce qui est en accord avec les valeurs de relaxivité mesurées à 300 MHz (cf. Figure IV-16). Enfin, au vu des profils de dispersion et des images de contraste T_1 obtenus, les nanoparticules de composition $Gd^{III}Fe^{III}Fe^{II}[5]@(dext)_{28}$ sont les meilleurs candidats en tant qu'agents de contraste T_1 pour l'IRM.

▪ *Discussion*

L'étude des propriétés de relaxivité des nanoparticules $Gd^{III}In^{III}Fe^{II}$ et $Gd^{III}Fe^{III}Fe^{II}$ dopées à 5% et 10% respectivement, ont montré des valeurs de relaxivité par Gd^{III} de l'ordre de 40 $mM^{-1}.s^{-1}$ pour les particules constituées d'un cœur diamagnétique et des valeurs comprises entre 45 et 50 $mM^{-1}.s^{-1}$ pour les particules composées d'un cœur paramagnétique. Par ailleurs, les particules de $Gd^{III}In^{III}Fe^{II}$ ont une relaxivité par ion Gd^{III} égale à 40 $mM^{-1}.s^{-1}$ indépendamment du taux de Gd^{III} inséré. Ceci s'explique par une localisation de tous les ions Gd^{III} en surface ainsi que par l'absence d'interactions dipolaires entre sites paramagnétiques dû à des distances $Gd^{III}-Gd^{III}$ trop importantes. Ceci conduit donc à une même relaxivité par Gd^{III} pour ces nanoparticules de $Gd^{III}In^{III}Fe^{II}$ faiblement dopées en Gd^{III} . En revanche, les nanoparticules de formule $Gd^{III}Fe^{III}Fe^{II}$ ont montré une relaxivité par Gd^{III} dépendante du taux de Gd^{III} . Or, les tailles et les teneurs en Gd^{III} étant quasi-identiques à celles des particules $Gd^{III}In^{III}Fe^{II}$, la relaxivité par Gd^{III} devrait être identique pour les particules dopées à 5 et 10% en Gd^{III} , pour les mêmes raisons qu'énoncé précédemment. Ainsi, afin d'élucider cette incohérence, nous avons cherché à prendre en compte la contribution des ions Fe^{III} également paramagnétiques ($S = 5/2$) dans le calcul de la relaxivité. La valeur ne peut être extraite directement de la mesure de relaxivité, mais on peut estimer la contribution de chaque type d'ions de surface à la relaxivité globale, et vérifier si celle des ions Fe^{III} est réellement négligeable.

Pour cela, connaissant la taille d'une particule cubique de diamètre n , il est possible de déterminer le nombre d'atomes total d'ions $Fe^{III}+Gd^{III}$ ($N_{at\ total} = 4n^3+6n^2+3n+1$) ainsi que le nombre de ces atomes localisés en surface ($N_{at\ surface} = 12n^2+2$). Connaissant la composition

chimique de ces particules, il est alors possible d'estimer le nombre d'atomes de Gd^{III} et de Fe^{III} situés en surface des objets et donc contribuant quasi exclusivement à la relaxivité. Ces calculs ont été faits pour les particules $Gd^{III}Fe^{III}Fe^{II}$ [5] et [10] et les résultats sont regroupés dans le tableau IV-11.

% Gd^{III}	% Fe^{III}	Taille (nm)	N_{at} total	N_{at} surface	$N_{at} Gd^{III}_s$	$N_{at} Fe^{III}_s$
5	95	6	1099	434	55	379
10	90	6	1099	434	110	324

Tableau IV-11. Nombre d'atomes de Gd^{III} et de Fe^{III} situés en surface des nanoparticules $Gd^{III}Fe^{III}Fe^{II}$ [x]

Le nombre d'atomes de Gd^{III} de surface a été obtenu en multipliant le taux de Gd^{III} par le nombre d'atomes total en supposant une localisation de tous les ions Gd^{III} en surface des particules. Le nombre d'atomes de Fe^{III} de surface a été obtenu en soustrayant le nombre d'atomes de Gd^{III} de surface au nombre total d'atomes de surface pour une particule d'une taille de 6 nm. D'autre part, sachant que la relaxivité par Gd^{III} de surface est de $40 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ (estimée sur les nanoparticules de $Gd^{III}In^{III}Fe^{II}$ [5] et [10]) et la relaxivité par Fe^{III} de surface est de $1,7 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ (extrait de la thèse de N. Dia), il est possible d'estimer la contribution de chacun de ces ions à la relaxivité d'une particule de 6 nm. Ceci est présenté dans le tableau ci-dessous.

% Gd^{III}	$N_{at} Gd^{III}_s$	r_1/Gd^{III}_s	$r_1/part (Gd^{III}_s)$	$N_{at} Fe^{III}_s$	r_1/Fe^{III}_s	$r_1/part (Fe^{III}_s)$	$r_1/part (Gd^{III}_s+Fe^{III}_s)$	% de $r_1 (Gd^{III}_s)$	% de $r_1 (Fe^{III}_s)$
5	55	40	2200	379	1,7	644,3	2844,3	77	23
10	110	40	4400	324	1,7	550,8	4950,8	89	11

Tableau IV-12. Contribution des ions Gd^{III} et Fe^{III} de surface à la relaxivité des particules $Gd^{III}Fe^{III}Fe^{II}$ [x]

La relaxivité par particule en considérant uniquement la participation des ions Gd^{III} de surface (colonne 4, Tableau IV-12) a été obtenue en multipliant la relaxivité par Gd^{III} de surface par le nombre d'atomes de Gd^{III} situés en surface des particules. Le même calcul a été effectué pour estimer la relaxivité par particule en considérant uniquement la participation des ions Fe^{III} de surface (colonne 7, Tableau IV-12). La relaxivité par particule en considérant la contribution des ions Gd^{III} et Fe^{III} de surface (colonne 8, Tableau IV-12) s'obtient en faisant la somme des relaxivités par particule relatives à chaque ion (colonnes 4 et 7, Tableau IV-12). Enfin la

contribution de chacun des ions de surface à la relaxivité totale par particule s'obtient en divisant la contribution de chaque ion à la relaxivité par particule par la relaxivité totale par particule (% de $r_1(\text{Gd}^{\text{III}}_s) = [r_1/\text{part}(\text{Gd}^{\text{III}}_s)] / [r_1/\text{part}(\text{Gd}^{\text{III}}_s + \text{Fe}^{\text{III}}_s)]$). Ces calculs permettent d'expliquer les valeurs de relaxivité par Gd^{III} , trouvées expérimentalement (cf. Tableau IV-10). Il s'agit en fait de valeurs de relaxivité par Gd^{III} artificielles et surestimées puisque la contribution des ions Fe^{III} de surface n'avait pas été prise en compte. Or, d'après ce calcul elle représente 23% de la relaxivité globale pour les $\text{Gd}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [5], ce qui est loin d'être négligeable. La relaxivité par Gd^{III} (dans l'hypothèse où seuls les Gd^{III} interviennent) est donc surestimée de 23% pour les particules $\text{Gd}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [5] ce qui correspond à une valeur apparente de $49,2 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ par Gd^{III} . De même, la relaxivité apparente par Gd^{III} pour les particules $\text{Gd}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ [10] est surestimée de 11% ce qui correspond à une valeur de $44,4 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ par Gd^{III} . Ces valeurs de relaxivité par Gd^{III} correspondent parfaitement avec les valeurs expérimentales présentées dans le tableau IV-10 et valident notre interprétation.

Ce raisonnement montre que la relaxivité par ion Gd^{III} est constante indépendamment du taux de Gd^{III} et identique pour l'ensemble des nanoparticules, et est égale à $40 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ par ion Gd^{III} . Cette très forte valeur prouve la localisation identique pour tous les systèmes, de ces ions en surface des particules $\text{Gd}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ et $\text{Gd}^{\text{III}}\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$. De plus, la relaxivité des particules $\text{Gd}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ est supérieure à celle des particules $\text{Gd}^{\text{III}}\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$, ce qui s'explique par la participation à la relaxivité des ions Fe^{III} localisés en surface, et démontre ainsi l'effet positif du paramagnétisme des ions de cœur localisés en surface. Notamment, l'utilisation d'un cœur de bleu de Prusse permet l'utilisation d'un agent approuvé par la FDA et dont l'absence de toxicité a déjà été démontrée. Enfin, le potentiel en photothermie de ces nanoparticules de $\text{Gd}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ pourra être à terme exploité en plus de leurs excellentes performances en IRM.

IV. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Ce chapitre a porté sur l'étude de deux types de nanoparticules d'analogue du bleu de Prusse à base de Gd^{III} de formule : $\text{Gd}^{\text{III}}_x\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}$ et $\text{Gd}^{\text{III}}_x\text{Fe}^{\text{III}}_{1-x}\text{Fe}$. Nos efforts se sont portés sur les nanoparticules dopées à 5 et 10% en Gd^{III} , puisqu'une démixion de phase a été observée pour les pourcentages supérieures. Au cours de ce travail, il a été montré que la croissance de ces nanoparticules est contrôlée par la nucléation de cœurs InFe ou $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ avec des

enchaînements $Gd^{III}Fe^{II}$ qui seraient localisés en surface de la particule. En effet, cette hypothèse d'une localisation des ions Gd^{III} en surface des particules est étayée par la cristallinité des nano-objets obtenus et par leurs performances en IRM. De plus, une mesure indirecte de la localisation en surface est également obtenue lors du greffage du PEG-COOH qui se coordonne aux ions $Gd(III)$ de surface et affaiblit la valeur de r_1 .

Les mesures de relaxivité de ces objets ont montré d'excellentes performances en tant qu'agent de contraste T_1 avec des résultats supérieurs à ceux des systèmes à base de manganèse¹³⁻¹⁵ et bien supérieurs aux agents cliniques à base de $Gd(III)$. Les composés $Gd^{III}_xFe^{III}_{1-x}Fe$ [5] ont des valeurs de relaxivité et des images de contraste exceptionnels, même à haut champ, bien supérieurs aux valeurs rapportées dans la littérature. En effet, au cours de cette étude, plusieurs travaux ont été publiés sur le même type d'objet, avec des voies de synthèse et des tailles variables. Cependant, les nanoparticules présentées ici ont une taille de l'ordre de 5 nm, et sont obtenues dans l'eau et sans agent de confinement, permettant ainsi d'optimiser a posteriori l'enrobage biocompatible. Cette exceptionnelle activité s'explique par la localisation exclusive des ions Gd^{III} en surface des particules et à l'effet bénéfique des polymères hydrophiles employés, alors que tout enfouissement dans les sous-couches conduirait à une diminution de celle-ci, comme observé pour les systèmes à base de Mn^{II} . A titre de comparaison, la relaxivité obtenue de $40 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ est double de celle de particules de tailles voisines obtenues dans le chitosan¹⁶ et 3.3 fois plus importante que celle de particules de 60 nm présentant un enrichissement en périphérie des particules.⁸

En étudiant la toxicité de ces particules dans la suite de ce travail, la reproductibilité des valeurs de relaxivité (la synthèse ayant déjà été répétée plusieurs fois) et en évaluant leurs performances en photothermie nous pourrions confirmer le grand intérêt de ces nano-objets pour la théranostique en testant ces systèmes *in vivo*.

1. V. S. Perera, L. D. Yang, J. Hao, G. Chen, B. O. Erokwu, C. A. Flask, P. Y. Zavalij, J. P. Babilion and S. D. Huang, *Langmuir*, 2014, **30**, 12018-12026.
2. G. Fu, W. Liu, S. Feng and X. Yue, *Chemical Communications*, 2012, **48**, 11567-11569.
3. G. Fu, W. Liu, Y. Li, Y. Jin, L. Jiang, X. Liang, S. Feng and Z. Dai, *Bioconjugate Chemistry*, 2014, **25**, 1655-1663.
4. H. A. Hoffman, L. Chakrabarti, M. F. Dumont, A. D. Sandler and R. Fernandes, *RSC Advances*, 2014, **4**, 29729-29734.
5. M. Wu, Q. Wang, X. Liu and J. Liu, *Rsc Advances*, 2015, **5**, 30970-30980.
6. P. Xue, J. Bao, Y. Wu, Y. Zhang and Y. Kang, *Rsc Advances*, 2015, **5**, 28401-28409.
7. M. F. Dumont, H. A. Hoffman, P. R. S. Yoon, L. S. Conklin, S. R. Saha, J. Paglione, R. W. Sze and R. Fernandes, *Bioconjugate Chemistry*, 2013, **25**, 129-137.
8. Y. Li, C. H. Li and D. R. Talham, *Nanoscale*, 2015, **7**, 5209-5216.
9. J.-L. Bridot, A.-C. Faure, S. Laurent, C. Riviere, C. Billotey, B. Hiba, M. Janier, V. Josserand, J.-L. Coll, L. Vander Elst, R. Muller, S. Roux, P. Perriat and O. Tillement, *Journal of the American Chemical Society*, 2007, **129**, 5076-5084.
10. N. J. J. Johnson, W. Oakden, G. J. Stanisz, R. S. Prosser and F. C. J. M. van Veggel, *Chemistry of Materials*, 2011, **23**, 3714-3722.
11. E. Chelebaeva, J. Larionova, Y. Guari, R. A. S. Ferreira, L. D. Carlos, A. A. Trifonov, T. Kalaivani, A. Lascialfari, C. Guerin, K. Molvinger, L. Datas, M. Maynadier, M. Gary-Bobo and M. Garcia, *Nanoscale*, 2011, **3**, 1200-1210.
12. M. Perrier, S. Kenouche, J. Long, K. Thangavel, J. Larionova, C. Goze-Bac, A. Lascialfari, M. Mariani, N. Baril, C. Guerin, B. Donnadiou, A. Trifonov and Y. Guari, *Inorganic Chemistry*, 2013, **52**, 13402-13414.
13. M. F. Dumont, S. Yadavilli, R. W. Sze, J. Nazarian and R. Fernandes, *International Journal of Nanomedicine*, 2014, **9**, 2581-2595.
14. G. Paul, Y. Prado, N. Dia, E. Riviere, S. Laurent, M. Roch, L. Vander Elst, R. N. Muller, L. Sancey, P. Perriat, O. Tillement, T. Mallah and L. Catala, *Chemical Communications*, 2014, **50**, 6740-6743.
15. W. Zhu, K. Liu, X. Sun, X. Wang, Y. Li, L. Cheng and Z. Liu, *Acs Applied Materials & Interfaces*, 2015, **7**, 11575-11582.
16. Y. Guari, J. Larionova, M. Corti, A. Lascialfari, M. Marinone, G. Poletti, K. Molvinger and C. Guerin, *Dalton Transactions*, 2008, 3658-3660.

Conclusion et Perspectives

Ce travail de thèse a porté sur la synthèse de nanoparticules de réseaux de coordination comme agent de contraste T_1 pour l'imagerie par résonance magnétique. Pour la synthèse de ces nanoparticules, nos efforts se sont portés sur les réseaux d'analogues du bleu de Prusse et réseaux d'hexacyanométallates de gadolinium présentant de nombreux avantages (grande proportion d'atomes de surface, microporosité, structure tridimensionnelle rigide...) pouvant être exploités pour la synthèse d'agents de contraste T_1 .

Un premier chapitre a été dédié à la synthèse de nanoparticules paramagnétiques incorporant au sein de leur structure des ions Mn^{II} . L'influence du taux de Mn^{II} sur les performances en tant qu'agent de contraste T_1 de ces objets a été explorée et a permis de mettre en évidence une localisation des ions paramagnétiques en surface des particules permettant une exaltation des valeurs de relaxivité longitudinales. En effet des valeurs allant jusqu'à $15 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ont été obtenues pour les nanoparticules dopées à 5% en Mn^{II} , valeurs bien supérieures à celles de particules de MnO et également supérieures aux agents de contraste T_1 commerciaux à base de Mn^{II} ou de Gd^{III} . D'autre part, l'obtention de ces nanoparticules chargées négativement, en phase aqueuse et sans ajout d'agent stabilisant a permis la post-fonctionnalisation par différents enrobages biocompatibles et l'étude de l'influence de la matrice sur la relaxivité des objets. De plus, des études *in-vitro* ainsi que des tests de biodistribution *in vivo* préliminaires ont pu être menés sur les nanoparticules de $Mn_{0,25}In_{0,75}Fe@(dext)_{25}$, d'une taille de 5 nm, présentant la relaxivité optimale.

Dans le second chapitre, la grande versatilité chimique de ces réseaux d'analogues du bleu de Prusse a été exploitée afin de concevoir des objets multimodaux ou à visée thérapeutique. Pour cela, des ions Cu^{II} ont été insérés au sein des nanoparticules de $MnInFe$ permettant d'ajouter un mode de détection complémentaire de ces nanoparticules par TEP. Des nanoparticules de $Mn^{II}Fe^{III}Fe$ ont également été mises au point afin d'exploiter sur le long terme les propriétés de photothermie du BdP pour le traitement de tumeurs. Bien que la synthèse de ces nano-objets par précipitation contrôlée en une étape se soit avérée plus judicieuse que par sa simplicité d'exécution, la synthèse de ces objets par voie séquentielle

développée au laboratoire, a permis de mettre en évidence un certain nombre de paramètres influençant la relaxivité de ces nanoparticules. En effet, il a été montré par le contrôle fin de la taille de ces objets ainsi que de l'épaisseur de la coquille de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$, qu'il était possible de moduler à souhait la relaxivité tout en minimisant la quantité d'ions injectés ne contribuant pas à la relaxivité. Pour cela, il a été possible de localiser tous les ions Mn^{II} en périphérie tout en contrôlant la saturation de la surface afin d'optimiser la relaxivité. Des valeurs de $24 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ont été atteintes pour les nanoparticules de formule $\text{In}_{0,75}\text{Cu}_{0,25}\text{Fe}@\text{Mn}_{0,05}\text{Fe}@\text{(dext)}_{25}$. Il a également été possible de comparer deux objets constitués d'un cœur de BdP d'une taille différente tous deux entourés d'une coquille de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ d'1 nm d'épaisseur afin de mettre en évidence l'effet positif du temps de corrélation rotationnel sur la relaxivité. Dans la suite de ce travail, des nanoparticules MnFeFe contenant de faibles taux de Mn^{II} (5 à 25%) seront préparées en une étape et étudiées, ce qui devrait permettre d'exalter davantage les valeurs de relaxivité longitudinale.

Un troisième chapitre a été consacré à la synthèse de nanoparticules de $\text{Gd}_x\text{In}_{1-x}\text{Fe}$ et $\text{Gd}_x\text{Fe}_{1-x}\text{Fe}$, ion paramagnétique le plus utilisé jusqu'à présent pour l'élaboration d'agents de contraste T_1 , entre autre dû à son spin électronique élevé ($S=7/2$). Des nanoparticules d'une taille de 5 nm ont été obtenues, présentant une structure constituée d'un cœur de BdP présentant en surface une sous-couche moléculaire d'entités $\text{Gd}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$. L'influence du paramagnétisme du cœur sur la relaxivité a été étudiée et a montré l'effet positif de la présence d'ions Fe^{III} en surface des particules contribuant, en plus des ions Gd^{III} très actifs, à la relaxivité des particules. Des valeurs de relaxivité longitudinales très élevées de l'ordre de $40 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ainsi que des images de contraste T_1 exceptionnelles ont été obtenues pour les nanoparticules $\text{GdFeFe [5]@}\text{(dext)}_{25}$ liée à la contribution additionnelle d'ions Fe^{III} en surface.

Des mesures de spectromicroscopie pour ces différents nano-objets en l'absence de polymère pourraient confirmer la structure de type cœur-coquille de ces objets ainsi que la présence des ions Mn^{II} en surface des particules, bien que cette technique soit difficilement exploitable pour des objets de si petite taille. La démarche systématique et comparative des relaxivités des différents nano-objets nous ont toutefois permis d'asseoir l'hypothèse d'architectures cœur-coquilles par synthèse en une étape.

Pour aller plus loin dans les applications, il serait souhaitable de réaliser de nouveaux tests de biodistribution des nanoparticules de MnInFe [25] et d'étudier l'influence de l'enrobage sur la stabilité colloïdale de ces objets en sérum physiologique. Par ailleurs, des tests de toxicité sur les systèmes à base de Cu^{II} et de Gd^{III} devront être réalisés afin de se diriger à court terme vers l'étude de ces systèmes en conditions *in-vivo*. De plus, pour les nanoparticules à base de Cu^{II} et de Mn^{II}, des tests de détection par TEP devront être menés et les potentialités de photothermie du cœur de bleu de Prusse au sein des nanoparticules de MnFeFe et de GdFeFe devront être explorées.

La forte proportion d'atomes de surface et la localisation d'ions actifs en périphérie de ces nanoparticules de tailles contrôlées sous 10 nm permettent, combinées à une faible valeur de r_2/r_1 , d'accéder à d'excellents contrastes pondérés en T₁ sur la plupart des systèmes étudiés, avec certaines valeurs de relaxivité parmi les plus élevées. Ces nanoparticules préparées sans surfactant en phase aqueuse pourront être facilement intégrées et combinées à d'autres nanomédicaments. Une piste pour exalter davantage les performances de ces systèmes sera de maîtriser leur assemblage sous forme d'oligomères, conduisant dès lors à un allongement additionnel du temps de corrélation rotationnel, en employant des polymères biocompatibles et « intelligents » permettant par exemple la co-encapsulation d'agents thérapeutiques.

ANNEXES

ANNEXE 1. Synthèse et redispersion des nanoparticules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}[Fe^{II}(CN)_6]$ en solution

▪ Synthèse

Trois solutions mères de $MnCl_2 \cdot 4H_2O$, $InCl_3$ et $K_4Fe(CN)_6$ à $10^{-2}M$ dans 20ml d'eau ($m(K_4Fe^{II}(CN)_6) = 84,48$ mg ; $m(MnCl_2) = 39,57$ mg ; $m(InCl_3) = 44,24$ mg) sont préparées.

Les synthèses ont été réalisées dans un volume total de 200ml. Pour cela une solution aqueuse de 100ml contenant des ions In^{III} et Mn^{II} à une concentration totale de 0,5mM est ajoutée rapidement dans une autre solution aqueuse de 100ml contenant des ions $[Fe^{II}(CN)_6]^{4-}$ également à 0,5mM, placée à 2°C et sous vive agitation. Pour chaque taux de Mn^{II} et In^{III} , le volume de solution mère à ajouter pour obtenir une concentration égale à 0,5mM est calculé puis complété avec de l'eau jusqu'à un volume total de 100mL. Le même calcul est effectué pour les ions $[Fe^{II}(CN)_6]^{4-}$. Les volumes de solutions mères utilisés pour chacune des synthèses sont présentés dans le tableau 1-1.

% Mn^{II}	5	10	15	20	25	40
$[Mn^{II}]$ mM	0,025	0,050	0,075	0,100	0,125	0,200
$V_{mère} MnCl_2$ (mL)	0,250	0,500	0,750	1,000	1,250	2,000
% In^{III}	95	90	85	80	75	60
$[In^{III}]$ mM	0,475	0,450	0,425	0,400	0,375	0,300
$V_{mère} InCl_3$ (mL)	4,75	4,5	4,25	4,00	3,75	3,00
V_{H_2O}	95	95	95	95	95	95

Tableau 1-1. Calculs des volumes de solutions mères à ajouter pour les différentes synthèses en fonction du taux de Mn^{II} .

Indépendamment du taux de Mn^{II} , les ions $[Fe^{II}(CN)_6]^{4-}$ sont à 0,5 mM pour un volume de solution mère égal à 5 mL. Le volume d'eau est donc de 95 mL. Afin d'atteindre 2°C, les solutions sont placées dans un bain de glace puis remontées à température ambiante 30 minutes après l'ajout.

▪ Redispersion des particules en solution

Il s'agit de remettre en suspension dans l'eau, les particules à l'état de poudre et enrobées de dextran : on parle de redispersion. Cette étape est cruciale car elle se montre indispensable pour toutes applications envisagées par la suite. Les particules sont redispersées à une concentration de 10mM dans 500 μ L d'eau. La solution obtenue est placée dans un bac à ultrasons pendant 5 minutes afin de détruire les agrégats éventuellement formés lors de la mise en

solution des particules à l'état de poudre. La taille des particules est ensuite contrôlée par DDL afin de s'assurer que leur taille est identique à celle des particules en fin de synthèse c'est-à-dire avant l'enrobage au dextran et la précipitation à l'acétone.

ANNEXE 2. Caractérisations chimiques : AE, EDS, ICP et IR

▪ *Analyses élémentaires (AE)*

Les analyses élémentaires permettent de connaître les proportions de carbone, d'hydrogène et d'azote présentes dans les nanoparticules synthétisées. Cette analyse permet donc de remonter à la quantité de molécules de dextran enrobant les nanoparticules. Ces analyses sont effectuées à l'Institut de Chimie des Substances Naturelles situé au sein du CNRS de Gif-sur-Yvette.

▪ *Energy Dispersive Spectroscopie (EDS)*

Cette technique de spectroscopie réalisée par microscopie électronique à balayage permet de déterminer les proportions de Fe, Mn, In, Cu, Gd et K au sein des nanoparticules. Pour cela, un rayonnement X (faisceau d'électrons) est envoyé conduisant à l'éjection d'un électron et donc à la création d'une lacune électronique. Un électron d'une couche énergétique supérieure vient combler cette lacune et son excédant d'énergie est libérée sous forme d'un photon. L'énergie du photon détecté permettra de caractériser l'élément chimique sondé.

▪ *Inductively Coupled Plasma (ICP)*

L'ICP est une technique de caractérisation permettant de doser la plupart des éléments de la classification périodique. L'échantillon à analyser est ionisé grâce à un plasma d'Argon et le système de détection est de type optique (ICP-OES : Optical Emission Spectrometry) c'est-à-dire que l'intensité de la lumière émise est détectée comme montré sur la Figure 2-1.

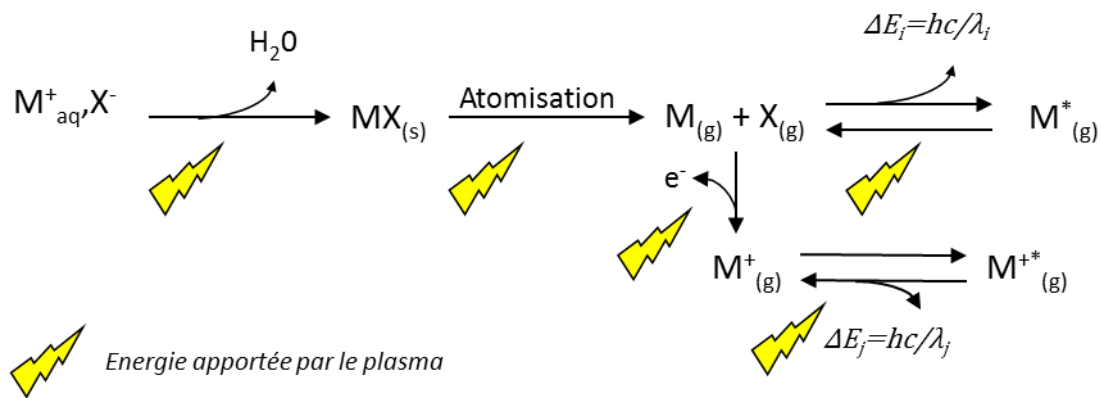


Figure 2-1. Principe de l'ICP

Chaque élément est caractérisé par son spectre d'émission à différentes longueurs d'onde, et la concentration en élément dosé est proportionnelle à l'intensité émise. Pour déterminer la concentration d'un élément donné, une courbe d'étalonnage est effectuée à chacune des longueurs d'onde caractéristiques et ceci est réalisé pour chaque élément (K, Mn, In, Fe, Cu et Gd). Pour cela, trois solutions étalon à 5 ; 2 et 0,2 mg.L⁻¹ en chaque élément sont préparées dans HNO₃ à 10⁻²M. A titre d'exemple, sur la Figure 2.2 sont présentées les droites étalon obtenues pour chaque élément à une longueur d'onde d'émission caractéristique.

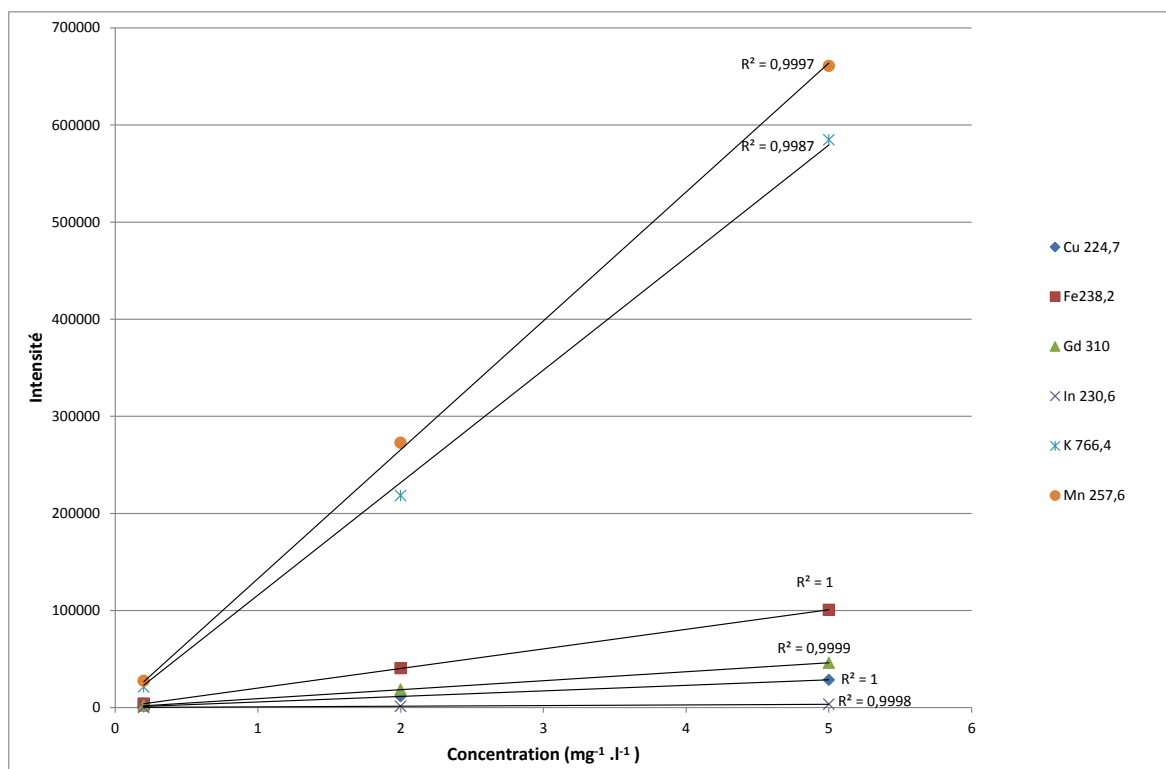


Figure 2-2. Droite étalon établie pour chaque élément dosé (Cu, Fe, Gd, In, K et Mn) à une longueur d'onde d'émission caractéristique

5 mg de poudre de nanoparticules sont redispersés dans 25 mL d'HNO₃ à 10⁻² M puis analysés par ICP. Les concentrations massiques des métaux composant le cœur inorganique

des particules sont obtenues et les rapports Mn/Fe ; In/Fe ; Cu/Fe, Gd/Fe et K/Fe nous permettent de déterminer la composition chimique des nanoparticules.

Pour évaluer le possible relargage d'ions métalliques libres, le filtrat récupéré après ultrafiltration est dilué dans HNO₃ à 10⁻² M dans un volume total de 10 mL. Les droites d'étalonnage sont effectuées à partir de solutions préparées à 1 ; 0,5 ; 0,2 et 0,05 mg.L⁻¹ en chaque élément. Ayant déterminé précédemment la composition de chacun des échantillons, la concentration initiale en chaque élément mise en jeu lors de l'ultrafiltration de la redispersion de nanoparticules est connue. Le rapport des concentrations massiques métalliques obtenues par ICP après dosage des filtrats sur leur concentration initiale permet de déterminer le pourcentage de relargage d'ions libres.

- ***Spectroscopie infrarouge (IR)***

Les nanoparticules à l'état de poudre sont caractérisées par spectroscopie IR. Pour cela il suffit de préparer une pastille contenant 1mg de l'échantillon à analyser et 99mg de KBr qui est transparent aux rayonnements IR. Les spectres IR sont enregistrés de 200 à 4000 cm⁻¹, et permettent dans notre cas de visualiser la vibration asymétrique des cyanures pontants située aux alentours de 2100 cm⁻¹. La bande de vibration du ferrocyanure se situe aux alentours de 590 cm⁻¹ cependant cette bande n'apparaît pas à cause de la présence du dextran.

ANNEXE 3. Diffraction des Rayons X sur poudre : détermination du paramètre de maille et de la taille des domaines diffractants

Cette technique de caractérisation permet de déterminer le paramètre de maille ainsi que la structure cristallographique (ici cubique à faces centrées) des nanoparticules d'ABP synthétisées. Les mesures de diffraction des rayons X ont été effectuées en utilisant un diffractomètre Panalytical PW3040/60 X'Pert Pro ($\theta - 2\theta$). Cet appareil utilise un rayonnement monochromatique, K α 1 du cuivre tel que $\lambda = 1.54059 \text{ \AA}$. Expérimentalement, un diffractogramme est obtenu : il s'agit de la représentation graphique de l'intensité des pics de diffraction en fonction de 2θ . L'étape suivante consiste à indexer les pics c'est-à-dire associer à chaque pic la famille de plans atomiques hkl responsables de la diffraction observée. De plus connaissant la position 2θ des pics de diffraction ainsi que la longueur d'onde incidente, il est facile de déterminer la distance interréticulaire des plans atomiques de l'échantillon analysé, par l'application de la loi de Bragg, donnée ci-dessous :

$$2d\sin\theta = n\lambda$$

avec : θ = angle entre le rayonnement incident et le plan atomique responsable de la diffraction

λ = longueur d'onde incidente

d = distance interréticulaire

n = un entier

Enfin connaissant la distance interréticulaire d et les plans atomiques hkl , il est possible de déterminer le paramètre de maille a du composé synthétisé, par application de la formule suivante, valable uniquement pour les composés à structure cubique :

$$a = d \cdot \sqrt{h^2 + k^2 + l^2}$$

avec : a = paramètre de maille exprimé en Å

d = distance interréticulaire exprimée en Å

h, k, l = indices de Miller des plans atomiques

La largeur des pics à mi-hauteur, $\beta_{1/2}$, d'un diagramme de poudre est liée à la taille des domaines diffractant, D , du composé étudié selon :

$$D = \frac{k\lambda}{\beta_{1/2} \cos\theta}$$

k est une constante liée à la forme du domaine. Une valeur de $k=0,9$, utilisée traditionnellement pour des domaines sphériques ou isotropes, a été considérée pour tous les diagrammes de poudre présentés par la suite. Cette équation appelée formule de Scherrer permet de déterminer la taille des nanoparticules.

Ces hypothèses sont tout à fait correctes dans le cas d'une structure de type alliage. Dans l'hypothèse d'une structure de type cœur-coquille, un élargissement artificiel des pics de diffraction sera observé dû à la contribution de deux réseaux constituant le cœur et la coquille respectivement, de paramètres de maille différents, conduisant à une sous-estimation de la taille des domaines diffractants.

ANNEXE 4. Diffusion Dynamique de la Lumière (DDL)

La DDL est une technique expérimentale permettant de mesurer le diamètre hydrodynamique (=diamètre de la particule + couche d'ions diffus + couche de solvation) d'un objet en solution. La mesure du diamètre hydrodynamique est à l'origine de l'obtention d'une taille supérieure à la taille réelle des objets. Cette technique est rapide et simple d'utilisation ce qui

permet de suivre l'évolution de taille des particules au cours d'une synthèse par voie séquentielle ou en une étape et ainsi d'obtenir la première confirmation expérimentale de la réussite de la synthèse, directement en solution aqueuse. Au laboratoire, l'appareil utilisé pour les mesures de taille des particules par DDL est un zetasizer fourni par l'entreprise Malvern. Cette technique renseigne sur la taille des particules mais également sur leur état de dispersion.

ANNEXE 5. Microscopie électronique en transmission (MET)

Cette technique permet de visualiser les nanoparticules d'analogie du bleu de Prusse synthétisées, au moyen d'un faisceau d'électrons accélérés sous une tension de 120 kV. En effet, les métaux sont concentrés en électrons c'est pourquoi ils dévieront le faisceau d'électrons incident conduisant à un contraste noir. Plus le numéro atomique Z du métal est élevé meilleur sera le contraste et donc l'image obtenue. Les observations des particules par MET ont été menées au sein de la plateforme *Imagif* située à l'Institut des Sciences Végétales du CNRS de Gif-sur-Yvette.



Figure 5-1. Photographie du dispositif expérimental de microscopie électronique en transmission au sein de la plateforme Imagif : microscope électronique en transmission de 120 kV JEOL 1400

Pour rendre cette observation possible, quelques gouttes de la redispersion des particules entourées de dextran sont déposées sur une grille. L'enrobage au dextran des nanoparticules permet de mieux les visualiser par MET car elles sont plus individualisées.

ANNEXE 6. Calcul du nombre d'atomes total et de surface contenus dans une particule cubique de côté n

Soit une particule d'analogie du bleu de Prusse $CA^{II}B^{III}(CN)_6$ de forme cubique et de côté n , n étant normalisé par le paramètre de maille du réseau cubique à faces centrées, proche d'1 nm.

- *Nombre d'ions contenus dans une particule cubique de côté n*

Le décompte du nombre d'atome A^{II} contenu dans une particule peut s'effectuer en considérant un assemblage de maille, auquel sont ajoutées les fractions d'atomes présents à la surface des particules qui ne sont pas comptabilisés dans les mailles.

La maille d'un réseau cubique à faces centrées est constituée de 4 atomes au total. Un objet de côté n est constitué de n^3 mailles, soit un nombre d'atomes de $4n^3$.

Le nombre d'atomes à la surface de la particule peut être exprimé en fonction de n en décomposant les sites de surface selon 4 catégories (Figure 6-1).

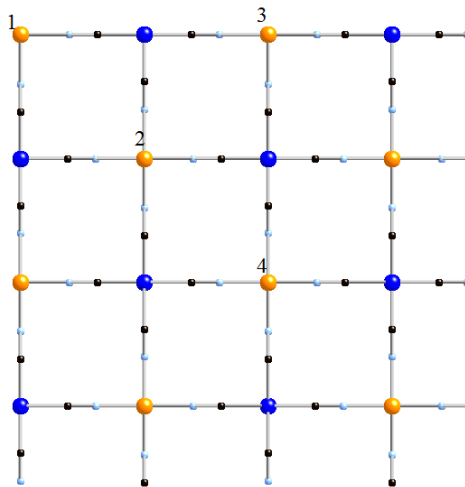


Figure 6-2. Représentation d'une partie de la surface d'une particule de taille n (distance entre 2 sphères de même couleur) d'analogie du bleu de Prusse $CA^{II}B^{III}(CN)_6$ avec B^{III} (sphères bleues) et A^{II} (sphères oranges)

Les ions numérotés (1) sont aux sommets de la particule, et correspondent à $7/8$ de l'atome, l'autre partie étant déjà comptabilisée dans la maille. Au total, ils sont au nombre de :

$$\frac{7}{8} \times 8 = 7$$

Les ions labélisés (2) sont au centre des faces de la maille. Il y a n^2 faces de maille par face de particule et les ions sont comptés pour moitié, leur nombre est donc :

$$\frac{1}{2} \times 6 \times n^2 = 3n^2$$

Les ions numérotés (3) sont situés sur les 12 arêtes de la particule, qui comptent chacune $(n-1)$ ions de ce type. Ces ions sont comptés pour $3/4$, tel que leur nombre est égal à :

$$\frac{3}{4} \times 12 \times (n-1) = 9(n-1)$$

Enfin, les ions labélisés (4) sont présents sur les 6 faces de la particule, à l'intersection des faces de 4 mailles. Ils sont comptés pour moitié et sont au nombre de :

$$\frac{1}{2} \times 6 \times (n-1)^2 = 3(n-1)^2$$

Ainsi, le nombre total d'atome N_T^A inscrit dans une particule cubique de côté n du réseau cubique à faces centrées est alors :

$$N_T^A = 4n^3 + 6n^2 + 3n + 1$$

Dans le cas d'un analogue du bleu de Prusse, de formule unitaire $CA^{II}B^{III}(CN)_6$, ce nombre correspond aux atomes A^{II} uniquement. Le nombre d'ions B^{III} diffère du nombre d'ions A^{II} d'une unité tel que :

$$N_T^B = 4n^3 + 6n^2 + 3n$$

▪ **Nombre d'ions disposés à la surface d'une particule de côté n**

La quantité d'ions présents à la surface correspond aux ions numérotés précédemment de (1) à (4), sans tenir compte des fractions (atomes entiers).

Au total, le nombre N_S d'ions A^{II} inscrit en surface d'une particule de côté n est :

$$N_S = 12n^2 + 2$$

La variation du nombre d'atome de surface N_S , total N_T^A ainsi que le rapport N_S / N_T^A est reportée sur la figure 6-2.

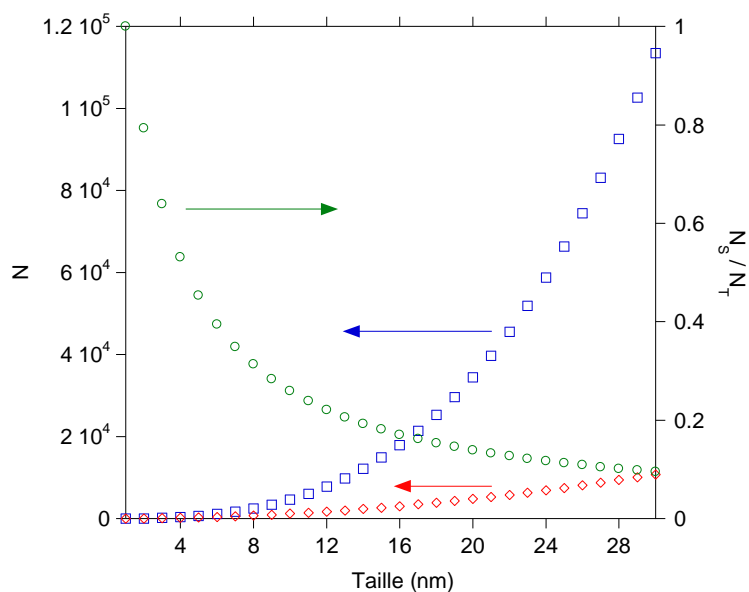


Figure 6-3. Variation du nombre d'atome total N_T (bleu), du nombre d'atome de surface N_S (rouge) et du rapport N_S / N_T (vert) en fonction de la taille

ANNEXE 7. Caractérisations structurales et chimiques des nanoparticules $Mn^{II}In^{III}Fe^{II} [25]@(PVP)$

▪ *Caractérisations de taille et de structure*

Le diamètre hydrodynamique moyen déterminé par DDL des particules de MnInFe [25] entourées de PVP est de 5 nm et le potentiel zéta est nul. Le diffractogramme de poudre de ces particules enrobées de PVP confirme la structure cubique à faces centrées de ces objets comme montré sur la Figure 7-1.

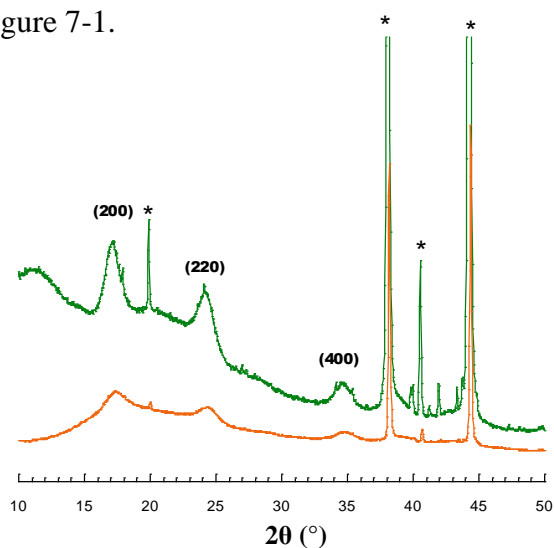


Figure 7-1. Diffractogrammes des particules MnInFe[25]@PVP ou @dextran (* pics issus du porte-échantillon)

		Paramètre de maille (Å)	Taille des particules (nm)
$Mn^{II}In^{III}Fe^{II}$ [25]	Dextran	10,2	5,2
	PVP	10,4	5,9

Tableau 7-1. Taille et paramètre de maille moyen des particules MnInFe [25]@(PVP) ou @dextran extraits par DRX

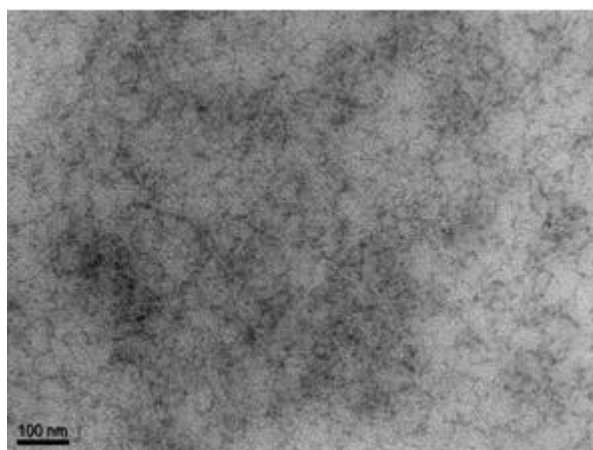


Figure 7-2. Image MET des nanoparticules MnInFe [25] entourées de dextran (échelle : 100 nm)

▪ *Caractérisations chimiques*

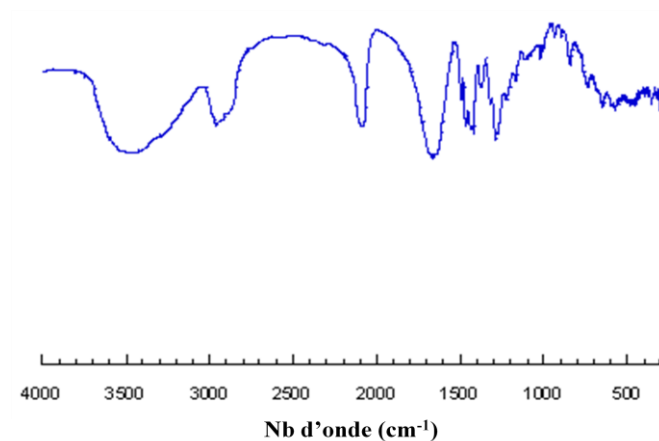


Figure 7-3. Spectre IR des particules MnInFe [25] entourées de PVP, enregistré de 400 à 4000 cm^{-1}

Unité formulaire des MnInFe[25]@PVP
$K_{0,75}Mn_{0,3}In_{0,7}[Fe(CN)_6]_{0,9},(PVP)_{26},(H_2O)_{26}$

Tableau 7-2. Composition chimique des nanoparticules MnInFe [25] entourées de PVP, déterminée par AE et ICP

ANNEXE 8. Synthèse de nanoparticules cœur-coquille

Calcul des quantités de précurseurs à ajouter

Les analogues de bleu de Prusse présentent une structure cubique à faces centrées dont le paramètre de maille varie peu ; la densité de la coquille et du cœur peut alors être considérée constante, d'où :

$$\frac{N_{CS}}{V_{CS}} = \frac{N_C}{V_C} + \frac{N_S}{V_{CS} - V_C}$$

où N_C et N_{CS} correspondent au nombre d'atomes présents dans le cœur et le cœur-coquille respectivement, et V_C et V_{CS} le volume du cœur et du cœur-coquille. Puisque le nombre d'atomes dans le cœur-coquille est égal à la somme du nombre d'atomes contenus dans le cœur, N_C , et dans la coquille, N_S , cette expression peut s'écrire :

$$\frac{N_{CS}}{V_{CS}} = \frac{N_C}{V_C} + \frac{N_S}{V_{CS} - V_C}$$

Cela conduit à :

$$\frac{N_{CS}}{V_{CS}} = \frac{N_C}{V_C} + \frac{N_S}{V_{CS} - V_C}$$

Cette équation peut être écrite de façon à faire apparaître la taille d'un cœur cubique de côté a_C , et la taille d'un cœur-coquille cubique de côté a_{CS} ; d'autre part, le rapport du nombre d'atomes est égal au rapport des quantités de matière, n_S/n_C , si tous les ions ajoutés s'insèrent dans les particules, d'où :

$$\frac{N_{CS}}{V_{CS}} = \frac{N_C}{V_C} + \frac{N_S}{V_{CS} - V_C}$$

Ainsi, connaissant la quantité n_C de précurseurs contenus dans la solution colloïdale de particules, la taille de ces objets, a_C , et la taille de cœur-coquille désirée, a_{CS} , il est possible de calculer la quantité de précurseur à ajouter, n_S .

ANNEXE 9. Synthèse des nanoparticules BdP@MnFe

▪ Synthèse des cœur de $Fe^{III}[Fe^{II}(CN)_6]$ de 6 nm

Deux solutions mères de $Fe^{III}(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$ et $K_4[Fe^{II}(CN)_6]$ sont préparées à $10^{-2}M$ dans 20 mL ($m(K_4[Fe^{II}(CN)_6])=29,6$ mg) et $m(Fe^{III}(NO_3)_3 \cdot 9H_2O)=20,2$ mg). Les synthèses des particules de cœur ont été effectuées dans un volume total de 100 mL. Pour cela une solution

aqueuse de 50 mL contenant le sel de $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ à 0,5 mM (2,5 mL de solution mère + 47,5 mL de H_2O) a été ajoutée dans une autre solution contenant les ions $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]^{4-}$ à 0,5 mM (2,5 mL de solution mère + 47,5 mL de H_2O) placée à 2°C et sous vive agitation. 30 minutes après l'ajout, le diamètre hydrodynamique moyen est mesuré à 2°C par DDL puis la solution colloïdale de cœur est diluée par deux dans l'eau avant l'ajout des précurseurs de la coquille.

- ***Croissance de la coquille de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ d'1 nm d'épaisseur***

Une solution mère de $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ à 10^{-2}M dans 5 mL est préparée ($m(\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}) = 9,9$ mg). Sur la solution colloïdale de particules de cœurs de BdP de 6 nm placée à 2°C et sous vive agitation, sont ajoutés goutte à goutte 68,5 mL de chaque solution à 0,5 mM de $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ et de $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (3,425 mL de solution mère + 65,075 mL de H_2O). Les quantités sont telles que le rapport $n_s/n_c = 1,4$ de sorte à obtenir une coquille de 1 nm d'épaisseur. A la fin de l'ajout, le diamètre hydrodynamique des particules cœur-coquille est mesuré par DDL à 2°C et 25 équivalents de dextran par rapport aux ions $\text{Fe}^{\text{III}} + \text{Mn}^{\text{II}}$ sont ajoutés. La solution résultante est ensuite précipitée à l'acétone, centrifugée puis séchée sous vide.

ANNEXE 10. Synthèse des nanoparticules BdP@BdP@MnFe

- ***Synthèse des cœur de $\text{Fe}^{\text{III}}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]$ de 6 nm***

Le même protocole que celui présenté dans l'annexe 9 est effectué. Dans ce cas, la synthèse des particules de cœur est réalisée dans un volume total de 20 mL. Pour cela, une solution aqueuse de 10 mL contenant le sel de $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ à 0,5 mM (0,5 mL de solution mère + 9,5 mL de H_2O) a été ajoutée dans une autre solution contenant les ions $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]^{4-}$ à 0,5 mM (0,5 mL de solution mère + 9,5 mL de H_2O) placée à 2°C et sous vive agitation.

- ***Croissance d'une coquille de $\text{Fe}^{\text{III}}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]$ de 6 nm d'épaisseur***

Sur la solution colloïdale de particules de BdP de 6 nm placée à 2°C et sous vive agitation, sont ajoutés goutte à goutte 162,5 mL d'une solution à 0,5 mM de $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (8,125 mL de solution mère + 154,375 mL de H_2O) et 162,5 mL d'une solution à 0,375 mM de $\text{K}_4[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]$ (6,1 mL de solution mère + 156,4 mL de H_2O). Les quantités sont telles que le rapport $n_s/n_c = 26$ de sorte à obtenir une coquille de 6 nm d'épaisseur. A la fin de l'ajout, le diamètre hydrodynamique des particules cœur-coquille est mesuré par DDL à 2°C, puis la

solution colloïdale de BdP@BdP est diluée par deux dans l'eau avant l'ajout des précurseurs de la coquille.

▪ *Croissance de la coquille de $Mn^{II}Fe^{II}$ d'1 nm d'épaisseur*

Sur la solution colloïdale de particules de BdP@BdP de 18 nm placée à 2°C et sous vive agitation, sont ajoutés goutte à goutte 30 mL de chaque solution à 0,5 mM de $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ et de $K_4[Fe^{II}(CN)_6]$ (1,5 mL de solution mère + 28,5 mL de H_2O). Les quantités sont telles que le rapport $n_s/n_c = 0,4$ de sorte à obtenir une coquille de 1 nm d'épaisseur. A la fin de l'ajout, le diamètre hydrodynamique des particules cœur-coquille est mesuré par DDL à 2°C et 25 équivalents de dextran par rapport aux ions $Fe^{III}+Mn^{II}$ sont ajoutés. La solution résultante est ensuite précipitée à l'acétone, centrifugée puis séchée sous vide.

ANNEXE 11. Synthèse des nanoparticules de $Mn^{II}_{0,25}(In^{III}_aCu^{II}_b)_{0,75}Fe^{II}$

Quatre solutions mères de $MnCl_2 \cdot 4H_2O$, $InCl_3$, $CuCl_2 \cdot H_2O$ et $K_4Fe(CN)_6$ à $10^{-2}M$ dans 10ml d'eau ($m(K_4Fe^{II}(CN)_6) = 42,2$ mg ; $m(MnCl_2 \cdot 4H_2O) = 19,8$ mg ; $m(InCl_3) = 22,1$ mg et $m(CuCl_2 \cdot H_2O) = 17,1$ mg) sont préparées.

Les synthèses ont été réalisées dans un volume total de 200ml. Pour cela une solution aqueuse de 100ml contenant des ions In^{III} , Mn^{II} et Cu^{II} à une concentration totale de 0,5mM est ajoutée rapidement dans une autre solution aqueuse de 100ml contenant des ions $[Fe^{II}(CN)_6]^{4-}$ également à 0,5mM, placée à 2°C et sous vive agitation. Pour chaque taux de Mn^{II} , In^{III} et Cu^{II} , le volume de solution mère à ajouter pour obtenir une concentration égale à 0,5mM est calculé puis complété avec de l'eau jusqu'à un volume total de 100mL. Le même calcul est effectué pour les ions $[Fe^{II}(CN)_6]^{4-}$. Les volumes de solutions mères utilisés pour chacune des synthèses sont présentés dans le tableau 11-1.

b (%)	25	50	75	100
$[Cu^{II}]$ mM	0,094	0,188	0,281	0,375
$V_{mère} CuCl_2$ (mL)	0,940	1,88	2,81	3,75
a (%)	75	50	25	-
$[In^{III}]$ mM	0,281	0,188	0,094	-
$V_{mère} InCl_3$ (mL)	2,81	1,88	0,940	-
% Mn^{II}	25	25	25	25
$[Mn^{II}]$ mM	0,125	0,125	0,125	0,125
$V_{mère} MnCl_2$ (mL)	1,25	1,25	1,25	1,25
V_{H_2O}	95	95	95	95

Tableau 11-1. Calculs des volumes de solutions mères à ajouter pour les différentes synthèses en fonction du taux de Cu^{II} , In^{III} et Mn^{II} .

Indépendamment du taux de Cu^{II} , In^{III} et Mn^{II} , les ions $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]^{4-}$ sont à 0,5 mM pour un volume de solution mère égal à 5 mL. Le volume d'eau est donc de 95 mL. Afin d'atteindre 2°C, les solutions sont placées dans un bain de glace puis remontées à température ambiante 30 minutes après l'ajout.

ANNEXE 12. Synthèse des nanoparticules cœur-coquille $\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Cu}^{\text{II}}_x\text{Fe}@\text{MnFe}$

- *Synthèse des cœur de $\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Cu}^{\text{II}}_x[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]$ de 5 nm*

Trois solutions mères de $\text{In}^{\text{III}}\text{Cl}_3$, $\text{CuCl}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$ et $\text{K}_4[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]$ sont préparées à 10^{-2}M dans 10 mL ($m(\text{In}^{\text{III}}\text{Cl}_3)=22,1$ mg, $m(\text{CuCl}_2\cdot\text{H}_2\text{O})=17,1$ mg $m(\text{K}_4[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6])=42,2$ mg). Les synthèses des particules de cœur ont été effectuées dans un volume total de 100 mL. Pour chaque taux de In^{III} et Cu^{II} , le volume de solution mère à ajouter pour obtenir une concentration égale à 0,5mM est calculé puis complété avec de l'eau jusqu'à un volume total de 50mL. Le même calcul est effectué pour les ions $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]^{4-}$. Les volumes de solutions mères utilisés pour chacune des synthèses sont présentés dans le tableau 11-1.

% Cu^{II}	25	50
$[\text{Cu}^{\text{II}}]$ mM	0,125	0,250
$V_{\text{mère}} \text{CuCl}_2$ (mL)	0,625	1,25
% In^{III}	75	50
$[\text{In}^{\text{III}}]$ mM	0,375	0,250
$V_{\text{mère}} \text{InCl}_3$ (mL)	1,875	1,25
$V_{\text{H}_2\text{O}}$	47,5	47,5

Tableau 11-1. Calculs des volumes de solutions mères à ajouter pour les différentes synthèses en fonction du taux de Cu^{II} , In^{III} et Mn^{II} .

Indépendamment du taux de Cu^{II} , In^{III} et Mn^{II} , les ions $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]^{4-}$ sont à 0,5 mM pour un volume de solution mère égal à 2,5 mL. Le volume d'eau est donc de 47,5 mL. Afin d'atteindre 2°C, les solutions sont placées dans un bain de glace. 30 minutes après l'ajout de la solution contenant les sels de Cu^{II} , In^{III} et Mn^{II} dans la solution contenant les ions $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]^{4-}$, le diamètre hydrodynamique moyen est mesuré à 2°C par DDL puis la solution colloïdale de cœur est diluée par deux dans l'eau avant l'ajout des précurseurs de la coquille.

- *Croissance de la coquille de $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ d'1 nm d'épaisseur*

Une solution mère de $\text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ à 10^{-2}M dans 5 mL est préparée ($m(\text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}) = 9,9$ mg). Sur la solution colloïdale de particules de cœurs de $\text{In}^{\text{III}}_{1-x}\text{Cu}^{\text{II}}_x[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]$ de 5 nm

placée à 2°C et sous vive agitation, sont ajoutés goutte à goutte 36,5 mL de chaque solution à 0,5 mM de $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ et de $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (1,82 mL de solution mère + 34,58 mL de H_2O). Les quantités sont telles que le rapport $n_{\text{s}}/n_{\text{c}} = 0,7$ de sorte à obtenir une coquille de 1 nm d'épaisseur. A la fin de l'ajout, le diamètre hydrodynamique des particules cœur-coquille est mesuré par DDL à 2°C et 25 équivalents de dextran par rapport aux ions $\text{In}^{\text{III}} + \text{Cu}^{\text{II}} + \text{Mn}^{\text{II}}$ sont ajoutés. La solution résultante est ensuite précipitée à l'acétone, centrifugée puis séchée sous vide.

ANNEXE 13. DRX et IR des nanoparticules $\text{In}^{\text{III}}_{0,5}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,5}\text{Fe}^{\text{II}}@\text{MnFe}$

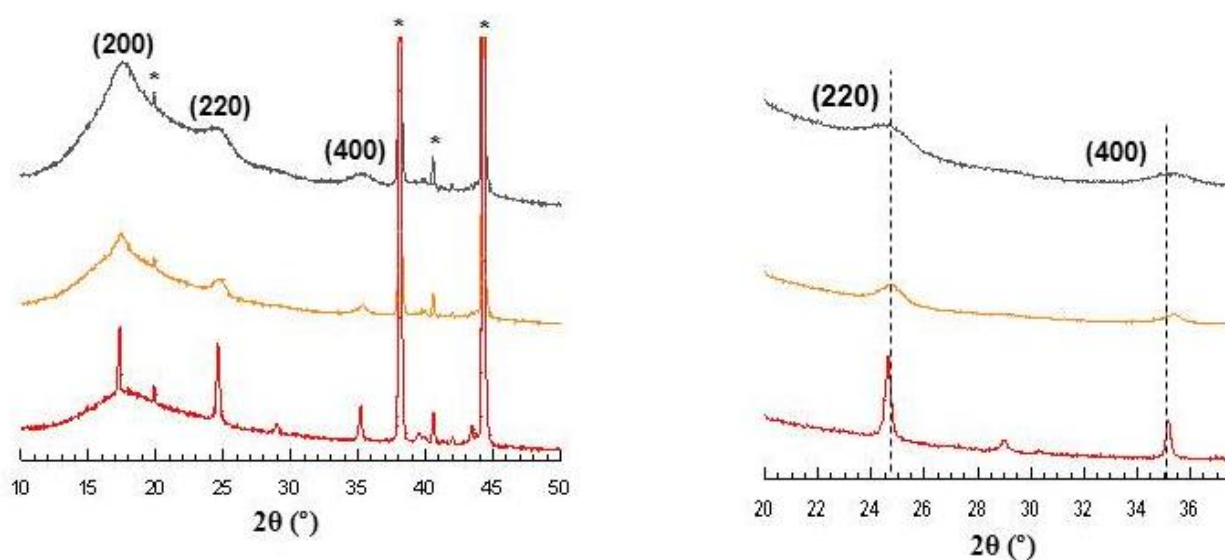


Figure 13-1. a) Diffractogrammes des particules de $\text{In}^{\text{III}}_{0,5}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,5}\text{Fe}^{\text{II}}$ et $\text{In}^{\text{III}}_{0,5}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,5}\text{Fe}^{\text{II}}@\text{MnFe}$ entourées de dextran et du réseau $\text{Mn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ (* pics issus du porte-échantillon) et **b)** Zoom sur les raies (220) et (400)

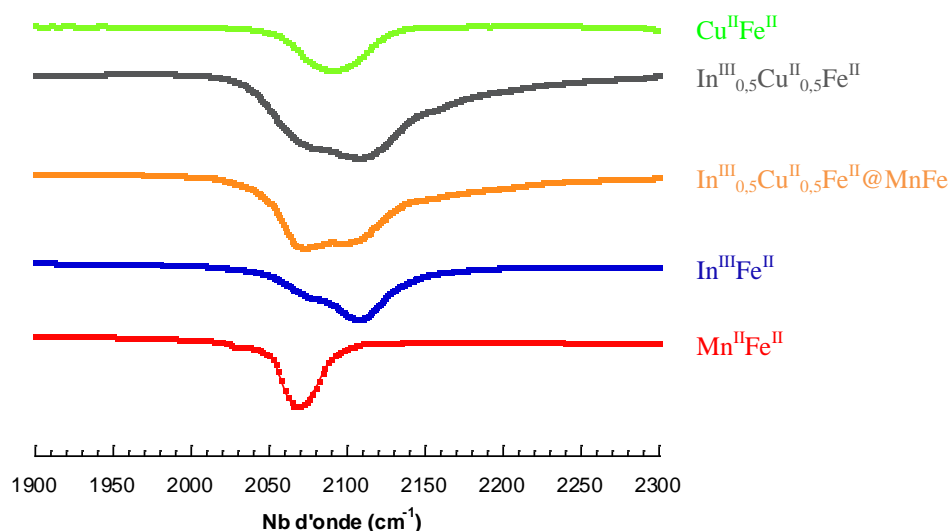


Figure 13-2. Spectres infrarouge dans la zone de 1900 à 2300 cm^{-1} des nanoparticules de $\text{In}^{\text{III}}_{0,5}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,5}\text{Fe}^{\text{II}}$ et $\text{In}^{\text{III}}_{0,5}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,5}\text{Fe}^{\text{II}}@\text{MnFe}$ entourées de dextran et des réseaux massifs de $\text{Mn}^{\text{II}}_2\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6$, $\text{Cu}^{\text{II}}_2\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6$ et $\text{In}^{\text{III}}_4[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_3$

ANNEXE 14. Synthèse des nanoparticules cœur-coquille $\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}\text{Fe}@\text{Mn}_x\text{Fe}_{1-x}$ avec $x = 0,05$ ou $0,25$

La croissance des particules de cœur de $\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}\text{Fe}$ de 5 nm est effectuée selon le même protocole que celui dans l'annexe 12. Avant l'ajout des précurseurs de la coquille, la solution contenant les particules de cœurs est diluée par deux dans l'eau.

Sur la solution colloïdale de particules de cœurs de $\text{In}^{\text{III}}_{0,75}\text{Cu}^{\text{II}}_{0,25}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]$ de 5 nm placée à 2°C et sous vive agitation, sont ajoutés goutte à goutte 36,5 mL au total de chaque solution de $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ et de $\text{K}_4[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]$. Les volumes de solutions ajoutés sont regroupés dans le tableau 14-1.

% Mn^{II}	5	25
$[\text{Mn}^{\text{II}}]$ (mM)	0,025	0,125
$V_{\text{mère}} \text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (mL)	0,091	0,625
$V \text{H}_2\text{O}$ (mL)	36,309	35,085
% Fe^{II}	95	75
$[\text{Fe}^{\text{II}}]$ (mM)	0,475	0,375
$V_{\text{mère}} \text{Fe}^{\text{II}}$ (mL)	1,729	1,365
$V \text{H}_2\text{O}$ (mL)	34,671	35,085

Tableau 14-1. Calculs des volumes de solutions mères à ajouter pour les différentes synthèses en fonction du taux de Fe^{II} et Mn^{II} .

Les quantités sont telles que le rapport $n_s/n_c = 0,7$ de sorte à obtenir une coquille de 0,5 nm d'épaisseur. A la fin de l'ajout, le diamètre hydrodynamique des particules cœur-coquille est mesuré par DDL à 2°C et 25 équivalents de dextran par rapport aux ions $\text{In}^{\text{III}}+\text{Cu}^{\text{II}}+\text{Mn}^{\text{II}}$ sont

ajoutés. La solution résultante est ensuite précipitée à l'acétone, centrifugée puis séchée sous vide.

ANNEXE 15. Synthèse des nanoparticules $Gd^{III}_xIn^{III}_{1-x}[Fe^{II}(CN)_6]$ et $Gd^{III}_xFe^{III}_{1-x}[Fe^{II}(CN)_6]$

Selon la composition des particules synthétisées, nous préparons des solutions mères à 10^{-2} M dans 10 mL des sels correspondants $K_4Fe^{II}(CN)_6$ ($m=42,2$ mg), $GdCl_3 \cdot 6H_2O$ ($m= 37$ mg) et $InCl_3$ ($m=22,1$ mg) ou $Fe^{III}(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$ ($m= 40,4$ mg). Les synthèses ont été réalisées dans un volume total de 400 mL. Pour cela, une solution aqueuse de 50 mL contenant les sels de $InCl_3$ ou $Fe^{III}(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$ et de $GdCl_3 \cdot 6H_2O$ à 0,5 mM est ajoutée dans une autre solution aqueuse de 50 mL contenant les ions $[Fe^{II}(CN)_6]^{4-}$ également à 0,5 mM. Cette étape est répétée quatre fois afin d'obtenir un volume total de 400 mL. Les volumes de solution mère à ajouter selon les taux d'ions Gd^{III} , In^{III} ou Fe^{III} à introduire sont regroupés dans les tableaux 15-1 et 15-2 respectivement. Ces solutions sont complétées avec de l'eau distillée jusqu'à un volume de 50 mL. Le taux de Fe^{II} étant constant, le volume de solution mère est le même pour tous les composés synthétisés soit 2,5 mL. Le volume d'eau ajouté est donc de 47,5 mL.

% Gd^{III}	[5]	[10]	[15]	[20]	[25]	[100]
$[Gd^{III}]$ (mM)	0,025	0,050	0,075	0,100	0,125	0,5
$V_{mère\ GdCl_3}$ (mL)	0,125	0,250	0,375	0,500	0,625	2,5
% In^{III}	95	90	85	80	75	-
$[In^{III}]$ (mM)	0,475	0,450	0,425	0,400	0,375	-
$V_{mère\ InCl_3}$ (mL)	2,375	2,250	2,125	2,000	1,875	-
V_{eau} (mL)	47,5	47,5	47,5	47,5	47,5	47,5

Tableau 15-1. Calculs des volumes de solutions mères à ajouter pour les différentes synthèses en fonction du taux de Gd^{III} et In^{III} .

% Gd^{III}	[5]	[10]
$[Gd^{III}]$ (mM)	0,025	0,05
$V_{mère\ GdCl_3}$ (mL)	0,125	0,250
% Fe^{III}	95	90
$[Fe^{III}]$ (mM)	0,475	0,450
$V_{mère\ Fe(NO_3)_3}$ (mL)	2,375	2,250
V_{eau} (mL)	47,5	47,5

Tableau 15-2. Calculs des volumes de solutions mères à ajouter pour les différentes synthèses en fonction du taux de Gd^{III} et Fe^{III} .

ANNEXE 16. Caractérisations structurales et chimiques des nanoparticules $\text{Gd}^{\text{III}}\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}} [5]@(\text{PVP})$

▪ *Caractérisations de taille et de structure*

Le diamètre hydrodynamique moyen déterminé par DDL des particules de $\text{GdInFe} [5]$ entourées de PVP est de 5,5 nm et le potentiel zéta est égal à -6,5 mV. Le diffractogramme de poudre de ces particules enrobées de PVP confirme la structure cubique à faces centrées de ces objets comme montré sur la Figure 16-1.

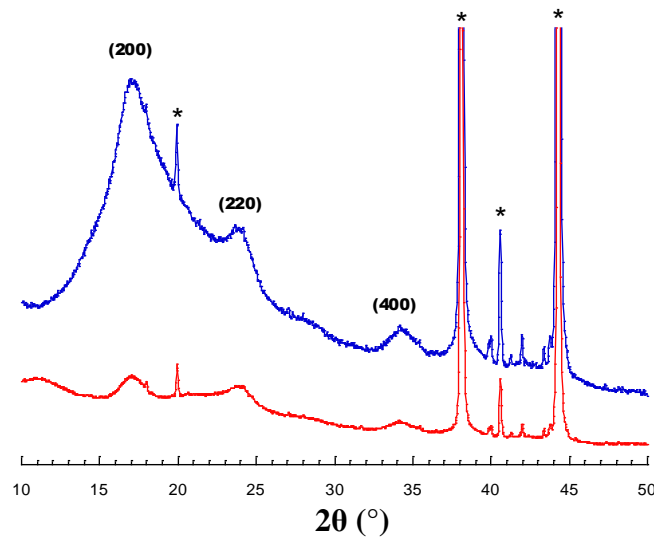


Figure 16-1. Diffractogrammes des particules $\text{GdInFe}[5]@(\text{PVP})$ ou $@(\text{dextran})$ (* pics issus du porte-échantillon)

		Paramètre de maille (Å)	Taille des particules (nm)
$\text{Gd}^{\text{III}}\text{In}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}} [25]$	Dextran	10,5	4,9
	PVP	10,5	5,4

Tableau 16-1. Taille et paramètre de maille moyen des particules $\text{MnInFe} [25]@(\text{PVP})$ ou $@(\text{dextran})$ extraits par DRX

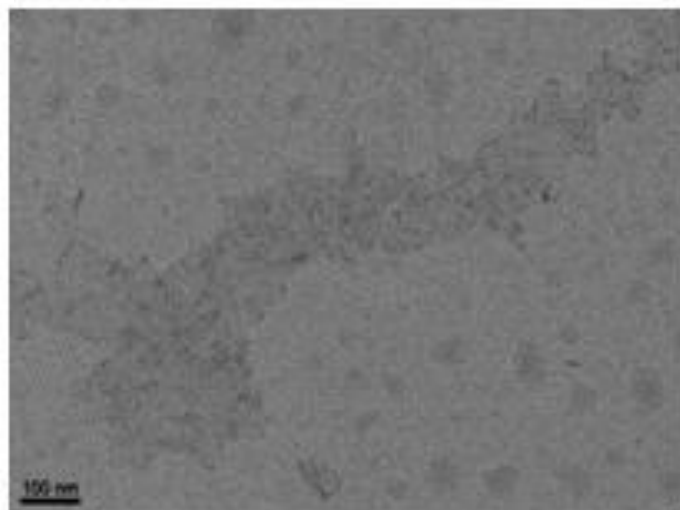


Figure 16-2. Image MET des nanoparticules GdInFe [5] entourées de dextran (échelle : 100 nm)

- *Caractérisations chimiques*

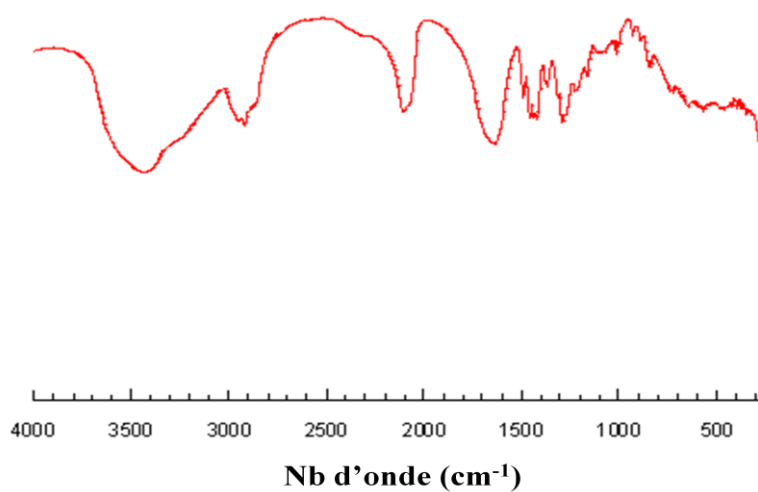


Figure 16-3. Spectre IR des particules GdInFe [5] entourées de PVP, enregistré de 400 à 4000 cm^{-1}